无机纳米材料在骨代谢调控中的应用

王秋祥^{1,†}, 刘奕辛^{1,†}, 葛昆², 张金超², 周国强^{1,2,*}

¹河北大学基础医学院, 河北 保定 071000

²河北大学化学与环境科学学院, 河北 保定 071002

摘要: 与有机和高分子纳米材料相比, 无机纳米材料具有化学性质稳定、力学性能优良、生物相容性和骨诱导性良好等优势, 是用于骨代谢调控的主要材料。文章分别从细胞、分子及动物水平总结了羟基磷灰石、稀土纳米材料、金纳米颗粒、碳纳米管等无机纳米材料在骨代谢调控中的作用及其机制, 并对无机纳米材料在骨代谢调控中面临的挑战进行了展望。

关键词: 羟基磷灰石; 稀土纳米材料; 金纳米颗粒; 碳纳米管; 骨代谢

中图分类号: G64; O6

Inorganic Nanomaterials for Bone Metabolism Regulation

Qiuxiang Wang^{1,†}, Yixin Liu^{1,†}, Kun Ge², Jinchao Zhang², Guoqiang Zhou^{1,2,*}

¹ School of Basic Medical Sciences, Hebei University, Baoding 071000, Hebei Province, China.

² College of Chemistry and Environmental Science, Hebei University, Baoding 071002, Hebei Province, China.

Abstract: Compared with organic and polymeric nanomaterials, inorganic nanomaterials have the advantages of stable chemical properties, good mechanical properties, excellent biocompatibility, and osteoinductive properties. Inorganic nanomaterials are commonly used as the main material in the regulation of bone metabolism. Herein, the roles and mechanisms of inorganic nanomaterials (such as hydroxyapatite, rare earth nanomaterials, gold nanoparticles, and carbon nanotubes) in the regulation of bone metabolism on the cellular, molecular, and animal levels are summarized. The challenges faced during the application of inorganic nanomaterials toward the regulation of bone metabolism are also presented.

Key Words: Hydroxyapatite; Rare earth nanomaterials; Gold nanoparticles; Carbon nanotubes; Bone metabolism

骨作为一种分层结构的复合材料, 在脊椎动物中发挥着重要的结构和生理功能。骨骼为关节、肌腱和韧带提供机械支撑, 保护重要器官免受损伤, 并作为钙和磷酸盐的储备库发挥着重要的代谢作用^[1]。由于事故、疾病和衰老等原因, 骨骼很容易受到损害。受损的骨组织具有自我修复和再生的潜力, 但这种能力是有限的, 如严重骨折、关节痛、骨质疏松、肿瘤、感染等高冲击创伤或临界尺寸的骨缺损超出了自我愈合能力, 需要手术干预和使用人工骨填充剂来进行治疗^[2,3]。目前, 骨修复的临床治疗方法包括自体移植、异体移植和异种移植, 这三种方法都具有各自的局限性, 自体移植来源受限, 手术时间长且容易患创伤并发症; 异体移植面临免疫排斥, 感染的风险; 异种移植存在

收稿: 2021-11-01; 录用: 2021-11-29; 网络发表: 2021-12-30

[†]共同第一作者, 对本工作有同等贡献

*通讯作者, Email: zhougq1982@163.com

基金资助: 河北省自然科学基金(B2021201045, B2020201020); 河北省研究生示范课程建设项目(KCJSX2020004)

吸收率低, 塑性差的缺点^[4,5]。随着纳米科学、材料学、细胞生物学、组织工程与再生医学的发展和进步, 纳米材料和仿生材料已经成为骨修复材料的主要发展趋势。近年来, 用于骨组织修复的主要有无机材料、高分子聚合物、纳米仿生骨等。其中, 无机纳米材料因其具有易加工、良好的力学性能、在体内能保持稳定数周等优点使其具有广阔的应用前景。纳米羟基磷灰石、稀土纳米颗粒、金纳米颗粒和碳纳米管是目前在骨代谢调控领域研究较多的几种无机纳米材料, 这几种材料可以通过可控的力学性能、孔径、孔隙度和良好的生物相容性来模拟天然骨中的羟基磷灰石结构, 制备出与天然骨成分、结构和性能类似的新型骨修复材料^[6-9]。文章详细介绍了纳米羟基磷灰石、稀土纳米颗粒、金纳米颗粒和碳纳米管的性质及对骨代谢的调控机制, 为无机纳米材料在骨组织工程的应用研究提供了理论基础。

