

金属元素掺杂羟基磷灰石的研究及应用进展

於可达 郭晓东*

[摘要] 各种原因如肿瘤、创伤或其他疾病所造成的骨缺损不断增加已逐渐成为全球性问题。现有的骨组织工程移植材料虽然在一定程度上能够满足骨移植的需求,但大多数材料的骨诱导能力却并不能令人满意。其中羟基磷灰石(HA)凭借其较好的诱导骨缺损修复能力,一直是骨组织工程的经典基材。然而传统的HA材料的骨再生诱导能力依然是有局限的。因此,如何有效地对HA进行改性成为了一个重大的课题。本文就金属元素掺杂改性HA及其对骨再生的影响的相关研究进展做一综述,并且为解决日益增长的骨缺损植入需求提供新的思路。

[关键词] 金属元素; 羟基磷灰石; 骨再生

[中图分类号] R318

[文献标识码] A

Research and application progress of metal doped hydroxyapatite

Yu Keda, Guo Xiaodong. Department of Orthopedics, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan Hubei, 430022, China

[Abstract] The increasing number of bone defects caused by various causes such as tumors, trauma or other diseases is becoming a global problem. Although existing bone tissue engineered graft materials can meet the needs of bone transplantation to a certain extent, the ability of osteoinduction of most materials is not satisfactory. Hydroxyapatite (HA) has always been a classic base material for bone tissue engineering due to its good ability to induce bone defect repair. However, the ability of traditional HA materials to induce bone regeneration is still limited. Therefore, how to effectively modify HA has become a major issue. This paper reviews the research progress of metal doped HA and its effect on bone regeneration. It also provides a new way of thinking to solve the increasing demand of bone defect implantation.

[Key words] Metallic element; Hydroxyapatite; Bone regeneration

在骨移植领域,超过60%案例被报告涉及钙磷酸盐,尤其是羟基磷灰石(hydroxyapatite, HA)^[1],因其被认为是人天然骨骼主要的无机成分,以及其良好的生物相容性和生物活性,从而得到了广泛的研究和应用^[2]。然而,单纯的HA的生物学功能依然是有很大限制的。因此,对其在生物学功能等方面进行优化依然受到很多研究者的重视。不少研究发现,活性元素的掺杂,如锶、铁、铜、硅、氟等,能够对骨再生起到良好的促进作用^[3-4]。其中本文叙述的金属阳离子掺杂即为取代HA中的钙离子,而不同离子的掺杂浓度也有相应的研究进行了评估。除单一元素掺杂外,研究者也已经注意到多种元素共同掺杂的方式,实现多种有益元素的功能互补,也是一种有效的策略^[5-6]。即使是经过改性的HA,依然拥有与其他生物材料(如天然细胞外基质等)进行联合应用的潜力,这使得其在骨移植材料领域拥有较广的应用前景。本文就金属元素掺杂HA的改性及其相关生物学功能的研究进展做一综述。表1为本文所述主要不同元素(单一或共掺杂)掺杂HA改性后生物学效应及其优缺点的对比。

表1 不同元素(单一或共掺杂)掺杂HA改性后的对比

元素	特性	应用局限性(难点)
锶	具备促进成骨分化能力、加速骨缺损修复	功能较为单一、高浓度之下的细胞毒性等
铁	具备促进成血管分化能力、使复合支架具备一定的顺磁性	相对锶而言产生明显细胞毒性的浓度更低
铜	具备强大的抗菌作用及优秀的促进成血管分化的作用,并且有一定的成骨诱导能力	细胞毒性较为明显,应用受到局限
锂	具备一定的骨再生潜力	研究并不深入,安全性等均存疑
银	为传统的抗菌材料常用成分,效果较为明显	功能单一,且细胞毒性较大,应用范围有很大的局限性
锶-铁	具备促进成骨分化及成血管分化能力,有较好的免疫调节作用	多离子之间最佳浓度配比以及多种功能协同促进的把控
锌-镁、 锌-锶	具有较好的促进成骨分化能力,且具有一定的抗菌作用	—

