

DOI: 10.16781/j.CN31-2187/R.20220809

· 综述 ·

羟基磷灰石 / 聚合物复合支架修复骨缺损研究进展

齐军强¹, 陈煜¹, 王浩田¹, 叶晓健², 许国华^{1*}

1. 海军军医大学(第二军医大学)第二附属医院骨科脊柱微创中心, 上海 200003

2. 上海交通大学医学院附属同仁医院骨科, 上海 200336

[摘要] 羟基磷灰石/聚合物复合支架具有良好的机械性能、可降解性、成骨活性、缓释功能, 将其作为细胞生长因子、细胞和药物载体用于骨修复成为骨组织工程的研究热点之一。本文主要就近年羟基磷灰石/聚合物复合复合支架负载细胞生长因子、细胞和药物在骨损伤或骨缺损治疗中的研究进展进行综述。

[关键词] 羟基磷灰石; 聚合物; 复合支架; 生长因子; 载药支架; 载细胞支架; 骨修复

[引用本文] 齐军强, 陈煜, 王浩田, 等. 羟基磷灰石/聚合物复合支架修复骨缺损研究进展[J]. 海军军医大学学报, 2023, 44(11): 1321-1327. DOI: 10.16781/j.CN31-2187/R.20220809.

Hydroxyapatite/polymer composite scaffolds in repairing bone defects: research progress

QI Junqiang¹, CHEN Yu¹, WANG Haotian¹, YE Xiaojian², XU Guohua^{1*}

1. Spinal Minimally Invasive Center, Department of Orthopaedics, The Second Affiliated Hospital of Naval Medical University (Second Military Medical University), Shanghai 200003, China

2. Department of Orthopaedics, Tongren Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200336, China

[Abstract] Hydroxyapatite/polymer composite scaffolds have excellent mechanical properties, biodegradability, osteogenic activity, and sustained release function. With them as cell growth factors, cell and drug carriers for bone repair have become one of the research foci in bone tissue engineering. This article mainly reviews the research progress of hydroxyapatite/polymer composite scaffolds loaded with cell growth factors, cells, and drugs in the treatment of bone injuries or defects in recent years.

[Key words] hydroxyapatites; polymers; composite scaffolds; growth factors; drug-loaded scaffolds; cell-loaded scaffolds; bone repair

[Citation] QI J, CHEN Y, WANG H, et al. Hydroxyapatite/polymer composite scaffolds in repairing bone defects: research progress[J]. Acad J Naval Med Univ, 2023, 44(11): 1321-1327. DOI: 10.16781/j.CN31-2187/R.20220809.

近年来, 因骨损伤或骨缺损需要行骨移植治疗的患者不断增加, 骨修复是临床医师面临的重大挑战。目前, 临床上骨移植的“金标准”是自体骨移植, 但该方法存在二次手术、供体不足、供体部位疼痛和感染等问题, 而异体骨移植亦因免疫排斥反应、潜在疾病传播风险等弊端使其临床应用受到限制^[1]。随着骨组织工程的发展, 人工骨修复材料得到广泛的研究。羟基磷灰石(hydroxyapatite, HA)与自然骨的磷灰石相似, 具有良好的生物相容性、骨传导性和骨诱导性, 常被制成支架用于骨

修复, 但存在脆性高、抗压强度低、降解缓慢等缺点, 应用受到限制。聚合物因有仿生细胞外基质特性、生物降解性、无毒且易获得, 常与HA复合制备复合支架, 弥补单纯HA支架机械性能差、易碎等缺点^[2]。

骨缺损的原因众多, 包括创伤、炎症、肿瘤和退行性疾病等, 骨修复是多种细胞因子参与调节成骨、成血管相关细胞的复杂过程。因此, 研究者将生长因子、细胞和药物负载于复合支架, 以构建多功能的骨修复材料, 适应临床治疗的需求^[3-4]。既

[收稿日期] 2022-10-18 [接受日期] 2023-09-22

[基金项目] 国家自然科学基金(81972076, 82102605), 国家重点研发计划(2020YFC2008404)。Supported by National Natural Science Foundation of China (81972076, 82102605) and National Key Research and Development Program (2020YFC2008404).

