

• 综 述 •

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2021.14.036

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20210210.1409.004.html\(2021-02-10\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20210210.1409.004.html(2021-02-10))

磷酸钙涂层表面改性镁合金的研究应用现状*

高蓓宁¹,喻正文²综述,韩 琪³,刘建国^{1,2△} 审校

(1. 遵义医科大学口腔医学院,贵州遵义 563099;2. 贵州省高等学校口腔疾病研究特色重点实验室暨遵义市口腔疾病研究重点实验室,贵州遵义 563099;3. 四川大学华西口腔医院,成都 610041)

[摘要] 镁合金由于其优异的生物相容性、生物力学特性及生物活性特征,成为新一代人体植入材料的研究热点。但是镁合金在体内过快的生物降解速率限制其临床应用,表面改性是一项具有针对性的优化镁合金降解速率的策略。目前,用于镁合金的生物涂层材料有多种,其中正磷酸钙由于在机体中具有良好的生物耐受性,可作为镁合金涂层以延缓其生物降解。本文旨在总结生物医用镁合金的特点、磷酸钙涂层材料的进展,分析镁合金表面经涂层改性后的优势和存在的主要问题,并对今后应用于临床的发展做一展望。

[关键词] 羟基磷灰石类;镁合金;涂层;磷酸三钙;双相磷酸钙

[中图法分类号] R782.2+3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2021)14-2501-05

Research and application status quo of calcium phosphate coating surface modified magnesium alloy*

GAO Beining¹,YU Zhengwen²,HAN Qi³,LIU Jianguo^{1,2△}

(1. School of Stomatology,Zunyi Medical University,Zunyi,Guizhou 563099,China ;
2. Specialized Key Laboratory of Stomatology Disease Research in Guizhou Provincial High Education Institutions,Zunyi Key Laboratory of Oral Disease Research ,Zunyi,Guizhou 563099, China ;3. West China Stomatology Hospital ,Sichuan University,Chengdu,Sichuan 610041,China)

[Abstract] Magnesium alloys have become a new research hotspot for human implant materials due to excellent biocompatibility,biomechanical properties and biological activity. However,the excessively rapid biodegradation rate of magnesium alloys in vivo limits their clinical application,the surface modification emerges as a targeted strategy to optimize the degradation rate of magnesium alloys. At present,there are various biological coating materials for magnesium alloys,among which calcium orthophosphate can serve as magnesium alloy coatings to delay its biodegradation due to its good biological resistance. This review summarizes the characteristics of biomedical magnesium alloys and the progress of calcium phosphate coating materials,and analyzes the advantages and major problems of magnesium alloys modified by surface coating,thence the development of clinical application in the future is prospected.

[Key words] hydroxyapatites;magnesium alloys;coating;tricalcium phosphate;biphasic calcium phosphate

镁合金是一种新型的可降解生物材料,由于其具有与人体骨相似的密度和机械性能,可用于研究肌肉骨骼修复;而且,镁在人体内可以自行降解,避免了患者二次手术,降低了再次手术可能导致的感染与组织损伤等风险^[1]。然而,镁合金的降解速率过快限制了其在医学方面的应用。一般来说,根据植入物类型、骨的解剖位置 and 不同个体的愈合能力,骨修复需要

4~12 周的时间。因此,镁合金植入物最好在 12~18 周保持其在体内的完整性,以便骨组织再生。然而,当镁合金植入体内,随着体液碱度的升高和氢气的产生,其降解速率也会加快^[2],这种非可控的降解会导致镁合金植入失败,这是限制它应用的最大障碍。

表面改性是一项改良镁合金适宜临床应用的针对性策略。通过镁合金的表面改性,可以控制镁降解

* 基金项目:国家重点研发计划重点专项(2016YFC1102800);贵州省医用生物材料研发人才基地项目(RCJD2018-9);遵义医科大学学术新苗培养及创新探索专项[黔科合平台人才(2017)5733-057];遵义市科学技术局、遵义医学院附属口腔医院联合科技研发资金项目[遵市科合社字(2018)240 号]。 作者简介:高蓓宁(1995—),在读硕士研究生,主要从事 Mg-3Mn 颌面骨修复材料的体外细胞毒性及成骨诱导性的研究。

