

在结构和功能上与人体骨的无机成分相似；2)良好的生物可降解性；3)材料本身及其降解产物不引起机体毒性反应；4)具有三维立体结构及良好的多孔性能、比表面积；5)能够保证药物在被运达靶向部位后再释放，且其运输方式可受调控；6)载体材料降解的同时，药物初期的“突释”时间较短，能达到稳定、高效的缓释效果；7)足够的机械强度，以满足骨缺损修复的力学要求。磷酸钙类支架材料基本满足上述条件，在实验研究中取得了较好的效果。

2 磷酸钙类支架材料的特性

与传统支架材料相比，磷酸钙支架材料具有良好的生物相容性及可降解性，降解后不产生毒性产物。其理化性能相对稳定，不易发生水解和酶解反应。磷酸钙支架材料的空间立体网状骨架和相互连通的孔结构有利于骨细胞的黏附和长入，促使材料和骨组织达到良好的机械结合^[4-5]。此外，磷酸钙支架材料与骨组织的无机成分在结构上具有高度的相似性，在与生长因子、生物活性蛋白或者骨源性药物等复合后，能产生较好的骨诱导性^[7]，其中，以最常使用的羟磷灰石（hydroxyapatite, HA）和 β -磷酸三钙（tricalcium phosphate, TCP）为代表，其因能与宿主骨组织形成较强的结合，而被广泛用于骨组织工程研究中^[5,8]。

3 磷酸钙支架材料的制备和结构组成

对于应用于骨组织工程中的支架材料来说，除了具备良好的生物学性能和机械性能外^[9]，其结构特征也十分重要。三维立体网络骨架和相互连通的孔状结构有利于细胞的黏附增殖、营养物质的运输以及宿主组织与支架间的机械嵌合^[5,10-11]。通常情况下，磷酸钙支架在加工后要经高温烧结处理来获得较高的表面密度和足够的机械强度，以抵抗体内压力和和应用位点处的力量加载，直到新形成的骨组织完全取代可吸收性支架材料^[12]。但传统技术在制造复杂的磷酸钙支架材料时，常常无法精确地掌控支架材料的孔径大小、孔隙分布以及孔隙连通度等影响因素，不同于传统技术的实体自由形状制造技术，在设计和制作形状复杂的支架材料时，有一定的灵活性^[13-15]。该技术直接使用计算机辅助设计的数据外存储器来制造支

架，避免了上述影响因素的不可控性，从而能够精确地制备出空间结构复杂的支架结构，其中以选择性激光烧结、激光光固化、熔化沉积以及3D打印等方法的应用最为广泛^[16-17]。

4 磷酸钙支架材料在药物/生长因子释放中的应用及其孔结构的影响

理想情况下，新生组织在占据了一定的空间位置后，磷酸钙支架最终会完全降解，且其降解率取决于不同类型磷酸钙的溶解度。磷酸钙支架材料具有独特的多孔结构，且每种支架材料可包含2种类型的孔结构：即大孔结构（孔径 $>50\ \mu\text{m}$ ）和微孔结构（孔径 $<10\ \mu\text{m}$ ）^[18-19]。孔隙百分比低的HA支架是指孔隙率为50%~55%、孔径平均直径约 $110\ \mu\text{m}$ ，且具有较高孔隙连通度的支架；而孔隙百分比高的HA支架则是指孔隙率为60%~65%、孔径平均直径约 $140\ \mu\text{m}$ ，且孔隙连通度较低的HA支架。相互连通的孔结构有效增加了支架材料与周围组织的接触面积，增强了二者之间的机械嵌合作用^[9,11]。

