

## 综述

## 改性 HA 纳米粒子在骨组织工程中的研究进展

杜婧羽, 占晓, 徐余欢, 杨人元, 张加奎, 张道海\*

(贵州民族大学 化学工程学院, 贵州 贵阳 550025)

**摘要:** 随着中国老龄化社会进程加快, 以及疾病和交通事故等因素的影响, 骨损伤病例呈逐年增加趋势, 使骨替代材料的市场需求不断扩大。羟基磷灰石 (HA) 具有优异的生物活性和生物相容性, 是人类和动物骨骼的主要组成成分, 在生物体内可降解、参与代谢, 释放出的离子对机体无害, 被广泛应用于骨修复、再生和置换等骨组织工程, 但 HA 纳米粒子分散性差、强度低、高分子相容性差等缺点, 限制了其应用。为了克服这些缺点, 探索改性或复合 HA 的方法, 以改善其分散性、亲水性、抗菌性及机械强度等, 来满足临床应用的要求。该文重点总结了当前主流的 HA 纳米粒子的改性方法, 包括离子掺杂、表面改性、材料复合。详细介绍了目前 HA 复合材料的研究热点, 以期为 HA 复合材料相关基础研究提供有益的借鉴与启示。

**关键词:** 羟基磷灰石; 骨组织工程; 离子掺杂; 表面改性; 材料复合

**中图分类号:** TB321; R318.08 **文献标识码:** A **文章编号:** 1003-5214 (2024) 03-0479-12

Research progress on modified hydroxyapatite nanoparticles  
for bone tissue engineering

DU Jingyu, ZHAN Xiao, XU Yuhuan, YANG Renyuan, ZHANG Jiakui, ZHANG Daohai\*

(School of Chemical Engineering, Guizhou Minzu University, Guiyang 550025, Guizhou, China)

**Abstract:** With the acceleration of China's aging society and other influence factors like diseases, traffic accidents, the bone injury cases are increasing year after year, resulting in expanded market demand for bone replacement materials. Hydroxyapatite (HA), the main component of human and animal bones with excellent biological activity and biocompatibility, can be degraded in the organism, participate in metabolism, releases ions that are harmless to the body, and has been widely used in bone tissue engineering for bone repair, regeneration, or replacement. However, its applications are restricted due to the disadvantages of poor dispersion, low strength, poor polymer compatibility, and others. Researches are focused on HA modification or compounding for improvement in its dispersibility, hydrophilicity, antibacterial capabilities, and mechanical strength to satisfy the requirements of therapeutic applications. Herein, the mainstream HA nanoparticle modification methods, including ion doping, surface modification and materials compositing were summarized. Finally, the current research hotspots of HA composites were discussed in detail, in order to provide useful reference and enlightenment for basic research on HA composites.

**Key words:** hydroxyapatite; bone tissue engineering; ions doping; surface modification; materials compositing

骨骼是人体重要的组织, 并且人类骨骼在无严重组织结构损坏的情况下, 都具有良好的自修复和

愈合能力<sup>[1]</sup>。然而, 严重的病理性骨缺损或骨坏死, 往往需要截肢或置换治疗, 不仅给患者带来了难以

收稿日期: 2023-04-17; 定用日期: 2023-07-04; DOI: 10.13550/j.jxhg.20230317

基金项目: 国家自然科学基金项目 (52163001); 贵州民族大学科研平台资助项目 (GZMUGCZX[2021]01); 贵州省省级科技计划项目 (黔科合平台人才-CXTD[2021]005, 黔科合平台人才-GCC[2022]010-1); 贵州省省级科技计划项目 [黔科合成果 (2019) 4022 号]; 贵阳市专家工作站项目 (ZJGZZ2021-07); 贵阳市白云区科技计划项目 (白科合同[2020]28 号)

作者简介: 杜婧羽 (2000—), 女, 硕士生, E-mail: 1243678101@qq.com。联系人: 张道海 (1981—), 男, 博士, 研究员, E-mail: zhangdaohai6235@163.com。

承受的痛苦,还带给家人焦虑、恐惧和无法承受的心理压力。

近年来,生物组织工程的发展,给骨缺损和骨坏死的治疗带来了新方法。组织工程是一个综合性的领域,融合了生命科学、工程学、材料科学、计算机科学等多学科的理论和方法,实现修复、替代和增强人体内受损、病变或有缺陷的组织和器官的技术。通过开发生物可替代物,植入患者受损或者病变的组织中,加速受损部位的组织再生,提高组织功能<sup>[2]</sup>。羟基磷灰石(HA),又称碱式磷酸钙,理论组成为 $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ,是脊椎动物骨骼和牙齿的主要矿物成分,在生物体内具有一定的溶解性,当机体骨骼受到损伤时,可参与代谢,重塑骨组织结构<sup>[3]</sup>。HA无毒且具有良好的生物活性和生物相容性,植入物基本不会引发生物体内的排异反应,是生物组织工程中公认且优良的骨修复材料。相关研究已经证实,HA可以同时发挥骨传导和骨诱导的作用,促进骨质生长,因而具有极高的医学研究价值<sup>[4]</sup>。然而,纯HA具有降解速率低、分散性差、与有机相组分之间亲和力不佳等缺点,制备的陶瓷支架机械强度不能达到骨骼所需的承载条件。因此,在一定程度上限制了其骨支架相关的应用<sup>[5]</sup>。研究发现,合成或改性HA的方法对其物理化学特性影响显著,通过加入表面活性剂、硅烷偶联剂等对HA表面进行改性;加入纤维类物质以增强HA的力学性能;掺杂金属离子,如 $\text{Ag}^+$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 等,提高抗菌能力<sup>[6-7]</sup>。该综述总结归纳了当前主流的HA纳米粒子改性方法,为HA复合材料相关基础研究提供有益的借鉴与启示。

## 1 离子掺杂对HA性能的影响

HA的晶体结构具有六边形和五边形交替排列的特点,直径分别为1.05和0.72 nm,有棒状、针状、板状等多种晶形,不同形态的HA对细胞的渗透性和结构稳定性影响不同,通常大的晶体表现出更好的力学特性,小的晶体更容易被机体吸收和利用。HA中的 $\text{Ca}^{2+}$ 可以通过离子交换被多种金属离子,如 $\text{Sr}^{2+}$ 、 $\text{Ag}^+$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 等取代,形成对应金属离子的磷灰石;其中OH<sup>-</sup>能被氟化物、氯化物和碳酸根替代,生成氟/氯或碳酸基磷灰石<sup>[8]</sup>。不同离子的掺杂能够显著改变HA的结晶形态、降解速率和力学特性等,促进HA在生物体内抗菌性和成骨活性。

### 1.1 提高HA抗菌性能

抗菌性表现为影响微生物的生长繁殖,导致微生物死亡。HA本身无抗菌性,但是金属/非金属元素掺杂后使其获得优异的抗菌性能。常用于提高抗

菌性的金属离子有 $\text{Ag}^+$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 等,其抗菌作用可归纳为:(1)抑制多糖链通过四肽侧链交联,干扰细胞壁的合成,使细菌失去渗透保护屏障而死亡;(2)金属离子吸附于细胞膜表面,损伤细胞膜上的电子传输和物质运输通道;(3)阻断腺嘌呤核苷三磷酸(ATP)的生产,干扰核酸的合成,使细菌失活;(4)与菌体内基团〔如巯基( $-\text{SH}$ )〕结合使蛋白质失活,使细菌丧失分裂增殖能力而死亡;(5)催化菌体基质产生具有强氧化还原作用的羟基自由基( $\cdot\text{OH}$ )及活性氧自由基( $\cdot\text{O}^{2-}$ ),破坏细菌的增殖能力,抑制或杀灭细菌<sup>[9]</sup>。ZHAO等<sup>[10]</sup>通过在HA中掺杂 $\text{Ag}^+$ 研究其对革兰氏阴性菌——铜绿假单胞菌的抑制效果,发现未掺杂 $\text{Ag}^+$ 时,细菌在HA表面大量生长(图1a),掺杂少量 $\text{Ag}^+$ 后能够显著抑制细菌的生长(图1b);此外,研究还发现,仅孵育3 h, $\text{Ag}^+$ 掺杂HA( $\text{Ag-HA}$ )表面的铜绿假单胞菌就发生了质膜分离、胞内成分丢失等现象,表明 $\text{Ag}^+$ 具有较强的抗菌能力。

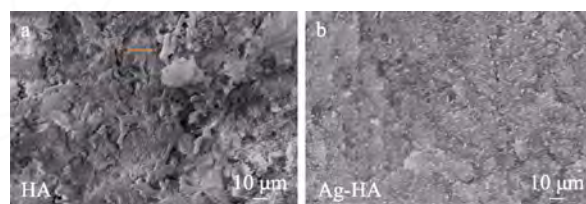


图1 铜绿假单胞菌在HA上的生长情况:未掺杂 $\text{Ag}^+$ (a);掺杂 $\text{Ag}^+$ (b)<sup>[10]</sup>

Fig. 1 Growth of *Pseudomonas aeruginosa* growth on HA: Without doping  $\text{Ag}^+$  (a) and doping  $\text{Ag}^+$  (b)<sup>[10]</sup>

