

· 实验研究 ·

Cu/Gd 共掺杂羟基磷灰石复合可吸收材料的合成及其在眼眶骨缺损修复中的应用

曾薛颖¹ 刘香笈² 吴鹏森¹ 李阳¹ 孙鹤天¹ 卢苇¹¹大连医科大学附属第二医院眼科, 大连 116027; ²大连医科大学附属第二医院创伤骨科, 大连 116027

通信作者: 卢苇, Email: drluweicn@163.com

【摘要】 目的 通过 Cu、Gd 离子置换羟基磷灰石 (HA) 中钙离子合成羟基磷灰石/聚乳酸-羟基乙酸 (HA/PLGA) 复合材料并鉴定材料的理化特性, 探讨其应用于眼眶骨缺损修复的可行性。**方法** 使用硝酸铜、硝酸钆、氯化钙和磷酸氢二铵作为原料, 通过水热合成的方式置换 HA 中的钙离子, 合成不同比例的纳米粒子 HA、Cu@HA、Gd@HA、Cu/Gd@HA。使用相转换的方式和溶剂蒸发方法, 将不同比例的纳米粒子与 PLGA 共同制备成为 HA/PLGA、Cu@HA/PLGA、Gd@HA/PLGA、Cu/Gd@HA/PLGA 复合材料。通过 X 射线电子衍射 (XRD)、傅里叶红外吸收光谱 (FT-IR)、电感耦合等离子光谱 (ICP)、环境扫描电子显微镜 (ESEM) 及微计算机断层扫描 (Micro-CT) 等分析检测纳米粒子表征; 使用元素分析实验检测复合材料的均一性; 采用 ESEM 及 Micro-CT 测量 Cu/Gd@HA/PLGA 复合材料的微观结构; 采用图片接触角仪器测量 Cu/Gd@HA/PLGA 复合材料的接触角, 评估其亲水性; 通过磁共振成像 (MRI) 检测复合材料的成像能力并获得其 T1 加权图像; 采用 CCK-8 法检测各纳米粒子及其浸提液的细胞毒性。取 20 只大鼠构建眼眶骨缺损模型, 按照随机数字表法分为 4 个组, 根据分组分别将相应复合材料植入大鼠眼眶骨缺损处, 于第 8 周通过 Micro-CT 及 MRI 结果验证材料植入情况, 采用苏木精-伊红、Masson、天狼星红染色观察新生骨的形成, 以及软骨的生成、胶原纤维的数量和分布情况; 采用苏木精-伊红染色观察复合材料对各组织器官的毒性作用。**结果** XRD 及 ESEM 结果显示, Cu 和 Gd 元素共掺杂纳米粒子对 HA 晶格结构的改变小于单掺杂纳米粒子。FT-IR 结果表明, Cu、Gd 离子掺杂的纳米粒子均符合 HA 的红外吸收光谱结果。ICP 分析结果显示, 0.5Cu/Gd@HA 组和 0.5Cu@HA 组中 Ca 元素含量高于 0.5Gd@HA 组。各组复合材料接触角总体比较差异有统计学意义 ($F=5.040, P<0.05$), 其中 0.5Cu/Gd@HA/PLGA 复合材料接触角最小, 亲水性最佳。各组复合材料的孔隙率总体比较差异无统计学意义 ($F=0.004, P>0.05$)。MRI 检测结果表明, 掺杂 Gd 的复合材料显影增强, 其中 0.5Gd@HA/PLGA 组的信号强度最高。Micro-CT 扫描结果显示, 掺杂 Cu、Gd 元素的复合材料组分优于纯 HA/PLGA 组, 表明金属离子 Cu、Gd 可促进骨骼的生长。CCK-8 检测结果显示, 纳米粒子和浸提液无明显的细胞毒性作用。造模后 8 周, Micro-CT 显示 0.5Cu/Gd@HA/PLGA 材料能够在体内良好地降解; 骨缺损区域骨组织切片染色结果提示, 各组大鼠植入材料周围组织及大鼠器官未显示生物学毒性。此外, Gd 掺杂的复合材料在植入大鼠体内体现出良好的核磁影像学特征。**结论** Cu/Gd@HA/PLGA 复合材料理化性质、生物安全性良好, 有一定的促进骨骼生长能力, 在 MRI 下可清晰成像, 作为眼眶骨缺损修复的新型复合可吸收材料具有良好的临床应用前景。

【关键词】 聚乳酸-聚乙醇酸共聚物; 羟基磷灰石; 眼眶骨折; 离子共掺杂; 核磁显像**基金项目:** 辽宁省大连市科技创新基金 (2024JJ12RC037)

DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20240205-00038

Synthesis of Cu/Gd co-doped hydroxyapatite composite absorbable material and its application in orbital bone defect repair

Zeng Xueying¹, Liu Xiangji², Wu Pengsen¹, Li Yang¹, Sun Hetian¹, Lu Wei¹¹Department of Ophthalmology, The Second Hospital of Dalian Medical University, Dalian 116027, China; ²Department of Orthopaedics, The Second Hospital of Dalian Medical University, Dalian 116027, China

Corresponding author: Lu Wei, Email: drluweicn@163.com

【Abstract】 Objective To synthesize hydroxyapatite/poly (lactic-co-glycolic acid) (HA/PLGA) composites

by substituting calcium ions in HA with Cu and Gd ions, characterize their physicochemical properties, and evaluate their feasibility for orbital bone defect repair. **Methods** Different ratios of Cu-, Gd-, and Cu/Gd-substituted HA nanoparticles (Cu@ HA, Gd@ HA and Cu/Gd@ HA) were synthesized via hydrothermal synthesis using copper nitrate, gadolinium nitrate, calcium chloride, and ammonium hydrogen phosphate. HA/PLGA, Cu@ HA/PLGA, Gd@ HA/PLGA, and Cu/Gd@ HA/PLGA composites were prepared. HA/PLGA was prepared by co-preparing different ratios of nanoparticles with PLGA via phase inversion and solvent evaporation. The nanoparticles and composites were characterized using X-ray diffraction (XRD), Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR), inductively coupled plasma (ICP), environmental scanning electron microscope (ESEM) and micro-computed tomography (Micro-CT). Composite homogeneity was assessed by elemental analysis and the contact angle was measured to evaluate hydrophilicity. Imaging capability of composites was assessed by magnetic resonance imaging (MRI) and T1-weighted. CCK-8 method was used to detect the cytotoxicity of nanoparticles and their extract. Orbital bone defects model was established in 20 rats, which were randomly divided into 4 groups, and implanted with respective composites. Eight weeks after transplantation, the implants were evaluated using Micro-CT and MRI, and osteogenesis, collagen distribution and biocompatibility were assessed by hematoxylin-eosin staining, Masson, and Sirius red staining. All animal experiments complied with the regulations of the Laboratory Animal Ethics Committee of Dalian Medical University and were approved (No. AEE23104). **Results** XRD and ESEM results showed that co-doping with Cu/Gd induced less HA lattice distortion than single doping. FT-IR results showed that the nanoparticles doped with Cu and Gd ions were consistent with the HA infrared absorption spectrum. ICP results revealed a higher Ca content in 0.5Cu/Gd@ HA and 0.5Cu@ HA samples than in 0.5Gd@ HA sample. There was a statistically significant overall difference in contact angles among different groups of composites ($F = 5.040$, $P < 0.05$), among which the 0.5Cu/Gd@ HA/PLGA composite exhibited the smallest contact angle and the best hydrophilicity. There was no statistically significant difference in porosity among different groups of composites ($F = 0.004$, $P > 0.05$). MRI results showed that Gd-doped composites displayed enhanced development and that the signal intensity of the 0.5Gd@ HA/PLGA group was the highest. Micro-CT scanning results showed that the composition of the composite material doped with Cu and Gd was better than that of the pure HA/PLGA group, indicating that the metal ions Cu and Gd could promote bone growth. CCK-8 results showed that the nanoparticles and their extracts had no obvious cytotoxic effects. Eight weeks after modelling, Micro-CT showed that the 0.5Cu/Gd@ HA/PLGA material degraded well *in vivo* and the staining results of bone tissue sections in the bone defect area suggested that tissues around the implanted material and rat organs in different groups did not show biological toxicity. In addition, the Gd-doped composites showed good magnetic imaging characteristics when implanted in animals. **Conclusions** Cu/Gd@ HA/PLGA composites exhibit favorable physicochemical properties, biosafety, osteogenic potential, and MRI contrast and have good clinical application prospects for orbital bone repair.

[Key words] PLGA compound; Hydroxyapatite; Orbital fractures; Ion co-doping; Nuclear magnetic imaging

Fund program: Dalian Science and Technology Innovation Fund (2024JJ12RC037)

DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20240205-00038

眼眶骨质的完整性对于保护眶内容物具有重要的临床意义。眼眶骨折是引起眼眶骨缺损常见的原因,其不仅可导致视力下降、复视、眼球运动障碍、眼球凹陷、眶下神经麻痹等临床表现,还能引起颅脑损伤、颅颌面畸形、鼻窦损伤、鼻泪管断裂、咬合功能障碍等并发症,严重影响患者的生理功能及面容外观^[1-2]。近年来,因交通事故、运动损伤和其他事故导致的眼眶骨折发病率逐渐升高^[3]。眼眶修复材料对于眶骨修复至关重要,目前临床常用的修复材料包括钛金属材料、无机非金属材料、高分子材料及复合材料等^[4],但这些材料存在变态反应、生物相容性差、力学性能不足、

影像学显影不良、具有腐蚀性 & 修复效果差等问题^[5-9]。因此,深入研究更适用于眼眶骨缺损修复的新材料是临床亟待解决的问题。

近年来,可吸收高分子材料的研究发展迅速。聚乳酸、聚乙醇酸、聚乳酸-羟基乙酸 [poly (lactic-co-glycolic acid), PLGA] 及其与磷酸钙陶瓷形成的复合物^[10]等材料的不断研发为可吸收材料在临床的应用提供了广阔空间。PLGA 是目前广泛应用的组织工程骨材料,研究证实 PLGA 及其复合材料可有效促进骨缺损的修复^[11-12],故 PLGA 目前已广泛应用于骨、软骨等组织的修复重建。羟基磷灰石 (hydroxyapatite,

