

元素掺杂调控磷酸钙形貌及其生物学功能效应

常栋彪^{1,2}, 白朕凡^{1,2}, 黄 浩^{1,2}, 杨安春^{1,2}, 李思雨^{1,2}, 翁 杰¹

(1. 西南交通大学医学院(生物医学工程研究院), 成都 610031; 2. 西南交通大学材料科学与工程学院, 材料先进技术教育部重点实验室, 成都 610031)

摘 要:天然骨组织无机成分以磷酸钙为主, 也含有多种维持生命活动所必需的其他元素, 以保障骨组织正常生长发育。在磷酸钙生物材料制备中, 元素掺杂能够有效调控磷酸钙形貌, 并赋予其抗菌性、免疫调控、血管生成和骨诱导性等多种生物学功能。本文重点综述 Mg、Zn、Sr、Cu、Ag、Co、Mn、稀土元素等金属元素和 Se、Si、F 等非金属元素单掺杂或共掺杂对多种磷酸钙形貌和生物学功能的调控效应, 最后对磷酸钙生物材料的未来研究提出展望, 以期对新型组织工程支架的研究提供参考。

关键词:磷酸钙; 元素掺杂; 形貌; 生物学功能

中图分类号: TQ174.75; R318.08 文献标志码: A 文章编号: 0454-5648(2023)10-2579-15

网络出版时间: 2023-08-04



Morphology and Biological Function of Calcium Phosphate Regulated by Elemental Doping

CHANG Dongbiao^{1,2}, BAI Zhenfan^{1,2}, HUANG Hao^{1,2}, YANG Anchun^{1,2}, LI Siyu^{1,2}, WENG Jie¹

(1. College of Medicine, Institute of Biomedical Engineering, Southwest Jiaotong University, Chengdu 610031, China; 2. Key Laboratory of Advanced Technologies of Materials Ministry of Education, School of Materials Science and Engineering, Southwest Jiaotong University, Chengdu 610031, China)

Abstract: The inorganic composition of natural bone tissue is mainly calcium phosphate and consists of a variety of other elements necessary to maintain life activities to ensure the normal growth and development of bone tissue. In the preparation of calcium phosphate biomaterials, elemental doping can effectively regulate the morphology of calcium phosphate and have antibacterial properties, immune regulation, angiogenesis, osteoinduction and other biological functions. This review represented the regulatory effects of single-doping or co-doping of Mg, Zn, Sr, Cu, Ag, Co, Ag, Mn, and rare earth elements as well as Se, Si, and F in a variety of calcium phosphate on the structural morphology and biological function of materials. In addition, the future research work of calcium phosphate biomaterials was also proposed to provide a reference for the future research of novel scaffolds in tissue engineering.

Keywords: calcium phosphate; elemental doping; morphology; biological function

人体硬组织主要由钙磷盐无机矿物质和胶原、细胞及细胞外基质等有机成分组成^[1-2], 其中, 磷酸钙(CaP)矿物主要包括羟基磷灰石(HA)、无定形磷酸钙(ACP)、磷酸三钙(TCP)、磷酸八钙(OCP)等晶态或非晶态的形式^[3-5]。为避免传统骨修复中自体骨移植、同种异体骨移植和异种骨移植所存在的不足, 开发具有优异组织修复性能的磷酸钙生物材料已经成为骨组织工程的研究热点^[6-7]。

为满足临床骨修复需求, 理想的骨组织工程材料应具有多种特性^[4]: 1) 力学性能和稳定性, 为缺损部位和新生组织提供结构支持, 并随新骨生长逐渐降解; 2) 生物相容性和生物功能性, 不引起炎症或免疫反应, 调控细胞行为, 指导细胞分化; 3) 模拟组织微环境, 促进细胞外基质的形成、营养物质运输以及神经和血管的生长。尽管已有大量研究证明, 磷酸钙材料具有良好的生物相容性、骨传导性

收稿日期: 2023-02-21。 修订日期: 2023-03-30。

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(52071277, 22172120); 四川省科技计划项目(2022YFSY0044)。

第一作者: 常栋彪(1999—), 男, 博士研究生。

通信作者: 翁 杰(1962—), 男, 博士, 教授。

Received date: 2023-02-21. Revised date: 2023-03-30.

First author: CHANG Dongbiao (1999—), male, Doctoral candidate.

E-mail: Chang_db@163.com

Correspondent author: WENG Jie (1962—), male, Ph.D., Professor.

E-mail: jweng@swjtu.edu.cn

和骨诱导性等优点,能够有效促进骨缺损修复和骨组织再生^[4,8]。然而,单一磷酸钙材料仍存在不足^[4,9]: HA 存在力学性能较差、脆性大的缺点; α -TCP 由于其不稳定性和降解过快,应用受到限制; β -TCP 则因自身强度低、降解速率不易调节等问题,难以作为承重骨修复材料; ACP 和 OCP 分别作为 HA 结晶前体和中间相,其结构不稳定性一定程度上限制应用发展。

此外,人工合成的磷酸钙材料与天然骨组织无机成分相比存在着较大的差异。与人工合成的磷酸钙不同的是,天然骨无机成分中除含有 Ca^{2+} 和 PO_4^{3-} 以外,还具有人体所必需的多种其他金属元素,如常量元素离子 Mg^{2+} 、微量金属阳离子(如 Zn^{2+} 、 Sr^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Mn^{2+} 等)以及阴离子基团(如 HPO_4^{2-} 、 CO_3^{2-} 、 F^- 等)^[10–12]。这些元素在骨组织的发育、重建和微环境稳态平衡中,发挥着极其重要的

作用^[11, 13]。深入探究元素掺杂对磷酸钙结构形貌与生物学功能的影响,能够有力推动磷酸钙骨修复材料的研究进程。

目前,学术界围绕元素掺杂对磷酸钙材料结构、形貌和性能的多种影响展开了大量研究,主要包括元素掺杂调控 HA^[10, 13–14]、TCP^[15–16]、ACP^[17–18] 和 OCP^[5, 19] 物理化学和结构性能以及其生物学功能的报道(如图 1 所示)。这些研究显示元素掺杂磷酸钙不仅取代部分离子使其化学成分发生变化,也会调控材料微纳形貌,并使其具有抗菌性、免疫调节、促成血管和增强诱导成骨作用等生物学功能^[20–21]。因此,全面总结元素掺杂对磷酸钙结构形貌和生物学功能的调控作用,以期对未来研究提供方向,克服单一磷酸钙性能不足的弊端,从而实现优势互补,开发出性能更加优异的新型磷酸钙生物陶瓷。

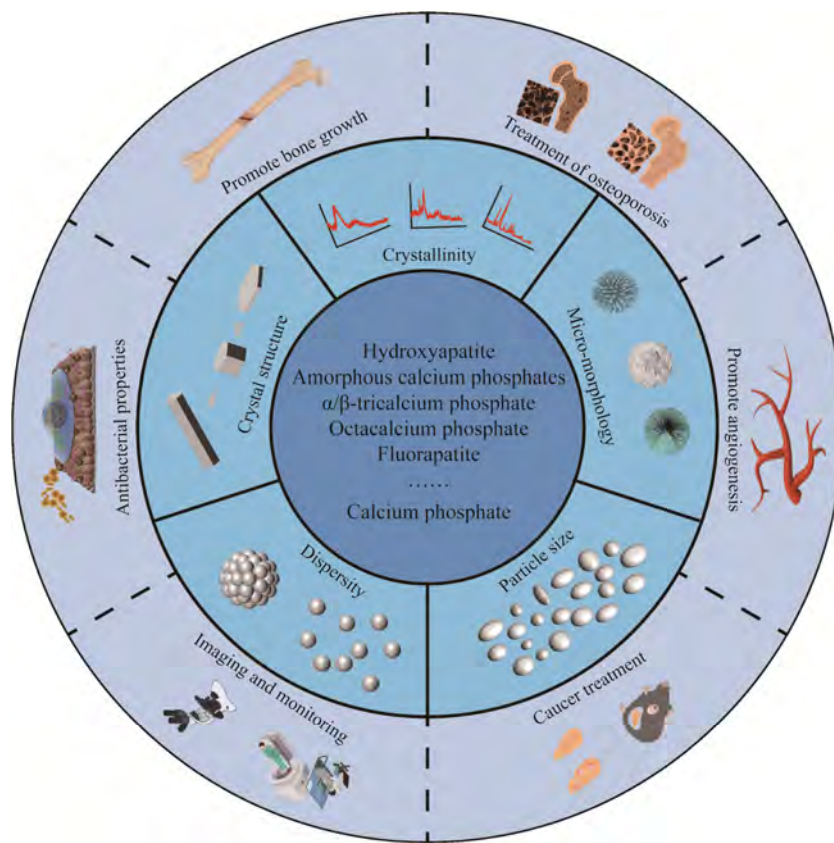


图 1 元素掺杂调控磷酸钙材料性能及生物学功能示意图

Fig. 1 Schematic diagram of element doping regulates material properties and biological function of calcium phosphate materials

本文综述镁(Mg)、锌(Zn)、锶(Sr)、铜(Cu)、银(Ag)、钴(Co)、锰(Mn)、稀土元素(REEs)等金属元素和硒(Se)、硅(Si)、氟(F)等非金属元素在磷酸钙中单掺杂或共掺杂对材料形貌和生物学功能的影响,旨在为磷酸钙生物材料的未来研究提供参考,以便

更好地满足骨再生修复的临床应用需求。

1 单一金属元素调控磷酸钙

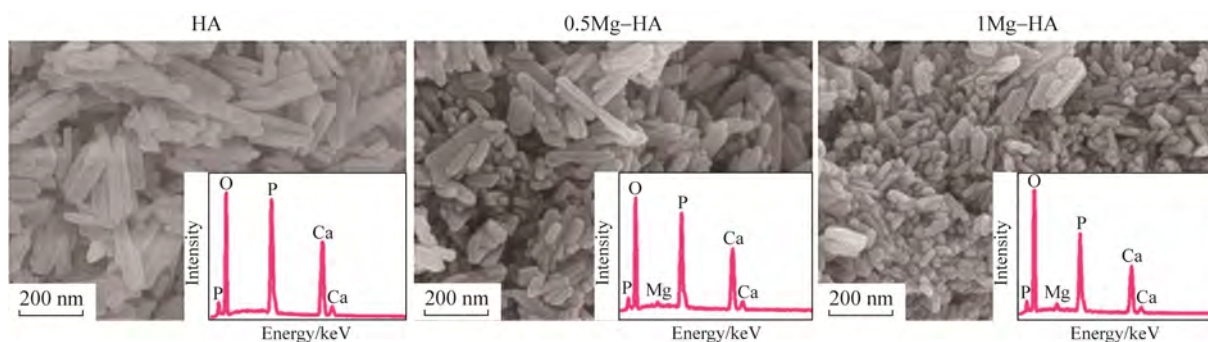
骨组织中的多种金属元素,在骨组织生理功能的平衡过程中发挥着至关重要的作用。研究金属元

