

· 综 述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2018.21.021

骨科植入物修饰策略研究进展*

肖国强¹, 胡介宇¹综述, 王 茜², 李琪佳², 张 辉³, 王志强^{1△} 审核

(1. 华北理工大学附属医院骨科, 河北唐山 063000; 2. 华北理工大学实验中心, 河北唐山 063000;

3. 河北省唐山市第二医院关节一科 063000)

[摘要] 表面修饰是骨科植入材料研究的重要技术, 可提高植入材料的生物相容性及骨整合效应, 延长植入物使用寿命。骨科植入物现多采用药物、生物信号分子、生长因子和细胞进行修饰, 以改善支架材料的骨整合、促成骨及修复缺损效应。本文中就骨科植入材料表面的修饰策略的研究进展进行综述, 以期对新型骨科植入物的研究及设计提供参考。

[关键词] 植入物; 修饰; 骨生成

[中图法分类号] R318

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2018)21-2840-04

随着世界人口老龄化的到来, 骨骼系统疾病显著增加, 如骨折、骨性关节炎、骨质疏松和骨转移癌等。髋关节和膝关节置换手术是治疗骨性关节炎、股骨头坏死的最终治疗策略。目前治疗骨缺损和关节置换主要使用金属植入物。但这些植入物可因植入松动、磨损、负载不当, 而导致植入物周围炎症、骨吸收和骨质溶解, 最终植入失败^[1]。自体骨移植被认为是治疗骨缺损的金标准, 但供区有限、手术时间长, 而同种异体植骨, 常面临免疫排斥、疾病传播等风险。而传统的金属植入物骨整合能力有限, 需对骨科植入物进一步研究, 以提高骨整合能力。本文将现阶段骨科植入物生物修饰的研究进行了总结和归纳。

1 金属植入物的要求

钛合金质地轻、延展性好、耐腐蚀、生物相容性好、耐反复, 应承载压力均高于纯钛^[2]。它具有较低的弹性模量, 更有利于减少界面压力, 因此是较理想的骨科应用材料。但常发生无菌性松动, 因此需要改进和修饰这些植入物, 使其有利于与宿主骨结合牢固。植入物的主要目的是与骨骼形成坚强的结合, 在植入位置提供承载负荷功能。根据不同的位置和应用, 对植入物有不同的要求。关节置换和椎弓根钉棒, 需要为整个生命周期提供支持, 因此有更高的骨整合需求。尽管术后 15 年内的初次髋、膝关节置换的成功率超过 90%, 仍需提高植入物的生命周期、强化植入物功能, 尤其是在翻修、骨质条件不佳、年轻的患者等特殊情况下。术后植入物的稳定对骨整合非常重要。植入物与宿主之间存在 20 μm 微动并不影响骨整合, 而 40~150 μm 的相对运动则不利于骨长植入物支架, 植入物的过度运动会影响骨整合。因此良好的骨整合在植入物的早期和长期稳定中均起关

键作用。

2 表面修饰策略

单纯的金属植入物已经不能满足现代骨科植入物的需求, 学者们开始尝试各种修饰手段。从单纯的表面结构更改, 到表面涂层, 再到各种生物修饰, 增加植入物与宿主骨的整合, 促进骨诱导及骨形成, 增强植入物的稳定性。

2.1 植入物自身表面改性 由于植入物表面直接接触宿主骨组织, 更改植入物表面粗糙度及化学性质可增强骨整合和机械稳定。不同粗糙度可影响 MSC 细胞的黏附和增殖^[3]。粗糙的表面利于骨细胞分化, 增加材料表面粗糙度或将材料制作成多孔结构, 可增加接触面积, 利于宿主的蛋白质、细胞长入材料。有研究发现蛋白激酶 A 和磷脂酶 A2 参与表面粗糙度对成骨细胞的影响。磷脂酶 A2 催化前列腺素 E2 的产生, 使成骨细胞对 1, 25-(OH)₂D₃ 等系统作出反应, 促进成骨。研究发现在粗糙的钛表面成骨细胞分化过程中存在着 $\alpha_2\beta_1$ 的信号转导^[4]。同时, 可通过热喷涂和物理气相沉积对材料表面进行物理改性; 碱处理法、酸处理法、过氧化氢刻蚀等进行化学改性, 更改植入物表面结构, 促进骨整合。钛表面纳米结构可提高骨细胞对材料局部微环境的辨别及适应能力, 促进骨整合^[5]。

