

DOI: 10.13376/j.cbils/2020035

文章编号: 1004-0374(2020)03-0257-10



常江, 中科院上海硅酸盐研究所研究员, 博士。国际生物材料学会联合会会士, 英国皇家化学会会士, 美国医学与生物工程院院士, 国际可注射骨和关节生物材料学会副主席, 国家自然科学基金委医学部第四届专家咨询委员会委员, 中国生物材料学会常务理事, 生物陶瓷分会主任委员, 中国生物医学工程学会生物材料分会副主任委员, 组织工程与再生医学分会常委。全国外科植入物和矫形器械标准化技术委员会组织工程医疗器械产品分技委委员。曾获第四届中国侨界贡献奖(创新人才)、第六届中国侨界贡献奖(创新团队)、中国生物材料学会科学技术奖一等奖。

生物陶瓷在组织工程中的应用

王晓亚, 常江*

(中国科学院上海硅酸盐研究所, 高性能陶瓷和超微结构国家重点实验室, 上海 200050)

摘要: 生物陶瓷材料用于修复人体硬组织历史悠久, 近年来已从传统的骨填充替代材料发展到骨组织工程材料, 并且逐渐从硬组织修复领域扩展到了软组织再生领域。特别是硅酸盐生物陶瓷, 作为一种新型陶瓷材料, 因其独特的生物学效应越来越受到研究人员的关注。大量研究表明, 通过调控生物陶瓷的化学组成和表面宏微观结构不仅可以促进硬组织再生, 还可促进多种软组织再生, 为进一步有针对性地设计与开发新型组织工程材料提供了新思路。现结合本课题组近十年的研究, 重点介绍磷酸钙及硅酸盐生物陶瓷在多种组织修复及再生中的研究进展, 并从材料工程和生物学的角度对生物陶瓷的未来研究方向做了展望。

关键词: 磷酸钙生物陶瓷; 硅酸盐生物陶瓷; 骨组织工程; 软组织工程

中图分类号: Q819; TQ174

文献标志码: A

Application of bioceramics in tissue engineering

WANG Xiao-Ya, CHANG Jiang*

(State Key Laboratory of High Performance Ceramics and Superfine Microstructure, Shanghai Institute of Ceramics, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200050, China)

Abstract: Bioceramics have been used for the replacement and repair of damaged hard tissue since 18th century. In recent years, the application of bioceramics has been changing from traditional bone filler and replacement materials to bone tissue engineering materials, and has gradually expanded from the field of hard tissue repair to soft tissue regeneration. Especially silicate bioceramics, a new type of ceramic materials, have been attracting more and more attention due to the unique biological activities. Many studies have shown that the chemical composition and surface macroscopic and microscopic structure of bioceramics can not only stimulate the regeneration of hard tissues, but also promote the regeneration of many soft tissues. These findings provide new ideas for further targeted

收稿日期: 2019-12-04

基金项目: 国家重点研发计划(2016YFC1100201)

*通信作者: E-mail: jchang@mail.sic.ac.cn, Tel: 021-52412804

design and development of new tissue engineering materials. In this paper, the research in the past ten years on bioceramic-based materials for tissue engineering, in particular our research findings in calcium phosphate and silicate bioceramics for both hard and soft tissue regeneration are reviewed, and the future research directions of bioceramics are also prospected from the perspective of materials engineering and biological science.

Key words: calcium phosphate bioceramics; silicate bioceramics; bone tissue engineering; soft tissue engineering

临床上在治疗由外伤、肿瘤切除、重度烧伤、先天畸形等引起的组织器官缺损时常采用自体或同种异体组织移植。例如在骨缺损修复领域, 自体骨移植因其不会产生免疫排斥反应被认为是骨移植的金标准^[1]。但是自体骨来源有限, 存在二次创伤, 并且对于大段骨缺损修复有明显的限制^[2-4], 而同种异体骨可能存在宿主免疫排斥以及疾病传播的风险^[2,5-6], 诸类问题限制了自体以及异体组织的应用。因此, 采用组织工程技术以替代、修复、再生缺损的组织显示了广阔的应用前景。生物材料支架作为经典的组织工程三大要素之一, 在组织工程器官构建中的主要功能是为种子细胞提供生长、细胞外基质分泌的物理支撑。近年来的研究发现, 生物材料支架还能以自身不同的化学信号、微米级结构信号及力学特性诱导种子细胞生长、增殖, 从而调控组织工程化组织和器官的构建^[7-12]。

生物陶瓷是指用作修复和重建人体患病或受损部位的一类陶瓷材料。与其他支架材料相比, 生物陶瓷用在医疗健康领域历史已久, 公元 975 年古人就已经用硫酸钙治疗骨折^[13]。因此, 生物陶瓷由于其在生物降解性、生物相容性和生物力学特性方面有着独特的优势, 一直以来都是组织工程材料的研究重点。在 20 世纪, 生物陶瓷得到了迅速的发展。1963 年, 第一根氧化铝陶瓷作为骨植入材料问世, 之后氧化锆陶瓷作为牙植入体也得到发展^[14-17]。这类材料植入体内后耐腐蚀, 化学稳定性好, 对替代缺损组织的功能起到积极的作用。但这类材料属于生物惰性陶瓷, 植入体内后不降解, 没有生物活性, 与组织间也不存在活性连接^[18]。而理想的组织工程/组织再生材料应该是可以降解并具有生物活性的材料, 随着材料的逐步降解, 新生组织的不断长入, 直至长出新的完整组织^[19-20]。以无机磷酸盐和硅酸盐陶瓷为代表的生物活性陶瓷, 具有优良的生物相容性和生物活性, 可通过调控细胞行为, 如成骨细胞、内皮细胞以及干细胞黏附、增殖、分化等进而影响组织再生^[21-22]。特别是硅酸盐类生物陶瓷已经被证实具有主动诱导细胞分化与组织再生的功能, 不仅可以激活与骨矿化、骨重塑和血管生成有关的

信号通路, 从而诱导骨再生^[23], 还可以通过招募皮肤干细胞, 促进细胞增殖迁移, 胶原蛋白沉积, 促进上皮和真皮形成, 从而加速皮肤创伤愈合^[24-25]。此外, 我们近期的研究发现, 硅酸盐陶瓷还能够激活细胞的旁分泌效应从而促进脂肪和心肌组织再生^[9,26-27]。多年来的研究逐步证实, 硅酸盐陶瓷所释放的生物活性离子可以作为重要的微量元素参与骨以及多种软组织再生, 其独特的生物学效应可满足理想组织修复材料的要求。本文将结合本课题组近十年的研究, 重点介绍生物活性陶瓷, 特别是硅酸盐生物陶瓷在多种组织修复及再生中的研究进展。

