

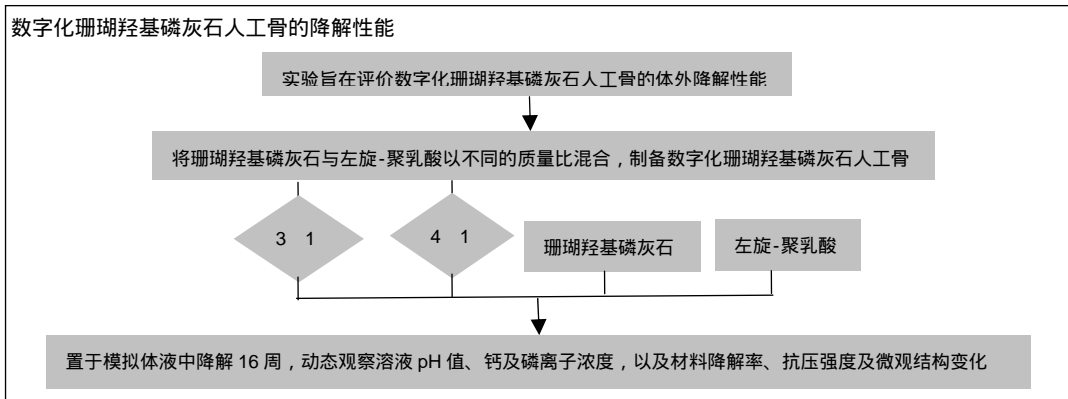
# 数字化珊瑚羟基磷灰石人工骨支架的体外降解性能

林山<sup>1</sup>, 黄晓梅<sup>2,3</sup>, 芮钢<sup>1</sup>, 尹庆水<sup>4</sup>(<sup>1</sup>厦门大学附属第一医院骨科, 福建省厦门市 361003; <sup>2</sup>漳州职业技术学院食品与生物工程系, 福建省漳州市 363000; <sup>3</sup>中国科学院城市环境研究所, 城市生态健康与环境安全研究中心, 福建省厦门市 361021; <sup>4</sup>解放军广州军区广州总医院, 全军创伤骨科中心, 广东省广州市 510010)

引用本文: 林山, 黄晓梅, 芮钢, 尹庆水. 数字化珊瑚羟基磷灰石人工骨支架的体外降解性能[J]. 中国组织工程研究, 2016, 20(3):330-335.

DOI:10.3969/j.issn.2095-4344.2016.03.005 ORCID: 0000-0003-4037-7411(林山)

文章快速阅读:



林山, 男, 1981 年生, 博士, 主治医师, 主要从事数字骨科与生物骨科材料及运动医学研究。

通讯作者: 林山, 厦门大学附属第一医院骨科, 福建省厦门市 361003

中图分类号: R318

文献标识码: A

文章编号: 2095-4344

(2016)03-00330-06

稿件接受: 2015-10-26

http://www.crter.org

## 文题释义:

珊瑚羟基磷灰石: 是由天然珊瑚经过“水热反应”转化生成的, 目前已被广泛应用于骨科、口腔科及眼科领域。珊瑚羟基磷灰石的主要成分是羟基磷灰石和碳酸钙。羟基磷灰石在体内几乎不发生降解, 据文献报道, 完全转化的珊瑚羟基磷灰石 2 年降解率为 8%。过低的降解度导致新骨形成过慢, 同时形成的新骨生物力学性能与正常骨组织存在较大差距, 不能满足正常的骨生理功能。

生物可降解: 指材料在生物体内通过溶解、酶解、细胞吞噬等作用, 在组织长入的过程中不断从体内排出, 修复后的组织完全替代植入材料的位置, 而材料在体内不存在残留的性质。生物降解的研究内容包括生物自身所具有的降解能力, 有机物降解难易的规律, 水溶性和非水溶性有机物生物降解的机理, 以及生物降解途径等。

## 摘要

背景: 前期实验成功制备了数字化珊瑚羟基磷灰石人工骨支架材料, 并已证实其具有良好的理化性能和生物相容性。

目的: 评价数字化珊瑚羟基磷灰石人工骨的体外降解性能。

方法: 将珊瑚羟基磷灰石与左旋-聚乳酸分别以 3:1 和 4:1 的质量比混合, 制备数字化珊瑚羟基磷灰石人工骨支架材料试件。将两种数字化人工骨支架材料、珊瑚羟基磷灰石及左旋-聚乳酸分别置于初始 pH 值为 7.4 的 50 mL 模拟体液中, 在 37℃ 恒温箱中降解 16 周, 动态观察溶液 pH 值、钙及磷离子浓度, 以及材料降解率、抗压强度及微观结构变化。

结果与结论: 降解 16 周时, 两种数字化人工骨组的 pH 值维持在 7.34-7.36, 高于左旋-聚乳酸组 ( $P < 0.01$ ), 低于珊瑚羟基磷灰石组 ( $P < 0.01$ ); 两种数字化人工骨组的钙离子浓度高于珊瑚羟基磷灰石组 ( $P < 0.01$ ), 磷离子浓度低于珊瑚羟基磷灰石组 ( $P < 0.01$ ); 两种数字化人工骨组的降解率低于珊瑚羟基磷灰石组 ( $P < 0.01$ ), 高于左旋-聚乳酸组 ( $P < 0.01$ ); 抗压强度顺序: 珊瑚羟基磷灰石组 > 3:1 数字化人工骨组 > 左旋-聚乳酸组 > 4:1 数字化人工骨组; 两种数字化人工骨微孔结构增多, 孔隙率升高, 孔径增大, 说明数字化珊瑚羟基磷灰石人工骨支架具有良好的降解性能。

