

• 论 著 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2023.24.002

网络首发 [https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20231215.1632.004\(2023-12-18\)](https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20231215.1632.004(2023-12-18))

β-磷酸三钙复合改良型富血小板纤维蛋白对兔成骨细胞增殖与分化的影响*

高 也^{1,2}, 芦 帅³, 孙 勇^{1△}

(1. 西南医科大学口腔医学院, 四川泸州 646000; 2. 蒲江县人民医院口腔科, 成都 611630; 3. 西部战区总医院口腔科, 成都 610083)

[摘要] **目的** 探讨 β-磷酸三钙(β-TCP)复合改良型富血小板纤维蛋白(A-PRF)对兔成骨细胞增殖和分化的影响。**方法** 选取新西兰乳兔取颅顶骨制备成骨细胞, 成年雄性新西兰大白兔取耳中央动脉血制备兔 A-PRF。实验分为 4 组: A-PRF(A-PRF 组)、β-TCP(β-TCP 组)及 β-TCP+A-PRF 复合物(复合组)分别与成骨细胞共培养, 空白组无材料仅培养成骨细胞。扫描电镜观察成骨细胞在不同材料上的形态结构, 黏附、生长及增殖情况; 细胞计数试剂盒 8(CCK-8)定量分析 4 组成骨细胞增殖情况; ELISA 检测 I 型胶原蛋白(Col-I)、碱性磷酸酶(ALP)和骨钙素(OCN)分泌情况; 茜素红染色检测矿化结节的形成情况。**结果** 成骨细胞与材料复合培养后, 电镜下见细胞在 β-TCP 表面和内部空隙中, 以及 A-PRF 材料表面生长增殖。CCK-8 结果显示, β-TCP 组培养前 5 d, 细胞生长增殖受到抑制, 其余 3 组细胞未见明显异常; 随培养时间延长细胞增殖明显, 培养过程中复合组和 A-PRF 组细胞数量明显高于 β-TCP 组($P<0.05$)。成骨相关蛋白检测结果显示: Col-I、ALP 和 OCN 的分泌均随时间延长而增加, 同一时间点 Col-I、ALP、OCN 分泌量 β-TCP 组最高, 复合组和 A-PRF 组次之, 空白组最低($P<0.05$)。培养 4 周后检测矿化结节, 复合组生成最多, β-TCP 组和 A-PRF 组次之, 空白组最低($P<0.05$)。**结论** β-TCP 和 A-PRF 复合物对成骨细胞增殖具有明显促进作用, 且能有效促进其成骨相关蛋白分泌和矿化结节的沉积, 具有良好的体外成骨效应, 是理想的骨移植材料。

[关键词] β-磷酸三钙; 改良富血小板纤维蛋白; 成骨细胞; 细胞增殖; 骨相关蛋白; 骨再生
[中图分类号] R318.08 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2023)24-3686-07

Effect of combination of advanced platelet-rich fibrin and β-tricalcium phosphate on the proliferation and differentiation of rabbit osteoblasts*

GAO Ye^{1,2}, LU Shuai³, SUN Yong^{1△}

(1. School of Stomatology, Southwest Medical University, Luzhou, Sichuan 646000, China; 2. Department of Stomatology, Pujiang People's Hospital, Chengdu, Sichuan 611630, China; 3. Department of Stomatology, General Hospital of Western Theater, Chengdu, Sichuan 610083, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the effects of combination of advanced platelet-rich fibrin (A-PRF) and β-tricalcium phosphate (β-TCP) on the proliferation and differentiation of rabbit osteoblasts. **Methods** The cranial parietal bone was extracted from neonatal New Zealand rabbits to prepare osteoblasts, and the central arterial blood of ear was extracted from adult male New Zealand rabbits to prepare rabbit A-PRF. The experiment rabbits were divided into four groups: rabbit A-PRF (the A-PRF group), β-TCP (the β-TCP group) and β-TCP+rabbit A-PRF complex (the composite group) were cultured with osteoblasts, respectively, and in the blank group osteoblasts were cultured without materials. The morphology, adhesion, growth and proliferation of osteoblasts on different materials were observed by scanning electron microscope. The proliferation of osteoblasts in the four groups was quantitatively analyzed by cell counting kit 8 (CCK-8) staining. ELISA was used to detect the expression of collagen-I (Col-I), alkaline phosphatase (ALP) and osteocalcin (OCN). Alizarin red staining was used to detect the formation of mineralized nodules. **Results** After

