

· 基础研究 ·

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2025.10.009

网络首发 [https://link.cnki.net/urlid/50.1097.r.20250903.1458.002\(2025-09-04\)](https://link.cnki.net/urlid/50.1097.r.20250903.1458.002(2025-09-04))VA/HA/ β -TCP 支架性能检测及治疗小鼠
感染性骨缺损的效果评价刘颖, 文 化, 丁浩洋, 汪继梁, 赵 军[△]

(重庆市中医骨科医院脊柱外科, 重庆 400012)

[摘要] **目的** 评价负载万古霉素(VA)的羟基磷灰石(HA)/ β -磷酸三钙(β -TCP)支架材料的载药性能、生物相容性、骨组织相容性和对小鼠感染性骨缺损的治疗效果。**方法** 本研究采用 3D 打印技术制备 HA/ β -TCP 支架,通过冷冻干燥负载 VA 制成复合支架 VA/HA/ β -TCP。对 VA/HA/ β -TCP 支架进行电镜扫描(SEM)观察,并检测 VA/HA/ β -TCP 支架的包封率、载药率及释放效率。建立小鼠胚胎成骨细胞 MC3T3-E1 与支架的体外共培养体系,分为对照组(HA/ β -TCP 支架)和 VA/HA/ β -TCP 组,四甲基偶氮唑蓝(MTT)与 ELISA 分别检测共培养 7、12、14 d 细胞增殖活性及骨钙蛋白(OCN)表达水平。黏附实验观察 VA/HA/ β -TCP 支架的抗菌活性。构建小鼠颅骨缺损模型,植入支架治疗 4 周,对植入材料周围组织进行 HE 染色观察材料降解和骨质生成情况。**结果** VA/HA/ β -TCP 支架孔径大小分布均匀,载药性能良好,该支架的包封率为 70.32%,载药率为 30.53%,能够有效负载 VA。VA/HA/ β -TCP 支架在 36 h 内持续释放 VA。与对照组比较,VA/HA/ β -TCP 组支架上的 MC3T3-E1 细胞活性在共培养 7 d 和 12 d 明显受抑制($P < 0.01$),但在 14 d 后,两组 MC3T3-E1 的增殖活性差异无统计学意义($P > 0.05$)。与对照组比较,VA/HA/ β -TCP 组支架上的 MC3T3-E1 中 OCN 表达水平在各时间点差异均无统计学意义($P > 0.05$)。VA/HA/ β -TCP 组支架展现良好的抗菌性能,共培养菌液中大肠埃希菌数及支架表面大肠埃希菌黏附数较对照组明显降低($P < 0.001$)。在体内动物模型实验中,与对照组比较,VA/HA/ β -TCP 组的小鼠颅骨出血、炎症浸润明显减少,新生骨组织明显增加。**结论** VA/HA/ β -TCP 支架具有良好的载药性能、药物释放控制能力、生物相容性、抗菌活性及骨组织相容性,为骨感染的治疗提供了新的思路和方法。

[关键词] 3D 打印;载药缓释;感染性骨缺损;生物材料**[中图法分类号]** R318.08 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2025)10-2289-07Performance evaluation of VA/HA/ β -TCP scaffold and its therapeutic effects
on infectious bone defects of miceLIU Ying, WEN Hua, DING Haoyang, WANG Jiliang, ZHAO Jun[△](Department of Spinal Surgery, Chongqing Traditional Chinese Medicine
Orthopedic Hospital, Chongqing 400012, China)

[Abstract] **Objective** To evaluate the drug-loading performance, biocompatibility, bone tissue compatibility, and therapeutic efficacy of vancomycin (VA)-loaded hydroxyapatite (HA)/ β -tricalcium phosphate (β -TCP) scaffolds in treating infectious bone defects in mice. **Methods** HA/ β -TCP scaffolds were fabricated by using 3D printing technology, and VA was loaded onto the scaffolds via freeze-drying to create the composite VA/HA/ β -TCP scaffolds. The scaffolds were observed by using scanning electron microscopy (SEM), and their encapsulation efficiency, drug-loading capacity, and release kinetics were assessed. An in vitro co-culture system was established with mouse embryonic osteoblasts (MC3T3-E1) and the scaffolds. The cells were divided into the control group (HA/ β -TCP scaffolds) and the VA/HA/ β -TCP group. Cell viability was assessed by using the methyl thiazolyl tetrazolium (MTT) assay, and osteocalcin (OCN) expression levels were measured by ELISA at 7, 12, and 14 days of co-culture. Antibacterial activity was evaluated through adhesion experiments. A mouse cranial defect model was constructed and implanted with the scaffolds for 4 weeks. Hematoxylin and eosin (HE) staining was performed to observe material degradation and bone formation in the surrounding tissues. **Results** The VA/HA/ β -TCP scaffolds exhibited uniform pore size distribution and excel-

lent drug-loading performance, with an encapsulation efficiency of 70.32% and an actual drug-loading rate of 30.53%, effectively loading VA. The scaffolds sustained VA release over 36 hours. Compared to the control group, MC3T3-E1 cell viability on the VA/HA/ β -TCP scaffolds was significantly inhibited at 7 and 12 days of co-culture ($P < 0.01$), but no significant difference in proliferation activity was observed between the two groups after 14 days ($P > 0.05$). No significant differences in OCN expression levels were found in MC3T3-E1 cells on the VA/HA/ β -TCP scaffolds compared to the control group at any time point ($P > 0.05$). The VA/HA/ β -TCP scaffolds demonstrated strong antibacterial properties, with significantly reduced numbers of Escherichia coli in the co-cultured bacterial solution and on the scaffold surface compared to the control group ($P < 0.001$). Compared with the control group, the VA/HA/ β -TCP group demonstrated significantly reduced cranial hemorrhage and inflammatory infiltration, alongside a marked increase in new bone tissue.

