

磷酸镁骨水泥及其复合物在骨修复应用的研究进展

郭良煜 郭卫春

摘 要 磷酸镁骨水泥(MPC)是由煅烧后的氧化镁(MgO)、磷酸盐、缓凝剂等组成的一种新型无机材料。MPC 不会产生细胞毒性,能促进成骨细胞的增殖和分化;在动物体内 MPC 能连接骨折断端,与骨组织形成骨性愈合,具有良好的生物相容性。并且因其初始强度高、凝固时间短、降解时间和骨折愈合时间基本一致等优点而作为骨修复材料开始在骨修复领域应用。本文在简要介绍磷酸镁骨水泥制备的基础上,从性能和在骨修复领域方面的应用对磷酸镁骨水泥和其复合物进行综述。认为 MPC 是一种具有潜力的骨修复材料。

关键词 磷酸镁骨水泥 骨修复 复合物

中图分类号 R318

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2019.01.038

在磷酸镁骨水泥被引入之前,有许多材料应用于骨修复领域,比如聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA)、磷酸钙骨水泥(CPC)等。但都存在明显的缺点,例如 PMMA 生物相容性差,无法与骨组织形成骨性愈合从而提供足够的强度。CPC 初始强度低,缺乏黏结性能和降解时间长^[1,2]。因此,需要研制一种新的材料来弥补以上缺点。近几年通过评估 MPC 的生物相容性及理化性能后,开始研究 MPC 在骨修复材料方面的应用^[3]。并且以前的研究中报道了 Mg^{2+} 主要存在于骨中,可以调控整合素黏附的活性从而影响成骨细胞的黏附、表型、增殖和分化^[4]。并且 MPC 形成的微孔表面可以增强纤维状肌动蛋白(FA)的形成和细胞内肌动蛋白的聚合,随后通过肌球蛋白 II(RhoA - ROCK - MLCK)途径刺激细胞成骨分化^[5,6]。

截止到目前,已有大量关于 MPC 的固化过程、生物学行为和使用途径等方面的研究。美国 Bone Solutions Incorporated(BSI)研制的磷酸镁骨水泥获得美国 FDA(Food and Drug Administration, FDA)认证,成为骨缺损填充材料并开始在美国使用;刘昌胜等依据 MPC 可降解、具有良好的生物相容性的特点并且兼具胶黏性好、初始强度高、固化时体积微膨胀的特性将其引入骨修复领域。

一、磷酸镁骨水泥

磷酸镁骨水泥(MPC)是一种新型的无机材料。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(815025750);中央高校基本科研业务费专项资金项目(2042015kf0069)

作者单位:430060 武汉大学人民医院

通讯作者:郭卫春,教授,主任医师,博士生导师,电子信箱:guoweichun@aliyun.com

其主要原料为煅烧后的氧化镁(MgO)、磷酸盐、缓凝剂等。视实际需要可加入复合性改剂提高 MPC 的性能。其中 MgO 是 MPC 最重要的成分, MgO 的活性对 MPC 的固化反应速度起到至关重要的作用。据研究表明, MgO 的活性和其煅烧温度和颗粒大小密切相关,其活性随着煅烧温度的增加而降低,随着颗粒的减小而增加。磷酸盐作为 MPC 中的主要成分,要提供水化反应所需的酸性环境以及磷酸根等离子。目前使用的磷酸二氢盐主要有磷酸二氢胺($NH_4H_2PO_4$)、磷酸二氢钠(NaH_2PO_4)、磷酸二氢钙 $[Ca(H_2PO_4)_2]$ 和磷酸二氢钾(KH_2PO_4)。最早使用的磷酸盐是磷酸二氢胺,主要生成磷酸胺六水合物($MgNH_4PO_4 \cdot 6H_2O$),俗称鸟粪石^[7]。在制备 MPC 的过程中,反应会释放大热量,导致制备凝固时间合适的 MPC 较困难。而使用缓凝剂可延缓水化放热速率、减缓反应进程和缓凝^[8]。

