

β-磷酸三钙复合材料在口腔组织工程领域的研究进展

章璐淼¹, 刘蕾¹, 孙玉¹, 李恒¹, 孙玉华^{1,2*}

¹徐州医科大学口腔医学院 江苏徐州

²徐州医科大学附属医院口腔科 江苏徐州

【摘要】β-磷酸三钙(β-tricalcium phosphate, β-TCP)复合材料作为一种组织工程支架材料,因其良好的生物相容性、生物降解性、骨传导性成为了组织工程领域的研究热点。随着口腔医学以及材料学的发展,β-TCP在口腔医学领域中的研究取得了较大进展,显示出了广阔的应用前景。该文主要总结了β-磷酸三钙复合材料在口腔组织工程领域的研究进展,并从β-TCP的制备与特性、作为支架材料的基础研究、在口腔领域的临床应用等方面进行归纳综述,旨在加深对β-磷酸三钙复合材料的认识,为其进一步的科学研究和临床应用提供参考依据。

【关键词】β-磷酸三钙; 组织工程; 口腔医学

Research progress on β-Tricalcium phosphate composite in stomatological tissue engineering

Zhang Lumiao¹, Liu Lei¹, Sun Yu¹, LI Heng¹, Sun Yuhua^{1,2*}

¹School of Stomatology, Xuzhou Medical University, Xuzhou Jiangsu, China

²Department of Stomatology, the Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University, Jiangsu

【Abstract】β-Tricalcium phosphate (β-tricalcium phosphate, β-TCP) composite, as a tissue engineering scaffold material, has become a research hotspot in the medical field because of its good biocompatibility, biodegradability and bone conductivity. With the development of Stomatology and materials science, The research of β-TCP in the field of Stomatology has made great progress and shows a broad application prospect. This paper mainly summarizes research progress of β-TCP composites in stomatological tissue engineering, including the preparation and characteristics of β-TCP, the basic research as scaffold material and its clinical application in the field of oral cavity in order to deepen the understanding of β-TCP composites, which provides a reference basis for its further scientific research and clinical application.

【Keywords】β-Tricalcium Phosphate; Tissue Engineering; Stomatology

人类骨组织在正常情况下拥有一定的自愈能力,但因肿瘤、外伤或发育畸形等引起的骨缺损则较难自愈。以往认为,自体骨移植是治愈骨缺损疾病的“金标准”。但传统治疗方式需二次手术,有着治疗周期长、易造成感染、局部畸形、宿主免疫反应等缺点。因此寻找一种优点更多、副作用更少的新型治疗方法是有必要的。组织工程和再生医疗的迅猛发展为治愈骨缺损疾病提供了新思路。β-磷酸三钙(β-tricalcium phosphate, β-TCP)是一种的钙

磷生物陶瓷,同时具有优良的生物相容性以及骨传导性,并且可以在体内逐步降解,是近年来备受关注的支架材料。但其缺点如力学强度不够、韧性较差、不易成型、无法控制降解速率等有待改进。近年来随着材料学的发展,通过物理或生物改性的β-磷酸三钙复合材料被越来越多地运用于颌骨囊肿术后骨缺损修复及牙槽骨缺损治疗等口腔领域的骨缺损相关疾病中^[1]。本文从β-磷酸三钙的特性出发,联系最新相关研究,结合实际临床应用,对其在口

第一作者:章璐淼;第二作者:刘蕾;第三作者:孙玉、李恒;
*通讯作者:孙玉华

腔组织工程领域的研究现状进行综述, 并展望该材料未来发展方向。

1 β-TCP 的制备与特性

β-TCP 粉末常用的制备方法有两种, 液相反应法及固相反应法。β-TCP 多孔陶瓷则可以通过造孔剂成孔法、自然骨煅烧法、有机泡沫浸渍法等工艺制备。支架材料性能由其孔隙的连通性、孔隙率以及孔径共同决定。不同的制备方法得到的 β-TCP 因其气孔形状, 孔隙结构的差异而各具优缺点。通过自然骨煅烧法制备的 β-TCP 的结构与人骨相似, 具有良好的骨传导性。有机泡沫浸渍法虽具有孔径可控、耐高温、制备成本低的优点, 但该工艺制备的 β-TCP 强度较差^[2]。