Conclusion The VA/HA/ β -TCP scaffolds exhibit excellent drug-loading performance, controlled drug release, biocompatibility, antibacterial activity, and bone tissue compatibility, offering a novel approach for treating bone infections.

[Key words] 3D printing; drug-loaded sustained release; infected bone defects; biomaterials

感染性骨缺损是骨科领域极具挑战性的疾病^[1],其核心特征是细菌感染与骨组织缺损双重病变,常因高能量创伤、免疫受损等引发强烈炎症反应^[2],进而发展为难以根治的骨髓炎,尤其合并大段骨缺损时,易导致肢体功能丧失甚至截肢^[3]。目前临床治疗依赖手术清创、全身应用抗生素及利用骨修复材料治疗,但这些传统方案存在明显局限性^[4]:自体骨移植面临供区继发性损伤,且并发症率达 20.6%、异体骨移植存在感染性疾病传播风险^[5],而人工材料如金属、生物陶瓷或有机聚合物^[6],或因缺乏抗菌功能、或因降解性与骨再生不同步^[7]、或因不可吸收需二次手术取出,难以实现“感染控制”与“骨修复”的协同^[8]。尽管羟基磷灰石(hydroxyapatite, HA)/ β -磷酸三钙(β -tricalcium phosphate, β -TCP)支架因良好的生物相容性、骨传导性及钙磷离子释放能力成为研究热点,但其因材料单一本身缺乏主动抗菌功能^[9-10],而现有载药系统[如万古霉素(vancomycin, VA)负载支架多采用传统制备工艺,存在药物突释或缓释不足、孔隙结构调控精准度低等问题,导致局部抗菌浓度维持不足或成骨细胞定植效率受限^[11]。

针对上述难题,本研究聚焦 3D 打印技术构建负载 VA 的复合 VA/HA/ β -TCP 支架^[12],旨在通过定制化孔隙设计(如 $\geq 100\ \mu\text{m}$ 连通孔隙促进骨细胞黏附)与优化药物缓释系统^[13],实现局部抗生素浓度的长效稳定维持与骨诱导活性的协同增强,解决传统材料在感染微环境中“抗菌效能与成骨能力失衡”的关键问题^[14]。本研究拟通过体外评估 VA/HA/ β -TCP 支架的药物释放动力学、抗菌活性及细胞相容性,结合体内动物模型验证其在感染性骨缺损修复中的感染控制效果与新骨形成效率,最终证实该支架可通过可控降解特性、生物相容性及抗菌-成骨功能的有机结合,为感染性骨缺损提供兼具安全性与高效性的治疗材料,具有一定的临床转化价值。

1 材料与方法

1.1 细胞、动物及材料

β -TCP、HA 购自德国 Innotere 公司;3D 打印机购自瑞士 regenHU 公司;VA 购自美国 MCE 公司,二甲基亚砜购自中国上海恒斐生物科技有限公司;磷酸盐缓冲液(phosphate-buffered saline, PBS)、MEM α 完全培养液购自美国 Gibco 公司;小鼠胚胎成骨细胞 MC3T3-E1 购自南京科佰生物科技有限公司;胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)购自上海李记生物科技有限公司;青霉素-链霉素、四甲基偶氮唑蓝[3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide, MTT]购自上海碧云天生物技术股份有限公司;戊巴比妥钠购自北京纵横科技有限公司(使用剂量为 0.15 mL/10 g);6 只 4 周龄 C57BL/6J 小鼠,体重 14 g 左右,购自重庆恩斯维尔生物科技有限公司。本研究已通过本院伦理委员会审批(审批号:BY-202015)。

1.2 方法

1.2.1 VA/HA/ β -TCP 支架制备及表面微观表征观察

β -TCP、HA 以质量比 7 : 3 混合为打印原料,采用 3D 打印机制备 5 mm 直径及 2 mm 厚度的磷酸钙多孔支架,层厚为 0.2 mm,打印温度维持在 25 $^{\circ}\text{C}$,打印速度设置为 10 mm/s。紫外线照射灭菌 HA/ β -TCP 支架后,将 50 μL VA 滴加于 2 mg HA/ β -TCP 支架上,制成 VA/HA/ β -TCP 支架(VA/HA/ β -TCP 组),对照组支架滴加相同体积二甲基亚砜,−60 $^{\circ}\text{C}$ 下冷冻 12 h,随后在真空条件下干燥 48 h。经冷冻干燥处理后,通过扫描电子显微镜(scanning electron microscope, SEM)观察支架的微观表征。

