

磷酸钙骨组织工程支架表面微纳米化改性研究

周长春, 叶兴江, 肖占文, 王哲, 张兴栋

(四川大学 国家生物医学材料工程技术研究中心, 成都 610064)

摘要: **目的** 研究多孔磷酸钙骨组织工程支架的表面微纳米化改性。**方法** 通过双氧水发泡法制备多孔磷酸钙骨组织工程支架, 利用水热法对材料进行微纳米化表面改性。通过扫描电镜观察材料的显微结构, 通过 X 射线衍射仪分析测试材料改性层相成分。**结果** 材料改性处理后, 孔隙率为 $(63 \pm 8)\%$, 大孔孔径为 $(310 \pm 30) \mu\text{m}$ 。材料表面及内孔壁生成羟基磷灰石微纳米晶粒或晶须, 晶须长 $20 \sim 40 \mu\text{m}$, 直径为 $100 \sim 300 \text{ nm}$ 。**结论** 多孔磷酸钙陶瓷材料的内外表面经水热法处理微纳米化表面改性后, 材料性能得到提升。

关键词: 骨组织工程支架; 多孔磷酸钙陶瓷; 水热法; 晶须; 表面微纳米改性

中图分类号: R318.08 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-3660(2014)04-0082-04

Micro/Nano-modification of Calcium Phosphate Bone Tissue Engineering Scaffold

ZHOU Chang-chun, YE Xing-jiang, XIAO Zhan-wen, WANG Zhe, ZHANG Xing-dong

(National Engineering Research Center for Biomaterials, Sichuan University, Chengdu 610064, China)

ABSTRACT: Objective To research the surface micro/nano-modification of porous calcium phosphate bone tissue engineering scaffolds. **Methods** Porous calcium phosphate bone tissue engineering scaffolds were prepared by the H_2O_2 foaming method. Then the hydrothermal method was applied for the surface micro/nano-modification. The scanning electron microscopy (SEM) was used for microstructure observations, and the X-ray diffraction (XRD) was used to analyze the phase composition of the modified layer. **Results** After the surface modification, scaffolds with a total porosity of $(63 \pm 8)\%$, and a pore size of $(310 \pm 30) \mu\text{m}$ were obtained. The modified surface layers were hydroxyapatite nanocrystals or whiskers, the length of whisker ranged $20 \sim 40 \mu\text{m}$, and the diameter was in range of $100 \sim 300 \text{ nm}$. **Conclusion** The inner and outer surfaces of porous calcium phosphate scaffolds formed a micro/nano-modification layer by hydrothermal treatment. The performance of the material was improved.

KEY WORDS: bone tissue engineering scaffolds; porous calcium phosphate ceramics; hydrothermal method; whisker; surface micro/nano-modification

磷酸钙生物陶瓷材料 (Calcium Phosphate Bioceramics, CaP) 具有和人体骨组织相似的无机成分以及

收稿日期: 2014-03-04; 修订日期: 2014-05-05

Received: 2014-03-04; Revised: 2014-05-05

基金项目: 国家自然科学基金重大项目(81190131); 国家重点基础研究发展计划(973 计划, 2011CB606201)

Fund: Supported by the National Natural Science Foundation of China (81190131); the National Basic Research Program (2011CB606201)

作者简介: 周长春(1979—), 男, 重庆人, 博士, 讲师, 主要研究方向为硬组织工程支架及磷酸钙基生物活性材料。

Biography: ZHOU Chang-chun (1979—), Male, from Chongqing, Ph. D., Lecturer, Research focus: hard tissue engineering scaffolds and CaP bioactive biomaterials.

