

壳聚糖球形多孔微载体的血液相容性评价****☆

张 瑞¹, 韩宝三², 彭承宏²

Blood compatibility evaluation of the spherical porous chitosan microcarrier

Zhang Rui¹, Han Bao-san², Peng Cheng-hong²

¹Department of Tumor Surgery, First Affiliated Hospital, Inner Mongolia Medical College, Hohhot 010059, Inner Mongolia Autonomous Region, China; ²Organ Transplantation Center of Ruijin Hospital Affiliated to Medical College of Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200025, China

Zhang Rui☆, Doctor, Associate chief physician, Department of Tumor Surgery, First Affiliated Hospital, Inner Mongolia Medical College, Hohhot 010059, Inner Mongolia Autonomous Region, China
ruizhang999@sohu.com

Supported by: the National High-tech Research and Development Plan of China - the "863" Research Project, No. 2007AA02Z487*; the National Natural Science Foundation of China, No. 20074031*, 30672043*, 30772105*

Received: 2010-11-08
Accepted: 2010-12-06

Abstract

BACKGROUND: Literature reported that most of microcarrier was solid and macroporous. Although surface area was significantly increased compared with two-dimensional microcarrier, it was far away from ideal three-dimensional environment.

OBJECTIVE: To construct spherical porous chitosan microcarrier, and to evaluate the blood compatibility of the spherical porous chitosan microcarrier by hemolysis, coagulation, platelet count, platelet aggregation tests.

METHODS: The concentration of 1%, 2%, and 3% spherical porous chitosan microcarrier were successfully constructed using liquid nitrogen freeze-drying technology. Healthy, adult, New Zealand Rabbits were selected, the blood compatibility of spherical porous chitosan microcarrier was evaluated by hemolysis, coagulation, platelet count, platelet aggregation tests.

RESULTS AND CONCLUSION: The concentration of 1%, 2%, and 3% spherical porous chitosan microcarrier hemolysis rate was 1.56%, 2.07%, 2.31%, less than 5%, and without hemolyticus. 3 spherical porous chitosan microcarrier concentrations of sample materials had no significant effect on rabbit blood time. There was no significant difference between 3 concentration of spherical porous chitosan microcarrier and sodium chloride negative control group ($P > 0.05$). 3 spherical porous chitosan microcarrier concentrations of sample materials had no significant effect on platelet count. There was no significant difference between the comparison of leaching liquor injection before and after and intragroup comparison ($P > 0.05$). The results have confirmed that the spherical porous chitosan microcarrier has no hemolyticus, coagulation, and platelet aggregation. It shows that the spherical porous chitosan microcarrier has good blood compatibility.

Zhang R, Han BS, Peng CH. Blood compatibility evaluation of the spherical porous chitosan microcarrier. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2011;15(3):404-408. [http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

摘要

背景: 文献报道的微载体大多为实心的、大孔的, 虽然较二维微载体的比表面积有明显的增加, 但距理想的三维微环境相差甚远。

目的: 构建壳聚糖球形多孔微载体, 通过溶血实验、凝血实验、血小板计数及聚集实验评价其血液相容性。

方法: 利用液氮冷冻干燥技术成功构建浓度为1%, 2%, 3%的壳聚糖球形多孔微载体。选择健康成年新西兰兔为宿主, 采用溶血实验、凝血实验、血小板计数及其聚集实验评价壳聚糖球形多孔微载体的血液相容性。

结果与结论: 浓度为1%, 2%, 3%的壳聚糖球形多孔微载体的溶血率分别为1.56%, 2.07%, 2.31%, 均小于5%, 均无致溶血性; 3种浓度壳聚糖球形多孔微载体样本材料对兔血时间无明显影响, 三者与生理盐水阴性对照组间也无明显差别($P > 0.05$); 3种浓度壳聚糖球形多孔微载体样本材料对兔血小板计数无明显影响, 注入浸提液前后比较和组间比较差异均无显著性意义($P > 0.05$)。证实壳聚糖球形多孔微载体无致溶血性、无凝血性和无血小板聚集性, 表明壳聚糖球形多孔微载体具有良好的血液相容性。

