

纳米羟基磷灰石 / 海藻酸钠 / 聚己内酯 / 阿仑膦酸钠支架的制备及表征

周红丽^{1,2}, 王晓龙³, 郭蕊³, 姚轩轩¹, 郭茹¹, 周熊涛¹, 何祥一¹

<https://doi.org/10.12307/2026.029>

投稿日期: 2024-08-09

采用日期: 2025-01-24

修回日期: 2025-04-13

在线日期: 2025-05-08

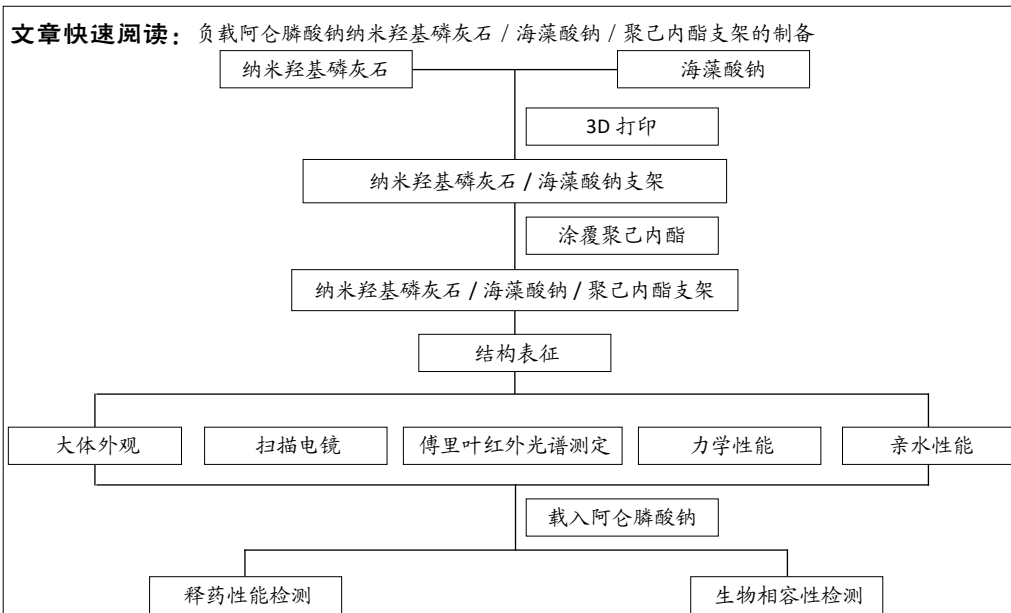
中图分类号:

R459.9; R318.08; TQ323.4

文章编号:

2095-4344(2026)08-01962-09

文献标识码: A



文题释义:

3D打印: 也称为增材制造, 借助计算机设计进行个性化支架设计, 随后采用逐层堆积的方法来制造复杂结构的技术。

纳米羟基磷灰石: 是一种高性能的白色固体粉末材料, 粒径达到200 nm, 与人体骨组织成分相似, 具有良好的生物学性能、机械强度与细胞亲和性, 在科研、医疗等多个领域应用广泛。

摘要

背景: 针对骨组织工程, 单一成分的材料无法同时满足理想生物材料的机械强度、亲水性、降解率要求, 而结合不同成分组成的复合材料可以将各组分材料性能的优点结合, 从而获得综合性能。

目的: 制备负载阿仑膦酸钠的纳米羟基磷灰石/海藻酸钠/聚己内酯支架用于临床修复骨组织缺损, 评价其体外性能。

方法: 采用挤压式3D打印机制备含不同质量分数(50%, 60%, 70%)纳米羟基磷灰石的纳米羟基磷灰石/海藻酸钠支架, 依次命名为nHA50、nHA60、nHA70; 采用浸渍法将聚己内酯组装到纳米羟基磷灰石/海藻酸钠支架表面, 获得的支架依次命名为nHA50P、nHA60P和nHA70P, 表征6组支架的形貌、力学性能与亲水性能, 筛选最佳性能的支架用于负载阿仑膦酸钠。采用挤压式3D打印机制备nHA60-阿仑膦酸钠支架, 采用浸渍法制备nHA60P-阿仑膦酸钠支架, 检测两组支架的体外药物释放。将nHA60、nHA60P、nHA60P-阿仑膦酸钠支架分别与MC3T3-E1细胞共培养, 采用CCK-8法检测细胞增殖。

结果与结论: ①扫描电镜下可见nHA50、nHA60、nHA70支架表面均有颗粒状凸起, 内部孔隙规则且相互连通, 随着纳米羟基磷灰石含量的增加, 支架表面颗粒团聚现象增加; 聚己内酯以薄膜样贴附于支架表面。nHA60支架的压缩模量高于nHA50、nHA70支架($P < 0.05$), nHA60P支架的压缩模量高于nHA50P、nHA70P、nHA60支架($P < 0.05$)。随着纳米羟基磷灰石含量的增加, nHA50、nHA60、nHA70支架的亲水性依次增强; nHA50P、nHA60P和nHA70P支架的亲水性弱于nHA50支架, 但仍符合细胞在支架表面生长的要求。综合以上结果, 选择nHA60、nHA60P支架负载阿仑膦酸钠。②与nHA60-阿仑膦酸钠支架相比, nHA60P-阿仑膦酸钠支架的药物释放速率更为缓慢, 可更长时间维持有效药物浓度。与nHA60、nHA60P支架相比, nHA60P-阿仑膦酸钠支架可促进MC3T3-E1细胞的增殖。③结果表明, nHA60P-阿仑膦酸钠支架具有优良的力学性能、亲水性、药物缓释作用与生物相容性。

关键词: 纳米羟基磷灰石; 海藻酸钠; 聚己内酯; 阿仑膦酸钠; 3D打印; 支架; 工程化骨材料

¹ 兰州大学口腔医学研究所, 甘肃省兰州市 730000; ² 惠州卫生职业技术学院, 广东省惠州市 516000; ³ 中国科学院兰州化学物理研究所, 甘肃省兰州市 730000

第一作者: 周红丽, 女, 1996年生, 甘肃省兰州市人, 汉族, 硕士, 主要从事口腔医学基础及临床医学研究。

通讯作者: 何祥一, 教授, 兰州大学口腔医学研究所, 甘肃省兰州市 730000

<https://orcid.org/0009-0005-6298-1996> (周红丽)

基金资助: 甘肃省科技项目重点研发计划(21YF5GA100), 项目负责人: 何祥一; 甘肃省牙颌面重建与生物智能制造重点实验室开放基金项目(20JR10RA653-ZDKF20210103), 项目负责人: 王晓龙; 兰州大学科研项目(533000-071100191), 项目负责人: 何祥一

引用本文: 周红丽, 王晓龙, 郭蕊, 姚轩轩, 郭茹, 周熊涛, 何祥一. 纳米羟基磷灰石 / 海藻酸钠 / 聚己内酯 / 阿仑膦酸钠支架的制备及表征 [J]. 中国组织工程研究, 2026, 30(8):1962-1970.



Fabrication and characterization of nanohydroxyapatite/sodium alginate/polycaprolactone/alendronate scaffold

Zhou Hongli^{1,2}, Wang Xiaolong³, Guo Rui³, Yao Xuanxuan¹, Guo Ru¹, Zhou Xiongtao¹, He Xiangyi¹

¹Institute of Stomatology, Lanzhou University, Lanzhou 730000, Gansu Province, China; ²Huizhou Health Sciences Polytechnic, Huizhou 516000, Guangdong Province, China; ³Lanzhou Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, Gansu Province, China
Zhou Hongli, MS, Institute of Stomatology, Lanzhou University, Lanzhou 730000, Gansu Province, China; Huizhou Health Sciences Polytechnic, Huizhou 516000, Guangdong Province, China

Corresponding author: He Xiangyi, Professor, Institute of Stomatology, Lanzhou University, Lanzhou 730000, Gansu Province, China

Abstract

BACKGROUND: For bone tissue engineering, single-component materials cannot simultaneously meet the requirements of mechanical strength, hydrophilicity, and degradation rate of ideal biomaterials. Composite materials composed of different components can combine the advantages of the performance of each component material to obtain comprehensive performance.

