

透明质酸修饰壳聚糖复合支架在大鼠脑皮质损伤修复中的作用**

宋学明, 吴春波, 陈志强

Role of hyaluronic acid-modified chitosan composite scaffolds on wound healing of rats with cerebral cortex injury

Song Xue-ming, Wu Chun-bo, Chen Zhi-qiang

Abstract

BACKGROUND: In order to verify whether the hyaluronic acid-modified chitosan can serve as nerve scaffolds, the research group conducted *in vivo* test based on previous *in vitro* study.

OBJECTIVE: To compare the biocompatibility and superiority of scar inhibition of hyaluronic acid-modified and poly-L-lysine modified chitosan scaffold, as well as pure chitosan scaffold in brain tissue.

METHODS: Three kinds of scaffolds were implanted in the damage zone of rat cerebral cortex. At 3, 7, 14, 28, 56 days postoperation, brain tissues were harvested to undergo hematoxylin-eosin staining and immunohistochemistry. The inflammation, scar tissue formation and the growth of nerve cells in the implanted site were observed.

RESULTS AND CONCLUSION: Each kind of scaffolds has a good biocompatibility with brain tissues. Hyaluronic acid modified chitosan scaffold showed lighter inflammation and less GFAP-positive cells around the scaffolds compared with other scaffolds. The differences were statistically significant ($P < 0.01$). Results showed that chitosan scaffolds of each group have a good biocompatibility. The hyaluronic acid modified chitosan scaffold is superior to others to inhibit scar formation and helps to the growth of nerve cells, and shows its superiority in tissue engineering.

Song XM, Wu CB, Chen ZQ. Role of hyaluronic acid-modified chitosan composite scaffolds on wound healing of rats with cerebral cortex injury. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2010;14(29):5355-5359. [http://www.crtcr.cn http://en.zglckf.com]

摘要

背景: 为了验证透明质酸修饰后的壳聚糖材料能否作为神经支架材料, 课题组在前期体外实验结果的延续下, 进行体内试验观察。

目的: 比较经透明质酸、多聚赖氨酸修饰的壳聚糖支架及单纯壳聚糖支架在脑组织中的生物相容性及抑制瘢痕作用的优越性。

方法: 将3种支架植入Wistar大鼠脑皮质损伤区, 术后3, 7, 14, 28, 56 d分别取脑组织行苏木精-伊红染色、免疫组化观察, 观察移植部位炎症反应及瘢痕组织形成、神经细胞生长情况。

结果与结论: 各组支架与脑组织相容性良好, 用透明质酸修饰的壳聚糖复合支架组与其他壳聚糖支架组相比, 支架周围炎症反应轻、支架周围GFAP阳性细胞数少, 差异均具有显著性意义($P < 0.01$)。结果提示各组壳聚糖支架均具有良好的生物相容性, 用透明质酸修饰的壳聚糖复合支架较其他壳聚糖支架抑制瘢痕作用明显, 有利于神经细胞的生长, 在组织工程应用中更具有优越性。

关键词: 透明质酸; 壳聚糖; 复合支架; 组织相容性; 神经支架材料

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2010.29.009

宋学明, 吴春波, 陈志强. 透明质酸修饰壳聚糖复合支架在大鼠脑皮质损伤修复中的作用[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(29):5355-5359. [http://www.crtcr.org http://cn.zglckf.com]

0 引言

Christine报道在脑的形态发育过程中, 细胞外基质作为底物对组织的有序构筑有接触引导的支架作用^[1], 脑损伤后细胞外基质破坏, 胶质瘢痕形成, 从而阻碍了脑组织结构的重建。课题组前期工作已证实壳聚糖复合支架在体外细胞培养基中神经细胞黏附性和生物相容性良好。本实验主要观察壳聚糖复合支架及单纯壳聚糖支架在大鼠脑组织中的生物相容性以及中枢神经组织损伤后抑制胶质瘢痕作用, 支架植入后炎症细胞的表达, GFAP标记的胶质细胞以及NSE标

记神经元细胞的生长情况, 为神经组织工程寻找适合的支架材料提供依据。

1 材料和方法

设计: 动物观察实验。

时间及地点: 实验于2006-02/2007-03在哈尔滨医科大学完成。

材料:

