

掺杂钠硅磷灰石水泥多孔支架用于骨缺损再生修复

曹烈虎, 禹宝庆, 伍国胜, 苏佳灿

(上海市第二军医大学 附属长海医院, 骨科, 上海 200433)

摘 要: 采用磷酸四钙和磷酸氢钙为磷灰石水泥(AC)粉末, 5wt%硅酸钠水溶液为固化液, 氯化钠为致孔剂, 制备了掺杂钠元素的硅磷灰石水泥(s-AC)多孔支架用于骨缺损再生修复。结果显示: s-AC 多孔支架的成分为含钠硅元素的磷灰石, 支架大孔之间互相贯通, 孔径在 200~600 μm , 孔隙率在 58%~75%, 抗压强度在 1.6~3.8MPa 的范围内。与 AC 相比, 掺杂一定量的钠硅元素提高了 s-AC 支架在 Tris-HCl 溶液中的降解性。将 s-AC 多孔支架植入兔股骨缺损处, 组织学分析结果显示: 新生骨在支架材料的表面直接形成, 并长入其中, 相互贯通的多孔支架促进了新骨长入其内部。结果表明: s-AC 支架具有优良的生物相容性、降解性和成骨性, 将是一种优良的骨修复生物材料。

关 键 词: 钠硅磷灰石; 水泥多孔支架; 生物相容性; 降解; 成骨

中图分类号: TQ455

文献标识码: A

Study on Adulterate Sodium Silica Apatite Cement Porous Scaffolds for Bone Defect Repair

CAO Lie-Hui, YU Bao-Qing, WU Guo-Sheng, SU Jia-Can

(Department of Orthopaedics, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

Abstract: Adulterate sodium silicon apatite cement (s-AC) porous scaffolds for bone repair were prepared by using the mixed powders of tetracalcium phosphate and dicalcium phosphate anhydrous, 5wt% sodium silicate water-solution as cement liquid, and NaCl particles as progens. The result shows that the composition of the s-AC scaffolds is sodium silicon apatite. The macroporous sizes of the scaffolds were in the range from 200 μm to 600 μm , the porosity of the scaffolds is from 58% to 75%, and the macropores were interconnected with each other. The compressive strength of the s-AC scaffolds is from 1.6MPa to 3.8MPa, and the degradability of sodium silicon doped s-AC scaffolds improves significantly as compared with AC in Tris-HCl solution. When the s-AC scaffolds are implanted in femur bone defect of rabbits, the histological analysis results show that the new bone tissue is formed on the surfaces and ingrew into the interior of the scaffolds, the well interconnected macropores promoted the bone tissue ingrowth into the scaffolds. In conclusion, the s-AC scaffolds exhibit good biocompatibility, degradability and osteogenesis *in vivo*, which will be a good biomaterial for bone repair.

Key words: sodium silicon apatite; cement porous scaffold; biocompatibility; degradation; osteogenesis

硅作为人体中的微量元素, 在骨骼的形成过程中起到重要作用^[1-2]。硅存在于新骨生长的活跃区域, 并且对骨的新陈代谢有着显著的作用^[3]。一般认为, 硅元素在骨骼、牙齿和无脊椎动物的骨架等生物组织的生长与发育阶段是必需的^[4]。对生物玻璃和

A-W 生物玻璃陶瓷的研究也表明: 含硅生物材料具有优良的生物活性。因此, 掺杂硅的生物活性材料由于其特殊的生物功能而受到人们的广泛重视^[5-7]。

一些含硅生物活性材料如生物玻璃、生物玻璃陶瓷和硅酸钙等在体内外都具有好的诱导磷灰石形

收稿日期: 2010-08-23; 收到修改稿日期: 2010-10-15

基金项目: 上海市科委纳米专项基金(0852nm04300); 上海市人事局人才发展基金(2009003); 中国博士后科学基金(20100470756) Shanghai Special Foundation of Nano Science and Technology Commission (0852nm04300); Shanghai Personnel Bureau Talent Development Foundation (2009003); Postdoctoral Science Foundation of China (20100470756)

