

# 不同剂量辛伐他汀载药体系对兔骨质疏松模型骨修复的实验研究

邹伟龙<sup>1</sup> 于龙<sup>2</sup> 王亮<sup>2</sup> 李大伟<sup>1,2</sup> 罗展鹏<sup>1,2</sup> 补亚忠<sup>3</sup> 杨飞<sup>3</sup> 马远征<sup>2\*</sup>

1. 南方医科大学, 广州 510515

2. 解放军第309医院, 北京 100091

3. 中国科学院化学研究所高分子物理与化学国家重点实验室, 北京 100190

中图分类号: R-332 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2016)04-0437-06

**摘要:** **目的** 研发一种新型可注射、可降解及具有抗骨质疏松作用的载药缓释体系, 观察其理化性能及对兔骨质疏松模型的骨修复效果。 **方法** 载药缓释体系以磷酸钙为基体, 将载有不同剂量辛伐他汀 (Simvastatin, SIM) 的聚左乳酸 (Poly-L-Lactic Acid, PLLA) 微球与磷酸钙物理共混获得一种可注射、可降解及抗骨质疏松的载药体系, 实验分为对照组、低剂量 SIM-PLLA 缓释组及高剂量 SIM-PLLA 缓释组, 分别测定载药缓释体系的注射性、凝固时间、力学强度、药物缓释规律及骨质疏松兔模型体内成骨活性。 **结果** 与对照组比较, 含 SIM-PLLA 缓释体系凝固时间有所延长 ( $P > 0.05$ )、可注射性提高 ( $P < 0.05$ ) 且具有合适的抗压强度 ( $P > 0.05$ ), 植入骨质疏松兔体内 4 周及 12 周后, 三组材料随着材料的降解均有新生骨长入, 但 SIM-PLLA 缓释组材料的降解率及新骨生成率均显著优于对照组 ( $P < 0.05$ ), 其中以高剂量 SIM-PLLA 缓释组最高。 **结论** SIM-PLLA 缓释体系具有良好的注射性能及合适的力学强度, 对兔骨质疏松模型有明显的成骨活性及抗骨质疏松效果, 有望成为治疗骨质疏松性椎体压缩骨折及不规则骨缺损的新型生物医学材料。

**关键词:** 辛伐他汀; 载药缓释体系; 骨质疏松模型; 成骨活性

## Study of the effect of a simvastatin drug delivery system on osteogenic activity in rat osteoporotic model

ZOU Weilong<sup>1</sup>, YU Long<sup>2</sup>, WANG Liang<sup>2</sup>, LI Dawei<sup>1,2</sup>, LUO Zhanpeng<sup>1,2</sup>, BU Yazhong<sup>3</sup>, YANG Fei<sup>3</sup>, MA Yuanzheng<sup>2\*</sup>

1. Southern Medical University, Guangzhou 510515

2. The 309th Hospital of PLA, Beijing 100091

3. Beijing National Laboratory for Molecular Sciences, State Key Laboratory of Polymer Physics & Chemistry, Institute of Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100190, China

Corresponding author: MA Yuanzheng, Email: myzzxq@sina.com

**Abstract: Objective** To develop a novel multifunctional drug delivery system which is injectable and degradable with anti-osteoporotic effect, and to evaluate its physical and chemical properties and osteogenic activity in a rabbit osteoporotic model.

