

# 壳聚糖、羟基磷灰石、氧化石墨烯材料在骨软骨修复中的研究进展

李春亮, 刘俊豪, 熊永斌, 何永好, 冷梓豪, 樊海宁\*

青海大学高原医学研究中心, 高原医学教育部重点实验室, 青海省高原医学应用基础重点实验室(青海-犹他高原医学联合重点实验室), 青海 西宁

收稿日期: 2022年10月23日; 录用日期: 2022年11月18日; 发布日期: 2022年11月25日

## 摘要

目前在骨软骨组织工程中支架材料众多, 各具有不同功能特性, 但尚未找到一种完全代替原有组织的仿生支架材料。但是将各材料通过物理或生物或化学方法进行结合得到的复合材料可弥补其单一支架材料自身不足, 将复合材料运用于骨软骨组织工程研究具有良好前景。本文主要就复合材料在骨软骨修复中的作用做一简单综述, 报道如下。

## 关键词

羟基磷灰石, 壳聚糖, 氧化石墨烯, 骨软骨, 材料

# Research Progress of Chitosan, Hydroxyapatite and Graphene Oxide Materials in Osteochondral Repair

Chunliang Li, Junhao Liu, Yongbing Xiong, Yonghao He, Zihao Len, Haining Fan\*

Key Laboratory of Application and Foundation for High Altitude Medicine Research in Qinghai Province (Qinghai-Utah Joint Research Key Lab for High Altitude Medicine), Research Center for High Altitude Medicine, Qinghai University, Xining Qinghai

Received: Oct. 23<sup>rd</sup>, 2022; accepted: Nov. 18<sup>th</sup>, 2022; published: Nov. 25<sup>th</sup>, 2022

## Abstract

At present, there are many scaffold materials in osteochondral tissue engineering, each with dif-

\*通讯作者。

文章引用: 李春亮, 刘俊豪, 熊永斌, 何永好, 冷梓豪, 樊海宁. 壳聚糖、羟基磷灰石、氧化石墨烯材料在骨软骨修复中的研究进展[J]. 临床医学进展, 2022, 12(11): 10691-10700. DOI: 10.12677/acm.2022.12111540

ferent functional properties, but a bionic scaffold material that completely replaces the original tissue has not yet been found. However, the composite materials obtained by combining each material through physical or biological or chemical methods can make up for the shortcomings of single scaffold material itself, and the application of composite materials in osteochondral tissue engineering has good prospects. In this paper, a brief review of the role of composite materials in osteochondral repair is presented and reported as follows.

## Keywords

Hydroxyapatite, Chitosan, Graphene Oxide, Osteochondral, Materials

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

随着当前社会发展节奏的逐渐加快, 关节软骨缺损、损伤在骨科临床中很常见, 处理上也非常棘手, 如果治疗不及时将会引发骨关节炎。有多种原因可导致软骨损伤, 其中创伤、退行性变及免疫因素等是常见原因。关节软骨是高特异性的低细胞构成的无血管、淋巴, 无神经的相对单一的组织。正常的关节软骨能缓冲压力, 并且形成一个非常光滑、几乎没有摩擦的关节表面, 因而有学者提出软骨损伤后理想的治疗效果是在损伤局部形成持久的、具有良好生物学性能的新生软骨。但由于软骨损伤后的自我修复能力有限, 加之软骨的再生条件非常苛刻, 需要生物活性因子和三维的支架及适当的基质, 共同构成一个适宜软骨细胞增殖、合成软骨特异性细胞外基质的微环境下, 临床应用的治疗软骨损伤的方法如口服药物、关节腔内注射透明质酸、关节灌洗术和清理术都只能起到缓解症状, 延缓病情进展的作用, 不能修复已损伤的软骨钻孔术、微骨折术等手术虽然收到一定疗效, 但其新生成的是疤痕组织和纤维软骨, 远达不到关节软骨力学的需要自体软骨移植才能够获得一定的治疗效果, 但由于取材有限、对供区造成伤害等种种原因限制了其应用。

组织工程学是指综合应用生命科学和工程科学的基本原理、基本理论、基本技术和基本方法, 以研究、开发、修复或维护和增进各种组织、器官功能和形态的新兴医学领域。近年利用组织工程学修复软骨损伤方面的研究飞速发展。软骨组织工程是将自体或异体细胞种植在生物活性材料制成的支架上, 进行体外培养, 再植入软骨缺损部位。目前用于组织工程软骨修复的材料主要有天然材料以及合成材料。天然材料主要包括: 胶原、壳聚糖、明胶、透明质酸、丝素蛋白、硫酸软骨素、纤维蛋白、藻酸盐[1]等。这些材料具备良好的生物相容性及粘附性, 但由于其生物机械强度及降解速率较快, 在一定程度上限制了它的使用[1] [2]。而人工合成生物材料包括聚乙二醇(polyethylene glycol) [2]、聚乳酸(poly-lactic acid)、聚乙烯醇(polyvinyl alcohol)、聚己内酯(polycaprolactone)、聚乳酸-羟基乙酸(poly-lactic glycolic acid)等, 其与天然材料相比具有较优良的生物降解性、组织相容性以及力学性能。组织工程软骨修复需要具备合适的种子细胞、优良支架材料以及生长因子这几个条件。优异的组织工程支架材料需要具备以下几个要素: 1) 优良的生物组织相容性; 2) 与生物组织相适宜的降解速率; 3) 适宜的孔隙率及孔径; 4) 无毒性及低生物抗原性; 5) 优良的生物力学强度; 6) 材料来源丰富且质地均一[3]。目前尚无一种材料能够同时满足以上条件, 单一的支架材料尚难以完成组织工程软骨修复的要求, 而应用两种以上材料制成的复合支架可起到互补及扬长避短的作用, 故将不同性能的材料进行结合互补将可制备出理想的复合三维仿