作者简介: 曹烈虎(1982-), 男, 硕士, 主治医师. E-mail: caoliehu@126.com

通讯作者: 苏佳灿, 副教授. E-mail: trauma8888@yahoo.com.cn

成能力^[8-9]。随着对生物活性玻璃表面磷灰石层形成机理研究的不断深入,人们发现硅对生物活性材料诱导磷灰石沉积发挥了重要作用^[10-11]。用分子细胞生物学技术对硅基生物材料的体外细胞反应的研究结果表明:某些生物活性玻璃在体外细胞培养液中的溶解产物(硅离子)能激活成骨细胞中与新骨形成相关的某些基因,从而揭示了这类硅基生物活性材料在体内促进新骨形成的原因^[12]。研究表明:硅基生物活性材料在体内降解后释放的硅离子迅速进入了血液,随着血液循环参与机体的新陈代谢,除一部分沉积到骨组织中形成新骨;材料中溶出的大部分硅离子主要通过尿液排出,且其溶出速度远低于体内硅离子的清除速度,因此硅不会在体内产生任何聚积^[13-14]。

多孔支架是骨修复和组织工程的关键技术之一,如何制备相互贯通的多孔支架,使之有利于细胞/组织长入,在理论和临床实践上都有十分重要的意义^[15]。本研究以磷灰石水泥粉末为原料,硅酸钠水溶液为固化液,采用氯化钠颗粒浸出方式制备出具有合适的孔径和孔隙率,孔与孔之间相互连通的多孔水泥支架材料,并通过动物体内植入实验研究该支架材料的生物学性能。

1 材料和方法

1.1 钠硅磷灰石多孔支架的制备

磷灰石水泥粉末由等摩尔的磷酸四钙(TECP)和磷酸氢钙(DCPA)组成,水泥的固化液为含5wt%硅酸钠的水溶液。TECP和DCPA的制备方法见文献^[16]。用NaCl晶体作为制孔剂,将其筛分为200~600 μm 的颗粒备用。将磷灰石水泥粉末、氯化钠晶体和固化液按一定比例放入调盘内调和均匀,把调和好的浆体填入到 $\phi 12\text{mm} \times 10\text{mm}$ 的不锈钢模具中,在压片机上用约2MPa的压力挤压成型,并保压1min后脱模。

将脱模后的样品放入37℃,100%湿度环境中固化3d,取出样品。先将样品置于去离子水中浸泡48h,每隔12h换一次去离子水,让氯化钠颗粒完全溶出,得到多孔支架材料。再将样品浸在0.2mol/L稀盐酸中,并放入超声清洗机中超声15min,这样可将未连通的孔壁贯通。取出样品用去离子水冲洗除去残余的盐酸,最后将样品浸渍在无水乙醇中,用乙醇脱水后把样品置于50℃烘箱中干燥1h左右,取出可得到多孔支架材料。用同样的方法制备磷灰石水泥多孔支架为对照样(磷灰石水泥粉末也是由

等摩尔的TECP和DCPA组成,固化液为蒸馏水)。

1.2 多孔支架材料的表征

将钠硅磷灰石水泥(s-AC)多孔支架材料用导电胶布粘结在铜质样品台上,于真空条件下,在样品表面喷覆一层可以用来导电的金,用扫描电镜(SEM)观察s-AC多孔支架材料的微观结构和形貌,用能谱仪(EDS)测试支架材料所含的元素及含量。多孔支架材料样品用玛瑙研钵粉碎成粉末,然后置于80℃干燥箱内干燥。将粉末样品用“压片法”制成样片,用转靶X射线多晶衍射仪(XRD)分析材料物相。

采用排乙醇法测定s-AC多孔支架材料的孔隙率。首先称得充满无水乙醇(至刻度线)的比重瓶重 W_1 ,其次称得干燥样品的重 W_0 ,然后将样条放入比重瓶内浸没于乙醇中,用1mL注射器将溢出刻度线的无水乙醇吸出后,称量比重瓶重 W_2 ,最后称量取出样条后的比重瓶重 W_3 。每组数据由至少3个平行实验得到。将制备好的多孔支架材料($\phi 10\text{mm} \times 12\text{mm}$)两端用细砂纸磨至水平,用材料力学性能万能实验机测量其抗压强度,施加载荷速度为1mm/min,最大压力2000N,每组数据由至少3个平行实验得到。