△ 通信作者,E-mail:13087891001@163.com。

速率,以加速愈合过程^[3]。目前,合成磷酸钙涂层是实现镁合金表面改性最有效途径。磷酸钙是骨组织中的主要无机成分,具有优异的生物相容性、骨传导性,作为金属涂层可提高镁合金的耐磨性和耐蚀性^[4]。本文旨在总结生物医用镁合金及其磷酸钙涂层表面改性材料,综述其在研究进展中的特点和问题,为其未来应用提供研究方向。

1 镁及其合金应用于人体的生物学基础

镁元素具有良好的骨诱导效应,会缩短骨折修复时间,对组织无刺激性;镁在自然界中分布非常广泛,价格低廉,易于加工成型;镁标准电极电位低(-2.37 V),化学性质活泼,在人体体液中易与 Cl^- 等发生化学反应,可完全降解,多余的 Mg^{2+} 将随尿液排出体外;最重要的是镁合金的杨氏模量与天然骨的杨氏模量相似,良好的力学相容性能够有效地避免应力遮挡效应带来的骨折风险^[5]。基于镁合金在体内的可自主降解性和生物相容性,材料学家开创出新一代的植入性医疗器械,后有众多学者将其用于骨科、颌面外科和心血管等领域。HOFSTETTER 等^[6] 在成年的小型猪额骨植入了 WE43 镁合金骨板骨钉,发现 WE43 骨板骨钉未引起骨组织愈合障碍;GUO 等^[7] 通过壳聚糖修饰商业稀土合金,与海奥生物膜相比较,研究其作为屏障膜引导骨再生效果,结果表明涂覆壳聚糖的含稀土元素镁合金 Mg3Gd 表现良好的屏障性能,可作为引导骨再生的可吸收屏障;上海交通大学成功研发了用于骨科的 JDBM-1 合金和用于心血管支架的 JDBM-2 合金,并通过动物模型进行了长期体内评估,证实了其优异的组织相容性及长期的结构和机械耐久性^[8],使之应用于临床成为可能。

2 利用涂层改性镁及其合金是其优化应用的针对性策略

镁合金在体内的非可控降解性是限制其临床应用的主要障碍。镁及其合金在机体内腐蚀主要面对的是两个问题:(1)植入体的机械完整性丧失,其腐蚀产物及腐蚀坑会导致金属裂纹形成;(2)析出氢气和局部碱化,被腐蚀的镁释放出大量的氢气,氢气的迅速积累会延缓骨组织的愈合,除了释放氢气外,快速降解还会改变局部生理微环境,一旦局部 pH 值超过 7.8,可能会导致碱中毒^[9]。

目前医用镁合金均存在上述问题,若想将镁合金作为承重部位骨科植入材料,则需要进一步改性镁合金,以控制其降解速率,提高其耐腐蚀性能。金属表面防护处理技术是改善镁及镁合金腐蚀过快问题具有针对性的方法之一。通过化学转化(MAO)涂层、有机高分子涂层、微弧氧化涂层、激光表面处理等方法,不仅能够有效地改善镁及镁合金耐腐蚀性能,而且还能提高种植体材料的表面生物活性,控制降解速率,防止植入后感染^[10-13]。

WU 等^[14] 利用微弧氧化技术,在镁合金(AZ31)骨板上制备具有生物相容性的 MAO 涂层,以未处理的镁合金骨板作为对照组,发现有 MAO 涂层和无涂层的镁合金骨板均能促进骨折愈合,但是有涂层的降解速度缓慢。HOFSTETTER 等^[6] 对镁合金(WE43)骨板表面进行等离子体电解,未处理的镁合金骨板设置为对照组,实验结果表明具有涂层的骨板改善了其耐腐蚀性能,而且具有很好的稳定性。其他研究者采用超声 MAO 技术对镁合金螺钉进行表面处理,发现其起到固定作用的时间长达半年,而且血液中镁离子的浓度均在参考范围内^[15]。

经过表面涂层改性的镁合金,其耐蚀性主要取决于其表面涂层材料的性能,当生理溶液渗透到涂层内部的基体后,基体才会发生腐蚀。因为表面涂层是金属基体和外部环境之间的屏障,可以有效地控制镁合金的降解速率,同时也影响种植体合金的力学性能^[16]。涂层应该对镁有足够的附着力,具有较高的硬度和机械强度,良好的韧性、环境友好性、耐腐蚀、耐疲劳、耐磨损等特性。

