

## 硅离子在骨组织修复再生领域的作用

陈伟洋 田俊 韦曦

中山大学附属口腔医院, 光华口腔医学院, 广东省口腔医学重点实验室, 广州 510055

通信作者: 韦曦, Email: weixi@mail.sysu.edu.cn

**【摘要】** 硅离子参与调节骨生成、骨钙化的生理过程, 在骨代谢中发挥着重要作用, 硅离子缺乏将导致畸形骨的发生。含硅生物活性材料通过释放含硅离子产物以发挥促血管生成效应、促成骨效应、抑制破骨细胞分化效应及免疫调节效应, 有效地促进骨组织修复与再生。本文就硅离子在骨组织修复再生领域的作用作一综述。

**【关键词】** 硅; 骨再生; 成骨分化; 成骨细胞

**基金项目:** 国家自然科学基金(81970925); 广东省财政高水平医院建设专项资金(174-2018-XMZC-0001-03-0125/A-01)

**引用著录格式:** 陈伟洋, 田俊, 韦曦. 硅离子在骨组织修复再生领域的作用[J/OL]. 中华口腔医学研究杂志(电子版), 2021, 15(6): 375-381.

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1366.2021.06.008

### The role of silicon ion in the field of bone regeneration

Chen Weiyang, Tian Jun, Wei Xi

Hospital of Stomatology, Guanghua School of Stomatology, Sun Yat-sen University, Guangdong Provincial Key Laboratory of Stomatology, Guangzhou 510055, China

Corresponding author: Wei Xi, Email: weixi@mail.sysu.edu.cn

**【Abstract】** Silicon ion participates in the physiological process of bone tissue formation and bone tissue mineralization, and plays an important role in bone metabolism. Deficiency of Silicon will lead to bone deformation. Si-containing bioactive materials can promote angiogenesis as well as osteogenesis, on the other hand, inhibit osteoclast differentiation. These materials also exert immunomodulatory effects through releasing Si-containing ionic products, which can effectively facilitate bone tissue repair and regeneration. In this paper, the role of silicon ion in the field of bone regeneration is reviewed.

**【Key words】** Silicon; Bone regeneration; Osteogenic differentiation; Osteoblasts

**Fund programs:** National Natural Science Foundation of China (81970925); Financial Fund for High-Caliber Hospital Construction of Guangdong Province (174-2018-XMZC-0001-03-0125/A-01)

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1366.2021.06.008

硅是形成正常人骨组织、软骨组织、结缔组织的必需微

量元素之一。硅参与调节骨生成、骨钙化的生理过程, 在骨代谢中发挥着重要作用, 其缺乏将导致骨缺损、畸形骨的发生。

硅在自然界中主要是以不溶性硅酸盐的形式存在, 少量可溶性硅主要是以单体原硅酸[orthosilicic acid,  $\text{Si}(\text{OH})_4$ ]的形式存在于水溶液中<sup>[1]</sup>。人体内的硅成分主要来源于日常饮食, 包括存在于水溶液中或食物经消化道水解后的原硅酸, 植物体内非水溶性聚合二氧化硅类物质<sup>[2]</sup>, 由于土壤和灰尘污染内含的或作为食品添加剂的硅酸盐<sup>[3]</sup>。有研究表明, 原硅酸是生物可利用硅的唯一形式, 且人体对原硅酸中硅的生物利用度很高, 其吸收量超过人体摄入剂量的50%<sup>[4]</sup>。硅在人体血浆的浓度为5~20  $\mu\text{mol/L}$ , 进食后可达30  $\mu\text{mol/L}$ <sup>[5]</sup>。当浓度低于2 mmol/L(56 ppm)且pH低于9时, 硅主要以单体原硅酸的形式存在<sup>[6]</sup>。因此, 从饮食来源的硅在人体内的基本存在形式为单体原硅酸<sup>[7]</sup>。

除了饮食来源外, 多种含硅生物活性材料, 如生物活性玻璃(bioactive glasses, BG)、硅酸盐生物活性陶瓷、介孔二氧化硅纳米微球(mesoporous silica nanosphere, MSN)等, 广泛运用于骨组织修复再生领域<sup>[8-9]</sup>。含硅生物活性材料局部释放硅离子的浓度远高于人进食后血浆中硅离子的浓度。当硅离子的局部释放速率小于每天10 ppm时, 此时处于其有效疗效浓度范围内, 在刺激血管生成的同时不具有细胞毒性<sup>[10]</sup>。

骨组织工程通过联合运用细胞和生物支架材料, 重建和再生损伤的骨组织, 在骨缺损疾病的临床治疗应用中具有发展前景。能否诱导与促进骨生成和血管生成是骨组织工程及骨修复再生成功与否的关键<sup>[11]</sup>。近年来, 植入骨替代材料接触其周围组织诱导宿主产生的免疫反应引起广泛关注, 免疫反应的发展影响着骨组织工程的成败<sup>[12]</sup>。硅离子在骨代谢调节中具有多功能效应, 在促进成骨、血管生成的同时, 又具有抑制破骨细胞生成与局部免疫调节的作用<sup>[12-15]</sup>。目前, 原硅酸与含硅生物活性材料中的硅在人体内以何种形式起生物学效应, 以及其对组织细胞的增殖与分化促进作用的具体生物学机制仍未研究清晰。含硅生物活性材料可能通过释放含硅的离子产物(包括硅酸根离子等)对干细胞成骨相关信号通路起一定的活化作用, 对促进体内成骨、成血管具有重要的影响<sup>[8]</sup>。本文将对硅离子(硅离子指代含硅的离子产物, 下文同)在促血管生成效应、促成骨效应、抑制破骨细胞分化效应及免疫调节效应等作用, 以及其机制方面进行综述。

