

不同类型水凝胶在骨缺损中的应用

<https://doi.org/10.3969/j.issn.2095-4344.3050>

李军, 余浩, 张勇, 卫勇, 谢佳, 荆珏华

2095-4344.3050

投稿日期: 2020-04-11

送审日期: 2020-04-17

采用日期: 2020-06-05

在线日期: 2020-08-29

中图分类号:

R459.9; R318.08; R-1

文章编号:

2095-4344(2021)10-01599-05

文献标识码: A

文章快速阅读:

文章描述—

△国内外对水凝胶的研究越来越广泛,其在骨科治疗骨缺损方面应用前景不可限量;
△总结近年来水凝胶在骨缺损中的应用相关成果,并对其应用前景进行分析。

骨缺损治疗中应用的水凝胶

离子介导的水凝胶:

通过与聚合物网络的二价或三价阳离子形成离子链连接而介导。

化学介导的水凝胶:

彼此之间具有高亲和力,在可注射介质中显示出显著溶解性的聚合物可以进行修饰,以在递送点形成共价连接的网络。

天然高分子水凝胶:

天然的亲水性高分子包括多糖类(淀粉、纤维素、海藻酸、透明质酸、壳聚糖等)和多肽类(胶原、聚L-赖氨酸、聚L-谷氨酸等)。

合成高分子水凝胶:

是由化学键交联形成的三维网络聚合物,是永久性的。

文题释义:

水凝胶: 是一类独特的支架材料,具有由交联的高分子链组成的三维亲水网络结构,在吸收相当于自身体积几倍数量的水后仍可保持不分解。

物理凝胶: 是通过物理作用力如静电作用、氢键、链的缠绕等形成的,这种凝胶是非永久性的,加热凝胶可转变为溶液,也称假凝胶或热可逆凝胶。

摘要

背景: 水凝胶可以模拟自然的组织环境,为缺损部位提供结构支持,修复骨缺损。

目的: 简述水凝胶在骨缺损中的应用进展,并进行分析。

方法: 应用计算机检索PubMed与中国知网、维普、万方数据库,中文检索词为“水凝胶,骨缺损”,英文检索词为“hydrogel, bone defect”,检索水凝胶在骨缺损中应用的研究。

结果与结论: 水凝胶显示出水的均质特性,可以模拟人体的组织环境,以最小的侵入方式将其内容物包封,操纵并将其转移到周围组织,为缺损部位提供结构支持,使骨缺损通过内在愈合机制修复,具有独特的优势。离子介导的水凝胶中海藻酸盐相关研究最多,由于其多糖结构导致藻酸盐交联的水凝胶体系更大。化学交联的水凝胶彼此之间具有高亲和力,在可注射介质中显示出显著溶解性的聚合物可以进行修饰,以在递送点形成共价连接的网络。掺入蛋白质衍生的生物活性物质形成化学交联聚合物的稳定网络,是该类型水凝胶的特点。天然提取的水凝胶,如明胶、透明质酸和丝素及合成的聚乙二醇都很容易获得,而且相对容易生产。在这一系列研究中,天然衍生的水凝胶显示出良好的生物相容性,天然聚合物作为热敏性水凝胶载体缺乏通用性和响应性,因此合成衍生的聚合物已被用作与天然聚合物进行改性和缀合的基础。

关键词: 骨; 材料; 水凝胶; 骨缺损; 修复; 应用; 综述

Different types of hydrogel in bone defects

Li Jun, Yu Hao, Zhang Yong, Wei Yong, Xie Jia, Jing Juehua

Department of Orthopedics, the Second Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230601, Anhui Province, China

Li Jun, MD, Associate chief physician, Associate professor, Department of Orthopedics, the Second Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230601, Anhui Province, China

Corresponding author: Jing Juehua, Chief physician, Professor, Department of Orthopedics, the Second Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230601, Anhui Province, China

安徽医科大学第二附属医院骨科, 安徽省合肥市 230601

第一作者: 李军, 男, 1987年生, 安徽省合肥市人, 汉族, 2012年南方医科大学毕业, 博士, 副主任医师, 副教授, 主要从事骨组织工程与数字骨科研究。

