

不同材料构建组织工程神经及其应用☆

郑胜哲¹, 卢蕾², 宋磊²

Tissue engineered nerve constructed with different materials and its application

Zheng Sheng-zhe¹, Lu Lei², Song Lei²

Abstract

OBJECTIVE: To evaluate the performance of tissue engineered neural scaffolds and their use in repair of neural injury.

METHODS: Using "tissue engineering, tissue engineering nerve, artificial nerve, materials, repairing of neural injury" in Chinese and in English as the key words, a computer research was performed for articles between January 2000 and March 2010 about tissue engineering nerve scaffold material properties and its application in neural injury repair, duplicated study or Meta analysis were excluded.

RESULTS: A total of 20 articles mainly discussed the types and properties of tissue engineering nerve scaffold materials. Autologous nerve graft can be used as an ideal method applied to nerve tissue engineering, it not only has good biocompatibility, biodegradability and high affinity, also promote nerve growth factor growth and tissue repair, but the source is limited. Gelatin has no antigenicity, good biocompatibility, and can be completely biodegradable, achieve self-repair of nerve itself. Chitosan is a basic amino polysaccharide only greatly present in natural polysaccharide, has good biocompatibility, biodegradability and no toxicity, but still fails to meet the needs of being fully compatible. Nano-modification technology is expected to be used in following generation of tissue engineering nerve graft.

CONCLUSION: With the development of polymer materials science, more and more biodegradable synthetic materials have been shown to support neural regeneration, but an ideal nerve repair material is absent. It is a key to find a good neural scaffold that has a degradation rate to match neural regeneration speed, the best porosity, tube thickness, shape and so on, while nerve scaffolds achieve the greatest extent on the promotion of neural regeneration through the optimal choice with seed cells and neurotrophic factors.

Zheng SZ, Lu L, Song L. Tissue engineered nerve constructed with different materials and its application. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2010;14(42):7907-7910. [http://www.crter.cn http://en.zgckf.com]

¹Department of Neurology, Affiliated Hospital of Yanbian University, Yanji 133000, Jilin Province, China; ²Department of Neurology, First Hospital of Jilin University, Changchun 130021, Jilin Province, China

Zheng Sheng-zhe☆, Studying for doctorate, Attending physician, Department of Neurology, Affiliated Hospital of Yanbian University, Yanji 133000, Jilin Province, China neurology@139.com

Received: 2010-05-14
Accepted: 2010-09-04

摘要

目的: 评价组织工程神经支架材料的性能及其在神经损伤修复中的应用效果。

方法: 以“组织工程, 组织工程神经, 人工神经, 神经材料, 神经损伤修复”为中文关键词, 以“tissue engineering, tissue engineering nerve, artificial nerve, materials, repairing of neural injury”为英文关键词, 采用计算机检索 2000-01/2010-03 有关组织工程神经支架材料性能及其在神经损伤修复中应用的文章, 排除重复研究或 Meta 分析类文章。

结果: 共纳入 20 篇文献讨论组织工程神经修复材料的种类及其性能。自体神经移植可作为一种较理想的方法应用于神经组织工程, 不但具有理想的生物相容性、生物降解性和较高的亲和性, 而且能促进神经生长因子生长、组织修复, 但取材有限。明胶无抗原性, 生物相容性好, 可完全生物降解, 可以实现神经自身的修复。壳聚糖是天然多糖中惟一大量存在的碱性氨基多糖, 具有很好的生物相容性、可降解性、无毒性等, 但仍满足不了完全相容的需要。纳米修饰技术有望被应用于下一代组织工程神经移植。

结论: 随着高分子材料学的发展, 越来越多生物可降解性合成材料被证明可以支持神经再生, 但仍没有发现一种很理想的神经修复材料。如何寻找一种良好的神经支架材料, 具有与神经再生速度相匹配的降解速度、最佳孔隙率、导管厚度、形状等均是问题, 而神经支架材料要实现与种子细胞、神经营养因子的最佳搭配才能最大程度上促进神经再生。