1.2.2 支架材料性能检测

对上述制备得到的负载 VA 的 VA/HA/ β -TCP 支架进行材料性能检测,分别检测支架的包封率、载药率及释放效率。称取 5 mg 干燥的 VA/HA/ β -TCP 支架置于 10 mL 试管中,加入 1 mL 二氯甲烷,超声振荡充分溶解。向试管中加入 4 mL PBS,在快速混匀器上混匀后,静置 10 min。静置后的试管在冷冻高

速离心机上 10 000 r/min 离心 5 min, 取 100 μ L 上清液在紫外分光光度仪中测量 280 nm 处吸光度 [$A_{(280)}$] 值, 利用标准曲线, 计算支架中包封药物质量。利用公式计算包封率和载药率。其中包封率 = 支架中药物质量 / 投入药物总质量 $\times 100\%$, 载药率 = 支架中药物质量 / 支架总质量 $\times 100\%$ 。关于药物释放率检测, 首先向含 2 mL PBS 溶液的离心管中加入 2 mg VA/HA/ β -TCP 支架, 于 37 $^{\circ}\text{C}$, 150 r/min 的恒温振荡箱中孵育, 分别于孵育 6、12、18、24、30、36 h 收集 1 mL PBS 溶液, 每收集 1 次用新鲜 PBS 补足至 2 mL。96 孔板中, 每孔加入 100 μ L 收集好的含药物的 PBS 溶液, 酶标仪检测支架浸泡液的 $A_{(280)}$, 计算支架药物释放率。药物释放率 = 药物释放质量 / 支架中药物质量 $\times 100\%$ 。

1.2.3 支架生物相容性检测

支架的生物相容性通过其对 MC3T3-E1 增殖和骨钙蛋白(osteocalcin, OCN)表达水平的影响进行考察。MC3T3-E1 用含 20% 胎牛血清 + 1% 青霉素-链霉素 + 79% MEM α 完全培养液在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 细胞培养箱中进行培养。待细胞汇合度达到约 80% 时用 0.25% 胰酶消化液消化细胞, 1 000 r/min 离心 5 min, 弃上清液, 收集细胞悬液。分别将 HA/ β -TCP 支架和 VA/HA/ β -TCP 支架用培养基浸润 5 min 后, 置于 96 孔(MTT)或 24 孔(ELISA)培养板中。将上述细胞悬液混匀, 调整细胞浓度至 $1 \times 10^5/\text{mL}$ 进行铺板, 细胞分别在与支架共同培养 7、12、14 d 后收集样本进行后续检测, 将细胞按共培养支架不同分为对照组(HA/ β -TCP)和 VA/HA/ β -TCP 组。MTT 试验检测细胞增殖, ELISA 法检测 OCN 水平。

MTT 试验: 各组细胞于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱培养 7、12、14 d 后, 加入 MTT, 37 $^{\circ}\text{C}$ 避光孵育 4 h, 加入二甲基亚砜, 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 10 min 溶解结晶, 酶标仪测定 $A_{(570)}$ 。

ELISA 法: 先按试剂盒要求预处理样本及试剂, 依次加入标准品、样本、检测抗体及酶标二抗并进行孵育与洗板, 最后加入 3,3',5,5'-四甲基联苯胺(3,3',5,5'-tetramethylbenzidine, TMB)显色液显色, 终止反应后通过酶标仪检测 $A_{(450)}$, 依据标准曲线计算 OCN 表达水平。

1.2.4 支架抗菌活性检测

黏附实验: 将大肠埃希菌用生理盐水稀释成菌悬液。细菌培养液中分别加入菌悬液, 37 $^{\circ}\text{C}$ 下震荡, 与各组支架共培养 28 d, 每 7 天从各培养组的培养液中分别取适量体积菌液。用麦氏比浊法计数菌数, 根据浓度判断细菌的生长情况, 进而评估支架的抗菌能力。

光镜观察计数: 将黏附实验中的材料用无菌生理盐水冲洗 3 遍后, 放于振荡器上振荡, 并用无菌探针刮擦材料表面, 材料表面黏附的大肠埃希菌被刮下, 收集液体。放入离心机中, 4 000 r/min 离心 10 min, 将稀释的大肠埃希菌菌液滴入血细胞计数板上, 在显

微镜下观察计数。

1.2.5 颅骨缺损小鼠模型构建

取 6 只 4 周龄 C57BL/6J 小鼠, 按使用的支架分为对照组和 VA/HA/ β -TCP 组, 小鼠饲养条件控制在温度(23 $\pm$ 2) $^{\circ}\text{C}$ 、湿度 35%~60%。造模时, 将 6 只小鼠头顶处皮毛剔除, 并使用戊巴比妥钠通过腹腔注射进行麻醉。麻醉后的小鼠固定四肢和头部并对手术区域进行消毒。在小鼠头顶中线切口, 逐层解剖暴露额骨和顶骨。在暴露的颅骨表面, 使用圆形模板标记出与复合材料尺寸匹配的区域。使用电钻按照标记位置和大小制作颅骨缺损区域, 并使用 0.9% 生理盐水冲洗, 仔细保护硬脑膜组织。将各组支架植入缺损区域, 并进行常规逐层缝合。于术后 4 周, 处死小鼠, 取出植入材料周围组织进行 HE 染色观察。