* 基金项目: 军事口腔医学国家重点实验室开放课题(2016KB01)。 作者简介: 高也(1992—), 主治医师, 硕士, 主要从事富血小板纤维蛋白复成骨研究。 △ 通信作者, E-mail: 1027282052@qq.com。

the composite culture of osteoblasts with the materials, the growth and proliferation of the osteoblasts were observed on the surface of β -TCP and the inner space, as well as on the surface of rabbit A-PRF under electron microscope. CCK-8 results showed that the proliferation of osteoblasts was inhibited at the first five days in the β -TCP group, and the osteoblasts showed no significant abnormalities in the other three groups. The cell proliferation was obvious with the prolongation of culture time, and the number of osteoblasts in the composite group and the A-PRF group was significantly higher than that in the β -TCP group ($P < 0.05$). Osteogenic related protein detection showed that the secretion of Col- I, ALP and OCN increased with time, the β -TCP group showed the most significant increase, followed by the composite group and the A-PRF group, and the blank group had the lowest increase ($P < 0.05$). After four weeks, the composite group of mineralized nodules generated the most, the β -TCP group and the A-PRF group took second place, while the blank group had the lowest ($P < 0.05$). **Conclusion** The combination of A-PRF and β -TCP can obviously promote the proliferation of osteoblasts and the secretion of osteoblast-related proteins and the deposition of calcium nodules, which indicates a good osteogenic effect in vitro, and it is an ideal bone graft material.

[Key words] β -tricalcium phosphate; advanced platelet-rich fibrin; osteoblast; cell proliferation; bone related proteins; bone regeneration

β -磷酸三钙(β -tricalcium phosphate, β -TCP)属于陶瓷磷酸钙类人工骨材料,具有良好的骨传导性能和生物降解性能,还具有一定的骨诱导性^[1-3]。改良型富血小板纤维蛋白(advanced platelet-rich fibrin, A-PRF)来源于自体血液,包含较多白细胞、骨祖细胞、血小板和细胞因子,具有良好的骨诱导性^[4],能有效促进软硬组织的创伤愈合和修复重建^[5-6],并通过促进血管形成来刺激骨缺损愈合^[7-8]。上述两种材料联合应用,不仅可以弥补传统骨支架材料骨诱导性能欠佳的问题,而且在满足骨替代材料支架作用的同时,可以增加材料的骨诱导和成骨性能;此外,还可以避免异体骨和异种骨导致的疾病传播和伦理风险,有望成为理想的骨移植材料。本研究旨在探讨 β -TCP 和 A-PRF 复合材料对成骨细胞的影响,为后期研究提供基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

健康成年雄性新西兰大白兔 6 只,3 月龄,体重($2\ 500 \pm 500$)g,清洁级;新西兰乳兔同胎 4 只,出生 24 h 内,体重 20~25 g,清洁级,均购于成都达硕生物科技有限公司。实验操作遵循《关于善待动物的指导性意见》。

1.1.2 主要仪器与试剂

β -TCP(上海贝奥路生物材料有限公司),A-PRF 工具箱(法国 Nice 公司),A-PRF 真空塑料管(德国 Greiner bio-one 公司),细胞计数试剂盒 8(CCK-8,日本株式会社同仁化学研究所),兔 I 型胶原蛋白(colagen- I, Col- I)、兔碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、兔骨钙素(osteocalcin, OCN)ELISA 试剂盒(上海桥杜生物科技有限公司),茜素红染剂(北京

索莱宝科技有限公司);扫描电子显微镜(日本 Hitachi 公司),电子分析天平(德国 Sartorius 公司),倒置相差显微镜(日本 Olympus 公司),酶联免疫检测仪(美国 Themor 公司),低速离心机(美国 Beckman Coulter 公司)。

1.2 方法

1.2.1 兔成骨细胞的制取

取新西兰乳兔(出生 < 24 h)4 只,颈椎脱臼法快速处死后,浸泡于 75%乙醇内 10 min,移至无菌培养皿内,于无菌操作台分离取出兔颅顶骨,采用组织块贴壁培养法联合改良二次酶消化法^[9]的复合培养方法培养,经传代培养取对数生长期的第 3 代细胞(P3)备用。

1.2.2 β -TCP 的预备

将包装完整的无菌 β -TCP 颗粒(直径 < 0.1 mm)和 β -TCP 圆片(直径 6 mm,高度 2 mm)去包装后,分别缓慢浸没于完全培养基中,轻柔震荡,进行湿润处理,24 h 后取出,见材料完全浸没并沉淀于培养皿底部。移液管轻轻吸取多余培养基,加入磷酸盐缓冲液(PBS)冲洗 3 次后,最后一次吸干液体,收集剩余湿润 β -TCP 材料,备用。

1.2.3 兔 A-PRF 的制备

取成年雄性新西兰大白兔 6 只,称重后固定制动,聚维酮碘消毒,使用 A-PRF 专用离心管 Vacuette (A-PRF 不抗凝真空玻璃涂层塑料管)快速采集兔耳中央动脉血 4 管,每管约 10 mL。迅速将 A-PRF 离心管放入离心机内,配平后 2 000 r/min 离心 24 min,取出室温下静置 5 min。弃上清液,轻柔剥离下部红细胞层后,获得中间 A-PRF 凝胶层,并于 A-PRF 专用工具箱内压制成约 1.0 mm 厚的膜,制备成大小约 1.0 mm $\times$ 1.0 mm 的碎屑,备用。另将 A-PRF 压制

