

应用于肿瘤磁感应热疗技术的磷酸钙磁性骨水泥介质的研究

王晓文¹, 胡妍文², 李利亚³, 崔瑞瑞², 潘琳⁴, 郭静⁴, 魏兰宾², 何柳², 谢柳倩², 唐劲天^{1,5}

1. 清华大学玉泉医院脑神经疾病研究所, 北京 100049
2. 北京中医药大学中药学院, 北京 100102
3. 中日友好医院中医肿瘤科, 北京 100029
4. 中日友好医院临床医学研究所, 北京 100029
5. 清华大学工程物理系; 粒子技术与辐射成像教育部重点实验室, 北京 100084

摘要 磁性骨水泥是一种能兼顾骨修复和肿瘤热疗的新型磁感应热疗介质。为了获得性能优良的磁性骨水泥, 本研究选择7种微米级金属介质, 分别对其形貌、升温能力、磁学性能进行筛选, 筛选出性能优良的磁性介质。优选出的磁性介质与磷酸钙骨水泥按照不同比例混合, 制备出不同配比的磁性骨水泥。通过测试凝固时间、抗压强度、体外升温等指标, 进一步确定了磁性骨水泥的最优配比, 为其应用提供了实验依据。

关键词 磁感应热疗; 骨肿瘤; 骨水泥

中图分类号 R318

文献标志码 A

doi 10.3981/j.issn.1000-7857.2014.30.006

Novel Magnetic Bone Cement for Tumor Magnetic Hyperthermia

WANG Xiaowen¹, HU Yanwen², LI Liya³, CUI Ruirui², PAN Lin⁴, GUO Jing⁴, WEI Lanbin², HE Liu², XIE Liuqian², TANG Jintian^{1,5}

1. Institute of Neurological Disorders, Tsinghua University Yuquan Hospital, Beijing 100049, China
2. Department of Biological Pharmaceuticals, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China
3. Department of TCM Oncology, China-Japan Friendship Hospital, Beijing 100029, China
4. Institute of Clinical Medical Sciences, China-Japan Friendship Hospital, Beijing 100029, China
5. Key Laboratory of Particle & Radiation Imaging of the Ministry of Education; Department of Engineering Physics, Tsinghua University, Beijing 100084, China

Abstract Magnetic bone cement is a novel magnetic medium that generates heat under alternating fields for bone tumor treatment as well as recovery of bone fracture. Seven kinds of metal microspheres were chosen to test their heat-generating abilities and magnetic properties. The selected materials were then mixed with calcium phosphate bone cements (CPC) at different powder liquid ratios. The setting time, mechanical tests, magnetic properties, and heat-generating abilities of the cement were analyzed. The results showed that the novel CPC-based magnetic bone cement had satisfactory heat-generating ability, which could be further applied for magnetic hyperthermia clinically.

Keywords magnetic hyperthermia; bone tumor; bone cement

收稿日期: 2014-08-13; 修回日期: 2014-08-25

基金项目: 国家自然科学基金项目(80171885, 10775085)

作者简介: 王晓文, 博士, 研究方向为肿瘤磁感应热疗, 电子信箱: wxw3001@126.com; 唐劲天(通信作者), 教授, 研究方向为医学物理与工程, 电子信箱: tangjt@mail.tsinghua.edu.cn

引用格式: 王晓文, 胡妍文, 李利亚, 等. 应用于肿瘤磁感应热疗技术的磷酸钙磁性骨水泥介质的研究[J]. 科技导报, 2014, 32(30): 40-44.

骨是继肺脏和肝脏之后的第3大常见的恶性肿瘤转移部位^[1],发现约70%乳腺癌、前列腺癌患者、约30%~40%甲状腺癌、肾癌支气管癌患者和10%胃肠道肿瘤患者均出现肿瘤骨转移^[2]。肿瘤骨转移可能会出现剧烈骨痛、病理性骨折、椎体压缩、变形、脊髓压迫等骨相关事件,严重影响患者生活质量。