关键词: 人工肝脏; 壳聚糖; 微载体; 血液相容性; 组织工程

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2011.03.006

张瑞, 韩宝三, 彭承宏. 壳聚糖球形多孔微载体的血液相容性评价[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2011, 15(3):404-408. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

0 引言

壳聚糖为甲壳素经化学法处理脱乙酰基后的产物, 是带阳离子的高分子碱性多糖聚合物, 如果脱乙酰度含量越高, 其表征分子链节中的氨基含量越高, 这就决定壳聚糖在生物材料应用及其生物技术研究中的优势, 即其带有正电荷, 许多研究显示壳聚糖是一种来源广泛、性能优良的多聚阳离子电解质, 不溶于水, 能溶于稀酸, 并具有良好的可溶性、降解性、生物功能性和相容性等特点, 使其在液态递质中可以与带负电荷的聚合物、大分子甚至一些聚阴

离子相互作用^[1-2]。所以, 本实验采用脱乙酰度大于95%的壳聚糖作为制备微载体的生物材料。目前, 文献报道的微载体大多为实心的、无孔或大孔的, 虽然较二维微载体的比表面积有很大的增加, 但距理想的三维微环境相差甚远, 这与其制备的方法和技术有着密切关系。为了进一步明显增加三维微载体的比表面积, 并对球形多孔微载体作一初步研究, 本课题组借鉴了相关文献报道的制备技术经验, 以壳聚糖为材料, 利用液氮冷冻干燥法初步制备成功了壳聚糖球形多孔微载体, 并对其物理、化学及结构形态等性质进行了表征^[2-5]。

生物材料作为用于人体组织和器官诊断、

修复或增进其功能的一类高技术材料, 即用于取代、修复活组织的天然或人造材料, 其作用是药物不可替代的。将生物材料植入体内会不会产生全身性不良影响及局部的器官和组织的病变, 满足生物体复杂而又严格的多功能要求, 这就要求材料有与天然高分子相类似的结构^[6]。目前在设计生物医用材料时, 首先遇到的是体内植入材料的生物相容性问题, 其中血液相容性是其主要部分^[7]。生物医学材料造成的生物学危害之一是材料造成的生物学危害, 这就需要对其进行生物学评价试验, 以便提供进一步有关安全性的数据和资料^[8]。按照生物医学材料国际标准化组织(ISO)的生物相容性评价标准和国家标准GB/T 16886系列^[6-9], 生物人工肝生物反应器按照与患者的接触时间和途径, 属于长期接触类(B类), 首先必须具有良好的血液相容性, 其溶血实验、凝血实验、血小板计数及聚集等必须符合上述标准和要求, 即无溶血性和无凝血性, 因此, 本实验对壳聚糖球形多孔微载体在这几方面进行了系统的血液相容性检测和评价。

1 材料和方法

设计: 动物观察实验。

时间及地点: 于2007-09/2009-05在上海交通大学医学院附属瑞金医院器官移植中心(上海消化外科研究所)实验室所完成。

材料: 健康成年新西兰兔72只, 体质量2.0~2.5 kg, 雌雄各半, 均购自上海交通大学医学院附属瑞金医院实验动物中心, 许可证号SCXK(沪)2003-0004。壳聚糖购自中国医药集团上海分公司。

试剂与仪器:

试剂和仪器	来源
去离子水, 生理盐水, 致聚剂 ADP	Sigma
Bio-Rad 450 酶标仪	美国 Bio-Rad 公司
CO ₂ 细胞培养箱、低温高速离心机	Heraeus, Germany
分光光度计	上海第三分析仪器厂
负压试管(含 EDTAK 抗凝剂和含 3.8% 枸橼酸钠抗凝剂)	Corning 公司
PA-III 血小板聚集仪	Olympus, Japan

实验方法:

壳聚糖球形多孔微载体的构建: 首先在常温

下, 配置体积分数为2%的乙酸(CH₃COOH)溶液300 mL, 分别取其100 mL置于3个相同的烧杯中。再将质量为1, 2, 3 g的壳聚糖粉末分别溶于这3个100 mL的体积分数2%乙酸溶液中(由于在稀酸溶液中, 壳聚糖的主链会缓慢水解), 并在烧杯上标注浓度1%, 2%, 3%的壳聚糖/乙酸溶胶, 用玻璃棒手动略加均匀搅拌5 min后备用。取3个干净的磁力搅拌珠放入盛有以上初步配制的1%壳聚糖溶胶烧杯中, 将烧杯用自制的带孔医用塑料薄膜封口。将此烧杯置于磁力搅拌器上, 调节设置其温度为38 °C, 转速为500 r/min, 并开始计时, 持续搅拌24 h后停止, 取下烧杯, 冷却至常温, 即1%的壳聚糖/乙酸溶胶系配制成功。以同样的方法制备2%, 3%的壳聚糖/乙酸溶胶系, 并常温下保存。取适量的液氮于小型液氮瓶中, 用1 mL医用注射器(针头磨平)吸取1%壳聚糖/2%乙酸溶胶1 mL, 匀速推注滴入液氮中, 使溶胶迅速形成若干微球, 此时要求针头垂直并与液氮平面保持适当距离, 尽量待形成的前者微球沉入液氮面以下再滴注下一个微球, 并根据液氮量和试验需要制备适量的1%壳聚糖/乙酸溶胶微球, 以同样的方法制备2%、3%的壳聚糖/乙酸溶胶微球。将以上制备的1%壳聚糖/乙酸溶胶微球和适量的液氮迅速分装至6孔培养板中, 并用自制的带孔医用塑料薄膜封口, 立即放入事先调节好的冷冻干燥机(冷凝温度REFRIG: -78 °C, 真空度VACUUM:80UB)中, 开始计时, 冷冻干燥24 h后取出, 即制成1%的壳聚糖球形多孔微载体样本1, 置常温干燥容器中保存。以同样的方法制备2%, 3%的壳聚糖球形多孔微载体样本2, 3, 置常温干燥容器中保存。

壳聚糖球形多孔微载体的溶血实验: 采用的溶血实验方法(分光光度法)如下: 2%红细胞悬液的制备: 取30只新西兰兔, 随机分为5组, 每只抽取新鲜血液20 mL, 分别放入盛有玻璃珠的三角烧瓶中振摇约10 min, 除去纤维蛋白原, 制成脱纤血液, 加100 mL生理盐水摇匀, 1 500 r/min离心20 min, 除去上清液, 反复用生理盐水洗至上清液无红色, 将所得红细胞用生理盐水配制成 2%红细胞混悬液, 备用。取2%兔血红细胞悬液0.2 mL加入10 mL蒸馏水中, 用酶标仪 545 nm波长测量, 吸光度值为0.760, 符合实验要求, 正常阳性对照组吸光度值为0.8±0.3。将本实验的球形多孔微载体样本材料1, 2, 3粉末均浸于生理盐水, Heraeus细胞培养箱中37 °C恒温恒湿浸提72 h, 分别取10 mL

¹ 内蒙古医学院第一附属医院肿瘤外科, 内蒙古自治区呼和浩特市; ² 上海交通大学医学院附属瑞金医院器官移植中心, 上海市200025

张瑞☆, 男, 1972年生, 内蒙古自治区呼和浩特市人, 汉族, 上海交通大学医学院附属瑞金医院毕业, 博士, 副主任医师, 主要从事肿瘤外科的临床和基础研究。
ruizhang999@sohu.com

中图分类号:R318
文献标识码:B
文章编号:1673-8225
(2011)03-00404-05

收稿日期:2010-11-08
修回日期:2010-12-06
(20101120014/GW
·L)

样本材料(1, 2, 3)浸提液(以下实验均采用此自制的浸提液)、去离子水(阳性对照)、生理盐水(阴性对照)于15 mL离心管, 37 °C水浴×30 min, 每只试管分别加2%兔红细胞悬液0.2 mL, 37 °C水浴60 min后, 将各管的溶液置入干燥离心管中离心(1 000 r/min)5 min, 取上清在分光光度计上545 nm处扫描, 以蒸馏水为空白读取各管吸光度(A)值, 每组设6个平行样品。

