组织工程血管支架材料的评价

李 彬，洪 浪，尹秋林

Evaluation on tissue-engineered vascular scaffold materials

Li Bin, Hong Lang, Yin Qiu-lin

Abstract

OBJECTIVE: To evaluate the properties and applications of various biological materials for tissue engineering repair of skull defects, and to find a reasonable alternative to the skull.

METHODS: By using of "tissue engineering, tissue engineering blood vessels, stem cells, cytokines, scaffolds" for the Chinese keywords and "tissue engineering, tissue engineering blood vessel, intravascular stent" for the English keywords, a computer search was performed among articles published between January 1993 and October 2009. Articles related to the biological materials and tissue engineering blood vessel were included; repeated study or Meta analysis articles were excluded. Thirty articles mainly focused on types and properties of tissue engineering blood vessel materials.

RESULTS: The vascular acellular matrix can be used as an ideal scaffold for vascular tissue engineering application. Fibrin-made scaffold not only has good biocompatibility, biodegradability and high affinity, but also promotes angiogenesis and tissue repair. Gelatin has no antigenicity and exhibits good biocompatibility, it can be completely biodegraded and can support themselves to achieve vascularization. Natural biological materials and synthetic polymer materials all have some deficiencies, according to certain method the two materials combine into a complex matrix and can play their advantages to construct tissue engineering blood vessels with good performance. Nano-modification technology is expected to be applied to the next generation of tissue engineered vascular grafts.

CONCLUSION: No ideal vascular scaffold materials have been found. Although natural biological materials are the current research hotspot, their mechanical properties cannot well match the scaffold requirements, thus new materials are urgently needed to better meet the requirements of engineered vascular scaffold and to achieve the goal of repair and reconstruction .

Second Department of Cardiology, Jiangxi People's Hospital, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China

Li Bin, Attending physician, Second Department of Cardiology, Jiangxi People's Hospital, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China
975431112@qq.com

Received: 2010-03-26
Accepted: 2010-04-26

Li B, Hong L, Yin QL. Evaluation on tissue-engineered vascular scaffold materials. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2010;14(21): 3883-3886. [http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

摘要

目的：评价组织工程修复颅骨缺损各种生物材料的性能和应用，寻找合理的颅骨替代物。

方法：以"组织工程，组织工程血管，干细胞，细胞因子，支架材料为中文关键词；以"tissue engineering, tissue engineering blood vessel, intravascular stent"为英文关键词，采用计算机检索1993-01/2009-10相关文章。纳入与生物材料及组织工程血管相关的文章；排除重复研究或Meta分析类文章。以30篇文献为主重点讨论组织工程血管材料的种类及其性能。

结果：血管脱细胞基质可作为一种较理想的支架材料应用于血管组织工程。基于纤维蛋白制成的支架不但具有理想的生物相容性、生物降解性和较高的亲和性，而且能促进血管生成、组织修复。明胶无抗原性，生物相容性好，可完全生物降解，可实现支架自身的"血管化"。天然生物材料和合成高分子材料都存在一定不足，将两者按照一定的方法组合构建成一种复合基质，发挥两者各自的优势构建出性能良好的组织工程化血管。纳米修饰技术有望被应用于下一代组织工程化血管移植。

结论：到目前为止，还没有发现一种很理想的血管支架材料。虽然现在天然生物材料成为研究的热点，但是物理机械性能并不能很好地符合支架要求，这就迫切需要新材料的出现，来更好的满足组织化血管支架的要求，达到修复和重建的目的。

关键词：血管支架；组织工程；复合材料；纳米；生物材料
doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2010.21.019

李彬,洪浪,尹秋林.组织工程血管支架材料的评价[J].中国组织工程研究与临床康复，2010，14(21):3883-3886.
[http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

江西省人民医院心内二科，江西省南昌市 330006

李 彬，男，1980年生，江西省贵溪市人，汉族，2002年山东大学医学院毕业，主治医师，主要从事心血管工作。
975431112@qq.com

中图分类号:R318
文献标识码:B
文章编号:1673-8225(2010)21-03883-04

收稿日期：2010-03-26
修回日期：2010-04-26
(20100427010/GW•Y)