OBJECTIVE: To prepare nanohydroxyapatite/sodium alginate/polycaprolactone scaffolds loaded with alendronate for clinical repair of bone tissue defects and evaluate their *in vitro* performance.

METHODS: Nanohydroxyapatite/sodium alginate scaffolds containing different mass fractions (50%, 60%, and 70%) of nanohydroxyapatite were prepared by extrusion 3D printer, and they were named nHA50, nHA60, and nHA70 respectively. Polycaprolactone was assembled onto the surface of nanohydroxyapatite/sodium alginate scaffolds by impregnation method, and the obtained scaffolds were named nHA50P, nHA60P, and nHA70P respectively. The morphology, mechanical properties, and hydrophilic properties of the six groups of scaffolds were characterized, and the scaffold with the best performance was screened for loading alendronate. The nHA60-alendronate scaffold was prepared by extrusion 3D printer, and the nHA60P-alendronate scaffold was prepared by immersion method. The *in vitro* drug release of the two groups of scaffolds was detected. The nHA60, nHA60P, and nHA60P-alendronate scaffolds were co-cultured with MC3T3-E1 cells, and the cell proliferation was detected by CCK-8 assay.

RESULTS AND CONCLUSION: (1) Scanning electron microscopy showed that the surfaces of nHA50, nHA60, and nHA70 scaffolds had granular protrusions, and the internal pores were regular and interconnected. With the increase of nanohydroxyapatite content, the agglomeration of particles on the surface of the scaffold increased. Polycaprolactone was attached to the surface of the scaffold in the form of a film. The compression modulus of the nHA60 scaffold was higher than that of the nHA50 and nHA70 scaffolds ($P < 0.05$), and the compression modulus of the nHA60P scaffold was higher than that of the nHA50P, nHA70P, and nHA60 scaffolds ($P < 0.05$). With the increase of nanohydroxyapatite content, the hydrophilicity of nHA50, nHA60, and nHA70 scaffolds increased in turn; the hydrophilicity of nHA50P, nHA60P, and nHA70P scaffolds was weaker than that of nHA50 scaffolds, but still met the requirements for cell growth on the scaffold surface. Based on the above results, nHA60 and nHA60P scaffolds were selected to load alendronate. (2) Compared with the nHA60-alendronate scaffold, the drug release rate of the nHA60P-sodium alendronate scaffold was slower, and the effective drug concentration could be maintained for a longer time. Compared with the nHA60 and nHA60P scaffolds, the nHA60P-alendronate scaffold could promote the proliferation of MC3T3-E1 cells. (3) The results show that the nHA60P-alendronate scaffold has excellent mechanical properties, hydrophilicity, drug sustained release, and biocompatibility.

Key words: nanohydroxyapatite; sodium alginate; polycaprolactone; alendronate; 3D printing; scaffold; engineered bone material

Funding: Key Research & Development Plan of Gansu Provincial Science and Technology Project, No. 21YF5GA100 (to HXY); Gansu Provincial Key Laboratory of Dentomaxillofacial Reconstruction and Bio-Intelligent Manufacturing Open Fund Project, No. 20JR10RA653-ZDKF20210103 (to WXL); Lanzhou University Research Project, No. 533000-071100191 (to HXY)

How to cite this article: ZHOU HL, WANG XL, GUO R, YAO XX, GUO R, ZHOU XT, HE XY. Fabrication and characterization of nanohydroxyapatite/sodium alginate/polycaprolactone/alendronate scaffold. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2026;30(8):1962-1970.

0 引言 Introduction

对于由肿瘤、创伤等原因导致的大块骨缺损，机体的自我修复能力受限，在迫切的临床需求下，组织工程快速发展并成为目前最有希望的骨重建策略^[1-3]。组织工程的原理为：在体外构建具有优异性能的多孔复合支架，支架可以携带或结合各种生长因子并允许细胞的植入，然后将接种细胞的支架植入到损伤部位，在体内诱导组织或者器官的再生^[4-5]。在构建骨支架时，不仅需要模拟天然骨组织的结构特征，还应该具备良好的生物相容性、优异的骨诱导性和骨传导性及与组织向内生长时相匹配的生物可降解性^[6-7]。

近几年来，组织工程领域已经应用数十种先进技术制造骨替代物^[8-10]。与其他传统制造技术相比，3D打印可以在计算机控制下将生物材料准确地沉积并在宏观和微观水平上生成复杂的三维网状结构，已成为组织工程领域具有多种应用潜力的新兴技术^[11-13]。3D打印制作的植入物成本低、时间短并可

以呈现出复杂的孔隙及几何形状，从而最大程度地接近天然骨组织结构^[14]，在医学领域得到了广泛应用^[15-16]。其中，挤压式3D打印允许打印较高黏度的生物墨水，并生成解剖学意义上的多孔结构，在操作简便、灵活及低成本方面具有独特优势。

目前，单一成分的材料无法同时满足理想生物材料的机械强度、亲水性、降解率要求，而结合不同成分组成的复合材料可以将各组分材料性能的优点结合，从而获得综合性能^[17-18]。纳米羟基磷灰石是生物活性陶瓷类材料，在化学和结构上与骨骼和牙齿中的天然磷灰石相似，已被广泛用于人工骨的替代材料^[19-21]。ORYAN等^[22]采用3D打印制备了聚乳酸/聚己内酯/羟基磷灰石复合支架，该支架可促进大鼠桡骨缺损的修复。支架的弹性模量或刚度过低会影响骨组织的长入速度^[23]，而纳米羟基磷灰石存在硬度低、脆性大并缺乏柔韧性等缺点，难以满足植入物所需的特定形状和要求，这限制了该材料在承重区域的使用。海藻酸钠是一种天然多糖衍生

物, 具有独特的立体凝胶结构, 其多孔结构为成骨细胞提供了足够的细胞附着点, 并允许氧气和营养物质扩散进入^[24]。优异的柔韧性使海藻酸钠可以适应不同类型的组织缺损^[25]。除此之外, 海藻酸盐具有剪切稀释性、快速交联性和打印活细胞的可行性等特点, 成为生物打印中最常用和最成功的材料之一^[26-27]。有研究表明, 纳米羟基磷灰石/海藻酸钠复合材料具有相互连接的孔隙结构和良好的生物相容性与机械性能, 可促进成骨细胞的增殖分化^[28-30]。

作为细胞增殖分化的临时框架, 骨支架需要足够的机械强度来承受载荷直到新骨形成^[31]。天然骨组织的抗断裂行为除了受到无机相(羟基磷灰石)和有机相(胶原蛋白)之间的相互作用外, 还受到骨中胶原纤维诱导的增韧机制影响^[32]。聚己内酯是一种化学合成的可生物降解高分子材料, 植入体内 24 个月后可完全降解, 制成薄膜后仍保持令人满意的力学性能^[33]。研究表明, 聚己内酯纤维的形态(长度、大小和密度)与人骨中的胶原纤维非常接近, 它在骨支架中形成的类似于胶原纤维网状结构能够有效增强支架的力学性能^[34]。聚己内酯具有良好的强度和韧性, 可作为涂层材料进入支架表面的微孔隙及微裂缝, 减少受力时裂纹的产生, 改善支架的机械性能。MARTÍNEZ-VÁZQUEZ 等^[35]打印制备了 β -磷酸三钙网状支架, 并在支架表面均匀涂覆了聚己内酯涂层, 结果证实聚己内酯涂层显著提高了支架的力学性能。因此, 此次研究选择在支架表面涂覆聚己内酯, 以期进一步提高支架的机械性能。

