

· 综述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2023.07.022

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail//50.1097.R.20230210.1409.004.html\(2023-02-13\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail//50.1097.R.20230210.1409.004.html(2023-02-13))

仿生矿化胶原材料应用于引导骨再生术的研究进展*

马士卿¹, 王晓婧²综述, 彭 诚^{1△}审校

(1. 天津医科大学第二医院口腔科 300211; 2. 天津医科大学口腔医学院 300070)

[摘要] 以仿生学为指导研发的仿生矿化胶原材料具有优异的生物可吸收性、骨传导性和明显高于传统胶原材料的机械强度。在生物活性因子的修饰下, 它们还能够激活相关信号通路、调节成骨相关基因表达、诱导干细胞的成骨分化。仿生矿化胶原材料通常以屏障膜的形式在引导性骨再生(GBR)术中广泛应用, 并凭借其良好的生物可吸收性和较少的术后并发症而逐渐取代传统的不可吸收膜。本文回顾了胶原蛋白矿化的基本原理, 并详细论述了仿生矿化胶原材料在临床 GBR 术中的应用策略。

[关键词] 胶原; 仿生矿化; 引导性骨再生; 颌面骨缺损

[中图分类号] R782.13 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2023)07-1072-06

Research progress on biomimetic mineralized collagen materials used in guided bone regeneration

MA Shiqing¹, WANG Xiaojing², PENG Cheng^{1△}

(1. Department of Stomatology, the Second Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300211, China; 2. College of Stomatology, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China)

[Abstract] Biomimetic mineralized collagen materials developed under the guidance of bionics represent excellent biological absorbability, osteoconduction and mechanical strength significantly higher than traditional collagen materials. With the modification of bioactive factors, they can also activate relevant signal pathways, regulate the expression of osteogenic genes, and induce the osteogenic differentiation of stem cells. Biomimetic mineralized collagen materials are widely used in guided bone regeneration (GBR) in the form of barrier membrane, and gradually replace the traditional non-absorbable membrane due to their good bioabsorbability and fewer postoperative complications. This paper reviewed the basic principle of collagen mineralization, and discussed the application strategies of biomimetic mineralized collagen materials in clinical GBR in detail.

[Key words] collagen; biomimetic mineralization; guided bone regeneration; maxillofacial bone defect

骨组织有一定的再生能力, 在缺损范围较小时可实现自我修复, 然而这种能力十分有限, 对于较大范围的骨缺损仍需手术干预^[1]。目前, 已有大量研究证实了引导性骨再生(guided bone regeneration, GBR)术作为骨增量手术的科学性和有效性^[2]。仿生矿化研究为骨组织工程材料的制备提供新思路, 对骨缺损的修复有十分重要的意义。本文重点论述了胶原蛋白矿化的基本原理及仿生矿化胶原材料在 GBR 中的应用进展。

1 GBR 的研究进展

近年来, GBR 术已成为治疗骨缺损的主要手段。

该技术利用膜性材料作为屏障严密覆盖骨缺损区表面, 防止缺损区外部生长较快的上皮和结缔组织细胞长入, 形成一个相对封闭的空间以期缺损区内生长较慢的成骨细胞优先成骨^[3]。GBR 膜是该技术中不可或缺的一部分, 它不仅发挥着屏障作用和骨传导作用, 还可稳定血凝块和骨移植物, 避免新骨形成前骨缺损区的塌陷^[4]。根据膜材料是否具有生物可降解性, 可将其分为不可吸收性膜和可吸收性膜。以聚四氟乙烯(polytetrafluoroethylene, PTFE)膜和钛网为代表的不可吸收性膜具有优异的机械性能, 但其生物不可降解性伴随着黏膜开裂、膜暴露、感染等并发症

* 基金项目: 国家自然科学基金项目(81701019)。 作者简介: 马士卿(1991—), 主治医师, 博士, 主要从事口腔医学种植体表面改性、引导组织再生研究。 △ 通信作者, E-mail: peng-cheng2013@163.com。

