doi: 10.20239/j.issn.1671-9492.2026.08.021

海基纳米羟基磷灰石对HeLa细胞和CHO细胞生长的影响

申士富[1,2,3],孙传尧[1,2]

(1. 矿冶科技集团有限公司,北京 100160;
2. 矿物加工科学与技术全国重点实验室,北京 102628;
3. 东北大学,沈阳 110819)

摘 要: 前期研究文献表明纳米羟基磷灰石(n-HAP)可抑制肺癌、肝癌、骨肉瘤、胃癌等细胞生长。本文从“基因”角度研究了海底磷灰石磷源与陆地磷灰石磷源对HeLa细胞和CHO细胞的生物相容性。采用化学沉淀法自制了四种n-HAP,其中HAP-A-4的磷酸原料由陆地磷灰石制备,HAP-POLYA为聚丙烯酰胺改性的HAP-A-4,HAP-WC、HAP-TC的磷酸原料分别是海底磷灰石制备的未脱氯磷酸和脱氯磷酸。采用MTT法研究了四种n-HAP对HeLa细胞和CHO细胞生长的影响,采用FCM法研究了四种n-HAP对HeLa细胞的毒性。结果表明,HAP-A-4、HAP-WC、HAP-TC都可抑制HeLa细胞生长,但也可抑制CHO细胞生长;对HeLa细胞抑制率顺序为HAP-TC>HAP-WC>HAP-A-4>HAP-POLYA,用海底磷灰石制备的HAP对HeLa细胞的抑制表现出一定的“基因”特性;四种n-HAP对HeLa细胞无生物毒性。

关键词: 羟基磷灰石;海底磷灰石;生物相容性;HeLa细胞;CHO细胞

中图分类号: TD989;TB383 **文献标志码:** A **文章编号:** 1671-9492(2026)08-0234-13

Effects of Marine-Derived Nano-Hydroxyapatite on the Growth of HeLa Cells and CHO Cells

Shen Shifu[1,2,3], Sun Chuanyao[1,2]

(1. BGRIMM Technology Group, Beijing 100160, China;
2. State Key Laboratory of Mineral Processing, Beijing 102628, China;
3. Northeastern University, Shenyang 110819, China)

Abstract: Previous studies have demonstrated that nano-hydroxyapatite (n-HAP) can inhibit the proliferation of lung cancer, liver cancer, osteosarcoma, gastric cancer and other tumor cells. From a genetic perspective, this paper investigated the biocompatibility of phosphorus sources derived from submarine apatite and terrestrial apatite towards HeLa cells and CHO cells. Four types of n-HAP were synthesized via the chemical precipitation method. Among them, the phosphoric acid raw material for HAP-A-4 was prepared from terrestrial apatite; HAP-POLYA represents polyacrylamide-modified HAP-A-4. The phosphoric acid feedstocks for HAP-WC and HAP-TC were undechlorinated phosphoric acid and dechlorinated phosphoric acid produced from submarine apatite, respectively. The MTT assay was utilized to explore the effects of the four n-HAP samples on the growth of HeLa and CHO cells, and flow cytometry (FCM) was adopted to evaluate the cytotoxicity of the four n-HAP samples against HeLa cells.The results revealed that HAP-A-4, HAP-WC and HAP-TC were capable of suppressing the growth of both HeLa cells and CHO cells. The inhibitory effect on HeLa cells followed the order: HAP-TC>HAP-WC>HAP-A-4>HAP-POLYA. The HAP synthesized using submarine phosphorite exhibited certain genetic-related inhibitory characteristics against HeLa cells. In addition, the four n-HAP samples showed no cytotoxicity to HeLa cells.

Key words: hydroxyapatite; submarine apatite; biocompatibility; HeLa cells; CHO cells

---

收稿日期: 2026-07-15
基金项目: 中国大洋矿产资源研究开发协会攻关课题(DY105-2-04-01-11)
作者简介: 申士富(1966—),男,山东成武人,博士,正高级工程师,主要研究方向为矿物加工工程技术及固废资源综合利用。

0　引言

纳米羟基磷灰石(Nano-Hydroxyapatite，简写n-HAP)是哺乳动物骨组织无机组成的主要成分，人造n-HAP具有良好的生物相容性、生物活性、骨传导性，被认为是一种最具潜力的人体硬组织替换材料[1-4]。研究表明，由于n-HAP具有高表面体积比、高反应活性以及特殊的微观形貌等，使得纳米羟基磷灰石在纳米体系构建及生物医学领域有很大的应用前景，可以抑制肺癌、肝癌、骨肉瘤、胃癌等多种癌细胞的生长[5-6]。其主要原理是n-HAP可释放高浓度Ca^{2+}，肿瘤靶向羟基磷灰石纳米药物可以通过线粒体Ca^{2+}超载途径来诱导结肠癌细胞出现细胞凋亡并增强免疫应答[7]。Aoki等[8-13]研究发现，某些纳米材料可以杀死癌细胞，有效抑制肿瘤生长，而对正常细胞组织无损害，纳米HAP对人的肺癌、肝癌、食道癌等多种肿瘤细胞皆有一定作用。动物实验表明，向老鼠体内肿瘤注射n-HAP溶胶，7天后抑瘤率达到66.1%。纳米材料若具备杀死癌细胞、不伤害正常细胞的奇特功效，必须具备两个条件：一是纳米粒子具备一定的超微尺度，在20 nm到100 nm之间；二是纳米粒子要呈“均匀”分布，才具“药效”[13-14]。方玉等[15]的研究认为，经不同方式改性的HAP具有不同的生物活性。Jabir等[16]研究认为掺杂Cu的HAP纳米复合材料可作为一种新型的诱导细胞凋亡的物质，可抑制NF-kB在前列腺癌细胞中的转移。Khajavi等[17]研究了负载小檗碱的n-HAP/明胶支架用于治疗骨癌，Barbanente等[18]进行了硒掺杂n-HAP与铂-双膦酸复合物治疗骨癌的研究。Nguyen等[19]等开展了碳纳米管、HAP、石墨烯复合材料对乳腺癌细胞的毒性研究，结果表明该类复合材料具有显著的细胞毒性，能够抑制乳腺癌细胞的生长和迁移，且这种毒性效应具有明显的剂量依赖性和时间依赖性。

1972年，日本学者Hidedi Aoki、美国学者Jarcho相继成功合成了HAP并烧结成了陶瓷[20]。n-HAP属无机材料，主要采用化学沉淀法、水热反应法和溶胶-凝胶法等制备[21-28]，所用的钙源主要是$Ca(OH)_2$、$Ca(NO_3)_2$、$Ca(H_2PO_4)_2\cdot H_2O$、[$Ca(NO_3)_2\cdot 4H_2O$]等，磷源主要是分析纯或化学纯H_3PO_3。目前市售分析纯或化学纯H_3PO_3中P的来源全部是陆地磷灰石。

陆地磷矿床主要分为磷灰石矿床和磷块岩矿床两大类，由岩浆作用、变质作用及沉积与堆积作用形成，其成因类型包括沉积型磷块岩矿床、沉积变质型磷灰石矿床、岩浆型磷灰石矿床及次生型矿床等，其中沉积型磷块岩矿床占中国总储量的75.5%[29-31]。根据美国地质调查局2021年的数据，世界磷资源储量约为710亿t，主要成因类型为沉积型、岩浆岩型两大类，部分地区具有少量的变质型及岛屿型磷矿床，其中沉积型磷矿主要由浅海环境的生物沉积或生物化学沉积形成，如中国贵州开阳(震旦系陡山沱组)、云南昆阳(下寒武统)、澳大利亚乔治纳盆地(中寒武统)、中国四川什邡(泥盆系)、美国两北部(二叠系)、摩洛哥和美国东海岸一带(白垩纪新近纪)的磷块岩矿床。

海底磷灰石储量丰富，主要分布在陆架区，其次是海洋的海山区和海台，若以10%P_2O_5含量为基底计算，所有陆架区磷钙土的含量约为3.0×10^{11} t[32]。有关磷钙土形成过程的假说有三种，即生物成因说、化学成因说、火山成因说，微生物成因说、生物-化学成因说为派生学说[33]，海底磷灰石主要通过生物沉积(生物遗体及生物代谢残余物质的直接沉积成矿)或生物化学沉积(生物体的合成、分解作用及周围环境的物理化学条件改变而引起的物质沉积富集成矿)等作用富集于海底，地质形成年代主要是中新世、晚白垩纪、全新世等，与陆地磷块岩矿相比，形成年代近很多。

