

骨组织工程中纳米羟基磷灰石的仿生合成研究进展*

仇旭童, 饶晨煜, 李婷, 周蓉卉[△]

口腔疾病研究国家重点实验室 国家口腔疾病临床医学研究中心 四川大学华西口腔医院(成都 610041)

【摘要】 纳米羟基磷灰石(nano-hydroxyapatite, nHAp)是人体骨、牙无机组成的主要成分,具有优异的生物相容性、生物活性和生物亲和性,可诱导骨组织再生,已广泛应用于骨缺损修复与替代等骨组织工程领域。由于其组成中含有能通过人体正常的新陈代谢途径进行置换的钙、磷等元素,植入体内后可部分或全部被人体组织吸收和取代,能很好地辅助骨的生长,是一种理想的骨修复材料。然而,传统的nHAp陶瓷材料具有一定的脆性且体内降解性差。此外,由于羟基磷灰石纳米粒子表面能大,易发生团聚,导致材料的稳定性差,植入体内后力学强度衰减快,限制了其临床应用。目前,通过负载相关生长因子、蛋白和多肽等活性分子,可有效提高单纯nHAp的力学性能及生物相容性,从而使其更符合骨修复材料的生物学要求。但传统的物理或化学修饰方法步骤繁琐,修饰过程可导致nHAp生物活性受到干扰。近年来,直接利用生物大分子或者微生物活体自身的分子识别和自组装能力来制备纳米材料的仿生合成方法不仅简单,且合成的纳米材料性质稳定。对于nHAp而言,因其独特的晶体结构及理化性能,已有大量研究表明可利用其与生物分子之间的亲和性,通过仿生合成的方法制得具有一定生物活性的nHAp。仿生合成nHAp有望成为主流骨组织工程支架材料,分析和归纳不同nHAp材料的仿生合成过程及其特性,对进一步开发机械、生物学等性能更优的骨缺损修复材料具有一定的指导作用。本文综述了基于不同生物分子模板,仿生合成nHAp的方法,并进一步讨论其在骨组织工程中的应用研究进展,为新一代骨修复生物材料的研发提供参考。

【关键词】 仿生合成 生物分子 纳米羟基磷灰石 骨组织工程

Research Progress in Biomimetic Synthesis of Nano-Hydroxyapatite in Bone Tissue Engineering QIU Xu-tong, RAO Chen-yu, LI Ting, ZHOU Rong-hui[△]. State Key Laboratory of Oral Diseases and National Clinical Research Center for Oral Diseases, West China Hospital of Stomatology, Sichuan University, Chengdu 610041, China

[△] Corresponding author, E-mail: zhouronghui@scu.edu.cn

【Abstract】 Nano hydroxyapatite (nHAp), a main component of the inorganic composition of human bones and teeth, is widely used in bone tissue engineering, bone defect repair and replacement, for example, for its biocompatibility, bioactivity, bioaffinity and the ability to induce bone regeneration. Nano hydroxyapatite contains calcium and phosphorus, elements that can be replaced through the normal metabolic channels of the human body. Therefore, after implantation, it can be partially or completely absorbed and replaced by human tissues and can effectively assist bone regeneration, which makes it an ideal material for bone repair. However, traditional nHAp material is brittle and hard to be degraded in human body. In addition, nHAp has poor stability due to its high surface energy and tendency for agglomeration, which causes rapid attenuation of its mechanical strength and limits its clinical application. At present, the mechanical properties and biocompatibility of nHAp can be effectively improved by loading the related growth factors, proteins, peptides and other bioactive molecules, so as to better meet the biological requirements of bone repair materials. However, the traditional physicochemical modification methods are complicated and may interfere with the bioactivity of nHAp. It is simple to biomimetically synthesize nanomaterials by direct utilization of the molecular recognition and self-assemble capabilities of biomolecules or living microorganisms. Furthermore, the properties of the synthesized nanomaterials are stable, and the method has been extensively studied in recent years. Due to the unique crystalline structure and physicochemical properties of nHAp, results of a large number of studies have shown that its affinity with biological molecules can be used to produce bioactive nHAp by biomimetic synthesis methods. Biomimetically synthesized nHAp is expected to become the mainstream bone tissue engineering scaffold material. Analyzing and summarizing the biomimetic synthetic process and the characteristics of different nHAp materials will facilitate further development of bone defect repair materials with better mechanical and biological properties. Herein we reviewed methods of biomimetic synthesis of nHAp based on different biomolecular templates. Furthermore, we also discussed applications of biomimetic synthesized nHAp in bone tissue engineering, which can be used as reference information for further research and development of new-generation bone repair biomaterials.