HA)具有良好的生物相容性、生物活性、机械性能和化学稳定性,其孔隙空间结构利于骨组织长入,便于与宿主骨直接结合^[13-15],可作为长期稳定的骨植入物。因此,HA/PLGA 复合材料的研究备受关注。虽然 HA/PLGA 复合材料的使用能显著提升 HA 的可塑性,但其诱导体内成骨细胞产生成骨分化的效果仍显不足^[16],因此亟需探索一种新的骨修复材料,通过优化材料的结构和功能以提升材料的生物相容性、生物活性及降解性能,而掺杂金属离子的骨修复复合材料就是其中的一种^[17]。已有研究表明,在 HA 中掺杂金属 Cu 与 Gd 元素阳离子可有效增强细胞增殖与成骨分化能力,还能够提高 HA 对骨骼损伤的修复能力^[18]。其中掺杂金属 Gd 离子的修复材料能够在 T1 加权像上显示出高信号,具有较好的显像效果^[19-20]。本研究通过金属离子 Gd、Cu 置换 HA 中的钙离子,合成 Cu/Gd@HA/PLGA 复合材料,旨在提升 HA 成骨诱导能力的同时,增加可吸收高分子材料 PLGA 在磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)中的显像能力,有利于术后观察修复材料植入情况以及评估修复材料的降解及新生骨的长入。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物和细胞 6~8 周龄雌性 SD 大鼠 40 只, 体质量约 200 g, 购自辽宁长生生物技术有限公司。大鼠饲养于屏障环境, 温度为 $(22 \pm 2)^\circ\text{C}$, 湿度为 $(50 \pm 10)\%$, 12 h/12 h 昼夜循环。大鼠自由摄食标准实验鼠粮, 自由饮用灭菌水, 垫料每周更换 2 次。本研究动物实验均经大连医科大学实验动物伦理委员会批准 (批文号: AEE23104)。MC3T3-E1 细胞购自中国科学院应用化学研究所。

1.1.2 主要试剂及仪器 L-丙交酯 (L-lactide, LA)、乙醇酸酯 (glycolic acid, GA)、氯仿、硝酸钆、氢氧化铵、硝酸铜、氯化钙、乙醇 (北京化学工业集团有限责任公司); 细胞计数试剂盒 8 (cell counting kit-8, CCK-8) (广州科荣生物有限公司)。Philips/XL30 FEG 扫描电子显微镜 (scanning electron microscope, SEM)、环境扫描电子显微镜 (environmental scanning electron microscopy, ESEM) (荷兰 Philips 公司); X 射

样品	Ca/P (Ca
HA	1.670
0.5Cu@ HA	1.583
0.5Gd@ HA	1.542
0.5Cu/Gd@ HA	1.458

注: HA: 羟基磷灰石
Note: HA: hydroxyapatite

线衍射(X-ray diffraction, XRD)仪、微计算机断层扫描(micro computed tomography, Micro-CT)仪(德国布鲁克公司);红外分光光度计(英国 Edinburgh Instruments 公司);电感耦合等离子光谱(inductive coupled plasma emission spectrometer, ICP)仪(美国 Thermo Scientific 公司);MRI 系统(美国 GE 公司);多功能酶标仪(美国 SpectraMax 公司);图片接触角仪器(德国 LAUDA Scientific 公司)。

1.2 方法

1.2.1 Cu/Gd@ HA/PLGA 复合材料制备 (1) PLGA 合成 LA 和 GA 通过开环共聚合成 PLGA (LA/GA 摩尔比 = 80 : 20; $M_n = 1 \times 10^5$ Mw)。(2) Cu/Gd@ HA 合成 通过水热合成制备 HA、0.5Cu@ HA、0.5Gd@ HA 和 0.5Cu/Gd@ HA, 合成 $Ca_{(20-3x-2y)/2}Gd_xCu_y(PO_4)_6(OH)_2$ ($0 \leq y \leq 2, 0 \leq x \leq 2$), 其中 x 代表 Gd^{3+} 的掺杂量, y 代表 Cu^{2+} 的掺杂量。具体步骤: 将硝酸钆、硝酸铜、氯化钙及磷酸二氢铵按顺序投入蒸馏水中制备 Ca/P 摩尔比为 1.67 的水溶液; 向水溶液中加入氨水调节 pH 为 10.0~11.0, 于 40 °C 水浴磁力搅拌下反应 1 h, 制成 HA 悬浊液; 将盛有 HA 悬浊液的反应釜放入马弗炉中, 加热至 180 °C 反应 12 h; 冷却至室温后离心、弃上清, 超声清洗 10 min, 重复清洗 3 次; 将所得样品放入冷冻干燥机中, 于 -40 °C 真空下冷冻干燥 48 h, 过筛网获得 HA 样品。采用同法制备 0.5Cu@ HA、0.5Gd@ HA 和 0.5Cu/Gd@ HA, 各样品具体组分见表 1。(3) 复合材料制备 将 125 mg Cu/Gd@ HA 粉末分散于 2.5 ml N-甲基吡咯烷酮 (N-methyl-2-pyrrolidone, NMP) 溶液中, 经磁力搅拌 30 min 和 200 W 超声处理 20 min 形成均匀悬浊液。加入 500 mg PLGA, 50 °C 搅拌 4 h 至完全溶解, 获得 Cu/Gd@ HA/PLGA-NMP 复合溶液 (固体含量 20 wt%, NMP/Cu/Gd@ HA/PLGA 质量比为 4 : 1)。将 2.5 ml 悬浊液连带注射器置于 -80 °C 冷冻 12 h, 材料冷冻成型后去除注射器, 将材料放于水中进行置换, 每隔 6 h 换 1 次水, 持续 3 d; 将置换处理

表 1 各样品的理论和实际组分

Table 1 Theoretical and practical composition in each sample

样品	理论组分			实际组分	
	Ca/P	(Ca+Gd+Cu)/P	化学式	Ca/P	化学式
HA	1.670	1.670	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{OH}_2$	1.67	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{OH}_2$
0.5Cu@ HA	1.583	1.670	$\text{Ca}_{9.5}\text{Cu}_{0.5}(\text{PO}_4)_6\text{OH}_2$	1.41	$\text{Ca}_{9.72}\text{Cu}_{0.27}(\text{PO}_4)_6\text{OH}_2$
0.5Gd@ HA	1.542	1.792	$\text{Ca}_{9.25}\text{Gd}_{0.5}(\text{PO}_4)_6\text{OH}_2$	1.62	$\text{Ca}_{8.44}\text{Gd}_{1.57}(\text{PO}_4)_6\text{OH}_2$
0.5Cu/Gd@ HA	1.458	1.625	$\text{Ca}_{8.75}\text{Gd}_{0.5}\text{Cu}_{0.5}(\text{PO}_4)_6\text{OH}_2$	1.08	$\text{Ca}_{6.5}\text{Gu}_{0.01}\text{Cu}_{0.7}(\text{PO}_4)_6\text{OH}_2$
注:HA;羟基磷灰石 Note:HA;hydroxyapatite					

后的材料置于冷冻干燥机中 -40°C 真空抽干 12 h, 获得干燥的 Cu/Gd@ HA/PLGA 复合材料。

1.2.2 Cu/Gd@ HA 纳米颗粒表征检测 采用 XRD 仪测定 Cu/Gd@ HA 纳米粒子的特征晶体结构峰衍射模式; 采用红外分光光度计测定 Cu/Gd@ HA 纳米颗粒的傅立叶红外吸收光谱 (Fourier transform infrared spectrometry, FT-IR); 采用 ESEM 观察 Cu/Gd@ HA 纳米颗粒形貌; 采用 ImageJ 6.5 软件分析 Cu/Gd@ HA 纳米颗粒的直径及其分布; 采用 ICP 测量 Cu/Gd@ HA 纳米颗粒中元素的类型和比例, 并计算合成纳米颗粒的化学式。

1.2.3 Cu/Gd@ HA/PLGA 复合材料的均一性、显微结构、接触角及 MRI 成像能力检测 通过 SEM-Mapping 图像结果评估材料分布的均一性; 采用 ESEM 及 Micro-CT 仪观察复合材料的微观结构; 采用图片接触角仪器测量复合材料的接触角, 以评估其亲水性或疏水性; 通过 MRI 系统检测复合材料的成像能力并获得其 T1 加权图像。

1.2.4 CCK-8 法检测 Cu/Gd@ HA 浸提液对细胞的毒性作用 因 PLGA 与细胞之间的良好生物相容性已获美国食品药品监督管理局批准认证, 本实验不再研究其细胞毒性。设置 HA、0.5Cu@ HA、0.5Gd@ HA、0.5Cu/Gd@ HA 共 4 个组, 分别以 200 mg/ml 的质量浓度浸没于无菌 DMEM 培养基中, 120 r/min 离心后, 于 37°C 的振荡箱内孵育 24 h, 以离心 5 min 后的上清液作为浸提原液。用 DMEM 培养基培养 MC3T3-E1 细胞 24 h, 弃去培养基后分别加入浸提原液及不同梯度稀释液 (1/2、1/4、1/8、1/16、1/32、1/64), 每组设 6 个复孔; 阴性对照不做特殊处理。22 h 后加入 10% CCK-8 孵育 2 h, 检测 450 nm 处吸光度 (absorbance, A) 值。以阴性对照为 100%, 细胞增殖率通过校正空白值后计算。

1.2.5 CCK-8 法检查不同 Cu/Gd@ HA/PLGA 膜对于细胞增殖的作用 将 HA、0.5Cu@ HA、0.5Gd@ HA、0.5Cu/Gd@ HA 制作成涂膜玻片, 每组设置 6 个平行样。将各涂膜玻片放于 24 孔板内, 每孔接种 2×10^4 个 MC3T3-E1 细胞, 置于 37°C 、5% CO_2 恒温细胞培养箱中, 每 48 h 换液 1 次, 分别在第 1、3、7 天检测孔板 450 nm 处 A 值。以无涂膜孔为阴性对照, 无细胞涂膜孔校正背景, 计算相对增殖率。