生长因子、骨形态发生蛋白（bone morphogenetic protein, BMP）和间充质干细胞等可通过骨诱导作用，促使新骨生成或者通过血管化作用促进血管生成，从而进一步提高多孔支架材料的生物学性能^[3,7,18]。肝细胞生长因子通过诱导血管内皮生长因子的表达，促进了新生血管的形成。已有研究^[20]表明，肝细胞生长因子不仅能促进成骨细胞的增殖，还能增强磷酸钙材料的生物活性。Hossain等^[21]研究发现，与未加入生长因子的支架材料相比，以HA为基骨，加载有人生长因子的磷酸钙支架，可显著促进其表面成骨细胞的细胞分化作用。Koempel等^[22]在兔颅骨骨密质表面植入了负载重组人骨形态发生蛋白-2（recombinant human bone morphogenetic protein-2, rhBMP-2）的多孔HA复合体后，观察发现，rhBMP-2可被运输至HA表面，从而促进移植物与骨组织的结合。Takahashi等^[23]通过山羊颈椎前路融合模型证明，在多孔HA中加入rhBMP-2可诱导骨生成，从而提高颈椎前路的融合率。众多研究^[24-25]表明：HA支架中微孔结构（ $2\sim 8\ \mu\text{m}$ ）的存在可显著改善支架材料的骨传导性，而加入的生长因子可维持其作用的持久性，正是由于微孔结构的存在。Polak等^[26]则证明，与不含微孔的支架材料相比，支架中微孔结

构的存在使组织愈合的速度达到原来的2倍；而在加入了BMP-2的微孔磷酸钙材料中，其组织的愈合速度是不加入时的4倍。

姜蔚然等^[27]制备的BMP-2共沉淀新型仿生磷酸钙支架材料，不仅可以维持BMP-2的稳定缓释，还可促进人来源脂肪间充质干细胞的成骨向分化以及类骨样组织的形成。Roldán等^[28]研究表明，培养于负载BMP-7和血管内皮生长因子的多孔双相磷酸钙支架（HA/TCP质量比为60/40，孔隙率92%~94%）表面的间充质干细胞，其成骨向分化能力明显强于对照组（未加入BMP-7）支架的表面细胞。

5 载药磷酸钙支架的药物释放途径及药物释放动力学

吸附于磷酸钙支架表面的药物释放情况，主要取决于磷酸钙与药物分子之间的化学和静电作用。当药物仅通过静电作用被吸收时，会产生药物的“突释”现象；而当药物分子与磷酸钙之间还存在化学作用时，药物的释放还取决于磷酸钙的溶解率或降解率^[3,29-30]。药物或者蛋白质分子可以通过浸渍的方式与聚合涂层结合，在磷酸钙/聚合物复合支架中，聚合涂层的存在正是为了保证药物能够持续释放而不发生“突释”。表面覆以聚合涂层的磷酸钙支架，其药物释放情况取决于药物分子在通过聚合涂层时的溶解作用，以及涂层本身的降解作用。孔隙率、孔径大小以及孔隙连通度等因素，都对药物的吸收率和释放途径有着重要影响^[3,31]。Kundu等^[32]发现，随着孔隙率的增加，比表面积相应增加，药物的吸收效率也随之增加，但孔隙率高的样本，其药物的洗脱率也越高。孔隙体积分数越大，支架材料中大孔结构的孔径越大，相比孔隙体积分数小和大孔孔径窄的材料而言，药物的溶解速率更快。

6 磷酸钙/聚合物复合支架材料的应用研究

生物可降解性聚合物常以表面涂层的形式，与磷酸钙联合制成陶瓷类复合支架，以提高材料的机械强度。表面聚合涂层可参与调控药物的释放过程，因而也应用于药物的输送中。近年来，相关研究的热点主要集中于如何将聚合涂层功能化，以增加其亲水性，从而更利于药物间的相互