β-TCP 与人体骨骼组织的无机成分相似, 具有良好的生物活性、生物相容性以及成骨性, 对比羟基磷灰石 (HA) 在溶解速率和降解吸收率上有着显著优势^[3]。β-TCP 降解的过程中可以快速释放钙和磷酸根离子从而刺激成骨细胞基因表达, 有利于新骨的成熟^[4]。其孔隙结构为新生骨组织爬行提供空间, 也可为营养输送和血管再生提供传输通道从而促进骨的愈合。此外 β-TCP 具有良好的药物负载、保护和缓释能力^[5]。能够根据需要搭载不同药物在临床各领域的治疗中发挥作用。但 β-TCP 力学强度不够、韧性较差、不易成型、无法控制降解速率等缺点仍需改进。

为了改善 β-TCP 在力学性能上的不足以及拓展其临床应用范围。在此基础上对 β-TCP 进行改良, 进一步获得新型复合材料如: 聚乳酸-β-磷酸三钙支架 (PLA/β-TCP)、β 磷酸三钙 / 胶原复合材料 (β-TCP/Col)、羟基磷灰石/β-磷酸三钙复合材料 (HA/β-TCP)、含纳米银颗粒的 β-磷酸三钙复合支架 (β-TCP-Ag) 等。通过不同方式改性得到的 β-TCP 复合支架材料因具备优异的生物活性和力学性能而在组织工程中有广阔的应用前景。

2 β-TCP 作为支架材料的基础研究

2.1 β-TCP 在支架材料方面的应用

在前文中提到 β-TCP 与人体骨骼组织的无机成分相似, 具有良好的生物活性、生物相容性以及成骨性等优点, 但其缺点仍需改进。近年来许多学者针对 β-TCP 力学强度不够、韧性较差、不易成型、无法控制降解速率等缺点进行改良。Mohamed H.

Helal 等^[6]将通过计算机辅助设计和制作 (CAD-CAM) 制造的聚乳酸 (PLA) 与 β-TCP 混合获得了力学强度更高的复合支架材料, 并将其充填至雄性比格犬下颌骨 $2 \times 1 \times 1 \text{cm}^3$ 的三维缺损中。术后三个月, 通过计算机断层扫描成功验证其对牙槽骨缺损修复有正向作用。然而由于 PLA 易阻塞宏观孔隙, 导致其植入体内后再生组织难以长入支架。Joshi 等^[7]在此基础上将通过静电纺丝技术制备的 PLA/β-TCP 纳米纤维, 并将其混入甲基丙烯酸水凝胶 (GelMA) 中, 发现这种复合支架材料的孔隙结构未被改变, 在解决了上述问题的同时显示出更好的可调节性和促成骨基因表达能力。通过升温脱水、紫外线照射以及冷冻干燥的处理方法得到的 β-磷酸三钙 / 胶原支架材料 (β-TCP/Col) 具有更高的可塑性和生物相容性。Hojo 等^[8]在骨膜去除模型中验证了在骨缺损处充填 β-TCP/Col 可有效防止牙槽骨吸收并促进骨再生, 进一步证明了 β-TCP/Col 支架利于骨细胞的粘附和增殖。Gokcekaya 等^[9]通过高位煅烧法制备含纳米银颗粒的 β-磷酸三钙复合支架 (β-TCP-Ag) 具有良好的抗菌特性, 可有效预防骨科植入物感染。由此可知, 单纯 β-TCP 具备作为成骨支架材料的基本特性, 在此基础上利用各种前沿材料制备技术将不同材料进行改性和结合得到的复合材料可获得单一材料无法达到的综合性能, 具备更广泛的临床应用范围。