成约 2 mm 厚的膜,并修剪为直径约 6 mm 的膜片,备用。

1.2.4 材料复合

将上述完成制备的 β -TCP 颗粒/圆片和兔 A-PRF 碎屑以 1 : 1 的质量比进行混合^[10],备用。

1.2.5 实验分组

实验分为 4 组,包括无材料对照组(空白组)和 3 个实验组。实验组分别为 β -TCP 组(β -TCP 颗粒/圆片)、A-PRF 组(A-PRF 碎屑/膜片)及复合组(β -TCP 颗粒/圆片+A-PRF 碎屑),将预先制备的材料移至孔板内,要求 3 个实验组材料重量一致。每组设置 3 个副孔,依次加入 P3 细胞,共培养。

1.2.6 扫描电镜观察细胞形态和黏附

取湿润 β -TCP 圆片和 A-PRF 膜片,分别行扫描电镜检测,以观察 β -TCP 和 A-PRF 样品的表面形貌及纳微结构特征。分别在各实验组材料与细胞共培养第 1、3、5 天同一时间点取出培养板中 β -TCP 圆片和 A-PRF 膜片,进行扫描电镜检测。操作时注意正反面,贴近培养板底部为反面,远离培养板底部为正面,正面为检测面。

1.2.7 CCK-8 检测细胞增殖

取 24 孔板,按照上述实验分组将各实验组材料均匀覆盖于孔板底部,材料与细胞共培养(空白组不放置任何材料,纯细胞培养),第 1、3、5、7、9、14 天分别取上清液加入 CCK-8 试剂检测细胞增殖情况,测得 450 nm 处吸光度 $[A_{(450)}]$ 值。实验重复 3 次。

1.2.8 ELISA 检测成骨相关蛋白分泌

同 1.2.7 材料与细胞共培养(空白组不放置任何材料,纯细胞培养),采用 ELISA 试剂盒于第 2、4、8 天分别检测各组细胞 Col-I、ALP 的分泌量,第 12、14、16、18 天检测各组细胞 OCN 的分泌量。实验重复 3 次。

1.2.9 茜素红染色及矿化结节定量分析

取 24 孔板,预先在孔板内放置无菌玻片,同

1.2.7 材料与细胞共培养(空白组不放置任何材料,纯细胞培养),每组 3 个副孔,同时 4 组分别加设空白材料对照(即不接种任何细胞),消除材料导致的干扰因素。材料与细胞共培养,第 4 周时镜下各组均见无定形物质形成,即矿化结节,取出玻片经茜素红染色后,各组矿化结节呈形态不一的橘红色结节状。采用 10%十六烷基氯化吡啶溶解着色矿化结节染料,测得 570 nm 处吸光度 $[A_{(570)}]$ 值,定量分析矿化结节生成情况。

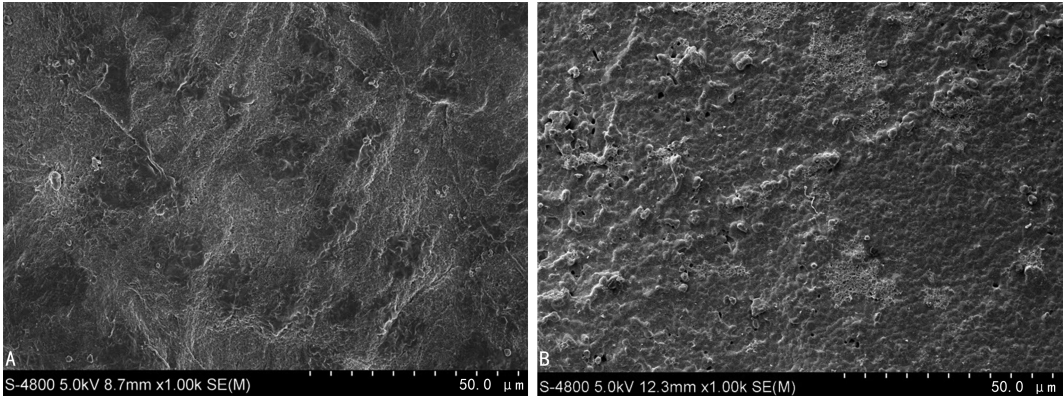
1.3 统计学处理

实验数据采用 GraphPad Prism6.0 软件进行分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD-*t* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 扫描电镜观察细胞形态和黏附