实验动物: 80只健康Wistar大鼠, 12月龄, 体质量(275±25) g, 雌雄不拘, 由哈尔滨医科大学第一临床医学院动物实验中心提供(许可证号SCXK(黑)2006-009)。实验过程中对动物

First Clinical Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China

Song Xue-ming★, Master, Associate professor, First Clinical Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China doctorsxm@sina.com

Supported by: the Natural Science Foundation of Heilongjiang Province, No. D2004-26*

Received: 2010-03-23 Accepted: 2010-05-06

哈尔滨医科大学附属第一医院临床医学院, 黑龙江省哈尔滨市 150001

宋学明★, 男, 1962年生, 黑龙江省哈尔滨市人, 汉族, 1995年哈尔滨医科大学毕业, 硕士, 副教授, 主要从事中枢神经组织损伤与修复研究。 doctorsxm@sina.com

中图分类号: R318
文献标识码: B
文章编号: 1673-8225 (2010)29-05355-05

收稿日期: 2010-03-23
修回日期: 2010-05-06
(20100323003/M·Y)

的处置参照国家科学技术部2006年发布的《关于善待实验动物的指导性意见》^[2]。

主要仪器和试剂:

主要仪器和试剂	来源
石蜡切片机	LEICA
生物组织摊烤片机	湖北省孝感市亚光医用电子技术研究所
生物显微镜	日本 OLYMPUS
壳聚糖支架	自主制备
兔抗鼠 NSE、 兔抗鼠 GFAP	武汉博士德生物工程有限公司
羊抗兔二抗	北京中山试剂有限公司

实验方法: 将80只大鼠随机分为4组, 单纯损伤组, 单纯壳聚糖支架组, 多聚赖氨酸修饰的壳聚糖支架组, 透明质酸修饰的壳聚糖支架组, 每组20只。大鼠用10%水合氯醛经腹腔麻醉(300 mg/kg), 后固定、开颅。在冠状缝后3 mm及矢状缝右侧旁3 mm处, 开4 mm×4 mm大小的骨窗切开硬脑膜。在皮质上制作一个2.5 mm×2.5 mm×3.0 mm左右的损伤后, 止血后植入已消毒等体积的支架, 单纯损伤组在损伤区注入生理盐水, 常规缝皮。

各组大鼠分别于3, 7, 14, 28, 56 d心脏灌注、剥取大脑, 40 g/L多聚甲醛固定。石蜡包埋、切片, 行苏木精-伊红染色和免疫组织化学染色。胶质纤维酸性蛋白(glia fibrillary acidic protein, GFAP)标记反应性胶质细胞: 神经元特异性烯醇酶(neuron specific enolase, NSE)标记神经元。在显微镜下观察各组不同时间段支架周围的炎症细胞浸润、支架周围及支架内部GFAP、NSE表达阳性细胞的分布情况, 并在放大400倍的情况下, 镜下取四角和中心为计数位置, 累计细胞数/5为镜下细胞数纳入统计结果, 重复观察不同切片16次。

