无机纳米材料在骨组织工程与再生医学中的应用

靳祎^{1,3}, 葛昆^{1,2}, 刘丹丹^{1,2}, 张金超^{1,2}, 刘会芳^{1,4*}, 梁兴杰^{5*}

1. 河北大学, 药物化学与分子诊断教育部重点实验室, 保定 071002;

2. 河北大学化学与环境科学学院, 保定 071002;

3. 河北大学医学院, 保定 071002;

4. 河北大学药学院, 保定 071002;

5. 国家纳米科学中心, 中国科学院纳米生物效应与安全性重点实验室, 北京 100190

* 联系人, E-mail: liuhuifang@hbu.edu.cn; liangxj@nanoctr.cn

2018-08-13 收稿, 2018-09-24 修回, 2018-10-11 接受, 2018-11-15 网络版发表

国家自然科学基金(31500812, 31470961)、河北省自然科学基金(B2017201230)、河北省高等学校科研项目(QN2015230)、留学回国人员科技活动择优资助项目(CG2015003009)、河北大学开放实验室项目(sy201664)和国家自然科学基金-马普研究基金(31761133013)资助

摘要 自组织工程与再生医学概念提出以来, 组织工程与再生医学特别是骨组织工程与再生医学得到了突飞猛进的发展. 支架材料作为骨组织工程与再生医学三要素之一扮演着至关重要的角色. 10余年来, 大量的研究工作围绕支架材料展开. 纳米生物材料尤其是无机纳米生物材料, 具有优良的机械性能和生物相容性, 成为制备骨组织工程与再生医学支架材料的理想选择, 呈现出广阔的应用前景. 本文对近年来无机纳米材料, 包括羟基磷灰石、硅基纳米材料, 含碳纳米材料及几种金属纳米材料在骨组织工程与再生医学中的应用进行综述.

关键词 无机纳米材料, 骨组织工程与再生医学, 支架

在全球范围内, 众多骨损伤患者每年都遭受着病痛的折磨, 而造成骨损伤的原因很多, 如年龄、运动、疾病和创伤等. 自19世纪以来, 自体骨或异体骨材料体内移植一直是人们用来修复大面积骨损伤的方法, 然而这些材料自身就存在着不可忽视的缺陷. 自体骨移植虽易被患者接受, 但是会给患者造成新的创伤和痛苦, 异体骨材料虽然取材方便, 但是存在疾病传播和免疫排斥的风险, 从生物安全上很难达到令人满意的修复效果^[1-3]. 骨组织工程与再生医学在这种背景下应运而生, 给骨修复带来新的期盼. 骨组织工程与再生医学是通过“智能”操控种子细胞、支架材料和生长因子来模拟天然骨组织的微环境从而促进骨母细胞的增殖、分化及细胞外基质形成, 最终实现骨重建^[4]. 其中支架材料是骨组织工程与再生医学的关键, 同时也是研究力量投入最多的方向, 一方

面其作为载体将种子细胞及生长因子运送至损伤部位, 另一方面支撑着新骨的生长. 目前, 在临床治疗中人工制备的材料用作硬组织修复材料越来越广泛, 因此硬组织修复材料成为了临床需求的最大领域之一, 而材料研发成为生物医用材料发展最重要的一个方向. 理想的人工骨修复替代材料应具备以下特性^[5]: (1) 优良的机械性能; (2) 良好的可加工性和临床操作性; (3) 较好的生物学特性或可降解性; (4) 良好的骨传导性和诱导性. 人工骨修复材料的发展按其演变历程简单分为3个阶段^[6]. 第1阶段: 20世纪60~70年代, 主要是第一代生物材料, 如部分骨衍生材料、金属材料、生物陶瓷等, 这一代生物材料对宿主的应答较小; 第2阶段: 20世纪80年代, 生物活性玻璃($\text{Na}_2\text{O}-\text{CaO}-\text{P}_2\text{O}_5-\text{SiO}_2$)、羟基磷灰石(HA)等, 并研究出了生物体可吸收材料, 最终被再生出的组织

引用格式: 靳祎, 葛昆, 刘丹丹, 等. 无机纳米材料在骨组织工程与再生医学中的应用. 科学通报, 2018, 63: 3808-3824

Jin Y, Ge K, Liu D D, et al. Application of inorganic nanomaterials in bone tissue engineering and regenerative medicine (in Chinese). Chin Sci Bull, 2018, 63: 3808-3824, doi: 10.1360/N972018-00826

替代,如HA/聚乳酸(PLA)复合材料等.第2代生物材料缺乏生物化学刺激的响应性,因此降低了其使用功能,缩短了其寿命;第3阶段:20世纪90年代至今,各类复合材料特别是无机复合材料取得了长足发展,并且随着纳米学、材料学、细胞生物学、组织工程与再生医学的发展和进步,纳米材料和仿生材料已经成为骨修复材料的主要发展趋势.

纳米骨修复材料是一类由人工合成、具有多种优良理化特性(如机械强度高、比表面积大等)和生物学特性(如生物相容性好、可降解、能诱导骨细胞和血管生长等)的新型骨修复材料.近年来,用于骨组织修复的主要有无机材料(羟基磷灰石、纳米陶瓷、无机金属等)、纳米聚合物、纳米仿生骨等.其中,无机材料因其具有强度高、加工方便、较好生物学特性等优点使其具有广阔的应用前景^[7-9].另外,由于天然组织或者器官是通过细胞与纳米尺度的细胞外基质相互影响而形成的,那么纳米材料的生物仿生性及生化特性对于促进细胞生长及诱导组织重建至关重要.为了较好模拟细胞外基质的结构,无机材料被设计成不同形貌,如纳米纤维、纳米管、纳米颗粒及水凝胶等,用于细胞外基质的重组^[10].本文以无机纳米材料为重点,详细介绍了羟基磷灰石纳米材料、硅基纳米材料、碳纳米材料及多种无机金属纳米材料在骨组织工程与再生医学中的应用.

1 纳米羟基磷灰石在骨组织工程与再生医学中的应用

纳米羟基磷灰石(nanohydroxyapatite, nHA)是天然骨骼中主要的无机成分,是一种具有代表性的生物活性材料. nHA具有良好的骨传导性、生物活性、骨结和性等特点成为良好的骨修复替代材料.近10年来, nHA作为人工骨材料在再生医学领域中逐渐兴起.研究人员致力于改进nHA合成策略和加工方法,使nHA的功能多样化,应用范围广泛化.各种各样的nHA相继出现,如单一的nHA支架、nHA的复合材料等,而研究这些材料的性能和应用成为当今的主题.

1.1 单一nHA支架

在骨组织工程与再生医学中,人们将HA做成不同结构的支架材料来研究其对蛋白吸附和细胞行为的影响. nHA的微孔和介孔结构,为细胞外基质蛋白

的吸附提供了可能的位点,影响细胞在材料表面黏附和组织生成. Zhu课题组^[11]研究表明多孔的nHA有利于低分子蛋白或转录因子的吸附,特别是孔径为20 nm的nHA具有很强的纤维蛋白和胰岛素吸附能力.另外, nHA支架材料表面的粗糙程度对骨细胞的活性、黏附及分化也具有很大的影响. Iwamoto等人^[12]通过将nHA和多聚物混合煅烧得到HA支架.光滑材料表面由nHA聚集而成,其晶格间距在微米级别;而呈凹凸材料的表面由nHA聚集后煅烧得到,晶格间距在纳米级别.骨细胞在光滑材料表面的黏附性能要显著好于在凹凸表面. nHA的结晶度和溶解度也会影响吸附蛋白质的浓度、pH及介质的离子浓度. John等人^[13]研究显示,低溶解度的nHA表面有助于成骨细胞(MG-63)的早期附着、贴壁和伪足延展.而 β -磷酸三钙则会在培养基中发生溶解,导致培养基的低Ca, Mg和碱性磷酸酶(ALP)水平,以及高P水平,其表面的细胞也呈碎片化.但随着培养时间的延长, nHA和磷酸三钙均产生抑制细胞迁移和生长的作用.其原因可能是 β -磷酸三钙会快速溶解释放出磷酸根和钙离子,而 Ca^{2+} 则会再从培养基中沉淀到 β -磷酸三钙上,从而导致磷灰石结晶度的相变.另外, nHA的不同Ca和P的比例对成骨分化也有着显著的影响.通过酸刻蚀技术,发现30%磷酸蚀刻可以有效地改变Ca/P比,并且可以加速成骨细胞MC3T3-E1的初始黏附,增殖和分化^[14].通过研究成骨细胞对普通nHA和钙缺陷nHA两种材料的生物效应,发现其对成骨细胞的活性和ALP的产生均有促进作用,钙缺陷nHA的成骨分化能力要显著高于普通nHA^[15].单一nHA支架的粒径对骨细胞的生物学功能也起到重要的调控作用. Cai等人^[16]研究不同粒径的nHA对骨髓间充质干细胞(MSCs)和骨肉瘤细胞的影响,结果表明nHA促进MSCs的增殖、黏附,抑制骨肉瘤细胞的生长,尤其是尺寸为20 nm的颗粒作用效果最佳.认为小粒径的nHA颗粒更易于促进成骨细胞的黏附、增殖、分化及生物矿化,进而加速骨的修复.我们课题组通过水热法合成了3种不同形貌和尺寸的缺陷发光HA纳米/微米粒子对小鼠原代成骨细胞(OBs)的生物效应,发现其通过胞内和胞外两条途径共同作用促进OBs矿化.短棒(直径为25 nm,长度为30~50 nm)和长棒(直径为25 nm,长度为70~110 nm)通过大胞饮和穴样内陷途径进入OBs,定位于溶酶体,在酸性环境下释放出 Ca^{2+} ,为细胞矿化提供了 Ca^{2+} 源.而棒状

HA自组装成的微米级刺球(直径为5~6 μm)则无法进入细胞^[17]. 不过细胞外的3种nHA颗粒均可以作为矿化核, 同样促进原代成骨细胞的矿化.