兼备多种优良的生物学特性,被广泛用于骨组织修复工程支架材料^[1-3]。硬组织修复的一个重要发展方向是开发和制备具有“主动修复功能”和“可调控生物响应特性”的生物活性材料^[4],生物活性的概念最早由 Hench^[5]提出,随即得到国际公认。

生物材料的生物学活性与其表面/界面直接相关,材料表面形貌及拓扑结构对植入体与宿主骨之间的结合非常重要。研究表明^[6-7],表面粗糙和晶粒细小的生物材料更有利于生物体内的蛋白和细胞吸附,从而显示出更好的生物活性。现有的磷酸钙多孔支架材料大多通过常规陶瓷烧结技术制作,导致材料生物活性不足,不能有效调控机体成骨响应特性,快速诱导骨组织再生重建,影响了其临床应用效果。因此,为了赋予材料更好的生物活性及骨诱导性,近年来一些研究者发现通过对材料自身的优化设计,如优化其孔结构,细化材料晶粒(纳米陶瓷)以及表面改性处理等可改善材料的生物活性^[8-9]。

纳米生物材料由于具有的小尺寸效应、高比表面积、表面/界面效应等独特“纳米效应”,在组织工程领域具有诱人的应用前景^[10-13]。由于制备大块体状微纳米晶磷酸钙材料的烧结工艺一直是瓶颈,因此通过表面改性技术,在磷酸钙材料表面复合一层微纳米结构,对改善磷酸钙多孔支架的生物活性具有重要的研究价值^[14-15]。

1 实验

1.1 多孔磷酸钙支架材料制备

多孔磷酸钙陶瓷材料表面微纳米化改性处理工艺如图1所示。多孔磷酸钙陶瓷材料的制备包括3个主要步骤:1)粉体制备;2)孔结构制作;3)陶瓷烧结。磷酸钙陶瓷前驱粉体经湿法反应合成,干燥和预煅烧处理后,用标准型号筛子筛分选取直径约为200 μm的干粉用以制备多孔陶瓷。材料的孔结构制作采

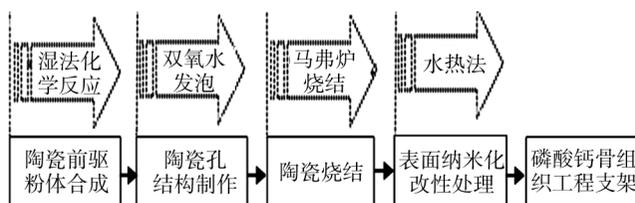


图1 多孔磷酸钙陶瓷表面微纳米化改性工艺

Fig.1 Micro/nano-surface modification process for porous calcium phosphate ceramics

用双氧水发泡法,工艺中添加5%(质量分数,下同)聚乙烯醇,用适量双氧水调制粉体浆料至稀泥状,搅拌均匀后,通过微波炉加热分解双氧水产生气体以发泡陶瓷浆料,将含有丰富泡沫的陶瓷浆料放置于80 mm×30 mm×30 mm的模具中烘干,制得多孔陶瓷胚体。陶瓷在1100℃环境中保温2 h 烧结,随炉冷却,获得多孔磷酸钙陶瓷材料,将其切分为5 mm×5 mm×20 mm的试样。

1.2 多孔磷酸钙表面改性处理

多孔磷酸钙材料的表面改性在酸性溶液中,通过水热法进行。选择聚四氟乙烯为衬底的水热反应釜,将干燥洁净的多孔磷酸钙陶瓷材料投入pH=6.0的酸性溶液中,材料与溶液的浓度配比为1:30,升温至200℃,反应时间根据晶须长度要求设定为0.5~12 h。待反应完成后,自然冷却至室温,反应产物经水洗、醇洗、过滤、烘干,得到表面微纳米化改性的磷酸钙多孔支架材料。图2为多孔磷酸钙陶瓷材料表面改性处理前后的试样。