素对磷酸钙材料的调控作用, 对于制备功能型磷酸钙生物陶瓷具有重要意义。

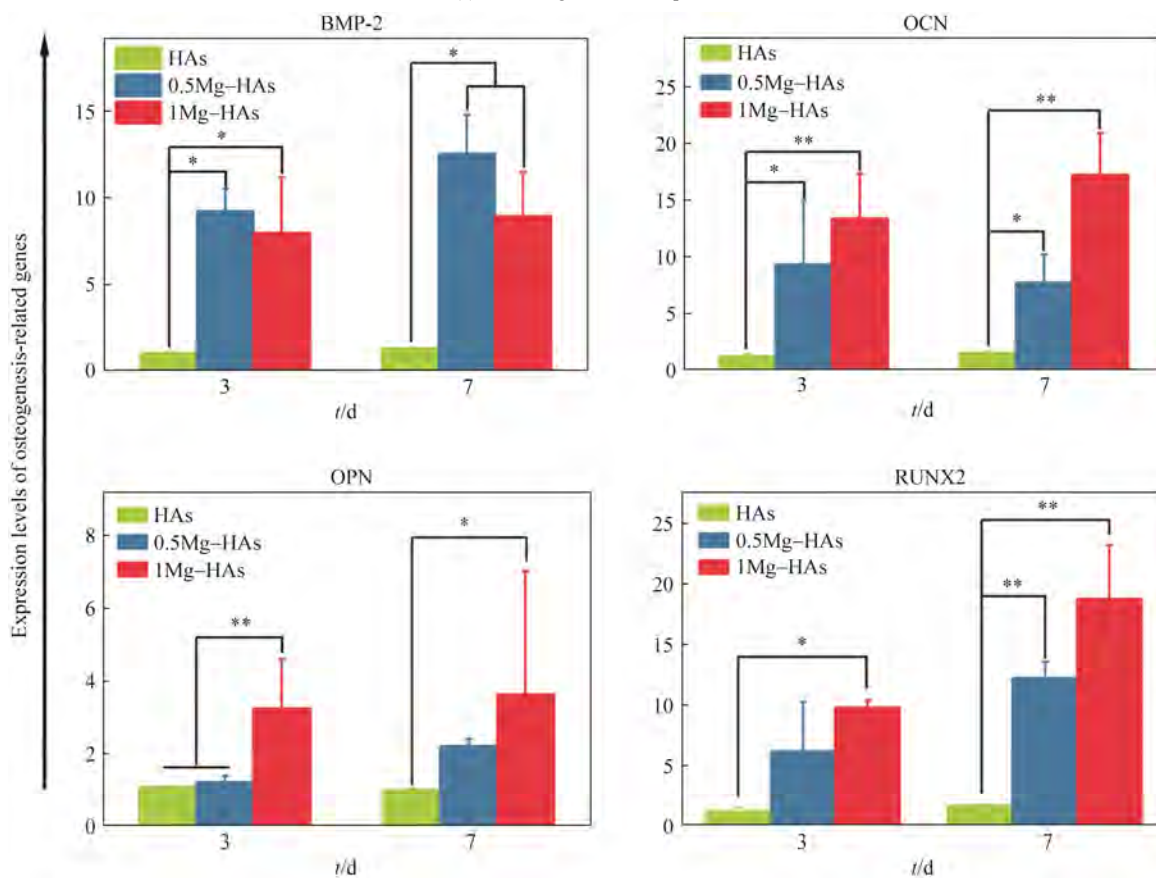
1.1 镁掺杂磷酸钙

Mg 是人体必需的元素之一, 直接参与调控组织体内多种酶反应、新陈代谢等生理过程^[11, 22]。在骨组织代谢中, Mg 能够调节免疫功能, 减少骨质流失, 从而降低骨质疏松和骨折风险^[23]。在骨缺损修复中, Mg 有利于提高血管形成细胞的增殖、迁移能力, 通过刺激相关血管生长因子来促进血管生成, 从而加速血管化骨再生^[11, 23-24]。

Sopyan 等^[25]采用溶胶-凝胶法制备了 Mg 掺杂双相磷酸钙(BCP), 并进一步制备多孔陶瓷支架。结果显示, Mg 掺杂加速 BCP 颗粒的晶体生长、聚集和致密化, 提高多孔支架的力学性能, 可适用于人体组织缺损修复。Zhao 等^[26]采用水热法制备一种 Mg 掺杂纳米羟基磷灰石颗粒(Mg-nHA)。随着 HA 晶格中 Mg 含量的提高, nHA 从典型的六方棱柱状逐渐向短棒状转变, 导致结晶度降低、溶解性增强。同时, Mg-nHA 表现出更加优异的骨诱导能力(图 2)。



(a) SEM images and EDS spectra



(b) RT-PCR for BMSCs gene expression

RT-PCR for gene expression, including the BMP2 gene, OCN gene, OPN gene, and RUNX2 gene (* $p < 0.05$, significant; ** $p < 0.01$, highly significant).

图 2 镁掺杂调控羟基磷灰石形貌及其成骨活性^[26]

Fig. 2 Magnesium regulates the morphology and osteogenic activity of hydroxyapatite^[26]

由于 Mg 优异的生物学功能, 镁磷酸钙在骨再生领域拥有巨大的应用潜力^[27–28]。Wu 等^[29]通过将磷酸镁与磷酸钙骨水泥结合开发新型镁磷酸钙骨水泥(MCPC), 表现出良好的生物相容性, 可以支持细胞附着、增殖和分化, 并且有效提高新骨形成效率。此后, Wang 等^[30]证明 MCPC 能够通过赋予良好的骨免疫调节特性, 影响免疫细胞与成骨相关细胞之间的串扰来促进骨愈合。

此外, Mg^{2+} 在磷酸钙的成核、生长和相转变中起着至关重要的作用^[15, 31]。低 Mg 含量会提高 HA 的结晶度, 而高 Mg 含量会导致形成 ACP 相^[32]。 Mg^{2+} 也被发现是仿生矿化过程中 ACP 向 HA 相转变的有效抑制剂^[31]。漆超^[33]通过调控钙磷比, 探究 Mg 对磷酸钙纳米结构的影响, 成功制备出白磷钙石纳米颗粒组装空心微球, 且其表现出 pH 响应性药物控释行为, 为组织修复中药物负载提供了新的可能。

Mg 掺杂磷酸钙具有促成血管、促成骨、免疫调节等生物学功能, 对于构建功能性骨再生修复材料具有较大的潜力。

1.2 锌掺杂磷酸钙

Zn 对人体正常生长、免疫功能和神经系统的构建至关重要, 并且具有一定的抗菌性^[11, 24, 34]。特别的, Zn 可以通过多种杀菌机制使细菌死亡, 在抗菌元素中具有独特的优势^[35]。在组织修复中, Zn 也可以通过促进成骨细胞(OBs)生长、抑制破骨细胞促进骨再生, 预防骨质疏松^[36]。

在最近的研究中, Mardziah 等^[37]使用湿化学沉淀法研究 Zn 掺杂羟基磷灰石(Zn-HA)陶瓷性能。引入 Zn^{2+} 导致形成含有 HA 和 β -TCP 的双相混合物, 并影响最终产物的形态、尺寸和结晶度。何磊^[38]采用水热法探究 Zn 含量对 HA 形貌的影响。结果显示, 随着 Zn 含量从 0 增加至 10% (摩尔分数), HA 逐渐从条带状转变为稳定的花瓣状。De Lima 等^[39]通过共沉淀制备具有不同 Zn 含量的介孔 HA, 颗粒大小、介孔形貌、元素含量等因素显著影响 HA 的抗菌性能。Santos 等^[40]将 Zn 掺杂磷酸钙与胶原蛋白复合, 构建微观结构与骨组织相似的仿生复合支架。这种支架具有足够的生物学功能, 并有潜力应用于构建更高需求的生物活性骨移植材料。孙广飞^[41]将 Zn-HA 与聚乙烯醇和明胶复合形成支架, 使用 Zn-HA 具有抗菌和调控免疫细胞的作用, 增加支架材料在骨修复中的应用潜力。然而, Zn 掺入磷酸钙的含量超过一定限度, 将抑制成骨相关细胞增殖和

碱性磷酸酶(ALP)活性^[42]。

Zn 作为独特的抗菌元素, 可以通过构建表面形貌抗细菌粘附或通过离子释放实现抗菌性能, 同时适当浓度条件下具有一定促成骨和免疫调控等性能。Zn 在组织修复领域, 尤其是在为解决感染性骨缺损或避免植入物感染的问题中具有广泛的应用前景。

1.3 锶掺杂磷酸钙

与钙类似, Sr 在骨组织中自然积累, 参与骨再生过程, 是骨代谢的重要元素^[43]。在骨代谢中, Sr 通过双重作用促进骨再生。一方面可以促进成骨相关细胞的增殖、分化和存活^[44–45]; 另一方面, 也可以通过抑制破骨细胞分化、促进成熟破骨细胞凋亡进而减少骨吸收^[11, 36, 46]。因此, 锶类制剂是治疗骨质疏松症常见的物质之一。

Yu 等^[47]通过微波-水热法制备掺 Sr 无定形磷酸钙多孔微球, 具有较高比表面积, 显示出较高的药物负载能力。将其与胶原蛋白复合构建新型仿生骨组织工程支架, 不仅改善力学性能, 而且增强骨髓间充质干细胞(BMSCs)的成骨作用, 显著增强新骨的形成能力。Deng 等^[48]制备含有 Sr 掺杂缺钙磷灰石的多孔 BCP 陶瓷微球(Sr-BCP), 得到的 Sr-BCP 具有较好的球形度和相互连接的孔隙结构。由于 Sr-BCP 具有更多的微孔, 可以更快的降解, 蛋白吸附能力更强, 也更有利于促进 BMSCs 成骨相关基因和蛋白的表达。Lin 等^[43]在没有任何表面活性剂、模板剂的情况下, 通过水热法成功制备具有分级介孔结构的 Sr 取代 HA (Sr-HA)微球。研究发现, Sr-HA 多孔微球由二维单晶纳米片组装而成, 能够促进人成骨样细胞增殖, 促进成骨分化和血管生成因子的表达, 在骨再生修复和药物递送方面具有一定的应用潜力。Geng 等^[49]通过电化学沉积在不同的酸性条件下制备 Sr-HA 涂层, 随着 pH 值增加, 其结构从片状变为针状。此外, Sr-HA 涂层有利于 BMSCs 的粘附、迁移、增殖和成骨分化, 改善骨-植入物整合效果, 增强新骨形成。

Sr 掺杂磷酸钙不仅能够促进骨形成进程, 还能抑制破骨细胞活性, 从而促进骨再生重塑, 在骨质疏松性骨缺损修复中具有广泛的应用前景。

1.4 铜掺杂磷酸钙

Cu 是人体不可缺少的微量元素之一, 能够提高多种酶活性^[50–51]。在骨组织工程中, 适量的 Cu^{2+} 可以诱导间充质干细胞(MSCs)和 OBs 分化, 对骨形成具有促进作用^[52]; 提高血管内皮生长因子(VEGF)的

表达, 促进血管生长, 进而引导血管化骨再生^[20, 53]。 Cu^{2+} 还具有较强的抗菌性, Cu^{2+} 能损坏细菌细胞壁和细胞膜结构, 最终导致细菌和真菌失活^[53-54]。高浓度的游离 Cu^{2+} 可能导致细胞毒性, 协调 Cu^{2+} 生物安全性和功能性之间的平衡也尤为重要^[55]。

肖东琴^[56]采用水热均相沉淀法, 通过调控 Cu 掺入比例, 成功制得掺铜磷酸钙花瓣状微球。结果表明, Cu^{2+} 能明显改变磷酸钙颗粒的形貌和尺寸,

当 Cu^{2+} 含量高于 5% 时, 对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌有明显的抑制效果(图 3)。此外, 随着铜离子掺杂量增加, BMSCs 增殖有所降低, 表明掺铜量的增加部分抑制细胞生长。李梦蝶^[57]制备出由纳米棒单晶有序排列自组装而成微米级掺 Cu 棒束状羟基磷灰石。适当 Cu 掺杂表现出良好的生物相容性, 并促进 BMSCs 早期成骨分化标志物 ALP 活性和表达, 诱导成骨分化。