[作者简介] 齐军强, 硕士生. E-mail: qjjq100@163.com

*通信作者(Corresponding author). Tel: 021-81885986, E-mail: xuguohuamail@163.com

往综述多是有关HA与聚合物复合制备骨修复材料的合成方法及材料的理化性能、生物相容性和诱导成骨分化活性研究的总结,缺乏对HA与不同聚合物复合后负载生长因子、细胞和药物用于骨修复的总结。本文主要对各种HA/聚合物复合支架作为细胞生长因子、细胞和药物载体用于骨修复的最新研究进行综述,旨在为HA/聚合物复合载体的设计、基础研究和临床应用提供参考。

1 HA/聚合物复合支架

HA因具有良好的生物相容性,既可与天然聚合物(胶原、壳聚糖、海藻酸盐、丝素蛋白等)复合,又可与合成聚合物(聚乳酸、聚乳酸-羟基乙酸共聚物、聚己内酯等)结合制备复合支架。

HA与天然聚合物复合可制得生物相容性、机械性能和成骨活性优良的骨修复材料。Yao等^[5]发现,与单纯HA支架相比,HA与胶原以质量比1:4混合制得复合支架的机械强度提高近17倍。此外,体外细胞实验和体内骨修复实验证实,该复合支架可显著促进骨髓间充质干细胞(bone marrow-derived mesenchymal stem cell, BMSC)生长,诱导新骨形成,6个月时大鼠颅骨缺损区已基本被新生骨组织填充,且具有一定的机械强度。Nga等^[6]制备的HA/壳聚糖仿生支架具有近似人松质骨的抗压强度,抗压强度为2.45 MPa,平均孔隙率可达75.01%,与单纯HA支架相比,该复合支架具有更好的降解性、更高的蛋白吸附能力和生物矿化能力。Mahmoud等^[7]将海藻酸盐涂覆于HA支架制得复合支架,研究发现,用3%海藻酸盐涂覆的复合支架可通过软骨内成骨和膜内成骨2种方式促进骨形成,将复合支架植入大鼠股骨缺损处6个月后,缺损区被成熟的板层骨填充,缺损完全修复,且新生骨组织的钙/磷离子比与正常骨接近,证明该支架具有良好的成骨性。HA与合成聚合物复合也可制得性能优异的骨修复材料。Zimina等^[8]利用聚乳酸和HA制得多孔支架,支架的孔隙率达79%,蜂窝状的表面可见300~400 μm的大孔,良好的孔隙结构有利于细胞的迁移和黏附。体外细胞共培养及体内皮下植入实验表明,该复合支架具有良好的生物相容性,间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)在复合支架表面的黏附是单纯聚乳酸支架的3.2倍,且复合支架引发的炎症反应较

单纯聚乳酸支架轻。Rezania等^[9]采用熔融纤维制造技术利用聚己内酯和不同比例HA的复合薄膜制得纤维和支架,力学性能测试发现HA颗粒的加入提高了纤维和支架的抗压强度和杨氏模量,与聚己内酯相比,聚己内酯/HA20%纤维和三维支架的杨氏模量分别提高了30%和50%,且所有支架的杨氏模量在30~70 MPa范围内,适用于松质骨修复。同时,MTT法检测和碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)评价表明,HA颗粒的加入提高了支架的生物相容性,使聚己内酯/HA支架中ALP活性高于聚己内酯。

2 HA/聚合物载生长因子支架

骨是一种高度矿化和血管化的组织,在骨重塑和愈合过程中,许多生长因子参与调节成骨和成血管,负载生长因子的HA/聚合物骨修复材料得到广泛研究。

骨形态发生蛋白2(bone morphogenetic protein 2, BMP-2)是最常见的骨诱导生长因子,可通过上调成骨相关蛋白的表达促进BMSC和成骨细胞的分化^[10]。由于BMP-2半衰期短,学者将BMP-2负载于HA/聚合物材料中,既可靶向缓释BMP-2而减少骨修复所需剂量,又可避免大剂量BMP-2带来的不良反应。Mohammadi等^[11]将BMP-2负载到HA/聚左乳酸复合材料, BMP-2在体外可缓释21 d。皮下异位成骨实验证实,与未负载BMP-2的材料相比,载BMP-2的材料可显著增强MSC的聚集和初级骨化中心形成。Bal等^[12]将聚乳酸-聚乙二醇/HA复合材料作为BMP-2载体,可实现BMP-2体外缓释25 d。将低剂量BMP-2负载于聚乳酸-聚乙二醇/HA复合材料植入大鼠脊柱间发现,复合材料可实现BMP-2缓慢释放,显著促进骨修复,术后8周91.6%的标本呈骨性融合。Zhao等^[13]利用聚多巴胺涂层将BMP-2负载于聚乳酸-羟基乙酸/HA支架上,复合支架可模拟天然细胞外基质持续缓释BMP-2,促进小鼠胚胎成骨细胞MC3T3-E1的黏附和增殖,提高细胞的ALP活性、成骨相关基因mRNA表达和钙沉积。