β -TCP 和实验制得 A-PRF 样品的表面形貌及纳微结构特征见图 1。A-PRF 圆片、 β -TCP 圆片及复合物(β -TCP 圆片和 A-PRF 碎屑复合)分别与成骨细胞共培养 24 h 后,扫描电镜检测可见少量细胞在材料表面及孔隙中黏附,伸出多个长短不一的包浆突起紧紧黏附在材料表面及孔隙内,细胞形态为不规则多边形;培养第 3 天时,细胞形态变大,细胞继续伸展,伸出更多伪足并相互连接,与材料黏附更加紧密;培养第 5 天,细胞数目继续扩增,细胞边缘伸出较多突起、伪足,并向四周伸展与相邻细胞间突起伪足相互连接,融合成片,横跨材料孔隙,细胞及细胞分泌的细胞外基质覆盖材料表面。4 组观察结果显示,兔成骨细胞在 β -TCP 与 A-PRF 材料表面及多孔 β -TCP 内部孔隙内黏附、生长、增殖,形态多样。随时间延长,材料上细胞数量增加,并大量分泌细胞外基质,细胞与基质逐渐融合成片状,覆盖支架材料表面。单位观察视野内复合组与 A-PRF 组细胞数目较多,其中复合组增殖最明显, β -TCP 组细胞数目相对较少,见图 2。



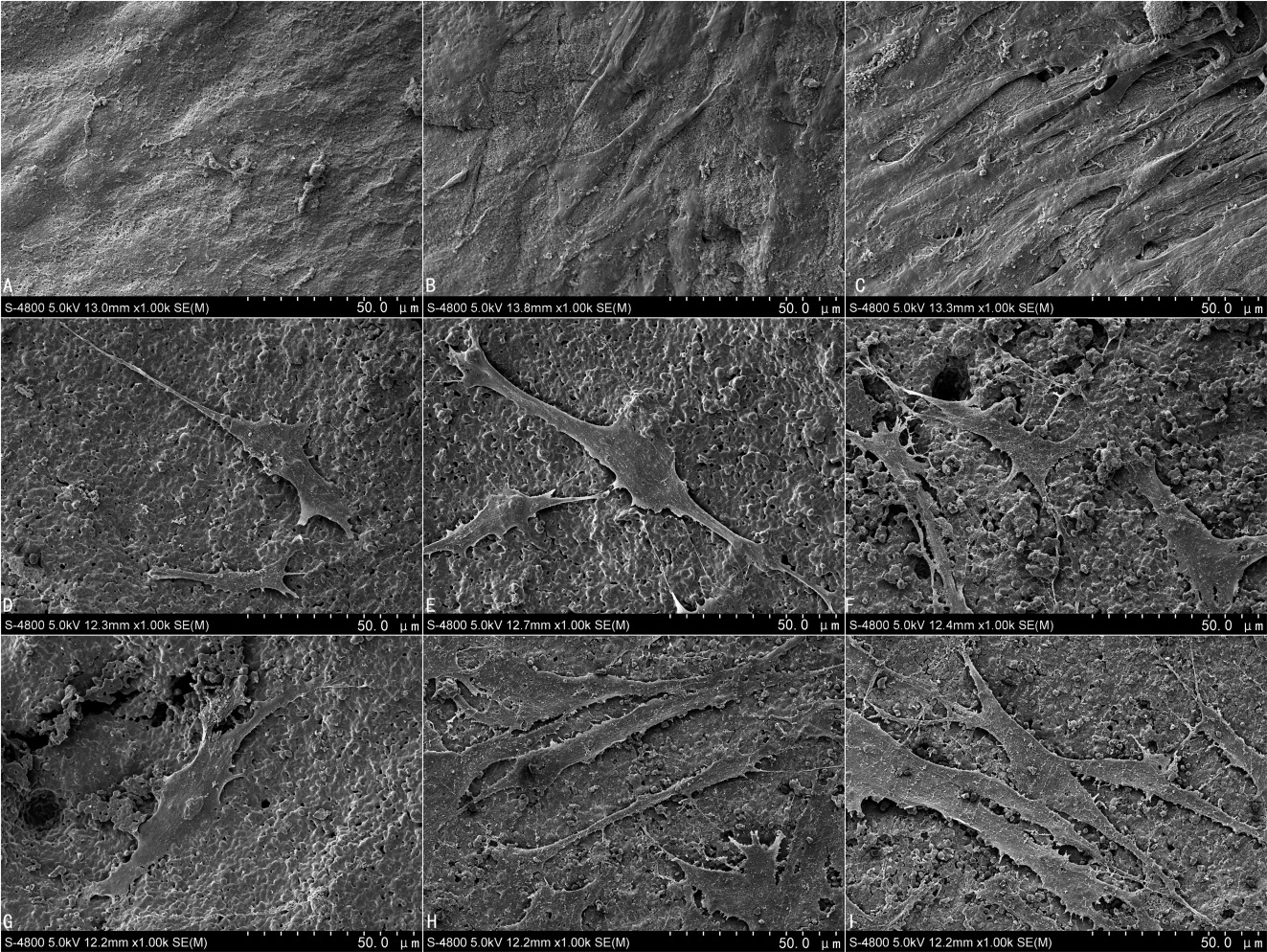
A:A-PRF;B: β -TCP。

图 1 A-PRF 和 β -TCP 样品的扫描电镜图(1 000 $\times$)