1.2.6 眼眶骨缺损模型建立及分组处理 将 20 只 SD 大鼠按照随机数字表法随机平均分为 2 个组, 进行眼眶骨缺损模型造模。参照大鼠眼眶骨缺损部位面积及形态, 对复合材料进行裁剪, 制作成略大于大鼠眼眶

骨缺损部位的支架, 紫外照射复合支架 48 h 后将支架在 75% 乙醇中浸泡 24 h, 然后在磷酸盐缓冲溶液中充分浸泡置换乙醇溶液, 重复 3 次乙醇浸泡 24 h 消毒过程。按 3 ml/kg 使用 10% 水合氯醛腹腔注射麻醉大鼠, 将大鼠仰卧位固定, 术区剃毛, 依次用碘伏+75% 乙醇消毒眼眶周围皮肤至少 3 遍, 范围 $\geq 2\text{ cm}$ 。沿下睑缘作 0.5 cm 皮肤切口, 自轮匝肌下方眶隔前向眶缘分离, 分离至眶下缘后切开骨膜, 于骨膜下间隙下钝性分离, 直至完整暴露眼眶下壁。将造模点设置在眼眶下壁, 电钻打穿下壁骨质, 取出碎骨片, 修整眶壁断端并填塞棉球压迫止血; 将造模成功大鼠按照随机数字表法随机分为 4 个组, 每组根据分组将不同的复合材料植入眼眶骨缺损处, 避免材料与骨断端处肌肉或其他软组织嵌顿, 对位分层缝合创口; 术后 1 周内, 予以实验大鼠每天青霉素 40 万 U (商品单位) 肌内注射, 常规术后观察。

1.2.7 眼眶骨 CT 扫描成像及天狼星红染色 在造模后 4、8 周分别处死大鼠, 取其眼眶骨, Micro-CT 仪扫描眼眶骨缺损处及材料植入部位并行三维重建, 使用影像软件分析骨体积分数 (bone volume/tissue volume, BV/TV)、骨小梁数量 (thickness number, Tb. N)、骨小梁厚度 (trabecular thickness, Tb. Th) 和骨小梁分离度 (trabecular separation, Tb. Sp)。将眼眶骨组织置于 10% 中性甲醛固定液中固定 48 h, 常规脱水石蜡包埋; 冠状位行 $6\text{ }\mu\text{m}$ 厚组织切片, 确保切片包含缺损中心、植入材料及周围原生骨, 常规脱蜡; 使用 Mayer 苏木素染色液对细胞核染色 8 min, Masson 丽春红酸性复红液染色 5~10 min, 再使用 0.1% 天狼星红染色 1 h, 流水冲洗 10 min; 常规脱水透明, 使用中性树胶封片后于光学显微镜下观察植入不同复合材料后眼眶骨缺损区域新生骨的长入情况。

1.2.8 苏木精-伊红染色观察复合材料对大鼠器官组织的毒性作用 取 1.2.6 部分处死大鼠的心脏、肝脏、脾脏、肺脏、肾脏、脑组织, 10% 中性甲醛固定 24 h, 梯度脱水后石蜡包埋, 制备 $5\text{ }\mu\text{m}$ 厚冠状/水平切片。常规苏木精-伊红染色 (Harris 苏木素染色 5 min, 伊红染色 1 min), 中性树胶封片。光学显微镜下 ($200\times$) 评估炎性浸润、坏死等毒性病变。

1.3 统计学方法

采用 Origin 软件 (美国 OriginLab 公司) 进行数据处理及统计分析。计量资料数据经 Shapiro-Wilk 检验证实符合正态分布, 以 $\bar{x}\pm s$ 表示。各组各指标总体比较采用单因素方差分析, 多重比较采用 Tukey 检验。采用双尾检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各纳米粒子 XRD 及 FT-IR 分析结果比较

XRD 实验结果显示,4 个组样品均呈现出 HA 的特征峰。相较于 0.5Cu@HA 组,0.5Gd@HA 组 XRD 曲线的慢包峰更多、更宽、更低,提示 Gd 元素对 HA 晶格的影响大于 Cu 元素;0.5Cu/Gd@HA 的 XRD 曲线对比单掺杂组分峰位与纯 HA 接近,且无显著杂峰,说明离子共掺杂对于 HA 的影响更小(图 1A)。

FT-IR 结果表明,磷酸盐 P-O 键在 FT-IR 中有 3 个明显的吸收峰,分别在 963、473 和 1 038 cm^{-1} 处;而 O-H 键的吸收峰对应 2 个峰位,分别为 565 和 607 cm^{-1} 处;在 3 570 cm^{-1} 处的宽频带和在 1 646 cm^{-1} 处的小频带分别归因于 H-O-H 的振动,表明样品中存在 -OH(图 1B)。实验结果表明,样品中存在的主要基团为羟基与磷酸根基团,与 HA 的红外吸收光谱结果相符。

2.2 各组样品 ESEM 分析结果比较

ESEM 图显示,0.5Cu@HA 组与 0.5Cu/Gd@HA 组样品均表现出 HA 固有的短棒状结构(图 2A)。0.5Gd@HA 组样品的 HA 形貌欠规则,转变为圆片状,说明 HA 形貌开始向不规则形貌转变,晶格结构已经开始出现破坏。纳米粒子的粒径分析结果显示,0.5Cu/Gd@HA 组共掺杂的纳米粒子粒径为 100~120 nm,而 0.5Gd@HA 组单 Gd 掺杂的纳米粒子粒径为 80~90 nm(图 2B)。

ESEM 拍摄图像说明,0.5Cu@HA 组与 0.5Cu/Gd@HA 组 Cu、Cd 离子的单掺杂均导致了 HA 晶格结构的改变,但 0.5Cu/Gd@HA 组纳米粒子的晶格结构保持了 HA 原有的晶格结构,表明相比于单元素掺杂,共掺杂的方式可以减少 HA 晶格结构的改变。

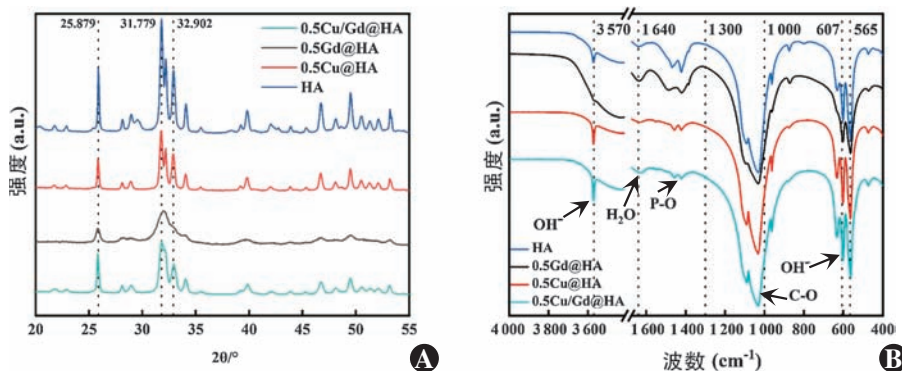


图 1 不同样品的 XRD 和 FT-IR 分析结果 A:XRD 分析结果 各样品均呈现出 HA 的 XRD 特征峰,且各组衍射峰位置均与 HA 基本一致,无其他杂质衍射峰出现,即经 Cu^{2+} 和 Gd^{3+} 掺杂后的 HA 晶体,其结构仍是 HA 相 B:FT-IR 分析结果 各样品中存在的主要基团为羟基与磷酸根基团,符合 HA 的红外吸收光谱结果 HA:羟基磷灰石

Figure 1 XRD and FT-IR analysis results of different samples A:XRD analysis results All samples exhibited characteristic XRD peaks of HA, with peak positions consistent with pure HA and no impurity peak was detected. This indicated that the crystal structure of HA remained unchanged after doping with Cu^{2+} and Gd^{3+} B:FT-IR analysis results The main functional groups observed in all samples were hydroxyl (-OH) and phosphate (PO_4^{3-}) groups, consistent with the infrared absorption spectrum of HA HA:hydroxyapatite

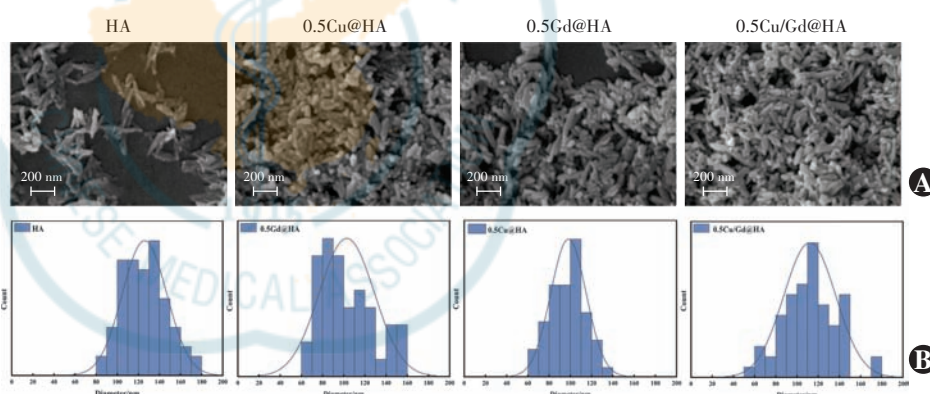


图 2 4 个组样品 ESEM 图像 A:4 个组样品均表现出 HA 固有的短棒结构(标尺=200 nm) B:各组样品纳米粒子粒径统计学分析 HA:羟基磷灰石

Figure 2 ESEM images of four groups A:All groups displayed the inherent short rod structure of HA (Scale bar=200 nm) B:Statistical analysis of diameter of diameter of nanoparticles HA:hydroxyapatite

