

# 壳聚糖用于骨支架研究进展

方佳瑶, 张 帅\*, 何 铮, 汪丽雯

浙江中医药大学口腔医学院, 浙江 杭州

收稿日期: 2025年3月28日; 录用日期: 2025年4月24日; 发布日期: 2025年4月30日

## 摘 要

壳聚糖是天然多糖甲壳素脱除部分乙酰基后的产物, 由于特殊的分子结构从而具有生物相容性、生物降解性、抗菌性等优良性质, 因而被认为是具有更大潜力的功能性生物材料。随着对壳聚糖的进一步深入研究, 近年来该材料已经逐渐发展到骨组织工程领域。本文将以壳聚糖的物理化学性质和生物学性质为基础, 对骨组织工程中壳聚糖用于对复合骨组织支架的构成与制备作一综述, 以期为该材料在骨组织工程中的应用研究提供参考。

## 关键词

壳聚糖, 骨支架, 骨组织工程, 复合材料

# Research Progress of Chitosan as Bone Scaffold

Jiayao Fang, Shuai Zhang\*, Zheng He, Liwen Wang

School of Stomatology, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou Zhejiang

Received: Mar. 28<sup>th</sup>, 2025; accepted: Apr. 24<sup>th</sup>, 2025; published: Apr. 30<sup>th</sup>, 2025

## Abstract

Chitosan is a natural polysaccharide produced by the partial removal of acetyl groups from chitin. Due to its special molecular structure and thus excellent properties such as biocompatibility, biodegradability and antibacterial properties, most studies have concluded that it has great potential as a functional biomaterial. With further in-depth research on chitosan, the material has been gradually developed into the field of bone tissue engineering in recent years. This paper will review the composition and preparation of chitosan for composite bone tissue scaffolds in bone tissue engineering based on the physicochemical and biological properties of chitosan, in order to provide a

\*通讯作者。

reference for the application of this material in bone tissue engineering.

## Keywords

Chitosan, Bone Scaffold, Bone Tissue Engineering, Composite Material

Copyright © 2025 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

随着老龄化、意外事故和骨骼疾病的出现,骨骼畸形的高发率和残障率已成为临床骨科普遍存在的困难和严重的社会问题[1]。为修复骨缺损,骨移植技术已经被广泛应用于临床治疗,各国对骨移植的需求量非常高。在迫切的临床需求压力下,骨组织工程应运而生。该项工程通过将体外培养扩增的自体体细胞种植在特定支架而后将支架植入骨缺损部位,在细胞和因子治疗、生物材料的协同作用下,降解生物材料同时促进并诱导新骨再生,从而达到骨修复的目的[2]。作为骨组织工程三要素之一的支架材料,在推进该项工程向前发展的进程中发挥着重要作用。在骨支架材料的大量研究中确认支架材料应具备生物相容性、骨传导性、力学性能、孔隙率、生物可降解性等多项因素[3]。迄今为止,已开发出天然聚合物、合成聚合物、生物陶瓷、生物可降解金属和碳基纳米材料等材料作为骨支架材料[4][5]。

壳聚糖(Chitosan, CS)是一种资源丰富且性能优良的天然衍生生物材料,以其良好的生物相容性和骨传导性,目前作为一种优良的支架材料被广泛应用于骨组织工程中。但单纯的壳聚糖受到其不溶于水、降解速度快、血液相容性差等性能的局限[2],无法达到骨支架材料的理想状态。经研究表明,壳聚糖可与其他各种材料复合,突破上述局限性,一方面可改善机械性能,另一方面可作为处理骨种植体和合成材料的表面改性支架以提高成骨潜力,使得其骨修复潜力发挥到最大化。本文对壳聚糖用于骨支架的研究进展加以归纳、阐述,并展望该材料未来的应用发展。

## 2. 壳聚糖作为基础材料在骨支架中的应用

壳聚糖基复合支架是骨组织工程中最有前途的生物材料之一,因单纯的壳聚糖支架机械强度和降解率不足,尤其是当其存在于酸性环境或含有溶菌酶的人体中[6]-[8],故众多学者想到将CS与其他功能性生物陶瓷或聚合物(如HA、 $\beta$ -TCP、BCP、透明质酸和胶原蛋白)[9]进行化合做成支架以应用于临床,具体有下列几种。

### 2.1. 壳聚糖/生物陶瓷复合材料

主要用到的生物陶瓷材料包含羟基磷灰石、磷酸钙(TCP)及其衍生物和生物活性玻璃,三者各具有不同的优缺点。

羟基磷灰石(HAp)被证明具有良好的生物相容性和骨传导性[10]-[13]。2014年,韩国学者Lee, JS [14]等通过冷冻干燥方法开发了CS-mHAp和CS-nHAp复合支架作为骨移植替代物,在对比中发现CS-nHAp的总体积、骨体积等各项指标均比CS-mHAp支架高,因此CS-nHAp更适合作为BTE中的支架材料。而葛、Fei Chen [15][16]等已经证明CS/HAp复合材料的纳米结构在生物材料应用中具有最佳的生物医学性能,具有骨传导性,且可作为药物载体。但CS/HAp复合材料仍存在较多问题等待研究。由于存在两者化学性质差异大和HAp颗粒表面能高易团聚的问题,降低了两界面相容性,导致界面结合较弱,在力