2.2 CCK-8 检测细胞增殖

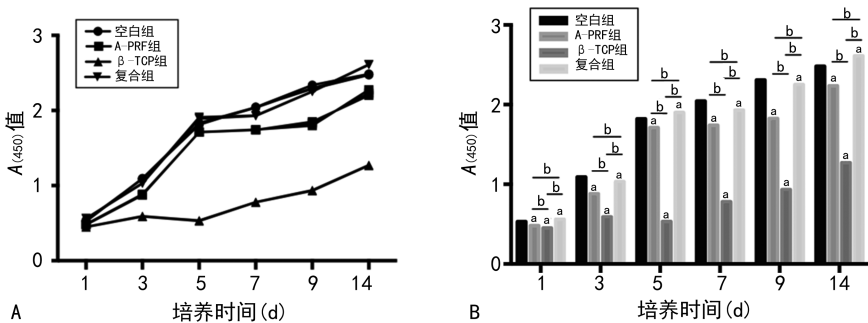
细胞增殖曲线图显示:除 β -TCP 组,其余 3 组细胞培养第 1~5 天,细胞数量呈对数增长;培养第 5 天开始,细胞增殖速度略微减慢;培养第 10 天后生长逐渐进入平台期。 β -TCP 组在培养的前 5 天,细胞增殖

稍受抑制,培养 5 d 后进入快速增殖期,见图 3A。统计分析结果显示:同一时间点复合组和 A-PRF 组细胞数量明显高于 β -TCP 组 ($P<0.05$),且复合组最高,见图 3B。



A~C:分别为 A-PRF 组细胞培养第 1、3、5 天;D~F:分别为 β -TCP 组细胞培养第 1、3、5 天;G~I:分别复合组细胞培养第 1、3、5 天。

图 2 成骨细胞在材料上黏附增殖的扫描电镜图(1 000 $\times$)