植入物表面化学基团也对骨生长和分化发挥作用。钛表面羟基化可提高材料可湿性, 促进细胞附着。而材料表面形貌和化学修饰(通过电化学阳极处理), 可促进植入物表面骨形成。材料表面形貌是决定植入材料生物学性能的重要因素^[6]。研究发现材料表面的化学基团可调节吸附蛋白的构象及活性, 表面化学基团的不同对成骨细胞的影响也不同。将纤

* 基金项目: 国家科技部科技支撑课题(2012BAE06B03); 河北省科技支撑资助项目(16277776D); 河北省医学科学研究重点课题计划资助项目(20160225); 河北省卫生和计划生育委员会临床医学优秀人才研究项目(361036); 华北理工大学博士科研启动基金资助项目(286062299)。

作者简介: 肖国强(1991—), 在读硕士, 主要从事骨科、骨组织工程的研究。△ 通信作者, E-mail: wzhqde@163.com。

维蛋白吸附于具有不同化学基团(OH、NH₂、COOH、CH₃)的材料表面与骨细胞共同培养,骨细胞在 OH 和 NH₂ 基团表面利用 $\alpha_5\beta_1$ 和 $\alpha_v\beta_3$ 促进细胞黏附,有更明显的 ACL 表达和矿化。而表面基团如何影响体内骨形成仍有待研究。

2.2 表面涂层 磷酸钙(CaP,包括羟磷灰石,HA)具有良好的矿化能力,可增强植入物骨整合,其复合涂层具有较强骨结合力和优良抗菌性^[7]。HA 涂层植入骨组织有助于增加 1~2 mm 的初始桥接,有利于骨传导,增强材料骨整合。体内研究发现,在涂层与骨之间的界面,骨生成和黏附强度明显增高。羟基磷灰石具有良好的生物活性,已广泛应用于髌、膝关节置换中,并取得很好的疗效。更多功能化的涂层被研究,IZQUIERDO-BARBA 等^[8]在 Ti6Al4V 表面予以 TiO₂ 纳米涂层,能有效地干预金黄色葡萄球菌生物膜形成,具有抗菌作用。

生物黏附涂层修饰材料表面是另一类显著提高骨科材料机械固定的方法。细胞外基质(ECM)蛋白可被吸附/功能化植入材料表面,调节细胞吸附和分化。ECM 相对分子质量很大,而吸附于材料表面可能会导致细胞结合区域难以暴露。多肽序列包含了细胞结合区域的最小结构,在体内、外相当活跃。这些具有功能基团的多肽经过多种处理(材料消毒、包装、存储)后依然可保留活性^[9]。I 型胶原(Col I)是骨组织的主要结构蛋白,通过精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸(Arg-Gly-Asp, RGD)肽序列促进细胞黏附和伸展。RGD 肽序列包裹钛植入物表面,植入体内 2、4 周时骨形成明显增加。钛金属涂以纤连蛋白(FN)7-10 片段(FN7-10)显示更高的 ALP 活动、钙含量、矿化,也增加了骨的附着和抗拔出。陈岑^[10]将 HA 涂层的骨传导作用与 FN 骨诱导作用结合,制成类骨磷灰石与 FN 的复合涂层,能控制释放 FN,两种分子具有协同作用,有效地促进骨髓间充质干细胞(BMSCs)的增殖和成骨分化。

生物分子物理吸附量有限,共价结合能增加生物分子涂层量,以低聚糖(甲基丙烯酸乙二醇酯)(OEG-MA)聚合物修饰钛表面,OEGMA 通过化学共轭结合细胞吸附配体(如 RGD 和 FN7-10),将结合有 FN7-10 的 OEGMA 修饰材料植入大鼠胫骨干,该材料表现出较高的骨接触和抗拔出^[11]。