磁感应热疗是利用磁性粒子在交变磁场下产生热量从而达到对局部组织热疗的作用。磁性粒子的注入量与注入位置的可控性大大增强了磁感应热疗的靶向性及控制性,2005年德国已将磁感应热疗技术应用于临床乳腺癌的治疗^[3-5]。唐劲天等^[6]研发的毫米级热疗介质热籽已进入临床试验阶段。20世纪80年代Brown和Chow^[7,8]首次提出磷酸钙骨水泥(calcium phosphate bone cements, CPC),通常由一种或几种磷酸钙粉末(一水磷酸二氢钙、无水磷酸二氢钙、二水磷酸氢钙、无水磷酸氢钙、 α -磷酸三钙、 β -磷酸三钙、羟基磷灰石、磷酸四钙)的混合物与调和用水组成^[9,10]。CPC自问世以来就受到广泛关注,与聚甲基丙烯酸甲酯(polymethylmethacrylate, PMMA)骨水泥相比,CPC具有良好的生物相容性,具有可诱导骨生成和可降解等优点。但是CPC的固化时间长、抗压能力低,只能用于受力单一或不受力的骨修复,限制了其在临床上的运用。如今通过各种方法改善CPC的抗压强度、凝固时间和可注射性等性能,以期扩大其在临床上的应用范围。

本研究室曾将纳米磁流体和微米羰基铁粉添加在PMMA骨水泥中,获得在交变磁场下具有升温效果的磁性骨水泥^[11-13]。但是,由于纳米材料的粒径小,容易穿透人体天然屏障(如血脑屏障等),可能存在远期生物安全性隐患。因此,应寻找一种升温性能良好的微米级磁感应热疗介质用以代替纳米磁流体。本研究对市售的微米磁介质发热性能和磁学性能进行筛选,以期得到发热性能好的新型磁性骨水泥。

1 实验材料

1.1 材料与试剂

磷酸钙骨水泥粉末(上海瑞邦生物材料有限公司),磷酸钙骨水泥预拌液(上海瑞邦生物材料有限公司),不锈钢316L微球(浙江省缙云县创一钢丸有限公司)、不锈钢430空心球(浙江省缙云县创一钢丸有限公司),镍粉、钴42A(河北省南宮市焊博焊接材料有限公司),CF羰基铁粉、EW羰基铁粉(巴斯夫有限公司,德国),四氧化三铁微球(安徽省繁昌县四环颜料有限责任公司)。

1.2 仪器

扫描电子显微镜(QUANTA 200, FEI公司,美国),振动样品磁强计(7303, Lakeshore公司,美国),电子天平(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司),磁感应加热设备(SP-04ABC4KW型,深圳市双平电源技术有限公司),测温设备(HP型光纤探头,西安和其光电有限公司),温度显示设备(PstensorFOT-301型,西安和其光电科技有限公司),维卡仪(北京欧亚中兴科技有限公司),电子万能测力机(DSS-25T, 岛津公司,日本)。

2 实验方法

2.1 微米金属材料表征

2.1.1 样品制备

使用超纯水分别清洗市售的镍粉(Ni)、钴42A(Co42A)、四氧化三铁(Fe_3O_4)、不锈钢316L微球、不锈钢430空心球、羰基铁粉CF和EW,于磁铁上方静沉,弃去上清液,无水乙醇清洗2次。真空干燥箱充分干燥,保存备用。

2.1.2 扫描电子显微镜

每种样品称取1 g,分别装入5 mL离心管,加入适量超纯水超声使其充分分散。取1滴混悬液滴于扫描电子显微镜专用托盘上黏贴的导电胶,充分干燥后于镜下观察其形貌特征。

2.1.3 材料升温性能的测定

精密称取上述样品各0.1 g,分别装入1.5 mL离心管,加入1 mL超纯水并与材料充分混合。将样品依次置于500 kHz, 60 Gs及500 kHz, 30 Gs的交变磁场下测定升温性能。

2.1.4 磁滞回线

分别取少量上述样品,于振动样品磁强计检测其磁学性能。

2.2 微米磷酸钙骨水泥的制备与表征

将磷酸钙骨水泥于4℃储存。使用时首先于23℃室温环境下静置2 h,如表1所示,在CPC粉末中添加羰基铁粉CF和430不锈钢空球,充分搅拌混合均匀,分别命名为CPC、CC20、CC30、CC40、CX5、CX10。按照固液比2:1(即每2 g复合CPC粉末加入1 mL CPC液体)的比例将复合CPC混合均匀,迅速注入圆柱孔不锈钢模具中(直径7 mm,高12 mm),于23℃,湿度大于40%条件下凝固,待完全凝固后脱模,砂纸打磨光滑。