1 磷酸钙生物活性陶瓷及其在骨组织工程中的应用研究

研究最为广泛的磷酸钙类生物活性陶瓷包括羟基磷灰石 (hydroxyapatite, HA)、 β -磷酸三钙 (β -tricalcium phosphate, β -TCP) 以及它们的混合物双向磷酸钙 (biphasic calcium phosphate, BCP)。其中, HA 化学成分与人体骨骼中的无机成分相同, 因此对成骨细胞的黏附和增殖有着积极的影响, 植入体内后也表现出良好的生物相容性和骨传导性, 但其降解缓慢。研究表明, HA 植入体内 24 周基本不降解。此外, 这类材料脆性较大, 力学强度较低^[28-29]。 β -TCP 与 HA 陶瓷有着相似的化学组成, 但其降解性优于 HA, 通过降解产生生物活性离子 Ca^{2+} 和 PO_4^{3-} , 进而在陶瓷支架表面形成磷灰石沉淀^[30]。此外, 研究表明 Ca^{2+} 够促进细胞成骨分化, PO_4^{3-} 能通过矿化胶原从而触发骨诱导反应^[21,31]。 β -TCP 陶瓷植入体内后可以与骨形成牢固的化学结合, 但 β -TCP 陶瓷支架的降解速率不能与新骨组织生长速率相匹配, 随着材料的降解, 支架力学强度大幅下降, 因而也只能用于非承重骨的修复^[18]。BCP 是 HA 和 β -TCP 的混合物, 与单纯的 HA 和 β -TCP 相比, BCP 陶瓷具有可控的降解速率、更优的生物相容性和骨再生能力。但因其力学性能难以与人体骨组织相匹配, 在临床应用中有其局限性^[32-34]。总体来说, 不同化学组成的磷酸钙生物陶瓷缺乏明显的主动激活细胞和诱导干细胞成骨分化的活性。

但是, 近年来的研究显示, 具有纳米表面结构的磷酸钙生物陶瓷有可能具有调控细胞行为及诱导骨再生的生物活性。Hong 等^[35]报道在具有特定表面微孔结构的磷酸钙陶瓷上构建纳米级拓扑形貌可以使陶瓷具有生物活性。通过控制材料表面微纳米拓扑形貌、微孔结构以及几何形状可以提高材料表面生物活性蛋白的吸附以及细胞-材料相互作用, 从而赋予材料骨诱导活性^[35]。Lin 等^[36]采用 α -磷酸三钙 (α -tricalcium phosphate, α -TCP) 作为前驱体, 通过水热处理制备得到了表面具有不同纳米结构形貌的 HA 生物陶瓷, 发现纳米拓扑形貌可显著促进成骨细胞黏附、增殖以及分化。Xia 等^[37]采用具有不同纳米表面结构以及微纳米组合表面结构的多孔磷酸钙陶瓷, 加载脂肪来源间充质干细胞, 发现纳米结构和微纳米组合结构都能促进干细胞成骨分化, 而微纳米组合具有最强促进成骨分化活性。采用具有微纳米组合结构加载脂肪干细胞修复骨缺损获得良好效果, 骨再生速度明显快于采用具有相同大孔三维结构, 但表面光滑的磷酸钙陶瓷复合相同干细胞组。

为了探讨微纳米组合结构的促进成骨分化活性效应机理, Zhao 等^[38]首先研究了不同尺寸纯微米图案结构磷酸钙表面结构对干细胞成骨分化的影响, 采用尼龙网筛作为模板, 通过干压成型的方法成功制备出具有有序微米图案化结构的 HA 生物陶瓷。研究发现, 在陶瓷表面引入微米结构可明显改善材料表面的亲水性以及表面能, 并显著促进骨髓间充质干细胞黏附、增殖和成骨分化, 而且微米图案的尺寸与细胞尺寸越接近, 材料诱导成骨分化效应越明显。在此基础上, Zhao 等^[11]又采用模板法和水热法相结合制备出微纳米组合结构的 HA 生物陶瓷, 结果发现与单一结构相比, 微纳米组合结构可显著促进细胞黏附、增殖以及分化; 进一步研究发现, 组合结构一方面通过激活细胞整合素, 进而影响 BMP2 信号通路以及细胞间相互作用, 最终促进细胞成骨分化, 另一方面还可能通过促进蛋白质的选择性吸附进而调控细胞分化。研究证实, 微纳米结构在影响细胞行为方面存在一定的协同作用, 该协同效应可能与微米和纳米结构在调控细胞整合素、BMP2 信号通路以及 Cx43 介导的细胞-细胞间相互作用方面发挥着不同的作用有关^[11]。这一发现不仅解释了微纳米拓扑结构组合效应协同调控细胞分化行为的潜在生物学机制, 也为指导组织工程材料设计提供了新思路。

2 硅酸盐生物活性陶瓷及其在骨组织工程中的应用研究

2.1 硅酸盐陶瓷的制备方法

最简单的硅酸盐生物陶瓷是硅酸钙 (CaSiO_3), 基于 Hench 教授提出的“生物活性”的概念, 西班牙的 De Aza 教授最早对硅酸钙陶瓷的体内外生物活性进行了一系列研究。他们发现硅酸钙是一种高生物活性的陶瓷材料, 可促进大鼠成骨细胞快速黏附^[39], 在植入大鼠胫骨 8 周后可在组织-陶瓷界面处发现类骨磷灰石层, 植入材料与骨组织间形成了活性连接^[40-41]。考虑营养元素在组织新陈代谢中发挥着重要作用, 近年来一些研究制备了含有多种微量元素的多元体系硅酸盐陶瓷, 如 MgO-SiO_2 、 SrO-SiO_2 和 ZnO-SiO_2 等二元体系陶瓷, MgO-CaO-SiO_2 、 ZnO-CaO-SiO_2 、 SrO-CaO-SiO_2 、 $\text{TiO}_2\text{-CaO-SiO}_2$ 、 $\text{ZrO}_2\text{-CaO-SiO}_2$ 、 $\text{P}_2\text{O}_5\text{-CaO-SiO}_2$ 、 SrO-MgO-SiO_2 、 SrO-ZnO-SiO_2 和 $\text{Na}_2\text{O-CaO-SiO}_2$ 等三元体系陶瓷以及 SrO-ZnO-CaO-SiO_2 四元体系陶瓷。

硅酸盐陶瓷的合成方法主要包括溶胶-凝胶法、化学沉淀法、水热法和固体反应法。采用这四种方法均可制备出高纯度、组成相对简单的二元体系陶瓷粉体, 特别是采用水热法可以成功制备高宽比大于 100 以及直径 50~100 nm 的硅灰石纳米线。溶胶-凝胶法因其可以提供均匀的反应体系则更适合于制备较为复杂的三元和四元体系的陶瓷粉体^[42]。制备硅酸盐陶瓷致密块体, 主要采用无压烧结技术。传统的烧结技术难以完全烧结高密度的硅酸盐陶瓷, 主要原因是大多数硅酸盐生物陶瓷的煅烧温度相对较高, 会导致硅酸盐粉末的晶体生长, 进而影响陶瓷块的密度。本课题组采用火花等离子体烧结 (SPS) 制备得到密度高达 99% 的硅酸盐陶瓷致密块体^[43]。

