

研究综述

# 可降解锌基骨植入材料及其表面改性研究进展

冯博玄<sup>1</sup>, 谭晋韵<sup>2</sup>, 裴佳<sup>1</sup>, 袁广银<sup>1\*</sup>

(1.上海交通大学 轻合金精密成型国家工程研究中心和金属基复合材料国家重点实验室, 上海 200240; 2.复旦大学附属华山医院, 上海 200040)

**摘要:** 医用锌及锌合金有望成为新一代可降解骨植入物材料来促进骨缺损的修复。概述了可降解医用锌基材料的优势, 包括较好的生物安全性和抗菌效果、能促进植入部位周围血管和新骨的生成以及骨相关基因的表达能力。在此基础上, 从基底材料、细胞种类及实验结果等方面系统总结了近年来关于可降解医用锌基材料生物相容性和降解行为的研究。同时, 归纳了可降解医用锌在临床修复骨缺损方面所面临的主要问题和挑战, 包括较差的力学性能和较强的细胞毒性。可降解医用锌较差的力学性能可以通过合金化进行改善, 概述了多种新型医用锌合金的力学性能及其生物相容性。表面改性是提高可降解医用锌基表面生物相容性和调控降解的有效手段。从基底样品、表面改性手段、使用的细胞或动物模型以及细胞相容性和降解行为等方面, 综述了近年来可降解锌基骨植入材料表面改性的研究现状, 提出了可降解锌基骨植入材料表面改性目前所面临的难点问题, 包括传统表面改性手段加剧了锌离子的释放或在表面改性后可降解医用锌的生物相容性改善功效不足, 以及未来的发展方向。

**关键词:** 可降解医用锌; 骨植入材料; 生物相容性; 降解行为; 表面改性

中图分类号: O61; O62; Q25 文献标志码: A 文章编号: 1001-3660(2024)02-0001-14

DOI: 10.16490/j.cnki.issn.1001-3660.2024.02.001

## Research Progress of Biodegradable Zinc-based Orthopedic Implant Materials and Their Surface Modification

FENG Boxuan<sup>1</sup>, TAN Jinyun<sup>2</sup>, PEI Jia<sup>1</sup>, YUAN Guangyin<sup>1\*</sup>

(1. National Engineering Research Center of Light Alloy Net Forming & State Key Laboratory of Metal Matrix Composite, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China;  
2. Huashan Hospital Affiliated to Fudan University, Shanghai 200040, China)

**ABSTRACT:** In recent years, biodegradable metals, represented by magnesium (Mg), zinc (Zn), and iron (Fe), have received extensive attention from the biomedical and materials fields both domestically and internationally. This article outlined the requirements for ideal bone implant materials, and the advantages of biodegradable metals over other biodegradable materials, including mechanical performance, degradation performance, and biocompatibility. In addition, the degradation mechanism of biodegradable metal materials was summarized. Among them, Mg had been extensively investigated, but its rapid degradation rate lead to compromised mechanical properties and uncontrolled hydrogen evolution. Conversely, the degradation rate of Fe

收稿日期: 2023-01-04; 修订日期: 2023-02-25

Received: 2023-01-04; Revised: 2023-02-25

基金项目: 国家自然科学基金 (52130104, 51971141); 科技部重点研发专项 (2021YFE0204900, 2018YFE0115400)

Fund: National Natural Science Foundation of China (52130104, 51971141); the National Key Research and Development Program of China (2021YFE0204900, 2018YFE0115400)

引文格式: 冯博玄, 谭晋韵, 裴佳, 等. 可降解锌基骨植入材料及其表面改性研究进展[J]. 表面技术, 2024, 53(2): 1-14.

FENG Boxuan, TAN Jinyun, PEI Jia, et al. Research Progress of Biodegradable Zinc-based Orthopedic Implant Materials and Their Surface Modification[J]. Surface Technology, 2024, 53(2): 1-14.

\*通信作者 (Corresponding author)

was notably sluggish, approaching that of non-degradable materials. Zn and Zn alloys, due to their moderate degradation rate, good mechanical properties, and biological safety, were expected to become a new generation of biodegradable bone implant materials to promote bone defect repair. This article summarized the advantages of biodegradable Zn-based materials, including biological safety, antibacterial effects, and the ability to promote the generation of blood vessels and new bone around the implant site, as well as to promote the expression of bone-related genes. Based on this, recent research on the biocompatibility and degradation behavior of biodegradable Zn-based materials was systematically summarized from the aspects of substrate materials, cell types, and experimental results. At the same time, the main problems and challenges faced by the clinical application of biodegradable Zn for repairing bone defects were summarized, including poor mechanical properties and strong cytotoxicity. The poor mechanical properties of biodegradable Zn could be improved through alloying. This article outlined the mechanical properties and biocompatibility of various new medical Zn alloys. The potent cytotoxicity of biodegradable Zn used in medical applications arose from the local accumulation of  $\text{Zn}^{2+}$  ion generated during degradation.  $\text{Zn}^{2+}$  ion was reported to exhibit biphasic effect on cells. The low concentration of  $\text{Zn}^{2+}$  ion could promote the cell adhesion, proliferation, and differentiation. In contrast, the local high concentration of  $\text{Zn}^{2+}$  ion resulted from the rapid degradation rate of Zn implants at the initial stage of implantation, and some degradation products such as ZnO and  $\text{Zn}(\text{OH})_2$  with poor biocompatibility always lead to cytotoxicity and inflammation surrounding the Zn implants, further delaying the regeneration and repair of bone defects. Zn still exhibited slight cytotoxicity after alloying, and surface modification was an effective means to improve the surface biocompatibility and regulate degradation of biodegradable Zn. This article reviewed the current research status of surface modification of biodegradable Zn-based bone implant materials from the aspects of substrate samples, surface modification methods, cell or animal models used, and cell compatibility and degradation behavior, and proposed the current difficulties and future development directions of surface modification of biodegradable Zn-based bone implant materials. Surface modification of biodegradable Zn is still nascent, and there are scarce relevant studies with restricted advancement in the biocompatibility of biodegradable Zn. Traditional surface modification methods have increased the release of  $\text{Zn}^{2+}$  ion, resulting in higher cytotoxicity. Alternatively, the efficacy of improving the biocompatibility of biodegradable Zn through surface modification has been insufficient. The future research direction of biodegradable Zn-based materials should focus more on surface modification methods such as phosphate and its composite coatings, as well as biodegradable polymer coatings.

**KEY WORDS:** biodegradable zinc; bone implant material; biocompatibility; degradation behavior; surface modification

每年由机械外伤导致的骨折、由炎症引发的骨组织坏死、由骨肿瘤引起的骨缺损等疾病的患者有数百万人<sup>[1-3]</sup>。骨组织具有一定的再生能力,较小的骨缺损部位能够自然愈合,但是当骨缺损部位超过临界尺寸(取决于不同部位,通常临界尺寸为2 cm)时<sup>[4-6]</sup>,很难在自然条件下愈合再生,往往需要临床手段的干预来实现骨缺损部位的修复和骨组织功能的重建。目前临床上采用骨移植来治疗大尺寸的骨缺损,所用的骨移植材料主要包括自体骨材料、同种异体骨材料以及医用的生物惰性金属材料<sup>[7-8]</sup>。自体骨材料被认为是治疗骨缺损的“金标准”<sup>[9]</sup>,自体骨移植可以避免排异反应,生物相容性好,并且有很强的成骨能力、骨传导活性和骨诱导性,但是自体骨取自自身,不仅来源有限,还可能导致取骨区域二次损伤。同种异体骨材料和自体骨材料的结构类似,具有形状和大小不受限制、排异反应小、来源广泛等优点,但仍然存在供体来源的疾病传播和交叉感染、免疫和骨愈合延迟等风险问题。目前临床上使用的生物惰性金属材料主要有医用不锈钢、钛及钛合金、镍钛合金等,这些材料具有良好的生物相容性、力学性能和加工性能,其

中钛及钛合金是较为常见和成熟的骨植入物材料,但是由于其不可降解性能,往往需要二次手术取出,增加了患者的痛苦、手术风险和经济负担。

骨组织工程技术旨在提供一种优于自体骨材料和同种异体骨材料并且能在避免上述风险的情况下修复骨缺损部位的手段<sup>[9-10]</sup>,通过分离并在体外培养自体骨细胞,在体外扩增后种植于具有良好生物相容性的可降解支架材料上,随后将细胞杂化材料植入患者的骨缺损部位,在支架材料降解的过程中,细胞能够不断增殖,矿物基质不断沉积,进而逐步代替所降解的支架材料,并诱导新骨的形成,最终实现骨缺损部位的修复和功能重建。因此,骨组织工程支架材料应具有良好的生物相容性、生物可降解性以及合适的力学性能<sup>[11]</sup>,而其发展也从用生物惰性材料对骨缺损部位进行简单填充逐步发展到如今使用生物活性材料来诱导骨形成和骨再生。在实际应用中,将细胞或者生物活性因子等与骨组织工程支架复合的方法虽然具有理想的治疗效果,但是生物成分的加入不仅提高了成本,还提高了监管标准<sup>[12-13]</sup>,因此骨组织工程支架材料成为目前的研究重点。通过植入骨组织工程

