

# 微量掺锶材料在骨修复领域的应用

穆君宇 侯沙 彭雨 兰梁 程丽佳

**摘要** 锶不仅是骨骼和牙齿的正常成分,也是人体必需的微量元素。广泛存在于土壤和海水中,参与人体生理生化反应。体内外研究表明,锶能促进骨形成,抑制破骨细胞,改善骨质,促进血管生成,对骨形成起着重要的作用。这些都是锶通过对各个骨代谢相关的通路、细胞等来实现的,近年来添加锶的复合材料的应用研究逐渐增多。现对锶影响骨代谢的主要作用机制,不同种类的掺锶生物复合材料及其在骨组织修复方面的应用进行总结,给锶在骨组织修复领域更进一步的应用提供理论依据。

**关键词** 锶 骨再生 生物材料 机制

**中图分类号** R318.08

**文献标识码** A

**DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2022.07.004

锶 (strontium, Sr) 不仅是骨骼和牙齿的正常成分,也是人体必需的微量元素,参与人体生理生化反应<sup>[1]</sup>。体内外研究表明,锶可以促进成骨细胞的形成,刺激骨发育和生长<sup>[2]</sup>。近年来研究发现, Sr 可通过激活多个干细胞成骨相关信号通路 (如 BMP/Smad、MAPK、Akt/ $\beta$ -catenin、Wnt 信号通路) 使材料在促进骨缺损修复方面发挥更好的作用<sup>[3,4]</sup>。因此,本文就目前的掺锶复合支架及其机制做一综述。

## 一、机制

1. 锶在巨噬细胞中的成骨效应:骨的愈合是机体精密调控的结果,包括炎症、免疫调节、血管的生成、骨组织的增殖分化和生物矿化。早期时尽早缓解急性炎症反应和创造良好的局部免疫环境将有利于后期的成骨。因此,巨噬细胞及其相关免疫应答在成骨的过程中起着非常重要的作用。巨噬细胞可分 M1 型和 M2 型。既往研究认为, M1 型的巨噬细胞会诱导破骨细胞生长。然而,近年来有研究证实, M1 型在早期的血管生成和骨整合中也起着重要作用。Guihard 等<sup>[5]</sup>研究发现,炎症 M1 型巨噬细胞可以通过抑瘤素 M 诱导骨髓间充质干细胞成骨。除了 M1 型巨噬细胞外,传统的骨免疫学也表明 M2 型巨噬细胞与成骨密切相关,有研究发现诱导 M2 型极化的生物材料能促进骨形成<sup>[6]</sup>。Lou 等<sup>[7]</sup>研究发现,缓慢释放的锶可使 M1 型巨噬细胞极化为 M2 型巨噬细胞。

M2 型巨噬细胞通过分泌 TGF- $\beta$  和 BMP2 使成骨基因的表达上调,从而促进新骨的形成。Xu 等<sup>[8]</sup>研究发现,掺锶材料的体内外实验表明,锶会使 M1 型巨噬细胞的极化受到抑制,而向 M2 型极化,对骨髓间充质干细胞的成骨分化有积极作用。

2. 锶在干细胞中的成骨效应:干细胞是一种能多向分化、有很强自我繁殖和更新能力的细胞。向其中加入微量元素锶,来促进干细胞分化成骨也早有报道<sup>[9]</sup>。锶可以通过驱动干细胞迁移来启动再生能力,同时锶能刺激成骨相关的表型标志物,增加其表达从而促进干细胞向成骨细胞系分化增殖。除此以外,还有研究报道,锶可通过激活 MAPK 和 PI<sub>3</sub>K/Akt 信号通路,促进间充质干细胞的增殖和成骨分化<sup>[11,12]</sup>。这一过程受到不对称干细胞分裂 (ACD) 过程的精确调控。尽管锶对成骨分化的促进作用已被深入研究,但我们对其在调节 ACD 中的作用却知之甚少,不对称干细胞分裂对于细胞多样性的产生和组织内稳态的维持至关重要<sup>[9,10]</sup>。这些结果揭示了锶引发的不对称细胞分裂在骨再生过程中维持成骨分化和骨干性之间平衡的重要性。