组织工程支架具有三维多孔结构, 传统的硅酸盐生物陶瓷多孔支架制备方法主要包括造孔剂法、模板法等。造孔剂法通过在陶瓷粉体中添加造孔剂, 通过热分解方式去除造孔剂后留下气孔从而制备得到多孔陶瓷支架。Lin 等^[44]采用聚乙二醇造孔剂制备得到了硅酸钙多孔支架, 虽然该支架具有良好的机械强度, 但通过该方法制备的支架的主要缺点是孔隙率低、分布不均匀以及孔道连通性差, 这会阻碍细胞向内生长和营养传输^[45]。本课题组采用聚氨酯泡沫模板法分别制备了具有较大孔径且较高孔连通性的 CaSiO_3 、 $\text{CaMgSi}_2\text{O}_6$ 、 $\text{Ca}_2\text{MgSi}_2\text{O}_7$ 、 $\text{Ca}_7\text{MgSi}_4\text{O}_{16}$ 和 $\text{Ca}_7\text{Si}_2\text{P}_2\text{O}_{16}$ 支架, 但这种方法制备的支架机械强

度差^[46]。与传统的多孔支架制备方法相比, 3D 打印技术在精细调控孔隙形貌、孔径和孔隙率方面具有明显的优势。近年来, 本团队利用 3D 打印技术制备得到的多孔硅酸盐支架在很大程度上实现支架的孔隙率、孔径、孔容积、空间排列和其他表面特性的可控性, 并将其应用于体内骨组织缺损修复^[47-49]。

2.2 硅酸盐陶瓷及其在骨组织工程中的应用研究

近十几年来, 硅酸盐陶瓷一直是骨组织工程支架材料的研究热点, 不仅仅是因为其优良的体外生物矿化活性, 更重要的是, 当硅酸盐陶瓷多孔支架植入体内后与体液相接触, 能够引发多种生物化学反应, 特别是陶瓷在体液环境中可释放多种活性离子, 富集在陶瓷-组织界面处, 通过调控细胞行为从而诱导骨组织再生。作为骨组织工程的三大要素之一, 种子细胞, 特别是干细胞在应用中仍面临着很大的局限性, 这是因为其离体后在体外培养非常容易失去干性, 而且随着扩增次数的增加会迅速老化进而失去多向分化潜能, 这也是目前骨组织工程所面临的一大挑战^[50-53]。虽然过去大量研究报道硅酸盐陶瓷释放的活性离子, 特别是硅(Si)离子能够促进骨髓间充质干细胞增殖以及成骨分化^[23,54-55], 但是干细胞在 Si 离子刺激下大量扩增后是否还能维持其干性, 保留较高的增殖活性, 并且仍然具备向成骨方向分化的能力却不得而知。基于这个科学问题, Xing 等^[8]利用硅酸钙和硅酸锶陶瓷作为 Si 离子以及 Sr 离子的来源, 探究这些活性离子对骨髓间充质干细胞(HBMSCs)快速扩增后增殖能力、干性维持以及成骨分化的影响。研究发现, Si、Sr 离子能够协同促进 HBMSCs 增殖, HBMSCs 在这两种离子的刺激下大量扩增后仍然具有较高的增殖活性以及干性。进一步的研究发现, Si、Sr 离子在调控 HBMSCs 大量扩增后仍然可促进其向成骨方向分化, 并呈现出一定的协同作用。在此基础上, 他们又进一步筛选出 Si、Sr 离子协同促进干细胞增殖以及成骨分化的离子浓度, 发现这两种离子在调控细胞增殖和分化过程中的有效浓度是不同的。通过优选离子浓度在体外先扩增出大量的 HBMSCs, 然后将其包裹在 Si-Sr 离子复合水凝胶中植入裸鼠皮下, 体内结果进一步证实 Si、Sr 离子有助于促进血管化的骨组织再生。

由于获取容易, 尿源干细胞(USCs)在骨组织工程中也有巨大的应用前景。Guan 等^[56]首次研究了硅酸钙生物陶瓷离子浸提液对 USCs 增殖和成骨分化的影响。结果表明, 硅酸钙生物陶瓷离子浸

提液可显著增强 USCs 增殖, 并且通过激活 Wnt/ β -catenin 信号通路促进 USCs 成骨分化。将硅酸钙生物陶瓷颗粒掺入到聚乳酸-羟基乙酸共聚物(PLGA)中制备得到 PLGA/CaSiO₃ 复合支架, 负载了 USCs 后植入裸鼠体内, 结果显示 PLGA/CaSiO₃ 复合支架不仅可以显著刺激 USCs 成骨分化, 还可刺激支架内部血管生长, 为骨组织长入创造了良好的条件。

2.3 硅酸盐陶瓷的3D打印及其在骨组织工程中的应用研究

3D 打印技术是一种快速成型的增材制造技术, 其主要特点在于可以通过结合计算机的精确控制实现逐层制造, 从而实现对材料结构的精确调控。可控和规则的多孔结构进一步有利于营养物质的传输以及细胞向支架迁移。近年来 3D 打印硅酸盐生物活性陶瓷支架在骨修复, 特别是骨组织工程方面的应用尤为突出, 本节介绍不同组分以及不同结构的 3D 打印硅酸盐陶瓷及其在骨组织工程中的研究进展。

2.3.1 不同组分的3D打印硅酸盐陶瓷及其在骨组织工程中的应用研究

硅酸钙陶瓷多孔支架作为一种常见的生物活性材料常被用于骨缺损修复研究^[40]。Wu 等^[47]采用粉末粘结 3D 打印技术制备得到了孔径高度均一的硅酸钙陶瓷支架, 该支架具有优良的抗压强度, 其抗压强度大约是传统聚氨酯模板法制备得到的硅酸钙支架的 120 倍, 并具有生物活性, 可以在模拟体液中诱导类骨磷灰石的形成, 这说明 3D 打印的硅酸钙陶瓷很有希望用于骨组织再生。硅酸三钙(Ca₃SiO₅, C₃S)也是一种具有生物活性的硅酸盐陶瓷材料, 并具有自固化特性。Yang 等^[10]制备得到具有可控三维结构的 3D 打印 C₃S 支架, 由于 C₃S 自固化特性, 打印的支架不需要后续高温烧结就具有较高力学强度, 并可以在打印时加入药物, 通过在支架中成功装载两种药物可以实现支架具有区域选择性的可控药物释放。此外, 他们发现与常规方法制备的 C₃S 骨水泥支架相比, 3D 打印 C₃S 支架明显促进体内骨组织再生^[10]。研究还发现, 不同组分的 3D 打印硅酸盐陶瓷在液体环境中可缓慢释放锶(Sr)、镁(Mg)、硅(Si)、锂(Li)、钼(Mo)等离子, 这些离子为骨相关细胞以及干细胞的黏附、增殖、迁移、分化等提供了良好的微环境, 有利于骨再生。Zhu 等^[57]制备得到了具有较高力学强度和降解性的纯相 Sr₅(PO₄)₂SiO₄ 3D 打印陶瓷支架, 并发现该支架释放的活性离子可显著刺激人脐静脉内皮细胞(HUVECs)增殖和血管生成相关基因表达(KDR、

