



骨及生物材料中的纳米磷酸钙

刘翠莲¹ 唐睿康^{*,1,2}

(¹ 浙江大学化学系及生物物质与信息调控中心, 杭州 310027)

(² 浙江大学求是高等研究院, 杭州 310027)

摘要: 纳米磷酸钙在自然界骨组织的形成过程中起到了关键作用。尽管骨的类型有所不同,但在其初级结构中的无机成分都是纳米磷酸钙。纳米磷酸钙结构能够给予骨良好的机械性能和生物学活性。在生物体中,无机纳米磷酸钙在有机基质的调控下能定向自组装成特定的生物矿物。体外细胞实验显示小尺寸纳米羟基磷灰石更能促进骨髓基质干细胞的增殖,而同尺寸的结晶型纳米磷酸钙则比无定形磷酸钙更能利于干细胞分化。鉴于纳米磷酸钙具有很好的生物相容性和骨诱导性,可以发展成为理想的生物材料常用于骨组织工程和生物医学。

关键词: 生物矿化; 纳米粒子; 磷酸钙; 羟基磷灰石

中图分类号: O611.6

文献标识码: A

稿件编号: 1001-4861(2014)01-0001-09

DOI: 10.11862/CJIC.2014.072

Calcium Phosphate Nanoparticles in Bone and Biomaterials

LIU Cui-Lian¹ TANG Rui-Kang^{*,1,2}

(¹Department of Chemistry and Center for Biomaterials and Biopathways, Zhejiang University, Hangzhou 310027, China)

(²Qiushi Academy for Advanced Studies, Zhejiang University, Hangzhou 310027, China)

Abstract: Calcium phosphate nanoparticles play a key role in the formation of bone in nature. Although there is significant variation between different types of bone, inorganic components in the primary structure of bone are nano calcium phosphates. Nano-calcium phosphates can confer on bone remarkable mechanical property and bioactivity. In living organisms, inorganic nano calcium phosphate particles, under the control of an organic matrix, can combine into self-assembled biominerals. The in vitro experiments have demonstrated the improved biocompatibility of calcium phosphates in their nano forms. Greater cell proliferation of bone marrow mesenchymal stem cells (MSCs) is frequently induced by smaller hydroxyapatite (HAP) nanoparticles. HAP improved a better differentiation for MSCs than the amorphous one, ACP, when they are in the same size distribution. Due to its excellent biocompatibility, it is suggest that nano-HAP may be developed as an ideal biomaterial in bone tissue engineering and biomedicine.

Key words: biomineralization; nanoparticles; calcium phosphate; hydroxyapatite

0 引 言

生物体内有各种形式的矿物材料, 目前已经发

现的生物矿物有 60 多种^[1]。磷酸钙作为脊椎动物生物体内硬组织的主要无机成分^[2]受到广泛关注。自然界中, 生物体硬组织中的磷酸钙的主要存在形式

收稿日期: 2013-09-24。收修改稿日期: 2013-10-28。

国家自然科学基金(No.91127003)资助项目。

*通讯联系人。E-mail: rtang@zju.edu.cn Tel: 0571-87953736; 会员登记号: S060015514M。

是碳酸化的磷灰石^[3],它们能为组织提供机械性能和生物学性能。尽管生物体选择磷酸钙为生物矿物的原因尚不清楚,但体内的生理和病理性矿化等现象促使研究人员关注磷酸钙在生物体内的形成、生长、降解及与细胞间相互作用等问题。

与实验室合成的大尺寸磷酸钙不同,生物体在温和条件下形成磷酸钙往往具有纳米小尺寸特征^[4]。生物矿物的一个重要特征是具有分级结构,人们注意到其基本单元通常是纳米级有序^[5-6]。例如在骨和牙齿的形成过程,几十到几百纳米的磷酸钙晶体在胶原基质中有序排列并自组装形成有机-无机复合矿物。因此,纳米羟基磷灰石(HAP)可以模拟生物硬组织中的磷酸钙的组分,也常用于生物相容性很好的组织工程移植、骨和牙齿修复^[7-8]等。本文概述了生物体中骨和生物材料研究中的纳米磷酸钙,全文分为五部分:第一部分,骨中的纳米磷酸钙;第二部分,纳米磷酸钙合成中的多形控制;第三部分,纳米磷酸钙的生物效应;第四部分,纳米磷酸钙在生物医学领域的应用;最后一部分则展望纳米磷酸钙研究的发展前景。

1 骨中的纳米磷酸钙

骨是生物体中最典型的钙组织,它具有多种形状和尺寸。骨组织是自然的非均相混合物,是由生物矿物、矿物镶嵌于其中的蛋白基质、非胶原有机物和水等共同组成^[9]。矿物相占骨质量的 65%~70%,水占 5%~8%,有机组分占剩余的部分。其中有机组分的主要成分是胶原蛋白^[10-12]。骨矿物的化学组分很复杂,其中最主要的无机组分是近似于化学中的羟基磷灰石(Hydroxyapatite, HAP),但通常是缺钙或是富

含碳酸根^[3],因此被统称为磷灰石。羟基磷灰石是众多磷酸钙中在体液环境下具有热力学最稳定的相^[3],也是应用最广泛的磷酸钙材料。从微观上看,骨的基本单元是纳米尺寸上结构有序的磷酸钙矿化的胶原蛋白。纳米结构的硬物质磷灰石镶嵌在软物质 I 型胶原分子中形成矿化的纳米胶原纤维,并且磷灰石晶体的 *c* 轴择优取向与胶原纤维轴向平行^[14-15]。骨中磷灰石晶体尺寸大致范围是 30~50 nm 长,15~30 nm 宽,2~4 nm 厚^[16-17]。这些纳米磷灰石晶体通常是连贯对齐的,片状且大致平行^[14]。文献显示羟基磷灰石超薄的晶体结构能确保骨拥有强而不脆,硬而柔韧的机械特性^[18-19]。高华建等利用 Griffith 的断裂力学理论显示纳米级的材料对断裂裂缝不敏感,而且骨中矿物晶体的纳米尺寸具有最佳的断裂强度和最大的缺陷应力^[20]。而且矿物晶体的择优排列使骨的物理特性在纳米尺寸上具有最佳的各向异性^[21]。此外,矿物的纳米尺寸和超薄特性能够令蛋白基质变形驱散断裂能,保护矿化蛋白结构的完整性。在骨的初级结构中,硬的矿物晶体承受压力变形,并把压力通过胶原基质转移到与之相连的矿物晶体,有效地再分配骨中的应变力来保护易碎的矿物相^[22]。