通讯作者: 荆珏华, 主任医师, 教授, 安徽医科大学第二附属医院骨科, 安徽省合肥市 230601

<https://orcid.org/0000-0001-5543-2896> (李军)

基金资助: 安徽省重点研究与开发计划项目(201904b11020032), 项目负责人: 李军; 安徽省自然科学基金青年项目(1708085QH221), 项目负责人:

李军; 合肥市自主创新政策借转补项目(YW201608080006), 项目负责人: 李军; 安徽省卫生计生委中医药科研课题项目(2016zy92),

项目负责人: 李军; 国家自然科学基金青年项目(81702656), 项目负责人: 程里, 项目参与者: 李军

引用本文: 李军, 余浩, 张勇, 卫勇, 谢佳, 荆珏华. 不同类型水凝胶在骨缺损中的应用 [J]. 中国组织工程研究, 2021, 25(10):1599-1603.



Abstract

BACKGROUND: Hydrogel can simulate the natural tissue environment, provide structural support for defects and repair bone defects.

OBJECTIVE: To summarize and analyze the application progress of hydrogel in bone defect.

METHODS: PubMed, CNKI, VIP, and Wanfang databases were searched by computer with the English and Chinese key words of “hydrogel, bone defect” to search the application of hydrogel in bone defect.

RESULTS AND CONCLUSION: Hydrogel shows the homogeneity of water. It can simulate human tissue environment, encapsulate its contents with minimal invasion, manipulate and transfer it to surrounding tissues, provide structural support for defect sites, and repair bone defects through internal healing mechanism, which has unique advantages. Among the ion-mediated hydrogels, alginate is the most studied. Because of its polysaccharide structure, the zinc alginate crosslinked hydrogel system is larger, and the chemically crosslinked hydrogel, polymers with high affinity to each other and showing significant solubility in injectable media can be modified to form a covalently connected network at the delivery point. This type of hydrogel is characterized by the addition of protein-derived bioactive substances to form a stable network of chemically cross-linked polymers. Naturally extracted hydrogels such as gelatin, hyaluronic acid and silk fibroin, as well as synthetic polyethylene glycol are easy to obtain and relatively easy to produce. In this series of studies, naturally derived hydrogels show good biocompatibility and natural polymers as thermosensitive hydrogel carriers lack versatility and responsibility. Therefore, the synthesized derived polymers have been used as the basis for modification and binding with natural polymers.

Key words: bone; materials; hydrogel; bone defect; repair; application; review

Funding: the Key Research and Development Project in Anhui Province, No. 201904b11020032 (to LJ); the Natural Science Foundation of Anhui Province (Youth Project), No. 1708085QH221 (to LJ); the Independent Innovation Policy Loan to Subsidy Project of Hefei, No. YW201608080006 (to LJ); the Research Project of Traditional Chinese Medicine of Anhui Health and Family Planning Commission, No. 2016zy92 (to LJ); the National Natural Science Foundation of China (Youth Project), No. 81702656 (to LJ)

How to cite this article: LI J, YU H, ZHANG Y, WEI Y, XIE J, JING JH. Different types of hydrogel in bone defects. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2021;25(10):1599-1603.

0 引言 Introduction

水凝胶是一类极为亲水的三维网络结构凝胶，它在水中迅速溶胀并在此溶胀状态可以保持大量体积的水而不溶解^[1]，因此水凝胶可以模拟自然的组织环境，为缺损部位提供结构支持，使骨缺损通过内在愈合机制修复。其中可注射的水凝胶系统用于骨缺损，因为它们可以在原位形成^[2]，并且具有独特的优势，即无论缺损的几何形状如何，都可以通过微创的方法轻松地修复缺损。骨骼是人体的支撑结构，对人体的重要性不言而喻，对于轻、小范围的骨骼损伤，骨组织能够通过自我修复能力恢复健康^[3-4]，但更多情况下骨骼的病变及创伤是无法自我修复的。随着组织工程技术的发展，骨组织工程在骨缺损修复方面起着非常重要的作用，可促进骨组织生长、修复骨缺损，并呈递生物活性物质。