溶血实验的评价标准: 生物材料的溶血率用%表示, 计算公式如下: $\text{溶血率}(\%) = (\text{Dt} - \text{Dnc}) / (\text{Dpc} - \text{Dnc}) \times 100$ 其中: Dt-试验样品吸光度, Dnc-阴性对照吸光度, Dpc-阳性对照吸光度。以Dnc吸光度应不大于0.03, Dpc吸光度值为 0.8 ± 0.3 , 溶血率 < 5%, 则材料符合生物材料溶血实验要求; 若溶血率 > 5%, 则预示实验材料有溶血作用。

壳聚糖球形多孔微载体的凝血实验: 将24只新西兰兔随机分成4组, 每组6只, 即微载体样本浸提液1、2、3组(同上溶血试验的方法制得浸提液)和生理盐水阴性对照组。首先测定每只兔的正常凝血时间作为自身空白对照, 采用一次兔耳缘静脉给药, 剂量为1 mL/kg, 分别于给药后5 min, 30 min, 1 h, 6 h, 12 h, 24 h, 用一次性采血针兔耳中动脉采血1 mL, 置于消毒的玻璃试管中, 将玻璃试管放在37 °C水浴箱中, 记录时间。倾斜试管观察血液凝固情况, 直至血液全部凝固为止(试管倾斜90°时, 血液不再流动)。从加入血液开始至凝血固的时间即为全血凝固时间。

壳聚糖球形多孔微载体的血小板计数及聚集实验: 将18只新西兰兔随机分成3组, 每组6只, 即微载体样本材料浸提液1, 2, 3组(同上方法制得)。各组均采用一次兔耳缘静脉分别注入浸提液1, 2, 3, 剂量为1 mL/kg, 分别于给注入前及注入后24 h, 用一次性采血针白兔耳中动脉采血2 mL, 置于含有EDTAK抗凝剂的负压试管中, 用全自动血细胞计数仪检测兔血小板; 并同时分别于给注入前及注入后30 min, 6 h, 12 h, 用一次性采血针白兔耳中动脉采血4 mL, 置于含3.8%枸橼酸钠抗凝剂的负压试管中, 混匀, 800 r/min离心4 min, 制备富血小板血浆, 取富血小板血浆1 mL置另一离心管中, 将除去富血小板血浆后的血浆以3 000 r/min离心8 min, 去上清, 制得贫血小板血浆。将富血小板血浆和贫血小板血浆置于血小板聚集仪测定孔内, 在富血小板血浆中加入0.2 mol/L磷酸缓冲液10 mL, 在贫血小板血浆中加入相应量缓冲液, 37 °C下预热3 min, 再加入致聚剂ADP, 用PA-III血小板聚集仪进行检测。

主要观察指标: 壳聚糖球形多孔微载体的溶血、凝血、血小板计数及聚集等实验结果是否符合生物医学材料的相关标准和要求。

统计学分析: 数据用统计软件SSPS V 12.0处理, 数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用重复测量数据的F检