HeLa细胞(子宫颈癌细胞)源自一位美国妇女海莉耶塔·拉克斯(Henrietta Lacks)的子宫颈癌细胞的细胞系，在医学界被广泛应用于肿瘤研究、生物实验或者细胞培养，是医学研究中非常重要的样本。CHO细胞(中国仓鼠卵巢细胞，Chinese Hamster Ovary)，是一种常见的可原代培养的哺乳动物细胞来源，由荷兰科学家格罗斯特1920年发现，被广泛用于发酵、基因工程、生物新药研究和医药构建等研究。同时研究药剂对HeLa细胞生长的抑制作用及对CHO细胞的凋亡作用，是研究药剂对子宫颈癌药效及副作用的常用方法。

众所周知，中药材的疗效和产地有很大关系。生物学基因工程技术、材料基因工程等快速推动了生物技术及材料技术的发展[34]。孙传尧院士提出“矿床、矿石和矿物基因是决定可选性的重要因素”[35]，受此启发，本文以海底磷灰石为原料制备食品级磷酸(本文简称“海基磷酸”)，并以海基磷酸进一步合成纳米羟基磷灰石(简称“海基n-HAP”)，研究了陆基和海基n-HAP对HeLa细胞及CHO生物相容性的差异，探讨其潜在药学特性，以及海基n-HAP是否具有独特的生物学“基因”特性。

1　试验原料

1.1　海底磷灰石

试验所用海底磷灰石取自中国大洋协会“十五”

期间“海洋四号”科考船DY105-11航次采集的CLD04站位的大洋富钴结壳基岩(以下简称为CLD04样品)。该样品外观为浅黄色固体,个别地方有黑色斑点,最大块质量约为1 kg,其照片见图1,SEM照片如图2所示,主要化学成分如表1所示,XRD图谱如图3所示。



图1 CLD04样品的实物图

Fig. 1 Physical item photo of CLD04 samples

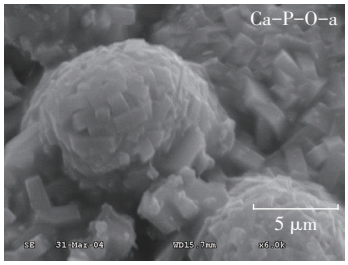


图2 CLD04样品的SEM图

Fig. 2 SEM photo of CLD04 sample

研究表明,CLD04样品的结晶为均匀六面体,结晶度较好;主要矿物组成为氟碳磷灰石;磷灰石晶格中CO_3^{2-}对PO_4^{3-}的替代率(以CO_2表示)约为9.38%,与陆上磷灰石相比,该替代率远高于陆上磷矿中CO_2含量最高者之一的摩洛哥磷矿的3.4%[36]。

1.2 其他试验原料

试验其他材料包括分析纯的$Ca(OH)_2$、浓磷酸、氨水、酒精、磷酸三丁酯、聚丙烯酰胺等,皆采购自国药集团化学试剂有限公司。

1.3 海基磷酸的制备方法

海基磷酸是以CLD04海底磷灰石样品为原料,采用硫酸法制备成粗磷酸,然后经过萃取脱除主要杂质、$AgNO_3$脱除Cl^-离子制备而成,海基磷酸的纯度达到了《食品安全国家标准 食品添加剂 磷酸》(GB1886.15—2015)要求,其主要化学成分见表2。

1.4 n-HAP制备方法

n-HAP采用化学沉淀法制备,试验装置示意图见图4。首先控制恒温水浴的温度为37 ℃、搅拌器线速度为99 m/min、$Ca(OH)_2$与H_3PO_4的摩尔浓度比为5∶3、稀磷酸的滴加速度为6.32 mL/min,用氨水调整溶液的pH值为11;搅拌80 min后,陈化24 h,最后过滤、酒精洗涤、烘干、800 ℃煅烧1 h,所得产品即为n-HAP。HAP-POLYA样品是在反应液中加入2%(占$Ca(OH)_2$的质量分数)的聚丙烯酰胺(MW≥300万)作为改性剂[37]。

1.5 n-HAP基本特性

本研究合成了四种n-HAP,编号分别为HAP-A-4、HAP-POLYA、HAP-TC、HAP-WC,其中HAP-A-4、HAP-POLYA是以陆基磷酸(市购分析纯磷酸)为原料制备而成,HAP-TC、HAP-WC是以海基磷酸制备而成,四种n-HAP的合成原料及基本物化特性见表3,XRD对比图谱见图5、SEM照片见图6、HAP-A-4及HAP-POLYA样品的IR图谱分别见图7、8。

由图5可知,采用陆基磷酸制备的n-HAP,羟基磷灰石的特征衍射峰明显,结晶度很高;采用海基脱氯磷酸制备的n-HAP(HAP-TC样品)也具有较强的羟基磷灰石特征衍射峰,但是衍射峰的强度相对HAP-4较低,说明结晶度较差;采用海基未脱氯磷酸制备的n-HAP(HAP-WC样品)的羟基磷灰石特征峰衍射强度较高,说明其结晶度较高。由表3及图6可知,四种n-HAP的结晶形貌皆为纤维状,但是HAP-WC的长径比较小;HAP-POLYA样品的平均粒径较小,分散性较差,结合图7、图8分析,主要原因是聚丙烯酰胺吸附在HAP中的活性位置,使晶体的生长受到阻碍。

2 生物性试验及检测方法

本文采用HeLa细胞和CHO细胞进行生物活性试验,采用四唑盐比色法(MTT法)进行HeLa细胞和CHO细胞的活性检测,采用流式细胞术(Flow Cytometry,FCM)进行HeLa细胞凋亡的检测。HeLa细胞和CHO细胞由北京师范大学细胞增殖及调控教育部重点实验室提供;MTT、DMEM培养基、小牛血清分别为Sigma公司、Gibco公司、HyClone公司提供的产品;FCM测试仪的型号为CytoFLEX。

表1 CLD04样品的主要化学组成

Table 1 Main chemical compositions of CLD04 sample /%

成分	SiO_2	Al_2O_3	CaO	P_2O_5	Na_2O	Fe_2O_3	MgO	SO_2	CoO	F	Cl	CO_2	合计
含量	0.84	1.04	48.86	28.90	1.62	0.23	0.50	1.40	0.005	3.96	1.38	9.38	98.12

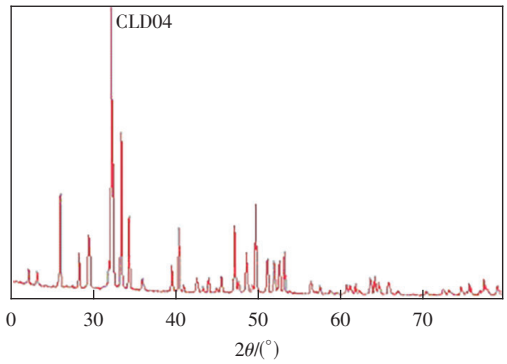


图 3　CLD04 样品的 XRD 图谱

Fig. 3　XRD spectrum of CLD04 sample

2.1　细胞培养

HeLa 细胞和 CHO 细胞培养于含 10% 小牛血清、1×10^5 U/L 青霉素、链霉素的 DMEM 培养液中，于 37 ℃、5%CO_2 培养箱内常规传代培养。细胞贴壁生长 24 h，至 70%～80% 单层后更换含药培养基进行试验。24 h 培养的 HeLa 细胞及 CHO 细胞的扫描电镜照片分别如图 9 和图 10 所示。

