

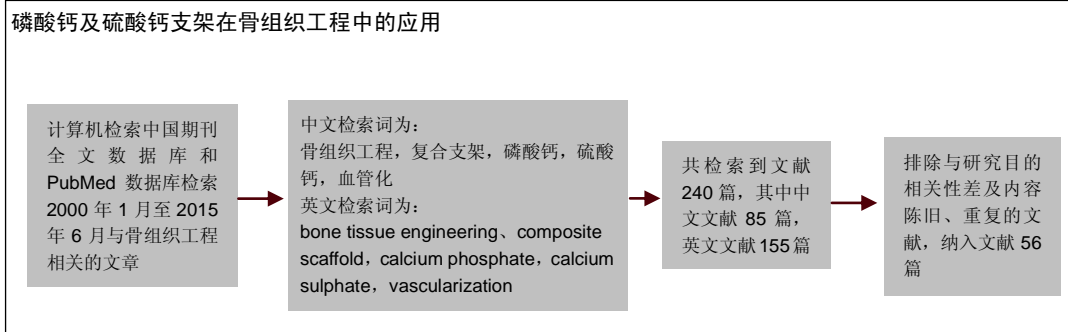
磷酸钙及硫酸钙支架在骨组织工程中的研究进展

张志达¹, 江晓兵², 沈耿杨¹, 任辉¹, 杨志东², 崔健超², 陈康², 唐晶晶², 莫凌², 林顺鑫¹, 梁德² (¹广州中医药大学第一临床医学院, 广东省广州市 510405; ²广州中医药大学第一附属医院, 广东省广州市 510405)

引用本文: 张志达, 江晓兵, 沈耿杨, 任辉, 杨志东, 崔健超, 陈康, 唐晶晶, 莫凌, 林顺鑫, 梁德. 磷酸钙及硫酸钙支架在骨组织工程中的研究进展[J]. 中国组织工程研究, 2016, 20(8):1203-1209.

DOI:10.3969/j.issn.2095-4344.2016.08.021 ORCID: 0000-0002-8009-0282(梁德)

文章快速阅读:



张志达, 男, 1991年生, 广东省河源市龙川县人, 汉族, 广州中医药大学在读硕士, 主要从事骨质疏松脊柱伤病研究。

通讯作者: 梁德, 主任医师, 广州中医药大学第一附属医院二骨科, 广东省广州市 510405

中图分类号: R318

文献标识码: B

文章编号: 2095-4344

(2016)08-01203-07

稿件接受: 2015-11-25

http://www.crter.org

文题释义:

磷酸钙: 化学结构本品为不同形式磷酸钙组成的混合物。不溶于乙醇和丙酮, 微溶于水, 易溶于稀盐酸和硝酸, 可以用作抗结剂、酸度调节剂、营养增补剂、增香剂、稳定剂、水分保持剂。

硫酸钙: 为白色单斜结晶或结晶性粉末, 无气味, 有吸湿性, 128 °C失去1分子结晶水, 163 °C全部失水, 溶于酸、硫代硫酸钠和铵盐溶液, 在热水中溶解较少, 极慢溶于甘油, 不溶于乙醇和多数有机溶剂, 有刺激性, 通常含有2个结晶水, 在自然界中以石膏矿形式存在。

摘要

背景: 以磷酸钙和硫酸钙为主要成分, 复合其他一种或多种材料来改善或增加骨组织工程支架性能是目前的研究热点。

目的: 介绍两种支架在组织工程中的研究进展。

方法: 以“骨组织工程, 复合支架, 磷酸钙, 硫酸钙, 血管化; bone tissue engineering、composite scaffold, calcium phosphate, calcium sulphate, vascularization”为检索词, 应用计算机分别在检索中国期刊全文数据库和PubMed数据库检索2000年1月至2015年6月与骨组织工程相关的文章。

结果与结论: 磷酸钙和硫酸钙具备良好的生物相容性、可降解性、骨传导性和完全骨替代性等特性, 但单一成分的磷酸钙及硫酸钙均存在一定的缺点, 难以完全满足骨缺损修复的要求, 通过与不同材料复合, 可改进支架的机械强度、可注射性、降解性, 优化载药性能和促血管生成等, 在基础与临床研究中, 应根据治疗的目的来开发理想支架材料。目前绝大多数支架材料还处于体外试验和动物实验阶段, 关于不同复合型支架材料的对比研究、复合支架的最佳配比等方面仍待进一步深入研究。

关键词:

生物材料; 材料相容性; 磷酸钙; 硫酸钙; 骨组织工程; 复合支架; 综述; 国家自然科学基金

主题词:

磷酸钙类; 硫酸钙; 组织工程

基金资助:

