复合材料学报
Acta Materiae Compositae Sinica
第 28 卷 第 1 期 2 月 2011 年
Vol. 28 No. 1 February 2011

文章编号：1000-3851(2011)01-0099-05

新型骨-软骨一体化修复支架材料的制备

任 力*[1,2]，季培红[1,2]，黄志芳[1,2]，王迎军[1,2]

(1. 华南理工大学 特种功能材料教育部重点实验室，广州 510640；2. 华南理工大学 材料科学与工程学院，广州 510640)

摘 要： 利用可降解聚合物微球的相互粘结制备了一种新型的组织工程支架材料，可用于软骨和软骨下骨损伤的修复。采用光学显微镜、扫描电镜对支架的表面形貌、内部结构进行了表征，同时研究了支架材料的力学性能，此外还研究了微球的粒径对支架材料孔隙率的影响。结果显示，该材料在结构上分为乳酸-羟基乙酸共聚物(PLGA)层和 PLGA/生物活性玻璃(BG)层；材料的孔隙三维连通、分布均匀；采用粒径为 150～200 μm 微球所制备的支架孔隙率为(53.37±4.39)%，在 10%的应变下材料压缩强度便已达到了 0.9 MPa，显示了较强的力学性能；随着微球粒径的变小，材料孔隙率逐渐增大。这种微球支架在骨-软骨组织缺损修复方面有着很大的研究价值和应用价值。

关键词： 软骨；微球；支架；PLGA；生物活性玻璃

中图分类号： TB332 **文献标志码：** A

Novel biodegradable scaffolds for bone and cartilage repair

REN Li*[1,2], JI Peihong[1,2], HUANG Zhifang[1,2], WANG Yingjun[1,2]

(1. Key Laboratory of Specially Functional Materials, South China University of Technology, Ministry of Education, Guangzhou 510640, China;
2. School of Materials Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: A novel biodegradable scaffold was prepared by utilizing polymer microspheres as the building blocks for scaffold formation. This saffold can be used for cartilage and bone repair. Optical microscope, SEM method were used to investigate the inside and the surface characteristics of the scaffold. The mechanical performance and the porosity of the scaffold were also tested. Results show that this scaffold consists of two distinct yet continuous phases, one is composed by poly(L, D-lactic-co-glycolic acid) (PLGA) microspheres, the other is composed by PLGA/Bioglass(BG) microspheres; the composite scaffolds have 3-D interconnective porous structure. The data of porosity also indicate that the porosity is independent of microsphere diameter in the range of diameters examined. Porosity is (53.37±4.39)% when the size of microspheres is between 150 μm and 200 μm and the compressive stress is 0.9 MPa when compressive strain is 10%. With the decrease of the microspheres size, the porosity of the scaffold gradually increases. This scaffold shows potential as polymeric substitutes for bone and cartilage repair.

Keywords: osteochondral; microsphere; scaffold; PLGA; bioglass

创伤、炎症等原因导致关节软骨损伤或缺损是临床中常见的病例。但是成年关节软骨的修复能力非常差，若得不到治疗，损伤常常发展为退行性关节炎甚至导致整个关节功能的丧失。同时关节软骨的损伤往往并发软骨下骨的损伤，而目前骨-软骨损伤的治疗存在着一定的困难[1]。运用组织工程原理，构建骨-软骨一体化组织工程支架可有效地解决这一问题[2-3]。乳酸与羟基乙酸的共聚物(Poly(L, D-lactic-co-glycolic acid), PLGA)是一种人工合成材料，具有良好的生物相容性、可降解性和细胞亲和性，同时降解率可以人为地控制，是目前软骨组织工程中研究比较深入的材料[4-6]，由其构建的支架植入体内被降解吸收的同时可以诱导软骨组织的生成[3]。$CaO-P_2O_5-SiO_2$ 系统溶胶凝胶生物

收到初稿日期： 2010-01-26；**收到修改稿日期：** 2010-04-29

基金项目： 国家自然科学基金(50732003，50803018，50830101)；国家科技支撑计划(2006BAI16B06，2006BA116B04)；国家 973 项目(2005CB623902)；广东省自然科学基金(04205786)