2.2 β-TCP 作为支架材料与生长因子的关系及应用

生长因子是一种由细胞产生, 能够调节细胞的粘附、增殖、分化的多肽。但直接作用于骨缺损部位的生长因子易被体液稀释, 难以发挥持续作用, 效果不佳。因此将生长因子加载在支架材料上, 延缓其稀释是将支架材料与生长因子结合的关键步骤。骨形态发生蛋白-2 (bone morphogenetic protein-2, BMP-2) 是骨组织工程中最常用的生长因子, 此前已有多个临床研究证明了其能够应用于骨不连治疗、牙槽裂治疗、腰椎后路椎间融合术等^[10-12]。Ishack 等^[13]制备骨形态发生蛋白 2-羟基磷灰石/β-磷酸三钙支架 (BMP-2-HA/β-TCP) 能够显著提高骨组织再生速度。Mikai 等^[14]在拔牙后移植骨形态发生蛋白-2/β-磷酸三钙支架 (BMP-2/β-TCP), 发现其可以减少拔牙窝骨坏死。然而有研究表明

BMP-2 的使用可能导致癌症、异位骨生长、神经根炎等并发症, 这些并发症的发生可能与局部高浓度的 BMP-2 有关^[15]。因此还需更多临床研究, 进一步全面评估 BMP-2 的治疗效果以及不良反应。

重组人血小板衍生生长因子 (rhPDGF) 因术后不良反应较少, 已获得美国食品药品监督管理局 (FDA) 的批准。Tavelli 等^[16]定性分析 63 例人体临床研究发现负载 rhPDGF 的 β-TCP 复合支架可用于牙周缺损和牙龈退缩的治疗, 且术后均未报告不良反应。

近年来, 更多具有口腔骨缺损修复潜力的生长因子成为了研究热点。重组人成纤维细胞生长因子-2 (rhFGF-2) 既可以诱导骨髓干细胞增殖, 还可以通过促进血管生成改善局部血运, 加速钙盐沉积及骨矿化。Fukuba 等^[17]将 rhFGF-2 负载于 β-TCP 支架上, 发现其能增强牙周再生中的骨增益和骨填充率, 对拔牙窝的牙槽嵴保存是有效的。此外, 血管内皮生长因子 (VEGF) 和神经生长因子 (NGF) 在促成牙本质细胞分化和牙齿形成中起重要作用, 在口腔组织工程中具有较大潜力^[18]。

2.3 β-TCP 作为支架材料与种子细胞的关系及应用

种子细胞是组织工程的三大基本要素之一。干细胞是组织工程中最常用的种子细胞, 分为胚胎干细胞和成体干细胞。间充质干细胞 (mesenchymal stem cells, MSCs) 因具有较强的自我更新、多向分化、免疫原性低等优点, 被广泛用于组织工程研究及临床应用。Chu 等^[19]通过筛选富集联合循环系统 (SECCS) 制备间充质干细胞/β-磷酸三钙复合支架 (MSC/β-TCP), 发现 MSC/β-TCP 支架在胫骨骨折处的修复效果优于 β-TCP 支架。Almansoori 等^[20]在小猪前磨牙区的 6 个下颌骨缺损处植入了 6 个种植体, 并在骨缺损处加入载有 MSCs 的聚己内酯/β-磷酸三钙支架 (PCL/β-TCP)。通过 μCT 骨形态发生分析和组织形态学分析发现载有 MSCs 的 PCL/β-TCP 支架能够显著促进新骨形成、优化骨再生过程、提高种植体稳定性。细胞老化、产率低是间充质干细胞在体外培养传代过程中无法避免的问题, 介于组织工程需要大量的种子细胞, 研究人员积极寻找解决方法。人诱导多功能干细胞 (hiPSCs) 是近几年发展迅速的新型干细胞技术。通过向成体细胞导入一系列转录因子, 将成体细胞重编程转化

为近似胚胎干细胞的多潜能细胞。hiPSCs 来源丰富、繁殖能力强, 解决了种子细胞需求量大的问题, 且不受伦理道德限制。Hashemi 等^[21]将 hiPSCs 接种在羟基磷灰石/β-磷酸三钙 (HA/β-TCP) 支架上, 表现出较高的成骨基因、骨钙蛋白表达能力, 为组织工程研究提供了新思路。

牙源性干细胞广泛分布于牙髓和牙周膜等结缔组织, 为口腔组织工程提供了基础条件。

从牙髓组织分离出的牙髓干细胞 (DPSCs) 是目前研究较多的牙源性干细胞。Motamedian 等^[22]比较了 DPSCs 在 β-TCP 支架、冻干同种异体骨 (FDBA) 和脱蛋白牛骨矿物质 (DBBM) 上的增殖、分化和附着, 发现 β-TCP 支架具有最大的附着和增值潜能。牙周膜干细胞 (PDLSCs) 和脱落乳牙来源干细胞 (SHED) 因具有高度增殖活性和多向分化能力, 均是较为理想的口腔组织工程种子细胞。有研究表明, β-TCP 对 PDLSCs 和 SHED 均具有良好的生物相容性^[23,24]。