0 引言

20世纪80年代随着相关学科的发展，出现了组织工程血管(tissue－engineered vascular grafts，TEVG)。即利用工程学和生命科学原理构建的生物血管[1]。血管支架材料是活细胞在体外生长所需支撑物，可以为组织化血管提供一定的机械强度和力学特性，种子细胞生长的三维空间结构，含有生物信息促进细胞的黏附与生长，增殖。近年来，生物医用材料研究取得了相当大的进步，这也加快了血管支架的发展，越来越多的新型材料应用于血管组织工程方面的研究。理想的支架应具备以下性质：①可控制的生物降解速度。②低免疫原性，不引起炎症反应。③良好的生物相容性。④良好的力学和生理学性能；⑤合适的多孔结构。⑥易于加工性。⑦可消毒性[2-4]。组织工程血管应具备如下条件[5]：①具有或模拟体内血管壁3层结构，即外膜、中膜和内膜。②具有生物相容性，不易产生血栓，不易发生免疫

排斥反应。③具有生物学特性，如对药物刺激有舒缩反应。④具有血管的力学特性，即有黏弹性并能承受一定的压力。本文的主要目的是评价组织工程血管支架的材料的性能及应用前景。

1 资料和方法

1.1 资料的纳入与排除标准

纳入标准：①组织工程学与组织工程血管的相关文献。②组织工程血管材料的相关文献。③组织工程血管中纳米技术应用与进展的相关文献。

排除标准：重复研究或Meta分析类文章。

1.2 资料提取策略 由第一作者应用计算机检索PubMed数据库（网址http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed）；维普数据库（网址http://www.cqvip.com/）1993-01/2009-10相关文献，中文关键词为组织工程，组织工程血管，干细胞，细胞因子，支架材料；英文关键词为“tissue engineering, tissue engineering blood vessel, intravascular stent”。

1.3 对纳入文献的评价 经检索共查到相关文献50余篇。经阅读标题、摘要、全文后，排除内容重复、普通综述后筛选纳入30篇文献进行评价[1-30]。文献的类型主要包括动物实验和体内、体外、细胞学实验21篇，综述、述评、讲座类文献9篇。

2 结果

2.1 内皮细胞、平滑肌细胞、成纤维细胞构建组织工程血管

见表1。

表1 内皮细胞、平滑肌细胞、成纤维细胞构建组织工程血管相关研究

作者及发表杂志	实验材料	实验方法	实验结果	实验结论
Weinber CB，*et al*[6]《Science》	牛内皮细胞、平滑肌细胞、成纤维细胞	成纤维细胞种植于内皮细胞与平滑肌细胞中间形成一个多层的类似于血管的组织，作为一种有效的渗透性屏障	构建了第一根组织工程血管	血管强度依赖于与Dacron网片结合的胶原层数但是却无法满足回植要求。单独由胶原制成的血管支架机械强度并不能满足体内血流的压力和剪切力要求
Ziegler T, *et al*[7]《Ann Biomed Eng》	血管平滑肌细胞、Ⅰ型胶原和内皮细胞	设计了一种由血管平滑肌细胞、Ⅰ型胶原和内皮细胞的共培养模型	即使在没有平滑肌细胞和流动切应力的情况下，胶原也可维持内皮细胞的功能	细胞外基质对于体内细胞的分化起到了重要作用

2.2 脱细胞组织基质材料构建组织工程血管支架

见表2。

表2 脱细胞组织基质材料构建组织工程血管支架相关研究

作者及发表杂志	实验材料	实验方法	实验结果	实验结论
Schaner PJ，*et al*[8]《J Vasec Surg》	人大隐静脉、犬颈静脉	用十二烷基硫酸钠(SDS)脱去静脉的细胞制备血管脱细胞基质，采用犬颈静脉脱细胞基质移植到受体犬颈动脉	2周后并未发现扩张及破裂等现象	血管脱细胞基质可作为一种较理想的支架材料应用于血管组织工程
Huynh T, *et al*[9]《Nat Biotechnol》	猪小肠黏膜下层(SIS)	猪SIS脱细胞基质胶原制成内径4 mm的管形结构，血管内表面用Ⅰ型牛胶原纤维包被，肝素处理。动物实验行兔动脉旁路搭桥术	表现出良好的抗凝血能力和通畅率。移植3个月后对血管活性药物有生理性收缩反应	SIS作为一种脱细胞基质，主要成分为胶原，富含生长因子，表现出良好的生物相容性，都可作为良好的血管支架材料使用