通讯作者： 任 力，博士，副教授，硕士研究生导师，主要从事生物医用高分子材料、复合材料的研究 E-mail：psliren@scut.edu.cn

活性玻璃(Sol－gel bioglass，BG)具有生物活性高，与骨和软骨都有良好的键合等优点，它能够在植入部位迅速发生一系列表面反应，最终形成与骨和软组织良好结合的碳酸盐羟基磷灰石层。同时，生物活性玻璃还具有显著的细胞、基因激活作用，有研究表明，它能通过对那些调节诱发细胞周期开始和进程的基因的直接控制，加强其骨形成和促进作用[7-9]。

将微球紧密堆积并粘结起来制备支架材料是组织工程中比较常见的加工方法，这种支架通常具有较好的孔连通性和较强的力学性能[10]。Borden 等利用 PLGA 微球的相互粘结制备了一种新型的支架材料，该支架具有可控的孔径和孔隙率，并且具有较好的骨诱导能力[11]。

研究中采用溶剂挥发法制备了 PLGA 和 PLGA/BG 微球，将这 2 种微球分别放入模具的上层和下层。通过热成型工艺将其粘结在一起，制备出两层的支架材料，其中 PLGA 层用于修复软骨，PLGA/BG 层用于软骨下骨的修复。

1　实验部分

1.1　试　剂

生物玻璃(58S)利用溶胶凝胶法制得，粒度为 53 μm 以下；聚乙烯醇(PVA)，广州天马精细化工厂，水解度 97%以上；二氯甲烷(CH_2Cl_2)，天津市红岩化学试剂厂，分析纯；PLGA(PLA 与 PGA 的摩尔比为 50/50)，济南健宝开元生物有限公司，分子量 30000。

1.2　微球的制备

根据文献[2]方法制备，首先将 1 g PLGA 加入到 10 mL 的 CH_2Cl_2 中配成溶液，然后倒入500 mL 质量浓度为 1 wt% PVA 溶液中，搅拌 8 h，待溶剂完全挥发后收集生成的微球，用去离子水反复冲洗 3 遍后再冷冻干燥，得到 PLGA 微球。将 1 g PLGA加入到 10 mL 的 CH_2Cl_2 中配成溶液，然后向其中加入 BG，使 BG 与溶液中 PLGA 的质量比为 3∶10，接着将其倒入质量浓度为 1 wt%的 PVA 溶液中，搅拌 8 h 至溶剂完全挥发，用去离子水反复冲洗所得的微球并冷冻干燥，得到 PLGA/BG 微球。

1.3　支架的制备

将制得的微球分别用不锈钢标准筛筛选出粒径为 150～400 μm 的微球。首先称取一定量的 PLGA 微球倒入内径为 8 mm 的圆柱形聚四氟乙烯模具中，再向其上加入 PLGA/BG 微球，轻敲模具使得两层厚度均为 2 mm。热成型一段时间，冷却后脱模得到微球支架。

1.4　测　试

用光学显微镜观察了微球支架的表观形貌。将样品喷金后用日本岛津公司的 JSW－6360LV 型扫描电子显微镜(SEM)对微球和支架进行了微观形貌观察。采用改进的重量法测量支架的孔隙率[12]。用万能材料力学试验机(AG－1 型，日本岛津公司)测定支架材料的力学性能，加载速度为 1 mm/min。