支架, 利用骨缺损部位的细胞而非植入前种植的细胞来达到修复骨缺损的目的<sup>[14-15]</sup>。

## 1 可降解骨植入物材料的特点及研究现状

### 1.1 理想的骨植入物材料的要求

从骨组织工程支架的设计理念和目的中可以看出, 理想的骨植入物材料应该具有以下特点: 1) 骨植入物在服役期间应具有良好的生物相容性, 该植入材料及其降解产物应均无毒副作用, 不会引起炎症反应和宿主排异反应或引起的反应较轻, 不会致癌致畸; 2) 骨植入物在服役期间具有与天然骨相匹配的力学性能 (屈服强度>230 MPa, 抗拉强度>300 MPa, 断裂延伸率>15%, 接近皮质骨的弹性模量 10~20 GPa), 能够在新骨形成之前为骨缺损部位提供足够的支撑力, 同时其力学性能也不能过高导致应力遮蔽效应以及新骨的骨密度较低; 3) 骨植入物在人体内有适中的降解速率 (0.5 mm/a, 氢气生成量<10  $\mu\text{L}/(\text{cm}^2 \cdot \text{d})$ ), 降解太快不仅会造成炎症反应, 还会失去对骨缺损部位的支撑, 而降解过慢则不能在骨修复完成后降解完全, 留在体内会和不可降解材料产生类似的免疫排异反应; 4) 骨植入物具有一定的生物活性, 如骨诱导性、骨传导性、骨整合性, 能促进原位骨或者异位骨的形成, 促进骨缺损部位的修复; 5) 骨植入物应具有和骨缺损部位相匹配的外形, 以及与骨组织类似的多孔结构, 这有利于骨细胞的黏附生长和血管的重构; 6) 骨植入物术后易于跟踪造影, 有较好的射线不透过性; 7) 骨植入物易于加工成形、消毒保存; 8) 骨植入物的制备成本低, 以降低患者的经济负担。

### 1.2 可降解骨植入物材料概述

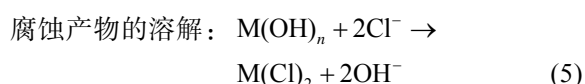
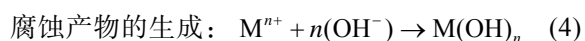
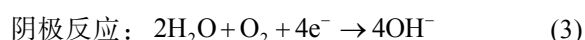
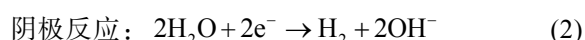
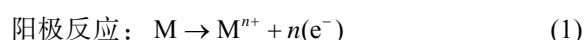
根据骨缺损部位的不同以及实际制造的需求, 骨组织工程支架所使用的生物材料主要包括聚合物材料、可降解金属材料、生物陶瓷材料及碳基纳米材料等。

聚合物材料包括天然聚合物材料和合成聚合物材料。天然聚合物材料<sup>[16-19]</sup>如胶原、明胶、丝素蛋白和海藻酸盐等, 具有良好的生物相容性, 并且含有细胞黏附位点如 RGD 序列, 能天然获取, 因此成本低廉, 但是天然聚合物材料的力学性能普遍较差, 并且存在免疫以及批次间的差异性问题。合成聚合物材料<sup>[20-22]</sup>如聚己内酯、聚乳酸、聚乙二醇等, 为人工合成, 其性能和成分能够根据不同的需求进行调整, 并且能够通过修饰进行改性, 但是合成聚合物材料往往都需要进行改性来提升其可能存在的不良性能, 同时存在降解产物呈酸性、毒副作用大等问题。聚合物材料虽然因其生物相容性和骨诱导性良好以及易于改

性等优点而成为骨组织工程领域中很有价值和潜力的材料, 但是其力学性能不足的缺陷使聚合物材料一般用于修复非承重部位、尺寸较小的骨缺损部位或者与其他材料复合使用。

生物陶瓷材料是骨组织工程中被广泛研究的无机生物材料, 早在 19 世纪初就有在临床上使用磷酸钙作为骨移植材料的记录<sup>[23]</sup>。生物陶瓷材料可以分为生物惰性陶瓷和生物活性陶瓷, 目前的研究重点更加关注通过加入具有生物活性的离子, 如  $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Sr}^{2+}$  和  $\text{Cu}^{2+}$  等, 来给生物陶瓷材料赋予不同的生物效应<sup>[24-25]</sup>。天然骨是无机和有机复合的纳米材料, 磷酸钙因能够模拟天然骨结构中的无机相而成为临床上广泛使用的天然活性陶瓷材料。生物陶瓷材料具有较好的抗压性能, 能够释放具有生物活性的离子, 其表明形貌也被证明可以诱导细胞外基质的沉积, 促进骨再生<sup>[26-28]</sup>。但是生物陶瓷材料脆性过高, 在临床上一致用作骨水泥或者其他骨植入物的涂层材料<sup>[29-31]</sup>。

碳基纳米材料<sup>[32-34]</sup>, 如碳纳米管、石墨烯纳米材料等, 具有优秀的力学性能以及一维二维材料的高比表面积和良好的生物相容性等, 可用于骨组织工程领域。由于其高比表面积的特点, 可以通过表面基团对碳基纳米材料赋予不同的功能, 使其具有生物活性<sup>[32,35]</sup>。但是碳基纳米材料的生物可降解性较差, 并且可能导致细胞毒性。而近年来, 以可降解医用镁、锌、铁及其合金为代表的生物医用可降解金属材料<sup>[36-37]</sup>因其优秀的力学性能、体内可完全降解性以及良好的生物安全性而受到了国内外生物医学领域和材料领域的广泛关注。这类可降解金属材料在生理条件下能够通过电化学腐蚀反应过程完全降解或者完全吸收, 其具体降解机制如式 (1)~(5) 所示<sup>[36-37]</sup>, 其中 M 为金属。



与可降解的聚合物材料相比, 可降解金属材料有更出色的力学性能。与生物陶瓷材料相比, 可降解金属材料有更优异的柔韧性和延展性。与碳基纳米材料相比, 可降解金属材料有更好的生物相容性和生物可降解可吸收性。因此, 可降解金属材料有望成为新一代的骨组织工程支架材料。

可降解镁合金骨植入物。镁及镁合金是目前研究得最为深入的生物医用可降解金属材料。在人体内, 镁 (Mg) 元素含量仅少于钙、钾和钠, 位列第四。镁作为人体所必需的常量元素之一, 分布于人体的各个部位中, 如骨骼、肌肉和血液, 参与人体内的大量

生理反应,如参与新陈代谢反应、核酸和蛋白质的合成以及很多的酶促反应等。此外,镁还是骨质增强因子,有将近一半的镁元素会进入骨组织中<sup>[38]</sup>,且镁还具有促成骨和骨诱导的效果<sup>[39-41]</sup>。同时,镁及其降解产物(人体内)都具有较好的生物相容性。成年人膳食中镁元素的每日推荐摄入量为 330 mg,多余的镁也能通过肾脏和肠道等排出<sup>[42]</sup>,因此,镁合金植入物在人体内降解产生的镁离子不会导致细胞毒性。镁合金和天然骨具有相匹配的力学性能,可以提供足够的支撑力,同时能避免新骨的应力遮蔽效应。虽然镁具有上述优点,但纯镁的标准电极电位为 $-2.372\text{ V}$ ,在人体生理条件下有着很快的降解速率。目前主要通过合金化或者表面改性等手段来增强镁的抗腐蚀性,但镁及其合金过快的降解速率以及局部腐蚀的腐蚀行为仍然是限制镁合金在临床上广泛应用的主要原因。笔者所在课题组前期的一些动物实验结果<sup>[43]</sup>表明,镁合金在植入体内 2~4 个月后腐蚀严重,很难保持机械完整性,提供力学支撑。大部分镁合金也很难达到临床所建议的镁合金降解速率( $0.5\text{ mm/a}$ )<sup>[44]</sup>。此外,镁合金植入物过快的降解速率会导致局部氢气的产生<sup>[45]</sup>,延缓骨缺损部位的修复,且局部升高的 pH 值和过高的金属离子浓度会使周围的生理环境失衡,导致炎症反应和细胞凋亡<sup>[46]</sup>。

可降解铁合金骨植入物。铁(Fe)是人体所必需的微量元素之一,成年人膳食中铁元素的每日推荐摄入量为 12~20 mg。铁参与人体内很多的代谢过程,比如血红蛋白与肌红蛋白的合成、氧的运输和储存、过氧化氢酶的合成等。与镁相比,铁具有更强的力学性能,可能会产生应力遮蔽效应,导致形成的新骨骨密度较低。虽然铁被证实具有良好的生物相容性<sup>[47-48]</sup>,但它在植入体内后的降解速率过慢( $0.008\text{ mm/a}$ )<sup>[36]</sup>。在大鼠骨骼中植入铁基的动物实验结果表明,在植入 52 周后,铁基材料的降解过程仍然十分缓慢<sup>[49]</sup>。铁

的腐蚀产物在体内环境下较为稳定,不容易排出,可能会导致慢性炎症等问题<sup>[50]</sup>。此外,近年来发现铁可能会诱发一种铁依赖性的全新的细胞死亡方式,被称为“铁死亡”(Ferroptosis)<sup>[51-52]</sup>。由于上述因素的制约,铁目前在临床应用上仍处于起步阶段。