A:细胞增殖曲线图;B:细胞增殖柱状图;^a: $P<0.05$,与空白组比较;^b: $P<0.05$ 。

图 3 CCK-8 法检测各组成骨细胞增殖情况

2.3 ELISA 检测成骨相关蛋白分泌量

各组成骨细胞内 Col- I、ALP、OCN 分泌量随着培养时间延长而逐渐增多。统计分析结果显示:各组成骨细胞同一时间点 Col- I、ALP、OCN 分泌量

β -TCP 组最高,复合组和 A-PRF 组次之,空白组最低 ($P<0.05$),见图 4。

2.4 茜素红染色

材料与细胞共培养 4 周后,镜下各组均见无定形

物质形成,即矿化结节,经茜素红染色后,各组矿化结节呈形态不一的橘红色结节状,复合组生成结节最

多, β -TCP 组和 A-PRF 组次之,空白组最少($P < 0.05$),见图 5。

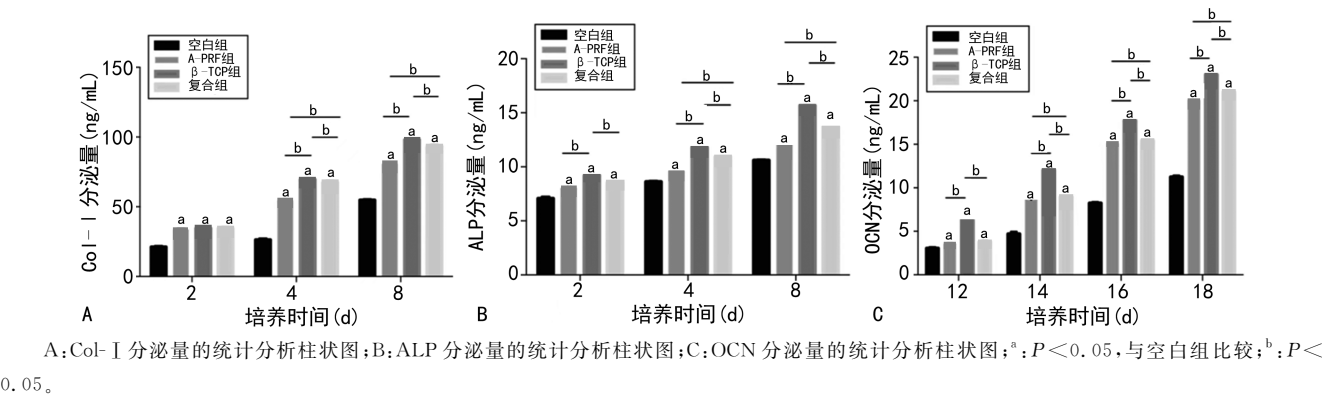


图 4 成骨细胞与材料共培养后各组 Col-I、ALP、OCN 分泌情况

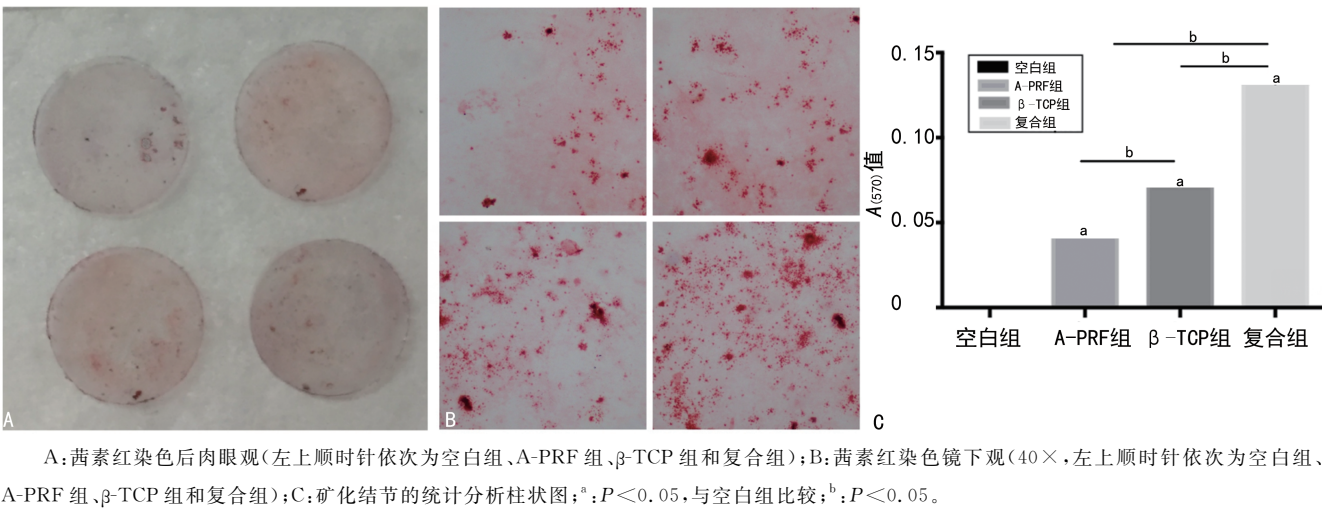


图 5 成骨细胞与材料共培养 4 周后茜素红染色

3 讨论

骨移植材料在临床上用以恢复骨缺损空间,促进缺损区恢复良好的骨量和较高的骨密度。理想的骨移植材料应具备以下 4 个重要性质:生物相容性、良好的机械性能、生物可吸收性和三维高孔隙率结构^[11]。 β -TCP 属于目前研究较多的人工骨替代材料,具有良好的骨引导作用和一定的骨诱导性能。但是由于 β -TCP 降解速度过快,与成骨速度不相匹配,常常需要与其他材料相结合,本实验中 β -TCP 与自体来源、新鲜制备的 A-PRF 材料复合,不存在任何疾病传播、免疫原性和致畸致癌风险,复合后用骨水泥的方式进行骨缺损注射填充,引导和诱导骨组织再生,是一种安全有效的骨缺损再生方法。

骨移植材料的作用本质为刺激周围骨相关细胞在材料表面定植增殖和分化成骨,移植材料的化学成分、晶体结构和表面形态是调节细胞黏附生长、增殖分化、钙盐沉积和新骨形成的关键^[12-13]。磷酸钙材料在接触培养溶液后释放出钙离子,使得材料表面带有正电的 Zeta 电势增加^[14-15],吸引带负电荷的纤维连接

蛋白 (fibronectin, FN) 结合,进而促进整合素附着^[16-17]。整合素是一种跨膜受体,能与特定的细胞基质蛋白组分,如 I 型胶原蛋白和 FN 等结合形成细胞黏附位点,从而介导细胞黏附^[18],增加材料表面对成骨的增殖和分化作用^[19-20]。除了磷酸钙材料表面蛋白吸附作用,材料周围渗透压和 pH 值的变化也是影响细胞生物特性的重要因素。细胞培养环境在一定范围内适当碱化,能促进体外细胞黏附和生长,增强成骨细胞分化和成骨功能^[21]。然而,随着材料溶解增加,培养环境中渗透压和 pH 值过高时,细胞运动明显减少,甚至产生完全不可逆的运动抑制,从而导致细胞凋亡^[22]。而 A-PRF 来自自身血液,对成骨细胞具有较好的亲和性,培养过程中缓慢释放生长因子、细胞因子等成分^[23],具有诱导成骨细胞、促进成骨细胞的趋化和增强有丝分裂的作用,进而促进骨细胞的增殖和合成活性,调节骨折愈合和缺损重塑^[24]。