由于HA纳米粒子具有致密的表面结构,限制了许多掺杂方法。RIAZ等<sup>[11]</sup>采用共沉淀法合成了Ag掺杂羟基磷灰石( $\text{Ag-HA}$ ),通过分析 $\text{Ag}^+$ 浓度对微晶尺寸、结晶度和晶格参数的影响,来评估其抗菌性能。结果发现, $\text{Ag-HA}$ 样品均有一定的抑菌能力,并且抗菌效果随着 $\text{Ag}^+$ 浓度的增大而增加。HOU等<sup>[12]</sup>通过化学沉淀、离子交换、银镜反应3个连续步骤,在HA的表面形成了球形的Ag纳米粒子,发现由于Ag纳米粒子的比表面积大,与微生物能够充分接触,还可保持自身的结构,并促进 $\text{Ag-HA}$ 纳米材料的均匀复合,因此,其抑菌效果显著高于使用银盐掺杂的HA样品。 $\text{Zn}^{2+}$ 是人体内重要的微量元素,其本身就有较强的抗菌性能,可降低炎症发生的概率,参与多种骨细胞分化与增殖的代谢过程,还可促进骨骼矿化和成骨细胞增殖,增强骨钙素相关基因的表达,加速骨质成熟。DE LIMA等<sup>[13]</sup>以磷酸蛋白为模板,采用共沉淀法合成了 $\text{Zn}^{2+}$ 掺杂的HA单相纳米颗粒( $\text{Zn-HA}$ ),发现 $\text{Zn-HA}$ 对革兰氏阳性菌和阴性菌都具有较好的抗菌效果,进一

步利用 X 射线光电子能谱仪 (XPS) 分析, 发现 Zn-HA 的抑菌率与 HA 结构中  $Zn^{2+}$  的数量及其在 HA 表面的结构密切相关。PREDOI 等<sup>[14]</sup>采用共沉淀法在 HA 结构中掺入不同浓度的  $Zn^{2+}$ , 结果发现,  $Zn^{2+}$  质量浓度大于 0.125 g/L 后, 革兰氏阳性菌生长缓慢;  $Zn^{2+}$  质量浓度在 0.5 ~ 1.0 g/L 范围内, 可有效抑制革兰氏阴性菌的生长。

## 1.2 改善 HA 成骨能力

Sr 是人体不可缺少的一种微量元素, 既是人体骨骼和牙齿的正常组成部分, 也与血管的功能及构造密切相关, 被广泛应用于治疗骨质疏松的药物中。 $Sr^{2+}$  能通过  $Ca^{2+}$  受体介导一系列成骨相关通路, 诱导骨基质的形成, 增加骨基质含量, 同时抑制破骨细胞的活性, 诱导其凋亡<sup>[15]</sup>。将  $Sr^{2+}$  引入 HA 晶格中, 既能改善 HA 的机械性能, 又能提高其成骨性能。SHAIKH 等<sup>[16]</sup>使用可生物降解金属植入材料 (Mg 基合金) 作为基体, 对比了掺杂 Sr 的 HA 镁基合金 (P-MgSrHA)、掺杂 Sr 的 HA 唑来膦酸酯 Mg 基合金 (P-MgSrHA+NC+ZA) 以及未掺杂 Sr 的 HA 唑来膦酸酯 Mg 基合金 (P-MgHA+NC+ZA) 的相关特性, 发现掺杂少量 Sr 的 HA 能够使 Mg 基合金晶粒细化, 并提高基体的耐腐蚀性能、机械性能和生物相容性。植入实验研究发现, 与 P-MgSrHA 相比 (图 2a), P-MgSrHA+NC+ZA (图 2b) 和 P-MgHA+NC+ZA (图 2c) 支架周围的胶原沉积变大, 表明骨形成和骨整合有所增强, 其中 P-MgSrHA+NC+ZA 支架周围 HA 的残留物最少, 显示出最好的骨形成和骨整合程度。

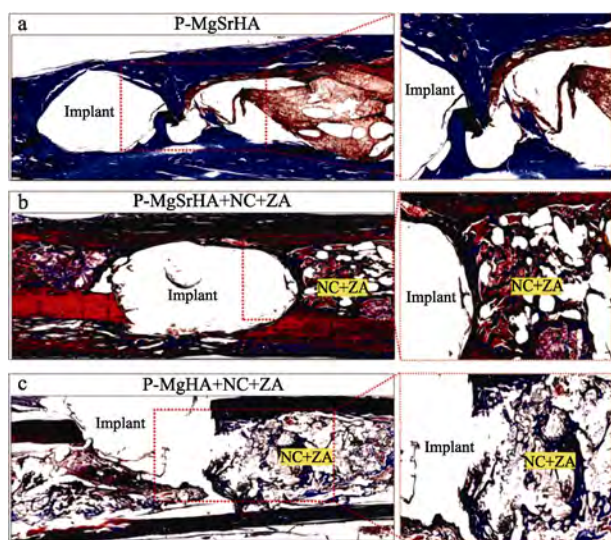


图2 Masson 三色染色 P-MgSrHA (a)、P-MgSrHA+NC+ZA (b)、P-MgHA+NC+ZA (c)<sup>[16]</sup>

Fig. 2 Masson three-color staining P-MgSrHA (a), P-MgSrHA+NC+ZA (b), P-MgHA+NC+ZA (c)<sup>[16]</sup>

STIPNIECE 等<sup>[17]</sup>发现, 掺杂 Sr 的 HA (Sr-HA)

样品中含有棒状晶体, 并且晶体长度随着  $Sr^{2+}$  含量的增加而减小, 逐渐趋于更扁平、平均尺寸更小、比表面积更大的纳米晶体, 能够改善 HA 的热致密化性能, 提高其机械强度; 而晶体尺寸的减小降低了 Sr-HA 的表面电势, 增强了材料的溶解性, 也促进了  $Sr^{2+}$  向周围的介质中扩散, 提高了成骨细胞转化为骨细胞的能力。

铁 (Fe) 和锰 (Mn) 也是维持人体骨骼正常生理功能的必要元素, 掺杂  $Mn^{2+}$  的移植材料还可增强 HA 的抗菌性能。YU 等<sup>[18]</sup>分别将 Fe 和 Mn 元素掺杂到生物高分子胶原蛋白 (Col)-HA 复合材料 (HA/Col) 的层状支架中。体外和体内实验表明, 与未掺杂金属离子的 HA/Col 基细胞支架相比, 掺杂  $Fe^{3+}$  和  $Mn^{2+}$  后提高了支架的骨诱导性, 可促进骨髓间充质干细胞 (BMSCs) 的体外成骨分化和负载新鲜骨髓细胞的骨再生, 为骨再生功能支架的构筑提供了一种简单且实用的策略。钴 (Co) 可促进骨髓造血,  $Co^{2+}$  掺杂 HA (Co-HA) 可促进新生成骨组织血管的产生。ALSHEMARY 等<sup>[19]</sup>使用微波-共沉淀法合成了含 Co 的硅酸盐磷灰石 (Co/Si-HA), 发现硅酸盐的引入能够增加 HA 的晶格参数并减小晶粒尺寸, 进一步掺杂  $Co^{2+}$  能够强化这些效果。抗菌和体外实验表明,  $Co^{2+}$  可增强材料的抗菌能力并提高细胞相容性。氟 (F) 具有促进成骨细胞增殖、促进骨形成的能力, 对机体维持骨骼结构和功能具有重要作用, 广泛应用于调节神经与预防龋齿。研究表明, F 可通过抑制与破骨细胞形成相关基因的表达来抑制破骨细胞的产生, 阻止破骨细胞的活化<sup>[20]</sup>。HUANG 等<sup>[21]</sup>预先制备聚多巴胺 (PDA) 包覆 F 基磷灰石, 接着与壳聚糖 (CS) 进行光化学交联, 得到 CS/HA@PDA-F 水凝胶, 缓解了组织工程中 BMSCs 供氧不足的问题, 又提高了 HA 的抗菌和成骨能力, 具有潜在的临床应用前景。

## 2 表面改性对 HA 性能的影响

### 2.1 表面活性剂改性 HA

表面活性剂是指能使目标溶液表面张力显著下降的物质, 因具有固定的亲水亲油基团, 会使分子聚集在相边界, 从而降低表面张力并稳定系统, 常用于洗涤剂、乳化剂、起泡剂等产品中<sup>[22]</sup>。根据极性基团的解离性质可分为阳离子表面活性剂和阴离子表面活性剂。常用的阳离子表面活性剂有十六烷基三甲基溴化铵 (CTAB) 和十八烷基三甲基溴化铵; 阴离子表面活性剂有十二烷基硫酸钠 (SDS) 和十二烷基苯磺酸钠 (SDBS), 通过与 HA 中的  $Ca^{2+}$  共价结合, 调控微观结构、强化弹性模量、弯曲强度



等物理特性。

### 2.1.1 阴离子表面活性剂改性 HA

阴离子表面活性剂是表面活性剂中最悠久、种类最多的一类产品,具有优异的去污能力和较高的界面活性,根据亲水基团的不同,可分为磺酸盐和硫酸酯盐两类,使用阳离子表面活性剂能够一定程度调控 HA 纳米粒子的孔径分布和分散性。

HUANG 等<sup>[23]</sup>利用阴离子表面活性剂 SDBS 改性 Sr-HA,在 85 °C 下合成了六方结构的柱状 Sr-HA 晶体。XRD 分析表明, SDBS 能够诱导 Sr-HA 晶体生长和发育;理论计算表明, SDBS 可改变晶面的界面能,影响晶面的正常生长速率,最终调控 Sr-HA 的晶体形态,使晶体沿着  $z$  轴生长,从而形成 Sr-HA 晶体的六方柱形态。NATHANAEL 等<sup>[24]</sup>利用阴离子表面活性剂 SDS 对 HA 进行改性,研究不同浓度 SDS 对 HA 形态变化的影响规律,结果发现, SDS 可调节 HA 晶面上的电荷分布,诱导其  $x$  轴方向生长,抑制  $z$  轴方向生长;体外细胞学分析显示,板状纳米颗粒比块状纳米颗粒具有更好的生物活性,因此, HA 纳米板在药物输送和骨矿化领域具有一定的应用前景。

有关承重骨植入物的热稳定性和黏弹性是研究的热点, MICHAEL 等<sup>[25]</sup>通过熔融法将质量分数 1%~5% 的纳米 HA 颗粒(nHA)混合进聚乳酸(PLA)中来合成纳米复合材料(PLA-X nHA, X 表示 HA 纳米颗粒的质量分数),研究表明,混合质量分数为 1% HA 纳米颗粒的 PLA 纳米复合材料的拉伸性能比纯 PLA 更高;当 HA 质量分数超过 1% 后,易与 PLA 发生团聚且降低界面黏合性,导致 PLA-X nHA 纳米复合材料的拉伸性能下降;利用 SDS 对 HA 进行表面改性,不仅提高了 HA 的分散性,还显著增强了材料的拉伸强度。程利等<sup>[26]</sup>使用阴离子表面活性剂硬脂酸来改性 HA 纳米颗粒,经改性的 HA 纳米颗粒在基体中的分散性有所提升,增强了两相界面的结合强度以及与基体的相容性。