2.3 天然高分子材料构建组织工程血管支架

见表3。

表3 天然高分子材料构建组织工程血管支架相关研究

作者及发表杂志	实验材料	实验方法	实验结果	实验结论
Ye Q, et al[10]《Eur J Cardiothorac Surg》	纤维蛋白	把纤维蛋白凝胶作为可降解三维支架进行组织工程血管研究	细胞在支架上生长情况良好，细胞产生的胶原组织在支架材料上不断沉积。同时无毒性降解产物和炎性反应发生	基于纤维蛋白制成的支架，不但具有理想的生物相容性、生物降解性和较高的亲和性，而且能促进血管生成、组织修复
Frerich B, *et al*[11]《Head Face Med》	明胶	以明胶作为血管支架，在搏动性力作用下，进行内皮细胞种植16 d后观察	发现内皮细胞贴附良好。而且支架内出现了许多相互连通的“毛细血管”样网络结构，在某种程度上实现了支架自身的“血管化”	明胶是胶原的部分变性衍生物，无抗原性，生物相容性好，可完全生物降解，可以实现支架自身的“血管化”

2.4 合成高分子材料构建组织工程血管支架

见表4。

2.5 聚（羟基丁酸酯羟基戊酸酯）（PHBV）多孔材料作为软骨组织工程支架 杨松林等[13]以T20、PHBV、PEGT/PBT为实验材料，采用MTT法、流式细胞术及扫描电镜观察犬血管平滑肌细胞在T 20、PHBV、PEGT/PBT在3种支架上的增殖及生长情况。结果显示，3 种材料的接触角均小于90°，亲水性的大小顺序为PEGT/PBT> T20> PHBV。MTT法结果表明3种材料经过明胶或多聚赖氨酸表面改性预处理后细胞增殖活性明显高于未处理组($P < 0.01$)。 说明T20、PHBV、PEGT/PBT血管支架材料具有良好的体外生物相容性，对其进行表面改性后可明显提高犬血管平滑肌细胞的黏附生长能力。

表 4 合成高分子材料构建组织工程血管支架相关研究

作者及发表杂志	实验材料	实验方法	实验结果	实验结论
Shinoka T, *et al* [12]《J Thorac Cardiovasc Surg》	聚羟基乙酸(PGA)	以 PGA 制成血管支架，从羊颈动脉和静脉分离得到血管种子细胞，体外培养增殖后种植于 PGA 支架上，经过 7d 孵育后，进行自体移植修复羊肺动脉，11 周后观察	支架材料完全降解，移植物内的胶原含量相当于自体肺动脉的(73.9±8.0)%，管壁中层含有弹性纤维蛋白及血管内表面第八因子相关抗原免疫染色阳性	采用 PGA 作为支架材料构建的组织化血管具有很大的临床应用潜力
Furukawa K , *et al* [14]《Cell Transplant》	聚乙醇酸(PLLA)、平滑肌细胞和胶原	用 PLLA 做成多孔的支架，然后将平滑肌细胞和胶原溶液混合后种植于支架的孔隙内进行培养	平滑肌细胞与载体的结合率接近 100%，显著高于常规培养的 40%	
Iwai S, *et al* [15]《J Thorac Cardiovasc Surg》	PLGA、胶原海绵、犬肺动脉	PLGA 与胶原海绵混合做成血管，用来修补犬的肺动脉，对进行自体血管细胞接种和未行自体血管细胞接种两组的情况进行了比较	显示 6 个月时两组均无血栓形成，并且 PLGA 几乎全部降解吸收，两组都形成了完整的单层内皮，并且发现重建细胞壁的胞外基质弹性蛋白和胶原纤维	天然生物材料和合成高分子材料都存在一定不足，将两者按照一定的方法组合构建成一种复合基质，发挥两者各自的优势，便能更好地满足血管组织工程的要求，构建出性能良好的组织工程化血管
Miller DC, *et al* [16]《J Biomed Mater Res A》	聚乳酸-乙醇酸共聚物	在聚乳酸-乙醇酸共聚物表面通过腐蚀的方法形成了从微米到纳米级别不同级别的粗糙度，并对其和血管内皮细胞或平滑肌细胞共培养	表明这些细胞的密度相比于微米级的表面而言，纳米级粗糙度的表面能显著提高细胞密度	纳米修饰技术有望被应用于下一代组织工程化血管移植，并能使其移植成功