另外,纳米磷灰石对生物体还有另一个重要功能,它是各种功能代谢必须的钙离子和磷酸盐的巨大仓库,通过所谓的“生物矿物重建”过程提供或使用钙和磷酸盐^[23]。生物矿物的重建过程是成骨细胞分泌胶原蛋白形成羟基磷灰石和破骨细胞分泌酸和蛋白酶溶解吸收羟基磷灰石的动态平衡过程。这一过程分为五步:骨的活化,再吸收,反转,骨形成,静态^[24-25]。骨的结构对生物功能亦可能有影响。

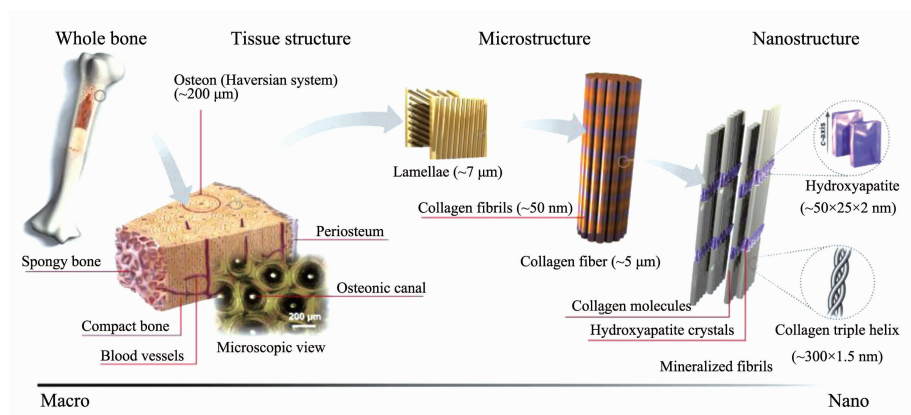


图 1 骨的分级结构示意图^[12]

Fig.1 Hierarchical structure of typical bone at various length scales^[12]

2 纳米磷酸钙的多形控制

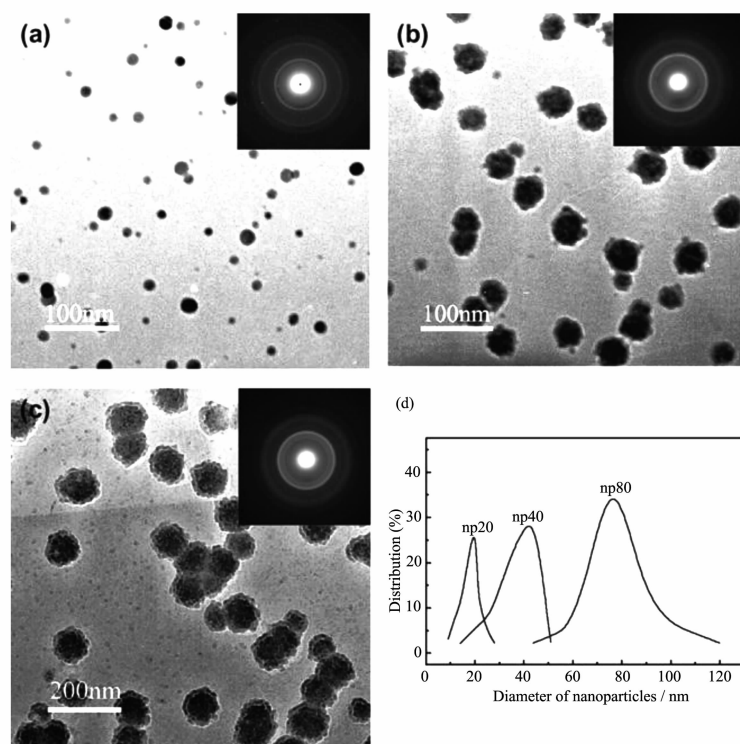
纳米尺寸的羟基磷灰石在基础科学研究和生物材料应用等领域受到广泛关注。纳米羟基磷灰石是指至少在一个方向上的尺寸小于 100 nm, 拥有高表面活性和超微结构^[26]。纳米羟基磷灰石晶体的合成方法有很多种, 有干法、湿法、生物来源合成等^[12,27]。细分又可分为固态反应、微乳液、化学沉淀法、水热法、溶胶-凝胶法、水解法、机械化学合成法等多种方法^[28-33]。通过这些方法可以合成不同尺寸和形貌的纳米羟基磷灰石晶体。

虽然文献报道的各种纳米 HAP 的合成方法都具有科学性和一定的实用性, 但通过物理化学方法精确控制纳米 HAP 晶体尺寸和形貌的研究较少。许多报道合成的 HAP 晶体的粒子分布是从几十到几百纳米的混合。此外, 控制颗粒的形貌是纳米 HAP 晶体合成的另一个问题。我们注意到, 天然骨矿物是均匀的片状 HAP 晶体, 尺寸较小, 厚度只有 2~4 nm^[2,34]。

近年来, 发展形成了许多用限定反应空间来控制合成纳米颗粒尺寸的方法^[35], 如反胶束、微乳液、

囊泡、脂质二重膜、细菌线等^[36-40]。在这些方法中, 反胶束和微乳液法适用与合成纳米 HAP^[41-42]。在生物矿化过程中, 有机晶体表面位点的功能化官能团起着重要的作用。因此, 以富含功能官能团的膜作为模板用于无机晶体沉积受到关注^[43]。不同的两亲分子聚集在气/液界面, 形成高度有序的分子层, 用于诱导沉淀矿物晶体的取向。矿物可以具有单层或多层结构。以这种形式聚集的分子常用于有机基质模型, 如 Langmuir 分子膜、LB 膜 (Langmuir-Blodgett 膜)、SAMs 膜 (Self Assembled Monolayers)^[44]。

