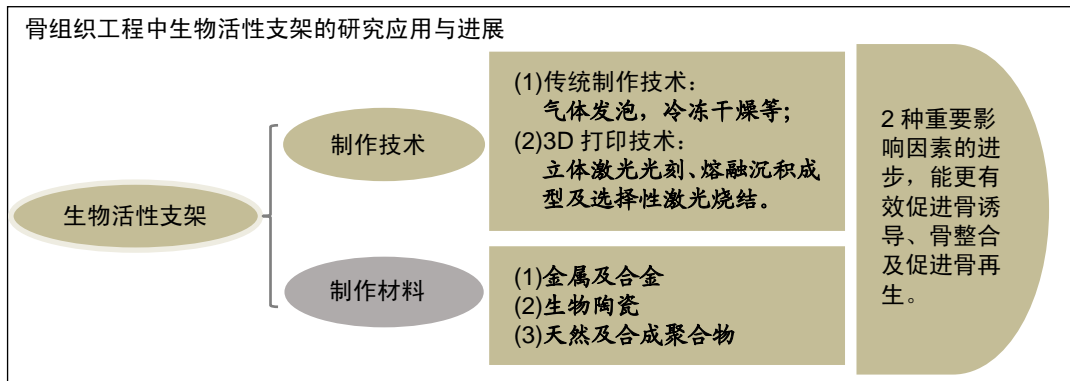


生物活性支架在骨组织工程中的应用及进展

冷一, 李祖浩, 任广凯, 王中汉, 高超华, 史晨玉, 刘贺, 吴丹凯(吉林大学第二医院骨科, 吉林省长春市 130041)

DOI:10.3969/j.issn.2095-4344.1553 ORCID: 0000-0002-2494-4677(冷一)

文章快速阅读:



冷一, 男, 1996 年生, 汉族, 吉林大学第二医院骨科在读硕士, 主要从事骨组织工程支架及骨缺损临床治疗的研究。

通讯作者: 吴丹凯, 主任医师, 教授, 硕士生导师, 吉林大学第二医院骨科, 吉林省长春市 130041

文献标识码:A
稿件接受: 2018-11-06



文题释义:

生物活性支架: 具有三维结构的骨组织工程支架, 既可填充骨缺损, 提供必要的机械强度, 具有良好的生物相容性和多孔结构, 可为骨细胞提供附着, 又可搭载抗骨质疏松药物, 对修复骨缺损起积极作用。

溶剂浇铸/颗粒浸出技术: 具体方法是将致孔剂与目标材料溶液混合, 随后即形成聚合物-致孔剂网络。复合物中溶剂蒸发, 使支架硬化, 随后用水溶解致孔剂, 形成了具有孔隙的支架。此种制作方法有着相对简单的技术, 可形成具有规则孔隙率、孔径的支架。

摘要

背景: 随着生物打印技术与化学合成技术的进展, 将这些技术纳入组织工程支架制作, 用于促进骨再生已成为当今研究的热点。

目的: 介绍生物活性骨组织工程支架, 讨论并总结不同制作材料在促进骨再生及治疗骨缺损方面的应用。

方法: 由第一作者于 2018 年 7 至 9 月以 “bone tissue engineer, 3D-printed, scaffold, composite scaffold” 为关键词, 检索 2003 至 2018 年期间 PubMed、Web of Science、SpringerLink、Medline 数据库发表的相关文献。初检文章 237 篇, 筛选后对 70 篇文章进行分析。

结果与结论: 生物活性支架主要包括金属材料复合支架、生物陶瓷材料复合支架与聚合物材料复合支架, 目前已被应用于骨组织工程中。已开发了几个具有临床转化成功的骨和软骨构建体实例, 其中陶瓷和聚合物复合材料与天然骨具有相似的组织组成和良好的生物相容性, 可能获得最大成功。若可将现有的生物活性材料、生长因子、功能化技术和仿生支架设计相结合, 在未来可能为特定患者创建复杂的骨组织工程支架, 这也为治疗各种具有挑战性的疾病提供了希望, 包括骨肿瘤、骨质疏松症和严重的骨缺损。

关键词:

骨科材料; 生物活性材料; 3D 打印; 骨缺损; 骨再生; 仿生支架; 功能化技术

主题词:

骨再生; 聚合物; 组织工程

中图分类号: R459.9; R318.08

基金资助:

国家自然科学基金(81671804, 81171681, 81772456)

Application and progress of bioactive scaffolds in bone tissue engineering

Leng Yi, Li Zuhao, Ren Guangkai, Wang Zhonghan, Gao Chaochua, Shi Chenyu, Liu He, Wu Dankai (Department of Orthopedics, Second Hospital of Jilin University, Changchun 130041, Jilin Province, China)

Leng Yi, Master candidate, Department of Orthopedics, Second Hospital of Jilin University, Changchun 130041, Jilin Province, China

Abstract

BACKGROUND: With the advancement of bio-printing technology and chemical synthesis technology, the incorporation of these technologies into tissue engineering scaffolds for promoting bone regeneration has become a hot topic in current research.

OBJECTIVE: To introduce bioactive bone tissue engineering scaffolds, and to discuss and summarize the application of different scaffold materials in promoting bone regeneration and treating bone defects.

METHODS: The first author searched PubMed, Web of Science, SpringerLink, and Medline databases in July to September 2018 for relevant articles published from 2003 to 2018 using the keywords of “bone tissue engineer,

Corresponding author: Wu Dankai, Chief physician, Professor, Master’s supervisor, Department of Orthopedics, Second Hospital of Jilin University, Changchun 130041, Jilin Province, China

3D-printed, scaffold, composite scaffold". Initially, 237 articles were retrieved, and only 70 articles were eligible for result analysis.

RESULTS AND CONCLUSION: Bioactive scaffolds mainly include metal composite scaffolds, bioceramic composite scaffolds and polymer composite scaffolds, which have been used in bone tissue engineering. Several examples of successful bone and cartilage construction with clinical transformation have been developed, in which bioceramic and polymer composites may be the most successful due to their similar tissue composition and good biocompatibility with natural bone. And if combined with existing bioactive materials, growth factors, functionalization techniques and biomimetic scaffold designs, the potential for creating complex bone tissue engineering scaffolds for patient-specific applications in the future is enormous. This also provides hope for the treatment of a variety of challenging diseases, including bone tumor, osteoporosis and severe bone defects.