MPC 的水化机制主要分为 3 个阶段:(1)当液相与固相混合后,磷酸二氢盐遇水溶解形成 $H_2PO_4^-$,使水泥浆体呈弱酸性,从而促使 MgO 溶解形成 Mg^{2+} 。(2)随后 Mg^{2+} 与水分子通过络合反应形成正电荷“水溶胶”;随着水化反应的进行,水合镁离子与 $H_2PO_4^-$ 、盐离子迅速发生酸碱反应,该反应为放热反应;随着反应继续进行,更多的水化产物形成凝胶体,同时水化产物的晶核不断生成、长大以及相互之间接触使得凝胶体更加致密,最终在 MPC 浆体内形成一个以未水化 MgO 颗粒为骨架、水化产物为黏结料的结晶网状结构,获得具有高力学性能的硬化体^[3]。(3)为了满足各种实际需要,会添加复合性改剂,例如添加醋酸乙烯-乙烯共聚乳液(EVA 乳液)能显著

增大 MPC 黏结强度^[8];添加 HEA 高效防水剂可在 MPC 硬化后在浆体中形成一层保护膜,从而减少可溶性磷酸盐溶出。

针对 MPC 在骨修复材料的应用,其首要任务是要评估 MPC 对人体的安全性。Yu 等^[9]应用 Ames 测试、微核测试和非计划 DNA 合成测试对 MPC 遗传毒理学进行了研究。用宏观组织学、组织形态学和扫描电子显微镜方法探讨骨折愈合和降解行为,评估 MPC 的生物相容性。结果表明 MPC 没有毒性,它不会引起 DNA 损伤和基因突变,同时 MPC 将与宿主骨形成直接结合。定期置入的样品在体内表现出良好的降解模式,这为动物试验和临床应用提供了依据。临床上经常会出现关节内骨折,通常此种骨折为不稳定骨折,需要达到解剖复位,但即使应用最小的内固定物也难以达到解剖复位的标准,术后会出现患者活动不便、关节无法恢复至活动范围等情况。同时对于粉碎性骨折,目前临床上广泛采用内固定,通常是微孔螺钉内固定或髓内固定,这些方法对大骨折块有效,却难以固定小骨折块。此外,在松质骨区域中,对于大量的骨折,螺钉内固定方法只能提供很弱的强度,容易导致术后螺钉松动,影响术后效果,甚至要进行二次手术^[10]。所以,用 MPC 作为潜在的可生物降解骨植入材料变成了可能。

近年来对 MPC 生物相容性、抗压强度和成骨效应的研究发现,将 MPC 以合适的粉-液比(P/L)混合后具有良好的注射性,可以用于微创手术^[11-13]。并且,将 MPC 与其他材料进行混合,能更好地提升 MPC 在骨科的应用价值。

二、磷酸镁骨水泥复合物

1. 硅酸钙/磷酸镁复合物(C3S/MPC):C3S 是氧化二铁聚集体(MTA)的主要活性成分之一。它可以在体外诱导骨样磷灰石矿化,其 Si / Ca 比率可以调节细胞的附着和增殖^[14],其离子提取液可以刺激骨相关细胞的增殖和成骨分化。并且从硅酸盐材料中释放的 Si 离子在刺激骨形成相关细胞的增殖、分化和成骨基因的表达中起重要作用^[15]。所以,可将 C3S 的生物活性和磷源为磷酸二氢钠(MPC)的高强度和快速固化性能相结合,制成 C3S/MPC 复合物。通过 C3S 和 MPC 的质量比来调节其抗压强度和凝固时间,在此之中调节出来的 C25M75 的抗压强度最高为 86MPa,接近人体皮质骨的下限(90 ~ 209MPa),远高于 C3S 和 MPC。并且 C3S/MPC 的孔隙率高于 MPC,使得骨组织能够更容易的长入。此外,C3S/