除了膜的模板, 聚合物也可以在溶液体系中作为模板控制 HAP 晶体的形状和尺寸。我们则选择十六烷基三甲基溴化铵 (CTAB) 作为表面活性剂控制 HAP 纳米晶体的合成^[45]。通过改变 CTAB 在过饱和磷酸钙溶液中的浓度来调控颗粒的尺寸。例如, 在不同的 CTAB 浓度下, 合成出 3 种不同粒径的 HAP 纳米颗粒, 平均粒径为 (20 ± 5) nm, (40 ± 10) nm 和 (80 ± 12) nm。近来, 许多研究开始尝试合成与骨或牙齿具有类似化学组分和纳米结构的人工仿生 HAP 材料, 已取得一些进展。Fowler 等直接在含有两亲表面活性剂双(2-乙基己基)琥珀酸酯磺酸钠(AOT)、水和油



(a) 20 nm, (b) 40 nm, (c) 80 nm, (d) Particle size distribution of the nanoparticles.^[45]

图 2 球形纳米 HAP 的尺寸控制合成

Fig.2 Controlled size synthesis of spherical nano-HAP

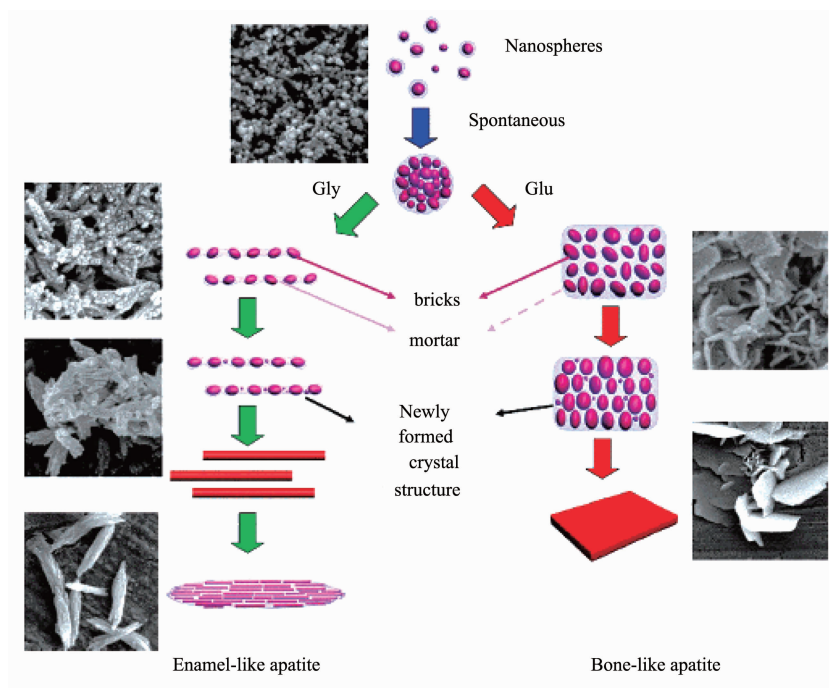


图 3 生物组分调控下磷灰石进化示意图^[50]

Fig.3 A schematic model of apatite evolution under the control of biological components.^[50]

的溶液中合成纳米 HAP 束^[46]。这些纳米 HAP 束长 750 nm~1 μm , 宽 250~350 nm, 具有类牙釉质的结构。传统的生物矿化研究所建立的有机-无机界面识别模型认为矿物晶体是通过单个原子或分子进入前期形成的晶核或是模板上生长的。生物体则利用蛋白质、多肽或多糖调控矿物晶体的成核、生长及晶面的稳定性。而近年来 Banfield 等发现数个纳米晶粒可融合成单独的晶体, 其生长基于纳米颗粒而非离子^[47]。无机纳米晶体在界面上具有相同的晶体取向, 定向附着融合成有序的固相物质。而当有机物存在时, 纳米晶体可以排列成结构有序的有机-无机复合超晶体, 即介晶^[48]。这些介晶是结晶的无机矿物相与有机分子的临界微晶, 具有超晶格结构。此外, 还有无定形相转化模型^[49], 以及在此基础上的仿生矿物自组装模型。我们提出生物纳米晶体组装新的模型“砖和泥”^[50]。其中, 无定型磷酸钙(ACP)与结晶羟基磷灰石(HAP)形成壳核结构, 它们在生物分子甘氨酸(Gly)和谷氨酸(Glu)存在下构建出高度有序的一类牙釉质和类骨矿物的组装结构。牙釉蛋白存在下也能生成类牙釉质 HAP, 且牙釉蛋白组装速度至少比甘氨酸快 20 倍。在没有有机物存在的体系中, 这些纳米颗粒也演变成针状结构, 但需更长的时间, 且不会生成片状或束状结构。这结果说明有机物可影响

纳米磷酸钙的组装动力学, 且参与调控矿物的组装结构和纳米晶体的排列模式。

3 纳米磷酸钙的细胞生物效应

骨中纳米磷酸钙在胶原蛋白基质调控下组装成宏观的骨矿物组织^[51], 但生物基质如何控制晶体有序组装或生长? 骨细胞又是如何调控晶体出现位点及数量? 以及矿物基质能否干预细胞? 在骨相关细胞中, 成骨细胞是骨形成细胞, 破骨细胞是骨吸收细胞, 两种细胞协同参与矿物形成和骨结构的构建, 且持续动态调整骨密度、骨重建及骨降解。最近研究表明骨增生、骨质疏松症等都与 HAP 矿化过程中细胞的参与有关, 但机理尚不清楚。另外, 纳米磷酸钙与骨具有相似组成和结构, 常用于骨组织工程。因此研究纳米磷酸钙和骨相关细胞的相互作用有利于解释骨的形成机制, 预防和治疗骨相关疾病, 还可设计具有高生物活性的新颖生物材料。