学载荷下易发生界面剥离,影响结构稳定性。而传统复合方法(如溶液共混、冷冻干燥)难以克服粒子间相互作用力导致了粒子分散不均匀的问题[17]。同时 CS 的刚性分子链与 HAp 的脆性叠加,常使复合材料表现为低韧性、高脆性,难以满足承重骨替代的要求。针对未解决的此类问题,我们建议在制取 CS/HAp 复合材料时,可以通过硅烷偶联剂或磷酸化等界面改性方法处理 HAp 表面促进与 CS 的共价交联增强界面稳定性,应用纳米分散技术实现粒子均匀分散,同时使两者采用多相复合的结构设计以优化生物及力学性能。

磷酸钙具有释放钙磷离子促进组织矿化,增强钙结节生成和新骨形成的性能,成为骨组织工程的潜力支架材料。Hockin HKXu [18]等使用不同比例混合磷酸钙粉末与壳聚糖,证明两者结合可增强其强度和骨传导性,降低纯 TCP 支架的天然脆性。近来有学者将壳聚糖膜覆于 3D 打印制备的双相磷酸钙(BCP)支架上,结果表明 BCP/CS 支架组细胞增殖活性明显高于 TCP/CS 组[19],为进一步改进支架和体内实验提供了理论依据。

生物活性玻璃(BG)能够促进和刺激骨形成和骨缺损愈合,在 BTE 工程中的使用正逐步增长。Correia 与其团队开发的具有形状记忆特性的 CS/生物活性玻璃纳米颗粒支架,证实了 CS/生物活性玻璃具有良好的诱导骨生成能力[20]。2019 年, Faqhiri H 等[21]在 Correia 的基础上将 BG 尺寸范围为筛选至 1~55  $\mu\text{m}$ ,降低玻璃快速溶解的风险,增强了支架的药物缓释能力。此外,添加 BG 纳米粒子能提高壳聚糖纤维的硬度,使 BG/CS 3D 多孔支架具有良好的力学性能和机械性能,并且有利于人骨髓基质细胞(hBMSCs)的扩散和增殖[22]。不仅如此,研究人员发现通过在复合支架中添加不同离子(如 Sr, Mg, Zn 等)可以刺激细胞发生特异性反应[23]-[25],而与壳聚糖伤口敷料的细胞活力相比,含有 MgO、SrO 的壳聚糖/生物活性玻璃显示出更高的细胞活力[26]。

然而,根据最新研究显示,在体内降解时, CaP、BG 的酶解速率与 CS 差异显著,导致力学支撑过早丧失,这种失配会引发支架塌陷,影响新骨沉积[27][28]。因此在未来研究中,将 CS 复合材料设计为梯度降解复合材料或许能成为解决动态力学失配、支架塌陷的有效办法。

## 2.2. 壳聚糖/蛋白质(胶原、明胶、丝素蛋白)

CS 通过与多种聚合物接枝共聚得到了广泛的改性,扩大其在 BTE 中的应用。与 CS 共聚且可生物降解得到聚合物种类繁多,在蛋白质中尤以胶原、明胶、丝素蛋白三者为主[29]。

作为最丰富的细胞外基质蛋白,I 型胶原具有良好的促细胞黏附及增殖作用和强大的机械性能。Wang [30]等比较了纯 CS、纯胶原和壳聚糖/胶原复合材料三者对 hBMSC 活性影响,发现 osterix 和骨唾液蛋白基因在复合材料中呈更高表达程度,且含胶原蛋白的材料更紧密坚硬。Tangsadthakun [31]等通过冷冻干燥胶原蛋白和 CS 的溶液制造多孔支架,表明低含量壳聚糖可以改善压缩模量,延长生物降解。另一研究中证明在体内 pH 及温度作用下将 hBMSC 包埋于 CS/胶原水凝胶中能加快骨缺损的修复[32]。近期,史新宇[33]等运用 3D 打印技术制备 3D 打印胶原/壳聚糖支架,在孔隙率、弹性模量、支架形态等方面与普通胶原/壳聚糖支架作比较,发现 3D 支架在内部结构、BBB 评分、损伤处的连续性和纤维束数量均优于普通支架,具有可促进脊髓损伤大鼠神经功能修复的性能。

明胶是一种胶原蛋白衍生物,通过变性降低动物胶原蛋白引起的抗原性,且其比胶原蛋白便宜。但明胶因生物相容性较差,降解速率较快等缺点,不能单独应用于支架材料,故有学者将其与壳聚糖复合,做成多孔支架进行研究,发现壳聚糖与明胶材料具有良好的成孔特性,孔隙较均一,对基因成分有保护作用。卢志华[34]等采用原位共沉淀结合冷冻干燥工艺制备 HAP/羧甲基壳聚糖-明胶复合支架,发现通过改变明胶的含量可以调节支架材料的微观结构、降解性和细胞毒性,以满足不同修复部位的需求。Han [35]等以复合浓度梯度转化生长因子的 CS/明胶(Gel)支架为软骨相,发现成骨相和软骨相支架可分别促进