1 纳米羟基磷灰石在骨代谢中的应用

纳米羟基磷灰石, 简称nHAP, 分子结构为 $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, 天然的纳米羟基磷灰石为六方晶体结构, 其中Ca:P的化学计量比通常为1.67。nHAP因其组成与体内骨矿物物质相似, 生物相容性好, 无毒副作用被广泛应用于骨修复, 参与成骨作用和骨微环境的调控^[6,10]。

1.1 骨细胞调控

骨发育是通过多种事件同步作用形成机体支架, 骨及周围微环境的修复潜力贯穿整个成年期, 可以维持骨代谢稳态。羟基磷灰石可以通过调控间充质干细胞、成骨细胞和破骨细胞等的分化来调控骨微环境。间充质干细胞是一种多功能的分化细胞, 间充质干细胞向成骨方向分化的同时会降低成脂分化的比例。可以通过加入地塞米松、磷酸甘油和维生素C或骨形成蛋白的方法来诱导间充质干细胞向成骨细胞分化。间充质干细胞的成骨分化表现为碱性磷酸酶(ALP)的表达、细胞内矿质沉积和COL1、OCN、OPN等基因的表达。Remya等^[11]将纳米羟基磷灰石与骨髓间充质干细胞共培养, 发现当颗粒浓度为 $20 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时, nHAP颗粒能显著促进细胞的增殖, 但高浓度的nHAP会导致细胞形态变得不规则。纳米羟基磷灰石的长径比越大对骨髓间充质干细胞的增殖及分化能力促进作用越强, 长径比较小的nHAP对细胞的增殖、分化及矿化能力的抑制作用较强^[12]。

成骨细胞由间充质干细胞分化而来, 可促进骨形成, 成骨分化的标志物为ALP, ALP含量越高, 促进骨形成作用越明显。破骨细胞可促进骨吸收, 破骨分化标志物为抗酒石酸酸性磷酸酶(TRAP)和组织蛋白酶(CTSK), TRAP和CTSK的含量越高, 骨基质的吸收能力越强, 保持成骨细胞和破骨细胞含量的相对稳定是维持骨代谢稳态的关键。骨缺损时成骨细胞相对含量降低, 破骨细胞含量相对升高。纳米羟基磷灰石可显著提高成骨细胞的增殖、黏附、分化和矿化能力。研究表明 20 nm 的羟基磷灰石骨修复效果最好, 最适浓度为 $20 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 浓度高于 $20 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 后纳米羟基磷灰石开始抑制成骨细胞增殖并引起细胞凋亡^[13,14]。表面光滑的羟基磷灰石比粗糙的羟基磷灰石更有利于促进成骨细胞的增殖, 与天然羟基磷灰石钙磷比接近的仿生磷灰石, 更易诱导成骨细胞的增殖、黏附和分化^[15,16]。温波等^[17]将破骨细胞与纳米羟基磷灰石和微米羟基磷灰石共培养检测骨陷窝形成的数量及TRAP的含量, 结果发现纳米级的材料骨吸收能力更强, 与对照组相比骨陷窝的数量和TRAP的含量显著降低。

骨微环境的调控除调控成骨细胞和破骨细胞的平衡之外还需要调控内皮细胞、雪旺细胞、炎症因子和生长因子之间的相互作用。内皮细胞参与血管形成, 为骨修复提供代谢所需营养素、可再生自体细胞和各种生长因子等物质, 理想的骨替代物应具有调控内皮细胞的功能。Shi等^[18]以人脐带血内皮细胞为模型探讨了羟基磷灰石纳米颗粒对内皮细胞功能的影响和潜在机制, 结果发现羟基磷灰石纳米颗粒以剂量依赖性的方式显著抑制了内皮细胞的迁移能力和血管生成能力。雪旺细胞是神经系统中的神经胶质细胞, 可分泌神经营养因子, 促进受损神经元及其轴突的再生, 参与周围神经系统纤维的形成。孟帅岑^[19]发现含有羟基磷灰石涂层的钛骨表面能够显著促进雪旺细胞的增殖和粘附。此外骨微环境的调控涉及表观遗传的调控, 如组蛋白乙酰化和染色质重塑的改变, 体内分泌的生长因子和各种炎症因子可以参与骨代谢的调控并刺激细胞释放相关基因^[20]。