单纯支架的成骨诱导能力不足, 而将具有骨诱导特性的小分子物质载入后可提高支架的骨再生能力^[36]。阿仑膦酸钠是第三代双膦酸盐类, 具有很强的抗骨吸收作用^[37]。阿仑膦酸钠含有的磷酸基团与钙离子可形成较强的螯合作用, 对骨组织的矿物成分羟基磷灰石表现出很强的亲和力, 可防止矿物质的溶解和吸收, 对破骨细胞的活性产生抑制作用^[38-39]。与支架联合的局部给药方式使得阿仑膦酸钠可持续释放, 并在骨缺损区保持适当的浓度和活性, 提高药物的生物利用度和疗效^[40]。PARK 等^[41]开发了一种载阿仑膦酸钠的双相磷酸钙支架, 结果表明该支架能够持续释放药物长达 28 d, 并且添加 5 mg 阿仑膦酸钠支架组可提高 MG-63 细胞碱性磷酸酶活性、钙含量及骨钙素和骨桥蛋白 mRNA 的表达, 促进大鼠胫骨缺损处的骨形成。

此次研究尝试采用挤压式 3D 打印技术制备一种负载阿仑膦酸钠的多孔纳米羟基磷灰石/海藻酸钠/聚己内酯支架, 以模仿骨组织的构造和力学性能, 采用各种表征手段探究该支架的材料属性、药物缓释能力及体外生物学行为, 以初步探索其作为人工植入物的应用前景。

1 材料和方法 Materials and methods

1.1 设计 材料制备与表征, 体外细胞学实验, 组间比较进行单因素方差分析。

1.2 时间及地点 实验于 2020-10-01/2022-12-30 在中国兰州大学口腔医学院实验室和兰州化学物理研究所完成。

1.3 材料 纳米羟基磷灰石、海藻酸钠、聚己内酯(阿拉丁公司); 小鼠颅顶前骨细胞 MC3T3-E1(Pricella 公司); 1, 4-二氧六环(晶纯生化科技股份有限公司); 氯化钙(科密欧化学试剂厂); 阿仑膦酸钠(源叶生物); 直书写 3D 打印机(改装自日本 MUSASHI 点胶机); 球磨机(DAC 公司); 离心机(湘仪离心机仪器公司); 冷冻干燥机(新芝科技生物有限公司); 扫描电子显微镜(飞纳电子光学公司); 傅里叶红外光谱仪(Bruker 公司); 万能试验机(日井精密仪器有限公司); 接触角测试仪(Kruss 公司); 酶标仪(Bio-Rad)。

1.4 方法

1.4.1 3D 打印墨水的调配 将 0.6 g 海藻酸钠加入到 10 mL 水溶液中, 加入 0.03 g 氯化钙粉末, 室温下机械搅拌 20 min 以上至均匀状态, 搅拌转速 300 r/min, 加入一定量的纳米羟基磷灰石, 使纳米羟基磷灰石/(纳米羟基磷+海藻酸钠)的质量分数分别为 50%, 60%, 70%, 搅拌均匀后装入聚氯乙烯打印针管中, 室温下 9 000 r/min 离心 10 min 以去除气泡, 获得用于 3D 打印的生物墨水, 依次记为 nHA50、nHA60、nHA70。

1.4.2 3D 打印纳米羟基磷灰石/海藻酸钠支架 采用兰州化学物理研究所研发的 MuCAD 建模软件设计支架结构, 构建 10 mm×10 mm×5 mm 的多孔支架结构, 使用软件对模型进行分层处理; 随后将设计好的模型传输入打印机中, 安装生物墨水, 选择直径为 410 μ m 的不锈钢锥形针头, 打印速度设定为 5 mm/s, 并调整压强到合适, 按建模进行支架打印, 获得网状三维多层结构。将支架用 3% 氯化钙溶液在

室温下交联 24 h, 用 PBS 洗涤 3 次, 置于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冷冻干燥 24 h, 获得 nHA50、nHA60、nHA70 支架。

1.4.3 纳米羟基磷灰石 / 海藻酸钠 / 聚己内酯支架的制备 采用浸渍法制备纳米羟基磷灰石 / 海藻酸钠 / 聚己内酯支架。称取 0.8 g 聚己内酯溶于 20 mL 1, 4-二氧六环溶液中, 机械搅拌 1 h, 搅拌速 500 r/min, 获得 40 g/L 聚己内酯溶液。将 nHA50、nHA60、nHA70 支架分别浸于聚己内酯溶液中 1 min, 置于通风橱中晾晒干燥 48 h, 获得的支架依次命名为 nHA50P、nHA60P 和 nHA70P。

1.4.4 支架的性能测试

扫描电镜检测: 将 6 组支架进行喷金, 采用扫描电子显微镜对支架表面形貌及断面进行观测, 扫描电镜按 1 000, 2 000 倍观察支架表面若干点及断面结构。

傅里叶变换红外光谱测试: 将 nHA60、nHA60P 支架样品在研钵内研磨成粉末, 与溴化钾混合均匀后压片, 制成溴化钾样本压片, 使用傅里叶变换红外光谱仪检测各组样品的分子间作用, 分辨率 4 cm^{-1} , 范围设定为 $500\text{--}4\text{ }000\text{ cm}^{-1}$ 。

力学性能检测: 骨组织工程支架对压缩应力所表现的力学性能是评价支架性能的重要依据。将 6 组支架模型参数设为 $10\text{ mm}\times 10\text{ mm}\times 10\text{ mm}$ 并导入打印机进行打印, 然后将试样浸泡于 PBS(pH=7.4) 中 1 min, 用镊子夹出后立即用滤纸轻轻擦拭支架表面的水分, 利用材料试验机进行压缩测试, 压缩速率 1 mm/min , 最大载荷 500 N, 取前 50% 的应力应变曲线进行作图。

亲水性能: 重新调整打印机参数设置 (填充间距设为 0 cm), 将 6 组支架打印成无空隙的平滑平面。进行静态接触角测试时, 缓慢推动针管将 $3\text{ }\mu\text{L}$ 去离子水滴于支架样品上, 使用相机在显微镜下不断拍摄以获取图像, 再传输到软件上进行处理。

1.4.5 载药支架的制备 将 0.6 g 海藻酸钠加入到 10 mL 水溶液中, 加入质量分数 0.5% 阿仑膦酸钠, 室温下机械搅拌 20 min 以上至均匀状态, 搅拌转速 500 r/min, 装入聚氯乙烯针管中, 按照 1.4.2 的方法打印 nHA60-阿仑膦酸钠支架。将支架用 3% 氯化钙溶液在室温下交联 24 h, 用 PBS 洗涤 3 次, 置于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冷冻干燥 24 h。同样, 采用浸渍法制备 nHA60P-阿仑膦酸钠支架。

1.4.6 载药支架释药性能检测 将 nHA60-阿仑膦酸

钠支架和 nHA60P-阿仑膦酸钠支架分别浸泡于 3 mL PBS 中, 于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下静置, 进行为期 14 d 的药物缓释实验。在 12 h 及 1, 3, 5, 7, 10, 14 d 时取出少量介质, 同时再补充 2 mL 的 PBS, 采用酶标仪检测介质中阿仑膦酸钠的吸光度值, 根据标准曲线计算阿仑膦酸钠的累积释放率。