3.1 尺寸效应

纳米级的 HAP 材料比传统的磷酸钙具有更好的生物相容性, 许多体内体外实验证实纳米 HAP 可以促进细胞的增殖和矿化^[52-53]。鉴于纳米 HAP 的高生物活性, 纳米 HAP 常作为临床材料应用。我们研究了纳米 HAP 的尺寸对细胞生物活性的影响^[45], 结

果显示小尺寸的纳米颗粒能更好地促进骨髓基质干细胞 (Mesenchymal stem cells, MSCs) 的增殖,且 20 nm 的 HAP 上生长的细胞活性最好。同时,纳米 HAP 颗粒还能抑制骨肿瘤细胞 (U2OS、MG63) 的增殖,其抑制效果也和纳米粒子的尺寸相关。这说明尺寸对纳米 HAP 的生物相容性有着重要的影响。

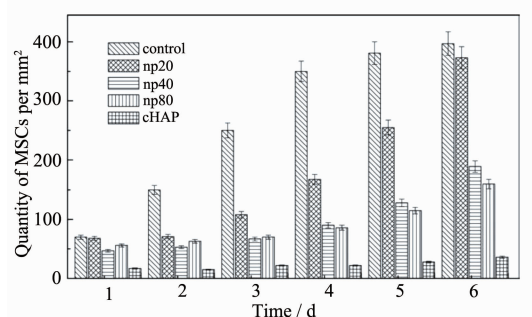


图 4 MSCs 细胞在不同 HAP 基底上的增殖^[45]

Fig.4 Proliferations of MSCs on different HAP substrates^[45]

3.2 结晶性影响

无定形磷酸钙(ACP)被视为骨形成中生物矿物的前驱体,其具有较高的溶解度易在生物环境中溶解。由于吸收和溶解无定型相能为生物体生成新骨提供钙离子和磷离子源,ACP 常用于生物医学复合材料。鉴于 ACP 能更好的促进细胞贴壁和增殖,研究人员普遍认为 ACP 比结晶的 HAP 具有更好的生物活性。但这些实验中没有考虑到矿物的尺寸效应。我们注意到,在过去实验中所使用的 ACP 颗粒尺寸

要小于 HAP 颗粒的尺寸^[54]。为了正确的理解磷酸钙结晶性对骨细胞的影响,我们合成了具有类似尺寸和形貌的 20 nm ACP 和 HAP 颗粒,并研究它们对 MSCs 细胞贴壁、增殖和分化的影响^[55]。结果显示,在 HAP 膜上比 ACP 膜上细胞能够更好的贴壁和生长。碱性磷酸酶活性检测和聚合酶链式反应检测 (RT-PCR) 均显示 HAP 更能促进 MSCs 的成骨分化。这说明在相同尺寸下,磷酸钙的结晶相 HAP 比 ACP 具有更好的生物相容性和骨诱导性。

4 应用

4.1 组织修复

由于羟基磷灰石具有与骨类似的化学组成,以及没有自体移植取材难和同种异体移植免疫反应的问题,常作为骨修复材料被广泛应用。许多体外实验都证实纳米 HAP 具有很好的生物相容性和骨诱导性。例如,成骨细胞在纳米 HAP 表面上比在传统的 HAP 上表现更好的贴壁、增殖和分化^[56]。细胞如何识别颗粒尺寸及纳米 HAP 性质微小的不同,目前尚不清楚。普遍推测可能是由蛋白在 HAP 颗粒或是表面上的吸附和生物活性不同引起。HAP 颗粒对骨相关细胞的尺寸影响原理还在系统的研究中。纳米 HAP 有高生物活性,常与有机物形成骨支架材料用于体内的骨修复。Peter 等合成纳米纤维状 HAP/明胶复合支架,此支架比纳米纤维状明胶具有更好的生物相容性和成骨诱导能力^[57]。例如,细胞培养 4 周后,骨涎蛋白(BSP)在纳米纤维状 HAP/明胶复合支架上表达是在纳米纤维明胶支架上的 5 倍,而骨钙蛋白

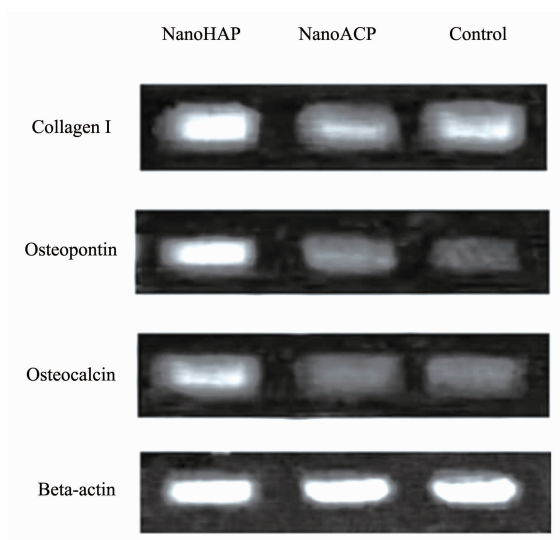


图 5 纳米磷酸钙结晶性对 MSCs 骨相关蛋白表达水平的影响^[55]

Fig.5 Effect of crystallinity of calcium phosphate on the relative expression levels of bone-related protein.^[55]

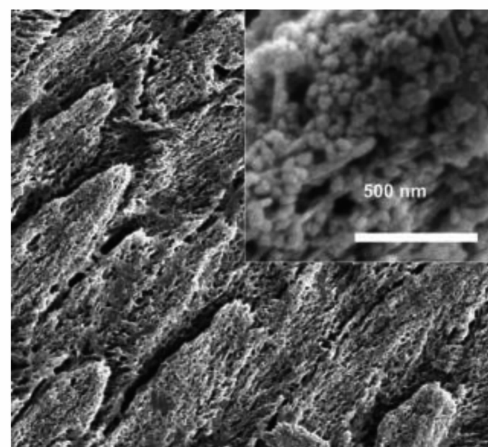


图 6 20 nm HAP 在自然牙釉质表面的强吸附^[60]

Fig.6 Strong adsorption effect of 20 nm-sized HAP on natural enamel surface^[60]