## 2 可降解锌基骨植入物

### 2.1 可降解医用锌基材料的优势及研究进展

锌(Zn)是人体所必需的微量元素之一,成年人膳食中锌元素的每日推荐摄入量为 7.5~12.5 mg,最高摄入量为每日 40 mg。锌是除了铁以外人体中含量最高的微量元素。锌与人体内许多重要生理过程密切相关<sup>[53-54]</sup>,如生长发育、免疫系统、生殖系统、酶的合成、创伤愈合等。锌分布于人体内的各个组织中,大约 60%的锌分布在肌肉中,22%~30%的锌分布在骨骼中,约 8%的锌储存在皮肤毛发中,4%~6%的锌分布在肝脏中,其他则分布在胰腺、大脑、胃肠道及肾脏等重要器官组织中。因此锌具有良好的生物安全性<sup>[55]</sup>。此外,锌离子也被证实具有广谱的抗菌效果<sup>[56]</sup>,对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌等病原体有显著的抑制作用。锌也被证明能够促进植入物周围血管和新骨的形成<sup>[57-60]</sup>。Zhu 等<sup>[61]</sup>进一步研究了人骨髓间充质干细胞(hMSC)对锌的生物学反应及其潜在的细胞信号机制,研究发现,与镁合金相比,锌能更好地促进细胞黏附、增殖、分化,并且锌离子能调控 ALP、I 型胶原蛋白和骨桥蛋白等骨相关基因的表达,如图 1 所示。

锌的标准电极电位为 $-0.762\text{ V}$ ,介于镁( $-2.372\text{ V}$ )和铁( $-0.440\text{ V}$ )之间。锌具有较为适中的降解速率(每年几十微米的数量级),比镁及镁合金的降解速率低了大约一个数量级<sup>[55]</sup>,能在更长的服役时间内保持较为完整的力学性能和足够的力学支撑。从降解时

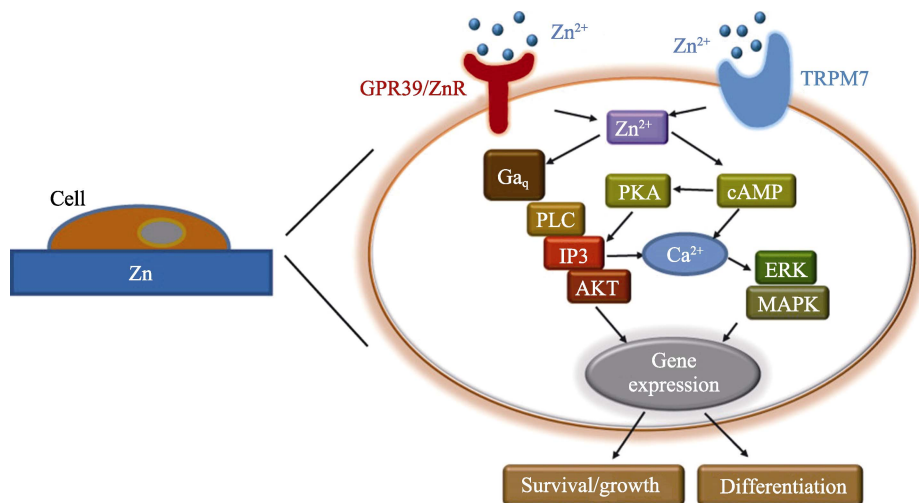


图 1 锌植入物降解产生的锌离子在 hMSC 细胞中作用的示意图<sup>[61]</sup>  
Fig.1 Schematic pathway of implant-derived Zn<sup>2+</sup> signaling in hMSC<sup>[61]</sup>



序与骨缺损修复的匹配角度而言,与镁和铁相比,锌是更适合作为可降解骨植入物的金属材料。Bowen 等<sup>[62]</sup>在 2013 年首次将纯锌丝植入成年雄性 Sprague-Dawley 大鼠的腹主动脉中,模拟了支架在体内环境下的降解行为,结果表明,锌丝在植入 4 个月内仍然保持完整,之后腐蚀加速,让植入物能够及时降解。Yang 等<sup>[63]</sup>也通过兔腹主动脉植入纯锌支架的动物实验证明,纯锌支架在植入 6 个月后仍然能保持完整的力学性能,在植入 12 个月后支架体积降解了  $(41.75 \pm 29.72)\%$ 。锌在人体内展现出理想的先慢后快的降解行为,具有适中的降解速率,故锌比镁和铁为更理想的可降解植入材料,医用锌基材料近年来也成为生物医学材料领域的研究热点。

植入物的降解行为会影响它在体内与不同组织和细胞的交互作用,进而影响其生物相容性。目前,对锌及锌合金的体内外降解行为及生物相容性都有较为深入的研究。Chen 等<sup>[64]</sup>研究发现,锌在磷酸盐缓冲溶液 (PBS) 中的短期 (3 d) 降解行为呈现为相对均匀的腐蚀行为,腐蚀产物在纯锌表面均匀分布,而当浸泡时间达到 21 d 时,纯锌表面则表现出局部腐蚀现象,且腐蚀产物逐渐疏松。Törne 等<sup>[65]</sup>研究了纯锌在盐溶液 (PBS 和林格氏液)、血浆和全血中的降解行为,结果表明,纯锌在盐溶液中表现出局部腐蚀行为,且腐蚀速率随时间的延长而增大,而在血浆和全血中则表现为均匀的腐蚀行为,且腐蚀速率随时间的延长而降低。Liu 等<sup>[66]</sup>指出超纯锌在 Hank's 溶液中的降解速率为 0.011 mm/a,而超纯锌微管表现出更高的降解速率 (0.028~0.037 mm/a),而锌在人体内的降解产物也较为复杂。在体液环境下,锌首先发生电

化学腐蚀生成难溶的氧化锌和氢氧化锌,随后形成的氢氧化锌与体液中的氯离子反应,溶解产生锌离子,产生的锌离子易与体液中的磷酸根、碳酸根等形成溶解度较低的磷酸锌以及碳酸锌等锌基化合物。同时,体液中的钙离子也可能在植入物表面沉积形成难溶的钙化物,如磷酸钙和碳酸钙<sup>[67]</sup>。蛋白质的吸附则会导致初始腐蚀速率增大和锌离子浓度升高<sup>[68]</sup>。可降解植入物的腐蚀行为和腐蚀产物会影响植入物周围细胞的黏附增殖、功能分化、基因和蛋白的表达等(见图 2),也会影响缺损部位的修复和功能重建。因此,对医用锌基材料在体内外的降解行为、降解产物及其生物相容性的研究对临床应用有着重要的意义,本文总结了与可降解医用锌基合金有关的研究结果,如表 1 所示。

## 2.2 可降解锌基骨植入物面临的主要问题和挑战

虽然与镁和铁相比,锌及锌合金具有更适中的降解速率,但是锌基材料仍然有一些亟待解决的问题,如纯锌力学性能较差,铸态纯锌由于铸造缺陷、晶粒尺寸大、加工硬化不足等原因,其强度 ( $<30$  MPa) 和延展性 ( $<0.25\%$ ) 有限<sup>[78-79]</sup>。虽然可以通过轧制或者挤压等进一步加工来提高其强度和延展性,但是目前报道的纯锌的极限抗拉强度 (UTS) 均低于 200 MPa<sup>[80]</sup>,很多情况下满足不了临床需求,因此通常通过合金化来提高锌的力学性能。近年来,多种新型的医用锌合金被逐步研发出来,主要包括 Zn-Ca 系列、Zn-Mg 系列及 Zn-Cu 系列等<sup>[80-81]</sup>。Tong 等<sup>[79]</sup>研发了一种新型可降解的 Zn-5Ge 合金,具有非常理想的力学、腐

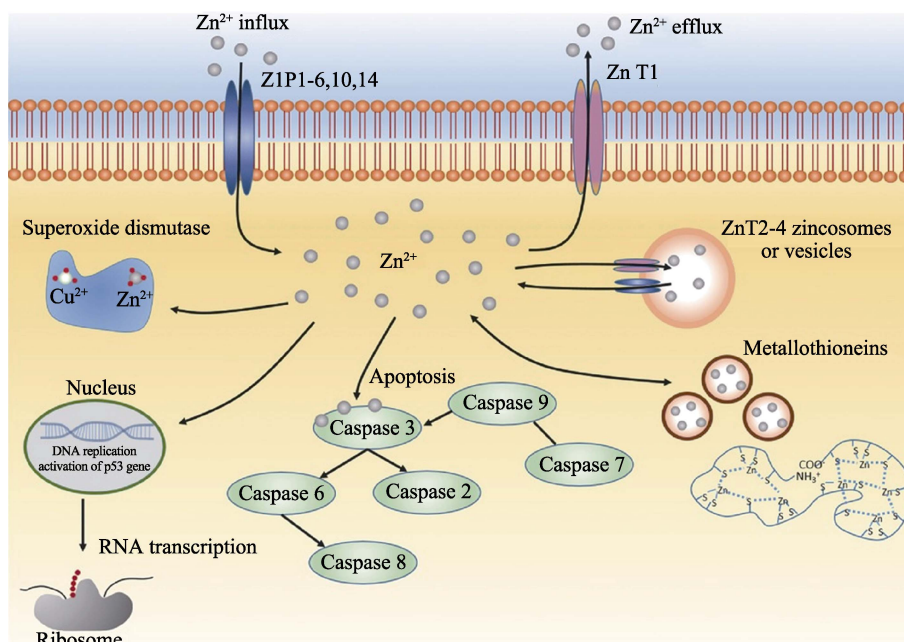


图 2 锌离子的生物学作用<sup>[69]</sup>  
Fig.2 Biological roles of Zn<sup>2+</sup><sup>[69]</sup>