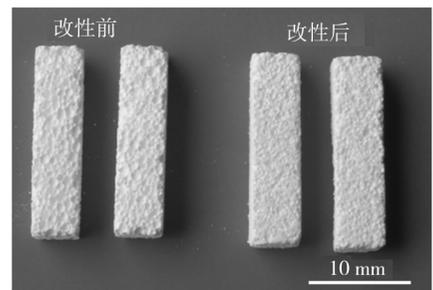


图2 表面改性处理前后试样对照

Fig.2 Comparison of porous calcium phosphate ceramics before and after surface modification

1.3 分析表征

用压汞仪(Micromeritics Auto Pore IV9500, USA)表征材料的孔结构,扫描电镜(JSE-5900LV, Japan)观察显微结构,X射线衍射仪(Philips, the Netherlands)分析材料表面的相成分,X射线能谱元素分析仪(Energy dispersive X-ray Analysis, EDX)分析试样表面微纳米化结晶层中的钙、磷元素含量。

2 结果与分析

2.1 显微结构分析

通过压汞仪测得多孔支架材料的孔结构特征:改

性前,孔隙率为 $(70 \pm 10)\%$,大孔孔径为 $(350 \pm 50) \mu\text{m}$,其中孔壁上包含互穿贯通微孔,孔径为 $(50 \pm 10) \mu\text{m}$;改性后,材料整体孔隙率为 $(63 \pm 8)\%$,大孔孔径为 $(310 \pm 30) \mu\text{m}$ 。图 3a 所示为支架材料的多孔结构。改性前的孔结构及显微晶粒如图 3b 所示,可见多孔磷酸钙支架材料表面改性前,孔壁为 $2 \sim 5 \mu\text{m}$ 的粗大晶粒,孔壁表面较为光滑平整。多孔磷酸钙陶瓷表面经纳米化改性处理后,材料表面可见明显的微纳米晶须生成,通过调整参数,可以得到不同表面形貌的多孔支架材料。如图 3c 和 d 所示,多孔磷酸钙支架材料表面改性后,材料内孔壁晶体有的呈纳米颗粒状分布,晶粒大小约为 $100 \sim 200 \text{ nm}$;有的呈细长晶须状分布,晶须长约 $20 \sim 40 \mu\text{m}$,直径约为 $100 \sim 300 \text{ nm}$ 。

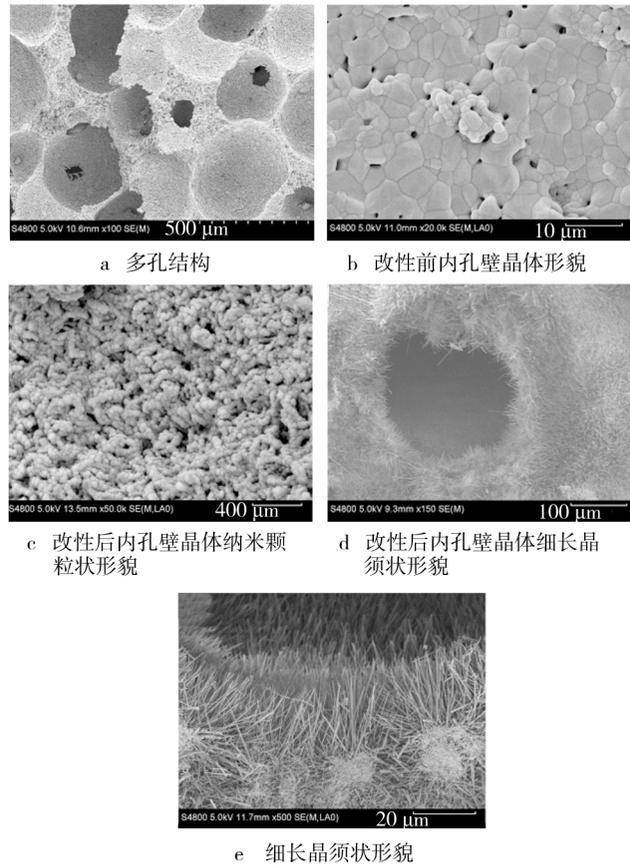


图 3 多孔磷酸钙支架材料的显微结构

Fig. 3 Microstructures of the porous CaP scaffold material

通过扫描电镜观察分析,表面微纳米化处理技术对材料多孔结构的“内外表面”均进行了有效的改性处理,水热法改性在多孔磷酸钙陶瓷基体及其内部孔结构的表面原位生长形成微纳米改性层,所得的微纳米晶粒、晶须均匀覆盖在多孔磷酸钙材料外表面及其内部孔结构表面。材料基体层与微纳米改性层结合