* 四川省科技厅计划(No. 2020JDR0056)资助

[△] 通信作者, E-mail: zhouronghui@scu.edu.cn

【Key words】 Biomimetic synthesis Biomolecules Nano-hydroxyapatite Bone engineering

骨组织工程是利用细胞生物学和工程学原理,设计并开发用于修复缺损骨组织生物材料的一门学科^[1-2]。支架材料是骨组织工程的三要素之一,对干细胞的增殖分化、骨组织的再生有支持和引导作用^[3]。近年来,纳米材料因其比表面积大,有利于细胞、蛋白等黏附,具有良好的机械性能及优异的生物相容性,已广泛用于骨组织工程^[4]。目前,大量研究已证实生物陶瓷、碳纳米管、生物玻璃、纳米金、聚合纳米材料等各类纳米材料具有诱导细胞成骨分化和新骨再生方面的能力^[5],表明纳米材料已具备成为新一代骨修复支架材料的潜质。此外,结合纳米材料的结构优势,将具有成骨能力的药物、基因或细胞生长因子等载入体内,可有效提高组织的再生能力。纳米羟基磷灰石(nano-hydroxyapatite, nHAp)是人体骨、牙无机组成的主要成分,具有优异的生物相容性、生物活性和生物亲和性,是骨组织工程常用的纳米材料之一,在制备方法、应用范围等方面已得到广泛研究^[6-9]。然而,传统nHAp修复材料在取向、尺寸、结晶度等方面与天然骨有一定的差距,存在强度低、韧性差、不易成型等问题。同时,nHAp纳米粒子由于表面能大,易发生团聚,导致材料的稳定性差,植入体内后力学强度衰减快,限制了其临床应用^[10]。尽管负载各类生长因子或促成骨药物的多功能nHAp能在一定程度上解决上述问题,但传统的物理、化学修饰方法步骤繁琐,修饰过程可能导致nHAp的生物活性受到干扰。因此,构建强度高、韧性好、结构稳定且合成方法简单的新型nHAp以满足生物体对骨修复材料的要求具有重要意义。基于此,本文综述了基于不同生物分子模板如蛋白质、多糖、合成高分子聚合物等仿生合

成nHAp的方法,对合成产物生物相容性、可降解性、成骨诱导性等成骨相关性能的优化进行了比较分析,并总结了仿生合成nHAp在骨组织工程中的应用研究进展(图1),为新一代骨修复生物材料的研发提供参考。

1 仿生合成nHAp的特性

近年来,直接利用生物大分子或者微生物活体自身的分子识别和自组装能力来制备纳米材料的仿生合成方法不仅简单,而且合成的纳米材料性质稳定。相比之下,仿生合成法具有反应条件温和、反应过程简单、产物性质稳定、材料生物学性能良好等优势,在多领域均有广泛应用^[11-12]。以骨组织工程领域为例,WANG Ying-jun率领的研究团队以酵母为生物模板,合成了含锶的磷酸三钙(tricalcium phosphate, TCP)微球Sr-TCP,体外实验证实,与单纯TCP相比,该复合材料具有良好的生物相容性,可显著提高人间充质干细胞(human mesenchymal stem cells, hMSCs)的增殖效率并促进细胞黏附,可用作药物载体参与骨再生过程^[13]。GU Zhi-peng的研究团队制备了仿生甲基丙烯酸明胶/纳米鱼骨复合材料,体内外实验均证明该复合材料可通过诱导肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)- α 、白介素(interleukin, IL)-6、IL-10、IL-1 β 等细胞因子的分泌改变免疫微环境,并促使I型胶原蛋白(collagen type I, COL-1)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)和Runt相关转录因子2(runt-related transcription factor 2, Runx2)等成骨相关蛋白的大量表达来促进骨再生过程^[14]。ZIA等^[15]以壳聚糖及葫芦巴种子多糖复合物为模板,采用共沉淀法合成了