1.2.6 HE 染色

将取出的材料周围组织用 PBS 清洗后, 使用 4% 多聚甲醛固定, 乙二胺四乙酸(ethylenediamine-tetracetic acid, EDTA)脱钙液常规脱钙, 组织浸泡梯度乙醇(75%乙醇、85%乙醇、95%乙醇、100%乙醇 I 和 100%乙醇 II)各 2 h, 脱水, 二甲苯浸泡组织透明处理, 石蜡包埋。切片将石蜡块中的组织切成 2.5 μm 厚的薄片, 并平铺于防脱玻片上, 经烤片, 脱蜡, 复水后, 行 HE 染色(苏木素染色 5 min、伊红染色 2 min), SEM 下观察支架材料间隙情况, 骨质生成情况, 有无炎性细胞浸润及材料降解情况。

1.3 统计学处理

采用 SPSS23.0 和 GraphPad Prism9.0 软件进行数据统计分析。每组实验均重复 3 次, 计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 比较采用独立样本 t 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 微观表征

SEM 观察发现, HA/ β -TCP 支架材料表面光滑, 具有相互连通的多孔结构且孔径大小均匀, 见图 1。在进行 VA 药物负载后, VA/HA/ β -TCP 支架表面粗糙, 且在局部区域能观察到白色箭头所标记出的颗粒状的 VA 斑点, 见图 2。

2.2 包封率、载药率

VA 与 HA/ β -TCP 的初始投入分别为 1.25 mg 和 2.00 mg, 它们的质量比为 1.0 : 1.6, 理论载药率为 38.46%, VA/HA/ β -TCP 支架的实际载药率为 30.53%, 包封率为 70.32%。

2.3 药物释放率

随着支架植入时间(6、12、18、24、30、36 h)的延长, VA/HA/ β -TCP 支架释放的 VA 浓度逐渐增加, VA 药物释放率逐渐增加, 见图 3。

2.4 生物相容性

在支架表面接种 MC3T3-E1, 检测细胞活性, 与对照组比较, VA/HA/ β -TCP 组支架上的 MC3T3-E1 在共培养 7、12 d 明显受抑制($P < 0.01$), 但在共培养 14 d

时,两组支架上培养的细胞存活率差异无统计学意义($P>0.05$),见图 4A。与对照组比较,VA/HA/ β -TCP

组支架上各时间点的 MC3T3-E1 中 OCN 表达水平差异均无统计学意义($P>0.05$),见图 4B。

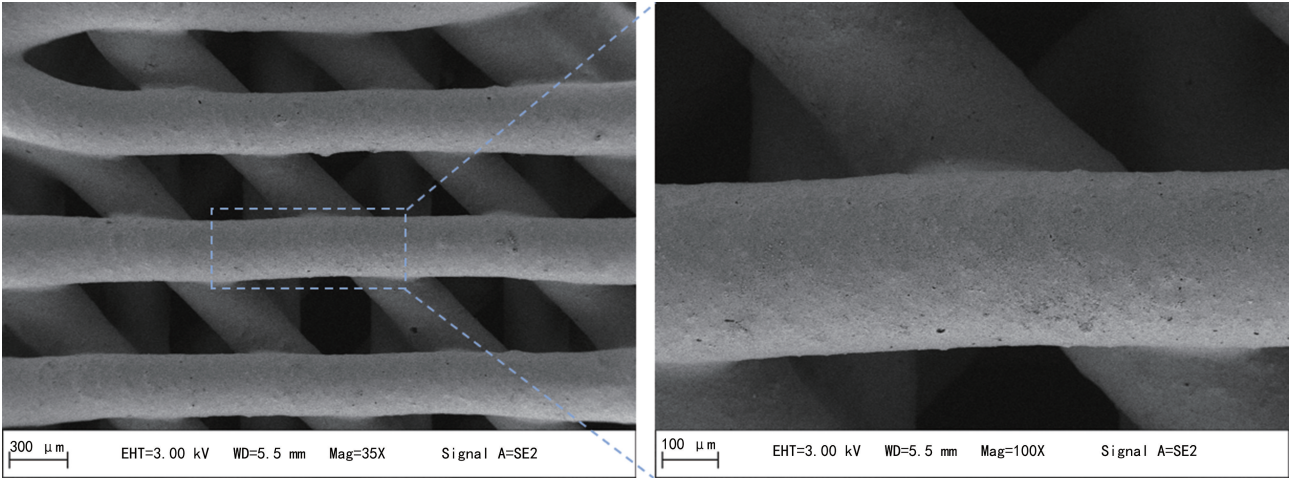
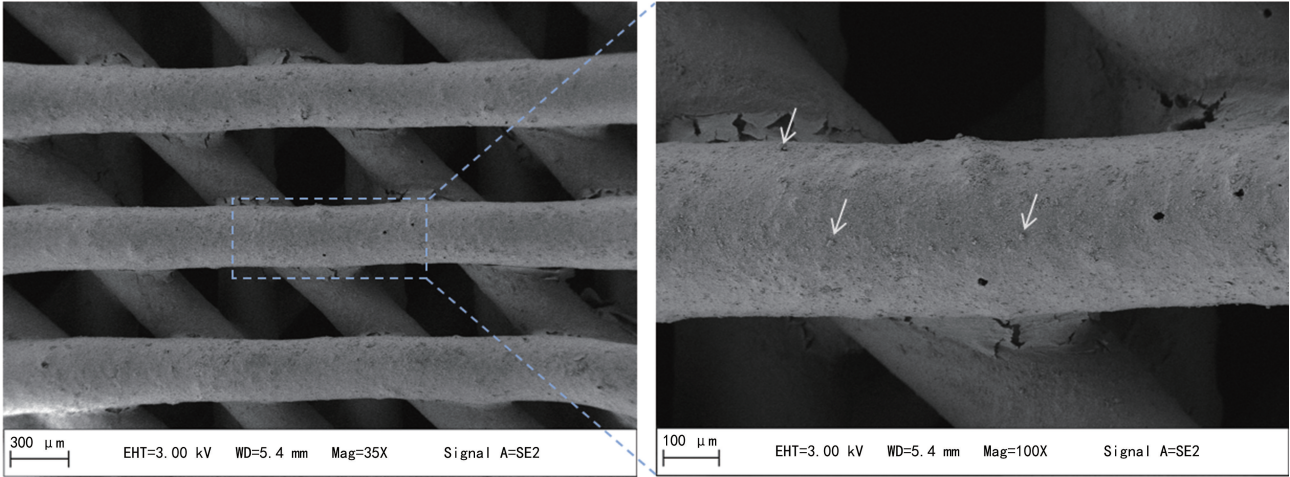