及二次手术取出的额外痛苦,在临床上已很少应用^[5-6]。而胶原膜、聚乳酸(poly-lactic acid, PLA)膜和聚乙醇酸(polyglycolic acid, PGA)膜等可吸收性膜不仅具有优异的生物相容性和生物活性,其特有的生物可降解性可使患者免受二次手术的痛苦,且术后伤口开裂和膜暴露的风险明显低于不可吸收性膜^[7-9]。然而,可吸收性膜机械性能差、空间维持能力不足和降解速率难控制等缺点会对临床治疗效果造成一定影响^[10]。被填充于骨缺损区的骨移植材料是 GBR 术中另一关键材料,它为成骨细胞的黏附、增殖和迁移提供支架,促进早期细胞成骨分化和基质生物矿化^[11]。大量研究表明,以仿生学为指导原则开发的仿生矿化胶原材料具有优异的生物可吸收性、骨传导性和明显高于传统胶原材料的机械强度,甚至能够激活相关信号通路、调节成骨相关基因表达、诱导干细胞的成骨分化,这与其高度类似天然骨组织的化学组成及微观结构密不可分^[12]。

2 胶原蛋白矿化的基本原理

生物矿化是骨组织形成的基础,其核心内容是钙、磷等无机离子在非胶原蛋白(noncollagenous proteins, NCPs)等有机物的调控下成核、生长,并与胶原蛋白形成的胶原纤维结合而形成机体的矿化组织^[13]。

研究发现,矿化组织内的无机矿物质主要是纳米羟基磷灰石(hydroxyapatite, HA)晶体,而分布于胶原纤维不同部位的晶体的形态结构有明显差别——胶原纤维内的 HA 为板状纳米晶体,其 c 轴大致平行于胶原纤维的长轴;胶原纤维外的 HA 则是无明确晶体取向的晶体聚集体^[14]。与外矿化的胶原纤维比较,发生内矿化的胶原纤维在机械性能和骨诱导能力等方面显示出明显的优势。这种差异源于自组装胶原纤维对其内部矿物质生长的空间限制效应及多种生物因子的调控,有大量研究试图详细描述胶原纤维内矿化的具体机制,至今已有各种不同的假说被提出^[15]。如表 1 所示,最具代表性的 6 种假说分别是聚合物诱导液相前驱体(polymer induced liquid precursors, PILP)假说、自组装/矿化协同假说、库仑引力诱导胶原纤维矿化假说、渗透压/电荷双平衡诱导矿化假说、抑制剂排除矿化假说和界面能引导矿化假说,但都存在争议或论证不足之处^[16-19]。迄今为止,虽然仍无理论能够从胶原蛋白基质、矿物前体和生物大分子诱导物及其相互作用等各方面完美诠释胶原蛋白矿化机制,但为胶原蛋白的体外矿化提供了灵感,对仿生矿化胶原材料的制备有重要的指导意义。

表 1 胶原蛋白矿化假说的总结与比较

矿化假说	主要内容	是否添加诱导物	矿化特点	争议点
PILP 假说	用 NCPs 类似物稳定无定型矿物前体,使之以矿化液滴的形式进入胶原纤维内部	是	胶原纤维内矿化	液态前驱体是否通过毛细管作用进入胶原纤维内部有待实验证明
自组装/矿化协同假说	在高浓度的酸性胶原蛋白基质中引入高浓度的矿物前体,使胶原蛋白自组装和矿化协同进行	否	胶原纤维外矿化	操作复杂且难以实现胶原纤维内矿化,该方法很少被采用
库仑引力诱导胶原纤维矿化假说	成核位点富含净正电荷,与用于稳定无定型前体的聚阴离子电解质产生库仑引力	是	胶原纤维内矿化	聚阳离子电介质的作用机制无法用库仑引力来解释
渗透压/电荷双平衡诱导矿化假说	由电荷分布驱动的库仑引力和由渗透压驱动的渗透力都是诱导矿化前驱体进入胶原纤维内部的动力	是	胶原纤维内矿化	仍需开展更多实验来对该猜想进行佐证
抑制剂排除矿化假说	因相对分子质量过大($>40 \times 10^3$)而无法进入胶原纤维内部的 NCPs 可通过抑制胶原纤维外矿化来间接促进胶原纤维内矿化	是	胶原纤维内矿化	NCPs 的抑制剂效应主要与其本身的性质相关,而非其分子大小
界面能引导矿化假说	成核抑制剂通过增加磷酸钙核与矿化液体之间的界面能来抑制胶原纤维外矿化,从而促进磷酸钙核进入胶原纤维内部	是	胶原纤维内矿化	该假说忽略了小分子成核抑制剂扩散到胶原纤维内部的情况