作者单位:华中科技大学同济医学院附属协和医院骨科,湖北 武汉,430022

1 单一元素掺杂改性羟基磷灰石在骨缺损修复中的应用

近年来,不断有学者利用金属的离子或者氧化物形式,使其对HA的理化性能、生物学功能进行改性,并且取得了相当显著的进展,诸如锶、铁、铜等得到了广泛的研究。

1.1 锶掺杂羟基磷灰石

锶是一种在骨修复过程中起到重要作用的微量元素,与钙的功能近似。Hu等^[7]利用放电等离子烧结法(SPS)制备了含锶的HA支架,通过家兔双侧胫骨骨缺损模型证明锶-HA支架具备显著的促进成骨修复的效果。Li等^[8]采用湿法合成锶-HA并制备成聚富马酸丙烯酰胺复合支架,通过体外实验证明其对成骨分化有促进作用,其中锶取代浓度在10%时效果最为明显。Wei等^[9]利用锶-HA对HA支架进行表面修饰,并通过体外实验表明在1%、4%及8%的取代浓度中,8%锶取代具有最为显著的促进成骨作用。由此可见,锶在促进骨再生的过程中,有着至关重要的作用,但单独的锶掺杂仍旧存在一定的局限性。

1.2 铁掺杂羟基磷灰石

铁是人体内含量最多的微量元素,参与多种重要的生理过程,是体内不可或缺的元素之一。Shi等^[10]研究合成铁掺杂磷酸八钙发现,其通过铁离子的释放,能够实现促进血管生成的作用,而血管形成是骨缺损修复过程中极为重要的一部分,这也为铁应用于HA改性提供了支持。国外学者Fernandes Patricio等^[11]的研究表明,通过仿生组装/矿化过程制备的铁掺杂HA微球能够作为骨形态发生蛋白-2(BMP-2)的可调载体,实现缓释的功能,并且同时拥有顺磁性,最终对骨缺损的修复起到正向调控作用。然而,也有研究表明,过高浓度的铁掺杂量反而具有一定的细胞毒性^[12]。因此,如何控制材料释放的离子浓度,也成为目前还未完全解决的问题之一。

1.3 铜掺杂羟基磷灰石

铜因其拥有较为显著的抗菌作用^[13]以及成血管诱导^[14]作用,在骨缺损植入物中有着广泛的应用,常被用于制备合金植入物或者用于植入材料表面涂层。Simon等^[15]研究发现,掺杂铜纳米团簇的HA同样具备抗菌能力。Chi等^[16]通过合成掺铜HA微球发现,高浓度的铜掺杂拥有更为显著的抗菌作用,同时降解性也有一定提升。但需要注意的是,虽然抗菌在骨缺损材料植入方面非常重要,但过高浓度的铜离子释放同时也会带来更高的细胞毒性。Mou等^[17]制备了掺铜纳米HA/多(氨基酸)共聚物复合支架,使其具有较为合适的降解性、力学强度和孔隙率,通过体内外成骨、成血管的实验证明在铜含量达到1%时,复合材料具有较佳的成骨、成血管诱导能力。

可见,铜掺杂入HA后,其能够发挥较好的抗菌、成骨诱导和成血管诱导能力,这使其在骨移植领域具有较为广泛的应用前景,但其释放离子浓度的控制同样也是亟待解决的研究问题。

1.4 其他元素掺杂羟基磷灰石

除常见的铁、铜、锌、镁、锶等元素外,也有多种其他元素被用于HA的改性。Luo等^[18]通过对锂掺杂HA多孔支架体内实验的评估,发现其在成骨诱导能力上相较HA及空白对照组均有显著提升。Li等^[19]研究表明,锂掺杂HA支架具备接受骨髓间充质干细胞预植入并应用于骨组织再生的潜力。而与铜相似的,Riaz等^[20]通过将银掺入HA从而实现了较为理想的抗菌效果。

除此之外,需要注意的是,不单单是金属元素能够对HA产生改性作用,如硅^[21]、硼^[22]、硒^[23]等也能够通过对HA的优化而达到促进骨组织再生的效果。

2 多种元素掺杂改性羟基磷灰石在骨缺损植入中的应用

相较于单一元素掺杂,多种元素如金属-金属、金属-非金属^[24]联合应用掺杂改性HA的研究近年来越来越受到研究者的重视,如锶-铁共掺杂、锌-镁共掺杂乃至三元素共掺杂^[25]等,也得到了进一步的研究与报道。