图 1 HA/ β -TCP 支架 SEM 图



白色箭头所指为 VA 斑点。

图 2 VA/HA/ β -TCP 支架 SEM 图

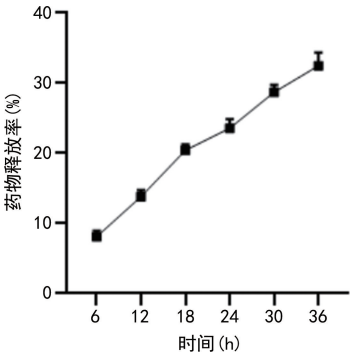


图 3 VA/HA/ β -TCP 支架中 VA 药物释放率变化

2.5 抗菌活性

VA/HA/ β -TCP 组支架显示了良好的抗菌性能,菌液中单位体积大肠埃希菌数较对照组明显降低($P<0.001$),支架表面单位体积大肠埃希菌的黏附数量较对照组也明显降低($P<0.001$),见表 1,图 5。

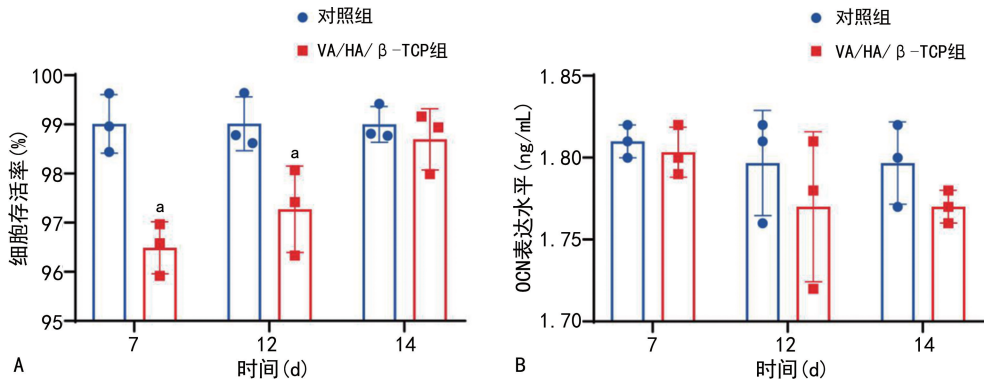
2.6 骨组织相容性

纵行切片 HE 染色显示,对照组颅骨组织内可见红细胞大量弥漫,组织出血严重;颅骨上侧可见未降

解的材料周围被大量纤维细胞、成纤维细胞和淋巴细胞包绕。缺损的颅骨处可见新生骨组织生成及纤维细胞和淋巴细胞浸润。VA/HA/ β -TCP 组可见组织内红细胞弥漫,组织有出血;颅骨上侧未降解的材料与缺损的颅骨之间有少量纤维细胞、成纤维细胞和淋巴细胞浸润。缺损的颅骨处有新生骨组织及少量纤维组织和淋巴细胞浸润。与对照组比较,VA/HA/ β -TCP 组颅骨组织出血减少,纤维细胞及淋巴细胞等炎性细胞浸润减少。横行切片 HE 染色显示,对照组颅骨组织内红细胞大量弥漫;材料周围被大量纤维细胞、成纤维细胞和淋巴细胞包绕。VA/HA/ β -TCP 组缺损的颅骨处见大量新生骨组织,骨组织周围可见少量纤维细胞和淋巴细胞浸润,见图 6。