2.3 局部治疗剂的缓释策略增强骨整合 众所周知,临床治疗中局部用药能减少全身用药的不良反应,且具有针对性,那么是否可将释放治疗性生物分子或药物与材料结合增强骨整合引起人们极大的兴趣。骨形态发生蛋白(BMP)-2 和 BMP-7 已被批准用于临床患者。THOREY 等^[12]将表面涂有 BMP-2 的钛植入兔股骨,显示钛周围骨量明显增加。RAMAZANOGLU 等^[13]在磷酸钙涂层的表面吸附和呈递 BMP-2 和血管内皮生长因子(VEGF),显示两个

生长因子间存在协同作用可增强植入物周围骨矿物质密度。但细胞因子、生长因子固定于植入物表面常会导致生物活性下降。BMP-2 是一种疏水蛋白质,虽能牢固的黏附于材料表面,但在黏附过程中失去活性。KASHIWAGI 等^[14]合成的人造蛋白质,包含了 3 个可与钛可逆连接的序列,同时其 N 末端能与 BMP-2 结合。通过该中间层的介入,BMP-2 能稳定连接于材料表面,且生物活性不受影响,这种蛋白有助于治疗剂的可逆、定向结合(固定)和释放。LU 等^[15]研制出了一种模块化的骨形成肽(mBMP),对羟基磷灰石有高亲和力。将 mBMP 结合于钛 HA 涂层表面,植入羊股骨髓中,可增加植入钛推出力^[16]。虽然实验研究取得良好效果,但药物和细胞因子吸附在表面会表现出爆发式释放,局部药物及生长因子超生理剂量,从而导致不良反应。

MACDONALD 等^[16]采用逐层组装技术,交替应用 BMP-2 和带电聚合物修饰植入材料表面,既可以将大剂量的 BMP-2 装载于材料表面,同时避免 BMP-2 爆发式释放。该材料植入肌内时,可发起骨生长并逐渐成熟。SHAH 等^[17]采用类似的技术修饰钛支架材料,可控制治疗分子 BMP-2 持续释放,体内研究发现显著增加植入物的抗推出力。SONG 等^[18]研发了由聚己内酯(与羟基磷灰石共混)和聚乙烯醇(与 Col 共混)(PVAHA/PCLCol)制成的共聚物纳米纤维涂层。将强力霉素和地塞米松(成骨细胞诱导分化剂)结合于这种聚合物纳米纤维涂层,并与前成骨细胞 MC3T3-E1 培养,结果发现能增强前成骨细胞扩散和黏附。该涂层可控制治疗药物及生长因子在病变部位的释放,避免爆发式释放。然而,进一步的体内研究中,需要监测不同治疗药物及生长因子的释放,了解不同治疗分子的释放动力学,才能完全控制修饰材料局部药物的释放。

同时有研究发现双膦酸盐(BPS)可促进去卵巢动物种植体的骨整合,并延长全髌关节置换术的临床使用寿命。含 BPS 的纤维蛋白原涂于植入物表面可改善材料在人骨骼中的整合。LI 等^[19]发现唑来膦酸(ZA)修饰的植入材料植入骨质疏松小鼠模型中,能促进植入材料固定,同时在皮下注射人类甲状旁腺激素 1-34(PTH)效果更明显。吴晗等^[20]在兔骨质疏松模型中,用 ZA 修饰植入材料,ZA 局部释放,抑制骨吸收,可明显改善种植体周围骨结合率,促进骨形成,从而增强种植体的稳定性。这种治疗剂修饰植入物,局部释放策略可能成为治疗骨质疏松患者骨缺损的新策略。

2.4 细胞种植策略 SONNET 等^[21]使用聚乙二醇二丙烯酸酯(PEGDA)水凝胶制成的微胶囊(直径 50~350 μm ,能封装可产生 BMP-2 的细胞系(Ad5BMP2),植入大鼠股骨,BMP-2 在局部表达水平相对较低,降低了超生理浓度生长因子释放的相关副

作用。HUANG 等^[22]将包含有 VEGF 和质粒 DNA (人骨髓基质细胞和编码 BMP-4 的质粒 DNA) 的聚乳酸 (PLGA) 支架植入 SCID (severe combined immune deficiency) 小鼠中皮下, 显示出显著的骨形成。同样, 聚己内酯 (PCL) 支架采用骨髓基质细胞修饰后成骨作用明显^[23]; 将骨髓基质细胞与内皮细胞联合修饰的 PLGA 支架植入小鼠体内, 骨形成明显, 且两种细胞具有协同作用。BMSCs 可作为种子细胞, 种植于骨缺损处, 促进成骨, 提高材料骨整合, BMSCs 作为种子细胞修饰植入材料, 修复牙槽骨缺损疗效满意^[24]。细胞修饰植入材料修复骨缺损, 既能提供局部机械支撑, 也能产生多种骨形成相关的因子和蛋白, 供局部整合所需, 有利于局部快速成骨, 修复骨缺损。