生支架材料。现将壳聚糖/羟基磷灰石/氧化石墨烯材料复合支架材料进行综述，报告如下。

## 2. 壳聚糖/羟基磷灰石/氧化石墨烯材料性能分析

### 2.1. 壳聚糖(chitosan CS)

壳聚糖是一种生物活性聚合物，其主要通过脱乙酰化过程生产壳聚糖。壳聚糖具备良好的生物相容性、抗菌活性、无毒性、良好的可塑性、吸附能力、吸水性及降解性，使其在组织工程中应用广泛。有研究表明 CS 可以在一定程度上模拟关节软骨的 ECM，从而促进关节软骨的再生发育[4]。由于其良好的生物功能特性，壳聚糖已被广泛建议用于多个领域，包括从生物材料和组织工程到抗菌、抗真菌、抗肿瘤和抗氧化剂等[5]。但由于其脆性高同时具有极好的吸水性导致其膨胀率高、力学强度性能弱等缺点在一定程度上限制了它在组织工程中的应用。因此许多学者将其和其它生物材料进行复合形成新的材料，可明显改善了其自身的局限性，充分发挥了其优越的性能。目前已有许多新型壳聚糖复合材料被应用于组织工程再生研究。

### 2.2. 羟基磷灰石(hydroxyapatite, HA)

羟基磷灰石(HAp)被认为是骨和硬组织替代和再生能力的最具吸引力的陶瓷生物材料之一。HA 跟人体骨质中的无机成分非常相似，使其具有优良生物相容性、骨传导性和与骨的成分相似，但由于传统的羟基磷灰石颗粒较大、大小不均、力学性能较差、韧性低、降解速度缓慢等缺点，逐渐被新型纳米羟基磷灰石代替成为组织工程领域常用的材料[6]。因其具备优良的功能特征，许多学者为提高力学强度将其与其它生物材料进行复合，从而达到改善其力学强度、孔径等性能，探究其在组织工程软骨中的修复作用[7]。

### 2.3. 氧化石墨烯(graphene oxide, GO)

氧化石墨烯是石墨烯通过氧化改性得到的产物，其二维结构中使其具有丰富的比表面积及官能团，这些结构使其具有良好吸附性、亲水性以及极强的药物负载能力，同时具有良好的组织相容性、机械性能、以及缓释、抗菌等特点使其在骨科领域运用中更具优势[8]。还可将其和其它生物材料进行结合形成新的复合材料，可明显提高细胞的粘附、增殖分化同时可解决药物输送时效短、释放快等问题[8][9]。其复合材料优异的性能将使其成为骨软骨组织工程研究中更优选择[9]。

## 3. 壳聚糖复合材料

壳聚糖(CS)因具备良好的生物相容性、抗菌活性、无毒性、良好的可塑性、吸附能力、吸水性及降解性等优异的性能特点、同时壳聚糖的结构相似的酶降解性、可降解性与细胞外基质糖胺聚糖的结构相似，使壳聚糖成为一种有吸引力的生物材料用于骨组织修复[10]。经过组织工程技术与材料学的不断发展，学者们的不断研发，壳聚糖结合其它生物材料组成的复合材料在组织工程中也取得良好的效果。

### 3.1. 壳聚糖 - 羟基磷灰石复合材料

经过壳聚糖材料发展以及复合材料的研发运用，有学者提出将壳聚糖与羟基磷灰石或磁铁矿制备成复合支架材料用于组织工程骨再生中。Pistone A 等人通过原位沉淀技术在壳聚糖基质中加入羟基磷灰石或磁铁矿，合成了壳聚糖基复合材料，并对其表征。发现复合材料展现出卓越的生物相容性和细胞附着和增殖的能力；尤其是，三者复合的支架材料比单一或两两复合的支架材料显示出更卓越的生物活性，使其成为引导骨生长的合适和有前途的材料[11]。Nazeer 等人通过引入甲酸为溶剂，制备纳米大小的 HA 颗粒该颗粒在聚合物溶液中稳定分散的壳聚糖/羟基磷灰石(CS/HA)纳米复合材料。通过热重分析

实验表明壳聚糖基质在完全降解后产生了含有羟基磷灰石、 $\beta$ -磷酸三钙和焦磷酸钙的纳米多孔三维支架,该复合支架可促进成骨细胞的粘附、增殖和成骨分化[12]。根据研究结果表明壳聚糖-羟基磷灰石复合材料具备优良的骨传导性及成生物组织相容性,是组织工程中常用支架材料。

