

介孔氧化硅纳米材料在骨组织工程中的应用

刘相辉, 薛松, 马金忠

(上海交通大学附属第一人民医院骨科, 上海 200080)

【摘要】 组织工程骨作为一种极具潜力的新型骨移植材料,有效弥补了现今骨修复材料的缺陷。其中介孔氧化硅纳米材料由于具有比表面积大、生物相容性好、可进一步加工修饰等优点,适合骨组织工程对材料的需求,具有较好的应用前景。针对前期已开展的基础科学研究成果,本文综述了介孔氧化硅纳米生物材料的基本特性和其在骨组织工程中的应用优势,并从药物载体和支架成分两个方面综述了其在骨组织工程中的研究现状,其中药物载体方面主要介绍负载药物的种类和负载方法,支架成分方面则将含有介孔氧化硅纳米材料的支架分为无机支架、有机支架和复合支架三类,并标注了各种支架在微观结构、药物释放动力学、力学性质以及所培养细胞的分子学和细胞学行为等一个或多个方面的突出优点。此外,本文还介绍了介孔氧化硅纳米材料在骨粘合剂中的应用,以及金属离子的引入。最后对介孔氧化硅纳米生物材料在骨组织工程领域的发展方向提出了设想。

【关键词】 介孔氧化硅; 纳米材料; 骨组织工程; 骨修复

中图分类号: R318.08

DOI: 10.12200/j.issn.1003-0034.2020.08.019

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Mesoporous silica nanoparticles for bone tissue engineering LIU Xiang-hui, XUE Song, and MA Jin-zhong. Department of Orthopaedics, Shanghai 1st People's Hospital, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200080, China

ABSTRACT As a new potential bone graft material, tissue engineered bone effectively compensates for the defects of today's bone repair materials. Meanwhile, mesoporous silica nanomaterials (MSNs) have been widely recognized due to their large specific surface area, good biocompatibility, and capability of further processing and modification. They have promising application prospects in bone tissue engineering. For the basic scientific research results that have been carried out in the early stage, the basic characteristics of mesoporous silica nano-biomaterials and their application advantages, research status and development prospects in bone tissue engineering are reviewed. As for the research status, there are two aspects—as a carrier or as a component of engineering scaffolds. For the first aspect, different kinds of loaded drugs and different loading methods are reviewed. For the second, microstructure and mechanical properties of various complex scaffolds containing MSNs and the molecular and cellular behavior of seeded cells on these scaffolds are reviewed. The research of MSNs in bone cements and metal ions-doped MSNs in bone tissue engineering are also included. The future development of MSNs in bone tissue engineering is also discussed.

KEYWORDS Mesoporous silica; Nanoparticles; Bone tissue engineering; Bone repair

目前,针对临界性骨缺损的治疗方法主要通过外科手术移植自体骨或同种异体骨或者植入骨替代物。但却存在着供体不足、免疫排斥反应、骨替代物与自然骨机械性能匹配异常等问题。利用骨组织工程进行骨修复被广泛认可为一种理想的解决方案,骨组织工程需要干细胞、信号分子以及支架 3 个部分的有机结合^[1],这其中支架材料扮演着重要角色。介孔氧化硅材料(mesoporous silica nanoparticles,

MSNs)是一种性能优良的药物载体,同时本身也具有促成骨的生物活性,因而逐渐被用于骨组织工程的基础研究,主要聚焦于两方面:一是介孔硅材料能够负载的不同的功能因子,二是研究者们利用介孔硅的优良特性构建的不同的复合支架材料。

1 介孔氧化硅纳米材料

根据国际应用化学联合会定义,多孔材料按孔径大小分为微孔(<2 nm)、介孔(2~50 nm)和大孔(>50 nm)3 种类型。1992 年 Kresge 等首次应用溶胶凝胶(Sol-gel)法合成了孔道结构规整、孔径大小可调的 M41S 系列介孔氧化硅材料。除了比表面积高及孔容大之外,安全性高是 MSNs 的优点之一,包括良好的生物相容性、生物降解性及生物代谢性^[2-3]。其次,MSNs 可以进行功能化和修饰,MSNs 的表面有丰

