

硅酸钙生物活性水泥的研究与应用进展

黄雯昕, 孙晓燕, 王 斐, 孙常凯, 申开军, 张 垠*
(南京工业大学材料科学与工程学院, 江苏 南京 210009)

摘要:介绍了硅酸钙生物活性水泥的研究进展、制备方法,重点介绍了硅酸钙生物活性水泥的生物学性及其对应机理,液态硅酸钙水泥(hydraulic calcium silicate cements, HCSCs)在临床应用方面的研究进展,指出了硅酸钙生物活性水泥在牙本质矿化、活髓及骨再生和修复上发挥着不可替代的作用。

关键词:硅酸钙生物活性水泥;生物学性;临床应用;牙根治疗;组织修复

中图分类号:TQ172.1

文献标志码:A

文章编号:0253-4320(2017)05-0046-04

DOI:10.16606/j.cnki.issn0253-4320.2017.05.011

Research and application progress of calcium silicate bioactive cements

HUANG Wen-xin, SUN Xiao-yan, WANG Fei, SUN Chang-kai, SHEN Kai-jun, ZHANG Yin*

(School of Material Science and Engineering, Nanjing University of Technology, Nanjing 210009, China)

Abstract: The research progress and preparation methods of calcium silicate bioactive cements are introduced in this paper. The biological properties and corresponding mechanisms of calcium silicate bioactive cements, the research progress on hydraulic calcium silicate cements (HCSCs) in clinical application are mainly discussed. Then this paper points out that calcium silicate bioactive cements play an irreplaceable role in the treatment of dentin mineralization and regeneration and repairing of vital pulp therapy and bone.

Key words: calcium silicate bioactive cements; biological properties; clinical application; tooth root treatment; tissue repair

在近10年间,人们对人工合成的生物材料的需求明显增加,并期待这些人工合成的生物材料能够取代或者修复受损或病变部位的骨组织。早在20世纪60年代,Hench^[1]就人工合成了以硅酸盐为主要成分的生物活性玻璃,随后该材料可被注射并能成型,从而人工合成的生物材料很早就展现出了广阔的应用前景。

生物活性骨水泥由于具有自凝性能目前受到广泛地关注,这类人工合成的生物活性材料可以被直接注射并可塑型成一定的形状而用于临床^[2]。作为生物活性骨水泥的一种,磷酸钙系生物活性水泥由于具有较好的生物相容性和骨传导性能逐渐进入研究者的视野。然而,研究发现磷酸钙系生物活性水泥的降解率较低且抗压强度较低,限制了其在承重骨部位的应用^[3]。作为一种典型的人工合成生物材料,硅酸钙系生物活性水泥由于自身优越的生物学性能而有望成为骨组织工程上潜在的骨替代或修复材料^[3-5]。硅酸钙系生物活性材料包括CaSiO₃(CS)、Ca₂SiO₄(C₂S)、Ca₃SiO₅(C₃S)和生物活性玻璃,这些都被研发出并应用于整形外科和牙科领域。研究者们制备了一种具有较高生物活性和骨传导性并能快速凝结的硅酸钙生物活性水泥^[6]。但是,硅酸钙系生物活性水泥的抗压强度还不足以用于承重骨部位,现研究的重心是制备一种具有高

抗压强度的硅酸钙生物活性复合水泥。Zhang等^[7]用羧甲基纤维素改性硅酸二钙骨水泥,调节了硅酸二钙骨水泥的凝结时间并提高了其抗压强度。Wang等^[6]在硅酸二钙骨水泥中添加了明胶,制备出了明胶/硅酸二钙复合骨水泥,抗压强度得到明显地改善。此外,Liu等^[3]将硅酸三钙与磷酸镁复合,复合骨水泥在养护7d后的抗压强度达到87MPa。硅酸钙系生物活性水泥的研究仍在不断开展,有望用于骨组织修复或替代潜在人工合成生物材料。

因此,硅酸钙系生物活性水泥开辟了新的用于骨修复或骨填充的可能,为克服临床上骨替代和骨修复等骨科难题提供了帮助,有望广泛应用于牙科、骨组织替代和修复以及整形外科领域。

1 硅酸钙系生物活性水泥的制备方法

一系列硅酸盐生物活性水泥已被制备用于骨再生和骨涂料。相比于传统的磷酸盐基生物水泥,硅酸盐生物活性水泥化学组成各有所异,使得物化性质可控性更强,如机械性能、生物活性和降解性。