**Methods** A multifunctional drug delivery system was obtained by mixing different dosage of simvastatin (SIM) microspheres with calcium phosphate biomaterial. The experiment was divided into simple calcium phosphate biomaterial group, low dose SIM-PLLA drug delivery system group, and high dose SIM-PLLA drug delivery system group, respectively. The injectability, setting time, mechanical strength, and drug release property were determined to measure the material properties. In vivo osteogenic activity of the drug delivery system was estimated by implanting samples into a rabbit osteoporotic model. **Results** Compared with the calcium phosphate biomaterial group, the setting time in SIM-PLLA drug delivery system groups increased ( $P > 0.05$ ), and the injectability increased ( $P < 0.05$ ) with appropriate compressive strength ( $P > 0.05$ ). After implantation into osteoporosis rabbits for 4 weeks and 12 weeks, the degradation rate and the new bone formation rate in SIM-PLLA drug delivery groups were better than those in control group, and the best results achieved in high dose SIM-PLLA drug delivery system group ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** SIM-PLLA drug delivery system has superior material properties with improved injectability, biodegradability, and proper mechanical strength. It shows clear osteogenic activity and anti-osteoporotic effect on rabbit osteoporosis model, which is expected

\*通讯作者: 马远征, Email: myzzxq@sina.com

to become a new biomaterial for the treatment of osteoporotic vertebral compression fractures and irregular bone defect.

**Key words:** Simvastatin; Drug delivery system; Osteoporosis model; Osteogenic activity

骨质疏松症已经成为人类最常见的骨骼疾病之一,其发病率随着年龄增长而提高,随着我国人口老龄化加剧,骨质疏松伴病理性骨折、脊柱退行性疾病等需要手术的患者越来越多,为骨组织工程学的发展提出新的挑战。我国50岁以上人群中患骨质疏松(Osteoporosis, OP)近7000万,其中女性脊柱OP发病率高达28%<sup>[1]</sup>,目前每年新发OVCF约181万例,预计2020年OVCF患者高达3675万人<sup>[2]</sup>。磷酸钙生物材料<sup>[3]</sup>具有生物相容性好、可降解等优点,然而,磷酸钙生物材料只具有骨传导性,缺乏骨诱导的特性,降解速率缓慢,为了提高材料降解率及成骨活性,研究者们曾尝试将磷酸钙生物材料作为重组人骨形态发生蛋白-2或药物缓释载体进一步诱导成骨发生<sup>[4]</sup>。辛伐他汀(Simvastatin, SIM)是一种常用的降脂药物,1999年Mundy等<sup>[5]</sup>发现他汀类药物能促进啮齿类动物骨形成、刺激成骨细胞分化。基于以上研究基础,本研究拟建立一种可注射、可降解及抗骨质疏松的SIM-聚左旋乳酸(Poly-L-Lactic Acid, PLLA)药物缓释体系,主要讨论SIM-PLLA缓释体系的可注射性、凝固时间、力学强度、药物释放规律、生物相容性及骨质疏松模型兔体内实验。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

磷酸钙生物材料(上海瑞邦生物材料有限公司)、辛伐他汀(美国sigma)、聚左旋乳酸(PLLA分子量为10万,中国科学院化学研究所)、新西兰大白兔(解放军309医院动物实验中心提供)。

### 1.2 SIM-PLLA载药缓释体系的制备

**1.2.1 载药微球的制备:**采用膜乳化法制备。(1)取300毫克PLLA(分子量为10万)在10毫升三氯甲烷中溶解过夜,另取2克聚乙烯醇(PVA)在198克水中溶解过夜。(2)将过夜的PVA水溶液用离心机离心除去其中的不溶物。(3)取25毫克SIM溶于3毫升水中,然后和溶解过夜的PLLA溶液混合,放置于超声仪器下超声20秒后形成乳浊液。将形成的乳浊液倒入离心后的PVA溶液中,用膜乳化机,在0.08MPa的压力下,采用7微米的膜过4次膜。(4)将过膜后的体系离心,并用水洗涤3次,然后用冷冻干燥机进行干燥,最终得到粒径为1~2微米的微球。Co<sup>60</sup>照射灭菌封存备用。