表1 磁性磷酸钙骨水泥成分

Table 1 Composition of the CPC containing microspheres

骨水泥	粉末/g			液体/mL
	CF	430空球	CPC	CPC液体
CPC	0	0	20	10
CC20	4	0	16	10
CC30	6	0	14	10
CC40	8	0	12	10
CX5	0	1	19	10
CX10	0	2	18	10

2.2.1 微米磁性磷酸钙骨水泥凝固时间

实验所需的全部材料仪器参照ISO5833标准于23℃、相对湿度40%~50%条件下静置2 h以上。按表1将复合CPC于坩埚中混合均匀,预混合1 min后注入圆柱孔不锈钢模具(直径7 mm,高12 mm)中。以30 s为间隔释放维卡仪(质量300 g、横截面积1 mm²)探针使其触碰骨水泥表面,计时终点为探针自由下落而不陷入骨水泥并且骨水泥表面无明显痕迹产生,以该时间记为凝固时间,每组样品平行测量5次。

2.2.2 抗压能力

磁性CPC样品抗压强度按照ISO 5833标准进行测定。

先将磁性粒子按表1比例与CPC粉末混合均匀,随后加入CPC预拌液搅拌均匀。预混匀1 min后转移至圆柱孔不锈钢模具(直径7 mm,高12 mm)中。于37℃、相对湿度大于80%条件下等待样品完全凝固。待完全凝固后脱模,并用砂纸将样品表面打磨均匀。室温、大气状态下以20 mm/min的下降速度匀速放下电子万能测力机的十字头测量样品的抗压强度,每组样品平行测量5次。

2.2.3 横截面形貌

将经过抗压能力测试的6种复合磷酸钙骨水泥断裂面黏附于导电胶上,喷金60 s处理,低压扫描电镜下观察横截面。

2.2.4 磁学性能

将按比例混合好的各组磁性CPC制成薄片,在室温条件下通过振动样品磁强计测定样品的磁饱和强度和矫顽力。

2.2.5 体外升温

将等质量的6组CPC复合样品分别置于频率为500 kHz的交变磁场中。在磁场强度为30、60 Gs条件下,通过热电偶测定各样品骨水泥在磁场下的升温状况。

3 结果与讨论

3.1 微米介质形貌

由图1可以看出,羰基铁粉CF和EW为表面光滑的球体,颗粒大小不均,有一定团聚性,且CF粒径稍大于EW样品。Ni为近似球形的颗粒,粒径大小较为均匀。Co42A样品,为表面较光滑的球形,颗粒大小均匀。316L样品为表面较光滑的球形,其表面黏附有数量不等的较小微球,颗粒大小较为均匀。430样品表面光滑成球形。Fe₃O₄样品,形状不规则,呈块状且团聚较为严重。