3 仿生矿化胶原材料在 GBR 中的应用

3.1 仿生矿化胶原材料应用于 GBR 的相关机制

天然骨组织是以矿化胶原纤维为最基本结构单

位的高度有序的有机-无机复合结构,其有机相的主要成分是 I 型胶原蛋白分子自组装而成的 I 型胶原纤维,作为主要无机相的纳米 HA 晶体[分子式为 Ca_{10}

(PO_4)₆(OH)₂]沿胶原纤维有序排列^[20]。骨缺损修复的关键就在于与骨组织在化学组成和纳米结构上高度相仿的材料的构建,因而仿生矿化技术对口腔颌面骨缺损修复具有重要的指导意义。仿生矿化胶原材料模拟了天然骨组织的化学成分和微观结构,使其相比于金属、无机非金属及其他有机高分子材料具有明显的优越性^[21]。仿生矿化胶原材料能够替代缺损骨组织的初始机械强度,且三维多孔结构使其具有优良的骨传导性,也为血管和新生骨组织提供了充足的空间^[22-23]。

从机制层面来说,仿生矿化胶原材料的一些物理化学性质会对成骨相关信号通路产生一定的影响。有研究表明,细胞外基质(extracellular matrix, ECM)材料凭借其分层多孔的表面形貌来激活整合素连接激酶/细胞外信号调节激酶 1/2 (ILK/ERK1/2) 和 ILK/p38 通路,从而介导成骨细胞的分化^[24]。材料良好的刚性也在细胞行为的调节中起重要作用,刚性的增强可促进巨噬细胞迁移抑制因子(macrophage migration inhibitory factor, MIF)的产生,从而激活 MIF 介导的 AKT/YAP/RUNX2 通路,促进了间充质干细胞向成骨方向的分化^[25]。除了分层多孔的微观纳米结构和良好的刚性,仿生矿化胶原材料所含的纳米 HA 晶体可刺激分化早期成骨细胞启动子的甲基化,从而影响碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)的表达^[26]。若将成骨相关生物活性因子加载于仿生矿化胶原,则所载物质也可通过激活相应信号通路或上/下调特定的 mRNA 来增强仿生矿化胶原材料的骨诱导能力。

3.2 仿生矿化胶原材料在 GBR 中的应用

为了规避不可吸收膜二次手术取出的痛苦及膜暴露、感染等术后并发症, BioGide[®]、Biomend[®] 和 AlloDerm[®] RTM 等商业化胶原屏障膜已被开发并逐渐应用于口腔临床 GBR 术中。但纯胶原膜还存在降解速率过快、机械性能差和骨诱导能力弱的问题,为了解决这些问题,同时受到天然骨组织组成及结构的启发,越来越多的学者开始着手于仿生矿化胶原膜的研发。

3.2.1 作为屏障膜直接应用

在以胶原材料为模板的仿生矿化中,不仅要求成分和组成上的仿生,还要求其微观结构和功能上的仿生。与外矿化胶原纤维比较,内矿化的胶原纤维组成的骨组织工程材料在性能上显示出明显的优势,如机械性能增强、骨传导性和骨诱导性等促成骨性能改善明显等^[27]。根据对胶原纤维体外仿生矿化机制的研究可知,胶原纤维内矿化的实现通常需要有机大分子