## 一、促血管生成效应

1. 硅离子通过抑制脯氨酰羟化酶2上调低氧诱导因子1 $\alpha$  (hypoxia inducible factor-1 $\alpha$ , *HIF-1 $\alpha$* )信号通路的表达促进血管生成:硅作为生物体生长发育所必需的微量元素之一,具有促进血管生成和功能性血管网络组建的作用<sup>[10,16]</sup>。掺杂硅涂层植入体通过促进人脐带静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cell, HUVEC)的黏附、增殖、迁移、成管能力和增强其血管生成相关基因的表达以发挥促血管生成作用<sup>[17-18]</sup>。研究证实,增强内皮细胞 *HIF-1 $\alpha$*  信号通路的表达在硅离子介导的促血管生成作用中起关键作用<sup>[15]</sup>。*HIF-1 $\alpha$*  是缺氧条件下广泛存在于哺乳动物体内的一种转录因子,是应答缺氧应激的关键因子。*HIF-1 $\alpha$*  是 *HIF-1* 的一个亚单位,在缺氧条件下, *HIF-1 $\alpha$*  转移到细胞核内结合 *HIF-1 $\beta$*  形成有活性的 *HIF-1*, 通过与靶基因上的缺氧反应元件(hypoxia response element, *HRE*)结合调节多种基因的转录,调控细胞产生一系列对缺氧的代偿反应,其重要作用之一为诱导缺血组织的促血管生成作用<sup>[19]</sup>。研究表明,硅离子能够阻断 HUVEC 脯氨酰羟化酶2(prolyl hydroxylase 2, *PHD2*)降解 *HIF-1 $\alpha$*  的过程,并同时上调 *HIF-1 $\alpha$*  的表达,依次激活 *HIF-1 $\alpha$ /VEGF/KDR/eNOS/NO* 轴和 *HIF-1 $\alpha$ /FGF/FGFR* 轴的表达,促进内皮细胞的募集、迁移、增殖和分化,增加血管通透性,从而促进血管生成<sup>[20]</sup>。硅离子亦可上调 HUVEC 的 *p-Akt*、*p-eNOS*、*NO* 表达,而磷脂酰肌醇3激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, *PI3K*)抑制剂 LY-294002 可阻断 *p-Akt*、*p-eNOS* 的产生,逆转硅离子的促血管生成效应<sup>[21]</sup>。以上提示,硅离子可通过抑制 *PHD2* 上调 *HIF-1 $\alpha$ /VEGF/KDR/PI3k/Akt/eNOS/NO* 轴和 *HIF-1 $\alpha$ /FGF/FGFR* 轴的表达介导促血管生成效应。

2. 细胞-细胞间的相互作用通过旁分泌途径协同促进硅离子介导的促血管生成效应:当内皮细胞与其他细胞相邻时,其他细胞可通过分泌 *VEGF* 介导内皮细胞血管生成<sup>[22]</sup>。功能性血管的生成涉及内皮细胞的黏附连接(adherens junction)。血管内皮钙黏蛋白(vascular endothelial cadherin, *VE-cad*)是内皮细胞特异性黏附分子,定位于血管内皮细胞的连接处,是 *VEGF* 的受体 *KDR* 信号分子的下游靶点<sup>[23]</sup>,其缺乏能导致内皮细胞黏附连接紊乱,抑制功能性血管网络的组建<sup>[24]</sup>。研究表明,硅离子并未促进单独培养人真皮成纤维细胞(human dermal fibroblast, HDF) *VEGF* 基因的表达,且未上调单独培养 HUVEC 细胞 *VE-cad* 基因的表达,然而硅离子却极大增强 HDF 与 HUVEC 共培养体系中 HDF 细胞 *VEGF* 基因的表达,继而通过旁分泌途径上调共培养 HUVEC 的 *KDR* 受体表达,激活 *VEGF/KDR/eNOS/NO* 轴与 *VE-cad* 基因的表达,促进功能性血管的生成<sup>[10]</sup>。同理,在人骨髓间充质干细胞(bone marrow stromal cell, BMSC)与 HUVEC 共培养体系中,硅离子促进共培养人 BMSC 分泌 *VEGF*,经旁分泌途径上调共培养 HUVEC 的 *KDR* 受体表达,激活 *VEGF/KDR/eNOS/NO* 轴,促进血管生成<sup>[25]</sup>。

综上,细胞与细胞间的相互作用(主要通过旁分泌途径)在硅离子介导促进血管生成效应中具有重要作用,但其如何

影响硅离子介导的促血管生成效应的具体作用机制尚不明确,仍需进一步研究。

## 二、促成骨效应

1. 硅离子通过骨形态发生蛋白2(bone morphogenetic protein-2, *BMP-2*) 通路 与 腺 苷 酸 活 化 蛋 白 激 酶 (AMP-activated protein kinase, *AMPK*) 通路刺激成骨细胞向分化促进新生骨形成

(1) 硅离子可上调 *BMP-2/Smad/RUNX2* 轴的表达促进成骨细胞向分化:掺杂硅羟基磷灰石涂层钛植入体能显著增强 MC3T3-E1 前体成骨细胞的活力、黏附性以及成骨相关基因碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, *ALP*)、I 型胶原(collagen I, *Col-1*)、Osterix(*OSX*)、骨桥蛋白(osteopontin, *OPN*)和骨钙素(osteocalcin, *OCN*)的表达<sup>[18]</sup>。含硅生物陶瓷材料浸提液和硅离子均可增强大鼠 BMSC 的 *ALP* 活性以及 *Col-1*、*OCN*、*RUNX2* 基因的表达以促进其成骨细胞向分化<sup>[16]</sup>。有研究指出,硅离子可通过骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein, *BMP*)信号通路促进成骨细胞向分化<sup>[7]</sup>。硅酸盐生物材料浸提液可刺激 *BMP-2* 的表达,促进 MG-63 成骨细胞样细胞向成骨细胞分化,该研究推测此生物效应是由硅离子所介导<sup>[26]</sup>。*BMP-2* 为转化生长因子 $\beta$ (transforming growth factor- $\beta$ , *TGF- $\beta$* )家族的重要成员,可调控其余内源性 *BMP* 蛋白的表达,在 *BMP* 家族诱导骨生成过程中起中枢调节作用<sup>[27]</sup>。*BMP-2* 可与跨膜受体复合物丝氨酸/苏氨酸激酶受体结合,磷酸化 *Smad1*、5 蛋白,与 *Smad4* 形成稳定复合物,转移入细胞核,结合靶基因或调节转录因子活性,调控靶基因的表达<sup>[28]</sup>。*RUNX2* 是诱导成骨向分化的主要转录因子,介导成骨细胞最后成熟阶段的过程,其缺失或突变可导致小鼠和人严重骨畸形的发生<sup>[29]</sup>。有研究表明,硅离子能促进 *BMP-2* 的表达,上调 *BMP-2/Smad/RUNX2* 轴,上调成骨细胞表型标记物 *ALP*、*OCN* 的表达,促进成骨细胞向分化与增殖<sup>[7]</sup>。