BMSCs 向成骨细胞和软骨细胞分化, 促进新生骨和软骨形成。胡雪岩[36]等构建出具有复杂分层结构的壳聚糖/ $\beta$ -甘油磷酸钠/明胶仿生复合梯度支架, 为解决模拟的天然软骨存在层与层之间的无缝结合难以实现, 孔隙结构难以控制等问题, 提供了重要依据。

丝素蛋白(SF)是一种纯天然高分子蛋白材料, 具有优良的力学性能、生物相容性及可加工性, 但 SF 支架对骨的吸附能力有限, 支架性能不够理想。有些团队采用冷冻干燥方法制备了 CS/SF 复合支架, CCK-8 实验显示, 该复合支架没有细胞毒性, 且具有良好的三维孔洞结构。Vishwanath [37]等开发了新型氨基葡萄糖/丝素蛋白-壳聚糖共混物多孔支架, 研究证明氨基葡萄糖能显著提高 CS/SF 支架的细胞支持特性。在另一项研究中, 叶鹏[38]等将 nHAp 与 CS/SF 支架复合, 发现 nHAp 的加入显著提高了纯 CS/SF 支架的力学性能和机械性能。值得一提的是, 很多学者在制备明胶(GEL)-壳聚糖/丝素蛋白复合支架, 发现以戊二醛做交联剂, 当 SF:GEL:CS = 1:1:1.5 时, 支架力学性能最好, 将该支架用于修复口腔颌面部的软组织缺损的临床应用也取得优良进展。

但最新相关研究显示, 在生理环境下, CS/胶原复合材料的压缩模量下降超过 80%, 抗压强度 < 0.3 MPa, 周期性力学加载会导致 CS/明胶支架出现微裂纹扩展, 两项研究均指明了复合材料存在力学性能不足的缺陷[39]。与此同时, 还存在酶解作用导致 CS/丝素蛋白支架非均匀降解以及蛋白质变性风险、免疫原性残留等共同问题。因此, CS/蛋白质复合材料制备的过程中引入多重交联方法, 创新应用多项制备工艺, 或许能极大提升该种复合材料在骨组织工程中的应用。

### 2.3. CS/多糖(海藻酸盐、透明质酸、纤维素、葡聚糖、硫酸软骨素、卡拉胶、肝素)复合材料

多糖因其物理化学性质易受分子量、多糖链等因素影响, 具有良好的可调节降解性及可行性, 广泛应用于生物医学工程。其中透明质酸(HA)、海藻酸盐(Alginate)、果胶、淀粉、硫酸软骨素(CS)、卡拉胶、纤维素等材料常用来与 CS 复合。

CS/HA 复合支架已被众多学者关注并研究。至今, 由氧化 HA 和 CS 制备的水凝胶已经被用作软骨细胞包封的支架, 显示出良好的细胞活力和促骨能力。此外, 壳聚糖已被认作为基于 HA 的复合海绵最常用的材料[40], 研究表明, 在 CS/HA 海绵中加入不同的纳米颗粒(NPs)可增强疗效。Kaczmarek [41]等基于由 HA、CS、胶原三者的复合海绵, 作为磷酸钙原位沉淀的基质, 结果表明支架的矿化改善了细胞附着和增殖。Liao [42]等合成透明质酸-壳聚糖-聚(N-异丙基丙烯酰胺)/富血小板血浆/双相磷酸钙热凝胶水凝胶支架, 与兔脂肪来源干细胞共培养并植入兔颅骨缺损模型中, 证实富血小板血浆/双相磷酸钙可促进成骨分化和缺损部位新骨形成。Tentor [43]等制备了基于壳聚糖/果胶(CS/Pec)的水凝胶并将其用作 MC3T3-E1 成骨细胞的支架, 发现 CS/Pec 复合材料具有中度的 MC3T3-E1 增殖和发育, 说明了 CS/Pec 复合材料在骨细胞修复中具有应用前景。Faikrua A. [44]等测试皮下动物植入物中的壳聚糖/淀粉/ $\beta$ -甘油磷酸酯(C/S/b-GP)水凝胶, 并将生长因子掺入凝胶中以刺激软骨细胞功能和增殖, 结果表明 C/S/b-GP 水凝胶是一种能够支持和促进软骨细胞功能并保留 TGF- $\beta$ 1 供应的基质。Cordero-Arias [45]等首次应用电泳沉积方法制备具有多层设计的硫酸软骨素-壳聚糖/生物活性玻璃复合涂层, 较低的降解行为和较高的表面生物活性证明了该种材料在骨组织工程中的广泛应用。Martins A F [46]等人制备了壳聚糖/iota-卡拉胶和壳聚糖/果胶聚电解质多层支架, 实验表明 CA 和 PC 可以在弱酸条件(pH 5.0)下与 CS 结合, 以生产具有抗菌和抗粘附性的 PEM 以及理想的性能, 用作生物医学应用的涂层以抵抗组织工程中的细菌增殖。

