

血液相容性及表面改性的研究

魏 文,程为庄^{*}

(同济大学材料科学与工程学院,上海 200092)

摘要:血液相容性是生物材料的必要条件,本文结合血栓形成的机理,综述了改善生物材料血液相容性的主要的几种表面改性方法。

关键词:血液相容性;接枝;内皮细胞;白蛋白;磷脂聚合物

引言

随着组织工程在近十年来的不断发展,医学将从组织器官的移植走进组织器官制造的新纪元。人工脏器曾给许多组织器官损害者带来了生存的曙光,除了脑和胃之外,绝大部分人工器官都可以找到合适的人工材料替代物。但是大多数组织工程支架材料的生物相容性,特别是血液相容性问题,仍然是这一科学技术领域中的一大“瓶颈”,制造理想的血液相容性支架材料一直都是组织工程科学中亟待解决的问题。获取性能优良的血液相容性支架材料,可以通过致力于寻找一种天然的血液相容性材料,但它恰好也具有(或者通过改性具有)抗机械性能和良好的热力学性能;或者通过制取一种具有良好抗机械性能和热力学性能的基质材料,再通过合适的表面改性,而获得具有理想的血液相容性的材料。而后者更具有可行性和研究价值,本文就从生物材料的血液相容性和表面改性两方面进行综述。

1 血栓形成机理

血液中大部分(75%)是水,并且水的粘度小,当生物材料与血液接触时,水最先吸附在材料的表面。最近研究认为,在材料表面吸附的水的数量和形态(优先于蛋白质的吸附)决定着血栓的形成^[1],但这方面机理还有待于进一步完善。一般认为,生物材料与血液接触时会引起血液-材料的反应,首先是血浆蛋白(纤维蛋白、白蛋白、球蛋白)迅速吸附在材料表面,形成很薄的蛋白质吸附层,随后将引起血小板的粘附、聚集和释放反应。与蛋白质和血小板吸附的同时,血液中的凝血酶原通过级联反应的方式被快速激活,生成凝血酶。凝血酶催化血液循环中的可溶性的纤维蛋白原,从而导致转化为不溶的纤维蛋白。纤维蛋白自发地聚合形成纤维网,加上被吸附积淀下来的血小板,使血液由流动状态变成胶动状态,最后滞结成块状凝团即形成血栓。在形成血栓的整个过程中(如图1所示),蛋白质的吸附和血小板的粘附聚集及释放反应还有促凝酶的产生,协同作用,相互促进,不断加速血栓的形成。由于血液分子细胞学的发展,已经能从分子水平上研究血栓形成的机理,其中涉及到补体系统的激活和凝血因子的作用^[2],在此不作详述。凝血过程中,蛋白质的吸附

作者简介:魏 文(1980-),男,江西东乡人,硕士研究生,研究方向为生物医用高分子;

^{*} 通讯联系人。

和血小板的粘附是两个关键的因素,其中在血浆蛋白内含的三种蛋白质中,纤维蛋白会促进血小板的反应,并且会被替代为一种不溶性的高分子量蛋白而导致通过内源途径凝血。但白蛋白不会导致凝血,并且它覆盖在材料表面时能形成很薄的白蛋白层,起到隔离血液成分和材料反应的作用,因而具有抗凝血功能,所以材料吸附的白蛋白越多越不容易形成血栓^[3,4]。