1.4.7 支架对细胞增殖的影响

支架的准备: nHA60、nHA60P、nHA60P-阿仑膦酸钠支架 (支架尺寸均为 $8\text{ mm}\times 8\text{ mm}\times 4\text{ mm}$) 用体积分数 75% 乙醇消毒 30 min, 之后放于无菌操作台进行紫外灭菌 3 h, 翻面再次紫外灭菌 3 h。灭菌后用 PBS 反复冲洗 3 遍, 置于 48 孔细胞培养板中, 以消除乙醇对后续实验的影响。

CCK-8 检测: 将灭菌好的各组支架置于 48 孔板中, 加入 $200\text{ }\mu\text{L}$ 完全培养基 (含体积分数 10% 胎牛血清、1% 双抗的 $\alpha\text{-MEM}$ 培养基) 浸泡 6 h。将生长状态良好的 MC3T3-E1 细胞接种到各支架表面, 细胞浓度 $1\times 10^8\text{ L}^{-1}$, 每孔 $20\text{ }\mu\text{L}$, 置于恒温培养箱中培养 3 h, 加入 $100\text{ }\mu\text{L}$ 完全培养基继续培养。培养 1, 3, 5 d, 每孔加入 CCK-8 试剂 $120\text{ }\mu\text{L}$ 避光反应 2 h, 使用酶标仪检测吸光度值。

1.5 主要观察指标 各组支架的形貌、力学性能、水接触角、药物缓释性能与细胞相容性。

1.6 统计学分析 每个实验至少进行 3 次, 结果以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 使用 SPSS 25.0 软件对实验数据进行统计学分析, 组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 认为差异有显著性意义。该文统计学方法已经由兰州大学生物统计学专家审核。

2 结果 Results

2.1 各组支架的外观 如图 1 所示, 6 组支架在外观表现上无明显差异且均获得很好的成型效果, 支架呈白色, 线条粗细一致, 未发生明显塌陷, 并且存在高度互联且形状规则的孔隙结构。

2.2 各组支架的微观形貌 扫描电镜下可见 nHA50、nHA60、nHA70 支架表面均有颗粒状凸起, 随着纳米羟基磷灰石含量的增加, 支架表面粗糙度增加并出现一定程度的纳米羟基磷灰石颗粒团聚, 因此, 可以在 nHA70 支架表面观察到更为明显的团聚现象, 见图 2A-C。聚己内酯以薄膜样贴附在 nHA50P、nHA60P、nHA70P 支架表面, 对支架粗糙度无明显影响, 见图 2D-F。扫描电镜下观察支架横断面, 可

见 nHA50、nHA60、nHA70 支架内部有较多的空隙结构且孔隙相互连接，并且随着纳米羟基磷灰石含量的增加，颗粒团聚现象更为明显，见图 2G-I。

2.3 nHA60P 支架傅里叶变换红外光谱检测结果 对纳米羟基磷灰石、海藻酸钠、聚己内酯及 nHA60、nHA60P 支架进行红外特征吸收峰的表征，见图 3。纳米羟基磷灰石在 565 cm^{-1} 和 603 cm^{-1} 处出现对应于 PO_4^{3-} 的变形振动峰，在 $1\ 043\text{ cm}^{-1}$ 附近的吸收峰对应于 PO_4^{3-} 的伸缩振动峰；海藻酸钠在 $1\ 590\text{ cm}^{-1}$ 和 $1\ 360\text{ cm}^{-1}$ 附近出现较强的吸收峰，分别对应为 $-\text{COO}-$ 的不对称伸缩振动和对称伸缩振动峰；聚己内酯线谱在 $2\ 950\text{ cm}^{-1}$ 处存在较强的特征吸收峰，代表的是聚己内酯的 $-\text{CH}_2-$ ，在 $1\ 734\text{ cm}^{-1}$ 处的特征峰则代表 $\text{C}=\text{C}$ 的特征伸缩振动峰。

在 nHA60、nHA60P 支架所对应的线谱中，均存在代表纳米羟基磷灰石的 PO_4^{3-} 变形振动和伸缩振动特征峰，以及代表海藻酸钠的 $-\text{COO}-$ 不对称伸缩振动和对称伸缩振动特征峰。与海藻酸钠原材料相比，在两组支架中代表 $-\text{COO}-$ 的特征峰向高频方向移动到 $1\ 620\text{ cm}^{-1}$ 和 $1\ 435\text{ cm}^{-1}$ 附近，这主要是由于海藻酸钠中的 $-\text{COO}-$ 和 Ca^{2+} 发生反应形成蛋壳结构。与 nHA60 支架相比，nHA60P 支架内出现代表聚己内酯的饱和 $-\text{CH}_2-$ 和 $\text{C}=\text{C}$ 的特征峰，说明聚己内酯成功负载于支架上。

2.4 各组支架的力学性能检测结果 6 组支架的应力-应变曲线与压缩模量见图 4A。nHA50、nHA60、nHA70 支架的压缩模量分别为 (1.33 ± 0.27) ， (13.70 ± 0.99) ， (4.00 ± 1.29) MPa，nHA60 支架的压缩模量高于 nHA50、nHA70 支架 ($P < 0.05$)；nHA50P、nHA60P、nHA70P 支架的压缩模量分别为 (4.50 ± 0.61) ， (18.89 ± 1.65) ， (7.12 ± 1.44) MPa，nHA60P 支架的压缩模量高于 nHA50P、nHA70P ($P < 0.05$)；nHA60 支架的压缩模量高于 nHA50P、nHA70P ($P < 0.05$)，低于 nHA60P 支架 ($P < 0.05$)，见图 4B。

2.5 各组支架的亲水性性能检测结果 6 组支架的水接触角检测结果见图 5。nHA50、nHA60 和 nHA70 支架的水接触角分别为 $(49.20\pm 1.52)^\circ$ ， $(43.27\pm 2.01)^\circ$ ， $(38.77\pm 1.89)^\circ$ ，3 组间两两比较差异均有显著性意义 ($P < 0.05$)。nHA50P、nHA60P 和 nHA70P 支架的水接触角分别为 $(79.09\pm 1.80)^\circ$ ， $(81.12\pm 1.26)^\circ$ ， $(78.36\pm 2.44)^\circ$ ，3 组间比较差异无显著性意义 ($P > 0.05$)。nHA50P、nHA60P 和 nHA70P 支架的水接触角均大于 nHA50、

nHA60 和 nHA70 支架 ($P < 0.05$)。

综合微观形貌、力学性能与亲水性检测结果，选择 nHA60、nHA60P 支架负载阿仑膦酸钠。

2.6 载药支架的药物缓释能力检测结果 如图 6 所示，nHA60-阿仑膦酸钠支架和 nHA60P-阿仑膦酸钠支架在前 3 d 的曲线变化较陡峭，上升速率快，均有药物突释现象的发生，之后曲线上升变化平缓，药物释放速率逐渐稳定，可保持有效药物释放量在 14 d 以上；与 nHA60-阿仑膦酸钠支架相比，nHA60P-阿仑膦酸钠支架的药物释放速率更为缓慢，可更长时间维持有效药物浓度。