为了模拟支架降解后产生的微小纳米粒子对BMSCs成骨分化的影响, 本课题组^[18]合成出长约100 nm、宽约40 nm的长棒状结构的nHA, 以模拟支架降解后产生的微小纳米粒子对BMSCs成骨分化的影响. 研究发现nHA被细胞内吞后进入溶酶体, 在酸性环境中逐渐分解出磷酸根离子, 磷酸根离子进入到线粒体中与二磷酸腺苷(ADP)结合产生大量的三磷酸腺苷(ATP), ATP分解产物腺苷与膜上A2b腺苷受体结合激活腺苷酸环化酶(AC), 从而促进ATP转化为环磷酸腺苷(cAMP), 最终激活环磷酸腺苷/蛋白激酶(AcAMP/PKA)信号通路以促进BMSCs的成骨分化. 机理如图1所示, nHA对骨分化分子机制的探讨为其临床应用提供了理论依据.

为了研究nHA对体内骨修复的作用, 研究工作者建立了系统、科学的分析方法用于评价nHA对骨细胞分化、骨修复及骨再生的能力. Zhu等人^[19]建立了新西兰大白兔双桡骨缺损模型, 对比植入nHA材料和不植入组对骨修复的影响, 结果显示, nHA的植入促进了骨愈合能力, 且在诱导骨性上有统计学差异. 另一个体内研究实例是将nHA和微米级别的HA移植到骨缺损位点, 3~12周后发现两者诱导的骨形成和血管生成潜能与小梁骨相当, 没有显著性差异. 但是, 12周后移植nHA材料的部位可观察到明显的骨内生

长. 上述研究证明nHA能够模拟骨小梁, 在整形外科手术应用中具有巨大的潜力. 但是, 传统单一的HA机械性能较差, 主要表现在临床应用中承载力低, 这便极大地限制了它的应用范围^[20].

1.2 HA/聚合物/细胞因子复合材料

传统的HA具有机械性能差、脆性高、韧性差等缺点, 为了改善其力学性能, Bonfield等人^[21]受到天然骨有机成分可增强无机成分机械性能启发, 最先提出了生物陶瓷/聚合物复合材料的概念, 在HA中掺入聚苯乙烯制备出类似骨基质的HA复合材料. 该材料显著提高了HA的机械性能, 增加了韧性及生物活性. 另外, HA中掺入可降解聚合物, 如胶原纤维、蚕丝蛋白、聚乳酸、凝胶、壳聚糖等制备出的HA/复合材料已经进入临床前期的研究阶段. 每种聚合物的性能不同, 对于改善HA机械性能的程度也有所不同^[22]. 胶原蛋白是天然骨组织中最丰富的聚合物蛋白, HA中掺入胶原蛋白为细胞提供更多的活性位点, 提升材料的可降解性, 进而加快新骨的再生. 然而, 由于胶原蛋白存在潜在的抗原性和病原体传染性, 而且成本较高, 因此限制了它的应用范围^[23]. 明胶作为胶原蛋白的替代物, 具有多个整合素位点, 它没有免疫原性, 对细胞的黏附起到关键作用. 此外, 支架材料上负载骨形态发生蛋白2(BMP2)和表皮生长因子等对于提高骨诱导性和局部血液运输性能起到良好的促进作用^[24~26]. 有学者提出锶(Sr)元素可能在骨骼发育和骨修复中发挥重要作用^[27~29], 近年来引起了众多学者的兴趣和关注. 目前, Sr被掺杂入许多生物活性材料中, 弥补了现有生物活性材料在成骨诱导性和降解性等方面的不足, 实现了骨修复生物材料的多功能性, 在骨组织工程与再生医学中得以广泛应用. Hao等人^[30]采用化学沉淀法合成了一种粒径在600~800 nm的锶掺杂纳米羟基磷灰石(nano-Sr-HA), 与nHA相比, 100 $\mu\text{g/mL}$ nano-Sr-HAP (锶/磷的摩尔比1.67)显著增强了成骨细胞黏附、增殖和细胞活力, 而且增强了MSCs细胞的ALP活性, 是nano-HAP组的2.18倍, 证实锶具有骨诱导的特性. 结果表明在纳米羟基磷灰石中引入锶元素后, 其性能得到明显改善, 可以用于修复骨质疏松性骨折引起的骨缺损. 本课题组^[31]之前采用仿生矿化的方法在聚乳酸多孔支架的表面沉积掺锶的nHA(掺杂Sr的比率为20%), 通过沉积Sr-HA有效改善聚乳酸的疏水性, 缓

图1 nHA通过cAMP/PKA信号通路促进BMSCs成骨分化的示意图^[18]

Figure 1 Schematic model of the nHA contribution to the osteogenic differentiation of BMSCs through cAMP/PKA signaling pathway^[18]

解聚乳酸降解产生的酸性, 并且通过掺入Sr来增加聚左旋乳酸(PLLA)的成骨性能, 其成骨性能为单一PLLA的2.04倍(图2)。

生物陶瓷/生物聚合物复合材料具有较好的孔隙率, 较优的力学性能和生物特性是人工骨材料的理想选择^[32]。近年来, 纳米壳聚糖复合生物材料在组织工程与再生医学应用引起广泛的关注。与单一的壳聚糖支架相比, nHA/壳聚糖复合支架的孔隙率高达95%, 孔径为20~60 μm , 且具有良好的生物相容性^[33]; 另外, nHA/壳聚糖复合材料具有良好的矿化能力, 表现在形成稳定的HA, 且促进细胞ALP的表达^[34]。文献报道, nHA/壳聚糖纤维支架能够诱导BMSCs的成骨分化, 并促进MSCs的黏附和增殖, 在分子水平上, 上调成骨相关基因表达, 如I型胶原蛋白、ALP、骨钙素、骨涎蛋白等基因^[35]。Tang等人^[36]研究认为天然HA/壳聚糖复合材料能够与硬骨组织很好地相容, 并诱导骨形成, 因此该材料作为骨组织工程与再生医学中的人工骨移植物和支撑材料具有巨大潜力。另外, Zhang课题组^[37]利用静电纺丝技术制备的HA/壳聚糖复合纳米纤维具有类似天然骨纤维结构, 该材料掺入生物聚合物可提高材料的机械性能, 而nHA的掺入有助于成骨细胞的黏附和增殖。体内研究同样证明了nHA促进骨的形成与再生^[38]。Fricain等人^[39]对比掺杂或不掺杂nHA的具有直链结

构的天然淀粉和葡聚糖的骨修复潜能。结果显示, 掺入nHA的复合物支架诱导形成磷灰石层, 有利于形成皮下致密组织、致密矿化物及骨移植位点早期骨的再生。另一个异位移植的研究表明在功能化的多孔纳米磷酸钙/钛合金支架上接种骨膜细胞, 并将其移植到骨缺损部位, 可以观察到大量的新骨生成^[40]。除此之外, 将干细胞及生长因子与nHA预培养, 然后将其移植到兔颅骨缺损模型中, 结果发现, 经过移植6和12周后观察到29.45%和44.55%新骨区的形成。因此, 将干细胞特别是人骨髓间充质干细胞(骨再生的金标准)预培养在nHA支架上能够极大的提升骨再生, 并已经成功应用到临床。刘昌胜团队^[41]在钙磷基纳米材料上有着深厚的研究, 认为磷酸骨钙水泥(CPC)作为不同形式磷酸钙的混合物同样对骨修复行为有重要的影响。刘昌胜课题组^[42]报道了由无水磷酸四钙和磷酸二钙混合而成的CPC能够与HA晶体形成水合物, 该材料具有较低结晶度和较高的水溶性, 使CPC纳米晶体具有较好的机械性能和较高的生物吸收性能, 促进相关成骨细胞体内矿化及HA/胶原蛋白基质的形成。该团队报道的CPC首次运用在国内临床上。此外, 该团队的另外一项研究认为多孔 β -磷酸三钙(β -TCP)具有较好的生物相容性和骨传导性, 但缺乏稳定的结构和机械性能, 限制了其在骨修复中的应用。基于此问题, 该团队将 β -TCP与生物可降解

图2 聚乳酸表面沉积掺锶羟基磷灰石多孔支架的制备及其用于骨修复的研究^[31]

Figure 2 Scheme of the preparation and bone defect repair of the strontium-doped hydroxyapatite on porous poly(L-lactic acid) (Sr-HA/PLLA) porous scaffold^[31]

的聚乳酸(PLA)和聚己内酯(PCL)杂合形成 β -TCP/PGS介孔支架材料,该支架具有多孔互通结构和较好的机械性能,提高了相关骨细胞的穿透性、增殖能力及矿化能力。

2 硅基生物活性材料在骨组织工程与再生医学上的应用

硅作为动物和人体组织中不可或缺的一种微量元素,其吸收水平直接影响到骨的密度,特别是在幼骨发育阶段,硅在主要“富集”在新骨钙化区域,并协同钙促进早期骨组织钙化,硅缺失会造成新生骨的畸变^[43]。因此,在深刻认识到硅元素在人体的重要作用后,人们系统研究了用作骨修复的硅酸盐或硅基生物材料。研究发现某些硅酸盐或介孔硅基纳米材料在力学、降解性及生物学效应方面都表现出了独特的优点。

2.1 生物活性玻璃

20世纪70年代, Hench^[44]便利用高温融化法制备出最早的硅基生物材料——生物活性玻璃(SCNA)。其研究结果认为硅酸盐生物玻璃通过上调成骨细胞相关基因表达促进临床应用中的骨再生^[45]。基于上述研究,并伴随着溶胶-凝胶法的发展,不同比例的二氧化硅(SiO_2)生物活性玻璃也相继被制备出来^[46]。但是,无论是通过传统的制备方法还是溶胶-凝胶法制备的SCNA,均具有较差的机械性能,如脆性高、易断裂、韧性低等缺点^[47]。与SCNA来说,硅酸盐生物活性陶瓷的研究起步较晚。1982年,人们发现生物活性陶瓷中含有硅灰石(硅酸钙- CaSiO_3)相。因此,西班牙的De Aza等人^[48]受到活性陶瓷的启发,在20世纪90年代系统研究了用作生物陶瓷的硅酸钙的一些理化特性。自从20世纪90年代以来,硅酸钙陶瓷作为生物活性材料的研究迅速发展,制备出了一系列具有不同组成的硅酸盐生物活性陶瓷^[49]。按照组成成分不同可分为:两元组分,如 SrO-SiO_2 , MgO-SiO_2 , ZnO-SiO_2 , CaO-SiO_2 等硅酸盐体系陶瓷;三元组分,如 ZnO-CaO-SiO_2 , $\text{TiO}_2\text{-CaO-SiO}_2$, $\text{ZrO}_2\text{-CaO-SiO}_2$, $\text{Na}_2\text{O-ZnO-SiO}_2$, SrO-CaO-SiO_2 , $\text{P}_2\text{O}_5\text{-CaO-SiO}_2$ 等;四元组分,主要有 SrO-ZnO-CaO-SiO_2 等。由于硅酸盐陶瓷具有较广泛的组成,因此对其力学性能的调控较高。文献报道,生物活性陶瓷促进骨细胞分化,