牢固,两者间无明显界限。改性后的微纳米晶粒或晶须能够一定程度夯填、桥接多孔陶瓷内部孔隙中的结构缺陷,增强了材料的机械强度,细化了材料表面晶粒和形貌。由于此工艺不受陶瓷孔结构的限制,可以使得多孔支架材料更有利于宿主骨组织的长入和嵌合,以提升材料的生物活性和骨诱导性。

2.2 物相分析

图 4 为测试样品的 X 射线衍射图谱,从图谱曲线可以看到,在 $25.9^\circ, 28.9^\circ, 31.7^\circ$ 以及 $45.3^\circ (2\theta)$ 处可见明显的衍射峰,这些衍射峰与标准羟基磷灰石 PDF 卡片中的相应衍射峰吻合,同时在 $26.2^\circ, 30.9^\circ, 34.5^\circ, 48.4^\circ, 53.2^\circ$ 处发现相应衍射峰与标准 β -TCP 的衍射峰对应吻合。这说明试样中含有 HA 及 β -TCP 两种成分的物相。衍射图谱曲线中无其他杂相衍射峰出现,表明试样的物相成分较纯。

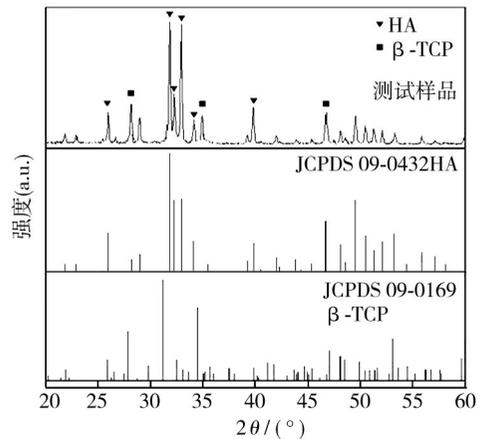


图 4 XRD 图谱

Fig. 4 X-ray diffraction pattern

针对试样的表面微纳米化结晶层进一步进行 X 射线能谱元素分析,结果如图 5 所示。试样的表面微纳米化结晶层中的钙、磷元素含量比为 $1.61 \sim 1.69$,此数值与理想的羟基磷灰石钙、磷元素含量比相当,

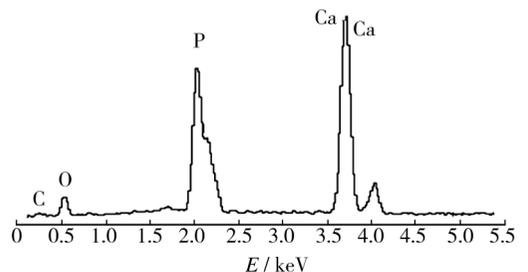


图 5 EDX 分析结果

Fig. 5 EDX results of the sample

进一步说明试样经水热处理后,表面形成的微纳米结晶物为羟基磷灰石结晶体。

3 结论

1) 双氧水发泡法对磷酸钙陶瓷的基底结构设计使得材料整体孔隙率为 $(70\pm 10)\%$,大孔孔径为 $(350\pm 50)\mu\text{m}$,其中孔壁上有 $(50\pm 10)\mu\text{m}$ 的互穿贯通微孔。

2) 多孔磷酸钙陶瓷表面经改性处理后,可见明显的微纳米晶须生成,该微纳米晶须长 $20\sim 40\mu\text{m}$,直径为 $100\sim 300\text{nm}$ 。

