

• 论著 •

## PLGA 牙周引导组织再生膜的仿生矿化研究

张华林, 冯 佳, 李咏梅

(宁夏医科大学口腔医学院, 宁夏 银川 750004)

**摘要** 目的 制备一种具有生物活性的牙周引导组织再生膜并对其性能进行表征。方法 先用溶液浇铸法制备 PLGA 膜, 再将其浸入配制好的矿化液中进行仿生矿化; 采用 SEM、XRD、EDX 等检测手段分析矿化膜的矿化情况。结果 随着矿化时间的延长, PLGA 膜上形成的晶粒由小到大、由少到多, 密度由稀疏到致密。仿生矿化后, PLGA 膜上的沉积物以钙、磷元素为主; Ca/P 摩尔比随仿生矿化时间的延长而增高, 且摩尔比值随矿化时间的延长逐渐接近羟基磷灰石的 Ca/P 理论值 1.67。结论 仿生矿化是一种制备新型的、有生物活性的复合材料的简单、有效的方法。通过仿生矿化法制得的 PLGA 矿化膜有可能作为牙周引导组织再生膜材料在组织工程领域发挥作用。

**关键词** PLGA; 引导组织再生膜; 仿生矿化

[中图分类号] R783.1

[文献标识码] A

学科分类代码: 320.4420

文章编号: 1001-8131(2011)04-0241-02

## Biomimetic Mineralization of PLGA Guided Tissue Regeneration Membrane

ZHANG Hualin, FENG Jia, LI Yongmei

(College of Stomatology, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China)

**Abstract Objective** To prepare a bioactive periodontal guided tissue regeneration membrane and characterize its properties. **Methods** PLGA membrane was prepared by solution casting method. Subsequently, the membrane was immersed in a supersaturated calcification solution for biomimetic mineralization. Scanning electron microscopy, Energy dispersive X-ray analysis and X-ray diffraction were used for characterization. **Results** The crystals on PLGA membrane became more larger and denser as the mineralization times increased. It was found that after mineralization, apatite crystals were deposited on the PLGA/MWNTs composite scaffolds. After mineralization, the deposits were calcium and phosphorus-based; Ca/P ratio increased with the time of biomimetic mineralization increasing and the ratio was gradually close to the theoretical Ca/P value of HA, that was 1.67. **Conclusion** Biomimetic mineralization may be an easy and effective method for preparing novel and bioactive composite materials. The mineralized PLGA membrane may be potentially useful in tissue engineering applications, particularly as periodontal guided tissue regeneration membrane.

**Key words** PLGA; Guided tissue regeneration membrane; Biomimetic mineralization

牙周病是危害人类牙齿和全身健康的主要口腔疾病。传统的牙周病治疗手段难以完全实现牙周支持组织的再生, 而牙周引导组织再生技术为解决这一问题提供了新的方法, 其中, 引导组织再生膜材料是这项技术的关键之一。

聚乳酸-乙醇酸共聚物 (PLGA) 是由聚乳酸和聚乙醇酸形成的共聚物。PLGA 具有很好的组织相容性、力学性能和降解性能, 是迄今研究最广泛、应用最多的生物材料之一, 其作为牙周引导组织再生膜材料也很有潜力<sup>[1-3]</sup>。但 PLGA 表面亲水性差, 分子链中缺乏活性功能基团, 使其与特定细胞相互作用变得比较困难<sup>[4-5]</sup>。相反, 天然骨组织中的主要无机成分-羟基磷灰石 (HA), 具有良好的亲水性和生物活性, 因此, HA 涂层的方法被广泛用于提高疏水材料的生物活性。在众多 HA 涂层方法中, 仿生矿化法因其矿化简单、快捷而引起众多学者的关注。仿生矿化是将生物矿化的方法引入材料合成的过程, 以有机基质为模板, 控制其表面无机物的形成, 制备具有独特显微结构特点和生物学性能的材料<sup>[6]</sup>。

本研究将溶液浇铸成膜的方法制备 PLGA 膜进行仿生矿化, 可望得到一种新型的引导组织再生膜, 为牙周引导组织再生膜的开发提供基础研究。

### 1 材料与方法

1.1 材料: PLGA (分子量 10 万, PLA: PGA = 75: 25, 山东岱罡生物技术有限公司), 三氯甲烷 (分析纯), N,N-二甲基甲酰胺 (分析纯) 等购于天津化学试剂厂。

1.2 设备: 扫描电子显微镜 (JSM-7500F, JEOL, Japan), X

射线衍射仪 (X'Pert Pro MPD, Philips, Holland), X 射线能量色散谱仪 (JSM-7500F, JEOL, Japan)。

1.3 PLGA 膜的制备: 取 PLGA 2 g, 溶于 20 mL 的三氯甲烷和 N,N-二甲基甲酰胺的混合溶剂中, 待 PLGA 完全溶解后将其倒入玻璃培养皿后静置于通风橱中, 48 h 后揭膜。

1.4 过饱和矿化液 (supersaturated calcification solution, SCS) 的配置: 过饱和矿化溶液按 Li F 的配方由 CaCl<sub>2</sub>、NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>、NaHCO<sub>3</sub> 配制<sup>[7]</sup>。三种化合物使用前按比例混合, 配成矿化液, PH 值为 5.96。