水凝胶有多种分类方法，如果以水凝胶网络键合的不同可分为物理凝胶和化学凝胶。物理凝胶是通过物理作用力如静电作用、氢键、链的缠绕等形成的，这种凝胶是非永久性的，加热凝胶可转变为溶液，也称假凝胶或热可逆凝胶。另外可分为天然高分子和合成高分子水凝胶，许多天然高分子在常温下呈稳定的凝胶态，如琼脂等；在合成聚合物中聚乙烯醇是一典型的例子，经过冰冻融化处理可得到在 60℃ 以下稳定的水凝胶。化学凝胶是由化学键交联形成的三维网络聚合物，是永久性的，又称为真凝胶。天然聚合物比合成衍生聚合物具有更好的生物相容性，合成后的聚合物通常必须对其进行修饰以实现生物学结构响应，但是存在各种局限性，包括不稳定的官能团、细胞毒性试剂的使用和低偶联效率。因此，需要应用更简单、有效和特定的反应合成方法，以保持生物活性材料的生物学性质。该篇综述总结了近年来水凝胶在骨缺损方面的应用进展。

1 资料和方法 Data and methods

1.1 资料来源 中文检索词为“水凝胶，骨缺损”，中文检索平台及数据库：知网、维普、万方数据库。英文检索

词为“hydrogel, bone defect”，英文检索平台及数据库：PubMed。

1.2 入选标准

纳入标准：①文献类型为已发表的期刊论文、综述；②文章研究内容与水凝胶在骨缺损中的应用研究相关。

排除标准：①文献质量较低、证据等级不高的研究；②无法获得全文或重复发表的文献；③中文及英文以外的其他语种。

1.3 文献质量评估 共检索到相关文献 215 篇，应用 EndNote 软件并根据排除标准进行筛选，剔除文献，最终纳入文献 34 篇，见图 1。

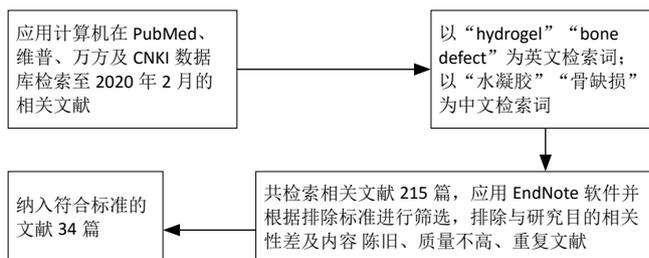


图 1 | 文献检索流程图

2 结果 Results

2.1 离子介导水凝胶 离子介导水凝胶通过与聚合物网络的二价或三价阳离子形成离子链连接而介导。聚合物中海藻酸盐的有关研究最多，由于其多糖结构（由 1, 4- 联结的 β -D-甘露糖醛酸和 α - 均聚物嵌段组成）具有藻酸盐链中不同位置与钙和锌阳离子交联的能力，锌阳离子对交联的选择性较低，导致藻酸盐交联的水凝胶体系更大^[5]。据报道，交联的速率与所用藻酸盐浓度呈反比，而交联速率则受所存在的多价阳离子和聚古洛糖酸链段浓度的影响^[6]。RUSSO 等^[7]设计了一种新型的以藻酸盐和胶原蛋白为核和壳的干细胞递送系统，间充质干细胞被加载到胶原溶液中，然后将其立即置于纤维结构中，同时使用新设计的核-壳喷嘴同时包裹藻酸盐。其中包封在胶原蛋白中的间充质干细胞表现出优异的生存能