作用及涂层与药物间的共价结合^[2,33]。Yoshida等^[34]研究结果显示，表面涂覆rhBMP-2的I型胶原纤维涂层HA支架在修复兔下颌骨骨缺损过程中，由于引入具有骨诱导性的rhBMP-2，在早期阶段即可观察到明显的新骨形成。Xue等^[35]将未发生明显变性作用的牛血清蛋白包裹聚己内酯（polycaprolactone, PCL）涂层覆盖于 β -TCP支架表面，结果发现，涂层中蛋白质的释放速率呈现出持续且可调控的趋势。而支架的整体强度主要取决于PCL涂层，随着PCL的浓度升高，涂层的压缩强度也相应增加，但孔隙率的增加则会导致涂层压缩强度的降低。已有研究^[25,36]表明：使用纤维蛋白封闭剂，可促进rhBMP-2在PCL和PCL/TCP复合支架表面的加载效率。PCL/TCP/纤维蛋白复合物比单纯PCL聚合物在维持rhBMP-2浓度方面效果更优，这可能与rhBMP-2和TCP之间形成了分子结合有关。目前，通过多种途径制备的HA/PCL复合支架已具有三维立体网状结构和相互连通的气孔结构，其孔隙率可达87%，孔径大小为150~200 μm ，其压缩强度和弹性模量都较单纯TCP支架有所增加。该类支架表面药物的释放速率主要取决于复合涂层的溶解速率，而该溶解速率又主要受HA/PCL质量比的影响。

7 小结

综上所述，磷酸钙支架材料与骨构建性生长因子或骨源性药物是骨组织工程DDS中的两大重要组成部分。如何有效改进支架材料的性能，以使二者达到最优化的结合，是目前骨组织工程中的研究重点。随着对该领域研究的不断深入以及对新型材料技术的进一步研发，以此为方向所研发的各类表面改性的磷酸钙/聚合物复合支架材料、骨诱导性双相磷酸钙支架材料、具有高气孔率的多孔磷酸钙支架材料以及新型纳米磷酸钙复合支架材料等应运而生，这些材料就不同方面针对性地改进了传统磷酸钙支架材料的生物学性能、理化性能和骨诱导性能，并在此基础上通过大量的实验研究，将其与生长因子类/骨源性药物相结合，旨在今后用于临床骨缺损和肌肉骨骼疾病的治疗^[97]。

磷酸钙支架DDS作为一种新型的给药方式，其缓释过程可控，生长因子/药物等能以高效、稳定的速率释放，从而有效作用于组织局部。利用

这一优势可针对临床患者的不同需求进行个体化治疗。磷酸钙支架材料本身具有良好的生物相容性、生物活性及可降解性,但由于目前尚缺乏大量临床试验的证据支持,磷酸钙支架DDS在开发应用方面尚面临着一些问题。尽管如此,随着研究的不断深入,在不久的将来,磷酸钙支架DDS必将迎来广阔的应用前景。