关键词: 组织工程神经; 神经材料; 性能; 神经损伤修复; 组织工程

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2010.42.028

郑胜哲, 卢蕾, 宋磊. 不同材料构建组织工程神经及其应用[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(42):7907-7910. [http://www.crter.org http://cn.zgckf.com]

¹吉林省延边大学附属医院神经内科, 吉林省延吉市 133000; ²吉林大学第一医院神经内科, 吉林省长春市 130021

郑胜哲☆, 男, 1978 年生, 吉林省延边市人, 吉林大学在读博士, 主治医师, 主要从事神经病学研究。neurology@139.com

中图分类号:R318
文献标识码:B
文章编号:1673-8225
(2010)42-07907-04

收稿日期: 2010-05-14
修回日期: 2010-09-04
(20100908007/G·Y)

0 引言

理想的人工神经是一种特定的三维结构支架的神经导管, 可接纳再生轴突长入, 对轴突起机械引导作用, 许旺细胞支架内有序地分布, 分泌神经营养因子等发挥神经营养作用, 并表达细胞黏附分子、分泌细胞外基质, 支持引导轴突再生。如何获得理想的神经再生形式, 进一步提

高神经功能恢复能力, 一直是学者们所不断努力的方向^[1-2]。如今, 采用组织工程学的基本原理和方法, 根据神经再生的生物学特性, 以具有良好生物相容性的载体物质作为神经导管修复神经损伤已成为重要性研究^[3]。

以往用于桥接神经缺损的神经套管材料有硅胶管、聚四氟乙烯、聚交酯、壳聚糖等。如以硅胶管为外支架, 管内平行放置 8 根尼龙线作为内支架的“生物性人工神经移植体”^[4]。目前用

于人工神经导管研究的可降解吸收材料有聚乙醇酸、聚乳酸及它们的共聚物等。也有用聚丙烯腈和聚氯乙烯的共聚物制作神经导管, 内壁具有半透膜性质, 仅能允许相对分子质量小于50 000的物质通过, 使再生轴突能从导管外获取营养物质和生长因子, 并避免纤维瘢痕组织的侵入。但因其不能降解, 在完成引导再生轴突通过神经缺损段之后, 仍将长期留存于体内, 有可能对神经造成卡压^[5]。选择适宜的生物材料, 使许旺细胞与生物材料黏附, 加入生长因子, 对细胞外基质与可降解吸收生物材料经体外培养, 在体内预制呈类似神经样许旺细胞基膜管结构(众多纵行中空管架结构), 使人工神经血管化或预制带血管蒂, 并保证使许旺细胞存活、增殖并有活性, 这将成为今后的研究热点。

神经修复的组织工程支架材料一类是取自于自体神经、骨骼肌、血管、膜管的天然活性材料, 另一类是非生物活性材料, 例如脱钙骨管、尼龙纤维管、硅胶管、聚氨酯等。神经支架材料的功能有两种: ①必须为神经的恢复提供所需的三维空间, 即要保证神经导管具有合适的强度、硬度和弹性, 使神经具有再生的通道。②要保证其有理想的双层结构: 外层提供必要的强度, 为毛细血管和纤维组织长入提供营养的大孔结构; 内层则可起到防止结缔组织长入而起屏障作用的紧密结构^[6]。因此, 神经修复所用支架材料一般为: 外层是强度大、降解速率慢的可降解材料; 内层为具细胞生长活性的降解材料。用于神经修复的内层材料多为胶原和多糖, 目前研究和使用的多为胶原和聚乳酸的杂化材料。

本文主要评价组织工程神经支架材料的性能及其在神经损伤修复中的应用效果。

1 资料和方法

1.1 纳入与排除标准

纳入标准: ①组织工程学与组织工程神经的相关文

组织工程神经支架材料:

作者及杂志	材料	方法	结果	结论
刘华蔚等 ^[9] 《口腔颌面修复学杂志》	小肠黏膜下层复合许旺细胞构建组织工程化人工神经	取猪近段空肠, 刮除黏膜层、浆膜层和肌层, 获得小肠黏膜下层, 复合许旺细胞修复神经缺损	再生神经组织可顺利通过缺损区, 再生神经纤维排列整齐呈束状, 含有大量的有髓神经纤维, 与正常相似	小肠黏膜下层复合许旺细胞构建组织工程化人工神经能有效修复大鼠长距离坐骨神经缺损, 有望成为自体神经的替代材料应用于周围神经缺损的修复
李沫等 ^[9] 《中华创伤杂志》	壳聚糖复合 I 型胶原蛋白支架材料	以壳聚糖复合 I 型胶原蛋白, 并与京尼平进行交联, 制备出改进的人工神经支架, 并分别与紫外线交联材料及戊二醛交联材料进行比较	交联后孔径基本不变, 桥接材料均为规则的圆柱状, 柔韧性好, 质地均匀, 弹性较好	以京尼平交联壳聚糖复合 I 型胶原蛋白制备出改进的人 T 神经支架, 具有良好的生物稳定性和生物相容性, 为神经组织工程领域提供了一种具有应用潜力的材料

2.2 神经导管生物材料在神经再生修复过程中的应用 神经导管又称神经桥接体、神经再生室等, 是由天然或人

工合成材料制成的具有特定三维结构和生物活性的复合物, 用于桥接神经断端, 具有引导轴突再生、防止结

排除标准: 重复研究或Meta分析类文章。

1.2 资料提取策略

检索人: 第一作者。

检索时间范围: 2001-01/2010-03。

关键词: 中文关键词: 组织工程, 组织工程神经, 人工神经, 神经材料, 神经损伤修复; 英文关键词: “tissue engineering, tissue engineering nerve, artificial nerve, materials, repairing of neural injury”。

检索数据库: PubMed 数据库, 网址 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed>; 维普数据库, 网址 <http://www.cqvip.com/>。

1.3 检索结果及评价 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20篇文献进行评价。文献的类型主要包括动物实验和在体、离体、细胞学实验11篇, 综述、述评、讲座类文献9篇。

2 结果

根据实验材料的差异, 分析不同材料构建组织工程神经的特点及临床应用效果。

2.1 支架构建的组织工程神经 神经组织支架是组织工程化神经中最基础、最重要的组成部分, 它是修复初期再生神经长入远侧神经段的桥梁, 在支持种子细胞、引导和促进轴突生长等方面起着重要的作用, 有利于再生神经的塑型。神经组织支架材料除了应具有良好的生物相容性外, 还应具有与神经再生速度相匹配的降解速度、保证神经生长所需的三维空间、具有一定通透性能够提供神经生长所需的营养成分等条件^[7]。人工神经的支架材料按来源可分为两大类, 即天然材料和人工合成的聚合物材料。

神经组织浸润形成瘢痕、黏附支持细胞、保持轴突再生所需的神经营养生长因子浓度等优点, 因而能达到引导和促进神经再生的目的^[10]。合成神经导管的材料要求具有安全性、组织相容性、可降解性、渗透性、合适的弹性和机械强度等^[11]。

神经导管的作用是引导再生轴突通过神经缺损段, 一旦再生轴突长入远端神经段, 神经导管也就完成了“历史使命”。因而, 人们选用可降解的材料来制备神经管。常用来制作导管的生物降解材料有以下几种:

高分子聚合材料: 钟荣国等^[12]应用有微丝的聚乳酸与聚羟基乙酸共聚物三维神经导管, 制作大鼠12 mm的左侧坐骨神经缺损模型, 各组神经导管内均注入层黏蛋白+神经生长因子混合液进行移植修复。结果显示, 再生神经中1/3段的光镜观察, 各组再生神经均有通过神经导管长入远端, 与正常状态下比较差异无显著性意义。提示三维立体管状结构中的微丝直径粗细对周围神经的再生有影响, 最佳的直径为80~120 μm。

胶原神经导管: 赵红斌等^[13]制备含0.25 g川芎嗪和无川芎嗪的胶原神经导管, 大鼠复制坐骨神经10 mm缺损

模型, 复合骨髓基质细胞的神经导管连接缺损神经。结果显示, 神经导管与骨髓基质细胞复合培养两者具有良好的组织相容性; 复合川芎嗪的胶原神经导管能促进缺损神经的修复。提示构建的组织工程化胶原神经导管能有效修复外周神经缺损。

