

# 纳米生物材料在骨组织工程中的应用

蔡高锐 刘威 何勇 王太平

**摘要** 作为骨组织工程的要素之一,三维支架扮演着至关重要的角色。适宜的支架能模仿细胞生长的微环境,为细胞的增殖以及新骨生长提供具有良好生物相容性的三维结构。由于具有良好的生物特性,纳米生物材料成为制备骨组织工程三维支架的理想材料。各种纳米生物材料如纳米复合材料、纳米纤维材料、纳米生物活性材料和可注射性纳米材料被合成并应用于骨组织工程的研究中,呈现出广阔的应用前景。该文对近年来纳米生物材料在骨组织工程中的应用作一综述。

**关键词** 骨组织工程;纳米材料;生物材料;支架

**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-7083.2017.05.007

各种原因造成的骨缺损是骨科医生面临的难题。修复骨缺损的传统方式自体骨移植和异体骨移植均存在不足。自体骨移植是骨修复的“金标准”,但存在取材有限、可发生供区并发症及需要二次手术等问题;异体骨移植则可能产生疾病传播和排斥反应等。近年来快速发展的骨组织工程为解决上述问题带来了曙光。

支架是骨组织工程的要素之一,它对于细胞增殖和引导新骨生长有重要作用。合适的三维支架可发挥细胞外基质作用并为细胞和组织生长提供适宜的微环境。纳米级别材料的颗粒直径小于100 nm,其粒子具有更大的表面积和表面活性,因而具有更高的生物活性,有利于蛋白吸附、细胞黏附和增殖<sup>[1]</sup>。与其他级别的材料相比,纳米材料能更好地促进细胞增殖<sup>[2]</sup>。纳米材料的特殊孔隙更利于营养物质输送、吸收和骨组织生长,能促进骨再生<sup>[3]</sup>。同时,纳米材料还具有良好的生物相容性和降解性。因此,近年来各种具有成骨能力的纳米材料被应用于骨组织工程的研究中,呈现出广阔的应用前景。这些材料主要包括纳米复合材料、纳米纤维材料、纳米生物活性材料和可注射性纳米材料等。

## 1 纳米复合材料

单一材料如纳米羟基磷灰石力学性能一般,将具有不同特性的单一材料进行复合得到的纳米复合材料可获得令人满意的机械性能。Liu等<sup>[4]</sup>制备出一种透明质酸改性的壳聚糖/胶原/羟基磷灰石纳米复合材料,并对不同成分比例样本的理化性质和弹性模量进行测定,结果发现随着胶原成分比例增高,复合物的孔隙率和弹性模量增大,表明不同材料的复合可以改进复合物的力学性能。纳米复合材料结合了不同单一材料的优点,作为支架材料能创造出近似人体细胞生长的微环境,在骨组织工程中得到广泛应用。

刘鹏等<sup>[5]</sup>制备出具有高孔隙率的三维胶原/纳米羟基磷灰石复合支架,并复合大鼠成骨细胞,设置体外共培养实验,实验组以大鼠成骨细胞分别与胶原/纳米羟基磷灰石及羟基磷灰石材料复合,对照组则将大鼠成骨细胞直接置于培养皿,采用四氮唑盐(MTT)法检测大鼠成骨细胞增殖分化情况,结果发现实验组细胞增殖多于对照组,且胶原/羟基磷灰石组优于羟基磷灰石组,胶原/羟基磷灰石组细胞形态良好,细胞质丰富,实验组细胞基质分泌也明显多于对照组,表明胶原/纳米羟基磷灰石复合支架材料更有利于细胞的分化与增殖,具有更好的生物相容性。

叶鹏等<sup>[6]</sup>构建了丝素/壳聚糖/纳米羟基磷灰石三维复合支架,并将该支架植入兔桡骨长段骨缺损模型,同时于骨缺损处植入丝素/壳聚糖复合支架作为对照,术后X线、大体标本及组织病理学观察结果均显示与对照组相比,丝素/壳聚糖/纳米羟基磷灰石三维复合支架植入组骨缺损得到更好的修复,表明该复合支架具有良好的生物相容性,能更好地促进骨修复。