血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是最常见的血管生长因子,既可诱导血管新生,又可间接促进MSC分化为成骨细胞,促进成骨^[14]。然而,过量的VEGF可诱导大量血

管生成,使血管通透性增加,继而引起全身性低血压和水肿^[15],因此,适宜剂量的VEGF缓慢释放具有重要意义。Quinlan等^[16]利用海藻酸盐微粒包裹VEGF,并将其负载到胶原/HA支架上,复合支架可持续释放VEGF长达35d。大鼠颅骨缺损修复实验发现,与空白组和无VEGF的支架组相比,载VEGF的复合支架组缺损区可见更多的新生血管和骨组织,证实增强的骨生成与血管生成相关。Chen等^[17]将VEGF涂覆于HA/磷酸钙/聚己内酯支架,复合支架可显著增强人MSC和人脐静脉内皮细胞的增殖,促进血管性血友病因子、血管生成素1、骨钙蛋白、骨桥蛋白和BMP-2的表达。植入兔股骨缺损处,可促进血管生成、骨组织再生和矿化,较未负载VEGF的支架具有更优异的修复能力。Knaack等^[18]制得负载VEGF的肝素修饰的胶原蛋白/HA多孔支架,该支架可仿生骨基质缓慢释放VEGF,刺激血管形成,促进骨组织修复。

基于VEGF的成血管性能和BMP-2的成骨活性,学者们对载VEGF和BMP-2的HA/聚合物复合材料进行了研究,以构建仿生骨自然愈合的修复材料^[19-20]。Dou等^[21]制得载VEGF和BMP-2的HA/胶原蛋白支架,体外释放实验显示VEGF在14d时达到释放的峰值,BMP-2可缓释达21d,在正常骨修复过程中,VEGF释放在早期达到峰值,而BMP-2在后期达到峰值,即该复合支架实现了VEGF和BMP-2的顺序释放,且与自然骨修复模式一致。Godoy-Gallardo等^[22-23]制得HA/聚己内酯支架,利用聚多巴胺涂层将BMP-2和VEGF分别负载于支架的内外层,外层的VEGF在体外可快速释放,而内层的BMP-2缓慢、持久释放,这与自然骨愈合过程中生长因子的释放模式相似。细胞共培养实验显示,载双因子的复合支架可显著促进内皮衍生超极化因子1、VEGF-A、VEGF-R2、骨钙蛋白、ALP基因的表达,成骨活性优于只负载单因子的支架。Li等^[24]研究发现,载BMP-2/VEGF双因子的HA/丝素蛋白/聚己内酯支架植入兔桡骨缺损处12周,可见明显的板层骨形成,骨小梁规则排列,新生骨组织内无明显间隙,BMP-2和骨钙蛋白表达水平较单纯支架组、载单因子支架组明显升高。

3 HA/聚合物载细胞支架

MSC是多潜能干细胞,可以分化成多种间充

质细胞类型,包括成骨细胞、软骨细胞等,从而有助于间充质组织的再生,如骨、软骨等。与特定的细胞(成纤维细胞、成骨细胞和软骨细胞)相比,使用MSC能够在再生过程中替代缺乏的内源性细胞,以及更新具有高增殖潜力的细胞^[25]。基于细胞的骨组织工程是开发先进支架的一个重要方向,被学者广泛研究,以期制备出可用于骨修复的材料^[26-27]。