3. Wnt/ $\beta$ -catenin 途径:Wnt 信号通路是配体蛋白 Wnt 和相应的膜受体蛋白结合以后,激发多下游通道的一种信号途径, $\beta$ -catenin 是可以调节基因表达的多功能蛋白质。通过这个途径,细胞外的信号会传到胞内。锶可以激活细胞膜表面的 Ca<sup>2+</sup> 受体,通过 CN-NFAT 途径增强 WNT3a 的表达,进而激活典型的 Wnt/ $\beta$ -catenin 途径。锶还可以上调 FZD 受体家族 Wnt5a 和 Ror2/Ryk 共受体的表达,并通过非典型的 Wnt 途径调节下游 RhoA-、JNK- 和 Ca<sup>2+</sup> 依赖的信号通路,从而促进成骨细胞的增殖和分化<sup>[13]</sup>。

基金项目:四川省大学生创新训练计划项目 (S202111079095);成都大学 CC 国家众创空间 2021 年度创新创业教育专项课题 (ceyq 202101008)

作者单位:610106 成都大学基础医学院

通信作者:程丽佳,教授,硕士生导师,电子信箱:chenglijia@cdu.edu.cn

4. OPG/RANK/RANKL 系统: RANK 是 NF- $\kappa$ B 受体激动剂, RANKL 是一种可以激活破骨细胞, 促进骨组织吸收的一种膜蛋白<sup>[14]</sup>。OPG 是骨保护素, OPG 在成骨细胞中的表达可阻断 RANK 及其配体的相互作用, 而锶能通过调节 OPG 的表达来抑制破骨细胞<sup>[15]</sup>。Wang 等<sup>[16]</sup>研究发现, 锶在抑制钛颗粒诱导的细胞凋亡的同时, 还能调节 RANKL 和 OPG 的表达。

5. 其他: 除了以上所提及的相关机制外, 有研究发现, 锶掺杂通过早期改善自噬和晚期激活 Akt/mTOR 信号通路。Zhang 等<sup>[17]</sup>研究发现, 在成骨分化的早期和晚期分别给予自噬抑制剂和 Akt/mTOR 通路抑制剂可显著抑制干细胞的成骨分化作用。还有研究发现了 Notch 信号通路, 该通路参与了骨髓间充质干细胞的成骨分化过程<sup>[18]</sup>。除此以外, 还有 NFATc1 信号通路、Hedgehog/胶质瘤相关癌基因蛋白 1 通路、Smad 通路、钙感受受体等。

## 二、掺锶的复合材料

临床上骨缺损通常合并骨质疏松和关节炎等疾病, 锶已经被证实有着优异的促骨形成能力并能加速血管再生, 还可以促进成骨细胞的生成以及软骨再生。近年来, 多项研究积极将锶和传统的一些生物材料进行结合, 多数结果显示, 锶的掺入极高的提升了成骨能力并且有一定的抑菌效果。例如 Zhang 等<sup>[19]</sup>通过微弧氧化技术加入了锶和银, 使得 TiO<sub>2</sub> 涂层有良好的抗菌活性和成骨能力。但未对具体机制进行详细阐述, 因此, 还需要进一步的研究以更好地阐明掺锶生物材料在骨修复中的作用机制。

1. 骨水泥: 可注射骨水泥具有良好的生物相容性、生物灵感特性和微创释放能力。骨水泥广泛应用于骨科和牙科手术。含锶药物在各种临床环境中作为全身成骨细胞激活药物, 促进骨质疏松骨的机械稳定性能够适应不同的骨缺损创面。Dai 等<sup>[20]</sup>研究发现, 锶-羟基磷灰石水泥具有良好的生物相容性, 对细胞增殖毒性低, 并且对 MC3T3 细胞的成骨分化有一定的促进作用。