VEGF、eNOS 和 HIF1 α), 以及兔骨髓间充质干细胞 (rBMSCs) 增殖和成骨相关基因表达 (Runx2、OCN、ALP 和 OPN)。Zhang 等^[58] 制备了一种空心管结构的硅酸盐生物陶瓷 $\text{Ca}_7\text{MgSi}_4\text{O}_{16}$ 支架, 发现该陶瓷释放的离子 (包括 Mg、Ca 和 Si 离子) 可刺激血管生成和骨再生。Chen 等^[59] 制备得到的 $\text{Li}_2\text{Ca}_4\text{Si}_4\text{O}_{13}$ 多孔陶瓷支架具有可控的降解性和优良的磷灰石矿化能力, 该陶瓷释放的离子产物一方面能促进软骨细胞 (RCs) 增殖以及成熟, 另一方面还能促进 rBMSCs 成骨分化, 植入体内后可同时刺激软骨以及软骨下骨再生。我们前期结合溶胶凝胶法和 3D 打印技术制备得到一种掺 Mo 的生物玻璃 (Mo-BGC) 支架, 发现 Mo 离子不仅可以增强生物玻璃的表面密度和抗压强度, 还显著刺激 RCs 和 HBMSCs 增殖和分化, 多孔 Mo-BGC 支架植入体内后表现出促进关节软骨和软骨下骨再生的双重功能^[60]。

2.3.2 不同结构的3D打印硅酸盐陶瓷及其在骨组织工程中的应用研究

生物材料的多级结构在组织修复与重建的过程中起着至关重要的作用。骨修复支架的宏观大孔形貌与骨生长、营养运输密切相关, 支架表面微纳米结构特性对于调控细胞黏附、增殖、分化以及细胞-细胞和细胞-基质相互作用非常重要^[30]。Xu 等^[48] 制备得到了不同孔结构 (正方形、三角形、平行四边形) 的大孔叠磷硅钙石 3D 打印支架, 发现与 β -TCP 多孔支架相比, 叠磷硅钙石支架具有优异的力学强度、降解性及能够支持成骨细胞的增殖及碱性磷酸酶 (ALP) 表达, 其离子释放产物能够促进血管内皮细胞的成血管作用。此外, 他们还发现正方形孔结构的支架具有更高的力学性能, 平行四边形大孔结构的支架具有最优促进成骨细胞增殖及 ALP 表达的能力。在此基础上, Xu 等^[49] 又通过 3D 打印与冷冻干燥相结合的方法, 成功制备了一种具有多级多孔结构的叠磷硅钙石/丝素蛋白复合支架, 该复合支架的多级孔道结构是由陶瓷构成的一级孔结构 (~1 mm) 以及丝素蛋白基质构成的二级孔结构 (~50-100 μm) 组成。复合支架不仅拥有优良的矿化能力, 还拥有较高的力学性能, 抗压强度达到 25 MPa。复合后支架的细胞黏附率得到了显著的改善。此外, 叠磷硅钙石/丝素蛋白复合支架与纯陶瓷支架相比, 其细胞增殖能力、ALP 活性及成骨相关的基因表达都得到了显著的提高, 同时在体内也能更好地诱导新骨组织生成^[49]。

在临床上大块骨缺损的修复一直是一个挑战,

其中一个关键问题是如何解决大尺寸骨再生过程中的血管化。本研究团队前期受自然界中莲藕内部结构的启发, 制备出了仿生莲藕结构的 3D 打印复杂结构生物陶瓷支架, 大大促进新血管和骨组织的长入, 有利于大块骨缺损修复^[61]。通过调控 3D 支架的基元堆砌方式和孔道数目可调控该仿生莲藕支架的孔隙率和力学强度, 使得该仿生莲藕支架的最高孔隙率达到了 80%, 力学强度可以达到 40 MPa 以上。该研究选择生物活性良好的镁黄长石 (Akermanite) 硅酸盐生物陶瓷作为基体代表材料, 来探究这种仿生莲藕材料在骨组织再生工程中的性能和应用, 其中分别制备了具有单孔道、双孔道、三孔道和四孔道的仿生莲藕生物陶瓷支架, 与具有同直径构筑基元的 3D 打印支架相比, 这种仿生莲藕镁黄长石生物陶瓷支架更有利于细胞的黏附和增殖, 并且随着通道数目的增加, 其效果越明显。在 4 周的大鼠肌袋植入实验中, 血管微灌注实验结果表明, 这种莲藕状平行多通道结构能有效促进血管长入到通道内以及支架内部, 为后期的成骨提供了有利条件。在 12 周的兔子颅骨缺损实验中, micro-CT 和组织切片 VG 染色表明, 与传统支架材料相比, 这种仿生莲藕生物支架大大提高了骨组织再生能力^[61]。

3 硅酸盐生物活性陶瓷在软组织工程中的应用研究

虽然生物陶瓷一直被认为适用于骨组织再生及骨组织工程, 但近些年来越来越多的研究发现, 一些生物陶瓷释放的无机离子可以调控细胞行为, 激活细胞间的相互作用, 包括促进多种干细胞定向分化及调控软组织相关细胞行为, 在多种软组织修复再生方面具有潜在的应用前景。例如, 铜 (Cu) 离子、钴 (Co) 离子、锶 (Sr) 离子可诱导血管再生^[8,62-63]; 锌 (Zn) 离子、镁 (Mg) 离子可激活与血管生成以及胶原蛋白沉积相关机制, 促进上皮和真皮形成, 从而诱导皮肤再生^[24-25]。特别是本课题组近年来研究发现, Si 离子是一种多功能的生物活性离子, 不仅可以促进干细胞成骨分化, 还可能对血管、皮肤、脂肪、心肌等多种软组织再生具有诱导作用^[9,23,26-27,64-66]。