常用制备方法主要有固相反应法、水热法、化学沉淀法和溶胶-凝胶法。

1.1 固相反应法

通过不同钙硅比的调整,将原料碳酸钙

(CaCO_3)、二氧化硅(SiO_2)和氟化钙(CaF_2)用过球磨搅拌机搅拌均匀后,在高温炉中 1450°C 下反复煅烧,为得到纯净的 C_3S ,需要在高温下保温4 h,并急速冷却至室温。煅烧过程中, CaCO_3 受 CaF_2 影响而分解成 CaO ,与 SiO_2 形成低共熔化合物^[8]。固相反应法相比于溶胶-凝胶法更为局限,因混合均匀程度不及后者,还需要更高的温度和长时间保温来提高纯度,但需要制备纯度高的 C_3S ,制备工艺上而言相对比较复杂。

1.2 水热法

水热合成法是在溶胶-凝胶法的基础之上研究,将 $\text{Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_4$ 和 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 作为 SiO_2 和 CaO 的前驱体,按钙硅摩尔比为1:1配置浆料, HNO_3 作为催化剂,水作为反应溶剂,在烘箱内,按顺序加入至聚四氟乙烯容器中 120°C 加热1 d,溶液蒸发,干凝胶在 800°C 下煅烧2 h,冷却至室温,初步制得粉体。再将粉体混合乙醇溶液在球磨机中球磨12 h,干燥过筛^[9]。水热合成技术作为溶胶-凝胶法的替代方法,可以在较低温度下制备出活性高且抗压强度高的硅酸钙粉体。

1.3 化学沉淀法

化学沉淀法是按不同化学计量配比,以 $\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ 和 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 为原料,分别溶解于蒸馏水中,将 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 倒入反应瓶中, Na_2SiO_3 溶液以一定速度滴下,磁力搅拌器中搅拌,在干燥箱中陈化1 d后抽滤、烘干,并在高温炉中煅烧制备出粉体。Zhao等^[10]采用新型的沉淀方法,以同种原料合成, 1400°C 煅烧保温8 h所制备出的 C_3S 粉体,凝结时间较短,抗压强度较高。与固相反应法和溶胶-凝胶法相比,在离子水平上,化学沉淀法混合更加均匀,高温下,反应活性提高,可以降低煅烧温度,减少煅烧时间。

1.4 溶胶-凝胶法

Sol-gel法是按一定物质的量配比,以TEOS和 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 为原料,TEOS在 HNO_3 中磁力搅拌器搅拌水解1 h,加入无水乙醇溶剂搅拌相同时间,最后加入原料 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 混合搅拌,得到的溶胶在干燥箱中陈化干燥,干凝胶高温煅烧制得硅酸钙粉体^[4]。Zhang课题组^[5]目前通过此法合成硅酸钙系生物活性水泥粉体,并且在水化过程中通入二氧化碳气体,减少硅酸钙系生物活性骨水泥水化产物 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 的负面影响。已知研究,Sol-gel法体系中组分扩散在纳米级范围内,在合成三元氧化物和四元氧化物硅酸盐粉体方面,能够使得分子

均匀混合与掺杂^[11],这将会直接影响到凝结时间和抗压强度等性能因素,溶胶-凝胶法优于其他方法。另外,溶胶-凝胶法的煅烧温度远低于固相反应法。

2 生物学性及对应机理

2.1 Si在骨再生和骨修复中的作用

在结蹄组织中,含硅生物水泥中的Si作为交联剂可以直接和骨骼、肌肉结合并促进I型胶原蛋白的合成和成骨细胞的分化,从而促进受伤部位的骨修复。在骨骼和软骨中,Si可以给磷灰石生长提供稳定的条件,成骨细胞在可溶性硅的存在下会繁殖得更快。Si的缺失会导致骨质疏松和减少,从而抑制成骨细胞增殖和造成手术中的骨质磨损和开裂。最近研究表明,饮食中人体内Si的消耗量与骨骼健康有关,特别是与皮骨质密度呈正相关^[12]。