2.6 表面纳米仿生改性构建组织工程血管支架 韩本松等[17]以小肠黏膜下层组织膜(SIS)为实验材料，利用等离子体技术引发SIS膜表面纳米改性，结果显示，改性SIS膜SIS现出“岛状”、“沟漕样”纳米仿生形态，水接触角降低，亲水性增强，表面自由能增大，组织学检测显示管腔内壁有完整的内皮覆盖。说明SIS表面通过等离子体进行纳米仿生改性，具有良好而持久的抗凝血性，表现出良好的血液相容性。说明SIS表面通过等离子体进行纳米仿生改性，具有良好而持久的抗凝血性，表现出良好的血液相容性。

3 讨论

3.1 组织工程血管支架材料有应具备哪些特点 理想的组织工程材料应该具有以下特点：无毒性；良好的生物相容性；生物可降解性及降解可调节性；不引起机体免疫排斥反应；可塑性和一定的机械强度；良好的表面活性。总之，在构建组织工程血管时必须提供具有特定三维的立体(管状)支架，作为血管细胞种植的基质材料，使接种细胞能定位、贴附、局域化生长增殖，同时材料可使细胞在支架空间分布排列有序，分化具有特定功能并合成适当的细胞外基质，再者组织工程血管移植机体内时支架材料还应兼有力学支持功能，抗血流压力等[18]。

3.2 组织工程血管支架材料有那些分类及各自的特点

3.2.1 天然材料构建组织工程血管 天然材料被用于组织工程血管主要是由于其具有和细胞相互影响的优势。不利的因素是天然材料的机械强度比较差[19]。天然的支架材料来源于生物体，具有良好的细胞亲和力，能为细胞生长、繁殖、分化提供近似体内组织发育的细胞外基质支架条件，其生物相容性、顺应性以及免疫排斥性低等特点优于合成材料。天然生物材料分为大分子结构材料，如丝素蛋白、胶原蛋白、弹性蛋白、壳聚糖、明胶等；脱细胞组织基质材料，如脱细胞真皮基质、脱细胞血管基质等。

3.2.2 合成材料构建组织工程血管 人工合成聚合物支架最主要的优势在于它具有精确的可操作性，包括分子量、形状、孔隙率、微细结构、弹力强度和降解时间等[20]。最显著缺点是缺乏生物信号而不易被细胞识别。

合成材料支架应具有生物相容性，适于细胞贴附和基质沉积。同时还应具有传递弹性的作用，以适应血管在体内的功能。在设计时，支架的结构参数如孔隙大小、孔隙率、表面积均应考虑到[20]。其他结构特征参数如孔隙形状、孔壁的形态学、孔之间的连通管等，在细胞的种植、迁移、生长、基因表达和在3D环境中新组织的形成方面均有重要作用。材料支架具有90%孔隙率和孔径为100~300 μm就能够提供好的生物相容性。为了能大体模拟自然血管，一些支架在设计时添加了沟槽、微通道及特定朝向的孔隙以引导细胞生长和迁移。支架的微通道和细胞培养的环境促进营养物质的转入和细胞代谢废物的转出。现在已有用数值模拟建立的有特殊微管和营养转运的网状结构。通过灌注法获取血管网络及形态。利用计算机技术进行处理，可以得出所需血管的精确3D图形。