纳米材料: 赵文等^[14]应用功能性修饰的碳纳米管作为增强成分改善几丁糖/胶原复合材料神经导管的理化和生物性能, 探讨以功能性修饰的碳纳米管增强型复合材料神经导管修复周围神经缺损的疗效。实验将碳纳米管与20 g/L的酸溶性几丁糖溶液及胶原按一定比例充分混合, 干燥脱模制备碳纳米管增强型复合材料导管。结果显示, 应用碳纳米管增强型复合材料神经导管可有效地重建副神经缺损大鼠斜方肌的运动功能。术后再生神经电生理与组织学指标检测结果与自体神经移植的疗效相当, 部分指标结果超过自体神经移植。提示碳纳米管增强型复合材料神经导管是桥接修复周围神经的理想材料。

2.3 其他材料神经导管修复神经再生 复合神经生长因子见表1。脱细胞神经移植见表2

表1 复合神经生长因子

作者及杂志	方法	结果	结论
魏延云等 ^[15] 《中华创伤骨科杂志》	应用同轴静电纺丝技术制备以可降解生物材料乳酸己内酯共聚物为壳层材料、神经生长因子和牛血清蛋白为芯层材料的纳米纤维	导管在体外8周尚未完全降解。能够持续释放神经生长因子, 并保持生物活性。解剖观察可见再生神经均通过神经导管, 达到正常神经的直径	此具有良好的组织相容性和生物活性, 能够诱导并促进神经再生, 提高神经再生的质量, 其移植效果接近于自体神经移植
刘俊建等 ^[16] 《中华创伤骨科杂志》	复合神经生长因子的牛血清白蛋白为芯层、乳酸-己内酯共聚物为壳层, 采用同轴共纺技术制备具有“壳-芯”结构的可降解纳米纤维复合神经导管。制作大鼠坐骨神经缺损模型	术后复合神经生长因子导管逐渐开始吸水膨胀并降解, 3个月时, 虽然管壁已经出现裂隙, 但依然保持良好的外形, 没有对再生神经形成卡压	同轴共纺复合神经生长因子神经导管具有良好的组织相容性、生物活性和机械强度, 能够有效地促进神经再生, 效果接近自体神经移植

表2 脱细胞神经移植

作者及杂志	方法	结果	结论
卫爱林等 ^[17] 《中华实验外科杂志》	取大鼠坐骨神经39条, 分别用甘油、叠氮钠、三硝基甲苯萃取	萃取后甘油组90%, 叠氮钠和三硝基甲苯100%细胞消失, 3组修复大鼠坐骨神经缺损效果相当	甘油、叠氮钠、三硝基甲苯等萃取神经可较好地修复坐骨神经缺损, 但甘油处理神经最为简单
江长青等 ^[18] 《实用外科杂志》	去细胞神经为支架材料, 体外构建组织工程化周围神经移植体修复猕猴尺神经40 cm缺损	去细胞神经为支架修复与正常对照组效果相似, 再生神经纤维的数量差异均无显著性意义	去细胞同种异体神经具有良好的生物相容性和促进神经再生能力, 是最具应用前景的神经修复材料之一
丁小珩等 ^[19] 《中华显微外科杂志》	行神经断端清创, 陈旧损伤者需切除神经断端瘢痕直至露出正常神经乳头。修整断端神经外膜和神经束, 以便于缝合	所有移植神经伤口均为一期愈合。未发生不良反应及并发症, 所有随访患者术后血生化及免疫功能检测项目均在正常范围	去细胞同种异体神经修复材料移植修复指神经缺损在短期内未发现移植物被排斥或对人体产生毒性反应, 神经功能恢复良好

3 讨论

目前, 许多神经导管的降解性能与力学性能尚不能与神经修复的速度相匹配、神经导管的构造还影响着营养物质的供给、神经导管生物材料的生物相容性也不能

满足要求等问题, 使神经导管仍难以在临床上得以推广。

随着神经显微外科的发展及神经生物学、神经再生领域的认识不断加深, 自体神经移植后的功能恢复也有了很大的改善和提高, 但是自体神经移植往往需要开辟第二术区, 不仅增加患者的痛苦和费用, 而且造成供区