基金项目:国家自然科学基金(编号:81871795);上海市科委项目(编号:13411950503;134119a2802)

Fund program: National Natural Science Foundation of China (No. 81871795)

通讯作者:马金忠 E-mail:majinzhong007@sina.com

Corresponding author: MA Jin-zhong E-mail:majinzhong007@sina.com

富的硅羟基,可以引入氨基或巯基等功能基团,进而引入新的分子。其他的修饰方法还有层层自组装技术、沉积-沉淀法以及整合无机纳米晶体^[4]等。可设计性也是 MSNs 的一大优势,通过改变表面活性剂与硅源物质的摩尔比率和 pH 值等实验条件,可以改变 MSNs 的颗粒大小、长径比、孔径大小及形状等参数^[5]。MSNs 所具备的以上特性,使其在生物医学领域备受关注,现已应用于骨组织工程、感染性疾病、糖尿病、炎症和肿瘤等多学科领域;MSNs 在其中主要发挥药物缓释载体、成像及诊断等作用。

2 介孔氧化硅纳米材料在骨组织工程中的应用

除了运载药物外,介孔氧化硅材料本身也具有促进骨修复的作用。一是其水解释放的硅离子能够促进成骨细胞中成骨相关基因的表达^[6];二是其介孔结构有助于羟基磷灰石的沉积,起到促进矿化的作用^[1]。此外,MSN 还会诱导一种有利于成骨分化的免疫微环境,其中摄取 MSNs 的巨噬细胞在形成该种免疫微环境中发挥着重要作用^[7]。本文主要从药物载体和支架组分这两个角度介绍 MSNs 在骨组织工程中的应用进展。

2.1 作为药物释放载体

在骨组织工程中,MSNs 负载的功能因子包括传统化学药物、多肽与蛋白、质粒 DNA 和复合因子。研究者希望 MSNs 除了能够负载足量药物外,还能够持续释放药物,以维持有效药物浓度,而要实现这一点需要探索合适的 MSNs 参数(颗粒大小、长径比、孔径大小及形状)、药物负载方法以及释放体系等。

2.1.1 传统化学药物 MSN 已被广泛研发作为传统药物的载体,Shi 等^[6]将二甲基酰甘氨酸载入 MSNs 孔道内,这种药物能够稳定低氧诱导因子的表达,诱导产生胞内的低氧微环境从而充当一种促血管生成因子。这种载药 MSNs 能够促进人骨髓间充质干细胞的成骨分化,并诱导血管生成相关基因表达。类似的,Alvarez 等^[8]将载有伊班膦酸钠的介孔氧化硅颗粒掺入胶原蛋白凝胶内,发现这一纳米复合材料有较好的药物控释能力,可以连续控释 10 d 左右,抑制破骨细胞的功能,促进间充质干细胞成骨分化,也提示介孔氧化硅颗粒释放药物的可控性。

2.1.2 多肽与蛋白 多肽除了可以装载于 MSNs 孔道内,还可以共价结合于修饰后的 MSNs 表面。Luo 等^[9]将骨形态发生蛋白-7(bone morphogenetic protein-7, BMP-7)载入 MSNs 孔道内,得到载多肽介孔氧化硅颗粒。这种颗粒具有良好的负载能力,并且可以有效促进人骨髓间充质干细胞的成骨分化。另外,通过改变加入的 MSNs 的浓度,可以改变促成骨分化作用的起效时间,从而实现了功能因子的时序

