

不同生物材料复合支架对关节软骨缺损的修复评价*

韦益毅

Composite scaffolds of different biomaterials for repair of articular cartilage defects

Wei Yi-yi

Abstract

BACKGROUND: Composite scaffolds prepared by different biomaterials have their own characteristics in the repair of cartilage defects.

OBJECTIVE: To investigate the tissue engineering characteristics and effect evaluation of composite scaffolds prepared by different biomaterials for repairing articular cartilage defects.

METHODS: The key words were "cartilage tissue engineering, biomaterials, engineered cartilage, composite scaffold" in Chinese and "tissue engineering, articular cartilage, scaffold material" in English. A computer based search of CNKI and PubMed databases was performed for relevant articles about composite scaffolds with cells for articular cartilage defects published from 1993-01 to 2010-11. Repetitive articles or Meta analysis were excluded.

RESULTS AND CONCLUSION: Composite scaffolds are commonly used in cartilage tissue engineering, which are degradable scaffolds with better biocompatibility, toughness, porosity and mechanical strength than single scaffolds. Composite scaffolds are prepared not only by the same type of biomaterials but also by different kinds of biomaterials, which can be divided into natural scaffolds, artificial scaffolds, natural and artificial scaffolds. Complementary properties of biomaterials based on composite scaffolds meet the requirement of the ideal biomaterial scaffold to some extent. Nowadays, there are still some problems to be solved, such as compound ratio of different biomaterials and composite process.

Department of Physical Education, Zhejiang Police College, Hangzhou 310053, Zhejiang Province, China

Wei Yi-yi★, Master, Lecturer, Department of Physical Education, Zhejiang Police College, Hangzhou 310053, Zhejiang Province, China
weiyiyi80@yahoo.com.cn

Received: 2011-03-08
Accepted: 2011-05-17

Wei YY. Composite scaffolds of different biomaterials for repair of articular cartilage defects. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2011;15(25):4723-4725. [http://www.crter.cn http://en.zgckf.com]

摘要

背景: 不同生物材料制备的复合软骨支架其修复软骨缺损也各具特点。

目的: 探讨不同生物材料制备复合支架的组织工程学特性及其修复关节软骨缺损的性能评价。

方法: 以“软骨组织工程, 生物材料, 工程软骨, 复合支架”为中文关键词, 以“tissue engineering, articular cartilage, scaffold material”为英文关键词, 采用计算机检索中国期刊全文数据库、PubMed 数据库(1993-01/2010-11)相关文章。纳入复合支架材料-细胞复合物修复关节软骨损伤等相关的文章, 排除重复研究或 Meta 分析类文章。

结果与结论: 复合支架是当前软骨组织工程中应用较多的支架, 它是将具有互补特征的生物相容性可降解支架, 按一定比例和方式组合, 设计出结构与性能优化的复合支架。较单一支架材料具有更好的生物相容性和一定强度的韧性, 较好的孔隙和机械强度。复合支架的制备不仅包括同一类生物材料的复合, 还包括不同类别生物材料之间的交叉复合。可分为纯天然支架材料、纯人工支架材料以及天然与人工支架材料的复合等 3 类。复合支架使生物材料具有互补特性, 一定程度上满足了理想生物材料支架应具备的综合特点, 但目前很多研究仍处于实验阶段, 还有一些问题有待于解决, 如不同材料的复合比例、复合工艺等。

关键词: 关节软骨; 复合材料; 生物材料; 组织工程软骨; 复合支架

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2011.25.040

韦益毅. 不同生物材料复合支架对关节软骨缺损的修复评价[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2011, 15(25):4723-4725. [http://www.crter.org http://cn.zgckf.com]

0 引言

一直以来, 人体关节软骨损伤及缺损后的修复是运动临床康复及医学临床康复重要的研究课题。关节软骨缺少血管、淋巴管及神经, 其再生能力有限, 一经损害再生十分困难。因此, 组织工程软骨修复软骨损伤是运动医学领域研究的重点方向之一。组织工程支架材料的目的是为构建组织细胞提供一个三维支架, 有利于细胞的黏附、增殖乃至分化, 为细胞生长提供合适的外环境。