除了直接掺入以外, Sun 等<sup>[21]</sup>研制了一种新型锶-磷酸钙骨水泥。该掺锶骨水泥表现出了优异的细胞相容性和良好的抗压能力。此外, 多数动物实验结果反馈良好, 在去卵巢的大鼠胫骨缺损(骨质疏松模型)上, 掺锶骨水泥在皮质和周围的骨小梁区域显示出巨大的骨再生潜力, 包括增加骨体积和密度, 增加促骨蛋白的产生, 增加成骨细胞的数量, 减少破

骨细胞性骨吸收的迹象<sup>[22]</sup>。掺锶磷酸钙骨水泥在大鼠颅骨缺损模型有明显的新骨形成。在大鼠皮下植入模型中, 骨水泥还显示出皮下结缔组织新生血管的增强作用<sup>[23]</sup>。

2. 生物活性玻璃: 生物活性玻璃(BGs)在骨修复支架结构中的应用越来越受到关注。BGs 中可以掺杂不同的金属离子, 以引起特定的生物反应赋予材料额外的功能特性。在这些离子中, 锶被认为是一种有效且安全的掺杂元素, 具有良好的骨形成和再生作用以及优异的抗菌作用, 因此被广泛应用于生物活性玻璃。Baheiraei 等<sup>[24]</sup>研究发现, 金属 Sr 取代钙离子后, 掺锶的生物活性玻璃支架的新生骨面积和成骨面积均大于未掺锶的生物活性玻璃, 并且对于金黄色葡萄球菌具有更显著的抑菌效果。而 Zhao 等<sup>[25]</sup>研究发现, 掺锶浓度的不同显著影响生物活性玻璃的效果, 其中 5% 掺锶生物活性玻璃支架具有较高的体外生物活性、细胞增殖和抗菌性能, 具有明显的促细胞增殖作用, 且无细胞毒性。除了单独将微量元素锶掺入 BGs 中外, 锶由于其良好的体外生物活性和银(Ag)共同掺入介孔生物活性玻璃颗粒(MBGNs)后, 不仅对肉芽葡萄球菌和大肠杆菌均有较强的抑菌作用, 而且合成的 Ag-Sr MBGNs 在模拟体液(SBF)中浸泡后形成类磷灰石晶体, 显著提高其体外生物活性<sup>[26]</sup>。而在体外细胞培养过程之中, Borciani 等<sup>[25]</sup>将富锶介孔生物活性玻璃的 I 型胶原与人骨小梁来源的成骨细胞和黄褐色涂层来源的成骨细胞前体进行间接共培养 2~3 周, 成功地支持了细胞的存活、黏附和分化。

3. 生物活性涂层: 传统的大多数金属支架(例如钛和钛合金)属于生物惰性材料, 这类材料最常见问题是细菌感染和缺乏快速骨结合的成骨能力。为了弥补材料的缺点, 多项研究采用了锶和其他离子共掺入合成涂层的方法, 有效弥补了金属支架容易产生细菌感染和缺乏成骨能力的缺点。Zhang 等<sup>[28]</sup>将通过微弧氧化(MAO)技术在多孔 TiO<sub>2</sub> 涂层中同时掺入锶和银。结果显示, Sr 和 Ag 的加入使 TiO<sub>2</sub> 涂层具有较强的抗菌活性和成骨能力。Park 等<sup>[29]</sup>则通过化学浸渍的方法在可生物降解镁表面制备锶帽涂层试样。结果表明, 与纯镁比较, 锶帽包覆镁的耐蚀性有所提高。此外, 还证实了含 Sr 组的生物相容性得到了提高。除了传统的金属支架以外, 近年来, 多项研究尝试在一些已被证实具有骨诱导性的材料上进行掺锶涂层。Geng 等<sup>[30]</sup>体外实验表明, 在高 pH 值条件下,