8 参考文献

- [1] Li Y, Xiao Y, Liu C. The horizon of materiobiology: a perspective on material-guided cell behaviors and tissue engineering[J]. *Chem Rev*, 2017, 117(5):4376-4421.
- [2] Oshiro JA, Sato MR, Scardueli CR, et al. Bioactive molecule-loaded drug delivery systems to optimize bone tissue repair[J]. *Curr Protein Pept Sci*, 2017, 18(8):850-863.
- [3] Bose S, Tarafder S. Calcium phosphate ceramic systems in growth factor and drug delivery for bone tissue engineering: a review[J]. *Acta Biomaterialia*, 2012, 8(4):1401-1421.
- [4] Samavedi S, Whittington AR, Goldstein AS. Calcium phosphate ceramics in bone tissue engineering: a review of properties and their influence on cell behavior[J]. *Acta Biomater*, 2013, 9(9):8037-8045.
- [5] Denry I, Kuhn LT. Design and characterization of calcium phosphate ceramic scaffolds for bone tissue engineering[J]. *Dent Mater*, 2016, 32(1):43-53.
- [6] Verron E, Bouler JM, Guicheux J. Controlling the biological function of calcium phosphate bone substitutes with drugs[J]. *Acta Biomater*, 2012, 8(10):3541-3551.
- [7] Sun H, Yang HL. Calcium phosphate scaffolds combined with bone morphogenetic proteins or mesenchymal stem cells in bone tissue engineering[J]. *Chin Med J*, 2015, 128(8):1121-1127.
- [8] Li J, Baker BA, Mou X, et al. Biopolymer/Calcium phosphate scaffolds for bone tissue engineering[J]. *Adv Healthc Mater*, 2014, 3(4):469-484.
- [9] Zhang J, Liu W, Schnitzler V, et al. Calcium phosphate cements for bone substitution: chemistry, handling and mechanical properties[J]. *Acta Biomater*, 2014, 10(3):1035-1049.
- [10] Bose S, Suguira S, Bandyopadhyay A. Processing of controlled porosity ceramic structures via fused deposition[J]. *Scripta Materialia*, 1999, 41(9):1009-1014.
- [11] Lin K, Wu C, Chang J. Advances in synthesis of calcium phosphate crystals with controlled size and shape[J]. *Acta Biomater*, 2014, 10(10):4071-4102.
- [12] Tajbakhsh S, Hajiali F. A comprehensive study on the fabrication and properties of biocomposites of poly(lactic acid)/ceramics for bone tissue engineering [J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2017, 70(Pt 1): 897-912.
- [13] Huang GS, Tseng CS, Linju Yen B, et al. Solid free-form-fabricated scaffolds designed to carry multicellular mesenchymal stem cell spheroids for cartilage regeneration[J]. *Eur Cell Mater*, 2013, 26:179-194.
- [14] Shanjani Y, Hu Y, Toyserkani E, et al. Solid free-form fabrication of porous calcium polyphosphate structures for bone substitute applications: *in vivo* studies[J]. *J Biomed Mater Res Part B Appl Biomater*, 2013, 101(6):972-980.
- [15] Kim TH, Yun YP, Park YE, et al. *In vitro* and *in vivo* evaluation of bone formation using solid freeform fabrication-based bone morphogenetic protein-2 releasing PCL/PLGA scaffolds[J]. *Biomed Mater*, 2014, 9(2):025008.
- [16] Sun W, Starly B, Darling A, et al. Computer-aided tissue engineering: application to biomimetic modeling and design of tissue scaffolds[J]. *Biotechnol Appl Biochem*, 2004, 39(Pt 1):49-58.
- [17] Butscher A, Bohner M, Hofmann S, et al. Structural and material approaches to bone tissue engineering in powder-based three-dimensional printing[J]. *Acta Biomater*, 2011, 7(3):907-920.
- [18] Will J, Melcher R, Treul C, et al. Porous ceramic bone scaffolds for vascularized bone tissue regeneration[J]. *J Mater Sci Mater Med*, 2008, 19(8):2781-2790.
- [19] Karageorgiou V, Kaplan D. Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis[J]. *Biomaterials*, 2005, 26(27):5474-5491.
- [20] Zambonin G, Camerino C, Greco G, et al. Hydroxyapatite coated with heparin stimulates human osteoblasts *in vitro*[J]. *J Bone Joint Surg Br*, 2000, 82(3):457-460.