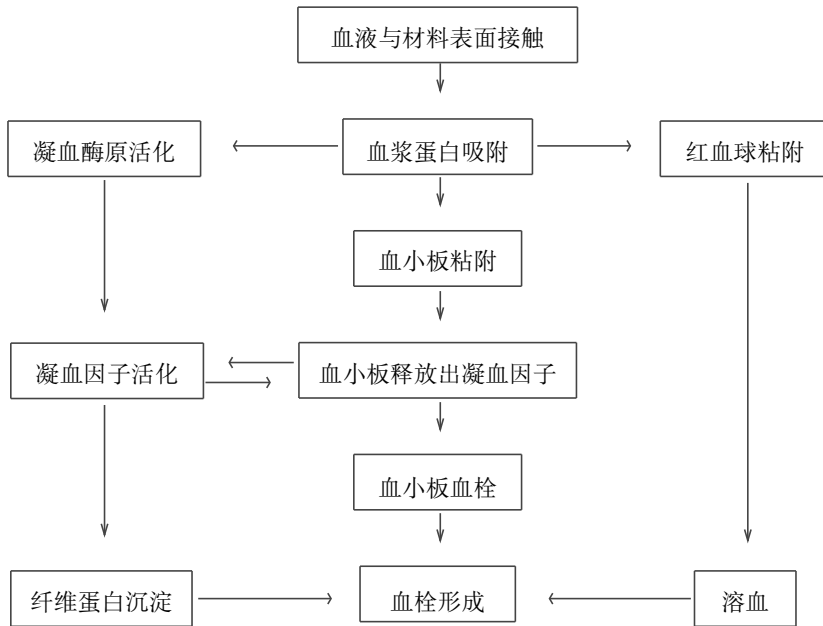


图 1 血液与生物材料接触产生血栓的机理

Figure 1 Mechanism of the forming thrombus when biomaterials contacted with blood

2 表面改性方法

2.1 接枝内皮细胞

血液复杂的组成成分以及各成分的结构和理化特性,决定了它与绝大部分高分子材料接触时,都会在材料的表面发生凝血反应,使得血液由流动状态变成胶动状态,最终在材料表面产生血栓。但令人欣慰的事实是血液在静动脉血管中流动时却能与血管内壁保持着完美的相容性,研究表明^[5]:血管内壁表面的内皮细胞正是这种天然血液相容性的秘密所在。血管内皮细胞不仅在血管表面充当了物理屏障的作用,更重要的是能调节凝血因子和抗凝血因子之间的动态平衡,从而维持血液的正常流动。因此在生物材料表面覆盖一层内皮细胞是改善材料血液相容性的理想方法^[6]。但直接把内皮细胞种植在基质材料表面不仅增殖速度慢,而且由于细胞与材料表面之间的作用力比较小,使得通常在短的时间内就容易脱落分离。因此,可将内皮细胞借助于具有强亲合力的物质通过共价键结合于材料表面,如纤维蛋白、胶原蛋白、血友病因子、低聚肽等都(被称为粘附蛋白)具有良好的细胞粘附作用^[7]。经科学发现,RGD(精氨酸-甘氨酸-天门冬氨酸)三肽是粘附蛋白共有的具有细胞受体识别能力的最小系列单元^[8~10]。目前,已有很多科研单位对 RGD 序列多肽进行理论研究,确定了多肽与受体结合的活性位点,而且已经成功地合成了 RGD 三肽,并通过试验验证了作为粘附蛋白识别位点的 RGD 具有高效的内皮细胞识别功能,能有效地减少血栓的形成^[11,12]

2.2 接枝白蛋白

当血液-材料反应进行时,在被吸附的三种血浆蛋白中,白蛋白不参与血液凝结及血小板的粘附作用;相反,白蛋白会吸附在材料表面从而形成很薄的白蛋白惰性隔离层,因而有效地抑制了凝血反应的发生。因此,将材料表面覆盖一层白蛋白不失为一种获取具有良好血液相容性材料的好方法^[3]。但由于白蛋白大分子容易部分变性而失去活性,故通常采用先向材料表面引入一些可选择性吸附白蛋白的功能基团(表面活性基团),然后利用这种表面活性基团的作用,在血液环境中吸附白蛋白,从而完成在材料表面形成白蛋白吸附层的效果。目前用的较多的具有选择性吸附白蛋白功能的基团或物质是十八烷基(C18)和一种三氮杂苯类活性染料 Cibacron Blue F3G-A(ciba)^[4]。最近两年,中国科学院上海冶金研究所离子束实验室通过对材料进行热解碳的氮离子注入处理,也明显地改善了材料表面对白蛋白的吸附,并采用卢瑟福背散射、X 射线衍射和拉曼光谱法对样品的成分和结构进行分析,结果表明:样品在热解碳经氮离子注入后,表面会吸附较多的白蛋白、较少的纤维蛋白原,具有良好的抗凝血性能^[13]。