除了符合一般生物医学材料的要求外, 组织工程学所需的理想支架材料还需满足以下要求: ①良好的生物相容性, 无明显的细胞毒性、炎症反应和免疫排斥, 不会因邻近组织的排异反应而影响新组织的功能。②可降解性及合适的降解速率, 当移植的细胞或组织在受体内存活时, 支架材料可自行降解, 降解吸收速率能与细胞、组织生长速率相匹配。③合适的孔尺寸、高的孔隙率和相连通的孔形态, 以利于大量细胞的种植、细胞和组织的生长、细胞外基质的形成、氧气和营养的传输、代谢物的排泄以及血管和神经的内长入。④高的表面积、合

浙江警察学院警察体育部, 浙江省杭州市 310053

韦益毅★, 男, 1980年生, 广西壮族自治区南宁市人, 汉族, 2004年上海体育学院毕业, 硕士, 讲师, 主要从事警察体育训练与运动训练研究。
weiyiyi80@yahoo.com.cn

中图分类号:R318
文献标识码:B
文章编号:1673-8225
(2011)25-04723-03

收稿日期: 2011-03-08
修回日期: 2011-05-17
(20110517014/W·W)

适的表面理化性质和良好的细胞界面关系,以利于细胞黏附、增殖、分化以及负载生长因子等生物信号分子。⑤与植入部位组织的力学性能相匹配的结构强度,以在体内生物力学微环境中保持结构稳定性和完整性,并为植入细胞提高合适的微应力环境。⑥便于加工成理想的二维或三维结构,可以获得所需的组织或器官形状,易于重复制作,而且移植到体内后能保持原有形状^[1]。

文章对不同生物材料制备复合支架的组织工程学特性及其修复关节软骨缺损的性能进行总结评价。

1 资料和方法

1.1 资料的纳入与排除标准

纳入标准:①与运动有关的关节软骨损伤修复,目前常用于修复关节软骨损伤的生物复合材料研究,复合替代材料的生物相容性、生物力学性能。②动物研究中其实验材料与修复关节软骨损伤相关;临床应用中患者为运动性关节软骨损伤,不限定患者的年龄、性别、术式。③同一领域选择近期发表或在权威杂志上发表的文章。

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:1998-01/2010-11。

关键词:中文关键词:关节软骨、生物相容性、复合材料;英文关键词:“tissue engineering, articular cartilage, scaffold material”。

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 对纳入文献的评价 经检索共查到相关文献112余篇。经阅读标题、摘要、全文后进行初筛,根据文章主题和实验内容相关度进行排除,排除后筛选纳入10篇文献进行评价。

2 结果

2.1 复合支架组织工程学的应用现状 软骨组织工程原料可分为天然有机载体和人工合成两种。

主要的人工合成支架材料包括聚乳酸、聚羟基乙酸-聚乳酸复合物等。其中聚乳酸羟基乙酸是最常见的支架材料。这类材料的缺点是疏水性且缺乏有利于细胞吸附的缺乏细胞识别信号,细胞黏附性差。

天然有机载体包括纤维蛋白凝胶、胶原凝胶、聚乳酸、聚醇酸及其共聚体、聚乳酸和聚羟基酸类、琼脂糖、壳聚糖和透明质酸等多糖类。这类材料具有一定生物活性可诱导细胞生长、分化,并可被人体降解吸收,且具有良好的组织相容性,材料应对种子细胞和邻近组织无

免疫原性^[2]。

随着软骨组织工程支架材料研究的进展。对于不同生物材料应用在复合软骨支架修复软骨缺损的应用也各具特点,复合支架是两种或两种以上具有互补特征的生物相容性可降解材料,按一定比例和方式组合,可设计出结构与性能优化的三维材料。以解决生物材料疏水性、相容性差,影响软骨细胞增殖和细胞的黏附性问题。

2.2 不同材料复合支架性修复软骨复合性能评价

2.2.1 天然生物材料支架复合 纤维蛋白-聚氨酯复合支架:纤维蛋白凝胶以及聚氨酯均具备作为支架材料培养软骨种子细胞的基本条件,生物相容性、可降解性等均较好,而且具备作为生长因子载体缓慢保存并缓慢释放的功能。

