

拉伸-复形过程对骨修复形状记忆聚氨酯材料细胞相容性的影响***◆

颜泽萱, 罗彦凤, 黄美娜, 王远亮

Effects of stretching-shape recovering process on the cytocompatibility of novel shape memory polyurethane for bone repair

Yan Ze-xuan, Luo Yan-feng, Huang Mei-na, Wang Yuan-liang

Key Laboratory of Biorheological Science and Technology (Chongqing University), Ministry of Education, Research Center of Bioinspired Material Science and Engineering, College of Bioengineering, Chongqing University, Chongqing 400030, China

Yan Ze-xuan ★, Master, Key Laboratory of Biorheological Science and Technology (Chongqing University), Ministry of Education, Research Center of Bioinspired Material Science and Engineering, College of Bioengineering, Chongqing University, Chongqing 400030, China yan_zexuan@163.com

Correspondence to: Luo Yan-feng, Doctor, Professor, Doctoral supervisor, Key Laboratory of Biorheological Science and Technology (Chongqing University), Ministry of Education, Research Center of Bioinspired Material Science and Engineering, College of Bioengineering, Chongqing University, Chongqing 400030, China yfluo@cqu.edu.cn

Supported by: the National Technology Supporting Project of China during the 11th Five-Year Plan Period, No. 2006BA103B04*; the Tackle Key Program in Science and Technology of Chongqing City, No. CSTC 2008AB0027*

Received: 2009-11-02 Accepted: 2009-12-22

教育部生物流变科学与技术重点实验室 (重庆大

Abstract

BACKGROUND: Shape memory polyurethane (SMPU) may be employed for bone repair capable of resisting stress shielding and bone non-union due to the shape memory effect responding to changed external temperature. Evaluating the cytocompatibility of SMPU is important for its further *in vivo* experiments and applications. However, few have been done to investigate the cytocompatibility of SMPU after encountered from deforming and shape recovering.

OBJECTIVE: To evaluate the osteoblast compatibility of SMPU before and after stretching-shape recovering process.

METHODS: Solvent casting method was used to fabricate SMPU films; the obtained SMPU films were stretched to 200%, and then fixed and finally recovered to its original shape at $T_g+15\text{ }^\circ\text{C}$, $T_g-15\text{ }^\circ\text{C}$ and $T_g+15\text{ }^\circ\text{C}$, respectively. Atomic force microscope (AFM) with tapping mode was employed to probe the surface morphology and phase separation of SMPU. Primary osteoblasts at 3-5 passages were seeded on SMPU films *in vitro* to evaluate the adhesion, proliferation and spreading of osteoblasts.

RESULTS AND CONCLUSION: There were obvious and regular phase separation resulted from soft segments and hard segments in SMPU, and some groove-ridge architectures within a scale of micrometers were produced by the stretching-shape recovering process. These special micropatterned structures promoted osteoblast adhesion and proliferation, and also resulted in partially oriented cell growth along the grooves. Shape memory process, *i.e.* stretching-shape recovering process may obviously change the surface morphology of SMPU films, and suggesting better biocompatibility with osteoblasts.

Yan ZX, Luo YF, Huang MN, Wang YL. Effects of stretching-shape recovering process on the cytocompatibility of novel shape memory polyurethane for bone repair. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2010;14(3):400-404. [http://www.crter.cn http://en.zgckf.com]

摘要

背景: 形状记忆聚氨酯的温敏性形状记忆功能使其可用于缺损骨的修复, 达到抗应力遮挡和抗骨不连的作用。准确的细胞相容性评价对于形状记忆聚氨酯进一步的体内实验和应用具有重要的指导意义, 但目前关于变形-复形过程对形状记忆聚氨酯细胞相容性的影响报道甚少。

目的: 考察形状记忆聚氨酯在变形-复形前后的成骨细胞相容性。

方法: 采用溶剂浇注成膜法制备形状记忆聚氨酯膜, 分别在 $T_g+15\text{ }^\circ\text{C}$ 、 $T_g-15\text{ }^\circ\text{C}$ 和 $T_g+15\text{ }^\circ\text{C}$ 条件下对形状记忆聚氨酯膜进行拉伸变形(拉伸率 200%)、固化和复形, 制得拉伸-复形后的形状记忆聚氨酯膜。采用轻敲模式原子力显微镜观察形状记忆聚氨酯膜表面的相分离和表面形貌。将体外培养的第 3~5 代成骨细胞直接接种到形状记忆聚氨酯膜上, 检测成骨细胞的黏附、增殖和铺展情况。