2.5 表面基团与生物凝胶 材料表面官能团和聚合物对骨整合同样具有重要作用。GANDAVARAPU 等^[25]将磷酸基团与 PEG 水凝胶结合, 并将血清蛋白吸附于该结合材料表面, 可促进成骨细胞在表面附着和扩散。RGD 序列是一种常用的促进细胞黏附的材料表面修饰基团。ALSBERG 等^[26]将用 RGD 序列修饰的藻酸盐水凝胶、软骨细胞和成骨细胞植入免疫力低下的小鼠皮下, 有类似于软骨内骨化的结构形成, 并在骨和软骨界面区形成类似生长板样结构。HSU 等^[27]使用组织蛋白酶 K 敏感肽作为交联剂制成具有 RGD 功能化的 PEGDA 水凝胶, 当成骨细胞和破骨细胞在这样的凝胶上培养时, 可降低破骨细胞的附着, 而不影响成骨细胞的附着, 可抑制骨吸收, 促进骨生长。凝胶同样能避免修饰基团的爆发式释放, 将重组人 BMP-2 包埋于该凝胶, 能随时间缓慢释放。

RGD 序列能与各种类型的整合蛋白非特异性结合, 能被其他特定的诱导骨分化的序列代替。WOJ-TOWICZ 等^[28]使用 GFOGER (其通过 $\alpha_2\beta_1$ 整合蛋白与细胞结合) 涂层于聚己内酯支架, 促进节段性骨缺损修复, 并且显示在没有任何外源性生长因子的情况下, 吸附 GFOGER 的支架表面骨形成的显著高于未涂层的支架。SHEKARAN 等^[29]利用 PEG 水凝胶通过 $\alpha_2\beta_1$ 整合蛋白与 BMP-2 来传导信号增强骨再生。化学基团联合水凝胶在实验研究阶段疗效显著, 有待进一步临床研究。

2.6 生长因子生物固定 生长因子、细胞因子 (包括 BMP-4、转化生长因子- β 、纤维母细胞生长因子、胰岛素样生长因子、VEGF) 对骨形成具有重要作用^[30]。将生长因子和细胞因子固定于支架材料上, 模拟其在 ECM 中的存在^[31]。生长因子的释放可随着细胞的需求而呈递, 不会随时间的推移迅速扩散^[32]。MARTINO 等^[33]设计的多功能纤维蛋白支架, 能结合生长因子如 PDGF-BB 和 BMP-2, 用该纤维蛋白支架固定生长因子, 避免了迅速扩散, 在治疗大鼠骨缺损所需的生长因子剂量显著降低。

对骨科植入材料的修饰不再是简单的某种修饰,

混合修饰效果更优越, 苟诗然等^[34]运用明胶微球吸附转化生长因子- β_1 , 形成微球控制释放系统, 并交联转化生长因子- β_1 蛋白, 再通过壳聚糖 (CS) 凝胶将整个复合涂层用于钛表面, 能促进骨细胞增殖分化, 这种修饰方法既能将生长因子固定于材料涂层, 且能控释。吴雪林等^[35]通过模拟体液仿生沉积法在钛合金材料表面构建钙磷离子/神经生长因子 (NGF) 复合涂层, 能缓释生物活性因子 NGF, 促进成骨。

3 展 望

植入材料的不断更新增强了对骨整合和骨组织再生的理解。简单物理、化学法改性材料, 整合蛋白配体功能化材料, 植入物的表面修饰以改善骨整合已经显示出广阔的前景。生长因子释放和细胞包埋相结合, 治疗剂局部释放与凝胶复合涂层, 其对骨生长具有协同作用。骨组织生长和再生是一个动态过程。因此, 植入物需要响应骨组织不断增长的需求。这需要广大学者的共同努力, 解开错综复杂的机制和细节。