2.3 各组纳米粒子的 ICP 分析结果比较

ICP 分析结果显示,各组样品均包含了 HA 的组成元素。通过分析样品中元素的比例发现在相同的投料比下,0.5Cu@HA 组与 0.5Gd@HA 组样品中 Cu、Gd 元素占比不同,0.5Cu/Gd@HA 组和 0.5Cu@HA 组中 Ca 元素含量均高于 0.5Gd@HA 组(图 3)。

2.4 各组复合材料的接触角、扫描电子显微镜图像、Micro-CT 重建、孔隙率及磁滞曲线结果比较

各组复合材料接触角总体比较差异有统计学意义($F=5.040, P<0.05$)。0.5Cu/Gd@HA/PLGA 组复合材料接触角最小,亲水性最佳,0.5Gd@HA/PLGA 组复合材料的亲水性优于 0.5Cu@HA/PLGA 组(图 4A, 表 3)。

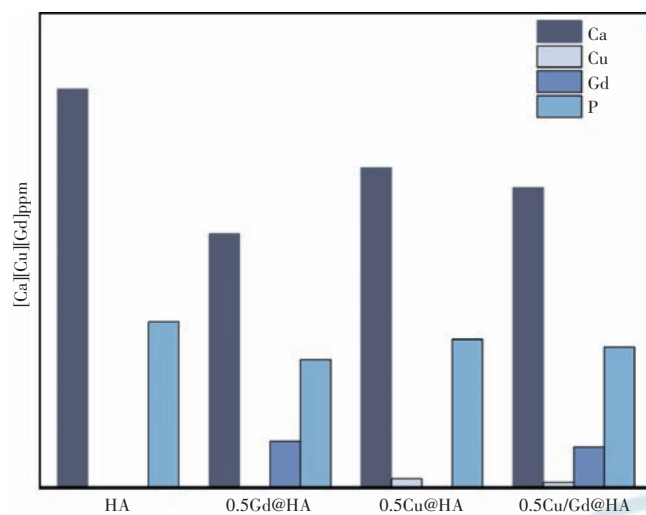


图3 各组样品的 ICP 结果 各组样品均含 HA 的组成元素 Ca 元素和 P 元素 HA:羟基磷灰石

Figure 3 ICP results of different groups All groups contained the elemental composition of HA, including calcium (Ca) and phosphorus (P) HA: hydroxyapatite

表2 水热反应12 h 后不同样品中各元素含量
Table 2 Element scale of samples from different groups after hydrothermal reaction for 12 hours

样品	Ca	Cu	Gd	P
HA	419 200	360.3	0	174 500
0.5Gd@HA	267 200	366.1	49 050	134 600
0.5Cu@HA	336 800	9 185	0	156 000
0.5Cu/Gd@HA	315 900	5 532	42 960	147 900

注:HA:羟基磷灰石

Note: HA: hydroxyapatite

扫描电子显微镜图像显示,各组复合材料的表面形貌无明显区别(图4B)。Micro-CT 扫描重建结果显示,各组样品无明显区别(图4C)。各组复合材料的孔隙率总体比较差异无统计学意义($F=0.004, P>0.05$)(表3)。

当曲线表现为 K (磁化率) >0 时,证明样品具备顺磁性,即磁化强度的方向与磁场强度相同。不同组分样品在磁场环境下的磁力曲线表明,当外加磁场作用于含有 Gd 的材料时,Gd 原子中没有完全抵消的电子磁矩,在磁场的环境下被干扰,从无序排列状态转变为有序状态,从而具备了磁性(图4D)。

2.5 各组复合材料的 MRI 图像比较

MRI 结果证实,通过向 HA 中掺杂具备可在 MRI 中显像的 Gd 元素,促使 0.5Cu/Gd@HA/PLGA 组和 0.5Gd@HA/PLGA 组样品均在 T1 加权像呈现了较好的影像学特征,其中 0.5Gd@HA/PLGA 组的信号强度最高(图5)。HA/PLGA 和 Cu@HA/PLGA 组分之间

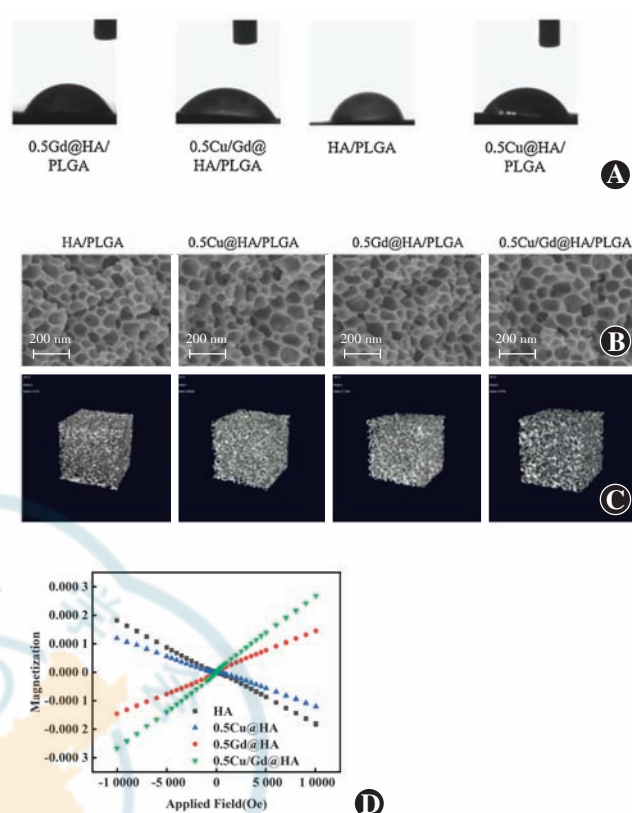


图4 不同组别样品的接触角、扫描电子显微镜图像、Micro-CT 重建、孔隙率及磁滞曲线结果 A:接触角 材料接触角越小,亲水性越强 B:扫描电子显微镜图像(标尺=200 nm) C:Micro-CT 重建 各个组分材料的表面形貌无明显区别 D:磁滞曲线结果 当曲线表现为 K (磁化率) >0 时,证明样品具备顺磁性,即磁化强度的方向与磁场强度相同 HA:羟基磷灰石;PLGA:聚乳酸-羟基乙酸

Figure 4 Contact angle, SEM image, Micro-CT reconstruction, porosity, and magnetic hysteresis curves for different sample groups

A:Contact angle The smaller the contact angle of the material, the stronger the hydrophilicity B:SEM Images (Scale bar = 200 μm) C: Micro-CT reconstruction No significant differences were observed in surface morphology among the different groups D: Magnetic hysteresis curves When the curve exhibited K (magnetic susceptibility) >0 , the sample demonstrated paramagnetic behavior, meaning the magnetization direction aligns with the applied magnetic field HA: hydroxyapatite; PLGA: poly (lactic-co-glycolic acid)

的信号强度几乎相同,表明金属元素 Cu 的掺杂无法增强 MRI 图像。

2.6 各组样品的均一性结果比较

SEM-Mapping 图像结果显示,所有复合材料表面金属元素分布均匀,均一性良好,这有助于纳米粒子均匀分布以及金属离子在各个部位释放速度的一致性(图6)。

2.7 体外实验结果

2.7.1 Cu/Gd@HA/PLGA 膜对于细胞增殖的影响 培养第1、3、7天,各组间细胞增殖效率总体比较差异均有统计学意义($F=8.233, 20.541, 25.378$, 均 $P<0.05$)。在细胞培养至第3天时,0.5Gd@HA/PLGA

表 3 不同复合材料接触角及孔隙率比较($\bar{x}\pm s$) Table 3 Comparison of contact angle and porosity of samples among different groups ($\bar{x}\pm s$)			
组别	样本量	接触角($^{\circ}$)	孔隙率(%)
HA/PLGA 组	3	124.57 $\pm$ 5.61	49.80 $\pm$ 1.74
0.5Cu@HA/PLGA 组	3	129.16 $\pm$ 5.09	51.20 $\pm$ 2.25
0.5Gd@HA/PLGA 组	3	123.17 $\pm$ 5.63	52.00 $\pm$ 1.96
0.5Cu/Gd@HA/PLGA 组	3	112.17 $\pm$ 5.61	50.80 $\pm$ 1.95
F 值		5.040	0.004
P 值		<0.05	>0.05
注:(单因素方差分析) HA:羟基磷灰石;PLGA:聚乳酸-羟基乙酸 Note:(One-way ANOVA) HA:hydroxyapatite;PLGA:poly(lactic-co-glycolic acid)			

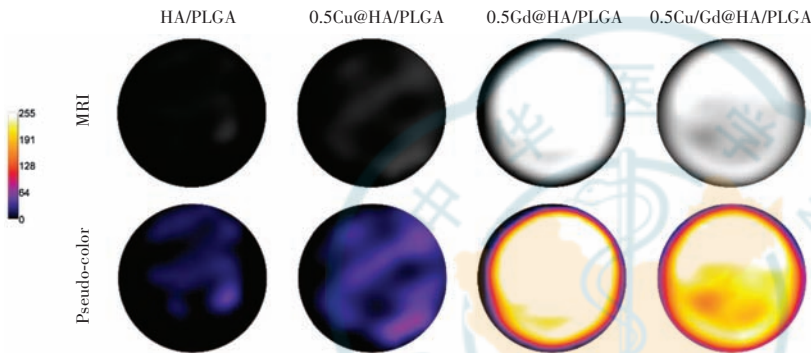


图 5 各组样品 MRI 显像及 Pseudo-color 显像 0.5Cu/Gd@HA/PLGA 组与 0.5Gd@HA/PLGA 组样品在 T1 加权下呈现高信号影 HA:羟基磷灰石;PLGA:聚乳酸-羟基乙酸;MRI:磁共振成像

Figure 5 MRI image and pseudo-color visualization of samples from different groups The 0.5Cu/Gd@HA/PLGA group and the 0.5Gd@HA/PLGA group exhibited hyperintense signals on T1-weighted imaging HA:hydroxyapatite;PLGA:poly(lactic-co-glycolic acid);MRI:magnetic resonance imaging