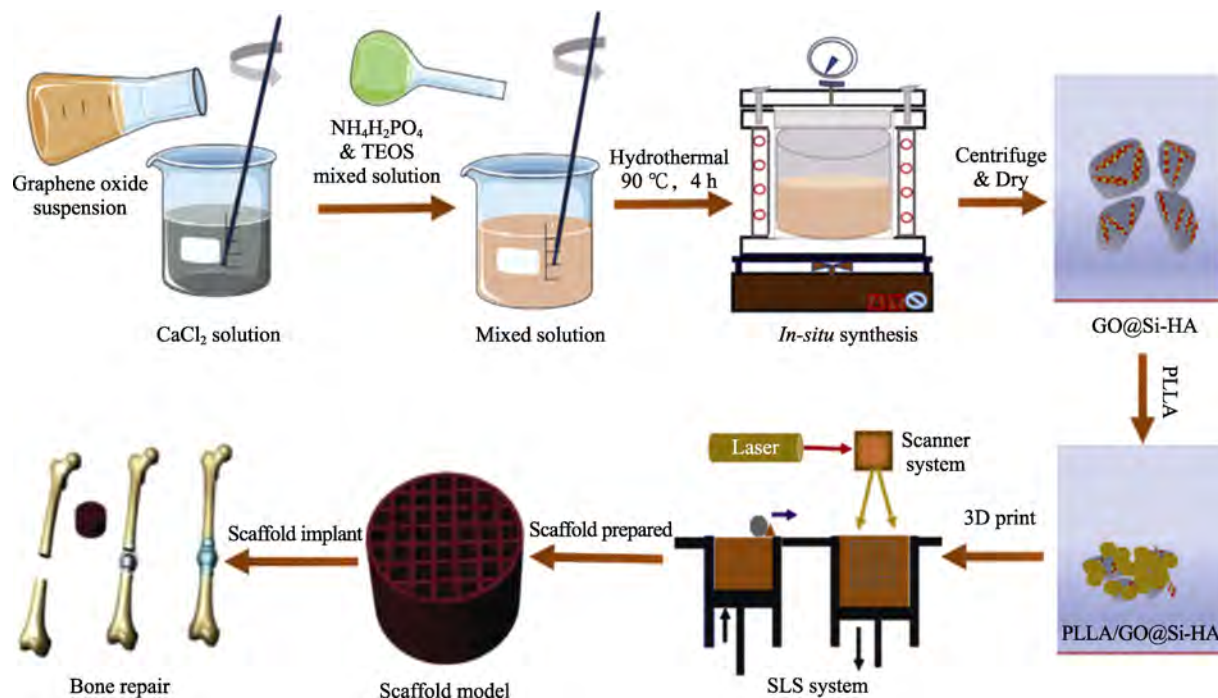
### 2.1.2 阳离子表面活性剂改性 HA

阳离子表面活性剂主要是含氮的有机胺类衍生物,在酸性介质中具有良好的表面活性,而在碱性介质中易失去表面活性,利用阴离子表面活性剂对 HA 进行表面改性,能够调控晶体晶面及其生长方向,促进 HA 均匀分散。LIMA 等<sup>[27]</sup>以玉米淀粉和阳离子表面活性剂 CTAB 双模板来制备多级孔结构的 HA 支架,结果显示,通过 CTAB 和玉米淀粉糊化的组合所产生的颗粒聚集能够调控多级孔的孔隙率,且添加 CTAB 后, HA 的孔径分布更细小且更均匀,有利于成骨细胞的附着和生长。SEBASTIAMMAL

等<sup>[28]</sup>采用溶胶-凝胶法,以聚乙二醇(PEG)、CTAB、姜黄素和 Ag 掺杂 HA(Ag-HA)为原料,制备了具有立方状结构的 Ag-HA 纳米棒。对纳米棒的抗菌、抗氧化和细胞毒性进行检测发现,添加 CTAB 样品的抗氧化性能明显高于未添加的样品,并且对于革兰氏阴性菌和阳性菌都具有一定的抑制作用。李沃等<sup>[29]</sup>基于 CTAB 共价结合和表面吸附的方式对 HA 进行表面接枝,发现 CTAB 表面修饰的 HA 纳米颗粒的悬浮稳定性好、分散性强,可有效阻止纳米颗粒发生团聚。

### 2.2 硅烷偶联剂改性 HA

硅烷偶联剂具有特殊的两亲性,通式可以表示为  $Y-Si-X_3$ , 其中 Y 代表能与聚合物分子有亲和性的活性基团,如氨基、烷烃、乙烯基等;X 代表能够水解的基团,如甲氧基、乙氧基、卤素等<sup>[30]</sup>。当硅烷偶联剂被水解时,可产生硅醇并与无机相表面结合形成硅氧烷,通过无机和有机界面之间形成键合,促进界面融合。经硅烷偶联剂改性后的 HA 既能增强与基质之间的界面附着力,还能强化 HA 的分散性,使其在基质中均匀分布,最终增强复合材料的力学性能。典型的硅烷偶联剂有 A151(乙烯基三乙氧基硅烷)、A171(乙烯基三甲氧基硅烷)、A172〔乙烯基三( $\beta$ -甲氧乙氧基)硅烷〕等。JARAMILLO 等<sup>[31]</sup>采用  $\gamma$ -氨基丙基三乙氧基硅烷(KH550)改性 HA 纳米颗粒,以环氧树脂作为基体,分析对 HA 聚合物链的影响,研究结果表明, HA 经改性后可以显著提高复合材料的分散性、力学性能和热稳定性。WANG 等<sup>[32]</sup>采用硅烷偶联剂(TEOS)键合氧化石墨(GO)和 HA,进一步与聚(L-乳酸)(PLLA)复合,经 3D 打印制备了 PLLA/GO-Si-HA 复合支架作为植入体修复骨组织(制备过程如图 3 所示),发现 PLLA/GO-Si-HA 既显示出优异的力学性能和良好的生物活性,还能够促进细胞的黏附、增殖和分化。HE 等<sup>[33]</sup>合成了新型聚碳酸三亚甲基酯/硅烷偶联剂改性的 HA 纳米颗粒/盐酸万古霉素多孔微球支架(PTMC/HA/VH),该支架显示出独特的孔隙结构及较高的细胞相容性,通过体内植入实验发现, PTMC/HA/VH 支架显著降低了炎症反应并促进骨再生。为抑制骨组织工程支架的降解速率,增强载药量和力学特性, QI 等<sup>[34]</sup>使用油酸(OA)、KH550 和乙基三甲氧基硅烷(YDH171)3 种不同的表面活性剂改性 HA 纳米颗粒,并添加到聚乳酸-乙醇酸/聚碳酸三亚甲基酯(PLGA/PTMC)共混物中,获得了复合支架(PLGA/PTMC/HA),测试发现,经 OA 改性能够强化 PLGA/PTMC/HA 的抗弯强度和抗拉强度,经 YDH171 改性能够强化 PLGA/PTMC/HA 的断裂伸长率。



GO 为氧化石墨烯; PLLA 为聚(L-乳酸); SLS 为粉末烧结

图3 PLLA/GO-Si-HA 支架的制备工艺示意图<sup>[32]</sup>

Fig. 3 Schematic illustration of fabrication process of PLLA/GO-Si-HA scaffold<sup>[32]</sup>

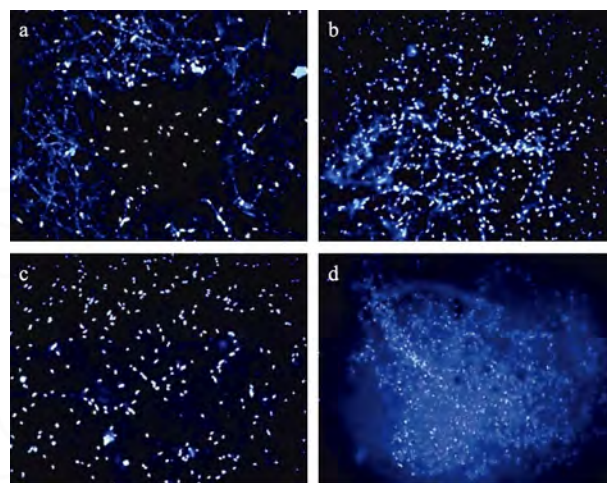
### 3 复合材料对 HA 性能的影响

#### 3.1 羟基磷灰石/聚乳酸复合材料

聚乳酸 (PLA) 又称聚丙交酯, 是以乳酸为主要原料聚合得到的聚酯类聚合物, 是一种新型的生物高分子材料, 具有毒性低、生物相容性高、可降解性等特殊的性质, 主要应用于生物可降解材料和复合基体材料, PLA 在生物体内降解会产生酸, 酸会对机体健康产生一定的负面影响, 但是 HA 与 PLA 复合可以有效中和酸性产物, 创造有利于骨形成的微环境<sup>[35-36]</sup>。

OKTAY 等<sup>[37]</sup>添加 HA 和 GO 到 PLA 溶液中, 采用静电纺丝制备了 PLA/HA/GO 复合纳米纤维, 通过对比分析纯 PLA 和 PLA/HA/GO 纳米复合支架的化学、力学性能和生物相容性, 发现 HA/PLA/GO 复合支架上的成纤维细胞在第 1 d 和第 7 d 的数量均高于 PLA 纳米复合支架, 表明 HA/PLA/GO 复合支架对于成纤维细胞的黏附效果更好, 细胞相容性和存活率更高 (图 4)。YAN 等<sup>[38]</sup>采用乳液-溶剂蒸发法制备了纳米羟基磷灰石/聚乳酸微球 (nHA/PLA), 而后用激光粉末床融合 (L-PBF) 3D 打印技术制造层状部件, 对 nHA/PLA 的形态进行结构表征, 发现 HA 能够均匀地分散到 PLA 中, 可诱导微球表面孔隙的形成, 使用 nHA/PLA 复合微球作为原料制备的层状部件表现出良好的生物相容性和成骨性。HA/