主要观察指标: 炎症细胞浸润、支架周围及支架内部GFAP及NSE表达阳性细胞的分布情况。

设计、实施、评估者: 实验设计为第一作者, 实施评估为第一、二作者, 所有人都受过专业培训。

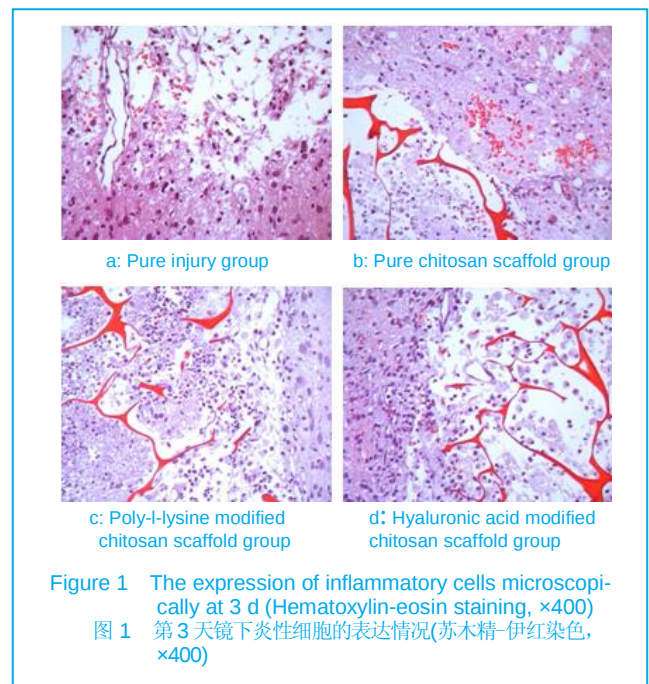
统计学分析: 结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用SAS 9.1.3统计软件进行广义线性模型(GLM)析因设计的方差分析, 采用lsmeans语句进行两两比较, 检验水准为0.05。

2 结果

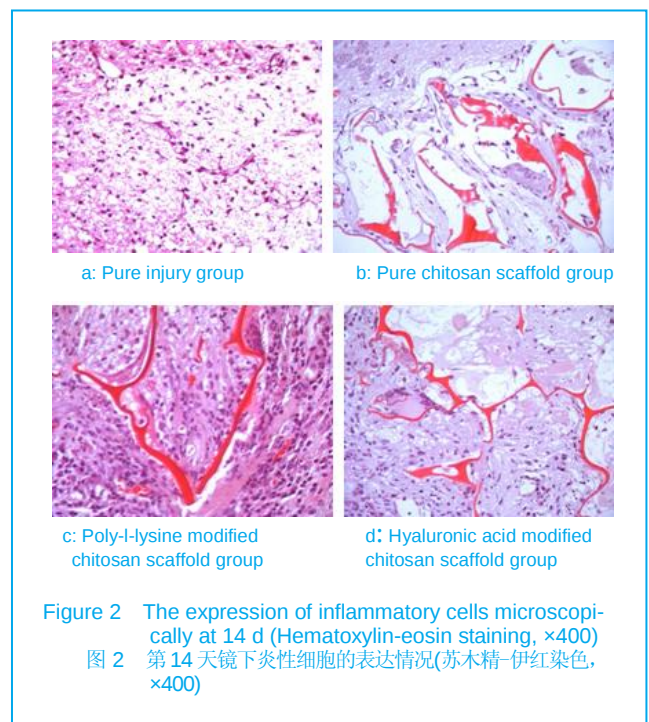
2.1 实验动物数量分析 实验选择的80只大鼠均进入结果分析, 实验期间饮食活动正常, 切口愈合良好, 无神经功能缺陷。

2.2 支架-脑组织宏观与微观观察结果 3个实验组在术后28 d灌注取材时发现大脑皮质移植部位开始有部分长合, 移植物和脑皮质组织之间无明显的间隙和炎症反应。单纯损伤组在损伤区见明显的空洞; 3个实验组的脑组织苏木精-伊红染色后可观察到有如下共性规

律: 术后第3天支架周围呈急性局限性炎症反应, 以中性粒细胞为主, 并有少量淋巴细胞, 在支架内部也可见中性粒细胞等炎性细胞, 见图1。



术后7 d时可见炎症淋巴细胞增多。术后14 d支架周围急性炎症反应已减退, 大量中性粒细胞坏死, 剩下不完整的中性粒细胞及其死亡碎片、核残屑等, 此时淋巴细胞增多, 见图2。



术后第4周时见少量的巨细胞或纤维细胞, 其他炎性细胞少见。各组支架周围炎性细胞数与单纯损伤组比较, 差异有显著性意义($P \leq 0.01$), 见表1~3。

表 1 不同时期各组支架周围中性粒细胞计数
Table 1 Count of neutrophilic granulocytes around scaffolds at different times ($\bar{x} \pm s$, $n=16$, cells/ $\times 400$ visual field)