结果与结论: 形状记忆聚氨酯膜在拉伸-复形前后都具有明显而规整的相分离, 拉伸-复形过程在形状记忆聚氨酯膜表面形成较规整的微米级的“沟槽-脊”结构。与拉伸-复形前的形状记忆聚氨酯相比, 成骨细胞在这种具有微米级“沟槽-脊”结构的表面上可以更好的黏附和增殖, 且成骨细胞的排列表现出一定的取向性。结果表明拉伸-复形过程可明显改变形状记忆聚氨酯膜的表面形貌, 并表现出更好的与成骨细胞的生物相容性。

关键词: 形状记忆聚合物; 聚氨酯; 细胞相容性; 骨修复; 生物材料

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2010.03.006

颜泽萱, 罗彦凤, 黄美娜, 王远亮. 拉伸-复形过程对骨修复形状记忆聚氨酯材料细胞相容性的影响[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(3):400-404. [http://www.crter.org http://cn.zgckf.com]

0 引言

骨缺损修复通常采用在骨缺损部位植入人工骨后再采用内固定或外固定的手术方法, 不管是骨内固定还是骨外固定都会在骨修复部位形成应力遮挡, 从而造成骨修复速率降低和新生骨骨质疏松等问题^[1-2]。而且, 植入的人工骨通常与缺损骨的两端存在因接触不紧密而造成的骨不连^[3]。

形状记忆聚氨酯是一种在某一温度下能

恢复预设形状的智能材料, 改变形状记忆聚氨酯中软段的相对分子量或改变形状记忆聚氨酯中软段与硬段的比例, 可调整形状记忆聚氨酯的形状记忆温度, 甚至可调整到体温附近, 因此形状记忆聚氨酯在生物医学领域尤其是在微创手术中倍受关注^[4-10]。采用形状记忆聚氨酯或形状记忆聚氨酯与无机材料的复合物加工人工骨, 只要合适地预设人工骨的永久形状和临时形状, 并采用优化的加工工艺, 可使人工骨易于植入, 并能在体温作用或外界热源的作用下恢复永久形状, 使人工骨紧密接触

和挤压骨破损部位两端, 减小人工骨与破损骨之间的间隙。这样一方面可稳定固定人工骨, 避免因空隙存在所造成的骨不连, 另一方面形状记忆人工骨可对骨破损端持续施加应力, 从而实现抗应力遮挡效应^[11-14]。

作者所在研究中心以DL-丙交酯、对二氧环己酮、乙二醇形成的大分子二醇(HO-P(LA-PDO)-OH)为软段, 以1,6-六亚甲基二异氰酸酯、丁二胺作为硬段, 通过调节软段与硬段的配比, 成功合成出了玻璃化转变温度接近人体体温的形状记忆聚氨酯, 并对其理化性能进行了表征^[15]。体外考察形状记忆聚氨酯与成骨细胞的细胞相容性, 对于进一步的体内实验和形状记忆聚氨酯在骨组织修复中的可能应用具有重要指导意义。

实验拟以原代培养的SD大鼠成骨细胞为模型细胞, 通过拉伸的方式对形状记忆聚氨酯膜进行变形, 考查成骨细胞在形状记忆聚氨酯变形-固定-复形前后的黏附与增殖情况, 并通过考查形状记忆聚氨酯在变形-固定-复形前后的表面形貌和相分离情况, 分析变形-固定-复形过程对成骨细胞行为影响的可能机制。

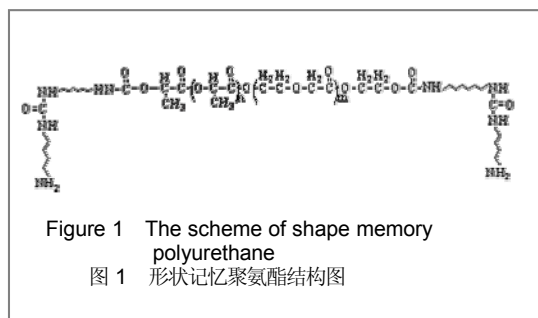
1 材料和方法

设计: 材料-细胞学体外观察。

时间及地点: 于2009-05/09在重庆大学生物工程学院生物材料与仿生工程研究中心完成。

材料: 1~3 d龄SD乳鼠6只, 购于重庆大坪三院动物实验中心, 动物生产许可证号: SCXK(军)2007-017, 动物实验设施许可证号: SCXK(军)2007-040, 实验过程中对动物的处置符合动物伦理学标准。

实验所用形状记忆聚氨酯为重庆大学生物工程学院生物材料与仿生工程研究中心自制, 玻璃化转变温度 $T_g=37.5\text{ }^\circ\text{C}$, $M_w=49\ 300$, 其结构见图1。



实验用主要试剂与仪器:

试剂与仪器	来源
DMEM 培养基	Hyclone
优等胎牛血清	TBD
胰蛋白酶	GIBCO
三氯甲烷(分析纯)	重庆东方化学试剂厂
H33258、TritonX-100、 罗丹明-鬼笔环肽、MTT	Sigma
BB6220 细胞培养箱	Heraeus
Nanowizard II 原子力显微镜	JPK
NSC35 探针	MikroMasch
IX71 倒置相差显微镜、 C5050 数码相机	OLYMPUS
LSM510META 激光 共聚焦显微镜	蔡司
Model 550 酶标仪	Bio-Rad

实验方法:

成骨细胞的培养: 采用组织块法从SD乳鼠的颅骨中分离培养原代成骨细胞^[16-17], 利用差速贴壁法进行纯化^[16], 并采用细胞形态学和ALP染色法对成骨细胞进行鉴定^[16-18], 鉴定结果显示所得细胞为成骨细胞(结果略)。取第3~5代成骨细胞用于后续实验。

形状记忆聚氨酯膜材的制备: 将形状记忆聚氨酯材料溶解于三氯甲烷中, 质量浓度0.5 g/mL, 静置过夜, 然后倒于长宽高尺寸为100 mm×100 mm×2 mm的聚四氟乙烯模具中, 室温挥发72 h, 真空干燥48 h, 脱模, 制得100 mm×100 mm×0.2 mm的膜材。将膜材分成2组, 对照组直接切割为8 mm×8 mm×0.2 mm的膜材备用; 实验组对其进行拉伸-复形操作, 在 $T_g+15\text{ }^\circ\text{C}$ 的条件下进行200%拉伸变形, 在 $T_g-15\text{ }^\circ\text{C}$ 的条件下快速冷却定形, 然后置于37 $^\circ\text{C}$ 恒温箱中复形(复形率98%), 待复形后切割成大小为8 mm×8 mm×0.2 mm的膜材。细胞接种前两组聚合物膜用紫外线照射1 h 灭菌。

膜材表面形貌及相分离检测: 将两组形状记忆聚氨酯牢固粘贴在载玻片上, 保证粘贴面平整, 用Nanowizard II 原子力显微镜对其表面进行扫描。采用轻敲模式, 设置探针在未接触试样表面时, 在空气中的自由共振振幅为24 nm, 接触样品时的振幅与自由振幅的比率(R_{sp})为0.7, 扫描区域为50 $\mu\text{m}\times 50\ \mu\text{m}$ 。

细胞黏附量测定: 将两组形状记忆聚氨酯置于24孔板中, 调整细胞悬液浓度为 $2\times 10^8\ \text{L}^{-1}$, 各吸取100 μL 细胞悬液均匀接种至膜材上(接种密度为 2×10^4 /孔), 待细胞贴壁后补加DMEM

教育部生物流变科学与技术重点实验室(重庆大学), 重庆大学生物工程学院生物材料与仿生工程研究中心, 重庆市400030

颜泽萱★, 女, 1983年生, 重庆市人, 汉族, 2006年重庆大学毕业, 硕士, 主要从事细胞/组织工程与生物材料方面的研究。
yan_zexuan@163.com

通讯作者: 罗彦凤, 博士, 教授, 博士生导师, 教育部生物流变科学与技术重点实验室(重庆大学), 重庆大学生物工程学院生物材料与仿生工程研究中心, 重庆市400030
yfluo@cqu.edu.cn

中图分类号: R318
文献标识码: B
文章编号: 1673-8225(2010)03-00400-05

收稿日期: 2009-11-02
修回日期: 2009-12-22
(20091102009/ZS.Q)

完全培养基, 细胞培养箱培养2 h后, 每组材料各取3个样品, PBS漂洗2 min×3次, 2%戊二醛4 °C固定20 min, 4 °C PBS漂洗2 min×3次, H33258染液染色1 min, 4 °C PBS漂洗2 min×3次, 荧光显微镜下观察细胞密度, 每个样品随机拍摄6个视野, 采用图像分析软件Image Pro Plus 6.0计数细胞个数, 实验结果取平均值。

细胞增殖活力检测: 将两组形状记忆聚氨酯置于24孔板中, 调整细胞悬液浓度为 $5 \times 10^7 L^{-1}$, 各吸取100 μL 细胞悬液均匀接种至膜材上(接种密度为 5×10^3 /孔), 待细胞贴壁后补加DMEM完全培养基, 细胞培养箱培养, 次日换液, 之后隔日换液。接种后第1, 3, 5, 7, 9, 11天, 分别用MTT法检测细胞在材料上的增殖活力。具体方法为弃原培养液, PBS润洗, 加入无血清培养液800 μL , 5 g/L MTT 50 μL , 置于37 °C恒温培养箱中4 h后, 加DMSO 400 μL 溶解结晶物质15 min, 反复吹打混匀后, 每孔吸取200 μL 至96孔板中, Model 550 酶标仪检测吸光度(A)值, 检测波长为570 nm。