除此之外, 壳聚糖和纤维素纳米晶体(CNC)两者之间的离子相互作用可用于制备稳定的三维支架, 以克服每种聚合物的缺点如机械特性不足, 在水溶液中易坍塌等缺点。Dinesh [47]等将丝素蛋白(SF)掺入 CS/CNC 支架中, 通过鼠源性巨噬细胞系 Raw 264.7 (RAW)细胞评估了它们的巨噬细胞极化程度和骨免疫调节反应。结果证明与纯聚合物水凝胶支架或单独掺入的支架相比, 聚合物基质中含有 SF 和 CNP 的



复合支架显示出优异的流变学和溶胀潜力。复合水凝胶表现出比纯聚合物水凝胶更好的恢复强度且有良好的生物活性、可生物降解和骨传导潜力。

### 3. 不同形态壳聚糖辅助作用于骨支架

壳聚糖可被塑成各种不同形状,如微球、凝胶、糊剂、膜、海绵、纤维和多孔支架,广泛运用于骨支架的制备,发挥主导或修饰作用。

#### 3.1. 壳聚糖微球

壳聚糖微球是壳聚糖的微球形式,具有延长药物在吸收位置保留时间的性能,以达到控释的作用。壳聚糖微球的制备方法有凝集沉淀法、乳化交联法、离子交联法、喷雾干燥法等,在骨支架方面用途也很广泛,包括药物载体、细胞载体、致孔剂、微球支架等[48]。除此之外,壳聚糖也可与其它材料制备复合微球,两种及两种以上的材料组合迸发出巨大的应用潜力。

麦展华[49]构建负载 TGF- $\beta$ 1 和 BMP-2 壳聚糖微球复合生物材料,比较复合前后支架性能,对 ADSCs 细胞进行骨诱导对照实验。通过实验组 ALP 表达、骨钙素、Von Kossa 矿化结节染色三个指标均高于对照组,证明载生长因子支架能诱导 ADSCs 向成骨分化,具有强大的骨修复能力。

#### 3.2. 壳聚糖膜

壳聚糖膜具有较强的耐碱性和耐有机溶剂性,是一种高性能的分离膜,通过与其它材料组成复合膜再覆于支架上发挥作用。Toshizumi 等[50]用熔铸法制备角蛋白-壳聚糖合成膜,与角蛋白和壳聚糖膜相比机械性能更佳。夏轶超等[19]将壳聚糖膜覆于 3D 打印双相磷酸钙骨组织工程支架上,选取小鼠 MC3T3-E1 细胞进行细胞毒性实验和细胞增殖实验,证明 CS 膜无细胞毒性,且能提高细胞增殖能力,在骨支架发展中具有很大的潜力。Cristian A. Acevedo [51]设计了一种含有羟基磷灰石和二氧化钛纳米颗粒作为骨传导材料的明胶-壳聚糖聚合物膜,证明其在生物降解性、生物相容性和骨传导性方面具有合适的特性,这在临床口腔/骨科应用中具有很高的潜力。

#### 3.3. 壳聚糖凝胶

壳聚糖凝胶分为水凝胶和气凝胶,在骨组织工程中以壳聚糖水凝胶为主。壳聚糖水凝胶通过物理交联法(阴离子小分子、金属离子、聚电解质复合物、疏水作用)和化学交联法(小分子交联剂、光照或辐射、酶)等方法制备。

壳聚糖凝胶可促进骨组织再生,是骨组织工程的潜在候选者。水凝胶是一类高度含水的 3D 交联网络结构高分子仿生材料,能够有效保存分子、细胞的生物活性并实现药物的缓释。Soher Nagi Jayash [52]等人向新西兰兔头骨上 12 个临界尺寸缺陷中植入壳聚糖凝胶或骨蛋白-壳聚糖凝胶与剩余 6 个未填充缺陷形成对照实验,实验组在 12 周骨缺陷闭合时骨质百分比更高。此外,口腔因为其牙周组织的复杂结构和种植体周围的骨缺损问题也极具挑战。Athina Bakopoulou [53]等人的修改方案制备,采用化学交联剂戊二醛 0.1 和 1%v/v 两种浓度,成功制造了两种交联 CS/凝胶支架类型,两种支架均支持细胞活力和增殖,植入 DPSC 后,完全矿化骨和空隙减少的量显著增加。这些结果指明了口颌骨重建的研究方向。

### 4. 壳聚糖(复合材料)支架在口腔医学领域的应用

纳米羟基磷灰石(nHAp)壳聚糖复合聚合物能刺激牙周成纤维细胞和成骨细胞的增殖和分化,可用于牙周再生[54]。仿生鱼胶原蛋白/生物活性玻璃/壳聚糖复合纳米纤维膜(Col/BG/CS)具有良好的亲水性,更高的孔隙率和表面积促进细胞-细胞和细胞-基质相互作用,足够的拉伸强度和有限的抗菌性能。碳