Group	3 d	7 d	14 d	28 d
Pure injury	36.2 $\pm$ 4.3	49.1 $\pm$ 2.6	30.4 $\pm$ 1.1	8.6 $\pm$ 0.8
Pure chitosan scaffold	60.5 $\pm$ 3.5	71.8 $\pm$ 0.5	65.1 $\pm$ 2.6	28.6 $\pm$ 0.8
Poly-L-lysine modified chitosan scaffold	61.5 $\pm$ 1.2	70.9 $\pm$ 2.4	57.1 $\pm$ 0.8	21.8 $\pm$ 2.1
Hyaluronic acid modified chitosan scaffold	50.9 $\pm$ 2.9 ^a	59.1 $\pm$ 2.6 ^a	40.6 $\pm$ 0.8 ^a	15.6 $\pm$ 0.1 ^a

^a $P < 0.01$, vs. other three groups

表 2 不同时期各组支架周围淋巴细胞计数
Table 2 Count of lymphocytes around scaffolds at different time ($\bar{x} \pm s$, $n=16$, cells/ $\times 400$ visual field)

Group	3 d	7 d	14 d	28 d
Pure injury	6.3 $\pm$ 0.8	15.5 $\pm$ 2.1	18.4 $\pm$ 2.9	5.3 $\pm$ 1.4
Pure chitosan scaffold	20.3 $\pm$ 2.1	25.3 $\pm$ 1.6	35.8 $\pm$ 2.1	20.4 $\pm$ 1.6
Poly-L-lysine modified chitosan scaffold	15.7 $\pm$ 0.8	20.2 $\pm$ 3.5	30.3 $\pm$ 3.5	13.7 $\pm$ 2.5
Hyaluronic acid modified chitosan scaffold	11.6 $\pm$ 2.1 ^a	15.2 $\pm$ 1.6 ^a	25.9 $\pm$ 2.1 ^{ab}	9.6 $\pm$ 1.6 ^a

^a $P < 0.01$, vs. other three groups

表 3 不同时期各组支架周围纤维细胞计数
Table 3 Count of fibrocytes around scaffolds at different time ($\bar{x} \pm s$, $n=16$, cells/ $\times 400$ visual field)

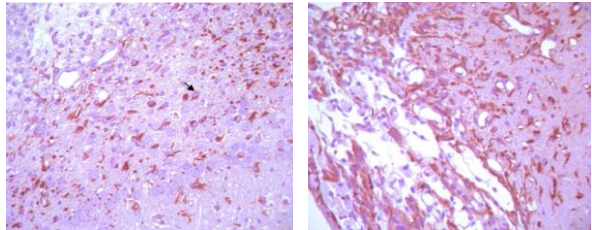
Group	3 d	7 d	14 d	28 d
Pure injury	36.2 $\pm$ 4.3	49.1 $\pm$ 2.6	30.4 $\pm$ 1.1	8.6 $\pm$ 0.8
Pure chitosan scaffold	60.5 $\pm$ 3.5	71.8 $\pm$ 0.5	65.1 $\pm$ 2.6	28.6 $\pm$ 0.8
Poly-L-lysine modified chitosan scaffold	61.5 $\pm$ 1.2	70.9 $\pm$ 2.4	57.1 $\pm$ 0.8	21.8 $\pm$ 2.1
Hyaluronic acid modified chitosan scaffold	50.9 $\pm$ 2.9 ^a	59.1 $\pm$ 2.6 ^a	40.6 $\pm$ 0.8 ^a	15.6 $\pm$ 0.1 ^a

^a $P < 0.01$, vs. other three groups

从3组支架周围炎性细胞数可见, 各个时间段单纯壳聚糖支架组、多聚赖氨酸修饰的壳聚糖支架组、透明质酸修饰的壳聚糖支架组支架周围炎性细胞数依次减少, 差异均具有显著性意义($P \leq 0.01$)。

2.3 GFAP标记胶质细胞表达情况 鼠脑切片免疫组织化学染色观察, 支架植入后第1周时各组在支架周围见有较多的GFAP阳性细胞, 标记细胞呈棕黄色, 胞体较大, 有突起, 呈反应性胶质细胞形态, 见图3~6。术后2周GFAP阳性细胞数逐渐减少。各实验组支架周围GFAP阳性细胞数在各个时间段均较单纯损伤组少, 透明质酸修饰的壳聚糖复合支架组较单纯壳聚糖支架组和多聚赖氨酸修饰的壳聚糖复合支架组少, 差异有显著性意义($P \leq 0.01$), 见表4。多聚赖氨酸和透明质酸修饰的壳聚糖复合支架组大鼠从术后第4周始支架内部可见