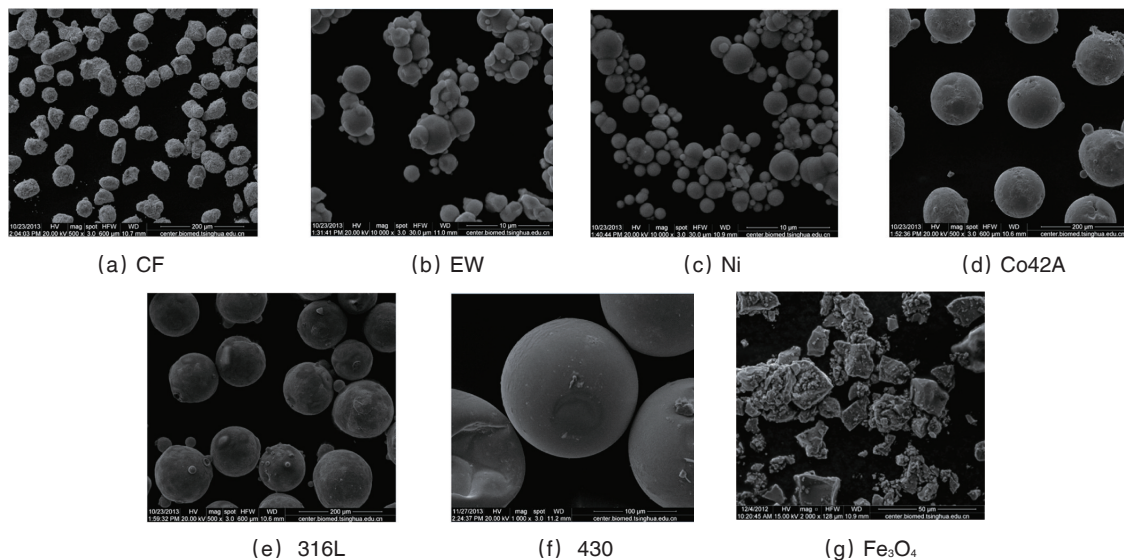


图1 不同微米磁性粒子的扫描电子显微镜图

Fig. 1 SEM images of CF, EW, Ni, Co42A, 360L,430, and Fe₃O₄ particles

3.2 磁学特征

图2结果表明,CF、EW具有较高的磁饱和强度,Ni具有最低的矫顽力。综合考虑,CF具有较低的矫顽力及较高的磁饱和强度,可以考虑作为微米磁性骨水泥的磁性升温介质。

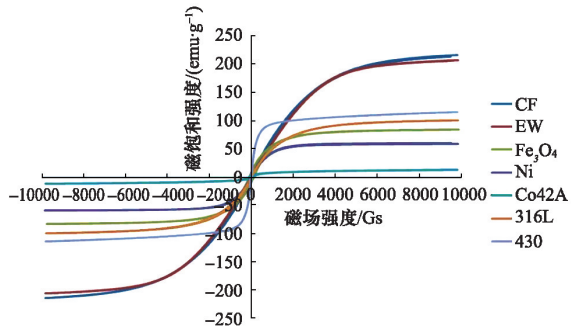


图2 不同微米磁性粒子的磁滞回线

Fig. 2 Hysteresis loop of various magnetic particles

3.3 介质体外升温

图3为500 kHz,30 Gs及60 Gs磁场强度下各微米粒子升温情况。结果表明,430不锈钢空球升温最为迅速,可作为磁性骨水泥的预选磁性升温介质。

3.4 微米磁性磷酸钙骨水泥凝固时间

选取羰基铁粉CF和430不锈钢球作为微米磁性骨水泥的金属介质,按照表1所示的配比配制出磁性骨水泥。

如图4所示,CPC、CC20、CC30、CC40、CX5、CX10的凝固时间依次为701±0.82、990.5±1.29、1002±1.41、1818±9.09、1669.75±1.71、1851.25±2.22 s。随着磁性粒子含量的增加,CPC的凝固实验有所延长。分析认为,可能是因为所添加的磁性材料代替了CPC粉末中的磷酸钙等含钙成分,使得整个体系中钙离子含量降低,以至于延长了固化时间。添加磁性粒子后CPC的凝固时间为15~30 min,可满足临床操作时间。

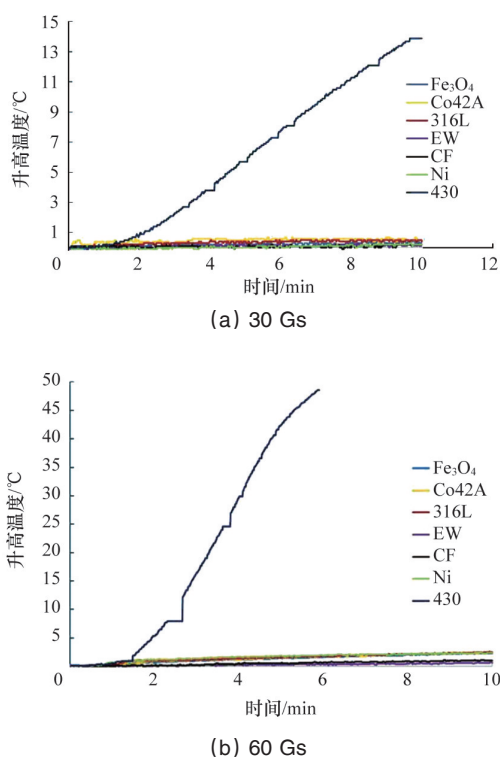


图3 各种微米磁性粒子的体外升温

Fig.3 *In vitro* heat generation of CF, EW, Ni, Co42A, 360L, 430, and Fe₃O₄ microspheres under the alternating magnetic fields of 30 Gs and 60 Gs at a frequency of 500 kHz