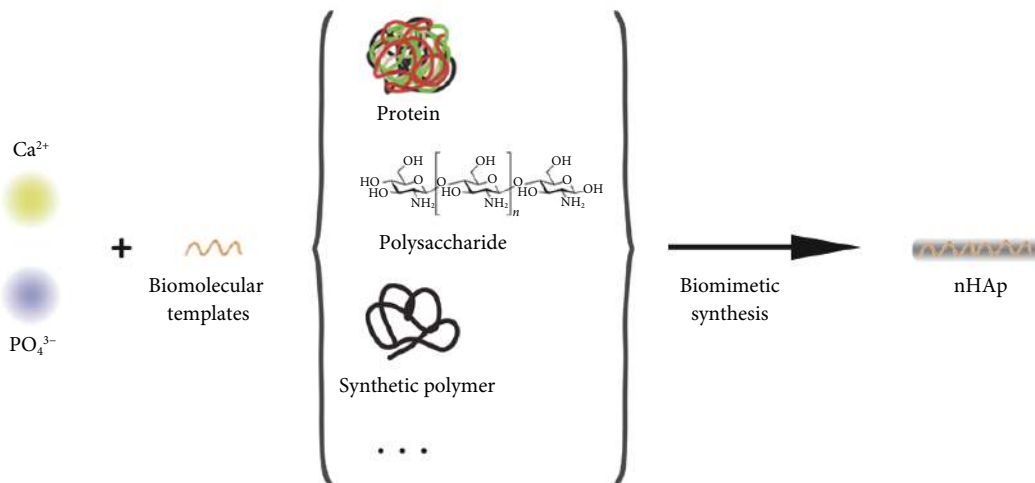


图 1 基于不同生物分子模板仿生合成nHAp

Fig 1 Biomimetic synthesis of nHAp based on different biomolecular templates

nHA-CH-TFSP复合材料,透射电子显微镜(transmission electron microscope, TEM)分析结果显示,与仍存在粒子团聚的nHA-CH材料相比,该复合材料中粒子分布更加均匀分散;将nHA-CH与nHA-CH-TFSP放入模拟体液(simulated body fluid, SBF)中孵育4周,最终后者表面沉积矿物均匀、较厚且致密,而前者表面矿物仅能不均匀分散,提示nHA-CH-TFSP可有较好的成骨活性。由此可见,仿生合成纳米材料具有优异的机械性能及结构特点,有望成为应用于骨组织工程的新一代材料。

就nHAp而言,当前常用的人工合成nHAp材料虽有良好的生物相容性、可降解性和生物活性,但其形态多以粉体或多孔陶瓷等无序结构为主,在力学性能方面相较天然硬组织有明显不足,致使其在骨组织工程领域的应用受到一定限制^[16]。然而,仿生合成法可通过模拟天然硬组织的矿化方式,在相关生物分子模板的调控下制备出在结构和性能上更贴合天然骨的nHAp材料^[17]。目前,已有研究者利用羟基磷灰石与生物分子之间的亲和性,通过仿生合成成功制备了具有一定生物活性的nHAp。例如, QI等^[18]利用DNA与Ca²⁺的强结合力,以DNA为模板成功合成了中空结构的nHAp。该nHAp对药物及蛋白均有较好的负载能力。同时,他们也利用三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)分子与Ca²⁺的强结合作用,以其为模板合成了介孔羟基磷灰石纳米球^[19]。此外,已有文献报道,以细菌纤维素为模板合成3D多孔纤维素/羟基磷灰石(hydroxyapatite, HAp)纳米复合材料^[20],应用硫酸软骨素诱导HAp成核结晶、从而仿生合成纳米片状nHAp材料^[21]等,这类具有有机-无机相结合的仿生结构和良好机械性能的材料在骨组织工程领域具有广阔的应用前景。

2 单分子模板仿生合成nHAp

2.1 蛋白质

蛋白质是生命活动的主要承担者,由氨基酸通过肽键连接而成。蛋白质来源广泛,其分子中的氨基和羧基等基团可与Ca²⁺、PO₄³⁻等离子进行反应,具有良好的生物活性,可作为nHAp仿生合成的模板材料。其中,胶原蛋白(collagen, COL)是人体骨、牙体组织中有机质的主要组成部分,明胶是胶原蛋白部分水解变性的产物,它们均无细胞毒性并具有良好的生物相容性^[20]。不同胶原蛋白或明胶的机械强度及吸水性等性能存在差异,根据交联方式的不同可制备出能引导特定组织再生的胶原蛋白或明胶材料。传统nHAp材料具有易团聚的特点,而明胶侧链的RCOO⁻官能团可作为Ca²⁺配位的活跃位点,并进一

步与PO₄³⁻相互作用成核,进而形成较分散的HAp纳米晶体。基于此, SADIADI等^[22]成功以明胶为模板在室温下通过共沉淀法原位仿生合成制得nHAp复合材料,有效避免了HAp颗粒的团聚。同时, KIKUCHI等^[23]以胶原蛋白为模板,通过共沉淀法合成了与松质骨结构相似的胶原蛋白/HAp纳米复合材料。与单纯HAp相比,该材料有较强的机械强度,体内实验显示该材料植入猎犬胫骨骨髓缺损部位后可参与骨再生过程,并被破骨细胞吸收,体现了胶原蛋白纤维的增强作用。此外, LIU等^[24]证实明胶/HAp纳米纤维支架相较市售明胶海绵Gelfoam具有更佳的比表面积和机械强度,可为细胞生长和组织形成提供更优良的机械支撑及蛋白质黏附力,有利于细胞的黏附和增殖。在体外成骨细胞分化实验中,在明胶/HAp纳米纤维支架上培养的成骨细胞中骨唾液酸蛋白(bone sialoprotein, BSP)和骨钙素(osteocalcin, OCN)的表达较明胶组有明显上调,表明以明胶为模板所合成的HAp复合支架有助于成骨细胞分化。FANG等^[25]以明胶为模板并加入可吸引干细胞定植及促进骨再生的基质细胞衍生因子1(stromal cell-derived factor-1, SDF-1),一步合成了含SDF-1的仿生明胶羟基磷灰石微球GHM-S(gelatin/nano-hydroxyapatite microsphere embedded with stromal cell-derived factor-1)。体外实验显示, GHM-S与空白对照组相比可使hMSC成骨相关特异性蛋白如OCN、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、I型胶原等表达上调。同时体内实验表明GHM-S与市售的Sinbone多孔羟基磷灰石材料相比能更有效地促进大鼠骨缺损区域新骨再生。