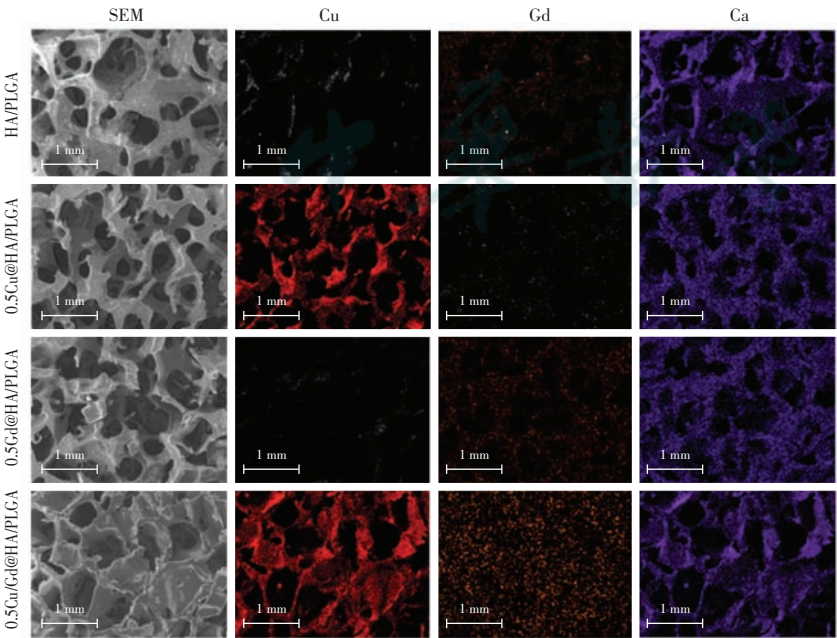


图 6 各组样品的元素分布 SEM 检测结果(标尺=1 mm) HA:羟基磷灰石;PLGA:聚乳酸-羟基乙酸;SEM:扫描电子显微镜

Figure 6 SEM-mapping results of samples from different groups (Scale bar = 1 mm) HA:hydroxyapatite;PLGA:poly(lactic-co-glycolic acid);SEM:scanning electron microscope

组和 0.5Cu/Gd@HA/PLGA 组细胞增殖效率略高于 0.5Cu@HA/PLGA 组,差异均无统计学意义(均 $P>0.05$)。培养第 7 天时,0.5Cu@HA/PLGA 组与 0.5Gd@HA/PLGA 组细胞增殖效率比较差异无统计学意义($P>0.05$)(表 4)。

2.7.2 Cu/Gd@HA 浸提液的细胞毒性 所有组别材料在未经稀释的情况下皆未表现出细胞毒性,约 80% 的细胞能够存活;在降低浸提液浓度后,细胞增殖效率略有提高(图 7)。

2.8 Micro-CT 及 MRI 结果评价

MRI 结果显示,造模后 8 周,在 0.5Gd@HA/PLGA 组与 0.5Cu/Gd@HA/PLGA 组眼眶内壁发现 T1 加权下高信号植入物,表明复合材料未完全降解;而 0.5Cu@HA/PLGA 组与 HA/PLGA 组眼眶内壁无明显影像学特征(图 8A)。Micro-CT 结果显示,在造模后 8 周时,0.5Gd@HA/PLGA 组与 0.5Cu/Gd@HA/PLGA 组圆形骨缺损转变为不规则边缘形态,并且向圆形内部生长的为骨质成分,表明 2 种材料出现了降解,降解后的空间由新生骨组织填充(图 8B),其中 0.5Cu/Gd@HA/PLGA 组表现出了更好的成骨能力。HA/PLGA、0.5Cu@HA/PLGA、0.5Gd@HA/PLGA、0.5Cu/Gd@HA/PLGA 复合材料 BV/TV 值分别为 12%、18%、22% 和 25%;Tb.N 值分别为 1.100、1.523、1.889 和 2.112 mm;Tb.Th 值分别为 0.167、0.255、0.299 和 0.312 μm ;Tb.Sp 值分别为 0.724、0.656、0.5 和 0.278 μm ,表明掺杂有金属离子组分材料的成骨效果优于单纯 HA/PLGA 材料,其中 0.5Cu/Gd@HA/PLGA 组成骨效果最优。

表 4 各组纳米粒子不同培养时间细胞增殖效率比较 ($\bar{x} \pm s$)
Table 4 Comparison of cell proliferation efficiency at different culturing time points among different groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	样本量	细胞增殖效率		
		第 1 天	第 3 天	第 7 天
对照组	3	0.41±0.01	0.70±0.03	1.00±0.00
HA/PLGA 组	3	0.44±0.02	0.71±0.04	1.10±0.07
0.5Cu@HA/PLGA 组	3	0.54±0.04	0.76±0.03 ^a	1.27±0.03
0.5Gd@HA/PLGA 组	3	0.54±0.05	0.84±0.02 ^a	1.28±0.01
0.5Cu/Gd@HA/PLGA 组	3	0.56±0.01	0.90±0.03 ^a	1.38±0.03 ^{bc}
F 值		8.233	20.541	25.378
P 值		0.008	<0.001	<0.001

注:与 HA/PLGA 组相比, ^a $P<0.05$;与 0.5Cu@HA/PLGA 组相比, ^b $P<0.05$;与 0.5Gd@HA/PLGA 组相比, ^c $P<0.05$ (单因素方差分析, Tukey 检验) HA:羟基磷灰石; PLGA:聚乳酸-羟基乙酸

Note: Compared with HA/PLGA group, ^a $P<0.05$; compared with 0.5Cu@HA/PLGA group, ^b $P<0.05$; compared with 0.5Gd@HA/PLGA group, ^c $P<0.05$ (One-way ANOVA, Tukey test) HA: hydroxyapatite; PLGA: poly (lactic-co-glycolic acid)

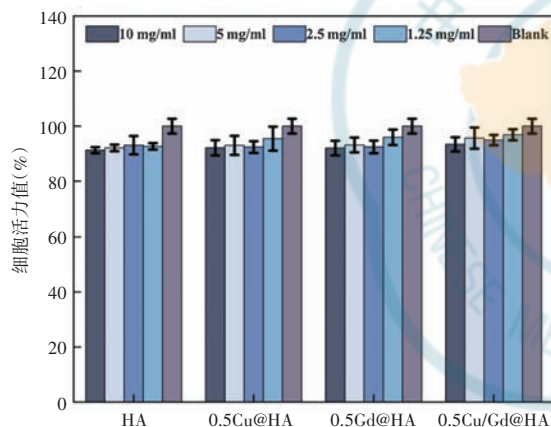


图 7 Cu/Gd@HA 浸提液的细胞毒性结果 ($n=3$) 不同稀释浓度下细胞活性均大于 80% HA:羟基磷灰石

Figure 7 Cytotoxicity results of Cu/Gd@HA extracts ($n=3$) Cell viability was greater than 80% at different dilution concentrations HA: hydroxyapatite

2.9 各组大鼠组织切片染色结果比较

2.9.1 大鼠骨缺损区域骨组织苏木精-伊红、Masson 染色结果 苏木精-伊红、Masson 染色结果显示,在掺杂有 Cu 与 Gd 元素的组分中,均可见新生骨长入材料中心及边缘区域,尤其是在 0.5Cu/Gd@HA/PLGA 组中,新生骨组织浸润覆盖复合材料,表明共掺杂组可显著诱导新生骨生成,而新生骨在 HA/PLGA 组、0.5Cu@HA/PLGA 组和 0.5Gd@HA/PLGA 组之间无明显差异(图 9)。

2.9.2 大鼠骨缺损区域骨组织天狼星红染色 随着时间增加,造模后 8 周时缺损处的胶原覆盖面积均高于造模后 4 周,在掺杂有 2 种金属元素的组分中,0.5Cu@HA 骨缺损部位分布着大量胶原蛋白,即骨

组织即将形成,单纯掺杂 Gd 的组分缺损中胶原纤维较少,成骨效果稍弱于含有 Cu 元素的组织。0.5Cu/Gd@HA/PLGA 组分的胶原形成量最高,表明离子共掺杂能够更好地促进胶原蛋白形成(图 10)。

2.9.3 各组大鼠心脏、肝脏、脾脏、肺脏、肾脏、脑组织形态改变情况 造模后 4 周与 8 周大鼠器官组织切片苏木精-伊红染色结果均未显示有炎症反应(图 11),提示材料在大鼠体内无明显毒性作用。

3 讨论

PLGA 是一种生物相容性良好、可降解的聚合高分子材料^[21]。然而,PLGA 的降解速度过快,且在降解的过程中会产生酸性有害物质

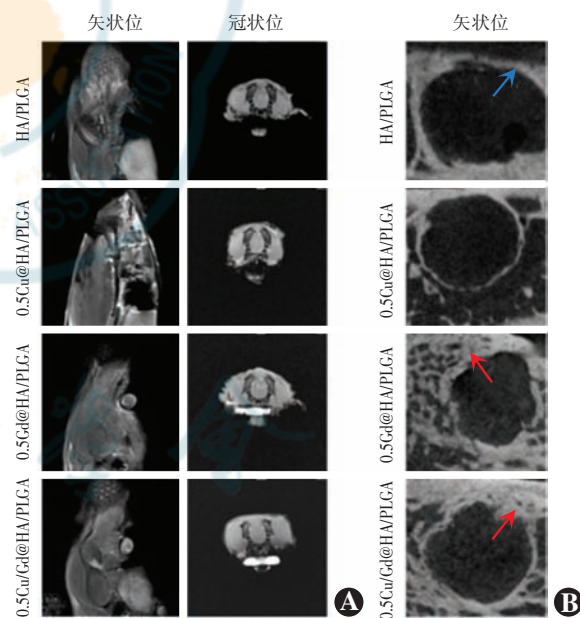


图 8 造模后 8 周时眼眶骨及修复材料的 MRI 及 Micro-CT 扫描图像 A: MRI 三维重建矢状位及冠状位图像 B: Micro-CT 三维重建矢状位图像 HA/PLGA 组骨缺损部位规整,无明显新生骨生长(蓝色箭头);0.5Gd@HA/PLGA 组与 0.5Cu/Gd@HA/PLGA 组的圆形骨缺损转变为不规则边缘形态,并且向圆形内部生长的为骨质成分(红色箭头) HA:羟基磷灰石; PLGA:聚乳酸-羟基乙酸

