

STUDIES ON NEW TECHNOLOGIES FOR FABRICATING NOVEL FERROELECTRIC FILMS BY PULSED LASER DEPOSITION

Liu Zhiguo Yin Jiang

(National Laboratory of Solid State Microstructures, Nanjing University, Nanjing 210093)

Key words pulsed laser deposition (PLD), plume, induction of low biased voltage, crystallization induced by pulsed excimer laser, nonlinear optical waveguide, quasi-phase matching, piezoelectric multilayered films

·成果简介·

人骨痂和胚胎骨的结构演变研究和利用

崔福斋 冯庆玲 杜昶

(清华大学材料科学与工程学院生物材料研究室,北京 100084)

[关键词] 骨,生物矿化,生物医学材料,组织工程

长期以来,人们对于人骨的复杂分级结构及其与性能的关系已经进行了深入的研究,但是,对于骨折愈合中骨痂的结构演变和胚胎骨结构特征的了解还很有限。从宏观、微观尤其是从超微结构水平上,认识骨痂及胚胎骨中胶原基质的构建、骨矿的多晶型演变及胶原和骨矿的相互作用等特点,了解生物矿化过程中的基本规律,并在此基础上,合成仿生骨替代材料,具有重要的理论意义和应用价值。本项目研究了人长骨骨痂和人胚胎骨的分级结构,生物矿物的晶体学特征及力学性能与结构的关系,仿生合成了纳米相羟基磷灰石/胶原复合的新型骨替代材料。主要研究结果如下:

1 揭示人长骨骨痂微结构的演变,确定早期骨痂中 DCPD 相的分布

目前有关骨折愈合的研究大多数来自于对小动物,特别是啮齿类动物的实验,但骨折修复在人和动物之间存在重要差别。一般小动物的骨折愈合比人的快得多,人骨折的愈合过程通常更为复杂。本项目对临床上获得的人长骨骨痂微结构演变进行了系

统的研究,发现若干规律性特征。骨痂类型及取样情况如下:早期骨痂是在手术(钢板或髓内针固定)前取自骨折断端血肿中的硬组织块;愈合骨痂是在取钢板时取自外骨痂部分;不愈合骨痂是在取钢板重新手术固定时取自骨折未连接的断端。

研究表明,人长骨骨折正常愈合骨痂微结构的演变过程包括胶原纤维由无序向有序的择优取向转变,而骨矿存在多型性(即含羟基磷灰石(HAP)、透磷酸钙(DCPD)、碳酸磷灰石)及转变。早期骨痂的典型形貌为,胶原纤维主要是松散杂乱排列,且大多以单根形式存在。单根胶原已矿化,表面矿物颗粒周期性排列,与胶原纤维组装的 67 nm 的周期排列相符。矿化的纤维有成束的倾向,纤维表面矿物随成束倾向聚集或融合成一体。利用透射电镜及选区电子衍射,给出了人类早期骨痂中存在 DCPD 相的直接证据,并确定了其空间分布^[1]。

在研究了不愈合骨痂的微结构并与愈合骨痂相比较后发现,愈合骨痂中胶原纤维排列整齐、致密,尽管愈合一年的骨痂中矿物尺寸仍小于正常骨中矿物尺寸,但矿物尺寸明显随愈合过程的进行而增大;

国家自然科学基金重大项目,批准号 59493203

本文于 1998 年 5 月 4 日收到

而不愈合骨痂中胶原纤维纤细、分散、杂乱分布,存在大量非晶化的矿物是不愈合骨痂的一个显著特点^[3]。

对儿童骨痂与成人骨痂微结构的比较研究,发现儿童骨痂中的胶原纤维的矿化程度较低,矿物相除 HAP 外,存在较多 DCPD 相^[2]。

2 揭示人胚胎长骨编织骨结构演变特征^[4]