并形成类骨磷灰石过渡层,使材料与骨细胞形成牢固结合,提高修复效果^[50,51]。另外,硅酸盐生物活性陶瓷的浸提液显著地促进组织细胞的增殖、分化甚至相关基因表达。与传统的HA比较,硅酸盐体系陶瓷的浸提液对成骨细胞(OB)、骨髓基质干细胞(BMSCs)、成纤维细胞(L929)、脂肪干细胞(ADC)以及牙周细胞(PDLC)的增殖和分化具有促进作用,但传统的羟基磷灰石的离子产物并没有这样的促进作用^[52]。Shen等人^[53]将掺铈的硼硅酸盐支架植入大鼠胫骨缺损模型中,发现可以促进成骨细胞的增殖、磷灰石形成和新骨发育。Strobel等人^[54]合成了一种直径为30~35 nm的Sr-掺杂纳米生物活性玻璃,评估其对骨髓基质细胞(hBMSCs)成骨分化能力的影响。发现Sr-掺杂的纳米生物活性玻璃显著上调了骨钙蛋白、I型胶原蛋白和血管内皮生长因子(VEGF)的表达。可促进hBMSCs的成骨分化和血管生成特性。Gentleman等人^[55]通过将Sr掺入复合生物活性玻璃($\text{SiO}_2\text{-P}_2\text{O}_5\text{-Na}_2\text{O-CaO}$)支架材料,发现释放的 Sr^{2+} 增强了成骨细胞的代谢活性,抑制了破骨细胞活性,而且成骨细胞增殖和ALP活性与铈掺入有直接关系,是一种优良的骨再生支架材料。上述研究初步证实了硅基材料在骨修复中独特效果,为进一步发展第3代纳米骨修复生物材料奠定了基础。

2.2 介孔硅纳米材料

骨具有三维组织结构,并且组织内细胞在三维环境中生长。对于骨组织工程与再生医学来说,三维结构的支架材料能够更好的模拟骨结构,引导新生组织成三维结构生长。因此,发展第3代纳米生物材料成为研究者的共同目标。介孔材料的孔径介于2~50 nm,具有弹性规则的孔径结构、比表面积高、孔径分布狭窄等特点,使得它在模拟骨组织及再生医学三维结构中发挥作用。特别是硅基介孔纳米材料因其孔径尺寸均一、比表面积大及孔容积大等特点成为骨组织修复材料的研究热点。Fiorilli课题组^[56]通过电泳沉积(EPD)将介孔硅纳米沉积在生物活性玻璃和陶瓷上,形成介孔硅活性玻璃(MBG)。该材料具有较好的机械性能可承受高强度的骨折修复或复位。另外,由于密集的孔径结构和较好生物相容性,使其在关节置换中发挥优良作用。近来,Zhang等人^[57]制备出3种MBG支架材料,并且在其中2种材料表面成功氨基化和羧基化。这3种材料体内、外均展现出卓

越的促进骨再生特性。特别是,表面氨基化的N-MBG材料带有正电荷促进了细胞的黏附、增殖、分化和迁移。另外,通过体内建立兔股骨缺损模型,并将N-MBG和MBG材料植入缺损部位来观察骨形成情况。12周后结果显示,N-MBG移植材料新骨形成面积达38%,而MBG支架材料只达到12%,体内结果进一步证实N-MBG显著提高新骨再生能力。此外,Xia课题组^[58]利用水热法制备出介孔硅羟基磷灰石支架材料,该材料具有丰富的孔径(约100 nm)结构和均一的纳米形貌,使其极大地提高了兔源骨髓间充质干细胞(rBMSCs)贴附、延展、增殖及成骨分化。分子水平上,该材料促进了I型胶原蛋白、BMP2、骨涎蛋白和骨桥蛋白的高表达。进一步,体内建立兔颅骨骨缺损模型,通过micro-CT和组织学分析深入探讨了该材料的骨修复和骨再生能力。

目前,纳米支架材料的活性及其修复骨组织速度和能力是研究骨组织修复材料的主要目标,而在骨缺损部位引入生长因子是提高骨修复速度的重要手段。硅基多级微纳米结构支架材料能够模拟自然骨的三维结构,被认为具有良好的体内外成骨性能^[59]。Yun等人^[60]通过溶胶-凝胶法制备出多级三维微纳米结构的活性玻璃(MMBG),该材料具有良好的模塑性和压缩模量。研究结果显示,MMBG具有良好的细胞相容性,促进MG-63贴壁及增殖。另外,Sogo团队^[61]报道了镁、锌和锶掺杂的多级微纳米生物活性玻璃(HMMBG),该材料具有多级空隙结构,在培养基中能够逐级释放钙、磷、硅、镁、锌和锶,从而提高了间充质干细胞(MSCs)的增殖能力和碱性磷酸酶(ALP)的活力,促进了骨形成。近年来,刘昌胜团队^[62]探索多级微纳米材料模拟自然骨的三维结构原理,通过微纳米结构介导生长因子的装载和释放,促进受损骨组织快速修复。他们将装载布洛芬的中空介孔二氧化硅微球与聚(1,8-辛二醇-柠檬酸盐)和 β -磷酸钙通过三维打印技术制备成支架材料(IBM loaded SiO_2/β -TCP/POC)。该材料具有较好的多级微纳米联通孔状结构(大孔隙为350~450 μm ,小孔隙为3.65 nm)及良好的生物相容性。另外,该材料具有良好的抗菌作用,对于修复细菌感染的骨折具有巨大的应用潜力。

聚甲基丙烯酸酯是整形外科常用的填充材料,但是由于其机械性能差往往会导致整形或移植失败,这就迫切需要发展出机械性能较好的替代材料。随

着纳米技术的发展,通过掺杂纳米颗粒或者纳米线能够实现此目的。介孔硅纳米颗粒的大比表面积使其具有与碳纳米管类似的聚合物增固性,其球形结构使其分散性大大提高,这一点碳纳米管望尘莫及^[63]。Slanea等人^[64]研究了掺杂了介孔硅纳米颗粒的聚丙烯酸修复材料的机械性能及其骨修复应用。该研究中,介孔硅纳米颗粒与丙烯酸按照0.5 wt%(质量百分比),2 wt%和5 wt%的比例掺杂,并探讨不同比例掺杂材料的机械性能、疲劳寿命及吸收性能。结果显示,随着介孔硅纳米颗粒的比例增加,其弯曲指数和抗压强度均极大提高。相反,其弯曲强度、韧性和脆性被显著降低。在细胞水平上,Slanea等人^[64]考察了该材料的生物相容性及细胞黏附性,认为掺杂5%介孔二氧化硅纳米颗粒的支架材料明显提高了细胞与材料之间的黏附性,促进细胞生长。除此之外,在调节凝胶材料机械性能上同样发挥着重大作用。近来,Kim等人^[65]设计出一种浓缩胶原凝胶与介孔硅纳米颗粒复合的凝胶材料,其中硅纳米颗粒粒径约90 nm与形成胶原基质的纳米结构尺寸接近。该凝胶复合物的机械性能(韧性提高、脆性降低)显著提高,并且促进了MSCs的增殖及成骨分化,在体内外实现骨矿化和修复目的。另外,Beck等人^[66]研究发现硅纳米颗粒有效抑制了破骨细胞的生长,从而促进骨代谢平衡向成骨方向进行。分子机理的深入研究发现,介孔硅纳米颗粒通过抑制NF κ B信号通路来发挥作用的。文献报道,NF κ B信号通路参与调解破骨吸收和抑制骨形成。此外,Beck等人^[66]从动物水平上研究了介孔硅纳米材料能够显著提高骨矿化能力,进一步证明了其用于临床骨组织工程与再生医学的可能性。

2.3 硅纳米纤维、纳米线

纳米或微米级别的纤维,模拟细胞外基质的组成和结构,为细胞提供良好的生长环境,成为骨组织工程与再生医学理想支架材料。Cheng等人^[67]采用静电纺丝方法制备了直径为200~400 nm的胶原蛋白/硅酸钙复合纳米纤维。该材料具有较好的亲水性,良好的生物活性和降解性。研究结果显示,丝素蛋白/硅酸钙复合纳米纤维显著诱导骨间充质干细胞成骨分化。Ravichandran等人^[68]报道了由介孔硅纳米纤维和明胶结合形成的三维纳米纤维网,该结构模拟了细胞外基质中骨胶原蛋白的网状结构和粘多糖结构,为MG-63贴附和生长提供了合适的微环境,并提高

了细胞ALP的活性,促进了I型胶原蛋白(Col I)、骨钙素、骨桥蛋白和骨涎蛋白的表达. 本课题组^[69]采用蚀刻法在硅片上制备出具有较好机械性能的硅纳米线阵列(SiNW array, 图3), 并利用先进的“光镊”技术, 即利用激光拉动生长在SiNW array上的细胞, 观察细胞形变和恢复. 结果显示, 与光滑的硅片对比, 生长在SiNW array上的MSCs被拉伸后能够迅速恢复到原来形态, 表现出较好的细胞弹性和细胞骨架重组特性, 如图4所示. 此外, SiNW array通过激活细胞钙离子通道, 从而诱导MSCs向成骨方向分化. 在此基础上, 我们深入研究了硅纳米线阵列对MSCs生长和分化过程中分子通路的影响^[70]. 结果认为, SiNW array通过刺激细胞膜表面的抗体与受体结合, 从而将信号传导给下游的信号通路, 如BMP/Smad通路、MAKP通路、Wnt通路以及Insulin诱导的PI3K通路. 这些通路的相互协作促使MSCs成骨基因的高表达, 实现成骨分化目的. 此研究为硅基材料作为骨组织工程与

再生医学支架材料提供了理论依据.