验和t检验, $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。统计学处理由第一作者完成。

2 结果

2.1 壳聚糖球形多孔微载体的表面及切面形态 通过电子显微镜扫描, 微载体样本1, 2, 3的大体形态、载体表面及切面形态结构见图1~3。

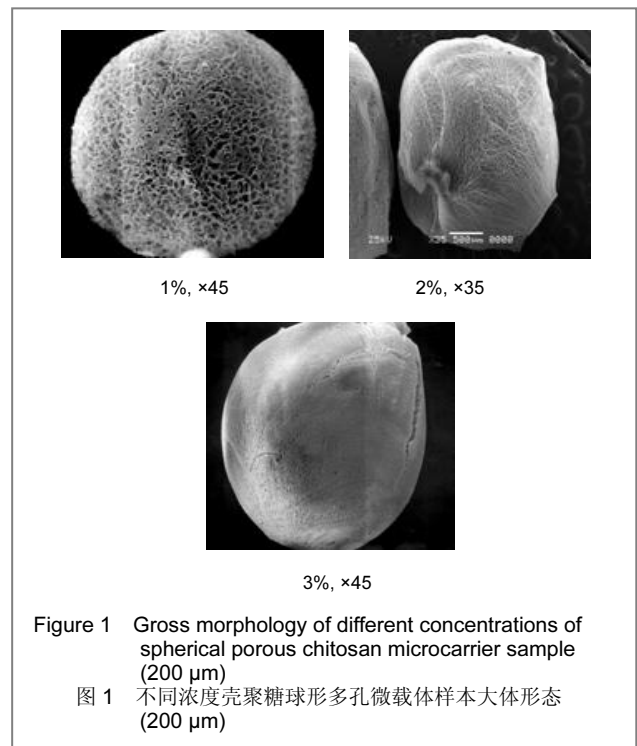


Figure 1 Gross morphology of different concentrations of spherical porous chitosan microcarrier sample (200 μm)
图1 不同浓度壳聚糖球形多孔微载体样本大体形态 (200 μm)

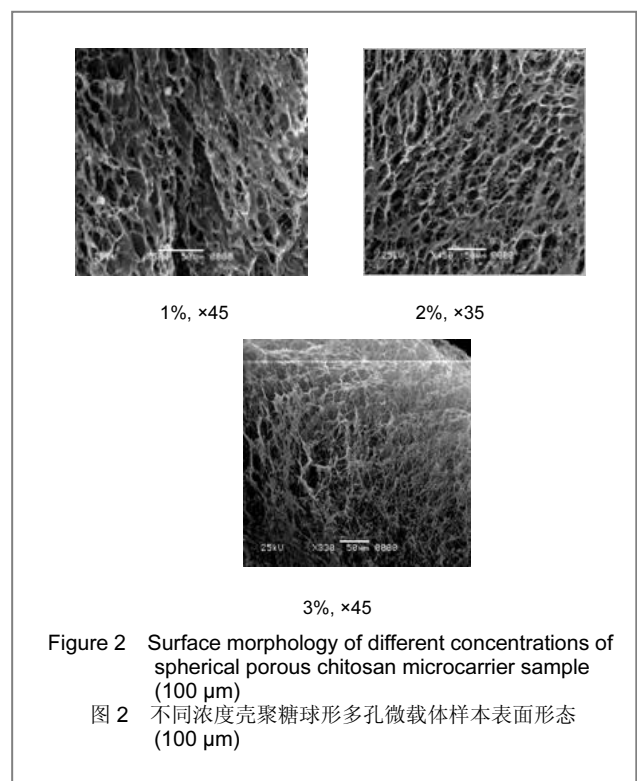


Figure 2 Surface morphology of different concentrations of spherical porous chitosan microcarrier sample (100 μm)
图2 不同浓度壳聚糖球形多孔微载体样本表面形态 (100 μm)

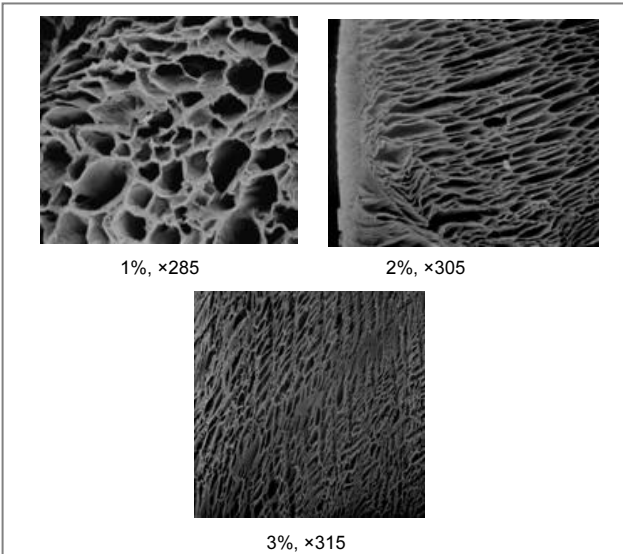


Figure 3 Section morphology of different concentrations of spherical porous chitosan microcarrier sample (100 μm)
图3 不同浓度壳聚糖球形多孔微载体样本切面形态 (100 μm)