1.2 骨矿物相影响

羟基磷灰石调控成骨作用的关键信号通路有cAMP/PKA、ERK1/2、JNK/c-Jun、PI3K-AKT等信号通路。本课题组^[21]研究了缺陷发光羟基磷灰石通过三磷酸腺苷(ATP)诱导的cAMP/PKA通路增强间充质干细胞的成骨分化能力。研究表明,缺陷发光羟基磷灰石可被具有酸性环境的溶酶体吸收,释放出的 PO_4^{3-} 与ADP作用形成ATP,进一步降解的腺苷与A2b腺苷受体相互作用激活cAMP/PKA通路,高表达成骨相关基因Runx2、BMP-2、OCN,进而促进骨愈合(图1)。棒状羟基磷灰石可激活Fgf受体信号和磷酸盐转运体共同作用于FRS进而促进ERK1/2的磷酸化,促进OPN、Ostn成骨基因的表达^[22]。Liu等^[23]发现纳米羟基磷灰石作用小鼠的血管平滑肌细胞后,平滑肌细胞中的JNK/c-Jun磷酸化水平增高,添加JNK抑制剂可显著抑制小鼠管壁的钙沉积、平滑肌细胞的成骨转化和凋亡。Shi等^[13]发现羟基磷灰石纳米颗粒降低了人脐带血内皮细胞中一氧化氮的生成,当人脐带血内皮细胞与羟基磷灰石培养24 h后, Akt和eNOS的磷酸化以剂量依赖性的方式减少,添加PI3K激活因子IGF-1可以有效恢复一氧化氮产生和促进细胞活力上升。

图1 nHA通过cAMP/PKA信号通路促进BMSCs成骨分化的示意图^[21]

骨肉瘤是一种多发于青少年的常见恶性肿瘤,患者临床表现包括间歇性疼痛、跛行、体重下降、器官衰竭等症状。羟基磷灰石可促进钙化,提升碱性磷酸酶等蛋白的水平,有效促进骨愈合,治疗骨肉瘤所引起的溶骨性疾病等并发症。Zhu等^[24]发现植入羟基磷灰石的动物相比不添加任何材料的动物,伤口明显缩小,能够形成新的骨基质,骨修复能力显著增强。Lambert等^[25]将三种形貌的羟基磷灰石植入家兔鼻窦提升模型,植入1、5和12周后采用非脱钙切片进行组织学和组织形态测量,发现三种不同形貌的羟基磷灰石均会刺激骨再生,但天然羟基磷灰石较人工合成的羟基磷灰石有更好的骨-材料接触面,具有更好的成骨效果。Wang等^[26]构建矢状缝模型评估羟基磷灰石对矢状缝线的缝间隙面积、骨体积分数和骨密度机械性能及矢状缝骨形成的影响。结果发现体外浓度为 $25\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 羟基磷灰石在诱导成骨细胞相关基因和蛋白表达明显高于其他组,缝线间隙面积减小,矢状缝线的骨体积分数、骨密度、硬度和弹性模量显著增加。

2 稀土纳米颗粒在骨代谢中的应用

稀土元素主要由镧系元素和钇、铥组成,离子半径与钙离子的半径相似,与钙有较强竞争配位作用,更易结合电子形成比钙稳定的化合物,可调控生命体内钙磷代谢以及锌的含量,常被应用于调控骨代谢。稀土纳米颗粒具有较好的促进组织再生能力,可以通过调控成骨细胞、破骨细胞以及间充质干细胞的分化和矿化来实现骨组织再生。