Sr的存在有利于MSCs的黏附、铺展、增殖和成骨分化。此外,锶替代磷灰石涂层可明显抑制破骨细胞的分化和融合。体内实验表明,纳米针状锶替代磷灰石涂层能抑制破骨活性,促进新骨形成,促进骨-种植体结合。

4. 生物陶瓷玻璃:在骨组织工程中,生物可降解陶瓷支架能够原位输送有利于骨形成的离子物种,受到越来越多的关注。近年来,许多研究尝试将锶加入生物陶瓷支架中。Zhao等<sup>[31]</sup>比较了传统的羟基磷灰石生物陶瓷+雷尼酸锶和掺锶的羟基磷灰石生物陶瓷,结果表明在缺损区和种植体-骨间隙区域诱导了更多的新骨形成。Golafshan等<sup>[32]</sup>采用机械合金化的方法制备了锶修饰氟磷灰石(Sr-FAP)、镁和二氧化硅改性氟磷灰石(Mg-SiFAP)纳米粉体。结果表明,掺杂元素可使Sr-FAP和Mg-SiFAP的结晶度(56%)分别降至45%和39%以下。此外,体外研究表明,与Mg-SiFAP比较,在成骨和正常培养21天后,Sr-FAP显著促进了hMSCs的成骨分化。

5. 其他:除了将锶掺入以上材料外,近年来部分研究也在积极探索锶同其他材料结合的效果。Wang等<sup>[33]</sup>采用超声共沉淀法制备了不同浓度含锶掺杂羟基磷灰石/丝素蛋白(SrHA/SF)生物复合纳米,体外细胞培养显示高浓度锶纳米球对骨髓间充质干细胞(MSCs)的生物相容性没有负面影响,同时提高了MSCs的活性,并且具有更高的成骨分化潜能。而Wong等<sup>[34]</sup>则采用模压成型工艺制备了含锶羟基磷灰石(Sr-HA)的掺杂量为15%~30%的聚醚醚酮(PEEK)聚合物基体,结果表明含锶羟基磷灰石形式存在的锶可以增强聚醚醚酮复合材料的生物活性。

### 三、展 望

锶可以调整骨骼的代谢状态,提高骨形成能力,影响骨代谢。对骨代谢的影响离不开通过各种蛋白、通路、细胞因子等对成骨细胞,破骨细胞及干细胞,巨噬细胞等的作用,从而表现出锶对骨组织的形成有促进作用的表现,其机制往往是复杂而交错的,各个部分相互合作,相互制约,一起维持骨组织的稳定。同时,对掺锶生物复合材料的研发和研究也很多,可以发现,相较于原材料而言,一方面微量锶的掺入可以提高生物材料的成骨效果和血管化过程,能够为骨诱导提供更有效和快速的方法。另一方面,微量锶的掺入也显著提高了材料的骨整合效果,掺锶材料良好的抑菌效果和对锶的释放效果提高了材料植入部位的骨量。Webster等<sup>[45]</sup>研究发现,与生物材料的表面化

学成分比较,成骨细胞的黏附可能更依赖于材料表面的物理形貌。所以对于由于材料表面不同的物理形态而造成不同成骨效果仍然需要进一步的研究,同时由于目前大部分的掺锶生物材料主要聚焦于其整体材料的制备过程,对于材料的生物性实验和其安全性也需要进一步的研究。