Subject headings: Bone Regeneration; Polymers; Tissue Engineering

Funding: the National Natural Science Foundation of China, No. 81671804, 81171681 and 81772456

0 引言 Introduction

虽然骨骼在一定程度上具有较强的自愈能力,但包括创伤、感染、肿瘤切除术后和关节翻修在内的先天性和后天性疾病仍然会形成超出自身自愈能力的临界尺寸骨缺损。骨骼是世界上第二大最常被移植的组织,每年至少有400万次手术使用骨移植物和骨替代材料。这些患者通常需要侵入性外科手术治疗,以帮助愈合。治疗骨缺损的手术过程中可能涉及临床使用的骨移植物、骨替代材料、生长因子和植入金属制品,以加强稳定和促进骨再生^[1-2]。

对于骨缺损,现在的治疗手段或多或少存在一定的弊端。自体骨移植是目前治疗骨缺损的金标准,但由于可获取移植物的大小限制及供体部位并发症(如感染或持续疼痛)等问题,该治疗方法有着一定的局限性^[3-4]。与自体移植组织相比,从尸体和生物来源(例如在髌关节置换期间移除的股骨头)收获的同种异体移植组织供应相对较多。然而,同种异体移植物具有疾病传播和免疫排斥的潜在风险,同时缺乏帮助组织再生的细胞成分。此外,金属内植物的使用可获得较好的稳定性,但与其使用相关的局限性,包括由于应力遮挡引起的骨质疏松,存在随着时间的推移磨损和失效及翻修手术的风险^[5]。非侵入性治疗方法如超声波疗法,也在促进骨再生方面显示了一定的成效,但这些非侵入性治疗方法主要用于成年患者稳定的、对线整齐的小块骨缺损,对于较大的骨缺损却难以达到理想的治疗效果^[6]。因此,具有优秀能力的骨替代材料亟待开发^[7]。

为了克服当前治疗选择的局限性,骨组织工程领域的重要研究已致力于创造传统骨移植的新替代物,其以一系列生物材料为原料,通过各种方法制造的多孔三维支架已被用于辅助和指导骨再生^[8-10]。无机材料如金属或生物陶瓷等,在机械强度上虽然可满足骨组织工程的需求,但在生物相容性及可降解性方面并不令人满意。而有机材料如壳聚糖、胶原蛋白和透明质酸等所制造的支架,在机械强度上有着较大的不足。完美组织工程材料的缺乏,使得3D支架的临床应用受到了很大限制^[11]。

骨是一种复合材料,其成分包括无机基质(羟基磷灰石及水等)^[12]、混合有机成分(I型胶原、脂质及非胶原蛋白等)^[13]。因此在支架制造过程中,多种不同类材料组合产生的复合支架似乎是合乎逻辑的。通过掺入具有

与活组织相互作用或结合活体组织能力的材料,增加支架生物活性,以改善骨细胞向内生长(骨传导),支架稳定锚定到宿主骨组织(骨整合),刺激宿主体内干细胞发育成骨细胞(骨诱导)和增加血管形成^[14-17]。

因此,文章将参考理想支架的性质和可用的支架制造方法,研究最近在骨组织工程中的一些重要生物活性复合材料,将重点讨论既能成功桥接骨缺损残端又能积极诱导骨再生的3D支架。

1 资料和方法 Data and methods

1.1 资料来源 由第一作者于2018年7月至9月以“bone tissue engineer, 3D-printed, scaffold, composite scaffold”为关键词,检索2003至2018年期间PubMed、Web of Science、SpringerLink、Medline数据库发表的相关文献。初检得到相关文献237篇。

1.2 资料筛选

纳入标准: 根据文章题目及摘要进行初步筛选,剔除重复文献;通过文献精读和泛读后,得到与骨组织工程3D生物活性支架方面相关的研究原著、综述、病例报告、临床研究。

排除标准: 非时效性文章;研究目的与文章无关及重复性研究;质量低,证据等级不够的文章。

1.3 资料提取 首先阅读所有检索文献,并对所有文献的主题和质量进行评估;剔除与文章内容无关或重复的文献,共选入文献70篇,见图1。文献检索和筛选结果的输出采用文献的引用形式,且保持格式一致性,文献的引用形式包括作者、题名、期刊名称、发表年代、卷数(期数)、页码等。

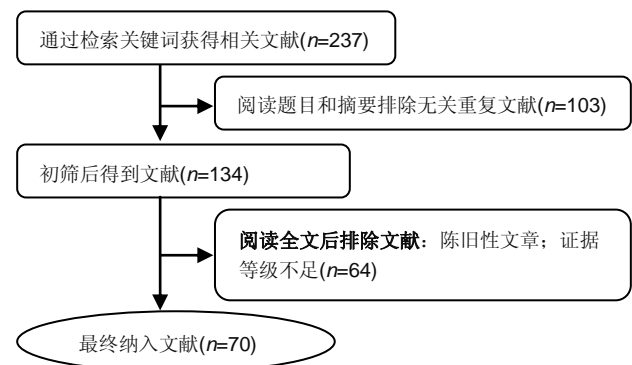


图1 文献筛选流程

2 结果 Results

2.1 理想支架的属性 一般而言,理想的3D支架应由具有生物相容性和可生物降解的材料组成,同时应具有与其植入组织相似的机械特性。设计的支架不是永久性植入物,并且能促进宿主细胞依附于细胞外基质,并随着时间的推移替换支架结构。支架的3D结构应该是高度多孔的,具有相互连接的结构,以允许细胞和营养物质迁移。还应优化支架表面以促进细胞附着、增殖和分化,见表1。从手术角度来看,在满足足够力学支撑的情况下,还希望将支架材料容易地操作成不同形状和尺寸,以允许原位治疗个体患者的骨缺损^[18-19]。

表1 理想支架特征总结

支架特征	理想的功能
生物相容性	无毒的分解产物;非炎症性支架原料,避免免疫排斥反应
生物降解性	具有可控制的降解速率,既能保持足够的力学支撑又能保证组织向内生长;可通过宿主酶或生物过程降解;允许依附的宿主细胞产生自身细胞外基质
生物活性	支架材料可与宿主组织相互作用并与其结合;具有骨传导性和骨诱导性;包含生物信号和生长因子,以刺激细胞、附着和分化
支架架构	具有相互连通的孔状结构,允许细胞扩散和迁移;微孔性为细胞-支架提供相对较大的相互作用表面积;大孔隙允许细胞迁移和血管系统长入;针对靶组织和细胞定制的孔径;足够的孔隙率促进细胞向内生长而不削弱机械强度
机械性能	与宿主组织相当的压缩、弹性和疲劳强度,允许发生细胞机械调节并保持体内结构的完整性;支架材料应在临床环境中更易操作,以治疗个体患者的骨缺损