### 3.2. 壳聚糖-磷酸钙复合材料

壳聚糖引入磷酸钙制备复合材料可促进磷酸钙的矿物吸收,进而促进再生潜能。Osmond 等人将磷酸钙纳米颗粒嵌入壳聚糖和二缩水甘油醚的聚合物水凝胶中制备复合材料,这些复合材料的模量高达 3 兆帕,支持骨髓干细胞的培养超过 3 周,即使没有成骨培养基也表现出成骨潜力[13]。Radwan 等人制备了壳聚糖/磷酸钙复合材料并加载了盐酸莫西沙星治疗骨髓炎。结果显示,复合材料可提供完整的药物释放,同时诱导了成骨细胞的分化和增殖,减少了动物模型骨组织标本中的细菌数量、炎症和髓内纤维化的发生[14]。

### 3.3. 壳聚糖-聚乳酸-羟乙酸(PLGA)复合支架材料

壳聚糖-聚乳酸-羟乙酸(PLGA)复合支架材料是将天然生物材料与人工合成材料进行结合形成的新型复合支架材料。Boukari 等人利用负载蛋白质的 PLGA/壳聚糖微球配制了一种双重应用支架,将间充质干细胞负载与支架后可明显促进细胞的成骨分化,降低复合支架的降解速率,促进细胞增殖分化以及成骨分化[15]。吕洪磊[16]等人通过原位生成法和溶液共混法制备壳聚糖-聚乳酸-羟乙酸(PLGA)三元复合支架材料,该复合材料能很好的促进细胞的增殖、生长,同时具备良好的组织相容性、力学性能以及合适的比表面积,可很好的应用于组织工程。

### 3.4. 壳聚糖-胶原复合材料

胶原是一种天然高分子材料,其良好的可降解性、低抗原性、组织相容性、生物力学性能以及再生分化潜在在组织工程中应用广泛。将壳聚糖复合胶原制备成复合支架可有效保证壳聚糖降解速率。YU [17]等人利用壳聚糖与胶原蛋白交联制备壳聚糖-胶原复合支架材料治疗小鼠骨颅骨缺损,取得了很好的修复作用。

### 3.5. 壳聚糖-氧化石墨烯复合材料

氧化石墨烯是石墨烯的衍生物,其含有众多含氧官能团,其具有良好的亲水性、粘附性、力学强度、比表面积以及组织相容性、高负载等性能,其与其它生物材料进行结合形成新型复合材料可明显促进细胞粘附、增殖分化。Saravanan [18]等人通过冷冻干燥制造了含有 CS、明胶(Gn)和氧化石墨烯(GO)的复合支架,该复合支架促进了小鼠间充质干细胞向成骨细胞的分化,加速了骨缺陷的桥接,增加了体内胶原蛋白的沉积,结果表其具有促进成骨分化潜力。

## 4. 羟基磷灰石复合材料

纳米羟基磷灰石(n-HA)中无机成分及矿物质与人骨骼中的无机成分非常相似,同时具有良好的骨传导以及生物相容性被广泛应用于支架材料、人工合成水泥等,由于单一的羟基磷灰石材料生物机械强度较低、降解速度缓慢,通常将其和无机材料或有机高分子材料结合制成复合材料应用组织工程研究,可改善其机械强度及低断裂韧性同时可促进其成骨分化作用。

### 4.1. 纳米羟基磷灰石-石墨烯复合材料

毕博[19]等人利用氧化石墨烯或还原石墨烯修饰羟基磷灰石制备复合支架,研究显示 0.25%还原石墨



烯-壳聚糖复合支架可明显改善单一壳聚糖支架生物脆性及机械强度,改善降解速率及吸水性,同时可促进牙髓干细胞的粘附、增殖及分化。Zhou [20]等人研发制备了纳米羟基磷灰石-还原石墨烯复合支架,具有分层孔隙结构合适的孔隙率和孔径以及良好生物力学强度的。其可以改善细胞粘附,促进骨髓间质干细胞的增殖和成骨分化,与单一材料支架相比该复合支架机械性能更优良同时更符合组织降解速率,是骨软骨组织工程优异的支架材料选择。

#### 4.2. 纳米羟基磷灰石- $\beta$ 磷酸三钙复合材料

王腾飞[21]等人通过制备羟基磷灰石- $\beta$ 磷酸三钙复合支架负载兔脂肪干细胞对兔椎骨缺损进行修复,结果表明该复合支架具有良好的组织相容性、合适的孔隙孔径、降解性同时可明显促进细胞成骨分化,是治疗临床骨缺损优良支架材料之一。Di Silvio [22]等人制备羟基磷灰石- $\beta$ -磷酸三钙复合支架,将成骨细胞样细胞(HOS)和原始人类间充质干细胞(hMSCs)作为细胞播种,发现复合支架上细胞增殖率明显,碱性磷酸酶较单纯支架明显升高,提示复合支架有明显促进成骨分化作用。Khan [23]等人制备该复合支架负载骨髓间充质干细胞,发现细胞粘附、增殖生长良好。目前这两种材料常用于组织工程研究。

#### 4.3. 纳米羟基磷灰石-胶原复合材料

胶原是一种天然高分子材料,由于其和羟基磷灰石都具有良好的生物可降解性、组织相容性等性能,将二者结果制备复合材料可起到仿生骨组织的作用;通常被作为仿生骨组织材料广泛运用组织工程研究。Wenpo [24]等人制备胶原蛋白-羟基磷灰石/果胶复合材料,发现羟基磷灰石和胶原蛋白之间的相互作用出现了一个新的界面,这种复合材具备优良的机械性能、吸水率、酶的降解和无细胞毒性。Song [25]等人制备硅酸锌/纳米羟基磷灰石/胶原蛋白复合支架,发现加入硅酸锌可显著增加骨髓基质细胞和CD31阳性的新生血管,新生骨中成骨Bmp-2、Osterix基因表达。Uezono [26]等人研发设计了羟基磷灰石/胶原蛋白(HAp/Col)纳米复合涂层支架材料植入大鼠颅骨骨膜,发现其具有显著骨整合效果。

