

TiO₂ 纳米材料用于骨再生的研究进展

高磊 祝燕平 马允^{通讯作者} (安庆医药高等专科学校, 安徽 安庆 246052)

摘要: 纳米结构材料被认为在骨科研究中发挥着重要作用, 因为骨骼本身在纳米范围内具有结构层次。本文综述了用于骨科植入物考虑的氧化钛 (TiO₂) 表面纳米结构。具体而言, 将讨论 TiO₂ 纳米管表面对骨再生的影响。这种由电化学阳极氧化产生的独特 3D 管状纳米结构对成骨细胞具有深远的影响, 并为骨科材料表面设计开辟了新的途径。越来越多的数据阐明了使用 TiO₂ 纳米管增强骨科植入物表面的好处。当前趋势预示着 TiO₂ 纳米管在临床应用中的巨大潜力。

关键词: 纳米结构材料; 骨植入物; TiO₂

Abstract: Nanostructured materials are considered to play an important role in orthopedics research, because bone itself has a structural hierarchy in the nanometer range. This article reviews the surface nanostructures of titanium oxide (TiO₂) used in orthopedic implants. Specifically, the effect of TiO₂ nanotube surface on bone regeneration will be discussed. This unique 3D tubular nanostructure produced by electrochemical anodic oxidation has a profound impact on osteoblasts and opens up new ways for the surface design of orthopedic materials. More and more data clarify the benefits of using TiO₂ nanotubes to enhance the surface of orthopedic implants. Current trends indicate the great potential of TiO₂ nanotubes in clinical applications.

Key words: Nanostructured material; orthopedics; TiO₂

机体内细胞需要依赖于纳米结构与细胞外基质相互作用。细胞外基质是一个复杂的基板网络, 具有纳米级尺寸的特征。细胞外基质在纳米级水平上刺激细胞生理学并与之相互作用。国内外研究表明, 人造基质表面的纳米特征可以达到类似人类机体的细胞外基质从而影响细胞生理。人工纳米结构会影响细胞如何粘附到表面、细胞在表面上的扩散、细胞生化功能甚至细胞分化。新的纳米技术允许精确控制和操纵人造表面上的纳米级特征。纳米结构的发展使人们能够以前所未有的方式进一步了解生物学的基本亚基, 并探究其生理机制。对于骨骼再生和修复, 目前科学家能够在纳米尺度上重建基质, 从而为宿主细胞提供近似于天然细胞外基质的结构, 从而重新填充宿主细胞以达到重新合成新矩阵最终创建新骨骼的目的。目前骨科材料研究集中在纳米级精度上的细胞-材料相互作用机制, 尝试不断提高细胞活性。

在植入物和骨骼接触面快速建立牢固和持久的连接对于骨科植入物的临床价值至关重要。因此, 如何进一步的了解成骨细胞在体外与纳米结构材料相互作用的基质, 才能进一步优化设计植入物, 用于体内骨骼再生和植入物整合。提高生物材料和假体的整合将减少植入手术的失败, 从而提高广大患者的生活质量。研究表明纳米形态对成骨细胞 (骨细胞) 生理行为具有显著的影响, 不同纳米结构的陶瓷, 如氧化钛 (TiO₂), 可增强成骨细胞的生长速率, 加速骨形成。研究表明利用电化学阳极氧化的常见钛表面纳米结构技术在表面创建纳米管结构, 可刺激成骨细胞的快速细胞生长和矿化。阳极氧化的 TiO₂ 纳米管也表现较强的生长速度从而加速的 MSCs 骨分化。目前, 国内外研究尝试从以下两点优化纳米管