- [21] Hossain M, Irwin R, Baumann MJ, et al. Heparin growth factor (HGF) adsorption kinetics and enhancement of osteoblast differentiation on hydroxyapatite surfaces[J]. *Biomaterials*, 2005, 26(15):2595-2602.
- [22] Koempel JA, Patt BS, O'Grady K, et al. The effect of recombinant human bone morphogenetic protein-2 on the integration of porous hydroxyapatite implants with bone[J]. *J Biomed Mater Res*, 1998, 41(3):359-363.
- [23] Takahashi T, Tominaga T, Watabe N, et al. Use of porous hydroxyapatite graft containing recombinant human bone morphogenetic protein-2 for cervical fusion in a caprine model[J]. *J Neurosurg*, 1999, 90 (2 Suppl): 224-230.
- [24] Crouzier T, Sailhan F, Becquart P, et al. The performance of BMP-2 loaded TCP/HAP porous ceramics with a polyelectrolyte multilayer film coating[J]. *Biomaterials*, 2011, 32(30):7543-7554.
- [25] Quinlan E, López-Noriega A, Thompson E, et al. Development of collagen-hydroxyapatite scaffolds incorporating PLGA and alginate microparticles for the controlled delivery of rhBMP-2 for bone tissue engineering[J]. *J Control Release*, 2015, 198:71-79.
- [26] Polak SJ, Levengood SK, Wheeler MB, et al. Analysis of the roles of microporosity and BMP-2 on multiple measures of bone regeneration and healing in calcium phosphate scaffolds[J]. *Acta Biomater*, 2011, 7(4):1760-1771.
- [27] 姜蔚然, 张晓, 刘云松, 等. 骨形态发生蛋白-2-磷酸钙共沉淀支架与人脂肪间充质干细胞构建新型组织工程化骨[J]. *北京大学学报(医学版)*, 2017, 49 (1):6-15.
Jiang WR, Zhang X, Liu YS, et al. A novel tissue-engineered bone constructed by using human adipose-derived stem cells and biomimetic calcium phosphate scaffold coprecipitated with bone morphogenetic protein-2[J]. *J Peking Univ (Health Sci)*, 2017, 49 (1):6-15.
- [28] Roldán JC, Detsch R, Schaefer S, et al. Bone formation and degradation of a highly porous biphasic calcium phosphate ceramic in presence of BMP-7, VEGF and mesenchymal stem cells in an ectopic mouse model[J]. *J Craniomaxillofac Surg*, 2010, 38(6):423-430.
- [29] Ossipov DA. Bisphosphonate-modified biomaterials for drug delivery and bone tissue engineering[J]. *Expert Opin Drug Deliv*, 2015, 12(9):1443-1458.
- [30] Son JS, Kwon TY, Kim KH. Osteogenic evaluation of porous calcium phosphate granules with drug delivery system using nanoparticle carriers[J]. *J Nanosci Nanotechnol*, 2015, 15(1):130-133.
- [31] Ginebra MP, Canal C, Espanol M, et al. Calcium phosphate cements as drug delivery materials[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2012, 64(12):1090-1110.
- [32] Kundu B, Soundrapandian C, Nandi SK, et al. Development of new localized drug delivery system based on ceftriaxone-sulbactam composite drug impregnated porous hydroxyapatite: a systematic approach for *in vitro* and *in vivo* animal trial[J]. *Pharm Res*, 2010, 27(8):1659-1676.
- [33] Jun W, Lin L, Yurong C, et al. Recent advances of calcium phosphate nanoparticles for controlled drug delivery[J]. *Mini Rev Med Chem*, 2013, 13(10):1501-1507.
- [34] Yoshida K, Bessho K, Fujimura K, et al. Enhancement by recombinant human bone morphogenetic protein-2 of bone formation by means of porous hydroxyapatite in mandibular bone defects[J]. *J Dent Res*, 1999, 78 (9):1505-1510.
- [35] Xue W, Bandyopadhyay A, Bose S. Polycaprolactone coated porous tricalcium phosphate scaffolds for controlled release of protein for tissue engineering[J]. *J Biomed Mater Res Part B Appl Biomater*, 2009, 91 (2):831-838.
- [36] Sadiasa A, Kim MS, Lee BT. Poly(lactide-co-glycolide acid)/biphasic calcium phosphate composite coating on a porous scaffold to deliver simvastatin for bone tissue engineering[J]. *J Drug Target*, 2013, 21(8):719-729.
- [37] Takahashi T. Improved therapeutic efficacy in bone and joint disorders by targeted drug delivery to bone[J]. *Yakugaku Zasshi*, 2016, 136(11):1501-1508.

(本文编辑 张玉楠)