所以在3D生物活性支架的效果选择上,应在有利于细胞功能、细胞活力及负载下的机械完整性之间做出更加平衡的调整。

2.2 支架制作方法 现如今多种技术已被用于3D支架制作中,有时一种支架的制作会应用多种技术。通常使用常规技术制作的支架,难以精确控制形成复杂的微观结构。然而随着计算机辅助设计建模将3D打印技术应用于骨组织工程中,显著提高了支架制造的制造精度和可重复性,并可控制支架的宏观和微观结构。因此,本节介绍传统支架制造与3D打印技术的方法及优缺点。

2.2.1 传统支架制造 传统支架制造方法包括溶剂浇铸/颗粒浸出、气体发泡、乳化冷冻干燥、静电纺丝等制造方法,每种方法都有其不同的优缺点。

溶剂浇铸/颗粒浸出技术的具体方法是将致孔剂与目标材料溶液混合,随后形成聚合物-致孔剂网络,复合物中溶剂蒸发,使支架硬化,随后用水溶解致孔剂,从而形成了具有孔隙的支架^[20]。致孔剂可分散到模型结构中,并且一旦结构凝固后就溶解,从而产生孔隙。这种制作方法有着相对简单的技术,可形成具有规则孔隙率、孔径的支架。但由于难以控制支架产生的孔隙形状和孔隙互连并同时使用有机溶剂,就不能将细胞或生

长因子直接添加于支架中,所以现在已很少使用此类方法。

气体发泡法消除了溶剂浇铸/颗粒浸出方法中有机溶剂的使用,首先通过压缩成型技术将目标材料压缩成圆形盘,然后在室温下暴露于5.5 MPa CO₂压力下72 h,然后将CO₂压力降低至大气压水平,快速降低气体在聚合物中的溶解度,使CO₂气体聚集在一起,产生孔隙。使用该技术可达到93%的孔隙率和高达100 mm的孔径。然而,通过气体发泡仍难以控制孔隙连通性和孔径^[21]。

冷冻干燥法首先将聚合物溶液冻结,于是便得到了被聚合物骨架包围的溶剂结晶,然后通过真空将周围压力降低至低于冷冻溶剂的平衡蒸气压水平,触发溶剂直接升华为气体;当溶剂完全升华时,保留具有互连多孔结构的干燥聚合物支架。乳化冷冻干燥也可用作主要支架制造方法。该方法首先将聚合物/陶瓷溶解在溶剂中,然后与水混合得到乳液,将混合物倒入模具中并冷冻,然后分离两相;将冷冻的乳液冷冻干燥,以除去溶剂和分散的水,在固化支架中产生孔隙结构。虽然这种方法避免了固体致孔剂的应用,但仍未减少有机溶剂的使用,并且处理时间长且孔隙率难以控制。

静电纺丝是另一种流行的支架制造技术,能产生纳米纤维互连的多孔支架。该方法使用外部施加的电场,将聚合物溶液或聚合物熔体的带电液滴从毛细管朝向集电板拉出,可依次创建和沉积由复合材料和生物分子构成的微米和纳米级别纤维,以形成支架^[22]。静电纺丝所制造的支架具有较大的表面积,以促进细胞附着,而且技术简单且廉价,研究人员也在对这种技术进行不断的开发。但此法难以精确掌控支架的机械性能及微观结构,仍需要研究及攻克。

2.2.2 3D打印技术 传统支架制造常面临着造孔剂残留、重复性低、孔隙率难以控制等缺点。较常规支架制造技术而言,3D打印技术在空间上控制支架微架构和空间内容的能力已得到改善。通常,3D打印技术通过粉末、液体或固体材料的逐层处理来制造物体,从底部开始构建,每个新形成的层黏附到前一层,产生逐渐增大的构造,而且通过计算机辅助设计的帮助更能实现个体化定制。常见的3D打印技术包括立体激光光刻、熔融沉积成型及选择性激光烧结等^[23]。

立体激光光刻是最早得到开发的3D打印技术之一,它使用定向激光固化液体光敏聚合物(如树脂等物质)形成3D模型,其中紫外激光器可以固化模型横截面,留下液体形式的剩余区域,然后去除过量的未固化树脂,得到完整的支架。虽然立体激光光刻可快速生产具有受控结构和微米水平的支架,但范围较小的材料选择和昂贵的技术仍制约着立体激光光刻的发展^[24]。

熔融沉积成型使用温控打印头以逐层方式将热塑性材料沉积到平台上,以构建3D构造。将热塑性长丝驱

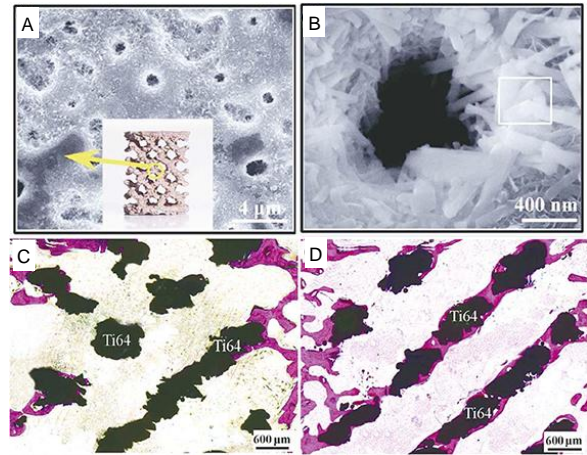
入加热的印刷头中,使长丝熔化,使得半熔融聚合物(如聚己内酯)顺序精确沉积。熔融长丝在打印环境中的空气中冷却,使长丝快速熔合在一起,形成支架。尽管较高的制造温度限制了水凝胶或生物分子的应用,但熔融沉积成型作为生产合成支架的方法,也已成功应用于骨组织工程中^[25]。

选择性激光烧结使用计算机控制的激光束来熔化粉末层,将粉末材料烧结在一起,以形成实心3D结构。选择性激光烧结能生产具有与骨小梁相似机械特性的生物活性复合支架,并初步应用于骨组织工程中^[26]。然而该过程中涉及的升高温度,限制了选择性激光烧结生产包含细胞和生物材料的支架。

由此可看出,上述方法都有着温度过高而不能加入生物活性物质的缺点,所以3D生物打印由此产生。生物打印可从上而下制造包含活细胞、细胞外基质及其他生物材料的复杂结构支架,也能够改善血管向支架内长入的能力。相比常规3D打印技术,3D生物打印实现了细胞或生物活性成分的分层放置^[27]。常用的生物打印技术包括喷墨^[28]、激光辅助^[29]、微型阀和挤出生物打印等^[30-31]。打印成功后,可直接植入患者体内或在体外培养,构成被称为生物反应器的生物活性培养环境,促使细胞向特定方向成长,所以3D生物打印技术正不断被研究者们开发利用。