1.3 体外降解实验

多孔支架材料的降解性能是通过考察样品在Tris-HCl溶液中浸泡的质量损失率与浸泡时间的关系来表征的。将多孔支架材料实验样品与Tris-HCl缓冲溶液按照0.1g/20mL的比例放入聚乙烯塑料瓶中,在37℃的数控恒温振荡箱内以2Hz的频率振荡,每周更换一次新鲜的降解液。经过一定时间后取出样品,在120℃的真空干燥箱内干燥至恒重,称取并记录质量。每组数据由3个平行实验所得。

1.4 动物体内植入实验

将s-AC多孔支架材料样品($\phi 6\text{mm} \times 5\text{mm}$)用环氧己烷熏蒸消毒,密封保存备用。实验动物采用新西兰大白兔,雌雄不限,体重为3kg左右,由上海中医药大学动物实验中心提供饲养。将大白兔按俯卧位固定于兔子固定器中,3%戊巴比妥钠生理盐水溶液按体重1mL/kg剂量经耳缘静脉注射麻醉。无菌操作下,切开右股骨外髁处皮肤和皮下组织,切开深筋膜,暴露股骨外髁。以骨科钻孔器从外向内钻孔,造成 $\phi 6\text{mm} \times 5\text{mm}$ 的骨洞,无菌生理盐水冲洗至无骨屑残留,湿纱布填塞止血后,将多孔支架材料样品植入骨缺损洞中,逐层紧密缝合,以抗生素软膏涂抹伤口,手术完毕。术后连续3d注射抗生素青霉素8万单位,将大白兔置于相同条件下饲养,下肢活动不受限制。

分别于术后4、8和12w,在耳缘静脉注射空气

处死动物, 取出标本, 剔除肌肉等软组织, 用福尔马林浸泡后, 于 4℃冰箱中保存备用. 组织切片用 HE 染色, 用倒置显微镜观察, 研究多孔支架材料在体内降解和新骨生成等情况. 在每个时间点, 随机取 3 张组织切片, 用 Image Pro Plus 图像分析系统分析材料降解和新骨形成量. 以新生骨的面积百分比来表示新生骨生成量水平, 根据以下公式计算: 新生骨面积百分比 = 新生骨面积 / 骨缺损面积 × 100%. 采用 SPSS 统计软件处理数据, 所有数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示.

2 结果和讨论

2.1 多孔支架材料的形貌和力学性能

图 1 是 s-AC 多孔支架材料的照片和 SEM 照片, 由图可见, 不规则的大孔分布在支架中, 大孔之间相互连通, 大孔直径在 200~600 μm 的范围内, 大孔的孔壁厚约在 100 μm 左右. 连通的大孔有利于骨细胞/组织长入多孔支架材料的内部, 也有利于骨细胞/组织生长所需的营养物质的运输, 以及支架血管化的形成.

实验采用食盐颗粒溶出法制备了 s-AC 多孔支架材料, 通过改变致孔剂的含量, 制备了不同孔隙率的多孔支架材料. 如表 1 表明: 随着 NaCl 用量的增加, 多孔支架材料的孔隙率增大, 但是多孔支架材料的抗压强度降低. 本研究选用 $w(\text{s-AC})/w(\text{NaCl})=1/2$ 的多孔支架为本实验样品(图 1 中的样品).