**1.2.2 SIM-PLLA缓释体系复合材料配制及分组:**实验材料共分为三组进行研究,分别为对照组(单纯磷酸钙组)、低剂量SIM-PLLA缓释组(0.5 mg辛伐他汀)及高剂量SIM-PLLA缓释组(1 mg辛伐他汀)。采用干态混合法将不同载药量(0.5 mg及1.0 mg SIM)的SIM-MBG微球与磷酸钙固相粉剂混合,对照组不加入载药微球,获得多功能载辛伐他汀缓释粉剂;按固相粉末与液相的比例2.8g/ml,调和形成糊状物,置入事先定制好的圆柱体模具中(直径6 mm,高度10 mm),于37℃,100%相对湿度的温箱中固化24 h,获得的三组材料用Co<sup>60</sup>照射灭菌封存待用。

### 1.3 方法

**1.3.1 体外SIM-PLLA载药缓释体系理化性质测定:**(1)注射性能检测:用一次性注射器测定,分别在粉末和液相混合2、4、8、16 min后,置于AGS-X系列电子万能试验机(日本岛津公司)测试,速率15 mm/min推出复合材料,称量压出前后复合材料浆液重量,注射性(%)=(推出泥浆重量/注射前的泥浆重量)×100%,对照组、低剂量SIM-PLLA缓释组及高剂量SIM-PLLA缓释组3种材料分别测量10次,取平均值<sup>[6]</sup>。(2)凝固时间:凝固时间的测定采用ISO5833标准稠度凝结时间测定仪(河北省虹宇仪器设备有限公司产品)。将终凝用试针垂直放在材料表面,停留5 s,每隔30 s重复1次,至终凝用试针针头在材料表面未能留下圆形痕迹。从开始混合到终凝用试针针头不能在材料表面留下圆形痕迹的时间为复合材料的固化时间,每种材料测定10次,取平均值。(3)力学强度:用模具制作直径6 mm、高度10 mm的标准材料试件,根据ISO 5833国际标准,检测材料的压缩强度。采用AGS-X系列电子万能试验机(日本岛津公司)进行压缩实验,仪器最大静载荷:±500N;返回速度:1500 mm/min;数据采集间隔:1 ms;加载速度0.01 mm/s。分别在试件固化1d和7d测量,每种材料试件重复测量10次,取平均值。

**1.3.2 SIM-PLLA微球体外药物释放规律:**称量含50 mg微球的复合材料放置于透析袋中;将透析袋放入50 mL PBS溶液中,在37℃下释放;在时间点1 d、2 d、3 d、5 d、7 d、10 d、15 d、20 d、25 d取3 mL释放介质,同时加入3 mL PBS溶液;用紫外可见分光

光度计对取出的释放介质进行测量,并根据标准曲线计算结果。

**1.3.3 动物实验:**(1)骨质疏松模型的建立按张堃<sup>[7]</sup>的方法建立兔骨质疏松模型,在解放军309医院实验动物中心购置5个月龄新西兰母兔,动物房中适应2周后,在速眠新(2.5 mg/kg)麻醉下行双侧卵巢切除术,术毕予预防感染,术后1W予肌肉注射地塞米松0.5 mg/kg,2次/W,共注射8w。(2)动物分组及SIM-PLLA载药缓释材料的植入:在成功建立骨质疏松模型母兔中随机选择36只,随机分为3组,按植入材料的不同,分为对照组,低剂量组和高剂量组。麻醉后在无菌条件下于股骨髁部切开皮肤、逐层分离暴露股骨髁骨质,用电钻开出直径6 mm、深度10 mm的圆柱状骨缺损,分别植入材料,逐层闭合伤口,术后预防感染。(3)Micro-CT分析:在术后4、12周两个时间点每组分别随机处死6只兔子,取出股骨后立即用福尔马林固定,进行Micro-CT扫描,通过分析软件得出标本中剩余材料的体积比(residual material volume fraction, RMVF)和新骨长入的体积分数(bone volume fraction, BVF),  $RMVF = (\text{剩余材料体积} / \text{原材料体积}) \times 100\%$ ,  $BVF = (\text{长入骨体积} / \text{原材料体积}) \times 100\%$ , 4w、12w每个时间点每组6个标本,取平均值。