### 参考文献

- Pilmanc M, Salma - Ancane K, Loca D, *et al.* Strontium and strontium ranelate: historical review of some of their functions [J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2017, 78: 1222 - 1230
- Henriques LA, Neves N, Ribeiro - Machado C, *et al.* Injectable hybrid system for strontium local delivery promotes bone regeneration in a rat critical - sized defect model [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 5098
- Huang M, Hill RG, Rawlinson SC. Strontium (Sr) elicits odontogenic differentiation of human dental pulp stem cells (hDPSCs): a therapeutic role for Sr in dentine repair? [J]. *Acta Biomater*, 2016, 38: 201 - 211
- Zhang W, Tian Y, He H, *et al.* Strontium attenuates rhBMP - 2 - induced osteogenic differentiation via formation of Sr - rhBMP - 2 complex and suppression of Smad - dependent signaling pathway [J]. *Acta Biomater*, 2016, 33: 290 - 300
- Guihard P, Danger Y, Brounais B, *et al.* Induction of osteogenesis in mesenchymal stem cells by activated monocytes/macrophages depends on oncostatin M signaling [J]. *Stem Cells*, 2012, 30(4): 762 - 772
- Chen Z, Ni S, Han S, *et al.* Nanoporous microstructures mediate osteogenesis by modulating the osteo - immune response of macrophages [J]. *Nanoscale*, 2017, 9(2): 706 - 718
- Luo M, Zhao F, Liu L, *et al.* IFN -  $\gamma$ /SrBG composite scaffolds promote osteogenesis by sequential regulation of macrophages from M1 to M2 [J]. *J Mater Chem B*, 2021, 9(7): 1867 - 1876
- Xu AT, Xie YW, Xu JG, *et al.* Effects of strontium - incorporated micro/nano rough titanium surfaces on osseointegration via modulating polarization of macrophages [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2021, 207: 111992
- Naruphontjirakul P, Tsigkou O, Li S, *et al.* Human mesenchymal stem cells differentiate into an osteogenic lineage in presence of strontium containing bioactive glass nanoparticles [J]. *Acta Biomater*, 2019, 90: 373 - 392
- Peng S, Liu XS, Wang T, *et al.* In vivo anabolic effect of strontium on trabecular bone was associated with increased osteoblastogenesis of bone marrow stromal cells [J]. *J Orthop Res*, 2010, 28(9): 1208 - 1214
- Zhang W, Cao H, Zhang X, *et al.* A strontium - incorporated nanoporous titanium implant surface for rapid osseointegration [J]. *Nanoscale*, 2016, 8(9): 5291 - 5301
- Chen Y, Zheng Z, Zhou R, *et al.* Developing a strontium - releasing graphene oxide - /collagen - based organic - inorganic nanobiocomposite for large bone defect regeneration via MAPK signaling pathway [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2019, 11(17): 15986 - 15997