(OCN)在纳米纤维状 HAP/明胶复合支架上表达是在纳米纤维明胶支架上的 2 倍。在临床治疗上,纳米磷酸钙常修饰在生物金属材料如钴铬合金、钛合金、不锈钢等的表面,在提供骨修复材料力学性质的同时也使材料具有更好的生物学活性^[58]。另外,纳米 HAP 还用于牙修复。虽然牙的分级结构比较复杂,但牙釉质基础结构是 20~40 nm 的 HAP 颗粒^[59]。我们课题组报道了 20 nm 的 HAP 比几百纳米的 HAP 和 20 nm 的 ACP 具有更好的牙修复功能^[60]。

4.2 药物载体

蛋白能够可逆地吸附在羟基磷灰石晶体上^[61]但羟基磷灰石药物传输系统受限于其在水中的溶解性^[62]。而纳米 HAP 由于其在体内较高的溶解性,膜穿透力和延长药物循环时间等因素,被认为是很好

的药物载体^[63]。我们合成了平均粒径 145 nm 的分散磷酸钙空心微球。纳米 HAP 微球在空气中或水中稳定存在,但超声后空壳结构破坏生成针状 HAP。这种空心 HAP 微球的载药量是普通针状 HAP 七倍左右,其药物释放量可以通过超声功率控制^[64]。林军等合成了钨掺杂的纳米 HAP 药物载体研究药物的储存和释放,钨掺杂后不影响纳米 HAP 的载药能力,还可以冷光监控药物的释放^[65]。另外我们还合成纳米磷酸钙固化的顺铂药物颗粒,体内体外实验证明这种纳米磷酸钙固化的药物颗粒能够对顺铂抵抗的肿瘤有更好的治疗^[66]。动物体内治疗 16 天后,顺铂治疗耐 A549 顺铂移植瘤的肿瘤抑制指数只有 19.6%,意味化疗失败,而纳米磷酸钙固化的药物肿瘤抑制指数达 72.2%,起到了很好的治疗效果。

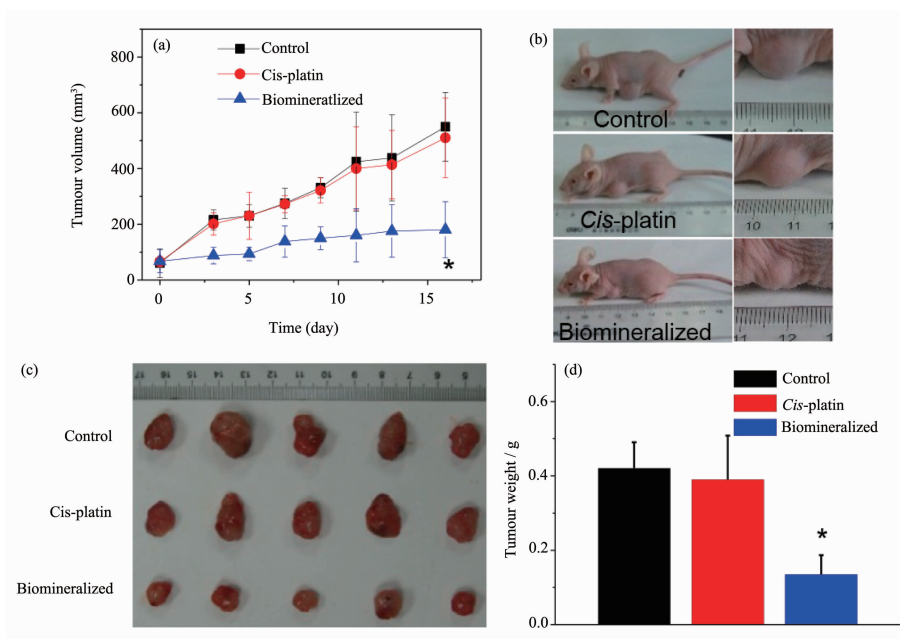


图 7 纳米磷酸钙矿化的顺铂颗粒对顺铂抵抗肿瘤的治疗^[66]

Fig.7 Cisplatin-resistant A549/DDP tumour treated by biomimetalized cisplatin^[66]

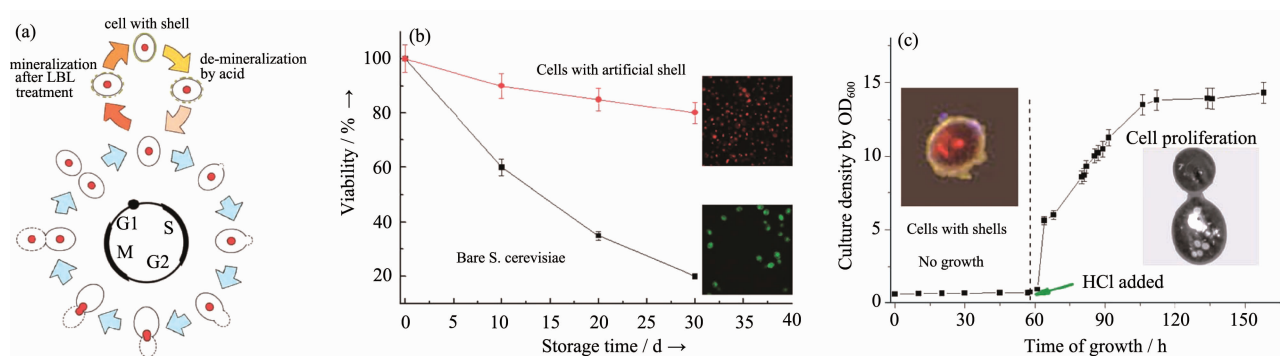
4.3 基因治疗

磷酸钙常用于体外基因转染,但目前的困难是转染能力和动物体内的研究^[67]。DNA 和 RNA 等通常不稳定且不能穿透细胞膜^[68],而纳米 HAP 能够穿透细胞膜并能与 DNA、RNA 共沉淀,因此纳米 HAP 被广泛用于基因转染的研究。Zhu 等制备了 40~60 nm HAP 转染绿色荧光蛋白 DNA (EGFP-N1 pDNA) 到 SGC-7901 细胞^[69]。体外实验显示转染效率可达 80%,体内老鼠实验转染 2 周后没有明显毒性。Similarly Hossain 等用纳米 HAP 转染沉默 RNA