参考文献

- [1] GOODMAN S B, GIBON E, PAJARINEN J, et al. Novel biological strategies for treatment of wear particle-induced periprosthetic osteolysis of orthopaedic implants for joint replacement [J]. J R Soc Interface, 2014, 11 (93): 20130962.
- [2] HERRERA A, YANEZ A, MARTEL O, et al. Computational study and experimental validation of porous structures fabricated by electron beam melting: a challenge to avoid stress shielding [J]. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl, 2014, 45(12): 89-93.
- [3] LEE E M, SMITH K, GALL K, et al. Change in surface roughness by dynamic shape-memory acrylate networks enhances osteoblast differentiation [J]. Biomaterials, 2016, 110(1): 34-44.
- [4] OLIVARES-NAVARRETE R, RAZ P, ZHAO G, et al. Integrin $\alpha_2\beta_1$ plays a critical role in osteoblast response to micron-scale surface structure and surface energy of Titanium substrates [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008, 105 (41): 15767-15772.
- [5] DOBBENGA S, FRATILA-APACHITEI L E, ZADPOOR A A. Nanopattern induced osteogenic differentiation of stem cells -A systematic review [J]. Acta Biomater, 2016, 46 (1): 3-14.
- [6] COHEN D J, CHENG A, KAHN A, et al. Novel osteogenic Ti-6Al-4V device for restoration of dental function in patients with large bone deficiencies: design, development and implementation [J]. Sci Rep, 2016, 6(6): 20493.
- [7] 尹瀛月, 乌日开西·艾依提, 张建杰. 等离子喷涂技术在骨科植入物表面改性的应用 [J]. 热加工工艺, 2016(6): 33-35.
- [8] IZQUIERDO-BARBA I, GARCIA-MARTIN J M, LVAREZ R, et al. Nanocolumnar coatings with selective behavior