PLA 复合材料的机械强度较好, 但是缺乏韧性, 容易弯曲变形。CHAKRAVARTY 等<sup>[39]</sup>将龙虾壳废弃物衍生的甲壳素与 PLA 和 HA 共混发现, PLA 的质量分数从 20% 增加到 80% 时, 复合材料甲壳素/PLA/HA 的拉伸强度提高了约 77%, 而断裂伸长率和材料韧性降低; 将溶液中 HA 质量分数增加到 7% 时, 复合材料的机械强度提高了 140%, 断裂伸长率增加了 465%。



PLA 支架: 第 1 d (a)、第 7 d (b); PLA/HA/GO 支架: 第 1 d (c)、第 7 d (d)

图4 纳米纤维支架上纤维细胞的荧光显微镜图<sup>[37]</sup>

Fig. 4 Fluorescence microscopy images of fibroblasts on a nanofiber scaffold<sup>[37]</sup>

MORSI 等<sup>[40]</sup>使用溶液浇铸技术,将不同质量分数的 Fe 掺杂 HA (Fe-HA) 添加到 PLA 聚合物基质中,制备了 Fe-HA/PLA 复合材料。研究发现,Fe-HA 可通过  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  的  $\text{OH}^-$  与 PLA 酯基中的 O 原子形成氢键,且添加少量的 Fe-HA 就能够提升复合材料的机械强度,抗菌实验表明,Fe-HA/PLA 复合材料对革兰氏阳性菌(包括葡萄球菌、芽孢杆菌等)和阴性菌(包括大肠杆菌、伤寒杆菌等)的生长都具有显著的抑制作用。

### 3.2 羟基磷灰石/聚多巴胺复合材料

聚多巴胺(PDA)是受到贻贝中黏附蛋白启发而合成的一种新型高分子材料,由于其邻苯二酚基团具有很强的黏附性,已被广泛用作各种材料表面的包覆层。此外,PDA 还是少数具有生物活性的高分子材料之一,其多巴胺(DA)单体在人体内也能够合成,所以具有良好的生物安全性,通过 DA 氧化自聚生成 PDA,并包覆于 HA 纳米颗粒表面,能够显著提高其机械强度与稳定性<sup>[41]</sup>。LI 等<sup>[42]</sup>利用 DA 和聚乙二醇对 HA 进行亲水改性,提高 HA 在 PLA 基体材料中的分散性,研究发现,PDA 包覆的

HA 能够均匀分散在 PLA 中,且粒度大小较为均一,无明显团聚现象。Mg 基合金是骨植入材料中有潜力的候选材料之一,但 Mg 基合金腐蚀速率高的缺点一定程度限制了其医疗应用。ZHOU 等<sup>[43]</sup>利用水热法获得了具有 PDA 包覆层的 HA 纳米颗粒,进一步涂覆到 Mg 基合金支架上,研究发现,PDA 包覆的 HA 涂层比纯 HA 涂层的结构更紧凑,可以显著降低 Mg 基合金支架的腐蚀速率,提高其防腐性能;细胞相容性实验还发现,PDA 包覆的 HA 复合涂层促进了成骨细胞的增殖、黏附和扩散。

骨支架通常通过手术植入,植入后会在患者体表留下创口,维护不当容易导致伤口感染,不利于肌体恢复,甚至危及生命。TAO 等<sup>[44]</sup>首先将  $\text{Cu}^{2+}$  掺杂到 HA 中,并进一步包覆 PDA 制备 HA-Cu/PDA 复合材料(图 5),发现  $\text{Cu}^{2+}$  的掺杂能够大大提高 PDA 的光热效应,获得的 Cu-HA/PDA 复合材料对革兰氏阴性菌和阳性菌都表现出优异的抗菌能力。动物体内实验发现,植入 Cu-HA/PDA 复合材料,还能诱导小鼠胚胎成纤维细胞向伤口部位移动,促进伤口愈合和血管形成。

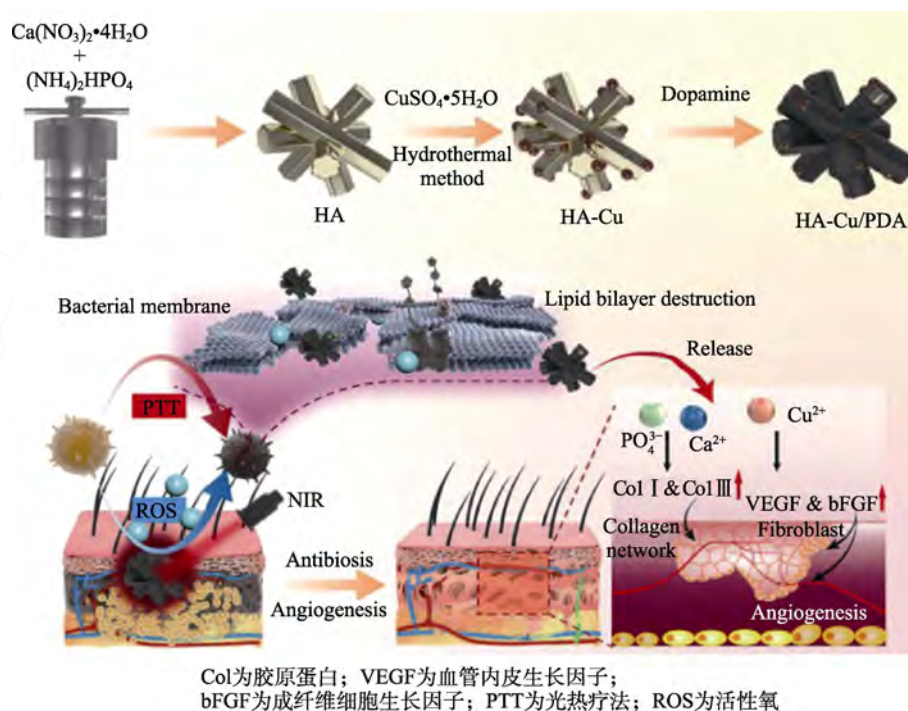


图 5 HA-Cu/PDA 纳米复合材料的合成路线及近红外光谱仪(NIR)辐射示意图<sup>[44]</sup>

Fig. 5 Synthesis route of Cu-HA/PDA nanocomposites and schematic diagram of near-infrared spectrometer (NIR) radiation<sup>[44]</sup>

GHORBANI 等<sup>[45]</sup>通过 DA 盐酸盐的自发氧化聚合,制备了 PDA 纳米球(400 nm),以此作为生物活性模板,在模拟体液(SBF)中通过微波加热形成仿生 HA 层,结果表明,微波辐射使 HA 在 PDA 纳米球表面快速且均匀合成,制备的 HA 中钙磷比非

常接近生物体内的 HA, XRD 和 FTIR 也证实了微波射线对于仿生矿化有较好的效果。

### 3.3 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)由 PLA 和乙醇酸 2 种单体聚合而成,是一种无毒且可降解的功



能高分子,具有良好的生物相容性和机械性能,目前 PLGA 已广泛应用于药物输送、皮肤和骨组织再生等领域。WEI 等<sup>[46]</sup>用聚乙烯醇改性 HA 微球,制备了 HA/聚乳酸-羟基乙酸 (HA/PLGA) 三维多孔支架。研究发现,复合支架的最高抗压强度超过 40 MPa,是纯 PLGA 支架的 6 倍。此外,将 HA 微球添加到 PLGA 基质中,显著改善了在支架表面对于骨髓干细胞的细胞黏附性、提高了骨髓干细胞增殖和成骨分化能力。PARK 等<sup>[47]</sup>利用熔融酯交换法,高效地将 PLGA 接枝到 HA 表面,获得 HA/PLGA 复合材料。研究发现,PLGA 接枝链段越长,HA/PLGA 复合材料与机体的相互作用越强,HA/PLGA 复合材料的拉伸强度和机械性能相比 HA 复合材料增加了 1 倍以上。仿生支架在骨组织工程中的需求不断增长,为了制备出与天然骨组织相似度更高的骨支架,HU 等<sup>[48]</sup>采用乳液模板法与有机/无机杂化技术,以 HA 纳米颗粒、水溶性羧甲基壳聚糖 (CMCS) 和 PLGA 为原料,制备了 HA-CMCS/PLGA 复合支架。研究发现,该支架具有与天然骨相似的拓扑结构,且具备良好的机械性能和体外生物活性,可加速受损骨组织的修复,表现出良好的生物相容性。YU 等<sup>[49]</sup>以掺杂  $\text{Sr}^{2+}$  和  $\text{Mg}^{2+}$  的 HA、PLGA 为原材料,制备了多孔、高生物相容性的笼状结构复合支架 ( $\text{Sr/Mg@HA/PLGA-CAS}$ )。研究发现,支架中 PLGA 的存在利于细胞黏附和生长,笼状结构能够为骨细胞的生长提供足够的空间,同时该复合支架能持续地释放  $\text{Sr}^{2+}$  和  $\text{Mg}^{2+}$ ,促进成骨、加速血管生成、抑制破骨细胞、修复骨质疏松性骨缺损,加速骨再生和抑制骨吸收,这些优异的特性使其在骨修复领域有一定应用前景。