性释放。Trejo 等^[10]将甲状旁腺激素相关蛋白引入 SBA-15 表面,能够促进兔股骨缺损模型的修复。

2.1.3 质粒 DNA MSNs 由于具有较好的生物相容性,低毒性等优势,在其上负载质粒大分子也曾被报道具有良好的效果。Kim 等^[11]使用氨基化的介孔氧化硅颗粒负载编码骨形态发生蛋白-2(BMP-2)的质粒,然后加入大鼠间充质干细胞的培养液中,结果这种复合颗粒的细胞摄取率达到 68%,同时被转染的细胞中有 66%表达 BMP-2。另外其他成骨相关基因的表达水平也明显高于对照组。

2.1.4 复合因子 MSNs 可以同时负载多种功能因子,实现协同的促成骨作用。Zhou 等^[12]制造了一种载地塞米松的多肽功能化介孔氧化硅颗粒(DEX@MSNs-pep),即同时负载了地塞米松和 BMP-2。肽段的引入使 MSNs 有更好的分散性和生物相容性,更容易被骨髓间充质干细胞摄入。而地塞米松的加入,进一步增强了促成骨分化能力。在大鼠体内异位成骨实验中也能明显诱导新骨形成^[13]。

2.2 作为支架成分

通过将载有功能因子的介孔氧化硅材料掺杂或包被于骨组织工程支架材料,得到复合支架材料,可以使支架获得持续性的功能因子释放性能,另外,介孔氧化硅材料的加入还能够提高支架的力学性能。本文按照支架成分将这些支架分为三类:无机支架、有机支架和复合支架,对支架的评价指标包括微观结构、药物释放动力学、力学性质以及所培养细胞行为学等。

2.2.1 无机骨修复支架 较早引入 MSNs 的支架材料是生物活性玻璃。Ramiro-gutierrez 等^[13]向生物活性玻璃制备液中加入 SBA-15,制备了网状开孔的复合材料支架,这种材料同时具有大孔和介孔结构;同时 SBA-15 的引入还改善了支架的机械性能。

Li 等^[14]将介孔氧化硅粉末与磷酸钙骨水泥混合,加入聚乙烯醇水溶液制成糊剂,通过 3D 打印得到复合支架,这种打印材料同时具有大孔和介孔结构,载入 BMP-2 后既有促间充质干细胞成骨分化作用,又能促血管生成。

另外一类无机支架则直接以纤维状的介孔氧化硅材料为主体,这种通过静电纺丝技术制得的介孔氧化硅纳米纤维,能够实现人成骨样细胞 MG63 的黏附、增殖及成熟^[15]。研究者分别制作了单层和多层介孔氧化硅纤维垫用于培养细胞,后者因微环境受限、孔隙相对减少等原因而表现不如前者。更进一步,该团队又制备了一种仿生“三明治”骨架:两层介孔氧化硅纳米纤维网格之间夹一层明胶膜,用来模拟细胞外基质的糖胺聚糖凝胶,辅助养分扩散和细

胞迁移。他们认为介孔氧化硅纳米纤维所具有的有序介孔和微孔结构既为细胞提供了良好的接触点并引导细胞伸展,又有助于生物分子和生长因子的吸附,充当了局部细胞的“养分仓库”。

2.2.2 有机支架 研究者们通过电喷涂技术^[16]、溶胶-凝胶法^[17]、静电纺丝法^[18]及电泳沉积法^[19]等方法,将 MSNs 与有机材料充分混合,得到复合支架,以充分利用 MSNs 比表面积大的优势。与无机支架相比,有机支架除了生物活性更佳外,其动态变化也更多样。这种动态变化源于其良好的生物降解性。Mieszawska 等^[20]制备了一种掺有介孔氧化硅颗粒的静电纺纤维,这种复合材料除了能够促进人骨髓间充质干细胞的成骨分化外,还有良好的生物降解性。当掺杂的介孔氧化硅颗粒较小(24 nm-2 μm)时,其含硅量在 10 周内降至原来的 1/5,进一步提示该材料的降解可控性。