3 β-TCP 在口腔领域的临床应用

β-TCP 作为人工骨替代材料被越来越多地应用于口腔骨缺损修复临床治疗中。其对上颌窦提升及骨量不足时的提升骨量^[25]、颌骨囊肿术后骨缺损修复的治疗均具有一定疗效。有学者对 81 例颌骨囊肿病例进行回顾性分析, 比较传统手术刮治、修复膜、联合应用 β-TCP 支架的治疗效果, 结果显示, 联合应用 β-TCP 支架和修复膜植术后 6 个月植骨区与周围正常骨质间界限已不明显, 镜下可见新骨形成的骨小梁结构, 术后 12 个月植骨区与正常骨密度无显著性差异^[26]。Cao 等^[27]通过临床试验表明, 与自然愈合相比, 应用 β-TCP 支架可以降低拔牙后牙槽骨吸收率, 修复牙槽骨缺损。

但是这种支架材料依旧面临着诸多问题, 制备一种既具有生物安全性和成骨作用, 又有相匹配的降解速度和成骨速度的理想支架材料是科研工作者们奋斗的目标。因此, 有研究应用重组人血小板源性生长因子 BB (rhPDGF-BB) 与 β-TCP 制成的复合支架材料治疗牙槽骨缺损, 结果显示联合生长因子的复合支架材料在新骨形成方面的疗效优于单独应用 β-TCP 支架^[16]。同时吐生江等^[28]通过 Meta 分析得出了相同结论, 但联合生长因子的复合材料其具体疗效仍处于研究探讨的阶段。β-磷酸三钙/胶原支架因其良好的可塑性被制作成各种形状来满足不

同的临床需求, 例如致密的块状、多孔支架用于水平骨缺失修复; 颗粒状的支架用于牙周袋和分歧的缺损修复。随着 3D 打印技术的进展, 3D 聚乳酸-羟基乙酸共聚物/β-磷酸三钙 (3D-PLGA/TCP) 和 3Dβ-磷酸三钙 (3D-TCP) 支架的构建, 使口腔颌面部手术中轻微和严重骨缺损的个性化修复成为可能^[29]。这些研究成果提示了 β-TCP 在口腔临床工作中的巨大前景。

4 小结与展望

近年来随着组织工程研究的不断深入, β-TCP 支架材料作为骨组织工程的关键一环, 其生物安全性、成骨能力已经得到了充分地验证分析。支架材料、种子细胞以及生长因子是骨组织工程的三大要素, 三者相互联系, 相辅相成。β-TCP 支架材料不仅可以通过负载多种生长因子表现出更强大的成骨能力, 还可以促进种子细胞的粘附、增值和分化。但 β-TCP 复合材料现阶段仍有许多问题需要解决:①在提高支架机械性能的同时不影响材料孔隙结构是目前研究的难点;②βTCP 复合有机高分子材料能够改善诸多性能, 但其无菌炎症和降解速率等问题有待解决;③负载生长因子和种子细胞可能是提高骨修复植入材料的有效方法, 但其在体内的稳定性和安全性仍需要进一步研究和考证。

目前, 组织工程在口腔领域的研究都尚处于实验室阶段, 口腔相关的生长因子和种子细胞与 β-TCP 支架材料的关系有待进一步研究。此外有学者指出, 尽管 β-TCP 复合支架材料可以促进种植体周围骨再生, 但仍不能完成种植体周围临界尺寸缺损的骨修复^[30]。由此可见, 口腔组织工程距离临床广泛应用仍有很长一段路要走。

综上所述, 在日后的发展中, 除了研究材料本身的改性外, 还应当重视新型复合材料与临床治疗的衔接, 切实满足临床治疗的需求。运用先进的制备工艺、多学科联合研究、体内体外模型相结合将会是 β-TCP 复合材料研究的趋势。相信在不久的将来可以看到更多性能优良的 β-TCP 复合材料在口腔领域得到广泛的应用。

参考文献

[1] 范克山. 富含 β-磷酸三钙的煅烧骨填充材料修复牙槽骨缺损的临床效果评价[D]. 青岛大学, 2017.