MPC 体外显示良好的细胞生物相容性,与 MPC 比较,在浓度低于 12.5mg/L 时,C3S/MPC 更能刺激 MC3T3-E1 成骨细胞增殖,其原理可能是 C3S/MPC 中的 Si^{2+} 和 Mg^{2+} 对细胞的协同刺激作用。同时 C3S/MPC 在 SBF 溶液中有良好的磷灰石矿能力,形成了羟基磷灰石^[16]。机制是 Ca^{2+} 首先从 C3S 释放形成富含 Si 离子层,然后诱导形成 Ca-P 聚集在进一步形成磷灰石晶体。这样可以使得骨骼和材料可以形成化学键,形成更好的骨整合^[17]。

2. 硫酸钙/磷酸镁骨水泥(CSMPC):硫酸钙(CS)有着良好的生物相容性,骨传导性和可以完全再吸收而被应用于骨。尽管有以上这些优点,但 CS 仍存在缺点。一是 CS 的机械强度低,不能为骨缺损部位提供足够的长期机械支撑。另一方面是 CS 显示几乎没有生物活性,导致 CS 移植物和组织之间的黏合不良。最重要的是置入后 CS 吸收太快难以匹配骨再生^[18]。而 MPC 是一种快速修复材料,具有快速凝固和可降解的特点,同时 MPC 具有良好的生物活性^[19]。因此,可以将 MPC(磷源为磷酸二氢胺)与 CS 混合从而开发新的硫酸钙/磷酸镁水泥(CSMPCs)。

本实验中制作了 3 种 CSMPC(改变 MPC 的含量得到了 CSMPC40、CSMPC50 和 CSMPC60),这 3 种 CSMPC 凝固时间在 6 ~ 12min,而 MPC 凝固时间为 3min,所以 CSMPC 的凝固时间更适合于外科医生注射水泥或将其调节到用于临床应用的所需形状。通过增加 MPC 的含量,使得 CSMPC 机械强度逐渐增高并且高于 MPC,具有更好的抗压强度;并且 80 天后其降解率高于 MPC,表明其降解性能比 MPC 好。在体外 SBF 实验中,CSMPC 复合材料表明形成骨样磷灰石,同时溶液 pH 值约为 9,MPC 溶液的 pH 值为 7.42。在之前的研究中碱性环境有助于形成磷灰石,而且磷灰石晶体的成核速率在 pH 值为 9 时比 pH 值为 7 时更快,表明该材料有良好的生物相容性,在置入人体时能和周围骨组织形成更好的结合。同时 CSMPC 比 MPC 更能增加细胞活力和刺激细胞的生长。CSMPC 有望成为骨移植物的替代材料^[19]。

3. 磷酸镁/磷酸钙复合物(CMPC):CPC 和 MPC 都是用于骨科的无机材料,但 CPC 由于其初始机械性能差,体内生物降解速率低和凝固时间相对较长而具有一定的局限性,但 MPC 的凝固时间短且与周围组织的生物相容性良好^[20]。Wu 等^[21]通过将 MPC(磷源为磷酸二氢胺)与 CPC 结合起来,制出了 CMPC。制备的 CMPC 与 CPC 相比具有更短的凝固

时间和更高的抗压强度。CMPC 的降解率高于 CPC 和 MPC,降解速率随 CMPC 中 MPC 含量的增加而加快。CMPC 可以支持 MG-63 细胞的附着和增殖,且细胞增殖率明显高于 CPC 和 MPC,说明 CMPC 具有良好的生物相容性。置入骨缺损的 CMPC 观察表明,置入物体体内无异物反应,无炎症反应,无坏死。组织学评估证实,CMPC 置入物与宿主骨形成直接结合,表现出高效的骨再生。