2.1 骨细胞调控

稀土纳米颗粒因其与钙的强竞争配位作用能形成比羟基磷灰石更稳定的化合物,常用来调控骨代谢,维持骨代谢的平衡,修复骨缺损。近年来稀土纳米颗粒对骨髓基质细胞、成骨细胞和破骨细胞的调控研究较多。Yuan等^[7]研究了纳米氧化铈(CeO_2)对骨髓源巨噬细胞破骨分化的影响,发现低浓度 CeO_2 纳米颗粒促进破骨细胞形成,而在浓度较高时, CeO_2 纳米颗粒通过降低Bcl2的表达,增加caspase-3的表达,通过调节细胞内ROS水平诱导骨髓源巨噬细胞凋亡来抑制破骨细胞生成。本课题组研究发现纳米 CeO_2 能够保护骨髓基质细胞、成骨细胞及内皮细胞免受氧化损伤。而且能够促进间充质干细胞成骨分化,抑制其成脂分化,进而起到防治骨质疏松症的作用^[27,28]。纳米氧化钇(Y_2O_3)可导致成骨细胞内活性氧水平升高,乳酸脱氢酶活性和线粒体膜电位降低,caspase-3的活性升高,诱导细胞凋亡。 Y_2O_3 纳米颗粒的细胞毒性呈剂量和尺寸依赖性,小尺寸的 Y_2O_3 纳米颗粒比大尺寸的 Y_2O_3 具有更大的细胞毒性^[29]。低浓度的氢氧化镧($\text{La}(\text{OH})_3$)纳米棒促进了骨髓间充质干细胞的成骨分化,其中细胞量最高的短 $\text{La}(\text{OH})_3$ 纳米棒表现出最高的促进效果。 $\text{La}(\text{OH})_3$ 纳米棒定位于骨髓间充质干细胞的溶酶体上,在溶酶体模拟液中降解释放 La^{3+} ,推测释放的 La^{3+} 与溶酶体中的 PO_4^{3-} 或膜上磷脂结合,干扰细胞内钙磷平衡,影响骨髓间充质干细胞的成骨分化^[30]。

2.2 骨矿物相影响

骨质疏松是一种代谢性疾病,多发于老年人和绝经期妇女,其特点是骨质变脆,骨密度降低。骨质疏松症患者会出现过度生成破骨细胞和成骨受损的症状。本课题组通过多种给药方式评价了纳米氧化钆(Gd_2O_3)的急性及慢性毒性。结果发现腹腔注射 Gd_2O_3 颗粒时,低剂量无明显毒性,高剂量有一定的肝、肾及心肌的损伤。滴鼻时,高剂量引起了海马损伤,导致大鼠学习记忆功能的减退,而灌胃无任何毒性反应。灌胃时, Gd_2O_3 颗粒引起小鼠骨密度增大,最大载荷增大,骨小梁变粗,骨沉积线明显,类骨质丰富。并能够促进成骨细胞增殖和矿化结节的形成,促进成骨相关基因BMP-2,Runx-2和OCN的表达^[31-33]。Chu等^[34]构建卵巢切除的大鼠骨髓基质细胞和骨髓源的巨噬细胞模型,研究了镧取代层状氢氧化物纳米支架(La-LDH)的成骨和抗破骨细胞活性。结果发现支架中的 La^{3+} 通过激活Wnt/ β -catenin途径促进大鼠骨髓基质细胞的增殖和成骨分化,从而导致ALP、Runx-2、COL-1和OCN基因的高表达。此外,La-LDH支架通过抑制NF- κ B信号通路抑制破骨细胞的生成。与不掺杂 La^{3+} 的支架相比,La-LDH支架提供了更有利诱导新骨生长的微环境。

3 金纳米颗粒在骨代谢中的应用

3.1 骨细胞调控

金属纳米粒子(AuNPs)因易于控制的纳米级尺寸、容易制备、高比表面积、易于功能化、优异的生物相容性等特点在骨组织工程与再生医学领域引起了广泛关注^[8]。金纳米颗粒的尺寸一般在1–100 nm之间,粒径不同呈现的颜色也不同。它对骨相关细胞如成骨细胞、破骨细胞、间充质干细胞等具有重要的调节作用。本课题组^[35]研究表明不同粒径的金纳米颗粒均能促进MC3T3-E1细胞的增殖、分化和矿化功能,呈现出了时间和剂量依赖关系。但20 nm的AuNPs对MC3T3-E1细胞的增殖分化的影响要高于40 nm的AuNPs。Li等^[36]合成了牛血清白蛋白包覆的Au纳米球、Au纳米星和Au纳米棒,尺寸分别为40、70和110 nm,并研究了它们对人间充质干细胞成骨分化的影响。发现AuNPs的大小和形状会影响人间充质干细胞的成骨分化,球体-40、球体-70和棒状体-70显著提高细胞碱性磷酸酶活性和钙沉积,而棒状体-40降低碱性磷酸酶活性和钙沉积。AuNPs的大小和形状是通过调节Yes相关蛋白(YAP)的激活来影响骨髓间充质干细胞的成骨分化。另一项研究发现,不同大小Au NPs均促进人脂肪干细胞向成骨细胞分化,其中30 nm和50 nm的AuNPs表现出最高的成骨分化率^[37]。AuNPs除对成骨细胞、破骨细胞、间充质干细胞有一定的影响外,对人牙周膜祖细胞有一定的影响。Zhang等^[38]评估了不同粒径的AuNP对人牙周膜祖细胞成骨分化的影响,发现5 nm AuNPs降低碱性磷酸酶活性、矿化结节形成和成骨基因表达,而13 nm和45 nm AuNPs促进这些成骨标记物的表达进而促进成骨分