3 含碳纳米材料在骨组织工程与再生医学中的应用

3.1 碳纳米管

Oberlin等人^[71]在1976首次报道了碳纳米管(carbon nanotubes, CNTs), 1991年Lijima^[72]将CNTs的研究和开发进一步扩大. 自此, CNTs在生物医学领域的应用得到广泛关注. 单壁碳纳米管(SWCNT)和多壁碳纳米管(MWCNT)具有相似的基本结构, 所以SWCNT和MWCNT均具有优异的机械性能、热学性能和电学性能等^[70,71], 这些特性使碳纳米材料在组织工程与再生医学领域具备了巨大的应用潜力^[73~76]. 然而, CNTs作为生物材料的应用研究尚处于初级阶段, 所以首先就要明确其生物相容性和安全性. Usui等人^[77]将CNTs置于小鼠颅骨缺损处, 研究结果表明,

图3 硅纳米阵列的扫描电子显微镜成像(a)~(d)和原子力显微镜成像(e)~(g)^[69]

Figure 3 Scanning electron microscopy (SEM) images (a)~(d) and atomic force microscope (AFM) images of SiNW array (e)~(g)^[69]

图4 硅纳米线对间充质干细胞形变及恢复能力。(a)~(c) 间充质干细胞生长在培养板、硅片和硅纳米线阵列上的形变恢复;(d) 定量分析细胞形变恢复拉力;间充质干细胞生长在硅片((e)和(f))和硅纳米线阵列((g)和(h))上的骨架重组^[69]

Figure 4 The effects of SiNW on the deformation and recuperability of MSCs. (a)~(c) Typical deformation response of MSCs cultured on (a) flask, (b) wafer, and (c) SiNW array. Quantitative analysis of the mechanical responses of MSCs cultured on (d) coverslip, (e) wafer, and (f) SiNW array. Confocal images of cytoskeleton organization in MSCs cultured on flat Si wafer ((e), (f)) and SiNW array ((g), (h))^[69]

CNTs的周边组织几乎无炎症反应发生,表明其组织相容性极高,而且CNTs与新生骨能够很好融合,并促进了骨形成,提高了BMP-2的表达,因此,CNTs具有用作骨修复材料的基本特点。另外,Li等人^[78]也研究了不同给药途径(鼻腔给药、口服、静脉注射、腹腔注射)CNTs的安全性,结果表明,除鼻腔给药,MWNTs引起了肉芽肿样炎症外,其他给药途径均无引起明显毒性反应。而且氮(N)掺杂的MWNTs的生物安全性明显高于MWNTs和SWNTs,功能化的CNTs还能降低其毒性。综上,CNTs的组织相容性及安全性是较高的,具有作为组织工程与再生医学材料的潜质。

已有研究表明,碳纳米管可与其他材料如塑料、金属、陶瓷等掺杂,制成具有一定形变能力、抗压强度的组织工程与再生医学支架材料,并使其具有与骨相似的功能特性,可试用于关节成形术、假肢等。另外,CNTs可以用于载药体系或支架材料以促进新骨形成。在细胞水平上,碳纳米材料对细胞的贴壁、增殖以及分化能力有一定的影响,并促进骨形成^[79]。本课题组^[80]在细胞水平上证明,碳纳米管可以抑制小鼠骨髓基质细胞、原代骨细胞成骨成脂及横向成脂

分化,下调成骨成脂分化相关基因的表达。Li等人^[81]以脂肪来源的MSCs为模型,研究了MWNTs对MSCs的影响,并且通过动物实验加以验证。结果表明,MWNTs能够诱导MSCs成骨分化,并且能够在小鼠背部肌肉处诱导异位骨的形成。另有报道,CNTs可以影响细胞的形态,使MSCs可以沿着碳纳米管阵列(aligned carbon nanotube arrays, ACNTs)取向生长,从而促进了骨形成(图5)^[82]。另外,大量研究表明将CNTs功能化修饰后,其促成骨作用增强。如N掺杂的CNTs能增强其促进骨再生、神经再生及药物递送作用^[83]。Lee等人^[84]研究了透明质酸钠修饰的碳纳米管对白齿缺损的修复作用,结果表明,透明质酸钠修饰的碳纳米管与SWCNT相比,促进了骨形成,使胶原蛋白I的表达。CNTs羧基化修饰后却抑制了骨髓间充质干细胞的增殖、成骨分化、成脂分化和矿化。多聚赖氨酸功能化的SWCNT能够增强细胞的黏附能力^[85]。Cao等人^[86]将MWCNT、羟基磷灰石和聚醚醚酮组成复合支架材料,细胞实验结果表明,该材料提高了MC3T3-E1细胞的黏附能力、细胞活力和成骨分化能力。而且其机械性能指标更接近或高于人体骨

图5 与随机排列的CNT相比, ACNT促进成骨分化的作用更强^[82]. (a) 骨钙蛋白(OCN, 绿色)的免疫荧光成像. (b) 骨桥蛋白(OPNs, 绿色)的免疫荧光成像. (c) 成骨基因(OCN, OPN, ALP, CBFA1)的表达($n=3$). (d) 机械应力途径调控的基因(FAK, RhoA, ROCK)的表达($n=3$). (e) Wnt拮抗基因(DKK1, sFRP3)的表达($n=3$)

Figure 5 Enhanced osteogenic differentiation of hMSCs on ACNT networks compared with on aligned and randomly oriented CNT networks^[82]. (a) Immunofluorescence images of osteocalcins (OCNs, green). (b) Immunofluorescence images of osteopontins (OPNs, green). (c) Expression levels of osteogenic genes, including OCN, OPN, alkaline phosphatase (ALP), and core binding factor alpha1 (CBFA1) ($n=3$). (d) Expression levels of the genes involved in the mechanotransduction pathways, including focal adhesion kinase (FAK), Rho family of GTPases member A (RhoA), and Rho-associated coiled-coil protein kinase (ROCK) ($n=3$). (e) Expression levels of the genes of Wnt-antagonists, including dickkopf-1 (DKK1) and secreted frizzled-related protein type 3 (sFRP3) ($n=3$)

髓。综上所述, 基础研究表明, CNTs具有作为骨组织工程与再生医学支架材料的特点, 但其研究尚处于初级阶段, 缺乏系统的毒性研究(急性毒性、亚急性毒性及慢性毒性)、成骨特性及机制研究、充足的动物实验研究等, 距离走向临床还有很远的探究路途。

3.2 石墨烯

石墨烯具有良好的机械性能、导电和导热性能, 在生物医学领域得到了广泛的应用。氧化石墨烯(GO)表面含有大量的含氧基团, 如羟基、羰基、环氧基及酚基等, 易进行结构功能化修饰, 可与其他材料构建符合支架, 因此GO成为骨组织工程与再生医学中具有广阔应用前景的新型纳米材料^[87,88]。生物相容性好是某种材料成为骨组织工程与再生医学材料的首要条件, 大量实验表明, 单纯的GO具有一定的毒性, 且其毒性与GO的形貌、浓度都有一定关系。而

功能化的GO毒性降低。如给小鼠静脉注射聚乙二醇(PEG)修饰的GO, 结果表明, 其主要蓄积于肝脏, 最后随尿液和粪便排出体外, 并未对小鼠造成明显的毒性反应^[89]。大量细胞实验研究表明, 由于 π - π 堆积作用、氢键及静电相互作用, GO具有促进BMSCs和前成骨细胞成骨分化的作用^[90]。Kim等人^[91]的研究表明GO能够增强MC3T3-E1细胞的黏附和成骨分化作用。另有研究发现, 被覆GO涂层的钛金属材料能够促进BMSCs的成骨分化, BMP-2表达增高。用碳纳米管和GO修饰聚乳酸支架, 组成复合支架材料, 该复合支架材料表面粗糙度增加, 增加了和细胞的接触面积, 显著促进了BMSCs的成骨分化、钙盐沉积及I型胶原的形成^[92]。而且GO对BMSCs增殖和分化的促进作用具有一定的浓度依赖性, 即低浓度(1.0 $\mu\text{g/mL}$)促增殖和成骨分化, 高浓度(10 $\mu\text{g/mL}$)抑制BMSCs增殖和成骨分化。此外, Zhao等人^[93]研究表

明, GO涂层的石英基板能够促进MC3T3-E1成骨分化, 并增加ALP和骨钙素的分泌. 除此之外, 2周后在其模拟体液中检测到大量羟基磷灰石, 提示该材料还具有显著的生物活性. 近期研究发现, 将GO或明胶官能化的GO涂覆于镍钛, 可增强 MC3T3-E1的黏附、增殖和成骨分化能力, 还兼有一定的抗菌作用^[94].

GO能否作为一种优良的骨组织工程与再生医学支架材料, 在大量的体外细胞分子实验的基础上, 还需要进行充分的体内实验. Lai等人^[95]研究表明, GO具有促进血管再生的作用, 而血管再生一直是骨组织工程与再生医学关注和研究的热点和难点, GO的促血管再生作用表明GO在骨组织工程与再生医学方面具有很大的应用潜力. 最近, Saravanan等人^[96]建立大鼠胫骨骨缺损模型, 并将GO/壳聚糖/明胶复合支架材料置于骨缺损处, 结果发现, 与对照组相比, 该复合支架材料促进了胫骨骨缺损的再生修复, 而且骨缺损处沉积了大量的胶原基质. 此外, Zhang等人^[97]制备了磷酸钙支架表面被覆GO/铜纳米复合材料涂层的复合支架材料, 并将其移植至小鼠颅骨缺损处, 结果表明该支架能明显促进缺损部位的骨形成及血管再生, 而且部分复合材料被多核巨噬细胞吞噬(图6). 此外, 近期研究发现, GO/壳聚糖复合支架植入小鼠体内, 增强了骨祖细胞的成骨分化能力, 提高了Runx相关转录因子2(Runx-2)和BMP2的表达水平, 上调了骨桥蛋白和骨钙蛋白的表达^[98].

综上所述, 虽然GO在骨组织工程与再生医学领

域已有细胞实验和动物体内实验, 但GO在骨组织工程与再生医学中的研究尚处于起步阶段, 仍需更多的动物体内实验来进一步验证其生物安全性、治疗效果及不良反应, 并深入探究其分子生物学机制. 为其走向临床提供充足的理论基础.