2.3 接枝磷脂聚合物及其共聚物

在基质材料表面接枝内皮细胞,从理论上来说,是最理想的通过材料表面改性来改善材料血液相容性的方法,但由于接枝时键合作用小,从而抗血液剪切冲击能力不佳。国外许多生物材料研究开发机构和人员已将注意力集中到仿生材料研发的新领域^[14~16]。通过深入到生物膜的内部组成和结构进行分析,仿照膜内脂质体的软硬段微相分离的结构合成了多种磷脂聚合物^[17~19],并把它们与其它聚合物按一定的比例共聚,然后再通过合适的方法将其接枝到基质材料的表面。临床试验结果表明,通过磷脂聚合物及其共聚物表面改性的生物材料与血液接触时,材料表面对纤维蛋白和血小板的吸附得到非常理想的改善^[20~22]。在国外,磷脂聚合物的研究已经成为生物医用材料研究领域的一个热点,可以预计在不久的将来国内也将不断兴起。

生物膜一方面从物理角度将活细胞与周围的环境隔离,另一方面提供了细胞与外环境进行物质和能量的交换场所。一个典型的生物膜含有磷脂、糖鞘脂和胆固醇(在真核细胞中)。生物膜中的这些脂都有一个共同的特点,它们都是含有极性成分和非极性成分的两性分子,大部分(70%)都具有亲水-疏水的双层脂结构,并且脂质双层内的每层脂分子疏水尾部都指向双层内部,而它们的亲水头部都朝着外面提供了两层亲水离子表面(如图 2 所示)^[23]。其中磷脂酰乙醇胺(PE)、磷脂酰胆碱(PC)和磷脂酰丝氨酸(PS)三种甘油磷脂是生物膜的最主要的成员,它们的脂质双层结构如图 3 所示^[24],也就是这种被称之为脂质体的脂质双层结构赋予了生物膜天然的血液相容性。

目前国外合成最多的一种性能良好的磷脂酰胆碱类单体是:2-甲基丙烯酰氧己基-2'-三甲胺乙基磷酸酯·内盐(简称, MPC),结构如图 4 所示,在合适的条件下其聚合物能形成类似生物膜的双分

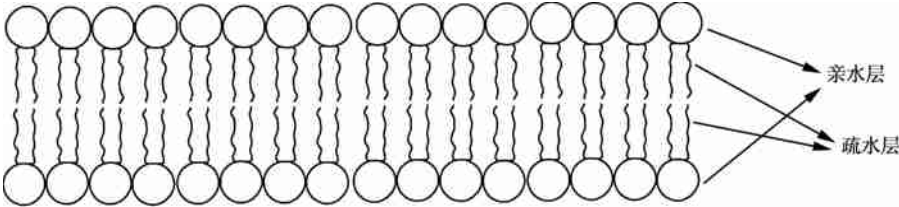


图 2 生物膜脂双层结构

Figure 2 Structure of phospholipid bilayer

子层结构。实验证明,当它接枝到材料表面时,能很有效地减少血小板和纤维蛋白的吸附,从而显著地改善了材料的血液相容性^[25~29]。更可喜的实验结果表明,当 MPC 单体与 MBA(甲基丙烯酸正丁酯)单体,POEM(甲基丙烯酸甲基聚氧乙烯基酯)单体,LMA(甲基丙烯酸十二烷酯)等单体共聚或三元共聚时,更容易形成软硬段微相分离的结构,也正是这种类似于生物膜的不均相结构使得共聚产物具有优异的血液相容性^[30~34]。