酸钙壳聚糖复合材料能够结合多种物质, 刺激成骨, 并且避免手术植入后的感染, 在提高抗菌性能的同时并不会降低复合材料的机械性能或生物相容性, 在牙科材料科学中作为一种避免和治疗有缺陷的牙釉质的独特方法出现, 其应用前景仍需进一步探究。基于 BG 和其明胶或胶原仿生电纺鱼胶原蛋白, 对金黄色葡萄球菌具有抗菌活性[55], 据报道, 壳聚糖与洗必泰或米诺环素在胶原膜中协同作用, 用于根尖周 GTR 显示出抗菌特性以及对粪肠球菌的生物相容性和屏障功能[56] [57]。而其余的例如胶原、多糖等复合支架在应用上仍多停留在体内或体外实验, 用于临床案例较少, 稳定性及不确定因素较多, 是诸多科研人员的研究方向和目标, 未来较可能成为新的研究热点。

## 5. 小结

目前, 壳聚糖作为一种天然衍生生物材质, 其优异的化学、生物特性预示了其在骨组织工程领域具有巨大的应用前景。壳聚糖可与其他材料相复合的方式突破脆性的局限, 表现出优异的物理、机械特性。各种壳聚糖复合材料骨支架将为骨支架材料的临床应用提供更好的选择, 利用不同特性的整合和加工更进一步治疗骨缺损问题。但仍存在该如何在制备壳聚糖复合支架材料时更好地控制适应于不同组织的孔隙率, 如何提高植入支架的安全性、稳定性和长期临床成功率的问题。因此, 应用 4D 打印和计算模型开发智能化孔隙设计系统, 构建适配不同骨组织需求的智能支架系统, 运用微流控等技术突破制备工艺限制, 或能成为壳聚糖复合支架材料今后研究的主要方向, 从而使其真正实现临床转化。

## 参考文献

- [1] Sukpaita, T., Chirachanchai, S., Pimkhakham, A. and Ampornaramveth, R.S. (2021) Chitosan-Based Scaffold for Mineralized Tissues Regeneration. *Marine Drugs*, **19**, Article 551. <https://doi.org/10.3390/md19100551>
- [2] 廖欣宇, 王福科, 王国梁. 骨组织工程支架的进展与挑战[J]. 中国组织工程研究, 2021, 25(28): 4553-4560.
- [3] Burg, K.J.L., Porter, S. and Kellam, J.F. (2000) Biomaterial Developments for Bone Tissue Engineering. *Biomaterials*, **21**, 2347-2359. [https://doi.org/10.1016/s0142-9612\(00\)00102-2](https://doi.org/10.1016/s0142-9612(00)00102-2)
- [4] Iijima, K. and Otsuka, H. (2020) Cell Scaffolds for Bone Tissue Engineering. *Bioengineering*, **7**, Article 119. <https://doi.org/10.3390/bioengineering7040119>
- [5] Liu, Y., Lim, J. and Teoh, S. (2013) Review: Development of Clinically Relevant Scaffolds for Vascularised Bone Tissue Engineering. *Biotechnology Advances*, **31**, 688-705. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2012.10.003>
- [6] Bao, W., Li, M., Yang, Y., Wan, Y., Wang, X., Bi, N., et al. (2020) Advancements and Frontiers in the High Performance of Natural Hydrogels for Cartilage Tissue Engineering. *Frontiers in Chemistry*, **8**, Article 53. <https://doi.org/10.3389/fchem.2020.00053>
- [7] Bellich, B., D'Agostino, I., Semeraro, S., Gamini, A. and Cesàro, A. (2016) "The Good, the Bad and the Ugly" of Chitosans. *Marine Drugs*, **14**, Article 99. <https://doi.org/10.3390/md14050099>
- [8] Saravanan, S., Vimalraj, S., Lakshmanan, G., Jindal, A., Sundaramurthi, D. and Bhattacharya, J. (2019) Chitosan-Based Biocomposite Scaffolds and Hydrogels for Bone Tissue Regeneration. In: Choi, A. and Ben-Nissan, B., Eds., *Marine-Derived Biomaterials for Tissue Engineering Applications*, Springer, 413-442. [https://doi.org/10.1007/978-981-13-8855-2\\_18](https://doi.org/10.1007/978-981-13-8855-2_18)
- [9] Sergi, R., Bellucci, D. and Cannillo, V. (2020) A Review of Bioactive Glass/Natural Polymer Composites: State of the Art. *Materials*, **13**, Article 5560. <https://doi.org/10.3390/ma13235560>
- [10] Nunes, C.R., Simske, S.J., Sachdeva, R. and Wolford, L.M. (1997) Long-Term Ingrowth and Apposition of Porous Hydroxyapatite Implants. *Journal of Biomedical Materials Research*, **36**, 560-563. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-4636\(19970915\)36:4<560::aid-jbm15>3.0.co;2-e](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-4636(19970915)36:4<560::aid-jbm15>3.0.co;2-e)
- [11] Joseph Nathanael, A., Mangalaraj, D., Chi Chen, P. and Ponpandian, N. (2010) Enhanced Mechanical Strength of Hydroxyapatite Nanorods Reinforced with Polyethylene. *Journal of Nanoparticle Research*, **13**, 1841-1853. <https://doi.org/10.1007/s11051-010-9932-3>
- [12] Thanigaialar, K., Elayaraja, K., Magudapathy, P., Mudali, U.K., Nair, K.G.M., Sudarshan, M., et al. (2013) Surface Modification of Nanocrystalline Calcium Phosphate Bioceramic by Low Energy Nitrogen Ion Implantation. *Ceramics International*, **39**, 3027-3034. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2012.09.081>
- [13] Nathanael, A.J., Hong, S.I., Mangalaraj, D., Ponpandian, N. and Chen, P.C. (2012) Template-Free Growth of Novel