国家自然科学基金(81503591); 广东省科学技术厅-广东省中医药科学院联合科研项目(2014A020221021); 广东省自然科学基金(2014A030310082); 广东省教育厅学科建设专项基金(育苗工程)[2013LYM-0012]; 广州中医药大学优秀青年学者科研基金(KAB110133K04); 广州中医药大学第一临床优博论文培育项目(YB201501)

Zhang Zhi-da, Studying for master's degree, the First Clinical Medical College of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, Guangdong Province, China

Research advancement of calcium phosphate and calcium sulfate scaffolds in bone tissue engineering

Zhang Zhi-da¹, Jiang Xiao-bing², Shen Geng-yang¹, Ren Hui¹, Yang Zhi-dong², Cui Jian-chao², Chen Kang², Tang Jing-jing², Mo Ling², Lin Shun-xin¹, Liang De² (¹the First Clinical Medical College of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, Guangdong Province, China; ²the First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, Guangdong Province, China)

Corresponding author:
Liang De, Chief physician, the First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, Guangdong Province, China

Abstract

BACKGROUND: It is a hotspot that calcium phosphate and calcium sulphate as the main ingredients are combined with one or more other materials to improve or increase the performance of bone tissue engineering scaffolds.

OBJECTIVE: To introduce the research advance of these two kinds of scaffolds in bone tissue engineering.

METHODS: The articles related to the bone tissue engineering published during January 2000 to June 2015 were retrieved from CNKI and PubMed databases by computer. The key words were "bone tissue engineering, scaffold, calcium phosphate, calcium sulphate, vascularization" in Chinese and English, respectively.

RESULTS AND CONCLUSION: Calcium phosphate and calcium sulfate are characterized as having good biocompatibility, biodegradability, osteoconductivity and complete bone substitutability. However, single use of calcium phosphate or calcium sulfate scaffold has certain disadvantages, both of which are difficult to fully meet the requirements of the bone defect repair. Improvement can be acquired in the mechanical strength, injectability and biodegradability, as well as drug-loading and pro-angiogenesis of the scaffold in combination with other materials. In the basal and clinical research, we should explore and develop ideal scaffolds in on the basis of therapeutic aim. However, most of the scaffold studies are still at the extracorporeal and animal experiment stage, and the comparative studies on composite scaffolds and optimal proportion of those composite scaffolds still need to be further investigated.

Subject headings: Calcium Phosphates; Calcium Sulfate; Tissue Engineering

Funding: the National Natural Science Foundation of China, No. 81503591; the Scientific Research Project of Science and Technology Department of Guangdong Province & Guangdong Provincial Academy of Traditional Chinese Medicine, No. 2014A020221021; the Natural Science Foundation of Guangdong Province, No. 2014A030310082; the Discipline Construction Foundation of Guangdong Provincial Education Department, No. 2013LYM-0012; the Excellent Youth Scholar Foundation of Guangzhou University of Chinese Medicine, No. KAB110133K04; the Youbo Paper Culture Project of the First Clinical College of Guangzhou University of Chinese Medicine, No. YB201501

Cite this article: Zhang ZD, Jiang XB, Shen GY, Ren H, Yang ZD, Cui JC, Chen K, Tang JJ, Mo L, Lin SX, Liang D. Research advancement of calcium phosphate and calcium sulfate scaffolds in bone tissue engineering. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2016;20(8):1203-1209.

0 引言 Introduction

骨组织工程支架应具备良好的生物相容性、可降解性、骨传导性和完全的骨替代性等特性。磷酸钙和硫酸钙具有良好的生物相容性、可降解吸收性、骨传导性, 而且具备其他骨组织工程支架材料所不可比拟的机械强度和生物活性, 因而已成为骨组织工程支架的基础材料。然而, 磷酸钙和硫酸钙也存在缺点, 如磷酸钙抗压强度相对小、脆性大等不足^[1-3]。所以, 成分单一的支架并不能完全满足临床要求, 为了更好地满足临床需求, 以磷酸钙和硫酸钙为主要成分、与其他一种或多种材料复合改进或增加支架性能的方式已成为近年来的研究热点。文章对以上两类材料在骨组织工程中的研究进展作一综述, 为新型复合支架进一

步的研究开发和性能完善提供一定方向和思路。

1 资料和方法 Data and methods

1.1 资料来源 以“骨组织工程, 复合支架, 磷酸钙, 硫酸钙, 血管化”为中文检索词, 以“bone tissue engineering, composite scaffold, calcium phosphate, calcium sulphate, vascularization”为英文检索词, 应用计算机分别在中国期刊全文数据库(CNKI)和PubMed数据库检索2000年1月至2015年6月与骨组织工程相关的文章; 所有文章经过初步筛选后, 对保留的文章进一步详细分析、归纳总结。

