

组织工程与生物可降解高分子骨架

高建平^{*}, 马朋高, 于九皋, 姚康德
(天津大学化学系, 天津 300072)

摘要:从骨架的作用、骨架的材料要求、骨架的制备技术和应用几个方面对组织工程和生物可降解高分子骨架的工作进展进行了综述, 对该研究领域的前景进行了展望。
关键词:组织工程; 基质骨架; 生物降解性; 生物模拟

引言

组织工程是一门新兴的多学科交叉生命科学, 集生物工程、生命科学、材料科学与工程及临床医学于一体, 它的目的是修复和再生受损组织或器官, 帮助病人恢复受损组织的功能, 提高生活质量^[1]。目前损伤组织或器官的恢复主要依赖于健康供体组织, 据估计这种修复每年达百万例次, 但仍不能满足需求, 主要是受捐献组织或器官的限制, 因此许多病人在等待中死去(如图 1 所示)^[2]。

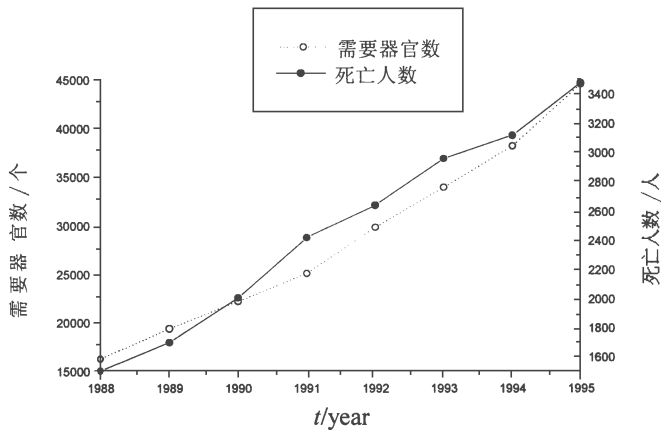


图 1 器官移植与器官供应间的差距

鉴于此 1987 年春美国自然科学基金工程理事会在研讨生物工程前景时, 确立了“组织工程”这一概念。此后美国多次举行专家小组讨论会, 以促进多学科交叉和发展。1988 年在美国 Lake Tahoe 举行的专家小组会上首次确定了“组织工程”的定义, 从而明确了“组织工程”的研究范围和目标。同年美国国家科学基金会受理和资助了组织工程方面的研究项目。此后, 组织工程的研究在世界范围

基金项目:教育部留学归国人员基金资助项目;
作者简介:高建平 男, 博士, 副教授。多年来一直从事生物可降解高分子材料、天然多糖大分子材料改性和复合材料等方面的研究。主持和参加了国家自然科学基金, 国家“八·五”科技攻关和天津市自然科学基金等项目的研究。目前已在国内外学术刊物上发表论文 40 余篇, 并多次被 SCI 收录和引用。1998 年作为博士后在多伦多大学生物材料中心开始了组织工程方面的研究;
^{*} 通讯联系人。
(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

内开展起来。据 Medline 统计, 1995~1999 年间组织工程方面的论文达 32684 篇, 涉及人体的各种组织。国际刊物“组织工程”也于 1995 年创刊, 美国国家基金会资助基金 1200 万美金, 在 Georgia Institute of Technology 建立组织工程研究中心。这都将对生物技术产生巨大影响, 同时带来可观的经济效益。据估计组织工程潜在市场大约是 4000 亿美元。目前组织工程研究已涉及到的组织有肝、心脏、胰腺、神经、血管、角膜、脂肪、皮肤、韧带、软骨和硬骨等。尽管如此, 组织工程领域的确定只有 10 年的历史, 因此仍处在发展的萌芽阶段, 可望在 21 世纪开花结果。

1 组织工程定义

组织工程是多交叉领域, 它利用工程学和生命科学的基本原理, 开发能恢复、维持或改善受损组织或器官功能的生物代替物^[3,4]。因此组织工程综合了细胞生物学、工程学、材料学和临床医学领域, 用活细胞和细胞外基质或骨架构造一个新的功能化组织或器官。