本实验中,成骨细胞分别与 β -TCP、A-PRF 及二者的复合材料进行共培养,在细胞共培养早期主要由整合素介导进行细胞黏附,特异性基质蛋白成分主要

来源于培养基, β -TCP 的 Zeta 电位作用与 A-PRF 的蛋白亲和性使得各组之间蛋白定植情况基本相似^[25], 细胞的黏附也无明显差异, 细胞形态符合正常成骨细胞形态结构, 细胞生物相容性良好。

随着培养时间延长, 因 β -TCP 材料析出钙磷离子增加, 材料周围渗透压和 pH 值升高, 细胞培养环境的适当碱化能一定程度上促进体外细胞黏附和生长, 增强成骨细胞分化和成骨功能。然而, 当 β -TCP 材料继续溶解时, 过多的溶解产物会导致培养环境渗透压和 pH 值进一步增加, 当培养环境中渗透压和 pH 值过高时, 细胞不能适应这种培养条件, 细胞运动和增殖明显减少; 而 A-PRF 能持续释放生长因子等活性成分, 促进糖酵解和细胞增殖^[26], 因此 A-PRF 组细胞增殖呈现稳步快速上升, 且见细胞外基质的形成和堆积。复合组各含一半质量的 β -TCP 和 A-PRF, 结合两种材料的优势, 避免高渗透压和 pH 值, 细胞增殖效应大于单一材料组, 因此观察到成骨细胞的快速增殖且分泌功能旺盛。此外, 随着培养时间延长, 培养基的更换, 渗透压升高抑制钙离子析出, 成骨细胞释放酸性代谢物质, 培养基的渗透压和 pH 值得到改善, 因此观察到 β -TCP 组在经历培养初期细胞生长增殖抑制后, 开始快速增殖, 但是相对于其他 3 个组, β -TCP 组细胞增殖仍然较慢。在整个增殖过程中, 复合组细胞增殖最明显, A-PRF 组次之, 这与细胞黏附实验结果一致。

β -TCP 材料具有较粗糙的多孔材料表面, 钙离子的析出使得培养基适当碱化, 可促进细胞糖酵解, 促进胶原蛋白合成, ALP 活性增加, 也可促进后期钙沉积和矿化结节生成^[15]。A-PRF 内存在的生长因子对成骨细胞的增殖分化作用并不是单一促进作用, 具有双向多效性, 能促进 ALP 等蛋白分泌, 也可抑制成骨细胞终末分化, 即矿化结节的形成^[6]。但 A-PRF 的生长因子释放主要集中在细胞培养前 10 d, 而钙结节的沉积主要在细胞培养 3 周后^[8], 所以其最终对钙结节沉积没有明显的抑制作用。复合培养组中 β -TCP 含量减少, 相关蛋白分泌稍有减弱, 但由于加入了 A-PRF, 在细胞培养后期降解产物酸化培养基时可促进 β -TCP 的钙离子释放, 从而促进钙沉积和矿化结节形成。

综上所述, β -TCP 联合 A-PRF 材料复合组综合了两种材料的优势, 能有效促进兔成骨细胞的增殖、成骨相关蛋白及矿化结节的形成, 有望成为一种良好的骨替代材料。

参考文献

[1] JIN P, LIUL, CHENG L, et al. Calcium-to-

phosphorus releasing ratio affects osteoinductivity and osteoconductivity of calcium phosphate bioceramics in bone tissue engineering [J]. Biomed Eng Online, 2023, 22(1):12.

[2] HOU X, ZHANG L, ZHOU Z, et al. Calcium phosphate-based biomaterials for bone repair [J]. J Funct Biomater, 2022, 13(4):187.

[3] GARCIA D C, MINGRONE L E, DE SÁM J C. Evaluation of osseointegration and bone healing using pure-phase β -TCP ceramic implant in bone critical defects. A systematic review [J]. Front Vet Sci, 2022, 9:859920.

[4] RAVI S, SANTHANAKRISHNAN M. Mechanical, chemical, structural analysis and comparative release of PDGF-AA from L-PRF, A-PRF and T-PRF: an in vitro study [J]. Biomater Res, 2020, 24:16.

[5] WARIN R, VONGCHAN P, SURIYASATHAPORN W, et al. In vitro assessment of lyophilized advanced platelet-rich fibrin from dogs in promotion of growth factor release and wound healing [J]. Vet Sci, 2022, 9(10):566.

[6] MALLAPPA J, VASANTH D, GOWDA T M, et al. Clinico-radiographic evaluation of advanced-platelet rich fibrin block (A-PRF + i-PRF + nano-hydroxyapatite) compared to nano-hydroxyapatite alone in the management of periodontal intrabony defects [J]. J Indian Soc Periodontol, 2022, 26(4):359-364.

[7] VORAKULPIPAT P, SUPHANGUL S, FUANGTHARNTHIP P, et al. Combination of advanced platelet-rich fibrin and pentoxifylline/tocopherol as a novel preventive option in osteoradionecrosis: a case report [J]. Eur J Dent, 2023, 17(1):250-254.