**1.3.4 统计学分析:**采用SPSS 19.0软件进行统计学分析,计量资料采用均数±标准差表示,组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 体外SIM-PLLA载药缓释体系理化性质测定

可注射性能、凝固时间及力学强度检测。图1、表1表示复合缓释材料在37℃、100%湿度条件下可注射性及凝固时间的表现。图2表示复合缓释材料压缩强度的表现。

由图1可见,前4min时,对照组和含PLLA微球组的注射性能无明显差异,8min后,含PLLA微球组可注射性均大于对照组,注射性有所改善,未见复合骨水泥材料出现固液分离现象,三组材料间比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),而含微球组高低剂量组间的比较无统计学差异( $P > 0.05$ )。

由表1可见,对照组和两个含PLLA微球组比较,微球组凝固时间延长,但差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

由图2可见,各材料组力学强度在1d、7d时间

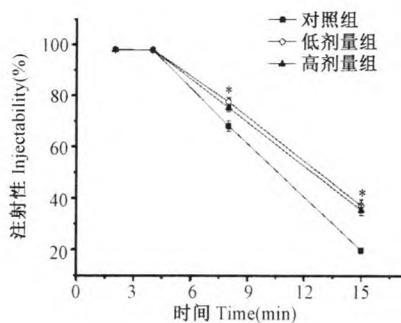


图1 可注射性能

与对照组比较, \*  $P < 0.05$

Fig. 1 Injectable performance

Compared with control group, \*  $P < 0.05$

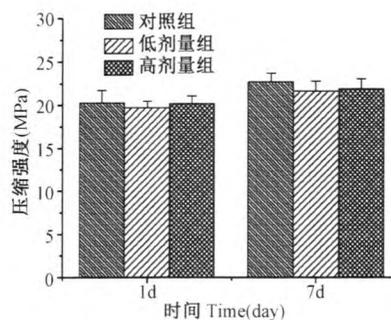


图2 不同材料组的压缩强度比较

Fig. 2 Comparison of compressive strength between different groups

点,各组间比较无统计学差异( $P > 0.05$ )。

表1 凝固时间

Table 1 The setting time

分组	凝固时间(min)
对照组	15.93 ± 0.38
低剂量组	16.63 ± 1.38
高剂量组	17.11 ± 1.42

### 2.2 药物释放检测

由图3可见,SIM-PLLA微球在前5天时间里有明显的突释现象,第10天后,释放率达(51.25 ± 4.35%),10天以后SIM-PLLA微球药物缓释平稳,直到25天达到(69.75 ± 4.79%)。

### 2.3 动物在体实验结果

由图4、5可见各组材料植入兔股骨髁后标本中剩余材料的体积比(RMVF)和新骨长入的体积分数(BVF),图6示Micro-CT三维重建图及截面重建图:可见三组材料均出现随植入4w、12w时间推移材料进一步降解,新生骨逐渐长入的情况,但单纯磷酸钙材料组在植入4w和12w后三维及横截面重建的影像图无明显变化,仅在材料的边缘可见少量新

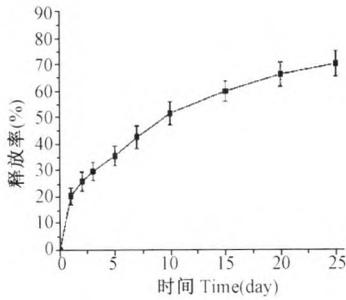


图3 药物释放曲线  
Fig.3 Drug release curve

生骨长入,低剂量 SIM-PLLA 缓释材料组随着植入时间从 4w 延长至 12w,材料逐渐发生降解,4w 时已可见新生骨呈星点状从材料外周长入材料内,12w 时材料降解进一步增加,可见更多新骨长入材料内部。高剂量组与低剂量组材料比较,上述随时间变化的趋势更加明显,新生骨长入量及材料的降解率最高。