CMPC 和 CSMPC 的磷酸盐都是磷酸二氢胺,这种磷酸盐虽然应用广泛,但缺点明显,一是会产生氨气污染环境,二是在凝固过程中 MPC 会释放氨气产生碱性环境从而导致细胞毒性。所以应采用磷酸二氢盐类替代磷酸二氢胺,来弥补缺点,例如采用磷酸二氢钙和磷酸二氢钾,其中磷酸二氢钾不仅弥补了此缺点,而且与磷酸二氢胺相比还具有较小的解离常数和较低的溶解度,使得反应速率更加容易控制^[22]。

与 Wu 等一样,Zhang 等通过把 CPC 粉末、MPC 粉末和水泥液体(超纯水)混合在一起组成 MPCP(理化性质与 CMPC 一样),但不同的是所用的磷酸二氢盐为磷酸二氢钙。在 MCPC 中调节 MPC 的重量百分比在 0~20% 的范围内,获得具有不同镁密度的 MCPCs,在这之中,5(10)比例 MPCP 的效果最好。实验结果表明 MPC 的并入可以加快水合环境,提高 CPC 的抗压强度,同时对自凝性能没有明显的影响。并且在培养基浸泡后,MCPCs 不仅改善了 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 的溶解度以及 CPC 的降解能力,也在一定程度上降低了 CPC 的碱化。不仅如此,将 MPC 掺入 CPC 不仅可以增强 BMSCs 细胞的黏附和扩散,还能促进体外细胞的成骨分化,其原理是 MCPC 可以调节吸收的 Fn 的构象,使其具有更多的细胞亲和力,并且上调细胞膜上整合素 $\alpha 5 \beta 1$ 的表达,不仅促进了 BMSCs 对材料的黏附,也刺激成骨分化,使骨骼再生增强^[23]。但研究发现 Mg^{2+} 的释放速率不依赖于 MPC 的含量,这可能与培养基中吸附蛋白的抑制能力有关^[24]。

4. 明胶微球/磷酸镁骨水泥:骨科疾病中最常见的临床表现就是骨缺损,骨缺损往往是由创伤、骨肿瘤等疾病导致的。创伤所导致的骨缺损可以单独采用 MPC 填充。但骨肿瘤临床上的治疗主要采取手术治疗,会广泛切除肿瘤周围的骨组织,单纯采用 MPC 无法根除病因。所以,将药物载入骨水泥中治疗骨缺损和骨疾病成为了可能。Lopez-Heredia 等先将 PX(紫杉醇)溶液进行细胞活力测定,得到 PX 组中骨肉瘤细胞和转移性乳腺癌细胞活性均低。并且发现 PX

对骨肉瘤细胞抑制效应好。随后将 PX 载入磷酸钙骨水泥中并进行细胞实验,得到载药组中骨肉瘤细胞和转移性乳腺癌细胞的活性均比不载药组低,并且载药组使得骨肉瘤细胞数量减少的同时抑制了转移性乳腺癌细胞的增殖,说明载药组有药物治疗的效果。但将药物载入已固化的骨水泥后,药物会释放太快而无法达到理想的治疗效果,而利用选择生物相容性及生物降解性好、无毒、无抗原性的明胶为原料机微球将药物包裹起来,再载入骨水泥中,可提高药物的缓释性能^[25,26]。

在此基础上,余素春等^[26]将用明胶水配置的明胶微球与 MPC(固相为磷酸二氢钙+磷酸二氢钾)混合,在骨水泥的粉相中分别加入不同质量百分比载药明胶微球,制备出的复合载药骨水泥分别为 MPBC-2、MPBC-4、MPBC-6、MPBC-8 并进行降解实验和释药实验。发现在相同降解时间下复合磷酸镁基骨水泥比 MPC 降解快,但在最初的时间 MPBC 的孔隙率低于 MPC,这是由于明胶微球还未降解。随着微球的降解,空隙率逐渐增加,这些孔可为细胞迁移及骨组织生长提供通道,加速骨缺损的修复。在释放前期(0~10h),药物释放速度较快,之后药物释放明显减缓;释药 7 天后,微球几乎降解完全,药物释放率达到 60%~89%,达到了一定的药物缓释效果。