2.1 磷酸钙涂层

磷酸钙是骨组织中的主要无机成分,作为生物材料应用于人体时具有内在的生物相容性,在金属基体表面制备磷酸钙涂层一直是材料学家关注的焦点。

合成并用于临床的磷酸钙类型有:磷酸一钙(MCPM)、二水磷酸氢钙(DCPD)、无水磷酸二钙(DCPA)、磷酸八钙(OCP)、磷酸三钙(TCP)、无定形磷酸钙(ACP)、缺钙羟基磷灰石(CDHA)、羟基磷灰石(HA)、磷酸四钙(TTCP)和双相磷酸钙(BCP)^[17]。但并不是所有的磷酸钙都可用作涂层,MCPM 和 TTCP 不适合作为金属植入物的涂层材料;DCPD 涂层仅在短期内(4~6 周)显示良好的生物相容性,而长期效果不稳定^[18];与 OCP 和 ACP 相比,不同类型的 HA 和 TCP 涂层展现出更好的稳定性和相容性,因而其应用更广泛。因此本文主要介绍磷酸钙涂层中应用较多的 HA、TCP 和 BCP。

2.1.1 HA 涂层

HA 是人体骨矿物相的主要组成部分,同时它作为可生物降解的生物相容性陶瓷能在骨组织界面形成类骨磷灰石层以增强骨结合,加强骨愈合活性,因而被广泛应用于各种生物医学研究。HA 通常被用作承重镁合金植入物上的生物活性涂层材料,因为尽管它具有良好的骨再生性能,但其固有的低机械性能(包括低强度和断裂韧性,以及低耐磨性)限制其在高承载部位的应用^[19]。而镁合金用作基底可为承载部位提供优异的机械强度,HA 作为涂层可降低基底降解率,二者优势互补,促进种植体界面处的骨整合^[20]。

TIAN 等^[21] 采用跨音速粒子加速工艺(TPA),成功地在镁板和镁棒上制备了具有纳米到亚微米结构

的共形 HA 涂层(nHA 和 mHA 涂层),发现 nHA 和 mHA 涂层增强了镁的耐腐蚀性,具有共形 HA 涂层的镁经模拟体液体外浸泡 6 周后仍保持了 86%~90% 的极限抗压强度,满足种植体的力学性能要求,无涂层镁仅保持了 66% 的强度。LIM 等^[22]等使用纯镁作为对照组,HA 涂层的镁作为实验组,分别在 Sprague-Dawley 大鼠颌骨上方植入镁板,发现实验组直到 12 周才出现气体形成或平板暴露,而对照组在第 2 周就开始出现持续的气体形成和平板暴露,用 HA 涂层镁板可以保持足够长时间的强度,使骨愈合和控制吸收率在最初阶段。目前制备 HA 涂层的方案为多种工艺综合使用。由于人工合成的纯 HA 自身所属陶瓷性质,导致涂层材料脆性大、强度低,抗折强度和断裂韧性等指标均低于人体骨,为改善这些性能,通常将 HA 和其他材料复合制备成 HA 生物复合材料,如:金属-HA 生物复合材料,生物惰性陶瓷-HA 生物复合材料,高分子复合物-HA 生物复合材料^[19]。

2.1.2 TCP 涂层

TCP 有两种类型: α -TCP 和 β -TCP,其钙磷比(Ca/P)均为 1.50,却有着不一样的物理化学性能。 α -TCP 易磷酸水解,而 β -TCP 稳定性优于 α -TCP,溶解度大于 HA,常与 HA 结合作双相生物陶瓷或涂层^[23],因而在镁合金的 TCP 涂层中以 β -TCP 的应用更广。

β -TCP 具有良好的骨传导特性,其提取物也能引起良好的骨免疫调节反应,增强骨髓间充质干细胞(BMSCs)的成骨分化^[24]。JIANG 等^[25]采用碱热处理工艺在 Mg-3Al-1Zn 合金表面制备多孔 β -TCP 涂层,并用其体外培养人骨源性细胞(SaOS-2),发现在早期培养过程中 β -TCP 涂层合金比其他涂层合金更适合骨生长,促进 SaOS-2 细胞增殖,显著提高了镁合金的表面生物活性。KOTOKA 等^[26]采用脉冲激光沉积技术(PLD),研究了在镁合金表面添加不同质量分数的含银 β -TCP 涂层的电化学腐蚀性能,结果表明,与无涂层的镁相比, β -TCP 涂层镁具有更好的稳定性和更低的腐蚀速率。而且,银含量的增加可以提高 β -TCP 的防腐蚀性能,而 10% 的银掺杂可以降低 TCP 的防腐蚀性能。基于这一点开发出含有 1%、5% 和 10% 银镀层的 TCP 和 TCP 涂层,使镁基体具有可调控的防腐蚀速率。