GFAP阳性表达细胞, 单纯壳聚糖支架组大鼠从术后第4周始支架内部近边缘处见少数GFAP阳性表达细胞。单纯损伤组在各个时间段损伤脑组织周围GFAP阳性细胞数较其他组多, 而且比较集中。

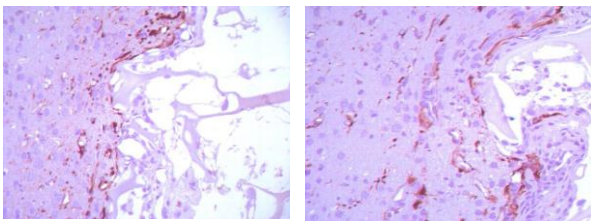


a: One week postoperation

b: Eight weeks postoperation

Figure 3 GFAP immunohistochemical staining of pure injury group ($\times 400$)

图 3 单纯损伤组 GFAP 免疫组化染色($\times 400$)

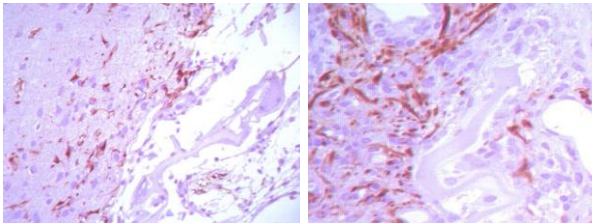


a: One week postoperation

b: Eight weeks postoperation

Figure 4 GFAP immunohistochemical staining of pure chitosan scaffold group ($\times 400$)

图 4 单纯壳聚糖支架 GFAP 免疫组化染色($\times 400$)

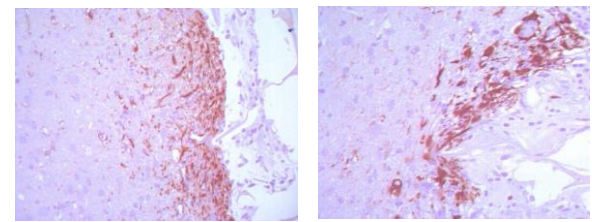


a: One week postoperation

b: Eight weeks postoperation

Figure 5 GFAP immunohistochemical staining of chitosan scaffolds modified by poly-L-lysine ($\times 400$)

图 5 多聚赖氨酸修饰的壳聚糖复合支架 GFAP 免疫组化染色($\times 400$)



a: One week postoperation

b: Eight weeks postoperation

Figure 6 GFAP immunohistochemical staining of chitosan scaffolds modified by hyaluronic acid ($\times 400$)

图 6 透明质酸修饰的壳聚糖复合支架 GFAP 免疫组化染色($\times 400$)

表 4 不同时期各组支架周围 GFAP 阳性细胞计数
Table 4 Count of GFAP positive cells around scaffolds at different times ($\bar{x} \pm s$, $n=16$, cells/ $\times 400$ visual field)

Group	3 d	7 d
Pure injury	19.9 $\pm$ 2.4	30.5 $\pm$ 2.1
Pure chitosan scaffold	9.3 $\pm$ 2.6	14.2 $\pm$ 2.5
Poly-l-lysine modified chitosan scaffold	8.5 $\pm$ 3.5	13.4 $\pm$ 2.1
Hyaluronic acid modified chitosan scaffold	3.3 $\pm$ 1.4 ^a	6.3 $\pm$ 2.6 ^a

Group	14 d	28 d	56 d
Pure injury	39.4 $\pm$ 2.9	45.4 $\pm$ 1.6	21.3 $\pm$ 2.1
Pure chitosan scaffold	21.7 $\pm$ 3.7	33.8 $\pm$ 3.5	16.2 $\pm$ 2.9
Poly-l-lysine modified chitosan scaffold	23.4 $\pm$ 3.5	30.7 $\pm$ 3.5	14.9 $\pm$ 2.4
Hyaluronic acid modified chitosan scaffold	15.4 $\pm$ 2.8 ^a	24.5 $\pm$ 3.6 ^a	8.4 $\pm$ 2.9 ^a