- [2] 邹芬. β-磷酸三钙 (β-TCP) 基多孔骨修复体的功能化构建及研究[D]. 华南理工大学, 2016.
- [3] Jung K W, Lee S Y, Choi J W, *et al.* A facile one-pot hydrothermal synthesis of hydroxyapatite/biochar nanocomposites: Adsorption behavior and mechanisms for the removal of copper(II) from aqueous media [J]. 2019, 369:529.
- [4] Ros-Tárraga P, Mazón P, Rodríguez M, *et al.* Novel Resorbable and Osteoconductive Calcium Silicophosphate Scaffold Induced Bone Formation [J]. 2016, 9 (9).
- [5] Sugiyama T, Akiyama S, Ikoma T J M A. Calcium phosphate with high specific surface area synthesized by a reverse micro-emulsion method [J]. 2016, 1 (11):723.
- [6] Helal M H, Hendawy H D, Gaber R A, *et al.* Osteogenesis ability of CAD-CAM biodegradable polylactic acid scaffolds for reconstruction of jaw defects [J]. 2018, 121:S0022391318303354.
- [7] Joshi M K, Lee S, Tiwari A P, *et al.* Integrated design and fabrication strategies for biomechanically and biologically functional PLA/β-TCP nanofiber reinforced GelMA scaffold for tissue engineering applications [J]. 2020, 164.
- [8] Hojo S, Bamba N, Kojima K, *et al.* Examination of β-TCP/collagen composite in bone defects without periosteum in dogs: a histological and cast model evaluation [J]. 2020, 108 (4):578.
- [9] Gokcekaya O, Ueda K, Ogasawara K, *et al.* In vitro evaluation of Ag-containing calcium phosphates: Effectiveness of Ag-incorporated β-tricalcium phosphate [J]. 2017, 75 (JUN.):926.
- [10] Sandler A B, Scanaliato J P, Raiciulescu S, *et al.* Bone Morphogenetic Protein for Upper Extremity Fractures: A Systematic Review [J]. 2021:155894472199080.
- [11] Xiao W L, Jia K N, Yu G, *et al.* Outcomes of bone morphogenetic protein-2 and iliac cancellous bone transplantation on alveolar cleft bone grafting: A meta-analysis [J]. J Plast Reconstr Aesthet Surg, 2020, 73 (6):1135.
- [12] Mariscal G, Nuez J H, Barrios C, *et al.* A meta-analysis of bone morphogenetic protein-2 versus iliac crest bone graft for the posterolateral fusion of the lumbar spine [J]. J Bone Miner Metab, 2020, 38 (1):54.
- [13] Ishack S, Mediero A, Wilder T, *et al.* Bone regeneration in critical bone defects using three-dimensionally printed β-tricalcium phosphate/hydroxyapatite scaffolds is