在晶体成核、生长过程中发挥重要的调控作用。小肠黏膜下层(small intestinal submucosa, SIS)是一种具有良好的生物相容性和生物可降解性的胶原膜, ZHU 等^[28]以 SIS 膜为矿化模板,将具有强大黏附特性的多巴胺(dopamine, DA)修饰于 SIS 腹表面并启动 DA 辅助的仿生矿化途径。吸附在胶原纤维上的 DA 分子可显著降低胶原纤维与无定形磷酸钙(amorphous calcium phosphate, ACP)前体之间的界面能,增强二者之间的润湿作用从而促进矿化早期的胶原纤维内矿化。因此,DA 诱导 SIS 膜仿生矿化的机制遵循了界面能引导矿化假说。该研究结果显示,用 DA 对 SIS 膜进行表面修饰有效促进了 HA 的快速成核、生长,加快了胶原蛋白的矿化速率,并促进了成骨细胞的黏附和增殖。

为了更高程度地模拟天然骨的微观结构以进一步改善仿生矿化胶原膜的理化性质和促成骨效果, XUAN 等^[29]制备了一种纳米结构更为有序的分层纤维内矿化胶原(hierarchical intrafibrillarly mineralized collagen, HIMC)膜。体外研究显示,接种于 HIMC 膜上的 BMSCs 表现出更强的增殖、黏附和成骨分化能力。不仅如此, HIMC 膜还诱导了巨噬细胞的 M2 型极化,从而促进了 BMSCs 的迁移。在大鼠颅骨缺损模型的体内研究中, HIMC 膜引导了体积更大、结构更成熟的新骨形成。同时,巨噬细胞极化标志物的免疫组织化学分析结果显示,具有抗炎作用的 M2 型巨噬细胞在 HIMC 膜下方骨缺损的修复中发挥着主导作用。总的来说, HIMC 膜通过高度模拟天然骨的组成和纳米结构,为巨噬细胞的 M2 型极化和 BMSCs 的成骨分化提供了良好的免疫微环境,较以往的仿生矿化胶原材料具有更强的成骨诱导能力。

3.2.2 引入活性因子加以修饰并应用

3.2.2.1 离子功能化

许多学者发现一些微量无机离子的掺入可改善仿生矿化胶原材料的性能并有利于骨组织的再生,即离子功能化策略。WU 等^[30]结合以往的许多研究发现,在胶原蛋白基质中掺入锌离子不仅对胶原蛋白降解的过程有良好的调节作用,还可直接影响晶核形成和生长。因此,他们将胶原膜与戊二醛-阿仑膦酸钠交联,同时加入掺锌纳米羟基磷灰石(zinc-doped nano-hydroxyapatite, nZnHA),借此减缓膜材料的降解速率并改善其机械性能及生物相容性。仿生矿化胶原材料的离子功能化成功改善了此类生物材料的矿化结构并提高了其促成骨性能,使其在骨缺损修复过程中取得令人满意的治疗效果。

3.2.2.2 加载生长因子

骨组织不仅仅是由胶原纤维和无机矿物质组成,其中还存在一些细胞成分和调节细胞功能的生长因子^[31]。因此,骨组织再生过程涉及了骨祖细胞、ECM和成骨相关生长因子间复杂的相互作用。基于对骨组织生物学的研究,在骨缺损修复材料上引入成骨相关生长因子可提供一个良好的成骨微环境,这是对材料的更高级别的功能仿生。骨形态发生蛋白-2(bone morphogenic protein-2,BMP-2)是最强的骨诱导生长因子之一,在骨缺损修复过程中发挥至关重要的作用^[32]。有学者利用壳聚糖将 BMP-2 加载于多孔 HA/胶原材料上并使之持续低剂量释放,通过一系列体外及体内实验证实了 BMP-2 的加载对骨组织的再生有明显的促进作用^[33]。