表 1 可降解医用锌基材料的降解行为及其生物相容性  
Tab.1 Degradation behavior and biocompatibility of biodegradable medical zinc-based materials

样品	细胞或动物模型	生物相容性	体内外降解行为	文献
Zn-3Mg	原代人成骨细胞	培养 1 d 后, Zn 和 Zn-3Mg 组的细胞活力分别为 (31±2.5) % 和 (47±12.0) %, 表现出明显的细胞毒性; 3 d 后细胞活力提高, 说明浸提液导致的细胞线粒体损伤得到恢复; 7 d 后除了 Zn 组外, 其他组的细胞活力都降低且与对照组没有显著差异	Zn-3Mg 三天浸提液 pH 值为 8.7±0.1, 锌离子和镁离子浓度分别为 7.49×10 <sup>-6</sup> mol/L 和 4.42×10 <sup>-4</sup> mol/L; Zn 三天浸提液 pH 值为 8.5±0.1, 锌离子和镁离子浓度分别为 7.80×10 <sup>-6</sup> mol/L 和 4.43×10 <sup>-4</sup> mol/L	[70]
锌离子 (ZnCl <sub>2</sub> 溶液)	人平滑肌细胞	当锌离子浓度低于 0.08 mol/L 时, 对细胞活力没有不良影响, 反而促进了细胞的黏附、伸展、增殖和迁移, 并促进了 F-肌动蛋白和黏着斑蛋白的表达; 当锌离子浓度为 0.08~0.12 mol/L 时, 具有相反的细胞反应和行为	无	[60]
锌离子 (ZnCl <sub>2</sub> 溶液)	原代人冠状动脉内皮细胞	低浓度的锌离子能增强细胞活力、增殖、黏附、扩散、迁移以及 F-肌动蛋白和黏着斑蛋白的表达, 但降低了细胞黏附强度; 高浓度的锌离子有相反的效果	无	[59]
Zn-1Mg	成纤维细胞	Zn-1Mg 合金具有良好的生物相容性, 细胞在 Zn-1Mg 腐蚀产物的接触下生长, 保持了较高的细胞活力和健康的形态	挤压态的 Zn-1Mg 合金降解速率为 (0.12±0.05) mm/a, 铸态的 Zn-1Mg 合金降解速率为 (0.28±0.01) mm/a, 远低于 WE43 合金的降解速率	[71]
三元锌合金 (添加 Mg, Ca, Sr)	人骨肉瘤细胞 (MG63)	三元锌合金的溶血率很低 (<0.2%), 远低于临床溶血率安全标准 (5%); 与纯锌相比, 添加 Mg、Ca 和 Sr 合金元素可显著提高 MG63 细胞活力, 促进细胞增殖	三元锌合金的降解速率显著高于纯锌的, 按降解速率从小到大的顺序依次为 Zn、Zn-1Mg-Ca、Zn-1Mg-1Sr、Zn-1Ca-1Sr	[72]
Zn-4Cu	人内皮细胞系 (EA.hy926)	Zn-4Cu 未稀释的浸提液具有一定的细胞毒性, 细胞存活率仅为对照组的 10%~20%, 而稀释后的浸提液则没有明显毒性, 能有效抑制细菌黏附和生物膜的形成	挤压态的 Zn-4Cu 合金在 Hank's 溶液中的降解速率为 (9.41±1.34) μm/a, 且呈现均匀的降解行为	[73]

表 1 (续)

样品	细胞或动物模型	生物相容性	体内外降解行为	文献
Zn-1X (X=Mg、Ca、Sr)	MG63 细胞, 人脐静脉内皮细胞 (ECV304) 和啮齿动物血管平滑肌细胞 (VSMC); 3 月龄的 C57BL/6 小鼠	Zn-1X 合金能显著提高 ECV304 和 MG63 细胞的细胞活力, 且细胞形态正常, 但对 VSMC 细胞的细胞活力没有明显的促进作用, 且细胞形态呈不健康的圆形; 当植入小鼠股骨 8 周后, 周围无炎症反应, 无小鼠死亡; Zn-1X 的骨皮质较假手术对照组明显增厚, 骨膜处有更多新骨形成	Zn-1X 合金体外降解速率显著高于纯锌的, 按降解速率从小到大的顺序依次排序为 Zn、Zn-1Mg、Zn-1Ca、Zn-1Sr; 当植入小鼠股骨 8 周后, Zn-1X 合金针保持良好的完整性, Zn-1Mg、Zn-1Ca 和 Zn-1Sr 的腐蚀速率分别为 0.17、0.19、0.22 mm/a	[74]
Zn-xCu (x=1、2、3、4, 质量分数)	EA.hy926	Zn-xCu 合金未稀释的浸提液具有细胞毒性, 而 50%和 10% (体积分数) 的浸提液中的细胞活力高于 90%; 当铜的质量分数高于 2%时, Zn-xCu 合金比纯锌有更好的抗菌性能	Zn-xCu 合金的降解速率高于纯锌的, 纯锌的降解速率最低, 为 (22.1±4.7) μm/a, Zn-1Cu 的降解速率最高, 为 (33.0±1.0) μm/a	[75]
Zn-0.04Mg-2Ag	小鼠成骨前体细胞 (MC3T3-E1)	Zn-Ag 组、Zn-Mg-Ag 组和对照组的细胞活力均显著高于纯 Zn 组的, 对照组的细胞活性也显著高于 Zn-Ag 组的, 对照组与 Zn-Mg-Ag 组无统计学差异; Zn-Mg-Ag 对金黄色葡萄球菌和表皮葡萄球菌具有显著的抗菌能力	随着合金化的进行, 锌离子浓度逐渐增大, 按锌离子浓度从大到小的顺序依次为 Zn-Mg-Ag、Zn-Ag、Zn	[76]
Zn-xSr (x=0.1、0.4、0.8, 质量分数)	MC3T3-E1 细胞; 大鼠股骨外侧髁圆柱形骨缺损修复模型	Zn-Sr 合金样品显示出良好的细胞相容性; 当植入 4、8、12 周后, 随着时间的延长, 新生骨量逐渐增加, 且 Zn-0.8Sr 支架周围的新生骨量显著高于 Ti 支架周围的	Zn-Sr 合金的耐蚀性低于纯 Zn 的; 大量的腐蚀产物和沉淀覆盖在 Zn-Sr 合金的表面, 且其表面出现腐蚀坑; 在 Zn-0.8Sr 植入物截面可见 Zn 和 O 的降解产物, 在降解产物中还检测到聚集的 Sr	[77]

蚀和生物性能。结果表明, 锆对锌合金具有晶粒细化作用, 热轧后的 Zn-5Ge 合金的 UTS 为 237.0 MPa, 屈服强度为 175.1 MPa, 延伸率为 21.6%, 远高于铸态纯锌的。Zn-5Ge 合金在 Hank's 溶液中的腐蚀速率也显著低于纯锌的。同时, Zn-5Ge 合金表现出良好的生物相容性, 5% (质量分数) Ge 的加入可有效增强纯锌的血液相容性, 50%和 25% (体积分数) 稀释的 Zn-5Ge 合金浸提液的细胞活力显著高于纯锌的。Yang 等<sup>[82]</sup>通过体内外实验更为系统地研究了二元锌合金 (合金元素分别是 Mg、Ca、Sr、Li、Mn、Fe、Cu 和 Ag) 作为骨植入物的力学性能和生物相容性。实验表明, Li 元素提高锌合金力学性能的效果最好, 其次是 Mg 元素。合金化虽然会加速锌合金的降解, 但是仍然能在骨折愈合期间保持机械完整性并提供力学支撑。而向锌中添加 Mg、Ca、Sr、Li 合金元素能够提高锌合金的细胞相容性、成骨性能以及骨整合能力。在二元合金的基础上, 进一步优化了三元 Zn-Li 合金体系, 得到了 UTS 为 (646.69±12.79) MPa 的 Zn-0.8Li-0.4Mg 合金和延伸率为 (103.27±20) % 的 Zn-0.8Li-0.8Mn 合金, 其力学性能接近纯钛的强度, 有望用于临床上以修复承重骨骨缺损。笔者所在团队近年来在可降解医用锌合金材料合金化设计及制备方面的研究也取得了重大突破, 通过合金元素种类、含量及加工工艺的不断优化, 研发出了有很高强度和塑性的 Zn-Cu 系列专利医用锌合金材料<sup>[73,75,83]</sup>, 以满足临床上对力学性能的要求。

虽然合金化能解决医用锌作为骨植入物力学性能不足的缺陷, 但是目前所研究和报道的医用锌及锌合金都普遍存在体外细胞相容性较差的关键问题, 细胞毒性实验结果通常表现出细胞活力较低、很难达到临床使用所要求的 75% 的活力水平, 其细胞毒性水平往往在 II 级甚至更高。Wang 等<sup>[84]</sup>测试了 3 种商用锌合金的体外细胞相容性, 发现在未稀释的锌合金浸提液中培养 1 d 后, 内皮细胞活力在 60% 以下, 甚至低至约 20%, 培养 2 d 后, 细胞活力进一步降低; 而在 50% (体积分数) 稀释的浸提液培养下, 细胞活力才能达到较高水平 (100%)。本课题所研发的 Zn-Cu 系列合金<sup>[85-86]</sup>也表现出类似的结果, 当锌合金浸提液稀释在 50%~100% (体积分数) 时, 细胞活力较低, 表现出较大的细胞毒性, 而当浸提液稀释至 25% 时, 细胞活力显著提高, 表现出较好的细胞相容性。