壳聚糖球形多孔微载体样本1, 2, 3大体形态, 大小均约为1 000 μm的圆形球状物, 表面可见多个孔隙, 其中样本3孔隙较多; 高倍镜下的表面局部形态多孔且相连相通, 孔径20~80 μm, 其中样本2孔隙和孔径较为整齐、均匀; 高倍镜下的微载体切面局部形态可见横断切面和纵断切面的孔隙交错, 多孔相连, 其中样本2具有较为适中的孔径和孔壁。从以上形态可看出, 微载体样本1, 2, 3均为内外多孔的球体, 其每个孔隙也可以让1到几个肝细胞(直径为20~30 μm)自由通过。

2.2 壳聚糖微载体的溶血实验结果 样本1, 2, 3的溶血率为1.56%, 2.07%和2.31%, 见表1, 3者的溶血率均小于5%, 均无致溶血性。

表1 壳聚糖球形多孔微载体样本的溶血实验结果
Table 1 Samples hemolysis test results of spherical porous chitosan microcarrier (n=6)

Group	Absorbance ($\bar{x}\pm s$)	Hemolysis rate (%)
Sample leaching liquor 1	0.0334±0.0027	1.56
Sample leaching liquor 2	0.0319±0.0019	2.07
Sample leaching liquor 3	0.0287±0.0015	2.31
Negative control group	0.0189±0.0013	0.00
Positive control group	0.6458±0.0210	100.00

The results showed that sample 1, 2, 3 had good blood compatibility, consistent with blood compatibility standards of biomedical materials

结果表明, 样本1, 2, 3均具有良好的血液相容性, 符合生物医学材料的血液相容性标准。

2.3 壳聚糖微载体的凝血实验结果 微载体样本材料1, 2, 3对兔血时间无明显影响, 3者与生理盐水阴性对照组间也无明显差别。实验前后比较差异无显著性意义 ($P > 0.05$), 组间比较差异也无显著性意义 ($P > 0.05$)。见图4。

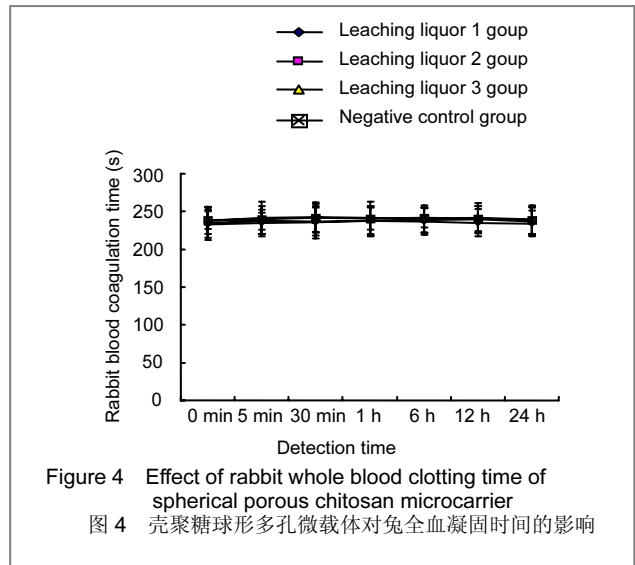


Figure 4 Effect of rabbit whole blood clotting time of spherical porous chitosan microcarrier
图4 壳聚糖球形多孔微载体对兔全血凝固时间的影响

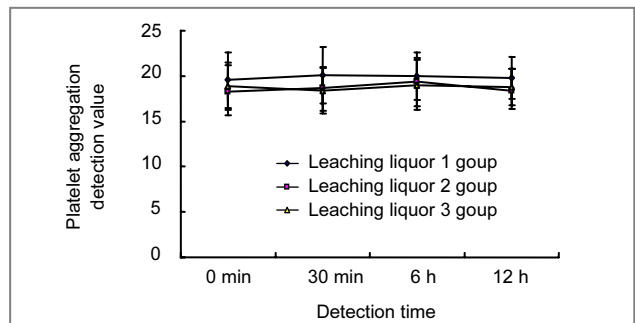
2.4 壳聚糖微载体的血小板计数及聚集实验结果
血小板计数试验结果: 见表2。

表2 壳聚糖球形多孔微载体样本1, 2, 3对兔血小板计数的影响
Table 2 Effect of rabbit platelet count of spherical porous chitosan microcarrier ($\bar{x}\pm s, n=6, \times 10^{11}/L$)