基金项目:国家自然科学基金(81572198)、广东省自然科学基金(2015A030313772)、深圳市科技计划项目(JCYJ20160425104858256、CXZZ20140813160132596)、深圳市卫生计生系统博士创新项目(201605006)

作者单位:518000, 深圳大学第一附属医院运动医学科(蔡高锐、何勇、王太平);518000, 深圳市组织工程重点实验室(蔡高锐、刘威、何勇、王太平);518000, 深圳大学第一附属医院创伤骨科(刘威)

通信作者:王太平 E-mail: dapingwang1963@qq.com

Sharma 等<sup>[7]</sup>用泡沫法合成新型壳聚糖/明胶/藻酸盐/纳米羟基磷灰石纳米复合支架,该支架具有互联多孔结构,孔隙率为 82%,平均孔径为 $(112 \pm 19.0) \mu\text{m}$ ;溶胀与降解研究表明,该支架具有良好的亲水性和生物降解性;短期机械试验显示,该支架在生理状态下搅拌无断裂,具有良好的机械稳定性;体外细胞培养实验显示,该支架能促进细胞黏附和增殖,增强细胞活性。

Sheikh 等<sup>[8]</sup>在聚乳酸-羟基乙酸共聚物(PLGA)中加入丝素和羟基磷灰石纳米颗粒,改变 PLGA 的疏水性和机械特性,并通过实验证明该复合支架具有骨诱导性。Jiang 等<sup>[9]</sup>在纳米羟基磷灰石/PLGA 中加入竹纤维,从而改进复合材料的多孔结构,提高其降解性、生物相容性及力学性能。此外,其他新型纳米复合材料如壳聚糖/硫酸软骨素/纳米二氧化硅<sup>[10]</sup>、还原氧化石墨烯/羟基磷灰石纳米复合物<sup>[11]</sup>、纳米羟基磷灰石/珊瑚块<sup>[12]</sup>等也被尝试应用于骨组织工程中。

## 2 纳米纤维材料

纳米纤维材料具有独特的生物性能,其在骨组织工程中的应用也越来越广泛。与纳米颗粒相比,纳米纤维具有超微细纤维结构、高孔隙率和高表面积体积比。作为支架材料,纳米纤维材料巨大的细胞外基质仿生潜能可创造出更适合细胞生长的微环境。纳米纤维材料可通过静电纺丝、相分离、自组装等方法制备,尤其是静电纺丝技术,制作工艺简单、高效,制备得到的三维纳米纤维支架,结构与细胞外基质更为相似,更有利于细胞生长。

叶荣等<sup>[13]</sup>制备出羟基丁酸/羟基戊酸纳米纤维,并建立兔胫骨缺损模型,于缺损处植入该纳米纤维作为实验组,植入 $\beta$ -磷酸三钙作为对照组,空白组不植入任何材料,结果显示与对照组和空白组相比,实验组术后大体观察、影像学及组织学检查均具有较强的材料降解能力和骨缺损修复能力,表明该复合纳米纤维具有良好的成骨能力和生物相容性。

Ao 等<sup>[14]</sup>利用静电纺丝技术合成纤维素/纳米羟基磷灰石纳米纤维,扫描电镜成像显示该纤维平均直径随纳米羟基磷灰石比重增加而增大,且其直径范围在天然细胞外基质纤维直径范围内( $50 \sim 500 \text{ nm}$ );该复合物具有良好的机械性能,其拉伸强度和杨氏模量分别达到 70.6 MPa 和 3.12 GPa;细胞培养实验显示,该复合支架有良好的生物相容性,能促进人牙囊细胞的黏附和增殖。