三、展 望

MPC 是一种通过水化反应生成的无机材料,具有高强度、快速固化性能和可吸收的特点,同时又有着良好的生物相容性而开始应用于骨修复领域。研究者对 MPC 展开了大量的研究,证实了 MPC 没有毒性,不会引起 DNA 损伤和基因突变。并且在动物实验中也成功证实了 MPC 对骨折愈合有很好的效果,例如可促进成骨细胞的增殖和分化,与骨组织形成骨性愈合。此外,往 MPC 中加入不同的材料所得到的复合物其性能会产生变化,例如通过调节 MPC 的含量来调整抗压强度和凝固时间从而使其更好的应用于临床,具备比 MPC 更好的生物相容性和根治病因,如骨缺损的病因;获得特殊的性能,例如抗菌性能。因此,MPC 是一种具有潜力的无机材料。

但不同研究者所用的 MPC 体系不同,并且各个体系之间的优缺点未做充分说明。因此,应进一步开展 MPC 各体系的研究,深入了解各体系的优缺点和它们之间的联系。同时研究 MPC 材料的微观结构、反应机制和力学生物性能,充分认识 MPC 的优点与缺点,从而指导 MPC 的合成与其他材料之间的复合,

不断研制出性能更为优异的 MPC 及其复合物。最后 MPC 的临床实验相对匮乏,也应加大研究。这样可以增加 MPC 在医学领域,特别是骨修复领域的应用。

参考文献

- 1 Ma H, Xu B, Li Z. Magnesium potassium phosphate cement paste: degree of reaction, porosity and pore structure [J]. *Cement Concrete Res*, 2014, 65(1): 96 – 104
- 2 Liu Y, Kumar S, Kwag J, *et al.* Magnesium ammonium phosphate formation, recovery and its application as valuable resources; a review [J]. *J Chem Technol Biotechnol*, 2013, 88(2): 181 – 189
- 3 段星泽, 廖建国, 李艳群, 等. 磷酸镁水泥制备及生物医学应用研究进展 [J]. *材料导报*, 2016, 30(7): 60 – 67
- 4 Wang G, Li J, Zhang W, *et al.* Magnesium ion implantation on a micro/nanostructured titanium surface promotes its bioactivity and osteogenic differentiation function [J]. *Int J Nanomed*, 2014, 9(1): 2387 – 2398
- 5 Seo CH, Jeong H, Feng Y, *et al.* Micropit surfaces designed for accelerating osteogenic differentiation of murine mesenchymal stem cells via enhancing focal adhesion and actin polymerization [J]. *Biomaterials*, 2014, 35(7): 2245 – 2252
- 6 Yoshizawa S, Brown A, Barchowsky A, *et al.* Role of magnesium ions on osteogenic response in bone marrow stromal cells [J]. *Connect Tissue Res*, 2014, 55(1): 155 – 159
- 7 Fan S, Chen B. Experimental study of phosphate salts influencing properties of magnesium phosphate cement [J]. *Construct Build Mater*, 2014, 65(9): 480 – 486
- 8 Ma H, Xu B, Liu J. Effects of water content, magnesia – to – phosphate molar ratio and age on pore structure, strength and permeability of magnesium potassium phosphate cement paste [J]. *Mater Design*, 2014, 64(10): 497 – 502
- 9 Yu Y, Wang J, Liu C, *et al.* Evaluation of inherent toxicology and biocompatibility of magnesium phosphate bone cement [J]. *Colloids Surf B: Biointerfaces*, 2010, 76(2): 496 – 504
- 10 Mestres G, Abdolhosseini M, Bowles W, *et al.* Antimicrobial properties and dentin bonding strength of magnesium phosphate cements [J]. *Acta Biomater*, 2013, 9(9): 83 – 84
- 11 No YJ, Roohani – Esfahani S, Zreiqat H. Nanomaterials; the next step in injectable bone cements [J]. *Nanomedicine*, 2014, 9(11): 1745 – 1764
- 12 Wynn – Jones G, Shelton RM, Hofmann MP. Injectable citrate – modified Portland cement for use in vertebroplasty [J]. *J Biomed Mater Res Part B*, 2014, 102(8): 1799 – 1808
- 13 Wang A, Zhang J, Li J. Effect of liquid – to – solid ratios on the properties of magnesium phosphate chemically bonded ceramics [J]. *Mater*

