

文章编号: 1000-324X(2007)05-1007-04

磷酸钙骨水泥大孔径多孔组织工程支架的制备及其纤维增强

董浩, 叶建东, 王秀鹏, 杨娟娟

(华南理工大学 特种功能材料教育部重点实验室; 华南理工大学 材料学院, 广州 510640)

摘要: 采用粒子溶出造孔法, 用棒状谷氨酸钠晶体作为造孔粒子, 制备磷酸钙骨水泥多孔支架, 研究了造孔粒子含量和支架孔隙率之间的关系, 并加入甲壳素纤维来改善支架材料的力学性能. 结果表明, 支架材料的孔隙率可达 $(79.8 \pm 2.3)\%$, 孔隙直径 $100 \sim 600 \mu\text{m}$; 复合纤维后支架的强度提高了 3~4 倍, 断裂应变显著提高, 可作为非承重部位骨缺损修复的骨组织工程支架材料.

关键词: 磷酸钙骨水泥; 组织工程支架; 纤维增强

中图分类号: TB332 **文献标识码:** A

Preparation of Calcium Phosphate Cement Tissue Engineering Scaffold Reinforced with Chitin Fiber

DONG Hao, YE Jian-Dong, WANG Xiu-Peng, YANG Juan-Juan

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

Abstract: Macroporous calcium phosphate cement (CPC) scaffold was prepared by a salt-leaching method using water-dissoluble rod-shaped monosodium glutamate crystals as poregen. The relationship between the porosity and the amount of poregen was investigated. The results indicate that the porosity of CPC scaffold come up to $(79.8 \pm 2.3)\%$ with a pore size range of $100 \sim 600 \mu\text{m}$. Chitin fibers was incorporated to reinforce CPC scaffold. The compressive strength of the Chitin fibers reinforced CPC scaffold increases 3 to 4 times higher than that of the CPC scaffold without fibers and the strain of fracture increases remarkably. The scaffold material may be applied in the bone tissue engineering for repair of non-load bearing bone defects.

Key words: calcium phosphate cement; tissue engineering scaffold; fiber reinforcement

1 引言

磷酸钙骨水泥 (Calcium phosphate cement, CPC) 具有良好的生物相容性和骨传导性能, 能够任意塑型和自固化, 通过水化反应生成与人骨无机成分相似的弱结晶羟基磷灰石, 植入体内后可被降解吸收, 是一种较理想的骨组织工程支架材料.

组织工程支架材料必须具有三维多孔结构, 孔径要求达 $200 \sim 500 \mu\text{m}$. 为了用 CPC 构建这种结构, 目前使用较多的方法是粒子溶出造孔法, 即在骨水泥粉体中加入大小适当的可溶性晶体颗粒, 如蔗糖、 NaHCO_3 、 $\text{Na}_2\text{HPO}_4^{[1]}$ 、甘露醇^[2], 在骨水泥固化后置于水或者其他溶剂中将晶体颗粒溶出, 留

下孔隙, 得到大孔径多孔支架材料. 粒子溶出造孔法工艺简单, 易操作, 所形成的孔隙具有良好的连通性. 过去使用的造孔粒子一般都是球形颗粒或等轴状晶体, 构造连通孔的效果明显不如棒状晶体. 目前用来造孔的棒状晶体主要是甘露醇晶体^[2], 但是甘露醇晶体需要重结晶获得, 工艺复杂, 而且重结晶后能够用来造孔的晶体产率很低, 所以, 有必要探索一种新型的、简单易得的棒状晶体造孔粒子来制备大孔径多孔组织工程支架材料.

此外, 孔隙率和强度之间的矛盾一直是困扰磷酸钙骨水泥骨组织工程支架材料应用的瓶颈问题, 研究者们采用不同的方法^[1,3-6]对磷酸钙骨水

收稿日期: 2006-10-07, 收到修改稿日期: 2006-11-20

基金项目: 国家自然科学基金 (50172015); 广东省自然科学基金 (04205786, 011561)

作者简介: 董浩 (1981-), 男, 硕士研究生. E-mail: thedonghao@yahoo.com.cn 通讯联系人: 叶建东. E-mail: jdye@scut.edu.cn

泥进行改性,以提高其强度.纤维增强是一种简单易行的方法,能起到良好的增强效果,但对于不同体系、不同配方的骨水泥,纤维增强的效果却有很大的差异.

本工作选用棒状谷氨酸钠晶体作为造孔粒子,通过粒子溶出工艺制备三维连通的磷酸钙骨水泥大孔径多孔支架,并且加入生物相容性良好的甲壳素纤维来改善多孔支架的力学性能.研究了造孔粒子含量和多孔支架孔隙率之间的关系,以及复合纤维前后支架材料的力学性能.