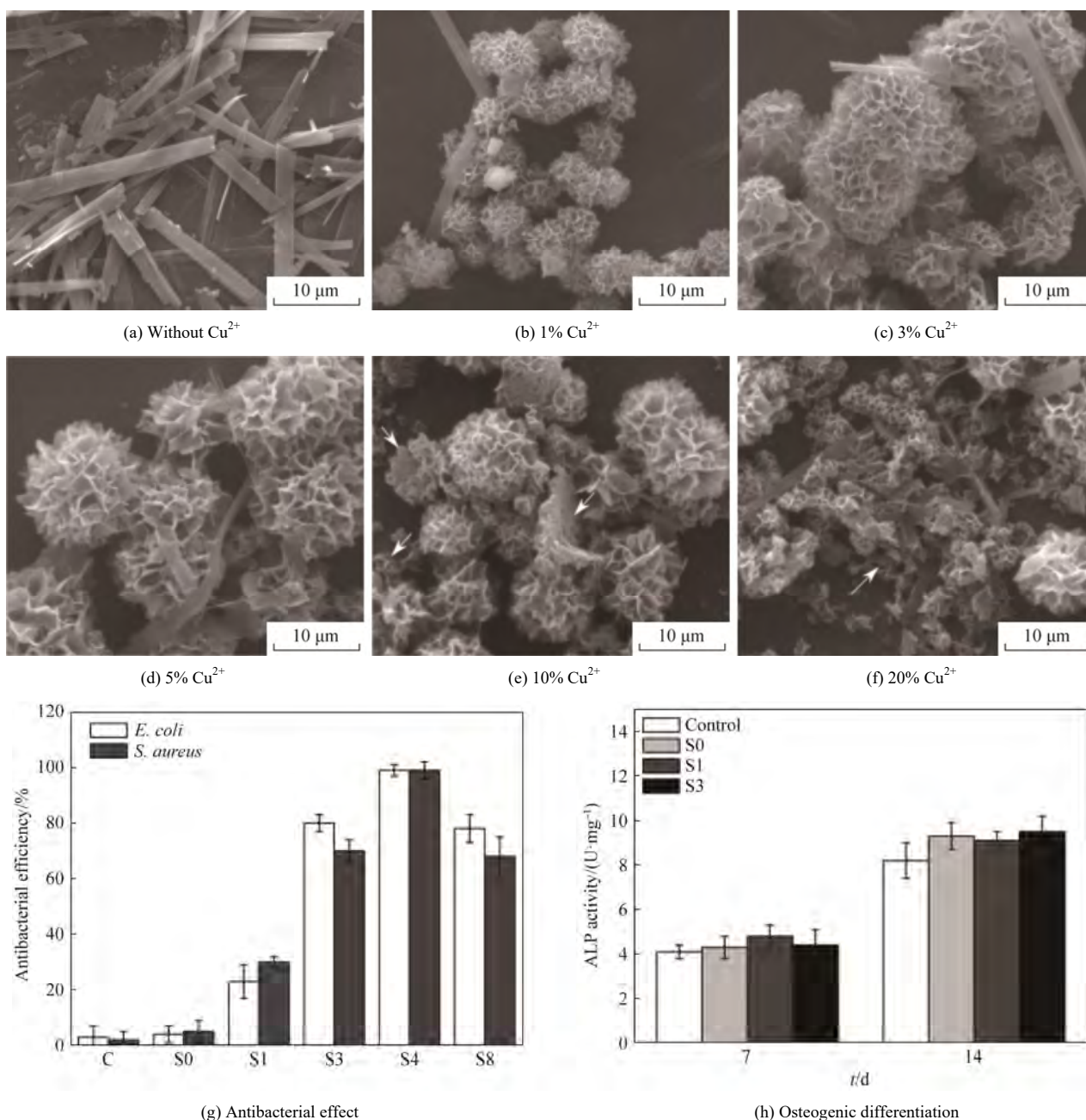


图 3 Cu^{2+} 掺杂调控羟基磷灰石形貌和生物学功能^[56]

Fig. 3 Morphology and biological function of HA regulated by Cu^{2+} ^[56]

Koyama 等^[58]将 Cu^{2+} 与 OCP 进行结合, 研究发现引入 Cu^{2+} 使 OCP 颗粒表面更加光滑。在大鼠颅骨

临界骨缺损中, Cu -OCP 复合材料促进 VEGF 的表达, 表现出更高的血管生成和成骨能力。Yu 等^[59]

用 Cu^{2+} 取代的 HA 涂层成功提高二氧化钛纳米管植入物的抗菌性能和成骨能力, 为骨科植入物涂层的制备提供了参考。

将 Cu 与磷酸钙材料进行复合, 不仅可以促进血管生长, 在缺损部位引导骨再生, 而且具有一定的抗菌性能, 在大段临界骨缺损修复以及抗菌支架的研究中具有应用潜力。

1.5 银掺杂磷酸钙

Ag 是抑菌性最强的元素之一, 在较低浓度就可以产生高效且广泛的抑菌性^[60], 对多种细菌、真菌、病原体都有一定的抑制作用^[61], 且低浓度 Ag^+ 对人体细胞无细胞毒性^[62]。Ag 主要通过破坏菌体细胞膜、降低酶活性, 从而达到抑菌作用^[63]; 或与氧反应产生具有强氧化还原作用的活性氧, 实现长效抑菌^[64]。

Gokcekaya 等^[65]通过沉淀法合成不同含 Ag 量的 HA 粉末, 发现在含有 Ag 的样品中 HA 表面可以观察到 Ag 纳米颗粒, 高温烧结后 Ag 均匀分布在 β -TCP 中。Paterson 等^[66]将制得的 Ag 掺杂纳米羟基磷灰石(Ag-nHA)添加到聚己内酯溶液中进行纺丝制备组织工程支架。结果显示含 Ag-nHA 的复合支架, 显著减少大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的数量, 同时保持细胞相容性, 并增强 BMSCs 中 ALP 活性, 促进成骨分化, 有潜力应用于硬组织修复。王春来^[67]通过化学共沉淀法与光化学还原法成功制备出 Ag-TCP 纳米粒, 银纳米粒子均匀分布在 β -TCP 微粒表面。随后采用冷冻干燥技术, 成功制成具有抑菌性的 Ag-TCP/海藻酸钙膜, 为新型抗菌材料的制备提供借鉴。Fu 等^[68]开发出一种两步电化学合成方法制备抗菌 Ag-HA 复合涂层, 使银纳米颗粒均匀地沉积在 HA 层上。该涂层表现出良好的生物相容性和抗菌性能, 有潜力用于防止术后感染, 提高骨整合, 进而促进骨再生。然而, 必须优化磷酸钙中 Ag 的负载量, 确保在不产生细胞毒性的情况下实现抗菌效果^[69]。

Ag 通常以 Ag^+ 或银纳米粒的形式掺入磷酸钙材料, 从而调控材料结构和性能, 使其具有广泛的抗菌性能。Ag-CaP 复合材料对解决感染性骨缺损修复提供了参考意义。

1.6 钴掺杂磷酸钙

Co 虽然在人体内含量很少, 却存在于肝、脾、肾、骨、胰等几乎体内所有器官和细胞中, 在生命体发挥重要作用^[70]。Co 可以促进组织细胞缺氧反应并刺激血管生成^[71], 促进骨髓造血功能的激活^[72]。

Co 还具有积极的骨诱导作用^[73], 这对骨组织工程应用具有重要意义。

钴磷酸钙材料在骨组织修复中展现出促进血管化骨再生的能力, 并得到研究人员的广泛关注。林浩天^[74]在水热条件高通量并行合成不同掺 Co 率(0%、1%、3%、5%、7%、10%、15%, 摩尔分数)的羟基磷灰石(Co-HA)粉体。随着 Co 掺杂量增加, Co-HA 的形貌从条带状转变不规则微球, 条带状逐渐减少, 微球状趋于规整且尺寸增大。生物学评价结果显示, 3% Co-HA 显示出良好的生物相容性, 上调内皮细胞血管生成相关基因(VEGF、HIF-1 α)表达促进血管形成, 同时促进 OBs 增殖。董春华等^[75]通过化学沉淀法和高温烧结制备 Co-HA , 显示对大肠杆菌具有较强的抑制作用。Kahaie 等^[76]制得具有相互连接孔隙且不同 Co 含量的多孔 Co-HA 支架。当 Co 的摩尔分数达到 1.25% 时, OBs 凋亡显著降低; Co 的摩尔分数超过 1.25%, 导致培养基中 Co 摩尔分数超过 0.012‰, 可能对 OBs 代谢活性产生细胞毒性。罗进^[77]采用溶胶-凝胶法在钛植入物表面制备了 Co-HA 复合涂层, Co 掺杂使 Co-HA 涂层表面产生较多微米级孔径结构, 这种涂层具有良好的组织相容性和促 OBs 增殖能力, 同时还表现出一定的抑菌作用。

钴磷酸钙复合材料在骨组织工程中显示出极大的应用潜力, 但高含量的 Co 也表现出一定的抑制成骨分化^[74], 适当的钴掺杂对于模拟天然骨组织成分和功能, 促进骨再生修复效果具有重要意义。

1.7 锰掺杂磷酸钙

Mn 广泛存在于人体各组织器官中, 参与多种骨组织生长和代谢的相关过程, 对于维持生理功能起着不可估量的作用^[51]。Mn 作为硬组织中的微量元素, 能够促进骨钙化进程, 当机体缺乏 Mn 时, 则不能正常形成骨组织^[78]。

周雪^[79]采用水热法合成 Mn 掺杂 HA, 与带状和片状晶体混合的纯 HA 相比, Mn 掺杂形成具有表面微纳形貌的球状颗粒, 两者形貌差异明显。侯生磊^[80]利用微乳法制得分散的球形 Mn 掺杂磷酸钙纳米颗粒, 使该纳米粒子产生造影效果, 同时具有较好的生物相容性和药物负载控释能力。Sopyan 等^[81]利用溶胶-凝胶法并高温烧结制得 Mn 掺杂 BCP, 结果显示, 结构中各相的比例受 Mn 含量的影响, Mn 的掺入也导致磷酸钙材料致密化, 并显著增加 BCP 粉末的结晶度。Wu 等^[82]制得 Mn 掺杂的 β -TCP 球状颗粒, 并将其掺入骨水泥(CPC)中, 结果表明, 掺有 Mn-TCP 的 CPC 使 BMSCs 表现出

较好的粘附和扩散行为, 并显著促进 *ALP*、*RUNX2* 和 *Col-I* 等成骨相关基因表达, 有望成为骨再生领域中一种有前途的生物材料。

Mn 作为人体所必需的微量元素, 对骨和软骨的形成至关重要, 但其仅在较低浓度下对骨形成有积极作用^[83]。有望将其与多种磷酸钙陶瓷结合, 开发出更多具有特殊生理功能的新型组织修复材料。

1.8 稀土元素掺杂磷酸钙

随着功能元素在组织工程中的研究不断深入, REEs 逐渐引起广泛关注, 其特有的生物标记能力为组织工程支架在追踪检测应用上提供了新的可能^[84-85]。常见的 REEs 包括镧(La)、铈(Ce)、铈(Tb)、钆(Gd)、铕(Eu)、钇(Y)等。

Yin 等^[86]创新性地构建用于骨骼组织工程的 La 掺杂 HA/壳聚糖仿生支架。支架中添加的 La 通过激活 Wnt/ β -catenin 信号通路显著提高 BMSCs 的成骨分化和新骨组织形成。同时, 掺 La 的仿生支架促进巨噬细胞增殖和吞噬活性, 导致产生同步的生物降解性, 增强骨重塑能力。Li 等^[87]制得均匀 Tb 掺杂的 HA 纳米粒子(Tb-HA NPs), 进而揭示 Tb-HA NPs 在细胞中的形态、组成和降解变化, 与细胞微结构的协同作用机制以及对基因功能的影响。Vieira 等^[88]通过悬浮沉淀法制得一种含 Ce 的 HA (Ce-HA), 该材料具有一定的抗菌性能, 并显著提高细胞活力, 植入卵巢切除的雌性大鼠体内表现出骨质疏松性骨缺损修复效果。Zhang 等^[89]将 HA 与不同浓度的 Y