^a $P < 0.01$, vs. other three groups

2.4 NSE标记神经元情况 单纯壳聚糖支架组和多聚赖氨酸修饰的壳聚糖复合支架组在各个时间段支架内部均未见NSE阳性细胞, 透明质酸修饰的壳聚糖复合支架组第8周时在支架内部近边缘处见数个NSE阳性细胞。见图7。

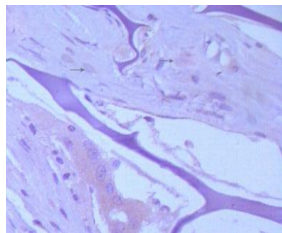


Figure 7 NSE immunohistochemical staining of chitosan scaffolds modified by poly-l-lysine at 8 wk post-operation ($\times 400$)

图 7 透明质酸修饰的壳聚糖复合支架植入术后 8 周 NSE 免疫组化染色 ($\times 400$)

3 讨论

可被人体降解吸收的组织工程支架材料称为细胞外基质材料, 其功能是为细胞提供生存空间, 使细胞获足够的营养物质, 进行气体交换, 并使细胞按预制形态的三维支架生长^[3-6]。壳聚糖为甲壳素的脱乙酰化产物, 组织免疫原性好, 具有亲水性和可降解性, 是组织工程中应用较多的生物支架材料^[7-11]。但单纯壳聚糖大分子细胞亲和性差, 限制了进一步应用^[12-13]。通过对壳聚糖进行改性^[14-16], 可改进壳聚糖支架的细胞亲和性。如李云晖等^[17]用透明质酸对壳聚糖改性后培养表皮细胞, 结果提高了细胞的亲和性。龚海鹏等^[18]用多聚赖氨酸对壳聚糖进行改性后培养神经细胞, 表明壳聚糖复合材料的神经亲和性比单纯壳聚糖好, 同样也说明单纯壳聚糖支

架的细胞黏附差^[19]。本实验通过将3组壳聚糖支架植入大鼠脑皮质内观察组织相容性和抑制胶质瘢痕的差异性表达。

本实验结果显示, 在脑组织内支架由植入初期的完整固态逐步降解成局部不完整的碎片, 表明壳聚糖复合材料是一种在体内安全降解的高分子多聚物^[20-21]。不同壳聚糖支架植入脑皮质损伤区后支架周围炎症细胞浸润数均多于空白对照组, 各实验组的炎症反应较单纯损伤组明显, 但是炎症反应随时间逐渐减退, 是短暂的、局限性反应。3组支架材料进行比较, 结果显示用透明质酸修饰的壳聚糖支架比其他两组壳聚糖支架炎症反应轻。以上研究结果提示, 3组支架材料均具有良好的生物相容性, 用透明质酸修饰的壳聚糖支架较其他两组壳聚糖支架具炎性细胞反应更轻, 炎性细胞数更少, 与其他组同期相比有统计学差异, 显示出有更好的生物相容性。这与文献报道透明质酸具有抗炎性相一致^[22-25]。

脑组织损伤后形成胶质瘢痕, 它不但构成神经细胞轴突向损伤部位生长的障碍, 又成为外伤后癫痫发生的基础^[26-28]。使用有利于神经组织存活或再生的材料及时填补伤后的缺损或空洞, 可为星形胶质细胞的继续迁移提供附着物或新的路径, 起到消除胶质细胞聚集。侯少平等^[29]实验研究发现, 将PHPMA水凝胶植入大鼠脑皮质缺损区可抑制胶质瘢痕的形成。本实验中壳聚糖修饰所使用的透明质酸带有大量的负电荷, 对胶质细胞具有排斥作用^[30-31], 可形成化学屏障。实验结果也说明用透明质酸修饰的壳聚糖支架周围GFAP表达少, 且分布较均匀。并且实验中仅在透明质酸修饰的壳聚糖复合支架组第8周时在支架内部近边缘处见数个NSE阳性细胞, 其余实验组支架内部均未观察到NSE阳性细胞, 细胞数量不多考虑可能与观察时间短有关。