2 实验方法

2.1 原料

研究所用磷酸钙骨水泥粉体包括无水磷酸氢钙(粒径分布为 $0.2\sim 20\mu\text{m}$,中位粒径 $2.8\mu\text{m}$,上海试四赫维化工有限公司)和部分结晶磷酸钙(粒径分布为 $0.2\sim 15\mu\text{m}$,中位粒径 $2.4\mu\text{m}$).部分结晶磷酸钙采用湿化学法合成,通过适当的后期处理而得.将二者按质量比1:1的比例混合得磷酸钙骨水泥粉体.选用 0.24mol/L 的磷酸氢二钠(Na_2HPO_4)溶液作为水泥调和液.使用水溶性谷氨酸钠($\text{C}_5\text{H}_8\text{NO}_4\cdot\text{Na}\cdot\text{H}_2\text{O}$,食品级)晶体作为造孔粒子.谷氨酸钠晶体具有完整的棒状结晶形貌,无毒性,非常适合作为可溶性造孔粒子.用甲壳素纤维(青岛海啸生物工程有限公司)来增强磷酸钙骨水泥多孔支架.甲壳素纤维具有良好的生物相容性和粘附性.选用的甲壳素纤维线密度 $1.2\sim 3.0\text{dtex}$,直径约 $10\mu\text{m}$,断裂强度 $\geq 1.5\sim 2.0\text{cN/dtex}$.

2.2 磷酸钙骨水泥多孔支架材料的制备

第一组样品:按照0%、10%、20%、30%、40%、50%的质量百分比在骨水泥粉体中加入谷氨酸钠晶体颗粒,混合均匀.然后按照液/固比1:3加入 Na_2HPO_4 溶液,搅拌混合后获得骨水泥膏体.用刮板将膏体压入 $\phi 6\text{mm}\times 18\text{mm}$ 的圆柱型不锈钢模具中成型,脱模后将样品放入 37°C 、97%湿度的恒温恒湿箱中保持12h,取出后将样品浸泡在去离子水中,每8h换水一次,浸泡72h后取出烘干待测.

第二组样品:按照与第一组样品的相同比例在骨水泥粉体中加入谷氨酸钠颗粒混合,用调和液调和为膏体后,将膏体均分为一定的等份,按照2%的质量百分比加入长度约为50mm的甲壳素纤维分别均匀混合,成型脱模后处理同上.

2.3 物相分析

将浸泡72h后的样品烘干,在研钵中研成粉体,用X射线衍射仪(型号X'Pert PRO,荷兰PANalytical公司)对粉体进行物相分析.

2.4 孔隙率测定

采用排水法测量多孔支架的孔隙率.

2.5 支架结构与性能表征

用扫描电子显微镜(型号H-800,日本Hitachi公司)观察支架材料的内部显微结构特征,观察前对材料表面进行了喷金处理.制备 $\phi 6\text{mm}\times 12\text{mm}$ 的圆柱形样品,用万能材料试验机(型号Instron 5567,美国Instron公司)测试支架材料的抗压强度.

3 结果和讨论

3.1 支架材料的相组成

图1是固化后的磷酸钙骨水泥支架材料和未添加造孔粒子的骨水泥样品的X射线衍射图谱,通过与标准粉末衍射数据卡片(JCPDS卡片编号:026205)对照,材料的主要物相均是羟基磷灰石($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$).从衍射峰的峰形看,结晶程度较差,两者无明显差异.这表明谷氨酸钠晶体完全溶出,磷酸钙骨水泥固化生成羟基磷灰石的过程没有受造孔粒子谷氨酸钠溶解的影响.

3.2 支架的显微结构和孔的形貌

图2是磷酸钙骨水泥多孔支架不同放大倍数下的扫描电镜照片,从图2(a)、2(b)中可以看出,棒状谷氨酸钠晶体溶解后留下的孔道形貌为方形长孔,孔隙直径约为 $100\sim 600\mu\text{m}$,大部分的孔隙是连通的.图2(c)是高倍数下支架的扫描电镜照片,可以看到有许多几十纳米至几百纳米的微孔存在,这些微孔是骨水泥水化过程产生的孔隙.大孔和微孔构成多级孔径结构,大量微孔的存在给营养物质的交换提供了通道^[7].对于孔径较大的多孔支架,还可对其孔隙内部进行修饰,例如,在其中填充载有细胞或者生长因子的水凝胶或者可降解高分子材料等^[8,9].