3.3 金属富勒烯及其衍生物

富勒烯, 又称巴基球, 是由碳原子形成的一系列笼形分子的总称, 金属富勒烯为在碳笼内容纳一个或几个金属原子形成的富勒烯包合物. 研究表明, 富勒烯及其衍生物具有抗氧化、抗菌、抗病毒、抗肿瘤作用, 可以用作药物载体^[99]. 目前, 其在生物医学领域的研究主要集中在抗肿瘤和核磁共振成像(MRI)对比剂等方面. 在骨组织工程与再生医学方面的相关研究较少. Yang等人^[100]研究表明, 包钆富勒烯纳米颗粒能够促进MSCs增殖及成骨分化, 抑制其向脂肪细胞分化. 其机制与活化BMP信号通路, 上调成骨相关基因的表达有关, 动物实验结果表明, 包钆富勒烯纳米颗粒显著改善了骨质疏松模型鼠的骨组织微结构, 极大地缓解了骨质疏松症状.

4 生物医用金属材料在骨组织工程与再生医学中的应用

生物医用材料具有悠久的历史, 早在公元前5000年, 就有古人用金修补牙齿的记载. 19世纪末,

图6 CPC/GO-Cu促进新生骨形成的组织病理学分析^[97]. (a) 手术后8周, 缺损部位的新骨生成情况(曲线范围内)及血管灌注情况(箭头指示). (b) 血管数量统计($n=6$, $**P<0.01$). (c) 新骨占缺损部分的百分比($n=6$, $P<0.01$)

Figure 6 Histological analysis of CPC/GO-Cu promoted new bone formation^[97]. (a) Longitudinal sections were imaged to display the new bones (shown as lines) in the defect regions after 8 weeks surgery. Arrows indicate blood vessels perfused with Microfil. (b) The statistics of the blood vessels number ($n=6$, $**P<0.01$). (c) The statistics of the percentage of new bone area in the defect regions ($n=6$, $**P<0.01$)

生物材料的使用迅速发展,一些金属和生物材料用于临床上骨缺损的治疗.目前,在已应用于临床的医用金属材料主要有钛基合金、不锈钢、钴基合金等,由于不锈钢的力学性能和弹性模量较差,易导致植入体的失效.钴基合金生物相容性较差,易诱发炎症和关节松动,因此钛及钛合金是综合性能最高的生物医用金属材料.

4.1 钛及钛合金纳米复合材料

钛金属质轻,具有优良的机械性能和弹性模量及较高的生物相容性,其密度接近人体骨,已成骨科人工骨、人工关节、骨钉等手术的医用材料^[101,102].然而,钛金属自身具有较高的生物惰性,容易被体内的纤维组织包覆,从而导致材料与骨组织分离,造成移植失败.研究人员通过在钛合金表面进行纳米涂层来解决这一问题,此方法极大地改善了钛金属的生物惰性,使其更适应成骨细胞的外环境^[103,104].Ren等人^[105]合成了具有抑菌性的钛植入复合材料,该复合材料具有多级结构,将层状钛酸组成的网状结构组装在钛金属表面,进而在层状结构的层间镶嵌银纳米颗粒,形成钛酸-银纳米颗粒-钛酸的多层结构,同时具有优良的抑菌性能和较好的生物相容性,在可植入生物材料领域具有广阔的应用前景.郭欢等人^[106]采用水热法在钛金属片上制备了钛酸盐纳米结构薄膜,能显著提高羟基磷灰石的沉积能力,提高了材料的生物活性.Liu等人^[107]采用微弧氧化技术在钛金属丝多孔支架表面制备了孔状的纳米锂涂层,显著提高了人成骨细胞MG-63细胞的黏附力和活力,并通过激活Wnt/ β -连环蛋白信号通路来提高成骨分化特性.在体内对于兔股骨干缺损模型具有良好的修复效果,显著提高骨缺损处的成骨能力,促进新骨形成.Li等人^[108]通过化学腐蚀和物理吸附的方法在钛合金上制备了一种稳定的石墨烯涂层.石墨烯涂层不仅增强了钛合金支架的生物相容性,而且在植骨界面上促进了骨生成和骨整合,加速了对兔骨缺损的修复,证实石墨烯纳米涂层可能成为骨移植替代材料中的一种很有前景的材料.近年来,在钛及钛合金材料表面原位氧化形成不同形貌的纳米氧化钛,是改善钛及钛合金材料生物活性的有效手段.金铭^[109]采用阳极氧化法对钛进行三维多孔表面氧化层构建,制备了不同表面结构的二氧化钛氧化层,并证实了其良好的生物相容性和耐腐蚀性能,能促进小鼠

成骨细胞增殖,利于细胞黏附.刘帅^[110]通过阳极氧化技术在医用钛合金材料表面制备了不同管径(20~100 nm)的TiO₂纳米管,能够显著提高成骨细胞的黏附、增殖和分化能力,并促进早期成骨,适合应用于形状复杂的医用钛合金内植物表面.

4.2 金纳米材料

近年来,金纳米颗粒(gold nanoparticles, AuNPs)已经在化学、生物医药等领域显示出很广阔的应用前景.尤其在骨组织工程与再生医学领域亦表现出了独特的生物效应,对骨相关细胞,如成骨细胞、骨髓基质干细胞及破骨细胞等,具有重要的调节作用.本课题组^[111,112]合成了粒径为20和40 nm的金纳米粒子,并观察了其对成骨细胞MC3T3-E1增殖、分化和矿化功能的影响,发现金纳米粒子能够促进MC3T3-E1细胞的成骨分化及其矿化功能.通过上调Runx2, BMP-2, ALP和骨钙素(OCN)基因的表达,刺激了MC3T3-E1细胞的成骨分化.继而,本课题组^[113]进一步观察了AuNPs对原代成骨细胞形貌、增殖、分化及相关基因表达的影响,证实AuNPs可以显著促进成骨细胞的增殖,增强ALP活性,增加骨结节和钙含量,成骨相关基因BMP-2, Runx-2, OCN和Col-1表达增强,其机制与AuNPs增加了磷酸化ERK/总ERK的水平,激活ERK/mapk通路有关.本课题组的另一项研究表明, AuNPs还可以促进骨髓基质干细胞的成骨分化,其分子机制与激活p38 MAPK信号通路,上调成骨基因的表达和下调成脂基因的表达相关^[113].有学者发现, Au NPs还可以抑制骨髓巨噬细胞形成破骨细胞,进而抑制其行使骨吸收的功能^[114].Sul等人^[115]发现Au NPs能够抑制体外小鼠骨髓巨噬细胞的破骨分化,通过上调谷胱甘肽过氧化物酶-1(glutathioneperoxidase, GSH-Px1)的表达,同时抑制破骨细胞产生氧自由基,进而抑制核因子NF κ B活化,抑制破骨细胞的形成.这些研究结果揭示了AuNPs对骨相关细胞的功能具有重要的调节作用,这对于骨组织工程与再生医学和其他生物医学领域的新纳米材料的合理设计非常重要.

4.3 其他金属纳米材料

在各种金属元素中,铜、锌、铍、铬、钴、钡、汞、镍,等对人体有一定的毒副作用.例如:铜和锌是细胞致毒的元素,可以抑制细胞生长,诱导细胞损

伤; 铍、铬、钴是致敏元素; 较低浓度的镍即可抑制成纤维细胞生长, 具有明显的细胞毒性, 所以在生物医用材料的设计合成中应避免使用上述金属元素^[116]。多孔金属支架材料以其优良的生物相容性和力学性能在骨组织工程领域备受关注。作为植骨替代材料——多孔金属支架, 主要由钛和钽构建, 已经在临床使用中显示卓越的应用潜力^[117]。另外, 镁合金作为一种骨科植入材料, 以其可生物降解特性和适宜的机械性能, 也具有很大的吸引力。Li等人^[118]采用3D打印技术制备了具有双层孔隙结构的多孔镁支架, 具有高度连通和孔隙可控的特点, 显示良好的力学强度和机械性能, 适合于作为短期或暂时植入式器件。为了进一步提高镁合金的生物相容性和生物活性, Yang等人^[119]在ZK60镁合金上制备了含微弧氧化涂层的 Mg_2SiO_4 , 与纯ZK60合金相比, 含微弧氧化涂层的ZK60合金具有更优的生物相容性, 促进BMCs细胞黏附、分化。这一研究为镁合金材料的表面改性提供了新的思路。钛铌钽锆合金是我国自主研发的新型合金材料, 由于其元素组成对人体安全无毒, 同时具有高强度和低弹性模量的特点, 近年来已被广泛用作人工髋关节、骨植入及牙科植入材料^[120]。尽管钛铌钽锆合金具有骨组织工程的应用前景, 然而基于钛铌钽锆的纳米结构合金材料制备及其性能研究目前鲜有报道。

5 展望

无机纳米生物材料以其独特的生物性能和机械

性能在骨组织工程与再生医学中占据不可替代的地位, 具有广阔的应用前景。然而, 无机纳米材料进入临床应用之前仍然有许多基本问题需要解决, 主要表现在: (1) 材料的生物安全性问题: 无机纳米材料在用于骨组织工程与再生医学时必须植入体内, 其是否会引发炎症反应、免疫反应及其他的毒性反应(急性毒性、亚急性毒性、慢性毒性等), 这是制约其应用的关键环节, 但是至今缺乏该方面的系统全面的研究及文献报道。(2) 纳米复合材料的生物降解速度问题: 理想的骨组织工程支架材料应该具有良好的降解性能, 而且其降解速度需要与骨生成的速度相匹配, 即在纳米复合材料完全降解的同时, 新骨形成并取代支架材料。虽然此方面的研究屡见报道, 但是至今仍然没有理想的材料问世并应用于临床。(3) 支架材料中的生物活性因子的问题: 为了促进种子细胞在支架材料中的生长, 常加入生物活性因子, 如: 骨形态发生蛋白(BMP), 转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β)、胰岛素样生长因子(insulin-like growth factor, IGF)等。但是具体加入哪几种生物活性因子及加入的量仍是困扰骨组织工程发展的瓶颈问题之一。(4) 种子细胞的生物学效应问题: 纳米材料及生物活性因子如何调控种子细胞的黏附、增殖、特异性分化及分子机制仍需进一步深入探讨, 以启发人们研究“智能”骨组织工程材料。综上, 虽然纳米材料作为骨组织工程材料还存在一些问题, 但是随着医学技术的发展及纳米生物材料深入而系统的研究, 其在骨组织工程与再生医学方面会有广阔的应用前景。