2.2　MTT 法试验

试验参考 Hussain 方法[38]，取对数生长期的细胞。经胰酶消化后吹打成单细胞悬液，调整浓度为 1×10^5 个细胞/mL，接种于 96 孔培养板中，每孔 100 μL，24 h 后弃原培养液。加含不同浓度药物的新培养液，分别为 25、50、100、200、300 μg/mL 及对照组(0 μg/mL)，每浓度设 4 个复孔，作用 48 h 后，加入新配制的 MTT 液(5 μg/mL)，每孔 20 μL，继续培养 4 h，弃上清液。加入二甲亚砜(DMSO)150 μL，混均后，用酶标仪于 570 nm 处读取吸光度 OD 值(A 值)，取 4 孔平均值，计算抑制率。细胞抑制率计算公式：细胞抑制率＝(1－实验组 A 值/对照组 A 值)×100%。

表 2　海基磷酸的化学组成

Table 2　Chemical components of marine-derived phosphoric acid　　/%

成分	H_3PO_4	Ca^{2+}	TF_e	Mg^{2+}	Al^{3+}	SO_4^{2-}	Cl^-	F^-①
含量	85.0	0.003	0.001 0	0.001 1	＜0.001	未检出	≤0.005	未检出
GB1886.15—2015	75.0～86.0							≤0.0010
成分	重金属①	As①	Co	Mn	Zn	Ba	Ag	易氧化物
含量	5	1	0.000 11	0.000 66	0.008	0.000 12	0.000 14	≤0.005
GB1886.15—2015	≤5.0	≤0.5						≤0.012

注：①单位为 mg/kg。

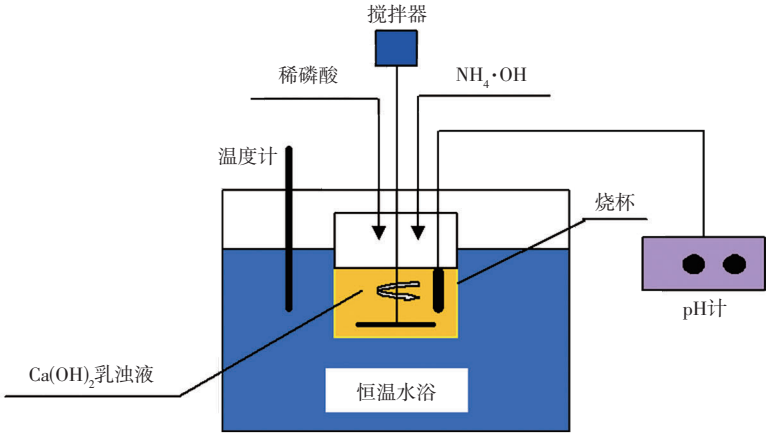


图 4　制备 n-HAP 的试验装置

Fig. 4　The test device for preparing n-HAP

表 3　四种 n-HAP 的基本特性

Table 3　Basic properties of four types of n-HAP raw materials

HAP 编号	主要原料	结晶形貌	长径比	平均粒径/nm	分散性
HAP-A-4	分析纯磷酸及 $Ca(OH)_2$	纤维状	4∶1	29.0	较好
HAP-POLYA	分析纯磷酸及 $Ca(OH)_2$，用聚丙烯酰胺改性	纤维状	4∶1	18.8	较差
HAP-TC	海底磷灰石制备的磷酸并用 $AgNO_3$ 脱 Cl^-[36]，分析纯 $Ca(OH)_2$	纤维状	4∶1	31.8	较好
HAP-WC	海底磷灰石制备的未脱氯磷酸[36]、分析纯 $Ca(OH)_2$	纤维状	3∶1	32.9	较好

注：平均粒径采用 XRD 方法及 Scherrer 公式计算获得。

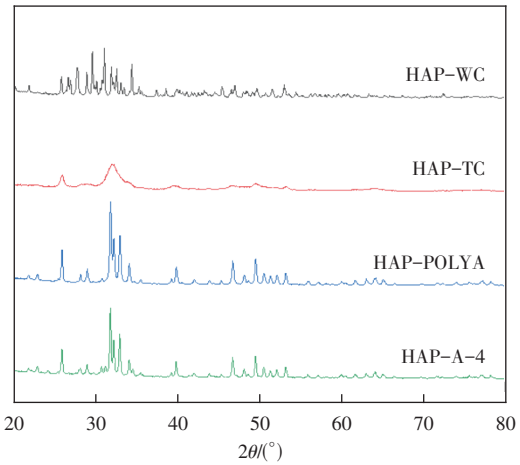


图5 四种n-HAP的XRD图谱

Fig. 5 XRD spectra of four types n-HAP

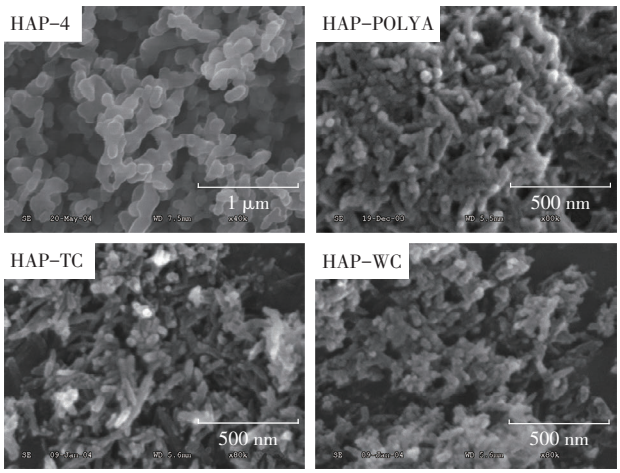


图6 四种n-HAP的SEM图

Fig. 6 SEM photos of four types n-HAP

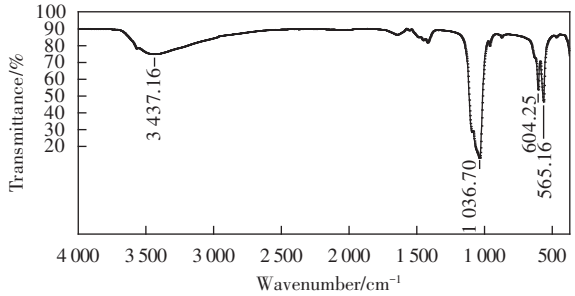


图7 HAP-A-4样品的IR图谱

Fig. 7 IR spectrum of HAP-A-4 sample

2.3 FCM检测

收集经浓度分别为100、300 μg/mL的HAP处理48 h后的HeLa细胞，用胰酶消化制成单细胞悬液，离心弃上清液，沿管壁缓慢加入1 mL 70%预冷(−20 ℃)的乙醇固定，4 ℃过夜后再经PBS洗2次，100 μL RNA酶(100 μg/mL)消化(37 ℃)30 min，再加入100 μL PI

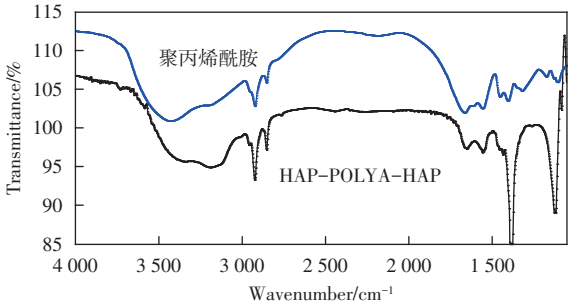


图8 HAP-POLYA与HAP的IR差示图

Fig. 8 IR differential diagrams of HAP-POLYA and HAP

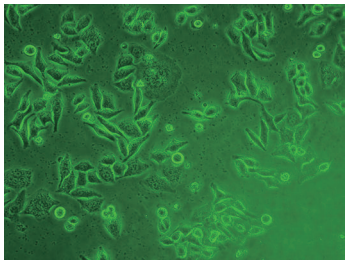


图9 HeLa细胞的TEM图

Fig. 9 TEM pattern of HeLa cells

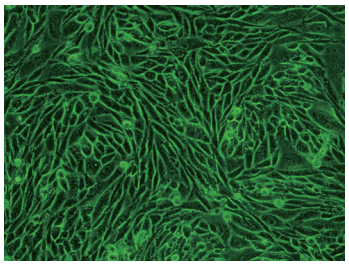


图10 CHO细胞的TEM图

Fig. 10 TEM pattern of CHO cells

(50 μg/mL)染色液，4 ℃闭光30 min后上流式细胞仪测试，每次计细胞数1.0×10⁶个，激发波长为488 nm，采用分析软件CellQuest计算细胞凋亡率。