的特性: ①改善骨形成功能和骨细胞的矿化; ②诱导 MSC 分化为成熟的骨细胞, 以实现体内快速骨再生和整合。

本文聚焦与骨再生研究中的 TiO₂ 纳米管表面结构做一综述。

1 骨科细胞表面相互作用

当材料最初暴露于体外或体内培养条件时, 细胞培养基或体液中的蛋白质将会在短时间内吸附到材料表面。以下几项物质因素会影响蛋白质如何粘附、展开和呈现不同影响细胞如何感知表面的功能: 表面化学、表面能/张力/润湿性、表面粗糙度、结晶度、表面电荷、特征尺寸 (纳米与微米)、特征几何形状和其他机械性能, 如弹性。蛋白质吸附后在表面发生的生理作用包括在细胞表面的受体 (整联蛋白) 和蛋白质官能团 (配体) 形成化学键。继而发生细胞骨架重组, 细胞在基质上逐渐扩散。该过程中的关键步骤即细胞整合素和表面配体之间形成化学键。细胞中涉及的复杂机制和受体与表面的相互作用一直是优化生物材料的生物相容性和生物活性的主要焦点。新的纳米技术已被用于在纳米尺度上为细胞构建明确的微环境, 以进一步研究纳米结构诱导的整合素介导的细胞信号传导机制。模拟天然骨纳米结构的纳米结构特征是目前组织工程研究的一个新兴领域。许多研究表明, 纳米结构生物材料可能提供更接近天然骨的表面和/或化学特性, 因此纳米结构生物材料是目前骨再生的理想附着材料。骨科植入物作用的两种细胞是成骨细胞和骨祖细胞 (间充质干细胞)。成骨细胞是骨组织特异的成熟成体细胞。成骨细胞负责构建骨骼和沉积矿物质以构成骨基质成分。间充质干细胞是骨髓

来源的多能细胞,能够分化成不同的细胞类型,包括成骨细胞、软骨细胞和脂肪细胞。骨植入材料的主要难点之一是表面设计。表面需要刺激成骨细胞重新合成矿化基质,并确保细胞外基质的附着和分化,以便提供成熟的骨构建细胞群,用于骨整合和快速骨再生。许多研究已经证明了纳米结构的骨科生物材料更好的成骨细胞功能,包括碱性磷酸酶活性或骨形成能力,以及在各种纳米结构材料上增加矿物质沉积。这些包括纳米晶体和水热羟基磷灰石、电纺纳米纤维、阳极氧化钛和纳米结构钛表面。尽管两个表面形貌之间的尺寸差异很小,但成骨细胞对不同的材料形貌非常敏感,并且在亚微米和纳米尺寸的表面上有不同的反应因此,骨细胞生理功能高度依赖于表面的大小和结构。因此,骨再生的研究集中在研究特征的微小变化以确定成骨细胞功能。

推进骨科植入技术的另一种方法是引入能够控制干细胞命运的纳米结构表面。MSC 需要被引导选择性分化为成骨细胞,而不是分化为其他类型的细胞,如肌细胞、脂肪细胞或神经细胞。以往的研究大多采用成骨诱导培养基和纳米结构培养基质的结合来加速体外 MSCs 的成骨和成骨,但很难真正确定纳米结构本身是否诱导 MSC 分化。此外,将合成的生化因子引入培养基相对来说较危险。骨科材料的表面纳米结构非常重要。研究表明不仅纳米结构的尺寸会影响细胞反应,而且表面特征的几何形状、间距、图案和对称性同样影响细胞反应。

2 用于骨再生的垂直排列的 TiO_2 纳米管

用于骨植入物的最常见和最成功的生物材料是钛,相对不易在体内引起炎症反应。骨结合通常发生在没有共同结缔组织层的情况下,这种结缔组织层是由植入金属和下层骨表面之间的身体免疫反应(异物反应)形成的。大多数关节植入物失败是因为它们在生物材料/骨界面处变得松散,这表明骨整合不良是导致失败的原因。目前大量研究正在尝试为植入物设计复制骨骼的多孔结构。然而,多孔结构缺乏承载细胞的机械强度。目前市场上有多种改良的钛植入物,专注于结合粗糙结构和化学涂层来改善骨植入物的骨整合,然而,植入物涂层材料远非最佳。

钛及其合金长期以来一直被用作可植入生物材料,因为它们具有高质量的机械性能,具有足以在植入物和骨骼之间传递应力的拉伸强度和模量;同时它们具有耐腐蚀的表面天然氧化层(TiO_2);切材料具有生物相容性,并能与天然人血浆和组织发生生物活性反应。为了进一步优化 Ti 表面以增强骨科植入物,研究小组一直在通过电化学手段修改 Ti 氧化物表面结构,通过在氧化物表面形成纳米结构来赋予更好的骨整合。通过电化学阳极氧化产生的垂直排列和横向间隔的 TiO_2 纳米管在实现卓越的成骨细胞生长和 MSC 的定向成骨分化方面越来越受

欢迎,因为具有纳米厚度、增加的表面积、多孔结构和纳米特征的整体影响的改良形貌显著加速细胞粘附和骨骼生长能力。

3 TiO_2 纳米管的形成机理及表征

一般来说,在基于氟化物的电解质中形成 TiO_2 纳米管的机制据说是三个同时发生的过程的结果:①场辅助 Ti 金属氧化形成二氧化钛;② Ti 金属离子在电解液中的场辅助溶解;③由于氟离子的腐蚀, Ti 和 TiO_2 的化学溶。 TiO_2 纳米管没有形成纯 Ti 表面,但 Ti 表面自然存在的薄 TiO_2 氧化物层上。双电极电化学阳极氧化装置通常采用可选的热处理步骤 500°C 下进行 2h,以将制造的无定形结构结晶成锐钛矿结构。锐钛矿相在细胞增殖中起着重要作用。