细胞铺展观察: 将两组形状记忆聚氨酯置于事先放有洁净圆形盖玻片的24孔板中, 调整细胞悬液浓度为 $1 \times 10^8 L^{-1}$, 各吸取100 μL 细胞悬液均匀接种至膜材上(接种密度为 1×10^4 /孔), 待细胞贴壁后补加DMEM完全培养基, 细胞培养箱培养, 24 h后取出。PBS漂洗2 min×3次, 2%戊二醛4 °C固定20 min, 4 °C PBS漂洗2 min×3次。加入0.2% Triton X-100于4 °C抽提2 min, 4 °C PBS漂洗2 min×3次。在暗室中, 加入浓度为5 U/mL罗丹明-鬼笔环肽, 4 °C避光孵育过夜, 4 °C PBS漂洗2 min×3次。加入5 mg/L H33258染色1 min, 4 °C PBS漂洗2 min×3次。95%甘油封固。激光共聚焦显微镜观察, 并拍照记录。

主要观察指标: 膜材表面形貌与相分离; 细胞与膜材复合培养2 h后的黏附量; 复合培养第1, 3, 5, 7, 9, 11天的细胞增殖活力; 复合培养24 h后细胞铺展情况。

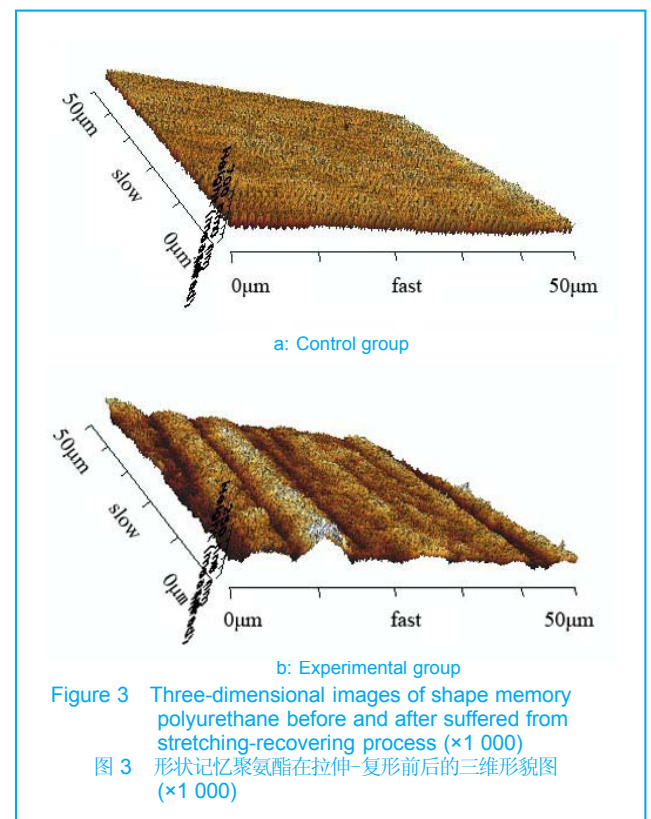
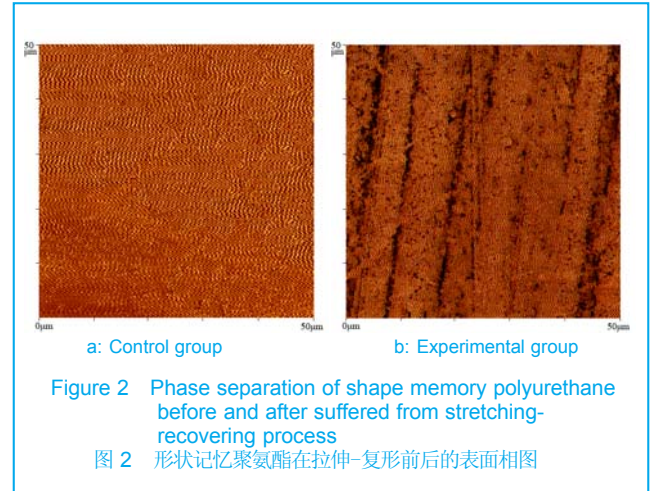
设计、实施、评估者: 主要设计、资料收集、实施为第一作者, 结果评估为全部作者, 均经过专业培训, 未使用盲法评估。