本实验结果表明透明质酸修饰的壳聚糖复合支架较单纯壳聚糖及多聚赖氨酸修饰的壳聚糖复合支架具有更好的组织相容性和抑制胶质瘢痕形成的作用, 更有利于神经轴突的生长。

4 参考文献

- [1] Stichel CC, Müller HW. Experimental strategies to promote axonal regeneration after traumatic central nervous system injury. *Prog Neurobiol*. 1998;56(2):119-148.
- [2] The Ministry of Science and Technology of the People's Republic of China. Guidance Suggestions for the Care and Use of Laboratory Animals. 2006-09-30.
- [3] Fang LR, Weng WJ, Shen G, et al. Shengwu Yixue Gongcheng Zazhi. 2003;20(1):148-152.
- [4] Sun T, Smallwood R, MacNeil S. Development of a mini 3D cell culture system using well defined nickel grids for the investigation of cell scaffold interactions. *J Mater Sci Mater Med*. 2009;20(7):1483-1493.
- [5] He Y, Yang SH. Zhonghua Shenjing Waike Jibing Yanjiu Zazhi. 2007;6(2):191-192.

- [6] Stendahl JC, Kaufman DB, Stupp SI. Extracellular matrix in pancreatic islets: relevance to scaffold design and transplantation. *Cell Transplant*. 2009;18(1):1-12.
- [7] Hsu SH,Whu SW,Tsai CL,et al.Chitosan as Scaffold Materials: Effects of Molecular Weight and Degree of Deacetylation. *Journal of Polymer Research*. 2004;11(2):141-147.
- [8] Kleene R, Schachner M. Glycans and neural cell interactions. *Nat Rev Neurosci*. 2004;5(3):195-208.
- [9] Chávez-Delgado ME, Gomez-Pinedo U, Feria-Velasco A,et al. Ultrastructural analysis of guided nerve regeneration using progesterone- and pregnenolone-loaded chitosan prostheses. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2005;74(1):589-600.
- [10] Fan T, Wang D, Fu Y,et al. Experimental studies on chitosan blend membrane as scaffold carriers for cultivating rabbit corneal endothelial cells in vitro. *Sheng Wu Yi Xue Gong Cheng Xue Za Zhi*. 2009;26(5):1016-1020.
- [11] Kim NR, Lee DH, Chung PH,et al. Distinct differentiation properties of human dental pulp cells on collagen, gelatin, and chitosan scaffolds. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2009;108(5):e94-100.
- [12] Li LH,Li H,Luo BH,et al.Gongneng Gaofenzi Xuebao. 2005;18(2):347-352.
李立华,李红,罗丙红,等.壳聚糖及其衍生物在组织工程中的应用[J].功能高分子学报,2005,18(2):347-352.
- [13] Zhang M,Mu YL,Gong YD,et al.Shengwu Wuli Xuebao. 1999;15(4):640-645.
张淼,牟阳灵,公衍道,等.通过研究改性壳聚糖与细胞的相互作用评价其生物相容性[J].生物物理学报,1999,15(4):640-645.
- [14] Zhu A, Zhao F, Ma T. Photo-initiated grafting of gelatin/N-maleic acyl-chitosan to enhance endothelial cell adhesion, proliferation and function on PLA surface. *Acta Biomater*. 2009;5(6):2033-2044.
- [15] da Silva RM, López-Pérez PM, Elvira C,et al. Poly(N-isopropylacrylamide) surface-grafted chitosan membranes as a new substrate for cell sheet engineering and manipulation. *Biotechnol Bioeng*. 2008;101(6):1321-1331.
- [16] Huang YC, Huang CC, Huang YY,et al. Surface modification and characterization of chitosan or PLGA membrane with laminin by chemical and oxygen plasma treatment for neural regeneration. *J Biomed Mater Res A*. 2007;82(4):842-851.