3.3 支架的孔隙率

图3是支架材料的孔隙率与造孔粒子谷氨酸钠含量的关系曲线.孔隙率通过排水法测定(用平均值 \pm 标准偏差表示, $n=6$,下同),在谷氨酸钠晶体

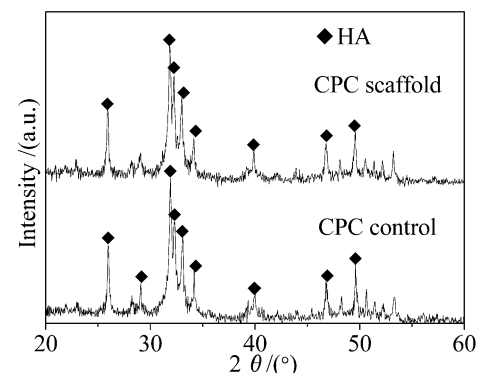


图1 磷酸钙骨水泥材料造孔前后的XRD图谱
Fig. 1 XRD patterns of CPC scaffold and CPC control

含量分别为 0 和 50% 时, 多孔支架的孔隙率分别为 $(46\pm 2.1)\%$ 和 $(79.8\pm 2.3)\%$. 作为造孔粒子的谷氨酸钠棒状晶体长度为 2~3mm, 直径为 100~600 μm , 晶体溶解后留下的孔隙很大. 因此, 谷氨酸钠晶体含量为 30% 时, 多孔支架的孔隙率已经达到 $(72\pm 1.6)\%$.

3.4 支架的力学性能

3.4.1 磷酸钙骨水泥支架的力学性能

组织工程支架材料要具有适宜的力学性能, 材料的力学性能应该与所修复的组织器官的环境相匹配, 使其在体内生物力学微环境中保持结构稳定性和完整性, 并为植入细胞提供合适的微应力环境. 组织工程支架材料存在的一个普遍性问题是高孔隙率与力学强度不足的矛盾: 力学强度在高孔隙率时急剧下降, 对于无机类组织工程支架材料尤其如此^[10]. 图 4 是磷酸钙骨水泥多孔支架的抗压强度与孔隙率的关系曲线. 由图可见, 随着材料孔隙

率的增加, 磷酸钙骨水泥多孔支架的强度急剧下降, 相比没有添加造孔粒子的 CPC, 添加的造孔粒子含量为 50% (孔隙率为 $(79.8\pm 2.3)\%$) 时, 多孔支架的压缩强度从 $(12.62\pm 0.2)\text{MPa}$ 降低到只有 $(0.09\pm 0.02)\text{MPa}$.

对于纤维增强材料, 材料的强度与纤维的含量、强度、直径和长度等有关. 本工作选用长度约为 50mm 的甲壳素纤维, 在骨水泥基体中添加 2% 的甲壳素纤维后, 多孔支架的强度得到了一定程度的提高. 从图 4 可以看出, 对于没有造孔的磷酸钙骨水泥材料, 复合纤维前后材料的强度变化不大; 复合纤维后, 当造孔粒子含量为 10% (孔隙率 $(65\pm 1.9)\%$) 和 50% (孔隙率 $(79.8\pm 2.3)\%$) 时, 多孔支架的抗压强度分别为 $(3.58\pm 0.11)\text{MPa}$ 和 $(0.47\pm 0.023)\text{MPa}$, 是复合纤维前支架强度的 3 倍和 4 倍, 可见, 甲壳素纤维对 CPC 的增强是有效的. 图 5 是用万能材料试验机直接获得的磷酸钙骨水泥支架材料受压过程的应力-形变量曲线. 从图中可以看出, 复合纤维后的支架材料承受的形变量比未复合纤维的支架材料大得多 (17 倍以上), 表明支架材料抵抗形变而