通过逐层自组装法(LBL)进行掺杂, 并作为涂层材料改性 Ti 植入物构建新型植入材料。结果显示, 掺 Y 的 HA 涂层改善植入物生物相容性和抗菌性能, 对改善植入物骨整合和骨再生具有巨大潜力。

REEs 在提高组织工程支架性能方面发挥着积极的作用。随着对 REEs 的开发逐渐深入, REEs 掺杂磷酸钙材料因其在组织修复和长期多态追踪方面的优点而具有广阔的应用前景。

2 单一非金属阴离子调控磷酸钙

组织体内的微量元素除金属元素外, 还包括 Se、Si、F 等非金属微量元素, 也起到不可缺少的作用。阴离子掺杂可以通过取代 PO_4^{3-} 或 HA 中的 OH^- , 调控磷酸钙的结构性能和生物学功能。

2.1 硒掺杂磷酸钙

尽管 Se 在人体中的含量很低, 但它可以参与生长和代谢等生理过程, 在生命体中起着重要而独特的作用^[63, 90]。Se 可以降低毒性作用, 增强机体免疫力, 预防传染病和流行病^[91], 同时在预防癌变、抑制肿瘤细胞生长、预防骨相关癌症的转移等方面也发挥着积极作用^[92-93]。Se 可以通过细胞凋亡、坏死、氧化还原状态调节细胞凋亡等多种机制发挥抗肿瘤作用^[94]。

Li 等^[93]采用两步溶剂热制备高结晶 Se 掺杂羟基磷灰石(Se-HA)纳米棒, 并对其合成机理进行了完整的解释(图 4)。这项研究为可控合成 Se-HA 纳

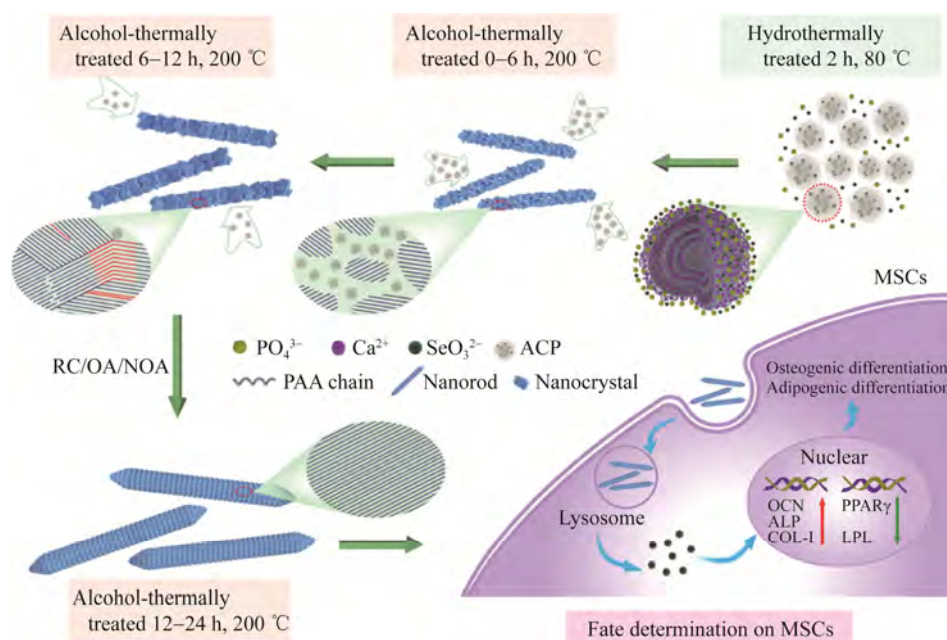


图 4 HA/Se-HA 纳米棒的合成机理及其在 MSCs 中的作用示意图^[93]

Fig. 4 Schematic diagram of the reaction mechanism of HA/Se-HA and its role in the fate of mesenchymal stem cells (MSCs)^[93]

米棒提供了参考。He 等^[92]水热合成具有特殊微纳米杂化形态的 Se-HA, Se 调控 HA 的形貌, 使 HA 由条带状结构逐渐转变为由纳米片组装的微球。从颗粒中释放的 Se 通过诱导细胞凋亡有效地抑制人骨肉瘤细胞的生长, 证明 Se-HA 是一种潜在的用于肿瘤切除后骨缺损修复的材料。Zakhireh 等^[95]使用机械化学合金化的方法将 Se 掺杂到 HA 结构中, 以改善 HA 的成骨特性。结果表明, Se-HA 支架的表面微纳形貌有效提高 MSCs 增殖、粘附, 并增强 ALP 活性和钙化, 同时 Se 的析出抑制骨肿瘤细胞增殖活性。Rodríguez-Valencia 等^[96]在 Ti 表面制备硒磷酸钙涂层, 与纯 HA 涂层相比, 加入 2.7% (摩尔分数) Se 的磷酸钙涂层在体外显著提高成骨活性和抗菌、抗肿瘤效果。

微量元素 Se 的引入, 赋予磷酸钙材料抗肿瘤的生物学功能, 为磷酸钙材料在骨肿瘤的治疗中提供了新的解决方案, 也为新型骨植入支架或植入物涂层的构建提供新的思路。

2.2 硅掺杂磷酸钙

Si 作为人体的一种微量元素, 其对人体健康也十分重要。Si 直接参与骨组织细胞外基质形成以及骨组织矿化的早期阶段, 在骨/软骨修复中起到重要作用^[51, 97]。

王飞^[98]采用水热法制得掺 Si 磷酸钙(Si-CaP), 在添加不同硅源条件下, 均可得到球形度较高的 Si-CaP, 表明可以通过水热法获得稳定的 Si-CaP 微球。Jokic 等^[99]通过在相同反应条件下进行水热合成, 研究 Si 对 CaP 颗粒形态的调控作用。结果显示, Si 会在 CaP 表面沉积形成纳米颗粒, 并在较低温度下增强 CaP 中由 HA 到 α -TCP 的相转变。刘晓丹^[100]将水热法制备的超细 Si-CaP 粉末烧结制备支架, 结果显示, Si-CaP 支架具有较高的生物活性和生物相容性, 能促进成骨前体细胞(MC3T3-E1)的粘附和生长。Kong 等^[101]研究发现, Si-CaP 通过激活 TLR4/PI3K/AKT 信号通路促进成骨-血管生成, 为 Si-CaP 在成骨-血管生成过程中的调控作用和分子机制做出新的阐述, 有力地支持其在骨组织工程中的应用。

Si-CaP 是一种很有前途的骨组织工程生物活性材料。由于其良好的生物活性和低细胞毒性, Si-CaP 正在逐渐吸引研究人员的兴趣, 有望成为骨组织工程中新的候选材料。

2.3 氟掺杂磷酸钙

F 主要分布在骨骼和牙齿中。适当浓度的 F 可

以促进成骨细胞的增殖和分化, 但浓度过高会产生一定的抑制作用^[63, 102]。F 也可以影响新骨生长和牙釉质的形成^[103], 并且使用含 F 牙膏以预防龋齿, 是经过临床验证有效的^[104]。然而, F⁻浓度影响细胞毒性和细胞增殖, 较高浓度会导致细胞应激和细胞死亡^[105]。

由于 F⁻半径小于 OH⁻, 因此 F⁻常被用于取代 HA 中的 OH⁻形成稳定性更高、功能性更强的氟磷灰石(FHA)。Nasker 等^[106]采用水热法合成 FHA 纳米棒, 结果显示, F 使 HA 纳米棒长径比更小, 晶体结构致密化, 并展现出生物相容性和抗菌性能。Wang 等^[107]合成微量 F 取代的缺钙磷灰石, 显示出高抗菌活性、生物相容性, 促进 MC3T3-E1 附着、增殖和分化, 并提高 ALP 活性及 BMP2、BMP4、RUNX2 等成骨相关基因表达。Liu 等^[108]使用 FHA 研究它对体内体外破骨细胞的作用, 结果显示, FHA 通过作用于 JNK 和 MAPK 信号通路, 促进破骨细胞凋亡, 抑制破骨细胞分化, 并对骨吸收具有抑制作用。

由于 FHA 具有较高的热稳定性和化学稳定性、低溶解度以及良好的生物相容性, 有望成为骨组织工程支架以及金属植入物涂层的潜在材料。

3 多元素掺杂调控磷酸钙

骨再生修复是由一系列不同活性因子或物质相继参与、协调调控的复杂的级联过程^[109]。骨组织微环境失调、术后感染等问题为临床骨再生修复增加了考验。这就要求应用于临床的组织支架不能局限于具有某种单一功能, 而是逐渐向多重功能化组织工程支架发展。更多学者开始关注双元素甚至多元素共掺杂对磷酸钙材料的调控, 以满足临床骨组织工程支架多重功能化的需求。

3.1 双元素掺杂调控磷酸钙

在元素掺杂调控磷酸钙的相关研究中, Mg、Zn、Sr 由于其自身具有优越的生物学功能, 已经成为目前备受关注几个的元素, 也常被用在双元素调控磷酸钙的研究中。

3.1.1 镁-锌双掺杂 Alioui 等^[110]采用沉淀法合成单掺杂及共掺杂 Mg 和 Zn 的 HA (Mg/Zn-HA), 对比对 5 种细菌和 2 种真菌的抗菌活性, 结果显示, Mg/Zn 双掺杂较单掺 Zn 具有更强的抗菌活性。Shahmohammadi 等^[111]在 Ti 表面两步脉冲电沉积制备 Mg/Zn 磷酸钙涂层, 涂层的形貌受 Mg、Zn 浓度的调控, 且表现出良好的蛋白吸附和抗菌性能。何

磊^[38]用 5%和 10% (摩尔分数)的 Mg 掺杂量进行 Mg/Zn-HA 研究,随着 Mg 和 Zn 的加入,Mg/Zn-HA 逐渐由不规则颗粒向规则的多孔微球发育。同时,