2.1.3 BCP 涂层

HA 和 β -TCP 在骨组织工程中的应用必不可少,因为这些元素共同构成了骨含量的 60%^[27]。BCP 与其他类型的磷酸钙生物陶瓷相比,可以更好地控制生物活性和生物降解,从而保证生物材料的稳定性,同时促进骨的生长。

BCP 配方主要有两种:一是由具有相似的 Ca/P 摩尔比的钙磷相组成(如 α -TCP 和 β -TCP);二是由具

有不同摩尔比的钙磷相组成(如 β -TCP 和 HA,Ca/P 分别为 1.50 和 1.67)^[28]。HA 与骨的矿物相类似,力学性能优于 α -TCP 和 β -TCP,为了克服其生物降解率低的缺点,HA 通常以适当的比例与其他生物降解性更强的骨相结合来作为植入物涂层。 β -TCP 相比 α -TCP 具有更高的化学稳定性和更好的生物降解速率,因此通常选用 β -TCP 作为 BCP 的第二相^[29]。BCP 的主要优点是通过控制稳定相和生物降解相的组成比,优化生物降解速率,增强骨修复过程,增加后者的比率可以提高 BCP 的生物活性和生物降解性^[30]。较稳定的 HA 相可以作为支撑植入物和新生骨的结构骨架,而较不稳定的 TCP 相则为生物降解过程中新生骨的生长创造了空间。

KAMALALDIN 等^[27]采用正常人成纤维细胞在体外评估两种比例的 BCP(HA/ β -TCP 20:80 和 70:30)制备三维骨支架的细胞毒性,发现在 20:80 的比例下,细胞活力百分比增加,超过 90% 的细胞生长;而在 70:30 比例下的生长速度达到 100% 以上。结果表明,HA/TCP 比值(20:80 和 70:30)在治疗创伤后骨缺损或促进骨生长和替换方面具有潜在的应用价值。

尽管 BCP 的研究取得一些积极的结果,但各种 HA/ β -TCP 比率中只有 65/35、60/40 和 50/50 的 BCP 在人类临床试验中成功应用,对于临床应用中 BCP 各阶段的理想比例还没有达成一致意见。BCP 理想的物理化学性质,如组成比、孔径、总孔隙率和连通孔隙率等,目前也没有达成共识。BCP 陶瓷的生物反应因其化学成分和物理性质的不同而不同,从而导致不同的骨再生速率和模式。此外,对于体外和体内研究,在实验方案和结果解释方面也没有统一标准^[29]。关于理想比例可能根据临床需要为不同的应用开发相应的成分比率。因此,BCP 骨替代物需要根据不同的功能和临床需要在不同的解剖部位进行定制。

3 展 望

作为一种新型的可降解医用材料和暂时性植入材料,合适的降解速率和具有相容性降解产物是镁合金临床应用的关键标准。目前,磷酸钙涂层镁合金植入物在体内外的研究取得了显著进展,但其临床应用方面依旧任重且道远。因为不仅要控制其腐蚀速率,材料设计中还必须考虑力学性能和其他生物学问题,如骨附着性、生物相容性、无毒性等。探索新的涂层方法,结合现有技术的优点和缺点,特别是在温和的涂层条件下控制涂层结构和降解速率至关重要。开发更为理想的表面改性工艺,制备更高质量的生物陶瓷涂层,提高涂层与基体的结合力,仍是将来研究的热点方向。