- Hydroxyapatite Nanorings: Formation Mechanism and Their Enhanced Functional Properties. *Crystal Growth & Design*, **12**, 3565-3574. <https://doi.org/10.1021/cg3003959>
- [14] Lee, J.S., Baek, S.D., Venkatesan, J., Bhatnagar, I., Chang, H.K., Kim, H.T., *et al.* (2014) *In Vivo* Study of Chitosan-Natural Nano Hydroxyapatite Scaffolds for Bone Tissue Regeneration. *International Journal of Biological Macromolecules*, **67**, 360-366. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.03.053>
- [15] Ge, Z. (2004) Hydroxyapatite-Chitin Materials as Potential Tissue Engineered Bone Substitutes. *Biomaterials*, **25**, 1049-1058. [https://doi.org/10.1016/s0142-9612\(03\)00612-4](https://doi.org/10.1016/s0142-9612(03)00612-4)
- [16] Chen, F., Wang, Z. and Lin, C. (2002) Preparation and Characterization of Nano-Sized Hydroxyapatite Particles and Hydroxyapatite/Chitosan Nano-Composite for Use in Biomedical Materials. *Materials Letters*, **57**, 858-861. [https://doi.org/10.1016/s0167-577x\(02\)00885-6](https://doi.org/10.1016/s0167-577x(02)00885-6)
- [17] Wang, H., Sun, R., Huang, S., Wu, H. and Zhang, D. (2024) Fabrication and Properties of Hydroxyapatite/Chitosan Composite Scaffolds Loaded with Periostin for Bone Regeneration. *Heliyon*, **10**, e25832. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e25832>
- [18] Xu, H.H.K. and Simon, C.G. (2005) Fast Setting Calcium Phosphate-Chitosan Scaffold: Mechanical Properties and Biocompatibility. *Biomaterials*, **26**, 1337-1348. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2004.04.043>
- [19] 夏轶超, 澈力格尔, 李宝印, 等. 壳聚糖膜覆盖 3D 打印双相磷酸钙骨组织工程支架的制备和性能[J]. 吉林大学学报(医学版), 2018, 44(4): 770-775, 893.
- [20] Correia, C.O., Leite, Á.J. and Mano, J.F. (2015) Chitosan/Bioactive Glass Nanoparticles Scaffolds with Shape Memory Properties. *Carbohydrate Polymers*, **123**, 39-45. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.12.076>
- [21] Faqhiri, H., Hannula, M., Kellomäki, M., Calejo, M.T. and Massera, J. (2019) Effect of Melt-Derived Bioactive Glass Particles on the Properties of Chitosan Scaffolds. *Journal of Functional Biomaterials*, **10**, Article 38. <https://doi.org/10.3390/jfb10030038>
- [22] Yang, J., Long, T., He, N., Guo, Y., Zhu, Z. and Ke, Q. (2014) Fabrication of a Chitosan/Bioglass Three-Dimensional Porous Scaffold for Bone Tissue Engineering Applications. *Journal of Materials Chemistry B*, **2**, 6611-6618. <https://doi.org/10.1039/c4tb00940a>
- [23] Valerio, P., Pereira, M.M., Goes, A.M. and Leite, M.F. (2004) The Effect of Ionic Products from Bioactive Glass Dissolution on Osteoblast Proliferation and Collagen Production. *Biomaterials*, **25**, 2941-2948. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2003.09.086>
- [24] Silver, I.A., Deas, J. and Erecińska, M. (2001) Interactions of Bioactive Glasses with Osteoblasts *in Vitro*: Effects of 45S5 Bioglass®, and 58S and 77S Bioactive Glasses on Metabolism, Intracellular Ion Concentrations and Cell Viability. *Biomaterials*, **22**, 175-185. [https://doi.org/10.1016/s0142-9612\(00\)00173-3](https://doi.org/10.1016/s0142-9612(00)00173-3)
- [25] Luz, G.M. and Mano, J.F. (2012) Chitosan/bioactive Glass Nanoparticles Composites for Biomedical Applications. *Biomedical Materials*, **7**, Article ID: 054104. <https://doi.org/10.1088/1748-6041/7/5/054104>
- [26] Sergi, R., Bellucci, D., Salvatori, R. and Cannillo, V. (2020) Chitosan-Based Bioactive Glass Gauze: Microstructural Properties, *In Vitro* Bioactivity, and Biological Tests. *Materials*, **13**, Article 2819. <https://doi.org/10.3390/ma13122819>
- [27] Zhang, X., Liu, Y., Wang, J., *et al.* (2023) Mismatched Degradation Kinetics of Chitosan/Calcium Phosphate Composites Compromises Bone Regeneration in Critical-Sized Defects. *Nature Communications*, **14**, Article No. 2156.
- [28] Li, N., Zhou, L., Xie, W., Zeng, D., Cai, D., Wang, H., *et al.* (2019) Alkaline Phosphatase Enzyme-Induced Biomineralization of Chitosan Scaffolds with Enhanced Osteogenesis for Bone Tissue Engineering. *Chemical Engineering Journal*, **371**, 618-630. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.04.017>
- [29] Zhu, Y., Zhang, Y. and Zhou, Y. (2022) Application Progress of Modified Chitosan and Its Composite Biomaterials for Bone Tissue Engineering. *International Journal of Molecular Sciences*, **23**, Article 6574. <https://doi.org/10.3390/ijms23126574>
- [30] Wang, L. and Stegemann, J.P. (2010) Thermogelling Chitosan and Collagen Composite Hydrogels Initiated with  $\beta$ -Glycerophosphate for Bone Tissue Engineering. *Biomaterials*, **31**, 3976-3985. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.01.131>
- [31] Tangsathakun, C., Kanokpanont, S., Sanchavanakit, N., Pichyangkura, R., Banaprasert, T., Tabata, Y., *et al.* (2007) The Influence of Molecular Weight of Chitosan on the Physical and Biological Properties of Collagen/Chitosan Scaffolds. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, **18**, 147-163. <https://doi.org/10.1163/156856207779116694>
- [32] Wang, L. and Stegemann, J.P. (2011) Glyoxal Crosslinking of Cell-Seeded Chitosan/Collagen Hydrogels for Bone Regeneration. *Acta Biomaterialia*, **7**, 2410-2417. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2011.02.029>
- [33] 史新宇, 李晓红, 叶益超, 等. 3D 打印胶原/壳聚糖支架改善大鼠脊髓损伤后神经功能恢复[J]. 中国组织工程研究, 2020, 24(22): 3474-3479.
- [34] 卢志华. 羟基磷灰石/羧甲基壳聚糖/明胶复合支架的制备及表征[J]. 中国陶瓷, 2019, 55(1): 26-30.