关键词:

生物材料; 骨生物材料; 珊瑚羟基磷灰石; 左旋-聚乳酸; 快速成形; 骨组织工程; 生物降解性; 福建省自然科学基金

主题词:

硬羟基磷灰石; 生物降解, 环境; 组织工程

基金资助:

福建省教育厅科技项目(JA12416); 福建省自然科学基金青年创新项目(2013D013); 漳州职业技术学院院级科研项目(ZZY1204)

Lin Shan<sup>1</sup>, Huang Xiao-mei<sup>2,3</sup>, Rui Gang<sup>1</sup>, Yin Qing-shui<sup>4</sup> (<sup>1</sup>Department of Orthopedics, the First Affiliated Hospital of Xiamen University, Xiamen 361003, Fujian Province, China; <sup>2</sup>Department of Food and Biological Engineering, Zhangzhou Institute of Technology, Zhangzhou 363000, Fujian Province, China; <sup>3</sup>Research Center of Urban Ecological Health and Environmental Safety, Institute of Urban Environment, Chinese Academy of Sciences, Xiamen 361021, Fujian Province, China; <sup>4</sup>Orthopedic Trauma Center of PLA, Guangzhou General Hospital of Guangzhou Military Region, Guangzhou 510010, Guangdong Province, China)

Lin Shan, M.D., Attending physician, Department of Orthopedics, the First Affiliated Hospital of Xiamen University, Xiamen 361003, Fujian Province, China

Corresponding author:  
Lin Shan, Department of  
Orthopedics, the First  
Affiliated Hospital of Xiamen  
University, Xiamen 361003,  
Fujian Province, China

**Subject headings:**  
Durapatite; Biodegradation,  
Environmental; Tissue  
Engineering  
**Funding:** the Science and  
Technology Project of Fujian  
Provincial Department of  
Education of China, No.  
JA12416; the Youth  
Innovation Project of Natural  
Science Foundation of Fujian  
Province, China, No.  
2013D013; School-Level  
Research Project of  
Zhangzhou Institute of  
Technology, No. ZZY1204

## Degradation performance of the digital coralline hydroxyapatite artificial bone scaffold *in vitro*

### Abstract

**BACKGROUND:** We have successfully prepared the digital coralline hydroxyapatite artificial bone scaffold in previous experiments, and it has good physicochemical properties and biocompatibility.

**OBJECTIVE:** To evaluate the *in vitro* degradation performance of the digital coralline hydroxyapatite artificial bone.

**METHODS:** We used the mixtures of coralline hydroxyapatite and L-poly(lactic acid) at the mass ratio of 3:1 and 4:1 as raw materials to prepare the digital coralline hydroxyapatite artificial bone scaffold specimens, and then they were immersed in the 50 mL stimulated body fluid with the initial pH value of 7.4 in an incubator at 37 °C for degradation. After 16 weeks of degradation, the pH value, calcium and phosphate ion concentration, degradation rate, compressive strength and changes of microstructure were dynamically observed.

**RESULTS AND CONCLUSION:** At the 16<sup>th</sup> weeks of degradation, the pH values in the two kinds of digital artificial bone groups maintained at 7.34-7.36, which were higher than that in the L-poly(lactic acid) group ( $P < 0.01$ ), and lower than that in the coralline hydroxyapatite group ( $P < 0.01$ ). The calcium ion concentrations in the two kinds of digital artificial bone groups were higher than that in the coralline hydroxyapatite group ( $P < 0.01$ ), and the phosphorus ion concentrations were lower than that in the coralline hydroxyapatite group ( $P < 0.01$ ). The degradation rates in the two kinds of digital artificial bone groups were lower than that in the coralline hydroxyapatite group ( $P < 0.01$ ), and higher than that in the L-poly(lactic acid) group ( $P < 0.01$ ). The order of the compressive strength was as follows: coralline hydroxyapatite group > 3:1 digital artificial bone group > L-poly(lactic acid) group > 4:1 digital artificial bone group. The cellular structure, porosity and pore size in the two kinds of digital artificial bone groups were all increased. These results show that the prepared digital coralline hydroxyapatite artificial bone scaffold has good degradation properties.

**Cite this article:** Lin S, Huang XM, Rui G, Yin QS. Degradation performance of the digital coralline hydroxyapatite artificial bone scaffold *in vitro*. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2016;20(3):330-335.