化。AuNPs可以抑制核因子受体激活因子- κ B配体(RANKL)诱导骨髓来源巨噬细胞形成破骨细胞,同时减少RANKL响应产生的活性氧,并上调了RANKL诱导的谷胱甘肽过氧化物酶-1的表达,表明对破骨细胞形成的抑制作用可能是由于提高了对氧化应激的防御^[39]。

3.2 骨矿物相影响

本课题组^[40]发现AuNPs可以显著促进成骨细胞的增殖,成骨相关基因BMP-2、Runx-2、OCN和Col-1的表达会随着ALP活性、骨结节和钙含量的增加而增强,其机制与激活ERK/mapk通路有关。AuNPs浓度越高,促进骨髓间充质干细胞成骨分化的能力越强。随着ALP活性和细胞外基质矿化的增加,AuNPs促进骨髓间充质干细胞向成骨细胞方向分化而非向脂肪细胞方向分化。AuNPs促使Runx2、BMP-2、OCN、ALP等成骨分化相关基因表达上调,促使PPAR γ 2、E/CBP α 、E/CBP β 、E/CBP δ 成脂分化相关基因表达下调,其分子机制与激活p38 MAPK信号通路有关(图2)。Bai等^[41]建立脂多糖诱导的骨侵蚀小鼠模型研究了AuNPs对骨吸收的治疗作用,发现AuNPs通过调节破骨细胞酸分泌来抑制过度的骨吸收,其中血清中I型胶原交联羧基端肽下降,抗酒石酸酸性磷酸酶和组织蛋白酶K下降至正常水平,从而显著减少骨侵蚀,进而达到修复骨缺损的作用。Zhang等^[42]通过在免疫缺陷小鼠皮下植入AuNPs后,发现有更多的骨结构和胶原形成,表明AuNPs可通过上调骨相关蛋白表达和矿化,促进成骨分化。

图2 金纳米颗粒调控骨髓间充质干细胞成骨分化的分子机制^[40]

4 碳纳米管在骨代谢中的应用

碳纳米管(CNT)的密度远低于其他金属骨支架材料,包括钢和钛。然而,碳纳米管是地球上最强的材料,将其植入骨中可以改善受损骨组织的力学性能。碳纳米管不仅可以用来刺激骨再生,还可以起到永久性的机械作用。碳纳米管还具有优异的柔韧性和弹性,碳纳米管基材料及其复合材料在骨组织工程与再生医学领域具备巨大的应用潜力^[9]。

4.1 骨细胞调控

CNT能够维持成骨细胞生长和促进骨形成,并能调节细胞表型。Usui等^[43]研究表明邻近骨的CNT很少引起局部炎症反应,显示出良好的骨组织相容性,易于整合到新骨中并加速重组人骨形态发生蛋白-2刺激的骨形成。本课题组^[44]发现CNT在体外短期和长期骨结合过程中抑制了骨髓间充质干细胞的增殖、成骨分化、成脂分化和矿化,氧化应激实验结果表明产生的活性氧与观察到的细胞毒性无关,在骨髓间充质干细胞分化过程中,成骨和成脂特异性基因表达明显减弱。Baik等^[45]通过氧等离子体对单壁碳纳米管进行表面处理后,增强了骨髓间充质干细胞的粘附、增殖甚至成骨分化。Tay

等^[46]报道了单壁碳纳米管薄膜对培养2周的骨髓间充质干细胞的相互作用、细胞行为和基因表达的影响。结果发现,单壁碳纳米管膜具有高度的生物相容性,为更好的细胞粘附提供了良好的平台,其纳米粗糙度促进了丝状伪足的形成。在没有诱导培养基的情况下,单壁碳纳米管通过增加粗糙度可以有效地改善人骨髓间充质干细胞的粘附能力和早期分化,调节细胞内成骨分化基因的表达,而促进成骨分化。Sa等^[47]研究表明透明质酸钠功能化的单壁碳纳米管可以促进I型和III型胶原、骨钙素和骨形态发生蛋白表达升高,进而增加了矿化结节的沉积而促进骨矿化。