(2) 硅离子通过促进 *BMP-2/(ERK1/2)/RUNX2* 轴的表达介导促成骨细胞向分化效应:胞外信号调节激酶(extracellular signal regulated kinase, *ERK*) 作为丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, *MAPK*) 家族中的一员,是一类丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,负责传递丝裂原信号,其中 *ERK1/2* 是 *ERK* 家族中表达最多、研究最多的成员,两者高度同源,正常分布于细胞质,其信号通路在诱导干细胞向成骨细胞分化、增殖、生长周期及信号转导等方面均有重要调控作用<sup>[30]</sup>。Lou 等<sup>[13]</sup> 发现, *BMP-2* 刺激间充质干细胞系 C3H10T1/2 后,可磷酸化激活 *ERK1/2*,使其从细胞质转位到细胞核内,调节相关转录因子活性,增强 *ALP*、*OCN* 基因与蛋白的表达,提高 *ALP* 活性,促进矿化结节的形成。有文献报道, *ERK1/2* 信号通路可通过 *RUNX2* 特异丝氨酸残基磷酸化来调控成骨基因的表达<sup>[31]</sup>。以上提示,硅离子可通过上调 *BMP-2/(ERK1/2)/RUNX2* 轴的表达促进成骨细胞向分化,进而诱导骨生成。

(3) 硅离子可能通过 *AMPK/(ERK1/2)/RUNX2* 轴刺激成骨细胞向分化:硅与细胞代谢密切相关<sup>[7]</sup>。*AMPK* 是对代谢

产物敏感的蛋白激酶家族成员之一,参与真核生物细胞能量代谢的调节<sup>[32]</sup>。*AMPK*通路的激活在间充质干细胞的成骨向分化中扮演重要角色。Wang等<sup>[21]</sup>发现 $\beta$ -CS/PDLGA生物支架材料浸提液可促进大鼠BMSC的增殖,上调*p-AMPK*、*p-ERK1/2*、*RUNX2*蛋白的表达,增强*RUNX2*、*ALP*、*OCN*基因的表达,提高*ALP*活性,促进细胞外基质矿化结节的产生,并推测此生物效应可能由硅离子所介导。*AMPK*抑制剂Compound C可逆转上述促成骨细胞向分化效应,即能阻断*p-AMPK*、*p-ERK1/2*、*RUNX2*蛋白的产生,降低*ALP*活性,抑制细胞外基质矿化结节的产生;此外,ERK1/2抑制剂PD98059亦可降低*ALP*活性,抑制细胞外基质矿化结节的产生。以上提示,*AMPK*(*ERK1/2*)/*RUNX2*信号通路参与成骨细胞向分化进程,且此效应可能由硅离子所介导。

2. 细胞-细胞间的相互作用通过旁分泌途径协同促进硅离子介导的促成骨细胞向分化效应:*BMP-2*与*VEGF*在促成骨细胞向分化过程中具有交互协同效应<sup>[33-34]</sup>。Li等<sup>[25]</sup>发现,相较于单独培养人BMSC,硅离子可增强人BMSC和HUVEC共培养体系*BMP-2*、*ALP*、*BSP*蛋白的表达,极大促进人BMSC成骨细胞向分化。此外,硅离子可极大促进共培养人BMSC分泌*VEGF*,后者经旁分泌途径上调共培养HUVEC对*BMP-2*的表达,后者再次经旁分泌途径作用于共培养人BMSC,激活*BMP-2*通路,刺激共培养人BMSC向成骨细胞分化,增强*ALP*、*BSP*基因和蛋白的表达。*VEGF*抑制剂能逆转上述共培养体系中硅离子的促成骨细胞向分化作用,极大抑制共培养HUVEC对*BMP-2*的表达,抑制共培养人BMSC向成骨细胞分化。以上提示,细胞与细胞间的相互作用通过旁分泌途径参与、协同促进硅离子介导的促成骨细胞向分化效应,但其如何影响硅离子介导的促成骨细胞向分化效应的具体作用机制尚不明确,仍需进一步研究。

3. 硅离子与脯氨酰羟化酶的相互作用促进骨基质Col-I的合成:硅与胶原合成密切相关<sup>[35]</sup>。在硅缺乏动物模型中,软骨或骨中有机基质的形成受限程度均大于矿化受限程度<sup>[36]</sup>,而饮食重新添加可溶性硅后骨和软骨均能恢复正常<sup>[37]</sup>,提示硅离子主要参与和影响骨有机基质的合成过程。成熟骨细胞外有机基质90%由Col-I构成<sup>[38]</sup>。硅可增加细胞外基质和胶原的合成以促进骨再生<sup>[35]</sup>。Bose等<sup>[39]</sup>认为,硅可能是通过合成和(或)稳定胶原以促进早期阶段的骨组织再生。相关研究表明,硅离子无增强*Col-I* mRNA的表达,但可通过影响脯氨酰羟化酶的活性促进Col-I的合成<sup>[7]</sup>。脯氨酰羟化酶催化介导胶原链脯氨酸残基的羟基化反应,在翻译后修饰水平上对Col-I合成及分泌至细胞外基质起到关键作用。有研究指出,脯氨酰羟化酶的最佳活性取决于硅离子的浓度,而脯氨酰羟化酶抑制剂能逆转硅离子的促Col-I生成作用<sup>[40]</sup>。脯氨酰羟化酶如何影响硅离子介导的促Col-I生成效应的具体作用机制至今仍不清楚,需要进一步的研究。