目前已有研究认为, 锌及锌合金在体外表现出较高细胞毒性的原因是锌基材料降解产生的锌离子局部浓度过高。Ma 等<sup>[59-60]</sup>指出, 锌离子对内皮细胞和平滑肌细胞均具有双相 (Biphasic) 作用, 即低浓度 (<0.08 mol/L) 的锌离子对细胞活力没有不利影响, 反而能够使细胞黏附、伸展、增殖和迁移, 并提高 F-肌动蛋白和黏着斑蛋白的表达水平, 而高浓度 (>0.08 mol/L) 的锌离子则会抑制细胞增殖, 甚至表

现出较高的细胞毒性 (>100 μM)。也有研究表明, 高浓度的锌离子会对骨代谢造成不良影响<sup>[87]</sup>, 并导致成骨细胞的线粒体损伤<sup>[70]</sup>。过量的锌也被认为具有神经毒性, 会损害免疫功能, 并可能延缓骨骼发育。此外, Bowen 等<sup>[88]</sup>通过将 Zn-Al 合金丝材植入 Sprague-Dawley 大鼠腹主动脉的动物实验也发现植入部位出现了慢性和急性炎症。Zhao 等<sup>[89]</sup>也发现 Zn-Li 合金在植入期间会导致中度炎症。

综上所述, 锌较差的力学性能和生物相容性制约了锌在临床上的应用, 通过合金化能改善锌较差的力学性能, 而其较差的生物相容性及其不良的术后反应仍是亟须解决的主要问题。

### 3 可降解医用锌表面改性研究现状

针对锌植入物降解产生的锌离子浓度过高导致其生物相容性较差的问题, 材料的表面改性技术提供了一种可能的解决方案。然而目前关于医用锌基材料表面改性方面的研究仍然处于起步阶段, 仅有少数文献报道了有关提高锌基材料生物相容性的表面改性处理手段或涂层的研究。Yuan 等<sup>[90]</sup>通过使用能延缓镁合金腐蚀的微弧氧化表面改性手段处理纯锌, 反而加速了纯锌的降解, 导致降解产生的锌离子的局部浓度进一步升高, 产生了更高的细胞毒性。Shearier 等<sup>[57]</sup>在纯锌表面修饰了一层明胶涂层, 研究发现, 细胞能够在纯锌表面黏附增殖, 但是黏附情况与空白对照组仍然有一定差距, 表明对提高锌生物相容性的效果有限。可降解医用锌基材料表面改性处理后的降解行为及其生物相容性如表 2 所示。

综上, 目前关于可降解锌基材料表面涂层的研究报道数量较少, 且对细胞相容性的改善效果也相对有限。磷酸盐涂层具有仿生骨组织化学成分, 多种金属盐被报道具有优良生物相容性和生物活性, 如羟基磷灰石等。Su 等<sup>[31]</sup>通过化学转化法在纯锌表面制备了厚度为 5~6 μm 的磷酸锌涂层, 该涂层能显著降低锌基底的锌离子释放 (50%), 同时还具有微纳米结构, 显著提高了前成骨细胞和血管内皮细胞的活力、黏附和分化, 进而显著降低了血小板和大肠杆菌的黏附。此外, Su 等<sup>[30]</sup>还研究了锌不同的降解产物对细胞相容性的影响, 包括磷酸锌、氧化锌和氢氧化锌, 实验结果表明, 只有磷酸锌涂层能够促进内皮细胞和成骨细胞的增殖, 提高锌的生物相容性。特别是在种植体/组织界面自发形成的致密均匀的磷酸锌层, 促进了组织整合, 而磷酸锌的节段性界面层可能导致组织整合延迟。因此, 界面处的磷酸锌层是控制可降解锌植入物生物相容性的关键。磷酸盐涂层有望作为可降解锌基骨植入物表面改性策略, 来提高锌基骨植入物的生物相容性甚至生物活性, 进而促进骨缺损部位的修复。

表 2 可降解医用锌基材料表面改性处理后的降解行为及其生物相容性  
Tab.2 Degradation behavior and biocompatibility of biodegradable medical zinc-based materials after surface modification

样品基底	表面改性方法	细胞或动物模型	生物相容性	降解行为	文献
纯锌	胶原涂层, 磷酸锌涂层	MC3T3-E1 细胞、EA.hy926 细胞	磷酸锌涂层组在 50% (体积分数) 稀释的提取液中显著提高了细胞活力; 在 25% (体积分数) 稀释的浸提液中, 甚至比对照组表现出更好的活力	2 种涂层均降低了纯锌的降解速率, 涂覆磷酸锌涂层的样品释放出的锌离子浓度几乎是纯锌的一半	[31]
Zn-1.5Mg	在 37 °C 模拟体液(SBF) 中浸泡 14 d	鼠成纤维细胞(L929), 人骨肉瘤细胞系(U-2 OS)	在 50% (体积分数) 稀释的浸提液下培养 L929 细胞的细胞活力为 (96±18) %; U-2 OS 细胞培养 24 h 的黏附数量比对照组的提高了 3.6 倍	在 CO <sub>2</sub> 环境下, 未处理样品腐蚀速率是预处理样品的 2.7 倍; 在无 CO <sub>2</sub> 环境下, 未处理样品腐蚀速率是预处理样品的 3 倍	[91]
Zn-3Cu-1Mg	CaHPO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O 涂层	骨髓间充质干细胞 (BMSC)	涂层组细胞增殖水平与钛组相近, 表明涂层合金具有理想的生物相容性; 涂层组还能促进成骨分化和钙沉积	锌离子浓度保持在较低水平, 表明降低了合金的腐蚀速率	[92]
Zn-1Mg, Zn-1Mg-0.5Ca	浸没在 DMEM 中 1 d 进行表面稳定处理	小鼠间充质干细胞 (MSC)	细胞活力显著提高, 与钛组相近, 表明具有理想的生物相容性; 表面黏附的活细胞增强	表面稳定处理能减少金属阳离子的释放	[93]
纯锌	微弧氧化	MG63 细胞	未稀释浸提液表现出很强的细胞毒性; 在 20% (体积分数) 稀释的浸提液中表现出较好的细胞相容性; 其多孔结构能促进细胞的黏附	微弧氧化处理导致纯锌在 Hank's 溶液中的腐蚀速率从 (0.055±0.038) mm/a 增大到 (1.361±0.124) mm/a	[90]
Zn-0.1Li	ZrO <sub>2</sub> 纳米膜	MC3T3-E1 细胞	ZrO <sub>2</sub> 涂层组的细胞活力显著提高, ZrO <sub>2</sub> -500 组的最高; 细胞能够在 ZrO <sub>2</sub> -500 上良好的黏附和铺展	ZrO <sub>2</sub> -500 组的腐蚀速率为裸锌合金的近 1/5; 降低了锌离子释放, 增加了锂离子释放	[94]



表 2 ( 续 )

样品基底	表面改性方法	细胞或动物模型	生物相容性	降解行为	文献
纯锌	类金刚石(Diamond-like Carbon) 涂层	MC3T3-E1 细胞	涂层样品的溶血率略大于裸锌组但无显著差异, 均低于 5%; 裸锌比涂层样品表现出更好的细胞相容性	类金刚石涂层降低了锌基底的耐蚀性, 降解产物为 $Zn_3(PO_4)_2$	[95]
锌、Zn-4Ag、Zn-2Ag-1.8Au-0.2 V	对 2 种粒径 (125 $\mu m$ 和 250 $\mu m$ ) 的 $Al_2O_3$ 进行喷砂处理	人骨肉瘤细胞 (Saos-2)	125 $\mu m$ 粒径处理的样品细胞活力较高, 而 250 $\mu m$ 粒径处理的样品细胞活力显著降低	由于表面粗糙度增大和 $Al_2O_3$ 颗粒嵌入表面, 喷砂处理后降解速率明显增大, 粒径对降解速率无影响	[96]
纯锌	锌-铝层状双氢氧化物 (LDH) 薄膜	MC3T3-E1 细胞	50% (体积分数) 稀释的浸提液的细胞活力提高; 25% (体积分数) 稀释的浸提液培养的细胞形态良好; 溶血率低于 5%	LDH 薄膜可以吸收腐蚀性阴离子, 从而防止锌基底的腐蚀	[97]
纯锌	$H_2SO_4$ 、 $HCl$ 、 $H_2O$ 的体积比为 1 : 1 : 1 的酸蚀	MC3T3-E1 细胞	50% 和 25% (体积分数) 稀释的浸提液表现出良好的细胞相容性; 具有抗菌性能	由于酸蚀样品的表面粗糙度增大, 经酸蚀处理的锌表现出异常高的腐蚀速率	[98]
纯锌	SrHA/PDA 涂层	MC3T3-E1 细胞	促进细胞增殖和分化; 有良好的抗菌效果	纯锌的腐蚀速率降低, 从 (7.476 $\pm$ 0.313) mm/a 降至 (1.451 $\pm$ 0.145) mm/a	[99]
Zn-0.8Mn, Zn-0.8Mn-0.1Li	CaP 涂层	MC3T3-E1 细胞	有涂层的锌和锌合金细胞活力提高, 其中有涂层的 Zn-0.8Mn-0.1Li 细胞活力最高; 加入 CaP 涂层后, 细胞形态良好呈梭形	Zn-0.8Mn-0.1Li 具有较均匀的降解行为, 有涂层的 Zn-0.8Mn-0.1Li 有最高的耐腐蚀性	[100]
Zn-Mg	CaP 涂层, Zn-P 涂层	MC3T3-E1 细胞	促进了细胞的扩散, 细胞形态良好; 有良好的抗菌作用	按耐蚀性从低到高的顺序依次为: 未处理 Zn-Mg 合金、Ca-P 涂层、Zn-P 涂层	[101]
纯锌泡沫	ZnP 涂层, ZnO 涂层, 双相 ZnO+ZnP 涂层	MC3T3-E1 细胞, MG63 细胞	双相涂层组的直接和间接细胞活性均最高; 双相涂层具有抗菌能力	双相涂层泡沫样品的耐腐蚀性最高	[102]