3 试验结果

3.1 MTT法

3.1.1 HAP-A-4对HeLa细胞及CHO细胞的抑制效果

HAP-A-4对HeLa细胞及CHO细胞的抑制率与浓度、细胞培养时间的关系分别见图11、12。结果表明：在试验浓度范围内，HAP-A-4样品对HeLa细胞、CHO细胞具有一定抑制作用；随HAP浓度提高，HeLa细胞培养时长为1、2 d的抑制率整体呈提高趋势，但是3 d的抑制率先增高再降低然后又提高；CHO细胞抑制率与HAP浓度关系不明显。随培养时

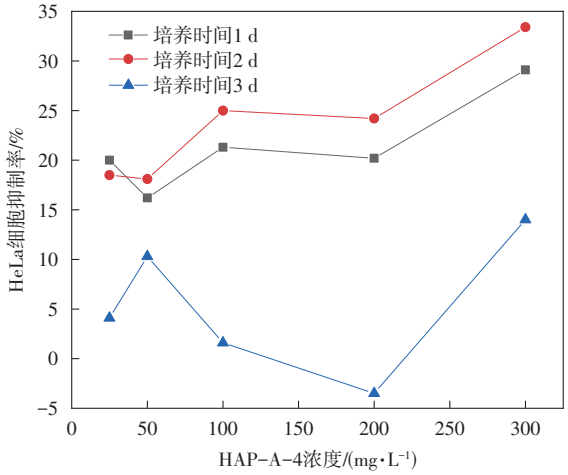


图 11　HeLa 细胞抑制率与 HAP-A-4 浓度的关系

Fig. 11　Relationship between inhibition rates of HeLa cells and concentration of HAP-A-4

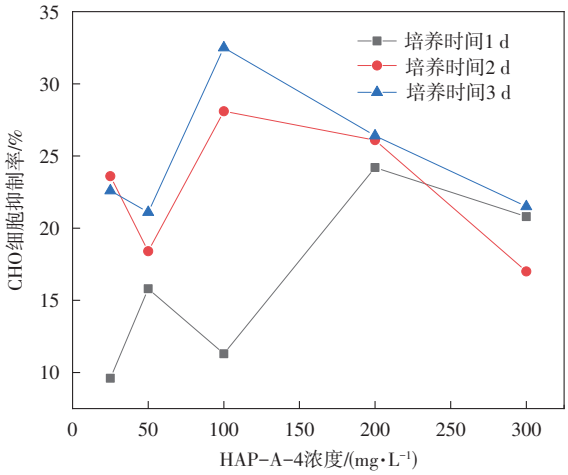


图 12　CHO 细胞抑制率与 HAP-A-4 浓度的关系

Fig. 12　Relationship between inhibition rates of CHO cells and concentration of HAP-A-4

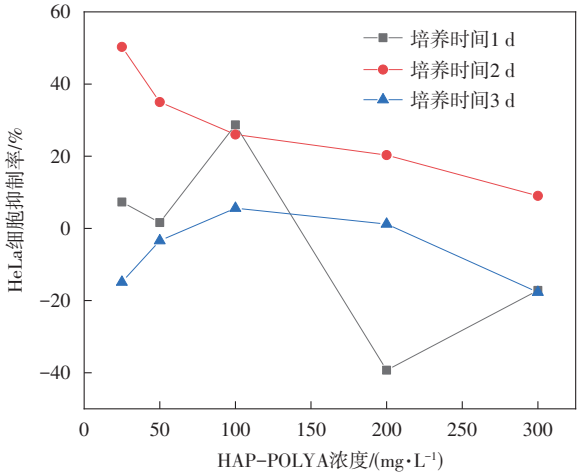


图 13　HeLa 细胞抑制率与 HAP-POLYA 浓度的关系

Fig. 13　Relationship between inhibition rates of HeLa cells and concentration of HAP-POLYA

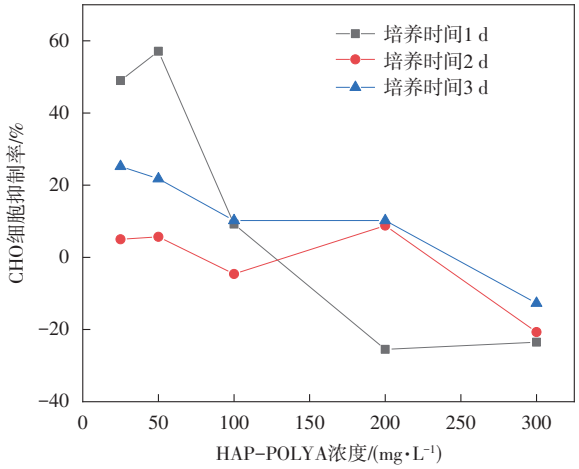


图 14　CHO 细胞抑制率与 HAP-POLYA 浓度的关系

Fig. 14　Relationship between inhibition rates of CHO cells and concentration of HAP-POLY

间延长 HAP-A-4 对 HeLa 细胞抑制率具有降低趋势，而对 CHO 细胞抑制率呈现增加趋势。

3.1.2　HAP-POLYA 对 HeLa 细胞及 CHO 细胞的抑制效果

HAP-POLYA 对 HeLa 细胞及 CHO 细胞的抑制率与浓度、细胞培养时间的关系分别见图 13、14。结果表明：HAP-POLYA 对 HeLa 细胞抑制率总体随 HAP 浓度增加而降低，并且有可能促进 HeLa 细胞生长，培养时长为 2 d 时抑制率最高，其他培养时长没有很明显的抑制规模；HAP-POLYA 对 CHO 细胞具有抑制作用，但是和浓度关系不大，培养时长为 2 d 时抑制率较低。

3.1.3　HAP-WC 对 HeLa 细胞及 CHO 细胞的抑制效果

HAP-WC 对 HeLa 细胞及 CHO 细胞的抑制率与 HAP-WC 浓度、细胞培养时间的关系分别见图 15、16。结果表明：HAP-WC 样品在 50 mg/mL 时，对 HeLa 细胞就具有较高抑制作用，浓度提高后抑制率反而降低；培养时长为 1 d 时，HeLa 抑制率基本最高，2 d 时总体最低；HAP-WC 对 CHO 细胞也具有抑制作用，浓度越高抑制率越高，培养时长为 2 d 的抑制率总体最高，1 d 的总体最低。

3.1.4　HAP-TC 对 HeLa 细胞及 CHO 细胞的抑制效果

HAP-TC 对 HeLa 细胞及 CHO 细胞的抑制率与浓度、细胞培养时长的关系分别见图 17、18。结果表明：在试验浓度范围内，HAP-TC 对 HeLa 细胞抑制率随浓度升高而升高，并且培养时长为 3 d 时，抑制率提高明显；HAP-TC 对 CHO 细胞也具有一定抑制作用，培养时长为 1、3 d 时，抑制率总体随 HAP 浓度的

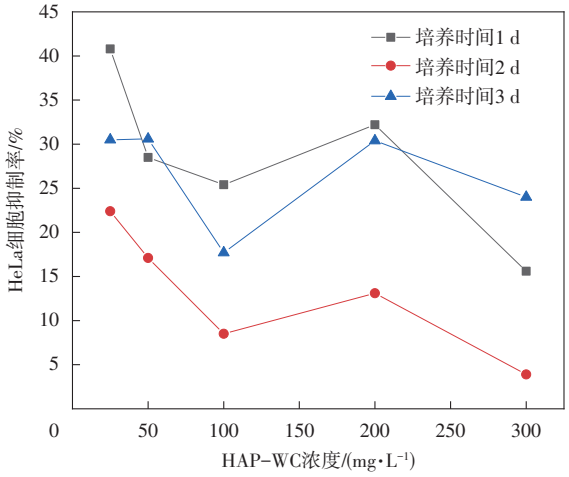


图 15 HeLa 细胞抑制率与 HAP-WC 浓度的关系

Fig. 15 Relationship between inhibition rates of HeLa cells and concentration of HAP-WC