Sci Eng C 2013, 33(5): 2508 – 2512

- 14 Shie MY, Ding SJ. Integrin binding and MAPK signal pathways in primary cell responses to surface chemistry of calcium silicate cements [J]. *Biomaterials*, 2013, 34: 6589 – 6606
- 15 Du R, Wu T, Liu W, *et al.* Role of the extracellular signal – regulated kinase 1/2 pathway in driving tricalcium silicate – induced proliferation and biomineralization of human dental pulp cells in vitro [J]. *J Endodont*, 2013, 39(8): 1023 – 1029
- 16 Niu LN, Jiao K, Wang TD, *et al.* A review of the bioactivity of hydraulic calcium silicate cement [J]. *J Dent*, 2014, 24(5): 517 – 533
- 17 Liu W, Zhai D, Huan Z, *et al.* Novel tricalcium silicate/magnesium phosphate composite bone cement having high compressive strength in vitro bioactivity and cytocompatibility [J]. *Acta Biomaterialia*, 2015, 21: 217 – 227
- 18 Yang G, Liu J, Li F, *et al.* Bioactive calcium sulfate/magnesium phosphate cement for bone substitute applications [J]. *Mater Sci Engineer; C*, 2014, 35(2): 70 – 76
- 19 Yu Y, Xu C, Dai H. Preparation and characterization of a degradable magnesium phosphate bone cement [J]. *Regen Biomater*, 2016, 3(4): 231 – 237
- 20 Kanter B, Geffers M, Ignatius A, *et al.* Control of in vivo mineral bone cement degradation [J]. *Acta Biomater*, 2014, 10(7): 3279 – 3287
- 21 Wu F, Wei J, Guo H, *et al.* Self – setting bioactive calcium – magnesium phosphate cement with high strength and degradability for bone regeneration [J]. *Acta Biomater*, 2008, 4(6): 1873 – 1884
- 22 Ostrowski N, Lee B, Hong D. Osteoblast and osteoclast viability of amorphous and crystalline tri – magnesium phosphate [J]. *ACS Biomater Sci Eng*, 2015, 1(1): 52 – 63
- 23 Zhang J, Ma X, Lin D, *et al.* Magnesium modification of a calcium phosphate cement alters bone marrow stromal cell behavior via an integrin – mediated mechanism [J]. *Biomaterials*, 2015, 53: 251 – 264
- 24 Schumacher M, Lode A, Helth A, *et al.* Novel strontium (II) – modified calcium phosphate bone cement stimulates human – bone – marrow – derived mesenchymal stem cell proliferation and osteogenic differentiation in vitro [J]. *Acta Biomater*, 2013, 9(12): 9547 – 9557
- 25 Tajima S, Tabata Y. Preparation and functional evaluation of cell aggregates incorporating gelatin microspheres with different degradabilities [J]. *J Tissue Engineer Regenerat Med*, 2013, 7(10): 801 – 811
- 26 余素春, 喻莹, 戴红莲. 明胶微球/磷酸镁基骨水泥复合物缓释体系的构建 [J]. *无机材料学报*, 2017, 32(6): 655 – 660

(收稿日期: 2018 – 03 – 28)

(修回日期: 2018 – 04 – 19)

欢迎订阅

欢迎赐稿