2 组织工程中骨架的重要作用

在组织工程中骨架起中心作用, 它不仅为特定的细胞提供结构支撑作用, 而且还起到模板作用, 引导组织再生和控制组织结构^[5,6]。骨架的具体作用如下。

(1) 在植入时骨架可引导细胞到预定位置, 给工程化组织限定有限空间, 引导组织再生过程。虽然分离出的细胞可以直接注入体内, 但不能形成有效的新组织;

(2) 大多数哺乳动物细胞是固着型细胞, 如不给它们提供附着基质就会死去^[7]。因此, 基质骨架致关重用;

(3) 基质或骨架的形貌能引导再生组织的结构, 如尺寸和形貌等, 故间接影响再生组织的功能;

(4) 理想的基质骨架能引导特殊的细胞功能, 引导和调节细胞间的相互作用;

(5) 聚合物骨架提供机械支撑作用, 以抗击压力等外力, 在人体中维持组织形状和骨架完整性。

(6) 高分子骨架还可构成宿主免疫系统分子的物理障碍, 避免人体免疫反应;

因此高分子骨架是组织工程研究的重要组成部分。Russell 采用高分子二维骨架用于细胞的移植^[8]。Vacanti 用细胞和可降解二维高分子骨架构造杂化组织和器官^[9]。

3 组织工程对高分子骨架及材料的要求

3.1 生物相容性和细胞/材料相互作用

生物相容性是医学应用中对合成材料的最基本要求, 即材料不会引起宿主免疫系统的任何副反应, 这种相容性的评价同时包括体外和体内实验, 但目前它的机理仍不十分清楚。

早期植入使用的聚合物材料是惰性的, 所以不会与周围组织反应而引起副作用。这就说明为什么早期研究中避免细胞与聚合物的相互作用, 至少把这种作用降低到最小程度。尽管对某些植入如血管和乳房的植入, 这种作用会是致命的, 应予以避免, 但就目前组织工程来说, 设计聚合物能诱导生理反应, 如细胞生长和分化确是一个挑战性的任务。事实上, 聚合物应与周围生物系统发生较强的作用, 并在组织再生过程中起积极作用。目前正在研究生物模拟聚合物(Biomimetic synthetic polymers)^[10], 它能促进特殊的细胞功能, 提高与细胞的相互作用, 这在细胞移植和植入组织的再生过程至关重要。这种生物模拟机制(biomimetism)基于在聚合物上接枝寡糖或寡肽, 而细胞具有生物粘附性的受体(receptor), 可与这些寡糖或寡肽结合^[11,12]。

细胞/聚合物相互作用的短期研究可用细胞与聚合物表面粘附性来评价。长期研究可在体外进行,观察细胞在聚合物骨架和改性骨架中的运动、生长和分化功能。生物材料对细胞粘附性、寿命和阻止细胞分化的作用是一个很难解决的问题,因为细胞与聚合物表面作用很复杂。聚合物骨架表面组织结构、粗糙程度、亲水性、电荷特征和化学组成等被认为是影响细胞粘附及其后细胞行为的主要物化特性^[13]。因此聚合物表面改性或功能化是现今一个非常活跃的研究领域^[14~18]。

3.2 孔径和形态

高分子骨架孔特性是另一个影响细胞移植的重要因素。大的表面积有利于细胞的附着和生长,而大的孔体积有利于细胞的寄宿和传递足够多的细胞供组织修复。典型的例子是肝细胞的移植。高孔隙率的骨架也易于养分和排泄物的扩散,以及微血管形成,后者是高代谢器官如肝和胰再生的基本条件。

骨架的表面积/体积比取决于孔密度和孔径。然而,最小孔径往往由细胞来决定,因此随细胞不同而变化。例如,成纤维细胞和肝细胞要求的孔径为 20 μm ,皮肤再生要求孔径在 20~150 μm 之间,而对骨再生则要求在 100~150 μm 范围^[19,20]。此外,用于器官和组织再生的骨架必须有利于细胞生长和细胞外基质的形成。