1.2 纳入与排除标准 ①纳入标准: 内容与骨组织工程密切相关; 涉及骨组织工程磷酸钙、硫酸钙复合支架

方面的研究。②排除标准:与本文相关性不强,或发表时间过早,参考价值不高,或已有更新的研究进展。

2 结果 Results

2.1 骨组织工程和支架 骨组织工程是组织工程领域的一个分支,主要针对骨再生及修复重建开展研究。骨缺损常继发于创伤、肿瘤等疾病,以往的治疗策略是自体或异体骨移植,而骨组织工程的出现革命性地改变了骨缺损再生修复的治疗策略。骨组织工程中应用的支架通常具有三维内部孔隙结构,为骨细胞黏附生长和骨组织长入提供充分空间。

2.2 理想支架材料应满足的条件 理想的支架材料须满足以下条件^[4-5]:①良好的生物相容性。②良好的可降解性。③骨传导性和骨诱导性^[6]。④良好的机械性能。⑤互联互通的孔隙结构^[7]。

2.3 骨组织工程支架材料 用于骨组织工程支架的材料主要可分为:①无机材料:主要是磷、硫酸钙等无机盐类,由于其在体内可被完全降解吸收,不影响新骨的生长和塑形,因而是支架材料的研究重点。②天然有机高分子材料:研究广泛的包括胶原、明胶、几丁质、藻酸盐、纤维蛋白、氨基葡糖聚糖等,这类材料大多具有良好的生物相容性和可降解性,并能促进细胞黏附和增殖,但最大的缺点是机械强度不足,降解速度难以控制。③人工合成高分子材料:目前研究较多的主要是聚酯类,包括聚乳酸、聚羟基乳酸及它们的共聚物和聚己内酯等,这类材料多用作细胞外基质的替代物,缺点是机械强度不足,缺少细胞识别位点,降解产物致pH下降,影响微环境,引起无菌性炎症反应等。④复合材料:骨组织工程研究中,磷、硫、硅酸钙等钙基无机材料是骨组织工程的主要支架或基础支架,天然有机高分子材料或人工合成高分子材料则多与其复合成复合支架置入缺损部位。

磷酸钙和硫酸钙是骨外科使用广泛的两种骨水泥,具有良好的生物相容性、骨传导性和生物活性,历经上百年临床应用史。相比其他常用支架材料,磷酸钙与硫酸钙具有无可比拟的骨传导性及生物活性,因而目前的骨缺损修复材料研究主要围绕二者开展。

2.3.1 磷酸钙类 磷酸钙是人体骨骼的主要无机成分,具有良好的生物相容性、一定的生物学活性及骨传导性^[8-12],使得磷酸钙骨水泥在临床上使用广泛。有回顾性分析指出,磷酸钙用于椎体融合具有良好的融合效果^[13]。磷酸钙的以上优点在很大程度上符合临床骨

缺损修复的要求。不同的磷酸钙中,羟基磷灰石、磷酸三钙和双相磷酸钙(含羟基磷灰石和磷酸三钙)是被研究最多的3种,它们的骨缺损修复效果已被证实^[14]。

磷酸钙与无机材料复合:β-磷酸三钙具有良好的骨传导性,但刺激成骨的活性较低^[15]。生物陶瓷如硅酸钙具有良好的生物相容性、生物活性和骨传导性,能促进磷灰石的快速形成,从而加快骨形成^[16-17]。Kao等^[18]将磷酸三钙与硅酸钙复合,不仅抗压强度明显增加,而且体外骨髓细胞培养实验结果显示,随着硅酸钙含量的增加,磷灰石沉积能力也明显提升,表明硅酸钙的加入增加了磷酸三钙的生物活性,促进了骨生成和基质矿化;另外,实验还提示随着硅酸钙的加入,复合材料有利于血管的生成和抗菌活性的提升。

磷酸钙与天然有机高分子材料复合:孔隙率直接影响着新生骨组织的长入,提高孔隙率有利于骨长入。磷酸钙过于致密的结构影响了它在体内的降解,因而导致细胞不能长入,阻碍了骨的形成^[19]。Nguyen等^[20]的研究中,将双相磷酸钙与透明质酸-明胶复合,可使支架获得高连通孔隙率,体外骨髓间充质干细胞培养实验结果显示细胞增殖明显加强,置入兔股骨缺损后明显加快了新骨的形成,此外体内细胞外基质蛋白如骨桥蛋白、骨钙素和I型胶原蛋白等的表达,证实了复合支架良好的刺激骨再生特性。支架材料的降解速率是影响骨再生的一个重要因素,磷酸钙虽然有良好的生物相容性,但过慢的降解速率导致其在体内长期存留^[21-23]。Yomoda等^[24]将Biopex-R骨水泥(主要成分为磷酸三钙、磷酸四钙和羟基磷灰石)与明胶复合置入犬股骨缺损中,结果显示材料降解速率明显提高,复合材料表现出良好的骨再生效果。