Yao 等<sup>[15]</sup>利用新型热诱导自凝聚技术合成聚 $\epsilon$ -己内酯/聚乳酸(PCL/PLA)三维纳米纤维支架,该支架具有多种尺寸的微孔结构,孔隙率达 95.8%,同时其力学性能和降解性能更加优越;体外细胞实验显示,该支架能促进细胞的黏附和增殖,且能促进人间充质干细胞的成骨分化;体内动物实验结果显示,该支架能更好地促进小鼠颅骨缺损部位的新骨形成;研究表明,PCL/PLA 纳米纤维支架具有应用于骨组织工程的潜力。

## 3 纳米生物活性材料

纳米生物活性材料具有骨生成性和骨传导性<sup>[16]</sup>,应用于骨组织工程中可在材料与骨组织间建立紧密联系,促进骨组织再生。骨组织再生是涉及多种细胞、细胞因子、信号转导通路及基因表达的复杂生物学过程,纳米生物活性材料诱发的特殊反应通过调节不同细胞因子或信号转导通路促进骨组织形成。纳米生物活性材料可通过相分离、气体发泡、粒子滤出、乳液冷冻干燥及静电纺丝等方法合成,其中尤以静电纺丝方法为重<sup>[17]</sup>。

文献<sup>[18]</sup>报道,有研究者合成一种羟基磷灰石/胶原骨样纳米复合材料,并在复合支架上种植 MG63 细胞进行共培养,结果显示该复合材料具有显著的生物活性和骨生成性。值得注意的是,研究团队将该复合材料应用于 65 例患者进行临床试验,结果证明其具有良好的骨修复效果。

Kwak 等<sup>[17]</sup>采用双重挤压电纺技术合成多层三维网状 PLGA/胶原纳米纤维支架,在支架成分中加入纳米羟基磷灰石,并在支架上复合 MC3T3-E1 细胞进行体外培养,结果发现羟基磷灰石能促进 MC3T3-E1 细胞的增殖、黏附,并提高碱性磷酸酶活性。Khanna 等<sup>[19]</sup>的研究显示,壳聚糖/果胶酸/羟基磷灰石纳米复合物能仿生天然骨的多层结构,为细胞和组织的再生提供合适的微环境,具有良好的骨传导性和骨诱导性。Rajzer 等<sup>[20]</sup>报道,在聚丙交酯(PLDL)中加入纳米羟基磷灰石能促进细胞的黏附和增殖,提高碱性磷酸酶活性,表明 PLDL/纳米羟基磷灰石复合材料具有高度的生物活性。Bakhtiyari 等<sup>[21]</sup>在纳米生物活性玻璃(nBG)/聚三羟基丁酸酯(P3HB)复合支架中加入纳米二氧化钛( $\text{nTiO}_2$ ),提高了复合物的机械性能和生物活性。此外,Roohani-Esfahani 等<sup>[22]</sup>用生物活性玻璃纳米颗粒包被双相磷酸钙,使复合物的抗压强度增加 14 倍,并通过上调转录因子 RUNX2、骨调素和唾液蛋

白基因表达促进人成骨细胞的分化。

#### 4 可注射性纳米生物材料

可注射性纳米生物材料由于具有创伤小、手术与住院时间短、不损伤术区血供和易操作等优点<sup>[23]</sup>,在骨组织工程中的应用逐渐受到重视。但由于此类材料为半流体,存在易流失、降解速度缓慢等问题,可能影响修复效果。

薛震等<sup>[24]</sup>制备出纳米羟基磷灰石/壳聚糖/半水硫酸钙可注射性三维复合支架,并进行体外细胞实验和体内动物实验,将支架与兔骨髓间充质干细胞复合培养,并与单纯接种培养作对照,结果显示两组细胞生长及增殖良好,无明显差异;将该支架植入兔体内,术后2、4、6周支架周围炎症反应逐渐减退,术后8周炎症反应基本消失,材料基本降解,且术区肌纤维保持正常形态;表明纳米羟基磷灰石/壳聚糖/半水硫酸钙复合物在生物体内易降解、无毒,作为骨组织工程支架具有一定可行性。