3.3 生物可降解性

当产生的细胞外基质足以提供细胞自然生长环境时,聚合物骨架就应消失掉,理想情况下应被完全吸收,降解产物应通过生理或代谢渠道除去,以免引起组织不良反应,造成危险。因此,生物可降解材料在组织工程中显示出其优势。可吸收高分子骨架的理想寿命取决于应用,特别取决于器官或组织再生所需要的时间。故生物可降解材料在组织工程中应用成功与否主要取决于材料生物降解速度的可控程度和降解产物的毒性。这就需要长时间生物降解实验数据,但目前这方面的数据往往不充分。例如,乳房矫形引起的问题根源最近才发现是由于泡沫材料降解产物毒性引起的^[21]。因此可降解聚合物材料的生物相容性评价的确需要长时间的生物降解研究。

3.4 机械性能和加工性能

在构造硬的载体组织如硬骨和软骨时高分子骨架的机械性能必须加以考虑。对于可降解材料,降解速度必须加以控制,以保证在新生组织能代替骨架起支撑作用之前骨架能承受体内压力等外力。生物可降解材料的加工性能也是应考虑的问题之一,因为某些再生器官或组织的最后形状对它的生物活性或功能有一定的影响。

3.5 控制释放体系

另一个需要考虑的问题是生物高分子材料能否与生物活性分子如生长因子等相结合。高分子骨架控制释放某一特定组织生长因子可促进组织或器官的再生(如神经组织),促进伤口愈合,软骨和硬骨的再成型^[22~24]。

4 组织工程中生物可降解高分子细胞外基质骨架制备技术

4.1 纤维网

纤维网可以由纤维构成的无纺布或者是由纤维编制成的孔径可变更的三维骨架。聚乙醇酸(PGA)是第一个用作手术缝合线的生物可降解合成高分子材料。由PGA或PLGA纤维构成的骨架适于一些细胞移植和组织再生^[25]。这种骨架的优点是表面积大,有利于细胞粘附和养分的扩散,因此对细胞存活和生长有利;缺点是骨架结构稳定性不好,但可以加以改进。一种方法是纤维固定技术,例如将PLA(聚乳酸)溶液喷到PGA网上,溶剂挥发后PLA镶嵌在网络上,加热使PGA熔

化,PGA 纤维在搭接处被焊接在一起。冷却后 PLA 被溶剂溶解掉。用此方法 PGA 纤维不经任何化学和形状变化而被焊接在一起,结构得到稳定。PLA 的作用是稳定 PGA 纤维和防止加热过程中骨架坍塌^[26]。另一种方法是将 PLA 溶液以雾状喷在网的表面,溶剂挥发后形成一涂层。这种复合结构综合了纤维的力学性能和 PLA 的表面特性(如图 2 所示)。

4.2 粒子沥出技术与其它方法结合制备高分子骨架

粒子沥出技术的优点是它可形成孔径和孔隙率可控的高分子骨架^[27]。其方法是将聚合物溶解在溶剂中,加入一定粒径范围的粒子,而粒子又不能溶解在该溶剂中。将此分散液浇铸成型,待溶剂挥发后,粒子镶嵌在聚合物中形成一复合材料骨架。将骨架浸泡在粒子可溶解而聚合物不溶解的溶剂中,将粒子沥出,形成不含粒子的高分子骨架。得到的通孔骨架的孔隙率可达 93%,此法的缺点是骨架不能太厚,一般在 2mm 以下。但可采用层叠法将薄骨架叠在一起,各层之间用溶剂溶解方法粘在一起,形成一整体,而不影响孔结构^[28]。

构造形状复杂的骨架如神经再生用筒状骨架可在粒子沥出基础上采用挤出方法成型。将聚合物/粒子复合材料切成 5mm^3 的小块,然后采用普通挤出方法得到不同形状的骨架,再将骨架浸在溶剂中沥出粒子,得到三维高分子骨架。