抗压强度是支架的一项重要特性。Lee等^[25]将双相磷酸钙(含羟基磷灰石和磷酸三钙)与胶原蛋白复合获得了更大的抗压强度。丝素蛋白是一种从蚕丝中提取的天然高分子纤维蛋白,它的加入可以使羟基磷灰石支架的抗压强度达到与承重骨皮质相当,并保持能够使骨细胞长入的孔隙率^[26]。来源于昆虫甲壳的壳聚糖具有良好的生物相容性、生物可降解性及无致敏性等优点。在Meng等^[27]的研究中,壳聚糖微球的加入使得支架材料的抗压强度提升;将复合材料置入白兔股骨髁部缺损,显示出快速的体内降解速率和新骨生成能力。此研究表明复合材料的生物活性增加,其体内降解为骨生长提供了更优的成骨环境,因而加速了骨再生过程。壳聚糖还可充当细胞载体, Yang等^[28]

的研究将犬间充质干细胞种植于 β -磷酸三钙/壳聚糖复合支架, 植入犬股骨缺损, 证实了复合支架可有效促进骨生成和血管化。

在骨缺损再生修复过程中, 新血管生成(即血管化)能够为细胞生长提供充足的氧气和营养物质, 也有利于代谢废物的排除, 起到促进新陈代谢的作用, 因而血管化在骨再生修复中起着关键作用。在Xiu等^[29]研究中, 将磷酸钙水泥支架与不同量的纤维蛋白胶复合并置入家兔腰背筋膜, 结果显示复合材料组血管生成较对照组(单纯磷酸钙)显著为多; 而磷酸钙(粉)质量与纤维蛋白胶体积(液)比为1:1(即 $g/L=1:1$)时, 复合支架具有最佳的促血管生成能力。精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸序列是整合素和其配体相互作用的识别位点, 能与血管新生时表达增高的整合素 $\alpha v\beta 3$ (参与内皮细胞迁移、增殖和分化等过程)特异性结合, 介导细胞与细胞外基质和细胞之间的相互作用^[30]。Chen等^[31]则将载精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸壳聚糖复合到磷酸钙骨水泥制得复合支架, 并将人脐静脉内皮细胞和人成骨细胞培养于其上, 结果新生血管累计长度显著高于对照组(单纯磷酸钙), 而成骨分化也较对照组增强。

磷酸钙与聚酯类复合:理想的支架需要高孔隙率和孔间连通, 为细胞的黏附和迁移、新生骨组织的长入提供足够的空间^[32]。Li等^[33]将多氨基酸共聚物复合到缺钙羟基磷灰石, 使支架孔隙率显著提高, 兔股骨缺损充填支架3个月后, 支架内完全被新生骨组织充填, 表明骨缺损修复良好。此外, 多位学者的研究表明磷酸钙与聚乳酸/聚羟基乳酸复合也可提高其孔隙率^[34-36]。Farokhi等^[37]将聚乳酸/聚羟基乳酸、丝素蛋白与磷酸钙复合, 经体外检测支架孔隙率显著提高; 将血小板衍生生长因子和血管内皮生长因子加载到此复合支架上, 获得了持续的因子释放性能, 而置入家兔颅骨缺损模型实验显示了新骨基质和新血管的形成。

聚酯类大多具有良好的生物相容性和生物降解性, 可制成纳米微球, 作为支架负载药物、细胞因子或医疗材料等的载体; 而其中聚乳酸/聚羟基乳酸是经FDA批准用于临床的一种高聚物, 而且生物相容性和可降解性优良, 因而目前对其研究也最为广泛。早期有报道指出置入大鼠体内的载骨形态发生蛋白磷酸钙/聚乳酸/聚羟基乳酸可缓慢释放骨形态发生蛋白, 而骨形态发生蛋白的释放在一定范围内可被人为

设计调节^[38]。Zhang等^[39]的实验中, 将聚乳酸/聚羟基乳酸微球作为辛伐他汀的主要载体与磷酸钙复合, 体外释药效果良好, 磷酸钙/聚乳酸/聚羟基乳酸/辛伐他汀复合支架取得良好的兔股骨缺损修复效果。此外, 聚酯类良好的延展性和一定的硬度, 可以提升支架的机械强度。Milovac等^[40]将聚己内酯覆盖于羟基磷灰石, 获得了更高的抗压强度并保持了原来连通孔隙结构的复合支架, 浸泡于平衡盐溶液4周后, 发现表面骨样磷灰石生成, 表明生物活性良好。借助热交联和真空冻干技术, β -磷酸三钙/聚甘油癸二酸酯复合支架获得了良好的抗压强度^[41]。磷酸钙也可用作辅助材料复合到其他类支架, 不仅可提高支架的机械强度, 还可增加支架的生物活性^[42]; Zhao等^[43]将磷酸钙均匀覆盖于载角蛋白聚己内酯支架上, 使复合支架获得更强的机械强度。