最终制造的结构阳极氧化钛基板上的纳米管表面具有明确定义且结构坚固的形态。自组装层高度有序且垂直对齐。通过在阳极氧化设置过程中改变电压和电解液,可以实现不同的孔径和高度。增强表面粗糙度(例如通过喷砂处理钛或钛合金植入物表面)是为植入材料的成骨细胞反应提供适当支撑作用。然而,由于粗加工方法,直径在 20–120nm 之间的 TiO_2 纳米管表面的表面粗糙度值分别在 9–46nm 之间。

纳米管系统的另一个特点是超亲水性。可以合理地假设 TiO_2 纳米管促进更大的细胞粘附,部分原因是纳米形貌,部分原因是 TiO_2 纳米管的亲水表面特性显著增强。纳米管表面具有接触角与水为 0° ,而 Ti 本质上更疏水,接触角为 80° 。研究表明,成骨细胞和 MSCs 在不同直径的纳米管(20、30、50、70 和 100nm)上生长,较大的 70–100nm 纳米管具有最高的成骨细胞功能和 MSC 骨与较小直径相比的分化功能。随着纳米管直径的增加,成骨生化活性也增加,在直径为 100nm 的纳米管上达到最佳值。在细胞水平上,功能与细胞整合素和纳米管表面上的粘附点之间的横向间距有关。因为改变直径大小也会改变跨膜整合蛋白的位置和间距,所以粘附细胞中肌动蛋白丝中的细胞骨架张力会受到不同的影响。粘附细胞的作用力可以通过整联蛋白在表面之间传递并转移到细胞骨架。由此产生的对细胞骨架的压力可能会引发一系列反应,从而改变细胞内合成代谢/分解代谢事件的平衡。最终,通过改变纳米管直径来调节粘着斑,将改变细胞压力和信号。100nm 的纳米管直径足以通过诱导细胞拉伸穿过孔并随后诱导分化来增加细胞骨架应力。

尽管细胞粘附的性质和细胞骨架张力的程度会影响细胞反应,但纳米拓扑对细胞粘附、形态和分化的确切作用尚未确定。此类纳米表面指导 MSC 成骨的机制有待进一步研究,并且需要优化培养条件以最大化 MSC 的扩增和分化。MSC 在再生医学中的全部潜力,特别是

骨骼生长,需要细胞增殖和选择性分化,这些过程发生在不同但离散的纳米表面形貌条件下,例如纳米管直径的变化。基于纳米坑地形开发的概念表明 MSC 分化是由机械转导途径决定的。目前缺乏用于骨修复的纳米材料的临床研究。MSCs 代表了一种独特的骨再生新方法。人类干细胞可以接种到纳米材料上进行生长和扩增,从而有助于设计用于改进纳米表面,从而为基于 MSC 的高级植入物提供一个新平台。设计新材料以方便地将干细胞整合到种植体设计中以加速骨修复并使新的假体能够直接整合到骨骼中是目前临床上的关注焦点。制造骨再生材料的另一种方法是结合纳米结构和微结构以创建具有细胞控制结构和孔结构的 3D 复杂形状的组织工程支架从而更好地模拟 3D 纳米微宏观层次结构。与传统方法相比,表面纳米结构还可用于更有效和更精确的纳米递送。具有有序和可控孔结构的纳米多孔材料引起了极大的关注,特别是对于可植入的药物递送系统。对于骨愈合,可以传递基因和蛋白质来促进成骨细胞骨形成能力、MSC 成骨和矿物质形成。尽管纳米孔结构已在潜在的生物医学和药物递送类型应用方面进行了大量研究,但相邻纳米管之间的 10–20Nm 间距提供了增加的体积和表面积。改变纳米管直径、壁厚和长度可以改变每种特定药物的释放动力学以实现持续释放。钛膜表面上直径为 110Nm 的 TiO_2 纳米管阵列已被用作生长因子 (BMP_2) 的纳米储库,使用明胶/壳聚糖 (Gel/Chi) 多层膜来控制功能分子的释放并保持其生物活性。

