

文章编号:1004-7220(2011)02-0105-04

天然-人工合成聚合物混合纳米纤维 在生物医学领域中的应用

杨力^{1a,b}, 李良²

(1. 重庆大学 a. “生物流变科学与技术”教育部重点实验室, 生物工程学院; b. 生物工程学院国家“111 计划”基地, 重庆 400044; 2. 四川大学 基础医学与法医学院, 生物医学工程研究室, 成都 610041)

摘要: 多组分人工合成纳米纤维是纳米技术、材料学与生物学等多学科相结合的产物, 代表一类经典的纳米结构, 能够充分模拟体内纤维微环境, 同时提供必要的拓扑结构、生物力学与生物化学因素来促进组织再生与创伤愈合。这种纤维通过混合天然与人工合成聚合物制备而成, 能够产生各组分在力学性质、生物学响应以及材料结构的协同效果, 在组织工程与药物释放领域应用中发挥重要的作用。

关键词: 纳米纤维; 静电纺丝; 组织工程; 药物释放; 生物力学

中图分类号: R 318.01 **文献标志码:** A

Application of mixed natural-artificial synthetic polymer nanofibers in biomedicine

YANG Li^{1a,b}, LI Liang² (1. a. Key Laboratory of Biorheological Science and Technology, Ministry of Education, b. “111” Project Laboratory of Biomechanics and Tissue Repair, Bioengineering College, Chongqing University, Chongqing 400044, China; 2. Institute of Biomedical Engineering, College of Preclinical Medicine and Forensic Medicine, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

Abstract: Multi-component synthetic nanofiber is a result from blending nanotechnology, material science and biological science. The nanofiber represents a kind of classic nanostructures that can fully simulate the microenvironment of fibrous structure *in vivo*, while providing topographical structures, biomechanics and biochemistry agents to promote tissue regeneration and wound healing. These fibers are prepared with mixtures of naturally and synthetically derived polymers. They have synergistic effect on mechanical properties, biological response and structural properties and play an important role in tissue engineering and drug delivery.

Key words: Nanofibers; Electrospinning; Tissue engineering; Drug delivery; Biomechanics

纳米生物材料是目前组织工程与再生医学领域中的研究热点, 数十至数百纳米级尺度类似于生物分子结构, 相对于传统生物材料其具有特殊的物理、化学和生物学效应, 因此, 在生物医学领域有着特别的应用价值和意义^[1-2]。纳米材料从结构学角度分为纤维、颗粒、管、微槽、微孔或者复合型结构等, 由

于超高的比表面积, 能够增强材料与细胞的相互作用(包括胞吞、黏附、迁移、分化等)以及延长药物控释时间。在组织工程支架研究中, 模拟天然细胞外基质(extracellular matrix, ECM)微观结构性质是生物材料设计合成的重要挑战。ECM 主要由纳米级蛋白与氨基葡聚糖等纤维结构组成, 这与纳米纤维

收稿日期: 2011-02-27; 修回日期: 2011-03-08

通讯作者: 杨力, 教授, 博士研究生导师, E-mail: yangli@cqu.edu.cn.

三维支架的结构极为相似。因此,合成纳米纤维支架材料可以模拟细胞微环境,这将有利于损伤部位重建与新生组织再生^[3]。

目前,纳米纤维支架的制备主要建立在结构相分离、分子自组装和静电纺丝3种技术方法之上。这3种技术都能够制备合成出三维纳米纤维支架,并各自具有其自身的优点:相分离技术便于操作,制备方法简单;自组装技术制备出的纳米纤维在结构以及纤维形态上具有高度均一性;静电纺丝法因其装置简单、操作容易、生产高效灵活等特点脱颖而出,成为制备聚合物纳米纤维最有效的方法^[4],也是本文集中讨论的技术方法。静电纺丝技术是目前唯一能够直接、连续制备聚合物纳米纤维的方法。他的起源最早可以追溯到1934年,Formalal在专利中首次介绍了利用静电斥力获得聚合物纤维的方法。随着纳米科技的发展,近年来静电纺丝得到国内外科研者的关注并被不断改进。