- enhanced by coating scaffolds with either dipyrindamole or BMP-2 [J]. 2017, 105 (2):366.
- [14] Mikai A, Ono M, Tosa I, *et al.* BMP-2/β-TCP Local Delivery for Bone Regeneration in MRONJ-Like Mouse Model [J]. 2020, 21 (19).
- [15] Lytle E J, Lawless M H, Paik G, *et al.* The minimally effective dose of bone morphogenetic protein in posterior lumbar interbody fusion: a systematic review and meta-analysis [J]. Spine J, 2020, 20 (8):1286.
- [16] Tavelli L, Ravidà A, Barootchi S, *et al.* Recombinant Human Platelet-Derived Growth Factor: A Systematic Review of Clinical Findings in Oral Regenerative Procedures [J]. 2020, 6 (3):238008442092135.
- [17] Fukuba S, Akizuki T, Matsuura T, *et al.* Effects of combined use of recombinant human fibroblast growth factor-2 and β-tricalcium phosphate on ridge preservation in dehiscence bone defects after tooth extraction: A split-mouth study in dogs [J]. J Periodontal Res, 2021, 56 (2):298.
- [18] Shen Z, Tsao H, LaRue S, *et al.* Vascular Endothelial Growth Factor and/or Nerve Growth Factor Treatment Induces Expression of Dentino genic, Neuronal, and Healing Markers in Stem Cells of the Apical Papilla [J]. J Endod, 2021, 47 (6):924.
- [19] Chu W, Wang X, Gan Y, *et al.* Screen-enrich-combine circulating system to prepare MSC/β-TCP for bone repair in fractures with depressed tibial plateau [J]. Regen Med, 2019, 14 (6):555.
- [20] Almansoori A A, Kwon O J, Nam J H, *et al.* Mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma-impregnated polycaprolactone-β tricalcium phosphate bio-scaffold enhanced bone regeneration around dental implants [J]. Int J Implant Dent, 2021, 7 (1):35.
- [21] Hashemi S, Mohammadi Amirabad L, Farzad-Mohajeri S, *et al.* Comparison of osteogenic differentiation potential of induced pluripotent stem cells and buccal fat pad stem cells on 3D-printed HA/β-TCP collagen-coated scaffolds [J]. Cell Tissue Res, 2021, 384 (2):403.
- [22] Motamedian S R, Tabatabaei F S, Akhlaghi F, *et al.* Response of Dental Pulp Stem Cells to Synthetic, Allograft, and Xenograft Bone Scaffolds [J]. Int J Periodontics Restorative Dent, 2017, 37 (1):49.
- [23] Su F, Liu S S, Ma J L, *et al.* Enhancement of periodontal tissue regeneration by transplantation of osteoprotegerin-engineered periodontal ligament stem cells [J]. Stem Cell Res Ther, 2015, 6:22.
- [24] Chen K, Xiong H, Xu N, *et al.* Chondrogenic potential of stem cells from human exfoliated deciduous teeth in vitro and in vivo [J]. Acta Odontol Scand, 2014, 72 (8):664.
- [25] FUJITA A, FUKUMOTO C, HASEGAWA T, *et al.* Morphometric and histomorphometric evaluations of high-purity macro/microporous beta-tricalcium phosphate in maxillary sinus floor elevation: preliminary results on a retrospective, multi-center, observational study [J]. 2021, 21(1): 448.
- [26] 胡爽,李春梅,张帅源,等.口腔修复膜和 β-磷酸三钙治疗颌骨囊肿术后骨缺损的临床价值[J].华西口腔医学杂志,2020,38(05):541-545.
- [27] Cao C, Wang F, Wang E B, *et al.* [Application of β-TCP for bone defect restore after the mandibular third molars extraction: A split mouth clinical trial] [J]. Beijing Da Xue Xue Bao, 2020, 52 (1):97.
- [28] 吾尔古丽·吐生江,周建业,刘泽文,等.β-磷酸三钙联合联合重组人血小板源性生长因子 BB 治疗骨缺损疗效的 Meta 分析[J].甘肃科技,2021,37(06):153-158.
- [29] Cao S, Han J, Sharma N, *et al.* In Vitro Mechanical and Biological Properties of 3D Printed Polymer Composite and β-Tricalcium Phosphate Scaffold on Human Dental Pulp Stem Cells [J]. Materials (Basel), 2020, 13 (14).
- [30] Chao Y L, Lin L D, Chang H H, *et al.* Preliminary evaluation of BMP-2-derived peptide in repairing a peri-implant critical size defect: A canine model [J]. J Formos Med Assoc, 2021, 120 (5):1212.

收稿日期: 2022 年 1 月 13 日

出刊日期: 2022 年 5 月 27 日

引用本文: 章璐淼, 刘蕾, 孙玉, 李恒, 孙玉华, β-磷酸三钙复合材料在口腔组织工程领域的研究进展[J]. 国际临床研究杂志, 2022, 6(3): 8-12.

DOI: 10.12208/j.ijcr.20220090

检索信息: RCCSE 权威核心学术期刊数据库、中国知网 (CNKI Scholar)、万方数据 (WANFANG DATA)、Google Scholar 等数据库收录期刊

版权声明: ©2022 作者与开放获取期刊研究中心 (OAJRC) 所有。本文章按照知识共享署名许可条款发表。 <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



OPEN ACCESS