此外,硅酸盐离子形成的硅醇基团可作为羟基磷灰石(天然骨的无机相)的成核位点,被认为是生物活性玻璃或玻璃陶瓷类材料促进骨组织修复与再生的原因之一<sup>[41]</sup>。

### 三、抑制破骨细胞向分化效应

1. 硅离子通过调节核因子 $\kappa$ B受体活化因子(receptor activator of nuclear factor  $\kappa$ B, *RANK*)/核因子 $\kappa$ B受体活化因子配体(receptor activator of nuclear factor  $\kappa$ B ligand, *RANKL*)/骨保护素(osteoprotegerin, *OPG*)轴的表达抑制破骨细胞向分化:骨代谢平衡由成骨细胞与破骨细胞共同调节。在生理条件下,成骨细胞分泌产生骨基质,破骨细胞降解吸收骨质,两者的数量与活性处于动态平衡,共同维持骨稳态与骨健康。大多数代谢性骨病是由于破骨细胞过度活化,打破骨代谢平衡,骨吸收速率大于骨形成速率,导致骨量损失。研究表明,硅离子具有抑制破骨细胞生成与激活的作用<sup>[14,16,42]</sup>。

*RANKL*由成骨细胞或BMSC分泌产生<sup>[43]</sup>,可与破骨前体细胞和成熟破骨细胞上的*RANK*受体结合激活*RANK/RANKL*信号通路,诱导活化T细胞核因子1(nuclear factor of activated T-cells cytoplasmic 1, *NFATc1*)等下游因子的表达,促进破骨细胞的分化与激活。硅离子在体外可逆转*RANKL*对鼠骨髓基质细胞和RAW 264.7细胞的促破骨细胞生成作用,下调破骨细胞表型标记物抗酒石酸酸性磷酸酶(tartrate-resistant acid phosphatase, *TRAP*)、组织蛋白酶K(cathepsin K, *Cath K*)、降钙素受体(calcitonin receptor, *CTR*)及*NFATc1*的表达<sup>[44]</sup>。*OPG*由成骨细胞或骨髓基质细胞分泌产生,是*RANKL*的可溶性诱饵受体,可竞争性结合*RANKL*阻断*RANK/RANKL*信号通路<sup>[14]</sup>。含硅生物陶瓷材料浸提液与硅离子不但在早期重新平衡行卵巢切除术大鼠来源BMSC的*OPG/RANKL*比例,而且能抑制*RANKL*诱导的破骨细胞的形成,以及*TRAP*、*DC-STAMP*、*V-ATPase a3*和*NFATc1*基因的表达<sup>[16]</sup>。在成骨样细胞SaOS-2与RAW 264.7共培养体系中,原硅酸盐溶液能抑制共培养RAW的增殖,同时不影响共培养SaOS-2对*RANKL*的表达,但促进其对*OPG*的表达,上调*OPG/RANKL*的比例,抑制TRAP染色阳性破骨细胞的形成<sup>[14]</sup>。Zhou等<sup>[6]</sup>发现Si(OH)<sub>4</sub>或miR-146a能抑制*MCSF/RANKL*诱导RAW 264.7或小鼠造血干细胞(mouse hematopoietic stem cell, mHSC)中核转录因子 $\kappa$ B(nuclear transcription factor- $\kappa$ B, *NF- $\kappa$ B*)通路的激活,下调破骨前体细胞分化的关键转录因子*NFATc1*的表达,进而下调下游因子*DC-STAMP*、*TRAP*与*CALCR*的表达,抑制TRAP染色阳性多核破骨细胞的生成,并推测Si(OH)<sub>4</sub>可能通过miR-146a负性调节*NF- $\kappa$ B*通路的表达以抑制破骨细胞向分化<sup>[45]</sup>。

2. 硅离子可下调破骨前体细胞连接蛋白*Cx43*的表达抑制破骨细胞的形成与激活:连接蛋白(connexin, *Cx*)组成的细胞间隙连接通讯通道在骨细胞中具有重要的调节作用,阻断间隙连接细胞间通信(gap junction cell-cell communication)可抑制*RANKL*介导的促破骨细胞生成作用<sup>[46-47]</sup>。破骨前体细胞膜表达*Cx43*<sup>[48]</sup>,相关研究表明,硅离子可直接抑制破骨前体细胞连接蛋白*Cx43*的表达,抑制破骨细胞的形成与激活,进而抑制骨吸收<sup>[44]</sup>。不同时间段硅离子处理的破骨细胞形成实验表明,硅离子主要抑制破骨细胞分化后期及破骨前体细胞融合为破骨细胞时期,提示*Cx43*为硅离子抑制破