参考文献

- [1] JAN-MARTEN S, ARNE L, KIRSCHNER M. Magnesium-based compression screws: a novelty in the clinical use of implants[J]. JOM, 2016, 68(4): 1177-1182.
- [2] XIA D, LIU Y, WANG S, et al. In vitro and in vivo investigation on biodegradable Mg-Li-Ca alloys for bone implant application[J]. Sci China Press, 2019, 62(2): 256-272.
- [3] CUI L Y, CHENG S C, LIANG L X, et al. In vitro corrosion resistance of layer-by-layer assembled polyacrylic acid multilayers induced Ca-P coating on magnesium alloy AZ31[J]. Bioact Mater, 2020, 5(1): 153-163.
- [4] ASRI R, HARUN W, SAMYKANO M, et al. Corrosion and surface modification on biocompatible metals: a review[J]. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl, 2017, 77: 1261-1274.
- [5] 雷宇. 可降解生物医用镁合金材料的研究进展[J]. 有色冶金设计与研究, 2019, 40(4): 5-8.
- [6] HOFSTETTER W, SAULACIC N, NAKAHARA K, et al. In vivo degradation of magnesium plate/screw osteosynthesis implant systems: soft and hard tissue response in a calvarial model in miniature pigs[J]. J Craniomaxillofac Surg, 2016, 44(3): 309-317.
- [7] GUO Y, LIU W, MA S S, et al. A preliminary study for novel use of two Mg alloys (WE43 and Mg3Gd)[J]. J Mater Sci Mater Med, 2016, 27(5): 82: 1-14.
- [8] DING W. Opportunities and challenges for the biodegradable magnesium alloys as next-generation biomaterials[J]. Regen Biomater, 2016, 3(2): 79-86.
- [9] LI X, LIU X, WU S, et al. Design of magnesium alloys with controllable degradation for biomedical implants: from bulk to surface[J]. Acta Biomater, 2016, 45: 2-30.
- [10] SU Y, LUO C, ZHANG Z H, et al. Bioinspired surface functionalization of metallic biomaterials[J]. J Mech Behav Biomed Mater, 2018, 77: 90-105.
- [11] WU G, LI P, FENG H, et al. Engineering and functionalization of biomaterials via surface modification[J]. J Mater Chem B, 2015, 3(10): 2024-2042.
- [12] SU Y, YANG H, GAO J L, et al. Interfacial Zinc phosphate is the key to controlling biocompatibility of metallic Zinc implants[J]. Adv Sci (Weinh), 2019, 6(14): 1900112.
- [13] SU Y, WANG K, GAO J L, et al. Enhanced cytocompatibility and antibacterial property of Zinc phosphate coating on biodegradable Zinc materials[J]. Acta Biomater, 2019, 98: 174-185.
- [14] WU Y F, WANG Y M, JING Y B, et al. In vivo study of microarc oxidation coated biodegradable magnesium plate to heal bone fracture defect of 3mm width[J]. Colloids Surf B Biointerfaces, 2017, 158: 147-156.
- [15] 曲立杰. 镁合金表面超声微弧氧化生物涂层的组织结构与性能[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2015.
- [16] PERKINS J, XU Z, SMITH C, et al. Direct writing of polymeric coatings on magnesium alloy for tracheal stent applications[J]. Ann Biomed Eng, 2015, 43(5): 1158-1165.
- [17] SU Y, COCKERILL I, ZHENG Y, et al. Bio-functionalization of metallic implants by calcium phosphate coatings[J]. Bioact Mater, 2019, 4: 196-206.
- [18] YANG K, YU G, XU L, et al. In vitro and in vivo evaluation of the surface bioactivity of a calcium phosphate coated magnesium alloy[J]. Biomaterials, 2009, 30(8): 1512-1523.
- [19] SIDDIQUI H, PICKERING K L, MUCALO M R. A review on the use of hydroxyapatite-carbonaceous structure composites in bone replacement materials for strengthening purposes[J]. Materials (Basel), 2018, 11(10): 1813.
- [20] KARIMZADEH F, SALIMIJAZI H, LUTHRINGER-FEYERABEND B J C, et al. Fabrication and characterization of nanostructured hydroxyapatite coating on Mg-based alloy by high-velocity oxygen fuel spraying[J]. Cer Inter, 2018, 44(12): 14667-14676.
- [21] TIAN Q, LIN J, RIVERA-CASTANEDA L, et al. Nano-to-submicron hydroxyapatite coatings for magnesium-based bioresorbable implants: deposition, characterization, degradation, mechanical properties, and cytocompatibility[J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 810.
- [22] LIM H K, BYUN S H, WOO J M, et al. Biocompatibility and biocorrosion of hydroxyapatite-coated magnesium plate: animal experiment