除明胶外,丝素蛋白、丝胶蛋白可从家蚕、蜘蛛等生物中提取,由于其良好的生物相容性、可降解性和易加工性等特性被广泛应用于生物医学领域。DING等^[26]以丝素蛋白(silk fibroin, SF)纳米纤维为分子模板,通过水相共沉淀法制备出了模拟细胞外基质的可注射SF-HAp水凝胶。可注射SF-HAp水凝胶具有适宜的HAp含量,其均匀多孔的微观结构和模量、刚度等机械性能均优于先前报道的SF-HAp复合材料。体外兔骨髓干细胞增殖分化实验证实,可注射SF-HAp水凝胶与单纯的SF相比有更佳的细胞相容性,成骨早期标志物ALP和Runx2蛋白表达水平均有上升。在大鼠体内实验中,可注射SF-HAp水凝胶组在颅骨缺损部位新形成的骨小梁数目和厚度显著高于单纯SF组,表明该材料对新骨生成有促进作用^[27]。但SF材料可能存在降解速度较慢的问题,或可通过改变SF提取方法、改变SF分子量的分布及与其他纤维材料共混来调控其降解速度,使之更好地匹配机体内骨缺损区

域骨再生进程。

2.2 多糖

多糖广泛存在于自然界动植物体当中,是单糖由糖苷键结合而成的糖链。多糖分子量较大,通常以主链伴以侧链的形式存在,其多羟基结构和空间折叠使得其具有独特的可加工性能。壳聚糖(chitosan, CTS)是存在于虾、蟹、蘑菇等生物体内的天然多糖,由几丁质脱乙酰基而成。其多糖主链在结构上与糖胺聚糖相似,可形成高度多孔的支架,具有良好的骨传导性、骨整合性、抗菌性和生物降解性,已被众多研究人员应用于骨组织工程支架材料的构建中。THEIN-HAN等^[28]以CTS为模板利用逐步共沉淀法制得了CTS-质量百分比1%(1wt%)nHAp纳米复合支架,其中壳聚糖网络的带电性质使nHAp得以有效均匀分布,与CTS支架相比,该复合支架高度多孔,有较大的压缩模量和较慢的降解速率,体外细胞培养实验表明其上细胞黏附性佳,细胞增殖能力强、形态分布良好。ZHANG等^[29]以CTS为模板,利用共沉淀法制备了30wt%HAp/CTS纳米复合材料,并应用静电纺丝技术将此纳米复合材料制成了纳米纤维支架。生物学评估结果显示,HAp/CTS纳米纤维支架相较电纺CTS支架具有更出色的骨传导性,可有效促进人胚胎成骨细胞(human fetal osteoblast cells, hFOB cells)增殖和钙沉积,这也提示了该材料在骨组织工程中的巨大应用潜力。然而对照组TCP支架中hFOB细胞的增殖情况优于HAp/CTS纳米纤维支架及CTS支架组,这可能提示CTS材料具有一定的细胞毒性。若能在此基础上对CTS材料进行改性降低其潜在的细胞毒性,则可能进一步提高HAp/CTS纳米纤维材料的促成骨作用,增强其在骨组织工程中的可用性。

淀粉由 α -D-吡喃葡萄糖聚合而成,水溶性好且简单易得,具有良好的生物相容性和生物降解性。MESKINFAM等^[30]在室温下以小麦淀粉为模板合成出nHAp纳米复合材料,研究表明淀粉上的OH⁻基团与Ca²⁺离子的相互作用可调控nHAp的大小和形状。细胞培养和噻唑蓝比色分析(MTT assay)结果显示该纳米复合材料无细胞毒性,此外相较单纯的淀粉材料能够促进骨髓干细胞增殖,具有更好的生物相容性。SADJADI等^[31]利用小麦淀粉模板原位合成棒状nHAp材料,其晶体形态与天然人骨相似,与未加入淀粉制备出的形状不一的nHAp晶体相比,具有显著的结构优势。将仿生合成nHAp复合材料浸泡于SBF溶液中,其表面可形成一层碳酸磷灰石,证实了该材料的体外生物活性。