Figure 8 MRI and Micro-CT images of orbital bone and repair materials at 8 weeks post-modeling A: Sagittal and coronal views of MRI 3D reconstruction B: Sagittal view of Micro-CT 3D reconstruction Regular bone defect margins with minimal new bone formation in HA/PLGA group (blue arrow) were seen. Transformation of circular defects into irregular margins with inward-growing osseous component in 0.5Gd@HA/PLGA and 0.5Cu/Gd@HA/PLGA groups (red arrows) were seen HA: hydroxyapatite; PLGA: poly (lactic-co-glycolic acid)

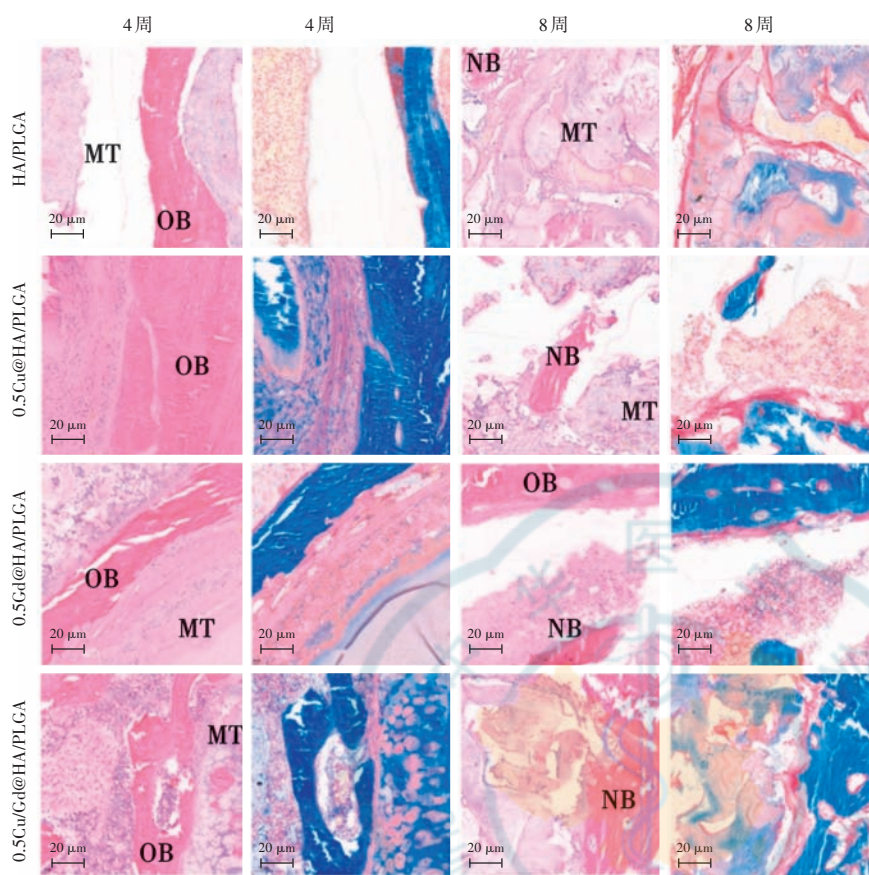


图 9 复合材料植入动物体内培养不同时间点的苏木精-伊红/Masson 染色结果 ($\times 100$, 标尺 = $20\ \mu\text{m}$) NB: 新生骨; OB: 陈旧骨; MT: 植入材料; HA: 羟基磷灰石; PLGA: 聚乳酸-羟基乙酸

Figure 9 HE/Masson staining results of composite implants in animals at different time points ($\times 100$, scale bar = $20\ \mu\text{m}$) NB: new bone; OB: old bone; MT: material transplanted; HA: hydroxyapatite; PLGA: poly (lactic-co-glycolic acid)

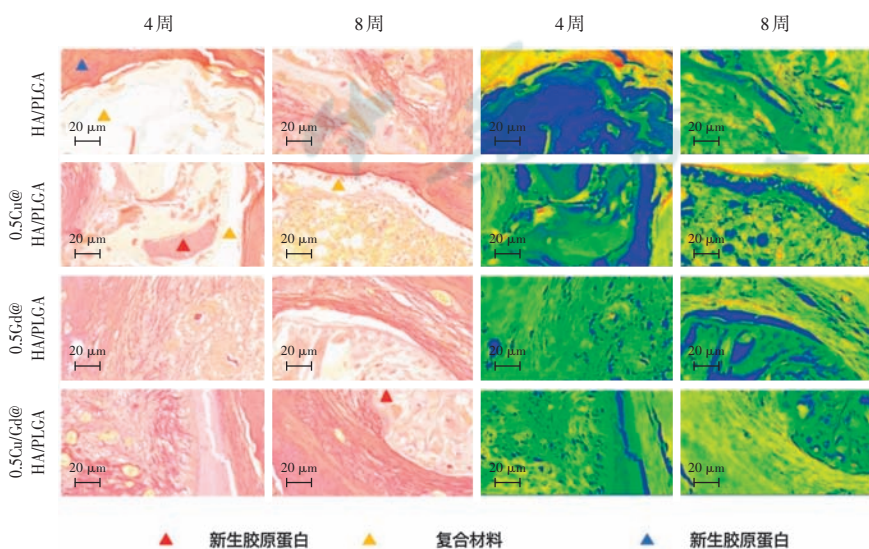


图 10 复合材料植入大鼠体内培养 4 和 8 周时天狼星红染色结果 ($\times 200$, 标尺 = $20\ \mu\text{m}$) 红色、蓝色三角代表新生胶原蛋白覆盖, 黄色代表复合材料 HA: 羟基磷灰石; PLGA: 聚乳酸-羟基乙酸

Figure 10 Sirius red staining of composite implants at 4 and 8 weeks post-implantation ($\times 200$, scale bar = $20\ \mu\text{m}$) Red/blue triangles indicated newly formed collagen deposition, and yellow areas indicated residual composite material HA: hydroxyapatite; PLGA: poly (lactic-co-glycolic acid)

质^[22-23], 同时, 由于该材料不利于细胞黏附, 导致骨折区术后愈合较缓慢。而 HA/PLGA 复合材料既能有效改善 HA 的脆性、提高材料整体的韧性, 还能够延缓 PLGA 的降解速率, 进而改善材料的组织相容性^[24]。另外, HA 还能够酸性条件下提升溶解速度, 中和 PLGA 降解发生时形成的酸性环境, 对植入体周边环境的 pH 进行调控, 从而得到更好的修复效果^[25]。

引入不同金属阳离子可赋予 HA 新的理化性质。通过采用金属离子掺杂的方法向 HA 中掺杂无机元素, 可以增强材料的生物学活性^[26]。Cu、Gd 离子与 Ca 离子具有非常相似的离子半径, 故可以取代 HA 内部的 Ca 离子^[27]。本研究结果也证实, 在单掺杂组中, 随着掺杂浓度的升高, HA 晶格结构的变化增大, 其中 Gd 元素对于 HA 晶格的影响大于 Cu 元素, 并且当 Gd 掺杂过量时, HA 的稳定性降低。因为 Gd 离子较 Cu 离子的半径更大, 其对于晶体结构的影响要大于 Cu 离子, 使得 HA 的晶格发生改变, 结晶度变小。但是共掺杂的方式可以减少元素掺杂引起的晶格结构改变^[28]。故本研究采用共掺的方式, 通过加入 Cu 离子平衡 Gd 离子对 HA 晶体结构的影响。因为 Cu 元素离子半径较小, 在水热反应中更容易取代 HA 中的 Ca 元素, 从而减小 Gd 元素的掺杂量, 使共掺杂组分纳米粒子的晶体结构改变减小。

既往研究证实, 多孔结构能够提高植入物与骨组织的相容性, 从而提高骨-植入物的稳定性^[29]。本研究结果证实 Cu/Gd@HA/PLGA 复合材料具有均一微孔结构, 这样的多孔结构使材

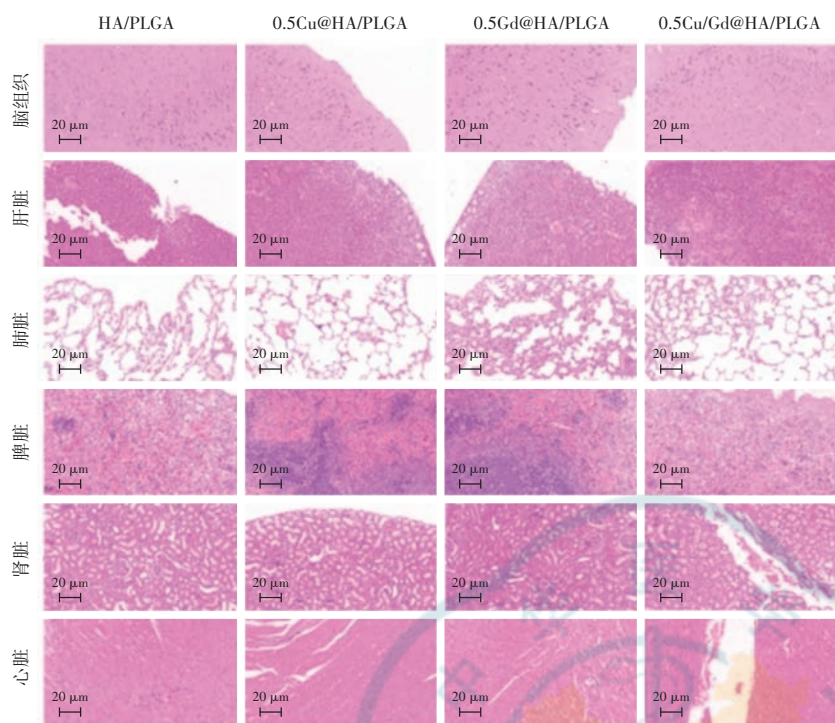


图 11 各组小鼠造模 8 周时心脏、肝脏、脾脏、肺脏、肾脏、脑组织病理染色 (HE $\times 200$, 标尺 = 20 μm) 各组织结构完整, 未见炎症反应 HA: 羟基磷灰石; PLGA: 聚乳酸-羟基乙酸