#### 4.4. 纳米羟基磷灰石-聚乳酸复合材料

聚乳酸是合成高分子材料,其具有优良生物降解性、优越机械性能、可塑性强等优点,但是由于聚乳酸降解较快、细胞粘附性能较差等缺点,通常将其通过化学修饰改性将其制备成具有目的性能的复合支架材料。聚乳酸降解产物为水和二氧化碳,与机体细胞代谢基本相同,故不会对组织细胞产生毒性反应,将羟基磷灰石与聚乳酸结合的复合材料对成骨细胞、牙髓干细胞均可促进其成骨作用,同时对组织表现出良好相容性[27]。Liu [28]等人制备乳酸/羟基磷灰石(PLA/HA)复合纳米纤维支架,来模仿细胞外基质,通过各种分析得出该复合材料明显改善结构的不足,使其孔隙更均匀、亲水性提高、维持结构形态稳定有效提高机械性能。

#### 4.5. 纳米羟基磷灰石-聚己内酯复合材料

聚己内酯具有良好的热稳定性、组织相容性以及成本低廉等优点,是骨组织工程应用中优异的人工合成高分子材料。单纯的聚己内酯支架存在低生物活性、亲水性差,一定程度上限制了它的应用。Yao [29]等人制备了三维多孔聚己内酯(PCL)-羟基磷灰石(HA)支架,通过体内体外实验表明该支架具有促进细胞粘附、增殖和软骨分化,同时细胞的DNA含量、Sox9和RunX2表达显著提高。Furtos [30]等人通过制备PCL/HA支架材同时负载阿莫西林用于牙科组织工程研究,研究显示该支架具有良好组织相容性、可促进成骨细胞分化同时可调控负载药物起到缓释效果以达到抗菌作用。

#### 4.6. 纳米羟基磷灰石/聚乳酸-羟基乙酸复合材料

聚乳酸-羟基乙酸共聚物(PLGA)是人工合成的高分子聚合物,其具有良好的组织相容性、优良的生物降解性以及可塑性强等优点。HAP/PLGA的复合材料是目前研究较为深入的一组复合材料,由于HAP是天然骨骼中的无机成分二者复合降具有良好组织相容性及骨传导性。有研究表明,利用3D打印技术制备HAP/PLGA复合材料支架治疗大鼠股骨骨缺损,可促进骨细胞的增殖分化、提高新骨的生成[31]。Li [32]等人制备PLGA/nHAp同时负载血小板源性慢病毒生长因子复合支架,观察其在小鼠小腿骨上的血管生成及成骨能力,结果显示相关血管生成相关基因、vWF和VEGFR2的表达增加以促进成骨作用。二者复合材料也存在一定局限性如:机械强度低、物理混合后的相容性、分散性差等,但随着组织工程技术发展,通过对其接枝改性可显著优化二者复合材料局限性,使之成为优良材料之一。

### 5. 石墨烯复合材料

氧化石墨烯(GO)其二级结构具有丰富的比表面积及官能团,良好吸附性、亲水性、组织相容性及良好机械强度及高负载能力等,为细胞生长提供良好微环境促进细胞的粘附、增殖、分化以及药物转运,在医学生物领域发挥重要作用。通常将氧化石墨烯与天然生物材料或人工合成材料复合制备仿生骨组织三维结构支架广泛应用与生物医学领域。

#### 5.1. 与天然高分子材料形成复合材料

天然高分子复合材料主要包括壳聚糖、胶原、透明质酸、丝素蛋白、硫酸软骨素、纤维蛋白、藻酸盐等。天然高分子材料具有良好的组织相容性、可降解性、无毒性、合适的孔隙孔径以及无异物反应。Dalgic [33]等人通过氧化石墨烯包覆硅酸盐掺杂纳米羟基磷灰石制备复合材料,并通过电纺聚己内酯来研究其在骨组织工程中的潜在用途。研究表明氧化石墨烯在支架中的存在,极大地提高了蛋白质的吸附,降解吸量减少;聚己内酯-10%硅酸盐掺杂的纳米羟基磷灰石-4%氧化石墨烯组显示出更好的相容性、粘附性、扩散性、增殖性和碱性磷酸酶活性。Prakash [34]等人通过热水法研发了氧化石墨烯/羟基磷灰石/金纳米复合材料(GO/HAP/Au),通过凝胶浇筑法制备GO/HAP/Au聚合物薄膜。该生物膜具有良好生物相容性、增强细胞碱性磷酸酶活性促进小鼠骨细胞增殖分化,同时对大肠杆菌、变异链球菌、金黄色葡萄球菌和铜绿假单胞菌具有很高抗菌效果。Jiao [35]等人利用壳聚糖/鱼明胶并加载了不同浓度的GO(0.5、1、2、3 wt.%)制备复合支架。该复合材料具有良好孔隙、孔径均匀、良好的膨胀度、抗酶降解性、更优生物相容性。这些研究表明,GO复合天然高分子材料所展现出出色的性能可广泛应用与骨组织工程。