人类长骨在胚胎时期,骨干主要由编织骨及初始骨板组成。编织骨是在骨最初生长时期形成的,出生后编织骨逐渐被 2 次骨板所代替,骨的成分及性能也随之发生改变。目前,关于人类编织骨结构与性能随成熟程度不同的演变研究较少,且不系统。此外,长骨的直径增长是骨外膜新骨的形成和骨内膜骨的吸收,因而从骨的内壁到外壁,骨具有不同的成熟程度。由于骨结构的复杂性和多样性,在诸如骨矿的结构、形貌、尺寸,骨矿与胶原纤维的相互作用等方面,有很多问题都不清楚,如有关骨矿的形貌是针状还是片状一直有争议。本项目先取 14 周到 26 周的人胚胎股骨并沿骨的壁厚从内壁至外壁进行考察,提出了编织骨的结构演变模型(图 1),基本规律为:随着胚胎年龄的增长沿股骨干从外壁至内壁,胶原纤维的分布由无序到有序,由疏松到致密,取向由周向变为轴向。胶原纤维的这种分布特征直接反映了骨的成熟程度,在较年轻的骨中,包括年龄较小的胚胎骨和新形成的骨层(如骨干外壁),胶原纤维始终是无序分布的,而胶原纤维取向的各

向异性在 19 周的胚胎骨中已经表现出来。

骨的矿化程度随着骨的成熟程度的提高而提高。对不同矿化程度的胚胎骨的矿物形貌、尺寸、分布及形核与长大机理的研究发现:矿物在形成初期即为片状,随尺寸增加,矿物可从胶原纤维的空隙区长至重叠区,进而矿物可存在于胶原纤维的外部。观察还发现 26 周的胚胎股骨干中,纤维内和纤维间的矿物沉积各占 56% 和 44%;分布于纤维内部的矿物 c 轴近似平行于胶原纤维,而纤维外部晶体聚集成丛,沿纤维切面分布;纤维外矿物尺寸明显大于纤维内部矿物的尺寸;在尚未矿化的部位,矿物独立形核,并通过离子在核的表面聚集而长大,在已有矿物沉积的部位,除独立形核机制外,矿物可于已有矿物之上形核,晶体而通过离子聚集和晶体融合两种方式而长大。

对胚胎股骨远端干骺处的软骨及骨中矿物沉积的比较发现:骨中矿物在胶原纤维间隙区择优沉积,具有明显 $\langle 001 \rangle$ 择优取向,并与胶原纤维的长轴方向平行,而软骨中矿物连续密集均匀分布,具有羟基磷灰石结构,但无择优取向;干骺处软骨及骨中矿物均为片状,但骨中矿物尺寸明显大于软骨中矿物尺寸。

采用微力学探针测量了不同年龄胚胎骨各骨层的显微硬度和弹性模量,结果表明,二者均随骨层年龄的增加而增加,并且由于胚胎骨的胶原纤维具有择优取向,胚胎骨在加载条件下表现为各向异性。

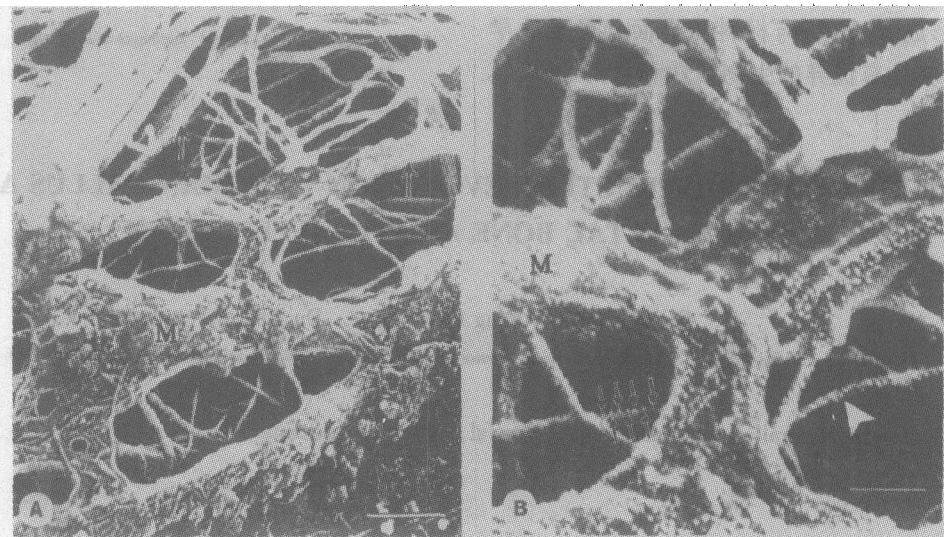


图 1 人早期骨痂的扫描电镜形貌。(A)胶原纤维松散杂乱排列并已矿化,图中箭头所示为微纤维束,字母 M 所示为沉积于微纤维束上的矿物。标尺 = 1.4 μm 。(B)为图(A)中心处的放大。箭头指示单根微纤维表面矿物的周期性排列与胶原纤维 67 μm 的周期相符,星号所示微纤维束表面矿物融合为一体。标尺 = 500 μm 。