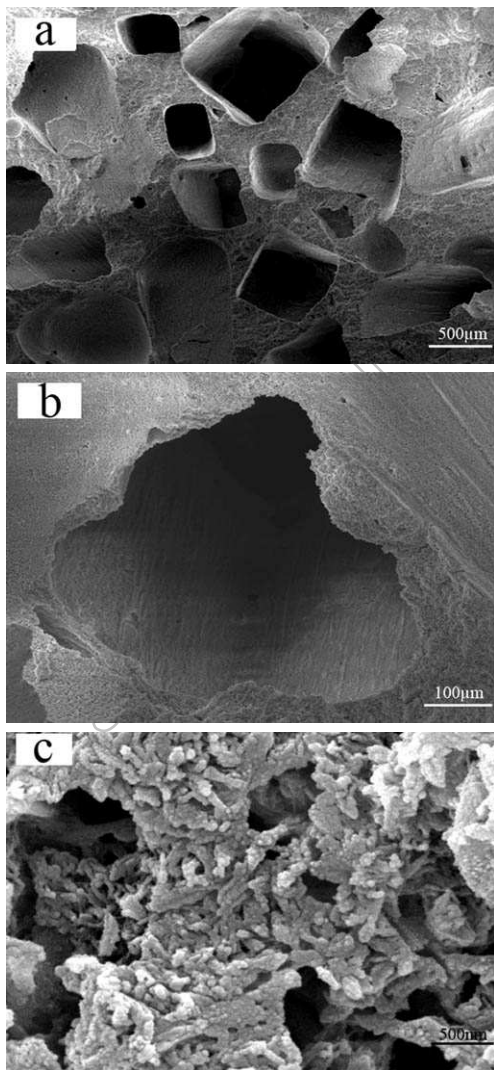


图 2 不同放大倍率下磷酸钙骨水泥多孔支架的扫描电镜照片
Fig. 2 SEM images of CPC scaffold with different magnifications

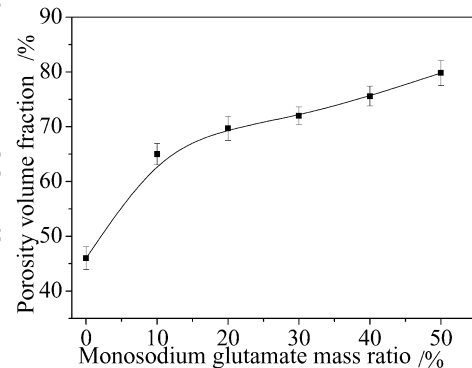


图 3 磷酸钙骨水泥多孔支架的孔隙率与造孔粒子含量的关系曲线

Fig. 3 Porosity of CPC scaffold as a function of monosodium glutamate mass fraction

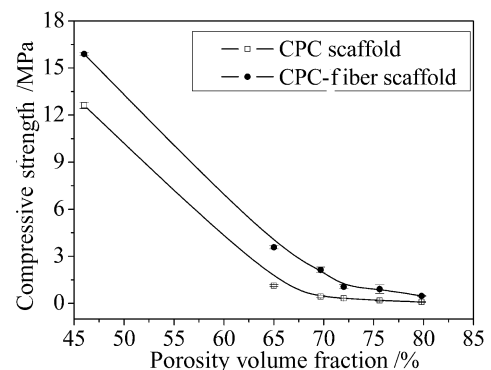


图 4 磷酸钙骨水泥多孔支架的抗压强度与孔隙率关系曲线

Fig. 4 Compressive strength of CPC scaffolds as a function of porosity

不发生破坏的能力显著提高,意味着材料韧性、抗疲劳性能及破损安全性有很大的改善.

3.4.2 磷酸钙骨水泥 / 纤维复合支架的增强机理

磷酸钙骨水泥 / 纤维复合支架材料中,纤维的增强作用主要体现在以下三个方面:①裂纹扩展过程中,裂纹前端遇到纤维时不能轻易穿过或绕过继续扩展,将发生偏转,使裂纹扩展方向偏离与应力垂直的方向,减小了裂纹扩展的驱动力,抑制了裂纹形成贯穿整个基体的平整断裂面;②在裂纹扩展过程中纤维与基体分离并被拔出,吸收裂纹扩展的能量,减小裂纹扩展的驱动力,阻碍裂纹扩展;③纤维起桥联作用,桥接裂纹的两侧,阻止裂纹的张开和扩展^[11,12].图6(a)是磷酸钙骨水泥 / 纤维复合支架断面的低倍扫描电镜照片,孔隙分布在复合了纤维的基体中,可见纤维脱出原位被拔出后留下的一端;图6(b)是基体中某根暴露的纤维的扫描

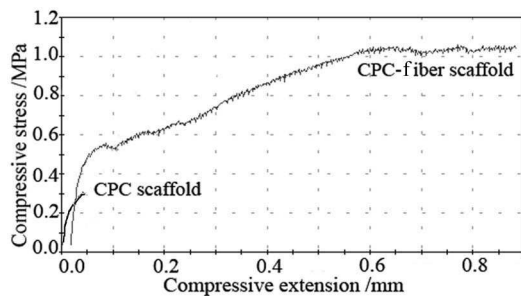


图5 磷酸钙骨水泥多孔支架的应力 - 形变量曲线
Fig. 5 Compressive stress of CPC scaffolds with and without fibers as a function of compressive extension