通过静电纺丝得到的纳米纤维材料较生物材料的其他结构形式,在生物医学领域具有如下独特的优点:第一,特殊的三维多孔结构,空隙完全相互贯通,且对液体有极好的过滤性,对满足细胞的营养和代谢需求具有先天的优势;第二,具有超过其他形式材料的比表面积,对于细胞的黏附和功能性蛋白的附着亦提供了良好的条件;第三,静电纺丝工艺可制成多种结构纳米纤维,为解决生物材料宏观结构模拟、有机无机相复合、梯度结构的形成、药物缓释和力学强度等问题提供了选择基础;第四,在结构与几何尺寸上与ECM的微观结构一致,可模拟ECM结构。

传统的静电纺丝主要以一种聚合物溶液为主要电纺液。近年来科研人员针对不同的聚合物混合溶液进行了尝试,制备出多组分纳米纤维材料。这种纤维往往结合了各组分自身的优点,在性质与功能上超越了单组分纤维,主要体现在:

(1) 混合成分不但具有部分组分的结构整合性与力学可塑性,还具有相关组分的生物活性,从而增加了其生物学功能;

(2) 很多天然物质由于自身性质难以进行电纺,混纺模式能够大大增加其可纺性,从而制备出新颖的纳米纤维结构;

(3) 天然物质绝大多数属于水溶性,体内降解

速率过快,需要在纺后采用戊二醛等化学试剂使其交联(化学因素往往具有毒性),从而降低了生物安全性,但是天然-人工聚合物混纺能够避免此步骤;

(4) 多因子控释过程中,多组分纳米纤维在保护因子活性基团以及控制释放速率中起到关键作用。

以天然与人工合成聚合物制备的纳米纤维支架材料为代表,目前已在组织工程领域(皮肤、血管、韧带、肌腱等创伤修复)以及局部药物控释(小分子化学药物与生物活性因子)方面进行了充分的研究。这种纤维通过结合多种组分制备而成,具有人工合成聚合物的优良力学性质与天然材料的生物活性,其高比表面积的三维多孔网状结构充分模拟了细胞微环境,并为组织内养分等物质交换提供了有利条件。

人工合成聚合物主要以聚乳酸(Poly-L, D-lactide, PLA)、聚己内酯(polycaprolactone, PCL)、聚氨酯(polyurethane, PU)、聚乳酸-羟基乙酸共聚物(poly lactide-glycolic acid, PLGA)等高分子材料为主,主要优点为降解速率可控、力学性能优良以及具有生物安全性。然而,这些高分子聚合物由于本身固有性质,导致其表现出过高的疏水性并缺乏细胞的黏附位点,以及降解后产物的危害,在临床应用中效果往往差强人意^[5]。

天然聚合物主要为丝素蛋白、壳聚糖等以及ECM组分(例如胶原、明胶、羟基磷灰石和透明质酸等),基本都具有亲水性,同时各自具有不同的生物学功能。胶原(collagen)和明胶(gelatin,在酸碱法或热处理等条件下变性的胶原)在组织工程中应用较为广泛,主要归因于这类蛋白是ECM的主要组成成分并具有细胞结合位点RGD多肽序列,有利于细胞的前期黏附,进而影响细胞后续的功能性^[6]。羟基磷灰石(hydroxyapatite)是骨基质的重要组成成分,具有促进成骨细胞黏附、矿化,并具有诱导干细胞向成骨方向分化的功能^[7]。透明质酸(hyaluronic acid)是体内含量最为丰富的蛋白多糖,属于非硫酸化氨基葡聚糖,通过细胞膜结合受体CD44和RHAMM与细胞相互作用,主要影响了细胞的迁移性以及血管生成;目前还发现其与干细胞分化和增殖有着密切的关系,在组织工程领域中有着重要的应用价值^[8]。丝素蛋白(silk fibroin)主要来源于家