3 仿生合成骨组织工程新材料并发现其巨噬细胞介导的胞外降解新机制

现在,各种以金属、陶瓷或高分子制造的人工骨替代材料已应用于临床,但多数是作为永久植体使用,它们不能进入人体的新陈代谢,因而长期效果往往不尽人意。模仿天然骨的成分及结构特征制造的骨替代材料,可为细胞提供与天然骨相类似的微环境,这有助于骨系细胞的粘附、增殖及功能发挥,不仅可直接作为骨缺损修复材料,也是优异的骨组织工程载体材料。

在研究骨痂和胚胎骨及已有的天然骨微结构的基础上,并结合有机模板调制矿化等生物矿化机理的研究^[5,6],仿生合成了纳米羟基磷灰石/胶原复合骨替代材料。以提纯并去抗原的 I 型胶原为模板,在钙-磷盐溶液中调制矿化而获得的复合材料,具有天然骨的部分微结构特征,矿物相为含有碳酸根的纳米晶羟基磷灰石,其 X 光衍射谱与天然骨的基本相同^[7]。体外巨噬细胞培养实验证明了该复合材料具有可生物降解性。由小鼠腹腔巨噬细胞介导的降解过程除了熟知的吞噬机制外,还发现一种新的类似破骨细胞介导的胞外降解机制,实验中观察到这些单核吞噬细胞可在材料表面造成吸收陷窝,并表现出类似破骨细胞的某些形貌特征,如在细胞与材料接触的表面出现了类似刷状缘的结构。这种新的材料降解机制,表明材料的特定结构影响了细胞的功能^[8]。当将材料植入兔股骨骨髓腔中,材料表面有新骨形成,骨组织与材料在界面处形成化学结合,证明材料具有优异的生物活性和骨传导性能。

在新骨形成的同时材料被逐渐吸收,这种材料降解-新骨形成的模式与骨重建过程很类似,表明材料可整合入活体骨组织的新陈代谢中。这种复合材料应用于骨组织工程的初步结果令人满意:作为骨形态发生蛋白(BMP)的载体,植入 15 mm 长的兔尺骨节段性缺损中,经两个半月,缺损愈合并且新骨改建成板层骨;作为细胞的载体,利用组织培养技术,可得到具有三维多孔结构的成骨细胞-材料复合体。

参 考 文 献

- [1] Wen H B, Cui F Z, Feng Q L et al. Microstructural investigation of the early external callus after diaphyseal fractures of human long bone. *J. Structural Biology*, 1995, **114**:115.
- [2] Cui F Z, Wen H B, Su X W et al. Microstructures of external periosteal callus of repaired femoral fracture in children. *J. Structural Biology*, 1996, **117**:204.
- [3] Wen H B, Cui F Z, Zhu X D. Microstructural features of nonunion of human humeral shaft fracture. *J. Structural Biology*, 1997, **119**:239.
- [4] Su X W, Feng Q L, Cui F Z et al. Microstructure and micromechanical properties of the middiaphyses of human fetal femurs. *Connective Tissue Res.* 1997, **36**(3):271.
- [5] Lu H B, Ma C L, Cui H et al. Controlled crystallization of calcium phosphate under stearic acid monolayer. *J. Crystal Growth*, 1995, **155**:120.
- [6] Cui F Z, Zhou L F, Cui H et al. Phase diagram for controlled crystallization of calcium phosphate under acidic organic monolayers. *J. Crystal Growth*, 1996, **169**:557.
- [7] Wang R Z, Cui F Z, Lu H B et al. Synthesis of nanophase hydroxyapatite/collagen composite. *J. Mater. Sci. Lett.*, 1995, **14**:490.
- [8] Cui F Z, Du C, Su X W et al. Biodegradation of nano-HAp/collagen composite by peritoneal monocyte-macrophage. *Cells and Materials*, 1996, **6**:31.

STUDY OF MICROSTRUCTURE EVOLUTION IN HUMAN CALLUS AND HUMAN FETAL BONE AND ITS APPLICATION

Cui Fuzhai Feng Qingling Du Chang

(Laboratory of Biomaterials, School of Materials Science and Engineering, Tsinghua University, Beijing 100084)

Key words bone, biomineralization, biomedical material, tissue engineering