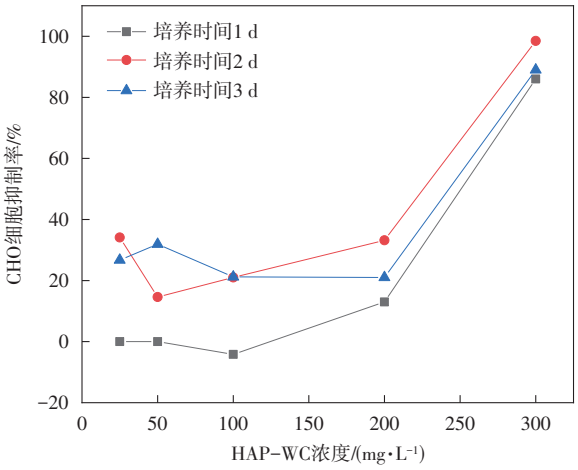


图 16 CHO 细胞抑制率与 HAP-WC 浓度的关系

Fig. 16 Relationship between inhibition rates of CHO cells and concentration of HAP-WC

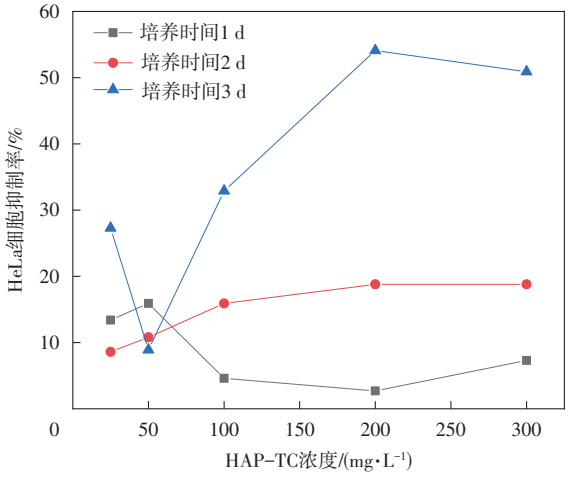


图 17 HeLa 细胞抑制率与 HAP-TC 浓度的关系

Fig. 17 Relationship between inhibition rates of HeLa cells and concentration of HAP-TC

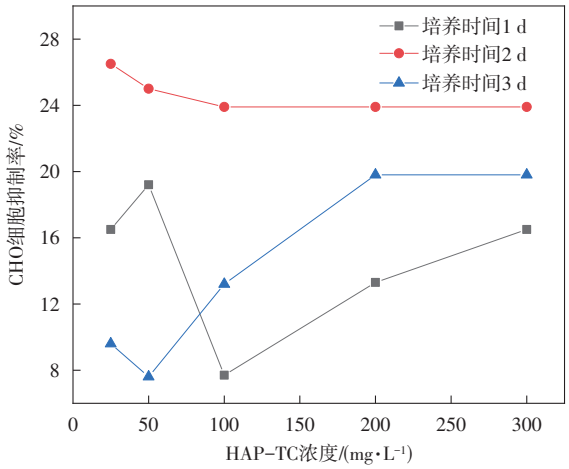


图 18 CHO 细胞抑制率与 HAP-TC 浓度的关系

Fig. 18 Relationship between inhibition rates of CHO cells and concentration of HAP-TC

提高而提高，2 d时随HAP浓度提高而降低，但降低趋势不明显。

3.1.5 HeLa细胞及CHO细胞抑制率与HAP种类及用量的关系

不同种类及用量HAP对HeLa细胞及CHO细胞的抑制率关系分别见图19、图20。综合比较可知：1)不同培养时间及浓度情况下，不同种类HAP对HeLa细胞、CHO细胞表现出不同的抑制性；2)在用量大于100 mg/L、培养时间为3 d时，HAP-TC对HeLa的抑制率高于其他类型HAP，低于50 mg/L时，HAP-WC对HeLa具有较高抑制性；3)综合比较，HAP对HeLa细胞抑制率从大到小的顺序为HAP-TC>HAP-WC>HAP-A-4>HAP-POLYA；4)HAP对HeLa细胞和CHO细胞都具有抑制性，特别是当培养时长为1 d时，HAP-POLYA样品对CHO细胞的抑制率比较高。

3.2 FCM法试验结果

流式细胞仪(FCM方法)从分子水平上对细胞进行高灵敏度、高速度和高精度的分析和分选，可定量检测细胞凋亡。在不同浓度下，四种HAP样品分别处理HeLa细胞48 h后，HeLa细胞的流式结果如图21和表4所示。

与对照组比较可知，在G_1期，除HAP-POLYA样品浓度为100 mg/L时细胞周期数据差异较大外，其他试验的差异相对较小，说明HAP-A-4、HAP-WC、HAP-TC样品在试验浓度下与HeLa细胞生物相容性较好，HAP-POLYA样品在100 mg/L浓度下与HeLa细胞生物相容性较差，其结果与MTT法所示剂量依赖效应和时间效应较一致；在G_2期，所有样品

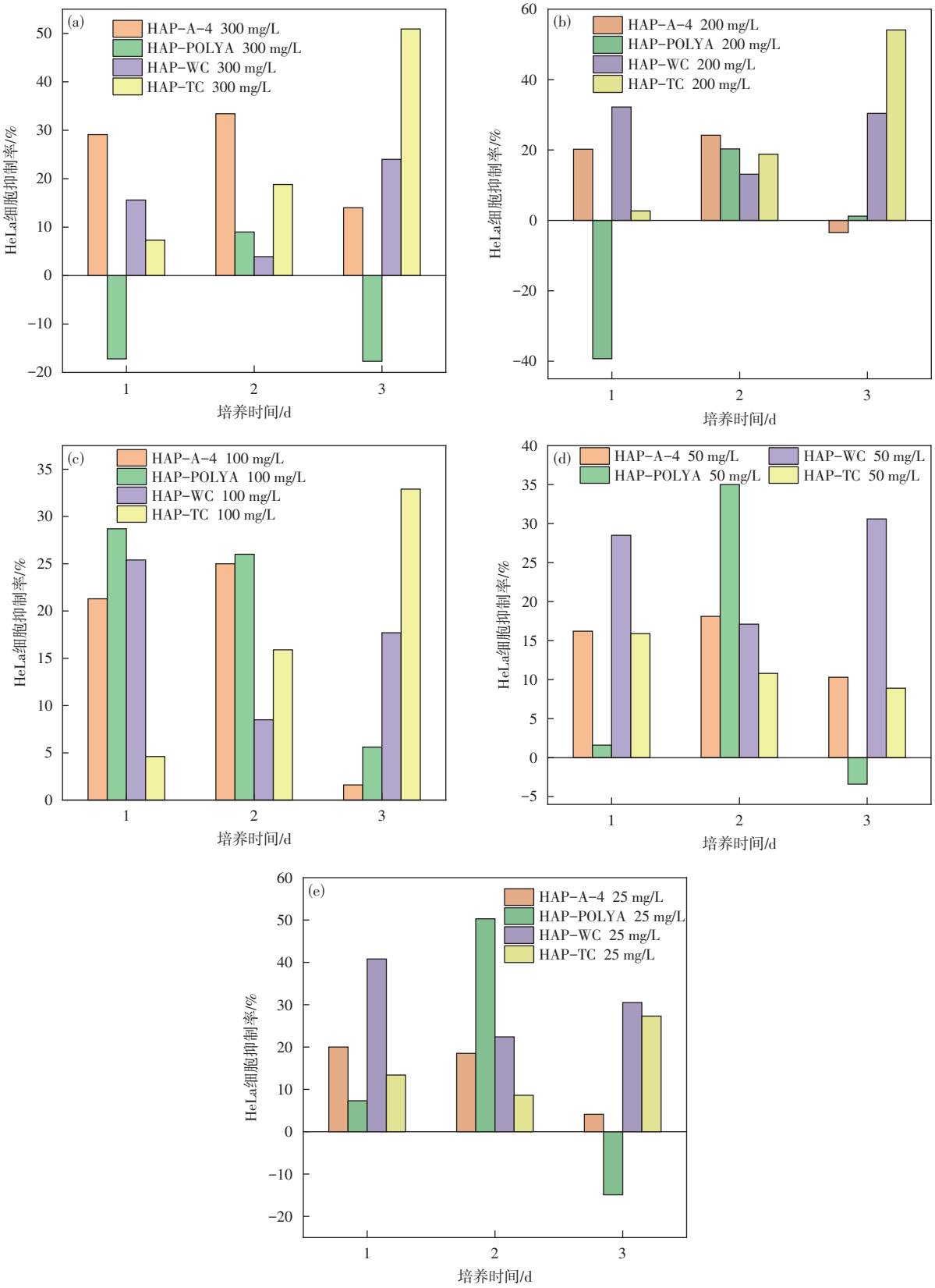


图 19　HeLa 细胞抑制率与 HAP 种类的关系

Fig. 19　Relationship between inhibition rates of HeLa cells and types of HAP

的细胞周期数据都有明显差异；在 S 期内，所有样品的细胞周期数据变化皆不明显；并且在 FCM 图中皆未发现细胞凋亡峰，说明所有样品在试验浓度下对 HeLa 细胞皆没有毒性作用。