- [J]. *Materials* (Basel), 2017, 10(10):1149.
- [23] DOROZHNIKIN S V. Calcium orthophosphate coatings on magnesium and its biodegradable alloys [J]. *Acta Biomater*, 2014, 10(7):2919-2934.
- [24] CHEN Z, WU C, GU W, et al. Osteogenic differentiation of bone marrow MSCs by β -tricalcium phosphate stimulating macrophages via BMP2 signalling pathway [J]. *Biomaterials*, 2014, 35(5):1507-1518.
- [25] JIANG T, GUO L, NI S, et al. Upregulation of cell proliferation via Shc and ERK1/2 MAPK signaling in SaOS-2 osteoblasts grown on Magnesium alloy surface coating with tricalcium phosphate [J]. *J Mater Sci Mater Med*, 2015, 26(4):158.
- [26] KOTOKA R, YAMOAH N K, MENSAH-DAR KWA K, et al. Electrochemical corrosion behavior of silver doped tricalcium phosphate coatings on magnesium for biomedical application [J]. *Surf Coat Technol*, 2016, 292:99-109.
- [27] KAMALALDIN N', JAAFAR M, ZUBAIRI S I, et al. Physico-mechanical properties of HA/TCP pellets and their three-dimensional biological evaluation in vitro [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2019, 1084:1-15.
- [28] DOROZHNIKIN S V. Calcium Orthophosphate-Based bioceramics [J]. *Materials* (Basel), 2013, 6(9):3840-3942.
- [29] EBRAHIMI M, BOTELHO M G, DOROZHNIKIN S V. Biphasic calcium phosphates bioceramics (HA/TCP): Concept, physicochemical properties and the impact of standardization of study protocols in biomaterials research [J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2017, 71: 1293-1312.
- [30] PEREIRA R C, BENELLI R, CANCIANI B, et al. Beta-tricalcium phosphate ceramic triggers fast and robust bone formation by human mesenchymal stem cells [J]. *J Tissue Eng Regen Med*, 2019, 13(6):1007-1018.

(收稿日期:2020-09-18 修回日期:2021-01-21)

(上接第 2500 页)

- reduces blood-brain barrier permeability induced by cerebral ischaemia via the VEGFR2/eNOS pathway [J]. *Int J Mol Med*, 2019, 44(3): 1078-1090.
- [27] FANG T, HUA L, MA M Y, et al. Protective effect of treatment with low-dose gliclazide in a model of middle cerebral artery occlusion and reperfusion in rats [J]. *Brain Res*, 2014, 1560(1):83-90.
- [28] WALI B, TAUHEED I, FAHIM A, et al. Glibenclamide administration attenuates infarct volume, hemispheric swelling, and functional impairments following permanent focal cerebral ischemia in rats [J]. *Stroke Res Treat*, 2012, 2012:460909.
- [29] NAKAYAMA S, TAGUCHI N, ISAKA Y, et al. Glibenclamide and therapeutic hypothermia have comparable effect on attenuating global cerebral edema following experimental cardiac arrest [J]. *Neurocrit Care*, 2018, 29(1):119-127.
- [30] SHETH K N, ELM J J, MOLYNEAUX B J, et al. Safety and efficacy of intravenous glyburide on brain swelling after large hemispheric infarction (GAMES-RP): a randomised, double-blind, placebo-controlled phase 2 trial [J]. *The Lancet Neurology*, 2016, 15(11):1160-1169.
- [31] BHATTACHARYA P, PANDEY A K, PAUL S, et al. Aquaporin-4 inhibition mediates piroxicam-induced neuroprotection against focal cerebral ischemia/reperfusion injury in rodents [J]. *PLoS One*, 2013, 8(9):e73481.
- [32] ZHANG M K, CUI Z W, CUI H, et al. Astaxanthin alleviates cerebral edema by modulating NKCC1 and AQP4 expression after traumatic brain injury in mice [J]. *BMC Neurosci*, 2016, 17(1):60-60.
- [33] XU W S, MU X P, WANG H B, et al. Chloride Co-transporter NKCC1 Inhibitor Bumetanide Enhances Neurogenesis and Behavioral Recovery in Rats After Experimental Stroke [J]. *Mol Neurobiol*, 2017, 54(4):2406-2414.
- [34] JUN Z, PU H J, ZHANG H Y, et al. Inhibition of $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - 2\text{Cl}^-$ cotransporter attenuates blood-brain-barrier disruption in a mouse model of traumatic brain injury [J]. *Neurochem Int*, 2017, 111(1):23-31.

(收稿日期:2020-12-11 修回日期:2021-03-23)