Qi等<sup>[25]</sup>合成一种新型可注射性少钙纳米羟基磷灰石/多氨基酸共聚物/半水硫酸钙(n-CDHA/MAC/CSH)骨水泥,理化性能检测结果显示该骨水泥具有良好的机械性能和适宜的凝结时间;将该骨水泥复合MC3T3-E1细胞进行共培养,结果发现与单纯CSH复合细胞共培养组相比,n-CDHA/MAC/CSH骨水泥组细胞生长、增殖情况更好,且碱性磷酸酶活性更高;体内动物实验显示该复合骨水泥能促进骨质形成,具有良好的生物相容性和降解性。Liu等<sup>[26]</sup>合成一种新型可注射性半水硫酸钙/胶原/纳米羟基磷灰石(CSH/nHAC)仿生骨支架,并在支架上种植重组人骨形态发生蛋白(rhBMP)-2以促进骨质形成。

#### 5 问题与展望

在骨组织工程兴起的今天,纳米生物材料将以其独特的性能和出众的优势占据不可替代的地位。但由于自身存在的不足,纳米生物材料还未进入临床应用。纳米复合材料的成分及质量配比最优化、生物性能最优化、仿生分层结构设计、细胞-材料界面及安全性能评价等将是亟待解决的问题。随着未来医学技术的进步及纳米生物材料性能的优化,其在骨组织工程中的应用将进一步普及。

#### 参考文献

[1] Yi H, Ur Rehman F, Zhao C, et al. Recent advances in nano scaffolds for bone repair[J]. Bone Res, 2016, 4:16050.  
[2] Balasundaram G, Storey DM, Webster TJ. Novel nano

-rough polymers for cartilage tissue engineering[J]. Int J Nanomedicine, 2014, 9:1845-1853.  
[3] 杨毅,毕鑫,李多玉,等. 人工骨材料修复骨缺损:多种复合后的生物学与力学特征[J]. 中国组织工程研究, 2014, 18(16):2582-2587.  
[4] Liu L, Li R, Zhang L, et al. Mechanical properties of hyaluronic acid modifying chitosan/collagen/nano-hydroxyapatite composite scaffold and its effect on osteoblast proliferation[J]. Chin J Tissue Eng Clin Heal, 2011, 15(38):7127-7131.  
[5] 刘鹏,王东,孙海钰,等. 胶原-纳米羟基磷灰石复合支架的细胞相容性[J]. 中国组织工程研究, 2011, 15(42):7831-7834.  
[6] 叶鹏,马立坤,黄文良,等. 骨组织工程三维复合支架修复兔桡骨骨缺损[J]. 中国组织工程研究, 2014, 18(3):383-388.  
[7] Sharma C, Dinda AK, Potdar PD, et al. Fabrication and characterization of novel nano-biocomposite scaffold of chitosan-gelatin-alginate-hydroxyapatite for bone tissue engineering[J]. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl, 2016, 64:416-427.  
[8] Sheikh FA, Ju HW, Moon BM, et al. Hybrid scaffolds based on PLGA and silk for bone tissue engineering[J]. J Tissue Eng Regen Med, 2016, 10(3):209-221.  
[9] Jiang L, Li Y, Xiong C, et al. Preparation and properties of bamboo fiber/nano-hydroxyapatite/poly(lactic-co-glycolic) composite scaffold for bone tissue engineering[J]. ACS Appl Mater Interfaces, 2017, 9(5):4890-4897  
[10] Kavya KC, Dixit R, Jayakumar R, et al. Synthesis and characterization of chitosan/chondroitin sulfate/nano-SiO2 composite scaffold for bone tissue engineering[J]. J Biomed Nanotechnol, 2012, 8(1):149-160.  
[11] Lee JH, Shin YC, Lee SM, et al. Enhanced osteogenesis by reduced graphene oxide/hydroxyapatite nanocomposites[J]. Sci Rep, 2015, 15:18833  
[12] Du B, Liu W, Deng Y, et al. Angiogenesis and bone regeneration of porous nano-hydroxyapatite/coralline blocks coated with rhVEGF165 in critical-size alveolar bone defects in vivo[J]. Int J Nanomedicine, 2015, 10:2555-2565.  
[13] 叶荣,张晓峰,怀怀宁,等. 羟基丁酸-羟基戊酸纳米纤维材料修复胫骨缺损[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(34):6284-6288.  
[14] Ao C, Niu Y, Zhang X, et al. Fabrication and characterization of electrospun cellulose/nano-hydroxyapatite nanofibers for bone tissue engineering[J]. Int J Biol Macromol, 2017, 97:568-573.  
[15] Yao Q, Cosme JG, Xu T, et al. Three dimensional electrospun PCL/PLA blend nanofibrous scaffolds with significantly improved stem cells osteogenic differentiation and cranial bone formation[J]. Biomaterials, 2017, 115:115-127.  
[16] Bramhill J, Ross S, Ross G. Bioactive nanocomposites for