4.3 熔融成型

此方法与粒子沥出法类似,但可以构造结构复杂的三维骨架。例如在制备 PLGA 多孔骨架时,将 PLGA 粉末与一定粒径范围的明胶粒子混合物放入四氟乙烯模具中,将模具加热,超过 PLGA 的玻璃化温度,加压使 PLGA 和明胶粒子结合在一起。冷却后将复合材料放入水中,将明胶粒子沥出,形成 PLGA 骨架。孔结构可通过调整明胶粒径及分布和明胶/PLGA 比加以控制。由于成型过程中不使用溶剂,因此不会对生物活性分子产生不良影响,可用于生物活性分子的控制释放^[29]。

4.4 高压成型^[30]

大多数骨架成型技术需用有机溶剂,残留在骨架中的有机溶剂对植入的细胞有害,在某些应用场合应避免。高压成型技术就是不使用有机溶剂的方法之一。将聚合物试片在 5.5MPa 和室温下用 CO_2 机械饱和 72h,通过降低 CO_2 压力到大气压,使聚合物中气体溶解度快速降低。这就导致聚合物中气穴的形成,尺寸在 $100\sim 500\mu\text{m}$ 之间。用 PLGA 制得的骨架其孔隙率为 94%。

4.5 聚合物微球聚集

微球聚集也可构成多孔骨架。骨架的孔隙就是微粒间的间隙^[31],它直接与微粒的直径相关。微粒可包裹生长因子,进行可控释放,这是此技术的优势。

4.6 高分子溶液相分离

相分离是一种制备多孔高分子骨架的直接而有效的方法。高分子溶液相分离可用几种方法实现,其中之一就是浸入沉淀法,它是工业上生产多孔膜的重要方法。将聚合物溶液铺在支撑物上,形成一薄膜,然后将其浸入到一不良溶剂中,溶剂间彼此交换而导致沉淀。在此体系中至少有三相(如图 3 所示的等温三相图),存在均一的均相区和液/液异相区。超过不良溶剂浓度临界点时,体系落入异相区,相分离发生。在此过程中液/液分层似乎是影响膜形态的主要因素^[32]。

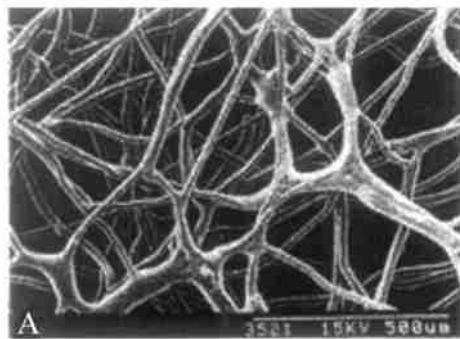


图 2 PGA 网络镶嵌上 PLA 的电镜照片

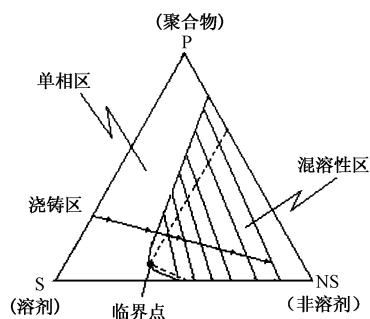


图3 等温三相图

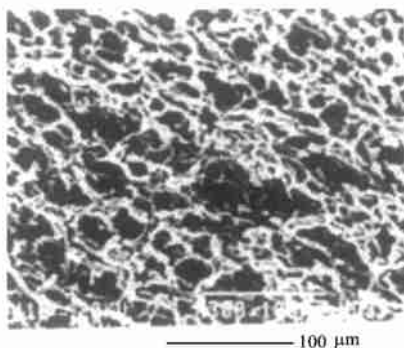


图4 相分离法制备的PLA电镜照片

4.7 冷冻干燥技术

高分子溶液的冷冻干燥是目前开发的制备三维骨架的基本方法^[33]。其基本原理基于温度降低时,诱发均一高分子溶液相分离。相分离系统一旦稳定,富溶剂相可用真空蒸发掉,留下聚合物泡沫骨架(如图4所示)。当然,泡沫的形态受冷却时相转变的控制^[34]。

5 细胞外基质骨架在组织工程中的应用

生物可降解高分子多孔骨架作为组织和器官功能再生中细胞培养基质越来越受到重视。细胞在骨架内的种植是细胞培养的关键一步,应能保证细胞不受损伤,且有利于细胞在骨架中的均匀分散和细胞的生长与繁殖。目前各种细胞/骨架杂化组织被广泛研究,以评价它们的再生能力^[35]。