2　结果与分析

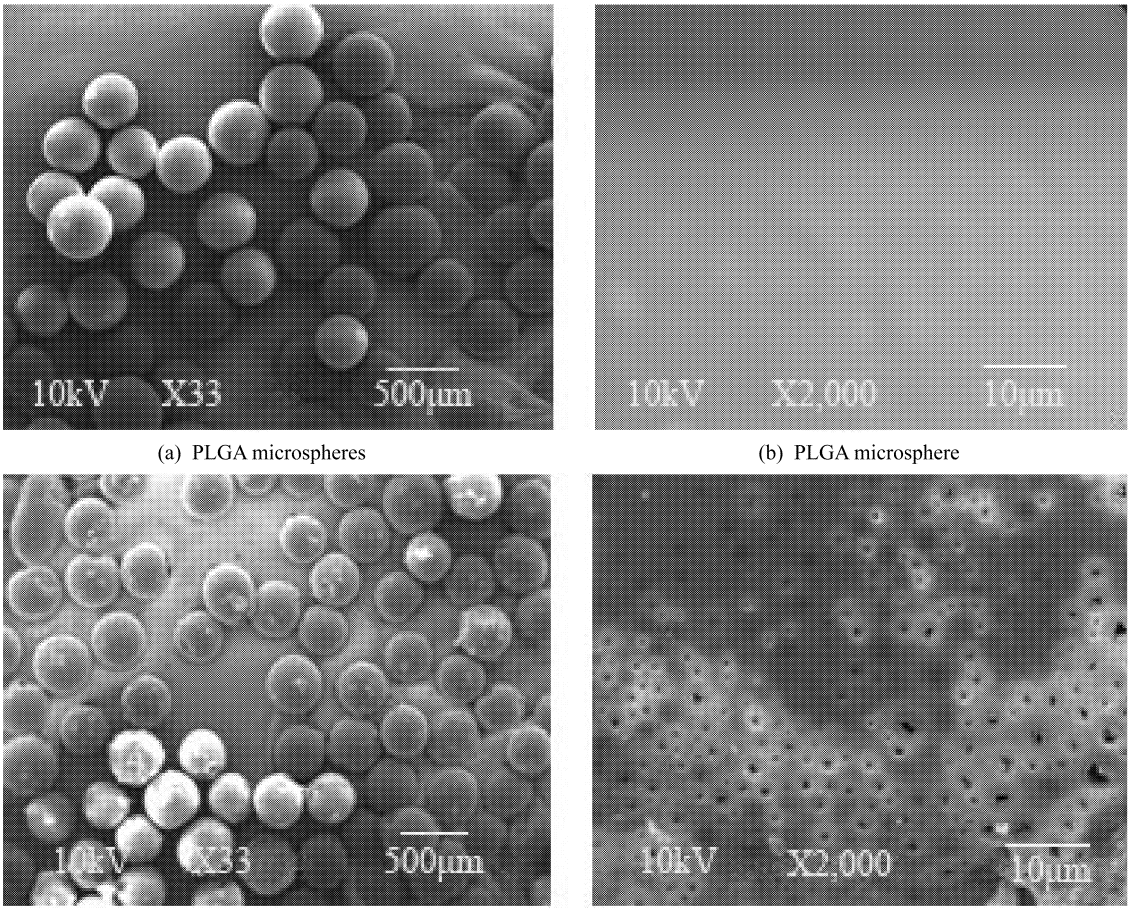
2.1　微球的粒径与形貌

图 1(a)和 1(c)分别为 PLGA 微球和 PLGA/BG 微球的 SEM。可以看出，微球均呈规则的球形，粒径在 150～400 μm 之间。由于球形的比表面积大，由规则的微球构建的支架的内比表面积要比不规则的微球支架的大，得到的孔隙率相对也会较高。图 1(b)和 1(d)分别是 PLGA 微球和 PLGA/BG 微球的局部放大图片。从图中可以看出 PLGA 微球表面非常光滑，而 PLGA/BG 微球表面则比较粗糙并且有大量的孔洞，这种孔洞可能是微球表面的 BG 粉体在清洗过程中被冲走而留下的。

2.2　微球支架材料的显微结构与形貌

图 2 是微球支架材料的光学显微图片。从图 2 中可以看出明显的层状结构，其中呈透明的上层是由 PLGA 微球所组成的，呈白色的下层是由 PLGA/BG 微球所组成的。可以看出在制备支架的过程中，支架外部的微球形貌并没有发生改变。微球支架的表面充斥着大量由微球界面的间隙构成的孔隙，这些孔隙保证了支架植入体内后细胞向支架内部的迁移，以及支架内外营养物质的交换。