不同程度的形态功能障碍, 从而限制了这种术式的广泛应用^[20]。组织工程化神经(人工神经)是运用组织工程学的基本原理和方法, 根据神经再生的生物学特性, 以具有良好生物相容性的载体物质与有活性细胞结合而成的具有特定三维结构和生物活性的复合体, 用于桥接神经断端, 达到引导和促进神经再生的目的。神经组织支架是组织工程化神经中最基础、最重要的组成部分。而随着神经组织工程技术的飞速发展, 利用组织工程细胞移植修复神经损伤成为可能, 其为脊髓损伤治疗提供了新的思路。神经组织工程即应用组织工程学原理和技术方法构建组织工程化的具有生物活性的神经替代物, 其核心技术是在种子细胞和生物支架之间构建一活性微环境, 从而达到促进神经修复的目的。

展望今后除了要发展能够最大限度保留生物组织的自然结构、生物学活性和力学强度等基本要求的标准制备方法外, 还要了解生物衍生支架体内植入后的代谢改变、最终转归及其与种子细胞和细胞因子之间相互作用的反馈机制等问题, 并在此基础上研究这种支架材料实现规模生产的重要过渡环节, 包括保存方法、保存后的活力变化、运输方式等, 为临床应用提供实验依据和奠定理论基础。随着研究的深入和科学技术的发展, 生物衍生支架在组织工程周围神经研究中的作用会更加突出, 将可能实现工程化组织产品临床应用的重大突破。

4 参考文献

[1] Hu J, Zhu QT, Liu XL, et al. Repair of extended peripheral nerve lesions in rhesus monkeys using acellular allogenic nerve grafts implanted with autologous mesenchymal stem

cells. *Exp Neurol*. 2007;204(2):658-666.
 [2] Hailela Y, Haasterta K, Cesnuleviciusa K, et al. Culturing of glial and neuronal cells on polysialic acid. *Biomaterials*. 2007;28(6):1163-1173.
 [3] 江丽, 朱家恺, 刘小林, 等. 种植脂肪干细胞的去细胞神经修复坐骨神经缺损的实验研究[J]. *中华显微外科杂志*, 2008, 35(5): 350-354.
 [4] 李根卡, 余楠生, 黎文. 雪旺细胞和生物蛋白胶构建组织工程神经的初步研究[J]. *中国修复重建外科杂志*, 2007, 6(21): 6.
 [5] 孙晓红, 张岩, 佟晓杰, 等. 种植施万细胞的脱细胞同种异体神经移植对大鼠坐骨神经缺损的修复作用[J]. *解剖科学进展*, 2006, 12(2): 146-149.
 [6] Campodonico F, Benelli R, Michelazzi A, et al. Bladder cell culture on small intestinal submucosa as bioscaffold: experimental study on engineered urothelial grafts. *Eur Urol*. 2004;46(4):531-537.
 [7] 东星, 王伟. 应用组织工程技术构建人工神经修复周围神经损伤的研究现状[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2008, 12(27): 5317-5320.
 [8] 苏琰, 张长青, 曾炳芳, 等. 小肠黏膜下层复合雪旺细胞构建组织工程化人工神经修复周围神经缺损的研究[J]. *中华骨科杂志*, 2008, 28(2): 149-152.
 [9] 李沫, 吴邦耀, 胡学昱, 等. 以京尼平交联制备新型人工神经支架材料及其生物学特性的对比研究[J]. *中华创伤杂志*, 2010, 26(2): 165-168.
 [10] 高振, 王华, 罗晓婷. 神经导管生物材料的研究与进展[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2007, 11(31): 6239-6243.
 [11] Evans GR. Challenges to nerve regeneration. *Semin Surg Oncol*. 2000;19(3):312-318.
 [12] 钟荣国, 李志跃, 李际才, 等. 聚乳酸与聚羟基乙酸共聚物三维神经导管内微丝直径对周围神经缺损修复的影响[J]. *中华实验外科杂志*, 2010, 27(1): 108-110.
 [13] 赵红斌, 马敬, 杨银书, 等. 胶原神经导管对外周神经缺损修复的实验研究[J]. *生物医学工程与临床*, 2010, 14(2): 100-103.
 [14] 赵文, 张志愿, 孙坚, 等. 碳纳米管增强型天然复合材料神经导管修复大鼠副神经缺损[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2009, 13(47): 9236-9240.
 [15] 魏延云, 王建广, 黄磊, 等. 复合神经生长因子的纳米纤维导管促神经再生的初步研究[J]. *中华创伤骨科杂志*, 2009, 11(1): 51-54.
 [16] 刘俊建, 王建广, 魏延云, 等. 同轴共纺复合神经生长因子导管修复大鼠坐骨神经缺损的实验研究[J]. *中华创伤骨科杂志*, *中华创伤外科杂志*, 2009, 11(4): 351-354.
 [17] 卫爱林, 陶海鹰, 刘世清, 等. 三种脱细胞神经修复大鼠坐骨神经缺损效果的比较[J]. *中华实验外科杂志*, 2008, 25(3): 374-376.
 [18] 江长青, 向剑平, 朱家恺, 等. 猕猴去细胞同种异体神经体内移植的组织学观察[J]. *实用手外科杂志*, 2010, 24(1): 35-37.
 [19] 丁小珩, 刘小林, 刘育杰, 等. 去细胞同种异体神经修复材料临床应用初步报告[J]. *中华显微外科杂志*, 2009, 32(6): 448-450.
 [20] 游华, 矫树生, 冯帅南, 等. 大鼠坐骨神经缺损后组织工程人工神经对外周靶器官及脊髓神经元的保护作用[J]. *中华创伤杂志*, 2010, 26(3): 265-268.