3.2.2.3 加载小分子多肽

尽管 BMP-2 等生长因子被证实在骨缺损修复中发挥优异的成骨诱导作用,但由于大分子活性物质的成本高、半衰期短、免疫原性较明显及致肿瘤发生等缺点,其临床应用受到严重限制^[34]。由 BMP-2 衍生的小分子活性肽不仅具有成本低、来源广泛、免疫原性小和生物安全性好等优点,还发挥着同样显著的骨诱导作用。SUN 等^[35]利用 BMP-2 衍生短肽 P28 对肝素化的矿化 SIS 膜(mSIS)表面进行修饰,开发了一种用于引导骨质疏松性骨再生的新型 GBR 膜。体外研究显示,将肝素作为固定 P28 于 mSIS 上的介质,实现了 mSIS/P28 中 P28 的长期缓慢释放,有效促进了去卵巢大鼠的 BMSCs(rBMSCs-OVX)的增殖,同时显著上调了 rBMSCs-OVX 内 ALP 的活性及成骨相关基因的 mRNA 表达。随后构建了去卵巢大鼠颅骨缺损模型,将 mSIS/P28 植入并研究其对骨质疏松性骨缺损的影响。结果显示,不论是 micro-CT 还是组织学分析,都证实了 mSIS/P28 优异的体内骨诱导活性。该研究证明,mSIS/P28 作为 GBR 膜在骨质疏松性骨缺损的修复中具有良好的应用前景。

3.2.2.4 加载细胞外囊泡(extracellular vesicles, EVs)

EVs 内部包含多种蛋白和核酸,在细胞间信号传导中发挥重要作用。EVs 具有高循环稳定性、低免疫原性、良好的靶向性及调节受体细胞行为等优势,它们已被广泛研究并应用于组织修复和再生。其中,BMSCs 分泌的 EVs 可安全地诱导复杂、有效且持久的细胞反应,具有促进干细胞成骨分化和骨组织矿化的功能,还发挥着免疫调节的作用^[36]。WEI 等^[37]发现 BMSCs 成骨分化早期释放的 EVs 富含 ALP,可以在成骨早期阶段进入 BMSCs 内部并诱导其成骨分化;而 BMSCs 成骨分化晚期释放的 EVs 富含钙、磷

等无机离子,可直接沉积促进胶原蛋白矿化。MA 等^[38]利用融合肽结构将 BMSCs 来源的 EVs 修饰于 SIS 膜表面,并通过体外研究证明 EVs 的存在增强了 SIS 膜对 BMSCs 增殖、迁移及成骨分化的促进作用。随后构建了颅骨缺损模型,通过体内研究证明该材料可有效重建骨缺损,证明了 EVs 修饰的 SIS 膜是一种非常有前景的 GBR 膜材料。综上所述,由于与天然骨组织高度相似的化学组成和微观结构及其本身所具有的优良性能,仿生矿化胶原材料已逐渐取代生物不可吸收材料而成为骨缺损修复的主流材料。此外,仿生矿化胶原材料的优良特性也使其易于加载生物活性物质,创造良好的成骨微环境,从而在临床上取得更好的治疗效果。

4 总结与展望

通过仿生矿化的方法对胶原材料进行改进,不仅可获得与天然骨组织高度相似的化学组成和微观结构,还可显著提升其机械强度和骨传导性等性能以符合临床应用的需求。在仿生矿化胶原材料表面或内部修饰以成骨相关的生物活性因子,可使其在被植入体内后促进干细胞的黏附、增殖和成骨分化,从而表现出明显的骨诱导能力。仿生矿化胶原材料是一种功能多样、用途广泛的很有前景的生物材料,将为骨组织工程的进步和临床疗效的提升作出巨大贡献。

参考文献

- [1] EINHORN T A, GERSTENFELD L C. Fracture healing: mechanisms and interventions[J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2015, 11(1): 45-54.
- [2] ZUBIZARRETA-MACHO Á, TOSIN R, TOSIN F, et al. Influence of guided tissue regeneration techniques on the success rate of healing of surgical endodontic treatment: a systematic review and network meta-analysis[J]. *J Clin Med*, 2022, 11(4): 1062.
- [3] TOLEDANO O M, MANZANO M F J, RUIZ C, et al. Testing active membranes for bone regeneration: a review [J]. *J Dent*, 2021, 105: 103580.
- [4] FRIEDMANN A, FICKL S, FISCHER K R, et al. Horizontal augmentation of chronic mandibular defects by the guided bone regeneration approach: a randomized study in Dogs[J]. *Materials (Basel)*, 2021, 15(1): 238.
- [5] LIM G, LIN G H, MONJE A, et al. Wound healing