- 13 Rybchyn MS, Slater M, Conigrave AD, *et al.* An Akt – dependent increase in canonical Wnt signaling and a decrease in sclerostin protein levels are involved in strontium ranelate – induced osteogenic effects in human osteoblasts[J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(27): 23771 – 23779
- 14 Fromigué O, Haÿ E, Barbara A, *et al.* Essential role of nuclear factor of activated T cells (NFAT) – mediated Wnt signaling in osteoblast differentiation induced by strontium ranelate[J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(33): 25251 – 25258
- 15 Hanada R, Hanada T, Sigl V, *et al.* RANKL/RANK – beyond bones [J]. *J Mol Med (Berl)*, 2011, 89(7): 647 – 656
- 16 Wang B, Guo H, Geng T, *et al.* The effect of strontium ranelate on titanium particle – induced periprosthetic osteolysis regulated by WNT/ $\beta$  – catenin signaling in vivo and in vitro [J]. *Biosci Rep*, 2021, 41(1): BSR20203003
- 17 Liao J, Wei Q, Zou Y, *et al.* Notch signaling augments BMP9 – induced bone formation by promoting the osteogenesis – angiogenesis coupling process in mesenchymal stem cells (MSCs) [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 41(5): 1905 – 1923
- 18 Zhang X, Cui J, Cheng L, *et al.* Enhancement of osteoporotic bone regeneration by strontium – substituted 45S5 bioglass via time – dependent modulation of autophagy and the Akt/mTOR signaling pathway [J]. *J Mater Chem B*, 2021, 9(16): 3489 – 3501
- 19 Zhang YY, Zhu Y, Lu DZ, *et al.* Evaluation of osteogenic and antibacterial properties of strontium/silver – containing porous TiO<sub>2</sub> coatings prepared by micro – arc oxidation [J]. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 2021, 109(4): 505 – 516
- 20 Dai J, Fu Y, Chen D, *et al.* A novel and injectable strontium – containing hydroxyapatite bone cement for bone substitution: a systematic evaluation [J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2021, 124: 112052
- 21 Sun L, Li T, Yu S, *et al.* A novel fast – setting strontium – containing hydroxyapatite bone cement with a simple binary powder system [J]. *Front Bioeng Biotechnol*, 2021, 9: 643557
- 22 Lee NH. Dual actions of osteoclastic – inhibition and osteogenic – stimulation through strontium – releasing bioactive nanoscale cement imply biomaterial – enabled osteoporosis therapy [J]. *Biomaterials*, 2021, 276: 121025
- 23 Wu X, Tang Z, Wu K, *et al.* Strontium – calcium phosphate hybrid cement with enhanced osteogenic and angiogenic properties for vascularised bone regeneration [J]. *J Mater Chem B*, 2021, 9(30): 5982 – 5997
- 24 Baheiraei N, Eyni H, Bakhshi B, *et al.* Effects of strontium ions with potential antibacterial activity on in vivo bone regeneration [J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 8745
- 25 Zhao R, Shi L, Gu L, *et al.* Evaluation of bioactive glass scaffolds incorporating SrO or ZnO for bone repair: in vitro bioactivity and antibacterial activity [J]. *J Appl Biomater Funct Mater*, 2021, 19: 22808000211040910
- 26 Bano S, Akhtar M, Yasir M, *et al.* Synthesis and characterization of Silver – Strontium (Ag – Sr) – doped mesoporous bioactive glass nanoparticles [J]. *Gels*, 2021, 7(2): 34
- 27 Borciani G, Montalbano G, Melo P, *et al.* Assessment of collagen – based nanostructured biomimetic systems with a co – culture of human bone – derived cells [J]. *Cells*, 2021, 11(1): 26
- 28 Zhang YY, Zhu Y, Lu DZ, *et al.* Evaluation of osteogenic and antibacterial properties of strontium/silver – containing porous TiO<sub>2</sub> coatings prepared by micro – arc oxidation [J]. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 2021, 109(4): 505 – 516
- 29 Park JE, Jang YS, Choi JB, *et al.* Evaluation of corrosion behavior and in vitro of strontium – doped calcium phosphate coating on magnesium [J]. *Materials (Basel)*, 2021, 14(21): 6625
- 30 Geng Z, Ji L, Li Z, *et al.* Nano – needle strontium – substituted apatite coating enhances osteoporotic osseointegration through promoting osteogenesis and inhibiting osteoclastogenesis [J]. *Bioact Mater*, 2020, 6(4): 905 – 915
- 31 Zhao R, Chen S, Zhao W, *et al.* A bioceramic scaffold composed of strontium – doped three – dimensional hydroxyapatite whiskers for enhanced bone regeneration in osteoporotic defects [J]. *Theranostics*, 2020, 10(4): 1572 – 1589
- 32 Golafshan N, Alehosseini M, Ahmadi T, *et al.* Combinatorial fluorapatite – based scaffolds substituted with strontium, magnesium and silicon ions for mending bone defects [J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2021, 120: 111611
- 33 Wang L, Pathak JL, Liang D, *et al.* Fabrication and characterization of strontium – hydroxyapatite/silk fibroin biocomposite nanospheres for bone – tissue engineering applications [J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 142: 366 – 375
- 34 Wong KL, Wong CT, Liu WC, *et al.* Mechanical properties and in vitro response of strontium – containing hydroxyapatite/polyetheretherketone composites [J]. *Biomaterials*, 2009, 30(23 – 24): 3810 – 3817
- 35 Webster TJ, Ergun C, Doremus RH, *et al.* Enhanced functions of osteoblasts on nanophase ceramics [J]. *Biomaterials*, 2000, 21(17): 1803 – 1810

(收稿日期: 2022 – 02 – 20)

(修回日期: 2022 – 03 – 02)

~~~~~

**欢迎订阅      欢迎赐稿**