### 3.4 羟基磷灰石/胶原蛋白 (HA/Col) 复合材料

Col 作为细胞外基质的骨架,是细胞外基质中最重要的组成成分,也是哺乳动物体内含量最多、分布最广的功能性蛋白,具有良好的生物活性、生物相容性和可降解性,在医药、组织工程等领域得到了广泛的应用,HA/Col 的结构与天然骨高度相仿,因此,在骨组织工程中具有极高的应用前景。XING 等<sup>[50]</sup>以环氧氯丙烷 (ECH) 作为交联剂,制备了甲壳素-HA/Col 复合支架,探讨了骨支架材料的结构特征及其对体内骨修复的影响,通过对该支架的抗压强度、孔隙率、吸水性和稳定性进行研究,发现 HA 不仅能够增强复合支架的抗压强度,而且提高了骨传导性,促进了钙结节的形成,组织学染色也证实 HA 促进了 Col 沉积和新骨形成,加速了骨修复。软骨损伤是临床医学中常见的问题,但是软骨的自愈能力较差,想要完整地修复软骨十分困难。YAN 等<sup>[51]</sup>采用 HA 和 PLGA-PEG-PLGA 热凝胶复合制成支架,分别匹配缺损的软骨及软骨下层,并用电磁场 (EMF) 对封装在热凝胶中的 BMSCs 加以诱导,体外实验表明,通过 EMF 可激活相关信号通路,进而促进 BMSCs 增殖和软骨分化;动物实验结果进一步证实,采用 EMF 刺激的支架可增强兔骨软骨缺损的修复速率。此外,仿生支架在脊柱融合中也有一定的应用前景,HWANGBO 等<sup>[52]</sup>通过 3D 打印、浸取和涂覆工艺,制备了多级 HA/Col 仿生支架,该多级支架拥有数十微米的微孔道 (图 6),以模拟成骨和生成血管的多级孔骨结构,Col 的使用显著增强了复合支架的生物相容性和生物活性。动物实验显示,HA/Col 仿生支架在鼠体内可显著促进体内新骨形成和血管向内生长。

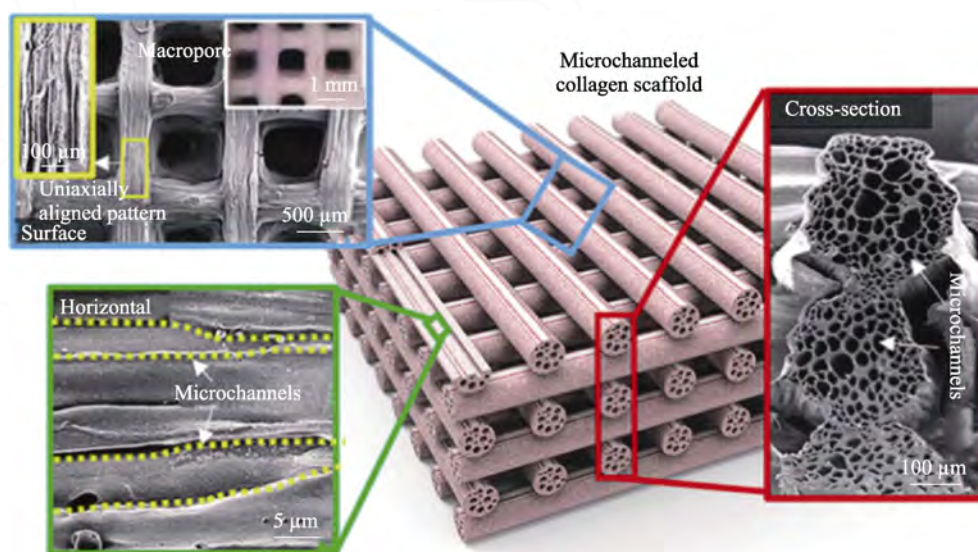


图 6 胶原支架支柱内的单轴排列表面图案和微通道<sup>[52]</sup>

Fig. 6 Uniaxial arrangement of surface patterns and microchannels within collagen scaffold pillar<sup>[52]</sup>

### 3.5 羟基磷灰石/壳聚糖 (HA/CS) 复合材料

CS 是甲壳素脱 N-乙酰基的产物,它是唯一带正电荷的天然碱性多糖,可与带负电的分子聚合,CS 与细胞外基质的主要成分糖胺聚糖 (GAG) 在化学结构上有着较高相似度,对于细胞的黏附性好,因具有骨传导和骨诱导的特性,也被应用于骨组织工程中。PITROLINO 等<sup>[53]</sup>利用冷冻干燥和溶剂浸出成孔的组合方法,开发了一种用于修复软骨组织缺损的多孔、可生物吸收的多层 CS 支架,该支架可以模拟软骨组织的结构和化学成分。然而,纯 CS 抗溶胀效果差且机械强度不高,通过添加交联剂可以改善 CS 的物理化学性质,但由于交联剂成分的不确定性,添加后可能会影响生物安全性,与 HA 纳米颗粒复合是一种潜在的改良方法。YING 等<sup>[54]</sup>为改善 CS 的机械性能,首先采用共沉淀法合成了均匀分散的 HA 纳米颗粒胶体溶液,再进行冷冻干燥,制备了不同 HA 含量的三维多孔羟基磷灰石/壳聚糖 (HA/CS) 复合支架 (图 7),该法无需添加交联剂,并且制备的 HA/CS 支架孔隙率高、抗溶胀性能出色。与纯 CS 支架相比,HA/CS 复合支架不仅表现出更高的压缩模量,还表现出更好的生物相容性。调控 HA 的添加量对 HA/CS 复合支架的物理化学特性影响显著。GRITSCH 等<sup>[55]</sup>将吸附  $\text{Cu}^{2+}$  的 CS 与掺杂  $\text{Sr}^{2+}$  的 HA 复合,经冷冻干燥制备了复合支架,该复合支架显示出理想的离子释放曲线,能够持久地释放抗菌活性成分 ( $\text{Cu}^{2+}$  和  $\text{Sr}^{2+}$ ),实现长效的抑菌和成骨。研究还发现,HA 的添加量对 HA/CS 支架的孔隙率和机械性能影响显著。CS 作为一种无毒的天然多糖,还广泛应用于伤口敷料,通过引入改性的 HA 纳米颗粒,能够显著提高其抑菌性。CUNHA 等<sup>[56]</sup>对 HA 进行 Fe 掺杂,使其具备吸收紫外线的的能力,进一步与 CS 共混获得 HA/CS 复合

薄膜。测试发现,两者共混能够发挥协同效应,一方面保留了 CS 无毒且良好的机械特性,另一方面赋予了 HA/CS 复合薄膜优异的紫外线吸收能力,并且对革兰氏阴性细菌和阳性细菌都有较高的抗菌能力,该复合薄膜既能减少细菌感染,又能削弱紫外线对伤口的照射,为多功能 HA/CS 复合材料的设计及其在伤口敷料中的应用提供了启示。

### 3.6 羟基磷灰石/丝素蛋白 (HA/SF) 复合材料

丝素蛋白 (SF),又名蚕丝蛋白,主要成分为各种氨基酸,是从天然蚕丝中提取的一种结构性蛋白质,坚韧而有弹性,稳定性好且抗热应力高,是注射和压缩成型的理想生物高分子材料,广泛应用于医药、化工、食品等领域<sup>[57]</sup>。HA 与 SF 进行复合,能够展现出极好的生物相容性和力学性能,是潜在的骨修复及骨再生复合材料候选者。MCNAMARA 等<sup>[58]</sup>将 SF 和 HA 复合,协同发挥 2 种材料独特的机械和生物性能,在骨置换或骨折部位固定方面展现出一定的应用前景。SF 低成本、可再生,基于 SF 和 HA 与其他多种高分子材料复合,能够模拟骨的层级结构,发挥协同效应,诱导成骨细胞再生和分化。JIN 等<sup>[59]</sup>利用电纺短切纤维 (CF) 与 SF 和 HA 复合,制备了多孔海绵混合支架 (HA/SF-CF)。研究发现,生物活性组分 HA 的添加能够提高复合支架的骨传导性和成骨能力;体外实验显示,HA/SF-CF 可以促进血管形成,为组织再生提供有利的免疫微环境,促进巨噬细胞向抗炎巨噬细胞分化,降低炎症反应。SHANG 等<sup>[60]</sup>根据仿生结构工程原理,设计了硫酸软骨素/HA (SF-CS/HA) 双层膜 (图 8),来模拟软骨界面的分层复杂性,其目的是促进体外软骨形成、成骨双向分化和体内骨软骨修复。体内实验表明,SF-CS/HA 膜在体内具有优异的软骨再生能力,新生成的软骨具有与原始透明软骨相似的组织形态学特征。

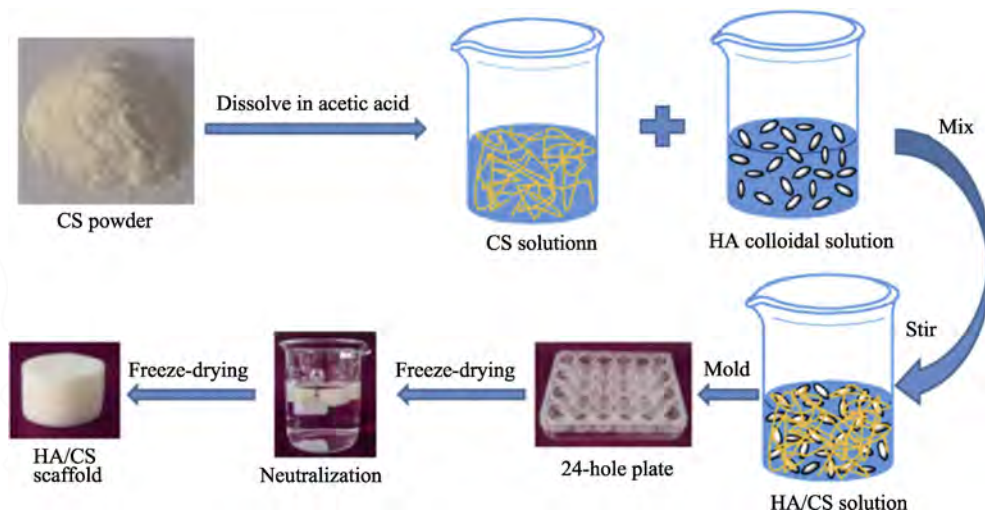
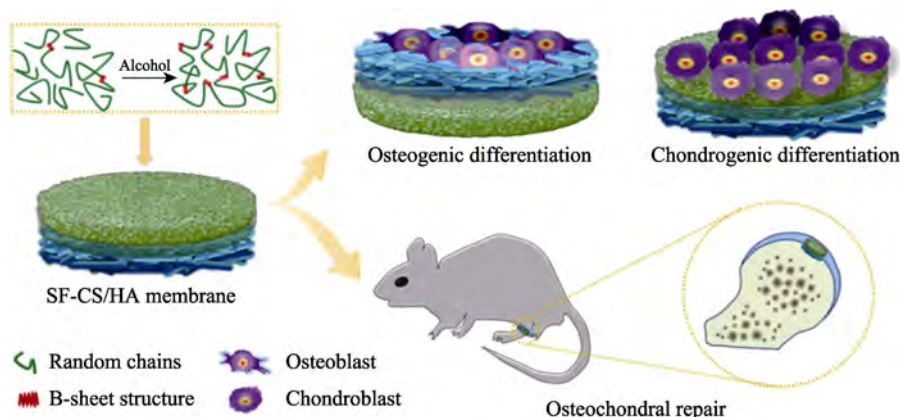