## 4 结论与展望

以镁、锌、铁为代表的可降解医用金属材料因其在体内可完全降解的特性而越来越受到生物学领域和材料领域学者们的关注。其中可降解医用锌及锌合金材料由于其适中的降解速率和力学性能, 有望通过进一步性能优化成为新一代可降解骨植入物理想候选材料。但是降解产生的局部高浓度锌离子及其他降解产物会引发植入物周围的细胞毒性、炎症, 进而影响骨缺损部位的再生和修复。合金化和表面改性处理提供了提高其生物相容性的有效手段, 其中锌合金仍被报道具有轻微的细胞毒性, 而目前对可降解医用锌基材料表面改性的研究仍处于起步阶段, 鲜有相关报道, 并且仅有的文献对其生物相容性的改善效果十分有限。总结目前已有研究成果, 可降解医用锌基材料的表面改性还存在以下问题:

1) 传统表面改性手段加剧了锌离子的释放, 导致更高的细胞毒性。近期发表的研究证实微弧氧化、聚乳酸涂层等常见的金属表面防腐蚀处理方法反而促进了锌基体的腐蚀降解, 进而使局部释放的锌离子浓度更高, 细胞相容性因此进一步恶化。

2) 经表面改性后, 可降解医用锌的生物相容性改善功效不足。有研究表明, 采用明胶涂层修饰纯锌比裸锌对内皮细胞的黏附改善效果更好, 但与阴性对照组结果相比尚有差距, 其细胞毒性等级对应Ⅲ级, 仍无法达到Ⅰ级细胞毒性等级的临床要求。

综合目前的研究报道, 可降解医用锌基材料的研究应用及未来发展方向应关注以下表面改性手段:

1) 磷酸盐及其复合涂层。磷酸盐及其复合涂层具有仿生骨组织化学成分, 通过组分和结构的设计调控优化有望显著提高可降解医用锌基材料的生物相容性, 甚至生物活性, 具有良好的转化应用前景。

2) 可降解聚合物涂层。可降解聚合物涂层具有良好的生物相容性, 并且能通过基团修饰改性赋予涂层生物功能性, 进而提高可降解医用锌的生物相容性。

### 参考文献:

- [1] THOMPSON J M T, HING K A. Bone Repair in the Twenty-First Century: Biology, Chemistry or Engineering?[J]. Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences, 2004, 362(1825): 2821-2850.
- [2] PARIKH S N. Bone Graft Substitutes in Modern Orthopedics[J]. Orthopedics, 2002, 25(11): 1301-1309.
- [3] BEZ M, SHEYN D, TAWACKOLI W, et al. In Situ Bone Tissue Engineering via Ultrasound-Mediated Gene Delivery to Endogenous Progenitor Cells in Mini-Pigs[J]. Science Translational Medicine, 2017, 9(390): eaal3128.
- [4] ANNAMALAI R T, HONG X W, SCHOTT N G, et al. Injectable Osteogenic Microtissues Containing Mesenchymal Stromal Cells Conformally Fill and Repair Critical-Size Defects[J]. Biomaterials, 2019, 208: 32-44.
- [5] SCHEMITSCH E H. Size Matters: Defining Critical in Bone Defect Size![J]. Journal of Orthopaedic Trauma, 2017, 31: S20-S22.
- [6] ZHANG X J, LI Y, CHEN Y E, et al. Cell-Free 3D Scaffold with Two-Stage Delivery of MiRNA-26a to Regenerate Critical-Sized Bone Defects[J]. Nature Communications, 2016, 7(1): 10376.
- [7] NABIYOUNI M, BRÜCKNER T, ZHOU H, et al. Magnesium-Based Bioceramics in Orthopedic Applications[J]. Acta Biomaterialia, 2018, 66: 23-43.
- [8] KOONS G L, DIBA M, MIKOS A G. Materials Design for Bone-Tissue Engineering[J]. Nature Reviews Materials, 2020, 5(8): 584-603.
- [9] BHUMIRATANA S, BERNHARD J C, ALFI D M, et al. Tissue-Engineered Autologous Grafts for Facial Bone Reconstruction[J]. Science Translational Medicine, 2016, 8(343): 343-383.
- [10] REICHERT J C, CIPITRIA A, EPARI D R, et al. A Tissue Engineering Solution for Segmental Defect Regeneration in Load-Bearing Long Bones[J]. Science Translational Medicine, 2012, 4(141): 141-193.
- [11] BOSE S, ROY M, BANDYOPADHYAY A. Recent Advances in Bone Tissue Engineering Scaffolds[J]. Trends in Biotechnology, 2012, 30(10): 546-554.
- [12] ATALA A, KASPER F K, MIKOS A G. Engineering Complex Tissues[J]. Science Translational Medicine, 2012, 4(160): 160rv12.
- [13] HUNTER N L, SHERMAN R E. Combination Products: Modernizing the Regulatory Paradigm[J]. Nature Reviews Drug Discovery, 2017, 16(8): 513-514.
- [14] BURDICK J A, MAUCK R L, GORMAN J H, et al. Acellular Biomaterials: An Evolving Alternative to Cell-Based Therapies[J]. Science Translational Medicine, 2013, 5(176): 176ps4.
- [15] KIM Y S, SMOAK M M, MELCHIORRI A J, et al. An Overview of the Tissue Engineering Market in the United States from 2011 to 2018[J]. Tissue Engineering Part A, 2019, 25(1/2): 1-8.
- [16] DIBA M, CAMARGO W, BRINDISI M, et al. Composite Colloidal Gels Made of Bisphosphonate-Functionalized Gelatin and Bioactive Glass Particles for Regeneration of Osteoporotic Bone Defects[J]. Advanced Functional Materials, 2017, 27(45): 1703438.
- [17] FENG Q, WEI K C, LIN S E, et al. Mechanically Resilient, Injectable, and Bioadhesive Supramolecular Gelatin Hydrogels Crosslinked by Weak Host-Guest Interactions Assist Cell Infiltration and in Situ Tissue Regeneration[J]. Biomaterials, 2016, 101: 217-228.
- [18] SHI L, WANG F, ZHU W, et al. Self-Healing Silk Fibroin-Based Hydrogel for Bone Regeneration: Dynamic Metal-Ligand Self-Assembly Approach[J]. Advanced Functional Materials, 2017, 27(37): 1700591.
- [19] LUO Z Y, ZHANG S Q, PAN J J, et al. Time-Responsive