1.5 PLGA 膜的仿生矿化: 将干燥的 PLGA 膜浸泡于 SCS 中, 37℃ 恒温浸泡, 矿化时间分别为 3、6、12 h。矿化结束后, 标本用蒸馏水漂洗, 去除未反应的离子。自然干燥后送检。

1.6 PLGA 矿化膜的表征: 用 X 射线能量色散谱仪 (EDX) 检测沉积物的元素种类和比例; 采用扫描电子显微镜 (SEM) 观察膜及沉积物的表面形貌; 转靶 X 射线衍射仪 (XRD) 对膜的物相特征进行表征。

### 2 结果

2.1 矿化膜肉眼观察: 矿化结束后, PLGA 膜表面可见一层白色矿物沉积, 矿化物较致密, 且比原 PLGA 膜表面粗糙。

2.2 矿化膜的 SEM 观察: PLGA 膜不同矿化时间的表面形貌如图 1 所示。随着矿化时间的增加, PLGA 膜上晶粒由小到大、由少到多, 密度由稀疏到致密。仿生矿化 3 h 时, PLGA 膜上有零星矿化晶体出现, 晶体为球形; 6 h 时, 沉积的晶体进一步堆积, 相互融合, 晶体增高增厚, 体积增大。单个晶体呈叶片状, 错落有致, 相互交织成丛。12 h 后, 晶体形态基本无变化, 数量继续增多, 单个钙磷晶体形态变得更为规则, 呈平坦的四边形。

2.3 矿化膜的 EDX 分析: 采用 EDX 对不同矿化阶段的沉

基金项目: 教育部科学技术研究重点项目 (211196); 宁夏医科大学特殊人才科研启动项目 (XT201006)

积物进行检测。每个待检样本随机选 3 个点扫描取值,计算

钙磷比并算出平均值,数据见表 1。

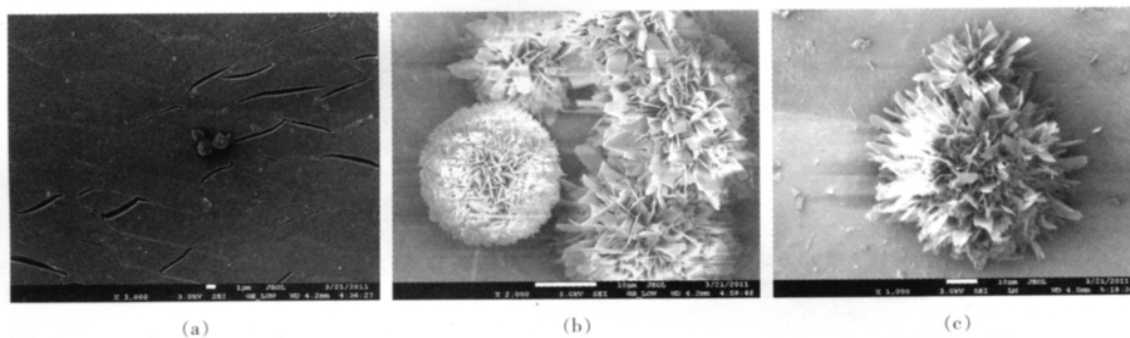


图 1 PLGA 膜在 SCS 中不同矿化时间的 SEM 图像 (a) 3 h (b) 6 h (c) 12 h

表 1 样本表面钙磷沉积物的摩尔比值

矿化时间(h)	3	6	12
Ca/P 比值	1.307	1.515	1.569

EDX 结果显示,仿生矿化后,PLGA 膜上的沉积物以钙、磷元素为主;Ca/P 摩尔比随仿生矿化时间的延长而增高,且逐渐接近羟基磷灰石的 Ca/P 理论值 1.67。

2.4 矿化膜的 XRD 分析:图 2 为 PLGA 膜和矿化 12 h 的矿化膜的 X 射线衍射图谱。如图 2 所示,PLGA 膜的衍射曲线没有衍射峰,仅在  $2\theta = 21^\circ \sim 22^\circ$  处有一分布范围很广的小峰,可见 PLGA 膜为无定形状态,属于非晶体结构。在矿化膜中,虽然没有发现 HA 的特征衍射峰,但发现原 PLGA 膜在  $2\theta = 21^\circ \sim 22^\circ$  处分布很广的峰明显变窄,且由一个峰变成在  $2\theta = 16^\circ \sim 17^\circ$  和  $2\theta = 21^\circ \sim 22^\circ$  处的两个峰。这是由于矿化膜上有沉积的磷灰石晶体造成的。矿化膜没有发现 HA 的