2.3 生物活性支架应用的材料

2.3.1 金属材料复合支架 钴铬合金、锆合金、钛合金和不锈钢等金属合金具有优异的生物相容性和强度,因此通常被用于关节置换和骨折固定植入物,以支持骨愈合^[32]。然而其缺乏生物降解性,不太适合骨组织工程,作为骨折内固定物还需要额外手术来移除金属植入物,特别是当它们用于未达到骨骼成熟度的儿童患者时^[33]。虽然有这些限制,但通过制造复合金属支架已取得了一些成功。**Chen等**^[34]发现给予3D打印钛支架孔隙率在达到50%的情况下,抗压强度可达到109 MPa,并且具有粗糙的微观结构,在一定程度上促进了骨髓间充质干细胞在支架上的附着与增殖。而在支架中加入锶、镁的等一系列金属微量元素,可促进骨生成和血管生成,在增强骨重建和修复过程中起重要作用^[35]。其中锶得到了广泛研究,因为它具有与钙相似的大小及电荷,现已证明锶可在成骨细胞介导的骨再生过程中取代钙,增强骨生成,同时防止破骨细胞再吸收。此外,锶已被证明可增强成骨细胞向骨细胞的分化^[36]。**Lei等**^[37]通过冷冻干燥法将锶与羟基磷灰石和壳聚糖混合,用以制作复合纳米杂化支架,发现支架中存在的锶-羟基磷灰石纳米晶体可显著增强人骨髓间充质干细胞的增殖和成骨分化能力,显著改善骨再生。通过微弧氧化及水热法处理钛合金支架后,不但增强了羟基磷灰石的形成能力,而且在兔股骨缺损中促进了骨整合及骨再生,见**图2**。



图注:图中A,B为微弧氧化及水热法处理多孔钛合金支架的扫描电镜图片,显示支架壁表面的微孔及纳米棒结构;C,D分别为未处理钛合金支架与微弧氧化及水热法处理多孔钛合金支架植入兔股骨缺损8周后的组织切片(钙黄绿素及茜素红染色)。

图2 微弧氧化及水热法处理钛合金支架的微观结构及促成骨性能^[38]

近些年铁作为支架原材料正得到不断的应用,铁基支架在满足可生物降解的条件下,还能拥有优秀的机械性能,而且有研究显示其植入18个月不会产生明显的炎症反应或全身毒性^[39]。**Chou等**^[40]在此基础上利用3D喷墨印刷制作铁镁复合支架,发现3D打印后铁镁构建体具有开放的多孔结构,具有与松质骨相似的拉伸机械性质。体外分析发现暴露于支架后细胞活力良好,细胞也渗透到孔隙中。金属作为应用历史最久的支架材料,正在不断得到新的使用方式。

2.3.2 生物陶瓷材料复合支架 生物陶瓷包括陶瓷复合材料、无定形玻璃和生物玻璃等,具有良好的生物活性、耐腐蚀性和抗压缩性^[41]。其中骨组织工程中最常用的材料为羟基磷灰石、磷酸三钙和他们不同比例的混合物双相磷酸钙,这些材料作为骨组织工程支架在体内经由细胞降解为钙和磷酸根离子,从而通过骨诱导促进骨再生^[42]。生物陶瓷在结构和化学组成方面也与天然骨的矿物质含量具有很大程度的相似性。这使得生物陶瓷构建体能够提供生物相容的骨传导性界面,能够促进与宿主组织的整合,而不会形成瘢痕组织^[43]。

通过**Tang等**^[44]进行的4种生物陶瓷支架的对比实验,可以清楚地了解到生物陶瓷支架拥有着良好的骨传导性及骨诱导性,而且随着组成成分的不同,产生效果的侧重点也不同,但也证明了生物陶瓷支架具有优秀的应用前景。然而,在骨组织工程的背景下,陶瓷支架相对易于脆化。与金属基支架一样,它们也难以精细控制的降解速率。因此,越来越多的注意力被用于开发陶瓷复合支架。而且生物陶瓷相比其他骨组织工程材料更易于表面添加涂层,增强其功能。**Mohseni等**^[45]将纳米复合磷酸三钙/胶原支架植入兔股骨节段性骨缺损中,45 d后在组织学上发现了良好的骨形成,且比单纯的羟基磷灰石支架表现更为优异。而添加聚合物涂层的另一优势

在于可以搭载药物,并能达到药物缓释的目的,从而产生更优秀的骨再生效果。Tarafer等^[46]在3D打印了磷酸三钙支架后,对其进行了聚己内酯/阿仑膦酸涂层,发现与裸露的磷酸三钙或聚己内酯包被的磷酸三钙支架相比,具有聚己内酯与阿仑膦酸复合涂层的支架可局部缓慢释放阿仑膦酸,促进早期骨形成增加。而含有二氧化硅的生物陶瓷复合材料在骨组织工程中也受到了极大的关注,因为含Si支架的离子分解产物具有优秀的骨传导性^[22]。Dai等^[47]烧结碳酸钙和二氧化硅以产生新型多孔 β -硅酸二钙支架,机械分析发现这种复合支架最大抗压强度达到28.1 MPa,孔隙率高达71%,表现出了良好的生物相容性,体外细胞增殖实验发现MG-63细胞和间充质干细胞增殖良好。同时将支架放置在模拟体液培养后发现了表面磷灰石的形成。他们还发现在小鼠体内植入支架9周后,支架中有骨组织生成,提示支架的骨诱导特性。

诸如耐腐蚀性、生物相容性和刚度的性质导致生物陶瓷在临床骨科广泛使用。成千上万的患者已经从陶瓷关节置换组件,以及用于填充骨缺损的陶瓷粉末和颗粒中受益^[48]。

生物活性玻璃代表了陶瓷材料的另一个子组,已在骨组织工程领域进行了广泛研究。生物活性玻璃可被视为具有无定形结构的表面活性玻璃-陶瓷生物材料。植入体内后,生物活性玻璃溶解有助于在生物玻璃表面上形成羟基磷灰石层,其反过来与宿主骨中的胶原蛋白纤维相互作用,以产生强烈的结合。事实上,与骨骼形成的黏合是如此强烈,以至于通常不能通过破坏周围骨骼来去除生物活性玻璃。生物活性玻璃相互连接的多孔结构类似于骨小梁,为细胞提供了一个临时模板,促进骨再生^[49]。目前生物活性玻璃已开始被用于临床,包括用于整形外科和颌面外科领域的假体;颗粒和微粒也被用来代替传统的骨移植,来帮助治疗慢性骨髓炎、软组织缺损和伤口^[50-51]。虽然生物活性玻璃在生物活性和骨传导性等具有吸引力,但固有的脆性使其临床应用具有局限性。所以可通过掺入可生物降解的聚合物,来改善生物活性玻璃的孔隙率、降解速率和弹性模量等性能^[52]。