#### 5.2. 与人工合成高分子材料形成复合材料

人工合成高分子材料包括聚乙二醇(PEG)、聚乳酸(PLA)、聚乙烯醇(PVA)、聚己内酯、聚乳酸-羟基乙酸(PLGA)等。人工合成高分子材料其来源广泛,材料质地均一,可塑性强、无毒性、良好的生物降解性及组织相容性是骨组织工程应用中优良的支架材料。Qi [36]等人采用电纺法制备了聚乙烯醇(PVA)和氧化石墨烯(GO)的纳米纤维状生物复合支架。电镜扫描显示其具备三维多孔纤维形态,支架机械性能弹性模量随GO量增加到3%~5%时而下降,同时其可促进小鼠成骨细胞的粘附增殖。由于PVA细胞粘附性及降解性较差通常和其它材料结合运用于骨组织工程研究。Díez-Pascual [37]等人通过超声和热固化制备了聚乙二醇(PEG)氧化石墨烯(PEG-GO)的聚丙烯(PPF)基纳米复合材料,随着GO浓度的增加,复合材料的亲水性、吸水率、生物降解率、表面粗糙度、蛋白质吸收能力和热稳定性都明显提高。Liang [38]等人过冷冻干燥方法制造了不同量GO的多孔纳米羟基磷灰石/胶原蛋白/聚(乳酸-乙醇酸)/氧化石墨(nHAC/PLGA/GO)复合支架,该支架具有三维多孔结构,GO提高了支架的亲水性、机械强度。通过体外

实验表明, nHAC/PLGA/GO (1.5 wt%)增加了细胞粘附和成骨细胞(MC3T3-E1)的增殖, 表明该支架具有良好的生物相容性及成骨再生能力。

### 5.3. 与生物活性陶瓷形成复合材料

生物活性陶瓷有生物活性玻璃, 羟基磷灰石、磷酸钙等几种, 可在材料界面上发生特殊生物反应, 从而在材料和组织间形成化学键结合。有研究表明, 有介孔生物活性玻璃(MBG)和 GO 组成的支架具有良好的细胞相容性同时能显著促进的大鼠骨髓间充质干细胞(rBMSCs)的成骨分化, 促进了血管的生长, 增强了缺损部位的骨修复。通过体外实验表明 MBG-GO 支架具有良好的成骨-成血管特性, 这将使它们成为修复骨缺损的理想候选材料[39]。同样的 Ahn [40]等人通过研究介孔生物活性玻璃纳米颗粒(MBN)/氧化石墨烯(GO)复合材料对人类牙髓干细胞(hDPSCs)的矿化能力和分化潜力的影响。发现 MBN/GO 促进了 hDPSCs 的增殖和碱性磷酸酶(ALP)活性 MBN/GO 复合材料通过 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路促进牙源细胞成骨分化。Xiong [41]等人通过两步旋涂法制备了还原氧化石墨烯/硅酸锌/硅酸钙(RGO/ZS/CS)导电生物复合材料, 该材料具有良好的体外生物矿化能力, 可诱导小鼠骨间质干细胞(mBMSCs)的成骨分化。此外, 当应用 3  $\mu$ A 的直流电刺激在 RGO/ZS/CS 表面培养的 mBMSCs 时, 碱性磷酸酶活性明显提高。RGO/ZS/CS 提取物的稀释液(1/16、1/32 和 1/64)可促进人脐静脉内皮细胞的增殖, 其血管生成相关的基因表达也被上调了。

### 5.4. 氧化石墨烯/羟基磷灰石/壳聚糖复合材料

壳聚糖(CS)、和羟基磷灰石(HAP)、氧化石墨烯(GO)因具有优良的功能特性被广泛应用与医学生物骨再生(GBR)研究中。然而, 单一的 GO 并不能为成骨细胞的粘附提供一个友好的环境。研究表明 CS/HAP/GO 复合膜具有可调节的机械性能和良好的生物相容性, 可以模拟细胞外基质的多成分结构, 提高细胞粘附性。CS 和 HAP 提高了膜的机械强度和表面亲水性, HAP 可以增强成骨细胞的粘附、分化和矿化; 体外骨缺损动物模型表明 GO/CS/HAP 复合膜可以在没有内源性细胞因子的情况下加速骨的再生。GO/CS/HAP 复合膜具有独特的仿生物多孔结构、优异的机械性能和良好的骨再生能力, 是应用于 GBR 的潜在材料[42]。Ji 等人[43]通过结合逐层组装技术和仿生矿化方法, 成功制备了新型多孔氧化石墨烯(GO)/壳聚糖(CS)-羟基磷灰石(HA)纳米复合膜, 为小鼠间充质干细胞(mMSCs)的增殖提供了理想的环境。以上研究表明, 将各种材料的性能进行互补可研制性能优异的材料应用与骨组织工程研究。

羟基磷灰石、壳聚糖、氧化石墨烯各具有其自身优良功能特性, 但同时存在一定局限性。若将不同的生物材料, 通过物理或化学技术进行加工制备成复合支架材料, 可扬长避短弥补单一材料性能缺点与不足, 充分发挥各材料良好的生物化学和物理特性, 为组织工程仿生支架研究开辟新的思路和方向, 同时展现了复合支架材料在生物医学领域广泛的应用前景。但目前还未寻找到完全代替原有组织的仿生支架材料, 仍需不断探索研究新的生物材料, 相信不久的将来, 复合材料在骨组织工程应用研究会有新的进展。