2.2 支架材料的 XRD 和 EDS 分析

从 s-AC 和 AC 多孔支架材料的粉末 XRD 图谱

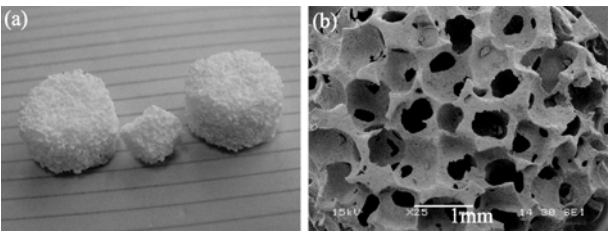


图 1 s-AC 多孔支架材料的(a)照片和(b)SEM 照片
Fig. 1 (a) Photo and (b) SEM image of s-AC porous scaffolds

表 1 食盐的用量对多孔支架的孔隙率和抗压强度的影响
Table 1 Effects of quantity of NaCl on porosity and compressive strength of scaffolds

Specimens	$w(\text{s-AC})/w(\text{NaCl})$	Porosity /%	Compressive strength /MPa
1	1.0:2.0	75.0 ± 2.3	1.6 ± 0.2
2	1.0:1.7	66.0 ± 1.9	2.1 ± 0.3
3	1.0:1.4	61.0 ± 1.6	2.7 ± 0.2
4	1.0:1.0	58.0 ± 2.1	3.8 ± 0.4

(见图 2). 可以看出, s-AC 与 AC 多孔支架的 XRD 很相似, 在 23°、24°、25.5°、26°、29°、30°、32°、32.5° 和 34° 的位置上都有其特征峰, 表明这两种多孔支架材料都由磷灰石物相组成, AC 水化反应的最终产物是羟基磷灰石, 而本实验制备的 s-AC 的最终水化产物也是磷灰石结构. XRD 结果说明以纯水和硅酸钠水溶液(5wt%)为固化液对磷灰石骨水泥最终产物的物相没有明显影响.

s-AC 多孔支架材料的 EDS 图谱见图 3, 由图可见: s-AC 支架材料不仅含有钙和磷元素, 而且还含有一定量的钠和硅元素. EDS 元素含量测试结果显示: 钠元素的含量为 1.83wt%, 硅元素的含量为 4.79wt%. 由于制备 s-AC 多孔支架材料时, 支架在水中浸泡了很长时间(2d), 并经过 4 次换水, 所以凡是支架材料上能溶解到水中的可溶物基本都溶解到水中, 这样可以排除钠、硅元素吸附在支架材料的表面. 由此可以初步判断: 一定含量的钠和硅元素进入磷灰石的晶体结构, 形成了含钠硅的磷灰石. 与纯磷灰石相比, 杂质掺杂的磷灰石在晶体结构上有一定的缺陷, 从而使材料性能发生一些变化, 如溶解性提高^[17].