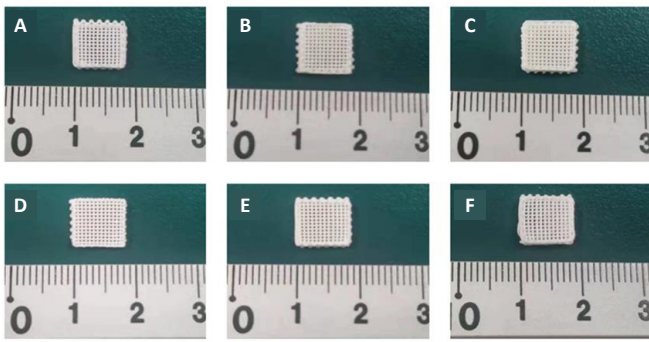
2.7 各组支架细胞增殖能力的影响 从图 7 中可看出，随着培养时间的增长，MC3T3-E1 细胞在 nHA60、nHA60P、nHA60P-阿仑膦酸钠支架上均呈现出较好的生长状态。培养第 1 天，3 组细胞增殖吸光度值比较差异无显著性意义 ($P > 0.05$)；培养第 3 天，nHA60P-阿仑膦酸钠组细胞的增殖吸光度值高于 nHA60 组、nHA60P 组 ($P < 0.05$)；培养第 5 天，nHA60P-阿仑膦酸钠组细胞的增殖吸光度值高于 nHA60 组、nHA60P 组 ($P < 0.05$)，nHA60P 组细胞的增殖吸光度值低于 nHA60 组 ($P < 0.05$)。

3 讨论 Discussion

近几年，3D 打印骨组织工程支架是具有远大前景的新型骨修复策略，通过 3D 打印技术可以实现骨组织工程支架功能与结构的个性化制备，满足不同的临床需求^[42]。而随着 3D 打印生物学等技术的不断研究，植入体内的支架材料除了要充分考虑其机械强度和生物相容性等因素^[43-44]，还可在该材料上附加生物活性因子、药物或其他元素以进一步增强细胞成骨能力，从而实现复杂骨缺损的高效修复重建。

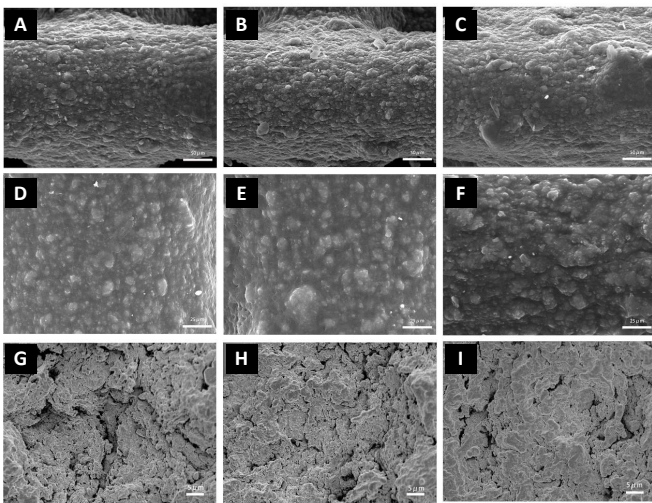
此次研究利用纳米羟基磷灰石良好的机械性能和生物活性，以及海藻酸钠优良的可打印性和快速交联性，将纳米羟基磷灰石颗粒加入到海藻酸钠材料中，采用挤压式 3D 打印方式制备出具有三维多孔结构的纳米羟基磷灰石/海藻酸钠复合支架，并在支架表面涂覆聚己内酯，以期提高支架的各项理化性能。

用于骨再生的生物支架有 2 个重要的形态特征，即宏观和微观层面的孔径及孔隙率^[45]。此次实验选择基于挤压的 3D 打印技术可以实现解剖学意义上的



图注：图 A-F 分别是 50% 纳米羟基磷灰石 / 海藻酸钠支架、60% 纳米羟基磷灰石 / 海藻酸钠支架、70% 纳米羟基磷灰石 / 海藻酸钠支架、50% 纳米羟基磷灰石 / 海藻酸钠 / 聚己内酯支架、60% 纳米羟基磷灰石 / 海藻酸钠 / 聚己内酯支架、70% 纳米羟基磷灰石 / 海藻酸钠 / 聚己内酯支架。
图 1 | 3D 打印支架的外观

Figure 1 | Appearance of the 3D printed scaffolds

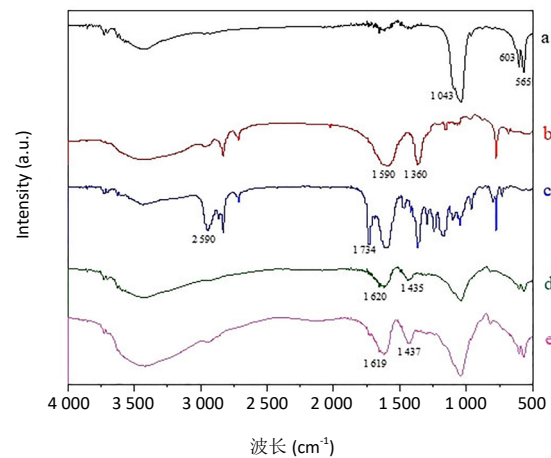


图注：图 A-C 为 50% 纳米羟基磷灰石 / 海藻酸钠支架、60% 纳米羟基磷灰石 / 海藻酸钠支架、70% 纳米羟基磷灰石 / 海藻酸钠支架的表面形貌，标尺 = 50 μm；D-F 为 50% 纳米羟基磷灰石 / 海藻酸钠 / 聚己内酯支架、60% 纳米羟基磷灰石 / 海藻酸钠 / 聚己内酯支架、70% 纳米羟基磷灰石 / 海藻酸钠 / 聚己内酯支架的表面形貌，标尺 = 25 μm；G-I 为 50% 纳米羟基磷灰石 / 海藻酸钠支架、60% 纳米羟基磷灰石 / 海藻酸钠支架、70% 纳米羟基磷灰石 / 海藻酸钠支架的横断面形貌，标尺 = 5 μm。

图 2 | 各组支架的微观形貌 (扫描电镜)

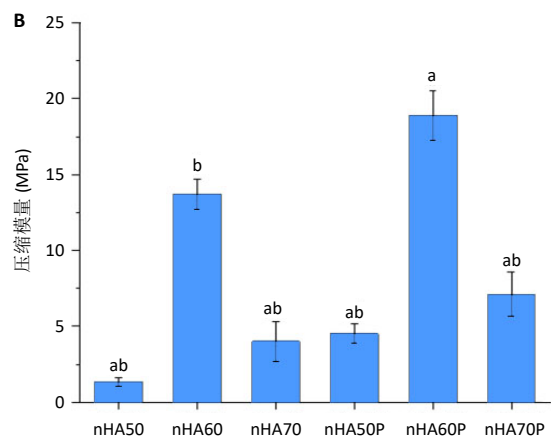
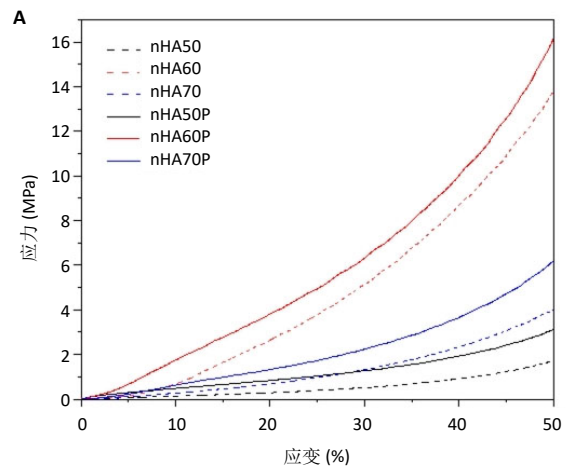
Figure 2 | Microscopic morphology of each group of scaffolds (scanning electron microscope)