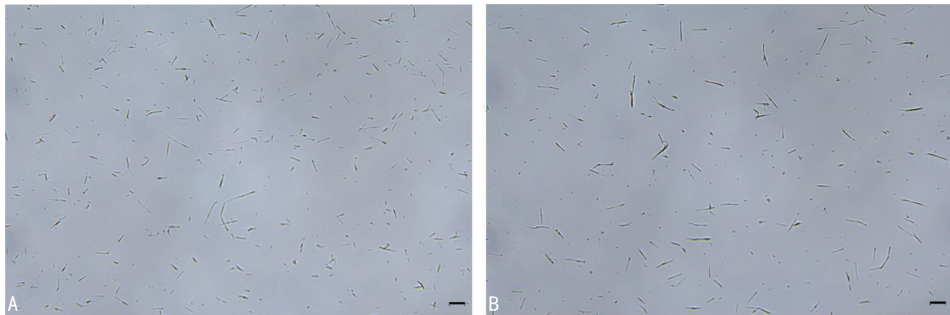
表 1 培养液及支架表面大肠埃希菌单位体积计数($\bar{x}\pm s$,个)

项目	对照组	VA/HA/ β -TCP 组
菌液	$(100.0\pm2.1)\times10^{11}$	$(10.0\pm3.5)\times10^6$
支架表面	$(100.0\pm1.8)\times10^{11}$	$(10.0\pm4.1)\times10^4$



A: MTT 检测支架对细胞增殖的影响; B: ELISA 检测支架对细胞 OCN 表达水平的影响; ^a: $P < 0.05$, 与对照组比较。

图 4 负载万古霉素的 HA/β-TCP 支架的生物相容性评估



A: 对照组; B: VA/HA/β-TCP 组。

图 5 显微镜观察支架表面大肠埃希菌黏附情况(100×)

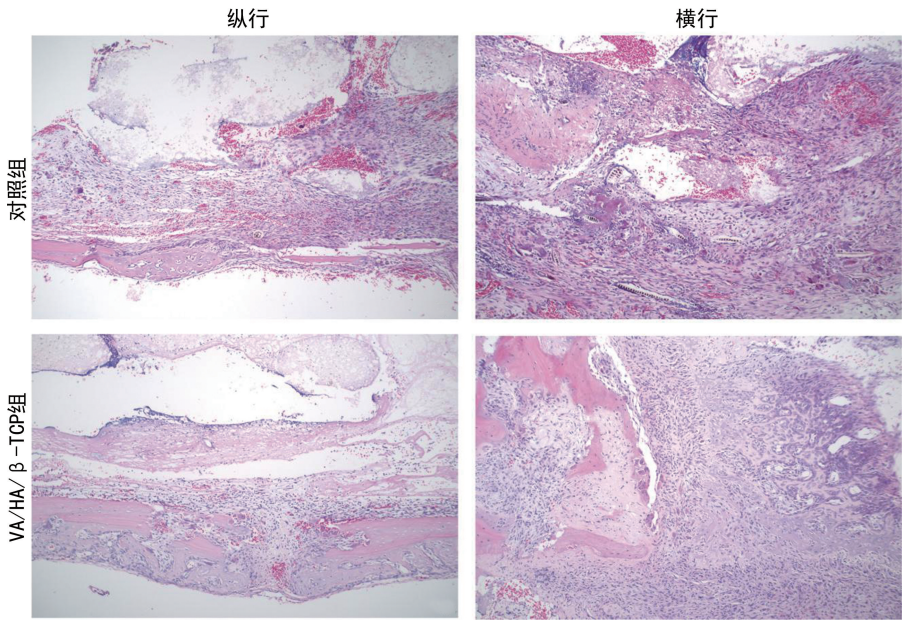


图 6 HE 染色观察支架与颅骨间隙情况及支架降解情况(100×)

3 讨 论

骨骼作为具备再生特性的结缔组织^[15], 依赖成骨细胞、骨细胞与破骨细胞的动态平衡维持骨吸收-形成循环, 而骨重塑失衡或细菌感染引发的骨缺损会严重限制骨骼修复能力^[16], 同时解决感染控制与骨组织重建成为骨科领域的难题^[17]。目前感染性骨缺损的治疗包括感染控制与局部骨重建, 常用方法如骨移植、组织工程技术及含抗生素的聚甲基丙烯酸甲酯(poly-methyl methacrylate, PMMA)微珠等, 其中 PMMA 微珠虽能有效预防继发感染^[18], 但其不可降解特性导

致需二次手术移除及再次骨移植^[19], 存在治疗周期长、创伤大等局限。本研究开发的 VA/HA/β-TCP 支架, 药物包封率达 70.32%, 兼具长效药物缓释能力、良好生物相容性及抗菌活性, 可抑制骨缺损模型的炎症浸润与出血, 促进新骨生成, 为解决感染性骨缺损提供了兼具支撑、抗菌与骨再生潜力的新方案^[20]。

HA 与 β-TCP 作为生物陶瓷, 因优异的生物相容性、仿生矿化特性及无毒副作用备受关注^[21]。二者化学成分与骨无机成分相似, 其中 HA 兼具降解性、组

织相容性和成骨活性, β -TCP 则具备良好生物相容性与骨传导性, 但其力学强度不足、降解速率过快, 限制了其在大骨缺损修复中的独立应用。研究表明, HA/ β -TCP 支架的力学强度、降解速率及骨传导性能受配比影响明显^[22]。本研究通过 3D 打印制备的 3:7 质量比的 HA/ β -TCP 涂层支架, 经 SEM 观察显示其表面光滑、多孔结构连通且孔径均匀, 该结构为营养物质运输、细胞黏附增殖、血管生成及新骨形成提供了有利微环境^[23]。