2.3 材料的降解性能

材料的体外降解性能可通过其在特定的溶液中

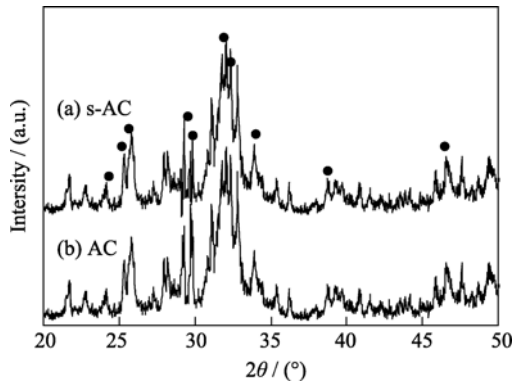


图 2 多孔支架材料的 XRD 图谱
Fig. 2 XRD patterns of porous scaffolds

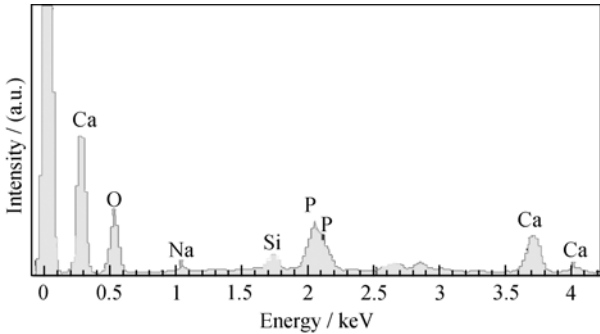


图 3 s-AC 多孔支架材料的 EDS 图谱
Fig. 3 EDS pattern of s-AC porous scaffold

浸泡后的质量损失率(溶解性能)来表征. 一般来说, 材料的溶解性能越好, 在体内降解得就越快. 图 4 是 s-AC 和 AC 支架在 Tris-HCl 缓冲溶液中浸泡 90d 的质量损失率曲线, 从图中可以看出: 随着时间延长, s-AC 支架材料的质量损失率不断增加, 表明材料在溶液随时间而发生明显降解. s-AC 支架在溶液中浸泡 90d 后, 其质量损失率高达 49.2wt%, 而对照 AC 支架的质量损失率为 31.4wt%, 表明 s-AC 支架的降解性能比 AC 好. 由于 AC 水化反应的最终产物是羟基磷灰石, 羟基磷灰石的溶解度低, 所以 AC 在溶液中降解慢. 与纯羟基磷灰石相比, 钠硅磷灰石引入了杂质元素, 这些杂质元素进入羟基磷灰石晶格, 使原来的晶体产生一些缺陷, 也降低了羟基磷灰石的结晶度, 从而使材料的溶解性得到了一些提高, 使其在溶液中降解加快^[18]. 另一方面, 从材料的生物学性能来说, 在磷灰石中引入钠、硅元素, 可能会赋予材料一定的生物学功能, 如生物玻璃的溶解产物(硅离子)能激活成骨细胞中与新骨形成相关的某些基因, 从而促进新骨快速形成^[19].

2.4 动物体内植入实验

2.4.1 实验样品宏观观察

在取材时, 所有动物均未发现局部组织红肿或分泌物, 植入材料处未见异常组织增生. 未发现植入材料毒性和异物反应, 伤口愈合正常, 未出现伤口感染、材料脱出和组织坏死等情况. 植入 4w 后, s-AC 支架与周围骨质界限不清楚(图 5(a)); 植入 8w 后, 骨缺损面积较 4w 时显著减小, s-AC 支架的尾端已被新生骨覆盖; 植入 12w 后, s-AC 支架已基本降解, 骨缺损部位几乎完全为新生骨填充, 骨缺损愈合良好(图 5(b)).

2.4.2 组织学切片分析

图 6 是 HE 染色组织切片, s-AC 多孔支架材料

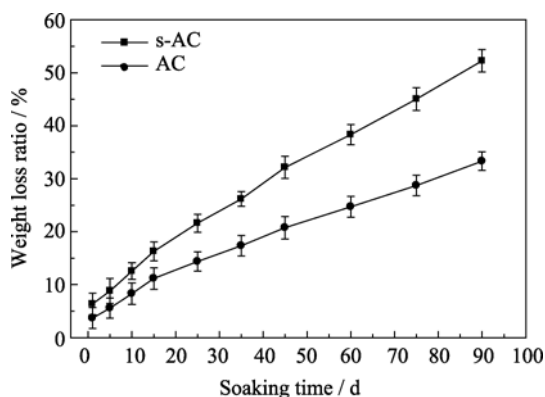


图 4 s-AC 和 AC 支架在 Tris-HCl 溶液中随着时间而发生的质量损失率

Fig. 4 Mass loss ratio of s-AC and AC scaffolds immersing in Tris-HCl solution with time

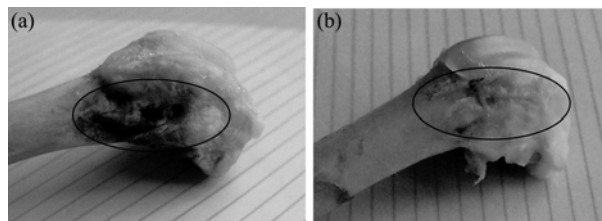


图 5 s-AC 支架植入兔股骨缺损(a)4 和(b)12w 的宏观照片
Fig. 5 Photos of s-AC scaffolds implanted into bone defects of rabbits for 4 and 12 w
Circle shows the implanted scaffold materials