(SiRNA)到 Hela 细胞^[70]。结果显示磷酸钙能够提高 SiRNA 的内吞和胞内释放。

4.4 细胞与疫苗壳化保存

疫苗免疫是人类发展出来的最有效的医学干预手段之一,细胞治疗也可利用自体(或异体)的成体细胞(或干细胞)对组织、器官进行修复,为生命储存一份保险。但疫苗和细胞保存使疫苗及细胞治疗医学应用的有效性和覆盖率受到极大的限制和挑战。在自然界,许多生物体如鸡蛋、贝壳、硅藻等都具有矿物外壳来抵抗恶劣环境。受这些自然界生物矿化

图 8 磷酸钙壳化酵母细胞及生物功能^[71]Fig.8 Encapsulated yeast cells and excellent biological function^[71]

的启发,我们利用磷酸钙壳化在酵母细胞表面,经矿化包裹后被迫进入静止期的酵母细胞经微酸环境溶壳之后可以被重新激活,再次进入 G1 生长期^[71]。磷酸钙壳化可很好的保护细胞,85%壳化后的酵母细胞能在酵母裂解酶存在 3 h 后依然存活,而同等情况未壳化的酵母细胞 80%会被酵母裂解酶溶蚀。壳化壳去掉后,酵母细胞仍然保持有正常细胞的功能。我们又以乙型脑炎病毒疫苗株(JEV SA14-14-2)为模型,利于原位矿化在疫苗表面形成一层纳米磷酸钙外壳,矿化后的纳米磷酸钙/B-JEV 为 50~60 nm 球形纳米颗粒^[72]。该外壳不影响疫苗基本生物学功能,但能够显著提高疫苗的热稳定性。纳米磷酸钙壳化的方法经济有效的提高生物体抗逆性方面的应用,对细胞工程和免疫项目具有重要的意义。

4.5 磁性颗粒

最近的研究常将纳米 HAP 处理成极性或磁性纳米颗粒。极性的 HAP 已经被证实能更好的吸附细胞,并在骨移植中促进新骨生长。直流场 (1 kV·cm⁻¹, 400 °C) 极性下的 HAP 能改变移植周围细胞的活性。体内动物实验,在极化 HAP 支架中手术 3 周后即发现新骨,而普通 HAP 植入需 6 周才有新骨渗透^[73-74]。而 Dekehtyar 等实验也证明骨再生更青睐带电的 HAP 表面^[75]。纳米磷酸钙常与磁性颗粒如 Co, Fe, Fe₃O₄ 等结合得到磁性颗粒^[63]。Tran 等研究磁性纳米 HAP 颗粒可以抑制骨质疏松^[76-77]。在纳米 HAP/Fe₃O₄ 表面上成骨细胞的密度和成骨细胞的分化指标,如 I 型胶原,骨钙素,碱性磷酸酶等都明显上升。作者推测磁性纳米 HAP 可能吸附大量的基质蛋白如玻连蛋白、纤粘连蛋白等从而促进成骨细胞在磁性纳米 HAP 上的增殖和分化。我们在磷酸钙掺杂纳米 Fe₃O₄ 粒子壳化在酵母细胞表面,将普通酵

母细胞变成磁性细胞^[71]。细胞可以在外界磁场的驱动下有序聚集,磁性操纵细胞为细胞治疗中的定向输送提供了可能。此外,林等用铁离子与磷酸钙共沉淀形成纳米磁性 HAP 颗粒,用于老鼠体内结肠癌的治疗和老鼠骨髓基质干细胞的神经营养因子转染^[78-79]。

4.6 抗菌材料

鉴于感染和巨噬细胞反应等移植并发症常常术后要更换植入组织。纳米 HAP 除了做一般药物载体也常掺杂抗生素用于抗菌治疗^[80]。而银离子具有抗菌作用,可能由于银离子能与细菌蛋白的硫醇基相互作用^[81]。因此银离子常掺杂入纳米磷酸钙来提高纳米 HAP 的抗菌性能。例如,Rao 等合成银掺杂的针状纳米 HAP (AgHA),15~20 nm 宽,60~70 nm 长。0.5% Ag 掺杂纳米 HAP 能够很好的抑制大肠杆菌和金黄色酿脓葡萄球菌,且不影响成骨细胞的贴壁和增殖^[82]。Ong 等在羟基磷灰石上喷洒 Ag 颗粒的菌落贴壁实验^[81],也证实 Ag-HA 表面的表皮葡萄球菌和金黄色酿脓葡萄球菌的菌落数量比在 Ti 表面和 HA 表面上少。随着细菌的对抗生素抵抗的增强,Ag 掺杂的纳米 HAP 可能有更广泛的应用。

4.7 荧光探针

生物探针常用于生物染色和医学诊断。常使用的荧光探针有有机分子探针、量子点探针等。鉴于有机分子探针易淬灭,量子点探针的毒性等原因,无毒无机生物分子探针被广泛研究。张铭等研究在 HAP 纳米带球晶中嵌入巯基乙酸(TA),其荧光探针强度比不含 TA 的荧光探针提高 1.5~3.3 倍^[83]。我们合成表面被少量铽取代的 20 nm HAP 无机纳米探针,这种探针具有光稳定性^[84]。无明显细胞毒性,由于尺寸小还可被活细胞内吞,可用于细胞研究的生物探针。纳米 HAP 探针在追踪纳米颗粒安全性及生物医学