Ruan等^[28]将丝素蛋白/壳聚糖/纳米HA三维支架与BMSC共培养,BMSC在支架表面黏附和生长形成网状结构,支架表面形成了钙结节,BMSC增殖、ALP活性、细胞中的Ca²⁺含量均明显提高。兔桡骨缺损处植入载细胞的复合支架,新骨逐渐形成,骨缺损在12周后逐渐修复,骨修复能力显著优于未载细胞的支架。骨质疏松症是一种常见的导致骨折风险增高的骨病,与骨愈合延迟和骨再生障碍有关。Hejazi等^[29]制得弹性蛋白/聚己内酯/纳米HA多孔支架,将复合支架结合BMSC用于骨缺损的再生。研究发现该复合支架为细胞的附着、生长、迁移和增殖提供了适宜的环境,骨质疏松大鼠股骨临界尺寸骨缺损处植入复合支架,术后30d见修复部位BMP-2和VEGF的表达水平明显升高,载细胞支架组的成骨细胞数量增加,破骨细胞数量减少,提示该复合支架与BMSC联合应用,可能改善骨质疏松模型大鼠的骨修复过程,加速骨化,有望用于骨质疏松性骨缺损修复。Naudot等^[30]利用静电纺丝和3D打印技术制备了聚己内酯-纳米HA仿生多孔支架,该支架对BMSC表现出良好的相容性,将载BMSC的仿生支架植入大鼠临界大小的颅骨缺损模型2个月,微型CT(micro-CT)和组织学评估证实,与单纯支架相比,支架与BMSC的结合显著增加了新生骨量和矿化再生,可促进骨修复过程。Volkov等^[31]利用聚3-羟基丁酸酯和HA制得的支架在体外支持MSC生长并可诱导细胞成骨分化,增加ALP活性和CD45表型标志物的表达;将包埋MSC的海藻酸盐水凝胶与支架复合并植入大鼠颅骨临界尺寸骨缺损处第22天至第28天时,载细胞支架的新生骨量是聚3-羟基丁酸酯/HA支架和聚3-羟基丁酸酯/HA/海藻酸盐支架的3.6倍,由此可见,MSC负载于具有生物活性的生物聚合物/矿物/水凝胶支架中具有改善非负重部位临界尺寸骨缺损骨再生过程的潜力。Rogulska等^[32]

将脂肪组织来源的MSC负载于胶原/纳米HA支架,体外实验显示,该支架为诱导细胞成骨分化提供了适宜的微环境,可提高ALP活性,动物体内植入实验证实,复合支架可加速编织骨组织的形成、骨小梁的成熟和骨缺损处的血管形成。以上研究表明,HA/聚合物仿生支架和基于MSC的组织工程方法在骨组织再生方面具有巨大潜力,但MSC具有多向分化潜能,如何促进其定向分化为成骨细胞是今后研究中应该关注的问题。

4 HA/聚合物载药支架

局部给药系统可以有效克服全身给药的弊端,实现药物释放的全周期控制和局部有效的药物浓度,HA/聚合物复合支架作为药物载体,可以添加不同的携带靶点(如抗生素、抗癌药、抗骨质疏松药、天然提取物等),以满足临床外科治疗的局部和特殊需要^[3,33-35]。

Cao等^[36]将硫酸庆大霉素与多孔HA/聚乳酸-羟基乙酸共聚物载药微球骨支架结合,抗菌性能和骨细胞活性实验显示,复合支架上的硫酸庆大霉素可以持续稳定地释放17d以上,有效抑制金黄色葡萄球菌生长,且能显著改善MC3T3-E1细胞的增殖活性,使其14d的活性提高20%,这种复合骨支架兼具抗菌和成骨双重作用,可实现抗生素的缓释,避免高剂量和长期使用全身性抗生素导致的不良反应,对细菌感染引起的骨髓炎和骨损伤的防治具有重要的临床意义。早期在病灶内维持有效的药物浓度对于骨关节结核的治疗和内部感染的预防至关重要。Xie等^[37]将异烟肼负载于壳聚糖上,再经戊二醛交联到多孔纳米HA/聚酰胺66支架上,可实现异烟肼体外约15d和体内约28d的有效释放,抑制结核分枝杆菌活性、增殖和黏附,具有优异的抗结核作用,同时兔股骨缺损修复实验表明复合支架具有良好的骨传导和骨整合作用。骨肿瘤手术后骨缺损修复及预防骨肿瘤复发是临床医师面临的一个挑战,理想的修复材料应能在抑制肿瘤生长的同时修复骨组织缺损。Lu等^[38]将多柔比星负载于由纳米层片状HA和聚乳酸-羟基乙酸制备的支架上,并使用聚多巴胺对支架进行表面改性,该复合载药支架可控制多柔比星的持续释放,高效抑制骨肉瘤细胞生长,又能促进MC3T3-E1细胞增殖,促进缺损区域新骨的生长。由此可见,兼具抗肿瘤