Mg/Zn-HA 具有良好的抗菌性和药物负载能力,可以改变细胞粘附形态,提高 ALP、RUNX2、OCN 等成骨相关基因表达,诱导成骨分化(图 5)。

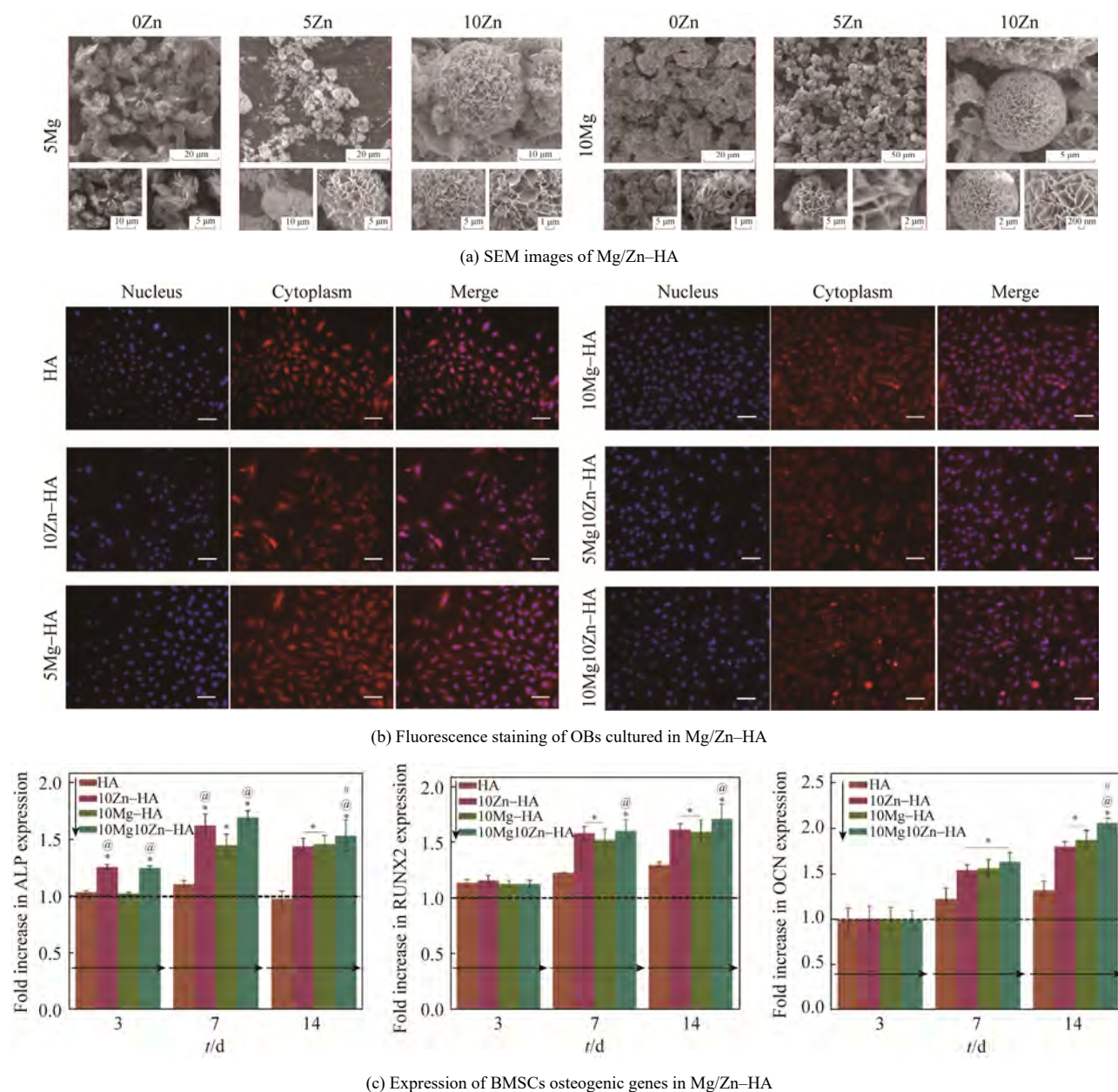


图 5 Mg/Zn 共掺杂对 HA 形貌及其促成骨性能的影响^[38]
Fig. 5 Effect of Mg/Zn co-doping on HA morphology and its osteogenic properties^[38]

3.1.2 镁-锶双掺杂 Scalera 等^[112]合成稳定的 Mg、Sr 羟基磷灰石(Mg/Sr-HA)纳米晶体,并用于制备高度贯通的多孔支架,其中 0.5Mg/Sr-HA 表现出优异的生物学功能,可用作支持细胞粘附和增殖的骨修复支架材料。Wang 等^[113]用火焰喷涂技术在 Ti 植入物表面构建 Mg/Sr-HA 涂层,5Sr5Mg-HA 组显示出最高的生物相容性、ALP 活性,促进 RUNX2、OPN、OCN 的表达,表明使用 Mg/Sr-HA

涂层增强骨整合的应用潜力。

3.1.3 锌-锶双掺杂 Lowry 等^[114]采用湿化学沉淀法成功制备一系列 Zn、Sr 取代 HA (Zn/Sr-HA),样品均呈纳米棒状结构,且由于离子半径 $r(\text{Zn}^{2+}) < r(\text{Ca}^{2+}) < r(\text{Sr}^{2+})$,使得 HA 纳米棒大小随元素掺杂发生改变。Ullah^[115]采用等离子喷涂技术在钛合金基体上制备 Zn/Sr-HA 涂层。涂层表现出较高的结合强度,以及良好的生物相容性、抗菌性能。

3.1.4 其他双元素掺杂 除 Mg、Zn、Sr 之间组合共取代磷酸钙以外, 还有众多共取代组合被研究, 并且表现出积极的效果。Guo 等^[116]通过改进的沉淀法获得 Zn、Cu 共取代的 nHA, Zn、Cu 共取代显著提高 HA 的抗菌能力。Kulanthaivel 等^[117]使用 Mg、Co 双重掺杂 HA, 使其具有更高的蛋白吸附能力, 通过促进 RUNX2、HIF-1 α 、VEGF 等因子的高表达, 提高成骨和血管生成特性。研究 Se、Sr 共取代 HA 发现, Sr 在 Se-HA 中的共取代抵消 Se 的负面影响并增强 HA 的生物学功能^[118], 可以作为抗菌涂层和骨填充材料。Singh 等^[119]通过微波合成将 Sr 和 SO_4^{2-} 共同取代到 HA 结构中, 双离子取代赋予 HA 适当的组织再生、抗菌和药物递送特性, 可适用于多功能治疗应用。Chen 等^[120]将 Sr 和稀土元素钐(Sm)共掺杂制备 HA, Sr 的引入导致 Sm-HA 的结构和成分的变化, Sm 的引入使 Sr-HA 具有发光特性且不产生细胞毒性, 这为磷酸钙材料在高效荧光标记和检测领域的应用提供可能。

3.2 多元素共掺杂调控磷酸钙

为实现多重功能化磷酸钙材料的构建, 研究人员希望同时赋予磷酸钙材料促成骨兼具免疫调控、促成血管、抗菌或抗肿瘤等多重生物学功能, 多元

素共掺杂策略逐渐受到更广泛的关注。

通过研究 Mg、Mn、Sr 共取代 HA, 结果显示 Sr 的存在使得 HA 中 Mg 和 Mn 的实际掺杂量更高, 且保持适当的生物相容性^[121]。Gopi 等^[122]通过软溶液冷冻法合成 Sr、Mg 和 Zn 共取代的纳米羟基磷灰石(Sr/Mg/Zn-HA), 在 pH=10 时获得分散性良好的 Sr/Mg/Zn-HA 纳米颗粒, 并用模拟体液(SBF)体外浸泡表现出生物活性。郭效军等^[123]使用 SBF 中的 Na^+ 、 Mg^{2+} , 并添加额外的 F^- , 制备三元素共掺杂羟基磷灰石(Na/Mg/F-HA)。随着 F 含量的增加, HA 颗粒逐渐由球形转变成棒状结构。同时 Na/Mg/F-HA 对金黄色葡萄球菌具有一定的抑制作用。Rajendran 等^[124]在 HA 中同时掺入 Mg、Zn 和 Co, 与未取代的 HA 相比, Mg/Zn/Co-HA 形态特征变化不大, 具有更好的生物活性、细胞活力和抗菌活性。宋可可^[125]并行制备 Se、Sr、Zn 三元素掺杂 HA (Se/Sr/Zn-HA)发现, 掺杂 Se、Sr 或 Zn 可对 HA 形貌结构进行调控, 且 Se/Sr/Zn-HA 的形态类似于单一元素掺杂 HA 的混合形态。这种形貌特征的 Se/Sr/Zn-HA 表现出良好的离子释放行为, 具有显著促进 MC3T3-E1 增殖和成骨分化的能力, 以及一定的抗菌和抗肿瘤性能(图 6), 为骨肿瘤术后骨缺损替代材料的设计研发提供新的思路。

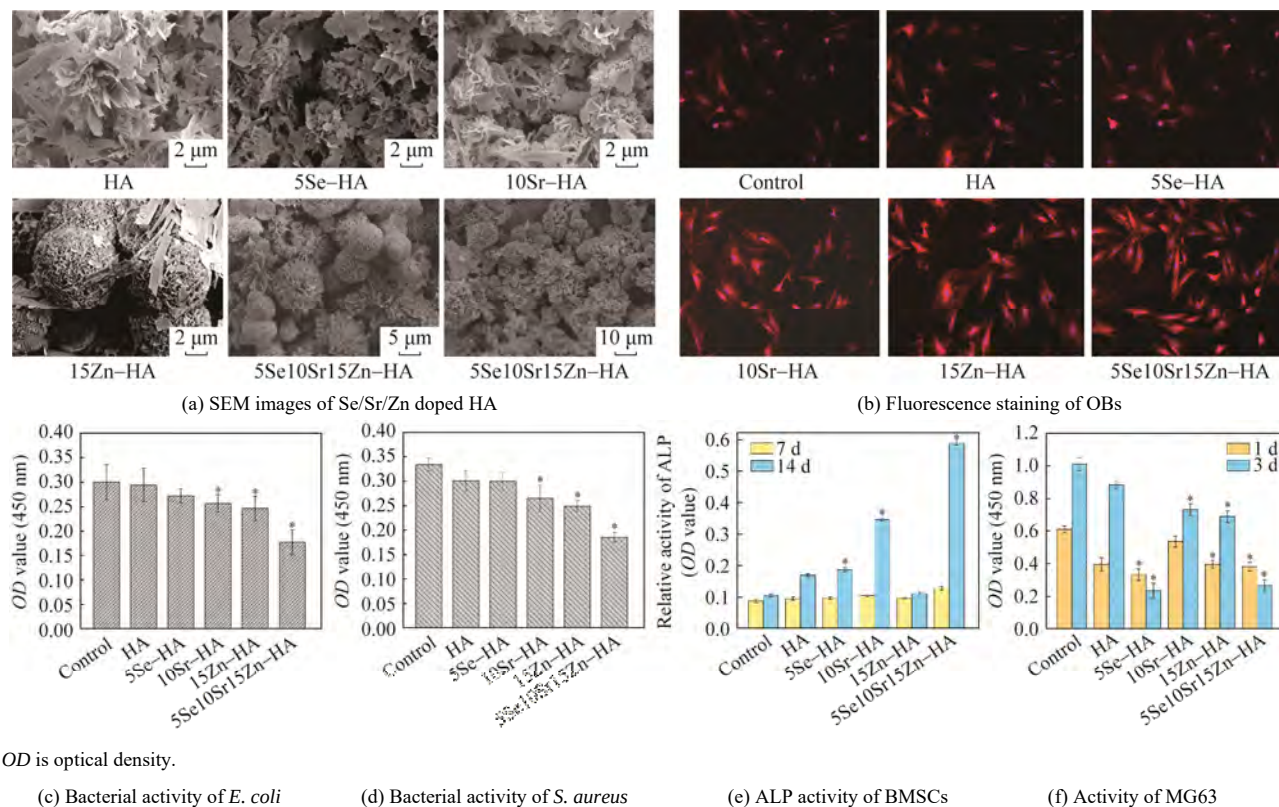


图 6 Se/Sr/Zn 三元素掺杂 HA 调控样品形貌及生物学功能^[125]
Fig. 6 Se/Sr/Zn co-doped HA regulates the morphology and biological function^[125]

4 结论与展望

磷酸钙是目前应用最为广泛的一类无机陶瓷材料。但单一磷酸钙材料的性能均存在一定的缺陷，元素掺杂可以有效调控磷酸钙的结构、形貌、力学强度、降解性等材料学性能，通过微纳形貌和元素释放等因素协同作用，有效地改善其血管生成、骨组织再生、免疫调控、抗菌等生物学功能，在一定程度上弥补单一材料的不足。

随着组织工程研究不断深入以及临床需求的提高，越来越多的研究开始关注多种元素共同掺杂对磷酸钙性能的调控。多元素共掺杂磷酸钙材料也展现出令人满意的效果，成功赋予磷酸钙材料多种材料学、生物学特性，为其在组织工程领域的应用不断提供新的可能。

元素掺杂磷酸钙展现出优良的性能，在多功能组织工程支架和植入物涂层的构建中具有极大的应用潜力。但目前相关领域仍存在问题有待深入探究：大多元素在高剂量的条件下均会产生消极的