3.1 硅酸盐生物活性陶瓷在皮肤组织工程中的应用研究

急、慢性皮肤创面的修复以及损伤部位皮肤再生一直是临床上的一项挑战, 研发能够快速促进皮肤再生的组织工程产品以修复皮肤创伤具有十分重

要的科学及临床应用意义。我们研究团队前期制备得到了锌黄长石/海藻酸和镁黄长石/海藻酸这两种复合水凝胶，研究发现这两种复合水凝胶体外不仅能够维持与创伤修复相关的内皮细胞 (HUVECs) 和成纤维细胞 (HDFs) 正常的生长增殖和促进两种细胞的迁移，而且还能够在两种细胞共培养的体系中通过加强两种细胞的相互作用和旁分泌作用来促进 HUVECs 细胞成血管分化。通过构建慢性皮肤创伤模型，研究进一步发现锌黄长石/海藻酸和镁黄长石/海藻酸这两种复合水凝胶能够通过招募皮肤干细胞和促进细胞增殖和迁移以及胶原蛋白沉积，促进上皮和真皮形成，从而加快创伤修复的过程^[24-25]。

大量研究表明，在绝大部分组织修复过程中(如创伤修复)，炎症细胞能够招募干细胞、成纤维细胞、血管内皮细胞等受体细胞至创伤部位参与组织修复，同时分泌诸多因子调节修复进程，在组织修复中扮演着至关重要的角色^[67-68]。Dong 等^[69]从炎症的角度入手，发现生物玻璃 (BG) 释放的活性离子 (主要是 Si 离子) 能够影响巨噬细胞 (RAW264.7) 的极化，促进 RAW264.7 朝 M2 极化，进而促进巨噬细胞与内皮细胞以及成纤维细胞的相互作用，最终促进血管化以及成纤维细胞基质蛋白的表达并促进皮肤再生。

细胞治疗是创伤修复的有效手段之一，干细胞在创伤修复中扮演着非常重要的角色^[70-72]。Zhang 等^[73]用 BG 活化的尿源干细胞 (USC) 的条件培养液来培养 HUVEC 和 HDF，发现经 BG 活化后，USC 生长因子的表达明显提高，其条件培养基能够明显地促进 HUVEC 网状结构的形成，促进 HDF 基质蛋白的分泌和成纤维分化，促进 HDF-HUVEC 之间的交流。而且研究发现，经 BG 活化后的 USCs 在创口部位能够更好地促进血管新生和胶原沉积，继而促进创口愈合。通过进一步对 BG 浸提液成分分析，发现 Si 离子在调控干细胞与受体细胞相互作用以及促进创伤修复方面起主要作用。

除了单一活性离子可以通过调控细胞行为诱导皮肤再生，结构信号也会影响皮肤相关细胞的细胞行为，我们选择 PCL/PDLLA 电纺纤维膜提供结构信号，BG 释放的活性离子 (主要是 Si 离子) 提供化学信号，同时观察生物材料结构信号和化学信号对单一类型细胞 (如 HDF 和 HUVEC) 细胞行为的影响。结果显示，电纺纳米纤维支架的结构信号主要影响细胞的形貌和骨架变化而对细胞增殖无明显

刺激作用，活性离子化学信号主要促进细胞增殖但对细胞骨架变化无明显作用，同时这两种信号都能分别促进细胞分化及蛋白质分泌表达，并体现出明显的协同作用^[74]。考虑皮肤创伤修复过程中有多种细胞同时参与，本团队进一步研究了生物材料结构信号和化学信号及其组合信号对 HBMSC-HUVEC 和 HDF-HUVEC 共培养体系中细胞-细胞相互作用的影响。结果显示，PCL/PDLLA 电纺膜纳米纤维的结构活性信号和活性离子化学活性信号在促进 HBMSC-HUVEC 以及 HDF-HUVEC 的相互交流过程中具有明显的协同效应。该协同效应主要来源于电纺丝纳米纤维的结构信号和活性离子的化学信号在影响细胞-细胞间相互交流过程中所扮演的不同角色：结构信号主要能促进细胞间通过缝隙连接以及黏附连接进行的交流，而化学信号主要能促进细胞间通过扩散性的因子和特定受体进行的相互作用。正是由于两种活性信号扮演的角色不同，才能协同作用，更好地促进细胞间相互交流，从而促进组织再生^[66,75]。动物实验结果也进一步证实这两种信号可以协同促进皮肤组织再生^[66]。

3.2 硅酸盐生物活性陶瓷在脂肪组织工程中的应用研究

临床上治疗软组织缺损的方法有自体脂肪移植和材料填充，但都存在一定的缺陷，特别是移植脂肪组织的血管化是移植是否成功的关键之一。采用干细胞诱导成脂肪细胞脂肪组织工程构建是解决目前脂肪移植缺陷的重要策略之一。但是到目前为止，构建的工程化脂肪组织在植入体内后的长期效果也不理想，干细胞成脂分化诱导效率不高，从而导致成脂率不高。构建的脂肪组织成活率低，主要是由于血管化程度低，导致脂肪组织生长缓慢，容易坏死。本课题组首次报道了硅酸盐生物陶瓷所释放的活性 Si 离子可以促进血管化的脂肪组织再生^[9]。研究发现，Si 离子通过增强 HBMSC 成脂分化驱动力，也即增强成脂分化开关 PPAR γ 和 C/EBP α 的表达促进 HBMSC 成脂分化。一旦细胞被推向了成脂分化轨道，即使没有了分化诱导剂 Si 离子依然可以继续促进细胞沿成脂分化方向继续分化。此外，研究还证实 Si 离子通过将其化学信号转化为生物学信号，作用于脂肪细胞和内皮细胞共培养体系，通过调控脂肪细胞和内皮细胞相互作用，同时激活脂肪组织形成的两个主要生物学过程——成脂和成血管，并且能有效抑制共培养的干细胞诱导的脂肪细胞去分化。其中，Si 离子在促进 IGF1 以及 VEGF

的表达中发挥了重要的作用。对于激活成血管分化途径, Si 离子主要激活了 VEGF/VEGFR2 和 IGF1/IGF1R 信号通路, 其中刺激旁分泌信号起主要作用。对于激活成脂以及抑制去分化途径, Si 离子主要激活了 IGF1/IGF1R 信号通路, 其中刺激自分泌信号起主要作用。基于体外的研究发现, 本课题组又设计了一种能释放出 Si 离子的复合水凝胶, 可以包裹成脂诱导的间充质干细胞及血管内皮细胞, 并植入裸鼠皮下, 结果表明 Si 离子可以同时刺激体内血管新生以及脂肪组织再生。这部分研究证实从硅酸盐生物陶瓷中释放出来的 Si 离子可以作为成脂分化的化学刺激信号以促进脂肪再生, 因此, 能够释放生物活性 Si 离子的陶瓷可以用于脂肪组织工程构建。