中将有广泛的应用。

5 展 望

纳米 HAP 具有很好的生物相容性,可以载药,又可降解,因此常用作理想的生物材料。又由于纳米 HAP 与生物体硬组织骨和牙齿的基本组成单元具有相似的化学组分和结构,并具有很好骨诱导性、牙修复能力,因此常用作理想的硬组织修复材料。目前,研究人员合成多种形貌和结构的纳米 HAP,并发展出众多应用。今后还可合成具有特殊结构和形貌的纳米磷酸钙,使其表面能具有特别的拓扑结构或物理化学性质,能够选择性吸附生物蛋白或是生物因子。也可在纳米 HAP 表面修饰功能分子,使其具有特殊的生物特性。还可仿生合成具有骨基础结构的新纳米 HAP,同时具有机械性能和生物学活性,提高骨修复能力。另外,许多研究更多关注细胞与纳米磷酸钙的相互作用,但关于细胞与纳米 HAP 的作用原理尚不清楚。如细胞如何识别颗粒尺寸和结晶度或是特殊形貌,纳米 HAP 何以促进细胞的增殖和分化。要研究这些原理可能先要解决,纳米 HAP 是如何跨膜进入细胞的,普遍认为纳米 HAP 进入细胞是凹陷内吞。我们之前的实验证实小尺寸的纳米磷酸钙更容易进入细胞,但细胞如何识别 HAP 尚不清楚。另外,纳米磷酸钙在细胞内溶酶体酸性环境下可以降解。降解后的磷离子和钙离子对细胞代谢是否有影响,进入细胞的磷酸钙量是否有严格的限制,过量的摄入纳米磷酸钙是否会引起细胞的凋亡或坏死。纳米磷酸钙在细胞内是否影响细胞内的蛋白表达,是否能够进入细胞核影响 DNA 或 RNA 的复制或突变。载药的纳米 HAP 携带药物进入细胞后是否改变药物的作用机制或信号通路。另外一个重要的问题是如果细胞对纳米磷酸钙无选择性的摄入,纳米磷酸钙容易随血液循环系统进入多个脏器,其生物安全性是迫切需要认知的课题。理解纳米 HAP 与活细胞的相互作用仍然是巨大的挑战,这需要生物、化学、医学等多个领域的交叉研究,但同时也是迫切需要解决的问题,理解磷酸钙的影响更是理解生物矿化和未来生物无机材料应用的前提。

参考文献:

[1] Mann S. *Biomaterialization: Principles and Concepts in Bioinorganic Materials Chemistry*. New York: Oxford

University Press, 2001:6

- [2] Olszta M J, Cheng X, Jee S S, et al. *Mater. Sci. Eng.*, **2007**, **58**(3):77-116
- [3] CUI Fu-Zhai(崔福斋). *Biomaterialization(生物矿化)*. Beijing: Tsinghua University Press, **2007**:17
- [4] Cai Y, Tang R. *J. Mater. Chem.*, **2008**,**18**(32):3775-3787
- [5] Currey J D. *Science*, **2005**,**309**(5732):253-254
- [6] Fincham A, Moradian-Oldak J, Simmer J. *J. Struct. Boil.*, **1999**,**126**(3):270-299
- [7] Zhou H, Lee J. *Acta Biomater.*, **2011**,**7**(7):2769-2781
- [8] Wei G, Ma P X. *Biomaterials*, **2004**,**25**(19):4749-4757
- [9] Malmberg P, Nygren H. *Proteomics*, **2008**,**8**(18):3755-3762
- [10] Mrtén A, Fratzl P, Paris O, et al. *Biomaterials*, **2010**,**31**(20):5479-5490
- [11] Batchelar D L, Davidson M T, Dabrowski W, et al. *Med. Phys.*, **2006**,**33**(4):904-916
- [12] Sadat-Shojai M, Khorasani M T, Dinpanah-Khoshdargi E, et al. *Acta Biomater.*, **2013**,**9**(8):7591-7621
- [13] Kalita S J, Bhardwaj A, Bhatt H A. *Mater. Sci. Eng. C*, **2007**,**27**(3):441-449
- [14] Traub W, Arad T, Weiner S. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, **1989**,**86**(24):9822-9826
- [15] Ji B, Gao H. *Annu. Rev. Mater. Res.*, **2010**,**40**:77-100
- [16] Lowenstam H A, Weiner S. *On biomineralization*, Oxford University Press, **1989**.
- [17] Wang L, Nancollas G H, Henneman Z J, et al. *Biointerphases*, **2006**,**1**(3):106-111
- [18] Fratzl P, Gupta H, Paschalis E, et al. *J. Mater. Chem.*, **2004**,**14**(14):2115-2123
- [19] Ji B, Gao H. *J. Mech. Phys. Solids*, **2004**,**52**(9):1963-1990
- [20] Gao H, Ji B, Jger I L, et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, **2003**,**100**(10):5597-5600
- [21] Landis W J, Paine M C, Glimcher M J. *J. Ultrastruc. Res.*, **1977**,**59**(1):1-30
- [22] Gupta H S, Seto J, Wagermaier W, et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, **2006**,**103**(47):17741-17746
- [23] Raisz L G, Kream B E. *Annu. Rev. Physiol.*, **1981**,**43**(1):225-238
- [24] Raisz L G. *Clin. Chem.*, **1999**,**45**(8):1353-1358
- [25] Väätänen K. *Adv. Drug Delivery Rev.*, **2005**,**57**(7):959-971
- [26] Vallet-Regí M, González-Calbet J M. *Prog. Solid State Chem.*, **2004**,**32**(1):1-31
- [27] Okada M, Furuzono T. *Sci. Technol. Adv. Mater.*, **2012**,**13**(6):064103
- [28] Yeong K, Wang J, Ng S. *Biomaterials*, **2001**,**22**(20):2705-2712
- [29] Tas A C. *J. Eur. Ceram. Soc.*, **2000**,**20**(14):2389-2394
- [30] Suchanek W L, Shuk P, Byrappa K, et al. *Biomaterials*,