统计学分析: 由第一作者使用Origin7.5软件包对数据进行统计处理, 数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用随机区组设计的方差分析, 两两比较采用双样本t检验, $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 形状记忆聚氨酯膜材表面形貌与相分离 图2为形状记忆聚氨酯的表面相图, 图3为形状记忆聚氨酯的三维形貌图像。采用溶液浇注的方法得到的形状记忆聚氨酯表面平整, 整个区域内呈现出规则的条状明暗区域, 见图2a

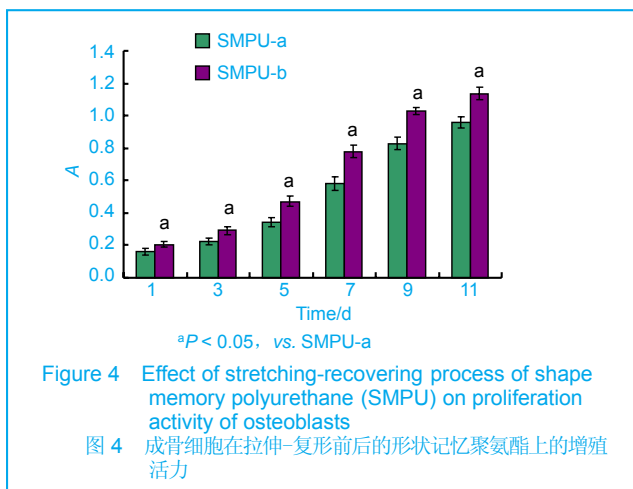
和图3a。当形状记忆聚氨酯经历了拉伸-复形后, 在整个区域中也呈现出较规则的条状明暗区域, 除此之外还存在分布较均匀黑色条纹, 见图2b和图3b。可知相图中的黑色暗纹间距与三维形貌图像中的“沟槽-脊”相吻合, 其宽度在10 μm 内, 深度在5 μm 内。



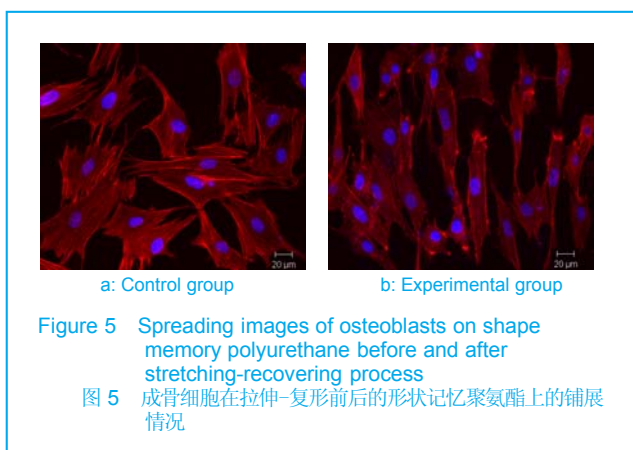
2.2 成骨细胞在形状记忆聚氨酯上的黏附量 采用PBS漂洗的方法去除膜材上未黏附或黏附不牢的细胞后, 通过细胞核染色计数的方法检测膜材上的细胞黏附量, 结果显示与对照组比较, 成骨细胞在实验组形状记忆聚氨酯上的细胞附着量明显升高[(249±24)个, (316±19)个, $P < 0.05$]。

2.3 成骨细胞在形状记忆聚氨酯上的增殖活力 接种后1, 3, 5, 7, 9, 11 d, 在相同的培养时间点实验组

形状记忆聚氨酯上的成骨细胞增殖活力均明显高于对照组($P < 0.05$), 见图4。



2.4 成骨细胞在形状记忆聚氨酯上的铺展 在对照组形状记忆聚氨酯上生长的成骨细胞无特定方向性, 且形态呈多边形, 铺展面积也较大, 见图5a; 在实验组形状记忆聚氨酯上生长的成骨细胞呈定向性排列, 形态呈梭状, 铺展面积较小, 见图5b。



3 讨论

原子力显微镜是由IBM公司和斯坦福大学于1986年合作发明的分子和原子级显微工具^[19], 在聚氨酯材料的分析中, 原子力显微镜主要用于测量材料的表面形貌及相分离。其中相图是以材料软硬度和摩擦力的差异成像的, 因此可以排除表面粗糙度的影响, 起到边缘增强的效果, 同时可避免表面形貌平面图可能因宏观的不平整引起的假像, 从而真实反映材料组成结构^[20]。在图2a与图2b中, 形状记忆聚氨酯膜在拉伸-复形前后均呈现出较规则的条状明暗区域, 表明聚氨酯本身具有明显的微相分离现象, 其中明区是硬段聚集区, 暗区是软段聚集区, 这与以往文献报道一致^[21-24]。