图 7 三维多孔 HA/CS 复合支架制备示意图<sup>[54]</sup>

Fig. 7 Preparation process of 3D porous HA/CS composite scaffold<sup>[54]</sup>

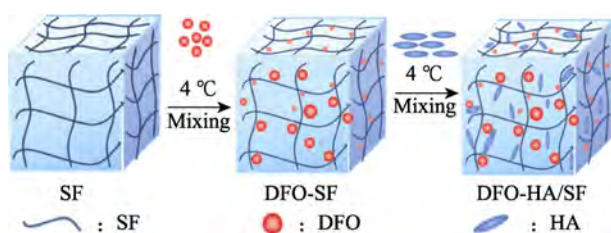


图8 SF-CS/HA膜的制备及其成骨分化和软骨修复示意图<sup>[60]</sup>Fig. 8 Preparation of SF-CS/HA membrane and schematic diagram of its osteogenic differentiation and osteochondral repair<sup>[60]</sup>

## 4 改性 HA 纳米粒子在骨组织工程中的应用

### 4.1 水凝胶材料

水凝胶是一种具有巨大组织工程应用潜力的水溶胀网络, 可进行微创注射, 具有优越的填充能力, 可用于修补复杂且不规则的骨缺损<sup>[61]</sup>, 但其较差的力学性能和矿化能力使其在骨组织工程的应用中受到限制。研究发现, 将 nHA 粉末填入水凝胶中对其进行改性, 可提高机械性能和生物相容性。例如, 一种基于 nHA 修饰的 9-芴甲氧羰基 (Fmoc) 肽水凝胶, 通过 nHA 的修饰使肽纳米纤维和 nHA 表面发生有吸引力的静电相互作用, 得到机械强度更高的骨组织工程支架, 并且 nHA 修饰的 Fmoc 肽水凝胶支架还可用作模拟骨微环境的平台, 提供评估破骨细胞分化和功能的工具<sup>[62]</sup>。在对骨缺损部位进行局部的持续修复时, 成骨血管的生成也对骨修复极为重要, WANG 等<sup>[63]</sup>将去铁胺 (DFO) 负载在 SF 纳米纤维上, 与 HA 共混, 形成可注射的 DFO 负载 HA/SF 复合水凝胶 (DFO-HA/SF) (图 9), 且该复合水凝胶中的 HA 分布均匀、硬度高, 为组织再生提供了稳定的成骨刺激位, 其中的 DFO 可缓慢递送, 加速新生血管的生成和干细胞分化, 促进新骨生成。

图9 DFO-HA/SF 复合水凝胶的制备过程<sup>[63]</sup>Fig. 9 Preparation process of DFO-HA/SF composite hydrogel<sup>[63]</sup>

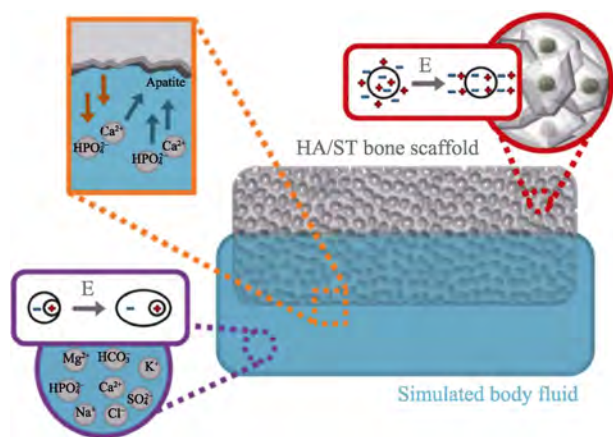
### 4.2 仿生材料

生物相容性是生物材料和支架需要满足的基本要素, 如何提高 HA 复合材料植入体的生物相容性是当前的一个研究热点。仿生模拟骨基质的层次结构为生物材料和支架设计提供了重要的生物灵感, 通过将天然骨中的成分与 HA 相结合, 能够展现出比传统 HA 材料更加优异的生物相容性, 在骨组织工程领域具有极高的应用潜力。仿生合成法具有反应条件温和、过程简单、产物性质稳定、材料生物学性能良好等优势, 目前已经广泛应用于生物、医药、复合材料等许多领域<sup>[64]</sup>。Col 是细胞外基质骨架, 作为骨的主要组成部分具有良好的生物活性、生物相容性和可降解性, 而矿化 Col 支架比非矿化 Col 支架具有更好的成骨性能, 更适用于作为载体连续输送药物、生长因子以及其他小分子。ZHANG 等<sup>[65]</sup>受天然骨成分及其微观结构启发, 制备了以聚 (D,L-丙交酯) (PDLA) 作为有机基质, 以 Sr/Cu 掺杂的 HA (Sr/Cu-HA) 作为无机基质的仿生双相复合材料, 添加 Sr/Cu-HA 有效改善了聚合物基质的压缩、拉伸强度和断裂韧性等机械性能, 使其与天然骨的机械强度相当。同时, 该复合支架还可以促进 BMSCs 附着、增殖, 增强碱性磷酸酶 (ALP) 活性并诱导 Col 纤维基质形成。

### 4.3 可生物降解材料

可生物降解骨支架对植入过程中的骨组织再生起着重要作用, 致密 HA 降解周期长, 植入人体之后若支架降解速率低于新骨生长速率, 会导致新骨的生长受到抑制<sup>[66]</sup>。因此, 骨支架必须在适宜的周期内均匀降解, 以促进骨组织的替换和生长。YOU 等<sup>[67]</sup>添加不同量淀粉, 制备了可生物降解 HA/淀粉 (HA/ST) 骨支架, 测定了 HA/ST 支架的介电性质和孔隙率对骨支架体外生物降解性能的影响 (图 10), 结果表明, 随着 ST 添加量的升高, HA/ST 复合材

料的介电响应和孔隙率均提高,从而增强了骨支架的生物降解性能。当复合支架中 ST 的质量分数增加至 80% 时,HA/ST 复合支架具有丰富的界面和有效比表面积,展现出优异的介电响应和生物降解性,因而在骨组织工程应用中具有一定的潜力。LI 等<sup>[68]</sup>将 CS 与 HA 复合注入编织体中,经冷冻干燥和冷大气等离子体 (CAP) 技术制备了多级孔结构支架,利用压缩和降解实验对支架的力学性能和降解能力进行评价。结果表明,多级孔结构支架的力学性能良好,降解速率提升至原始支架的 2 倍。



其中, E 代表外加电场

图 10 HA/ST 支架的介电响应和生物降解、矿化<sup>[67]</sup>

Fig. 10 Dielectric response, biodegradation and mineralization of HA/ST scaffolds<sup>[67]</sup>

#### 4.4 3D 打印材料

骨组织的形态和生理结构较为复杂,传统的组织工程支架难以制备出个性化的骨支架材料,借助计算机建模设计和制造技术,使用 3D 打印,既可以制备与缺损形状相匹配的植入物,也可以制造特定微孔的生物材料结构。骨水泥表现出较好的力学性能、细胞相容性和骨导电性,是一种有前途的骨缺损修复材料,并可用于 3D 打印。FITZPATRICK 等<sup>[69]</sup>采用羟基磷灰石/丝绸骨水泥 3D 打印制造了功能支架,研究发现,该支架能够增强骨诱导效应,促进血管和神经生长因子或形态因子的生成,以加速骨形成。TAN 等<sup>[70]</sup>采用 3D 打印制备了多孔互联生物活性陶瓷磷酸三钙/硅酸钙支架,进一步利用水热反应原位构建了仿生 HA 涂层。研究发现,植入小鼠后,HA 涂层能促进细胞增殖、提高 ALP 活性和成骨基因表达,而且该支架的仿生多孔结构经 HA 仿生包覆后能与骨形成较强的黏结,从而促进骨的快速再生。

## 5 结束语与展望

近年来,中国人口老龄化程度加剧,骨质疏松

发病率逐年上涨,骨质疏松性骨折在社会中普遍存在,加之跌倒和交通事故等因素的影响,骨损伤病例逐年增加,使骨替代材料具有广阔的市场需求。而 HA 支架因其优异的生物相容性和骨诱导性,是潜在的骨缺损、骨修复治疗的候选材料之一。但是纯 HA 纳米颗粒的分散性较差、易团聚、降解速率缓慢,导致支架的界面相容性和稳定性变差。该文综述了目前主流的 HA 纳米粒子的改性方法,包括 HA 纳米颗粒的离子掺杂、表面改性和不同纳米 HA 复合材料,为 HA 复合材料相关基础研究提供有益的借鉴与启示。