感染性骨缺损治疗中, 现有双功能材料(如 HACC/BMP2/BioCaP 复合物)通过抗菌成分爆发释放与生长因子控释协同促进修复^[24], 诱导膜技术(Masquelet 技术)借助 PMMA 骨水泥诱导膜形成可修复大段骨缺损, 但前者存在降解与因子释放调控挑战, 后者需二次手术并伴随供区损伤、应力性骨折风险^[10, 25-26]。本研究开发的 VA/HA/ β -TCP 支架则兼具多重优势: 其包封率 70.32%、实际载药率 30.53%, 依托 β -TCP 多孔结构实现药物 36 h 持续释放, 体外明显降低大肠埃希菌黏附与菌液细菌数, 体内减少颅骨缺损处炎症浸润并促进新骨生成; 虽初期因抗菌药物作用短暂抑制成骨细胞(MC3T3-E1)增殖(7~12 d, $P < 0.01$), 但共培养 14 d 后细胞活性恢复且 OCN 表达水平(成骨相关指标), 与对照组无明显差异, 体现良好的生物相容性。该支架克服了传统方法的局限性, 为感染性骨缺损修复提供了兼具高效抗菌与骨再生能力的新型材料策略^[3, 5, 27]。

VA 因对金黄色葡萄球菌杀菌效果确切、耐药性低, 常通过浸渍法负载于 HA 基支架^[28-29]。本研究构建的 VA/HA/ β -TCP 支架可随材料降解缓释 VA, 既能在局部形成高浓度抗菌环境以规避全身用药毒性, 又通过初期快速释药有效应对术后急性感染风险^[27, 30]。鉴于骨缺损区血供不足易导致细菌黏附并形成生物膜, 该支架的强效抑菌能力可明显降低感染风险^[31-32]。从成骨机制看, 人体内骨组织多通过软骨内成骨途径发育, 即干细胞经诱导分化为功能性成骨细胞^[33-34]。本研究证实, VA/HA/ β -TCP 支架对骨细胞增殖及 OCN 表达无抑制作用, 与 CHENG 等^[35]报道一致且体内实验显示其可促进小鼠颅骨再生。

本研究存在以下局限: (1) VA/HA/ β -TCP 支架生物脆性待改善, 需结合其他材料及组织工程技术优化力学性能; (2) 药物释放周期较短, 且缺乏长期骨修复效能评估, 需延长观察周期; (3) 支架降解与骨再生速率匹配性不足, 后续可通过调整材料配比或引入其他成分优化降解动力学。

综上所述, 本研究成功开发出 VA/HA/ β -TCP 支架, 该支架在药物缓释和骨再生方面展现出双重效果, 具有优异的载药性能、生物相容性、抗菌活性及骨组织相容性, 为感染性骨缺损的治疗提供了一种新选择。

参考文献

- [1] QIU G, HUANG M, LIU J, et al. Antibacterial calcium phosphate cement with human periodontal ligament stem cell-microbeads to enhance bone regeneration and combat infection[J]. *J Tissue Eng Regen Med*, 2021, 15(3): 232-243.
- [2] HAN Z, XIONG J, JIN X, et al. Advances in reparative materials for infectious bone defects and their applications in maxillofacial regions[J]. *J Mater Chem B*, 2024, 12(4): 842-871.
- [3] LU H, LIU Y, GUO J, et al. Biomaterials with antibacterial and osteoinductive properties to repair infected bone defects[J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(3): 334.
- [4] VEIS D J, CASSAT J E. Infectious osteomyelitis: marrying bone biology and microbiology to shed new light on a persistent clinical challenge[J]. *J Bone Miner Res*, 2020, 36(4): 636-643.
- [5] WEI P, JING W, YUAN Z, et al. Vancomycin- and strontium-loaded microspheres with multi-functional activities against bacteria, in angiogenesis, and in osteogenesis for enhancing infected bone regeneration[J]. *Acs Appl Mater Interfaces*, 2019, 11(34): 30596-30609.
- [6] QIN L, YANG S, ZHAO C, et al. Prospects and challenges for the application of tissue engineering technologies in the treatment of bone infections[J]. *Bone Res*, 2024, 12(1): 28.
- [7] 董博, 李效宇, 李碧榕, 等. 3D 打印支架修复感染性骨缺损[J]. *中国组织工程研究*, 2024, 28(29): 4685-4690.
- [8] HOFMANN A, GORBULEV S, GUEHRING T, et al. Autologous iliac bone graft compared with biphasic hydroxyapatite and calcium sulfate cement for the treatment of bone defects in tibial plateau fractures: a prospective, randomized, open-label, multicenter study[J]. *J Bone Joint Surg Am*, 2020, 102(3): 179-193.
- [9] ZHANG M, MATINLINNA J P, TSOI J K H, et al. Recent developments in biomaterials for long-bone segmental defect reconstruction: a narrative overview[J]. *J Orthop Transl*, 2020, 22: 26-33.
- [10] DALISSON B, CHARBONNIER B, AOUBE A, et al. Skeletal regeneration for segmental bone loss: vascularised grafts, analogues and surrogates[J]. *Acta Biomater*, 2021, 136: 37-55.