- [17] 李云晖,浦跃朴.几种壳聚糖改性材料蛋白吸附作用比较的实验研究[C].第四届全国环境与职业医学研究生学术研讨会,2005:169-173.
- [18] Gong HP,Zhong YH,Gong YD,et al.Shengwu Wuli Xuebao. 2000;16(3):553-560.
龚海鹏,钟映晖,公衍道,等.多聚赖氨酸改性壳聚糖对神经细胞的作用[J].生物物理学报,2000,16(3):553-560.
- [19] Huang Y, Onyeri S, Siewe M,et al. In vitro characterization of chitosan-gelatin scaffolds for tissue engineering. *Biomaterials*. 2005;26(36):7616-7627.
- [20] Palecek SP, Loftus JC, Ginsberg MH,et al. Integrin-ligand binding properties govern cell migration speed through cell-substratum adhesiveness. *Nature*. 1997;385(6616):537-540.
- [21] Yang GY,Hao ZF,Qin M,et al.Hebei Shifan Daxue Xuebao. 2004;28(4):386-389.
杨国营,郝振芳,秦玫,等.天然高分子材料壳聚糖固定化纤维素酶的研究[J].河北师范大学学报,2004,28(4):386-389.
- [22] Bisaccia E, Lugo A, Torres O,et al.Persistent inflammatory reaction to hyaluronic acid gel: a case report. *Cutis*. 2007;79(5):388-389.
- [23] Krasinski R, Tchorzewski H. Hyaluronan-mediated regulation of inflammation. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*. 2007;61:683-689.
- [24] Mitsui Y, Gotoh M, Nakama K,et al. Hyaluronic acid inhibits mRNA expression of proinflammatory cytokines and cyclooxygenase-2/ prostaglandin E(2) production via CD44 in interleukin-1-stimulated subacromial synovial fibroblasts from patients with rotator cuff disease. *J Orthop Res*. 2008;26(7): 1032-1037.
- [25] Panico AM, Cardile V, Garufi F,et al. Effect of hyaluronic acid and polysaccharides from *Opuntia ficus indica* (L.) cladodes on the metabolism of human chondrocyte cultures. *J Ethnopharmacol*. 2007;111(2):315-321.
- [26] Gervasi NM, Kwok JC, Fawcett JW. Role of extracellular factors in axon regeneration in the CNS: implications for therapy. *Regen Med*. 2008;3(6):907-923.
- [27] Wanner IB, Deik A, Torres M,et al. A new in vitro model of the glial scar inhibits axon growth. *Glia*. 2008;56(15):1691-1709.
- [28] Galtrey CM, Fawcett JW. The role of chondroitin sulfate proteoglycans in regeneration and plasticity in the central nervous system. *Brain Res Rev*. 2007;54(1):1-18.
- [29] Hou SP, Ji M, Fan YW,et al. Shenjing Jiepaoxue Zazhi. 2003;19(4):383-387.
侯少平,姬曼,范昱玮,等.植入PHPMA水凝胶对脑损伤后胶质瘢痕形成的抑制性影响[J].神经解剖学杂志,2003,19(4):383-387.
- [30] Lin CM, Lin JW, Chen YC,et al.Hyaluronic acid inhibits the glial scar formation after brain damage with tissue loss in rats. *Surg Neurol*. 2009;72 Suppl 2:S50-54.
- [31] Pan L, Ren Y, Cui F,et al. Viability and differentiation of neural precursors on hyaluronic acid hydrogel scaffold. *J Neurosci Res*. 2009;87(14):3207-3220.

来自本文课题的更多信息—

基金资助: 黑龙江省自然科学基金资助项目(D2004-26)。
课题名称: 水凝胶多聚体修复中枢神经系统损伤实验研究。

利益冲突: 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

课题的意义: 在实验观察中看到透明质酸修饰的壳聚糖支架在植入脑组织 8 周之后, 可以看到个别神经元细胞, 而在用多聚赖氨酸修饰的支架以及其他支架内均未看到。从每种炎性细胞表达情况来看, 在透明质酸修饰的支架上均低于多聚赖氨酸修饰的支架。

设计或课题的偏倚与不足: 本课题中支架材料在植入脑组织中仅观察了炎性细胞和胶质细胞的表达。对材料的理化特性仍需要进一步研究。

提供临床借鉴的价值: 一旦该支架在相继的研究中证明具有同样良好的生物学、组织相容学特性。通过相关检测后完全可以应用在临床。