力,在成骨条件下被允许分化的细胞显示出良好水平的骨相关基因,包括骨钙蛋白、骨桥蛋白和骨唾液蛋白。当将核-壳纤维载体植入大鼠颅骨缺损中时骨愈合得到了显著增强,在成骨诱导间充质干细胞植入前骨愈合更为明显。根据该实验结果,新制造的核壳型胶原藻酸盐纤维载体被认为有利于组织细胞的包封并将其输送到受损组织中,包括具有缺陷可调性的骨骼,可用于骨组织工程。然后,比较了藻酸盐水凝胶构建体与支架介导的骨骼再生(不依赖于机械负荷),而藻酸盐水凝胶构建体不具有结构性支架,之前已证明它们可促进体内对骨骼形成的机械刺激。与非结构藻酸盐相比,结构支架与负载无关,减少了骨形成,特别是在支架集中区域导致功能再生受损,这归因于支架对应力的屏蔽及对细胞浸润和组织向内生长抑制的组合,这些研究质疑植入时支架与成熟组织相似的必要性,并强调发展有利于基质激活的细胞活化和最终功能再生的环境^[8]。观察由天冬氨酸(RGD)-藻酸盐水凝胶与Sr原位交联并用Sr掺杂羟基磷灰石微球增强的可注射Sr杂交体系的体内反应,与类似的无Sr材料进行了比较,Micro-CT结果显示Sr杂交组形成新骨的趋势更高^[9]。

近年来还有人开发了一种由3D打印聚己内酯填充水凝胶组成的混合系统用于重建长骨缺损,由于骨缺损较大,与具有类似体积和支杆厚度的3D打印网状和蜂窝状支架相比,聚己内酯的3D打印类固醇支架允许在支架中装载大量水凝胶,提供了一种由生物活性混合系统修复骨骼缺损的新方法,该系统由聚合物支架、水凝胶和人骨髓间充质干细胞组成^[10]。用藻酸钙水凝胶和聚乳酸培养人牙周膜细胞与骨髓基质细胞,显示藻酸钙水凝胶具有优于聚乳酸的骨诱导骨能力^[11]。将间充质基质细胞包裹在复合水凝胶中,该复合水凝胶基于两种天然来源的聚合物(藻酸盐和透明质酸盐),其中包含生物矿化的聚合物微球。水凝胶的机械性能取决于组成。与仅由天冬氨酸-海藻酸盐或天冬氨酸-海藻酸盐/透明质酸盐形成的凝胶相比,来自两种聚合物的黏性三肽精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸在体外诱导了绵羊间充质基质细胞更大的成骨分化^[12]。有研究制备了一种新的基于透明质酸/ZrO₂的多孔生物陶瓷人工椎体,其携带重组人骨形态发生蛋白2/壳聚糖缓释水凝胶,以修复小猎犬的椎骨缺损,结果显示,新型的基于透明质酸/ZrO₂的多孔生物陶瓷携带重组人骨形态发生蛋白2负载的壳聚糖凝胶可以促进骨缺损的修复,这可以代替临床实践中常用的骨移植^[13]。由此可见藻酸盐在骨缺损中的应用潜力很大。

2.2 化学交联水凝胶 化学交联水凝胶彼此之间具有高亲和力,在可注射介质中显示出显著溶解性的聚合物可以进行修饰,以在递送点形成共价连接的网络^[14]。网络的形成程度、系统的稳定性和动力学与分子的亲和力呈正比。骨样羟基磷灰石/聚氨基酸支架已显示出某些成骨性和骨传导性,其还具有可控的生物降解性和无毒性,由于其具有递送抗生素和促进骨骼再生的能力,负载万古霉素的骨样羟基磷灰石/聚氨基酸具有修复感染性骨缺损的巨大潜力^[15]。聚合物也可以

通过酶促反应进行交联,在过氧化氢(H₂O₂)和过氧化物酶的存在下酚基团进行自交联,当蛋白质与H₂O₂和过氧化物酶反应时酪氨酸的酚基发生氧化,形成二和酪氨酸的交联蛋白结合^[16],诸如壳聚糖、葡聚糖、透明质酸和明胶之类的聚合物,可以在3,4-羟苯基丙酸或酪胺的存在下通过使其羧基或胺基反应而在其结构上引入酚基^[17]。聚(赖氨酸-co-苯丙氨酸)和转谷氨酰胺酶介导的谷氨酰胺官能化的聚乙二醇,也已被报道显示出化学交联特性,代替钙铁蛋白并利用钙离子作为辅因子^[18]。因此当掺入蛋白质衍生的生物活性物质形成化学交联聚合物的稳定网络时,在组织工程水凝胶系统中具有巨大潜力。