当形状记忆聚氨酯膜经历了拉伸变形并复形后, 其

膜表面出现了分布较均匀的黑色条纹, 其间距与其三维形貌中微米尺度的“沟槽-脊”相吻合, 这可能是拉伸-复形过程中形状记忆聚氨酯膜沿拉伸方向变形不均匀, 导致形状记忆聚氨酯膜局部过薄过软所致。图2和图3均说明拉伸-复形过程对形状记忆聚氨酯的表面形貌有较大的影响。

将两种具有不同表面形貌的形状记忆聚氨酯与细胞复合培养, 受接触引导效应的影响, 必然会对细胞的生长行为产生不同的影响^[25-27]。从细胞附着量与增殖活力检测结果可知, 具有微米尺度的“沟槽-脊”的实验组形状记忆聚氨酯表面更有利于细胞的黏附和增殖; 从细胞骨架染色图片可知, 细胞在实验组形状记忆聚氨酯表面发生定向生长, 且铺展面积较小, 这与文献报道相吻合^[28-32]。微沟槽表面的不平整性更利于细胞伪足的攀附, 侧壁也为细胞提供了比单纯平面更多的黏附表面, 这一方面增加了细胞层与基底材料之间的物理作用力, 另一方面也使细胞黏附着沟槽的侧壁和底面生长, 并顺着沟槽的方向进行取向、伸展、排列和迁移, 这可能是成骨细胞在实验组形状记忆聚氨酯上具有比在对照组形状记忆聚氨酯上更好的黏附和增殖、并呈一定取向排列的原因。

不同的沟槽宽度对细胞生长的影响也是不同的。当沟槽的宽度远大于细胞的尺寸时, 细胞取向不明显; 当沟槽的宽度减小至细胞大小或更小时, 细胞的取向开始明显。Recknor等^[33]研究结果表明, 在10 μm宽的沟槽上细胞取向明显, 黏附效果较好, 实验中形状记忆聚氨酯膜在拉伸-复形后所得的微沟槽结构基本符合该尺寸。

另外, 不同几何轮廓的沟槽对细胞生长的影响也不一样。V形沟槽形貌从外形上类似于体内细胞外基质中的胶原蛋白纤维, 因此有利于与细胞的贴壁和趋向生长^[34]。实验组形状记忆聚氨酯具有分布比较均匀、宽度适宜、形态规则的近V形沟槽结构, 有利于细胞在其侧壁附近的黏附并沿着侧壁和底面生长, 受接触引导效应的影响, 细胞骨架发生重组, 形成规则的形状和取向性; 由于微沟槽所提供的机械性制约, 细胞的黏附面积也相对减小; 由于微沟槽表面的不平整性更利于细胞伪足的攀附, 增加了细胞层与基底材料之间的物理作用力, 因此细胞表现出更好的黏附性能, 同时细胞间的相互作用增大, 细胞更快的进入增殖期, 表现出促进细胞增殖的趋势^[35]。

结论: 形状记忆聚氨酯膜在拉伸-复形前后都具有明显而规整的相分离, 拉伸-复形过程在形状记忆聚氨酯膜表面形成较规整的微米尺度的“沟槽-脊”结构。细胞结果表明, 表面具有微沟槽结构的实验组形状记忆聚氨酯促进了细胞的黏附与增殖, 表现出更好的成骨细胞相容性, 并使细胞骨架重组, 细胞形态规则并具有一