2.3.2 硫酸钙类 硫酸钙作为一种新型骨充填材料, 已经得到广泛应用, 众多文献表明其具有良好生物相容性、骨传导性及一定的骨诱导性^[44-45]。体外细胞培养研究证实, 硫酸钙对成骨细胞无毒性作用, 有利于成骨细胞贴附, 还能刺激成骨细胞的增殖和分化。硫酸钙与磷酸钙均具有良好的生物相容性和骨传导性, 相对而言, 硫酸钙具有更好的可注射性能, 但其机械强度更低、降解速率更快, 因此对硫酸钙支架的改进主要是基于增强机械强度和减缓降解速率的目的。

硫酸钙与无机材料复合:液态支架可用于不规则骨缺损, 不仅可以避免预先体外塑形, 也有利于细胞或/和生长因子在其中均匀分布, 因而具有广泛的应用前景。可注射性是影响液态支架临床应用的一个重要特性。薛震等^[46]将半水硫酸钙、羟基磷灰石与液态壳聚糖复合再加载骨髓间充质干细胞制得复合支架, 在兔桡骨缺损修复中取得了显著优于对照组的效果。该复合支架综合了羟基磷灰石良好的成骨活性和硫酸钙良好的可注射性能优势, 克服了硫酸钙强度不足和降解速度过快与羟基磷灰石可注射差和降解缓慢的缺点。Han等^[47]则将骨间质祖细胞加载到纳米羟基磷灰石/硫酸钙/胶原蛋白复合支架上, 植入裸鼠背部8周后有明显骨形成。谭迎赞等^[48]制得的半水硫酸钙/双相磷酸钙复合支架也具有较好的可注射性, 体外实验结果显示成骨细胞在材料表面生长良好, 与材料紧密结合。镁及其合金具有良好的生物相容性, 其密度和弹性模量与人体骨相似, 还能刺激新骨的生成, 目前已被作为支架应用于临床^[49-50]。Zhang等^[51]将经微

弧氧化处理的镁粉与半水硫酸钙复合, 进一步提高了支架的注射性能和机械性能, 支架置入犬胫骨缺损结果显示, 复合支架组的成骨效率明显高于硫酸钙支架组。Shen等^[52]分别将制得的硫酸钙/贝壳复合支架与硫酸钙支架分别置入家兔股骨缺损, 复合支架组表现出较对照组(硫酸钙)显著更强的促成骨作用。硫酸钙本身强度不足, 但与无机材料复合能增加支架的机械强度, 而硫酸钙能增加复合后支架的可注射性。

硫酸钙与天然有机高分子材料复合:理想的骨组织工程支架应包含材料支架、激活因子和种子细胞。种子细胞难以种植到固态支架深部势必会影响支架的临床疗效。He等^[53]将藻酸盐与可注射纳米硫酸钙复合, 获得了更大的机械性能; 并将骨形态发生蛋白2基因修饰大鼠的间充质干细胞种植其上, 植入大鼠的颅骨缺损, 结果显示支架上骨髓间充质干细胞成骨良好, 新生骨量和血管密度较对照组显著为多。Doty等^[54]用壳聚糖微球作为载体包封万古霉素和骨形态发生蛋白2, 再与硫酸钙骨水泥复合, 探讨了双给药体系的释药动力学。

2.4 支架材料特性及应用总结 磷酸钙类和硫酸钙类支架具有良好的生物相容性、可降解性和骨传性, 是在骨组织工程研究中使用最广泛的主体支架材料。但物无完物, 它们自身存在缺点和不足, 如抗压强度相对不足: 磷酸钙骨水泥的强度在松质骨与皮质骨强度之间, 硫酸钙的强度与松质骨相似^[55]; 虽然磷酸钙力学强度较好, 但可塑性差、降解慢, 尽管硫酸钙可注射性好, 但降解速率相对过快^[56]。目前, 对磷酸钙支架材料的改进主要在于增强机械强度、增加孔隙率、改善载药性能及提升降解速率等方面; 对硫酸钙支架材料的改进主要在于提升机械强度、减缓降解速率和优化载药性能等方面。如果需要增加支架的机械强度, 硅酸钙、壳聚糖、丝素蛋白、聚酯类、体内可降解金属或合金如镁及其合金等是良好的添加选择; 如果需要增加支架的孔隙率, 聚乳酸/聚羟基乳酸和明胶是良好的添加选择; 如果需要增加支架的载药性能, 壳聚糖是最优选择, 聚乳酸/聚羟基乳酸也是良好的可选材料; 而在调节支架的降解速率方面, 明胶和壳聚糖可增加降解速率, 而羟基磷灰石、磷酸三钙不仅能降低支架的降解速率, 也能增加支架的生物活性。由于聚酯类具有良好的韧性和延展性, 这或是降低支架脆性、增加可塑性的不错选择。虽然已有研究表明纤维蛋白胶可促支架血管化, 但此类报道尚属少