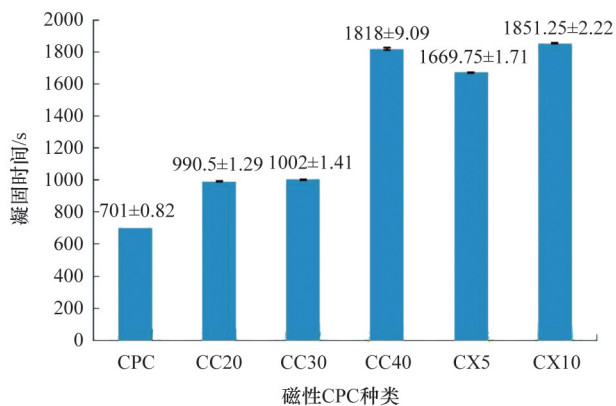


图4 磁性CPC的凝固时间

Fig. 4 Setting time histogram of CPC-based cement specimens

3.5 微米磁性磷酸钙骨水泥抗压能力

由图5可见,随着磁性粒子含量的增加,复合CPC的抗压能力有所降低。且添加不锈钢430空球的复合CPC组抗压能力下降更加明显。分析原因可能是因添加的微米磁性粒子影响了CPC原有结构,且添加磁性材料在骨水泥中分布不均匀所致。不锈钢430空球比CF碳基铁粉的粒径更大,容易在CPC中分布不均,且混合过程中更易混入空气形成微小气泡,故抗压能力下降更为明显。

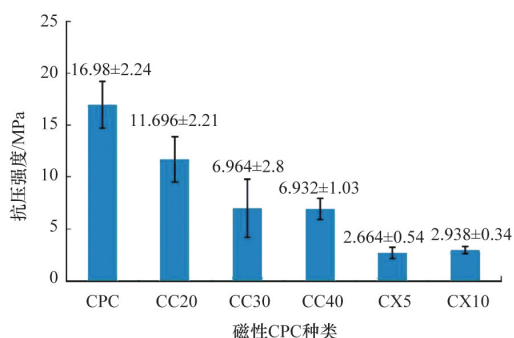


图5 不同磁性CPC的抗压强度

Fig. 5 Compressive strength of various CPC-based cement specimens

3.6 微米磁性磷酸钙骨水泥横截面观察

图6为同等放大倍数下磁性CPC的横截面图。从图中可以看出,CPC的交织能力要优于CF组和CX组。随着CF含量的增加,磁性CPC表面呈现散沙状,分析这肯能是造成CF组抗压能力下降的原因。而在CX组中可以明显看出不锈钢430空球粒径相对对应CPC自身形成的孔洞要大得多,且在空球附近有细小空腔形成,可能是混合过程中混入的气泡所致,这也可能是CX组抗压强度大幅下降的原因。

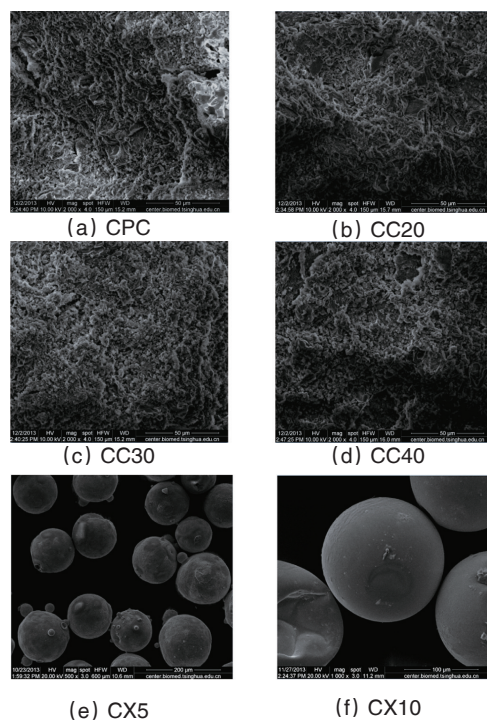


图6 磁性CPC横截面扫描电子显微镜图

Fig.6 SEM images of Cross-sections of various CPC-based cement specimens

3.7 微米磁性磷酸钙骨水泥的磁学性能

由图7可以看出,随着磁性粒子含量的增加,复合CPC的磁饱和和强度有所增加。且CX组磁饱和和强度要略低于CF组,可能是由于不锈钢430空球相对于CF碳基铁粉拥有更低的磁饱和和强度和较低的矫顽力。这也说明了复合磁性CPC的所有磁学性能均由其中所添加的磁性粒子提供。