蚕丝或蜘蛛丝,在天然蛋白中其力学性质最为出色,具有良好的生物相容性以及低免疫原性,同时在序列中具有类似于 RGD 多肽的序列,并且作为药物载体的同时能够保护生物活性因子的功能基团不被外界环境所降解^[9]。壳聚糖的结构类似于氨基葡聚糖,是自然界唯一带正电的聚合物,能够改善细胞的黏附状态以及相关胞外基质的表达,并且可以结合带负电的 DNA、小分子 RNA 等,在基因治疗领域中得到较为广泛的应用。因此,天然聚合物在组织工程与药物释放领域中有着特殊的价值与生物学意义^[10]。

组织工程材料不仅要能够有利于细胞黏附、增殖、迁移与分化,还要激活二级信使系统来改变相关功能基因的表达。这是一个非常复杂的生物学现象,需要针对材料结构特性、基质硬度、生物物理环境以及生物化学刺激等因素进行精准的控制。天然聚合物由于分子量、来源、纯化工艺和合成环境等因素很难把握,往往不能达到预期的效果,这样就需要对可控的人工合成聚合物进行调解。例如,血管组织工程支架必须能够承受较高的拉伸力与剪切力,单纯的 I 型胶原纳米纤维远远不能够达到,导致了接种过程中血管内皮细胞与平滑肌细胞的功能性下降。PCL-collagen 纳米纤维则可达到血管生物力学要求,同时提高了细胞生物学响应^[11]。同样,我们发现单纯透明质酸(HA)与 PCL-HA 纳米纤维相比较,其细胞黏附与增殖能力明显降低(结果待发表),这主要是透明质酸过高的亲水性导致基质蛋白吸附降低;添加疏水性聚己内酯则可较好地控制这一缺陷,同时还具有 HA 的生物学功能性。值得一提的是,由于 PCL 的生产成本低廉、出众的可纺性和力学性质(尤其是最大拉伸延长量),在与天然蛋白结合制备纳米纤维技术中进行了广泛的研究与应用,并且取得了很好的效果。

目前,由于多孔纳米级静电纺丝与天然胞外基质的相似性,很多研究人员将目光集中于纳米纤维的药物、基因、活性蛋白的控释领域^[12]。在静电纺丝纳米纤维中包埋生物活性材料主要有 2 种方法,同轴电纺与双相电纺。同轴电纺主要是同时注射以 2 种或 2 种以上溶液(包含聚合物或活性因子)进入多层针筒,互不相通,最后从同轴针头以不同的流速喷出,然后通过静电纺丝后形成的“壳-心”结构的纳

米纤维。此技术目前已较为成熟,能够延长药物释放的效率。然而,制备纺丝过程繁琐,并不利于大规模生产。双相电纺相对于同轴电纺具有更简单的操作流程以及更有实用意义。水油乳化现象主要是用于制备纳米颗粒,科研人员将这种方法应用静电纺丝技术当中,可提高药物的微包埋效率。他们将亲水性蛋白固定在输水性材料内,利用水油乳化技术将微球作为药物载体包裹药物,再将复合体充分与聚合物溶液混合形成乳浊液,然后进行电纺,最终的药物释放时间得到充分的延长。利用天然微纳颗粒包埋药物、质粒 DNA、生长因子等活性物质作为药物释放的方法已经被广泛的探索。主要是因为这些微小的颗粒能够穿过细胞膜,允许高效快捷地将药物或活性物质释放到细胞内。天然聚合物常用来作为药物载体(微纳颗粒),而人工聚合物作为纳米纤维支架材料。天然聚合物(如丝素蛋白、藻酸盐以及壳聚糖等)保护药物的半衰期和活性因子的功能基团。人工聚合物不但可以作为支架材料原位释放,同时通过调控降解速率与亲疏水性来控制药物缓释速率。

研究证明,基于静电纺丝技术制备的天然-人工合成聚合物纳米纤维在生物化学、生物力学、结构性质与药物释放方面的卓越表现,是任何单一聚合物所不能企及的。由于技术简便、可操作强、成本低廉,在生物医学领域中将会具有广泛的应用前景。然而,目前此项应用仍有挑战:天然-人工合成聚合物混合杂化体系参数不确定性因素很高,电纺工艺仍然无法量化,仍需进一步理论与实践的分析;动物在体研究并不充分,绝大部分研究局限于体外水平,仍需要科研人员的积极探索;干细胞功能性研究尚不清楚,可望通过高通量系统生物学来分析不同组分纳米纤维对干细胞增殖、分化以及 ECM 表达的影响。