## 0 引言 Introduction

20世纪80年代出现的骨组织工程学技术为骨缺损,特别是复杂结构的骨缺损修复开辟了新的渠道。生物降解型支架材料的研究,是近年来国际上骨组织工程研究的一个重要发展方向<sup>[1-2]</sup>。理想的植骨材料应具有合适的降解性能,降解速度过快不利于新骨的长入,而降解过慢会影响新骨的替代和塑形过程,因此骨组织工程支架材料的降解性能至关重要。

本课题组将珊瑚羟基磷灰石粉碎后,按照一定的质量比与左旋-聚乳酸混合均匀后作为原料,采用CAD相关技术制作骨块的数字化模型,并将数据导入快速成型机中,采用选择性激光烧结的快速成型工艺,成功制备出了数字化珊瑚羟基磷灰石人工骨支架材料<sup>[3-5]</sup>,通过实验证实其理化、结构性能和力学性能优越,具有作为个性化人工骨材料的应用潜力,并已通过体外实验证实该材料没有细胞毒性,无致敏性<sup>[3-5]</sup>,但降解性对这一新型材料的推广运用至关重要。

体外降解结果通常可以用来预见体内的降解表现,因此,一种可降解材料在应用于体内之前,尤其在材料研制和筛选阶段需要进行体外降解实验。实验拟采用质量比为3:1和4:1的珊瑚羟基磷灰石微粒与左旋-聚乳酸的混合物为原料,制备数字化珊瑚羟基磷灰石人工骨支架材料,并进行体外模拟体液条件下降解性能研究,论证其作为组织工程材料的可行性。

## 1 材料和方法 Materials and methods

### 1.1 设计 体外观察实验。

1.2 时间及地点 于2015年1至8月在厦门大学附属第一医院医学实验科完成。

### 1.3 材料

**实验用材料及仪器:**珊瑚羟基磷灰石(广东省骨科矫形技术及植入材料重点实验室);左旋-聚乳酸,医药级,粒径 300 μm(深圳市光华伟业实业有限公司);球磨机(无锡市鑫燕粉体机械有限公司);AFS-320激光快速成型机(北京隆源自动成型有限公司);Bose材料力学试验机(美国);PHS-2C数字式酸度计(Sartorius);FA-200型电子天平(日本AND公司);扫描电镜(HITACHI, S-3000N, 日本)。

### 1.4 实验方法

**试件制备:**将珊瑚羟基磷灰石微粒与左旋-聚乳酸分别按照3:1和4:1的质量比混合均匀后备用。采用Simpleware 3.1软件构建一高为1.5 cm、直径为0.5 cm的CAD实体圆柱形数字模型,通过数控转换,将数据传到AFS快速自动成型机中,采用选择性激光烧结的工艺,在一定的激光参数下(已申请发明专利),分别对不同质量比且混合均匀的原料进行选择性的烧结堆积成型<sup>[3-5]</sup>,每组制备数字化珊瑚羟基磷灰石人工骨支架材料若干。

**模拟体液的成分:**含8.035 g/L NaCl、0.355 g/L NaHCO<sub>3</sub>、0.292 g/L CaCl<sub>2</sub>、0.225 g/L KCl、0.231 g/L K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·3H<sub>2</sub>O、0.311 g/L MgCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O及0.072 g/L Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>。

**支架在体外模拟体液中的降解:**将制备的数字化珊瑚羟基磷灰石人工骨支架材料试件,分别放置于初始pH值为7.4的50 mL 模拟体液中,在37 °C恒温箱中降解,不换液,进行以下观察和检测。

### 1.5 主要观察指标

**在模拟体液中浸泡后支架大体外观变化:** 大体观察各试件的形态、颜色及光泽等变化。

**在模拟体液中浸泡后溶液pH值的测定:** 将制备的数字化珊瑚羟基磷灰石人工骨试件各6个, 分别放置于初始pH值为7.4的50 mL模拟体液中, 在37 °C恒温箱中降解, 不换液, 分别于浸泡后2, 4, 8, 12, 16周, 采用pH值测定仪测量浸泡液的pH值。用左旋-聚乳酸和珊瑚羟基磷灰石支架在相同条件下同时进行对照研究。

**在模拟体液中浸泡后溶液钙、磷离子浓度的测定:** 分别从浸泡后2, 4, 8, 12, 16周pH值测定的浸泡液中抽取5 mL液体, 用全自动体液生化测定仪进行钙、磷离子浓度测定。用珊瑚羟基磷灰石支架在相同条件下同时进行对照研究。

**在模拟体液中浸泡后材料降解率的测定:** 将制备的两种数字化人工骨试件各30个, 进行编号, 每种材料的试件随机分为5组(2, 4, 8, 12, 16周), 每组各有6个试件, 以电子分析天平精确称量每个试件的初始质量( $m_0$ )并记录。将上述试件分别放置于初始pH值为7.4的50 mL模拟体液中, 放置于37 °C恒温箱中恒温保存, 每隔2 d换液1次, 每次换液30 mL; 于2, 4, 8, 12, 16周各取每种材料的一组试件, 干燥至恒质量后称量其残质量( $m_t$ )。用左旋-聚乳酸和珊瑚羟基磷灰石支架在相同条件下同时进行对照研究。材料体外降解率= $(m_0 - m_t)/m_0 \times 100\%$ 。

**在模拟体液中浸泡后材料的抗压强度测定:** 于2, 4, 8, 12, 16周每种材料的试件称残质量后, 将其两端磨平, 置于BOSE材料力学试验机(美国)上轴向加压, 测定其抗压强度, 下压量为10 mm, 下压速度为0.25 mm/s。压力和位移变化自动记录仪自行记录, 并计算每个试件的抗压强度。抗压强度(MPa)=最大压力/截面积。