参考文献

- 1 Sethuraman S, Nair L S, El-Amin S, et al. Mechanical properties and osteocompatibility of novel biodegradable alanine based polyphosphazenes: Side group effects. *Acta Biomater*, 2010, 6: 1931–1937
- 2 Zhang L, Webster T J. Nanotechnology and nanomaterials: Promises for improved tissue regeneration. *Nano Today*, 2009, 4: 66–80
- 3 Langer R, Vacanti J P. Tissue engineering. *Science*, 1993, 260: 920–926
- 4 Chan B P, Leong K W. Scaffolding in tissue engineering: General approaches and tissue-specific considerations. *Eur Spine J*, 2008, 17: 467–479
- 5 O'Keefe R J, Mao J. Bone tissue engineering and regeneration: From discovery to the clinic—An overview. *Tissue Eng B Rev*, 2011, 17: 389–392
- 6 Hench L L, Polak J M. Third-generation biomedical materials. *Science*, 2002, 295: 1014–1017
- 7 Shadjou N, Hasanazadeh M. Bone tissue engineering using silica-based mesoporous nanobiomaterials: Recent progress. *Mater Sci Eng C*, 2015, 55: 401–409
- 8 Hench L L, Thompson I. Twenty-first century challenges for biomaterials. *J R Soc Interface*, 2010, 7: S379–S391
- 9 Stevens M M. Biomaterials for bone tissue engineering. *Mater Today*, 2008, 11: 18–25
- 10 Li X, Wang L, Fan Y, et al. Nanostructured scaffolds for bone tissue engineering. *J Biomed Mater Res A*, 2013, 101: 2424–2435

- 11 Zhu X D, Zhang H J, Fan H S, et al. Effect of phase composition and microstructure of calcium phosphate ceramic particles on protein adsorption. *Acta Biomater*, 2010, 6: 1536–1541
- 12 Iwamoto T, Hieda Y, Kogai Y. Effect of hydroxyapatite surface morphology on cell adhesion. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2016, 69: 1263–1267
- 13 John A, Varma H K, Kumari T V. Surface reactivity of calcium phosphate based ceramics in a cell culture system. *J Biomater Appl*, 2003, 18: 63–78
- 14 Abe Y, Okazaki Y, Hiasa K, et al. Bioactive surface modification of hydroxyapatite. *Biomed Res Int*, 2013, 2013: 626452
- 15 Zhao Y, Zhang Y, Zhao Y, et al. Synthesis and cellular biocompatibility of two nanophase hydroxyapatite with different Ca/P ratio. *J Nanosci Nanotechnol*, 2011, 11: 11069–11073
- 16 Cai Y, Liu Y, Yan W, et al. Role of hydroxyapatite nanoparticle size in bone cell proliferation. *J Mater Chem*, 2007, 17: 3780–3787
- 17 Dai C Y. Effect of defect-related luminescent nano- and microstructured hydroxyapatites on cytotoxicity, uptake and differentiation of osteoblasts (in Chinese). Doctor Dissertation. Baoding: Hebei University, 2015 [戴春燕. 缺陷发光的纳米/微米级羟基磷灰石对成骨细胞的细胞毒性、摄取及分化功能的影响. 博士学位论文. 保定: 河北大学, 2015]
- 18 Wang C, Liu D, Zhang C, et al. Defect-related luminescent hydroxyapatite-enhanced osteogenic differentiation of bone mesenchymal stem cells via an ATP-induced cAMP/PKA pathway. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2016, 8: 11262–11271
- 19 Zhu W, Wang D, Peng L, et al. An experimental study on the application of radionuclide imaging in repairing bone defects. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2013, 41: 304–308
- 20 Bai L, Liu Y, Du Z, et al. Differential effect of hydroxyapatite nano-particle versus nano-rod decorated titanium micro-surface on osseointegration. *Acta Biomater*, 2018, 76: 344–358
- 21 Bonfield W, Grynpas M D, Tully A E, et al. Hydroxyapatite reinforced polyethylene—A mechanically compatible implant material for bone replacement. *Biomaterials*, 1981, 2: 185–186
- 22 Wang P, Zhao L, Liu J, et al. Bone tissue engineering via nanostructured calcium phosphate biomaterials and stem cells. *Bone Res*, 2014, 2: 14017
- 23 Maas M, Guo P, Keeney M, et al. Preparation of mineralized nanofibers: Collagen fibrils containing calcium phosphate. *Nano Lett*, 2011, 11: 1383–1388
- 24 Teotia A K, Raina D B, Singh C, et al. Nano-hydroxyapatite bone substitute functionalized with bone active molecules for enhanced cranial bone regeneration. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2017, 9: 6816–6828
- 25 Niu B, Li B, Gu Y, et al. *In vitro* evaluation of electrospun silk fibroin/nano-hydroxyapatite/BMP-2 scaffolds for bone regeneration. *J Biomater Sci Polym Ed*, 2017, 28: 257–270
- 26 Shen X, Zhang Y, Gu Y, et al. Sequential and sustained release of SDF-1 and BMP-2 from silk fibroin-nanohydroxyapatite scaffold for the enhancement of bone regeneration. *Biomaterials*, 2016, 106: 205–216
- 27 Marie P J, Ammann P, Boivin G, et al. Mechanisms of action and therapeutic potential of strontium in bone. *Calcif Tissue Int*, 2001, 69: 121–129
- 28 Buehler J, CHAuis P, Saffar J L, et al. Strontium ranelate inhibits bone resorption while maintaining bone formation in alveolar bone in monkeys (*Macaca fascicularis*). *Bone*, 2001, 29: 176–179
- 29 Dahl S G, Allain P, Marie P J, et al. Incorporation and distribution of strontium in bone. *Bone*, 2001, 28: 446–453
- 30 Hao Y, Yan H, Wang X, et al. Evaluation of osteoinduction and proliferation on nano-Sr-HA: A novel orthopedic biomaterial for bone tissue regeneration. *J Nanosci Nanotechnol*, 2012, 12: 207–212
- 31 Ge M, Ge K, Gao F, et al. Biomimetic mineralized strontium-doped hydroxyapatite on porous poly(L-lactic acid) scaffolds for bone defect repair. *Int J Nanomedicine*, 2018, 13: 1707–1721
- 32 Zhou P, Wu J, Xia Y, et al. Loading BMP-2 on nanostructured hydroxyapatite microspheres for rapid bone regeneration. *Int J Nanomedicine*, 2018, 13: 4083–4092
- 33 Kong L, Gao Y, Cao W, et al. Preparation and characterization of nano-hydroxyapatite/chitosan composite scaffolds. *J Biomed Mater Res A*, 2005, 75: 275–282
- 34 Kong L, Gao Y, Lu G, et al. A study on the bioactivity of chitosan/nano-hydroxyapatite composite scaffolds for bone tissue engineering. *Eur Polym J*, 2006, 42: 3171–3179
- 35 Mohamed K R, Beherei H H, El-Rashidy Z M. *In vitro* study of nano-hydroxyapatite/chitosan-gelatin composites for bio-applications. *J Adv Res*, 2014, 5: 201–208
- 36 Tang X J, Gui L, Lü X Y. Hard tissue compatibility of natural hydroxyapatite/chitosan composite. *Biomed Mater*, 2008, 3: 044115
- 37 Zhang Y, Venugopal J R, El-Turki A, et al. Electrospun biomimetic nanocomposite nanofibers of hydroxyapatite/chitosan for bone tissue engineering. *Biomaterials*, 2008, 29: 4314–4322
- 38 Ignjatovic N L, Ajdukovic Z R, Savic V P, et al. Size effect of calcium phosphate coated with poly-DL-lactide-co-glycolide on healing processes in bone reconstruction. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 2010, 94: 108–117