骨细胞形成与激活的有力潜在作用靶点。

#### 四、免疫调节效应

宿主对骨缺损植入修复材料的免疫应答(即异物反应)极大地影响修复材料的成骨化性能及新骨的生成,决定骨缺损修复和再生的成败<sup>[49]</sup>。骨缺损修复材料植入体内后,单核细胞迅速附着在修复材料表面分化为巨噬细胞,进而分泌细胞因子募集其他细胞引起异物反应,亦可融合成异物巨细胞(foreign body giant cell, FBGC),在材料与组织接触界面释放氧自由基、降解酶和酸导致植入修复材料的降解,最终骨缺损修复的失败<sup>[50]</sup>。Huang等<sup>[12]</sup>发现,相较于 $\beta$ -TCP,硅酸盐生物活性陶瓷材料镁黄长石(akermanite, AKT,  $\text{Ca}_2\text{MgSi}_2\text{O}_7$ )与磷酸二正硅酸钙(nagelschmidite, NAGEL,  $\text{Ca}_2\text{Si}_2\text{P}_2\text{O}_{16}$ )浸提液中的含硅离子产物能显著降低体外RAW 264.7的细胞活力与增殖能力,并显著抑制后者分泌单核细胞趋化蛋白1(monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)、巨噬细胞炎性蛋白1(macrophage inflammatory protein-1, MIP-1)、肿瘤坏死因子 $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白细胞介素(IL)-1、IL-6与IL-8等炎症因子;同时,体内植入AKT和NAGEL材料周围组织的巨噬细胞浸润程度、异物巨细胞和纤维囊的形成以及上述炎症因子的含量也显著降低。其进一步发现,单独的硅离子亦可通过抑制巨噬细胞MAPK通路和NF- $\kappa$ B通路(*p-Erk 1/2*、*p-Jnk*、*p-P38*、*p-I $\kappa$ B $\alpha$* 及*p-P65*)的表达,以及通过caspase依赖性途径(cleaved caspase-9、8和3蛋白水平的上升)激活巨噬细胞的凋亡,以发挥免疫抑制效应促进骨缺损组织的修复与再生。

硅钙基生物陶瓷材料三氧化矿物聚合体(mineral trioxide aggregate, MTA)与iRoot SP,具有良好的生物相容性<sup>[51-52]</sup>,广泛应用于牙体牙髓疾病治疗如活髓保存治疗、根尖手术与根管穿孔修复等。MTA与iRoot SP均能诱导RAW 264.7向M1型和M2型极化,调节M1型极化和M2型极化之间的平衡,最终降低M1/M2型巨噬细胞的比例<sup>[51,53]</sup>。研究表明,MTA通过激活*Axl/Akt/NF- $\kappa$ B*信号轴增强人单核细胞系THP-1对M2型巨噬细胞表面标记物CD206的表达,促进其分泌IL-10、TGF- $\beta$ ,增强其吞噬能力,诱导其向M2表型极化;同时在THP-1与内皮细胞系HMEC1细胞共培养体系中,MTA可通过诱导THP-1向M2型极化,促进其分泌VEGF以增强HMEC1细胞的成血管能力<sup>[54]</sup>。此外,NF- $\kappa$ B通路信号分子*p65*可与胞核内的Smad1-Smad5复合物相互作用,阻碍其与目的成骨基因启动子的结合<sup>[55]</sup>,抑制成骨向分化进程。使用突变分子IKK $\gamma$ (IKK-DN)和I $\kappa$ B $\alpha$ 强抑制剂(SR-I $\kappa$ B $\alpha$ )抑制*p65*的表达可体外促进间充质干细胞系C2C12成骨细胞向分化<sup>[56]</sup>。Zhou等<sup>[6]</sup>发现Si(OH)<sub>4</sub>能显著上调MSC对miR-146a的表达,抑制TNF- $\alpha$ 诱导的NF- $\kappa$ B通路的激活,进而增强下游因子RUNX2的表达,诱导人MSC成骨细胞向分化,增强ALP活性与矿化反应;同时,Si(OH)<sub>4</sub>或miR-146a能抑制MCSF/RANKL诱导RAW 264.7或mHSC中NF- $\kappa$ B通路的激活,下调破骨细胞相关基因*NFATc1*、*DC-STAMP*、*TRAP*与*CALCR*的表达,抑制TRAP染色阳性多核破骨细胞的生成,并推测

Si(OH)<sub>4</sub>可能通过miR-146a负性调节NF- $\kappa$ B通路的表达抑制破骨细胞向分化<sup>[45]</sup>。

活性氧簇如超氧阴离子、过氧化氢和羟基自由基可损伤生物分子与结构如DNA、细胞膜等,并且在许多情况下能增强细胞的炎症反应,引起氧化应激反应与组织损伤<sup>[57]</sup>。硅离子能升高过氧化氢酶基因的表达,减少活性氧簇的含量<sup>[58]</sup>。硅离子能有效地清除自由基,并且能抑制LPS诱导的RAW 264.7的TNF- $\alpha$ 、环氧合酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)与诱导型一氧化氮合酶(inducible NO synthase, iNOS)基因的表达,减少NO与IL-6的生成,具有抗氧化与抗炎作用<sup>[59]</sup>。硅酸盐可抑制神经毒性金属铝诱导的大脑TNF- $\alpha$ 基因的表达,同时升高抗氧化酶基因的表达,如铜超氧化物歧化酶(copper superoxide dismutase, CuSOD)、锰超氧化物歧化酶(manganese superoxide dismutase, MnSOD)与谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GPx)<sup>[58]</sup>。掺杂硅涂层植入体可通过释放硅离子升高抗氧化酶超氧化物歧化酶1(SOD-1)与过氧化氢酶-1(catalase-1, Cat-1)的表达以促进骨生成与血管生成<sup>[17,60]</sup>。以上提示,硅离子的抗炎作用与其抗氧化应激能力相关。