2.2 磷灰石矿化行为

硅酸盐表面形成磷灰石的机理和45S5生物玻璃的是类似的。生物活性水泥植入人体内,在材料与宿主骨交界面发生一系列生物化学反应,并在交接处形成类骨磷灰石从而促进骨再生。硅酸盐生物材料磷灰石形成包括几个步骤:硅酸钙生物活性水泥先溶出 Ca^{2+} , Ca^{2+} 与SBF中的 H^+ 进行离子交换,从而导致表面形成二氧化硅水合层,为磷酸成核提供有利的结点^[13]。从体液中吸收 Ca^{2+} 和 PO_4^{3-} ,在水泥表面形成无定形Ca-P沉积层^[14],随着植入时间延长,Ca-P(磷灰石)层生长成晶体相,最后产生基质促进新骨组织的形成。常用方法是研究它们在SBF中磷灰石层的形成能力来衡量生物活性水泥的体外生物活性。有研究发现, Ca^{2+} 含量最高的硅酸盐生物陶瓷在SBF中拥有更好的磷灰石矿化能力。但是若掺杂Mg、Zn和Zr等金属离子,其矿化能力则会明显降低。

2.3 干细胞和材料之间的相互作用

细胞/材料间相互作用的第一步是黏附并扩散,进而影响到细胞增殖分化的能力。研究表明,大部分的硅酸盐生物材料都可促进骨细胞、骨髓基质细胞(BMSCs)和牙周韧带细胞(PDLCs)的附着^[15]。影响细胞附着的主要因素是化学组成,而化学组成直接决定表面降解速率,适当或缓慢的降解速率可以促进细胞附着。此外,硅酸钙生物水泥会释放Si离子,从而提高骨细胞的增殖和干细胞的分化。特定浓度的Si可以显著提高细胞增殖并促进成骨细胞的分化,使得生物活性大大提高。

3 临床应用研究进展

3.1 牙根填充材料

HCSCs 填充于牙根空腔处可以做到高效且持久的密封,相比于银汞合金、树脂等材料,HCSCs 有着更好的生物相容性。D' Antò 等^[16] 研究表明 HCSCs 能支持组织修复和再生,HCSCs 用于修复的成功率很高且其修复率高于其他树脂充填材料。Chong 等完成了第一例临床实验,HCSCs 的修复率远高于一般树脂材料的修复率 76.6%^[17]。现如今,银汞合金产生了诸多问题,如汞污染、黏膜染色等等,因而 HCSCs 有望替代传统的牙根填充材料。近年来,Saunder^[18] 将 HCSCs 与显微外科技术相结合,这种应用可以有效提高临床手术的成功率。

3.2 根管密封剂

根管密封剂是指在充填过程中将新混合好的根管封闭剂在根尖区挤出,并与牙胶一起在根管原位处固化。许多传统树脂密封剂具有细胞毒性,而新型树脂封闭剂也未能解决这一问题,仍具有很高的风险性。就此,Gandolfi 等^[19] 提出创新性的建议,使用定制的硅酸钙生物活性水泥作为根管密封剂。Bryan 等^[20] 在体外成骨细胞系上实验,将 HCSC (液态硅酸钙水泥) 与 AH Plus (根管填充材料) 和根管密封剂进行比较,总结出 HCSC 更具有生物相容性。硅酸钙水泥可在潮湿条件下固化并诱导骨骼的形成,并且通过对细胞行为的调节,HCSCs 能提供更适合于牙周膜成纤维细胞黏附及生长的环境^[21]。考虑到 HCSCs 的细胞毒性很低,一些商用硅酸钙根管封闭剂已经被制造商推广且用于体外研究的测试中。目前已有相关 HCSCs 材料由于其良好的操作、流动性等优点而被开发用于根管密封剂。

3.3 根穿孔修补材料

穿孔是由于复杂的食管结构和不专业的器械操作造成的,并且还会涉及到髓腔底部。而一些被推崇的传统材料(如银汞合金)不具备成骨、体外诱导和抗菌性能,并且无法保证良好的密封性,因而无法达到理想的髓腔根管穿孔修复的要求。目前很多案例报告都对硅酸钙用于根穿孔修复进行了描述。Hakki 等^[21] 认为相比其他树脂基材料,HCSCs 能为牙周膜成纤维细胞的黏附和生长提供更加合适的环境。另外 Holland 等^[22] 在对狗的牙齿根冠层面穿孔修复的研究中发现,使用 HCSCs 修复比用氢氧化钙有着更好的组织学形态。很多案例报告都对硅酸钙用于根穿孔修复有所描述。所以当出现穿孔时,