## 6. 结论

综上所述: 由于在临床上各种骨缺损的复杂程度不同, 其病理生理条件也有各异, 单一的支架材料不能适用于所有的情况, 所以目前各种研究主要是在寻找适用于各种骨缺损的情况下, 最适合的细胞做载体为目标, 将来为骨组织工程发展方向, 寻找不同的生物材料以适应临床上不同的骨缺损; 降低各种可降解的材料不良影响; 寻找生物材料最适宜的复合材料, 这些不仅仅是骨组织工程学所面临的挑战, 也是整个组织工程学所发展的重要方向。

## 基金项目

青海省科技厅项目 miRNA 调控人脂肪干细胞自组装成具有稳定表型的组织工程软骨及其治疗骨性关节炎的实验研究(项目编号: 2019-ZJ-7067)。

## 参考文献

- [1] Liu, J., Fang, Q., Lin, H., Yu, X., Zheng, H. and Wan, Y. (2020) Alginate-Poloxamer/Silk Fibroin Hydrogels with Covalently and Physically Cross-Linked Networks for Cartilage Tissue Engineering. *Carbohydrate Polymers*, **247**, Article ID: 116593. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116593>
- [2] Yu, J., Lee, S., Choi, S., Kim, K.K., Ryu, B., Kim, C.Y., Jung, C.R., Min, B.H., Xin, Y.Z., Park, S.A., Kim, W., Lee, D. and Lee, J. (2020) Fabrication of a Polycaprolactone/Alginate Bipartite Hybrid Scaffold for Osteochondral Tissue Using a Three-Dimensional Bioprinting System. *Polymers*, **12**, Article No. 2203. <https://doi.org/10.3390/polym12102203>
- [3] Nahanmoghadam, A., Asemani, M., Goodarzi, V. and Ebrahimi-Barough, S. (2021) Design and Fabrication of Bone Tissue Scaffolds Based on PCL/PHBV Containing Hydroxyapatite Nanoparticles: Dual-Leaching Technique. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, **109**, 981-993. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.37087>
- [4] Li, H., Hu, C., Yu, H. and Chen, C. (2018) Chitosan Composite Scaffolds for Articular Cartilage Defect Repair: A Review. *RSC Advances*, **8**, 3736-3749. <https://doi.org/10.1039/C7RA11593H>
- [5] Sacco, P., Cok, M., Scognamiglio, F., Pizzolitto, C., Vecchies, F., Marfoggia, A., Marsich, E. and Donati, I. (2020) Glycosylated-Chitosan Derivatives: A Systematic Review. *Molecules*, **25**, Article No. 1534. <https://doi.org/10.3390/molecules25071534>
- [6] George, S.M., Nayak, C., Singh, I. and Balani, K. (2022) Multifunctional Hydroxyapatite Composites for Orthopedic Applications: A Review. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, **8**, 3162-3186. <https://doi.org/10.1021/acsbmaterials.2c00140>
- [7] Velasco, M.A., Narváez-Tovar, C.A. and Garzón-Alvarado, D.A. (2015) Design, Materials, and Mechanobiology of Biodegradable Scaffolds for Bone Tissue Engineering. *BioMed Research International*, **2015**, Article ID: 729076. <https://doi.org/10.1155/2015/729076>
- [8] Holt, B.D., Wright, Z.M., Arnold, A.M. and Sydlik, S.A. (2017) Graphene Oxide as a Scaffold for Bone Regeneration. *Wiley Interdisciplinary Reviews Nanomedicine and Nanobiotechnology*, **9**, e1437. <https://doi.org/10.1002/wnan.1437>
- [9] Bo, L. (2015) Process Aspects in Combustion and Gasification Waste-to-Energy (WtE) Units. *Waste Management*, **37**, 13-25. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2014.04.019>
- [10] Pighinelli, L. and Kucharska, M. (2013) Chitosan-Hydroxyapatite Composites. *Carbohydrate Polymers*, **93**, 256-262. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.06.004>
- [11] Pistone, A., Celesti, C., Piperopoulos, E., Ashok, D., Cembran, A., Tricoli, A. and Nisbet, D. (2019) Engineering of Chitosan-Hydroxyapatite-Magnetite Hierarchical Scaffolds for Guided Bone Growth. *Materials*, **12**, Article No. 2321. <https://doi.org/10.3390/ma12142321>
- [12] Nazeer, M.A., Yilgör, E. and Yilgör, I. (2017) Intercalated Chitosan/Hydroxyapatite Nanocomposites: Promising Materials for Bone Tissue Engineering Applications. *Carbohydrate Polymers*, **175**, 38-46. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.07.054>
- [13] Osmond, M.J. and Krebs, M.D. (2021) Tunable Chitosan-Calcium Phosphate Composites as Cell-Instructive Dental Pulp Capping Agents. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, **32**, 1450-1465. <https://doi.org/10.1080/09205063.2021.1925390>
- [14] Radwan, N.H., Nasr, M., Ishak, R.A.H., Abdeltawab, N.F. and Awad, G.A.S. (2020) Chitosan-Calcium Phosphate Composite Scaffolds for Control of Post-Operative Osteomyelitis: Fabrication, Characterization, and *in vitro-in vivo* Evaluation. *Carbohydrate Polymers*, **244**, Article ID: 116482. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116482>
- [15] Boukari, Y., Qutachi, O., Scurr, D.J., Morris, A.P., Doughty, S.W. and Billa, N. (2017) A Dual-Application Poly (DL-Lactic-co-Glycolic) acid (PLGA)-Chitosan Composite Scaffold for Potential Use in Bone Tissue Engineering. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, **28**, 1966-1983. <https://doi.org/10.1080/09205063.2017.1364100>
- [16] Lu, J.Y., He, Y.S., Cheng, C., Wang, Y., Qiu, L., Li, D. and Zou, D.R. (2013) Self-Supporting Graphene Hydrogel Film As an Experimental Platform to Evaluate the Potential of Graphene for Bone Regeneration. *Advanced Functional Materials*, **23**, 3494-3502.
- [17] Yu, L., Huang, J., *et al.* (2015) Antler Collagen/Chitosan Scaffolds Improve Critical Calvarial Defect Healing in Rats. *Journal of Biomaterials and Tissue Engineering*, **5**, 774-779. <https://doi.org/10.1166/jbt.2015.1368>
- [18] Saravanan, S., Chawla, A., Vairamani, M., Sastry, T.P., Subramanian, K.S. and Selvamurugan, N. (2017) Scaffolds