和骨修复双重功能的载药复合支架在骨肿瘤治疗中具有潜在的应用前景。淫羊藿苷是一种黄酮类化合物,可促进MSC的成骨分化、成骨基因表达、骨钙素的合成与分泌,增加ALP活性^[39-40],常被用于治疗骨质疏松症,具有良好的骨科应用前景^[41]。Sun等^[42]制备了负载淫羊藿苷的HA/海藻酸钠复合支架,该支架具有良好的生物相容性和机械性能,对淫羊藿苷的缓慢控制释放可持续促进新骨形成,具有较强的骨缺损再生潜能。柚皮苷是一种多甲氧基类黄酮,据报道,它可以促进成骨细胞分化、增殖、成熟,抑制破骨细胞活性,并可在体外和体内刺激骨形成^[43-44]。Yu等^[45]研制了一种基于柚皮苷/明胶微球/纳米HA/丝素蛋白的骨支架,该支架能控制释放柚皮苷,显著诱导BMP-2等成骨蛋白的表达,增强大鼠BMSC的黏附、增殖、成骨分化和矿化。移植体内16周后,载药复合支架完全降解,同时骨质疏松大鼠第6腰椎临界骨缺损被新骨组织修复,支架降解速度与骨缺损修复速度相匹配。

受损骨组织周围的血管较少,骨组织血管化不良会阻碍药物的渗透,通常情况下,只有一小部分药物到达损伤部位,这可能会导致无法控制的骨感染、肿瘤细胞继续生长、骨愈合延迟或骨不连。HA/聚合物复合支架负载药物可实现药物局部缓慢释放,避免药物的大剂量和长时间使用产生的严重不良反应,达到抗菌、抗癌和促骨再生的作用,实现最大药物效率和最小不良反应之间的平衡,对于临床骨病的防治具有非常重要的意义。

5 小结与展望

骨缺损或损伤的修复重建是目前骨科医师常面临的问题,HA/聚合物复合支架具有优异的机械性能、成骨性能和缓释功能,作为骨组织再生支架和生长因子、细胞、药物载体应用于骨修复重建取得了一定的进展,但仍存在一些问题有待解决^[46]。HA/聚合物复合支架抗压强度较低,只能用于非负重部位骨修复,无法应用于负重部位的骨修复重建;复合支架的降解速度偏慢,无法与新骨形成过程较好的匹配;目前有关HA/聚合物复合支架的研究主要集中于基础研究,相关临床研究较少;骨修复是一个缓慢过程,多种生物分子、细胞参与其中,骨损伤原因也存在复杂性,如何实现支架负载

物的有效缓释,仍有待深入研究。为获得性能优异的复合骨修复材料,可从以下几点进行改进:

(1) 结合自然骨的结构特点,制备仿生多孔分层网络结构的HA/聚合物复合支架;(2) 利用功能性金属离子掺杂改性HA^[47],改善复合支架的力学性能;(3) 进行多成分复合,利用生物玻璃、磷酸钙等无机物和聚乳酸-羟基乙酸-聚乙二醇-聚乳酸-羟基乙酸等有机物对HA/聚合物复合支架进行改性,增加材料的机械性能和成骨诱导活性等。相信随着生物材料和骨组织工程的发展,未来骨修复材料必将取得重大进步,为临床患者带来福音。

[参考文献]