3.3 硅酸盐生物活性陶瓷在心肌组织工程中的应用研究

心肌梗死已经成为当前人类健康的最大威胁之一, 具有很高的发病率与死亡率^[76]。探索有效的新方法来修复受损心血管和心肌组织以重建心脏功能已成为亟待解决的医学难题, 具有十分重要的科学与临床应用意义。在近期的研究中, 我们通过在外构建低氧低糖细胞模型以模拟缺血性心肌梗死的缺氧缺血环境, 发现硅基生物材料释放的 Si 离子能够促进心肌细胞成熟, 维持心肌细胞存活, 抑制其凋亡。特别是发现 Si 离子在低氧低糖状态下有效抑制 p38 和 cleaved-caspase3 蛋白表达并同时促进 ERK1/2 的表达, 这说明 Si 离子能够通过调控细胞凋亡相关蛋白的表达, 减缓心肌细胞凋亡, 从而使受损心肌细胞启动自我保护机制。此外, 研究进一步发现 Si 离子可促进心肌细胞与内皮细胞间信号交流, 并通过旁分泌效应促进血管生成^[26]。基于以上发现, 我们以壳聚糖天然高分子为基底, 制备出具有缓慢释放有效浓度的活性 Si 离子以及具有定向纳米结构排列的硅酸钙/壳聚糖复合纤维膜, 以探究化学和结构联合信号对于心肌相关细胞的调控以及心梗后对心脏功能恢复的影响。研究发现, 该纤维膜可刺激新生鼠心肌细胞黏附, 促进心肌细胞增殖以及心肌成熟。此外, 研究还发现, 硅酸钙/壳聚糖复合纤维膜可刺激脐静脉内皮细胞 (HUVECs) 黏附, 并沿纤维排列方向取向生长, 形成致密的细胞层, 并显著刺激成血管相关特异性基因 VEGF、KDR、eNOS 表达。通过小鼠心梗模型, 证实了该心肌补片支架负载心肌细胞移植到心梗部位后明显改善心梗小鼠的心脏功能^[27]。这些研究成果显示硅

酸盐生物活性陶瓷在心肌缺损修复方面具有的应用潜力。

4 展望

生物陶瓷领域的研究已经从最初的情性陶瓷对骨损伤填充与替代发展为能够主动调控细胞行为、积极促进组织再生的生物活性材料。在过去的二十多年里, 越来越多的研究显示生物陶瓷表面特定的拓扑结构以及其释放的特定化学离子信号有可能具有直接调控细胞命运的潜能。通过利用生物陶瓷结构及组成特征调控细胞行为, 优化组织工程支架构建, 从而有望在骨组织, 甚至是多种软组织再生方面获得进一步应用。而结合 3D 打印技术, 生物活性陶瓷的组织工程应用还将进一步拓展。不过, 要实现最优的组织材料设计及完美的组织工程构建, 仍然需要解决以下关键科学和技术问题: (1) 生物陶瓷的宏观三维结构、支架表面微纳米结构及陶瓷释放的活性离子对不同细胞的调控机制。由于一方面不同生物陶瓷结构和化学组成对细胞及组织再生调控作用不同, 另一方面同一种特定生物陶瓷材料对不同细胞和组织调控的作用也可能不相同, 要想优化生物陶瓷组织工程材料设计, 必须首先阐明生物陶瓷材料与细胞及组织相互作用的机制, 包括对于不同组织的共性规律及对于不同细胞和组织的特异性调控规律。(2) 基于生物活性陶瓷特点的相关组织工程技术的整合及优化。考虑不同陶瓷材料针对不同细胞组织的活性结构及组成要求, 结合 3D 打印技术特点, 需要协同考虑活性陶瓷的特定陶瓷设计制备特点与 3D 打印技术工艺特点, 发展新型组织工程支架制备技术及组织工程化组织构建技术。对于软组织工程构建, 还需考虑生物陶瓷与高分子复合材料的制备及 3D 打印技术, 包括生物 3D 打印及打印过程中生物活性陶瓷复合材料与所包裹细胞的相互作用。总之, 生物陶瓷研究已经到了一个新时期, 生物陶瓷及其复合材料不仅在硬组织损伤修复, 而且在软硬组织工程应用方面将有非常巨大的应用前景, 为再生医学的发展做出巨大贡献。

[参 考 文 献]

- [1] Urist MR, Dowell TA, Hay PH, et al. Inductive substrates for bone formation. Clin Orthop Relat Res, 1968, 59: 59-96
- [2] Finkemeier CG. Bone-grafting and bone-graft substitutes. J Bone Joint Surg Am, 2002, 84: 454-64
- [3] Putzier M, Strube P, Funk JF, et al. Allogenic versus