特征衍射峰,推测是磷灰石晶体量较少的原因,考虑在后续的实验中延长矿化时间以增加磷灰石沉积物的数量。

2.5 矿化膜上沉积的磷灰石晶体大小:表 2 为 PLGA 膜不同矿化时间沉积的磷灰石晶体的大小。随着矿化时间的延长,磷灰石晶体的平均尺寸由矿化 3 h 时的 24 nm 增加为 12 h 时的 6100 nm,可见随着矿化时间的延长,沉积的磷灰石晶体逐渐长大、成熟。我们后续实验将进一步研究矿化时间继续增加对磷灰石晶体尺寸和形貌的影响。

表 2 PLGA 膜在 SCS 中不同矿化时间沉积的磷灰石晶体的大小

矿化时间(h)	3	6	12
磷灰石晶体大小(nm)	24	4800	6100

3 结论

本研究通过仿生矿化法对溶液浇铸成膜法制备得到的 PLGA 膜进行矿化,得到 PLGA 矿化膜,矿化方法简单、快捷。通过对矿化膜的理化性能表征发现,随着矿化时间的延长,矿化膜上形成的晶粒由小到大、由少到多,密度由稀疏到致密。仿生矿化后,PLGA 膜上的沉积物以钙、磷元素为主;Ca/P 摩尔比随矿化时间的延长而增高,且逐渐接近羟基磷灰石的 Ca/P 理论值 1.67。仿生矿化是一种制备新型的、有生物活性的复合材料的简单、有效的方法。通过仿生矿化法制得的 PLGA 矿化膜有可能作为牙周引导组织再生膜材料应用于生物医学领域。

参考文献

- [1] Harris LD, Kim BS, Mooney DJ. Open pore biodegradable matrices formed with gas foaming[J]. J Biomed Mater Res, 1998, 42: 396 - 402.
- [2] Huang YC, Connell M, Park Y, et al. Fabrication and in vitro testing of polymeric delivery system for condensed DNA[J]. J Biomed Mater Res A, 2003, 67: 1384 - 1392.
- [3] Bini TB, Gao SJ, Tan TC, et al. Electrospun poly(L-lactide-co-glycolide) biodegradable polymer nanofiber tubes for peripheral nerve regeneration[J]. Nanotechnology, 2004, 15: 1459 - 1464.
- [4] Jeonga SI, Kimb SY, Choa SK, et al. Tissue-engineered vascular grafts composed of marine collagen and PLGA fibers using pulsatile perfusion bioreactors. Biomaterials, 2007, 28: 1115 - 1122.
- [5] Wan YQ, Qu X, Lu J, et al. Characterization of surface property of poly(lactide-co-glycolide) after oxygen plasma treatment. Biomaterials, 2004, 25: 4777 - 4783.
- [6] Vakiparta M, Forsback AP, Lassil LV, et al. Biomimetic mineralization of partially bioresorbable glass fiber reinforced composite[J]. J Mater Sci Mater In Med, 2005, 16: 873 - 879.
- [7] Li F, Feng QL, Cu FZ, et al. A simple biomimetic method for calcium phosphate coating[J]. Surface and Coatings Technology, 2002, 154: 88 - 93.

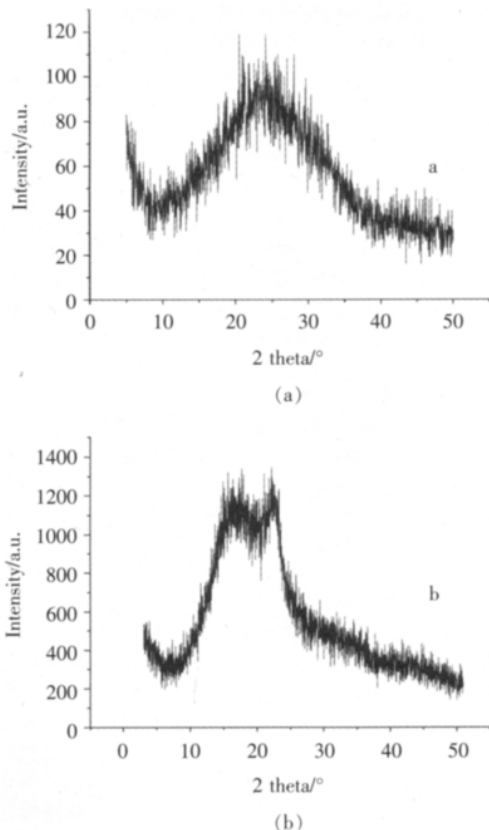


图 2 PLGA 膜 (a) 及矿化 12h 的矿化膜 (b) 的 X 射线衍射图谱

收稿日期: 2011 - 04 - 06