植入 4w 后(图 6(b)), 可见多孔支架材料仍然存在. 在材料和组织界面处, 多孔支架材料已经被新生的骨组织分割和包埋. 在材料和组织的界面可以观察到新生的骨组织, 在材料的中间也可以看到有新生的骨组织. 材料植入 8w 后(图 6(b)), 多孔支架材料大部分降解, 新生骨组织沿材料降解的空隙长入了多孔支架材料的内部. 植入 12w 后(图 6(c)), 多孔支架材料已基本完全降解, 仅能观察到材料的残余, 骨组织表现出正常结构, 代替了植入材料. 而对照样品 AC 多孔支架材料植入 12w 后(图 6(d)), 多孔支架材料仍明显存在. 在材料和组织界面处, 多孔支架材料和新生的骨组织直接接触, 表明材料生物相容性好, 但降解不是很明显, 说明该材料在体内降解较慢.

生物活性多孔支架材料植入骨缺损时(如松质骨), 随着骨组织长入支架的多孔中, 材料在细胞和体液等的作用下发生了降解, 这种降解既包括物理化学降解, 也包括细胞调制的生物学降解, 细胞吸收无机矿物离子如钙磷离子等, 矿化成新骨组织. 由于骨缺损填充对材料强度的要求不高, 而且随着骨组织的长入, 增加了支架材料的强度, 减缓了由于材料降解而发生的力学强度降低, 因此材料降解对整个骨修复过程没有影响^[20-21].

s-AC 多孔支架材料植入兔股骨缺损不同时间成骨量分析结果如图 7 所示, 结果表明: 新生骨组织量随着植入时间增加而增加, 材料植入 4w 后, 新生的骨组织约 13%, 随着支架材料的降解, 植入 8w 后, 新骨组织已经达到了 43%以上, 植入 12w 后, 新生骨组织超过了 67%, 这说明多孔支架材料生物相容性好, 可以引导骨组织向支架内部生长. 随着多孔支架材料的降解和吸收, 新组织增长迅速, 修复了骨缺损, 特别是在 4~12w 之间, 组织生长幅度很大, 说明骨组织在这时期生长旺盛, 材料被组织分割包埋, 材料降解速度加快, 组织替代材料的速度随之也增大. AC 对照样在初期成骨与 s-AC 支架