- Containing Chitosan, Gelatin and Graphene Oxide for Bone Tissue Regeneration *in Vitro* and *in Vivo*. *International Journal of Biological Macromolecules*, **104**, 1975-1985. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.01.034>
- [19] Chen, Y.H., Tai, H.Y., Fu, E. and Don, T.M. (2019) Guided Bone Regeneration Activity of Different Calcium Phosphate/Chitosan Hybrid Membranes. *International Journal of Biological Macromolecules*, **126**, 159-169.
- [20] Zhou, K., Yu, P., Shi, X., Ling, T., Zeng, W., Chen, A., Yang, W. and Zhou, Z. (2019) Hierarchically Porous Hydroxyapatite Hybrid Scaffold Incorporated with Reduced Graphene Oxide for Rapid Bone Ingrowth and Repair. *ACS Nano*, **13**, 9595-9606. <https://doi.org/10.1021/acsnano.9b04723>
- [21] Cao, H.Q., Zhang, L., Zheng, H. and Wang, Z. (2010) Hydroxyapatite Nanocrystals for Biomedical Applications. *The Journal of Physical Chemistry C*, **114**, 18352-18357.
- [22] Di Silvio, L., Gurav, N. and Sambrook, R. (2004) The Fundamentals of Tissue Engineering: New Scaffolds. *Medical Journal of Malaysia*, **59**, 89-90.
- [23] Khan, S.N., Tomin, E. and Lane, J.M. (2000) Clinical Applications of Bone Graft Substitutes. *Orthopedic Clinics of North America*, **31**, 389-398. [https://doi.org/10.1016/S0030-5898\(05\)70158-9](https://doi.org/10.1016/S0030-5898(05)70158-9)
- [24] Feng, W., Liang, G., Feng, S., Qi, Y. and Tang, K. (2015) Preparation and Characterization of Collagen-Hydroxyapatite/Pectin Composite. *International Journal of Biological Macromolecules*, **74**, 218-223. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.11.031>
- [25] Song, Y., Wu, H., Gao, Y., Li, J., Lin, K., Liu, B., Lei, X., Cheng, P., Zhang, S., Wang, Y., Sun, J., Bi, L. and Pei, G. (2020) Zinc Silicate/Nano-Hydroxyapatite/Collagen Scaffolds Promote Angiogenesis and Bone Regeneration via the p38 MAPK Pathway in Activated Monocytes. *ACS Applied Materials & Interfaces*, **12**, 16058-16075. <https://doi.org/10.1021/acsam.0c00470>
- [26] Uezono, M., Takakuda, K., Kikuchi, M., Suzuki, S. and Moriyama, K. (2013) Hydroxyapatite/Collagen Nanocomposite-Coated Titanium Rod for Achieving Rapid Osseointegration onto Bone Surface. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, **101**, 1031-1038. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.32913>
- [27] Fang, R., Zhang, E., Xu, L. and Wei, S. (2010) Electrospun PCL/PLA/HA Based Nanofibers as Scaffold for Osteoblast-Like Cells. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, **10**, 7747-7751. <https://doi.org/10.1166/jnn.2010.2831>
- [28] Liu, S., Zheng, Y., Liu, R. and Tian, C. (2020) Preparation and Characterization of a Novel Poly(lactic Acid)/Hydroxyapatite Composite Scaffold with Biomimetic Micro-Nanofibrous Porous Structure. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, **31**, Article No. 74. <https://doi.org/10.1007/s10856-020-06415-4>
- [29] Yao, Q., Wei, B., Liu, N., Li, C., Guo, Y., Shamie, A.N., Chen, J., Tang, C., Jin, C., Xu, Y., Bian, X., Zhang, X. and Wang, L. (2015) Chondrogenic Regeneration Using Bone Marrow Clots and a Porous Polycaprolactone-Hydroxyapatite Scaffold by Three-Dimensional Printing. *Tissue Engineering Part A*, **21**, 1388-1397. <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2014.0280>
- [30] Furtos, G., Rivero, G., Rapuntean, S. and Abraham, G.A. (2017) Amoxicillin-Loaded Electrospun Nanocomposite Membranes for Dental Applications. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, **105**, 966-976. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.33629>
- [31] Freedman, S.L., Banerjee, S., Hocky, G.M. and Dinner, A.R. (2017) Aversatile Framework for Simulating the Dynamic Mechanical Structure of Cytoskeletal Networks. *Biophysical Journal*, **113**, 448-460.
- [32] Li, J., Jahr, H., Zheng, W. and Ren, P.G. (2017) Visualizing Angiogenesis by Multiphoton Microscopy *in Vivo* in Genetically Modified 3D-PLGA/nHAp Scaffold for Calvarial Critical Bone Defect Repair. *Journal of Visualized Experiments*, **127**, e55381. <https://doi.org/10.3791/55381>
- [33] Dalgic, A.D., Alshemary, A.Z., Tezcaner, A., Keskin, D. and Evis, Z. (2018) Silicate-Doped Nano-Hydroxyapatite/Graphene Oxide Composite Reinforced Fibrous Scaffolds for Bone Tissue Engineering. *Journal of Biomaterials Applications*, **32**, 1392-1405. <https://doi.org/10.1177/0885328218763665>
- [34] Prakash, J., Prema, D., Venkataprasanna, K.S., Balagangadharan, K., Selvamurugan, N. and Venkatasubbu, G.D. (2020) Nanocomposite Chitosan Film Containing Graphene Oxide/Hydroxyapatite/Gold for Bone Tissue Engineering. *International Journal of Biological Macromolecules*, **154**, 62-71. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.03.095>
- [35] Jiao, D., Zheng, A., Liu, Y., Zhang, X., Wang, X., Wu, J., She, W., Lv, K., Cao, L. and Jiang, X. (2020) Bidirectional Differentiation of BMSCs Induced by a Biomimetic Procallus Based on a Gelatin-Reduced Graphene Oxide Reinforced Hydrogel for Rapid Bone Regeneration. *Bioactive Materials*, **6**, 2011-2028. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2020.12.003>
- [36] Qi, Y.Y., Tai, Z.X., Sun, D.F., *et al.* (2013) Fabrication and Characterization of Poly (Vinyl Alcohol)/Graphene Oxide Nanofibrous Biocomposite Scaffolds. *Journal of Applied Polymer Science*, **127**, 1885-1894. <https://doi.org/10.1002/app.37924>
- [37] Díez-Pascual, A.M. and Díez-Vicente, A.L. (2016) Poly(Propylene Fumarate)/Polyethylene Glycol-Modified Graphene Oxide Nanocomposites for Tissue Engineering. *ACS Applied Materials & Interfaces*, **8**, 7902-7914. <https://doi.org/10.1021/acsam.6b05635>