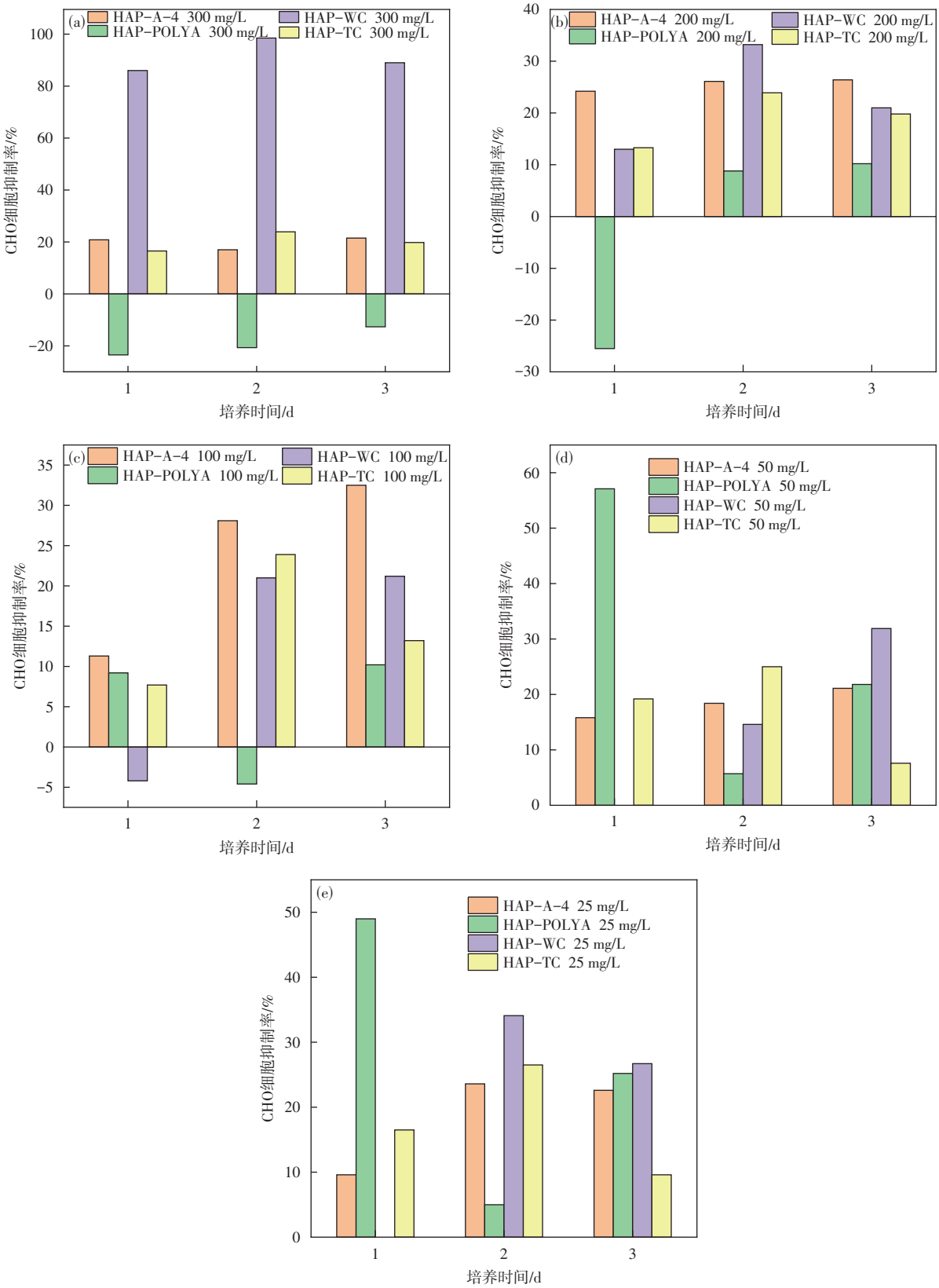
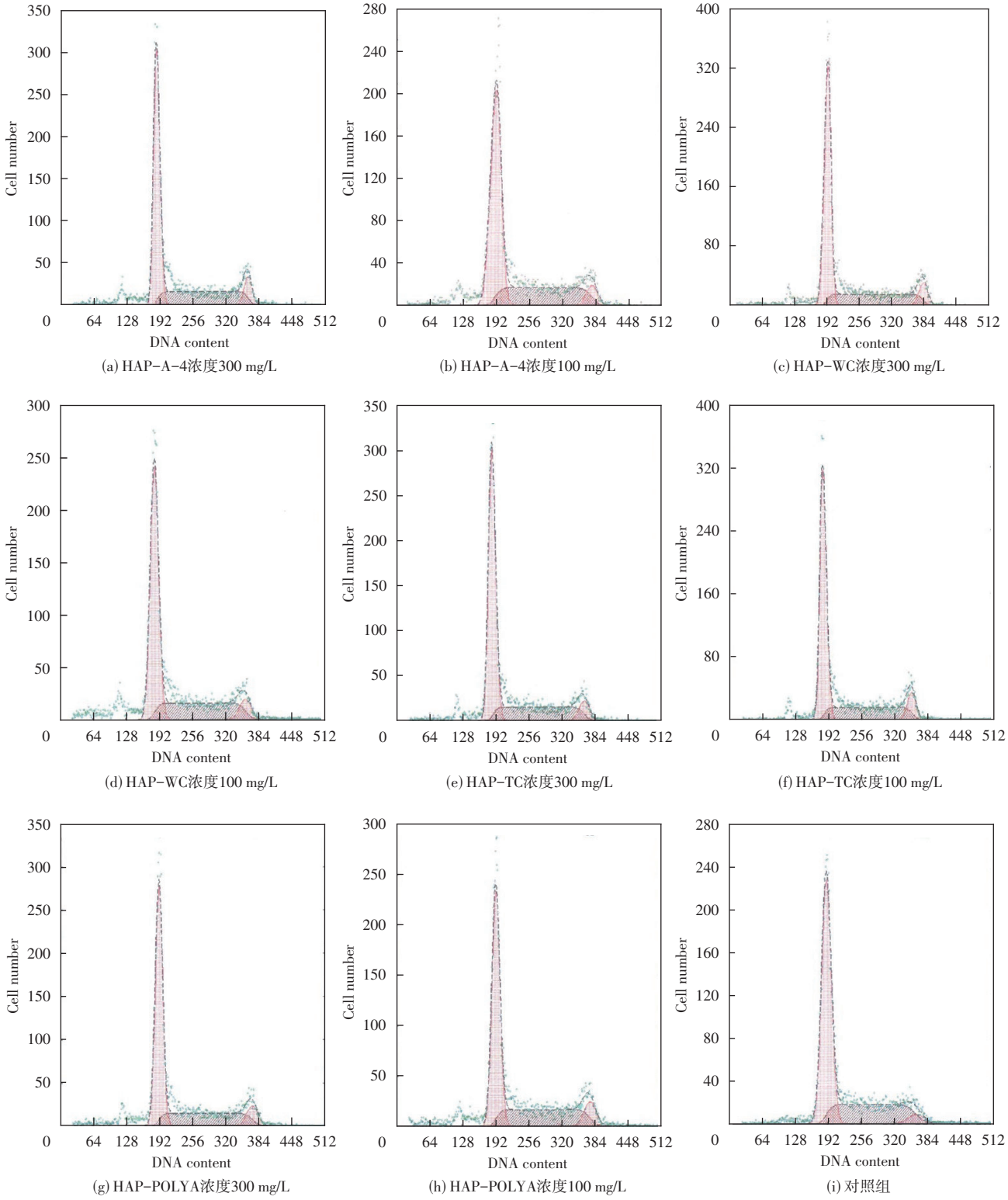