2.3 合成高分子聚合物

合成高分子聚合物是指以化学方法合成的、由共价

键重复连接而成的高分子量化合物。制造模拟天然细胞外基质结构的纤维状支架,是骨组织工程研究的重要课题。静电纺丝技术可通过电场作用使高分子聚合物溶液转化为纳米级直径的聚合物纤维细丝,用于骨修复支架材料的制备。聚己内酯(polycaprolactone, PCL)是通过 ϵ -己内酯单体在金属阴离子络合催化剂催化下开环聚合而成的高分子有机聚合物,具有良好的生物相容性及可降解性,是新一代骨组织工程支架材料的有力候选者。YANG等^[32]以静电纺丝制备的具有均匀纤维结构的PCL作为模板,浸泡于SBF10溶液,最终获得了表面有类似生物磷灰石的纳米B型碳酸盐磷灰石涂层的电纺PCL支架。该纳米支架相较于单纯的PCL支架具有更佳的水亲水性且有与天然骨骼类似的结构,有望成为骨组织工程中的细胞载体。MAVIS等^[33]同样将电纺PCL纳米纤维支架浸入SBF10溶液中获得了有仿生磷酸钙涂层的多孔纳米PCL支架。MTT测试表明其无细胞毒性,MC3T3-E1细胞体外培养实验显示复合支架中细胞的ALP和OCN水平均高于未涂覆磷酸钙涂层的PCL纳米纤维,证实其可支持和诱导成骨细胞分化。除PCL外,聚L-乳酸(PLLA)电纺纤维也是常用于骨组织工程的支架材料。PENG等^[34]以PLLA纤维支架为模板合成了HAp/PLLA纳米纤维支架,TEM观察显示HAp颗粒沿PLLA纤维长轴均匀分散并呈轴向定向生长,大鼠骨肉瘤ROS17/2.8细胞培养实验显示,复合支架组细胞生存率及ALP活性相较单纯的PLLA支架组均有显著提高,表明该复合材料可更好地促进细胞黏附、增殖和分化。聚酰胺(polyamide, PA)化学结构和活性基团与胶原蛋白相似,已被证实具有较好的生物相容性,并被广泛应用于生物材料制备中^[35]。作为高极性聚合物,其可形成氢键与羟基磷灰石牢固结合。利用这一特性,WANG等^[36]采用热诱导相处理技术,成功合成出纳米羟基磷灰石/PA复合物。将该复合材料植入下颌骨缺损兔12周后,通过CT观察骨生成情况,与仍未形成新骨的空白对照组相比,nHAP/PA支架组及nHAP/PA+兔间充质干细胞组均可形成与周围正常骨组织相似的高密度骨结构,从而实现缺损区域骨整合。然而,以合成高分子聚合物电纺纤维为模板仿生合成的nHAp支架依然存在诸如nHAp粒子分散性差、取向不固定等共有的局限。对此,可使用NaOH等对高聚物电纺纤维进行表面活化处理,或向纤维表面中引入-COOH、-NH₂等亲水基团的方法改造纤维表面状态,使nHAp粒子得以均匀分散并诱导其定向结晶。

2.4 其他

GUO等^[37]以无羧酸基团的有机胺分子(十二胺和十

六胺)为模板制备了具有六边形截面开放端口的纯HAp单晶纳米管。在合成过程中,有机胺的氨基可与HAp晶体的磷酸基团发生相互作用,促进HAp晶体的100晶面集聚更多的 PO_4^{3-} 。细胞培养结果表明,单纯HAp单晶纳米管相较公认的可诱导成骨的骨形态发生蛋白-7(bone morphogenetic protein, BMP-7)能更为显著地促进细胞增殖,HAp单晶纳米管亦可与BMP-7发挥协同效应;同时,HAp单晶纳米管的中空结构也使得其具有较大的比表面积,有利于蛋白质的吸附和细胞的定植。

3 多分子模板仿生合成nHAp

除单分子模板外,以多分子为模板构建的nHAp在骨组织工程领域亦得到广泛应用。蛋白质、多糖、合成高分子聚合物等模板材料各自具有机械性能或生物学性能上的优势,但亦存在一定的限制,例如DU等^[38]仿生合成的胶原蛋白/HAp复合材料虽具有良好的生物降解性和生物相容性,但机械强度较天然骨组织相比有明显不足。天然硬组织的矿化是由细胞外基质中胶原蛋白、多糖和各种离子等多种模板共同参与的过程,从仿生的思路出发,多分子模板仿生合成相较单分子模板更能模拟体内骨组织生成的真实环境和过程,从而制备出更符合天然骨结构和功能的骨组织工程材料。