- Osteogenic Niche of Stem Cells: A Sequentially Triggered, Dual-Peptide Loaded, Alginate Hybrid System for Promoting Cell Activity and Osteo-Differentiation[J]. *Biomaterials*, 2018, 163: 25-42.
- [20] LI L, LI J, GUO J, et al. 3d Molecularly Functionalized Cell-Free Biomimetic Scaffolds for Osteochondral Regeneration[J]. *Advanced Functional Materials*, 2019, 29(6): 1807356.
- [21] YAO Q Q, COSME J G L, XU T, et al. Three Dimensional Electrospun PCL/PLA Blend Nanofibrous Scaffolds with Significantly Improved Stem Cells Osteogenic Differentiation and Cranial Bone Formation[J]. *Biomaterials*, 2017, 115: 115-127.
- [22] GUO J L, KIM Y S, XIE V Y, et al. Modular, Tissue-Specific, and Biodegradable Hydrogel Cross-Linkers for Tissue Engineering[J]. *Science Advances*, 2019, 5(6): eaaw7396.
- [23] DOROZHKIN S V. A Detailed History of Calcium Orthophosphates from 1770s till 1950[J]. *Materials Science & Engineering C*, 2013, 33(6): 3085-3110.
- [24] TATARA A M, KOONS G L, WATSON E, et al. Biomaterials-Aided Mandibular Reconstruction Using in Vivo Bioreactors[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2019, 116(14): 6954-6963.
- [25] ZHOU Y, WU C, CHANG J. Bioceramics to Regulate Stem Cells and Their Microenvironment for Tissue Regeneration[J]. *Materials Today*, 2019, 24: 41-56.
- [26] ZHU Y, ZHANG K, ZHAO R, et al. Bone Regeneration with Micro/Nano Hybrid-Structured Biphasic Calcium Phosphate Bioceramics at Segmental Bone Defect and the Induced Immunoregulation of MSCs[J]. *Biomaterials*, 2017, 147: 133-144.
- [27] BOHNER M, BAROUD G, BERNSTEIN A, et al. Characterization and Distribution of Mechanically Competent Mineralized Tissue in Micropores of B-Tricalcium Phosphate Bone Substitutes[J]. *Materials Today*, 2017, 20(3): 106-115.
- [28] GROEN N, YUAN H P, HEBELS D G A J, et al. Linking the Transcriptional Landscape of Bone Induction to Biomaterial Design Parameters[J]. *Advanced Materials*, 2017, 29(10): 1603259.
- [29] FÉLIX LANA O R P, LEEUWENBURGH S C G, WOLKE J G C, et al. Bone Response to Fast-Degrading, Injectable Calcium Phosphate Cements Containing PLGA Microparticles[J]. *Biomaterials*, 2011, 32(34): 8839-8847.
- [30] SU Y C, YANG H T, GAO J L, et al. Interfacial Zinc Phosphate is the Key to Controlling Biocompatibility of Metallic Zinc Implants[J]. *Advanced Science*, 2019, 6(14): 1900112.
- [31] SU Y C, WANG K, GAO J L, et al. Enhanced Cytocompatibility and Antibacterial Property of Zinc Phosphate Coating on Biodegradable Zinc Materials[J]. *Acta Biomaterialia*, 2019, 98: 174-185.
- [32] SHIMIZU M, KOBAYASHI Y, MIZOGUCHI T, et al. Carbon Nanotubes Induce Bone Calcification by Bidirectional Interaction with Osteoblasts[J]. *Advanced Materials*, 2012, 24(16): 2176-2185.
- [33] LU J Y, CHENG C, HE Y S, et al. Multilayered Graphene Hydrogel Membranes for Guided Bone Regeneration[J]. *Advanced Materials*, 2016, 28(21): 4025-4031.
- [34] NARDECCHIA S, SERRANO M C, GUTIÉRREZ M C, et al. Osteoconductive Performance of Carbon Nanotube Scaffolds Homogeneously Mineralized by Flow-through Electrodeposition[J]. *Advanced Functional Materials*, 2012, 22(21): 4411-4420.
- [35] ARNOLD A M, HOLT B D, DANESHMANDI L, et al. Phosphate Graphene as an Intrinsically Osteoinductive Scaffold for Stem Cell-Driven Bone Regeneration[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2019, 116(11): 4855-4860.
- [36] ZHENG Y F, GU X N, WITTE F. Biodegradable Metals[J]. *Materials Science and Engineering R: Reports*, 2014, 77: 1-34.
- [37] HAN H S, LOFFREDO S, JUN I, et al. Current Status and Outlook on the Clinical Translation of Biodegradable Metals[J]. *Materials Today*, 2019, 23: 57-71.
- [38] ELIN R J. Magnesium Metabolism in Health and Disease[J]. *Disease-a-Month*, 1988, 34(4): 166-218.
- [39] MOCHIZUKI A, YAHATA C, TAKAI H. Cytocompatibility of Magnesium and AZ31 Alloy with Three Types of Cell Lines Using a Direct in Vitro Method[J]. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 2016, 27(9): 145.
- [40] GU Y F, ZHANG J, ZHANG X Z, et al. Three-Dimensional Printed Mg-Doped B-TCP Bone Tissue Engineering Scaffolds: Effects of Magnesium Ion Concentration on Osteogenesis and Angiogenesis in Vitro[J]. *Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 2019, 16(4): 415-429.
- [41] WONG H M, WU S L, CHU P K, et al. Low-Modulus Mg/PCL Hybrid Bone Substitute for Osteoporotic Fracture Fixation[J]. *Biomaterials*, 2013, 34(29): 7016-7032.
- [42] MUSSO C G. Magnesium Metabolism in Health and Disease[J]. *International Urology and Nephrology*, 2009, 41(2): 357-362.
- [43] NIU J L, YUAN G Y, LIAO Y, et al. Enhanced Bio-corrosion Resistance and Biocompatibility of Degradable Mg-Nd-Zn-Zr Alloy by Brushite Coating[J]. *Materials Science & Engineering C*, 2013, 33(8): 4833-4841.
- [44] ERINC M, SILLEKENS W H, MANNENS R G T M, et al. Applicability of Existing Magnesium Alloys as Bio-medical Implant Materials[J]. *Magnesium Technology*, 2009: 209-214.
- [45] WITTE F. The History of Biodegradable Magnesium Implants: A Review[J]. *Acta Biomaterialia*, 2010, 6(5): 1680-1692.
- [46] ECHEVERRY-RENDON M, ALLAIN J P, ROBLEDO S M, et al. Coatings for Biodegradable Magnesium-Based Supports for Therapy of Vascular Disease: A General View[J]. *Materials Science & Engineering C*, 2019, 102: 150-163.
- [47] EUSTER M, WOHLSEIN P, BRÜGMANN M, et al. A Novel Approach to Temporary Stenting: Degradable Cardiovascular Stents Produced from Corrodible Metal-

- Results 6-18 Months after Implantation into New Zealand White Rabbits[J]. *Heart*, 2001, 86(5): 563-569.
- [48] ORIŇAKOVÁ R, ORIŇAK A, GIRETOVÁ M, et al. A Study of Cytocompatibility and Degradation of Iron-Based Biodegradable Materials[J]. *Journal of Biomaterials Applications*, 2016, 30(7): 1060-1070.
- [49] KRAUS T, MOSZNER F, FISCHERAUER S, et al. Biodegradable Fe-Based Alloys for Use in Osteosynthesis: Outcome of an in Vivo Study after 52 Weeks[J]. *Acta Biomaterialia*, 2014, 10(7): 3346-3353.
- [50] PIERSON D, EDICK J, TAUSCHER A, et al. A Simplified in Vivo Approach for Evaluating the Bioabsorbable Behavior of Candidate Stent Materials[J]. *Journal of Biomedical Materials Research Part B, Applied Biomaterials*, 2012, 100(1): 58-67.
- [51] DIXON S J, LEMBERG K M, LAMPRECHT M R, et al. Ferroptosis: An Iron-Dependent Form of Nonapoptotic Cell Death[J]. *Cell*, 2012, 149(5): 1060-1072.
- [52] STOCKWELL B R, FRIEDMANN ANGELI J P, BAYIR H, et al. Ferroptosis: A Regulated Cell Death Nexus Linking Metabolism, Redox Biology, and Disease[J]. *Cell*, 2017, 171(2): 273-285.
- [53] VALLEE B L. Biochemistry, Physiology and Pathology of Zinc[J]. *Physiological Reviews*, 1959, 39(3): 443-490.
- [54] SALGUEIRO M J, ZUBILLAGA M, LYSIONEK A, et al. Zinc as an Essential Micronutrient: A Review[J]. *Nutrition Research*, 2000, 20(5): 737-755.
- [55] VOJTĚCH D, KUBÁSEK J, SERÁK J, et al. Mechanical and Corrosion Properties of Newly Developed Biodegradable Zn-Based Alloys for Bone Fixation[J]. *Acta Biomaterialia*, 2011, 7(9): 3515-3522.
- [56] HERNÁNDEZ-ESCOBAR D, CHAMPAGNE S, YILMAZER H, et al. Current Status and Perspectives of Zinc-Based Absorbable Alloys for Biomedical Applications[J]. *Acta Biomaterialia*, 2019, 97: 1-22.
- [57] SHEARIER E R, BOWEN P K, HE W L, et al. In Vitro Cytotoxicity, Adhesion, and Proliferation of Human Vascular Cells Exposed to Zinc[J]. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 2016, 2(4): 634-642.
- [58] GUILLORY R J, BOWEN P K, HOPKINS S P, et al. Corrosion Characteristics Dictate the Long-Term Inflammatory Profile of Degradable Zinc Arterial Implants[J]. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 2016, 2(12): 2355-2364.
- [59] MA J, ZHAO N, ZHU D H. Endothelial Cellular Responses to Biodegradable Metal Zinc[J]. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 2015, 1(11): 1174-1182.
- [60] MA J, ZHAO N, ZHU D H. Bioabsorbable Zinc Ion Induced Biphasic Cellular Responses in Vascular Smooth Muscle Cells[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 26661.
- [61] ZHU D H, SU Y C, YOUNG M L, et al. Biological Responses and Mechanisms of Human Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells to Zn and Mg Biomaterials[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2017, 9(33): 27453-27461.
- [62] BOWEN P K, DRELICH J, GOLDMAN J. Zinc Exhibits Ideal Physiological Corrosion Behavior for Bioabsorbable Stents[J]. *Advanced Materials*, 2013, 25(18): 2577-2582.
- [63] YANG H T, WANG C, LIU C Q, et al. Evolution of the Degradation Mechanism of Pure Zinc Stent in the One-Year Study of Rabbit Abdominal Aorta Model[J]. *Biomaterials*, 2017, 145: 92-105.
- [64] CHEN Y, ZHANG W, MAITZ M F, et al. Comparative Corrosion Behavior of Zn with Fe and Mg in the Course of Immersion Degradation in Phosphate Buffered Saline[J]. *Corrosion Science*, 2016, 111: 541-555.
- [65] TÖRNE K, LARSSON M, NORLIN A, et al. Degradation of Zinc in Saline Solutions, Plasma, and Whole Blood[J]. *Journal of Biomedical Materials Research Part B, Applied Biomaterials*, 2016, 104(6): 1141-1151.
- [66] LIU X W, SUN J K, YANG Y H, et al. In Vitro Investigation of Ultrapure Zn and Its Mini-tube as Potential Bioabsorbable Stent Material[J]. *Mater Lett*, 2015, 161: 53.
- [67] YOUNG J, REDDY R G. Synthesis, Mechanical Properties, and In vitro Corrosion Behavior of Biodegradable Zn-Li-Cu Alloys[J]. *Journal of Alloys and Compounds*, 2020, 844: 156257.
- [68] BEAUSSANT T K, ÖRNBERG A, WEISSENRIEDER J. Characterization of the Protective Layer Formed on Zinc in Whole Blood[J]. *Electrochimica Acta*, 2017, 258: 1476-1483.
- [69] BOWEN P K, SHEARIER E R, ZHAO S, et al. Biodegradable Metals for Cardiovascular Stents: From Clinical Concerns to Recent Zn-Alloys[J]. *Advanced Healthcare Materials*, 2016, 5(10): 1121-1140.
- [70] MURNI N S, DAMBATT A M S, YEAP S K, et al. Cytotoxicity Evaluation of Biodegradable Zn-3Mg Alloy Toward Normal Human Osteoblast Cells[J]. *Materials Science & Engineering C*, 2015, 49: 560-566.
- [71] GONG H B, WANG K, STRICH R, et al. In Vitro Biodegradation Behavior, Mechanical Properties, and Cytotoxicity of Biodegradable Zn-Mg Alloy[J]. *Journal of Biomedical Materials Research Part B, Applied Biomaterials*, 2015, 103(8): 1632-1640.
- [72] LI H, YANG H, ZHENG Y, et al. Design and Characterizations of Novel Biodegradable Ternary Zn-Based Alloys with Iia Nutrient Alloying Elements Mg, Ca and Sr[J]. *Materials & Design*, 2015, 83: 95-102.
- [73] NIU J L, TANG Z B, HUANG H, et al. Research on a Zn-Cu Alloy as a Biodegradable Material for Potential Vascular Stents Application[J]. *Materials Science & Engineering C*, 2016, 69: 407-413.
- [74] LI H F, XIE X H, ZHENG Y F, et al. Development of Biodegradable Zn-IX Binary Alloys with Nutrient Alloying Elements Mg, Ca and Sr[J]. *Scientific Reports*, 2015, 5: 10719.
- [75] TANG Z B, NIU J L, HUANG H, et al. Potential Biodegradable Zn-Cu Binary Alloys Developed for Cardiovascular Implant Applications[J]. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 2017, 72: 182-191.
- [76] WU H, XIE X, WANG J, et al. Biological Properties of Zn-0.04Mg-2Ag: A New Degradable Zinc Alloy Scaffold for Repairing Large-Scale Bone Defects[J]. *Journal of*