图 20　CHO 细胞抑制率与 HAP 种类的关系

Fig. 20　Relationship between inhibition rates of CHO cells and types of HAP



注：流式图中横坐标为DNA含量，纵坐标为细胞数量。

图21　HeLa细胞的FCM试验结果

Fig. 21　FCM results to HeLa cell

表4 HeLa细胞与不同HAP作用后的细胞周期比例

Table 4 Cell cycle proportion of HeLa cells after interaction with different HAP /%

周期	浓度/(mg·L^{-1})	HAP-A-4	HAP-WC	HAP-TC	HAP-POLYA	对照
G_1期	300	57.5	58.1	59.5	59.7	61.4
	100	59.3	58.6	61.1	55.1	67.8
G_2期	300	8.0	6.2	6.7	7.9	3.5
	100	8.8	8.0	6.8	8.6	1.7
S期	300	34.4	35.6	33.9	32.4	35.0
	100	31.9	33.3	32.1	36.3	30.4

4 结论

本文主要目的是研究陆地磷源和海底磷源制备的n-HAP与HeLa细胞和CHO细胞的生物相容性。结果表明,采用相同的化学沉淀法、相同钙源,不同磷源合成的n-HAP对HeLa细胞及CHO细胞的生物相容性不同:1)用陆地磷源制备的HAP-A-4样品在低浓度及短培养周期内可以抑制HeLa细胞生长,对CHO细胞也有一定的抑制作用,但是对HeLa细胞的抑制率更高;2)用陆地磷源制备的改性HAP-POLYA样品在低浓度及短培养周期可以抑制HeLa细胞及CHO细胞的生长,但是高浓度及长培养周期对HeLa细胞及CHO细胞都有促进生长作用,造成这种结果的原因可能是改性HAP吸附了少量聚丙烯酰胺;3)用海底磷资源制备的脱氯磷酸制备的HAP-TC样品可以抑制HeLa细胞生长,但对CHO细胞的生长也有一定抑制作用;与HAP-A-4样品比较,其在各种浓度、各种培养周期内对HeLa细胞的抑制率普遍更高,200~300 mg/L浓度、2~3 d培养期时对HeLa细胞的抑制率高达50%~55%,而对CHO细胞生长的抑制率较低,说明海底磷源制备的HAP可能具有更高医用价值,有可能表现出更好的"基因"特性;4)用海底磷资源制备的未脱氯磷酸制备的HAP-WC样品可以抑制HeLa细胞生长,但对CHO细胞的生长抑制作用更强,HAP浓度为300 mg/L、培养期3 d对CHO细胞的抑制率高达86%,过高的Cl^-容易抑制CHO细胞的生长,具体原因还待研究。综合表明,与陆地磷灰石制备的n-HAP相比,用海底磷灰石制备的n-HAP可能具有更高的医用价值,同时杂质含量可能对n-HAP的医用性能造成严重影响。

化学品的药用效果与其杂质组成、结晶度、结晶形貌、孔隙率、粒度及粒径分布、制剂工艺等直接相关,不同产地中药材的药效差异主要和种质基因、产地生态环境等相关。由于人体环境的复杂性,相关研究很难深入。与陆地磷灰石相比,海底磷灰石的成矿年代近很多,地质成因主要为生物沉积及生物化学沉积;地质成因不同,微量元素的组成也存在差异。目前国内外采用海底磷灰石等制备药用材料的研究还很少,本文仅列举了试验数据,尚缺少不同n-HAP药用效果的机理研究,旨在"抛砖引玉",希望国内外学者加强海洋资源"基因"性质及药用材料研究。

参考文献

[1] 王伟佳. 纳米羟基磷灰石复合材料在骨组织工程支架中的研究现状[J]. 湖南师范大学自然科学学报, 2022, 45(4): 123-129.
Wang Weijia. Research status of nano-hydroxyapatite composites in bone tissue engineering scaffolds[J]. Journal of Natural Science of Hunan Normal University, 2022, 45(4): 123-129.

[2] 魏莉. 羟基磷灰石复合材料在骨组织工程中应用的研究进展[J]. 四川大学学报(医学版), 2021, 52(3): 357-363.
Wei Li. Advances in the application of hydroxyapatite composite materials in bone tissue engineering[J]. Journal of Sichuan University (Medical Sciences), 2021, 52(3): 357-363.

[3] 赵玫. 纳米羟基磷灰石复合支架材料在骨组织工程中的研究现状[J]. 医学综述, 2012, 18(9): 1366-1369.
Zhao Mei. Advance of research on nano-hydroxyapatite composite in bone tissue engineering[J]. Medical Recapitulate, 2012, 18(9): 1366-1369.

[4] Panda S, Biswas C K, Paul S. A comprehensive review on the preparation and application of calcium hydroxyapatite: a special focus on atomic doping methods for bone tissue engineering[J]. Ceramics International, 2021, 47(20): 28122-28144.

[5] 申欣, 庞宇, 孟昭旭, 等. 纳米羟基磷灰石复合材料在癌症治疗中的应用进展[J]. 材料导报, 2020, 34(增刊2): 88-90.
Shen Xin, Pang Yu, Meng Zhaoxu, et al. Application progress of nano hydroxyapatite composites in cancer treatment[J]. Materials Review, 2020, 34(S2): 88-90.

[6] 田家明, 张波, 李苏, 等. 纳米羟基磷灰石在生物医学领域中的应用研究[J]. 辽宁化工, 2009, 38(11): 828-830, 833.
Tian Jiaming, Zhang Bo, Li Su, et al. Application

of nano hydroxyapatite in biomedicine[J]. Liaoning Chemical Industry, 2009, 38(11): 828-830, 833.

[7] 杨宇轩. 靶向羟基磷灰石纳米颗粒(HAP)通过抑制线粒体功能引起结直肠癌细胞焦亡增强免疫应答的研究[D]. 广州：南方医科大学, 2025: 83-86.
Yang Yuxuan. Targeted hydroxyapatite nanoparticles (HAP)enhance immune response by inhibiting mitochondrial function-induced focal death of colorectal cancer cells[D]. Guangzhou: Southern Medical University, 2025: 83-86.

[8] Aoki H. Medical application of hydroxyapatite[M]. Tokyo: Takayama press, 1994: 10.

[9] Aoki H. Science and medical application of hydroxyapatite[J]. Jpn Asso Apatite Sc, 1991: 179.

[10] Shipu Li. Effects of hydroxyapatite ultra fine powder on colony formation and cytoskeletons of MGc-803 cell[J]. Bliceramics, 1996, 9: 225-227.

[11] 夏东，刁路明，杨飞，等. 无机纳米粒子对人肺癌细胞A549和小鼠成纤维细胞L929生物学特性研究[J]. 湖北医科大学学报, 2000, 21(2): 109-111.
Xia Dong, Diao Luming, Yang Fei, et al. The study of human lung carcinoma cell′s and mouse fibroblast′s biologieal speciality after treated with inorganic nanometre particle[J]. Medical Journal of Wuhan University, 2000, 21(2): 109-111.

[12] 唐胜利，袁媛，刘志苏，等. 羟基磷灰石纳米粒子对人肝癌BEL-7402细胞毒性的评价[J]. 肝脏, 2003, 8(1): 21-24.
Tang Shengli, Yuan Yuan, Liu Zhisu, et al. Evaluation of cytotoxicity of hydroxyapatite nanoparticles on human hepatocellular carcinoma cell line BEL-7402 [J]. Chinese Hepatology, 2003, 8(1): 21-24.

[13] 曹献英，戴红莲，贾莉，等. 羟基磷灰石纳米粒子体外抗肝癌的实验研究[J]. 肿瘤学杂志, 2002, 8(5): 274-276.
Cao Xianying, Dai Honglian, Jia Li, et al. Experimental study on the effects of antihepatocarcinoma with hydroxyapatite nanoparticles in vitro[J]. Journal of Chinese Oncology, 2002, 8(5): 274-276.