2.1 锶-铁共掺杂羟基磷灰石

锶、铁在骨修复领域均有着极为广泛的应用,也是用于HA改性的常用元素。Basu等^[26]用锶-铁共掺杂的方式制备双相磷酸钙,证明了其对成骨效应的促进作用,并且通过改变掺杂浓度及配比,实现了对成骨诱导能力的调控。Ullah等^[27-28]将锶-铁共掺杂的方案应用于HA的改性,抗菌实验、细胞增殖实验及成骨分化实验等证明改性后的HA具备更好的抗菌能力、生物相容性以及成骨诱导能力,这为在骨缺损植入领域的进一步应用提供了支持。Yang等^[29]利用低温3D打印技术,制备了锶-铁HA/聚己内酯(PCL)复合支架,并通过体内外实验证明,含有锶、铁的复合支架相较于单一含锶或含铁的支架,具备更强的成骨诱导能力以及成血管诱导能力。更为重要的是,锶-铁共掺杂HA支架表现出了较好的免疫调节功能,使巨噬细胞能够向M2型细胞转化,并且通过条件培养基培养细胞的方式发现,这些对免疫细胞的调节作用对于成骨以及成血管过程均是有益的。综上,锶-铁共掺杂HA在骨缺损修复领域拥有十分广阔的应用前景。

2.2 锌-X共掺杂羟基磷灰石的研究

锌常以合金形式被应用于骨移植领域,在锌掺杂HA方面同样有着较深的研究,其较好的抗菌以及成骨诱导能力是使其受到青睐的因素。然而锌本身的生物相容性是有限的,

因此引入新的元素对其进行优化则成了可行的办法。Alioui等^[30]对比不同比例掺入锌、镁的材料抗菌性能,发现高浓度的锌掺入具有显著的抗菌作用,而总浓度相同的锌—镁共掺杂同样表现出了优异的抗菌能力。但若是过高浓度的锌,则显著降低了材料的生物相容性。Kazimierczak等^[31]合成壳聚糖/琼脂糖/纳米HA复合支架,通过对锌、镁以及共掺杂HA的对比,证明掺入镁元素对锌—HA的生物相容性有着显著的提升,同样的,共掺杂HA的成骨诱导能力同样优于锌的单独掺入。

另一方面,Wu等^[32]通过对锌—钪共掺杂HA的研究,并制备了壳聚糖/明胶/HA复合支架发现,共掺杂HA的支架在碱性磷酸酶染色以及茜素红染色中均有更好的表现,且同时具备更强的抗菌能力。

3 小结与展望

本文明确说明,利用金属元素掺杂HA或者与其他金属、非金属联合应用,能够显著提升HA的生物相容性、降解能力、骨诱导能力以及抗菌能力等。区别于早期研究相对聚焦于理化性质等,近年来研究者进行了更多的生物学评估,包括体内、体外对应的实验研究,以及生物相容性、成骨能力、成血管能力、免疫调节能力等多方面生物学功能的评价,使掺杂改性HA的研究得到进一步完善。

然而,如何使植入材料释放的离子达到最佳比例,从而实现降解性能、力学性能达到生物学功能的最佳平衡,以及如何解决植入物易引起的免疫原性反应等,依然没有一个最优的解决方案,距离在临床上得到实际有效的应用仍有较大的距离。而越来越多的研究表明,在掺杂其他元素改性HA的基础上,利用其他技术及工艺,能够使材料的性能更加优化以及全面。对此,有以下可能的解决方案:①利用多种新型生物材料(如天然细胞外基质)所具备的低免疫原性、较好的降解性、优异的生物相容性和成骨成血管诱导能力,与HA形成复合支架,从而改善其性能。②通过新型工艺如静电纺丝技术,将HA/天然细胞外基质制备成具有有序定向结构的生物诱导膜,从而进一步优化其诱导血管、神经长入骨缺损部位的能力。③通过掺入磁性元素如铁等,通过磁性3D打印技术制得具有顺磁性的生物复合支架,利用外加磁场改善其生物学功能。④在应用功能元素掺杂的同时,引入微纳结构的设计,达到协同促进成骨效应的目的,也是未来材料设计极具前景的方向之一。随着研究的不断深入,新工艺、新材料的不断研发,相信最终会有多种合适的生物材料能够应用于骨缺损的临床治疗应用。