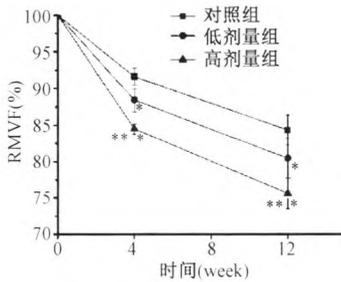


图4 剩余材料体积比  
与对照组比较, \*  $P < 0.05$   
低剂量与高剂量组比较, \*\*  $P < 0.05$   
Fig.4 RMVF  
Compared with control group, \*  $P < 0.05$   
Comparison between low dose and high dose group, \*\*  $P < 0.05$

### 3 讨论

SIM 是一种广泛应用于临床的降脂药物,但其

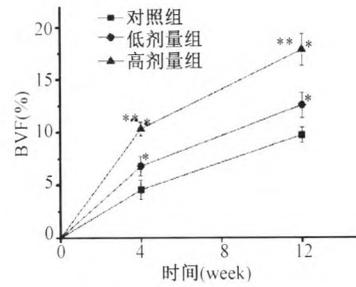


图5 新骨长入体积分数  
与对照组比较, \*  $P < 0.05$   
低剂量与高剂量组比较, \*\*  $P < 0.05$

Fig.5 BVF, Compared with control group, \*  $P < 0.05$   
Comparison between low dose and high dose group, \*\*  $P < 0.05$

在骨代谢方面的作用成为近年来的研究热点<sup>[8-9]</sup>。J. Pagkalos 等的研究发现 SIM 有明显的成骨性,其通过使成骨细胞高表达 BMP-2 和 VEGF 发挥作用<sup>[10-11]</sup>。SIM 也被用于骨质疏松动物模型中,发现其可使去势小鼠的骨密度提高<sup>[12]</sup>。骨修复过程涉及到骨髓、骨皮质、骨膜及组织间隙精细配合,许多细胞信号分子可促使骨祖细胞迁徙到骨损伤部位并分化为成骨细胞,骨修复过程中,组织内新生血管的形成起到不可或缺的作用,VEGF 不仅是血管形成的重要因子,其在软骨细胞的增生及矿化、成骨细胞分化等方面也发挥作用。研究表明 VEGF 的表达与 SIM 呈浓度相关性,随着 SIM 浓度增加,VEGF 呈高表达<sup>[13-14]</sup>。然而,目前的临床研究中,SIM 经过口服全身用药,有时并不能达到期望的功效。S. Patil<sup>[15]</sup>进行了一项涉及 62 人骨折治疗的临床试验,试验组每天口服 SIM 20mg,共 12w,骨折处愈合情况与安慰剂组比较无统计学差异,S. Patil 认为口服 SIM 经过肝脏等代谢后浓度大大降低,到达骨组织的药量及浓度有限,口服辛伐他汀生物利用率较低。这提示通过一种能持续局部药物缓释的载药系统,将使 SIM 发挥骨诱导及抗骨质疏松方面的优势。

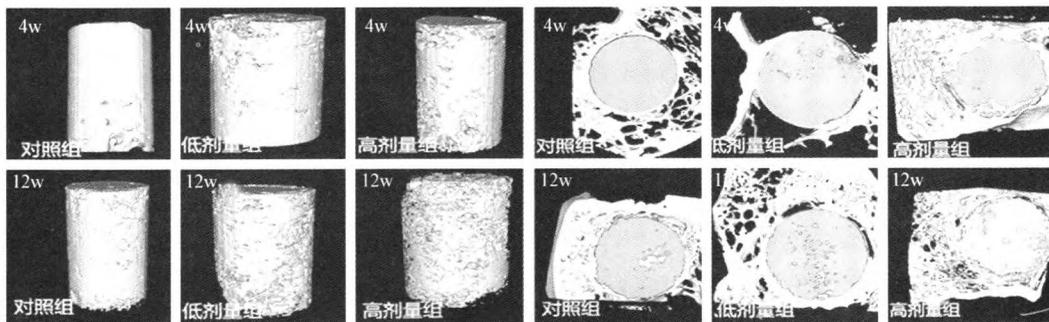


图6 Micro-CT 三维重建图及截面重建图  
Fig.6 Micro-CT 3D reconstruction and cross-sectional reconstruction