- complications following guided bone regeneration for ridge augmentation; a systematic review and meta-analysis[J]. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 2018, 33(1): 41-50.
- [6] DÖRI F, SCULEAN A, TAKÁCS D, et al. Histological examination of retrieved ePTFE membranes following regenerative surgery of intrabony defects treated with platelet-rich plasma and bone substitutes[J]. *Oral Health Prev Dent*, 2022, 20(1): 133-140.
- [7] RIDER P, KAČAREVIĆ Ž P, ELAD A, et al. Biodegradable magnesium barrier membrane used for guided bone regeneration in dental surgery[J]. *Bioact Mater*, 2022, 14: 152-168.
- [8] LI S H, ZHAO J Y, XIE Y, et al. Hard tissue stability after guided bone regeneration; a comparison between digital Titanium mesh and resorbable membrane[J]. *Int J Oral Sci*, 2021, 13(1): 37.
- [9] RAKHMATIA Y D, AYUKAWA Y, FURUHASHI A, et al. Current barrier membranes: Titanium mesh and other membranes for guided bone regeneration in dental applications [J]. *J Prosthodont Res*, 2013, 57(1): 3-14.
- [10] BEE S L, HAMID Z A A. Asymmetric resorbable-based dental barrier membrane for periodontal guided tissue regeneration and guided bone regeneration; a review[J]. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 2022, 110(9): 2157-2182.
- [11] ALKINDI M, RAMALINGAM S, ALGHAMDI O, et al. Guided bone regeneration with osteoconductive grafts and PDGF; a tissue engineering option for segmental bone defect Reconstruction[J]. *J Appl Biomater Funct Mater*, 2021, 19: 2280800020987405.
- [12] BENIC G I, BIENZ S P, SONG Y W, et al. Randomized controlled clinical trial comparing guided bone regeneration of peri-implant defects with soft-type block versus particulate bone substitutes; six-month results of hard-tissue changes [J]. *J Clin Periodontol*, 2022, 49(5): 480-495.
- [13] YAO S S, JIN B, LIU Z M, et al. Biomineralization; from material tactics to biological strategy [J]. *Adv Mater*, 2017, 29(14): 10.
- [14] VON EUW S, WANG Y, LAURENT G, et al. Bone mineral; new insights into its chemical composition[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 8456.
- [15] SHARMA V, SRINIVASAN A, NIKOLAJEFF F, et al. Biomineralization process in hard tissues; the interaction complexity within protein and inorganic counterparts[J]. *Acta Biomater*, 2021, 120: 20-37.
- [16] SAXENA N, CREMER M A, DOLLING E S, et al. Influence of fluoride on the mineralization of collagen via the polymer-induced liquid-precursor (PILP) process[J]. *Dent Mater*, 2018, 34(9): 1378-1390.
- [17] WANG Z Q, USTRIYANA P, CHEN K X, et al. Toward the understanding of small Protein-Mediated collagen intrafibrillar mineralization [J]. *ACS Biomater Sci Eng*, 2020, 6(7): 4247-4255.
- [18] NIU L N, JEE S E, JIAO K, et al. Collagen intrafibrillar mineralization as a result of the balance between osmotic equilibrium and electroneutrality[J]. *Nat Mater*, 2017, 16(3): 370-378.
- [19] KIM D, LEE B, THOMOPOULOS S, et al. The role of confined collagen geometry in decreasing nucleation energy barriers to intrafibrillar mineralization[J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 962.
- [20] HARA E S, OKADA M, NAGAOKA N, et al. Re-Evaluation of initial bone mineralization from an engineering perspective[J]. *Tissue Eng Part B Rev*, 2022, 28(1): 246-255.
- [21] OOSTERLAKEN B M, VENA M P, WITH G. In vitro mineralization of collagen[J]. *Adv Mater*, 2021, 33(16): 2004418.
- [22] WU X C, WALSH K, HOFF B L, et al. Mineralization of biomaterials for bone tissue engineering[J]. *Bioengineering (Basel)*, 2020, 7(4): 132.
- [23] YU L, WEI M. Biomineralization of Collagen-Based materials for hard tissue repair[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(2): 944.
- [24] WANG W, LIU Q, ZHANG Y M, et al. Involvement of ILK/ERK1/2 and ILK/p38 pathways in mediating the enhanced osteoblast differentiation by micro/nanotopography[J]. *Acta*