**在模拟体液中浸泡后材料的扫描电子显微镜观察:** 将16周称残质量后的试件折断, 断面喷金溅射, 使用S-3000N型扫描电子显微镜观察其表面形貌及微孔样结构的变化。

**1.6 统计学分析** 所有计量资料均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用SPSS 13.0统计软件进行单因素方差分析和重复测量数据的方差分析, 以 $P < 0.05$ 表示差异有显著性意义。

## 2 结果 Results

**2.1 支架大体观察** 随着浸泡时间的延长, 数字化珊瑚羟基磷灰石人工骨材料表面粗糙度逐渐增加, 呈蚕食样改变, 4周时, 观察到表面粗糙、有细颗粒样材料溶出; 8周时, 材料的边缘及表面有小片状剥脱; 12周时, 材料的边缘及表面有剥脱的颗粒增多, 并出现裂缝, 体积变小, 16周时, 材料仍可保持原有的圆柱体样形态轮廓, 但裂缝变宽, 孔隙增大。

**2.2 溶液pH值变化** 不同材料在体外模拟体液降解过程

中pH值的动态变化见表1。

两数字化人工骨在16周的降解过程中, pH值略有降低, pH值维持7.34-7.36, 两者间无明显差异( $P > 0.05$ ), 且二者在同一时间点的pH值高于左旋-聚乳酸组( $P < 0.05$ ), 在同一时间点的pH值低于珊瑚羟基磷灰石组, 差异有显著性意义( $P < 0.05$ )。

**2.3 钙离子浓度的变化** 不同材料在体外模拟体液降解过程中钙离子浓度的动态变化见表2。

两数字化人工骨组浸泡液钙离子浓度随降解时间延长逐渐增高, 开始2周内升高较快, 由2.55 mmol/L分别增到2周时的(6.14±0.13) mmol/L和(6.08±0.10) mmol/L; 第8周开始, 3-1数字化人工骨组的钙离子浓度逐渐大于4-1数字化人工骨组( $P < 0.01$ ); 第8, 12, 16周, 3-1数字化人工骨组浸泡液的钙离子浓度最高, 珊瑚羟基磷灰石组浸泡液的钙离子浓度最低, 各组间的差异有显著性意义( $P < 0.01$ )。

**2.4 磷离子浓度的变化** 不同材料在体外模拟体液降解过程中磷离子浓度的动态变化见表3。

两数字化人工骨组磷离子浓度在2周内升高较快, 由开始时的0.032 mmol/L, 升高于2周时的(0.112±0.001) mmol/L, 之后磷离子浓度基本稳定在0.113 mmol/L左右, 且两组在各时间点的磷离子浓度无差异( $P > 0.05$ ), 但均低于珊瑚羟基磷灰石组( $P < 0.01$ )。

**2.5 支架降解率的变化** 不同材料在体外模拟体液降解过程中降解率的动态变化见表4。

随降解时间增加, 所有材料的质量不断降低, 但降解速度逐渐减慢, 各组不同时间差异显著( $P < 0.01$ )。从各时间的比较显示: 珊瑚羟基磷灰石组降解最快, 与各组差异显著( $P < 0.01$ ); 其次是两数字化人工骨组, 两者的降解速度无差异( $P > 0.05$ ), 16周时数字化人工骨降解了约38%; 降解最慢的是左旋-聚乳酸。

**2.6 支架抗压强度** 不同材料在体外模拟体液降解过程中抗压强度的动态变化见表5。

在模拟体液中随着材料的降解, 材料的力学强度也逐渐降低, 各组不同时间差异显著( $P < 0.01$ ), 其中左旋-聚乳酸组抗压强度降低最为明显, 8周时抗压强度降为初始值的一半, 为(1.64±0.02) MPa, 之后强度明显下低, 16周时抗压强度为(0.35±0.02) MPa。两数字化人工骨抗压强度降低较为缓慢, 2周时抗压强度分别为(2.89±0.22) MPa和(1.62±0.07) MPa; 12周时4-1数字化失去骨支撑的强度, 降为(0.69±0.08) MPa, 而3-1数字化人工骨组仍有(1.15±0.03) MPa的抗压强度; 16周时3-1数字化人工骨组也失去骨支撑的强度, 下降为(0.55±0.06) MPa, 两种数字化人工骨材料在各时间点的抗压强度差异非常显著( $P < 0.01$ )。珊瑚羟基磷灰石组在降解过程中抗压强度下降较少, 各时间抗压强度最强, 16周时仍有(4.09±0.28) MPa, 与其余组差异非常显著( $P < 0.01$ )。

表 1 不用材料浸泡于模拟体液中降解液的 pH 值变化 ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )  
Table 1 pH value changes of the degradation solution when different materials were soaked in the simulated body fluid