2.3 天然高分子水凝胶 透明质酸是D-葡萄糖醛酸和n-乙酰D-葡萄糖胺的高分子聚合物,几乎存在于所有组织中,以透明质酸为基础的水凝胶系统,凭借其良好的生物相容性和可降解性可作为药物和蛋白质分子的递送载体^[19]。透明质酸不具有热响应性,但可与具有热响应性的聚合物结合变为具有生物相容性和热响应性的水凝胶^[20]。向CaCO₃水凝胶中添加不同浓度的肉桂醛,研究其对拉伸强度、老化膨胀、凝胶裂解、肉桂醛释放、抗菌作用和细胞毒性的影响,结果发现肉桂醛降低了CaCO₃水凝胶的降解速率,对人牙龈成纤维细胞没有毒性作用^[21]。IVIGLIA等^[22]设计了一种壳聚糖-果胶水凝胶,粒径为100-300 μm,扫描电子显微镜显示该水凝胶的多糖性接近天然骨骼,可填充骨缺损,陶瓷颗粒的加入使其在不同pH值下保持相对稳定。磷酸钙陶瓷和多糖基水凝胶支架与间充质干细胞的结合也可用于大鼠骨缺损的修复,其修复机制和吸收动力学截然不同:水凝胶能够从骨缺损边缘诱导出致密的骨矿化结构,而陶瓷则能激发编织骨的生成并与陶瓷表面紧密接触,成骨性和血管生成特性与水凝胶的快速吸收性相结合,使水凝胶成为一种很有前途的陶瓷替代品^[23]。儿茶酚功能化透明质酸水凝胶可促进骨组织缺损中人脂肪干细胞的血管生成和成骨作用,用儿茶酚功能化透明质酸水凝胶增强干细胞介导的血管生成和成骨作用,由于其优异的组织黏附性,儿茶酚功能化透明质酸水凝胶能够介导脂肪干细胞高效植入到骨缺损区域。同时,儿茶酚功能化透明质酸水凝胶增强了脂肪干细胞介导的治疗性血管生成和骨骼重建,这项研究证明了使用仿生儿茶酚功能化透明质酸水凝胶作为功能性生物材料来改善关键组织缺损中组织再生的可行性^[24]。HSIAO等^[25]构建不同组织工程结构来治疗骨缺损,结果表明水凝胶与间充质干细胞结合可获得最大程度的骨再生。GARCÍA等^[26]用聚乙二醇设计了整合素特异性水凝胶,在血管化和骨再生中的具有重要作用。MISHRA等^[27]设计了酶促交联羧甲基壳聚糖/明胶/纳米羟基磷灰石注射用凝胶,结果表明羧甲基壳聚糖/明胶/纳米羟基磷灰石可注射凝胶用于骨细胞递送及不规则骨缺损修复的临床损伤小,疗效可靠。PUÉRTOLAS等^[28]研究了双相磷酸钙和双相磷酸钙-琼脂糖支架在骨骼再生中的作用,结果也颇为满意。I型胶原蛋白以细长纤维形式存在于骨中^[29],具有低抗原性和极好的生物相

容性,已被用于各种骨缺损的修复。羟基磷灰石包裹的双网络(鱼胶原蛋白为原料)凝胶作为柔软和弹性的陶瓷,具有良好的生物力学性能和与骨骼的牢固结合能力^[30],功能化的丝素蛋白水凝胶对骨缺损修复的作用增强了骨髓间充质干细胞的成骨作用^[31]。Laponite 纳米血小板是一种可以促进成骨细胞生长的生物活性黏土,再生丝素蛋白/Laponite 纳米血小板水凝胶可注射,还可以促进成骨细胞的增殖和分化^[32],算得上是一种理想的骨缺损修复材料。