- tissue repair and regeneration; a review[J]. Int J Environ Res Public Health, 2017, 14(1):E 66.
- [17] Kwak S, Haider A, Gupta KC, et al. Micro/Nano multilayered scaffolds of PLGA and collagen by alternately electrospinning for bone tissue engineering[J]. Nanoscale Res Lett, 2016, 11(1):323
- [18] Kikuchi M. Hydroxyapatite/collagen bone-like nanocomposite [J]. Biol Pharm Bull, 2013, 36(11):1666-1669
- [19] Khanna R, Katti KS, Katti DR. Bone nodules on chitosan-polygalacturonic acid-hydroxyapatite nanocomposite films mimic hierarchy of natural bone[J]. Acta Biomater, 2011, 7(3):1173-1183.
- [20] Rajzer I, Menaszek E, Kwiatkowski R, et al. Bioactive nanocomposite PLDL/nano-hydroxyapatite electrospun membranes for bone tissue engineering[J]. J Mater Sci Mater Med, 2014, 25(5):1239-1247.
- [21] Bakhtiyari SS, Karbasi S, Monshi AA. Evaluation of the effects of nano-TiO<sub>2</sub> on bioactivity and mechanical properties of nano bioglass-P3HB composite scaffold for bone tissue engineering[J]. J Mater Sci Mater Med, 2016, 27(1):2.
- [22] Roohani-Esfahani SI, Nouri-Khorasani S, Lu ZF, et al. Effects of bioactive glass nanoparticles on the mechanical and biological behavior of composite coated scaffolds [J]. Acta Biomater, 2011, 7(3):1307-1318.
- [23] He X, Dziak R, Mao K, et al. Integration of a novel injectable nano calcium sulfate/alginate scaffold and BMP2 gene-modified mesenchymal stem cells for bone regeneration [J]. Tissue Eng Part A, 2013, 19(3/4):508-518.
- [24] 薛震,牛丽媛,安刚,等. 纳米羟基磷灰石/壳聚糖/半水硫酸钙为可注射骨组织工程支架材料的可行性[J]. 中国组织工程研究, 2015, 19(8):1160-1164.
- [25] Qi X, Li H, Qiao B, et al. Development and characterization of an injectable cement of nano calcium-deficient hydroxyapatite/multi (amino acid) copolymer/calcium sulfate hemihydrate for bone repair[J]. Int J Nanomedicine, 2013, 8(8):4441-4452.
- [26] Liu J, Mao K, Liu Z, et al. Injectable biocomposites for bone healing in rabbit femoral condyle defects[J]. PloS one, 2013, 8(10):e75668.

(收稿:2017-03-07;修回:2017-08-09)

(本文编辑:杨晓娟)