#### 五、结语与展望

能否诱导与促进骨生成和血管生成,以及植入骨替代材料引发宿主免疫反应的发展是骨组织工程及骨修复再生成功与否的关键。硅离子在骨代谢调节中具有多功能效应,在促进成骨、血管生成的同时,又具有抑制破骨细胞生成与局部免疫调节的作用。相较于高成本、释放率不稳定、作用时间短、可伴有并发症的生长因子输送体系,含硅生物活性材料具有较低成本、持续稳定释放含硅离子产物、作用时间较长、较少并发症的优点,在骨组织修复再生领域具有重大的应用潜力。然而到目前为止,硅是否可转运至人细胞内及其机制仍未清楚。在低等真核生物中已鉴定出硅转运蛋白,如水稻硅转运蛋白*OsLsi1/OsLsi2/OsLsi6*、玉米硅转运蛋白*ZmLsi1/ZmLsi2/ZmLsi6*、大麦硅转运蛋白*HvLsi1/HvLsi2*、南瓜硅转运蛋白*CmLsi1*、硅藻硅转运蛋白*SIT*及硅质海绵*Na<sup>+</sup>/HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>*协同转运蛋白<sup>[61-62]</sup>。由于不同物种的硅转运蛋白之间缺乏同源性,在人骨细胞中筛选出可能与硅转运相关的基因和蛋白质是一个难题与挑战。未来在以下方面仍需要进一步深入研究。首先,硅离子是否可转运至人细胞内及其作用通道;其次,从分子和基因水平上深入研究硅离子促进体内成骨、成血管化、抑制破骨细胞生成与局部免疫调节的生物学机制。以上问题的解决将为未来含硅生物活性材料在临床上治疗骨缺损疾病奠定基础与提供依据。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参 考 文 献

- [1] Farmer VC. Sources and speciation of aluminium and silicon in natural waters[J]. Ciba Found Symp, 1986, 121: 4-23. DOI: 10.1002/9780470513323.ch2.
- [2] Pennington JA. Silicon in foods and diets[J]. Food Addit Contam, 1991, 8(1): 97-118. DOI: 10.1080/02652039109373959.
- [3] Villota R, Hawkes JG. Food applications and the toxicological

- and nutritional implications of amorphous silicon dioxide[J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 1986, 23(4): 289-321. DOI: 10.1080/10408398609527428.
- [4] Reffitt DM, Jugdaohsingh R, Thompson RP, et al. Silicic acid: Its gastrointestinal uptake and urinary excretion in man and effects on aluminium excretion [J]. J Inorg Biochem, 1999, 76(2): 141-147. DOI: 10.1016/s0162-0134(99)00126-9.
- [5] Jugdaohsingh R. Silicon and bone health [J]. J Nutr Health Aging, 2007, 11(2): 99-110.
- [6] Zhou X, Moussa FM, Mankoci S, et al. Orthosilicic acid, Si(OH)<sub>4</sub>, stimulates osteoblast differentiation *in vitro* by upregulating miR-146a to antagonize NF- $\kappa$ B activation [J]. Acta Biomater, 2016, 39: 192-202. DOI: 10.1016/j.actbio.2016.05.007.
- [7] Reffitt DM, Ogston N, Jugdaohsingh R, et al. Orthosilicic acid stimulates collagen type 1 synthesis and osteoblastic differentiation in human osteoblast-like cells *in vitro* [J]. Bone, 2003, 32(2): 127-135. DOI: 10.1016/s8756-3282(02)00950-x.
- [8] 吴成铁, 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, 28(1): 29-39. DOI: 10.3724/SP.J.1077.2013.12241.
- [9] 陈慧敏, 钟奇帆, 黄紫华, 等. 改良扩孔介孔硅介导大鼠骨髓间充质干细胞成骨向分化[J/OL]. 中华口腔医学研究杂志(电子版), 2018, 12(3): 135-143. DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1366.2018.03.001.
- [10] Li H, Chang J. Bioactive silicate materials stimulate angiogenesis in fibroblast and endothelial cell co-culture system through paracrine effect [J]. Acta Biomater, 2013, 9(6): 6981-6991. DOI: 10.1016/j.actbio.2013.02.014.
- [11] Man Y, Wang P, Guo Y, et al. Angiogenic and osteogenic potential of platelet-rich plasma and adipose-derived stem cell laden alginate microspheres [J]. Biomaterials, 2012, 33(34): 8802-8811. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2012.08.054.
- [12] Huang Y, Wu C, Zhang X, et al. Regulation of immune response by bioactive ions released from silicate bioceramics for bone regeneration [J]. Acta Biomater, 2018, 66: 81-92. DOI: 10.1016/j.actbio.2017.08.044.
- [13] Lou J, Tu Y, Li S, et al. Involvement of ERK in BMP-2 induced osteoblastic differentiation of mesenchymal progenitor cell line C3H10T1/2 [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2000, 268(3): 757-762. DOI: 10.1006/bbrc.2000.2210.
- [14] Schröder HC, Wang XH, Wiens M, et al. Silicate modulates the cross-talk between osteoblasts (SaOS-2) and osteoclasts (RAW 264.7 cells): Inhibition of osteoclast growth and differentiation [J]. J Cell Biochem, 2012, 113(10): 3197-3206. DOI: 10.1002/jcb.24196.
- [15] Dashnyam K, El-Fiqi A, Buitrago JO, et al. A mini review focused on the proangiogenic role of silicate ions released from silicon-containing biomaterials [J]. J Tissue Eng, 2017, 8: 2041731417707339. DOI: 10.1177/2041731417707339.
- [16] Mao L, Xia L, Chang J, et al. The synergistic effects of Sr and Si bioactive ions on osteogenesis, osteoclastogenesis and angiogenesis for osteoporotic bone regeneration [J]. Acta Biomater, 2017, 61: 217-232. DOI: 10.1016/j.actbio.2017.08.015.
- [17] Monte FAD, Awad KR, Ahuja N, et al. Amorphous silicon oxynitrophosphide-coated implants boost angiogenic activity of endothelial cells [J]. Tissue Eng Part A, 2020, 26(1-2): 15-27. DOI: 10.1089/ten.TEA.2019.0051.
- [18] Fu X, Liu P, Zhao D, et al. Effects of nanotopography regulation and silicon doping on angiogenic and osteogenic activities of hydroxyapatite coating on titanium implant [J]. Int J Nanomedicine, 2020, 15: 4171-4189. DOI: 10.2147/ijn.S252936.
- [19] 王萃萃, 孔繁平, 陈学群. 低氧细胞应激的 HIF-1 信号通路 [J]. 浙江大学学报(医学版), 2011, 40(5): 559-566. DOI: 10.3785/j.issn.1008-9292.2011.05.017.
- [20] Dashnyam K, Jin GZ, Kim JH, et al. Promoting angiogenesis with mesoporous microcarriers through a synergistic action of delivered silicon ion and VEGF [J]. Biomaterials, 2017, 116: 145-157. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2016.11.053.
- [21] Wang C, Lin K, Chang J, et al. Osteogenesis and angiogenesis induced by porous  $\beta$ -CaSiO<sub>3</sub>/PDLGA composite scaffold via activation of AMPK/ERK1/2 and PI3K/Akt pathways [J]. Biomaterials, 2013, 34(1): 64-77. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2012.09.021.
- [22] Rocha FG, Sundback CA, Krebs NJ, et al. The effect of sustained delivery of vascular endothelial growth factor on angiogenesis in tissue-engineered intestine [J]. Biomaterials, 2008, 29(19): 2884-2890. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2008.03.026.
- [23] Esser S, Lampugnani MG, Corada M, et al. Vascular endothelial growth factor induces VE-cadherin tyrosine phosphorylation in endothelial cells [J]. J Cell Sci, 1998, 111(Pt 13): 1853-1865.
- [24] Wright TJ, Leach L, Shaw PE, et al. Dynamics of vascular endothelial-cadherin and beta-catenin localization by vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis in human umbilical vein cells [J]. Exp Cell Res, 2002, 280(2): 159-168. DOI: 10.1006/excr.2002.5636.
- [25] Li H, Xue K, Kong N, et al. Silicate bioceramics enhanced vascularization and osteogenesis through stimulating interactions between endothelial cells and bone marrow stromal cells [J]. Biomaterials, 2014, 35(12): 3803-3818. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2014.01.039.
- [26] Sun J, Wei L, Liu X, et al. Influences of ionic dissolution products of dicalcium silicate coating on osteoblastic proliferation, differentiation and gene expression [J]. Acta Biomater, 2009, 5(4): 1284-1293. DOI: 10.1016/j.actbio.2008.10.011.
- [27] Edgar CM, Chakravarthy V, Barnes G, et al. Autogenous regulation of a network of bone morphogenetic proteins (BMPs) mediates the osteogenic differentiation in murine marrow stromal cells [J]. Bone, 2007, 40(5): 1389-1398. DOI: 10.1016/j.bone.2007.01.001.
- [28] Miyazono K. TGF- $\beta$  signaling by Smad proteins [J]. Cytokine Growth Factor Rev, 2000, 11(1-2): 15-22. DOI: 10.1016/s1359-