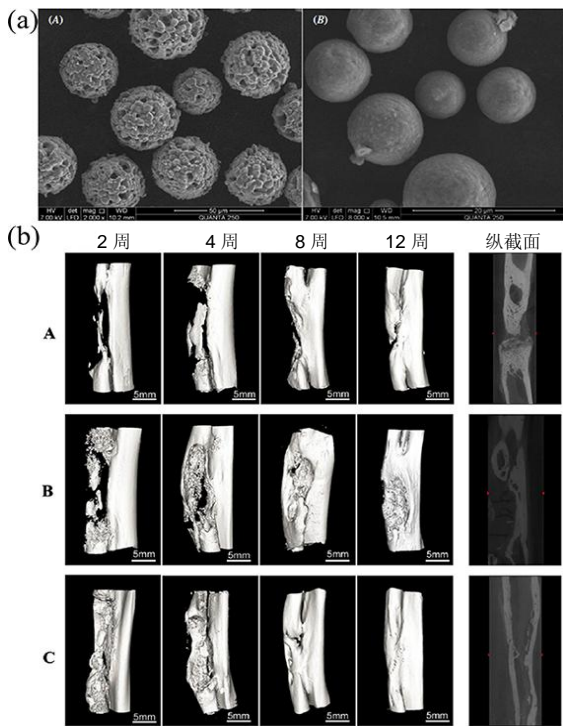
Wessuser等^[53]研究了多种聚合物涂层3D打印生物活性玻璃支架的骨诱导特性,包括明胶及交联明胶,并在接种间充质干细胞后植入免疫缺陷小鼠中,8周后组织形态测定和微计算机断层扫描发现,明胶包被的支架整体表现最好,同时还发现生物活性玻璃支架具有优秀的药物传递能力。Jiang等^[54]用酰胺涂覆中孔生物活性玻璃支架,随后将庆大霉素加载到支架中孔表面上,体外与未经过胺化的生物活性玻璃支架相比实现了更高的庆大霉素负载和更长的药物释放;体外生物活性也得到改善,在模拟体液中浸泡3 d后,酰胺涂覆中孔生物活性玻璃支架表面羟基磷灰石形成增加。生物活性玻璃

支架在一些实验中也用于可注射黏合剂搭载抗生素或聚合物,被发现具有良好的细胞相容性并能够治疗体内骨缺损。Zhang等^[55]制备了掺杂铈的硼酸盐生物活性玻璃-壳聚糖复合骨水泥并注入兔股骨缺损中,有明显的新骨形成。因此,这种可注射生物支架为通过微创手术治疗不规则形状的骨缺损提供了新的思路。

2.3.3 聚合物材料复合支架 用于骨组织工程支架制备的聚合物材料,包括天然聚合物和人工合成聚合物。由于天然聚合物具有延展性、生物相容性和生物降解性等有利性质,使其在骨组织工程中得到了很大的关注,而且通常天然聚合物表面含有生物功能分子,可帮助支架上的细胞附着、整合和分化。已在骨组织工程中研究的天然聚合物包括胶原、蚕丝、藻酸盐、壳聚糖和透明质酸。然而,使用天然聚合物也可能受到限制,包括存在致病性杂质(如内毒素^[56])、缺乏降解速率的可调性和降解相关的局部细胞抑制。尽管交联可在一定程度上提高天然聚合物的结构性能^[57],但其机械性能也未能达到最佳标准。已在骨组织工程中应用的合成聚合物包括聚乳酸、聚乙醇酸、聚己内酯、聚乙二醇及共聚物聚乳酸-乙醇酸等。将聚合物与3D打印技术相结合,可根据需要制造具有定制孔径、孔隙率、降解速率和机械强度的聚合物支架^[58]。由壳聚糖及丙烯酰胺共聚形成的温敏水凝胶,不但具有理想的多孔结构,而且具有良好的互连性、弹性和显著的骨传导性,体外可显著增强骨髓间充质干细胞的增殖活力及碱性磷酸酶活性,且细胞/水凝胶构建体在成骨分化后也显示出良好的机械强度和弹性,体内实验也验证了水凝胶聚合物的生物相容及促进骨形成的特性^[59]。然而无论合成和天然聚合物,都面临着单独使用时相对较差的承载能力,与金属和陶瓷化合物相比具有较低的弹性模量^[60]。在骨组织工程中,对支架的抗压缩与拉伸、抗疲劳性能机械要求是复杂的^[61]。为了解决这一问题,可将生物陶瓷作为涂层或填料添加到聚合物基质中,提高聚合物的生物活性及机械性能^[62]。而通过表面改性也可增加聚合物支架的性能与生物活性,包括生长因子和表面配体,以帮助细胞黏附和增殖^[63]。

Villa等^[64]通过共沉淀和冷冻铸造工艺开发了胶原-羟基磷灰石支架,所形成的支架具有高度的渗透性,适合细胞浸润、附着和成骨,具有99%的孔隙互连性。将小鼠骨髓间充质干细胞种到此支架上,在体外培养12 h后观察到良好附着。将该支架植入小鼠颅骨缺损中,3周后在射线照相和矿化分析中发现接近完全填充颅骨缺损的再生骨组织;数周后胶原蛋白的基质金属蛋白酶分解,必然导致支架降解。相比之下Marcacci等^[65]将纯羟基磷灰石支架植入4例长骨缺损患者,发现6年支架仍未能降解。Hou等^[66]将壳聚糖微球与可吸收胶原海绵混合并进行冷冻干燥,并将载有骨形态发生蛋白的壳聚糖微球/可吸收胶原海绵复合支架植入兔长15 mm桡骨缺