- 
- [38] Liang, C., Luo, Y., Yang, G., Xia, D., Liu, L., Zhang, X. and Wang, H. (2018) Graphene Oxide Hybridized nHAC/PLGA Scaffolds Facilitate the Proliferation of MC3T3-E1 Cells. *Nanoscale Research Letters*, **13**, Article No. 15. <https://doi.org/10.1186/s11671-018-2432-6>
- [39] Wang, W., Liu, Y., Yang, C., Qi, X., Li, S., Liu, C. and Li, X. (2019) Mesoporous Bioactive Glass Combined with Graphene Oxide Scaffolds for Bone Repair. *International Journal of Biological Sciences*, **15**, 2156-2169. <https://doi.org/10.7150/ijbs.35670>
- [40] Ahn, J.H., Kim, I.R., Kim, Y., Kim, D.H., Park, S.B., Park, B.S., Bae, M.K., Kim, Y.I. (2020) The Effect of Mesoporous Bioactive Glass Nanoparticles/Graphene Oxide Composites on the Differentiation and Mineralization of Human Dental Pulp Stem Cells. *Nanomaterials*, **10**, Article No. 620. <https://doi.org/10.3390/nano10040620>
- [41] Xiong, K., Wu, T., Fan, Q., Chen, L. and Yan, M. (2017) Novel Reduced Graphene Oxide/Zinc Silicate/Calcium Silicate Electroconductive Biocomposite for Stimulating Osteoporotic Bone Regeneration. *ACS Applied Materials & Interfaces*, **9**, 44356-44368. <https://doi.org/10.1021/acsami.7b16206>
- [42] Liu, S., Li, Z., Wang, Q., Han, J., Wang, W., Li, S., Liu, H., Guo, S., Zhang, J., Ge, K. and Zhou, G. (2021) Graphene Oxide/Chitosan/Hydroxyapatite Composite Membranes Enhance Osteoblast Adhesion and Guided Bone Regeneration. *ACS Applied Bio Materials*, **4**, 8049-8059. <https://doi.org/10.1021/acsabm.1c00967>
- [43] Ji, M., Li, H., Guo, H., Xie, A., Wang, S., Huang, F., Li, S., Shen, Y. and He, J. (2020) A Novel Porous Aspirin-Loaded (GO/CTS-HA)<sub>n</sub> Nanocomposite Films: Synthesis and Multifunction for Bone Tissue Engineering. *Carbohydrate Polymers*, **153**, 124-132. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.07.078>