- [1] PARK H M, KIM S H, CHOI B H, et al. Effects of induction culture on osteogenesis of scaffold-free engineered tissue for bone regeneration applications[J]. *Tissue Eng Regen Med*, 2022, 19(2): 417-429. DOI: 10.1007/s13770-021-00418-0.
- [2] ANITA LETT J, SAGADEVAN S, FATIMAH I, et al. Recent advances in natural polymer-based hydroxyapatite scaffolds: properties and applications[J]. *Eur Polym J*, 2021, 148: 110360. DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2021.110360.
- [3] MULAZZI M, CAMPODONI E, BASSI G, et al. Medicated hydroxyapatite/collagen hybrid scaffolds for bone regeneration and local antimicrobial therapy to prevent bone infections[J]. *Pharmaceutics*, 2021, 13(7): 1090. DOI: 10.3390/pharmaceutics13071090.
- [4] SHI J, ZHAO H, WU F, et al. Synthesis and characterization of an injectable rifampicin-loaded chitosan/hydroxyapatite bone cement for drug delivery[J]. *J Mater Res*, 2021, 36(2): 487-498. DOI: 10.1557/s43578-020-00027-y.
- [5] YAO S, SHANG Y, REN B, et al. A novel natural-derived tilapia skin collagen mineralized with hydroxyapatite as a potential bone-grafting scaffold[J]. *J Biomater Appl*, 2022, 37(2): 219-237. DOI: 10.1177/08853282221086246.
- [6] NGA N K, THANH TAM L T, HA N T, et al. Enhanced biomineralization and protein adsorption capacity of 3D chitosan/hydroxyapatite biomimetic scaffolds applied for bone-tissue engineering[J]. *RSC Adv*, 2020, 10(70): 43045-43057. DOI: 10.1039/d0ra09432c.
- [7] MAHMOUD E M, SAYED M, EL-KADY A M, et al. *In vitro* and *in vivo* study of naturally derived alginate/hydroxyapatite bio composite scaffolds[J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 165: 1346-1360. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2020.10.014.
- [8] ZIMINA A, SENATOV F, CHOUDHARY R, et al. Biocompatibility and physico-chemical properties of highly porous PLA/HA scaffolds for bone reconstruction[J]. *Polymers*, 2020, 12(12): 2938. DOI: 10.3390/polym12122938.
- [9] REZANIA N, ASADI-EYDIVAND M, ABOLFATHI N, et al. Three-dimensional printing of polycaprolactone/hydroxyapatite bone tissue engineering scaffolds mechanical properties and biological behavior[J]. *J Mater Sci Mater Med*, 2022, 33(3): 31. DOI: 10.1007/s10856-022-06653-8.
- [10] SUN X, ZHANG X, JIAO X, et al. Injectable bioactive polymethyl methacrylate-hydrogel hybrid bone cement loaded with BMP-2 to improve osteogenesis for percutaneous vertebroplasty and kyphoplasty[J]. *Bio-Des Manuf*, 2022, 5(2): 318-332. DOI: 10.1007/s42242-021-00172-1.
- [11] MOHAMMADI M, ALIBOLANDI M, ABNOUS K, et al. Fabrication of hybrid scaffold based on hydroxyapatite-biodegradable nanofibers incorporated with liposomal formulation of BMP-2 peptide for bone tissue engineering[J]. *Nanomedicine*, 2018, 14(7): 1987-1997. DOI: 10.1016/j.nano.2018.06.001.
- [12] BAL Z, KORKUSUZ F, ISHIGURO H, et al. A novel nano-hydroxyapatite/synthetic polymer/bone morphogenetic protein-2 composite for efficient bone regeneration[J]. *Spine J*, 2021, 21(5): 865-873. DOI: 10.1016/j.spinee.2021.01.019.
- [13] ZHAO X, HAN Y, LI J, et al. BMP-2 immobilized PLGA/hydroxyapatite fibrous scaffold via polydopamine stimulates osteoblast growth[J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2017, 78: 658-666. DOI: 10.1016/j.msec.2017.03.186.
- [14] LEE J H, WOO D K, KIM T H, et al. *In vitro* and long-term (2-year follow-up) *in vivo* osteogenic activities of human periosteum-derived osteoblasts seeded into growth factor-releasing polycaprolactone/pluronic F127 beads scaffolds[J]. *J Biomed Mater Res A*, 2017, 105(2): 363-376. DOI: 10.1002/jbm.a.35907.
- [15] MARTINO M M, BRIQUEZ P S, MARUYAMA K, et al. Extracellular matrix-inspired growth factor delivery systems for bone regeneration[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2015, 94: 41-52. DOI: 10.1016/j.addr.2015.04.007.
- [16] QUINLAN E, LÓPEZ-NORIEGA A, THOMPSON E M, et al. Controlled release of vascular endothelial growth factor from spray-dried alginate microparticles in collagen-hydroxyapatite scaffolds for promoting vascularization and bone repair[J]. *J Tissue Eng Regen Med*, 2017, 11(4): 1097-1109. DOI: 10.1002/term.2013.
- [17] CHEN C Y, CHEN C C, WANG C Y, et al. Assessment of the release of vascular endothelial growth factor from 3D-printed poly-ε-caprolactone/hydroxyapatite/calcium