损中, 早在4周时发现缺损就会被新骨桥接, 12周X射线和组织学分析可见骨髓腔完全愈合和再通, 见图3。这些结果表明, 复合壳聚糖-胶原支架是骨形态发生蛋白2用于治疗节段性骨缺损的有希望载体。在支架中添加不同的成分, 对骨再生也会产生不同的效果。有研究证明, 在聚合物支架中加入骨骼组成成分(如羟基磷灰石), 可显著增强其骨诱导能力。Chang等^[67]将透明质酸作为羟基磷灰石- β -磷酸三钙颗粒的水性黏合剂, 观察是否可减少所需的骨移植量并增加临床情况下移植处理的便捷性。将羟基磷灰石- β -磷酸三钙加载到交联的透明质酸中, 形成新的透明质酸/羟基磷灰石- β -磷酸三钙复合物, 然后将其注入体内兔颅骨缺损, 组织学和微CT分析发现, 即使羟基磷灰石- β -磷酸三钙颗粒数量减少, 透明质酸也能维持骨再生。事实上, 与对照支架相比, 透明质酸/羟基磷灰石- β -磷酸三钙样品在2周后的骨形成量增加了1.7倍。总之, 向骨移植中添加透明质酸, 不仅促进了骨传导, 而且在临床情况下也改善了处理特性。



图注: 图中 a 为具有多孔结构壳聚糖微球(A)及普通壳聚糖微球(B)的扫描电镜照片; b 为壳聚糖微球/可吸收胶原海绵修复兔骨缺损的三维显微 CT 重建图像: 其中 A 为应用聚糖微球/可吸收胶原海绵修复骨缺损, B 为将骨形态发生蛋白 2 直接植入聚糖微球/可吸收胶原海绵并用于修复骨缺损, C 为用壳聚糖微球包裹骨形态发生蛋白 2 后植入聚糖微球/可吸收胶原海绵并用于骨缺损。

图 3 壳聚糖微球/可吸收胶原海绵的微观结构与骨修复能力

在合成聚合物方面, Yang等^[68]利用聚乳酸、聚己内酯和疏水改性的纳米二氧化硅粒子制造了生物支架, 不但具有分层结构, 更能支持骨髓间充质干细胞的黏附和

增殖, 表现了良好的生物相容性。Shau^[69]发现纳米羟基磷灰石可提高共聚物聚乳酸-乙醇酸的成骨能力和弹性模量, 而共聚物聚乳酸-乙醇酸可以平衡羟基磷灰石的脆性和降解速率, 并通过实验证明纳米羟基磷灰石含量最多为20%。Haider等^[70]证明, 与球形共聚物聚乳酸-乙醇酸-羟基磷灰石和纯共聚物聚乳酸-乙醇酸支架相比, 共聚物聚乳酸-乙醇酸-羟基磷灰石纳米纤维支架显示出更高的细胞黏附、增殖, 增强的成骨效应和增加的钙离子释放。但与合成聚合物相比, 天然聚合物(如胶原和壳聚糖)具有改善的矿化特性。天然聚合物中存在许多离子分子基团, 允许发生诸如钙螯合的过程, 并且可通过负表面电荷改善矿化速率。合成聚合物表面很大程度上是疏水的, 不利于细胞黏附。因此已尝试改变合成聚合物的表面, 以增加其细胞亲和力。

3 总结与讨论 Conclusion and discussion

各种类型的骨组织工程支架都被应用于大型骨缺损治疗中。已开发了几个具有临床转化成功骨和软骨构建体的实例, 其中陶瓷和聚合物复合材料具有与天然骨相似的组织组成和良好的生物相容性, 可能获得最大成功, 应作为未来研究的主要方向。

尽管对骨缺损治疗进行了大量且新颖的研究, 但由于超出临界尺寸骨缺损的发生率越来越高, 其修复对组织工程师和骨科医生来说仍然是一个巨大的挑战。目前骨组织工程支架的研究重点如何促进骨再生, 而忽略了血管再生对骨与软骨再生也有着重要作用, 为了在将来最大化促进骨生成和软骨形成效率, 不但要支架促进骨再生, 更应促进支架内血管形成。而如何应用生长因子也应成为关注的重点, 希望在未来可通过材料及打印技术的进步, 在支架随着骨再生程度而降解的过程中, 能将所含有的药物或生长因子梯度释放, 达到理想的应用效果。

3D生物制造和生物打印技术为构建微结构和空间内容提供了越来越精确的控制, 3D打印可有效保证支架有效性的同时实现个体化定制, 自身的微孔结构为细胞依附及骨传导提供了空间支持, 在未来更应达到更高的打印精度, 使细胞相容性得到进一步提高。而如今随着制作材料不局限于单一物质, 而通过支架达到药物梯度缓释也成为可能。当现有的生物活性材料、生长因子、功能化技术和仿生支架设计相结合时, 在未来为特定患者创建复杂的骨组织工程支架成为可能, 也为治疗各种具有挑战性的疾病提供了希望, 包括骨瘤病、骨质疏松症和严重的骨缺损。

作者贡献: 所有作者参与文章的设计、实施和评估, 通讯作者指导成文, 审校论文并提出主要修改意见。

经费支持: 该文章接受了“国家自然科学基金(81671804, 81171681, 81772456)”的资助。所有作者声明, 经费支持没有影响

文章观点和对研究数据客观结果的统计分析及其报道。

利益冲突: 文章的全部作者声明,在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。

写作指南: 文章的撰写与编辑修改后文章遵守了《系统综述和荟萃分析报告规范》(PRISMA指南)。

文章查重: 文章出版前已经过 CNKI 反剽窃文献检测系统进行 3 次查重。

文章外审: 文章经小同行外审专家双盲外审,同行评议认为文章符合期刊发稿宗旨。

文章版权: 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

开放获取声明: 这是一篇开放获取文章,根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享 4.0”条款,在合理引用的情况下,允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展,同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献,并为之建立索引,用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