2.4 合成高分子水凝胶 由于天然聚合物作为热敏性水凝胶载体缺乏通用性和响应性,而合成聚合物则不同,可以根据临床需求进行不同的设计,更加灵活多样。CHO 等^[33]通过改变水凝胶的临界温度将可生物降解的聚合物合成为聚(N-异丙基丙烯酰胺)。磷酸钙骨水泥在临床中被用于骨缺损修复,但存在一定的局限性,将磷酸钙骨水泥与逆热响应水凝胶组合效果不错,可实现可注射性^[34]。几乎所有天然衍生的水凝胶都显示出良好的生物相容性,包括结合域的聚乙二醇凝胶。有研究描述了不适于酶降解的聚乙二醇凝胶引发的炎症反应,虽然不一定与毒性有关,但水凝胶的膨胀性确实是影响临床应用的一个重要因素,为保障临床应用的安全性,需要对其进行充分的论证和实验。

3 小结及展望 Conclusions and prospects

综上所述,水凝胶显示出水的均质特性可以模拟人体的组织环境,以最小的侵入方式将其内容物包封,操纵并将其转移到周围组织,为缺损部位提供结构支持,使骨缺损通过内在愈合机制修复,具有独特的优势。大量证据表明,一系列天然和合成水凝胶能够增强骨增强生长因子的作用。最佳的水凝胶性能将根据所需的功能而变化,在需要刺激但不需要填塞的情况下,所需要的水凝胶特性主要与水凝胶传递细胞和维持活性生长因子长期释放的能力有关;在需要机械稳定性的情况下,如果不使用机械材料,水凝胶必须具有适当的强度和刚度,以承受机械载荷,同时保持生物降解的能力,以促进重塑。在这种情况下,降解的速度将等于骨形成(最好没有有毒物质),以保持缺陷部位的稳定性。理想情况下这种水凝胶是可注射的,并能够向机械性能良好的原位凝胶变化。虽然在生长因子快速释放的情况下也注意到这种效果,但生产一种可持续释放的载体效果可能更大。许多研究已经证明了水凝胶提供注射输送载体的能力,当与成骨蛋白结合时可促进骨形成。在钙矿物质中加入水凝胶可以增强成骨活性,在某些情况下这种效果与生长因子无关。然而,当使用钙矿物质和水凝胶混合物时,移植物材料从理想部位的迁移仍然是一个挑战。

作者认为可以通过以下 2 个方面来促进水凝胶在骨缺损中的应用:第一种是开发一种水凝胶介导的可注射生长因子递送载体,以增强骨折愈合,藻酸盐和透明质酸已经显示出一些希望,对这种水凝胶的评估将有利于更接近骨折修复的体内模型的建立;第二种是开发一种移植材料与水凝胶复合

物,以输送细胞(最理想的是在手术中移植),如陶瓷颗粒、3D 打印,并与适当的生长因子结合使用。水凝胶在骨缺损中的应用前景不可限量,但是挑战依然存在。

作者贡献: 李军和余浩进行综述设计,资料收集为张勇和卫勇,余浩和谢佳成文,荆珏华审核。

经费支持: 该文章接受了“安徽省重点研究与开发计划项目(201904b11020032)、安徽省自然科学基金青年项目(1708085QH221)、合肥市自主创新政策借转补项目(YW201608080006)、安徽省卫生计生委中医药科研课题项目(2016zy92)、国家自然科学基金青年项目(81702656)”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: 该研究遵守《系统综述和荟萃分析报告规范》(PRISMA 指南)。