Figure 11 Histopathological staining of mice heart, liver, spleen, lung, kidney and brain tissues in different groups at 8 weeks post-modeling (HE $\times 200$, scale bar = 20 μm) Intact tissue architecture without observable inflammatory responses were seen HA: hydroxyapatite; PLGA: poly (lactic-co-glycolic acid)

料能够诱发毛细血管的生长, 进而促进骨组织的生长, 达到修复骨缺损的目的^[30]。亲水性是物质的内在属性, 其外在表现为物体表面对水的铺展能力, 与物体的孔隙率、孔径大小及其分布等因素有关^[31-32]。材料与水之间的接触角越小则越亲水^[33]。本研究发现, 掺入 Cu、Gd 元素可降低 HA/PLGA 复合材料的接触角, 提高材料的亲水性。发生此变化的主要原因是金属离子的掺杂改变了晶体的部分结构, 从而影响了该晶体的结晶性。由于材料表面良好的亲水性有助于增强细胞黏附, 促进骨缺损的修复。因此, Cu/Gd@ HA/PLGA 复合材料亲水性的提高理论上有利于材料与细胞之间的黏附, 促进材料生物学功能的发挥。

MRI 具有无辐射暴露、软组织对比度佳、穿透深度不受限制且高分辨率等优点, 然而, 其应用常受限于植入材料固有的低对比度^[34-36]。金属元素 Gd 能够在 T1 加权下显示出高亮影^[19-20], 故 Gd 的引入可以提高 Cu/Gd@ HA/PLGA 复合材料在 MRI 中的显像能力, 利于术后观察修复材料的植入、降解及新生骨的长入情况。由于 Gd 掺杂的材料具有增强的顺磁性, 其参与合成的复合材料可以在 MRI 检查中显影。本研究结果表明, Gd³⁺ 的掺杂可以提高复合材料的 MRI 显影

能力, 而显影强度取决于其掺杂剂量。HA/PLGA 组和 Cu@ HA/PLGA 组材料间的信号强度几乎相同, 表明金属元素 Cu 的掺杂无法增强 MRI 图像显影。

大量的胶原蛋白产生是骨组织即将形成的表现^[37]。本研究通过组织切片染色证明, 金属离子掺杂可促进胶原蛋白产生, 其中 0.5Cu/Gd@ HA/PLGA 组的胶原形成量最高, 表明 Cu 与 Gd 共掺杂能够更好地促进胶原蛋白形成。所有组别在植入 8 周时均表现出明显的成骨能力, 然而苏木精-伊红染色结果显示, 绝大部分新生骨骼并未形成明显的髓腔, 分析与材料的不完全降解有关。复合材料的降解率是决定植入是否成功的一个关键因素^[38]。植入材料的降解率应与新组织的形成速率相匹配^[39]。在组织自然愈合期间, 植入材料可以作为细胞和生长因子传递的载体, 同时

为组织再生提供空间和支持^[40]。难以降解的复合材料在动物体内不仅存在着生物占位, 还会影响新生骨骼的长入和新骨的形成^[41]。因此, 复合材料的降解性在生物体内的应用显得尤为重要, 可以通过进一步研究追踪, 甚至调整材料的即时降解率, 寻找更优良的骨修复复合材料。

本研究通过对模型动物的脑、心脏、肝脏、脾脏、肺脏、肾脏的组织切片进行苏木精-伊红染色, 结果显示所有组别在造模后第 8 周均未在其他器官组织中发现明显的炎症反应, 表明植入材料及其降解释放出的产物对于动物体内的组织、器官无明显毒性, 进一步扩大了其应用于临床的可能性。

本研究针对骨缺损修复中的常用材料 HA 应用存在的不足, 通过 Cu、Gd 离子置换 HA 中的 Ca 离子成功合成了 Cu/Gd@ HA/PLGA 复合材料, 并证明该材料理化性质良好、能增强 MRI 下成像。此外, 通过构建大鼠眼眶骨缺损模型, 采用 Micro-CT、X-Ray 和 MRI 评估不同元素掺杂的植入材料在体内的影像学特征, 对动物组织切片进行染色评估了植入材料的骨缺损修复能力。这为术后监测眼眶骨缺损修复材料的植入、降解及新生骨的长入情况提供了新的思路。Cu/Gd@

HA/PLGA 复合材料作为眼眶骨缺损修复的新型复合可吸收材料,具有良好的临床应用前景。

为进一步推动 Cu/Gd@ HA/PLGA 复合材料的临床应用,后续研究可从以下几个关键方向展开:首先,需精确调控材料的降解动力学,使其与骨组织再生速率相匹配,以降低生物占位效应的影响;其次,可通过表面修饰或引入缓冲体系等策略,优化 PLGA 降解过程中酸性微环境的中和作用,从而提升材料的生物相容性;在功能拓展方面,可探索该材料与 CT 或荧光成像技术的协同应用,构建多模态显影体系以实现术后植入体降解及成骨过程的动态监测;最后,需开展大动物长期植入实验,系统评估材料在复杂生理环境中的降解-成骨耦联机制及生物安全性,为临床转化提供充分依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

作者贡献声明 曾薛颖:参与实验设计、研究实施、数据整理、论文撰写及修改;刘香笈:实验设计、数据收集;吴鹏森:数据整理;李阳、孙鹤天:统计分析;卢苇:实验指导、课题设计、论文修改及定稿

参考文献

- [1] Zhang J, He X, Qi Y, et al. The better surgical timing and approach for orbital fracture: a systematic review and meta-analysis [J]. Ann Transl Med, 2022, 10(10): 564. DOI: 10. 21037/atm-22-1465.
- [2] Huang LK, Tu HF, Jiang LD, et al. Evaluation of concomitant orbital floor fractures in patients with head trauma using conventional head CT scan: a retrospective study at a level II trauma center [J]. J Clin Med, 2019, 8(11): 1852. DOI: 10. 3390/jcm8111852.
- [3] Zeng C, Fan C, Liu J, et al. Gradual oculomotor training in blow-out orbital fracture reconstruction recovery [J]. J Int Med Res, 2020, 48(4): 300060519893846. DOI: 10. 1177/0300060519893846.
- [4] Fu Z, Cui J, Zhao B, et al. An overview of polyester/hydroxyapatite composites for bone tissue repairing [J]. J Orthop Translat, 2021, 28: 118-130. DOI: 10. 1016/j. jot. 2021. 02. 005.
- [5] Gao C, Wei P, Feng P, et al. Nano SiO₂ and MgO improve the properties of porous β -TCP scaffolds via advanced manufacturing technology [J]. Int J Mol Sci, 2015, 16(4): 6818-6830. DOI: 10. 3390/ijms16046818.
- [6] Kaur G, Kumar V, Baino F, et al. Mechanical properties of bioactive glasses, ceramics, glass-ceramics and composites: state-of-the-art review and future challenges [J]. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl, 2019, 104: 109895. DOI: 10. 1016/j. msec. 2019. 109895.
- [7] Kim SE, Lee E, Jang K, et al. Evaluation of porcine hybrid bone block for bone grafting in dentistry [J]. In Vivo, 2018, 32(6): 1419-1426. DOI: 10. 21873/in vivo. 11394.
- [8] Place ES, George JH, Williams CK, et al. Synthetic polymer scaffolds for tissue engineering [J]. Chem Soc Rev, 2009, 38(4): 1139-1151. DOI: 10. 1039/b811392k.
- [9] Galusek D, Galusková D. Alumina matrix composites with non-oxide nanoparticle addition and enhanced functionalities [J]. Nanomaterials (Basel), 2015, 5(1): 115-143. DOI: 10. 3390/nano5010115.
- [10] Choi JS, Oh SY, Shim HS. Correction of post-traumatic enophthalmos with anatomical absorbable implant and iliac bone graft [J]. Arch Craniofac Surg, 2019, 20(6): 361-369. DOI: 10. 7181/acfs. 2019. 00451.
- [11] Wang DX, He Y, Bi L, et al. Enhancing the bioactivity of Poly (lactic-co-glycolic acid) scaffold with a nano-hydroxyapatite coating for the treatment of segmental bone defect in a rabbit model [J]. Int J Nanomedicine, 2013, 8: 1855-1865. DOI: 10. 2147/IJN. S43706.
- [12] Yang L, Liu S, Fang W, et al. Poly (lactic-co-glycolic acid)-bioactive glass composites as nanoporous scaffolds for bone tissue engineering: *in vitro* and *in vivo* studies [J]. Exp Ther Med, 2019, 18(6): 4874-4880. DOI: 10. 3892/etm. 2019. 8121.
- [13] Andiappan M, Sundaramoorthy S, Panda N, et al. Electrospun eri silk fibroin scaffold coated with hydroxyapatite for bone tissue engineering applications [J]. Prog Biomater, 2013, 2(1): 6. DOI: 10. 1186/2194-0517-2-6.
- [14] Huang SM, Liu SM, Ko CL, et al. Advances of hydroxyapatite hybrid organic composite used as drug or protein carriers for biomedical applications: a review [J]. Polymers (Basel), 2022, 14(5): 976. DOI: 10. 3390/polym14050976.
- [15] Wang L, He J, Yu J, et al. Review: degradable magnesium corrosion control for implant applications [J]. Materials (Basel), 2022, 15(18): 6197. DOI: 10. 3390/ma15186197.
- [16] Go EJ, Kang EY, Lee SK, et al. An osteoconductive PLGA scaffold with bioactive β -TCP and anti-inflammatory Mg(OH)₂ to improve *in vivo* bone regeneration [J]. Biomater Sci, 2020, 8(3): 937-948. DOI: 10. 1039/c9bm01864f.
- [17] Lai Y, Li Y, Cao H, et al. Osteogenic magnesium incorporated into PLGA/TCP porous scaffold by 3D printing for repairing challenging bone defect [J]. Biomaterials, 2019, 197: 207-219. DOI: 10. 1016/j. biomaterials. 2019. 01. 013.
- [18] Zhang B, Zhang PB, Wang ZL, et al. Tissue-engineered composite scaffold of poly(lactide-co-glycolide) and hydroxyapatite nanoparticles seeded with autologous mesenchymal stem cells for bone regeneration [J]. J Zhejiang Univ Sci B, 2017, 18(11): 963-976. DOI: 10. 1631/jzus. B1600412.
- [19] Jacques V, Dumas S, Sun WC, et al. High-relaxivity magnetic resonance imaging contrast agents. Part 2. Optimization of inner- and second-sphere relaxivity [J]. Invest Radiol, 2010, 45(10): 613-624. DOI: 10. 1097/RLI. 0b013e3181ee6a49.
- [20] Aram E, Moeni M, Abedizadeh R, et al. Smart and multi-functional magnetic nanoparticles for cancer treatment applications: clinical challenges and future prospects [J]. Nanomaterials (Basel), 2022, 12(2): 416. DOI: 10. 3390/nano12203567.
- [21] Lee FY, Lee D, Lee TC, et al. Fabrication of multi-layered lidocaine and epinephrine-eluting PLGA/collagen nanofibers: *in vitro* and *in vivo* study [J]. Polymers (Basel), 2017, 9(9): 416. DOI: 10. 3390/polym9090416.
- [22] Thompson JR, Worthington KS, Green BJ, et al. Two-photon polymerized poly (caprolactone) retinal cell delivery scaffolds and their systemic and retinal biocompatibility [J]. Acta Biomater, 2019, 94: 204-218. DOI: 10. 1016/j. actbio. 2019. 04. 057.
- [23] Essa D, Kondiah P, Choonara YE, et al. The design of poly (lactide-co-glycolide) nanocarriers for medical applications [J]. Front Bioeng Biotechnol, 2020, 8: 48. DOI: 10. 3389/fbioe. 2020. 00048.
- [24] Ceccarelli G, Presta R, Benedetti L, et al. Emerging perspectives in scaffold for tissue engineering in oral surgery [J]. Stem Cells Int, 2017, 2017: 4585401. DOI: 10. 1155/2017/4585401.
- [25] Liu H, Webster TJ. Mechanical properties of dispersed ceramic nanoparticles in polymer composites for orthopedic applications [J]. Int J Nanomedicine, 2010, 5: 299-313. DOI: 10. 2147/ijn. s9882.
- [26] Marcello E, Maqbool M, Nigmatullin R, et al. Antibacterial composite materials based on the combination of polyhydroxyalkanoates with selenium and strontium co-substituted hydroxyapatite for bone regeneration [J]. Front Bioeng Biotechnol, 2021, 9: 647007. DOI: 10. 3389/fbioe. 2021. 647007.
- [27] Lyczko K, Rode JE, Dobrowolski JC. Chiral lanthanide complexes with l- and d-alanine: an X-ray and vibrational circular dichroism study [J]. Molecules, 2020, 25(12): 2729. DOI: 10. 3390/molecules25122729.
- [28] Xiao B, Tang Q, Dai X, et al. Enhanced interfacial kinetics and high rate performance of LiCoO₂ thin-film electrodes by Al doping and *in situ* Al₂O₃ coating [J]. ACS Omega, 2022, 7(35): 31597-31606. DOI: 10. 1021/acsomega. 2c04665.
- [29] Arifvianto B, Zhou J. Fabrication of metallic biomedical scaffolds with