HCSCs 的出现提供了更多的材料选择。在未来的研究中必然要测试新一代的 HCSCs。

3.4 盖髓治疗

盖髓治疗是指髓质暴露修复以维持牙髓的活性和功能并诱导新牙本质桥产生或牙本质组织的形成来保护牙髓复合体。50 多年来,氢氧化钙 ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) 和氧化钙 (CaO) 基材料已直接或间接地用来作为盖髓术的治疗剂,这种材料通过释放 Ca^{2+} 来提高局部的 pH。HCSCs 能诱导新的动物硬牙本质和促使成年人第三磨牙的露髓的形成^[22]。Danesh 等^[23] 发现,硅酸盐水泥可以诱导健康牙髓组织的修复和硬矿化组织桥的完整形成。近期,Tera-Cala 在一种新型光固化材料中加入了嵌入甲基丙烯酸甲酯树脂的硅酸盐水泥,基于其释放 Ca^{2+} 和在光固化单元中暴露后可在几秒内固化的能力^[24],目前这种光固化材料已经被推广用于盖髓材料。

Ca^{2+} 的释放在盖髓治疗中起着非常重要的作用,所以诱导牙髓细胞基因表达和促进矿化组织形成(如新的牙本质桥)的主要标志是纳米磷灰石的成核^[22]。HCSCs 促进了对 OCN (骨钙蛋白)、ALP (载脂蛋白) 和 VEGF (血管内皮生长因子) 等基因表达^[6]。

模拟体液(即牙髓浆液)会通过牙髓干细胞及其他矿化细胞^[23] 刺激迁移和矿物沉积,HCSCs 一旦与模拟体液接触,则 Ca^{2+} 的扩散程度提高,含磷酸根的生物流体由于硅酸钙浸出的 SiO_4^{4-} 与 Ca^{2+} 达到饱和,浸出的 OH^- 引发材料表面磷酸钙的沉淀(磷灰石)。此外,磷灰石材料在牙本质-牙髓复合体修复上已被证实具有生物活性。可以认为,新的牙本质桥(或牙本质样组织或骨样组织)的形成和牙髓干细胞的基因表达受材料表面钙的连续释放和磷灰石的不断形成的影响。

HCSCs 存在的细胞毒性的风险都可忽略不计,且能够适合于临床应用^[25]。因此,综上所述,许多体外研究都能支持 HCSCs 的使用并将其作为盖髓剂的选择。临床研究显示了 HCSC 用于含氢氧化钙人类牙髓的优越性。

3.5 牙质过敏

硅酸盐生物活性水泥可以在潮湿条件下固化,并且可以很稳定地在牙本质小管形成阻塞,因此可以用来封闭牙本质小管和降低牙本质通透性。新型人工管内和管间的硅酸钙和磷酸钙沉淀很稳定,几乎不溶解且不易被唾液或酸性饮料除去^[6,26]。因此虽然目前 HCSCs 用于牙本质过敏治疗仍处于研究阶

段,但应用前景广大。

4 总结及展望

硅酸钙基生物活性水泥在未来的牙科保健以及药物输送领域将发挥重要作用,这些人工合成生物材料的力学和物理性能得到了临床工作者的广泛认可,但是仍需要更多更准确的随机对照试验或其他大型临床试验来支持。少数动物和人体的体内研究给硅酸钙系生物活性水泥的生物学功能带来了不确定性,比如它们在体外的骨形成能力还没有完全被证实。总之,HCSC定义了一种新型的牙本质矿化、活髓及骨再生和修复的治疗方法。这种水泥适于无数次修改和改进,所以将来的HCSCs基材料有望在提高日常临床实践中发挥一定的革新作用,新型再生“牙科”将因为硅酸钙基材料的不断发展而被重新定义。