组别	0 d	2 周	4 周	8 周	12 周	16 周	F	P
3 1 数字化人工骨组	7.4	7.36±0.01 <sup>ab</sup>	7.35±0.01 <sup>ab</sup>	7.35±0.01 <sup>ab</sup>	7.34±0.01 <sup>ab</sup>	7.34±0.01 <sup>ab</sup>	67.446	0
4 1 数字化人工骨组	7.4	7.38±0.01 <sup>ab</sup>	7.37±0.01 <sup>ab</sup>	7.37±0.01 <sup>ab</sup>	7.35±0.01 <sup>ab</sup>	7.35±0.01 <sup>ab</sup>	37.547	0
左旋-聚乳酸组	7.4	7.34±0.01 <sup>b</sup>	5.40±0.04 <sup>b</sup>	4.64±0.13 <sup>b</sup>	4.05±0.11 <sup>b</sup>	3.59±0.14 <sup>b</sup>	1 805.798	0
珊瑚羟基磷灰石组	7.4	7.41±0.01 <sup>a</sup>	7.42±0.01 <sup>a</sup>	7.44±0.01 <sup>a</sup>	7.46±0.01 <sup>a</sup>	7.53±0.02 <sup>a</sup>	129.083	0
F		151.449	3 359.17	2 633.617	5 945.343	4 580.299		
P		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000		

表注: 与同一时间点左旋-聚乳酸组相比, <sup>a</sup> $P < 0.01$ ; 与同一时间点珊瑚羟基磷灰石组相比, <sup>b</sup> $P < 0.01$ ; 不同时间点间的差异,  $F=1 746.983, P=0$ ; 时间与不同组之间存在交互效应,  $F=1 779.272, P=0$ ; 不同区域间存在显著性差异,  $F=31 966.807, P=0$ 。

表 2 不同材料浸泡于模拟体液中钙离子浓度的变化 ( $\bar{x} \pm s, n=6, \text{mmol/L}$ )  
Table 2 Changes of the concentration of calcium ions when different materials were soaked in the simulated body fluid

组别	0 d	2 周	4 周	8 周	12 周	16 周	F	P
3 1 数字化人工骨组	2.55	6.14±0.13 <sup>a</sup>	6.21±0.11 <sup>a</sup>	6.57±0.13 <sup>a</sup>	7.01±0.12 <sup>a</sup>	7.83±0.04 <sup>a</sup>	2 888.447	0
4 1 数字化人工骨组	2.55	6.08±0.10 <sup>a</sup>	6.15±0.08 <sup>a</sup>	6.24±0.03 <sup>a</sup>	6.68±0.03 <sup>a</sup>	7.15±0.13 <sup>a</sup>	3 603.794	0
珊瑚羟基磷灰石组	2.55	4.74±0.36	4.78±0.35	4.78±0.35	4.82±0.33	4.86±0.35	183.835	0
F		37.946	42.882	65.336	109.221	252.008		
P		0	0	0	0	0		

表注: 与同一时间点珊瑚羟基磷灰石组相比, <sup>a</sup> $P < 0.01$ ; 8, 12, 16 周, 3 1 数字化人工骨组与 4 1 数字化人工骨组相比差异有显著性意义( $P < 0.01$ ); 不同时间点的差异,  $F=3 471.309, P=0$ ; 时间与不同组之间存在交互效应,  $F=149.540, P=0$ ; 不同区域间存在显著性差异,  $F=153.292, P=0$ 。

表 3 各试件在模拟体液降解中磷离子浓度的变化 ( $\bar{x} \pm s, n=6, \text{mmol/L}$ )  
Table 3 Changes of the concentration of phosphate ions when different materials were soaked in the simulated body fluid

组别	0 d	2 周	4 周	8 周	12 周	16 周	F	P
3 1 数字化人工骨组	0.032	0.112±0.001 <sup>a</sup>	0.112±0.000 <sup>a</sup>	0.113±0.001 <sup>a</sup>	0.113±0.001 <sup>a</sup>	0.114±0.001 <sup>a</sup>	15 390.512	0
4 1 数字化人工骨组	0.032	0.112±0.001 <sup>a</sup>	0.112±0.001 <sup>a</sup>	0.113±0.001 <sup>a</sup>	0.113±0.001 <sup>a</sup>	0.114±0.001 <sup>a</sup>	14 996.756	0
珊瑚羟基磷灰石组	0.032	0.115±0.001	0.116±0.001	0.117±0.001	0.117±0.001	0.118±0.001	11 668.038	0
F		19.783	29.824	38.526	43.551	49.754		
P		0	0	0	0	0		

表注: 与同一时间点珊瑚羟基磷灰石组相比, <sup>a</sup> $P < 0.01$ ; 不同时间点间的差异,  $F=41 146.590, P=0$ ; 时间与不同组之间存在交互效应,  $F=10.656, P=0$ ; 不同区域间存在显著性差异,  $F=67.406, P=0$ 。

表 4 不同材料浸泡于模拟体液中降解率的变化 ( $\bar{x} \pm s, n=6, \%$ )  
Table 4 Changes of the degradation rate when different materials were soaked in the simulated body fluid