文章查重: 文章出版前已经过专业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] 刘都宝,鲍俊杰,纪学顺,等. 聚酯水凝胶的设计及在生物医学中的应用[J]. 中国胶粘剂,2007,16(9):46-49.
- [2] 党莹,李月,李瑞玉,等. 骨组织工程支架材料在骨缺损修复及 3D 打印技术中的应用[J]. 中国组织工程研究,2017,21(14):2266-2273.
- [3] YU F, CAO X, LI Y, et al. An injectable hyaluronic acid/PEG hydrogel for cartilage tissue engineering formed by integrating enzymatic crosslinking and Diels-Alder“click chemistry”. Polym Chem. 2014;(3): 1082-1090.
- [4] BRANDL F, SOMMER F, GOEPFERICH A. Rational design of hydrogels for tissue engineering: Impact of physical factors on cell behavior. Biomaterials.2007;28(2):134-146.
- [5] LEE KY, MOONEY DJ. Alginate: Properties and biomedical applications. Prog Polym Sci.2012;37(1):106-126.
- [6] PLACE ES, ROJO L, GENTLEMAN E, et al. Strontium- and Zinc-Alginate Hydrogels for Bone Tissue Engineering. Tissue Eng A.2011;17(21-22): 2713-2722.
- [7] RUSSO R, MALINCONICO M, SANTAGATA G. Effect of Cross-Linking with Calcium Ions on the Physical Properties of Alginate Films. Biomacromolecules.2007;8(10):3193-3197.
- [8] MCDERMOTT AM, MASON DE, LIN ASP, et al. Influence of structural load-bearing scaffolds on mechanical load- and BMP-2-mediated bone regeneration. J Mech Behav Biomed Mater.2016;62:169-181.
- [9] LOURENÇO AH, NEVES N, RIBEIRO-MACHADO C, et al. Injectable hybrid system for strontium local delivery promotes bone regeneration in a rat critical-sized defect model. Sci Rep.2017;7(1):5098.
- [10] IVAN H, ALOK K, BINATA J. A Bioactive Hydrogel and 3D Printed Polycaprolactone System for Bone Tissue Engineering. Gels. 2017; 3(3):26.