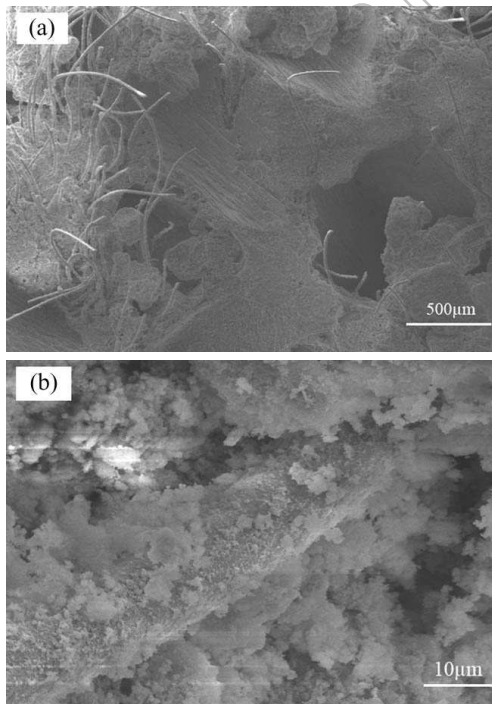


图6 纤维增强磷酸钙骨水泥多孔支架的扫描电镜照片
Fig. 6 SEM images of CPC-fiber scaffolds

电镜照片,可见纤维的表面黏附有羟基磷灰石,说明纤维与磷酸钙基体之间具有良好的相容性和结合界面.基体与纤维之间良好的结合有利于将基体所承受的载荷通过界面传递给纤维,以充分发挥其增强作用,同时有利于在受力形变过程中通过纤维维系支架的完整性.虽然本研究中添加甲壳素纤维到磷酸钙骨水泥中并没有大幅度提高支架材料的强度,但是通过这种方法使支架材料的强度、韧性和抗疲劳性能等得到了一定程度的改善,是磷酸钙骨水泥组织工程支架材料增强研究的一个有益的探索.相信通过进一步探索最适合的纤维长度和纤维含量以及更好的均匀分散方式将可以获得良好的增强效果.

4 结论

采用粒子溶出造孔法,用谷氨酸钠棒状晶体作为造孔粒子,制备了磷酸钙骨水泥多孔组织工程支架材料,支架的孔隙率达到 $(79.8 \pm 2.3)\%$,孔隙直径在 $100 \sim 600 \mu\text{m}$.研究表明,磷酸钙骨水泥多孔支架的强度随着孔隙率的增大急剧下降.研究了通过加入甲壳素纤维与磷酸钙骨水泥复合的方法来提高支架材料的强度,结果表明,复合2wt%的甲壳素纤维可提高支架材料的抗压强度3~4倍,断裂应变显著提高.这种复合支架材料适合作为非承重部位骨修复的骨组织工程支架使用.

参考文献

- [1] Takagi S, Chow L C. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 2001, **12**: 135-139.
- [2] Xu H H K, Takagi S, Quinn J B, et al. *J. Biomed. Mater. Res.*, 2004, **68A**: 725-734.
- [3] 张利, 李玉宝, 周钢, 等 (ZHANG Li, et al). *无机材料学报 (Journal of Inorganic Materials)*, 2006, **21 (5)**: 1197-1202.
- [4] Xu H H K, Eichmiller F C, Giuseppetti A A. *J. Biomed. Mater. Res.*, 2000, **52**: 107-114.
- [5] Khairoun I, Driessens F C M, Boltong M G, et al. *Biomaterials*, 1999, **20**: 393-398.
- [6] Wei G, Ma P X. *Biomaterials*, 2004, **25**: 4749-4757.
- [7] Bovan B D, Hummert T W, Dean D D, et al. *Biomaterials*, 1996, **17**: 137-146.
- [8] Wang X P, Ye J D, Chen L, et al. *Key Engineering Materials*, 2007, **330-332**: 983-986.
- [9] 董浩, 叶建东, 王秀鹏. *功能材料*, 2006, **37 (11)**: 1805-1809.
- [10] 魏杰, 刘昌胜, 洪华, 等 (WEI Jie, et al). *无机材料学报 (Journal of Inorganic Materials)*, 2006, **21 (4)**: 958-964.
- [11] 肖长发. *纤维复合材料 - 纤维、基体、力学性能*. 第一版. 北京: 中国石化出版社. 1991. 6-14.
- [12] 顾震隆. *短纤维复合材料力学*. 第一版. 北京: 国防工业出版社. 1987. 163-172.