组别	2 周	4 周	8 周	12 周	16 周	F	P
3 1 数字化人工骨组	7.40±0.16 <sup>a</sup>	17.59±0.76 <sup>a</sup>	24.13±0.41 <sup>a</sup>	34.67±0.20 <sup>a</sup>	38.29±0.22 <sup>a</sup>	5 465.304	0
4 1 数字化人工骨组	7.34±0.17 <sup>a</sup>	17.16±0.41 <sup>a</sup>	23.74±0.28 <sup>a</sup>	34.10±0.36 <sup>a</sup>	37.88±0.56 <sup>a</sup>	5 380.304	0
左旋-聚乳酸组	6.37±0.04	15.05±1.02	21.35±0.52	32.52±0.15	36.47±0.10	3 077.887	0
珊瑚羟基磷灰石组	12.35±1.59	25.02±1.42	29.35±0.71	37.53±0.87	41.53±0.92	638.909	0
F	137.850	118.970	266.903	176.630	153.738		
P	0	0	0	0	0		

表注: 与同一时间点左旋-聚乳酸组和珊瑚羟基磷灰石组相比, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 不同时间点间的差异,  $F=7 616.295, P=0$ ; 时间与不同组之间存在交互效应,  $F=12.794, P=0$ ; 不同区域间存在显著性差异,  $F=474.486, P=0$ 。

表 5 不同材料浸泡于模拟体液降解后的抗压强度变化 ( $\bar{x} \pm s, n=6, \text{MPa}$ )  
Table 5 Changes of compressive strength when different materials were soaked in the simulated body fluid

组别	0 d	2 周	4 周	8 周	12 周	16 周	F	P
3 1 数字化人工骨组	3.02±0.20 <sup>a</sup>	2.89±0.22 <sup>a</sup>	2.77±0.24 <sup>a</sup>	2.15±0.03 <sup>a</sup>	1.15±0.03 <sup>a</sup>	0.55±0.06 <sup>a</sup>	363.311	0
4 1 数字化人工骨组	1.83±0.09 <sup>a</sup>	1.62±0.07 <sup>a</sup>	1.49±0.08 <sup>a</sup>	1.43±0.02 <sup>a</sup>	0.69±0.08 <sup>a</sup>	0.32±0.01 <sup>a</sup>	588.189	0
左旋-聚乳酸组	3.71±0.13 <sup>a</sup>	3.35±0.05 <sup>a</sup>	2.90±0.09 <sup>a</sup>	1.64±0.02 <sup>a</sup>	0.76±0.02 <sup>a</sup>	0.35±0.02 <sup>a</sup>	2 597.150	0
珊瑚羟基磷灰石组	8.56±0.49	8.31±0.60	8.03±0.59	7.44±0.52	5.48±0.51	4.09±0.28	325.127	0
F	627.586	494.884	482.585	710.349	472.383	1004.536		
P	0	0	0	0	0	0		

表注: 与同一时间点珊瑚羟基磷灰石组相比, <sup>a</sup> $P < 0.01$ ; 不同时间点间的差异,  $F=1 598.041, P=0$ ; 时间与不同组之间存在交互效应,  $F=87.997, P=0$ ; 不同区域间存在显著性差异,  $F=730.169, P=0$ 。

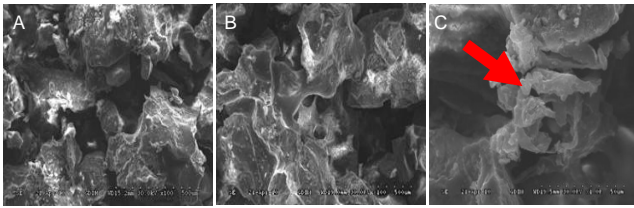


图1 不同材料浸泡于模拟体液中16周后的微观结构(扫描电镜  $\times 100$ )  
Figure 1 Microstructure of different materials at 16 weeks after soaked in the simulated body fluid (scanning electron microscopy,  $\times 100$ )

图注:图中A为珊瑚羟基磷灰石与左旋-聚乳酸质量比为3:1的数字化人工骨,B为珊瑚羟基磷灰石与左旋-聚乳酸质量比为4:1的数字化人工骨,两组微孔结构增多,孔隙率升高,孔径增大;C为数字化人工骨珊瑚羟基磷灰石微粒之间的左旋-聚乳酸黏结点断裂,见箭头示。

2.7 支架扫描电子显微镜观察 对数字化人工骨在模拟体液中浸泡16周后断端进行扫描电镜观察,发现数字化人工骨微孔结构增多,孔隙率升高,孔径增大,4:1数字化人工骨组比3:1数字化人工骨组支架内部结构松散,珊瑚羟基磷灰石微粒间的“附形剂”——左旋-聚乳酸出现断裂,左旋-聚乳酸含量减少(图1)。

### 3 讨论 Discussion

目前对生物降解型骨组织工程支架材料的研究甚多,但尚未找到一种理想的材料,主要是因为存在很多需要解决的问题:支架材料的降解率与成骨速度不协调。材料的机械强度难以与降解速度相匹配。材料的降解产物在体内会引起一些炎性反应及免疫反应<sup>[7-8]</sup>。因此生物材料的降解性能是骨组织工程研究需要重点考虑的一个因素。

影响骨组织工程支架材料降解性能的因素主要有材料的亲水性、化学键类型、材料溶解度、材料制作过程、几何形状、孔隙率及孔径大小、材料降解后局部的pH值等<sup>[9-10]</sup>,与置入不同部位也有关<sup>[11]</sup>。材料的体内外降解速度也是不同的<sup>[12]</sup>,通常体内比体外降解要慢,但也有实验显示体内比体外降解要快<sup>[13]</sup>。