Hu 等^[21]则将载有 β-雌二醇(Estradiol, E2)的介孔氧化硅颗粒(E2-MSN)嵌入钛基体表面覆盖的明胶/壳聚糖层中。当暴露于生理环境时,钛基体表面涂层降解使 E2-MSN 释放并被细胞摄取。这种纳米蓄库式的药物释放体系,模拟了生理条件下生长因子及药物的三维释放模式,以及由于酶或化学介导的降解使得生长因子及药物半衰期短的情况。

2.2.3 复合支架 研究大多采用了“MSNs+羟基磷灰石+X”的模式。作为骨骼的主要成分,羟基磷灰石对成骨有明显的促进作用,其与 MSNs 的组合可能起到协同作用。Andrade 等^[22]在 SBA-16 材料内原位合成了羟基磷灰石,但这种原位合成方法损伤了 MSNs 内部的硅醇基团和孔结构,使环丙沙星的释放速度大幅提高,其 24 h 释放率从 32% 升高到 93%。Zhu 等^[23]则通过等离子喷涂的方法在克氏针表面引入羟基磷灰石,然后通过原位合成引入 MSNs,使克氏针获得药物缓释及促成骨能力。此外还有研究者通过单乳溶剂蒸发法+加热铸型、直接混合+低温铸型^[24]的方法制备了此种组合模式的复合支架,其药物释放能力可达 1 个月之久。

2.3 介孔氧化硅材料在骨粘固剂中的应用

骨粘固剂是一种骨与骨植入物之间的灌浆材料,起到固定骨植入物的作用。主要有丙烯酸基骨水泥和磷酸钙骨水泥两种。前者临床应用广泛,但是其生物活性差,不能形成良好的骨结合界面。后者则存在力学性质差的问题。

Shen 等^[25]将 MSNs 引入丙烯酸基骨水泥以改善其药物释放能力,同时也没有损害到骨水泥的弯曲模量及抗压强度。Slane 等^[26]也发现,加入 MSNs 后丙烯酸基骨水泥的部分静态力学性能、水化程度及

总洗脱率得到了改善,但其疲劳性能和断裂韧性却显著下降。因此 MSNs 可能并不是一种良好的增强剂。之后他们又分别将氨基和羧基功能化的 MSNs 加入骨水泥中,以期增强 MSNs 与骨水泥间的黏附,但是没有实现这一效果。

而 Tan 等^[27]则发现 MSNs 的加入不仅提高了硫酸钙骨水泥的抗压强度,还改善了其药物释放性能,同时减缓了硫酸钙骨水泥的降解速度。

2.4 添加了金属离子的介孔氧化硅纳米材料

此外还有一些在 MSNs 合成液中掺杂金属离子的研究。Dai 等^[28]制备了掺钙/镁的介孔氧化硅材料,并以聚氨酯泡沫塑料为模板,合成了大孔与介孔结构并存的支架,负载了重组人骨形态发生蛋白(recombinant human bone morphogenetic protein, rhBMP-2)后可以诱导体外成骨分化和体内异位成骨,同时在兔股骨腔缺损模型中也起到了很好的修复效果。

还有铜离子^[7]、钨离子^[29],这两种离子的加入除了能促进间充质干细胞的成骨分化外,还能够促进血管内皮生长因子产生。值得一提的是,两种掺杂离子的介孔氧化硅材料都能够调节免疫微环境,促进成骨作用抑制破骨作用。另外还有锂离子,同样可以促进骨髓间充质干细胞附着、增殖和成骨分化。

3 总结

目前骨组织工程领域取得了很大的进步,为未来的骨修复治疗提供了较为理想的方案,但其距离临床使用仍有较大差距。研究者们面临的主要挑战之一是开发一种组织支架为细胞附着、增殖及分化提供仿生微环境——包括附着点、生物信号、免疫调节和养分供给等。同时这种三维微环境需要一定的时序性。单一材料的支架难以满足这些要求,因此需要构建复合支架。