[8] TRIMMEL B, GYULAI-GAÁL S, KIVOVICS M, et al. Evaluation of the histomorphometric and micromorphometric performance of a serum albumin-coated bone allograft combined with A-PRF for early and conventional healing protocols after maxillary sinus augmentation: a randomized clinical trial [J]. Materials (Basel), 2021, 14(7):1810.

[9] 杨森, 冯付明, 王银辉. 乳兔成骨细胞原代培养与鉴定: 改良胶原酶与胰酶的分段消化 [J]. 中国组织工程研究, 2014, 18(38):6129-6135.

[10] 付冬梅, 周婧, 王浪, 等. 基于 β -catenin 通路研究

- 富血小板纤维蛋白复合 β -磷酸三钙对小鼠成骨细胞成骨分化的影响[J]. 赣南医学院学报, 2022, 42(1): 5-11.
- [11] SEIDENSTUECKER M, KERR L, BERNSTEIN A, et al. 3D powder printed bioglass and β -tricalcium phosphate bone scaffolds[J]. Materials (Basel), 2017, 11(1): 13.
- [12] WANG X, NIE Z, CHANG J, et al. Multiple channels with interconnected pores in a bio-ceramic scaffold promote bone tissue formation [J]. Sci Rep, 2021, 11(1): 20447.
- [13] OTHMAN Z, FERNANDES H, GROOT A J, et al. The role of ENPP1/PC-1 in osteoinduction by calcium phosphate ceramics[J]. Biomaterials, 2019, 210: 12-24.
- [14] JUHL O J 4th, LATIFI S M, DONAHUE H J. Effect of carbonated hydroxyapatite submicron particles size on osteoblastic differentiation[J]. J Biomed Mater Res B Appl Biomater, 2021, 109(9): 1369-1379.
- [15] LE GARS SANTONI B, NIGGLI L, DOLDER S, et al. Effect of minor amounts of β -calcium pyrophosphate and hydroxyapatite on the physico-chemical properties and osteoclastic resorption of β -tricalcium phosphate cylinders [J]. Bioact Mater, 2021, 10: 222-235.
- [16] KIM H Y, KIM B H, KIM M S. Amine plasma-polymerization of 3D Polycaprolactone/ β -tricalcium phosphate scaffold to improving osteogenic differentiation in vitro[J]. Materials (Basel), 2022, 15(1): 366.
- [17] ROSADO-GALINDO H, DOMENECH M. Substrate topographies modulate the secretory activity of human bone marrow mesenchymal stem cells [J]. Stem Cell Res Ther, 2023, 14(1): 208.
- [18] YAMADA S, OTA Y, OBATA A, et al. Osteoblast-like cell responses to ion products released from magnesium-and silicate-containing calcium carbonates[J]. Biomed Mater Eng, 2017, 28(1): 47-56.
- [19] CAO Q, HE Z, SUN W Q, et al. Improvement of calcium phosphate scaffold osteogenesis in vitro via combination of glutamate-modified BMP-2 peptides [J]. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl, 2019, 96: 412-418.
- [20] RYAN D A, CHENG J, MASUDA K, et al. Role of curcuminoids and tricalcium phosphate ceramic in rat spinal fusion [J]. Tissue Eng Part C Methods, 2020, 26(11): 577-589.
- [21] CHOY C S, LEE W F, LIN P Y, et al. Surface modified β -tricalcium phosphate enhanced stem cell osteogenic differentiation in vitro and bone regeneration in vivo[J]. Sci Rep, 2021, 11(1): 9234.
- [22] BONATTI A F, DE MARIA C, VOZZI G. Molecular imprinting strategies for tissue engineering applications: a review [J]. Polymers (Basel), 2021, 13(4): 548.
- [23] GAVRAILOV T, CHENCHEV I, GEVEZOVA M, et al. Effect on cellular vitality in vitro of novel APRF-chlorhexidine treated membranes [J]. J Funct Biomater, 2022, 13(4): 226.
- [24] XIN L, YUAN S, MU Z, et al. Histological and histomorphometric evaluation of applying a bioactive advanced platelet-rich fibrin to a perforated schneiderian membrane in a maxillary sinus elevation model [J]. Front Bioeng Biotechnol, 2020, 8: 600032.
- [25] HUANG S H, HSU T T, HUANG T H, et al. Fabrication and characterization of polycaprolactone and tricalcium phosphate composites for tissue engineering applications [J]. J Dent Sci, 2016, 12(1): 33-43.
- [26] STERCZAŁA B, CHWIŁKOWSKA A, SZWEDOWICZ U, et al. Impact of APRF + in combination with autogenous fibroblasts on release growth factors, collagen, and proliferation and migration of gingival fibroblasts: an in vitro study [J]. Materials (Basel), 2022, 15(3): 796.

(收稿日期: 2023-04-22 修回日期: 2023-08-18)

(编辑: 冯 甜)