4.2 骨矿物相影响

本课题组^[44]发现骨髓间充质干细胞增殖和成骨分化被抑制与Smad依赖的BMP信号通路有关。Du等^[48]表明多壁碳纳米管能促进人脂肪间充质干细胞增殖,其机制与多壁碳纳米管能通过浓缩更多的蛋白质(包括特异性骨诱导蛋白)激活Notch相关的信号通路有关。Tanaka等^[49]将碳纳米管植入小鼠颅骨缺损处,碳纳米管明显吸附蛋白质并缓慢释放,种植在碳纳米管上的成骨细胞充满了伸展的肌动蛋白细丝和丝状足孔,碳纳米管表现出良好的骨传导能力、细胞粘附和增殖能力以及生长因子保留能力。研究利用多壁碳纳米管构建具有最大机械强度的三维块体,评估其作为骨修复支架材料的有效性。将含人骨形态发生蛋白-2的多壁碳纳米管块植入小鼠背部肌肉后,小鼠肌肉与多壁碳纳米管块直接接触形成异位骨,骨髓密度与植入含人骨形态发生蛋白-2的聚对苯二甲酸乙二醇酯增强胶原蛋白片的小鼠骨髓密度相当,同时显示出与皮质骨相当的最大压缩强度^[50]。

5 结语

文章系统总结了羟基磷灰石、稀土纳米材料、金纳米颗粒、碳纳米管等几种无机纳米材料在骨代谢调控中的作用及其机制,但目前仍面临诸多挑战:(1) 相比较骨髓间充质干细胞和成骨细胞而言,无机纳米材料对破骨细胞的研究相对较少;(2) 对免疫原性的影响和内在机制需要进一步研究;(3) 与有机材料复合成结构可控的材料,也可与温敏性材料复合联合光热治疗骨肉瘤等多种疾病。单一的无机纳米材料脆性大,不宜制成各种形状的支架材料,无机纳米材料可以与壳聚糖等有机或高分子材料复合增强力学性质以及抗菌特性,从而制成理想的骨修复材料,以解决目前骨组织工程领域靠单一组分材料无法解决的一些难题。

参 考 文 献

- [1] Olszta, M. J.; Cheng, X.; Jee, S. S.; Kumar, R.; Kim, Y.-Y.; Kaufman, M. J.; Douglas, E. P.; Gower, L. B. *Mater. Sci. Eng. R. Rep.* **2007**, *58*, 77.
- [2] Cimatti, B.; Santos, M. A. D.; Brascisco, M. S.; Okano, L. T.; Barboza, W. M.; Nogueira-Barbosa, M. H.; Engel, E. E. *J. Biomed. Mater. Res. Part B* **2018**, *106*, 649.
- [3] Nauth, A.; Schemitsch, E.; Norris, B.; Nollin, Z.; Watson, J. T. *J. Orthop. Trauma* **2018**, *32* (Suppl. 3), S7.
- [4] Pariente, E.; Olmos, J. M.; Landeras, R.; Nan, D.; Gonzalez-Macias, J.; Hernandez, J. L. *J. Bone Miner. Metab.* **2017**, *35*, 114.
- [5] Ibrahim, M.; Labaki, M.; Giraudon, J.-M.; Lamonier, J.-F. *J. Hazard. Mater.* **2020**, *383*, 121.
- [6] Panda, S.; Biswas, C. K.; Paul, S. *Ceram. Int.* **2021**, *47*, 28122.
- [7] Yuan, K. J.; Mei, J. T.; Shao, D. D.; Zhou, F.; Qiao, H.; Liang, Y. K.; Li, K.; Tang, T. T. *Int. J. Nanomed.* **2020**, *15*, 6355.
- [8] Kargozar, S.; Montazerian, M.; Fiume, E.; Baino, F. *Front. Bioeng. Biotechnol.* **2019**, *7*, 161.
- [9] Eivazzadeh-Keihan, R.; Maleki, A.; de la Guardia, M.; Bani, M. S.; Chenab, K. K.; Pashazadeh-Panahi, P.; Baradaran, B.; Mokhtarzadeh, A.; Hamblin, M. R. *J. Adv. Res.* **2019**, *18*, 185.
- [10] Rafaela-Maria, K.; Catarina, C. C.; Varvara, P.; Paulo, A. Q.; Maria, C. *Nanomaterials* **2021**, *30*, 2890.
- [11] Remya, N. S.; Syama, S.; Gayathri, V.; Varma, H. K.; Mohanan, P. V. *Colloids Surf. B* **2014**, *117*, 389.
- [12] 陈玉杰. 不同长径比纳米羟基磷灰石对骨髓基质细胞成骨分化的影响[硕士学位论文]. 保定: 河北大学, 2019.
- [13] Shi, X.; Zhou, K.; Huang, F.; Zhang, J.; Wang, C. *Int. J. Nanomed.* **2018**, *13*, 1457.