5.1 软骨和硬骨

由宿主细胞构造一个自然的软骨组织是目前组织工程的目标。人们以PLA或PLGA骨架培养软骨细胞,所用骨架有纤维基毛毡和PLA多孔骨架^[36,37]。体外实验证明细胞能在多孔骨架中附着和繁殖,维持其分化功能。随后的体内植入实验也证明了再生软骨的形成。

硬骨是一种特殊组织,受损后可再生。但对严重损伤,修复机制失效,故需外科手术来治疗,目前外科手术包括自体 and 异体骨移植。另一个最有前途的方法是骨组织工程。PLA和PGA已被证明是骨细胞引导性材料^[38],能促成骨细胞附着、繁殖和分化,植入体内能长出新骨^[39]。

5.2 皮肤

受损皮肤自然愈合中疤痕的形成是一个很严重的问题,但通过使用合成皮肤代替物可以加以克服。在组织引导再生过程中,周围组织的细胞会迁移到多孔聚合物基质,附着在上面,分泌出细胞外基质。生物可降解聚合物网可用作培养成纤维细胞的骨架,构成活的皮肤代替物^[40]。

5.3 肝

PLA和PLGA可用于肝细胞培养骨架。体外和体内实验证明肝细胞能附着、繁殖和分化。同时还发现细胞沿骨架四周生长,说明细胞的存活和繁殖严重地受来自于血管养分扩散的限制^[41]。血管组织的内生(ingrowth)速度与骨架孔隙率和孔径成正比。将细胞移植和生长因子控制释放结合起来有利于肝细胞的再生。

6 展望

织、血管组织、心瓣膜、胰腺等^[42]。目前成熟的技术只有人造皮肤,其它组织的再生仍处于研究阶段,预计下个世纪会取得突破性丰硕成果。

参考文献:

- [1] Lanza R T, Langer R. Principles of Tissues Engineering. USA: Academic Press, 1996.
- [2] Patrick C W, Mikos A G. Frontier in Tissue Engineering. New York: Pergamon, 1998.
- [3] Nerem R M. Ann Biomed Eng, 1991, 19: 529.
- [4] Langer R, Vacanti J P. Science, 1993, 260(5110): 920.
- [5] Mooney J, Vacanti J P. Mat Soc Symp Proc, 1992, 252: 345.
- [6] Vacanti J P. Cell Transplant, 1993, 2: 409.
- [7] Folkman J, Haudenschild C. Nature, 1980, 288(5791): 551.
- [8] Ressel P S. Ann Surg, 1985, 201: 255.
- [9] Vacanti C A. Arch Surg, 1988, 123: 545.
- [10] Piskin E. J Biomater Sci Polym Ed, 1995, 6(9): 775.
- [11] Hubbell J A. Bio/technology, 1995, 13: 565.
- [12] Tsuruta T. Adv Polym Sci, 1996, 126: 1.
- [13] Green A M, Jansen J A. J Biomed Mater Res, 1994, 28: 647.
- [14] Kirkpatrick C J, Mittermager C. Cell Mater, 1991, 1: 93.
- [15] Ringsdorf H. Macromol J. Sci Pure Appl Mater, 1994, 687.
- [16] Ikada Y. Macromol Symp, 1996, 101: 455.
- [17] Ratner B D. Polym Prepr, 1995, 36(1): 53.
- [18] Bots J G F, Bantjes A, et al. Biomaterials, 1986, 7(5): 393.
- [19] Klawitter J, Hulbert S. Biomed J. Mater Res Symp, 1983, 2(1): 161.
- [20] Spector M, Mochnm M J. J Biomed Mater Res, 1978, 12: 655.
- [21] Balich C, William J. J Biomed Mater Res Appl Biomater, 1989, 23: 311.
- [22] Aebischer P, Winn S. J Neurose Res, 1989, 23: 282.
- [23] Edelman E R, Langer R. Biomaterials, 1991, 12: 619.
- [24] Vacani C A, Langer R. Plast Reconstr Surg, 1991, 88: 753.
- [25] Klompmaker J, Nijenhuis A J. Biomaterials, 1991, 12: 811.
- [26] Mikos A G, Bao Y, Langer R, et al. J Biomech Eng, 1993, 113: 183.
- [27] Mikos A G, Langer R. Polymer, 1994, 35(5): 1068.
- [28] Mikos A G, Langer R, et al. Biomaterils, 1993, 14: 323.
- [29] Thomson R C, Mikos A G. J Biomaterials Sci Polym Ed, 1995, 7: 23.
- [30] Mooney D J, R Langer. Biomaterials, 1996, 17(14): 1417.
- [31] Schugens C, Moonen G. J Biomed Mater Res, 1995, 29: 1349.
- [32] Liu D M. Porous Materials for Tissue Engineering. Trans Tech, New Hampshire, USA, 1996.
- [33] Jackson C L, Shaw H T, et al. Ploymer, 1990, 31(6): 1070.
- [34] Schugens C, Maquet V. Polymer, 1996, 37(6): 1027.
- [35] Tomson R C, Mikos A G. Adv Polym Sci, 1995, 122: 245.
- [36] Freed C E, Langer R J. Biomed Mater Res, 1993, 27: 11.
- [37] Chu C R, Coutts R D. J Biomed Mater Res, 1995, 29: 1147.
- [38] Ishaug S L, Yaszemski. J Biomed Mater Res, 1994, 28(12): 1145.
- [39] Vacanti C A, Kim W, Mooney D, et al. Transplant Proc, 1993, 25: 1019.
- [40] Cooper M L, Naughton G. Biomaterials, 1991, 12: 243.
- [41] Cima L G, Vacanti J P, Langer R, et al. J Biomech Eng, 1991, 113: 143.
- [42] Lanza R P, Langer R. Principles of Tissue Engineeing, California: Academic Press, 1996.