图 3 是微球支架的扫描电镜图片。图 3(a)是支架横剖面的扫描电镜图片，由图 1 的分析可知，其中左半部分由光滑微球所组成的是 PLGA 层，右半部分由表面比较粗糙的微球所组成的是 PLGA/BG 层。从图 3(a)中可以看出支架内部的微球仍然保持了良好的球形，支架的孔隙都是贯通的。图 3(b)是 PLGA 微球层的放大图片。从图 3(b)中可以明显看出 PLGA 微球间相互粘结的界面，微球粘结面较小，同时每个微球都与其相邻的微球相互粘



(a) PLGA microspheres　(b) PLGA microsphere

(c) PLGA/BG microspheres　(d) PLGA/BG microsphere

图 1　PLGA 及 PLGA/BG 微球的 SEM 照片

Fig. 1　SEM micrographs of the PLGA and PLGA/BG microspheres

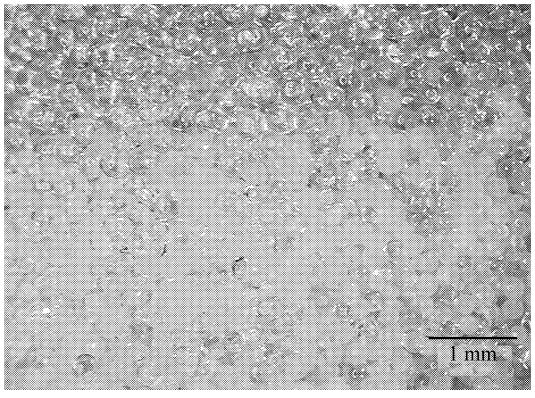
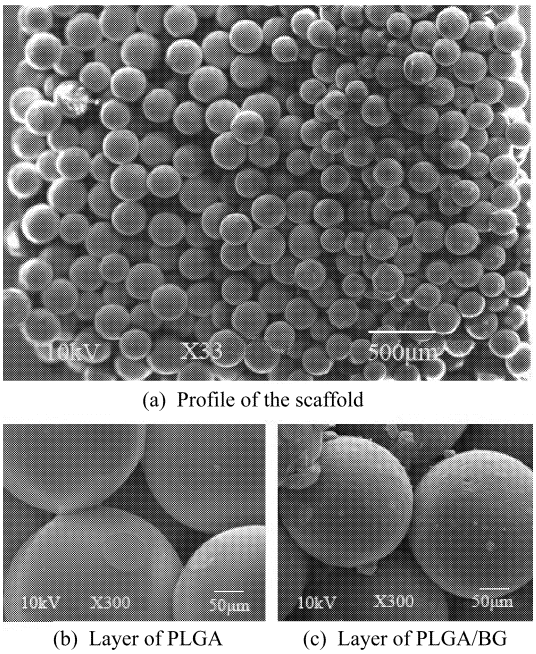


图 2　微球支架的光学显微图片

Fig. 2　Optical microscope image of the microsphere scaffold

结在一起，这样保证了支架在拥有相对较高的孔隙率的同时，在一定条件下不发生溃散。图 3(c)是 PLGA/BG 层的放大图片，从图中可以看出 PLGA/BG 微球紧密黏附在一起，微球间存在着一定的孔隙，这些孔隙的存在对于细胞的迁移和增殖具有重要的意义。