Lee等^[3]将软骨细胞种植于纤维蛋白-聚氨酯复合材料支架上,经过14 d培养,与无纤维蛋白的聚氨酯支架相比,发现这种支架活性细胞种植效率更高,纤维蛋白-聚氨酯复合材料支架合成的糖胺多糖和II型胶原是无纤维蛋白的聚氨酯支架的3倍。

何劭等^[4]选取免疫原性较低并具有较好降解能力的纤维蛋白凝胶与经过脱钙和降抗原处理后获得的脱钙骨基质混悬制成的复合支架,体外培养软骨细胞1周后移植入兔膝关节软骨缺损处,较好的修复了兔膝关节软骨缺损,并为研制可注射性纤维蛋白凝胶复合支架提供可行性。

2.2.2 天然生物材料与人工合成高分子材料复合 胶原-壳聚糖复合支架:胶原是人体结缔组织的主要成分,具有水溶性、免疫原性低、相容性和亲和性好且有利于促进细胞增殖的特点。但胶原的机械性能强度低,缺乏作为软骨支架的强度和韧性。

壳聚糖是唯一带正电荷的碱性多糖,它的分子结构与软骨基质-糖胺聚糖相似,具有良好的生物相容性和可降解性,对软骨细胞有较好的吸附作用,能促进细胞在材料上的增殖与分化,在人工皮肤、骨修复材料、抗凝血材料等方面应用广泛。通过烧结法和冻干法制成的壳聚糖/羟基磷灰石复合支架符合组织工程支架的理化性能和生物学上的要求,且具有制作简单、材料来源广泛、制备条件易控制等特点,可作为组织工程种子的载体^[5-6]。

胶原蛋白和壳聚糖是一个成功的载体,与细胞相容性好且具有较低的抗原性。将壳聚糖和胶原蛋白复合可使支架既具备良好的生物相容性又具有较好的承重性。史德海等将88%脱乙酰度壳聚糖溶于0.2 mol/L醋酸溶液制成1%溶液,将2%壳聚糖溶液、壳聚糖与II型胶原混合溶液置入直径3.5 cm培养皿中,-25℃超低温保存1 h后移入-60℃冷冻干燥机抽干24 h,制成三维支架^[7]。

于洪宇等^[8]将来源于骨髓的间充质细胞包埋在“壳聚糖-胶原蛋白”凝胶里,将移植细胞移植到骨软骨缺损区承重兔关节表面,通过大体观察修复软骨缺损的情况,并进行组织学评分、组织学染色。发现造模后16周移植的细胞一致分化为软骨细胞,大部分软骨缺损区被新生软骨修复,组织学评分实验组关节修复良好,提示应用骨髓间充质干细胞结合“壳聚糖-胶原蛋白”复合物可以修复关节软骨缺损。

2.2.3 种子细胞与高分子生物材料复合支架 骨髓间充质干细胞与聚乳酸羟基乙酸胶原复合支架:目前临床上处理关节软骨损伤修复的方法研究主要集中在种子细胞、软骨载体、诱导物质以及组织工程化骨组织的临床应用研究,种子细胞、生物材料及生长因子是组织工程的三大要素。

骨髓间充质干细胞被认为是软骨组织工程中最有研究价值的种子细胞, BMSCs具有来源广泛、取材简单、分化成骨潜能强等特点,成为目前骨组织工程种子细胞研究的重点。

利用胶原凝胶载体培养骨髓间充质干细胞,发现三维的胶原网络能有效的刺激成骨细胞分化;采用培养液灌注造成动力性三维细胞培养环境,增加了细胞的适应生存能力及成骨功能^[9]。

梁耀中等^[9]采用冻干法和烧结法制作复合骨形态发生蛋白2和I型胶原聚乳酸羟基乙酸支架与复合碱性成纤维细胞生长因子、转化生长因子 β 和II型胶原聚乳酸羟基乙酸支架,将两者用生物蛋白胶黏合形成复合支架,把体外培养扩增的骨髓间充质干细胞种植到符合支架上。