多孔构造，使各组复合支架都具有相互连接的大孔结构，扫描电镜观察支架表面呈现凹凸不平的粗糙表面，这样的结构比起外表光滑的复合支架更容易促进骨髓间充质干细胞的增殖和成骨分化能力^[46-47]。支架内部在经过冷冻干燥处理后也形成适量的微孔结构，而这样的微米级别孔结构对于细胞生长、营养物质的扩散及废物的清除至关重要^[48-49]。随后对支架材料进行傅里叶变换红外光谱测试，显示冷冻干燥并未使材料的性能发生改变，并且纳米羟基磷



图注：图中 a-e 分别为纳米羟基磷灰石、海藻酸钠、聚己内酯、60% 纳米羟基磷灰石 / 海藻酸钠支架、60% 纳米羟基磷灰石 / 海藻酸钠 / 聚己内酯支架。
图 3 | 纳米羟基磷灰石 / 海藻酸钠 / 聚己内酯支架及其中成分的傅里叶变换红外光谱

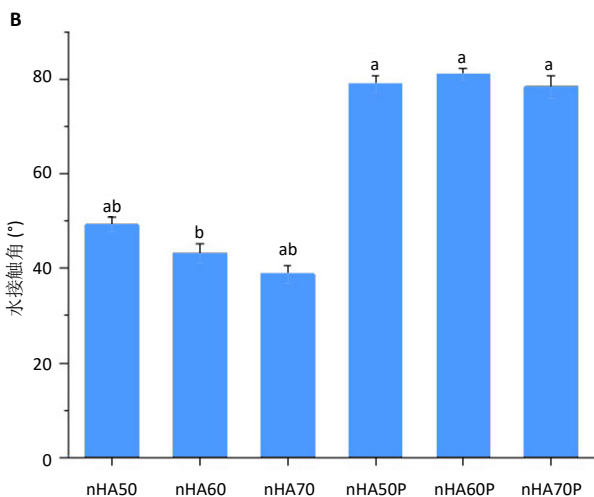
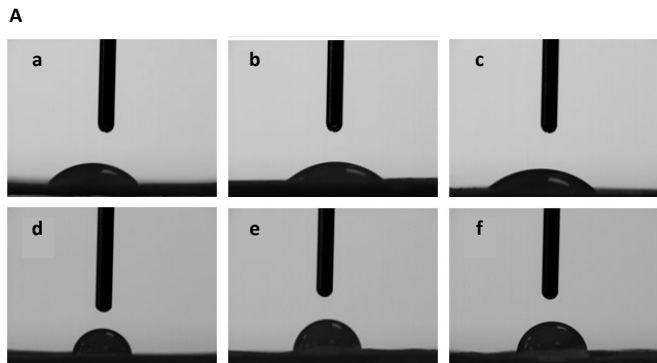
Figure 3 | Fourier transform infrared spectra of nanohydroxyapatite/sodium alginate/polycaprolactone scaffold and its components



图注：nHA50、nHA60 和 nHA70 分别为含 50%，60%，70% 纳米羟基磷灰石的纳米羟基磷灰石 / 海藻酸钠，nHA50P、nHA60P 和 nHA70P 分别为含 50%，60%，70% 纳米羟基磷灰石的纳米羟基磷灰石 / 海藻酸钠 / 聚己内酯支架。图 A 为各组支架的应力 - 应变曲线；B 为各组支架的压缩模量。与 nHA60 支架比较，^a $P < 0.05$ ；与 nHA60P 支架比较，^b $P < 0.05$ 。

图 4 | 各组支架的力学性能比较

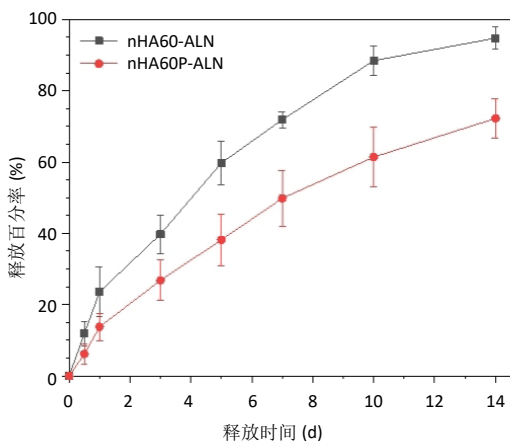
Figure 4 | Comparison of mechanical properties of each group of scaffolds



图注: nHA50、nHA60 和 nHA70 分别为含 50%、60%、70% 纳米羟基磷灰石的纳米羟基磷灰石 / 海藻酸钠支架, nHA50P、nHA60P 和 nHA70P 分别为含 50%、60%、70% 纳米羟基磷灰石的纳米羟基磷灰石 / 海藻酸钠 / 聚己内酯支架。图 A 为各组支架表面水接触角形成图像, 其中 a-f 分别为 nHA50、nHA60、nHA70、nHA50P、nHA60P 和 nHA70P 支架; B 为各组支架的水接触角定量分析。与 nHA60 支架比较, ^a $P < 0.05$; 与 nHA60P 支架比较, ^b $P < 0.05$ 。

图 5 | 各组支架水接触角检测结果

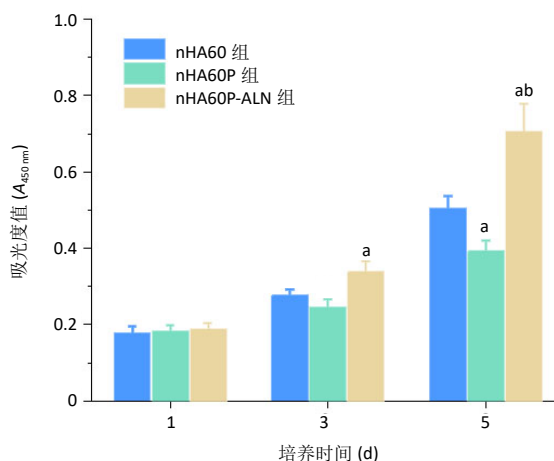
Figure 5 | Water contact angle test results of each group of scaffolds



图注: nHA60-ALN 为 60% 纳米羟基磷灰石 / 海藻酸钠 - 阿仑膦酸钠支架, nHA60P-ALN 为 60% 纳米羟基磷灰石 / 海藻酸钠 / 聚己内酯 - 阿仑膦酸钠支架。与 nHA60-ALN 支架相比, nHA60P-ALN 支架的药物释放速率更为缓慢, 可更长时间维持有效药物浓度。

图 6 | 载药支架的体外释药曲线

Figure 6 | In vitro drug release curves of drug-loaded stent



图注: nHA60 为 60% 纳米羟基磷灰石 / 海藻酸钠支架, nHA60P 为 60% 纳米羟基磷灰石 / 海藻酸钠 / 聚己内酯支架, ALN 为阿仑膦酸钠。与 nHA60 组比较, ^a $P < 0.05$; 与 nHA60P 组比较, ^b $P < 0.05$ 。

图 7 | 各组支架表面的 MC3T3-E1 细胞增殖活性

Figure 7 | Proliferation activity of MC3T3-E1 cells on the surface of each group of scaffolds

灰石 / 海藻酸钠 / 聚己内酯支架中包含聚己内酯的特征峰, 说明聚己内酯成功负载于支架上。

在组织工程中, 支架作为细胞附着、增殖和分化的基质, 需要足够的机械强度来承受载荷直到新的骨组织形成^[1]。此次实验结果显示各组支架均具有一定的抗压强度, 并且适宜含量纳米羟基磷灰石的加入及表面涂覆聚己内酯可以增加支架的抗压强度, 其中 nHA60P 支架的抗压强度优于其他组支架。