- autologous cancellous bone in lumbar segmental spondylolysis: a randomized prospective study. *Eur Spine J*, 2009, 18: 687-95
- [4] Stevenson S, Emery SE, Goldberg VM. Factors affecting bone graft incorporation. *Clin Orthop Relat Res*, 1996, (324): 66-74
- [5] Zimmermann G, Moghaddam A. Allograft bone matrix versus synthetic bone graft substitutes. *Injury*, 2011, 42: S16-21
- [6] Damien CJ, Parsons JR. Bone graft and bone graft substitutes: a review of current technology and applications. *J Appl Biomater*, 1991, 2: 187-208
- [7] Murphy WL, McDevitt TC, Engler AJ. Materials as stem cell regulators. *Nat Mater*, 2014, 13: 547-57
- [8] Xing M, Wang X, Wang E, et al. Bone tissue engineering strategy based on the synergistic effects of silicon and strontium ions. *Acta Biomater*, 2018, 72: 381-95
- [9] Wang X, Gao L, Han Y, et al. Silicon-enhanced adipogenesis and angiogenesis for vascularized adipose tissue engineering. *Adv Sci*, 2018, 5: 1800776
- [10] Yang C, Wang X, Ma B, et al. 3D-printed bioactive Ca_3SiO_5 bone cement scaffolds with nano surface structure for bone regeneration. *ACS Appl Mater Inter Faces*, 2017, 9: 5757-67
- [11] Zhao C, Wang X, Gao L, et al. The role of the micro-pattern and nano-topography of hydroxyapatite bioceramics on stimulating osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells. *Acta Biomater*, 2018, 73: 509-21
- [12] Yuan H, Qin J, Xie J, et al. Highly aligned core-shell structured nanofibers for promoting phenotypic expression of vSMCs for vascular regeneration. *Nanoscale*, 2016, 8: 16307-22
- [13] Dorozhkin SV. A detailed history of calcium orthophosphates from 1770s till 1950. *Mat Sci Eng C-Mater*, 2013, 33: 3085-110
- [14] Yogya M, SaintPierre PD, Thorne K. Sol-gel processing of high-yield, dense alumina bioceramics[C]. Proceedings of the 1997 16th Southern Biomedical Engineering Conference, 1997: 268-71
- [15] Ferrage L, Bertrand G, Lenormand P, et al. A review of the additive manufacturing (3DP) of bioceramics: alumina, zirconia (PSZ) and hydroxyapatite. *J Aust Ceram Soc*, 2017, 53: 11-20
- [16] DimitrovaLukacs M, Lukacs P, Sajo I, et al. Sintered glass-bioceramics reinforced with zirconia particles. *Silic Ind*, 1996, 61: 15-21
- [17] Stefanic M, Kosmac T. β -TCP coatings on zirconia bioceramics: the importance of heating temperature on the bond strength and the substrate/coating interface. *J Eur Ceram Soc*, 2018, 38: 5264-9
- [18] Hench LL. Bioceramics--from concept to clinic. *J Am Ceram Soc*, 1991, 74: 1487-510
- [19] Zheng YF, Gu XN, Witte F. Biodegradable metals. *Mat Sci Eng R*, 2014, 77: 1-34
- [20] D'Elia NL, Mathieu C, Hoemann CD, et al. Bone-repair properties of biodegradable hydroxyapatite nano-rod superstructures. *Nanoscale*, 2015, 7: 18751-62
- [21] Danoux CB, Bassett DC, Othman Z, et al. Elucidating the individual effects of calcium and phosphate ions on hMSCs by using composite materials. *Acta Biomater*, 2015, 17: 1-15
- [22] Xia L, Yin Z, Mao L, et al. Akermanite bioceramics promote osteogenesis, angiogenesis and suppress osteoclastogenesis for osteoporotic bone regeneration. *Sci Rep*, 2016, 6: 22005
- [23] Li H, Xue K, Kong N, et al. Silicate bioceramics enhanced vascularization and osteogenesis through stimulating interactions between endothelia cells and bone marrow stromal cells. *Biomaterials*, 2014, 35: 3803-18
- [24] Han Y, Li Y, Zeng Q, et al. Injectable bioactive akermanite/alginate composite hydrogels for *in situ* skin tissue engineering. *J Mater Chem B*, 2017, 5: 3315-26
- [25] Li Y, Han Y, Wang X, et al. Multifunctional hydrogels prepared by dual ion cross-linking for chronic wound healing. *ACS Appl Mater Inter Faces*, 2017, 9: 16054-62
- [26] Yi M, Li H, Wong X, et al. Ion therapy: a novel strategy for acute myocardial infarction. *Adv Sci*, 2019, 6: 1801260
- [27] Wang X, Wang L, Wu Q, et al. Chitosan/calcium silicate cardiac patch stimulates cardiomyocyte activity and myocardial performance after infarction by synergistic effect of bioactive ions and aligned nanostructure. *ACS Appl Mater Inter Faces*, 2019, 11: 1449-68
- [28] Lu JX, Descamps M, Dejou J, et al. The biodegradation mechanism of calcium phosphate biomaterials in bone. *J Biomed Mater Res*, 2002, 63: 408-12
- [29] Huang J, Best SM, Bonfield W, et al. *In vitro* assessment of the biological response to nano-sized hydroxyapatite. *J Mater Sci-Mater M*, 2004, 15: 441-5
- [30] Ma H, Feng C, Chang J, et al. 3D-printed bioceramic scaffolds: from bone tissue engineering to tumor therapy. *Acta Biomater*, 2018, 79: 37-59
- [31] Habibovic P, Bassett DC, Doillon CJ, et al. Collagen biomineralization *in vivo* by sustained release of inorganic phosphate ions. *Adv Mater*, 2010, 22: 1858-62
- [32] Wu SC, Hsu HC, Hsu SK, et al. Preparation and characterization of four different compositions of calcium phosphate scaffolds for bone tissue engineering. *Mater Charact*, 2011, 62: 526-34
- [33] Yamada S, Heymann D, Bouler JM, et al. Osteoclastic resorption of calcium phosphate ceramics with different hydroxyapatite β -tricalcium phosphate ratios. *Biomaterials*, 1997, 18: 1037-41
- [34] Ryu HS, Hong KS, Lee JK, et al. Magnesia-doped HA/ β -TCP ceramics and evaluation of their biocompatibility. *Biomaterials*, 2004, 25: 393-401
- [35] Hong Y, Fan H, Li B, et al. Fabrication, biological effects, and medical applications of calcium phosphate nanoceramics. *Mate Sci Eng R*, 2010, 70: 225-42
- [36] Lin K, Xia L, Gan J, et al. Tailoring the nanostructured surfaces of hydroxyapatite bioceramics to promote protein adsorption, osteoblast growth, and osteogenic differentiation. *ACS Appl Mater Inter Faces*, 2013, 5: 8008-17
- [37] Xia L, Lin K, Jiang X, et al. Effect of nano-structured