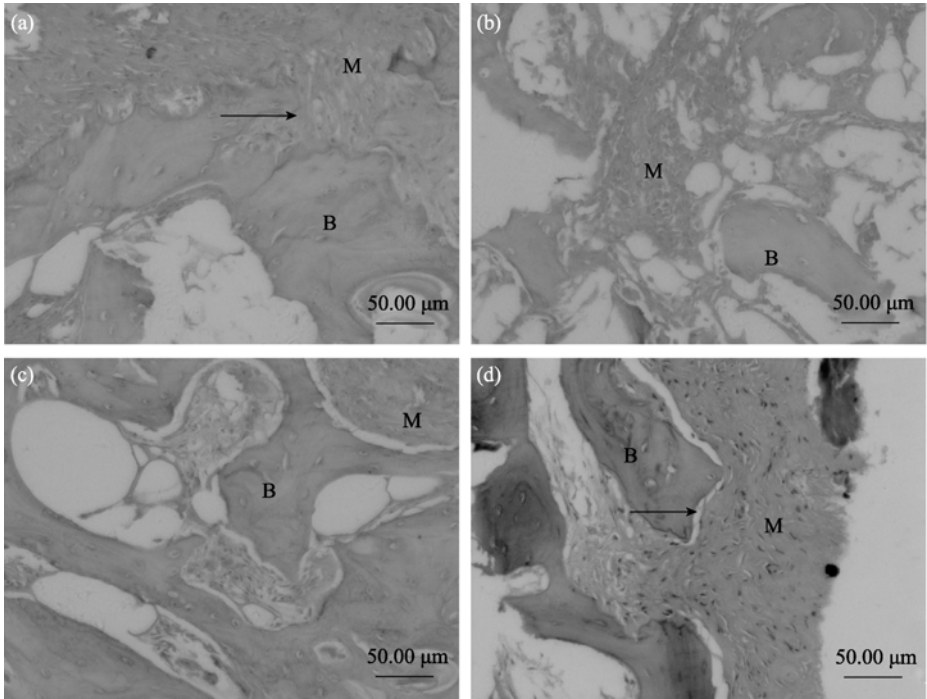


图 6 s-AC 支架植入兔股骨缺损(a)4, (b)8 和(c)12w 的组织学照片(H&E 染色), (d)AC 支架植入 12w 为对照样
Fig. 6 Histological section (H&E) of s-AC scaffolds implantated into bone defects of rabbit femora for (a) 4, (b)8 and (c) 12w, and (d) AC scaffolds as a control implanted for 12w
B represents the new bone tissue, M represents materials, and arrow represents the interface between new bone tissue and materials

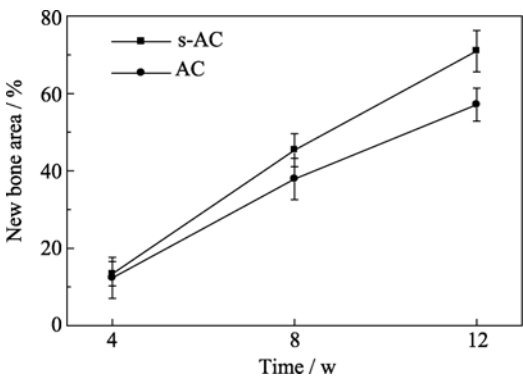


图 7 s-AC 支架植入兔股骨缺损不同时间的成骨量分析
Fig. 7 Quantitative analysis of the bone defect area replaced by new bone after s-AC scaffolds implanted for different times

没有明显的区别, 但 12w 后, 其成骨量只有 54%。结果表明: s-AC 支架多孔支架材料具有良好的生物相容性和成骨性。

3 结论

采用氯化钠颗粒、磷灰石水泥粉末和 5 wt% 硅酸钠水溶液制备了大孔之间互相贯通的掺杂钠硅元素的磷灰石水泥多孔支架。s-AC 支架的大孔孔径在

200~600 μm , 孔隙率在 58%~75% 的范围内, 氯化钠的用量对支架的孔隙率和抗压强度有明显的影 响。体外降解实验显示: 掺杂一定量的钠硅元素提高了 s-AC 在 Tris-HCl 溶液中的降解性。兔股骨缺损植入 s-AC 支架的组织学分析表明, s-AC 支架具有很好的降解性, 材料逐渐被吸收, 并最终被新生骨组织所替代。研究结果表明: 在生物相容性优良的常规磷灰石水泥材料中掺杂一定量的钠硅元素, 可以提高材料的生物学性能(如降解性和成骨性)。

参考文献:

- [1] Xu Songfeng, Lin Kaili, Chang Jiang, *et al.* Reconstruction of calvarial defect of rabbits using porous calcium silicate bioactive ceramics. *Biomaterials*, 2008, **29**(17): 2588–2596.
- [2] 许宋锋, 胡蕴玉, 林开利, 等(XU Song-Feng, *et al.*). 多孔硅酸钙生物陶瓷体内非骨性环境的植入研究. 无机材料学报 (*Journal of Inorganic Materials*), 2008, **23**(3): 611–616.
- [3] Liu Xuanyong, Ding Chuanxian, Chu Paul K. Mechanism of apatite formation on wollastonite coatings in simulated body fluids. *Biomaterials*, 2004, **25**(10): 1755–1761.
- [4] Zreiqat Hala, Ramaswamy Yogambha, Wu Chengtie, *et al.* The incorporation of strontium and zinc into a calcium-silicon ceramic for bone tissue engineering. *Biomaterials*, 2010, **31**(12): 2588–2596.