- 39 Fricain J C, Schlaubitz S, Le Visage C, et al. A nano-hydroxyapatite-pullulan/dextran polysaccharide composite macroporous material for bone tissue engineering. *Biomaterials*, 2013, 34: 2947–2959
- 40 Chai Y C, Kerckhofs G, Roberts S J, et al. Ectopic bone formation by 3D porous calcium phosphate-Ti6Al4V hybrids produced by perfusion electrodeposition. *Biomaterials*, 2012, 33: 4044–4058
- 41 Li Y L, Liu C S. Nanomaterials-based bone regeneration. *Nanoscale*, 2017, 9: 4862–4874
- 42 Li Y L, Xiao Y, Liu C S. The horizon of materiobiology: A perspective on material-guided cell behaviors and tissue engineering. *Chem Rev*, 2017, 117: 4376–4421
- 43 Mertz W. The essential trace elements. *Science*, 1981, 213: 1332–1338
- 44 Hench L L. Bioceramics: From concept to clinic. *J Am Ceram Soc*, 1991, 74: 1487–1510
- 45 Hench L L. Biomaterials: A forecast for the future. *Biomaterials*, 1998, 19: 1419–1423
- 46 Wu C, Fan W, Gelinsky M, et al. Bioactive SrO-SiO₂ glass with well-ordered mesopores: Characterization, physiochemistry and biological properties. *Acta Biomater*, 2011, 7: 1797–1806
- 47 Stevens M M, George J H. Exploring and engineering the cell surface interface. *Science*, 2005, 310: 1135–1138
- 48 De Aza P N, Guitian F, Deaza S. Bioactivity of wollastonite ceramics: *In vitro* evaluation. *Scrip Metal Et Mater*, 1994, 31: 1001–1005
- 49 Ni S, Chang J. *In vitro* degradation, bioactivity, and cytocompatibility of calcium silicate, dimagnesium silicate, and tricalcium phosphate bioceramics. *J Biomater Appl*, 2009, 24: 139–158
- 50 Zhai W, Lu H, Chen L, et al. Silicate bioceramics induce angiogenesis during bone regeneration. *Acta Biomater*, 2012, 8: 341–349
- 51 Wu C T, Luo Y X, Cuniberti G, et al. Three-dimensional printing of hierarchical and tough mesoporous bioactive glass scaffolds with a controllable pore architecture, excellent mechanical strength and mineralization ability. *Acta Biomater*, 2011, 7: 2644–2650
- 52 Campbell T A, Ivanova O S. 3D printing of multifunctional nanocomposites. *Nano Today*, 2013, 8: 119–120
- 53 Shen Y, Liu W, Wen C, et al. Bone regeneration: Importance of local pH-strontium-doped borosilicate scaffold. *J Mater Chem*, 2012, 22: 8662–8670
- 54 Strobel L A, Hild N, Mohn D, et al. Novel strontium-doped bioactive glass nanoparticles enhance proliferation and osteogenic differentiation of human bone marrow stromal cells. *J Nanopart Res*, 2013, 15: 1–9
- 55 Gentleman E, Fredholm Y C, Jell G, et al. The effects of strontium-substituted bioactive glasses on osteoblasts and osteoclasts *in vitro*. *Biomaterials*, 2010, 31: 3949–3956
- 56 Fiorilli S, Baino F, Cauda V, et al. Electrophoretic deposition of mesoporous bioactive glass on glass-ceramic foam scaffolds for bone tissue engineering. *Mater Sci Mater Med*, 2015, 26: 21–33
- 57 Zhang X, Zeng D, Li N, et al. Functionalized mesoporous bioactive glass scaffolds for enhanced bone tissue regeneration. *Sci Rep*, 2016, 6: 19361
- 58 Xia L G, Zhang N, Wang X H, et al. The synergetic effect of nano-structures and silicon-substitution on the properties of hydroxyapatite scaffolds for bone regeneration. *J Mater Chem B*, 2016, 4: 3313–3323
- 59 Yuan Z Y, Su B L. Insights into hierarchically meso-macroporous structured materials. *J Mater Chem*, 2006, 16: 663–667
- 60 Yun H S, Kim S E, Hyun Y T, et al. Hierarchically mesoporous-macroporous bioactive glasses scaffolds for bone tissue regeneration. *J Biomed Mater Res Part B: Appl Biomater*, 2008, 87: 374–380
- 61 Wang X, Li X, Ito A, et al. Synthesis and characterization of hierarchically macroporous and mesoporous CaO-MO-SiO₂-P₂O₅ (M=Mg, Zn, Sr) bioactive glass scaffolds. *Acta Biomater*, 2011, 7: 3638–3644
- 62 Chen F P, Song Z Y, Gao L, et al. Hierarchically macroporous/mesoporous POC composite scaffolds with IBU-loaded hollow SiO₂ microspheres for repairing infected bone defects. *J Mater Chem B*, 2016, 4: 4198–4205
- 63 Pegel S, Potschke P, Petzold G, et al. Dispersion, agglomeration, and network formation of multiwalled carbon nanotubes in polycarbonate melts. *Polymer*, 2008, 49: 974–998
- 64 Slanea J, Vivancob J, Meyer J, et al. Modification of acrylic bone cement with mesoporous silica nanoparticles: Effects on mechanical, fatigue and absorption properties. *J Mech Behav Biomed Mater*, 2014, 29: 451–461
- 65 Kim S G, Lee D S, Lee J H, et al. Osteocalcin/fibronectin-functionalized collagen matrices for bone tissue engineering. *J Biomed Mater Res A*, 2015, 103: 2133–2140
- 66 Beck J G R, Shin-Woo H, Camalier C E, et al. Bioactive silica-based nanoparticles stimulate bone-forming osteoblasts, suppress bone-resorbing osteoclasts, and enhance bone mineral density *in vivo*. *Nanomed Nanotechnol Biol Med*, 2012, 8: 793–803
- 67 Cheng Y X, Ramos D, Lee P, et al. Collagen functionalized bioactive nanofiber matrices for osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells: Bone tissue engineering. *J Biom Nanotechnol*, 2014, 10: 287–298
- 68 Ravichandran R K, Sundaramurthi D, Gandhi S, et al. Bioinspired hybrid mesoporous silica-gelatin sandwich construct for bone tissue engineering. *Microporous Mesoporous Mater*, 2014, 187: 53–62
- 69 Liu D D, Yi C Q, Wang K Q, et al. Reorganization of cytoskeleton and transient activation of Ca²⁺ channels in mesenchymal stem cells

- cultured on silicon nanowire arrays. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2013, 5: 13295–13304
- 70 Liu D D, Yi C Q, Fong C C, et al. Activation of multiple signaling pathways during the differentiation of mesenchymal stem cells cultured in a silicon nanowire microenvironment. *Nanomed Nanotechnol Biol Med*, 2014, 10: 1153–1163
- 71 Oberlin A, Endo M, Koyama T. Filamentous growth of carbon through benzene decomposition. *Cryst Growth*, 1976, 32: 335–349
- 72 Lijima S. Helical microtubules of graphitic carbon. *Nature*, 1991, 354: 56–58
- 73 Endo M, Koyama S, Matsuda Y, et al. Thrombogenicity and blood coagulation of a micro-catheter prepared from carbon nanotube-nylon based composite. *Nano Lett*, 2005, 5: 101–105
- 74 Pagona G, Tagmatarchis N. Carbon nanotubes: Materials for medicinal chemistry and biotechnological applications. *Curr Med Chem*, 2006, 13: 1789–1798
- 75 Wang W, Omori M, Watari F, et al. Novel bulk carbon nanotube materials for implant by spark plasma sintering. *Dent Mater J*, 2005, 24: 478–486
- 76 Marrs B, Andrews R, Rantell T, et al. Augmentation of acrylic bone cement with multiwall carbon nanotubes. *J Biomed Mater Res A*, 2006, 77: 269–276
- 77 Usui Y, Aoki K, Narita N, et al. Carbon nanotubes with high bone-tissue compatibility and bone-formation acceleration effects. *Small*, 2008, 4: 240–246
- 78 Li J, Ren N, Qiu J, et al. Graphene oxide-reinforced biodegradable genipin-cross-linked chitosan fluorescent biocomposite film and its cytocompatibility. *Int J Nanomed*, 2013, 8: 3415–3426
- 79 Ruiz O N, Fernando K A, Wang B, et al. Graphene oxide: A nonspecific enhancer of cellular growth. *ACS Nano*, 2011, 5: 8100–8107
- 80 Liu D, Yi C, Zhang D, et al. Inhibition of proliferation and differentiation of mesenchymal stem cells by carboxylated carbon nanotubes. *ACS Nano*, 2010, 4: 2185–2195
- 81 Li X M, Liu H F, Niu X F, et al. The use of carbon nanotubes to induce osteogenic differentiation of human adipogenic-derived MSCs *in vitro* and ectopic bone formation *in vivo*. *Biomaterials*, 2012, 33: 4818–4827
- 82 Namgung S, Baik K Y, Park J, et al. Controlling the growth and differentiation of human mesenchymal stem cells by the arrangement of individual carbon nanotubes. *ACS Nano*, 2011, 5: 7383–7390
- 83 Lee W C, Lim C H, Shi H, et al. Origin of enhanced stem cell growth and differentiation on graphene and graphene oxide. *ACS Nano*, 2011, 5: 7334–7341
- 84 Lee J, Kim J, Kim S, et al. Biosensors based on graphene oxide and its biomedical application. *Adv Drug Deliv Rev*, 2016, 105: 275–287
- 85 Foo M E, Gopinath S C B. Feasibility of graphene in biomedical applications. *Biomed Pharmacother*, 2017, 94: 354–361
- 86 Cao J F, Lu Y, Chen H C, et al. Bioactive poly (etheretherketone) composite containing calcium polyphosphate and multi-walled carbon nanotubes for bone repair: Mechanical property and *in vitro* biocompatibility. *J Bioact Compat Pol*, 2018, 29: 1–15
- 87 Zhao H, Ding R, Zhao X, et al. Graphene-based nanomaterials for drug and/or gene delivery, bioimaging, and tissue engineering. *Drug Discov Today*, 2017, 22: 1302–1317
- 88 Yu P, Bao R Y, Shi X J, et al. Self-assembled high-strength hydroxyapatite/graphene oxide/chitosan composite hydrogel for bone tissue engineering. *Carbohydr Polym*, 2017, 155: 507–515
- 89 Yang K, Wan J, Zhang S, et al. *In vivo* pharmacokinetics, long-term biodistribution, and toxicology of PEGylated graphene in mice. *ACS Nano*, 2011, 5: 516–522
- 90 Lee W C, Lim C H, Shi H, et al. Origin of enhanced stem cell growth and differentiation on graphene and graphene oxide. *ACS Nano*, 2011, 5: 7334–7341
- 91 Kim J, Kim H D, Park J, et al. Enhanced osteogenic commitment of murine mesenchymal stem cells on graphene oxide substrate. *Biomater Res*, 2018, 22: 1
- 92 La W G, Park S, Yoon H H, et al. Delivery of a therapeutic protein for bone regeneration from a substrate coated with graphene oxide. *Small*, 2013, 9: 4051–4060
- 93 Zhao C, Lu X, Zanden C, et al. The promising application of graphene oxide as coating materials in orthopedic implants: Preparation, characterization and cell behavior. *Biomed Mater*, 2015, 10: 15019
- 94 Zhao C H, Pandit S, Fu Y F, et al. Graphene oxide based coatings on nitinol for biomedical implant applications: Effectively promote mammalian cell growth but kill bacteria. *RSC Adv*, 2016, 6: 38124–38134
- 95 Lai P X, Chen C W, Wei S C, et al. Ultrastrong trapping of VEGF by graphene oxide: Anti-angiogenesis application. *Biomaterials*, 2016, 109: 12–22
- 96 Saravanan S, Chawla A, Vairamani M, et al. Scaffolds containing chitosan, gelatin and graphene oxide for bone tissue regeneration *in vitro* and *in vivo*. *Int J Biol Macromol*, 2017, 104: 1975–1985
- 97 Zhang W, Chang Q, Xu L, et al. Graphene oxide-copper nanocomposite-coated porous CaP scaffold for vascularized bone regeneration via activation of Hif-1 α . *Adv Healthc Mater*, 2016, 5: 1299–1309

