



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108670505 A

(43)申请公布日 2018.10.19

---

(21)申请号	201810492914.2	A61L 27/12(2006.01)
(22)申请日	2018.05.22	A61L 27/18(2006.01)
(71)申请人	广州迈普再生医学科技股份有限公司	A61L 27/20(2006.01)
地址	510663 广东省广州市广州高新技术产业开发区科学城揽月路80号E区第三层	A61L 27/22(2006.01)
		A61L 27/50(2006.01)
		A61L 27/54(2006.01)
		A61L 27/58(2006.01)
(72)发明人	张婧 邓坤学 袁玉宇	B33Y 10/00(2015.01)
		B33Y 70/00(2015.01)
(74)专利代理机构	广州粤高专利商标代理有限公司 44102	
代理人	冯振宁	
(51)Int. Cl.		
	A61F 2/44(2006.01)	
	A61L 27/02(2006.01)	
	A61L 27/10(2006.01)	

权利要求书1页 说明书8页

---

(54)发明名称

一种3D打印的椎间融合器及其制备方法

(57)摘要

本发明公开了一种3D打印的椎间融合器及其制备方法。所述椎间融合器是以聚芳醚酮系列材料为基础原料、以可降解高分子材料和成骨活性粉体的混合物为辅助原料,通过双喷头挤出式3D打印技术制得,所述椎间融合器具有中空三维连通结构,其中所述基础原料与所述辅助原料的体积比为1:0.01~1:1。本发明的椎间融合器表面具有细胞识别位点、适合细胞黏附和新骨沉积的微环境,从而提高椎间融合器和新骨之间的结合能力;且随着可降解高分子材料的降解,可形成多孔结构的空位,有利于新骨逐渐长入,使得椎间融合器与骨组织之间实现紧密结合,不会发生松动、移位。

1. 一种3D打印的椎间融合器,其特征在于,所述3D打印的椎间融合器以聚芳醚酮系列材料为基础原料、以可降解高分子材料和成骨活性粉体的混合物为辅助原料,采用3D打印技术制得,所述椎间融合器具有中空三维连通结构。

2. 根据权利要求1所述3D打印的椎间融合器,其特征在于,在所述椎间融合器中,所述基础原料与所述辅助原料的体积比为1:(0.01~1),优选体积比为1:(0.1~1)。

3. 根据权利要求1所述3D打印的椎间融合器,其特征在于,所述可降解高分子材料与所述成骨活性粉体的质量比为1:(0.001~1),优选质量比为1:(0.1~1)。

4. 根据权利要求1所述3D打印的椎间融合器,其特征在于,所述聚芳醚酮系列材料为聚醚醚酮、聚醚酮、聚醚酮酮、聚醚醚酮酮、聚醚酮醚酮酮中的一种或两种以上组合。

5. 根据权利要求1所述3D打印的椎间融合器,其特征在于,所述可降解高分子材料为可降解合成高分子或可降解天然高分子中的一种;优选地,所述可降解合成高分子为聚己内酯、聚乳酸、聚羟基乙酸、聚乳酸-羟基乙酸共聚物中的一种或两种以上组合,所述可降解天然高分子为明胶、胶原、琼脂糖中的一种或两种以上组合。

6. 根据权利要求1所述3D打印的椎间融合器,其特征在于,所述成骨活性粉体包括羟基磷灰石、磷酸三钙、磷酸四钙、磷酸八钙、氧化钙、硅酸钙、硫酸钙、碳酸钙、碳酸锶、磷酸锶、磷酸钠、磷酸镁、氧化镁、氧化硅、磷酸锌、氧化锌、生物玻璃、金属镁粉中的一种或两种以上组合。

7. 根据权利要求1所述3D打印的椎间融合器,其特征在于,所述椎间融合器的孔隙率为5%~70%,杨氏模量为0.5Gpa ~3.8Gpa。

8. 一种权利要求1~7任一项所述3D打印的椎间融合器的制备方法,其特征在于,所述椎间融合器通过双喷头挤出式3D打印的方式,两个喷头分别打印所述基础原料和辅助原料制成。

9. 根据权利要求8所述的制备方法,其特征在于,所述制备方法包括如下步骤:

S1. 将基础原料、辅助原料分别加入第一喷头、第二喷头的料仓;

S2. 通过第一喷头与第二喷头交替进行3D打印,得到椎间融合器成形体;