自固化磷酸钙生物材料是一种由磷酸钙粉末和固化液混合形成的骨组织材料,固液相混合后可有一定的操作时间,根据骨缺损区需要自由塑形,之后可常温下凝固,并且整个过程中不产生热量,具有良好的生物相容性、骨传导性、可降解性等特点。临床上被广泛用于骨缺损区的修复,也可用于骨质疏松性骨折的治疗<sup>[16]</sup>,为了克服单纯材料缺乏骨诱导性及降解速率过慢等缺点,满足多种临床应用的需要,成为骨缺损修复的理想材料<sup>[17]</sup>,国内外学者采用复合材料的方法对其进行改性<sup>[18]</sup>。聚乳酸(PLA)、聚乳酸-羟基乙酸共聚物(PLGA)属聚酯类高分子,是迄今为止应用最广泛的生物可降解材料,聚左旋乳酸(PLLA)是由L-乳酸构建而成的聚合物,其降解产物能被人体完全代谢,Khojasteh A<sup>[19]</sup>在 PLLA 生物支架中培养人前磨牙牙髓干细胞,发现 PLLA 材料能为细胞提供良好的支架,并诱导向成骨细胞分化,因此作为植入材料更具有优势,其获得 FDA 认证并在医药行业广泛应用,已被用来制作药物缓释微球<sup>[20-23]</sup>,张郝宣学者们通过合成负载 SIM-PLGA 药物缓释微球,制成大孔隙率的磷酸钙支架,组织相容性好,在骨缺损修复方面取得较好效果,但材料力学强度较低,且体内骨缺损修复并未在骨质疏松动物模型中进行,不能验证其 SIM 载药微球在病理状态下促进骨重建、改善骨代谢的效果<sup>[23]</sup>。本实验成功制备 SIM-PLLA 微球并将其复合予磷酸钙基体中构建了 SIM-PLLA 缓释载药体系,凝固时间比单纯磷酸钙材料固化时间稍有延长,而材料通过注射器使用时,无固液分离现象,力学强度与对照组比较无差异,提示复合 SIM-PLLA 微球后对自固化磷酸钙生物材料理化性能影响不大,可获得更充分的操作时间。

PLLA 微球具有合成简单、生物相容性好等优点,载药微球具有一定的初始抗压强度,而 PLLA 微球降解后可为成骨细胞和营养成分及体液提供孔隙空间,有助于新生骨长入、营养成分及代谢废物的输送。PLLA 微球表面有许多小孔隙可让 SIM 药物部分释放,而随着 PLLA 微球的逐步降解,微球内部的药物得以全部缓释出来,使 SIM 在局部持续逐步释放,可充分发挥其骨诱导作用,改善局部骨组织代谢,进一步实现靶向抗骨质疏松作用<sup>[24-26]</sup>,SIM 负载于 PLLA 缓释微球中更能避免骨组织局部药物浓度过高,减少高浓 SIM 聚集引发的炎症反应<sup>[27]</sup>。本研究可见 SIM-PLLA 微球在前 5 天时间里有一定的突释现象,第 10 天后,释放率达 $(51.25 \pm 4.35)\%$ ,

10 天以后 SIM-PLLA 微球药物缓释平稳,直到 25 天时达到 $(69.75 \pm 4.79)\%$ 。提示将 SIM 载入 PLLA 后,可通过 PLLA 的逐渐降解达到 SIM 局部长期缓释。