参考文献

- [1] Tampieri A, D'Alessandro T, Sandri M, et al. Intrinsic magnetism and hyperthermia in bioactive Fe-doped hydroxyapatite[J]. Acta Biomater, 2015, 8(2): 843-851.
- [2] Gabriel LP, dos Santos MEM, Jardini AL, et al. Bio-based polyurethane for tissue engineering applications: How hydroxyapatite nanoparticles influence the structure, thermal and biological behavior of polyurethane composites[J]. Nanomedicine, 2017, 13(1): 201-208.
- [3] Shepherd JH, Shepherd DV, Best SM. Substituted hydroxyapatites for bone repair[J]. J Mater Sci Mater Med, 2012, 23(10): 2335-2347.
- [4] O'Neill E, Awale G, Daneshmandi L, et al. The roles of ions on bone regeneration[J]. Drug Discov Today, 2018, 23(4): 879-890.
- [5] Baba Ismail YM, Wimpenny I, Bretcanu O, et al. Development of multi-substituted hydroxyapatite nanopowders as biomedical materials for bone tissue engineering applications[J]. J Biomed Mater Res A, 2017, 105(6): 1775-1785.
- [6] Ratnayake JTB, Mucalo M, Dias GJ. Substituted hydroxyapatites for bone regeneration: A review of current trends[J]. J Biomed Mater Res B Appl Biomater, 2017, 105(5): 1285-1299.
- [7] Hu B, Meng ZD, Zhang YQ, et al. Sr-HA scaffolds fabricated by SPS technology promote the repair of segmental bone defects[J]. Tissue Cell, 2020, 66: 101386.
- [8] Li JF, Liu XF, Park S, et al. Strontium-substituted hydroxyapatite stimulates osteogenesis on poly(propylene fumarate) nanocomposite scaffolds[J]. J Biomed Mater Res A, 2019, 107(3): 631-642.
- [9] Wei YQ, Gao HC, Hao LJ, et al. Constructing a Sr^{2+} -substituted surface hydroxyapatite hexagon-like microarray on 3D-plotted hydroxyapatite scaffold to regulate osteogenic differentiation[J]. Nanomaterials, 2020, 10(9): 1672.
- [10] Shi HS, Yang SY, Zeng SH, et al. Enhanced angiogenesis of biodegradable iron-doped octacalcium phosphate/poly(lactic-co-glycolic acid) scaffold for potential cancerous bone regeneration[J]. Appl Mater Today, 2019, 15: 100-114.
- [11] Fernandes Patricio TMF, Mumcuoglu D, Montesi M, et al. Bio-inspired polymeric iron-doped hydroxyapatite microspheres as a tunable carrier of rhBMP-2[J]. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl, 2021, 119: 111410.
- [12] Díaz E, Valle MB, Ribeiro S, et al. Development of magnetically active scaffolds for bone regeneration[J]. Nanomaterials, 2018, 8(9): 678.
- [13] Walmsley GG, Ransom RC, Zielins ER, et al. Stem cells in bone regeneration[J]. Stem Cell Rev Rep, 2016, 12(5): 524-529.
- [14] Kong N, Lin KL, Li HY, et al. Synergy effects of copper and silicon ions on stimulation of vascularization by copper-doped calcium silicate[J]. J Mater Chem B, 2014, 2(8): 1100-1110.
- [15] Simon AT, Dutta D, Chattopadhyay A, et al. Copper nanocluster-doped luminescent hydroxyapatite nanoparticles for antibacterial and antibiofilm applications[J]. ACS Omega, 2019, 4(3): 4697-4706.
- [16] Chi WC, Zou JW, Ai FR, et al. Research of Cu-doped hydroxyapatite microbeads fabricated by pneumatic extrusion printing[J]. Materials, 2019, 12(11): 1769.
- [17] Mou P, Peng HT, Zhou L, et al. A novel composite scaffold of Cu-doped nano calcium-deficient hydroxyapatite/multi-(amino acid) copolymer