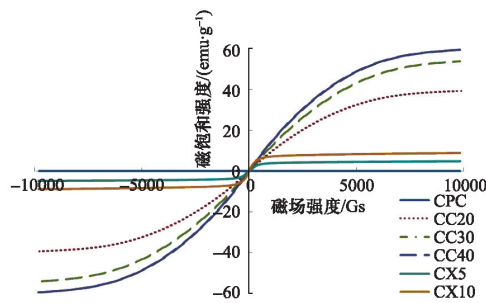


图7 不同配比磁性CPC磁饱和强度

Fig. 7 Degree of magnetic saturation of various CPC-based specimens

3.8 微米磁性磷酸钙骨水泥体外升温变化

由图8可以看出,同一场强交变磁场下,复合磁性骨水泥的升温速率随磁性粒子含量的增加而增加,且添加不锈钢430空心球的CPC组升温明显优于CF组。当热疗温度升至43℃时,即可达到肿瘤热疗的温度^[3],该温度可以诱导肿瘤细胞的DNA破坏而造成肿瘤细胞凋亡^[4]。实际上当温度在40~45℃之间时,便可诱导肿瘤细胞的凋亡^[5]。图8为500 kHz, 30 Gs和60 Gs时磁性CPC升温效果。如图可见,单纯CPC在60 Gs场强下未见明显升温。而添加了升温效果良好的不锈钢430空球的CX组升温效果明显优于CF组,30 Gs场强下CX10样品可在10 min内升高8℃,而当磁场强度达到60 Gs时CX5、CX10样品可在10 min内升高25℃和42℃,均可满足肿瘤磁感应热疗的升温要求。

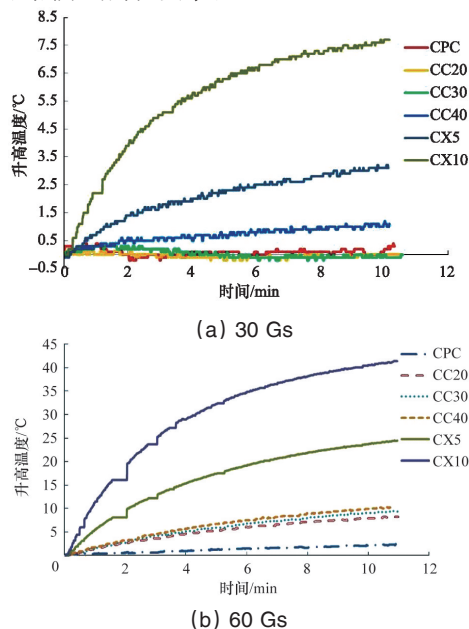


图8 不同配比磁性CPC在500 kHz交变磁场下的升温变化
Fig. 8 Surface temperature change of various CPC-based cements in the AMF at a frequency of 500 kHz

4 结论

磷酸钙骨水泥是一种常用的骨科修复材料,磷酸钙等含钙粉末与水性液体调和后凝结固化而成,具有良好的生物相容性和骨传导性。Ikenaga等^[14,15]和Kawashita等^[16,17]将磁性纳米粒

子添加入磷酸钙骨水泥中,首次提出了磁性骨水泥的概念并应用于临床四肢骨肿瘤转移的治疗,取得了较好治疗效果。

本研究选用的磁学性能较好的羰基铁粉CF和升温性能好的空心430不锈钢微球,制备了CF、CX两种磁性CPC并分别进行不同磁性粒子含量分类。对6种骨水泥进行凝固时间、抗压强度、SEM、磁学性质以及体外升温测试发现,虽然添加磁性材料后可达到热疗所需温度,但是新磁性骨水泥抗压强度下降明显,故将磁性CPC做为骨转移治疗及修复材料用于肿瘤热疗仍有待进一步研究。

参考文献(References)