- [35] Han, F., Zhou, F., Yang, X., Zhao, J., Zhao, Y. and Yuan, X. (2014) A Pilot Study of Conically Graded Chitosan-Gelatin Hydrogel/PLGA Scaffold with Dual-Delivery of TGF- $\beta$ 1 and BMP-2 for Regeneration of Cartilage-Bone Interface. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, **103**, 1344-1353. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.33314>
- [36] 胡雪岩, 宋克东, 卢延国, 等. 体外构建壳聚糖/ $\beta$ -甘油磷酸钠/明胶仿生梯度支架[J]. 高校化学工程学报, 2019, 33(5): 1133-1140.
- [37] Vishwanath, V., Pramanik, K. and Biswas, A. (2016) Development of a Novel Glucosamine/Silk Fibroin-Chitosan Blend Porous Scaffold for Cartilage Tissue Engineering Applications. *Iranian Polymer Journal*, **26**, 11-19. <https://doi.org/10.1007/s13726-016-0492-y>
- [38] 叶鹏, 骆付丽, 刘安平, 等. 缓释左氧氟沙星三维丝素蛋白/壳聚糖/纳米羟基磷灰石复合骨组织工程支架材料的制备与表征[J]. 中国组织工程研究, 2019, 23(14): 2147-2155.
- [39] Suo, H., Zhang, J., Xu, M. and Wang, L. (2021) Low-Temperature 3D Printing of Collagen and Chitosan Composite for Tissue Engineering. *Materials Science and Engineering: C*, **123**, Article ID: 111963. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2021.111963>
- [40] Collins, M.N. and Birkinshaw, C. (2013) Hyaluronic Acid Based Scaffolds for Tissue Engineering—A Review. *Carbohydrate Polymers*, **92**, 1262-1279. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.10.028>
- [41] Kaczmarek, B., Sionkowska, A. and Osyczka, A.M. (2018) The Application of Chitosan/Collagen/Hyaluronic Acid Sponge Cross-Linked by Dialdehyde Starch Addition as a Matrix for Calcium Phosphate in Situ Precipitation. *International Journal of Biological Macromolecules*, **107**, 470-477. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.09.017>
- [42] Liao, H.T., Tsai, M., Brahmayya, M. and Chen, J. (2018) Bone Regeneration Using Adipose-Derived Stem Cells in Injectable Thermo-Gelling Hydrogel Scaffold Containing Platelet-Rich Plasma and Biphasic Calcium Phosphate. *International Journal of Molecular Sciences*, **19**, Article 2537. <https://doi.org/10.3390/ijms19092537>
- [43] Tentor, F.R., de Oliveira, J.H., Scariot, D.B., Lazarin-Bidóia, D., Bonafé, E.G., Nakamura, C.V., *et al.* (2017) Scaffolds Based on Chitosan/Pectin Thermosensitive Hydrogels Containing Gold Nanoparticles. *International Journal of Biological Macromolecules*, **102**, 1186-1194. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.04.106>
- [44] Faikrue, A., Wittaya-areekul, S., Oonkhanond, B. and Viyoch, J. (2012) *In Vivo* Chondrocyte and Transforming Growth Factor- $\beta$ 1 Delivery Using the Thermosensitive Chitosan/Starch/ $\beta$ -Glycerol Phosphate Hydrogel. *Journal of Biomaterials Applications*, **28**, 175-186. <https://doi.org/10.1177/0885328212441847>
- [45] Cordero-Arias, L. and Boccaccini, A.R. (2017) Electrophoretic Deposition of Chondroitin Sulfate-Chitosan/Bioactive Glass Composite Coatings with Multilayer Design. *Surface and Coatings Technology*, **315**, 417-425. <https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2017.02.037>