2.4 其它表面改性方法

从血液成分的理化特性和血栓形成的机理可知,材料表面的光洁度是影响血液相容性的一个很重要的因素。材料表面越光滑,对血浆蛋白和血小板的吸附就越小,且越不容易引起血液细胞形态和构象的变化,也就越不容易破坏血液的正常流动,因此材料表面的光滑处理是改善血液相容性很有效的一个措施。由于血液是富含水的物质,当材料表面接枝强疏水基团物质(表面能比较小)后,能明显减少材料对血液的吸附作用。又因为(血液中含的)水是良好的润滑剂,当材料表面接枝了富含强亲水基团的物质后,材料与血液的接触作用力明显减小,从而能显著地改善材料的血液相容性。所以表面修饰强疏水性物质和强亲水性物质都是增强材料血液相容性的理想方法^[3]。其中后者更有利于接枝后细胞

增殖,因此表面接枝强亲水基团物质是生物材料表面改性的一大热点。目前,用于表面接枝的亲水性高分子主要有聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、聚氧化乙烯(PEO)、聚丙烯酰胺(PAAm)等^[35,36]。

此外还有表面接枝肝素^[37,38]、等离子体表面处理^[39]、接枝尿激酶^[40]等也是被广为研究的能有效改善生物材料血液相容性的表面改性的好方法。

3 结束语

改善材料的血液相容性是生物材料研究领域至关重要的环节,而对生物材料进行表面改性又是这一环节中的关键。但对材料进行表面接枝时,既要考虑到被接枝的基团或物质在血液相容性方面的要求,又得兼顾它们与基质材料的键合作用力的大小,通常采用合适的中间介质对其进行偶联作用以达到理想的改性效果。制备血液相容性生物材料的方法很多,并有日渐向生物特性模拟和制得仿生材料的方向靠拢的趋势。

参考文献:

[1] Tanaka M, Mochizuki A, Ishii N, et al. Biomacromolecules, 2002, 3; 36~41.

[2] 王传华,冷希岗.国外医学生物医学工程分册,1998,21(1),1~7.

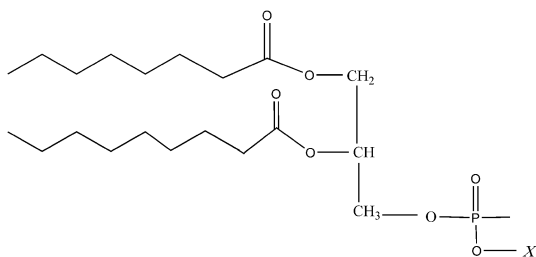


图 3 生物膜中最重要的几种甘油磷脂

Figure 3 Some of the most important glycerophospholipid in biomembrance

当 x 为 $-\text{CH}_2-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$ 形成的甘油磷脂为:磷脂酰胆碱(PC)

当 x 为 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}^+\text{H}_3$ 形成的甘油磷脂为:磷脂酰乙醇胺(PE)

当 x 为 $-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{COO}^-)-\text{N}^+\text{H}_3$ 形成的甘油磷脂为:磷脂酰丝氨酸(PS)

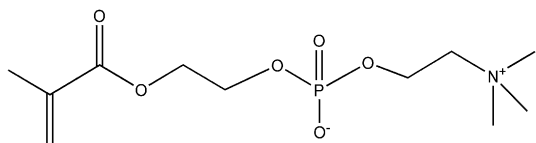


图 4 MPC 的结构简图

Figure 4 Sketch of the molecule of 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine

- [3] 吉岩,常津,许晓秋,等. 化学工业与工程,2001,18(1):44~51.
- [4] 王东安,纪剑,封麟先,等. 生物医学工程杂志,2002,19(1):4~9.
- [5] 黄得清,覃扬. 生物医学工程学杂志,2002,19(4):688~691.
- [6] 冷希岗,宋丽萍,王彭延. 国外医学生物医学工程分册,1999,22(4):204~208.
- [7] 武忠,石应康,陈槐卿. 生物医学工程杂志,2001,18(2):169~172.
- [8] 左之利,周鲁,苏怡,等. 华西药学杂志,2002,17(2):92~94.
- [9] 杨兴文,刘俭,唐建国. 中国生物化学与分子生物学报,2002,18(5):583~587.
- [10] Zhu Y B, Gao C Y, Liu X Y, et al. *Biomacromolecules*, 2002, 3:1312~1319.
- [11] 邱凯,万昌秀,赵强,等. 四川大学学报(自然科学版),2002,39(4):725~728.
- [12] 张倩,张明智,张成海,等. 四川大学学报(工程科学版),2001,33(6):78~81.
- [13] 李昌荣,王向晖,郑志宏,等. 功能材料与器件学报,2002,8(1):63~68.
- [14] Naumann C A, Prucker O, Lehmann T, et al. *Biomacromolecules*, 2002, 3:27~35.
- [15] Collier J H, Messersmith P B. *Annu Rev Mater Res*, 2001, 31:237~263.
- [16] Serizawa T, Yamaguchi M. *Biomacromolecules*, 2000, 1:306~309.
- [17] Lewis A L. *Colloids Surf B: Biointerf*, 2000, 18:261~275.
- [18] Murphy E F, Keddie J L, Lu J R, et al. *Biomaterials*, 1999, 20:1501~1511.
- [19] Korematsu A, Tomita T, Kuriyama S, et al. *Acta Polymer*, 1999, 50:363~372.
- [20] Ishihara K, Iwasaki Y, Ebihara S, et al. *Colloids Surf B: Biointerf*, 2000, 18:325~335.
- [21] Hasegawa T, Iwasaki Y, Ishihara I. *Biomaterials*, 2001, 22:243~251.
- [22] Iwasaki Y, Sawada S, Nakabayashi N, et al. *Biomaterials*, 1999, 20:2185~2191.
- [23] 王希成. 生物化学. 清华大学出版社, 2001, 8:144~147.
- [24] 王希成. 生物化学. 清华大学出版社, 2001, 8:136~137.
- [25] Iwasaki Y, Nakabayashi N, Ishihara K. John Wiley & Sons Inc, 2001, 27:72~78.
- [26] Furuzono T, Ishihara K, Nakabayashi N, et al. *Biomaterials*, 2000, 21:327~333.
- [27] Ishihara K, Fukumoto K, Iwasaki Y, et al. *Biomaterials*, 1999, 20:1553~1559.
- [28] Ishihara K. *Sci Technol Adv Mater*, 2000, 1:131~138.
- [29] Ishihara K, Iwasaki Y, Nakabayashi N. *Mater Sci Eng C*, 1998, 6:253~259.
- [30] Zhang S F, Rolfe P, Wright G, et al. *Biomaterials*, 1998, 19:691~700.
- [31] Lewis A L, Hughes P D, Kirkwood L C, et al. *Biomaterials*, 2000, 21:1847~1859.
- [32] Kanekura T, Nagata Y, Miyoshi H, et al. *Clin Exp Dermatol*, 2002, 27:230~234.
- [33] Oishi T, Tanaka H, Yamasaki H, et al. *J Appl Polym Sci*, 2002, 86:1092~1105.
- [34] Ishihara K, Tsujino R, Hamada M, et al. *Colloids Surf B:Biointerf*, 2002, 25:325~333.
- [35] 何斌,罗祥林,钟银屏,等. 功能高分子, 1999, 12:320~324.
- [36] 夏毅然,赵成如,文志平,等. 生物医学工程学杂志, 1999, 17:117~118.
- [37] 应锡璋,王蓓蓓,姚诗凯,等. 高等学校化学学报, 1996, 17:815~817.
- [38] 应锡璋,周怀发,黄明智,等. 生物医学工程学杂志, 2002, 19(1):34~35.
- [39] 冯祥芬,谢涵坤,张菁. 物理学和高新技术, 2002, 31(1):27~30.
- [40] 傅幸福,季红,朱忠和. 海军医高专学报, 1997, 19(2):103~106.

Study on Blood-compatibility and Surface Modification

WEI Wen* CHENG Weizhuang

(*Institute of Materials, Tongji University, Shanghai 200092, China*)

Abstract: Biomaterials must be biocompatible, especially blood-compatible. Following the theory on the forming of thrombus, this article provides an overview of several main methods of grafting in the surface of materials to develop the blood-compatibility of materials.

Key words: Blood-compatibility; Graft; Endotheliocyte; Albumin; Phospholipid polymers