珊瑚羟基磷灰石是由天然珊瑚经过“水热反应”转化生成的,目前已被广泛应用于骨科、口腔科及眼科领域<sup>[14]</sup>。珊瑚羟基磷灰石的主要成分是羟基磷灰石和碳酸钙。羟基磷灰石在体内几乎不发生降解,Ducheyne等<sup>[15]</sup>将羟基磷灰石置入犬股骨缺损处,观察3-5年后,羟基磷灰石未发现变化。据文献报道,完全转化的珊瑚羟基磷灰石2年降解率为8%<sup>[16]</sup>。过低的降解度导致新骨形成过慢,同时形成的新骨生物力学性能与正常骨组织存在较大差距,不能满足正常的骨生理功能。

珊瑚羟基磷灰石在模拟体液中,其表面可出现Ca、P的溶解、沉积动态过程,进而形成磷灰石<sup>[17]</sup>。本实验中各试件在浸泡过程中,容器底部都出现一定数量的沉淀物,这是钙磷浓度逐渐增高,达到成核作用的阈值而形成结晶核,结晶沉积,最终达到一个析出与结晶的动态平衡。因此,在本实验中两数字化人工骨试件降解液的磷离子浓度

和珊瑚羟基磷灰石试件降解液的钙、磷离子浓度在开始2周内升高,到达一峰值后,基本维持不变,但两数字化人工骨试件降解液的钙离子浓度仍有缓慢升高,考虑与左旋-聚乳酸降解后产生的酸性环境,与珊瑚羟基磷灰石中的碳酸钙中和后,释放钙离子有关。

左旋-聚乳酸的降解产物能够减小局部pH值,加快降解速率和引发炎症<sup>[18]</sup>。而珊瑚羟基磷灰石人工骨微粒含有碳酸钙成分,可充分中和左旋-聚乳酸的酸性环境,从而降低降解速率,故两数字化人工骨试件降解液的pH值,在16周的降解周期内持续维持在7.35左右,且其在体外模拟体液中的降解率明显低于左旋-聚乳酸的降解率,但高于珊瑚羟基磷灰石的降解率。数字化珊瑚羟基磷灰石人工骨12周的降解率为34.67%左右,抗压强度下降为初始值的50%,基本还保持有天然松质骨的强度(0.4-11 MPa)<sup>[19-32]</sup>。

通过扫描电子显微镜观察,随着降解时间的延长,数字化珊瑚羟基磷灰石人工骨支架材料内部的孔径逐渐增大,孔隙逐渐增多,这将增加其吸水率,加快支架材料的降解,降低支架材料的抗压强度,这与降解率和抗压强度变化的检测结果一致。因此,本实验研制的数字化珊瑚羟基磷灰石人工骨支架材料生物降解性能优越,可作为较理想的生物降解型骨组织工程材料,但其体内降解性尚需进一步研究。

致谢:感谢解放军广州军区总医院和广东省骨科矫形技术及植入材料重点实验室对本研究的支持和帮助。

作者贡献:第一、二作者进行实验设计、实施,资料收集、实验评估;第一、二作者负责成文;第三、四作者负责审校。

利益冲突:所有作者共同认可文章无相关利益冲突。

伦理问题:未涉及与伦理冲突的内容。

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良行为承担责任。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] Tanner KE. Bioactive composites for bone tissue engineering. Proc Inst Mech Eng H. 2010;224(12):1359-1372.
- [2] Zhao Z, Jiang D. Progress and prospect of synthetic biodegradable polymers for bone repair and reconstruction. Zhongguo Xue Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi. 2010; 24 (3): 363-367.
- [3] 林山,尹庆水,张余,等.数字化珊瑚羟基磷灰石人工骨的制备及性能研究[J].中国矫形外科杂志,2010,18(24):2082-2086.
- [4] 林山,尹庆水,张余,等.数字化珊瑚羟基磷灰石人工骨的研制及体外细胞毒性研究[J].中国骨与关节损伤杂志,2011,26(2):121-124.