Tissue Engineering and Biodegradable Macromolecular Scaffold

GAO Jian-ping, MA Peng-gao, YU Jiu-gao, YAO Kang-de

(*Science of School, Tianjin University, Tianjin 300072, China*)

Abstract: Recent development in tissue engineering and biodegradable macromolecular scaffold is reviewed in the paper from aspects of action of scaffold, material of scaffold, manufacture of scaffold and application of scaffold. Prospects and suggestion for the future of this field are put forward at the end of the article.

Key words: Tissue engineering; Matrix scaffold; Biodegradability; Biomimic

(上接第 82 页)

- [17] Anon M P. Eur Plast News, 1998, 25(3): 24.
- [18] Anon M P. Chem Week, 1998, 160(4): 51.
- [19] Anon M P. Eur Chem News, 1997, 67(1771): 21.
- [20] Anon M P. Jpn Chem Week, 1998, 39(1965): 6.
- [21] Anon M P. Jpn Chem Week, 1998, 39(1970): 1.
- [22] Anon M P. Nikket Wkly, 1997, 35(1797): 6.
- [23] Anon M P. Plast Technol, 1997, 43(11): 9.
- [24] 杨惠娣. 中国塑料, 1996, 10(4): 1.
- [25] 吴勇. 塑料加工, 1995, 24(3): 18.
- [26] 化工部合成树脂及塑料工业信息总站. 塑料工业. 1996, 24(3): 59.
- [27] 田井武夫. 产经新闻(日). 1995, 3, 2.

The Present and Future Developing States of Starch-Plastics

QIU Wei-yang, WANG Fei-di, QIU Xian-hua, YU Ji-wen, CHEN Yun

(*Institute of Applied Chemistry, Jiangxi Academy of Sciences, Nanchang 330029, China*)

Abstract: People have recognized that only developing real degradable plastics can make environment safe and people happy after a quick developing process in which fish and dragon is mixing together. This paper describes the present developing states of Starch-plastics in our country and abroad. Analyzes the advantage and disadvantage of all sorts of Starch-plastics and points out it owns a splendid future.

Key words: Degradable plastics; Starch-plastics; Microorganism; Full biodegradation