S3. 对所述椎间融合器成形体进行后处理,得到所述椎间融合器。

10. 根据权利要求9所述的制备方法,其特征在于,所述第一喷头的打印方式为熔融挤出,打印温度为350℃~550℃;所述第二喷头的打印方式为熔融挤出、常温成型,或者为浆料挤出、低温成型,打印温度为37℃~300℃。

11. 根据权利要求9所述的制备方法,其特征在于,所述成骨活性粉体的粒度为1nm~500μm,所述第二喷头的直径范围100μm ~1500μm。

12. 根据权利要求9所述的制备方法,其特征在于,所述后处理包括将椎间融合器成形体灭菌处理后进行吸附生长因子的步骤;优选地,所述生长因子为具有促成骨和/或成血管功能的生长因子;进一步优选地,所述生长因子为骨形态发生蛋白、成纤维细胞生长因子、胰岛素样生长因子、血管内皮生长因子、血小板衍生生长因子、转化生长因子-β中的一种或两种以上组合。

## 一种3D打印的椎间融合器及其制备方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及生物医学技术领域,更具体地,涉及一种3D打印的椎间融合器及其制备方法。

### 背景技术

[0002] 目前,我国人口老龄化逐渐加深,其所带来的脊椎退行性疾病成为当今社会困扰人类的常见病和多发病。脊椎退行性病变导致椎间盘突出、椎体节段失稳、骨赘形成产生神经根压迫症状等,严重影响患者的工作和生活,一旦药物及物理保守治疗无效,往往最终选择手术治疗。不少学者将现代脊柱外科的精髓归为四部分:减压、融合、矫形、内固定。椎间融合术合并内固定术是现代临床治疗此类疾患的有效手段。椎间融合术常将病变椎间盘摘除,对上下两个椎体进行植骨融合,上下两个节段达到骨性结合之后,即可解除病变所带来的脊椎不稳、疼痛等问题。自椎间融合器(cage)用于脊椎融合并取得成功以来,各种类型的cage相继问世,并被临床广为接受。

[0003] 椎间融合器具有支撑、均分载荷等功能,能较好的恢复椎间隙高度和脊柱的生理曲度,同时cage中所植入的自体骨、异体骨、人工骨等可使上下椎体实现良好的骨性融合。目前临床研究最多的椎间融合器包括生物类、金属类、高分子聚合物类。自体骨植骨融合为融合效果最佳的手术方式,植骨块常取自自体髂骨及减压咬除椎板、关节突、棘突等部位获得的碎骨。自体骨移植可促进椎间隙快速融合,但增加供骨区疼痛、失血、感染等并发症发生率,同时单纯骨块植入椎间隙后稳定性较差,易滑出进入椎管压迫神经,其临床应用受到限制。同种异体股骨环(FRA)由股骨切割而成,早期应用时因可减少自体取骨带来的并发症而获得成功。该股骨环所能承受的压力与股骨皮质厚度直接相关,且因其存在传播疾病、与终板接触面积不足而发生移位等风险,近年在临床上的应用受到限制。金属类椎间融合器是最先问世的真正意义上的椎间融合器,包括早期使用的不锈钢材质和现今应用较多的钛合金材质。钛合金椎间融合器具有较好的生物相容性和支撑强度,但在临床应用中存在弹性模量过高的问题,有压迫椎体导致移位或脱落的可能;并且钛合金材质不能透过X射线,无法从X线片上观察植入后期椎间隙内骨融合的情况。常见的非金属类融合器为聚醚醚酮(PEEK)材质。PEEK以其优异的耐磨性、生物相容性、化学稳定性等优点成为目前最具应用前景的人工骨基体复合材料,医用PEEK聚合物已经被指定为“最佳长期骨移植PEEK”(PEEK-Optima LT)。纯PEEK与人骨的杨氏模量最为接近,可以有效避免植入人体后与人骨产生的应力遮挡以及松动现象。PEEK具有良好的材料示踪能力,可透过X光,便于术后X线观察融合情况。