- Biomater, 2014, 10(8):3705-3715.
- [25] YUAN H H, ZHOU Y X, LEE M S, et al. A newly identified mechanism involved in regulation of human mesenchymal stem cells by fibrous substrate stiffness[J]. Acta Biomater, 2016, 42:247-257.
- [26] HA S W, JANG H L, NAM K T, et al. Nano-hydroxyapatite modulates osteoblast lineage commitment by stimulation of DNA methylation and regulation of gene expression[J]. Biomaterials, 2015, 65:32-42.
- [27] LIU Y, LUO D, KOU X X, et al. Hierarchical intrafibrillar nanocarbonated apatite assembly improves the nanomechanics and cytocompatibility of mineralized collagen[J]. Adv Funct Mater, 2013, 23(11):1404-1411.
- [28] ZHU Q H, JIAO H, ZHAO X L, et al. Hydroxyapatite formation in biomimetic synthesis with the interface of a pDA@SIS membrane[J]. RSC Adv, 2022, 12(21):13209-13219.
- [29] XUAN Y W, LI L, MA M Z, et al. Hierarchical intrafibrillarly mineralized collagen membrane promotes guided bone regeneration and regulates M2 macrophage polarization [J]. Front Bioeng Biotechnol, 2021, 9:781268.
- [30] WU Y, CHEN S C, LUO P, et al. Optimizing the bio-degradability and biocompatibility of a biogenic collagen membrane through cross-linking and zinc-doped hydroxyapatite[J]. Acta Biomater, 2022, 143:159-172.
- [31] GAO C D, PENG S P, FENG P, et al. Bone biomaterials and interactions with stem cells[J]. Bone Res, 2017, 5:17059.
- [32] DAI K, SHEN T, YU Y, et al. Generation of rhBMP-2-induced juvenile ossicles in aged mice [J]. Biomaterials, 2020, 258:120284.
- [33] ONG J L, SHIELS S C, PEARSON J, et al. Spatial rhBMP2 delivery from hydroxyapatite scaffolds sustains bone regeneration in rabbit radius[J]. Tissue Eng Part C Methods, 2022, 28(7):363-374.
- [34] CHEN Y, LIU X J, LIU R, et al. Zero-order controlled release of BMP2-derived peptide P24 from the chitosan scaffold by chemical grafting modification technique for promotion of osteogenesis in vitro and enhancement of bone repair in vivo [J]. Theranostics, 2017, 7(5):1072-1087.
- [35] SUN T F, LIU M, YAO S, et al. Guided osteoporotic bone regeneration with composite scaffolds of mineralized ECM/heparin membrane loaded with BMP-2-related peptide [J]. Int J Nanomed, 2018, 13:791-804.
- [36] YANG Z Y, LIU X D, ZHAO F J, et al. Bioactive glass nanoparticles inhibit osteoclast differentiation and osteoporotic bone loss by activating lncRNA NRON expression in the extracellular vesicles derived from bone marrow mesenchymal stem cells[J]. Biomaterials, 2022, 283:121438.
- [37] WEI Y, SHI M S, ZHANG J L, et al. Autologous versatile Vesicles-Incorporated biomimetic extracellular matrix induces biomineralization[J]. Adv Funct Mater, 2020, 30(21):2000015.
- [38] MA S Q, ZHAO Y F, YANG Y L, et al. Asymmetric SIS membranes specifically loaded with exosomes through the modification of engineered recombinant peptides for guide bone regeneration[J]. Composites Part B-Engineering, 2022, 232:109571.

(收稿日期:2022-12-14 修回日期:2023-01-21)