- 98 Hermenean A, Codreanu A, Herman H, et al. Chitosan-graphene oxide 3D scaffolds as promising tools for bone regeneration in critical-size mouse calvarial defects. *Sci Rep*, 2017, 7: 16641
- 99 Jiao F, Zhou G Q, Chen C Y. Trends in studies in chemical modification and biomedical applications of fullerenes (in Chinese). *Asian J Ecotoxicol*, 2010, 5: 469–480 [焦芳, 周国强, 陈春英. 富勒烯化学修饰与生物医学应用研究进展. *生态毒理学报*, 2010, 5: 469–480]
- 100 Yang K, Cao W, Hao X, et al. Metallofullerene nanoparticles promote osteogenic differentiation of bone marrow stromal cells through BMP signaling pathway. *Nanoscale*, 2013, 5: 1205–1212
- 101 Dong D W, Yan J L. Application progress of titanium in bone tissue engineering (in Chinese). *Med Recapit*, 2012, 18: 1383–1385 [董大为, 闫景龙. 钛金属在骨组织工程与再生医学中的应用进展. *医学综述*, 2012, 18: 1383–1385]
- 102 Takizawa T, Nakayama N, Haniu H, et al. Titanium fiber plates for bone tissue repair. *Adv Mater*, 2017: 1703608
- 103 Zemtsova E G, Yuditceva N M, Morozov P E, et al. Improved osseointegration properties of hierarchical microtopographic/nanotopographic coatings fabricated on titanium implants. *Int J Nanomed*, 2018, 13: 2175–2188
- 104 Li G, Cao H, Zhang W, et al. Enhanced osseointegration of hierarchical micro/nano-topographic titanium fabricated by micro-arc oxidation and electrochemical treatment. *ACS Appl Mater Interface*, 2016, 8: 3840
- 105 Ren N, Li R, Chen L, et al. *In situ* construction of a titanate-silver nanoparticle-titanate sandwich nanostructure on a metallic titanium surface for bacteriostatic and biocompatible implants. *J Mater Chem*, 2012, 22: 19151–19160
- 106 Guo H, Weng Z Y, Liu X M. Fabrication of titania nanofilm on biomedical titanium and biocompatibility research (in Chinese). *Rare Metal Mater Eng*, 2014, (S1): 286–290 [郭欢, 翁正阳, 刘想梅, 等. 医用钛表面纳米薄膜的制备及生物相容性研究. *稀有金属材料与工程*, 2014, (S1): 286–290]
- 107 Liu W, Chen D, Jiang G, et al. A lithium-containing nanoporous coatings on entangled titanium scaffold can enhance osseointegration through Wnt/ β -catenin pathway. *Nanomed Nanotechnol Biol Med*, 2017, 14: 153
- 108 Li K, Wang C, Yan J, et al. Evaluation of the osteogenesis and osseointegration of titanium alloys coated with graphene: An *in vivo* study. *Sci Rep*, 2018, 8: 1843
- 109 Jin M. Nanoporous surface modification via electrochemical anodization and properties of titanium and its alloys (in Chinese). Doctor Dissertation. Beijing: University of Science and Technology of Beijing, 2017 [金铭. 医用钛及钛合金表面阳极氧化多孔修饰及其性能的研究. 博士学位论文. 北京: 北京科技大学, 2017]
- 110 Liu S. The fabrication and biofunctional evaluation of titanium alloy surfaces with anodization and micro-arc oxidation treatment (in Chinese). Doctor Dissertation. Xi'an: Fourth Military Medical University, 2014 [刘帅. 钛合金材料表面阳极氧化和微弧氧化改性涂层的构建及生物学研究. 博士学位论文. 西安: 第四军医大学, 2014]
- 111 Liu D D, Zhang J C, Yi C Q, et al. The effects of gold nanoparticles on the proliferation, differentiation, and mineralization function of MC3T3-E1 cells *in vitro*. *Sci Bull*, 2010, 149: 291–297
- 112 Zhang D W, Liu D D, Zhang J C, et al. Gold nanoparticles stimulate differentiation and mineralization of primary osteoblasts through the ERK/MAPK signaling pathway. *Mat Sci Eng C*, 2014, 42: 70–77
- 113 Yi C Q, Liu D D, Fong C C, et al. Gold nanoparticles promote osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells through p38 MAPK pathway. *ACS Nano*, 2010, 4: 6439–6448
- 114 Beck G R J, Ha S W, Camalier C E, et al. Bioactive silica based nanoparticles stimulate bone-forming osteoblasts, suppress bone-resorbing osteoclasts, and enhance bone mineral density *in vivo*. *Nanomedicine*, 2012, 8: 793–803
- 115 Sul O J, Kim J C, Kyung T W, et al. Gold nanoparticles inhibited the receptor activator of nuclear factor- κ B ligand (RANKL)-induced osteoclast formation by acting as an antioxidant. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2010, 74: 2209–2213
- 116 Weng X J. The characterization of porous titanium-niobium alloy and the experimental study of its biocompatibility (in Chinese). Doctor Dissertation. Changsha: Central South University, 2012 [翁晓军. 多孔钛铌合金表征及生物相容性的实验研究. 博士学位论文. 长沙: 中南大学, 2012]
- 117 Dabrowski B, Swieszkowski W, Godlinski D, et al. Highly porous titanium scaffolds for orthopaedic applications. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 2010, 95: 53–61
- 118 Li Y, Wu Q, Tang G, et al. Preparation and characterization of printed magnesium scaffolds for bone tissue engineering (in Chinese). *Chin J Tissue Eng Res*, 2018, 22: 827–832 [李莹, 伍权, 汤耿, 等. 镁骨组织工程支架的打印制备及性能特征. *中国组织工程研究*, 2018, 22: 827–832]
- 119 Yang X, Li M, Lin X, et al. Enhanced *in vitro* biocompatibility/bioactivity of biodegradable Mg-Zn-Zr alloy by micro-arc oxidation coating contained Mg_2SiO_4 . *Surface Coatings Technol*, 2013, 233: 65–73
- 120 Yang T V, Liu X W, Liu Y N, et al. Zirconium-titanium-niobium-tantalum alloys promote humeral shaft fracture healing of rabbits (in Chinese). *Chin J Tissue Eng Res*, 2014, 18: 8382–8386 [杨铁威, 刘欣伟, 柳云恩, 等. 钛铌锆钽合金可促进兔肱骨干横骨折的愈合. *中国组织工程研究*, 2014, 18: 8382–8386]

Summary for “无机纳米材料在骨组织工程与再生医学中的应用”

Application of inorganic nanomaterials in bone tissue engineering and regenerative medicine

Yi Jin^{1,3}, Kun Ge^{1,2}, Dandan Liu^{1,2}, Jinchao Zhang^{1,2}, Huifang Liu^{1,4*} & Xingjie Liang^{5*}

¹ Key Laboratory of Medicinal Chemistry and Molecular Diagnosis of Ministry of Education, Hebei University, Baoding 071002, China;

² College of Chemistry & Environmental Science, Hebei University, Baoding 071002, China;

³ Medical College, Hebei University, Baoding 071002, China;

⁴ College of Pharmacy, Hebei University, Baoding 071002, China;

⁵ Laboratory for Biological Effects of Nanomaterials and Nanosafety, National Center for Nanoscience and Technology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100190, China

* Corresponding authors, E-mail: liuhuifang@hbu.edu.cn; liangxj@nanoctr.cn

Recently, tissue engineering and regenerative medicine, especially bone tissue engineering and regenerative medicine have developed rapidly. Bone tissue engineering is a complicated and dynamic bone remodeling process that starts with recruitment and migration of osteoblasts and then regulates their proliferation, differentiation, and mineralization. Scaffold is typically biodegradable material that plays a crucial role as one of the three elements of bone tissue engineering and regenerative medicine. Bone scaffold provides the mechanical support during reformation and repair of damaged or diseased bone. For more than a decade, a large amount of research work has been carried out on the designing of scaffolds, processing techniques, performance assessment, and medical application. Significant progress has been made toward scaffold materials for structural support for desired osteogenesis and angiogenesis abilities. To date, depending on the advanced technologies, the bioresorbable scaffolds possess controlled porosity and high mechanical properties are possible used as bone scaffold.

Natural bone has delicate architectural structure that spans nanoscale to macroscopic dimensions, which determine the unique mechanical properties of bone. The hierarchical structure of natural bone can be defined as a nanocomposite consisting of inorganic nanocrystalline hydroxyapatite (HA), organic components (mostly are collagens) and water. The outside proteins assemble together to form an extracellular matrix (ECM) with nanostructured which influences the adhesion, proliferation, differentiation, and mineralization of several cell types, such as bone lining cell, mesenchymal stem cells, osteoblasts, osteocytes, and osteoclasts. To better mimic the nanostructure in natural ECM, many research groups over the past decade developed nano-based scaffolds (nanotubes, nanofibers, nanoparticles, and hydrogel) to resemble the ECM for promising candidates in replacing defective tissues. The high biomimetic properties and excellent mechanical features of nano-based scaffolds plays a vital role in stimulating cell adhesion and proliferation, as well as directing bone tissue formation through mimetic the nanometer dimension of natural bone tissue. Besides, mechanical properties are key factors for bone regeneration and bone local function. Nowadays, a large number of research groups have tried to manipulate the mechanical properties of scaffolds through designing the different nanostructures, including nanofiber, nanoparticle, polymer matrices to mimic the nanocomposite structure of natural bone. These materials have highly stiffness, strength, and toughness properties that are promising in bone tissue engineering.

Nanobiomaterials, especially inorganic nanobiomaterials, have excellent mechanical properties and biocompatibility, and are ideal for the preparation of scaffold materials for bone tissue engineering and regenerative medicine, showing a broad application prospect. In this article, we systematically review the application of inorganic nanomaterials, including hydroxyapatite, silicon-based nanomaterials, carbon-containing nanomaterials and several metal nanomaterials in bone tissue engineering and regenerative medicine. Although nanotechnology represents a major frontier with potential to significantly advance the field of bone tissue engineering, the application in the clinical regenerative engineering has limited. Currently, there are several limitations in regenerative strategies, including low efficient cellular proliferation, differentiation and mineralization, insufficient mechanical strength of scaffolds, and limited production of growth factors necessary for efficient osteogenesis. Therefore, there are still some issues on the nano-based scaffold should be cleared: (1) The interaction of nano-based scaffold and bioactive molecules, growth factors, and genetic material, (2) the biocompatibility, cytotoxicity, and biodegradation of nano-based scaffold, and (3) nano-based scaffold mechanical stability, cellular survival, and molecular mechanism of inducing bone formation. As the development of nanotechnology, ultimate translation to the clinical application may allow for improved therapeutic outcomes in patients with large bone deficits and osteodegenerative diseases.

inorganic nanomaterials, bone tissue engineering and regenerative medicine, scaffold

doi: 10.1360/N972018-00826