[0004] PEEK融合器于1997年被应用于临床,在多年的应用中取得了较好的临床效果。Chou等人经颈椎前路进行了27例钛合金融合器植入、19例自体骨移植、9例PEEK融合器植入,并对患者进行为期1年的随访,研究发现颈椎融合率分别为46.51%、100%、100%,并发症率分别为40.7%、52.6%、11.1%,该研究表明PEEK融合器植入效果最优(Chou YC, Chen DC, Hsieh WA, et al. Efficacy of anterior cervical fusion: comparison of titanium

cages, polyetheretherketone (PEEK) cages and autogenous bone grafts. Journal of Clinical Neuroscience, 2008, 15(11):1240-1245)。宋焕瑾等人将颈前路减压PEEK融合器植入37例患者体内,研究发现椎间隙骨性融合时间为10-15周,两年后观察发现PEEK植入体及邻近节段的退变发生率较低,临床效果比较满意(宋焕瑾,陈富春,林磊,等;颈前路PEEK椎间融合器治疗单间隙颈椎病37例报告;山西医科大学学报,2013,44(10):821-823)。PEEK融合器力学性能较佳,但由于其为生物惰性材料,植入椎间隙后只能靠融合器空腔内的植骨连接上下椎体,而融合器本身无法与新骨形成骨性结合,易造成植入后期松动、移位。现今国内主要是用棒材通过机加工成型的方式生产,而国外很多是采用热塑加工成型的方式,前者造成原材料的浪费,后者成型工艺受到模具的限制、不易进行结构上的改进及根据患者情况实现个性化。

[0005] 现有融合器本身无法与新骨形成骨性结合,易造成植入后期松动、移位的问题。传统成型工艺无法在成型过程中对材料进行改性从而实现其生物学性能的提升。

### 发明内容

[0006] 本发明为克服上述现有技术所述的缺陷,提供一种3D打印的椎间融合器,所述椎间融合器具有很好的成骨活性及与上下骨组织表面的骨结合性能,且植入后在使用过程中能够长期与骨组织紧密结合,不会发生松动、移位。

[0007] 本发明的另一目的在于提供一种3D打印的椎间融合器的制备方法。

[0008] 为解决上述技术问题,本发明采用的技术方案是:

一种3D打印的椎间融合器,所述3D打印的椎间融合器以聚芳醚酮系列材料为基础原料,以可降解高分子材料和成骨活性粉体的混合物为辅助原料,采用3D打印技术制得,所述椎间融合器具有中空三维连通结构。

[0009] 采用聚芳醚酮(PAEK)系列材料作为椎间融合器的基础原料,并使用可降解高分子材料和成骨活性粉体无机成分作为辅助原料,两种材料交替打印,按照前期设计既定的模型将基础原料和辅助原料有次序地打印到指定位置,获得具有复杂内部及表面结构和三维连通孔隙的椎间融合器。

[0010] 辅助原料中具有成骨活性粉体,因此该椎间融合器表面具有细胞识别位点、适合细胞黏附和新骨沉积的微环境,从而提高椎间融合器和新骨之间的结合能力,提升其生物学性能;且随着可降解高分子材料的降解,新骨逐渐长入,椎间融合器与骨组织结合紧密,不会发生松动、移位。

[0011] 另外,聚芳醚酮系列材料具有优良的生物相容性和化学稳定性,结合3D打印工艺能够实现个性化产品的生产;相对于机加工成型的方式和热塑加工成型的方式,采用3D打印的成型工艺制备PAEK系列材料的椎间融合器,简化了工艺流程,实现原材料的充分利用,且易进行结构上的改进。

[0012] 优选地,在所述椎间融合器中,所述基础原料与辅助原料的体积比为1:(0.01~1),更优选为1:(0.1~1)。

[0013] 在椎间融合器中,基础原料与辅助原料的体积比会影响椎间融合器的力学强度、降解速度、细胞粘附性和新骨形成速度等。通过控制基础原料与辅助原料的体积比为1:(0.01~1),制得的椎间融合器能够获得符合要求的力学强度、降解速度、细胞粘附性和新骨

形成速度。基础原料与辅助原料的体积比为1:(0.1~1),椎间融合器的力学强度、降解速度、细胞粘附性和新骨形成速度更佳。

[0014] 优选地,所述可降解高分子材料与成骨活性粉体的重量比为1:(0.001~1),更优选为1:(0.1~1)。

[0015] 骨活性粉体使得椎间融合器表面具有细胞识别位点、适合细胞黏附和新骨沉积的微环境;高分子材料可以逐步降解,为新骨长入提供空间,增加椎间融合器与骨组织结合的紧密性。通过控制可降解高分子材料与成骨活性粉体的重量比为1:(0.001~1),能够获得具有合适的降解速度以及足够的细胞识别位点、适合细胞黏附和新骨沉积的微环境。当降解高分子材料与成骨活性粉体的重量比为1:(0.1~1),椎间融合器具有更加合适的降解速度以及更多的胞识别位点、适合细胞黏附和新骨沉积的微环境,有利于椎间融合器与骨组织结合更加紧密,不会发生松动移位。