本研究通过加入负载 SIM 的 PLLA 微球到磷酸钙生物材料中,植入骨质疏松模型兔的股骨髓内来探索 SIM-PLLA 缓释体系体内成骨及抗骨质疏松效果,复合载药缓释体系组降解率和新骨生成率较对照组均显著提高。Micro-CT 结果表明,低、高剂量组植入 4 周及 12 周后材料降解及新骨形成均显著改善,且随着植入时间延长,材料降解率及新骨形成均明显提高,SIM-PLLA 载药缓释体系组材料降解速率及新骨形成率均明显优于单纯磷酸钙组,其中高剂量 SIM-PLLA 载药缓释体系降解速率及新骨生成率最高,达到材料降解与新骨形成的动态平衡,作用机制考虑与以下方面有关:PLLA 微球降解后可在磷酸钙表面形成孔隙,增加了材料比表面积,可增加材料与周围更多的骨组织及体液接触,加速材料降解及新生骨长入;另外,SIM 在这个过程中一方面可发挥其骨诱导作用,使骨组织的爬行替代过程加速,而另一方面,BMP2、VEGF 因子上调促进新骨组织及新生血管的形成进一步加速了材料的降解及新生骨长入<sup>[24,26]</sup>,提示 SIM 药物缓释体系具有明显的成骨活性及抗骨质疏松的作用,SIM-PLLA 药物缓释体系在骨质疏松模型兔中能改善局部骨代谢情况,达到更好的骨修复效果,为验证该机制有待于进一步的实验研究。

#### 4 结论

本实验通过将 SIM-PLLA 缓释微球与磷酸钙基体复合构建的 SIM-PLLA - 药物缓释体系具有良好的生物相容性好、可注射性能及合适的力学强度,对兔骨质疏松模型有明显的成骨活性及抗骨质疏松效果,有望成为治疗骨质疏松性压缩骨折及不规则骨缺损的新型生物复合材料。

#### 【参 考 文 献】

- [1] Cheng XG, Yang DZ, Zhou Q, et al. Age-related bone mineral density, bone loss rate, prevalence of osteoporosis and reference database of women at multiple centers in China. *Chin J Osteoporos*, 2008, 14:221-228.
- [2] Editorial Board of Osteoporosis Prevention and Treatment (China White Paper), China Health Promotion Foundation. White paper on osteoporosis. *Chinese Journal of Health Management*, 2009, 3:148-154.