- [5] 林山,黄晓梅,芮钢,等.数字化珊瑚羟基磷灰石人工骨的致敏实验[J].中国组织工程研究,2014,18(25):3961-3965.
- [6] Kokubo T,Takadama H. How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity? *Biomaterials*.2006;27(15):2907-2915.
- [7] Noeh FM,Wenzel A,Harris N,et al. The effects of arginine administration on the levels of arginine, other aminoacids and related aminocompounds in the plasma, heart, aorta, vena cava, bronchi and pancreas of the rat.*Life Sci*. 1996;58(8): 131-138.
- [8] Czako I,Takacs T,Varge IS,et al.The pathogenesis of Lateinine-induced acute necrotizing pancreatitis Inflammatory mediators and endogenous cholecystokin.*J Physiol Paris*.2000;94(1):43-50.
- [9] Daniels AU,Chang MK,Andriano KP.Mechanical properties of biodegradable polymers and composites proposed for internal fixation of bone. *J Appl Biomater*.1990;1:57-78.
- [10] David A,Eitenmuller J,Von Oepen R,et al.Mechanical strength and chemical stability of biodegradable block-polymerized and injection molded poly-L-lactide in vitro. *Unfallchirurg*. 1994;97:278-284.
- [11] Shikinami Y,Matsusue Y,Nakamura T.The complete process of bioresorption and bone replacement using devices made of forged composites of raw hydroxyapatite particles/poly l-lactide (F-u-HA/PLLA).*Biomaterials*.2005;26:5542-5551.
- [12] Prokop A,Hofl A,Hellmich M,et al.Degradation of poly -L/DL -lactide versus TCP composite pins: a three-year animal study.*J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2005; 75 (2): 304-310.
- [13] Yeo A,Rai B,Sju E,et al.The degradation profile of novel, bioresorbable PCL-TCP scaffolds: An in vitro and in vivo study.*J Biomed Mater Res A*.2008;84(1):208-218.
- [14] Hak DJ.The use of osteoconductive bone graft substitutes in orthopaedic trauma. *J Am Acad Orthop Surg*. 2007; 15 (9): 525-536.
- [15] Ducheyne P,Radin S,King L.The effect of calcium phosphate ceramic composition and structure on in vitro behavior. I. Dissolution.*J Biomed Mater Res*.1993;27(1):25-34.
- [16] Deed ME,Tompach PC,Morstad AT. Porous hydroxylapatitegranules blocks as alveolar ridge augmentation materials: a preliminary report.*J OralMaxillofac Surg*.1988;46(11):955-970.
- [17] Kang YQ,Xu XJ,Yin GG,et al.A comparative study of the in vitro degradation of poly(L-lactic acid)/ $\beta$ -tricalcium phosphate scaffold in staticand dynamic simulated body fluid. *Eur Polym J*.2007;43:1768-1778.
- [18] Cheung HY,Lau KT,Lu TP,et al. A critical review on poly-mer-based bio-engineered materials for scaffold development.*Composites: Part B*.2007;38:291-300.
- [19] Thomas MV,Puleo DA,Al-sabbagh M. Calcium sulfate: a review.*J Long Term Eff Med Implants*.2005;15(6):599-607.
- [20] Ye J,Gao Q,He JJ,et al.Exposure rate of unwrapped hydroxyapatite orbital implants in enucleation surgery.*Br J Ophthalmol*.2015.pii: bjophthalmol-2015-307412. doi: 10.1136/bjophthalmol-2015-307412.[Epub ahead of print]
- [21] Gradinaru S,Popescu V,Leasu C,et al.Hydroxyapatite ocular implant and non-integrated implants in eviscerated patients.*J Med Life*.2015;8(1):90-93.
- [22] Xue Y,Zhang H,Che Y,et al.Effect of parathyroid hormone (1-34) and coralline hydroxyapatite on bone regeneration of peri-implant bone defects.*Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi*. 2015;50(2): 99-102.
- [23] Du B,Liu W,Deng Y,et al.Angiogenesis and bone regeneration of porous nano-hydroxyapatite/coralline blocks coated with rhVEGF165 in critical-size alveolar bone defects in vivo.*Int J Nanomedicine*.2015;10:2555-2565.
- [24] Georgiannos D,Lampridis V,Bisbinas I.Phenolization and coralline hydroxyapatite grafting following meticulous curettage for the treatment of enchondroma of the hand. A case series of 82 patients with 5-year follow-up.*Hand (N Y)*. 2015;10(1):111-115.
- [25] Wei Q,Lu J,Wang Q,et al.Novel synthesis strategy for composite hydrogel of collagen/hydroxyapatite-microsphere originating from conversion of CaCO<sub>3</sub> templates. *Nanotechnology*. 2015;26(11):115605.
- [26] Nandi SK,Kundu B,Mukherjee J,et al.Converted marine coral hydroxyapatite implants with growth factors: in vivo bone regeneration.*Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2015;49: 816-823.
- [27] Aggarwal H,Kumar P,Singh RD,et al.Ocular rehabilitation following socket reconstruction with amniotic membrane transplantation with failed primary hydroxyapatite implant post enucleation.*Cont Lens Anterior Eye*. 2015;38(1):64-69.
- [28] Fu K,Xu Q,Czernuszka J,et al.Characterization of a biodegradable coralline hydroxyapatite/calcium carbonate composite and its clinical implementation.*Biomed Mater*. 2013;8(6):065007.
- [29] Monchau F,Hivart P,Genestie B,et al.Calcite as a bone substitute. Comparison with hydroxyapatite and tricalcium phosphate with regard to the osteoblastic activity.*Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*.2013;33(1):490-498.
- [30] Chou J,Austin C,Doble P,et al.Trace elemental imaging of coralline hydroxyapatite by laser-ablation inductively coupled plasma-mass spectroscopy.*J Tissue Eng Regen Med*. 2014; 8(7):515-520.
- [31] Baas J,Svaneby D,Jensen TB,et al.Coralline hydroxyapatite granules inferior to morselized allograft around uncemented porous Ti implants: unchanged fixation by addition of concentrated autologous bone marrow aspirate.*J Biomed Mater Res A*. 2011;99(1):9-15.
- [32] Figueroa RJ,Koch TG,Betts DH.Osteogenic differentiation of equine cord blood multipotent mesenchymal stromal cells within coralline hydroxyapatite scaffolds in vitro.*Vet Comp Orthop Traumatol*.2011;24(5):354-362.