[14] 李玉宝. 纳米生物医药材料[M]. 北京：化学工业出版社, 2004.
Li Yubao. Nano biomedical materials[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2004.

[15] 方玉，王建平，母瑞虹，等. 几种改性羟基磷灰石生物活性的比较研究：对细胞存活及细胞附着的影响[J]. 中国口腔种植学杂志, 1996, 1(1): 1-3.
Fang Yu, Wang Jianping, Mu Ruihong, et al. Study on bioactivity of several modified hydroxyapatites: the effects of modified hydroxyapatites on proliferation and attachment of fibroblast cells[J]. Chinese Journal of Oral Implantology, 1996, 1(1): 1-3.

[16] Jabir M S, Yosif H M, Hasoon B A, et al. Au@ hydroxyapatite nanocomposite as a novel apoptosis Inducer and NF-κB translocation inhibitor in prostate cancer cell line[J]. Inorganic Chemistry Communications, 2024, 170: 113469. DOI: 10. 1016/j. inoche. 2024. 113469.

[17] Khajavi S, Bahraminasab M, Arab S, et al. Design and synthesis of berberine loaded nano-hydroxyapatite/ gelatin scaffold for bone cancer treatment[J]. New Journal of Chemistry, 2024, 48(15): 6977-6996.

[18] Barbanente A, Di Cosola A M, Rizzi F, et al. Development of dual acting selenium-doped hydroxyapatite nanoparticles with platinum-bisphosphonate complexes for bone cancer therapy[J]. RSC Advances, 2026, 16(11): 10100-10112.

[19] Nguyen T, Maniyar A, Sarkar M, et al. The cytotoxicity of carbon nanotubes and hydroxyapatite, and graphene and hydroxyapatite nanocomposites against breast cancer cells[J]. Nanomaterials, 2023, 13(3): 556. DOI: 10. 3390/nano13030556.

[20] Aoki H. Science and medical applications of hydroxyapatite[M]. Tokyo: Ishiyaku-Euro America, 1992.

[21] Tromel G Z. The optimum conditions for the formation of HA[J]. Physic Chem, 1932, 158(A): 422-425.

[22] 黄载春，田从学. 水溶液中合成羟基磷灰石的实验研究[J]. 成都理工学院学报, 2002, 29(3): 350-354.
Huang Zaichun, Tian Congxue. Experimental study of the synthesis of hydroxyapatite in water solution[J]. Journal of Chengdu University of Technology (Science & Technology Edition), 2002, 29(3): 350-354.

[23] 王志强，马铁成，蔡英骥，等. 湿法合成纳米羟基磷灰石粉末的研究[J]. 无机盐工业, 2001, 33(1): 3-5.
Wang Zhiqiang, Ma Tiecheng, Cai Yingji, et al. Study on the synthesis of nanometer hydroxyapatite powder[J]. Inorganic Chemicals Industry, 2001, 33(1): 3-5.

[24] Fujishiro Y, Yabuki H, Kawamura K, et al. Preparation of needle-like hydroxyapatite by homogeneous precipitation under hydrothermal conditions[J]. Journal of Chemical Technology & Biotechnology, 1993, 57(4): 349-353.

[25] Hattori T, Lwadate Y. Hydrothermal preparation of calcium hydroxyapatite powders[J]. Journal of the American Ceramic Society, 1990, 73(6): 1803-1805.

[26] Lin C H, Huang C W, Chang S C. Hydroxyapatite ceramics from hydrothermally prepared powders[J].

MRS Proceedings, 1994, 346: 237-242.
[27] Yoshimura M, Suda H, Okamoto K, et al. Hydrothermal synthesis of needle-like apatite crystal[J]. The chemical Society of Japan, 1991(10): 1402-1407.
[28] 廖其龙, 徐光亮, 周大利, 等. 水热合成纳米羟基磷灰石粉末及其结构表征[J]. 四川大学学报(工程科学版), 2002, 34(3): 69-71.
Liao Qilong, Xu Guangliang, Zhou Dali, et al. Hydrothermal preparation and characterization of nanosized hdroxyapatite crystallites[J]. Advanced Engineering Sciences, 2002, 34(3): 69-71.
[29]《地球科学大辞典》编委会. 地球科学大辞典[M]. 北京: 中国地质出版社, 2005.
Editorial Board of Dictionary of Earth Sciences. Dictionary of Earth sciences[M]. Beijing: China Geological Publishing House, 2015.
[30] Cai Pengjie, Ma Xinghua. Metallogenic regularity and main research progress of cobalt and nickel deposits in China[J]. Journal of Geochemical Exploration, 2024, 266: 107574. DOI: 10. 1016/j. gexplo. 2024. 107574.
[31] 王文浩, 王春连, 王连训, 等. 中国磷矿成因类型、成矿规律及重点找矿方向[J]. 中国地质, 2025, 52(1): 43-60.
Wang Wenhao, Wang Chunlian, Wang Lianxun, et al. Origin types, metallogenic regularity and prospecting direction of phosphate deposits in China[J]. Geology in China, 2025, 52(1): 43-60.
[32] 徐脉直. 海洋固体矿产[M]. 青岛: 青岛海洋大学出版社, 1999.
Xu Maizhi. Marine solid minerals[M]. Qingdao: Qingdao Ocean University Press, 1999.
[33] Ghosh A K, Mukhopadhyay R. Mineral wealth of the ocean[M]. Rotterdam, The Netherlands: Balkema, 2000.
[34] 李海英, 杨峰山, 邵淑丽, 等. 现代分子生物学与基因工程[M]. 北京: 化学工业出版社, 2008.
Li Haiying, Yang Fengshan, Shao Shuli, et al. Modern molecular biology and genetic engineering[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2008.
[35] 孙传尧, 周俊武, 贾木欣, 等. 基因矿物加工工程研究[J]. 有色金属(选矿部分), 2018(1): 1-7.
Sun Chuanyao, Zhou Junwu, Jia Muxin, et al. Research on genetic mineral processing engineering[J]. Nonferrous Metals (Mineral Processing Section), 2018(1): 1-7.
[36] 江善襄. 磷酸、磷肥和复混肥料[M]. 北京: 化学工业出版社, 1999.
Jiang Shanxiang. Phosphoric acid, phosphate fertilizer and compound fertilizer[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 1999.
[37] 申士富. 用海底磷钙土制备磷酸及纳米羟基磷灰石的研究[D]. 沈阳: 东北大学, 2004: 39-109.
Shen Shifu. Study of preparation for wet process phosphoric acid and nano-hydroxyapatite with seabed phosphorite[D]. Shenyang: Northeastern University, 2004: 39-109.
[38] Hussain R F, Nouri A M E, Oliver R T D. A new approach for measurement of cytotoxicity using colorimetric assay[J]. Journal of Immunological Methods, 1993, 160(1): 89-96.

(本文编辑 汪东芳)

【缅怀寄语】

岁月如梭,孙老师您已经仙逝一年。前日,我在佳木斯松花江畔、您居所楼下凄然徘徊。多想能扣响您的家门,再度聆听教诲,但冷雨凄凄、江水悲吟,当面再拜,只能寄望来世。

2002年,我有幸拜您为师攻读博士,从懵懂学生到博士毕业,您循循善诱,悉心指导,从课题选择、试验方案制定,到论文撰写,您都倾尽心血。毕业之后在您身边工作,您带我到矿山企业,对我严格要求,指导我专业知识,教导我要把“论文写在祖国大地上”。您最早前瞻性提出石墨是我国优势战略性矿产的思想,联合多位院士、专家向国家建言,推动建设我国“国际石墨谷”。在您的引领与指导下,矿冶科技集团实现装备和工艺深度融合,研发多项创新技术,为我国石墨行业高质量发展作出实实在在的贡献。您带领行业知名专家共同承担了中国工程院石墨领域高端咨询项目,76岁高龄仍冒着严寒深入黑龙江石墨矿山调研,并嘱咐我们带齐棉衣棉帽,关怀细致,宛若慈父。

师音虽寂,师训长存。您一生秉持“求真、务实、报国”的信念。您的谆谆教诲、学术思想与治学精神,我一定铭记在心,永生不忘。

此文是我攻读博士期间的部分工作总结,以此纪念恩师。师者虽逝,精神永续!

——申士富