3) 多孔磷酸钙陶瓷表面形成的微纳米结晶物为羟基磷灰石结晶体。

参考文献

- [1] 黄占杰. 磷酸钙陶瓷生物降解研究的进展[J]. 功能材料,1997,28(1):1—4.
HUANG Zhan-jie. Development of Biodegradable Calcium Phosphate Ceramics [J]. Functional Materials, 1997, 28(1):1—4.
- [2] VEIS A. Materials Science—A Window on Biomineralization[J]. Science,2005,307(5714):1419—1420.
- [3] YU X, CAI S, XU G. Low Temperature Fabrication of High Strength Porous Calcium Phosphate and the Evaluation of the Osteoconductivity[J]. Journal of Materials Science-Materials in Medicine,2009,20(10):2025—2034.
- [4] WANG K, ZHOU C, HONG Y. A Review of Protein Adsorption on Bioceramics [J]. Interface Focus, 2012, 2(3): 259—277.
- [5] HENCH L L, POLAK J M. Third-generation Biomedical Materials[J]. Science,2002,295(5557):1014—1017.
- [6] KARAGEORGIU V, KAPLAN D. Porosity of 3D Biomaterial Scaffolds and Osteogenesis [J]. Biomaterials, 2005, 26(27):5474—5491.
- [7] WILSON C E, DE BRUIJN J D, VANBLITTERSWIJK C A. Design and Fabrication of Standardized Hydroxyapatite Scaffolds with a Defined Macro-architecture by Rapid Prototyping for Bone-tissue-engineering Research [J]. Journal of Biomedical Materials Research Part A,2004,68(1):123—132.
- [8] OLIVEIRA J F, SOARES G A. Effect of Process Parameters on the Characteristics of Porous Calcium Phosphate Ceramics for Bone Tissue Scaffolds [J]. Artif Organs, 2003, 27(5):406—411.
- [9] HOLLISTER S J. Porous Scaffold Design for Tissue Engineering [J]. Nature Materials, 2005, 4(7):518—524.
- [10] FANG L M, GAO P, LENG Y. High Strength and Bioactive Hydroxyapatite Nano-particles Reinforced Ultrahigh Molecular Weight Polyethylene [J]. Composites: Part B, 2007, 38: 345.
- [11] 蔡开勇. 纳米生物材料及其界面特性对成骨细胞生长影响的研究进展[J]. 材料导报,2007,21(2):109—124.
CAI Kai-yong. Advances in Research on the Effects of Nanobiomaterials and Their Interfacial Properties on Osteoblast Growth [J]. Material Review, 2007, 21(2): 109—124.
- [12] WEBSTER T J, SCHADLER L S, SIEGEL R W, et al. Enhanced Osteoblast-like Cell Functions on Nanophase Ceramics [J]. Biomaterials, 2001, 22(11):1327—1335.
- [13] LIU C, HAN Z, CZERNUSZKA J T. Gradient Collagen/Nanohydroxyapatite Composite Scaffold: Development and Characterization [J]. Acta Biomater, 2009, 5(2): 661—669.
- [14] 王泽华,王长浩,周泽华. 高温反应合成金属-陶瓷复合涂层技术的研究现状[J]. 表面技术,2012,41(3):115—119.
WANG Ze-hua, WANG Chang-hao, ZHOU Ze-hua. A Survey on Technology of High-temperature Reactive Synthesis M/C Composite Coating [J]. Surface Technology, 2012, 41(3): 115—119.
- [15] 黄朝,吴宇,夏海滨. 微波诱导羟基磷灰石/钛合金界面反应的研究[J]. 表面技术,2013,42(1):53—57.
HUANG Zhao, WU Yu, XIA Hai-bi. Study on Hydroxyapatite/Titanium Alloy Interface Reaction Induced by Microwave [J]. Surface Technology, 2013, 42(1): 53—57.