(a) Profile of the scaffold

(b) Layer of PLGA　(c) Layer of PLGA/BG

图 3　微球支架的扫描电镜图片

Fig. 3　Scanning electronic micrographs of the microsphere scaffold

2.3　微球支架材料的力学性能

骨组织工程支架材料在植入体内后，不仅要求在初始阶段具有良好的压缩强度，为缺损部位提供力学支撑，而且还要求材料具有一定的韧性，能够承受缺损部位力学环境的变化而不发生损坏[13]。制备微球支架的难点在于微球的粘结。如果微球粘结效果差，在承受一定的压缩应力后，微球就会分散开来，从而使支架材料发生破裂，而在应力-应变曲线图中也将显示出一个最大压缩强度。图 4 为 150～200 μm 微球制备出的支架的应力-应变曲线。从图中可看出，支架具有良好的柔韧性，随着应力增大，纯 PLGA 部分由于比较柔软产生了较大的形变，应变进一步增大，BG 部分产生了较大的抗压强度，在图中显示为应力迅速增大。在应力增大的过程中，支架没有发生脆性破坏，而是随着应变增大呈现指数形式增大，这种应力-应变关系与自然的软骨组织相类似。同时可看出在 10% 的应变下支架强度便已达到了 0.9 MPa，微球支架材料所表现出的这种良好的韧性和强度，对软骨以及软骨下骨组织工程构建和细胞的植入十分有利。

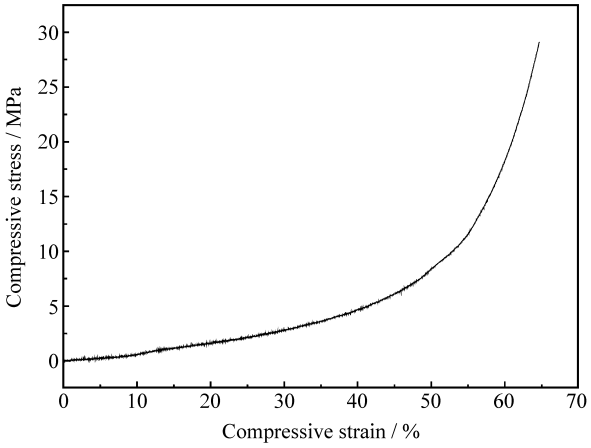


图 4　150～200 μm 微球制备的微球支架材料的应力-应变关系曲线

Fig. 4　Compressive stress vs compressive strain curve of the microsphere scaffold made by 150～200 μm microspheres

2.4　微球支架材料的孔隙率

组织工程的支架材料应具有较高的孔隙率，适于细胞的黏附和生长，细胞间的信号传导，养分传送，以及降解产物和新陈代谢产物的排出。图 5 是不同粒径微球制备得到的复合支架孔隙率，从图中可以看出，微球粒径为 150～200 μm 的复合支架材料，其孔隙率为(53.37±4.39)%；微球粒径为 200～300 μm 的复合支架材料，孔隙率为(49.58±2.27)%；微球粒径为 300～400 μm 的复合支架材料，孔隙率为(43.37±1.60)%。可见，随着粒径的减小，孔隙率增加。这是因为对于微球支架这样的微粒团聚体而言，微球间存在着团聚现象，微球粒径越小这种现象越明显，因此孔隙率随着粒径的变小而增大[14]。

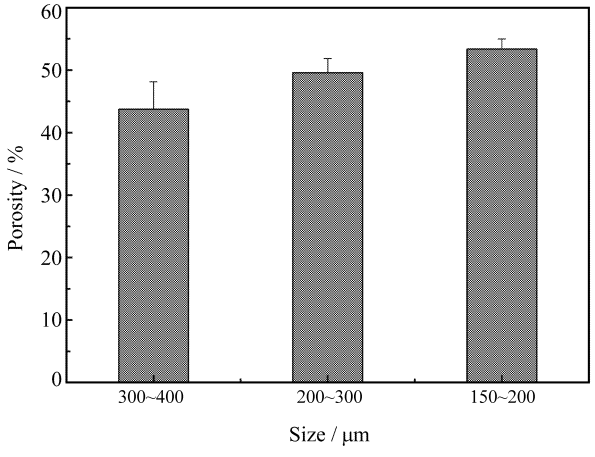


图 5　不同粒径微球制备的支架材料孔隙率

Fig. 5　Porosity of scaffolds made by different size microspheres

3　结　论

(1) 采用溶剂挥发法制备出了规则球形的 PLGA 微球和 PLGA/BG 微球，通过热成型工艺将其熔化后粘结形成了一种双层复合组织工程支架材料。

(2) 微球支架在结构上分为两层，其中 PLGA 层用于软骨的修复，PLGA/BG 层用于软骨下骨的修复。微球支架材料的孔隙相互贯通，每个微球都与其周边的微球相互紧密粘结。

(3) 微球支架的应力-应变曲线呈指数上升，150～200 μm 微球制得的支架在 10% 的应变下压缩强度便已达到了 0.9 MPa，表明其具有韧性的同时还保持了较强的力学性能。

(4) 微球粒径为 150～200 μm 的复合支架材料，孔隙率为(53.37±4.39)%。随着微球粒径的变小，支架的孔隙率逐渐增大。

参考文献：

[1]　牟元华. 新型一体化骨与软骨组织嵌层修复材料的设计与研制 [D]. 四川：四川大学，2006.