[0016] 优选地,所述聚芳醚酮系列材料为聚醚醚酮(PEEK)、聚醚酮(PEK)、聚醚酮酮(PEKK)、聚醚醚酮酮(PEEKK)、聚醚酮醚酮酮(PEKEKK)中的一种或两种以上组合。

[0017] 更优选地,所述聚芳醚酮系列材料为聚醚醚酮和/或聚醚酮酮。

[0018] 采用聚芳醚酮(PAEK)系列材料作为椎间融合器的基础原料,PAEK系列材料具有优良的生物相容性和化学稳定性,植入人体后具有较高的安全性;PAEK具有X射线透过性,植入人体后可通过X线片观察骨融合情况;PAEK系列材料的杨氏模量介于松质骨和皮质骨之间,可以有效避免植入人体后与人骨产生的应力遮挡以及松动现象。

[0019] 优选地,所述可降解高分子材料为可降解合成高分子材料或可降解天然高分子材料中的一种。优选地,所述可降解合成高分子材料为聚己内酯、聚乳酸、聚羟基乙酸、聚乳酸-羟基乙酸共聚物中的一种或两种以上组合。优选地,所述可降解天然高分子材料为明胶、胶原、琼脂糖中的一种或两种以上组合。

[0020] 优选地,所述成骨活性粉体为羟基磷灰石、磷酸三钙、磷酸四钙、磷酸八钙、氧化钙、硅酸钙、硫酸钙、碳酸钙、碳酸锶、磷酸锶、磷酸钠、磷酸镁、氧化镁、氧化硅、磷酸锌、氧化锌、生物玻璃、金属镁粉中的一种或两种以上组合。

[0021] 通过对材料和打印条件的控制,所述椎间融合器的性能可以得到调节。优选地,所述椎间融合器孔隙率为5%~70%,杨氏模量为0.5 Gpa ~3.8Gpa。

[0022] 本发明同时保护上述3D打印的椎间融合器的制备方法,所述椎间融合器通过双喷头挤出式3D打印的方式,两个喷头分别打印基础原料和辅助原料制成。

[0023] 优选地,所述制备方法包括如下步骤:

- S1. 将基础原料、辅助原料分别加入第一喷头、第二喷头的料仓;
- S2. 第一喷头与第二喷头交替进行3D打印,得到椎间融合器成形体;
- S3. 对椎间融合器成形体进行后处理,得到所述椎间融合器。

[0024] 所述交替进行3D打印,包括第一喷头挤出一根或者多根纤维后,暂时停止打印动作,然后第二喷头开始进行打印,挤出一根或者多根纤维后,暂时停止打印动作,然后第一喷头接着开始打印,以此循环执行上述步骤,直到打印结束;或者,第一喷头打印完一层或者多层后,暂时停止打印动作,然后第二喷头开始进行打印,打印完一层或者多层后,暂时停止打印动作,随后第一喷头接着开始打印,以此循环执行上述步骤,直到打印结束。本领域的技术人员可以理解的是,所述交替进行3D打印也可以是其他形式,只要是两个喷头有

交替地进行打印操作,均属于本发明所述范围之内。

[0025] 优选地,所述第一喷头的打印方式为熔融挤出,打印温度为350~550℃;所述第二喷头的打印方式为熔融挤出、常温成型,或者为浆料挤出、低温成型,打印温度为37~300℃。

[0026] 基础原料采用熔融挤出的方式进行打印。

[0027] 可降解高分子材料为可降解合成高分子材料时,可降解合成高分子材料混合成骨活性粉体后可以通过熔融挤出、常温成型,成型室接收温度为10~40℃。

[0028] 可降解高分子材料还可以是通过溶剂溶解得到可降解高分子材料溶液,将可降解高分子材料溶液混合成骨活性粉体制备辅助原料浆料,于合适温度挤出、成型。可降解高分子材料溶液的浓度为0.5wt.%~80wt.%.成型的温度为-20~10℃。溶解可降解合成高分子材料所选的溶剂根据合成高分子材料的溶解性能来选择,优选为二氧六环。溶解可降解天然高分子材料所选的溶剂优选为去离子水。