- the space holder method; a review [J]. *Materials* (Basel), 2014, 7(5): 3588–3622. DOI: 10. 3390/ma7053588.
- [30] Dou X, Wei X, Liu G, et al. Effect of porous tantalum on promoting the osteogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells *in vitro* through the MAPK/ERK signal pathway [J]. *J Orthop Translat*, 2019, 19: 81–93. DOI: 10. 1016/j. jot. 2019. 03. 006.
- [31] Primc G, Mozetič M. Hydrophobic recovery of plasma-hydrophilized polyethylene terephthalate polymers [J]. *Polymers* (Basel), 2022, 14(12): 2496. DOI: 10. 3390/polym14122496.
- [32] da Silva Alves DC, Healy B, Pinto L, et al. Recent developments in chitosan-based adsorbents for the removal of pollutants from aqueous environments [J]. *Molecules*, 2021, 26(3): 594. DOI: 10. 3390/molecules26030594.
- [33] Lu F, Liu H, Xiao C, et al. Effect of on-line stretching treatment on the structure and performance of polyvinyl chloride hollow fiber membranes [J]. *RSC Adv*, 2019, 9(12): 6699–6707. DOI: 10. 1039/c9ra00265k.
- [34] Gao X, Wang Q, Cheng C, et al. The application of prussian blue nanoparticles in tumor diagnosis and treatment [J]. *Sensors* (Basel), 2020, 20(23): 6905. DOI: 10. 3390/s20236905.
- [35] Peterson TE, Manning HC. Molecular imaging: 18F-FDG PET and a whole lot more [J]. *J Nucl Med Technol*, 2009, 37(3): 151–161. DOI: 10. 2967/jnmt. 109. 062729.
- [36] McCarthy JR, Bhaumik J, Karver MR, et al. Targeted nanoagents for the detection of cancers [J]. *Mol Oncol*, 2010, 4(6): 511–528. DOI: 10. 1016/j. molonc. 2010. 08. 003.
- [37] Toledano M, Toledano-Osorio M, Osorio R, et al. Doxycycline and zinc loaded silica-nanofibrous polymers as biomaterials for bone regeneration [J]. *Polymers* (Basel), 2020, 12(5): 1201. DOI: 10. 3390/polym12051201.
- [38] Eugenis I, Wu D, Rando TA. Cells, scaffolds, and bioactive factors: engineering strategies for improving regeneration following volumetric muscle loss [J]. *Biomaterials*, 2021, 278: 121173. DOI: 10. 1016/j. biomaterials. 2021. 121173.
- [39] Asadian M, Chan KV, Norouzi M, et al. Fabrication and plasma modification of nanofibrous tissue engineering scaffolds [J]. *Nanomaterials* (Basel), 2020, 10(1): 119. DOI: 10. 3390/nano10010119.
- [40] Cui H, Zhu W, Holmes B, et al. Biologically inspired smart release system based on 3D bioprinted perfused scaffold for vascularized tissue regeneration [J]. *Adv Sci (Weinh)*, 2016, 3(8): 1600058. DOI: 10. 1002/advs. 201600058.
- [41] Zhang X, Jiang W, Xie C, et al. Msx1+ stem cells recruited by bioactive tissue engineering graft for bone regeneration [J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 5211. DOI: 10. 1038/s41467-022-32868-y.

(收稿日期: 2025-01-16 修回日期: 2025-08-11)

(本文编辑: 张宇 骆世平)

读者 · 作者 · 编者

眼科常用英文缩略语名词解释

- AMD: 年龄相关性黄斑变性 (age-related macular degeneration)
- ANOVA: 方差分析 (analysis of variance)
- BUT: 泪膜破裂时间 (breakup time of tear film)
- DR: 糖尿病视网膜病变 (diabetic retinopathy)
- EAU: 实验性自身免疫性葡萄膜炎 (experimental autoimmune uveitis)
- EGF: 表皮生长因子 (epidermal growth factor)
- ELISA: 酶联免疫吸附测定 (enzyme-linked immunosorbent assay)
- ERG: 视网膜电图 (electroretinogram)
- FFA: 荧光素眼底血管造影 (fundus fluorescein angiography)
- FGF: 成纤维细胞生长因子 (fibroblast growth factor)
- GFP: 绿色荧光蛋白 (green fluorescent protein)
- IFN- γ : γ 干扰素 (interferon- γ)
- IL: 白细胞介素 (interleukin)
- IOL: 人工晶状体 (intraocular lens)
- IRBP: 光间受体视黄类物质结合蛋白 (interphotoreceptor retinoid binding protein)
- LASIK: 准分子激光角膜原位磨镶术 (laser in situ keratomileusis)
- ICGA: 吲哚菁绿血管造影 (indocyanine green angiography)
- LECs: 晶状体上皮细胞 (lens epithelial cells)
- miRNA: 微小 RNA (microRNA)
- MMP: 基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase)
- mTOR: 哺乳动物类雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin)
- MTT: 四甲基偶氮唑盐 (methyl thiazolyl tetrazolium)
- NF: 核转录因子 (nuclear factor)
- OCT: 光学相干断层扫描 (optical coherence tomography)
- OR: 优势比 (odds ratio)
- PACG: 原发性闭角型青光眼 (primary angle-closure glaucoma)
- PCR: 聚合酶链式反应 (polymerase chain reaction)
- RGCs: 视网膜节细胞 (retinal ganglion cells)
- POAG: 原发性开角型青光眼 (primary open angle glaucoma)
- RB: 视网膜母细胞瘤 (retinoblastoma)
- RPE: 视网膜色素上皮 (retinal pigment epithelium)
- RNV: 视网膜新生血管 (retinal neovascularization)
- RP: 视网膜色素变性 (retinitis pigmentosa)
- S I t: 基础泪液分泌试验 (Schirmer I test)
- shRNA: 短发夹 RNA (short hairpin RNA)
- siRNA: 小干扰 RNA (small interfering RNA)
- α -SMA: α -平滑肌肌动蛋白 (α -smooth muscle actin)
- TAO: 甲状腺相关眼病 (thyroid-associated ophthalmopathy)
- TGF: 转化生长因子 (transforming growth factor)
- TNF: 肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor)
- UBM: 超声生物显微镜 (ultrasound biomicroscope)
- VEGF: 血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor)
- VEP: 视觉诱发电位 (visual evoked potential)

(本刊编辑部)