定的取向性, 有望用于骨修复工程。

4 参考文献

- [1] Sha M, Guo Z. Zhongguo guyuguanjie Sunshang Zazhi. 2007;22(2): 170-172. 沙漠, 郭征. 骨质疏松骨修复外科内固定的研究进展[J]. 中国骨与关节损伤杂志, 2007, 22(2): 170-172.
- [2] Siris E, Delmas PD. Assessment of 10-year absolute fracture risk: a new paradigm with worldwide application. Osteoporos Int.2008;19(4): 383-384.
- [3] Koch PP, Gross DF, Gerber C. The results of functional (Sarmiento) bracing of humeral shaft fractures. J Shoulder Elbow Surg.2002; 11(2): 143-150.
- [4] Ma C. Liaoning Huangong. 2006; 35(1): 30-33. 马超. 形状记忆材料的应用与发展[J]. 辽宁化工, 2006, 35(1): 30-33.
- [5] Li B, Zhang HL. PU Jishu. 2008;(71): 96-99. 黎兵, 张海龙. 聚氨酯材料在生物领域上的研究进展及应用[J]. PU技术, 2008, (71): 96-99.
- [6] Yakacki CM, Shandas R. Unconstrained recovery characterization of shape-memory polymer networks for cardiovascular application. Biomaterials.2007;28(14): 2255-2263.
- [7] Wang WS, Ping P, Chen XS, et al. Polylactide-based polyurethane and its shape-memory behavior. Eur Polym J.2006;42(6): 1240-1249.
- [8] Meng QH, Hu JL, Zhu Y, et al. Polycaprolactone-based shape memory segmented polyurethane fiber. J Appl Polym Sci. 2007; 106(4): 2515-2523.
- [9] Liu XJ, Xue Y. Cailliao Daobao. 2006; 20(10): 56-59. 刘晓建, 薛燕. 形状记忆聚氨酯与可降解生物材料的研究和应用[J]. 材料导报, 2006, 20(10): 56-59.
- [10] Cabanlit M, Maitland D, Wilson T, et al. Polyurethane Shape-Memory Polymers Demonstrate Functional Biocompatibility In Vitro. Macromolecular Bioscience.2007;7(1): 48-55.
- [11] Waldren. Systems for pecutaneous bone and spinal stabilization, fixation and repair[P]. EP1011464, 2008.03.06.
- [12] Thopson. Repair of bone defects[P]. WO2007/029998, 2007.03.15.
- [13] Lkhov V, Kuchumov A. Shape meory alloys in medicine: stress control problems in bone fracture healing. J Biomechanics. 2008; 41(2):S450-450.
- [14] Xiong JY, Li YC. Titanium-nickel shape memory alloy foams for bone tissue engineering. J Mech Behav Biomed.2008;1(3): 269-273.
- [15] Wang SJ. Chongqing Daxue Shuoshi Lunwen. 2008: 48-56. 王素军. 新型药物控释材料-端羟基聚(丙交酯-co-对二氧环己酮)及其微球制备的研究[D]. 重庆大学硕士论文, 2008: 48-56.
- [16] Situ Zhenqiang, Wu JZ. Xi' an: Shijie Tushu Chuban Xi' an Gongsi. 2007: 67. 司徒镇强, 吴军正. 细胞培养[M]. 西安: 世界图书出版西安公司, 2007: 67.
- [17] Xia L, Liang X. Nanjing Yike Daxue Xuebao. 2008; 28(9): 1132-1134. 夏露, 梁星. 改良植块法培养原代成骨细胞[J]. 南京医科大学学报, 2008, 28(9): 1132-1134.
- [18] Li XA, Lei GH. Xiangan Xueyuan Xuebao. 2007;9(1): 23-28. 李先安, 雷光华. 大鼠成骨细胞的体外培养和鉴定[J]. 湘南学院学报: 医学版, 2007, 9(1): 23-28.
- [19] Binning G, Quate CF, Gerber C, et al. Atomic Force Microscope. Physics Review Letter. 1986;(4): 930-933.
- [20] Bao JJ, Gao MZ, Zhou HF, et al. Tanxingti. 2006; 16(3): 53-57. 鲍俊杰, 高明志, 周海峰, 等. 原子力显微镜在聚氨酯材料性能分析中的应用[J]. 弹性体, 2006, 16(3): 53-57.
- [21] Li LM, Huang XA. Donghua Daxue Xuebao. 2004;3(2): 9-13. 李立民, 黄象安. 应用原子力显微镜研究热塑性聚氨酯的微相分离[J]. 东华大学学报(自然科学版), 2004, 3(2): 9-13.
- [22] Li HQ, Jin CY, Fan WC. Wuli Huaxue Xuebao. 2009; 25(6): 1070-1074. 李慧琴, 金承钰, 范文春. PC-b-PDMS-b-PCL复合环氧树脂的表面结构[J]. 物理化学学报, 2009, 25(6): 1070-1074.
- [23] Wen QZ, Zhu JH, Wang YS, et al. Wuhan Ligong Daxue Xuebao. 2005; 27(3): 9-11. 文庆珍, 朱金华, 王源升, 等. 高阻尼性能聚氨酯的结构设计与研究[J]. 武汉理工大学学报, 2005, 27(3): 9-11.
- [24] Thonggoom R, Thamasirianut P. Bulk phase separation study by atomic force microscope friction imaging of natural rubber/poly(methyl methacrylate) film. Polym test.2008;27(3): 368-377.
- [25] Chen BL, Wang DA, Feng LX. Topology of tissue engineering material surface for cell compatibility. J Clin Rehabilitative Tissue Eng Res.2007;11(8): 3653-3656.
- [26] Jennifer BR, Justin CR, et al. Oriented astroglial cell growth on micropatterned polystyrene substrates. Biomaterials.2004;25(14): 2753-2767.
- [27] Recknor JB, Sakaguchi DS. Directed growth and selective differentiation of neural progenitor cells on micropatterned polymer substrates. Biomaterials. 2006;27(22): 4098-4108.
- [28] Ding JY. Diyi Junyi Daxue Shuoshi Xuewei Lunwen. 2006. 丁金勇. 兔间充质干细胞诱导分化成骨细胞复合BG支架的组织相容性研究[D]. 第一军医大学硕士学位论文, 2006.
- [29] Ying PQ, Jin G, Tao ZL. MC3T3-E1 Osteoblasts adhesion to micropatterned surfaces. Biomed Eng.2002;19(3): 370.
- [30] Walboomers XF, Monaghan W, Curtis ASG. Attachment of fibroblasts on smooth and microgrooved polystyrene. Biomed Mater Res. 1999; 46(2): 212-220.
- [31] Dunn GA, Brown AF. Alignment of fibroblasts on grooved surfaces described by a simple geomet rict ransformation. Cell Sci.1986;83(1): 313-340.
- [32] Chen X, Qin TW. Shengwu Yixue Gongchengxue Zazhi. 2008; 25(2): 382-387. 陈曦, 秦廷武. 表面改性及微沟槽技术对肌腱细胞生长与取向的影响[J]. 生物医学工程学杂志, 2008, 25(2): 382-387.
- [33] Recknor JB, Recknor JC, Sakaguchi DS, et al. Oriented astroglial cell growth on micropatterned polystyrene subst rates. Biomaterials. 2004;25(14): 2753-2767.
- [34] Zhu BS, Lu QH, Wang ZG. Xibao Shengwuxue Zazhi. 2003;25(4): 228-230. 朱邦尚, 录庆华, 王宗光. 不同的基质表面形貌对细胞生长行为的影响[J]. 细胞生物学杂志, 2003, 25(4): 228-230.
- [35] Heitmann V, Wegener J. Monitoring cell adhesion by piezoresonators: impact of increasing oscillation amplitudes. Anal Chem.2007;79(9): 3392-3400.