- 6101(99)00025-8.
- [29] Choi JY, Pratap J, Javed A, et al. Subnuclear targeting of Runx/Cbfa/AML factors is essential for tissue-specific differentiation during embryonic development [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001, 98(15):8650-8655. DOI: 10.1073/pnas.151236498.
- [30] Gu H, Guo F, Zhou X, et al. The stimulation of osteogenic differentiation of human adipose-derived stem cells by ionic products from akermanite dissolution via activation of the ERK pathway [J]. *Biomaterials*, 2011, 32(29): 7023-7033. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2011.06.003.
- [31] Ge C, Yang Q, Zhao G, et al. Interactions between extracellular signal-regulated kinase 1/2 and p38 MAP kinase pathways in the control of RUNX2 phosphorylation and transcriptional activity [J]. *J Bone Miner Res*, 2012, 27(3): 538-551. DOI: 10.1002/jbmr.561.
- [32] Jansen T, Kvandová M, Daiber A, et al. The AMP-activated protein kinase plays a role in antioxidant defense and regulation of vascular inflammation [J]. *Antioxidants (Basel)*, 2020, 9(6): 525. DOI: 10.3390/antiox9060525.
- [33] Shin V, Zebboudj AF, Boström K. Endothelial cells modulate osteogenesis in calcifying vascular cells [J]. *J Vasc Res*, 2004, 41(2): 193-201. DOI: 10.1159/000077394.
- [34] Deckers MM, van Bezooijen RL, van der Horst G, et al. Bone morphogenetic proteins stimulate angiogenesis through osteoblast-derived vascular endothelial growth factor A [J]. *Endocrinology*, 2002, 143(4): 1545-1553. DOI: 10.1210/endo.143.4.8719.
- [35] Lei T, Zhang W, Qian H, et al. Silicon-incorporated nanohydroxyapatite-reinforced poly ( $\epsilon$ -caprolactone) film to enhance osteogenesis for bone tissue engineering applications [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2020, 187: 110714. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2019.110714.
- [36] Seaborn CD, Nielsen FH. Dietary silicon affects acid and alkaline phosphatase and <sup>45</sup>Calcium uptake in bone of rats [J]. *J Trace Elem Exp Med*, 1994, 7(1): 11-18.
- [37] Carlisle EM. Silicon: An essential element for the chick [J]. *Science*, 1972, 178(4061): 619-621. DOI: 10.1126/science.178.4061.619.
- [38] Boskey AL, Wright TM, Blank RD. Collagen and bone strength [J]. *J Bone Miner Res*, 1999, 14(3): 330-335. DOI: 10.1359/jbmr.1999.14.3.330.
- [39] Bose S, Fielding G, Tarafder S, et al. Understanding of dopant-induced osteogenesis and angiogenesis in calcium phosphate ceramics [J]. *Trends Biotechnol*, 2013, 31(10): 594-605. DOI: 10.1016/j.tibtech.2013.06.005.
- [40] Birchall JD. The essentiality of silicon in biology [J]. *Chemical Society Reviews*, 1995, 24(5): 351-357. DOI: 10.1039/cs9952400351.
- [41] Obata A, Iwanaga N, Terada A, et al. Osteoblast-like cell responses to silicate ions released from 45S5-type bioactive glass and siloxane-doped vaterite [J]. *J Mater Sci*, 2017, 52(15): 8942-8956. DOI: 10.1007/s10853-017-1057-y.
- [42] Magnusson C, Uribe P, Jugdaohsingh R, et al. Inhibitory effects of orthosilicic acid on osteoclastogenesis in RANKL-stimulated RAW264.7 cells [J]. *J Biomed Mater Res A*, 2021, 109(10): 1967-1978. DOI: 10.1002/jbm.a.37189.
- [43] Raggatt LJ, Partridge NC. Cellular and molecular mechanisms of bone remodeling [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(33): 25103-25108. DOI: 10.1074/jbc.R109.041087.
- [44] Mladenović Ž, Johansson A, Willman B, et al. Soluble silica inhibits osteoclast formation and bone resorption *in vitro* [J]. *Acta Biomater*, 2014, 10(1): 406-418. DOI: 10.1016/j.actbio.2013.08.039.
- [45] Zhou X, Zhang N, Mankoci S, et al. Silicates in orthopedics and bone tissue engineering materials [J]. *J Biomed Mater Res A*, 2017, 105(7): 2090-2102. DOI: 10.1002/jbm.a.36061.
- [46] Matamba SF, Lie A, Ransjö M. Regulation of osteoclastogenesis by gap junction communication [J]. *J Cell Biochem*, 2006, 99(2): 528-537. DOI: 10.1002/jcb.20866.
- [47] Donahue HJ, Qu RW, Genetos DC. Joint diseases: From connexins to gap junctions [J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2017, 14(1): 42-51. DOI: 10.1038/nrrheum.2017.204.
- [48] Ransjö M, Sahli J, Lie A. Expression of connexin 43 mRNA in microisolated murine osteoclasts and regulation of bone resorption *in vitro* by gap junction inhibitors [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 303(4): 1179-1185. DOI: 10.1016/s0006-291x(03)00502-3.
- [49] Major MR, Wong VW, Nelson ER, et al. The foreign body response: At the interface of surgery and bioengineering [J]. *Plast Reconstr Surg*, 2015, 135(5): 1489-1498. DOI: 10.1097/prs.0000000000001193.
- [50] Trindade R, Albrektsson T, Tengvall P, et al. Foreign body reaction to biomaterials: On mechanisms for buildup and breakdown of osseointegration [J]. *Clin Implant Dent Relat Res*, 2016, 18(1): 192-203. DOI: 10.1111/cid.12274.
- [51] Zhu X, Yuan Z, Yan P, et al. Effect of iRoot SP and mineral trioxide aggregate (MTA) on the viability and polarization of macrophages [J]. *Arch Oral Biol*, 2017, 80: 27-33. DOI: 10.1016/j.archoralbio.2017.03.010.
- [52] Andrade AS, Silva GF, Camilleri J, et al. Tissue response and immunoreaction of interleukin 6 promoted by tricalcium silicate-based repair materials after subcutaneous implantation in rats [J]. *J Endod*, 2018, 44(3): 458-463. DOI: 10.1016/j.joen.2017.12.006.
- [53] Yuan Z, Zhu X, Li Y, et al. Influence of iRoot SP and mineral trioxide aggregate on the activation and polarization of macrophages induced by lipopolysaccharide [J]. *BMC Oral Health*, 2018, 18(1): 56. DOI: 10.1186/s12903-018-0511-9.
- [54] Yeh HW, Chiang CF, Chen PH, et al. Axl involved in mineral trioxide aggregate induces macrophage polarization [J]. *J Endod*, 2018, 44(10): 1542-1548. DOI: 10.1016/j.joen.2018.07.005.
- [55] Yamazaki M, Fukushima H, Shin M, et al. Tumor necrosis factor alpha represses bone morphogenetic protein (BMP)