- [14] Zhou, P.; Wu, J.; Xia, Y.; Yuan, Y.; Zhang, H.; Xu, S.; Lin, K. *Int. J. Nanomed.* **2018**, *13*, 4083.
- [15] Iwamoto, T.; Hieda, Y.; Kogai, Y. *Mater. Sci. Eng. C* **2016**, *69*, 1263.
- [16] Long, X.; Xu, H.; Zhang, D.; Li, J. *Polym. Chem.* **2020**, *11*, 4995.
- [17] 温波, 陈治清, 蒋引珊, 杨正文, 徐勇忠. 现代口腔医学杂志, **2005**, *19* (5), 501.
- [18] Shi, X.; Zhou, K.; Huang, F.; Wang, C. *Int. J. Nanomed.* **2017**, *12*, 5781.
- [19] 孟帅岑. “钛骨”表面纳米羟基磷灰石涂层的制备及对雪旺细胞黏附增殖的影响[硕士学位论文]. 长春: 吉林大学, 2017.
- [20] Ha, S. W.; Jang, H. L.; Nam, K. T.; Beck, G. R., Jr. *Biomaterials* **2015**, *65*, 32.
- [21] Wang, C.; Liu, D. D.; Zhang, C. M.; Sun, J.; Feng, W. P.; Liang, X. J.; Wang, S. X.; Zhang, J. C. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2016**, *8*, 11262.
- [22] Ha, S. W.; Park, J.; Habib, M. M.; Beck, G. R., Jr. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2017**, *9*, 39185.
- [23] Liu, Q.; Xiang, P.; Chen, M.; Luol, Y.; Zhao, Y.; Zhu, J.; Jing, W.; Yu, H. *Int. J. Nanomed.* **2021**, *16*, 3633.
- [24] Zhu, W. M.; Wang D. P.; Peng, L. Q.; Zhang, X. J.; Ou, Y. K.; Fen, W. Z.; Lu, W.; Han, Y.; Zeng, Y. J. *Artif. Cell Nanomed. B* **2013**, *41*, 304.
- [25] Lambert, F.; Bacevic, M.; Layrolle, P.; Schüpbach, P.; Drion, P.; Rompen, E. *Clin. Oral. Implants. Res.* **2017**, *28*, e201.
- [26] Liang, W.; Ding, P. B.; Li, G.; Lu, E. H.; Zhao, Z. M. *Drug Des. Devel. Ther.* **2021**, *15*, 3347.
- [27] Zhou, G. Q.; Gu, G. Q.; Li, Y.; Zhang, Q.; Wang, W. Y.; Wang, S. X.; Zhang, J. C. *Biol. Trace Elem. Res.* **2013**, *153*, 411.
- [28] Zhang, Q.; Ge, K.; Duan, J. L.; Chen, S. Z.; Zhang, R.; Zhang, C. M.; Wang, S. X.; Zhang, J. C. *J. Nanopart. Res.* **2014**, *16*, 2697.
- [29] Zhou, G. Q.; Li, Y. F.; Ma, Y. Y.; Liu, Z.; Cao, L. L.; Wang, D.; Liu, S. D.; Xu, W. S.; Wang, W. Y. *J. Nanopart. Res.* **2016**, *18*, 135.
- [30] Yu, L. K.; Lin, R. L.; Han, Y.; Fan, D. H.; Zhou, G. Q.; Zhang, J. C.; Jia, G.; Ge, K. *J. Nanopart. Res.* **2020**, *23*, 137.
- [31] Liu, H. F.; Zhang, C. M.; Tan, Y. L.; Wang, J. G.; Wang, K.; Zhao, Y. Y.; Jia, G.; Hou, Y. J.; Wang, S. X.; Zhang, J. C. *J. Nanopart. Res.* **2014**, *16*, 2303.
- [32] Liu, H. F.; Jia, G.; Chen, S. Z.; Ma, H. Y.; Zhao, Y. Y.; Wang, J. G.; Zhang, C. M.; Wang, S. X.; Zhang, J. C. *RSC Adv.* **2015**, *5*, 73601.
- [33] Liu, H. F.; Zhao, W. C.; Wang, X. C.; Jia, G.; Jin, Y.; Ge, K.; Ma, H. Y.; Zhang, J. C. *J. Rare Earth* **2017**, *35*, 1126.