LI等^[39]基于透明质酸寡糖修饰的胶原蛋白及其矿化产物,在室温下经分子自组装制成了胶原蛋白/透明质酸低聚糖/羟基磷灰石(collagen/hyaluronic acid oligosaccharides/hydroxyapatite, Col/oHAs/HAp)仿生纳米纤维支架,其化学组成和微观结构类似天然骨。动脉内皮细胞和小鼠颅顶前骨细胞培养结果显示,Col/oHAs/HAp复合材料相较Col/HA/HAp和Col/HAp材料均可显著增强细胞的黏附和增殖效应,同时ALP和OCN蛋白表达上调。GAO等^[40]以聚多巴胺(polydopamine, pDA)为模板仿生合成板状纳米晶体tHA(pDA-templated hydroxyapatite),并进一步将所合晶体tHA与PCL静电纺丝复合构建pDA/tHA/PCL纳米纤维支架。与传统HA/PCL复合纳米纤维相比,该支架表现出了更优异的生物相容性。同时,在非成骨诱导条件下,pDA/tHA/PCL亦可促进hMSC细胞内Runx2、I型胶原蛋白 $\alpha 1$ (type I collagen alpha 1, COL I $\alpha 1$)和OCN等成骨标记物的高度表达。此外,由于pDA对包含巯基或伯胺基团(例如酶、肽和DNA)的生物分子具有高度的化学亲和力,具有pDA层的仿生HA纳米颗粒亦可用作药物载体。ZHAO等^[41]将羟基磷灰石、聚丙烯酸(polyacrylic acid, PAA)和碳酸钠(sodium carbonate, Na_2CO_3)经溶胶-凝胶

合成法交联组装成了纳米复合水凝胶CHAp-PAA,其在生理条件下可保持初始的形态和机械性能,表现出了良好的稳定性。体外兔骨髓干细胞培养证实其与对照组PBS相比,对细胞的增殖、骨向分化和细胞外基质产生均有更显著的促进作用。在骨质疏松兔模型临界大小骨缺损修复实验中,CHAp-PAA水凝胶组骨体积分数、骨小梁厚度、骨小梁数目等骨再生能力参数明显高于空白对照组,无需装载其他药物或干细胞等即可产生促进骨内生长及加速新骨形成的作用。WANG等^[42]将PCL支架经胶原蛋白功能化后浸入 CaCl_2 和 K_2HPO_4 溶液中进行仿生矿化,获得了HAp-Col-PCL复合材料。该材料在纳米级微孔胶原纤维网络上形成了板状磷灰石分层结构,均匀填充了PCL支架,并具有和松质骨类似的亲水性和弹性模量。体外细胞培养结果显示,HAp-Col-PCL组与经NaOH表面活化的PCL材料A-PCL组和Col-PCL组相比,细胞黏附能力和细胞生长速率更高。体内临界大小骨缺损植入实验证实,HAp-Col-PCL组新骨生成量高于空白组及A-PCL组,根据Van Gieson'spicrofuchsin染色结果计算骨整合度(骨-材料接触线/支架周长)可知,HAp-Col-PCL组骨整合度高于A-PCL组,表明HAp-Col-PCL复合材料具有加速骨再生、骨整合和新骨沉积的能力。

4 总结与展望

仿生合成nHAp材料合成步骤简单,兼具优异的机械性能和生物性能,与传统HAp材料相比具有明显的优越性能,在骨组织工程领域有巨大的应用潜力。目前,针对不同模板仿生合成nHAp已被大量研究,蛋白质、多糖、合成高分子聚合物等均被证明可模拟人体骨组织胶原纤维网络并指导nHAp合成。除了构建仿生的均匀多孔支架结构外,不同的分子模板还可通过特殊的表面基团排列和组成诱导 Ca^{2+} 、 PO_4^{3-} 等离子以一定规律成核结晶,从而生成特定取向的nHAp晶体。最终,仿生合成制得的nHAp材料具有高孔隙率、高比表面积等特点,适宜细胞黏附和增殖;HAp的相关生物效应可诱导细胞骨向分化;材料生物相容性好,具有可降解性,机械性能优良,可作为骨修复材料携带与成骨相关干细胞和细胞因子等植入骨缺损部位诱导骨再生。然而,无论是单分子模板仿生合成还是多分子模板仿生合成,其合成产物始终无法完全具备天然骨的骨传导性、骨诱导性和成骨性。尽管如此,多分子模板仿生合成nHAp材料在全面模拟天然骨的骨传导性、骨诱导性和成骨性方面已取得较大突破,有望成为新一代的骨修复生物材料。当前仿生合成nHAp材料仍处于研究阶段,尚未有临床应用,深入研究材料与人

体组织相互作用是其走向骨组织工程实际应用的必经之路。此外,继续着力提升材料的强度、孔隙率等基本性能,开发材料的药物递送、干细胞及细胞因子结合等附加功能,优化材料促进骨再生的作用,亦是未来仿生合成 nHAp 材料相关领域研究的重要课题。