不同材料的生物相容性评价: 本刊中文部④

7 一种新型可切削生物活性微晶玻璃的生物安全性评价

郝玉全(中国医科大学口腔医学院口腔修复科, 辽宁省沈阳市 110002)

推荐理由: 实验课题组所在的东北大学材料研究所可切削的微晶玻璃为基质, 通过优化基础成分, 添加ZnO, 有效地降低了玻璃的熔化温度, 进而降低其制备成本, 从而开发研制出一种新型的可切削生物活性微晶玻璃。经检测, 该材料具有较高的机械强度、硬度、耐磨性和良好的化学稳定性、可切削性, 预期应用于口腔修复, 作为CAD/CAM嵌体、冠、前牙固定桥及种植体的原材料。在临床应用前, 除必要的机械、理化性能研究外, 还需进行生物相容性评估。实验通过小鼠的急性全身毒性实验, 初步评估该材料的生物安全性, 评价不溶于水

的固态材料生物相容性的实验, 可用规则形状的样品按一定比例置于生理盐水中、37℃培养5d所得的浸提液作实验对象, 也可用粉末状样品按一定比例制成的混悬液作实验对象, 实验选择后者, 为其临床应用提供科学依据。来源: 2010年12期2137-2140页。

8 纳米银猪脱细胞真皮敷料的细胞毒性评估

黄桂娟(南通大学公共卫生学院生命分析化学研究所, 江苏省南通市 226007)

国家自然科学基金(20875051); 国家自然科学基金(20675042); 江苏省自然科学基金(BK2009152); 南通市社会发展项目(s2008008)。

推荐理由: 近年来脱细胞真皮基质去除了可诱发免疫排斥反应的细胞成分, 而广泛应用于

创面修复。猪皮结构与人类皮肤结构相似, 皮肤解剖生理特点也基本相同, 且来源广、成本低, 作为敷料广泛应用于临床。实验将纳米银组装到猪脱细胞真皮基质表面构建纳米银猪皮基质敷料, 评价其细胞毒性。细胞毒性试验采用MTT方法进行检测, MTT方法被认为是鉴别筛选具有良好生物相容性材料的方法, 具有迅速、方便、灵敏而重复性好等优点, 也是保证临床安全的重要技术指标。实验按照国家标准GB/T16175-1996, 采用MTT法定量评价自制纳米银猪脱细胞真皮敷料的细胞毒性, 从而初步评价其生物相容性。具有一定应用价值。来源: 2010年25期4607-4610页。