- [ 3 ] Barradas AM, Yuan H, van Blitterswijk CA, et al. Osteoinductive biomaterials: current knowledge of properties, experimental models and biological mechanisms. *Eur Cell Mater*, 2011, 21:407-429.
- [ 4 ] van de Watering FC, Molkenboer-Kueneen JD, Boerman OC, et al. Differential loading methods for BMP-2 within injectable calcium phosphate cement. *J Control Release*, 2012, 164:283-290.
- [ 5 ] Mundy G, Garrett R, Harris S, et al. Stimulation of bone formation in vitro and in rodents by statins. *Science*, 1999, 286: 1946-1949.
- [ 6 ] Ginebra MP, Rilliard A, Fernandez E, et al. Mechanical and rheological improvement of a calcium phosphate cement by the addition of a polymeric drug. *J Biomed Mater Res*, 2001, 57: 113-118.
- [ 7 ] Zhang K, Meng GL, Liu J, et al. Study on establishment of rabbit osteoporosis model by ovariectomy plus dexamethasone intramuscular injection. *Chin J Osteoporos*, 2008, 14:69-72.
- [ 8 ] Zhou Y, Ni Y, Liu Y, et al. The role of simvastatin in the osteogenesis of injectable tissue-engineered bone based on human adipose-derived stromal cells and platelet-rich plasma. *Biomaterials*, 2010, 31:5325-5335.
- [ 9 ] Rojban H, Nyan M, Ohya K, et al. Evaluation of the osteoconductivity of alpha-tricalcium phosphate, beta-tricalcium phosphate, and hydroxyapatite combined with or without simvastatin in rat calvarial defect. *J Biomed Mater Res A*, 2011, 98:488-498.
- [ 10 ] Pagkalos J, Cha JM, Kang Y, et al. Simvastatin induces osteogenic differentiation of murine embryonic stem cells. *J Bone Miner Res*, 2010, 25:2470-2478.
- [ 11 ] Liu C, Wu Z, Sun HC. The effect of simvastatin on mRNA expression of transforming growth factor-beta1, bone morphogenetic protein-2 and vascular endothelial growth factor in tooth extraction socket. *Int J Oral Sci*, 2009, 1:90-98.
- [ 12 ] Ho ML, Chen YH, Liao HJ, et al. Simvastatin increases osteoblasts and osteogenic proteins in ovariectomized rats. *Eur J Clin Invest*, 2009, 39:296-303.
- [ 13 ] Maeda T, Kawane T, Horiuchi N. Statins augment vascular endothelial growth factor expression in osteoblastic cells via inhibition of protein prenylation. *Endocrinology*, 2003, 144: 681-692.
- [ 14 ] Pullisaar H, Reseland JE, Haugen HJ, et al. Simvastatin coating of TiO<sub>2</sub> scaffold induces osteogenic differentiation of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 447:139-144.
- [ 15 ] Patil S, Holt G, Raby N, et al. Prospective, double blind, randomized, controlled trial of simvastatin in human fracture healing. *J Orthop Res*, 2009, 27:281-285.
- [ 16 ] Saribrahimoglu K, Wolke JG, Leeuwenburgh SC, et al. Injectable biphasic calcium phosphate cements as a potential bone substitute. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 2014, 102: 415-422.
- [ 17 ] Mourino V, Cattalini JP, Roether JA, et al. Composite polymer-bioceramic scaffolds with drug delivery capability for bone tissue engineering. *Expert Opin Drug Deliv*, 2013, 10:1353-1365.
- [ 18 ] Zhang J, Liu W, Schnitzler V, et al. Calcium phosphate cements for bone substitution: chemistry, handling and mechanical properties. *Acta Biomater*, 2014, 10:1035-1049.
- [ 19 ] Khojasteh A, Motamedian SR, Rad MR, et al. Polymeric vs hydroxyapatite-based scaffolds on dental pulp stem cell proliferation and differentiation. *World J Stem Cells*, 2015, 7: 1215-1221.
- [ 20 ] Lu J, Hou R, Yang Z, et al. Development and characterization of drug-loaded biodegradable PLA microcarriers prepared by the electrospraying technique. *Int J Mol Med*, 2015, 36:249-254.
- [ 21 ] Altmeyer C, Karam TK, Khalil NM, et al. Tamoxifen-loaded poly(L-lactide) nanoparticles: Development, characterization and in vitro evaluation of cytotoxicity. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2016, 60:135-142.
- [ 22 ] Loca D, Sokolova M, Locs J, et al. Calcium phosphate bone cements for local vancomycin delivery. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2015, 49:106-113.
- [ 23 ] Zhang HX, Xiao GY, Wang X, et al. Biocompatibility and osteogenesis of calcium phosphate composite scaffolds containing simvastatin-loaded PLGA microspheres for bone tissue engineering. *J Biomed Mater Res A*, 2015, 103:3250-3258.
- [ 24 ] Tan J, Yang N, Fu X, et al. Single-dose local simvastatin injection improves implant fixation via increased angiogenesis and bone formation in an ovariectomized rat model. *Med Sci Monit*, 2015, 21:1428-1439.
- [ 25 ] Oryan A, Kamali A, Moshiri A. Potential mechanisms and applications of statins on osteogenesis: Current modalities, conflicts and future directions. *J Control Release*, 2015, 215:12-24.
- [ 26 ] Shah SR, Werlang CA, Kasper FK, et al. Novel applications of statins for bone regeneration. *Natl Sci Rev*, 2015, 2:85-99.
- [ 27 ] Stein D, Lee Y, Schmid MJ, et al. Local simvastatin effects on mandibular bone growth and inflammation. *J Periodontol*, 2005, 76:1861-1870.

(收稿日期:2016-01-29)