4 参考文献 References

- [1] Ashman O,Phillips AM.Treatment of non-unions with bone defects: which option and why? *Injury*. 2013;44 Suppl 1:S43-45.
- [2] Thaller PH,Furmetz J,Wolf F,et al.Limb lengthening with fully implantable magnetically actuated mechanical nails (PHENIX((R)))-preliminary results.*Injury*.2014;45 Suppl 1:S60-65.
- [3] Hollister SJ.Porous scaffold design for tissue engineering.*Nat Mater*.2005;4(7):518-524.
- [4] Garcia-Gareta E,Coathup MJ,Blunn GW.Osteoinduction of bone grafting materials for bone repair and regeneration.*Bone*. 2015; 81:112-121.
- [5] Brydone AS,Meek D,MacLaine S.Bone grafting, orthopaedic biomaterials, and the clinical need for bone engineering.*Proc Inst Mech Eng H*.2010;224(12):1329-1343.
- [6] Higgins A,Glover M,Yang Y,et al.EXOGEN ultrasound bone healing system for long bone fractures with non-union or delayed healing: a NICE medical technology guidance. *Appl Health Econ Health Policy*. 2014;12(5):477-484.
- [7] Faour O,Dimitriou R,Cousins CA, Giannoudis PV. The use of bone graft substitutes in large cancellous voids: any specific needs? *Injury*.2011;42 Suppl 2:S87-90.
- [8] O'Keefe RJ, Mao J. Bone tissue engineering and regeneration: from discovery to the clinic--an overview. *Tissue Eng Part B Rev*. 2011;17(6):389-392.
- [9] Bose S,Roy M,Bandyopadhyay A.Recent advances in bone tissue engineering scaffolds.*Trends Biotechnol*.2012;30(10):546-554.
- [10] Wu S, Liu X,Yeung KWK,et al. Biomimetic porous scaffolds for bone tissue engineering.*Mater Sci Eng R*. 2014;80:1-36.
- [11] Webber MJ,Khan OF,Sydlik SA, et al. R. A perspective on the clinical translation of scaffolds for tissue engineering.*Ann Biomed Eng*.2015;43(3):641-656.
- [12] Boskey AL,Roy R.Cell culture systems for studies of bone and tooth mineralization. *Chem Rev*. 2008;108(11):4716-4733.
- [13] Young MF.Bone matrix proteins: their function, regulation, and relationship to osteoporosis. *Osteoporos Int*.2003;14 Suppl 3: S35-42.
- [14] Kim SS,Sun Park M,Jeon O,et al. Poly(lactide-co-glycolide)/hydroxyapatite composite scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials*.2006;27(8):1399-1409.
- [15] Hench LL.Opening paper 2015- Some comments on Bioglass: Four Eras of Discovery and Development. *Biomed Glasses*. 2015;1(1):1-11.
- [16] Albrektsson T,Johansson C. Osteoinduction, osteoconduction and osseointegration. *Eur Spine J*. 2001;10 Suppl 2:S96-101.
- [17] Vaccaro AR.The role of the osteoconductive scaffold in synthetic bone graft. *Orthopedics*. 2002;25(5 Suppl):s571-578.
- [18] Gao C, Deng Y,Feng P, et al.Current progress in bioactive ceramic scaffolds for bone repair and regeneration. *Int J Mol Sci*. 2014; 15(3):4714-4732.
- [19] Loh QL, Choong C. Three-dimensional scaffolds for tissue engineering applications: role of porosity and pore size.*Tissue Eng Part B Rev*.2013;19(6):485-502.
- [20] Johnson T, Bahrampourian R,Patel A,et al.Fabrication of highly porous tissue-engineering scaffolds using selective spherical porogens.*Biomed Mater Eng*.2010;20(2):107-118.
- [21] Dehghani F, Annabi N. Engineering porous scaffolds using gas-based techniques. *Curr Opin Biotechnol*. 2011;22(5):661-666.
- [22] Huang Y, Han S, Pang X,et al. Electrodeposition of porous hydroxyapatite/calcium silicate composite coating on titanium for biomedical applications.*Appl Surf Sci*.2013;271:299-302.
- [23] Ligon SC,Liska R,Stampfl J,et al. Polymers for 3D Printing and Customized Additive Manufacturing. *Chem Rev*. 2017;117(15): 10212-10290.
- [24] Kim K,Yeatts A,Dean D,et al.Stereolithographic bone scaffold design parameters: osteogenic differentiation and signal expression.*Tissue Eng Part B Rev*.2010;16(5):523-539.
- [25] Do AV, Khorsand B, Geary SM, et al. 3D Printing of Scaffolds for Tissue Regeneration Applications. *Adv Healthc Mater*. 2015;4(12): 1742-1762.
- [26] Xia Y,Zhou P,Cheng X,et al.Selective laser sintering fabrication of nano-hydroxyapatite/poly-epsilon-caprolactone scaffolds for bone tissue engineering applications. *Int J Nanomedicine*. 2013;8: 4197-4213.
- [27] Murphy SV,Atala A.3D bioprinting of tissues and organs.*Nat Biotechnol*.2014;32(8):773-785.
- [28] Saunders RE, Derby B. Inkjet printing biomaterials for tissue engineering: bioprinting. *Int Mater Rev*.2014;59(8):430-448.
- [29] Koch L,Gruene M,Unger C,et al.Laser assisted cell printing.*Curr Pharm Biotechnol*. 2013;14(1):91-97.
- [30] Faulkner-Jones A,Fyfe C,Cornelissen DJ,et al.Bioprinting of human pluripotent stem cells and their directed differentiation into hepatocyte-like cells for the generation of mini-livers in 3D. *Biofabrication*.2015;7(4):044102.
- [31] Ozbolat IT, Hospodiuk M. Current advances and future perspectives in extrusion-based bioprinting. *Biomaterials*. 2016;76:321-343.
- [32] Staiger MP,Pietak AM,Huadmai J, et al.Magnesium and its alloys as orthopedic biomaterials: a review. *Biomaterials*. 2006; 27(9): 1728-1734.
- [33] Lopez-Heredia MA,Sohier J,Gaillard C,et al.Rapid prototyped porous titanium coated with calcium phosphate as a scaffold for bone tissue engineering. *Biomaterials*.2008;29(17):2608-2615.
- [34] Chen H,Wang C,Zhu X,et al.Fabrication of porous titanium scaffolds by stack sintering of microporous titanium spheres produced with centrifugal granulation technology. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*.2014;43:182-188.
- [35] Bose S,Fielding G,Tarafder S,et al.Understanding of dopant-induced osteogenesis and angiogenesis in calcium phosphate ceramics.*Trends Biotechnol*.2013;31(10):594-605.
- [36] Atkins GJ,Wellton KJ,Halbout P,et al.Strontium ranelate treatment of human primary osteoblasts promotes an osteocyte-like phenotype while eliciting an osteoprotegerin response. *Osteoporos Int*.2009;20(4):653-664.