数; 目前促血管化的方法仍存在一定缺陷, 血管化仍是骨组织工程研究面临的重大挑战。

3 讨论 Discussion

磷酸钙和硫酸钙均具有良好的生物相容性及其他常用支架材料所不可比拟的骨传导性和生物活性, 具有新型复合支架研发的独特优势。但单一成分的磷酸钙及硫酸钙均存在一定的缺点, 难以完全满足骨缺损修复的要求, 通过与不同材料的复合可改进支架的机械强度、可注射性、降解性, 优化载药性能和促血管生成等, 在基础与临床研究中, 应根据治疗的目的来开发理想支架材料。理想的骨组织工程支架应含有支架材料、细胞和因子, 但细胞应用于临床仍然面临着不可跨越的伦理障碍, 使得目前含种子细胞的优良支架还处于体外试验和动物实验阶段; 另外, 关于不同复合型支架材料的对比研究、复合支架的最佳配比等方面仍待进一步深入研究, 是未来复合支架研究的方向。

致谢: 感谢广州中医药大学重点学科中医骨伤科实验室。

利益冲突: 所有作者共同认可文章内容不涉及相关利益冲突。

伦理问题: 无涉及伦理冲突的内容。

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: 本刊实行双盲外审制度, 文章经国内小同行外审专家审核, 符合本刊发稿宗旨。

作者声明: 第一作者对于研究和撰写的论文中出现的不端行为承担责任。论文中涉及的原始图片、数据(包括计算机数据库)记录及样本已按照有关规定保存、分享和销毁, 可接受核查。

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。

4 参考文献 References

- [1] 董伟强, 白波, 张妹江, 等. 纳米碳管处理磷酸钙骨水泥的生物相容性及其强度和韧性[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(29): 5363-5366.
- [2] 干旻峰, 杨惠林, 古彦铮, 等. 丝素蛋白对可注射磷酸钙骨水泥细胞相容性的影响[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2009, 13(3): 427-431.
- [3] 李轩琦, 孙康, 李政. 增强型磷酸钙骨水泥复合材料添加成分的研究现状[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2007, 11(35): 7057-7060.