作用，但各元素之间的毒性强弱并不一致，难以对元素掺杂量的有效范围做出统一界定；多种常见元素调控磷酸钙形貌结构、性能变化的作用机制尚不明确；元素调控磷酸钙产生微纳形貌并赋予特殊生物学功能，通常认为主要由元素释放或与形貌协同作用发挥抗菌、促血管生长、免疫调控等生物学功能，但两者协同作用机理仍未得到明确阐述；元素掺杂磷酸钙主要依靠掺杂元素的占位，多元素共掺杂使掺杂元素之间发生竞争关系，但各元素共掺杂时的竞争能力强弱与相互作用关系尚无明确结论；多元素共掺杂磷酸钙的研究大多局限于结构性能和体外生物学功能评价，仍未有较为全面的体内生物学功能的系统性验证结果。

元素掺杂磷酸钙能够弥补纯磷酸钙陶瓷的不足，并赋予多种生物学功能，拓宽了其在组织工程中的应用范围。本文通过对多种元素调控磷酸钙形貌结构及生物学功能进行总结归纳(见表 1)，以期对新型多功能骨修复材料的未来研究方向提供参考。

表 1 常见元素掺杂调控磷酸钙的形貌及生物学功能

Table1 Common element doping regulates the morphology and biological function of calcium phosphate

Eement	Regulative effects	References
Magnesium (Mg)	Regulate crystal growth. Improve mechanical properties. Regulating bone immunity and accelerating vascularized bone regeneration	[11, 15, 22–23]
Zinc (Zn)	Regulate the morphology, size, and crystallinity. Antibacterial activity, regulation of immune cells and bone metabolism. High content inhibits osteogenic activity	[11, 24, 34–42]
Strontium (Sr)	Regulate the morphology. Enhance mechanical properties. Promote osteogenic activity and inhibit osteoclasts. Accelerate new bone formation	[11, 36, 43–49]
Copper (Cu)	Regulate the morphology and size. Antibacterial properties. Promote vascularization and induce osteogenesis; High concentration produces cytotoxicity	[20, 50–59]
Silver (Ag)	Regulate the morphology. Low concentration without cytotoxicity. Extensive antibacterial activity	[60–69]
Cobalt (Co)	Regulate the morphology and size. Inducing hypoxia response, stimulating angiogenesis, and promoting osteogenesis. High concentration produces cytotoxicity	[70–77]
Manganese (Mn)	Regulate the morphology and crystallinity. Promote osteogenic differentiation and bone calcification; Only active at low concentrations	[51, 78–83]
Rare earth elements (REEs)	Imaging visualization. Antibacterial properties. Promoting bone differentiation and new bone formation	[84–89]
Selenium (Se)	Regulate the crystal growth, morphology and size. Anti-tumor. Antibacterial. Promoting bone formation	[63, 90–96]
Silicon (Si)	Regulate the morphology and phase transition. Regulate cell behavior. Promote vascularization and osteogenesis	[51, 97–101]
Fluorine (F)	Regulating crystal structure. Improve stability. Antibacterial properties. Regulate bone homeostasis. Promoting bone formation	[63, 102–108]

为进一步推动元素掺杂磷酸钙材料在组织工程中的发展，对该领域今后的发展提出以下建议：

1) 协调多元素相互影响：通过在适当范围内，调整多元素共掺杂磷酸钙中掺杂元素的种类和浓度，有望实现掺杂元素的有效协同作用，产生更加优越的结构和生物学功能，为组织工程材料提供新的选择。

2) 探究生物学功能作用机制：元素掺杂磷酸钙作用于骨缺损修复中产生多种生物学功能，其分子机制有待深入探究。阐述材料形貌、功能元素之间协同作用的分子机制，有望推动构建组织修复效果更佳的骨再生修复材料。

3) 多种磷酸钙结合：充分结合多种磷酸钙及元素调控的性能特点，相互调节相互补充，开发具有

力学强度、降解速度等多方面适配以及优良生物学功能的新型磷酸钙组织修复材料。

4) 多成分负载与控释: 骨再生是由多细胞、因子时序参与的过程。构建负载多种离子、因子和药物的复合支架, 并实现有效成分的时序释放, 有望持续推动骨再生过程各阶段的发展进程。

5) 构建仿生骨组织工程支架: 骨是一个极其复杂的组织, 主要成分包括胶原、骨磷灰石等有机/无机成分, 以及多种细胞、因子。元素掺杂磷酸钙联合仿生细胞外基质水凝胶, 构建无机/有机仿生多孔支架, 并负载适当的种子细胞, 有望优化骨组织工程支架的性能。

参考文献:

- [1] NAIR A K, GAUTIERI A, CHANG S W, et al. Molecular mechanics of mineralized collagen fibrils in bone[J]. *Nat Commun*, 2013, 4: 1724.
- [2] WEINER S, TRAUB W, WAGNER H D. Lamellar bone: Structure-function relations[J]. *J Struct Biol*, 1999, 126(3): 241–255.
- [3] REZWAN K, CHEN Q Z, BLAKER J J, et al. Biodegradable and bioactive porous polymer/inorganic composite scaffolds for bone tissue engineering[J]. *Biomaterials*, 2006, 27(18): 3413–3431.
- [4] TANG Z R, LI X F, TAN Y F, et al. The material and biological characteristics of osteoinductive calcium phosphate ceramics[J]. *Regen Biomater*, 2018, 5(1): 43–59.
- [5] KOIZUMI D, SUZUKI K, TOGAWA R, et al. Preparation of antimicrobial calcium phosphate/protamine composite powders with fluoride ions using octacalcium phosphate[J]. *J Mater Sci Mater Med*, 2022, 33(4): 35.
- [6] GAO C D, PENG S P, FENG P, et al. Bone biomaterials and interactions with stem cells[J]. *Bone Res*, 2017, 5: 17059.
- [7] SHADJOU N, HASANZADEH M. Bone tissue engineering using silica-based mesoporous nanobiomaterials: Recent progress[J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2015, 55: 401–409.
- [8] ZHAO C Q, LIU W Y, ZHU M, et al. Bioceramic-based scaffolds with antibacterial function for bone tissue engineering: A review[J]. *Bioact Mater*, 2022, 18: 383–398.
- [9] DOROZHKIN S V. Calcium orthophosphate bioceramics[J]. *Ceram Int*, 2015, 41(10): 13913–13966.
- [10] USKOKOVIĆ V. Ion-doped hydroxyapatite: An impasse or the road to follow?[J]. *Ceram Int*, 2020, 46(8): 11443–11465.
- [11] SAGHIRI M A, VAKHNOVETSKY J, VAKHNOVETSKY A, et al. Functional role of inorganic trace elements in dentin apatite tissue-part III: Se, F, Ag, and B[J]. *J Trace Elem Med Biol*, 2022, 72: 126990.
- [12] YILMAZ B, ALSHEMARY A Z, EVIS Z. Co-doped hydroxyapatites as potential materials for biomedical applications[J]. *Microchem J*, 2019, 144: 443–453.
- [13] JIANG Y, YUAN Z Y, HUANG J E. Substituted hydroxyapatite: A recent development[J]. *Mater Technol*, 2020, 35(11–12): 785–796.
- [14] 宋可可, 黄浩, 鲁梦婕, 等. 水热制备铋、硅、镁、铁等元素掺杂羟基磷灰石及其表征[J]. *无机材料学报*, 2021, 36(10): 1091–1096.
- [15] UHIAH I, CAO L, CUI W, et al. Stereolithography printing of bone scaffolds using biofunctional calcium phosphate nanoparticles[J]. *J Mater Sci Technol*, 2021, 88: 99–108.
- [16] FRASNELLI M, PEDRANZ A, BIESUZ M, et al. Flash sintering of Mg-doped tricalcium phosphate (TCP) nanopowders[J]. *J Eur Ceram Soc*, 2019, 39(13): 3883–3892.
- [17] LEE D, KUMTA P N. Chemical synthesis and characterization of magnesium substituted amorphous calcium phosphate (MG-ACP)[J]. *Mater Sci Eng C*, 2010, 30(8): 1313–1317.
- [18] JIN W J, LIU Z M, WU Y Y, et al. Synergic effect of Sr^{2+} and Mg^{2+} on the stabilization of amorphous calcium phosphate[J]. *Cryst Growth Des*, 2018, 18(10): 6054–6060.
- [19] SUGIURA Y, MAKITA Y. Ammonium substitutional solid solution of octacalcium phosphate (OCP)[J]. *Chem Lett*, 2018, 47(11): 1371–1374.
- [20] ELRAYAH A, ZHI W, FENG S, et al. Preparation of micro/nano-structure copper-substituted hydroxyapatite scaffolds with improved angiogenesis capacity for bone regeneration[J]. *Materials*, 2018, 11(9): 1516.
- [21] ANDRÉS N C, SIEBEN J M, BALDINI M, et al. Electroactive Mg^{2+} -hydroxyapatite nanostructured networks against drug-resistant bone infection strains[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2018, 10(23): 19534–19544.
- [22] MAGUIRE M E, COWAN J A. Magnesium chemistry and biochemistry[J]. *Biometals*, 2002, 15(3): 203–210.
- [23] WANG J L, XU J K, HOPKINS C, et al. Biodegradable magnesium-based implants in orthopedics—A general review and perspectives[J]. *Adv Sci*, 2020, 7(8): 1902443.
- [24] YU Y Q, JIN G D, XUE Y, et al. Multifunctions of dual Zn/Mg ion co-implanted titanium on osteogenesis, angiogenesis and bacteria inhibition for dental implants[J]. *Acta Biomater*, 2017, 49: 590–603.
- [25] SOPYAN I, RAHIM T A. Porous magnesium-doped biphasic calcium phosphate ceramics prepared via polymeric sponge method[J]. *Mater Manuf Process*, 2012, 27(6): 702–706.
- [26] ZHAO X N, YANG Z, LIU Q Y, et al. Potential load-bearing bone substitution material: Carbon-fiber-reinforced magnesium-doped hydroxyapatite composites with excellent mechanical performance and tailored biological properties[J]. *ACS Biomater Sci Eng*, 2022, 8(2): 921–938.
- [27] GOLDBERG M A, SMIRNOV V V, KROKHICHEVA P A, et al. The creation and application outlook of calcium phosphate and magnesium phosphate bone cements with antimicrobial properties (review)[J]. *Inorg Mater Appl Res*, 2021, 12(1): 195–203.
- [28] YAN M Q, ZHAO Y N, DAI Y, et al. Modified calcium magnesium phosphate bone cement with improved microenvironment[J]. *Ceram Int*, 2022, 48(22): 32929–32936.
- [29] WU F, WEI J, GUO H, et al. Self-setting bioactive calcium-magnesium phosphate cement with high strength and degradability for bone regeneration[J]. *Acta Biomater*, 2008, 4(6): 1873–1884.
- [30] WANG M, YU Y M, DAI K, et al. Improved osteogenesis and angiogenesis of magnesium-doped calcium phosphate cement via macrophage immunomodulation[J]. *Biomater Sci*, 2016, 4(11): 1574–1583.
- [31] DING H C, PAN H H, XU X R, et al. Toward a detailed understanding of magnesium ions on hydroxyapatite crystallization inhibition[J]. *Cryst Growth Des*, 2014, 14(2): 763–769.
- [32] SARMA B K, SARMA B. Role of magnesium on the biomimetic deposition of calcium phosphate[J]. *J Phys: Conf Ser*, 2016, 765:

- 012025.
- [33] 漆超. 生物分子辅助合成磷酸钙纳米材料及其应用[D]. 北京: 中国科学院大学, 2013.
- QI Chao. Biomolecular-assisted synthesis of calcium phosphate nanomaterials and its application (in Chinese, dissertation). Beijing: University of Chinese Academy of Sciences, 2013.
- [34] HUSSAIN A, JIANG W T, WANG X K, et al. Mechanistic impact of zinc deficiency in human development[J]. *Front Nutr*, 2022, 9: 717064.
- [35] PREDOI D, ICONARU S L, PREDOI M V, et al. Evaluation of antibacterial activity of zinc-doped hydroxyapatite colloids and dispersion stability using ultrasounds[J]. *Nanomaterials*, 2019, 9(4): 515.
- [36] O'NEILL E, AWALE G, DANESHMANDI L, et al. The roles of ions on bone regeneration[J]. *Drug Discov Today*, 2018, 23(4): 879–890.
- [37] MARDZIAH C M, RAMESH S, ABDUL WAHID M F, et al. Effect of zinc ions on the structural characteristics of hydroxyapatite bioceramics[J]. *Ceram Int*, 2020, 46(9): 13945–13952.
- [38] 何磊. 无机微量元素改性磷灰石的制备及其生物学评价[D]. 成都: 西南交通大学, 2019.
- HE Lei. Synthesis of modified hydroxyapatite via incorporating inorganic trace elements and the related biological evaluation (in Chinese, dissertation). Chengdu: Southwest Jiaotong University, 2019.
- [39] DE LIMA C O, DE OLIVEIRA A L M, CHANTELLE L, et al. Zn-doped mesoporous hydroxyapatites and their antimicrobial properties[J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2021, 198: 111471.
- [40] SANTOS M H, HENEINE L G D, MANSUR H S. Synthesis and characterization of calcium phosphate/collagen biocomposites doped with Zn^{2+} [J]. *Mater Sci Eng C*, 2008, 28(4): 563–571.
- [41] 孙广飞. 锌掺杂羟基磷灰石复合支架制备及抗菌抗炎性能[D]. 武汉: 华中科技大学, 2016.
- SUN Guangfei. Preparation of zinc substituted hydroxyapatite composite scaffold and antibacterial and anti-inflammatory (in Chinese, dissertation). Wuhan: Huazhong University of Science and Technology, 2016.
- [42] WEBSTER T J, MASSA-SCHLUETER E A, SMITH J L, et al. Osteoblast response to hydroxyapatite doped with divalent and trivalent cations[J]. *Biomaterials*, 2004, 25(11): 2111–2121.
- [43] LIN K L, LIU P Y, WEI L, et al. Strontium substituted hydroxyapatite porous microspheres: Surfactant-free hydrothermal synthesis, enhanced biological response and sustained drug release[J]. *Chem Eng J*, 2013, 222: 49–59.
- [44] LIU J, RAWLINSON S C F, HILL R G, et al. Strontium-substituted bioactive glasses *in vitro* osteogenic and antibacterial effects[J]. *Dent Mater*, 2016, 32(3): 412–422.
- [45] BIZELLI-SILVEIRA C, PULLISAAR H, ABILDTRUP L A, et al. Strontium enhances proliferation and osteogenic behavior of periodontal ligament cells *in vitro*[J]. *J Periodontal Res*, 2018, 53(6): 1020–1028.
- [46] BONNELYE E, CHABADEL A, SALTEL F, et al. Dual effect of strontium ranelate: Stimulation of osteoblast differentiation and inhibition of osteoclast formation and resorption *in vitro*[J]. *Bone*, 2008, 42(1): 129–138.
- [47] YU W L, SUN T W, QI C, et al. Strontium-doped amorphous calcium phosphate porous microspheres synthesized through a microwave-hydrothermal method using fructose 1,6-bisphosphate as an organic phosphorus source: Application in drug delivery and enhanced bone regeneration[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2017, 9(4): 3306–3317.
- [48] DENG Y L, LIU M J, CHEN X N, et al. Enhanced osteoinductivity of porous biphasic calcium phosphate ceramic beads with high content of strontium-incorporated calcium-deficient hydroxyapatite[J]. *J Mater Chem B*, 2018, 6(41): 6572–6584.
- [49] GENG Z, JI L L, LI Z Y, et al. Nano-needle strontium-substituted apatite coating enhances osteoporotic osseointegration through promoting osteogenesis and inhibiting osteoclastogenesis[J]. *Bioact Mater*, 2021, 6(4): 905–915.
- [50] CHI W C, ZOU J W, AI F R, et al. Research of Cu-doped hydroxyapatite microbeads fabricated by pneumatic extrusion printing[J]. *Materials*, 2019, 12(11): 1769.
- [51] SAGHIRI M A, VAKHNOVETSKY J, VAKHNOVETSKY A. Functional role of inorganic trace elements in dentin apatite-Part II: Copper, manganese, silicon, and lithium[J]. *J Trace Elem Med Biol*, 2022, 72: 126995.
- [52] SHEN Q D, QI Y S, KONG Y Z, et al. Advances in copper-based biomaterials with antibacterial and osteogenic properties for bone tissue engineering[J]. *Front Bioeng Biotechnol*, 2022, 9: 795425.
- [53] YU L, JIN G D, OUYANG L P, et al. Antibacterial activity, osteogenic and angiogenic behaviors of copper-bearing titanium synthesized by PIII&D[J]. *J Mater Chem B*, 2016, 4(7): 1296–1309.
- [54] ESPÍRITO SANTO C, LAM E W, ELOWSKY C G, et al. Bacterial killing by dry metallic copper surfaces[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2011, 77(3): 794–802.
- [55] LI Y, HO J, OOI C P. Antibacterial efficacy and cytotoxicity studies of copper (II) and titanium (IV) substituted hydroxyapatite nanoparticles[J]. *Mater Sci Eng C*, 2010, 30(8): 1137–1144.
- [56] 肖东琴. 有机小分子调控磷酸钙晶体生长研究[D]. 成都: 西南交通大学, 2015.
- XIAO Dongqin. Modulation of calcium phosphate crystal growth by small organic molecules (in Chinese, dissertation). Chengdu: Southwest Jiaotong University, 2015.
- [57] 李梦蝶. 一种铜掺杂棒束状羟基磷灰石的制备及其用于大鼠颅骨缺损修复的研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2020.
- LI Mengdie. Preparation of A copper doped hydroxyapatite rod bundle and study on its osteogenesis capacity in a critical-size rat calvarial defect model (in Chinese, dissertation). Wuhan: Huazhong University of Science and Technology, 2020.
- [58] KOYAMA S, HAMAI R, SHIWAKU Y, et al. Angio-osteogenic capacity of octacalcium phosphate co-precipitated with copper gluconate in rat calvaria critical-sized defect[J]. *Sci Technol Adv Mater*, 2022, 23(1): 120–139.
- [59] YU Y L, LIN C C, WU M, et al. Fabrication of copper ions-substituted hydroxyapatite coating on titanium substrates for antibacterial and osteogenic applications[J]. *Mater Lett*, 2022, 307: 131072.
- [60] BELLANTONE M, WILLIAMS H D, HENCH L L. Broad-spectrum bactericidal activity of Ag_2O -doped bioactive glass[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2002, 46(6): 1940–1945.
- [61] LANSDOWN A B G. Silver. I: Its antibacterial properties and mechanism of action[J]. *J Wound Care*, 2002, 11(4): 125–130.
- [62] PRUCEK R, TUČEK J, KILIANOVÁ M, et al. The targeted antibacterial and antifungal properties of magnetic nanocomposite of iron oxide and silver nanoparticles[J]. *Biomaterials*, 2011, 32(21): 4704–4713.
- [63] SAGHIRI M A, VAKHNOVETSKY J, VAKHNOVETSKY A, et al. Functional role of inorganic trace elements in dentin apatite tissue-Part

- 1: Mg, Sr, Zn, and Fe[J]. *J Trace Elem Med Biol*, 2022, 71: 126932.
- [64] 王毓德, 赵景畅, 五彩君, 等. 银型碳酸钙无机抗菌功能材料的研究[J]. *材料导报*, 2000, 14(10): 69–70.
WANG Yude, ZHAO Jingchang, WU Caijun, et al. *Mater Rev (in Chinese)*, 2000, 14(10): 69–70.
- [65] GOKCEKAYA O, UEDA K, NARUSHIMA T, et al. Synthesis and characterization of Ag-containing calcium phosphates with various Ca/P ratios[J]. *Mater Sci Eng C*, 2015, 53: 111–119.
- [66] PATERSON T E, SHI R, TIAN J J, et al. Electrospun scaffolds containing silver-doped hydroxyapatite with antimicrobial properties for applications in orthopedic and dental bone surgery[J]. *J Funct Biomater*, 2020, 11(3): 58.
- [67] 王春来. 银—磷酸三钙纳米粒/海藻酸盐抗感染材料研究[D]. 北京: 中国人民解放军军事医学科学院, 2016.
WANG Chunlai. Study on silver-tricalcium phosphate nanoparticles/alginate anti-infective materials (in Chinese, dissertation). Beijing: Academy of Military Medical Sciences, 2016.
- [68] FU C, ZHANG X F, SAVINO K, et al. Antimicrobial silver-hydroxyapatite composite coatings through two-stage electrochemical synthesis[J]. *Surf Coat Technol*, 2016, 301: 13–19.
- [69] LIM P N, CHANG L, THIAN E S. Development of nanosized silver-substituted apatite for biomedical applications: A review[J]. *Nanomem Nanotechnol Biol Med*, 2015, 11(6): 1331–1344.
- [70] 刘武忠, 王剑明, 张红, 等. 钴及其化合物对人体健康的影响[J]. *职业卫生与应急救援*, 2016, 34(2): 111–113.
LIU Wuzhong, WANG Jianming, ZHANG Hong, et al. *Occup Health Emerg Rescue (in Chinese)*, 2016, 34(2): 111–113.
- [71] WU C T, ZHOU Y H, FAN W, et al. Hypoxia-mimicking mesoporous bioactive glass scaffolds with controllable cobalt ion release for bone tissue engineering[J]. *Biomaterials*, 2012, 33(7): 2076–2085.
- [72] CZARNEK K, TERPIŁOWSKA S, SIWICKI A K. Selected aspects of the action of cobalt ions in the human body[J]. *Cent Eur J Immunol*, 2015, 40(2): 236–242.
- [73] DENG Z W, LIN B C, JIANG Z H, et al. Hypoxia-mimicking cobalt-doped borosilicate bioactive glass scaffolds with enhanced angiogenic and osteogenic capacity for bone regeneration[J]. *Int J Biol Sci*, 2019, 15(6): 1113–1124.
- [74] 林浩天. 高通量水热合成钴掺杂羟基磷灰石及其生物学性能评价[D]. 成都: 西南交通大学, 2021.
LIN Haotian. Hydrothermal synthesis of cobalt-doped hydroxyapatite with high throughput and its biological performance evaluation (in Chinese, dissertation). Chengdu: Southwest Jiaotong University, 2021.
- [75] 董春华, 安军, 王东杰. 载钴羟基磷灰石的合成、表征及抗菌性能研究[J]. *中国科技信息*, 2010(9): 44–45.
DONG Chunhua, AN Jun, WANG Dongjie. *China Sci Technol Inf (in Chinese)*, 2010(9): 44–45.
- [76] KAHAEI KHOSROWSHAHI A, KHOSHFETRAT A B, KHOSROWSHAHI Y B, et al. Cobalt content modulates characteristics and osteogenic properties of cobalt-containing hydroxyapatite in *in-vitro* milieu[J]. *Mater Today Commun*, 2021, 27: 102392.
- [77] 罗进. 钛表面钴掺入羟基磷灰石复合涂层的制备及表征和生物活性研究[D]. 遵义: 遵义医科大学, 2020.
LUO Jin. Characterization and bioactivity of CoHAp composite coatings prepared from titanium surface (in Chinese, dissertation). Zuyi: Zunyi Medical University, 2020.
- [78] AASETH J, BOIVIN G, ANDERSEN O. Osteoporosis and trace elements—An overview[J]. *J Trace Elem Med Biol*, 2012, 26(2–3): 149–152.
- [79] 周雪. 水热法合成无机离子掺杂羟基磷灰石微球及其生物学性能评价[D]. 成都: 西南交通大学, 2015.
ZHOU Xue. Hydrothermal synthesis of inorganic ion doping hydroxyapatite microspheres and biological properties evaluation (in Chinese, dissertation). Chengdu: Southwest Jiaotong University, 2015.
- [80] 侯生磊. 基于掺锰磷酸钙纳米粒子的新型多功能载药系统的研究[D]. 上海: 上海师范大学, 2013.
HOU Shenglei. Novel drug carrier systems based on Mn doped-nano hydroxyapatite materials (in Chinese, dissertation). Shanghai: Shanghai Normal University, 2013.
- [81] SOPYAN I, RAMESH S, NAWAWI N A, et al. Effects of manganese doping on properties of sol-gel derived biphasic calcium phosphate ceramics[J]. *Ceram Int*, 2011, 37(8): 3703–3715.
- [82] WU T T, SHI H S, LIANG Y Y, et al. Improving osteogenesis of calcium phosphate bone cement by incorporating with manganese doped β -tricalcium phosphate[J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2020, 109: 110481.
- [83] LEONE F A, CIANCAGLINI P, PIZAURO J M, et al. Rat osseous plate alkaline phosphatase: Mechanism of action of manganese ions[J]. *Biomaterials*, 1995, 8(1): 86–91.
- [84] GAO J J, FENG L, CHEN B L, et al. The role of rare earth elements in bone tissue engineering scaffolds—A review[J]. *Compos Part B Eng*, 2022, 235: 109758.
- [85] HUANG Y K, ZHAI X Y, MA T F, et al. Rare earth-based materials for bone regeneration: Breakthroughs and advantages[J]. *Coord Chem Rev*, 2022, 450: 214236.
- [86] YIN J H, YU J Q, KE Q F, et al. La-Doped biomimetic scaffolds facilitate bone remodelling by synchronizing osteointegration and phagocytic activity of macrophages[J]. *J Mater Chem B*, 2019, 7(19): 3066–3074.
- [87] LI X Y, ZOU Q, LI W, et al. Intracellular interaction of hydroxyapatite-based nanocrystals with uniform shape and traceable fluorescence[J]. *Inorg Chem*, 2018, 57(21): 13739–13748.
- [88] VIEIRA E, SILVA M, MAIA-FILHO A, et al. Effect of cerium-containing hydroxyapatite in bone repair in female rats with osteoporosis induced by ovariectomy[J]. *Minerals*, 2021, 11(4): 377.
- [89] ZHANG K L, ZHANG B P, HUANG C J, et al. Biocompatibility and antibacterial properties of pure titanium surfaces coated with yttrium-doped hydroxyapatite[J]. *J Mech Behav Biomed Mater*, 2019, 100: 103363.
- [90] ROMAN M, JITARU P, BARBANTE C. Selenium biochemistry and its role for human health[J]. *Metallomics*, 2014, 6(1): 25–54.
- [91] HARIHARAN S, DHARMARAJ S. Selenium and selenoproteins: It's role in regulation of inflammation[J]. *Inflammopharmacology*, 2020, 28(3): 667–695.
- [92] HE L, LI H Y, CHEN X Y, et al. Selenium-substituted hydroxyapatite particles with regulated microstructures for osteogenic differentiation and anti-tumor effects[J]. *Ceram Int*, 2019, 45(11): 13787–13798.
- [93] LI Y, HAO H, ZHONG Z Y, et al. Assembly mechanism of highly crystalline selenium-doped hydroxyapatite nanorods via particle attachment and their effect on the fate of stem cells[J]. *ACS Biomater Sci Eng*, 2019, 5(12): 6703–6714.
- [94] FERNANDES A P, GANDIN V. Selenium compounds as therapeutic agents in cancer[J]. *Biochim Biophys Acta Gen Subj*, 2015, 1850(8): 1642–1660.
- [95] ZAKHIREH S, ADIBKIA K, BEYGI-KHOSROWSHAHI Y, et al.