亲水性作为一种关键的表面特性, 直接影响细胞在表面的黏附及生长^[50-51]。纳米羟基磷灰石中含有大量的羟基, 所以, 随着纳米羟基磷灰石含量的增加, nHA50、nHA60 和 nHA70 支架的亲水性依次增强。然而, 亲水性主要由支架最表面的性质决定, 由于聚己内酯含有大量的疏水性基团, 使得 nHA50P、nHA60P 和 nHA70P 支架的水接触角明显增大, 但均小于 90°, 仍然符合细胞在支架表面生长的要求。

除了结构特性外, 复合支架还应该具有良好的成骨诱导能力。阿仑膦酸钠是第三代双膦酸盐骨吸收抑制剂, 多项研究表明其具有较强的骨吸收抑制作用^[52]。此次实验将阿仑膦酸钠与性能更为优异的 nHA60P 和 nHA60 支架相结合, 获得的载药支架将具备更好的骨传导性和诱导性。与 nHA60-阿仑膦酸钠支架相比, nHA60P-阿仑膦酸钠支架的药物释放速率更为平缓, 药物释放天数可在 14 d 以上, 因此,

聚己内酯涂层可以有效阻止阿仑膦酸钠的快速释放,能够更长时间提供有效浓度的药物治疗,从而在充填骨缺损的同时也可治疗相关骨科疾病,进一步改善患者预后。

在骨组织工程中,生物相容性对于评估支架材料能否为细胞的生长、增殖和分化提供合适微环境至关重要^[53]。此次研究选取 MC3T3-E1 细胞作为种子细胞,采用 CCK-8 对 nHA60 支架、nHA60P 支架、nHA60P-阿仑膦酸钠支架的细胞相容性进行评估,结果显示 MC3T3-E1 细胞在 3 组支架上均呈现出较好的生长状态,其中以 nHA60P-阿仑膦酸钠支架促细胞增殖的效果最明显,因此,可以认为聚己内酯涂层对细胞的增殖会产生一定影响,但质量分数 0.5% 阿仑膦酸钠的载入明显促进了骨支架诱导骨细胞增殖的作用。

综上所述,纳米羟基磷灰石/海藻酸钠/聚己内酯支架满足生物支架的基本理化性能要求,而其中性能更为优异的 nHA60P-阿仑膦酸钠支架是较为理想的组织工程支架,为新型骨组织修复材料应用于大块骨缺损的修复治疗提供理论基础,但其体内实验有待进一步实施。

作者贡献: 周红丽进行实验设计,实验实施为周红丽、郭蕊以及姚轩轩,实验评估为王晓龙,资料收集为周熊涛,周红丽成文,何祥一审核。

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。

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。

版权转让: 文章出版前全体作者与编辑部签署了文章版权转让协议。

出版规范: 该文章撰写遵守了国际医学期刊编辑委员会《学术研究实验与报告和医学期刊编辑与发表的推荐规范》。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。

4 参考文献 References

- [1] ZHANG L, YANG G, JOHNSON BN, et al. Three-dimensional (3D) printed scaffold and material selection for bone repair. *Acta Biomater.* 2019;84:16-33.
- [2] KOUSHIK TM, MILLER CM, ANTUNES E. Bone Tissue Engineering Scaffolds: Function of Multi-Material Hierarchically Structured Scaffolds. *Adv Healthc Mater.* 2023;12(9):e2202766.
- [3] YANG Y, ZHOU B, LI M, et al. GO/Cu Nanosheet-Integrated Hydrogel Platform as a Bioactive and Biocompatible Scaffold for Enhanced Calvarial Bone Regeneration. *Int J Nanomedicine.* 2024;19:8309-8336.
- [4] O'BRIEN FJ. Biomaterials & scaffolds for tissue engineering. *Mater Today.* 2011;14(3):88-95.
- [5] QU M, WANG C, ZHOU X, et al. Multi-Dimensional Printing for Bone Tissue Engineering. *Adv Healthc Mater.* 2021;10(11):e2001986.
- [6] LEE J, BYUN H, MADHURAKKAT PERIKAMANA SK, et al. Current Advances in Immunomodulatory Biomaterials for Bone Regeneration. *Adv Healthc Mater.* 2019;8(4):e1801106.
- [7] BEDAIR TM, HEO Y, RYU J, et al. Biocompatible and functional inorganic magnesium ceramic particles for biomedical applications. *Biomater Sci.* 2021;9(6):1903-1923.
- [8] SHIRZAEI SANI I, REZAEI M, BARADAR KHOSHFETRAT A, et al. Preparation and characterization of polycaprolactone/chitosan-g-polycaprolactone/hydroxyapatite electrospun nanocomposite scaffolds for bone tissue engineering. *Int J Biol Macromol.* 2021;182:1638-1649.
- [9] WUBNEH A, TSEKOURA EK, AYRANCI C, et al. Current state of fabrication technologies and materials for bone tissue engineering. *Acta Biomater.* 2018;80:1-30.
- [10] ALONZO M, PRIMO FA, KUMAR SA, et al. Bone tissue engineering techniques, advances and scaffolds for treatment of bone defects. *Curr Opin Biomed Eng.* 2021;17:100248.
- [11] STAFIN K, ŚLIWA P, PIĄTKOWSKI M. Towards Polycaprolactone-Based Scaffolds for Alveolar Bone Tissue Engineering: A Biomimetic Approach in a 3D Printing Technique. *Int J Mol Sci.* 2023;24(22):16180.
- [12] SUN T, FENG Z, HE W, et al. Novel 3D-printing bilayer GelMA-based hydrogel containing BP,β-TCP and exosomes for cartilage-bone integrated repair. *Biofabrication.* 2023;16(1). doi: 10.1088/1758-5090/ad04fe.
- [13] MURPHY SV, ATALA A. 3D bioprinting of tissues and organs. *Nat Biotechnol.* 2014;32(8):773-785.
- [14] YANG X, WANG Y, ZHOU Y, et al. The Application of Polycaprolactone in Three-Dimensional Printing Scaffolds for Bone Tissue Engineering. *Polymers (Basel).* 2021;13(16):2754
- [15] PARK JW, KANG HG. Application of 3-dimensional printing implants for bone tumors. *Clin Exp Pediatr.* 2022;65(10):476-482.
- [16] XUE N, DING X, HUANG R, et al. Bone Tissue Engineering in the Treatment of Bone Defects. *Pharmaceuticals (Basel).* 2022;15(7):879.
- [17] DEUERLING S, KUGLER S, KLOTZ M, et al. A Perspective on Bio-Mediated Material Structuring. *Adv Mater.* 2018;30(19):e1703656.
- [18] ELKHOULY H, MAMDOUH W, EL-KORASHY DI. Electrospun nanofibrous bilayer scaffold prepared from polycaprolactone/gelatin and bioactive glass for bone tissue engineering. *J Mater Sci Mater Med.* 2021;32(9):111.
- [19] HUANG B, CHEN M, TIAN J, et al. Oxygen-Carrying and Antibacterial Fluorinated Nano-Hydroxyapatite Incorporated Hydrogels for Enhanced Bone Regeneration. *Adv Healthc Mater.* 2022;11(12):e2102540.
- [20] LIN H, LI Z, XIE Z, et al. An anti-infection and biodegradable TFRD-loaded porous scaffold promotes bone regeneration in segmental bone defects: experimental studies. *Int J Surg.* 2024;110(6):3269-3284.
- [21] WU X, NI S, DAI T, et al. Biomineralized tetramethylpyrazine-loaded PCL/gelatin nanofibrous membrane promotes vascularization and bone regeneration of rat cranium defects. *J Nanobiotechnology.* 2023;21(1):423.
- [22] ORYAN A, HASSANAJILI S, SAHVIEH S. Effectiveness of a biodegradable 3D polylactic acid/poly(ε-caprolactone)/hydroxyapatite scaffold loaded by differentiated osteogenic cells in a critical-sized radius bone defect in rat. *J Tissue Eng Regen Med.* 2021;15(2):150-162.