- [4] Hutmacher DW. Scaffolds in tissue engineering bone and cartilage. *Biomaterial*. 2000; 21(24): 2529-2543.
- [5] 刘顺振,侯玉东.骨组织工程支架材料的研究进展及临床应用[J].中国组织工程研究与临床康复, 2011,15(42): 7911-7914.
- [6] 马新芳,张静莹.骨组织工程支架材料的研究现状与应用前景[J].中国组织工程研究, 2014,18(30):4895-4899.
- [7] Chang BS, Lee CK, Hong KS, et al. Osteoconduction at porous hydroxyapatite with various pore configurations. *Biomaterials*. 2000 ;21(12):1291-1298.
- [8] Miyazaki M, Tsumura H, Wang JC, et al. An update on bone substitutes for spinal fusion. *Eur Spine J*. 2009; 18(6): 783-799.
- [9] Bueno EM, Glowacki J. Cell-free and cell-based approaches for bone regeneration. *Nat Rev Rheumatol*. 2009;5(12):685-697.
- [10] Kimelman N, Pelled G, Helm GA, et al. Review: gene- and stem cell-based therapeutics for bone regeneration and repair. *Tissue Eng*. 2007;13(6):1135-1150.
- [11] Awad HA, Zhang X, Reynolds DG, et al. Recent advances in gene delivery for structural bone allografts. *Tissue Eng*. 2007;13(8): 1973-1985.
- [12] LeGeros RZ. Properties of osteoconductive biomaterials: calcium phosphates. *Clin Orthop Relat Res*. 2002;(395): 81-98.
- [13] Hirasawa M, Mure H, Toi H, et al. Surgical results of lumbar interbody fusion using calcium phosphate cement. *Neurol Med Chir (Tokyo)*. 2014;54(9):722-726.
- [14] Kim BS, Choi MK, Yoon JH, et al. Evaluation of bone regeneration with biphasic calcium phosphate substitute implanted with bone morphogenetic protein 2 and mesenchymal stem cells in a rabbit calvarial defect model. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2015;120(1): 2-9.
- [15] Arinzech TL, Tran T, Mcalary J, et al. A comparative study of biphasic calcium phosphate ceramics for human mesenchymal stem-cell-induced bone formation. *Biomaterials*. 2005; 26(17):3631-3638.
- [16] Imori Y, Kameshima Y, Yasumori A, et al. Effect of solid/solution ratio on apatite formation from CaSiO₃ ceramics in simulated body fluid. *J Mater Sci Mater Med*. 2004; 15(11):1247-1253.
- [17] Xu S, Lin K, Wang Z, et al. Reconstruction of calvarial defect of rabbits using porous calcium silicate bioactive ceramics. *Biomaterials*. 2008;29(17): 2588-2596.
- [18] Kao CT, Huang TH, Chen YJ, et al. Using calcium silicate to regulate the physicochemical and biological properties when using beta-tricalcium phosphate as bone cement. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2014;43:126-134.
- [19] Gauthier O, Khairoun I, Bosco J, et al. Noninvasive bone replacement with a new injectable calcium phosphate biomaterial. *J Biomed Mater Res A*. 2003; 66(1): 47-54.
- [20] Nguyen TB, Lee BT. A combination of biphasic calcium phosphate scaffold with hyaluronic acid-gelatin hydrogel as a new tool for bone regeneration. *Tissue Eng Part A*. 2014;20(13-14):1993-2004.
- [21] Pan Z, Jiang P. Assessment of the suitability of a new composite as a bone defect filler in a rabbit model. *J Tissue Eng Regen Med*. 2008 ;2(6):347-353.
- [22] Li M, Liu X, Liu X, et al. Calcium phosphate cement with BMP-2-loaded gelatin microspheres enhances bone healing in osteoporosis: a pilot study. *Clin Orthop Relat Res*. 2010 ;468(7):1978-1985.
- [23] Oh SA, Lee GS, Park JH, et al. Osteoclastic cell behaviors affected by the alpha-tricalcium phosphate based bone cements. *J Mater Sci Mater Med*. 2010; 21(11): 3019-3027.
- [24] Yomoda M, Sobajima S, Kasuya A, et al. Calcium phosphate cement - gelatin powder composite testing in canine models: Clinical implications for treatment of bone defects. *J Biomater Appl*. 2015.;29(10):1385-1393.
- [25] Lee EU, Lim HC, Hong JY, et al. Bone regenerative efficacy of biphasic calcium phosphate collagen composite as a carrier of rhBMP-2. *Clin Oral Implants Res*. 2015. doi: 10.1111/clr.12568. [Epub ahead of print]
- [26] McNamara SL, Rnjak-Kovacina J, Schmidt DF, et al. Silk as a bioadhesive sacrificial binder in the fabrication of hydroxyapatite load bearing scaffolds. *Biomaterials*. 2014; 35(25): 6941-6953.
- [27] Meng D, Dong L, Wen Y, et al. Effects of adding resorbable chitosan microspheres to calcium phosphate cements for bone regeneration. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2015;47:266-272.
- [28] Yang L, Wang Q, Peng L, et al. Vascularization of repaired limb bone defects using chitosan-beta-tricalcium phosphate composite as a tissue engineering bone scaffold. *Mol Med Rep*. 2015;12(2):2343-2347.
- [29] Xiu J, Fan J, Li J, et al. Different angiogenic abilities of self-setting calcium phosphate cement scaffolds consisting of different proportions of fibrin glue. *Biomed Res Int*. 2014;2014:785146.
- [30] 周艳芳与, 邓宇斌. 精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸肽类似物与新生血管内皮靶向治疗[J]. 中国组织工程研究, 2012,16(43): 8111 - 8116.
- [31] Chen W, Thein-Han W, Weir MD, et al. Prevascularization of biofunctional calcium phosphate cement for dental and craniofacial repairs. *Dent Mater*. 2014;30(5): 535-544.