- [46] Martins, A.F., Vlcek, J., Wigmosta, T., Hedayati, M., Reynolds, M.M., Popat, K.C., *et al.* (2020) Chitosan/Iota-Carrageenan and Chitosan/Pectin Polyelectrolyte Multilayer Scaffolds with Antiadhesive and Bactericidal Properties. *Applied Surface Science*, **502**, Article ID: 144282. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2019.144282>
- [47] Patel, D.K., Dutta, S.D., Hexiu, J., Ganguly, K. and Lim, K. (2022) 3D-Printable Chitosan/Silk Fibroin/Cellulose Nanoparticle Scaffolds for Bone Regeneration via M2 Macrophage Polarization. *Carbohydrate Polymers*, **281**, Article ID: 119077. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.119077>
- [48] 徐飞. 壳聚糖微球支架用于骨组织工程的基础研究[D]: [博士学位论文]. 武汉: 武汉大学, 2014.
- [49] 麦展华. 负载 TGF- $\beta$ 1 和 BMP-2 壳聚糖微球复合生物材料颌骨支架的构建[D]: [硕士学位论文]. 深圳: 深圳大学, 2019.
- [50] 刘其凤, 任慧霞. 壳聚糖膜特性及其应用[J]. 中国现代应用药学, 2004, 21(S2): 23-25.
- [51] Acevedo, C.A., Olguín, Y., Briceño, M., Forero, J.C., Osses, N., Díaz-Calderón, P., *et al.* (2019) Design of a Biodegradable UV-Irradiated Gelatin-Chitosan/Nanocomposed Membrane with Osteogenic Ability for Application in Bone Regeneration. *Materials Science and Engineering: C*, **99**, 875-886. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.01.135>
- [52] Jayash, S.N., Hashim, N.M., Misran, M., Ibrahim, N., AL-Namnam, N.M. and Baharuddin, N.A. (2021) Analysis on Efficacy of Chitosan-Based Gel on Bone Quality and Quantity. *Frontiers in Materials*, **8**, Article 640950. <https://doi.org/10.3389/fmats.2021.640950>
- [53] Bakopoulou, A., Georgopoulou, A., Grivas, I., Bekiari, C., Prymak, O., Loza, K., *et al.* (2019) Dental Pulp Stem Cells in Chitosan/Gelatin Scaffolds for Enhanced Orofacial Bone Regeneration. *Dental Materials*, **35**, 310-327. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2018.11.025>
- [54] Tao, O., Wu, D.T., Pham, H.M., Pandey, N. and Tran, S.D. (2019) Nanomaterials in Craniofacial Tissue Regeneration: A Review. *Applied Sciences*, **9**, Article 317. <https://doi.org/10.3390/app9020317>
- [55] Zhou, T., Sui, B., Mo, X. and Sun, J. (2017) Multifunctional and Biomimetic Fish Collagen/Bioactive Glass Nanofibers: Fabrication, Antibacterial Activity and Inducing Skin Regeneration *In Vitro* and *In Vivo*. *International Journal of*



- Nanomedicine*, **12**, 3495-3507. <https://doi.org/10.2147/ijn.s132459>
- [56] Wang, J., Wang, L., Zhou, Z., Lai, H., Xu, P., Liao, L., *et al.* (2016) Biodegradable Polymer Membranes Applied in Guided Bone/Tissue Regeneration: A Review. *Polymers*, **8**, Article 115. <https://doi.org/10.3390/polym8040115>
- [57] Barreras, U.S., Méndez, F.T., Martínez, R.E.M., Valencia, C.S., Rodríguez, P.R.M. and Rodríguez, J.P.L. (2016) Chitosan Nanoparticles Enhance the Antibacterial Activity of Chlorhexidine in Collagen Membranes Used for Periapical Guided Tissue Regeneration. *Materials Science and Engineering: C*, **58**, 1182-1187. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.09.085>