- sulfate scaffold with enhanced osteogenic capacity[J]. *Polymers*, 2020, 12(7): 1455. DOI: 10.3390/polym12071455.
- [18] KNAACK S, LODE A, HOYER B, et al. Heparin modification of a biomimetic bone matrix for controlled release of VEGF[J]. *J Biomed Mater Res A*, 2014, 102(10): 3500-3511. DOI: 10.1002/jbm.a.35020.
- [19] REN Q, CAI M, ZHANG K, et al. Effects of bone morphogenetic protein-2 (BMP-2) and vascular endothelial growth factor (VEGF) release from polylactide-poly(ethylene glycol)-polylactide (PELA) microcapsule-based scaffolds on bone[J]. *Braz J Med Biol Res*, 2017, 51: 6520. DOI: 10.1590/1414-431x20176520.
- [20] BAO X, ZHU L, HUANG X, et al. 3D biomimetic artificial bone scaffolds with dual-cytokines spatiotemporal delivery for large weight-bearing bone defect repair[J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 7814. DOI: 10.1038/s41598-017-08412-0.
- [21] DOU D D, ZHOU G, LIU H W, et al. Sequential releasing of VEGF and BMP-2 in hydroxyapatite collagen scaffolds for bone tissue engineering: design and characterization[J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 123: 622-628. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.11.099.
- [22] GODOY-GALLARDO M, PORTOLÉS-GIL N, LÓPEZ-PERIAGO A M, et al. Multi-layered polydopamine coatings for the immobilization of growth factors onto highly-interconnected and bimodal PCL/HA-based scaffolds[J]. *Mater Sci Eng C*, 2020, 117: 111245. DOI: 10.1016/j.msec.2020.111245.
- [23] GODOY-GALLARDO M, PORTOLÉS-GIL N, LÓPEZ-PERIAGO A M, et al. Immobilization of BMP-2 and VEGF within multilayered polydopamine-coated scaffolds and the resulting osteogenic and angiogenic synergy of co-cultured human mesenchymal stem cells and human endothelial progenitor cells[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(17): 6418. DOI: 10.3390/ijms21176418.
- [24] LI X, YE F, LI G, et al. 3D printed hydroxyapatite/silk fibroin/polycaprolactone artificial bone scaffold and bone tissue engineering materials constructed with double-transfected bone morphogenetic protein-2 and vascular endothelial growth factor mesenchymal stem cells to repair rabbit radial bone defects[J]. *Nanosci Technol Lett*, 2020, 12(3): 368-375. DOI: 10.1166/nl.2020.3112.
- [25] FU X, LIU G, HALIM A, et al. Mesenchymal stem cell migration and tissue repair[J]. *Cells*, 2019, 8(8): 784. DOI: 10.3390/cells8080784.
- [26] VADAYE KHEIRY E, FAZLY BAZZAZ B S, KERACHIAN M A. Implantation of stem cells on synthetic or biological scaffolds: an overview of bone regeneration[J]. *Biotechnol Genet Eng Rev*, 2021, 37(2): 238-268. DOI: 10.1080/02648725.2021.2003590.
- [27] RESSLER A, ANTUNOVIĆ M, TERUEL-BIOSCA L, et al. Osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells on substituted calcium phosphate/chitosan composite scaffold[J]. *Carbohydr Polym*, 2022, 277: 118883. DOI: 10.1016/j.carbpol.2021.118883.
- [28] RUAN S Q, DENG J, YAN L, et al. Composite scaffolds loaded with bone mesenchymal stem cells promote the repair of radial bone defects in rabbit model[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 97: 600-606. DOI: 10.1016/j.biopha.2017.10.110.
- [29] HEJAZI F, EBRAHIMI V, ASGARY M, et al. Improved healing of critical-size femoral defect in osteoporosis rat models using 3D elastin/polycaprolactone/nHA scaffold in combination with mesenchymal stem cells[J]. *J Mater Sci Mater Med*, 2021, 32(3): 27. DOI: 10.1007/s10856-021-06495-w.
- [30] NAUDOT M, GARCIA GARCIA A, JANKOVSKY N, et al. The combination of a poly-caprolactone/nano-hydroxyapatite honeycomb scaffold and mesenchymal stem cells promotes bone regeneration in rat calvarial defects[J]. *J Tissue Eng Regen Med*, 2020, 14(11): 1570-1580. DOI: 10.1002/term.3114.
- [31] VOLKOV A V, MURAEV A A, ZHARKOVA I I, et al. Poly(3-hydroxybutyrate)/hydroxyapatite/alginate scaffolds seeded with mesenchymal stem cells enhance the regeneration of critical-sized bone defect[J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2020, 114: 110991. DOI: 10.1016/j.msec.2020.110991.
- [32] ROGULSKA O Y, TRUFANOVA N A, PETRENKO Y A, et al. Generation of bone grafts using cryopreserved mesenchymal stromal cells and macroporous collagen-nano-hydroxyapatite cryogels[J]. *J Biomed Mater Res B App Biomater*, 2022, 110(2): 489-499. DOI: 10.1002/jbm.b.34927.
- [33] LIANG T, WU J, LI F, et al. Drug-loading three-dimensional scaffolds based on hydroxyapatite-sodium alginate for bone regeneration[J]. *J Biomed Mater Res A*, 2021, 109(2): 219-231. DOI: 10.1002/jbm.a.37018.
- [34] WANG J, TAO Y, PING Z, et al. Icarin attenuates titanium-particle inhibition of bone formation by activating the Wnt/ β -catenin signaling pathway *in vivo* and *in vitro*[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 23827. DOI: 10.1038/srep23827.
- [35] ZHANG G, CHENG X, ZHOU G, et al. New pathway of icaritin-induced MSC osteogenesis: transcriptional activation of TAZ/Runx2 by PI3K/Akt[J]. *Open Life Sci*, 2017, 12(1): 228-236. DOI: 10.1515/biol-2017-0027.
- [36] CAO X, DAI L, SUN S, et al. Preparation and performance of porous hydroxyapatite/poly(lactic-