- [11] LUYUAN C, RENZE S, SATOSHI K, et al. Drug-Loadable Calcium Alginate Hydrogel System for Use in Oral Bone Tissue Repair. *Int J Mol Sci.* 2017;18(5):989.
- [12] INGAVLE GC, GIONET-GONZALES M, VORWALD CE, et al. Injectable mineralized microsphere-loaded composite hydrogels for bone repair in a sheep bone defect model. *Biomaterials.* 2019;197:119-128.
- [13] YI HS, REN FQ, SHANG JX, et al. Evaluation of a Novel HA/ZrO₂-Based Porous Bioceramic Artificial Vertebral Body Combined with a rhBMP-2/Chitosan Slow-Release Hydrogel. *PLoS One.* 2016;11(7):e0157698.
- [14] STREHIN I, NAHAS Z, ARORA K, et al. A versatile pH sensitive chondroitin sulfate-PEG tissue adhesive and hydrogel. *Biomaterials.* 2010;31(10):2788-2797.
- [15] CAO Z, JING D, YAN L, et al. In vitro and in vivo osteogenic activity of the novel vancomycin-loaded bone-like hydroxyapatite/poly(amino acid) scaffold. *J Biomater Appl.* 2016;30(10):1566-1577.
- [16] SAKAI S, HIROSE K, TAGUCHI K, et al. An injectable, in situ enzymatically gellable, gelatin derivative for drug delivery and tissue engineering. *Biomaterials.* 2009;30(20):3371-3377.
- [17] JIN R, HIEMSTRA C, ZHONG Z, et al. Enzyme-mediated fast in situ formation of hydrogels from dextran-tyramine conjugates. *Biomaterials.* 2007;28(18):2791-2800.
- [18] SPERINDE JJ, GRIFFITH LG. Synthesis and Characterization of Enzymatically-Cross-Linked Poly(ethylene glycol) Hydrogels. *Macromolecules.* 1997;30(18):5255-5264.
- [19] GOA KL, BENFIELD P. Hyaluronic Acid: A Review of its Pharmacology and Use as a Surgical Aid in Ophthalmology, and its Therapeutic Potential in Joint Disease and Wound Healing. *Drugs.* 1994;47(3):536-566.
- [20] OHYA S, NAKAYAMA Y, MATSUDA T. Thermoresponsive artificial extracellular matrix for tissue engineering: Hyaluronic acid bioconjugated with poly(N-isopropylacrylamide) grafts. *Biomacromolecules.* 2001;2:856-863.
- [21] DEWI AH, ANA ID, JANSEN J. Calcium carbonate hydrogel construct with cinnamaldehyde incorporated to control inflammation during surgical procedure. *J Biomed Mater Res A.* 2016;104(3):768-774.
- [22] IVIGLIA G, CASSINELLI C, TORRE E, et al. Novel Bioceramic-Reinforced Hydrogel for Alveolar Bone Regeneration. *Acta Biomater.* 2016;44:97-109.
- [23] FRASCA S, NOROL F, LE VISAGE C, et al. Calcium-phosphate ceramics and polysaccharide-based hydrogel scaffolds combined with mesenchymal stem cell differently support bone repair in rats. *J Mater Sci Mater Med.* 2017;28(2):35.
- [24] PARK HJ, JIN Y, SHIN J, et al. Catechol-Functionalized Hyaluronic Acid Hydrogels Enhance Angiogenesis and Osteogenesis of Human Adipose-Derived Stem Cells in Critical Tissue Defects. *Biomacromolecules.* 2016;17:1939-1948.
- [25] HSIAO HY, YANG SR, BREY M, et al. Hydrogel Delivery of Mesenchymal Stem Cell-Expressing Bone Morphogenetic Protein-2 Enhances Bone Defect Repair. *Plast Reconstr Surg Glob Open.* 2016;4(8):e838.
- [26] GARCÍA JR, CLARK AY, GARCÍA AJ. Integrin-specific hydrogels functionalized with VEGF for vascularization and bone regeneration of critical-size bone defects. *J Biomed Mater Res A.* 2016;104(4):889-900.
- [27] MISHRA D, BHUNIA B, BANERJEE I, et al. Enzymatically crosslinked carboxymethyl-chitosan/gelatin/nano-hydroxyapatite injectable gels for in situ bone tissue engineering application. *Mater Sci Eng.* 2011;31:1295-1304.
- [28] PUÉRTOLAS JA, VADILLO JL, SÁNCHEZ-SALCEDO S, et al. Compression behavior of biphasic calcium phosphate and biphasic calcium phosphate-agarose scaffolds for bone regeneration. *Acta Biomater.* 2011;7:841-847.
- [29] VELASCO MA, NARVÁEZ-TOVAR CA, GARZÓN-ALVARADO DA. Design, Materials, and Mechanobiology of Biodegradable Scaffolds for Bone Tissue Engineering. *BioMed Res Int.* 2015;2015:729076.
- [30] MREDHA MTI, KITAMURA N, NONOYAMA T, et al. Anisotropic tough double network hydrogel from fish collagen and its spontaneous in vivo bonding to bone. *Biomaterials.* 2017;132:85-95.
- [31] YAN Y, CHENG B, CHEN K, et al. Enhanced Osteogenesis of Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells by a Functionalized Silk Fibroin Hydrogel for Bone Defect Repair. *Adv Healthc Mater.* 2018;8:28.
- [32] SU D, JIANG L, CHEN X, et al. Enhancing the Gelation and Bioactivity of Injectable Silk Fibroin Hydrogel with Laponite Nanoplatelets. *ACS Appl Mater Interfaces.* 2016;8:9619-9628.
- [33] CHO EC, KIM JW, HYUN DC, et al. Regulating Volume Transitions of Highly Responsive Hydrogel Scaffolds by Adjusting the Network Properties of Microgel Building Block Colloids. *Langmuir.* 2010;26(6):3854-3859.
- [34] MAAZOUZ Y, MONTUFAR EB, MALBERT J, et al. Self-hardening and thermoresponsive alpha tricalcium phosphate/pluronic pastes. *Acta Biomater.* 2016;49:563-574.