[0029] 优选地,所述第一喷头的直径为100~1500 $\mu\text{m}$ 。

[0030] 更优选地,所述第一喷头的直径为200~1000 $\mu\text{m}$ 。

[0031] 优选地,所述成骨活性粉体的粒度为1nm~500 $\mu\text{m}$ ,所述第二喷头的直径为100~1500 $\mu\text{m}$ 。成骨活性粉体的粒度对力学强度、打印精度、对细胞的刺激性等都会有影响,因此,需要选择粒度为1nm~500 $\mu\text{m}$ 的成骨活性粉体。第二喷头的直径需要对应选择的成骨活性粉体的粒径。

[0032] 更优选地,所述第二喷头的直径为200~1000 $\mu\text{m}$ 。

[0033] 优选地,所述后处理包括将椎间融合器成形体进行灭菌处理。

[0034] 可降解高分子材料为可降解合成高分子材料时,辅助原料可以通过熔融挤出、常温成型后,进行灭菌处理,灭菌处理可以采用 $\gamma$ -射线辐照。

[0035] 可降解高分子材料为可降解合成高分子材料或琼脂糖时,辅助原料浆料挤出成型后立即放置于低温冰箱中冷冻成固态,随后进行冷冻干燥处理,然后进行灭菌处理。灭菌处理可以采用 $\gamma$ -射线辐照。

[0036] 可降解高分子材料为明胶或胶原时,辅助原料浆料挤出成型后立即放置于冰箱中冷冻成固态,随后进行冷冻干燥处理,采用交联剂对干燥的椎间融合器中的明胶或胶原进行交联处理,交联完成后用去离子水进行清洗去除残留的交联剂,随后预冻、冻干处理,然后进行灭菌处理。灭菌处理可以采用 $\gamma$ -射线辐照。

[0037] 优选地,所述交联处理的时间为0.5~24h。

[0038] 优选地,所述交联剂包括戊二醛、甲醛、谷氨酰胺转氨酶、京尼平、碳化二亚胺。

[0039] 优选地,所述交联剂的浓度为0.05 wt.%~2 wt.%。

[0040] 优选地,所述后处理包括将椎间融合器成形体灭菌后进行吸附生长因子的步骤。优选地,所述生长因子为具有促成骨和/或成血管功能的生长因子。优选地,所述生长因子为骨形态发生蛋白、成纤维细胞生长因子、胰岛素样生长因子、血管内皮生长因子、血小板衍生生长因子、转化生长因子- $\beta$ 中的一种或两种以上组合。

[0041] 将椎间融合器吸附促成骨或成血管功能的生长因子之后,能够进一步提高该椎间融合器的骨融合性能。

[0042] 吸附生长因子的步骤可以采用如下方法:将灭菌后的椎间融合器在37℃真空条件下浸泡于无菌的生长因子溶液中12~48 h,通过物理吸附的方式将生长因子吸附于表面及

内部孔隙中。吸附生长因子后的椎间融合器置于冰箱中冷冻成固态,随后进行冷冻干燥处理。生长因子溶液中生长因子的浓度一般为0.1~500ng/mL。

[0043] 优选地,所述生长因子溶液中生长因子的浓度为50~200ng/mL。

[0044] 本发明所述椎间融合器包括颈椎融合器、腰椎融合器。

[0045] 所述椎间融合器的外形形状不限,可以是常规形状或个性化形状。

[0046] 所述常规形状包括:圆环形、圆柱形、香蕉形、椭圆柱形、长方体形、多边形。所述个性化形状为根据患者实际情况所制备的各种形状。

[0047] 所述常规形状的尺寸优选为:宽度 8~20 mm,长度 10~36 mm,高度 4~14 mm。所述个性化形状的尺寸依实际情况而定。

[0048] 与现有技术相比,本发明的有益效果是:

本发明采用聚芳醚酮系列材料作为椎间融合器的基础原料,并使用可降解高分子材料和成骨活性粉体为辅助原料,通过3D打印技术制得椎间融合器,制得的椎间融合器表面具有细胞识别位点、适合细胞黏附和新骨沉积的微环境,从而提高椎间融合器和新骨之间的结合能力,具有很好的成骨活性及与上下骨组织表面的骨结合性能;且随着可降解高分子材料的降解,新骨逐渐长入,植入后在使用过程中能够长期与骨组织紧密结合,不会发生松动、移位。

## 具体实施方式

[0049] 下面结合具体实施方式对本发明作进一步的说明。

[0050] 实施例1

本实施例采用PEEK原料作为第一喷头的打印材料,采用聚己内酯和羟基磷灰石混合材料作为第二喷头的打印材料,两个喷头均采用熔融挤出方式3D打印腰椎融合器。

[0051] 将聚己内酯溶于二氧六环溶剂中,并向其中加入粒度为10~100 $\mu$ m的羟基磷灰石粉体,搅拌均匀后冷冻干燥去除二氧六环,获得聚己内酯与羟基磷灰石的混合物,其中聚己内酯与羟基磷灰石的质量比为1:1。将PEEK加入第一喷头的料仓,升温至380 $^{\circ}$ C至PEEK熔融;将聚己内酯与羟基磷灰石的混合物加入第二喷头的料仓,升温至220 $^{\circ}$ C至混合物熔融。成型室温度保持常温,按照既定的结构进行交替打印,最终打印成长为36mm、宽20mm、高12mm的长方体形腰椎融合器。配制200ng/mL的含有骨形态发生蛋白-2(BMP-2)的无菌溶液,将上述用 $\gamma$ -射线辐照灭菌处理后的腰椎融合器浸泡到该溶液中,在37 $^{\circ}$ C真空条件下浸泡于该生长因子溶液中12 h。取出置于-20 $^{\circ}$ C冰箱中冷冻1h后进行冷冻干燥处理。最终制得的腰椎融合器中,PEEK与聚己内酯和羟基磷灰石混合物的体积比为1:0.5,孔隙率为10%,杨氏模量为3.5GPa。

[0052] 生物学评价

选用与实施例1同样的制备过程、基础原料与辅助原料的配比、打印参数、样品尺寸参数、后处理工艺,将第二喷头中的辅助原料改为纯聚己内酯,制备不含羟基磷灰石的腰椎融合器。以此融合器作为实施例1的对比例。

[0053] 将实施例1与对比例中的样品均进行 $\gamma$ -射线辐照灭菌处理,随后用无菌样品进行细胞实验,验证细胞在样品表面的黏附、增殖和细胞外基质钙磷沉积。

[0054] 黏附实验:向样品表面接种成骨细胞MC3T3-E1,细胞接种24h后取出样品进行固

定、脱水、冻干处理,随后用SEM观察细胞形态。结果表明,实施例1样品表面的细胞具有更好的铺展形态和黏附率。

[0055] 增殖实验:向样品表面接种成骨细胞MC3T3-E1,细胞接种1d/3d/7d后,用CCK-8试剂盒检测细胞活性,结果表明,实施例1样品表面的细胞具有更快的增殖速率。

[0056] 细胞外基质钙磷沉积实验:向样品表面接种成骨细胞MC3T3-E1,细胞接种14d和21d后,用茜素红染剂对样品表面钙结节进行染色,结果表明实施例1样品表面的细胞上具有更多的红染钙结节存在,表明实施例1样品表面的细胞外基质中有更多的钙磷化合物沉积。

#### [0057] 实施例2

本实施例采用PEEK原料作为第一喷头的打印材料,采用聚乳酸和生物玻璃混合材料作为第二喷头的打印材料。第一喷头采用熔融挤出方式打印、第二喷头采用溶剂溶解低温成型方式打印制备腰椎融合器。

[0058] 将聚乳酸溶于二氧六环溶剂中,并向其中加入粒度为20~200 nm的生物玻璃粉体,搅拌形成均匀的浆体。该浆体中聚乳酸的浓度为80 wt.%,聚乳酸与生物玻璃的质量比为1:0.05。

[0059] 将PEEK加入第一喷头的料仓,升温至420℃至PEEK熔融;将聚乳酸与生物玻璃的浆体加入第二喷头的料仓,保持常温。成型室接收温度为-10℃,按照既定的结构进行交替打印,最终打印成长为30mm、宽16mm、高8mm的近椭圆形腰椎融合器。该腰椎融合器成型后置于-20℃冰箱预冻,随后冷冻干燥处理。