- 3175–3184.
- [5] Gao Yuan, Chang Jiang. Surface modification of bioactive glasses and preparation of PDLLA/ bioactive glass composite films. *J. Biomater. Appl.*, 2009, **24(2)**: 119–138.
- [6] 杨 艳, 颜世峰, 李孝秀, 等(YANG Yan, *et al*). 聚 L-乳酸/二氧化硅纳米复合材料及其表面诱导生成类骨磷灰石的制备. 高等学校化学学报(Chemical Journal in Chinese Universities), 2008, **29(11)**: 2294–2298.
- [7] 肖 斌, 周大利, 杨为中, 等(XIAO Bin, *et al*). 磷灰石-硅灰石/ β -磷酸三钙复合多孔支架材料的制备和表征. 无机材料学报(Journal of Inorganic Materials), 2006, **21(2)**: 427–432.
- [8] Huan Zhiguang, Chang Jiang. Calcium-phosphate-silicate composite bone cement: Self-setting properties and *in vitro* bioactivity. *J. Mater. Sci.: Mater. Med.*, 2009, **20(4)**: 833–841.
- [9] 李青林, 杨 帮(LI Qing-Lin, *et al*). 成添加磷酸氢钙对硅酸三钙骨水泥性能的影响. 无机化学学报(Chinese Journal of Inorganic Chemistry), 2010, **5**: 879–884.
- [10] Ni Siyu, Chang Jiang. *In vitro* degradation, bioactivity, and cytocompatibility of calcium silicate, dimagnesium silicate, and tricalcium phosphate bioceramics. *J. Biomater. Appl.*, 2009, **24(2)**: 139–158.
- [11] 林开利, 秦 超, 倪似愚, 等(LIN Kai-Li, *et al*). 采用超细粉体和放电等离子烧结技术制备透明 β -磷酸三钙生物陶瓷的研究. 无机材料学报(Journal of Inorganic Materials), 2006, **21(3)**: 645–650.
- [12] 钟吉品, 刘宣勇, 常 江(ZHONG Ji-Pin, *et al*). 激活基因的玻璃. 无机材料学报(Journal of Inorganic Materials), 2002, **17(5)**: 897–909.
- [13] William Lai, Jonathan Garino, Paul Ducheyne, *et al*. Silicon excretion from bioactive glass implanted in rabbit bone. *Biomaterials*, 2002, **23(1)**: 213–217.
- [14] Shula Radin, Sylvie Falaize, Paul Ducheyne. *In vitro* bioactivity and degradation behavior of silica xerogels intended as controlled release materials. *Biomaterials*, 2002, **23**: 3113–3122.
- [15] Yoshikawa Hideki, Tamai Noriyuki, Murase Tsuyoshi, *et al*. Inter-connected porous hydroxyapatite ceramics for bone tissue engineering. *J. R. Soc. Interface*, 2009, **6(3)**: 341–348.
- [16] Liu Changsheng, Cai Wei, Pan Songhua, *et al*. The exothermal behavior in the hydration process of calcium phosphate cement. *Biomaterials*, 2003, **24(18)**: 2995–3003.
- [17] Brown Roger F, Rahaman Morhamed N, Dwilewica Agatha B, *et al*. Effect of borate glass composition on its conversion to hydroxyapatite and on the proliferation of MC3T3-E1 cells. *J. Biomed. Mater. Res. A*, 2009, **88(2)**: 392–400.
- [18] Bianco Alessandra, Cacciotti Ilaria, Lombardi Mariangela, *et al*. Si-substituted hydroxyapatite nanopowders: synthesis, thermal stability and sinterability. *Mater. Res. Bull.*, 2009, **44(2)**: 345–354.
- [19] Wei Jie, Chen Fangping, Shin Jungwoog, *et al*. Preparation and characterization of bioactive mesoporous wollastonite/PCL composite scaffold. *Biomaterials*, 2009, **30(6)**: 1080–1088.
- [20] 赵晓兵, 刘宣勇, 陈志刚, 等(ZHAO Xiao-Bin, *et al*). 等离子体喷涂氧化钛涂层的生物活性研究. 无机材料学报(Journal of Inorganic Materials), 2008, **23(5)**: 1021–1026.
- [21] Wei Jie, Jia Junfeng, Wu Fan, *et al*. Hierarchically microporous/macroporous scaffold of magnesium-calcium phosphate for bone tissue regeneration. *Biomaterials*, 2010, **31(6)**: 1260–1269.