介孔氧化硅材料作为一种生物活性良好的药物释放载体,在骨组织工程复合支架的构建中得到了大量的研究。本文总结了介孔氧化硅材料在骨组织工程中的应用,列举出该材料的多种载药方法及多种复合支架的构建,另外介绍了 MSNs 在骨黏合剂中的应用研究。笔者发现这些研究多关注于成骨过程中的分子学和细胞学行为,较少涉及生物工程和生物力学。同时动物实验以大鼠等小型动物为实验对象,与临床所用的骨移植物尺寸差别较大。因此未来的研究应该侧重于介孔氧化硅复合支架的机械性能,并且研究该材料在大型动物模型中的疗效。

参考文献

- [1] Shadjou N, Hasanzadeh M. Bone tissue engineering using silica-based mesoporous nanobiomaterials: Recent progress [J]. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl, 2015, 55: 401-409.
- [2] Meng H, Xue M, Xia T, et al. Use of Size and a Co-polymer design

- feature to improve the biodistribution and the enhanced permeability and retention effect of doxorubicin-loaded mesoporous silica nanoparticles in a murine xenograft tumor model[J]. *Acs Nano*, 2011, 5(5):4131–4144.
- [3] He X, Nie H, Wang K, et al. In vivo study of biodistribution and urinary excretion of surface-modified silica nanoparticles[J]. *Analytical Chemistry*, 2008, 80(24):9597–9603.
- [4] Zhao T, Nguyen n T, Xie Y, et al. Inorganic nanocrystals functionalized mesoporous silica nanoparticles: fabrication and enhanced bio-applications[J]. *Front Chem*, 2017, 5:118.
- [5] Tang F, Li L, Chen D. Mesoporous silica nanoparticles: synthesis, biocompatibility and drug delivery[J]. *Adv Mater*, 2012, 24(12):1504–1534.
- [6] Shi M, Zhou Y, Shao J, et al. Stimulation of osteogenesis and angiogenesis of hBMSCs by delivering Si ions and functional drug from mesoporous silica nanospheres[J]. *Acta Biomater*, 2015, 21:178–189.
- [7] Shi M, Chen Z, Farnaghi S, et al. Copper-doped mesoporous silica nanospheres, a promising immunomodulatory agent for inducing osteogenesis[J]. *Acta Biomater*, 2016, 30:334–344.
- [8] Alvarez GS, Echazu MIA, Olivetti CE, et al. Synthesis and characterization of ibandronate-loaded silica nanoparticles and collagen nanocomposites[J]. *Curr Pharm Biotechnol*, 2015, 16(7):661–667.
- [9] Luo Z, Deng Y, Zhang R, et al. Peptide-laden mesoporous silica nanoparticles with promoted bioactivity and osteo-differentiation ability for bone tissue engineering[J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2015, 131:73–82.
- [10] Trejo CG, Lozano D, Manzano M, et al. The osteoinductive properties of mesoporous silicate coated with osteostatin in a rabbit femur cavity defect model[J]. *Biomaterials*, 2010, 31(33):8564–8573.
- [11] Kim TH, Kim M, Eltohamy M, et al. Efficacy of mesoporous silica nanoparticles in delivering BMP-2 plasmid DNA for in vitro osteogenic stimulation of mesenchymal stem cells[J]. *J Biomed Mater Res A*, 2013, 101(6):1651–1660.
- [12] Zhou X, Feng W, Qiu K, et al. BMP-2 derived peptide and dexamethasone incorporated mesoporous silica nanoparticles for enhanced osteogenic differentiation of bone mesenchymal stem cells[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2015, 7(29):15777–15789.
- [13] Ramiro-gutierrez ML, Will J, Boccaccini AR, et al. Reticulated bioactive scaffolds with improved textural properties for bone tissue engineering: nanostructured surfaces and porosity[J]. *J Biomed Mater Res A*, 2014, 102(9):2982–2992.
- [14] Li C, Jiang C, Deng Y, et al. RhBMP-2 loaded 3D-printed mesoporous silica/calcium phosphate cement porous scaffolds with enhanced vascularization and osteogenesis properties[J]. *Sci Rep*, 2017, 7:41331.