通过离子掺杂,HA 的抗菌性能和成骨能力都得到了有效的提升,特别是抗菌能力显著提高。目前,离子掺杂是提高 HA 抗菌能力的有效方法。还有一些金属离子如  $Zn^{2+}$ ,可在提高 HA 抗菌能力的同时,促进成骨相关基因的表达,加速骨成熟。表面改性能增强 HA 的分散性和机械性能,加快骨组织的修复速率,使 HA 纳米颗粒在骨组织工程中的适用范围更广。纳米 HA 复合材料种类繁多,其共同点是都具有较好的生物相容性,目的是在植入生物体内后减少或者消除炎症反应,为新生骨组织提供更好的生长环境。尽管现阶段对 HA 纳米颗粒进行离子掺杂、表面改性以及材料复合等方面的研究已经取得了一定进展,但基于 HA 构筑性能优异的组织工程支架还面临诸多挑战,需要将结构修饰、材料复合以及新制造技术等多种策略结合起来,才有望得到性能更为优异的 HA 骨组织工程支架。在后期的研究中,还需要对天然骨结构和骨再生的影响因素进行更深入的研究,利用新的仿生方法制备各种基于 HA 的骨组织支架,克服临床挑战。此外,还需更加关注 HA 复合材料植入体内后可能导致的炎症反应,研究与天然骨结构更为相近的 HA 支架,为促进伤口愈合和加快骨组织再生提供更为适宜的体内环境,构筑结构与性能更加适应生物体的骨支架。

未来,全球的经济和医疗条件不断发展,将推动骨替代材料的进步。中国作为一个人口大国,使用骨支架、骨移植的患者众多,对于骨替代材料的需求量不断增加,全球骨支架产品市场的重心逐渐向中国倾斜。随着中国对于骨支架、骨移植技术的研究突破,更加安全可靠的产品将替代原有产品,中国有望成为全球骨替代材料的重要生产国。

#### 参考文献:

- [1] KOONS G L, DIBA M, MIKOS A G. Materials design for bone-tissue engineering[J]. *Nature Reviews Materials*, 2020, 5(8): 584-603.
- [2] ZHU G, ZHANG T, CHEN M, *et al.* Bone physiological microenvironment and healing mechanism: Basis for future bone-

- tissue engineering scaffolds[J]. *Bioactive Materials*, 2021, 6(11): 4110-4140.
- [3] VARGAS-BECERRIL N, SÁNCHEZ-TÉLEZ D, ZARAZÚA-VILLALOBOS L, *et al.* Structure of biomimetic apatite grown on hydroxyapatite (HA)[J]. *Ceramics International*, 2020, 46(18): 28806-28813.
  - [4] BEURIAT P A, LOHKAMP L N, SZATHMARI A, *et al.* Repair of cranial bone defects in children using synthetic hydroxyapatite cranioplasty (Custom Bone)[J]. *World Neurosurgery*, 2019, 129: e104-e113.
  - [5] ROCHA C R, CHÁVEZ-FLORES D, ZUVERZA-MENA N, *et al.* Surface organo-modification of hydroxyapatites to improve PLA/HA compatibility[J]. *Journal of Applied Polymer Science*, 2020, 137(42): 49293.
  - [6] DU M, CHEN J, LIU K, *et al.* Recent advances in biomedical engineering of nano-hydroxyapatite including dentistry, cancer treatment and bone repair[J]. *Composites Part B: Engineering*, 2021, 215: 108790.
  - [7] HUANG L L (黄玲玲), HUANG Z Y (黄紫洋), SHEN Q F (沈秋芳), *et al.* Preparation of HA/SiO<sub>2</sub>/Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> composite coating and its biological activity[J]. *Fine Chemicals (精细化工)*, 2017, 34(9): 975-981.
  - [8] SAFARZADEH M, RAMESH S, TAN C Y, *et al.* Effect of multi-ions doping on the properties of carbonated hydroxyapatite bioceramic[J]. *Ceramics International*, 2019, 45(3): 3473-3477.
  - [9] SHI H, ZHOU Z, LI W, *et al.* Hydroxyapatite based materials for bone tissue engineering: A brief and comprehensive introduction[J]. *Crystals*, 2021, 11(2): 149.
  - [10] ZHAO Y, WEE C Y, ZHANG H, *et al.* Silver-substituted hydroxyapatite inhibits pseudomonas aeruginosa outer membrane protein F: A potential antibacterial mechanism[J]. *Biomaterials Advances*, 2022, 134: 112713.
  - [11] RIAZ M, ZIA R, IJAZ A, *et al.* Synthesis of monophasic Ag doped hydroxyapatite and evaluation of antibacterial activity[J]. *Materials Science and Engineering: C*, 2018, 90: 308-313.
  - [12] HOU J, LIU Y, HAN Z, *et al.* Silver-hydroxyapatite nanocomposites prepared by three sequential reaction steps in one pot and their bioactivities *in vitro*[J]. *Materials Science and Engineering: C*, 2021, 120: 111655.
  - [13] DE LIMA C O, DE OLIVEIRA A L M, CHANTELE L, *et al.* Zn-doped mesoporous hydroxyapatites and their antimicrobial properties[J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2021, 198: 111471.
  - [14] PREDOI D, ICONARU S L, DENIAUD A, *et al.* Textural, structural and biological evaluation of hydroxyapatite doped with zinc at low concentrations[J]. *Materials*, 2017, 10(3): 229.
  - [15] MACIEL P P, PESSÓA J A M, DE MEDEIROS E L G, *et al.* Use of strontium doping glass-ceramic material for bone regeneration in critical defect: *In vitro* and *in vivo* analyses[J]. *Ceramics International*, 2020, 46(16): 24940-24954.
  - [16] SHAIKH S, QAYOOM I, SARVESHA R, *et al.* Bioresorbable magnesium-based alloys containing strontium doped nanohydroxyapatite promotes bone healing in critical sized bone defect in rat femur shaft[J]. *Journal of Magnesium and Alloys*, 2023, 11(1): 270-286.
  - [17] STIPNIECE L, WILSON S, CURRAN J, *et al.* Strontium substituted hydroxyapatite promotes direct primary human osteoblast maturation [J]. *Ceramics International*, 2021, 47(3): 3368-3379.
  - [18] YU L, ROWE D W, PERERA I P, *et al.* Intrafibrillar mineralized collagen-hydroxyapatite-based scaffolds for bone regeneration[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2020, 12(16): 18235-18249.
  - [19] ALSHEMARY A Z, HUSSAIN R, DALGIC A D, *et al.* Bactericidal and *in vitro* osteogenic activity of nano sized cobalt-doped silicate hydroxyapatite[J]. *Ceramics International*, 2022, 48(19): 28231-28239.
  - [20] LIU S, ZHOU H, LIU H, *et al.* Fluorine-contained hydroxyapatite suppresses bone resorption through inhibiting osteoclasts differentiation and function *in vitro* and *in vivo*[J]. *Cell Proliferation*, 2019, 52(3): e12613.
  - [21] HUANG B, CHEN M, TIAN J, *et al.* Oxygen-carrying and antibacterial fluorinated nano-hydroxyapatite incorporated hydrogels for enhanced bone regeneration[J]. *Advanced Healthcare Materials*, 2022, 11(12): 2102540.
  - [22] JOHNSON P, TRYBALA A, STAROV V, *et al.* Effect of synthetic surfactants on the environment and the potential for substitution by biosurfactants[J]. *Advances in Colloid and Interface Science*, 2021, 288: 102340.
  - [23] HUANG J, CHEN C, HUANG Z, *et al.* Study on the growth morphology and induction mechanism of strontium hydroxyapatite controlled by anionic and cationic surfactants[J]. *Journal of Alloys and Compounds*, 2020, 835(15): 155385.
  - [24] NATHANAEL A J, IM Y M, OH T H. Intrinsic effect of anionic surfactant on the morphology of hydroxyapatite nanoparticles and its structural and biological properties[J]. *Advanced Powder Technology*, 2020, 31(1): 234-240.
  - [25] MICHAEL F M, RATNAM C T, KHALID M, *et al.* Surface modification of nanohydroxyapatite and its loading effect on poly(lactic acid) properties for load bearing implants[J]. *Polymer Composites*, 2018, 39(8): 2880-2888.
  - [26] CHENG L (程利), WANG X (王鑫), ZHAO X Y (赵雄燕). Study on functionalized nano-hydroxyapatite modified polylactic acid composites[J]. *Applied Chemical Industry (应用化工)*, 2019, 48(7): 1595-1597.
  - [27] LIMA T A, ILAVSKY J, HAMMONS J, *et al.* Synthesis and synchrotron characterisation of novel dual-template of hydroxyapatite scaffolds with controlled size porous distribution[J]. *Materials Letters*, 2017, 190(1): 107-110.
  - [28] SEBASTIAMMAL S, FATHIMA A S L, ALARIFI S, *et al.* Synthesis and physicochemical characteristics of Ag-doped hydroxyapatite nanoparticles, and their potential biomedical applications[J]. *Environmental Research*, 2022, 210: 112979.
  - [29] LI W (李沃), HUANG D (黄东), HU X (胡霞), *et al.* Comparison of surface modifications of hydroxyapatite nanoparticles by three different surfactants[J]. *Advances in Modern Biomedicine (现代生物医学进展)*, 2016, 16(11): 2013-2017, 2053.
  - [30] SHUAI C, YU L, FENG P, *et al.* Interfacial reinforcement in bioceramic/biopolymer composite bone scaffold: The role of coupling agent[J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2020, 193: 111083.
  - [31] JARAMILLO A, MEDINA C, FLORES P, *et al.* Improvement of thermomechanical properties of composite based on hydroxyapatite functionalized with alkylsilanes in epoxy matrix[J]. *Ceramics International*, 2020, 46(6): 8368-8378.
  - [32] WANG G, QIAN G, ZAN J, *et al.* A co-dispersion nanosystem of graphene oxide/silicon-doped hydroxyapatite to improve scaffold properties[J]. *Materials & Design*, 2021, 199(1): 109399.
  - [33] HE J, HU X, XING L, *et al.* Enhanced bone regeneration using poly(trimethylene carbonate)/vancomycin hydrochloride porous microsphere scaffolds in presence of the silane coupling agent modified hydroxyapatite nanoparticles[J]. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 2021, 99(25): 134-144.
  - [34] QI J, XIAO J, ZHANG T, *et al.* Investigation of the nano-hydroxyapatite with different surface modifications on the properties of poly(lactide-co-glycolide acid)/poly(trimethylene carbonate)/nano-hydroxyapatite composites[J]. *Colloid and Polymer Science*, 2021, 299: 623-635.
  - [35] ILYAS R, ZUHRI M, AISYAH H, *et al.* Natural fiber-reinforced polylactic acid, polylactic acid blends and their composites for advanced applications[J]. *Polymers*, 2022, 14(1): 202.
  - [36] LI G, ZHANG D, QIN S. Preparation and performance of antibacterial poly(vinyl alcohol)/poly(ethylene glycol)/chitosan hydrogels containing silver chloride nanoparticles *via* one-step method[J]. *Nanomaterials*, 2019, 9(7): 972.
  - [37] OKTAY B, AHLATCIOĞLU ÖZEROL E, SAHIN A, *et al.* Production and characterization of PLA/HA/GO nanocomposite