- [34] Chu, M.; Sun, Z.; Fan, Z.; Yu, D.; Mao, Y.; Guo, Y. *Theranostics* **2021**, *11*, 6717.
- [35] Liu, D. D.; Zhang, J. C.; Yi, C. Q.; Yang, M. S. *Chin. Sci. Bull.* **2010**, *55*, 1013.
- [36] Li, J. C.; Li, J. J.; Zhang, J.; Wang, X. L.; Kawazoe, N.; Chen, G. P. *Nanoscale* **2016**, *8*, 7992.
- [37] Ko, W. K.; Heo, D. N.; Moon, H.-J.; Lee, S. J.; Bae, M. S.; Lee, J. B.; Sun, I.-C.; Jeon, H. B.; Park, H. K.; Kwon, I. K. *J. Colloid Interface Sci.* **2015**, *438*, 68.
- [38] Zhang, Y.; Kong, N.; Zhang, Y.; Yang, W.; Yan, F. *Theranostics* **2017**, *7*, 1214.
- [39] Sul, O. J.; Kim, J. C.; Kyung, T. W.; Kim, H. J.; Kim, Y. Y.; Kim, S. H.; Kim, J. S.; Choi, H. S. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2010**, *74*, 2209.
- [40] Yi, C. Q.; Liu, D. D.; Fong, C. C.; Zhang, J. C.; Yang, M. S. *ACS Nano* **2010**, *4*, 6439.
- [41] Bai, X.; Gao, Y.; Zhang, M. Y.; Chang, Y. N.; Chen, K.; Li, J.; Zhang, J.; Liang, Y.; Kong, J. L.; Wang, Y. J.; *et al.* *Nanoscale* **2020**, *12*, 3871.
- [42] Zhang, Y.; Wang, P.; Wang, Y.; Li, J.; Qiao, D.; Chen, R.; Yang, W.; Yan, F. *Int. J. Nanomed.* **2021**, *16*, 61.
- [43] Usui, Y.; Aoki, K.; Narita, N.; Murakami, N.; Nakamura, I.; Nakamura, K.; Ishigaki, N.; Yamazaki, H.; Horiuchi, H.; Kato, H.; *et al.* *Small* **2008**, *4*, 240.
- [44] Liu, D. D.; Yi, C. Q.; Zhang, D. W.; Zhang, J. C.; Yang, M. S. *ACS Nano* **2010**, *4*, 2185.
- [45] Baik, K. Y.; Park, S. Y.; Heo, K.; Lee, K. B.; Hong, S. *Small* **2011**, *7*, 741.
- [46] Tay, C. Y.; Gu, H.; Leong, W. S.; Yu, H.; Li, H. Q.; Heng, B. C.; Tantang, H.; Loo, S. C. J.; Li, L. J.; Tan, L. P. *Carbon* **2010**, *48*, 1095.
- [47] Sa, M. A.; Ribeiro, H. J.; Valverde, T. M.; Sousa, B. R.; Martins-Junior, P. A.; Mendes, R. M.; Ladeira, L. O.; Resende, R. R.; Kitten, G. T.; Ferreira, A. J. *Braz. J. Med. Biol. Res.* **2016**, *49* (2), e4888.
- [48] Du, Z.; Feng, X.; Cao, G.; She, Z.; Tan, R.; Aifantis, K. E.; Zhang, R.; Li, X. *Bioact. Mater.* **2021**, *6*, 333.
- [49] Tanaka, M.; Sato, Y.; Zhang, M.; Haniu, H.; Okamoto, M.; Aoki, K.; Takizawa, T.; Yoshida, K.; Sobajima, A.; Kamanaka, T. *Nanomaterials* **2017**, *7*, 46.
- [50] Tanaka, M.; Sato, Y.; Haniu, H.; Nomura, H.; Kobayashi, S.; Takanashi, S.; Okamoto, M.; Takizawa, T.; Aoki, K.; Usui, Y. *PLoS One* **2017**, *12*, e0172601.