3.2.3 合成材料构建组织工程血管 天然生物材料含有生物信息，与细胞的亲和性强；而合成高分子材料的降解速度可以控制，物理机械性能良好等。天然生物材

料和合成高分子材料都存在一定不足，若生物材料和高分子可降解材料相结合，将两者按照一定的方法组合构建成一种复合基质，发挥两者各自的优势，便能更好地满足血管组织工程的要求，构建出性能良好的组织工程化血管[21]。杂交支架是利用自然材料和合成材料复合制成的支架[22]，结合了人工合成材料容易制作、结构容易控制、机械强度良好和生物材料(如胶原等)易与细胞反应、亲水性良好的优点，满足了体外构建组织工程支架的需要。杂交支架构建标准如下[23-24]：①支架表面可促进细胞黏附、加快细胞生长、保持细胞分化的表型。②具有生物相容性，体内产物无毒、无易致感染性。③生物可降解性，最后可以从体内排出。④高孔隙率，可以提供足够的空间供细胞黏附。⑤孔隙结构能够使细胞沿支架立体分布、容易使同种组织形成。⑥能够可重复地制成3D结构，耐受强机械力。

3.2.4 纳米材料构建组织工程血管 纳米技术能够在许多方面克服现有其他方法无法解决的难题。纳米技术研究结构尺寸在0.1~100.0 nm范围内材料的性质和应用。组织工程血管支架可以由纳米材料或经过纳米技术处理的天然材料制成[25]。可利用相分离、电纺丝、结构蛋白多肽的自组装等技术构建纳米血管支架，目前应用较多，发展较迅速的是电纺丝技术[26-27]。

纳米支架能够可控地使血管细胞的表型得以表达，同时使细胞表达自身的生物学功能[28]。利用纳米技术提高组织下程血管腔面的抗血栓功能已取得了令人瞩目的成绩，目前基于纳米技术建立的抗血栓的管腔面有3种方式[29-30]：①在支架腔面固化一些具有抗栓功能的分子。从而创立一个非细胞性的纳米抗血栓表层。②固化一些分子，使腔面的内皮化得到明显提高，从而实现抗凝的目的。③应用磁珠标记的内皮细胞，以提高管腔的内皮化。然而如何在体内保持长期的抗血拴功能仍旧是一个挑战。

3.3 组织工程血管的发展 组织工程血管近年来发展迅速，但它依然面临许多严峻的问题，例如，替代物的内皮化程度，植入机体后有没有炎症反应，找到合适的支架材料机械强度、降解速率和组织形成速率三者之间的最佳平衡点，如何开发具有良好生物活性和对人体又无损害的生物材料等，而所选取的支架材料在很大程度上决定了组织工程化血管性能。到目前为止，还没有发现一种很理想的血管支架材料。虽然现在天然生物材料成为研究的热点，但是物理机械性能并不能很好地符合支架要求，这就迫切需要新材料的出现，来更好地满足组织化血管支架的要求，达到修复和重建的目的。