- 2002,23**(3):699-710
- [31]Bezzi G, Celotti G, Landi E, et al. *Mater. Chem. Phys.*, **2003**, **78**(3):816-824
- [32]Sadat-Shojai M, Atai M, Nodehi A. *J. Brazilian Chem. Soc.*, **2011,22**(3):571-582
- [33]Ito H, Oaki Y, Imai H. *Cryst. Growth Des.*, **2008,8**(3):1055-1059
- [34]Hassenkam T, Fantner G E, Cutroni J A, et al. *Bone*, **2004**, **35**(1):4-10
- [35]Wang X, Zhuang J, Peng Q, et al. *Nature*, **2005,437**(7055):121-124
- [36]Ingert D, Pileni M P. *Adv. Funct. Mater.*, **2001,11**(2):136-139
- [37]Zhang B, Li G, Zhang J, et al. *Nanotechnology*, **2003,14**(4):443
- [38]Zhang B, Davis S A, Mann S. *Chem. Mater.*, **2002,14**(3):1369-1375
- [39]Douglas T, Young M. *Nature*, **1998,393**(6681):152-155
- [40]Shenton W, Douglas T, Young M, et al. *Adv. Mater.*, **1999**, **11**(3):253-256
- [41]Bose S, Saha S K. *Chem. Mater.*, **2003,15**(23):4464-4469
- [42]Sun Y, Guo G, Tao D, et al. *J. Phys. Chem. Solids*, **2007**, **68**(3):373-377
- [43]Shenton W, Pum D, Sleytr U B, et al. *Nature*, **1997,389**(6651):585-587
- [44]Carpick R W, Salmeron M. *Chem. Rev.*, **1997,97**(4):1163-1194
- [45]Cai Y, Liu Y, Yan W, et al. *J. Mater. Chem.*, **2007,17**(36):3780-3787
- [46]Fowler C E, Li M, Mann S, et al. *J. Mater. Chem.*, **2005,15**(32):3317-3325
- [47]Penn R L, Banfield J F. *Am. Mineral*, **1998,83**(9/10):1077-1082
- [48]Niederberger M, Clfen H. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2006**, **8**(28):3271-3287
- [49]Tao J, Zhou D, Zhang Z, et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, **2009,106**(52):22096-22101
- [50]Tao J, Pan H, Zeng Y, et al. *J. Phys. Chem. B*, **2007,111**(47):13410-13418
- [51]Weiner S, Traub W, Wagner H D. *J. Struct. Biol.*, **1999**, **126**(3):241-255
- [52]Yuasa T, Miyamoto Y, Ishikawa K, et al. *Biomaterials*, **2004,25**(7):1159-1166
- [53]Shu R, McMullen R, Baumann M, et al. *J. Biomed. Mater. Res. A*, **2003,67**(4):1196-1204
- [54]Balasundaram G, Sato M, Webster T J. *Biomaterials*, **2006**, **27**(14):2798-2805
- [55]Hu Q, Tan Z, Liu Y, et al. *J. Mater. Chem.*, **2007,17**(44):4690-4698
- [56]Webster T J, Ergun C, Doremus R H, et al. *Biomaterials*, **2000,21**(17):1803-1810
- [57]Liu X, Smith L A, Hu J, et al. *Biomaterials*, **2009,30**(12):2252-2258
- [58]Rezwan K, Chen Q, Blaker J, et al. *Biomaterials*, **2006,27**(18):3413-3431
- [59]Robinson C, Connell S, Kirkham J, et al. *J. Mater. Chem.*, **2004,14**(14):2242-2248
- [60]Li L, Pan H, Tao J, et al. *J. Mater. Chem.*, **2008,18**(34):4079-4084
- [61]Bernardi G. *Coll. Intern. CNRS*, **1975,230**:463-465
- [62]Luo Y, Ling Y, Guo W, et al. *J. Controlled Release*, **2010**, **147**(2):278-288
- [63]Uskokovi V, Uskokovi D P. *J Biomed. Mater. Res. B: Appl. Biomater.*, **2011,96**(1):152-191
- [64]Cai Y, Pan H, Xu X, et al. *Chem. Mater.*, **2007,19**(13):3081-3083
- [65]Yang P, Quan Z, Li C, et al. *Biomaterials*, **2008,29**(32):4341-4347
- [66]Chen W, Xiao Y, Liu X, et al. *Chem. Commun.*, **2013,49**:4932-4934
- [67]Chen C, Okayama H. *Biotechnology*, **1987,6**(7):632-638
- [68]Dorozhkin S V. *Biomaterials*, **2010,31**(7):1465-1485
- [69]Zhu S, Huang B, Zhou K, et al. *J. Nanopart. Res.*, **2004,6**(2):307-311
- [70]Hossain S, Stanislaus A, Chua M J, et al. *J. Controlled Release*, **2010,147**(1):101-108
- [71]Wang B, Liu P, Jiang W, et al. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2008,47**(19):3560-3564
- [72]Wang G, Li X, Mo L, et al. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2012**, **124**(42):10728-10731
- [73]Wang W, Itoh S, Tanaka Y, et al. *Acta Biomater.*, **2009,5**(8):3132-3140
- [74]Itoh S, Nakamura S, Nakamura M, et al. *Biomaterials*, **2006**, **27**(32):5572-5579
- [75]Kumar D, Gittings J, Turner I, et al. *Acta Biomater.*, **2010**, **6**(4):1549-1554
- [76]Tran N, Webster T J. *J. Mater. Chem.*, **2010,20**(40):8760-8767
- [77]Tran N, Webster T J. *Acta Biomater.*, **2011,7**(3):1298-1306
- [78]Hou C H, Hou S M, Hsueh Y S, et al. *Biomaterials*, **2009**, **30**(23):3956-3960
- [79]Wu H C, Wang T W, Bohn M C, et al. *Adv. Funct. Mater.*, **2010,20**(1):67-77
- [80]Rauschmann M A, Wichelhaus T A, Stirnal V, et al. *Biomaterials*, **2005,26**(15):2677-2684
- [81]Chen W, Liu Y, Courtney H, et al. *Biomaterials*, **2006,27**(32):5512-5517
- [82]Rameshbabu N, Kumar N S, Prabhakar T, et al. *J. Biomed. Mater. Res. A*, **2007,80**(3):581-591
- [83]Zhang M, Liu J K, Miao R, et al. *Nanoscale Res. Lett.*, **2010**, **5**(4):675-679
- [84]Li L, Liu Y, Tao J, et al. *J. Phys. Chem. C*, **2008,112**(32):12219-12224