- [37] Lei Y, Xu Z, Ke Q, et al. Strontium hydroxyapatite/chitosan nanohybrid scaffolds with enhanced osteoinductivity for bone tissue engineering. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2017;72: 134-142.
- [38] Xiu P, Jia ZJ, Lv J, et al. Hierarchical Micropore/Nanorod Apatite Hybrids In-Situ Grown from 3-D Printed Macroporous Ti6Al4V Implants with Improved Bioactivity and Osseointegration. *J Mater Sci Technol*. 2017;33(2):179-186.
- [39] Peuster M, Hesse C, Schloo T, et al. Long-term biocompatibility of a corrodible peripheral iron stent in the porcine descending aorta. *Biomaterials*. 2006;27(28):4955-4962.
- [40] Chou DT, Wells D, Hong D, et al. Novel processing of iron-manganese alloy-based biomaterials by inkjet 3-D printing. *Acta Biomater*. 2013;9(10):8593-8603.
- [41] Ho GW, Matinlinna JP. Insights on Ceramics as Dental Materials. Part I: Ceramic Material Types in Dentistry. *Silicon*. 2011;3(3): 109-115.
- [42] Bohner M, Galea L, Doebelin N. Calcium phosphate bone graft substitutes: Failures and hopes. *J Eur Ceram Soc*. 2012;32(11): 2663-2671.
- [43] Ko CL, Chen WC, Chen JC, et al. Properties of osteoconductive biomaterials: calcium phosphate cement with different ratios of platelet-rich plasma as identifiers. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2013;33(6):3537-3544.
- [44] Tang Z, Tan Y, Ni Y, et al. Comparison of ectopic bone formation process induced by four calcium phosphate ceramics in mice. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2017;70(Pt 2):1000-1010.
- [45] Mohseni M, Jahandideh A, Abedi G, et al. Assessment of tricalcium phosphate/collagen (TCP/collagene) nanocomposite scaffold compared with hydroxyapatite (HA) on healing of segmental femur bone defect in rabbits. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*. 2018;46(2):242-249.
- [46] Tarafder S, Bose S. Polycaprolactone-coated 3D printed tricalcium phosphate scaffolds for bone tissue engineering: in vitro alendronate release behavior and local delivery effect on in vivo osteogenesis. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2014;6(13):9955-9965.
- [47] Dai Y, Liu H, Liu B, et al. Porous β -Ca₂SiO₄ ceramic scaffolds for bone tissue engineering: In vitro and in vivo characterization. *Ceram Int*. 2015;41(4):5894-5902.
- [48] Pasold J, Markhoff J, Tillmann J, et al. Direct influence of titanium and zirconia particles on the morphology and functionality of mature human osteoclasts. *J Biomed Mater Res A*. 2017; 105(9): 2608-2615.
- [49] Jones JR. Review of bioactive glass: from Hench to hybrids. *Acta Biomater*. 2013;9(1):4457-4486.
- [50] Rahaman MN, Day DE, Bal BS, et al. Bioactive glass in tissue engineering. *Acta Biomater*. 2011;7(6):2355-2373.
- [51] Miguez-Pacheco V, Hench LL, Boccaccini AR. Bioactive glasses beyond bone and teeth: emerging applications in contact with soft tissues. *Acta Biomater*. 2015;13:1-15.
- [52] Habraken WJ, Wolke JG, Jansen JA. Ceramic composites as matrices and scaffolds for drug delivery in tissue engineering. *Adv Drug Deliv Rev*. 2007;59(4-5):234-248.
- [53] Westhauser F, Weis C, Prokscha M, et al. Three-dimensional polymer coated 45S5-type bioactive glass scaffolds seeded with human mesenchymal stem cells show bone formation in vivo. *J Mater Sci Mater Med*. 2016;27(7):119.
- [54] Jiang S, Zhang Y, Shu Y, et al. Amino-functionalized mesoporous bioactive glass for drug delivery. *Biomed Mater*. 2017; 12(2): 025017.
- [55] Zhang Y, Cui X, Zhao S, et al. Evaluation of injectable strontium-containing borate bioactive glass cement with enhanced osteogenic capacity in a critical-sized rabbit femoral condyle defect model. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2015;7(4): 2393-2403.
- [56] Ravi S, Chaikof EL. Biomaterials for vascular tissue engineering. *Regen Med*. 2010;5(1):107-120.
- [57] Zhu J, Marchant RE. Design properties of hydrogel tissue-engineering scaffolds. *Expert Rev Med Devices*. 2011;8(5): 607-626.
- [58] Sheikh FA, Ju HW, Moon BM, et al. Hybrid scaffolds based on PLGA and silk for bone tissue engineering. *J Tissue Eng Regen Med*. 2016;10(3):209-221.
- [59] Liao HT, Chen CT, Chen JP. Osteogenic differentiation and ectopic bone formation of canine bone marrow-derived mesenchymal stem cells in injectable thermo-responsive polymer hydrogel. *Tissue Eng Part C Methods*. 2011;17(11):1139-1149.
- [60] Woodruff MA, Hutmacher DW. The return of a forgotten polymer - Polycaprolactone in the 21st century. *Prog Polym Sci*. 2010; 35(10):1217-1256.
- [61] Hollister SJ, Murphy WL. Scaffold translation: barriers between concept and clinic. *Tissue Eng Part B Rev*. 2011;17(6):459-474.
- [62] Gloria A, De Santis R, Ambrosio L. Polymer-based composite scaffolds for tissue engineering. *J Appl Biomater Biomech*. 2010; 8(2):57-67.
- [63] Bellis SL. Advantages of RGD peptides for directing cell association with biomaterials. *Biomaterials*. 2011;32(18): 4205-4210.
- [64] Villa MM, Wang L, Huang J, et al. Bone tissue engineering with a collagen-hydroxyapatite scaffold and culture expanded bone marrow stromal cells. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2015; 103(2):243-253.
- [65] Marcacci M, Kon E, Moukhachev V, et al. Stem cells associated with macroporous bioceramics for long bone repair: 6- to 7-year outcome of a pilot clinical study. *Tissue Eng*. 2007;13(5):947-955.
- [66] Hou J, Wang J, Cao LY, et al. Segmental bone regeneration using rhBMP-2-loaded collagen/chitosan microspheres composite scaffold in a rabbit model. *Biomed Mater*. 2012;7(3):035002.
- [67] Chang YS, Huang HD, Yeh KT, et al. Genetic alterations in endometrial cancer by targeted next-generation sequencing. *Exp Mol Pathol*. 2016;100(1):8-12.
- [68] Yang T, Hu Y, Wang CY, et al. Fabrication of Hierarchical Macroporous Biocompatible Scaffolds by Combining Pickering High Internal Phase Emulsion Templates with Three-Dimensional Printing. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2017;9(27):22950-22958.
- [69] Shuai CJ, Yang B, Peng SP, et al. Development of composite porous scaffolds based on poly(lactide-co-glycolide)/ nano-hydroxyapatite via selective laser sintering. *Int J Adv Manuf Tech*. 2013;69(1-4):51-7.
- [70] Haider A, Gupta KC, Kang IK. Morphological effects of HA on the cell compatibility of electrospun HA/PLGA composite nanofiber scaffolds. *Biomed Res Int*. 2014;2014:308306.