- for bone tissue regeneration[J]. *Int J Nanomedicine*, 2019, 14: 3331-3343.
- [18] Luo Y, Li DH, Zhao JH, et al. In vivo evaluation of porous lithium-doped hydroxyapatite scaffolds for the treatment of bone defect[J]. *Biomed Mater Eng*, 2018, 29(6): 699-721.
- [19] Li DH, Liu HF, Jinhai ZH, et al. Porous lithium-doped hydroxyapatite scaffold seeded with hypoxia-preconditioned bone-marrow mesenchymal stem cells for bone tissue regeneration[J]. *Biomed Mater*, 2018, 13(5): 055002.
- [20] Riaz M, Zia R, Ijaz A, et al. Synthesis of monophasic Ag doped hydroxyapatite and evaluation of antibacterial activity [J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2018, 90: 308-313.
- [21] Vila M, García A, Girotti A, et al. 3D silicon doped hydroxyapatite scaffolds decorated with Elastin-like Recombinamers for bone regenerative medicine[J]. *Acta Biomater*, 2016, 45: 349-356.
- [22] Pazarçeviren AE, Tezcaner A, Keskin D, et al. Boron-doped biphasic hydroxyapatite/ β -tricalcium phosphate for bone tissue engineering [J]. *Biol Trace Elem Res*, 2021, 199(3): 968-980.
- [23] Zakhireh S, Adibkia K, Beygi-Khosrowshahi Y, et al. Osteogenesis promotion of selenium-doped hydroxyapatite for application as bone scaffold[J]. *Biol Trace Elem Res*, 2021, 199(5): 1802-1811.
- [24] Alshemary AZ, Pazarçeviren A, Tezcaner A, et al. $\text{Fe}^{3+}/\text{SeO}_4^{2-}$ dual doped nano hydroxyapatite: A novel material for biomedical applications[J]. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 2018, 106(1): 340-352.
- [25] Gao JY, Wang M, Shi C, et al. A facile green synthesis of trace Si, Sr and F multi-doped hydroxyapatite with enhanced biocompatibility and osteoconduction[J]. *Mater Lett*, 2017, 196: 406-409.
- [26] Basu S, Ghosh A, Barui A, et al. (Fe/Sr) Codoped biphasic calcium-phosphate with tailored osteoblast cell functionality[J]. *ACS Biomater Sci Eng*, 2018, 4(3): 857-871.
- [27] Ullah I, Li WC, Lei S, et al. Simultaneous co-substitution of $\text{Sr}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ in hydroxyapatite nanoparticles for potential biomedical applications [J]. *Ceram Int*, 2018, 44(17): 21338-21348.
- [28] Ullah I, Zhang WC, Yang L, et al. Impact of structural features of Sr/Fe co-doped HAp on the osteoblast proliferation and osteogenic differentiation for its application as a bone substitute[J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2020, 110: 110633.
- [29] Yang L, Ullah I, Yu KD, et al. Bioactive $\text{Sr}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ co-substituted hydroxyapatite in cryogenically 3D printed porous scaffolds for bone tissue engineering[J]. *Biofabrication*, 2020, 13(3).
- [30] Alioui H, Bouras O, Bollinger JC. Toward an efficient antibacterial agent: Zn- and Mg-doped hydroxyapatite nanopowders[J]. *J Environ Sci Health A Tox/Hazard Subst Environ Eng*, 2019, 54(4): 315-327.
- [31] Kazmierczak P, Kolmas J, Przekora A. Biological response to macroporous chitosan-agarose bone scaffolds comprising Mg- and Zn-doped nano-hydroxyapatite[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(15): 3835.
- [32] Wu SQ, Ma SZ, Zhang C, et al. Cryogel biocomposite containing chitosan-gelatin/cerium-zinc doped hydroxyapatite for bone tissue engineering [J]. *Saudi J Biol Sci*, 2020, 27(10): 2638-2644.

【作者简介】 於可达(1994-)男, 硕士。研究方向: 骨再生。

*【通信作者】 郭晓东(1970-)男, 博士, 主任医师。研究方向: 干细胞组织工程学、脊髓损伤及纳米仿生材料。

(收稿日期: 2021-03-22)