[2]　Spalazzi J P, Dagher E, Doty S B, et al. In vivo evaluation of a multiphased scaffold designed for orthopaedic interface tissue engineering and soft tissue-to-bone integration [J]. J Biomed Mater Res A, 2008, 86(1): 1-12.

[3] Cao Y L, Vacnati J P, Paige K T, et al. Transplantation of chondrocytes utilizing a polymer - cell construct to produce tissue - engineered cartilgae in the shape of a human ear [J]. Plast Reconstr Surg, 1997, 100(2): 297-302.

[4] Toshiharu Shin'oka, Goki Matsumura, Narutoshi Hibino, et al. Mid - term clinical results of tissue - enginered vascular autografts seeded with autologous bone marrow cells [J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 2005, 129(6): 1330-1338.

[5] 石宗利，王彦平，戴　刚，李重庵. CPP/PLLA 软骨组织工程支架复合材料初步研究 [J]. 复合材料学报，2002，19(6)：97-100.
Shi Zhongli, Wang Yanping, Dai Gang, Li Chong'an. CPP/PLLA composites of scaffolds for tissue engineering [J]. Acta Materiae Compositae Sinica, 2002, 19(6): 97-100.

[6] 谭红香，叶建东，董　浩. 可缓释药物的明胶/磷酸钙骨水泥复合组织工程支架材料 [J]. 复合材料学报，2008，25(6)：77-81.
Tan Hongxiang, Ye Jiandong, Dong Hao. Gelatin/calcium phosphate cement composite scaffold with drug release ability for bone tissue engineering [J]. Acta Materiae Compositae Sinica, 2002, 25(6): 77-81.

[7] Peitl O, Zanotto E D, Hench L L. Highly bioactive P_2O_3 - Na_2O-SiO_2 glass ceramics [J]. Journal of Non - Crystalline Solids [J]. 2001, 292(201): 115-126.

[8] Hench L L, Xynos I, Edgar A, 等. 激活基因的玻璃 [J]. 无机材料学报，2002，17(5)：897-909.
Hench L L, Xynos I, Edgar A, et al. Gene activating glasses [J]. Journal of Inorganic Materials, 2002, 17(5): 897-909.

[9] 任　力，王迎军，陈晓峰，赵营刚. 壳聚糖-明胶/APTES 改性生物活性玻璃复合支架的制备工艺 [J]. 复合材料学报，2009，26(4)：47-52.
Ren Li, Wang Yingjun, Chen Xiaofeng, Zhao Yinggang. Preparation of the porous scaffolds of chitosan-gelatin/APTES modified bioglass [J]. Acta Materiae Compositae Sinica, 2009, 26(4): 47-52.

[10] Laurencin C T, Ko F K, Attawia M A, Borden M D. Studies on the development of a tissue engineered matrix for bone regeneration [J]. Cells and Mater, 1998, 8(20): 175-181.

[11] Borden M, Attawia M, Laurencin C T. The sintered microsphere matrix for bone tissue engineering: In vitro osteoconductivity studies [J]. J Bone Miner Res, 2002, 61(3): 421-429.

[12] Ulman A. Formation and structure of self - assembled monolayers [J]. Chem Rev, 1996, 96(4): 1533-1554.

[13] Hutmacher D W. Scaffolds in tissue engineering bone and cartilage [J]. Biomaterials, 2000, 21(24): 2529-2543.

[14] 邓建国. 粉体材料 [M]. 电子科技大学出版社，2007：34-35.