4 参考文献

[1] Langer R,Vacanti JP.Tissue engineering.Science.1993；260 (5110):920-926.
[2] Chen GP,Ushida T,Tateishi T. Development of biodegradable porous scaffolds for tissue engineering.Mat Sci Eng C.2001；17: 63.
[3] Yeong WY, Chua CK, Leong KF,et al. Rapid prototyping in tissue engineering: challenges and potential. Trends Biotechnol. 2004；22(12):643.
[4] Thomas AC, Campbell GR, Campbell JH. Advances in vascular tissue engineering. Cardiovasc Pathol.2003；12（5）: 271-276.
[5] Nerem RM. Critical issues in vascular tissue engingeering. Int Congr Ser.2004;1262:122.
[6] Weinberg CB,Bell E.A blood vessel model constructed from collagen and cultured vascular cells. Science.1986; 231(4736)：397-400.
[7] Ziegler T,Alexander RW,Nerem RM. An endothelial cell-smooth muscle cell co-culture model for use in the investigation of flow effects on vascular biology. Ann Biomed Eng.1995;23(3): 216-225.
[8] Schaner PJ, Martin ND, Tulenlto TN, et al.Decellularized vein as a protential scaffold for vascular tissue engineering. J Vase Surg.2004;40(1):146-153.
[9] Huynh T,Abraham G,Murray J,et al.Remodeling of an acellular collagen graft into a physiologically responsive neovessel.Nat Biotechnol.1999；17(11):1083-1086.
[10] Ye Q,Zünd G,Benedikt P,et al.Fibrin gel as a three dimensional matrix in cardiovascular tissue engineering.Eur J Cardiothorac Surg.2000;17(5):587-591.
[11] Frerich B,Zückmatel K,Hemprich A.Microvascular engineering in perfusion culture:immunohistochemistry and CLSM findings. Head Face Med.2006;2:26.
[12] Shinoka T,Shum T D,Ma P X,et al.Creation of viable pulmonary artery autografts through tissue engineering.J Thorac Cardiovasc Surg.1998;115(3):536-546.
[13] 杨松林,谷涌泉,汪忠镐,等.三种人工合成可降解血管支架材料体外生物相容性及表面改性研究[J].第二军医大学学报,2006, 27(4):400-404.
[14] Furukawa KS,Ushida T,Toita K,et al.Hybrid of gel-cultured smooth muscle cells with PLLA sponge as a scaffold towards blood vessel regeneration.Cell Transplant.2002;11 (5):475-480.
[15] 15. Iwai S,Sawa Y,Ichikawa H,et al.Biodegradable polymer with collagen microsponge serves as a new bioengineered cardiovascular prosthesis.J Thorac Cardiovasc Surg.2004;128 (3):472-479.
[16] Miller DC，Haberstroh KM，Webster TJ.Mechanism(s) of increased vascular cell adhesion on nanostructured poly(lactic-co-glycolic acid) films. J Biomed Mater Res A. 2005;73(4):476-484.
[17] 韩本松,范存义,刘生和. 表面纳米仿生改性的组织工程血管支架材料对猪血液相容性的影响[J]. 中华医学杂志,2006,86(29): 2065-2068.
[18] 王曙东,李双燕,张幼珠. 小口径组织工程血管支架的研究与展望[J]. 苏州大学学报：工科版,2008,28(2):23-26.
[19] Isenberg BC,Williams C,Tranquillo RT.Small-diameter artificial arteries engineered invitro.Circ Res.2006；98(1):25-35.
[20] Ratcliffe A.Tissue engineering of vascular grafts.Matrix Biol. 2000；19(4):353-357.
[21] 孙庆兰,张华,张西正,等. 血管组织工程支架材料的研究进展[J]. 化工新型材料,2009,37(11):1-7.
[22] Ma Z,He W,Yong T,et al.Grafting of gelatin on electrospun poly (capmlactone) nanofibers to improve endothelial cell spreading and proliferation and to control cell orientation.TissueEng.2005；11 (7-8):1149-1158.
[23] Chen G,Ushida T,Tateishi T.Scaffold design for tissue engineering. Macrcmol Biesci.2002；2(2):67-77.
[24] Elcin AE,Elein YM.Localized angiagenesis induced by human vascular endothelial growth factoractivatod PLGA sponge. Tissue Eng.2006；12(4):959-968.
[25] Saba K.Pollock JF,Schaffer DV,et al.Designing synthetic materials to control stem cell phenotype.Curr Opin Chem Biol.2007；11 (4):381-387.
[26] Williamson MR,Coombes AG.Gravity spinning of polycaprolactone fibres for applications in tissue engineering.Biomaterials.2004；25 (3):459-465.
[27] Williamson MR,Adams EF,Cocmbes AG.Gravity spun polycaprolactone fibres for soft tissue engineering:interaction with fibrablasts and myoblasts in cell culture.Biomaterials.2006；27(7):1019-1026.
[28] Jordan SW,Chaikof EL.Novel thromboresistant materials.J Vasc Surg.2007；45(Suppl A):104-115.
[29] Botmans JI,Heyligers JM,Verhagen KJ,et al.In vivo cell seeding with anti-CD34 antibodies successfully accelerates endothelialization but stimulates intinud hyperplasia in porcine arteriovenous expanded polytetrafluorocthylene grafts. Circulation. 2005；112(1):12-18.
[30] Barnes CP,Sell SA,Boland ED,et al.Nanofiber technology: designing the next generation of tissue engineering scaffolds.Adv Drug Deliv Rev.2007；59(14):1413-1433.