- Osteogenesis promotion of selenium-doped hydroxyapatite for application as bone scaffold[J]. *Biol Trace Elem Res*, 2021, 199(5): 1802–1811.
- [96] RODRÍGUEZ-VALENCIA C, FREIXEIRO P, SERRA J, et al. *In vitro* evaluation of the antibacterial and osteogenic activity promoted by selenium-doped calcium phosphate coatings[J]. *Biomed Mater*, 2017, 12(1): 015028.
- [97] CARLISLE E M. Silicon: a possible factor in bone calcification[J]. *Science*, 1970, 167(3916): 279–280.
- [98] 王飞. 硅-磷酸钙微球的制备及其性能研究[D]. 上海: 上海师范大学, 2021.
- WANG Fei. Synthesis and properties of silicon-calcium phosphate microspheres (in Chinese, dissertation). Shanghai: Shanghai Normal University, 2021.
- [99] JOKIC B, MITRIC M, POPOVIC M, et al. The influence of silicon substitution on the properties of spherical- and whisker-like biphasic α -calcium-phosphate/hydroxyapatite particles[J]. *J Mater Sci Mater Med*, 2011, 22(10): 2175–2185.
- [100] 刘晓丹. 超细硅磷酸钙粉体的水热法制备及性能研究[D]. 上海: 上海师范大学, 2019.
- LIU Xiaodan. Hydrothermal preparation and properties of ultrafine calcium silicophosphate powder (in Chinese, dissertation). Shanghai: Shanghai Normal University, 2019.
- [101] KONG Y H, ZHANG X, MA X N, et al. Silicon-substituted calcium phosphate promotes osteogenic-angiogenic coupling by activating the TLR4/PI3K/AKT signaling axis[J]. *J Biomater Appl*, 2022, 37(3): 459–473.
- [102] WU T T, LU T L, SHI H S, et al. Enhanced osteogenesis, angiogenesis and inhibited osteoclastogenesis of a calcium phosphate cement incorporated with strontium doped calcium silicate bioceramic[J]. *Ceram Int*, 2023, 49(4): 6630–6645.
- [103] HARRISON J, MELVILLE A J, FORSYTHE J S, et al. Sintered hydroxyfluorapatites: IV: the effect of fluoride substitutions upon colonisation of hydroxyapatites by mouse embryonic stem cells[J]. *Biomaterials*, 2004, 25(20): 4977–4986.
- [104] TWETMAN S, AXELSSON S, DAHLGREN H, et al. Caries-preventive effect of fluoride toothpaste: A systematic review[J]. *Acta Odontol Scand*, 2003, 61(6): 347–355.
- [105] EVERETT E T. Fluoride's effects on the formation of teeth and bones, and the influence of genetics[J]. *J Dent Res*, 2011, 90(5): 552–560.
- [106] NASKER P, MUKHERJEE M, KANT S, et al. Fluorine substituted nano hydroxyapatite: Synthesis, bio-activity and antibacterial response study[J]. *Ceram Int*, 2018, 44(17): 22008–22013.
- [107] WANG L P, WANG M, LI M, et al. Trace fluorine substituted calcium deficient hydroxyapatite with excellent osteoblastic activity and antibacterial ability[J]. *CrystEngComm*, 2018, 20(38): 5744–5753.
- [108] LIU S B, ZHOU H, LIU H H, et al. Fluorine-contained hydroxyapatite suppresses bone resorption through inhibiting osteoclasts differentiation and function *in vitro* and *in vivo*[J]. *Cell Prolif*, 2019, 52(3): e12613.
- [109] CHEN R, WANG J, LIU C S. Biomaterials act as enhancers of growth factors in bone regeneration[J]. *Adv Funct Mater*, 2016, 26(48): 8810–8823.
- [110] ALIOUI H, BOURAS O, BOLLINGER J C. Toward an efficient antibacterial agent: Zn- and Mg-doped hydroxyapatite nanopowders[J]. *J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng*, 2019, 54(4): 315–327.
- [111] SHAHMOHAMMADI P, KHAZAEI B A. Characterization of Zn/Mg-enriched calcium phosphate coating produced by the two-step pulsed electrodeposition method on titanium substrate[J]. *Surf Interfaces*, 2021, 22: 100819.
- [112] SCALERA F, PALAZZO B, BARCA A, et al. Sintering of magnesium-strontium doped hydroxyapatite nanocrystals: Towards the production of 3D biomimetic bone scaffolds[J]. *J Biomed Mater Res A*, 2020, 108(3): 633–644.
- [113] WANG J Y, LIU Y C, LIN G S, et al. Flame-sprayed strontium- and magnesium-doped hydroxyapatite on titanium implants for osseointegration enhancement[J]. *Surf Coat Technol*, 2020, 386: 125452.
- [114] LOWRY N, HAN Y, MEENAN B J, et al. Strontium and zinc co-substituted nanophase hydroxyapatite[J]. *Ceram Int*, 2017, 43(15): 12070–12078.
- [115] ULLAH I. 含锶锌羟基磷灰石及其等离子喷涂层的合成与表征[D]. 合肥: 中国科学技术大学, 2020.
- ULLAH I. Synthesis and characterization of strontium and zinc binarysubstituted hydroxyapatite and its plasma spray coating for orthopaedic appcations (in Chinese, dissertation). Hefei: University of Science and Technology of China, 2020.
- [116] GUO C, NIU Y. Duplex modification of hydroxyapatite using co-substitution and dual deposition[J]. *Mater Lett*, 2021, 304: 130554.
- [117] KULANTHAIVEL S, MISHRA U, AGARWAL T, et al. Improving the osteogenic and angiogenic properties of synthetic hydroxyapatite by dual doping of bivalent cobalt and magnesium ion[J]. *Ceram Int*, 2015, 41(9): 11323–11333.
- [118] MAQBOOL M, NAWAZ Q, ATIQU REHMAN M, et al. Synthesis, characterization, antibacterial properties, and *in vitro* studies of selenium and strontium co-substituted hydroxyapatite[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(8): 4246.
- [119] SINGH G, SINGH R P. Multifunctional strontium-sulphate co-substituted hydroxyapatite nanopowders[J]. *J Drug Deliv Sci Technol*, 2021, 65: 102755.
- [120] CHEN P, WANG F, QIAO Y P, et al. Luminescence of samarium doped hydroxyapatite containing strontium: Effects of doping concentration[J]. *J Rare Earths*, 2022, 40(3): 398–405.
- [121] MOREIRA M P, DE ALMEIDA SOARES G D, DENTZER J, et al. Synthesis of magnesium- and manganese-doped hydroxyapatite structures assisted by the simultaneous incorporation of strontium[J]. *Mater Sci Eng C*, 2016, 61: 736–743.
- [122] GOPI D, NITHIYA S, SHINYJOY E, et al. Spectroscopic investigation on formation and growth of mineralized nanohydroxyapatite for bone tissue engineering applications[J]. *Spectrochim Acta Part A Mol Biomol Spectrosc*, 2012, 92: 194–200.
- [123] 郭效军, 李岱. 模拟体液中 Na/Mg/F 共掺杂羟基磷灰石的制备和表征[J]. *硅酸盐通报*, 2017, 36(1): 345–351.
- GUO Xiaojun, LI Dai. *Bull Chin Ceram Soc* (in Chinese), 2017, 36(1): 345–351.
- [124] RAJENDRAN A, BALAKRISHNAN S, KULANDAIVELU R, et al. Multi-element substituted hydroxyapatites: Synthesis, structural characteristics and evaluation of their bioactivity, cell viability, and antibacterial activity[J]. *J Sol Gel Sci Technol*, 2018, 86(2): 441–458.
- [125] 宋可可. 并行合成锶锆三元元素掺杂羟基磷灰石及其生物学性能评价[D]. 成都: 西南交通大学, 2021.
- SONG Keke. Parallel synthesis of selenium, strontium and zinc doped hydroxyapatite and its biological properties evaluation (in Chinese, dissertation). Chengdu: Southwest Jiaotong University, 2021.