参考文献:

- [1] Von der Mark K, Park J, Bauer S, *et al.* Nanoscale engineering of biomimetic surfaces: Cues from the extracellular matrix[J]. *Cell Tissue Res*, 2010, 339(1): 131-153.
- [2] Place ES, Evans ND, Stevens MM. Complexity in biomaterials for tissue engineering[J]. *Nat Mater*, 2009, 8(6): 457-470.

- [3] Lutolf MP, Hubbell JA. Synthetic biomaterials as instructive extracellular microenvironments for morphogenesis in tissue engineering[J]. Nat Biotechnol, 2005,23(1):47-55.
- [4] Greiner A, Wendorff JH. Electrospinning: A fascinating method for the preparation of ultrathin fibres[J]. Angew Chem-Int Edit,2007,46(30):5670-5703.
- [5] Pham QP, SU, Mikos AG. Electrospinning of polymeric nanofibers for tissue engineering application: A review[J]. Tissue Eng, 2006,12(5):1197-1211.
- [6] Ghasemi-Mobarakeh L, Prabhakaran MP, Morshed M, *et al.* Electrospun poly(ϵ -caprolactone)/gelatin nanofibrous scaffolds for nerve tissue engineering[J]. Biomate, 2008,29(34):4532-4539.
- [7] Cui WG, Li XH, Xie CY, *et al.* Hydroxyapatite nucleation and growth mechanism on electrospun fibers functionalized with different chemical groups and their combinations[J]. Biomate, 2010,31(17):4620-4629.
- [8] Ji Y, Ghosh K, Shu XZ, *et al.* Electrospun three-dimensional hyaluronic acid nanofibrous scaffolds[J]. Biomate, 2006, 27(20):3782-3792.
- [9] Altman GH, Diaz F, Jakuba C, *et al.* Silk-based biomaterials[J]. Biomate, 2003,24(3):401-416.
- [10] Bhattarai N, Li ZS, Gunn J, *et al.* Natural-synthetic polyblend nanofibers for biomedical applications[J]. Adv Mater,2009,21(27):2792-2798.
- [11] Tillman BW, Yazdani SK, Lee SJ, *et al.* The in vivo stability of electrospun polycaprolactone-collagen scaffolds in vascular reconstruction[J]. Biomate, 2009, 30(4):583-588.
- [12] Yoon H, Park Y, Kim G. Drug delivery system using electrospun nanofiber mats[J]. Polym-Korea, 2009,33(3):219-223.

· 致读者 ·

关于文稿中法定计量单位的书写要求

本刊法定计量单位实行国务院1984年12月颁布的《中华人民共和国法定计量单位》，并以单位符号表示，具体使用参照中华医学会杂志社编写的《法定计量单位在医学上的应用》。注意单位名称与单位符号不可混用。如 $\text{ng} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{天}^{-1}$ 应改为 $\text{ng} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ；组合单位符号中表示相除的斜线多于1条时，应采用负数幂的形式表示，如 $\text{ng}/\text{kg}/\text{min}$ 应采用 $\text{ng} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 的形式；组合单位中斜线和负数幂亦不可混用，如前例不宜采用 $\text{ng}/\text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 的形式。在首次出现不常用的法定计量单位时加注与旧制单位的换算系数，下文再出现时只列法定计量单位。人体及动物体内的压力单位使用 mmHg 或 cmH_2O ，但文中首次出现使用括号加注 ($1 \text{ mmHg} = 0.133 \text{ kPa}$)。正文中时间的计量单位表达，凡表示时间的具体数据时，数据后的计量单位应采用 d 、 h 、 min 、 s ，而不用天、小时、分钟、秒。量的符号一律用斜体字，如吸光度(旧称光密度)的符号 A ，“ A ”为斜体。

本刊编辑部
2011-04-20