- signaling by interfering with the DNA binding of Smads through the activation of NF- $\kappa$ B[J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(51): 35987-35995. DOI:10.1074/jbc.M109.070540.
- [56] Chang J, Wang Z, Tang E, et al. Inhibition of osteoblastic bone formation by nuclear factor- $\kappa$ B[J]. *Nat Med*, 2009, 15(6): 682-689. DOI:10.1038/nm.1954.
- [57] Bryan N, Ahswin H, Smart N, et al. Reactive oxygen species (ROS): A family of fate deciding molecules pivotal in constructive inflammation and wound healing[J]. *Eur Cell Mater*, 2012, 24: 249-265. DOI:10.22203/ecm.v024a18.
- [58] Gonzalez-Muñoz MJ, Meseguera I, Sanchez-Reus MI, et al. Beer consumption reduces cerebral oxidation caused by aluminum toxicity by normalizing gene expression of tumor necrotic factor alpha and several antioxidant enzymes[J]. *Food Chem Toxicol*, 2008, 46(3): 1111-1118. DOI:10.1016/j.fct.2007.11.006.
- [59] Kim EJ, Bu SY, Sung MK, et al. Analysis of antioxidant and anti-inflammatory activity of silicon in murine macrophages[J]. *Biol Trace Elem Res*, 2013, 156(1-3): 329-337. DOI: 10.1007/s12011-013-9829-y.
- [60] Ilyas A, Odatsu T, Shah A, et al. Amorphous silica: A new antioxidant role for rapid critical-sized bone defect healing[J]. *Adv Healthc Mater*, 2016, 5(17): 2199-2213. DOI: 10.1002/adhm.201600203.
- [61] Durkin CA, Koester JA, Bender SJ, et al. The evolution of silicon transporters in diatoms[J]. *J Phycol*, 2016, 52(5): 716-731. DOI:10.1111/jpy.12441.
- [62] Gaur S, Kumar J, Kumar D, et al. Fascinating impact of silicon and silicon transporters in plants: A review [J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2020, 202: 110885. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2020.110885.

(收稿日期:2021-02-22)

(本文编辑:王嫚)