- co*-glycolic acid) drug-loaded microsphere scaffolds for gentamicin sulfate delivery[J]. *J Mater Sci*, 2021, 56(27): 15278-15298. DOI: 10.1007/s10853-021-06183-8.
- [37] XIE T, SONG Y, PENG H, et al. A bioactive implant combining isoniazid with nanohydroxyapatite/polyamide 66 for the treatment of osteoarticular tuberculosis[J]. *Mater Des*, 2021, 210: 110064. DOI: 10.1016/j.matdes.2021.110064.
- [38] LU Y, WAN Y, GAN D, et al. Enwrapping polydopamine on doxorubicin-loaded lamellar hydroxyapatite/poly(lactic-*co*-glycolic acid) composite fibers for inhibiting bone tumor recurrence and enhancing bone regeneration[J]. *ACS Appl Bio Mater*, 2021, 4(8): 6036-6045. DOI: 10.1021/acsabm.1c00297.
- [39] BREATHWAITE E, WEAVER J, ODANGA J, et al. 3D bioprinted osteogenic tissue models for *in vitro* drug screening[J]. *Molecules*, 2020, 25(15): 3442. DOI: 10.3390/molecules25153442.
- [40] CHENG Y H, DONG J C, BIAN Q. Small molecules for mesenchymal stem cell fate determination[J]. *World J Stem Cells*, 2019, 11(12): 1084-1103. DOI: 10.4252/wjsc.v11.i12.1084.
- [41] LOU D, YE J, YANG L, et al. Icariin stimulates differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells (BM-MSCs) through activation of cAMP/PKA/CREB[J]. *Braz J Pharm Sci*, 2019, 55. DOI: 10.1590/s2175-97902019000218300.
- [42] SUN H, ZHANG C, ZHANG B, et al. 3D printed calcium phosphate scaffolds with controlled release of osteogenic drugs for bone regeneration[J]. *Chem Eng J*, 2022, 427: 130961. DOI: 10.1016/j.cej.2021.130961.
- [43] WANG W, MAO J, CHEN Y, et al. Naringin promotes osteogenesis and ameliorates osteoporosis development by targeting JAK2/STAT3 signalling[J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2022, 49(1): 113-121. DOI: 10.1111/1440-1681.13591.
- [44] WU G J, CHEN K Y, YANG J D, et al. Naringin improves osteoblast mineralization and bone healing and strength through regulating estrogen receptor alpha-dependent alkaline phosphatase gene expression[J]. *J Agric Food Chem*, 2021, 69(44): 13020-13033. DOI: 10.1021/acs.jafc.1c04353.
- [45] YU X, SHEN G, SHANG Q, et al. A naringin-loaded gelatin-microsphere/nano-hydroxyapatite/silk fibroin composite scaffold promoted healing of critical-size vertebral defects in ovariectomised rat[J]. *Int J Biol Macromol*, 2021, 193(Pt A): 510-518. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2021.10.036.
- [46] 齐军强,王浩田,肖冰,等.羟基磷灰石/聚合物骨修复材料的特性及问题[J]. *中国组织工程研究*, 2024, 28(10): 1592-1598. DOI: 10.12307/2024.313.
- [47] 齐军强,郭超,牛东阳,等.金属离子掺杂羟基磷灰石骨修复材料的特性及应用[J]. *中国组织工程研究*, 2023, 27(21): 3415-3422. DOI: 10.12307/2023.179.

[本文编辑] 商素芳