- [11] SUN L, LIU M, LI Y, et al. Biomimetic short fiber reinforced 3-dimensional scaffold for bone tissue regeneration [J]. *Biomed Mater*, 2024, 19 (2): 025030.
- [12] SCHMIDT A H. Autologous bone graft: is it still the gold standard? [J]. *Injury*, 2021, 52 (Suppl. 2): S18-22.
- [13] SINGH R, SINGH D, SINGH A. Radiation sterilization of tissue allografts: a review [J]. *World J Radiol*, 2016, 8(4): 355.
- [14] SHANG F, YU Y, LIU S, et al. Advancing application of mesenchymal stem cell-based bone tissue regeneration [J]. *Bioact Mater*, 2021, 6 (3): 666-683.
- [15] SADOWSKA J M, GINEBRA M P. Inflammation and biomaterials: role of the immune response in bone regeneration by inorganic scaffolds [J]. *J Mater Chem B*, 2020, 8(41): 9404-9427.
- [16] LIN K, XIA L, LI H, et al. Enhanced osteoporotic bone regeneration by strontium-substituted calcium silicate bioactive ceramics [J]. *Biomaterials*, 2013, 34(38): 10028-10042.
- [17] WANG C, CHEN B, WANG W, et al. Strontium released bi-lineage scaffolds with immunomodulatory properties induce a pro-regenerative environment for osteochondral regeneration [J]. *Mat Sci Eng C Mater*, 2019, 103: 109833.
- [18] YUAN C, SONG W, JIANG X, et al. Adipose-derived stem cell-based optimization strategies for musculoskeletal regeneration: recent advances and perspectives [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2024, 15(1): 91.
- [19] STORTI G, SCIOLI M G, KIM B S, et al. Adipose-derived stem cells in bone tissue engineering: useful tools with new applications [J]. *Stem Cells Int*, 2019, 2019: 3673857.
- [20] FERNANDEZ DE GRADO G, KELLER L, IDOUX-GILLET Y, et al. Bone substitutes: a review of their characteristics, clinical use, and perspectives for large bone defects management [J]. *J Tissue Eng*, 2018, 9: 2041731418776819.
- [21] 肖国强, 胡介宇. 骨科植入物修饰策略研究进展 [J]. *重庆医学*, 2018, 47(21): 2840-2843.
- [22] WU M, WU P, XIAO L, et al. Biomimetic mineralization of novel hydroxyethyl cellulose/soy protein isolate scaffolds promote bone regeneration in vitro and in vivo [J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 162: 1627-1641.
- [23] 段其达, 邵鸿运, 骆宁, 等. 3D 打印人工骨支架结合带血管蒂组织瓣移植修复大段骨缺损的研究进展 [J]. *中国修复重建外科杂志*, 2025, 39(5): 639-646.
- [24] 王步祥, 杨铁翼, 赵振群, 等. 组织工程技术在感染性骨缺损治疗中的应用及优势 [J]. *中国组织工程研究*, 2017, 21(28): 4543-4549.
- [25] XIN Y, TANG A, PAN S, et al. Components of the endocannabinoid system and effects of cannabinoids against bone diseases: a mini-review [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 793750.
- [26] PAZARÇEVIREN A E, TEZCANER A, KESKIN D, et al. Boron-doped biphasic hydroxyapatite/ β -tricalcium phosphate for bone tissue engineering [J]. *Biol Trace Elem Res*, 2021, 199(3): 968-980.
- [27] SHEN C, WANG M M, WITEK L, et al. Transforming the degradation rate of β -tricalcium phosphate bone replacement using 3-dimensional printing [J]. *Ann Plas Surg*, 2021, 87(6): e153-162.
- [28] WEN J, SONG M, ZENG Y, et al. Effect of different HA/ β -TCP coated 3D printed bioceramic scaffolds on repairing large bone defects in rabbits [J]. *J Orthop Surg*, 2023, 31 (3): 1022 5536231222121.
- [29] WANG D, LIU Y, LIU Y, et al. A dual functional bone-defect-filling material with sequential antibacterial and osteoinductive properties for infected bone defect repair [J]. *J Biomed Mater Res A*, 2019, 107(10): 2360-2370.
- [30] RADWAN N H, NASR M, ISHAK R A H, et al. Chitosan-calcium phosphate composite scaffolds for control of post-operative osteomyelitis: fabrication, characterization, and in vitro-in vivo evaluation [J]. *Carbohydr Polym*, 2020, 244: 116482.
- [31] SUZUKI O, SHIWAKU Y, HAMAI R. Octa-calcium phosphate bone substitute materials: comparison between properties of biomaterials and other calcium phosphate materials [J]. *Dent Mater J*, 2020, 39(2): 187-199.
- [32] KELLER L, REGIEL-FUTYRA A, GIMENO M, et al. Chitosan-based nanocomposites for the repair of bone defects [J]. *Nanomedicine*, 2017, 13(7): 2231-2240.
- [33] TOPUZ M, DIKICI B, GAVGALI M, et al. Effect of hydroxyapatite: zirconia volume fraction ratio on mechanical and corrosive properties of Ti-matrix composite scaffolds [J]. *T Nonferr Metal Soc*, 2022, 32(3): 882-894. (下转第 2301 页)