- [23] LONG J, YAO Z, ZHANG W, et al. Regulation of Osteoimmune Microenvironment and Osteogenesis by 3D-Printed PLAG/black Phosphorus Scaffolds for Bone Regeneration. *Adv Sci (Weinh)*. 2023; 10(28):e2302539.
- [24] WANG Z, WANG Y, YAN J, et al. Pharmaceutical electrospinning and 3D printing scaffold design for bone regeneration. *Adv Drug Deliv Rev*. 2021;174:504-534.
- [25] SALTZ A, KANDALAM U. Mesenchymal stem cells and alginate microcarriers for craniofacial bone tissue engineering: A review. *J Biomed Mater Res A*. 2016;104(5):1276-1284.
- [26] SILVA-BARROSO AS, CABRAL CSD, FERREIRA P, et al. Lignin-enriched tricalcium phosphate/sodium alginate 3D scaffolds for application in bone tissue regeneration. *Int J Biol Macromol*. 2023;239:124258.
- [27] NOROOZI R, SHAMEKHI MA, MAHMOUDI R, et al. In vitro static and dynamic cell culture study of novel bone scaffolds based on 3D-printed PLA and cell-laden alginate hydrogel. *Biomed Mater*. 2022;17(4). doi: 10.1088/1748-605X/ac7308.
- [28] SIVAKUMAR M, RAO KP. Preparation, characterization, and in vitro release of gentamicin from coralline hydroxyapatite-alginate composite microspheres. *J Biomed Mater Res A*. 2003;65(2):222-228.
- [29] ZHANG J, WANG Q, WANG A. In situ generation of sodium alginate/hydroxyapatite nanocomposite beads as drug-controlled release matrices. *Acta Biomater*. 2010;6(2):445-454.
- [30] SAMADIAN H, SALEHI M, FARZAMFAR S, et al. In vitro and in vivo evaluation of electrospun cellulose acetate/gelatin/hydroxyapatite nanocomposite mats for wound dressing applications. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*. 2018;46(sup1):964-974.
- [31] ZHANG L, YANG G, JOHNSON BN, et al. Three-dimensional (3D) Printed Scaffold and Material Selection for Bone Repair. *Acta Biomater*. 2018;84:16-33.
- [32] NALLA RK, KINNEY JH, RITCHIE RO. Effect of orientation on the in vitro fracture toughness of dentin: the role of toughening mechanism. *Biomaterials*. 2003;24(22):3955-3968.
- [33] WIRIA FE, LEONG KF, CHUA CK, et al. Poly-epsilon-caprolactone/hydroxyapatite for tissue engineering scaffold fabrication via selective laser sintering. *Acta Biomater*. 2007;3(1):1-12.
- [34] NALLA RK, KINNEY JH, RITCHIE RO. Mechanistic fracture criteria for the failure of human cortical bone. *Nat Mater*. 2003;2(3):164-168.
- [35] MARTÍNEZ-VÁZQUEZ FJ, MIRANDA P, GUIBERTEAU F, et al. Reinforcing bioceramic scaffolds with in situ synthesized ϵ -polycaprolactone coatings. *J Biomed Mater Res A*. 2013;101(12):3551-3559.
- [36] WANG L, PANG Y, TANG Y, et al. A biomimetic piezoelectric scaffold with sustained Mg(2+) release promotes neurogenic and angiogenic differentiation for enhanced bone regeneration. *Bioact Mater*. 2023; 25:399-414.
- [37] MCCLUNG M, HARRIS ST, MILLER PD, et al. Bisphosphonate Therapy for Osteoporosis: Benefits, Risks, and Drug Holiday. *Am J Med*. 2013; 126(1):13-20.
- [38] RODAN GA, RESZKA AA. Bisphosphonate mechanism of action. *Curr Mol Med*. 2002;2(6):571-577.
- [39] RUSSELL RG, MÜHLBAUER RC, BISAZ S, et al. The influence of pyrophosphate, condensed phosphates, phosphonates and other phosphate compounds on the dissolution of hydroxyapatite in vitro and on bone resorption induced by parathyroid hormone in tissue culture and in thyroparathyroidectomised rats. *Calcif Tissue Res*. 1970;6(3):183-196.
- [40] 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.
- [41] PARK KW, YUN YP, KIM SE, et al. The Effect of Alendronate Loaded Biphasic Calcium Phosphate Scaffolds on Bone Regeneration in a Rat Tibial Defect Model. *Int J Mol Sci*. 2015;16(11):26738-26753.
- [42] FRANCESCHETTI P, BONDANELLI M, CARUSO G, et al. Risk factors for development of atypical femoral fractures in patients on long-term oral bisphosphonate therapy. *Bone*. 2013;56(2):426-431.
- [43] LIN CH, SU JJ, LEE SY, et al. Stiffness modification of photopolymerizable gelatin-methacrylate hydrogels influences endothelial differentiation of human mesenchymal stem cells. *J Tissue Eng Regen Med*. 2018; 12(10):2099-2111.
- [44] CHIMENE D, KAUNAS R, GAHARWAR AK. Hydrogel Bioink Reinforcement for Additive Manufacturing: A Focused Review of Emerging Strategies. *Adv Mater*. 2020;32(1):e1902026.
- [45] ROOHANI-ESFAHANI SI, NOURI-KHORASANI S, LU ZF, et al. Effects of bioactive glass nanoparticles on the mechanical and biological behavior of composite coated scaffolds. *Acta Biomater*. 2011;7(3):1307-1318.
- [46] KUMAR G, WATERS MS, FAROOQUE TM, et al. Freeform fabricated scaffolds with roughened struts that enhance both stem cell proliferation and differentiation by controlling cell shape. *Biomaterials*. 2012;33(16):4022-4030.
- [47] KUMAR G, TISON CK, CHATTERJEE K, et al. The determination of stem cell fate by 3D scaffold structures through the control of cell shape. *Biomaterials*. 2011;32(35):9188-9196.
- [48] KARAGEORGIOU V, KAPLAN D. Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis. *Biomaterials*. 2005;26(27):5474-5491.
- [49] AMINI AR, LAURENCIN CT, NUKAVARAPU SP. Bone tissue engineering: recent advances and challenges. *Crit Rev Biomed Eng*. 2012;40(5): 363-408.
- [50] ASGHARI F, RABIEI FARADONBEH D, MALEKSHAHI ZV, et al. Hybrid PCL/chitosan-PEO nanofibrous scaffolds incorporated with A. euchroma extract for skin tissue engineering application. *Carbohydr Polym*. 2022;278:118926.
- [51] VYAS C, ZHANG J, ØVREBØ Ø, et al. 3D printing of silk microparticle reinforced polycaprolactone scaffolds for tissue engineering applications. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2021;118:111433.
- [52] MA J, XIA M, ZHU S, et al. A new alendronate doped HAP nanomaterial for Pb(2+), Cu(2+) and Cd(2+) effect absorption. *J Hazard Mater*. 2020; 400:123143.
- [53] WILLIAMS DF. On the mechanisms of biocompatibility. *Biomaterials*. 2008;29(20):2941-2953.

(责任编辑: 关伟, 邱杨, 张楠)