* * *

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] PINA S, OLIVEIRA J M, REIS R L. Natural-based nanocomposites for bone tissue engineering and regenerative medicine: a review. *Adv Mater*, 2015, 27(7): 1143–1169.
- [2] 周陈晨, 吴祖平, 邹淑娟. 信号通路调控骨髓间充质干细胞成骨分化的研究. *四川大学学报(医学版)*, 2020, 51(6): 777–782.
- [3] NOORI A, ASHRAFI S J, VAEZ-GHAEMI R, *et al.* A review of fibrin and fibrin composites for bone tissue engineering. *Int J Nanomedicine*, 2017, 12: 4937–4961.
- [4] GRITSCH L, MAQBOOL M, MOURIÑO V, *et al.* Chitosan/hydroxyapatite composite bone tissue engineering scaffolds with dual and decoupled therapeutic ion delivery: copper and strontium. *J Mater Chem B*, 2019, 7(40): 6109–6124.
- [5] 高筱萌, 高海. 生物纳米材料在骨组织工程中的研究进展. *口腔医学研究*, 2019, 35(6): 524–526.
- [6] PALMER L C, NEWCOMB C J, KALTZ S R, *et al.* Biomimetic systems for hydroxyapatite mineralization inspired by bone and enamel. *Chem Rev*, 2008, 108(11): 4754–4783.
- [7] BORDEA I R, CANDREA S, ALEXESCU G T, *et al.* Nano-hydroxyapatite use in dentistry: a systematic review. *Drug Metab Rev*, 2020, 52(2): 319–332.
- [8] ZHOU H, LEE J. Nanoscale hydroxyapatite particles for bone tissue engineering. *Acta Biomater*, 2011, 7(7): 2769–2781.
- [9] HABRAKEN W, HABIBOVIC P, EPPL M, *et al.* Calcium phosphates in biomedical applications: materials for the future? *Mater Today*, 2016, 19(2): 69–87.
- [10] EPPL M. Review of potential health risks associated with nanoscopic calcium phosphate. *Acta Biomater*, 2018, 77: 1–14.
- [11] ZHOU R, LI Y, XIAO D, *et al.* Hyaluronan-directed fabrication of co-doped hydroxyapatite as a dual-modal probe for tumor-specific bioimaging. *J Mater Chem B*, 2020, 8(10): 2107–2114.
- [12] 庞富文, 蔡华伟, 李玉豪, 等. 放射性¹³¹I标记胶原-壳聚糖复合微球的制备及其杀伤肝癌细胞的体内研究. *四川大学学报(医学版)*, 2018, 49(1): 24–28.
- [13] HUANG M J, LI T J, ZHAO N R, *et al.* Doping strontium in tricalcium phosphate microspheres using yeast-based biotemplate. *Mater Chem Phys*, 2014, 147(3): 540–544.
- [14] HUANG L, ZHANG J, HU J, *et al.* Biomimetic gelatin methacrylate/nano fish bone hybrid hydrogel for bone regeneration via osteoimmunomodulation. *ACS Biomater Sci Eng*, 2020, 6(6): 3270–3274.
- [15] ZIA I, MIRZA S, JOLLY R, *et al.* Trigonella foenum graecum seed polysaccharide coupled nano hydroxyapatite-chitosan: A ternary nanocomposite for bone tissue engineering. *Int J Biol Macromol*, 2019, 124: 88–101.
- [16] 宋华, 任向前, 未东兴. 纳米羟基磷灰石对缺损骨再生的影响. *中国组织工程研究*, 2015, 19(8): 1155–1159.
- [17] PASTORINO L, DELLACASA E, SCAGLIONE S, *et al.* Oriented collagen nanocoatings for tissue engineering. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2014, 114: 372–378.
- [18] QI C, ZHU Y J, LU B Q, *et al.* Hydroxyapatite nanosheet-assembled porous hollow microspheres: DNA-templated hydrothermal synthesis, drug delivery and protein adsorption. *J Mater Chem*, 2012, 22(42): 22642–22650.
- [19] QI C, ZHU Y J, ZHAO X Y, *et al.* Highly stable amorphous calcium phosphate porous nanospheres: microwave-assisted rapid synthesis using ATP as phosphorus source and stabilizer, and their application in anticancer drug delivery. *Chemistry*, 2013, 19(3): 981–987.
- [20] WAN Y Z, HUANG Y, YUAN C D, *et al.* Biomimetic synthesis of hydroxyapatite/bacterial cellulose nanocomposites for biomedical applications. *Mater Sci Eng C*, 2007, 27(4): 855–864.
- [21] HE D, XIAO X, LIU F, *et al.* Chondroitin sulfate template-mediated biomimetic synthesis of nano-flake hydroxyapatite. *Appl Surf Sci*, 2008, 255(2): 361–364.
- [22] SADJADI M A, MESKINFAM M, SADEGHI B, *et al.* *In situ* biomimetic synthesis and characterization of nano hydroxyapatite in gelatin matrix. *J Biomed Nanotechnol*, 2011, 7(3): 450–454.
- [23] KIKUCHI M, ITOH S, ICHINOSE S, *et al.* Self-organization mechanism in a bone-like hydroxyapatite/collagen nanocomposite synthesized *in vitro* and its biological reaction *in vivo*. *Biomaterials*, 2001, 22(13): 1705–1711.
- [24] LIU X, SMITH L A, HU J, *et al.* Biomimetic nanofibrous gelatin/apatite composite scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials*, 2009, 30(12): 2252–2258.
- [25] FANG C H, LIN Y W, LIN F H, *et al.* Biomimetic synthesis of nanocrystalline hydroxyapatite composites: Therapeutic potential and effects on bone regeneration. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(23): 6002.
- [26] DING Z, HAN H, FAN Z, *et al.* Nanoscale silk-hydroxyapatite hydrogels for injectable bone biomaterials. *ACS Appl Mater Inter*, 2017, 9(20): 16913–16921.
- [27] LIU H, XU G W, WANG Y F, *et al.* Composite scaffolds of nano-hydroxyapatite and silk fibroin enhance mesenchymal stem cell-based bone regeneration via the interleukin 1 alpha autocrine/paracrine signaling loop. *Biomaterials*, 2015, 49: 103–112.
- [28] THEIN-HAN W W, MISRA R D K. Biomimetic chitosan-nano-hydroxyapatite composite scaffolds for bone tissue engineering. *Acta Biomater*, 2009, 5(4): 1182–1197.
- [29] ZHANG Y, VENUGOPAL J R, EL-TURKI A, *et al.* Electrospun biomimetic nanocomposite nanofibers of hydroxyapatite/chitosan for