- [32] Garg T, Singh O, Arora S, et al. Scaffold: a novel carrier for cell and drug delivery. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst.* 2012;29(1):1-63.
- [33] Li H, Yang L, Dong X, et al. Composite scaffolds of nano calcium deficient hydroxyapatite/multi-(amino acid) copolymer for bone tissue regeneration. *J Mater Sci Mater Med.* 2014;25(5):1257-1265.
- [34] Liao H, Walboomers XF, Habraken WJ, et al. Injectable calcium phosphate cement with PLGA, gelatin and PTMC microspheres in a rabbit femoral defect. *Acta Biomater.* 2011;7(4):1752-1759.
- [35] Li YH, Wang ZD, Wang W, Li, et al. The biocompatibility of calcium phosphate cements containing alendronate-loaded PLGA microparticles in vitro. *Exp Biol Med (Maywood).* 2015;240(11): 1465-1471.
- [36] Zhang HX, Xiao GY, Wang X, et al. Biocompatibility and osteogenesis of calcium phosphate composite scaffolds containing simvastatin-loaded PLGA microspheres for bone tissue engineering. *J Biomed Mater Res A.* 2015;103(10):3250-3258.
- [37] Farokhi M, Mottaghitalab F, Ai J, et al. Sustained release of platelet-derived growth factor and vascular endothelial growth factor from silk/calcium phosphate/PLGA based nanocomposite scaffold. *Int J Pharm.* 2013 ;454(1): 216-225.
- [38] Ruhé PQ, Boerman OC, Russel FG, et al. Controlled release of rhBMP-2 loaded poly(dl-lactic-co-glycolic acid)/calcium phosphate cement composites in vivo. *J Control Release.* 2005;106(1-2): 162-171.
- [39] Zhang HX, Xiao GY, Wang X, et al. Biocompatibility and osteogenesis of calcium phosphate composite scaffolds containing simvastatin-loaded PLGA microspheres for bone tissue engineering. *J Biomed Mater Res A.* 2015 ;103(10):3250-3258.
- [40] Milovac D, Gallego Ferrer G, Ivankovic M, D, et al. PCL-coated hydroxyapatite scaffold derived from cuttlefish bone: morphology, mechanical properties and bioactivity. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2014;34:437-445.
- [41] YYang K, Zhang J, Ma X, et al. β -Tricalcium phosphate/poly(glycerol sebacate) scaffolds with robust mechanical property for bone tissue engineering, beta-Tricalcium phosphate/poly(glycerol sebacate) scaffolds with robust mechanical property for bone tissue engineering. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2015;56:37-47.
- [42] Charles-Harris M, Koch MA, Navarro M, et al. A PLA/calcium phosphate degradable composite material for bone tissue engineering: an in vitro study. *J Mater Sci Mater Med.* 2008;19(4):1503-1513.
- [43] Zhao X, Lui YS, Choo CK, et al. Calcium phosphate coated Keratin-PCL scaffolds for potential bone tissue regeneration. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2015;49: 746-753.
- [44] 张树芳, 陈荣春, 江建明, 等. 带负电荷硫酸钙/ β -磷酸三钙复合骨水泥在椎体成形中的应用[J]. *中国组织工程研究*, 2014, 18(12): 1805-1810.
- [45] 于晓巍, 王楠, 刘凤祥, 等. 硫酸钙骨水泥修复骨质疏松大鼠骨缺损的研究[J]. *实用骨科杂志*, 2009, 15(9): 678-681.
- [46] 薛震, 牛丽媛, 安刚, 等. 可注射式纳米羟基磷灰石复合支架与骨髓间充质干细胞修复兔桡骨骨缺损[J]. *中国组织工程研究*, 2015, 19(03): 378-383.
- [47] Han X, Wu X, Liu H, et al. Ectopic osteogenesis of an injectable nHAC/CSH loaded with blood-acquired mesenchymal progenitor cells in a nude mice model. *J Mater Sci Mater Med.* 2015;26(1):5338.
- [48] 谭迎赞, 白石与, 廖运茂. 双相钙磷生物陶瓷/硫酸钙骨水泥多孔三维支架的生物性能[J]. *中国组织工程研究*, 2014, 18(8): 1161-1164.
- [49] Staiger MP, Pietak AM, Huadmai J, et al. Magnesium and its alloys as orthopedic biomaterials: a review. *Biomaterials.* 2006 ;27(9): 1728-1734.
- [50] Witte F, Fischer J, Nellesen J, et al. In vitro and in vivo corrosion measurements of magnesium alloys. *Biomaterials.* 2006;27(7):1013-1018.
- [51] Zhang S, Yang K, Cui F, et al. A Novel Injectable Magnesium/ Calcium Sulfate Hemihydrate Composite Cement for Bone Regeneration. *Biomed Res Int.* 2015;2015: 297437.
- [52] Shen Y, Yang S, Liu J, et al. Engineering scaffolds integrated with calcium sulfate and oyster shell for enhanced bone tissue regeneration. *ACS Appl Mater Interfaces.* 2014;6(15): 12177-12188.
- [53] He X, Dziak R, Mao K, et al. Integration of a novel injectable nano calcium sulfate/alginate scaffold and BMP2 gene-modified mesenchymal stem cells for bone regeneration. *Tissue Eng Part A.* 2013;19(3-4): 508-518.
- [54] Doty HA, Leedy MR, Courtney HS, et al. Composite chitosan and calcium sulfate scaffold for dual delivery of vancomycin and recombinant human bone morphogenetic protein-2. *J Mater Sci Mater Med.* 2014;25(6): 1449-1459.
- [55] 曾逸文, 许建安, 桂鉴超, 等. 骨水泥充填治疗多节段骨质疏松性压缩性骨折的病例分析[J]. *中国组织工程研究*, 2013, 17(8): 1465-1472.
- [56] 王鹏, 皮斌, 王金宁, 等. 壳聚糖微球复合丝素基硫酸钙骨水泥的理化特性[J]. *中国组织工程研究*, 2014, 18(12): 1831-1838.