参考文献

- [1] Hench L L. Genetic design of bioactive glass[J]. *Eur Ceram Soc*, 2009,29(7):1257-1265.
- [2] Low K L, Tan S H, Zein S H S, et al. Calcium phosphate-based composites as injectable bone substitute materials[J]. *Biomed Mater Res B*, 2010,94B(1):273-286.
- [3] Liu W J, Zhai D, Huan Z G, et al. Novel tricalcium silicate/magnesium phosphate composite bone cement having high compressive strength, in vitro bioactivity and cytocompatibility[J]. *Acta Biomater*, 2015,21:217-227.
- [4] Pan Y, Zuo K H, Yao D X, et al. The improved mechanical properties of β -CaSiO₃ bioceramics with Si₃N₄ addition[J]. *Mech Behav Biomed Mater*, 2016,55:120-126.
- [5] Wang F, Xu Z Z, Zhang Y, et al. Green synthesis and bioactivity of vaterite-doped beta-dicalcium silicate bone cement[J]. *Ceram Int*, 2016,42(1):1856-1861.
- [6] Wang D G, Zhang Y, Hong Z R. Novel fast-setting chitosan/beta-dicalcium silicate bone cements with high compressive strength and bioactivity[J]. *Ceram Int*, 2014,40(7):9799-9808.
- [7] Zhang Y, Wang D G, Wang F, et al. Modification of dicalcium silicate bone cement biomaterials by using carboxymethyl cellulose[J]. *Non-Cryst Solids*, 2015,426:164-168.
- [8] 林青,李延报,兰祥辉,等. CaF₂对硅酸三钙的制备及其生物活性的影响[J]. *无机化学学报*, 2008,(12):1937-1942.
- [9] Ho C C, Wei C K, Lin S Y, et al. Calcium silicate cements prepared by hydrothermal synthesis for bone repair[J]. *Ceram Int*, 2016,42(7):9183-9189.
- [10] Zhao W Y, Chang J. Two-step precipitation preparation and self-setting properties of tricalcium silicate[J]. *Mater Sci Eng*, 2008,28(2):289-293.
- [11] 吴铁成,常江. 硅酸盐生物活性陶瓷用于骨组织修复及再生的研究[J]. *无机材料学报*, 2013,(1):29-39.
- [12] Macdonald H M, Hardcastle A C, Jugdaohsingh R, et al. Dietary silicon interacts with oestrogen to influence bone health; Evidence from the aberdeen prospective osteoporosis screening study[J]. *Bone*, 2012,50(3):681-687.
- [13] Wu C, Chang J, Wang J, et al. Preparation and characteristics of a calcium magnesium silicate (bredigite) bioactive ceramic[J]. *Biomaterials*, 2005,26(16):2925-2931.
- [14] 唐佩福,郝立波,毛克亚,等. 羟基磷灰石骨水泥中碳酸根存在的意义及其对溶解度的影响[J]. *生物医学工程与临床*, 2005,(5):267-270.
- [15] Han P P, Wu C T, Xiao Y. The effect of silicate ions on proliferation, osteogenic differentiation and cell signalling pathways (WNT and SHH) of bone marrow stromal cells[J]. *Biomater Sci*, 2013,1(4):379-392.
- [16] D'Antò V, Di Caprio M P, Ametrano G L, et al. Effect of mineral trioxide aggregate on mesenchymal stem cells[J]. *Endod*, 2010,36(11):1839-1843.
- [17] Von Arx T, Hänni S, Jensen S S. 5-years comparing mineral trioxide aggregate and adhesive resin composite for root-end sealing in apical surgery[J]. *Endod*, 2014,40(8):1077-1081.
- [18] Saunders W P. A prospective clinical study of periradicular surgery using mineral trioxide aggregate as a root-endfilling[J]. *Endod*, 2008,34(6):660-665.
- [19] Gandolfi M G, Taddei P, Siboni F, et al. Fluoride-containing nanoporous calcium-silicate MTAcements for endodontics and oral surgery: Early fluorapatite formation in a phosphate-containing solution[J]. *Int Endod*, 2011,44(10):938-949.
- [20] Bryan T E, Khechen K, Brackett M G, et al. In vitro osteogenic potential of an experimental silicate-based root canal sealer[J]. *Endod*, 2010,36(7):1163-1169.
- [21] Hakki S S, Bozkurt S B, Ozcopur B, et al. Periodontal ligament fibroblast response to root perforations restored with different materials-alaboratory study[J]. *Int Endod*, 2012,45(3):240-248.
- [22] Holland R, Ferreira L B, de Souza V, et al. Reaction of the lateral periodontium of dog's teeth contaminated and noncontaminated perforations filled with mineral trioxide aggregate[J]. *Endod*, 2007,33(10):1192-1197.
- [23] Danesh Damanaske T, Stratmann U, Wolff P, et al. Direct pulp capping with mineral trioxide aggregate: An immunohistological comparison with calcium hydroxide in rodents[J]. *Endod*, 2010,36(5):814-819.
- [24] Gandolfi M G, Siboni F, Botero T, et al. Calcium silicate and calcium hydroxide materials for pulp capping: Biointeractivity, porosity, solubility and bioactivity of current formulations[J]. *Appl Biomater Funct Mater*, 2015,13(1):43-60.
- [25] Eid A A, Hussein K A, Niu L, et al. Effects of tricalcium silicate cements on osteogenic differentiation of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells in vitro[J]. *Acta Biomater*, 2014,10(7):3327-3334.
- [26] Porter M L, Bertò A, Primus C M, et al. Physical and chemical properties of new-generation endodontic materials[J]. *Endod*, 2010,36(3):524-528. ■