以骨髓间充质干细胞为种子细胞,运用密度梯度离心法提取单核细胞进行培养,以3种不同类型的聚乳酸羟基乙酸复合支架为载体,植入实验组、对照组、空白组3组大鼠,修复骨软骨缺损。分别于4, 8, 12周取材,进行大体观察,苏木精-伊红染色、甲苯胺蓝染色、免疫组化、碱性磷酸酶染色,并进行扫描电镜和透射电镜观察,进行组织学评分。

实验组大体标本通过电镜观察可见成骨细胞、破骨细胞及软骨细胞,透射电镜可见细胞浆内大量线粒体和内质网,并见大量胶原分泌,组织学评分表明与对照组、空白组差异具有显著性意义。表明骨髓间充质干细胞体外分离扩增培养后复合到不同胶原和生长因子聚乳酸羟基乙酸支架后再植入动物肌袋可构建软骨复合组织^[10]。

3 讨论

作为生物材料复合支架在修复运动性关节缺损的材料应用主要包括以下几类:一类是天然聚合物,如胶原蛋白、纤维蛋白等;另一类为人工合成聚合物,如聚酯类、聚偶磷氮等。天然材料生物相容性好,利于细胞黏附、增殖和分化,但也存在许多缺点,如大规模生产的限制、不同批号制成品的差异、材料本身因素控制的困难(如机械强度、降解速度等)。

人工合成聚合物则避免了上述困难,材料的微结构、大体形态、机械性能、降解时间等都能预先设计和调控,最后降解完全,避免了长期异物反应的危险。但人工合成材料最大的缺点是缺乏生物信号系列,与细胞间缺乏生物性相互作用。

具有良好生物相容性的可生物降解高分子合成材料经过适宜的制备工艺,构建具有仿细胞外基质结构、适当力学强度、生物活性物质载体功能的组织工程支架,探寻天然生物材料与人工合成高分子材料之间的交叉复合利用天然生物材料的良好生物相容性、细胞表面识别信号和人工合成高分子材料合适的机械性能等特性,寻找具有天然降解和无免疫原性,生物相容性和符合软骨支架材料所需的强度和韧性的支架材料,特别是利用骨髓间充质干细胞作为种子细胞与生物材料载体的相容性研究,设计出结构与性能优化的三维材料。是复合支架在关节软骨缺损中值得长期探讨和研究的持续热点之一。

4 参考文献

- [1] 汪志伟, 组织工程支架材料在泌尿外科应用中的生物相容性评价[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2008, 12(14): 2709-2712.
- [2] 王宏亮, 韩东. 生物材料复合支架与运动性关节软骨缺损的修复[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2011, 15(8): 1475.
- [3] Lee CR, Grad S, Goma K, et al. Fibrin-polyurethane composites for articular cartilage tissue engineering; a preliminary analysis. *Tissue Eng*. 2005; 11(910):1562-1573.
- [4] 何勃, 杨翔, 岳鹏举, 等. 纤维蛋白凝胶和脱钙骨基质支架材料复合软骨细胞修复兔膝关节软骨缺损的实验研究[J]. 中国骨伤, 2009, 22(7):523-526.
- [5] 王文良, 张华亮, 关静, 等. PLGA-II型胶原复合rhBMP-2/bFGF修复兔膝关节软骨的缺损[J]. 中国矫形外科杂志, 2008, 16(20):1579-1584.
- [6] 张华亮, 王文良, 初殿伟, 等. 双层壳聚糖与HAP复合支架的初步研究[J]. 中国修复重建外科杂志, 2008, 22(11):1358-1363.
- [7] 史德海, 蔡道章, 周长忍, 等. 壳聚糖与II型胶原复合制作组织工程软骨支架及其性能研究[J]. 中国修复重建外科杂志, 2005, 19(4):278-282.
- [8] 于洪宇, 马春雨. 壳聚糖胶原凝胶复合骨髓间充质干细胞修复兔关节软骨缺损的组织学变化[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(25):4581-4584.
- [9] 梁耀中, 查振刚, 郑力恒, 等. BMSCs与PLGA支架构建组织工程化骨软骨复合组织[J]. 暨南大学学报: 医学版, 2010, 31(2): 168-173.
- [10] 邹庆, 杨永宏. 骨组织工程种子细胞——骨髓间充质干细胞研究进展[J]. 中华现代临床医学杂志, 2004, 2(2): 120-121.