尽管对细胞和纳米拓扑相互作用的大量研究的仔细分析揭示了潜在机制的某些方面,但许多问题仍未得到解答。例如,阳极氧化纳米管的最佳尺寸因不同的研究小组而异,这就是为什么尝试将体外结果转化为使用动物模型的体内实验并最终用于临床试验最优效果的原因。总之,关于骨骼再生的材料机制研究,应针对材料研究其特征的大小、几何形状和模式以进行骨再生。这些研究有助于对细胞生物学中心过程的基本理解和应用新方法推进生物材料和骨科植入物设计。

参考文献:

- [1] 刘芷麟,马胜,孙佳丽,司星辉,汤朝晖,陈学思. 活性氧响应性核壳结构纳米粒子增加肿瘤富集与细胞摄取 [J]. 高分子学报,2020,51(10):1153-1159.
- [2] 蔡彦坤,郑国莹,隋磊. 纯钛或钛合金种植材料表面不同纳米结构对细胞行为的影响 [J]. 口腔医学研究,2018,34(07):699-702.
- [3] 杨超. 人工纳米结构高温超导绝缘相变研究 [D]. 成都:电子科技大学,2021.
- [4] 张冠琳,高存斌,刘玉真. 人工碳纳米材料的植物效应研究进展 [J]. 湖北农业科学,2020,59(02):14-19+36.
- [5] 肖影. 骨科植入术后患者医院感染临床特征与实施流

- 程化控制管理研究 [J]. 中国卫生工程学,2018,17(04):600-601.
- [6] 王秀梅. 骨科植入物手术感染的手术室危险因素分析及预防对策 [J]. 世界最新医学信息文摘,2017,17(76):178+180.
- [7] 赵春琦,荆涛,田景芝,赵志远,娄丛强,王超. TiO_2 纳米管阵列的阳极氧化法制备及其改性研究进展 [J]. 化学世界,2021,62(06):330-336.
- [8] 邱澜鑫,董荣,蔡芳共,张勤勇. TiO_2 纳米管阵列的阳极氧化法制备及形成机理研究进展 [J]. 电子元件与材料,2019,38(11):1-9.
- [9] Micheletti Chiara, Suriano Raffaella, Grandfield Kathryn, Turri Stefano. Drug release from polymer-coated TiO_2 nanotubes on additively manufactured Ti-6Al-4V bone implants: a feasibility study [J]. Nano Express, 2021, 2(1).
- [10] 柳慧琼,朱文,刘剑峰,刘喜,全大利. TiO_2 纳米管阵列的表面特性对猪肾小管上皮细胞生长状态的影响 [J]. 中国科学:生命科学,2011,41(03):249-257.
- [11] 鞠剑峰,李澄俊,徐铭. 纳米 TiO_2 复合材料的研究进展 [J]. 功能材料,2005(05):7-10.
- [12] 施春荧,何映平. 聚合物/纳米 TiO_2 复合材料研究进展 [J]. 热带生物学报,2006,12(02):56-60.
- [13] 丁爱武,黄茂芳,高天明,等. 聚合物/ TiO_2 抗菌纳米复合材料的研究进展 [J]. 热带农业科学,2010(02):32-37.
- [14] 安全福,高俊刚. 聚合物纳米复合材料研究进展 [J]. 河北大学学报(自然科学版),2001,21(1):98-102.
- [15] 靳祎,葛昆,等. 无机纳米材料在骨组织工程与再生医学中的应用 [J]. 科学通报,2018,63(35):128-144.
- [16] 黄瑾. 纳米抗菌复合膜引导骨再生的动物实验研究 [D]. 成都:四川大学,2008.
- [17] 刘曼,张强,周立伟,等. 纳米抗菌复合膜的结构及作为引导骨组织再生膜的生物相容性研究 [J]. 华西口腔医学杂志,2013(02):21-24+29.
- [18] 李璐,王文新,史玉玲. 一种纳米骨修复材料及其制备方法:中国,CN108066817A[P].2018.
- [19] 高筱萌,高海. 生物纳米材料在骨组织工程中的研究进展 [J]. 口腔医学研究,2019,35(06):524-526.
- [20] 刘相辉,薛松,马金忠. 介孔氧化硅纳米材料在骨组织工程中的应用 [J]. 中国骨伤,2020(8).
- [21] 蔡高锐,刘威,何勇,等. 纳米生物材料在骨组织工程中的应用 [J]. 国际骨科学杂志,2017,38(05):303-306.
- [22] 李晓静,王新木,董研,等. 基于壳聚糖的纳米材料在骨组织工程与再生医学中的研究进展 [J]. 中国生物医学工程学报,2013,32(05):620-625.