- [1] Uchida A, Wakabayashi H, Okuyama N, et al. Metastatic bone disease: Pathogenesis and new strategies for treatment[J]. Journal of Orthopaedic Science, 2004, 9(4): 415-420.
- [2] Coleman R E. Clinical features of metastatic bone disease and risk of skeletal morbidity[J]. Clinical Cancer Research, 2006, 12(20 Pt 2): 6243s-6249s.
- [3] Oliveira T R, Stauffer P R, Lee C T, et al. Magnetic fluid hyperthermia for bladder cancer: A preclinical dosimetry study[J]. International Journal of Hyperthermia, 2013, 29(8): 835-844.
- [4] Sadhukha T, Niu L, Wiedmann T S, et al. Effective elimination of cancer stem cells by magnetic hyperthermia[J]. Molecular Pharmacology, 2013, 10(4): 1432-1441.
- [5] Johannsen M, Thiesen B, Wust P, et al. Magnetic nanoparticle hyperthermia for prostate cancer[J]. International Journal of Hyperthermia, 2010, 26 (8): 790-795.
- [6] 王宇瀛, 赵凌云, 王晓文, 等. 磁感应热疗治疗肿瘤研究进展和临床试验[J]. 科技导报, 2010, 28(20): 101-107.
- [7] Wang Yuying, Zhao Lingyun, Wang Xiaowen, et al. Progress on magnetic hyperthermia and clinical trials[J]. Science & Technology Review, 2010, 28(20): 101-107.
- [8] Brown W E, Chow L C. A new calcium phosphate cement water setting cement[C]//Cements Research Progress, Westerville, OH: American Ceramic Society, 1986: 352-379.
- [9] Brown W E, Chow L C. Combinations of sparingly soluble calcium phosphates in slurried and paste as mineralizers and cements: US, 4612053[P]. 1986-09-16.
- [10] Guo D G, Xu K W, Zhao X Y, et al. Development of a strontium-containing hydroxyapatite bone cement[J]. Biomaterials, 2005, 26(19): 4073-4083.
- [11] dos Santos L A, Carrodeguas R G, Boschi A O, et al. Dual-setting calcium phosphate cement modified with ammonium polyacrylate[J]. Artificial Organs, 2003, 27(5): 412-418.
- [12] Tang Z H, Wang X W, Hu Y W, et al. Preparation and characterization of PMMA-based cements containing magnetic nanoparticles for the magnetic hyperthermia[J]. Advanced Materials Research, 2013, 647: 155-159.
- [13] 唐正海, 王晓文, 张友仁, 等. 磁性复合骨水泥的体外细胞毒性[J]. 中国组织工程研究, 2013, 17(21): 3937-3943.
- [14] Tang Zhenghai, Wang Xiaowen, Zhang Youren, et al. In vitro cytotoxicity of magnetic bone cements[J]. Chinese Journal of Tissue Engineering Research, 2013, 17(21): 3937-3943.
- [15] 胡研文, 王晓文, 唐正海, 等. 微米级羰基铁粉磁性骨水泥的制备和表征[J]. 中国组织工程研究, 2013, 17(47): 8155-8161.
- [16] Hu Yanwen, Wang Xiaowen, Tang Zhenghai, et al. Preparation and characterization of polymethylmethacrylate-based magnetic bone cements containing micron carbonyl iron powder [J]. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu, 2013, 17(47): 8155-8161.
- [17] Ikenaga M, Ohura K, Yamamoto T, et al. Localized hyperthermia treatment of experimental bone tumors with ferromagnetic ceramics[J]. Journal of Orthopaedic Research, 1993, 11(6): 849-855.
- [18] Ikenaga M, Ohura K, Kototura Y, et al. Hyperthermia treatment of canine tibia through RF inductive heating of an intramedullary nail: New experimental approach to hyperthermia for metastatic bone tumours[J]. International Journal of Hyperthermia, 1994, 10(4): 507-516.
- [19] Kawashita M, Kawamura K, Li Z. PMMA-based bone cements containing magnetite particles for the hyperthermia of cancer[J]. Acta Biomaterialia, 2010, 6(8): 3187-3192.
- [20] Matsumine A, Kusuzaki K, Matsubara T, et al. Novel hyperthermia for metastatic bone tumors with magnetic materials by generating an alternating electromagnetic field[J]. Clinical & Experimental Metastasis, 2007, 24(3): 191-200.

(编辑 田恬)