Group	Leaching liquor before injection	Leaching liquor 24 hours after injection
Sample leaching liquor 1	4.86±0.96	4.87±0.78
Sample leaching liquor 2	4.87±0.75	4.89±0.84
Sample leaching liquor 3	4.89±0.87	4.88±0.89

微载体样本材料1, 2, 3对兔血小板计数无明显影响, 注入浸提液前后比较和组间比较差异均无显著性意义 ($P > 0.05$), 组间比较差异也无显著性意义 ($P > 0.05$)。

血小板聚集实验结果: 见图5。



Microcarrier sample material 1, 2, 3 had no effects on platelet aggregation of rabbits. There was no significant difference between the comparison of leaching liquor injection before and after and intragroup comparison ($P > 0.05$)

Figure 5 Effect of rabbit platelet aggregation of spherical porous chitosan microcarrier
图5 壳聚糖球形多孔微载体1, 2, 3对兔血小板聚集的影响

微载体样本材料1, 2, 3对兔血小板聚集无明显影响, 注入浸提液前后比较和组间比较差异均无显著性意义

义($P > 0.05$)。

3 讨论

本实验利用液氮冷冻干燥技术成功地构建了一种壳聚糖球形多孔微载体, 其作为生物人工肝细胞培养的生物材料, 必须具有良好的血液相容性^[10-12]。医用生物材料与血液相互作用, 使各自的功能和性质受到影响。具有优良血液相容性的医用生物材料对血液或血液成分的功能和性质影响在适当的范围内, 主要表现在^[13-14]: ①黏附血小板较少, 不激活血小板, 不发生血栓。②不激活凝血系统, 促进凝血时间缩短。③无溶血作用。④不对其他血液成分产生不利的影 响。如果医用生物材料如果具有血液不相容性, 在通常情况下, 其表面与血液接触的数秒钟内, 首先在材料表面吸附血浆蛋白, 接着血小板在材料表面黏附、聚集、变形, 同时血液内一系列凝血因子相继被激活, 参与材料表面血栓形成过程, 最终形成红血栓。材料的血液不相容性会严重地将危害人体生命过程。

医用生物材料的血液相容性评价是其生物学评价的重要组成部分, 由于血液成分的功能及其作用机制比较复杂, 涉及的内容比较多, 而评价医学生物材料与血液相互作用的血液相容性经典的实验方法比较少, 除溶血试验外, 其他涉及凝血、血栓形成、血小板功能改变、血浆蛋白黏附、补体免疫系统功能改变等诸多方面的血液相容性试验方法^[15-17]。由于本实验制备的微载体材料需与血液发生直接或间接的接触, 因此, 其必须应具有 良好的血液相容性。一般认为, 当溶血试验测得有溶血活动时, 提示材料有毒性。本实验采用新西兰兔红细胞制成新鲜抗凝兔血来进行实验, 所用阴性对照和阳性对照均符合以上医用材料标准(溶血率不大于5%)的要求, 说明微载体样本材料对红细胞无破坏作用, 表明该微载体无明显的致溶血性而具有初步的良好血液相容性。对于凝血系统的检测有各种凝血时间的测定, 如活化部分凝血酶时间、凝血酶原时间和凝血酶原时间等。凝血时间越长, 说明凝血因子被激活的程度越低, 材料的抗凝血性能就越好。本实验中兔血在给予注射微载体样本材料浸提液前后的凝血时间无显著变化, 说明此微载体无明显的凝血性, 但抗凝血性能尚需进一步提高。生物材料植入体内后, 血小板即在材料表面黏附并被激活, 发生聚集和释放反应, 材料表面血小板的黏附是血小板激活常用的检测指标。血小板计数实验结果表明, 微载体样本材料对兔血小板计数无明显影响, 另外, 血小板聚集实验结果也表明, 微载体样本材料浸提液对兔血血小板无明显影响, 并不明显激活内源性凝血系统。本实验通过以上血液相容性实验均阴性的结果, 证实壳聚糖球形多孔微载体无致溶血性、无凝血性和无血小板聚集