- towards osteoblast and *Staphylococcus aureus* proliferation[J]. *Acta Biomater*, 2015, 15(1):20-28.
- [9] KARIOLIS M S, KAPUR S, COCHRAN J R. Beyond antibodies; using biological principles to guide the development of next-generation protein therapeutics [J]. *Curr Opin Biotechnol*, 2013, 24(6):1072-1077.
- [10] 陈岑. 钛表面构建生物活性分子与类骨磷灰石复合功能涂层[D]. 武汉: 华中科技大学, 2013.
- [11] PETRIE T A, RAYNOR J E, REYES C D, et al. The effect of integrin-specific bioactive coatings on tissue healing and implant osseointegration [J]. *Biomaterials*, 2008, 29(19):2849-2857.
- [12] THOREY F, MENZEL H, LORENZ C, et al. Osseointegration by bone morphogenetic protein-2 and transforming growth factor beta2 coated Titanium implants in femora of New Zealand white rabbits [J]. *Indian J Orthop*, 2011, 45(1):57-62.
- [13] RAMAZANOGLU M, LUTZ R, RUSCHE P, et al. Bone response to biomimetic implants delivering BMP-2 and VEGF; an immunohistochemical study [J]. *J Craniomaxillofac Surg*, 2013, 41(8):826-835.
- [14] KASHIWAGI K, TSUJI T, SHIBA K. Directional BMP-2 for functionalization of Titanium surfaces [J]. *Biomaterials*, 2009, 30(6):1166-1175.
- [15] LU Y, LEE J S, NEMKE B, et al. Coating with a modular bone morphogenetic peptide promotes healing of a bone-implant gap in an ovine model [J]. *PLoS One*, 2012, 7(11):e50378.
- [16] MACDONALD M L, SAMUEL R E, SHAH N J, et al. Tissue integration of growth factor-eluting layer-by-layer polyelectrolyte multilayer coated implants [J]. *Biomaterials*, 2011, 32(5):1446-1453.
- [17] SHAH N J, HYDER M N, MOSKOWITZ J S, et al. Surface-mediated bone tissue morphogenesis from tunable nanolayered implant coatings [J]. *Sci Transl Med*, 2013, 5(191):83.
- [18] SONG W, YU X, MARKEL D C, et al. Coaxial PCL/PVA electrospun nanofibers: osseointegration enhancer and controlled drug release device [J]. *Biofabrication*, 2013, 5(3):035006.
- [19] LI Y F, LI X D, BAO C Y, et al. Promotion of peri-implant bone healing by systemically administered parathyroid hormone (1-34) and zoledronic acid adsorbed onto the implant surface [J]. *Osteoporos Int*, 2013, 24(3):1063-1071.
- [20] 吴晗. 钛种植体表面负载唑来膦酸对去势家兔骨整合的影响的实验研究[D]. 长春: 吉林大学, 2015.
- [21] SONNET C, SIMPSON C L, OLABISI R M, et al. Rapid healing of femoral defects in rats with low dose sustained BMP2 expression from PEGDA hydrogel microspheres [J]. *J Orthop Res*, 2013, 31(10):1597-1604.
- [22] HUANG Y C, KAIGLER D, RICE K G, et al. Combined Angiogenic and Osteogenic Factor Delivery Enhances Bone Marrow Stromal Cell-Driven Bone Regeneration [J]. *J Bone Miner Res*, 2005, 20(5):848-857.
- [23] WOJTOWICZ A M, TEMPLEMAN K L, HUTMACHER D W, et al. Runx2 overexpression in bone marrow stromal cells accelerates bone formation in critical-sized femoral defects [J]. *Tissue Eng Part A*, 2010, 16(9):2795-2808.
- [24] 刘杨, 孙大磊, 王毅, 等. BMSCs 和 FG 作为种子细胞和支架材料修复大鼠牙槽骨缺损的效果 [J]. *口腔医学*, 2017, 37(4):307-310.
- [25] GANDAVARAPU N R, MARINER P D, SCHWARTZ M P, et al. Extracellular matrix protein adsorption to phosphate-functionalized gels from serum promotes osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells [J]. *Acta Biomater*, 2013, 9(1):4525-4534.
- [26] ALSBERG E, ANDERSON K W, ALBEIRUTI A, et al. Engineering growing tissues [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2002, 99(19):12025-12030.
- [27] HSU C W, OLABISI R M, OLMSTED-DAVIS E A, et al. Cathepsin K-sensitive poly(ethylene glycol) hydrogels for degradation in response to bone resorption [J]. *J Biomed Mater Res A*, 2011, 98(1):53-62.
- [28] WOJTOWICZ A M, SHEKARAN A, OEST M E, et al. Coating of biomaterial scaffolds with the collagen-mimetic peptide GFOGER for bone defect repair [J]. *Biomaterials*, 2010, 31(9):2574-2582.
- [29] SHEKARAN A, GARCÍA J R, CLARK A Y, et al. Bone regeneration using an alpha 2 beta 1 integrin-specific hydrogel as a BMP-2 delivery vehicle [J]. *Biomaterials*, 2014, 35(21):5453-5461.
- [30] DEVESCOVI V, LEONARDI E, CIAPETTI G, et al. Growth factors in bone repair [J]. *Chir Organi Mov*, 2008, 92(3):161-168.
- [31] LU H, KAWAZOE N, KITAJIMA T, et al. Spatial immobilization of bone morphogenetic protein-4 in a collagen-PLGA hybrid scaffold for enhanced osteoinductivity [J]. *Biomaterials*, 2012, 33(26):6140-6146.
- [32] CARRAGEE E J, HURWITZ E L, WEINER B K. Reply to "A critical review of recombinant human bone morphogenetic protein-2 trials in spinal surgery: emerging safety concerns and lessons learned" [J]. *Spine J*, 2011, 11(11):1082-1083.
- [33] MARTINO M M, HUBBELL J A. The 12th-14th type III repeats of fibronectin function as a highly promiscuous growth factor-binding domain [J]. *FASEB J*, 2010, 24(12):4711-4721.
- [34] 苟诗然, 张帆, 李萌婷, 等. 钛表面羟磷灰石/壳聚糖-转化生长因子- $\beta 1$ 缓释微球复合涂层的制备及其对成骨细胞黏附与增殖的影响 [J]. *华西口腔医学杂志*, 2016, 34(3):229-233.
- [35] 吴雪林, 何浩, 刘柳, 等. 钛合金种植体表面生物活性因子缓释涂层的构建及生物学评价 [J]. *口腔医学*, 2014, 34(6):417-422.