[0060] 配制含有成纤维细胞生长因子(FGF)和血管内皮生长因子(VEGF)的无菌溶液,两种生长因子的浓度各为200ng/mL。将上述用 $\gamma$ -射线辐照灭菌处理后的腰椎融合器浸泡到该溶液中,在37℃真空条件下浸泡于该生长因子溶液中48h。取出置于-20℃冰箱中冷冻1h后进行冷冻干燥处理。最终制得的腰椎融合器中,PEEK与聚乳酸和生物玻璃混合物的体积比为1:1,孔隙率为50%,杨氏模量为1.5GPa。

#### [0061] 生物学评价

选用与实施例2同样的制备过程、基础原料与辅助原料的配比、打印参数、样品尺寸参数、后处理工艺,将第二喷头中的辅助原料改为纯聚乳酸,制备不含生物玻璃的腰椎融合器。以此融合器作为实施例2的对比例。

[0062] 将实施例2与对比例中的样品均进行 $\gamma$ -射线辐照灭菌处理,随后用无菌样品进行细胞实验,验证细胞在样品表面的黏附、增殖和细胞外基质钙磷沉积。

[0063] 黏附实验:向样品表面接种成骨细胞MC3T3-E1,细胞接种24h后取出样品进行固定、脱水、冻干处理,随后用SEM观察细胞形态。结果表明,实施例2样品表面的细胞具有更好的铺展形态和黏附率。

[0064] 增殖实验:向样品表面接种成骨细胞MC3T3-E1,细胞接种1d/3d/7d后,用CCK-8试剂盒检测细胞活性,结果表明,实施例2样品表面的细胞具有更快的增殖速率。

[0065] 细胞外基质钙磷沉积实验:向样品表面接种成骨细胞MC3T3-E1,细胞接种14d和21d后,用茜素红染剂对样品表面钙结节进行染色,结果表明实施例2样品表面的细胞上具有更多的红染钙结节存在,表明实施例2样品表面的细胞外基质中有更多的钙磷化合物沉积。



### [0066] 实施例3

本实施例采用PEKK原料作为第一喷头的打印材料,采用明胶和硫酸钙混合材料作为第二喷头的打印材料。第一喷头采用熔融挤出方式打印、第二喷头采用溶剂溶解低温成型方式打印制备颈椎融合器。

[0067] 在40℃条件下将明胶溶于去离子水中,并向其中加入粒度为500nm~100μm的硫酸钙粉体,搅拌形成均匀的浆体。该浆体中明胶的浓度为20 wt.%,明胶与硫酸钙的质量比为1:5。

[0068] 将PEKK加入第一喷头的料仓,升温至500℃至PEKK熔融;将明胶与硫酸钙的浆体加入第二喷头的料仓,

第二喷头温度保持在40℃左右。成型室接收温度为10℃,按照既定的结构进行交替打印,最终打印成长16 mm、宽14 mm、高6 mm的圆环形颈椎融合器。该颈椎融合器成型后置于-20℃冰箱预冻,随后冷冻干燥处理。将冷冻干燥后的颈椎融合器浸泡于0.1 wt.%的戊二醛溶液中进行交联2h,交联完成后用去离子水清洗去除残留的交联剂。随后进行预冻、冻干处理。

[0069] 配制含有血小板衍化生长因子(PDGF)的无菌溶液,该生长因子的浓度为100ng/mL。将上述用γ-射线辐照灭菌处理后的颈椎融合器浸泡到该溶液中,在37℃真空条件下浸泡于该生长因子溶液中24h。取出置于-20℃冰箱中冷冻2h后进行冷冻干燥处理。最终制得的颈椎融合器中,PEKK与明胶和硫酸钙混合物的体积比为1:0.1,孔隙率为20%,杨氏模量为3GPa。

### [0070] 生物学评价

选用与实施例3同样的制备过程、基础原料与辅助原料的配比、打印参数、样品尺寸参数、后处理工艺,将第二喷头中的辅助原料改为纯明胶,制备不含硫酸钙的颈椎融合器。以此融合器作为实施例3的对比例。