- bone tissue engineering. *Biomaterials*, 2008, 29(32): 4314–4322.
- [30] MESKINFAM M, SADJADI M A, JAZDARREH H, *et al.* Biocompatibility evaluation of nano hydroxyapatite-starch biocomposites. *J Biomed Nanotechnol*, 2011, 7(3): 455–459.
- [31] SADJADI M S, MESKINFAM M, SADEGHI B, *et al.* *In situ* biomimetic synthesis, characterization and *in vitro* investigation of bone-like nanohydroxyapatite in starch matrix. *Mater Chem Phys*, 2010, 124(1): 217–222.
- [32] YANG F, WOLKE J G C, JANSEN J A. Biomimetic calcium phosphate coating on electrospun poly(ϵ -caprolactone) scaffolds for bone tissue engineering. *Chem Engineer J*, 2008, 137(1): 154–161.
- [33] MAVIS B, DEMIRTAŞ T T, GÜMÜŞDERELİOĞLU M, *et al.* Synthesis, characterization and osteoblastic activity of polycaprolactone nanofibers coated with biomimetic calcium phosphate. *Acta Biomater*, 2009, 5(8): 3098–3111.
- [34] PENG F, YU X, WEI M. *In vitro* cell performance on hydroxyapatite particles/poly(L-lactic acid) nanofibrous scaffolds with an excellent particle along nanofiber orientation. *Acta Biomater*, 2011, 7(6): 2585–2592.
- [35] UPADHYAY D J, CUI N Y, ANDERSON C A, *et al.* A comparative study of the surface activation of polyamides using an air dielectric barrier discharge. *Colloid Surface A*, 2004, 248(1/2/3): 47–56.
- [36] WANG H, LI Y, ZUO Y, *et al.* Biocompatibility and osteogenesis of biomimetic nano-hydroxyapatite/polyamide composite scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials*, 2007, 28(22): 3338–3348.
- [37] GUO X, YU L, CHEN L, *et al.* Organoamine-assisted biomimetic synthesis of faceted hexagonal hydroxyapatite nanotubes with prominent stimulation activity for osteoblast proliferation. *J Mater Chem B*, 2014, 2(13): 1760–1763.
- [38] DU C, CUI F Z, ZHANG W, *et al.* Formation of calcium phosphate/collagen composites through mineralization of collagen matrix. *J Biomed Mater Res*, 2000, 50(4): 518–527.
- [39] LI M, ZHANG X, JIA W, *et al.* Improving *in vitro* biocompatibility on biomimetic mineralized collagen bone materials modified with hyaluronic acid oligosaccharide. *Mater Sci Eng C*, 2019, 104: 110008[2020-12-21]. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.110008>.
- [40] GAO X, SONG J, JI P, *et al.* Polydopamine-templated hydroxyapatite reinforced polycaprolactone composite nanofibers with enhanced cytocompatibility and osteogenesis for bone tissue engineering. *ACS Appl Mater Inter*, 2016, 8(5): 3499–3515.
- [41] ZHAO Y, LI Z, JIANG Y, *et al.* Bioinspired mineral hydrogels as nanocomposite scaffolds for the promotion of osteogenic marker expression and the induction of bone regeneration in osteoporosis. *Acta Biomater*, 2020, 113: 614–626.
- [42] WANG J, WU D, ZHANG Z, *et al.* Biomimetically ornamented rapid prototyping fabrication of an apatite-collagen-polycaprolactone composite construct with nano-micro-macro hierarchical structure for large bone defect treatment. *ACS Appl Mater Inter*, 2015, 7(47): 26244–26256.

(2021-01-31 收稿, 2021-04-01 修回)

编辑 吕熙