- Materials Research and Technology, 2021, 13: 1779-1789.
- [77] JIA B, YANG H T, ZHANG Z C, et al. Biodegradable Zn-Sr Alloy for Bone Regeneration in Rat Femoral Condyle Defect Model: In Vitro and in Vivo Studies[J]. Bioactive Materials, 2021, 6(6): 1588-1604.
- [78] CHMELÍK F, TROJANOVÁ Z, LUKÁČ P, et al. Acoustic Emission from Zinc Deformed at Room Temperature Part II the Influence of Grain Size on Deformation Behaviour and Acoustic Emission of Pure Zinc[J]. Journal of Materials Science Letters, 1993, 12(15): 1166-1168.
- [79] TONG X, ZHANG D C, ZHANG X T, et al. Microstructure, Mechanical Properties, Biocompatibility, and in Vitro Corrosion and Degradation Behavior of a New Zn-5Ge Alloy for Biodegradable Implant Materials[J]. Acta Biomaterialia, 2018, 82: 197-204.
- [80] LI G N, YANG H T, ZHENG Y F, et al. Challenges in the Use of Zinc and Its Alloys as Biodegradable Metals: Perspective from Biomechanical Compatibility[J]. Acta Biomaterialia, 2019, 97: 23-45.
- [81] VENEZUELA J, DARGUSCH M S. The Influence of Alloying and Fabrication Techniques on the Mechanical Properties, Biodegradability and Biocompatibility of Zinc: A Comprehensive Review[J]. Acta Biomaterialia, 2019, 87: 1-40.
- [82] YANG H T, JIA B, ZHANG Z C, et al. Alloying Design of Biodegradable Zinc as Promising Bone Implants for Load-Bearing Applications[J]. Nature Communications, 2020, 11(1): 401.
- [83] TANG Z, HUANG H, NIU J, et al. Design and Characterizations of Novel Biodegradable Zn-Cu-Mg Alloys for Potential Biodegradable Implants[J]. Materials & Design, 2017, 117: 84-94.
- [84] WANG C, YANG H T, LI X, et al. In Vitro Evaluation of the Feasibility of Commercial Zn Alloys as Biodegradable Metals[J]. Journal of Materials Science & Technology, 2016, 32(9): 909-918.
- [85] CHEN C, YUE R, ZHANG J, et al. Biodegradable Zn-1.5Cu-1.5Ag Alloy with Anti-Aging Ability and Strain Hardening Behavior for Cardiovascular Stents[J]. Materials Science & Engineering C, 2020, 116: 111172.
- [86] YUE R, NIU J L, LI Y T, et al. In Vitro Cytocompatibility, Hemocompatibility and Antibacterial Properties of Biodegradable Zn-Cu-Fe Alloys for Cardiovascular Stents Applications[J]. Materials Science & Engineering C, 2020, 113: 111007.
- [87] BEATTIE J H, AVENELL A. Trace Element Nutrition and Bone Metabolism[J]. Nutrition Research Reviews, 1992, 5(1): 167-188.
- [88] BOWEN P K, SEITZ J M, GUILLORY R J, et al. Evaluation of Wrought Zn-Al Alloys (1, 3, and 5Wt% Al) through Mechanical and in Vivo Testing for Stent Applications[J]. Journal of Biomedical Materials Research Part B, Applied Biomaterials, 2018, 106(1): 245-258.
- [89] ZHAO S, SEITZ J M, EIFLER R, et al. Zn-Li Alloy after Extrusion and Drawing: Structural, Mechanical Characterization, and Biodegradation in Abdominal Aorta of Rat[J]. Materials Science & Engineering C, 2017, 76: 301-312.
- [90] YUAN W, LI B, CHEN D F, et al. Formation Mechanism, Corrosion Behavior, and Cytocompatibility of Microarc Oxidation Coating on Absorbable High-Purity Zinc[J]. ACS Biomaterials Science & Engineering, 2019, 5(2): 487-497.
- [91] JABLONSKÁ E, VOJTĚCH D, FOUSOVÁ M, et al. Influence of Surface Pre-Treatment on the Cytocompatibility of a Novel Biodegradable ZnMg Alloy[J]. Materials Science & Engineering C, 2016, 68: 198-204.
- [92] ZHUANG Y, LIU Q C, JIA G Z, et al. A Biomimetic Zinc Alloy Scaffold Coated with Brushite for Enhanced Cranial Bone Regeneration[J]. ACS Biomaterials Science & Engineering, 2021, 7(3): 893-903.
- [93] KATARIVAS L G, KAFRI A, VENTURA Y, et al. Surface Stabilization Treatment Enhances Initial Cell Viability and Adhesion for Biodegradable Zinc Alloys[J]. Materials Letters, 2019, 248: 130-133.
- [94] YUAN W, XIA D D, ZHENG Y F, et al. Controllable Biodegradation and Enhanced Osseointegration of ZrO<sub>2</sub>-Nanofilm Coated Zn-Li Alloy: In Vitro and in Vivo Studies[J]. Acta Biomaterialia, 2020, 105: 290-303.
- [95] PENG F, LIN Y L, ZHANG D D, et al. Corrosion Behavior and Biocompatibility of Diamond-Like Carbon-Coated Zinc: An in Vitro Study[J]. ACS Omega, 2021, 6(14): 9843-9851.
- [96] LI P, QIAN J, ZHANG W, et al. Improved Biodegradability of Zinc and Its Alloys by Sandblasting Treatment[J]. Surface and Coatings Technology, 2021, 405: 126678.
- [97] JIAN L, XIE J, HAO X, et al. Enhanced Corrosion Resistance and Cytocompatibility of Zinc by Zn-Al Layered Double Hydroxide Films[J]. Materials Letters, 2022, 314: 131873.
- [98] XIANG E M, GÓMEZ-CEREZO M N, ALI Y, et al. Surface Modification of Pure Zinc by Acid Etching: Accelerating the Corrosion Rate and Enhancing Biocompatibility and Antibacterial Characteristics[J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2022, 14(19): 22554-22569.
- [99] WANG B B, LI Y C, WANG S S, et al. Electrodeposited Dopamine/Strontium-Doped Hydroxyapatite Composite Coating on Pure Zinc for Anti-Corrosion, Antimicrobial and Osteogenesis[J]. Materials Science & Engineering C, 2021, 129: 112387.
- [100] QIANG H F, LV Z Y, HOU C Y, et al. Development of Biodegradable Zn-Mn-Li and CaP Coatings on Zn-Mn-Li Alloys and Cytocompatibility Evaluation for Bone Graft[J]. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 2022, 10: 1013097.
- [101] LI H, ZHENG Y, JI X. Synthesis and in Vitro Evaluation of Ca-P Coating on Biodegradable Zn Alloys[J]. Journal of Materials Science & Technology, 2023, 141: 124-134.
- [102] ZHU L, TONG X, YE Z, et al. Zinc Phosphate, Zinc Oxide, and Their Dual-Phase Coatings on Pure Zn Foam with Good Corrosion Resistance, Cytocompatibility, and Antibacterial Ability for Potential Biodegradable Bone-Implant Applications[J]. Chemical Engineering Journal, 2022, 450: 137946.