[0071] 将实施例3与对比例中的样品均进行γ-射线辐照灭菌处理,随后用无菌样品进行细胞实验,验证细胞在样品表面的黏附、增殖和细胞外基质钙磷沉积。

[0072] 黏附实验:向样品表面接种成骨细胞MC3T3-E1,细胞接种24h后取出样品进行固定、脱水、冻干处理,随后用SEM观察细胞形态。结果表明,实施例3样品表面的细胞具有更好的铺展形态和黏附率。

[0073] 增殖实验:向样品表面接种成骨细胞MC3T3-E1,细胞接种1d/3d/7d后,用CCK-8试剂盒检测细胞活性,结果表明,实施例3样品表面的细胞具有更快的增殖速率。

[0074] 细胞外基质钙磷沉积实验:向样品表面接种成骨细胞MC3T3-E1,细胞接种14d和21d后,用茜素红染料对样品表面钙结节进行染色,结果表明实施例3样品表面的细胞上具有更多的红染钙结节存在,表明实施例3样品表面的细胞外基质中有更多的钙磷化合物沉积。

### [0075] 实施例4

本实施例采用PEKK原料作为第一喷头的打印材料,采用琼脂糖和碳酸钙混合材料作为第二喷头的打印材料。第一喷头采用熔融挤出方式打印、第二喷头采用溶剂溶解低温成型方式打印制备颈椎融合器。

[0076] 在90℃条件下将琼脂糖溶于去离子水中,并向其中加入粒度为10nm-1μm的碳酸钙

粉体,搅拌形成均匀的浆体。该浆体中琼脂糖的浓度为3 wt.%,琼脂糖与碳酸钙的质量比为1:10。

[0077] 将PEKK加入第一喷头的料仓,升温至480℃至PEKK熔融;将琼脂糖与碳酸钙的浆体加入第二喷头的料仓,第二喷头温度升温至90℃左右。成型室接收温度为5℃,按照既定的结构进行交替打印,最终打印成长12 mm、宽12 mm、高8 mm的正方体形颈椎融合器。该颈椎融合器成型后置于-20℃冰箱预冻,随后冷冻干燥处理。

[0078] 配制含有胰岛素样生长因子(IGF)的无菌溶液,该生长因子的浓度为500ng/mL。将上述用 $\gamma$ -射线辐照灭菌处理后的颈椎融合器浸泡到该溶液中,在37℃真空条件下浸泡于该生长因子溶液中48h。取出置于-20℃冰箱中冷冻2h后进行冷冻干燥处理。最终制得的颈椎融合器中,PEKK与琼脂糖和碳酸钙混合物的体积比为1:0.7,孔隙率为60%,杨氏模量为1GPa。

[0079] 生物学评价

选用与实施例4同样的制备过程、基础原料与辅助原料的配比、打印参数、样品尺寸参数、后处理工艺,将第二喷头中的辅助原料改为纯琼脂糖,制备不含碳酸钙的颈椎融合器。以此融合器作为本实施例4的对比例。

[0080] 将实施例4与对比例中的样品均进行 $\gamma$ -射线辐照灭菌处理,随后用无菌样品进行细胞实验,验证细胞在样品表面的黏附、增殖和细胞外基质钙磷沉积。

[0081] 黏附实验:向样品表面接种成骨细胞MC3T3-E1,细胞接种24h后取出样品进行固定、脱水、冻干处理,随后用SEM观察细胞形态。结果表明,实施例4样品表面的细胞具有更好的铺展形态和黏附率。

[0082] 增殖实验:向样品表面接种成骨细胞MC3T3-E1,细胞接种1d/3d/7d后,用CCK-8试剂盒检测细胞活性,结果表明,实施例4样品表面的细胞具有更快的增殖速率。

[0083] 细胞外基质钙磷沉积实验:向样品表面接种成骨细胞MC3T3-E1,细胞接种14d和21d后,用茜素红染剂对样品表面钙结节进行染色,结果表明实施例4样品表面的细胞上具有更多的红染钙结节存在,表明实施例4样品表面的细胞外基质中有更多的钙磷化合物沉积。

[0084] 显然,本发明的上述实施例仅仅是为清楚地说明本发明所作的举例,而并非是对本发明的实施方式的限定。对于所属领域的普通技术人员来说,在上述说明的基础上还可以做出其它不同形式的变化或变动。这里无需也无法对所有的实施方式予以穷举。凡在本发明的精神和原则之内所作的任何修改、等同替换和改进等,均应包含在本发明权利要求的保护范围之内。