- scaffold[J]. *ChemistrySelect*, 2022, 7(30): e202200697.
- [38] YAN D, ZENG B, HAN Y, *et al.* Preparation and laser powder bed fusion of composite microspheres consisting of poly(lactic acid) and nano-hydroxyapatite[J]. *Additive Manufacturing*, 2020, 34: 101305.
- [39] CHAKRAVARTY J, RABBI M F, CHALIVENDRA V, *et al.* Mechanical and biological properties of chitin/poly(lactide) (PLA)/hydroxyapatite (HAP) composites cast using ionic liquid solutions[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 151(15): 1213-1223.
- [40] MORSI M A, ABD ELHAMID M H. Effect of iron doped hydroxyapatite nanoparticles on the structural, morphological, mechanical and magnetic properties of polylactic acid polymer[J]. *Journal of Materials Research and Technology*, 2019, 8(2): 2098-2106.
- [41] KAUSHIK N, NHAT NGUYEN L, KIM J H, *et al.* Strategies for using polydopamine to induce biomineralization of hydroxyapatite on implant materials for bone tissue engineering[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(18): 6544.
- [42] LI G, LIU X, ZHANG D, *et al.* Preparation and properties of polylactide/hydroxyapatite/polydopamine composites[J]. *Polymer Engineering & Science*, 2018, 58(12): 2256-2263.
- [43] ZHOU Z, ZHENG B, GU Y, *et al.* New approach for improving anticorrosion and biocompatibility of magnesium alloys via polydopamine intermediate layer-induced hydroxyapatite coating[J]. *Surfaces and Interfaces*, 2020, 19: 100501.
- [44] TAO B, LIN C, GUO A, *et al.* Fabrication of copper ions-substituted hydroxyapatite/polydopamine nanocomposites with high antibacterial and angiogenesis effects for promoting infected wound healing[J]. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 2021, 104(25): 345-355.
- [45] GHORBANI F, ZAMANIAN A, BEHNAMGHADER A, *et al.* Bone-like hydroxyapatite mineralization on the bio-inspired PDA nanoparticles using microwave irradiation[J]. *Surfaces and Interfaces*, 2019, 15: 38-42.
- [46] WEI J, YAN Y, GAO J, *et al.* 3D-printed hydroxyapatite microspheres reinforced PLGA scaffolds for bone regeneration[J]. *Biomaterials Advances*, 2022, 133: 112618.
- [47] PARK J W, HWANG J U, BACK J H, *et al.* High strength PLGA/hydroxyapatite composites with tunable surface structure using PLGA direct grafting method for orthopedic implants[J]. *Composites Part B: Engineering*, 2019, 178(1): 107449.
- [48] HU Y, CAO S, CHEN J, *et al.* Biomimetic fabrication of icariin loaded nano hydroxyapatite reinforced bioactive porous scaffolds for bone regeneration[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2020, 394(15): 124895.
- [49] YU S, SUN T, LIU W, *et al.* PLGA cage-like structures loaded with Sr/Mg-doped hydroxyapatite for repairing osteoporotic bone defects[J]. *Macromolecular Bioscience*, 2022, 22(8): 2200092.
- [50] XING F, CHI Z, YANG R, *et al.* Chitin-hydroxyapatite-collagen composite scaffolds for bone regeneration[J]. *Macromolecular Bioscience*, 2022, 22(8): 2200092.
- [51] YAN J, LIU C, TU C, *et al.* Hydrogel-hydroxyapatite-monomeric collagen type- I scaffold with low-frequency electromagnetic field treatment enhances osteochondral repair in rabbits[J]. *Stem Cell Research & Therapy*, 2021, 12(1): 1-21.
- [52] HWANGBO H, LEE H, ROH E J, *et al.* Bone tissue engineering via application of a collagen/hydroxyapatite 4D-printed biomimetic scaffold for spinal fusion[J]. *Applied Physics Reviews*, 2021, 8(2): 021403.
- [53] PITROLINO K A, FEFEL R M, PELLIZZERI L M, *et al.* Development and *in vitro* assessment of a bi-layered chitosan-nano-hydroxyapatite osteochondral scaffold[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2022, 282(15): 119126.
- [54] YING R, WANG H, SUN R, *et al.* Preparation and properties of a highly dispersed nano-hydroxyapatite colloid used as a reinforcing filler for chitosan[J]. *Materials Science and Engineering: C*, 2020, 110: 110689.
- [55] GRITSCH L, MAQBOOL M, MOURIÑO V, *et al.* Chitosan/hydroxyapatite composite bone tissue engineering scaffolds with dual and decoupled therapeutic ion delivery: Copper and strontium[J]. *Journal of Materials Chemistry B*, 2019, 7(40): 6109-6124.
- [56] CUNHA C S, CASTRO P J, SOUSA S C, *et al.* Films of chitosan and natural modified hydroxyapatite as effective UV-protecting, biocompatible and antibacterial wound dressings[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 159(15): 1177-1185.
- [57] SALEEM M, RASHEED S, YOUNG C. Silk fibroin/hydroxyapatite scaffold: A highly compatible material for bone regeneration[J]. *Science and Technology of Advanced Materials*, 2020, 21(1): 242-266.
- [58] MCNAMARA S L, MCCARTHY E M, SCHMIDT D F, *et al.* Rheological characterization, compression, and injection molding of hydroxyapatite-silk fibroin composites[J]. *Biomaterials*, 2021, 269: 120643.
- [59] JIN S, FU X, ZENG W, *et al.* Chopped fibers and nano-hydroxyapatite enhanced silk fibroin porous hybrid scaffolds for bone augmentation[J]. *Journal of Materials Chemistry B*, 2023, 11(7): 1557-1567.
- [60] SHANG L, MA B, WANG F, *et al.* Nanotextured silk fibroin/hydroxyapatite biomimetic bilayer tough structure regulated osteogenic/chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells for osteochondral repair[J]. *Cell Proliferation*, 2020, 53(11): e12917.
- [61] YANG C, HAN B, CAO C, *et al.* An injectable double-network hydrogel for the co-culture of vascular endothelial cells and bone marrow mesenchymal stem cells for simultaneously enhancing vascularization and osteogenesis[J]. *Journal of Materials Chemistry B*, 2018, 6(47): 7811-7821.
- [62] VITALE M, LIGORIO C, MCAVAN B, *et al.* Hydroxyapatite-decorated Fmoc-hydrogel as a bone-mimicking substrate for osteoclast differentiation and culture[J]. *Acta Biomaterialia*, 2022, 138: 144-154.
- [63] WANG K, CHENG W, DING Z, *et al.* Injectable silk/hydroxyapatite nanocomposite hydrogels with vascularization capacity for bone regeneration[J]. *Journal of Materials Science & Technology*, 2021, 63: 172-181.
- [64] DU Y, GUO J L, WANG J, *et al.* Hierarchically designed bone scaffolds: From internal cues to external stimuli[J]. *Biomaterials*, 2019, 218: 119334.
- [65] ZHANG Y, LI J, MOUSER V H M, *et al.* Biomimetic mechanically strong one-dimensional hydroxyapatite/poly(d,l-lactide) composite inducing formation of anisotropic collagen matrix[J]. *ACS Nano*, 2021, 15(11): 17480-17498.
- [66] WEI L (魏莉), MA B J (马保金), SHAO J L (邵金龙), *et al.* Research progress on the application of hydroxyapatite composites in bone tissue engineering[J]. *Journal of Sichuan University: Medical Sciences (四川大学学报: 医学版)*, 2021, 52(3): 357-363.
- [67] YOU B C, MENG C E, NASIR N F M, *et al.* Dielectric and biodegradation properties of biodegradable nano-hydroxyapatite/starch bone scaffold[J]. *Journal of Materials Research and Technology*, 2022, 18: 3215-3226.
- [68] LI T T, ZHANG Y, REN H T, *et al.* Two-step strategy for constructing hierarchical pore structured chitosan-hydroxyapatite composite scaffolds for bone tissue engineering[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2021, 260(15): 117765.
- [69] FITZPATRICK V, MARTIN-MOLDES Z, DECK A, *et al.* Functionalized 3D-printed silk-hydroxyapatite scaffolds for enhanced bone regeneration with innervation and vascularization[J]. *Biomaterials*, 2021, 276: 120995.
- [70] TAN B, ZHAO N, GUO W, *et al.* Biomimetic hydroxyapatite coating on the 3D-printed bioactive porous composite ceramic scaffolds promoted osteogenic differentiation via PI3K/AKT/mTOR signaling pathways and facilitated bone regeneration *in vivo*[J]. *Journal of Materials Science & Technology*, 2023, 136(10): 54-64.