- [15] Ravichandran R, Gandhi S, Sundaramurthi D, et al. Hierarchical mesoporous silica nanofibers as multifunctional scaffolds for bone tissue regeneration[J]. *J Biomater Sci Polym Ed*, 2013, 24(17):1988–2005.
- [16] Kim TH, Eltohamy M, Kim M, et al. Therapeutic foam scaffolds incorporating biopolymer-shelled mesoporous nanospheres with growth factors[J]. *Acta Biomater*, 2014, 10(6):2612–2621.
- [17] Singh RK, Jin GZ, Mahapatra C, et al. Mesoporous silica-layered biopolymer hybrid nanofibrous scaffold: a novel nanobiomatrix platform for therapeutics delivery and bone regeneration[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2015, 7(15):8088–8098.
- [18] Zhou P, Cheng X, Xia Y, et al. Organic/inorganic composite membranes based on poly(L-lactic-co-glycolic acid) and mesoporous silica for effective bone tissue engineering[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2014, 6(23):20895–20903.
- [19] Qiu K, Chen B, Nie W, et al. Electrophoretic deposition of dexamethasone-loaded mesoporous silica nanoparticles onto poly(L-Lactic Acid)/Poly(epsilon-Caprolactone) composite scaffold for bone tissue engineering[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2016, 8(6):4137–4148.
- [20] Mieszawska AJ, Fourligas N, Georgakoudi I, et al. Osteoinductive silk-silica composite biomaterials for bone regeneration[J]. *Biomaterials*, 2010, 31(34):8902–8910.
- [21] Hu Y, Cai K, Luo Z, et al. Layer-by-layer assembly of beta-estradiol loaded mesoporous silica nanoparticles on titanium substrates and its implication for bone homeostasis[J]. *Adv Mater*, 2010, 22(37):4146–4150.
- [22] Andrade GF, Gomide VS, Da Silva Junior AC, et al. An in situ synthesis of mesoporous SBA-16/hydroxyapatite for ciprofloxacin release: in vitro stability and cytocompatibility studies[J]. *J Mater Sci Mater Med*, 2014, 25(11):2527–2540.
- [23] Zhu M, Zhu Y, Ni B, et al. Mesoporous silica nanoparticles/hydroxyapatite composite coated implants to locally inhibit osteoclastic activity[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2014, 6(8):5456–5466.
- [24] Zanjanizadeh Ezazi N, Shahbazi MA, Shatalin YV, et al. Conductive vancomycin-loaded mesoporous silica polypyrrole-based scaffolds for bone regeneration[J]. *Int J Pharm*, 2018, 536(1):241–250.
- [25] Shen SC, Ng WK, Shi Z, et al. Mesoporous silica nanoparticle-functionalized poly(methyl methacrylate)-based bone cement for effective antibiotics delivery[J]. *J Mater Sci Mater Med*, 2011, 22(10):2283–2292.
- [26] Slane J, Vivanco J, Meyer J, et al. Modification of acrylic bone cement with mesoporous silica nanoparticles: effects on mechanical, fatigue and absorption properties[J]. *J Mech Behav Biomed Mater*, 2014, 29:451–461.
- [27] Tan H, Yang S, Dai P, et al. Preparation and physical characterization of calcium sulfate cement/silica-based mesoporous material composites for controlled release of BMP-2[J]. *Int J Nanomedicine*, 2015, 10:4341–4350.
- [28] Dai C, Guo H, Lu J, et al. Osteogenic evaluation of calcium/magnesium-doped mesoporous silica scaffold with incorporation of rhBMP-2 by synchrotron radiation-based muCT[J]. *Biomaterials*, 2011, 32(33):8506–8517.
- [29] Shi M, Xia L, Chen Z, et al. Europium-doped mesoporous silica nanosphere as an immune-modulating osteogenesis/angiogenesis agent[J]. *Biomaterials*, 2017, 144:176–187.

(收稿日期:2019-06-18 本文编辑:王玉蔓)