- bioceramic surface on osteogenic differentiation of adipose derived stem cells. *Biomaterials*, 2014, 35: 8514-27
- [38] Zhao C, Xia L, Zhai D, et al. Designing ordered micropatterned hydroxyapatite bioceramics to promote the growth and osteogenic differentiation of bone marrow stromal cells. *J Mater Chem B*, 2015, 3: 968-76
- [39] Sarmiento C, Luklinska ZB, Brown L, et al. *In vitro* behavior of osteoblastic cells cultured in the presence of pseudowollastonite ceramic. *J Biomed Mater Res A*, 2004, 69A: 351-8
- [40] De Aza PN, Luklinska ZB, Martinez A, et al. Morphological and structural study of pseudowollastonite implants in bone. *J Microsc-Oxford*, 2000, 197: 60-7
- [41] De Aza PN, Luklinska ZB, Anseau MR, et al. Transmission electron microscopy of the interface between bone and pseudowollastonite implant. *J Microsc-Oxford*, 2001, 201: 33-43
- [42] Wu C, Chang J. A review of bioactive silicate ceramics. *Biomed Mater*, 2013, 8: 032001
- [43] Long LH, Chen LD, Bai SQ, et al. Preparation of dense β -CaSiO₃ ceramic with high mechanical strength and HAP formation ability in simulated body fluid. *J Eur Ceram Soc*, 2006, 26: 1701-6
- [44] Lin KL, Chang J, Zeng Y, et al. Preparation of macroporous calcium silicate ceramics. *Mater Lett*, 2004, 58: 2109-13
- [45] Huttmacher DW. Scaffolds in tissue engineering bone and cartilage. *Biomaterials*, 2000, 21: 2529-43
- [46] Ni SY, Chang J, Chou L. A novel bioactive porous CaSiO₃ scaffold for bone tissue engineering. *J Biomed Mater Res A*, 2006, 76: 196-205
- [47] Wu C, Fan W, Zhou Y, et al. 3D-printing of highly uniform CaSiO₃ ceramic scaffolds: preparation, characterization and *in vivo* osteogenesis. *J Mater Chem*, 2012, 22: 12288-95
- [48] Xu M, Zhai D, Chang J, et al. *In vitro* assessment of three-dimensionally plotted nagelschmidite bioceramic scaffolds with varied macropore morphologies. *Acta Biomater*, 2014, 10: 463-76
- [49] Xu M, Li H, Zhai D, et al. Hierarchically porous nagelschmidite bioceramic-silk scaffolds for bone tissue engineering. *J Mater Chem B*, 2015, 3: 3799-809
- [50] Woodbury D, Reynolds K, Black IB. Adult bone marrow stromal stem cells express germline, ectodermal, endodermal, and mesodermal genes prior to neurogenesis. *J Neurosci Res*, 2002, 69: 908-17
- [51] Bonab MM, Alimoghaddam K, Talebian F, et al. Aging of mesenchymal stem cell *in vitro*. *BMC Cell Biol*, 2006, 7: 14
- [52] Beausejour C. Bone marrow-derived cells: the influence of aging and cellular senescence. *Handb Exp Pharmacol*, 2007, (180): 67-88
- [53] Dai F, Yang S, Zhang F, et al. hTERT- and hCTLA4Ig-expressing human bone marrow-derived mesenchymal stem cells: *in vitro* and *in vivo* characterization and osteogenic differentiation. *J Tissue Eng Regen Med*, 2017, 11: 400-11
- [54] Han P, Wu C, Xiao Y. The effect of silicate ions on proliferation, osteogenic differentiation and cell signalling pathways (WNT and SHH) of bone marrow stromal cells. *Biomater Sci*, 2013, 1: 379-92
- [55] Zhang M, Wu C, Lin K, et al. Biological responses of human bone marrow mesenchymal stem cells to Sr-M-Si (M = Zn, Mg) silicate bioceramics. *J Biomed Mater Res A*, 2012, 100: 2979-90
- [56] Guan J, Zhang J, Guo S, et al. Human urine-derived stem cells can be induced into osteogenic lineage by silicate bioceramics via activation of the Wnt/ β -catenin signaling pathway. *Biomaterials*, 2015, 55: 1-11
- [57] Zhu H, Zhai D, Lin C, et al. 3D plotting of highly uniform Sr-5(PO₄)₂SiO₄ bioceramic scaffolds for bone tissue engineering. *J Mater Chem B*, 2016, 4: 6200-12
- [58] Zhang W, Feng C, Yang G, et al. 3D-printed scaffolds with synergistic effect of hollow-pipe structure and bioactive ions for vascularized bone regeneration. *Biomaterials*, 2017, 135: 85-95
- [59] Chen L, Deng C, Li J, et al. 3D printing of a lithium-calcium-silicate crystal bioscaffold with dual bioactivities for osteochondral interface reconstruction. *Biomaterials*, 2019, 196: 138-50
- [60] Dang W, Wang X, Li J, et al. 3D printing of Mo-containing scaffolds with activated anabolic responses and bi-lineage bioactivities. *Theranostics*, 2018, 8: 4372-92
- [61] Feng C, Zhang W, Deng C, et al. 3D printing of lotus root-like biomimetic materials for cell delivery and tissue regeneration. *Adv Sci*, 2017, 4: 1700401
- [62] Tian T, Wu C, Chang J. Preparation and *in vitro* osteogenic, angiogenic and antibacterial properties of cuprorivaite (CaCuSi₄O₁₀, Cup) bioceramics. *RSC Adv*, 2016, 6: 45840-9
- [63] Tian T, Han Y, Ma B, et al. Novel co-akermanite (Ca₂CoSi₂O₇) bioceramics with the activity to stimulate osteogenesis and angiogenesis. *J Mater Chem B*, 2015, 3: 6773-82
- [64] Li H, Chang J. Bioactive silicate materials stimulate angiogenesis in fibroblast and endothelial cell co-culture system through paracrine effect. *Acta Biomater*, 2013, 9: 6981-91
- [65] Li J, Lv F, Xu H, et al. A patterned nanocomposite membrane for high-efficiency healing of diabetic wound. *J Mater Chem B*, 2017, 5: 1926-34
- [66] Xu Y, Peng J, Dong X, et al. Combined chemical and structural signals of biomaterials synergistically activate cell-cell communications for improving tissue regeneration. *Acta Biomater*, 2017, 55: 249-61
- [67] Rennard SI, Hunninghake GW, Bitterman PB, et al. Production of fibronectin by the human alveolar macrophage: mechanism for the recruitment of fibroblasts to sites of tissue injury in interstitial lung diseases. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1981, 78: 7147-51
- [68] Bussolino F, Wang JM, Defilippi P, et al. Granulocyte- and granulocyte-macrophage-colony stimulating factors induce human endothelial cells to migrate and proliferate. *Nature*, 1989, 337: 471-3
- [69] Dong X, Chang J, Li H. Bioglass promotes wound healing through modulating the paracrine effects between

- macrophages and repairing cells. *J Mater Chem B*, 2017, 5: 5240-50
- [70] Maxson S, Lopez EA, Yoo D, et al. Role of mesenchymal stem cells in wound repair. *Stem Cell Transl Med*, 2012, 1: 142-9
- [71] Liang X, Ding Y, Zhang Y, et al. Paracrine mechanisms of mesenchymal stem cell-based therapy: current status and perspectives. *Cell Transplant*, 2014, 23: 1045-59
- [72] Jeon YK, Jang YH, Yoo DR, et al. Mesenchymal stem cells' interaction with skin: wound-healing effect on fibroblast cells and skin tissue. *Wound Repair Regen*, 2010, 18: 655-61
- [73] Zhang Y, Niu X, Dong X, et al. Bioglass enhanced wound healing ability of urine-derived stem cells through promoting paracrine effects between stem cells and recipient cells. *J Tissue Eng Regen Med*, 2018, 12: E1609-22
- [74] Wu Z, Xu Y, Li H. Synergetic stimulation of nanostructure and chemistry cues on behaviors of fibroblasts and endothelial cells. *Colloid Surfaces B*, 2017, 160: 500-9
- [75] Xu Y, Wu Z, Dong X, et al. Combined biomaterial signals stimulate communications between bone marrow stromal cell and endothelial cell. *RSC Adv*, 2017, 7: 5306-14
- [76] Antoni ML, Hoogslag GE, Boden H, et al. Cardiovascular mortality and heart failure risk score for patients after ST-segment elevation acute myocardial infarction treated with primary percutaneous coronary intervention (Data from the Leiden MISSION! Infarct Registry). *Am J Cardiol*, 2012, 109: 187-94