来自本文课题的更多信息一

基金资助: 国家“十一五”科技支撑计划项目(2006BA103B04), 课题名称“避孕节育新技术和新方法的研究”, 重庆市科技攻关项目(CSTC 2008AB0027), 课题名称“基于形状记忆聚合物的输卵管绝育栓的研制”。

利益冲突: 无利益冲突。

课题的创新点: ①课题设计与合成了有望用于骨不连治疗的新型形状记忆聚氨酯, 经作者检索新目前文献中未见报道, 细胞相容性研究表明是一类细胞相容性较好的生物材料, 因而具有广阔的潜在用途。②此实验为课题研究的一部分, 将为该材料的应用提供重要的理论依据, 其创新点在于建立了形状记忆材料的形变对细胞生物学行为影响的实验方法, 为形状记忆材料的生物相容性评价提供了一条新思路。

课题评估的“金标准”: 课题合成的材料为一种新型材料, 没有公认“金标准”。课题研究中材料进行了红外、核磁、分子量、热性能、力学性能、形状记忆性能、亲/疏水性能等检测, 采用体外细胞培养法对材料的生物相容性进行评价, 评价参照 GB/T 16886.5-2003/ISO 10993-5:1999 体外细胞毒性实验中的直接接触法, 采用无菌操作, 于 37 °C、体积分数为 5%的 CO₂ 的培养箱中培养。

课题的偏倚与不足: 实验仅通过细胞形态、黏附量、细胞增殖的检测对材料的细胞相容性进行了初步评价, 尚未对其分化、矿化能力进行评价; 仅选用了玻璃化转变温度接近体温的一种材料进行了评价, 未选用其他玻璃化转变温度的材料进行对比; 此外, 实验中赋予材料的宏观形态为材料膜, 未对其三维支架进行分析。课题后续实验将逐步予以补充。

提供临床借鉴的价值: 课题以 DL-丙交酯、对二氧环己酮和乙二醇首先合成大分子二醇(HO-P(LA-PDO)-OH), 再以此为软段, 以 1,6-六亚甲基二异氰酸酯和丁二胺为硬段, 成功合成出了一种新型可降解的温敏性形状记忆聚氨酯, 并实现了其玻璃化转变温度在人体温附近, 利于临床手术操作。材料形状记忆形变前的细胞相容性结果表明其是一类细胞相容性良好的生物材料, 尤其具有良好的促成骨细胞分化与矿化能力, 对该材料在骨修复中的应用提供了实验基础; 形状记忆形变后的材料更能促进细胞的黏附与增殖, 并使细胞表现出一定的取向性, 一方面建立了形状记忆形变对细胞生物学行为影响的实验方法, 另一方面为材料的体内动物实验及临床应用提供了更为直接的实验依据。