性, 表明壳聚糖球形多孔微载体具有良好的血液相容性。

4 参考文献

- [1] Liu CS, Meng XH, Liu CG, et al. Gao Jishu Tongxun. 2005; 15(6):63. 刘成圣, 孟祥红, 刘晨光, 等. 羧甲基壳多糖微载体CX-2的性能研究[J]. 高技术通讯, 2005, 15(6):63.
- [2] Zhao LR, Sun DX, Liu MY. Gaofenzi Tongbao. 2007;4(8):43-47. 赵丽瑞, 孙多先, 刘满英. 羧甲基壳聚糖的性能及其在生物医学领域的应用[J]. 高分子通报, 2007, 4(8):43-47.
- [3] Li MC, Liu C, Xin MH, et al. Preparation and characterization of acylated chitosan. J Chem Res. 2005; 21(1):114-116.
- [4] Hong Y, Gong YH, Gao CY, et al. Cailliao Yanjiu Xuebao. 2005;12(6):589-593. 洪奕, 龚逸鸿, 高长有, 等. 壳聚糖涂层聚乳酸细胞微载体的制备和性能[J]. 材料研究学报, 2005, 12(6): 589-593.
- [5] Zhu JH, Zhang B, Yan XL, et al. Huagong Xuebao. 2006;57(1):85-90. 朱建航, 张宝, 严喜鸾, 等. 壳聚糖/三元共聚物微胶囊的制备及表征[J]. 化工学报, 2006, 57(1):85-90.
- [6] Wang XY, Wang YL. Beijing Shengwu Yixue Gongcheng. 2007;26(1):95-98. 王喜云, 王远亮. 生物材料的生物学评价方法研究进展[J]. 北京生物工程, 2007, 26(1):95-98.
- [7] 中国标准出版社第一编辑室. 医疗器械生物学评价标准汇编[M]. 北京: 中国标准出版社, 2003.
- [8] 国家医疗器械生物学评价标准化技术委员会. GB/T16886.1-2001: 医疗器械生物学评价-第一部分: 评价与实验[M]. 北京: 中国标准出版社, 2001:304-309.
- [9] Hao HP. Beijing: Zhongguo Biaozhun Chubanshe. 2000. 郝和平. 医疗器械生物学评价标准实施指南[M]. 北京: 中国标准出版社, 2000.
- [10] Park Y, Subramanian K, Verfaillie CM, et al. Expansion and hepatic differentiation of rat multipotent adult progenitor cells in microcarrier suspension culture. J Biotechnol. 2010; 150(1):131-139.
- [11] VandeVord PJ, Matthew HW, DeSilva SP, et al. Evaluation of the biocompatibility of a chitosan scaffold in mice. J Biomed Mater Res. 2002;59(3):585-590.
- [12] Shi B, Zhang S, Wang Y, et al. Expansion of mouse sertoli cells on microcarriers. Cell Prolif. 2010;43(3):275-286.
- [13] Fernandes AM, Marinho PA, Sartore RC, et al. Successful scale-up of human embryonic stem cell production in a stirred microcarrier culture system. Braz J Med Biol Res. 2009; 42(6):515-522.
- [14] Pan C, J. Shao Z, Tang JJ, et al. In vitro studies of platelet adhesion, activation, and protein adsorption on curcumin-eluting biodegradable stent materials. J Biomed Mater Res A. 2007; 82(3):740-746.
- [15] Zhang AX, Lü DL, Zhong W, et al. Shanghai Shengwu Yixue Gongcheng. 2004;25(3): 53-57. 张安兄, 吕德龙, 钟伟, 等. 生物材料的血液相容性[J]. 上海生物医学工程, 2004, 25(3): 53-57.
- [16] Guo HX, Liang CH. Shanghai Shengwu Yixue Gongcheng. 2001, 22(3):44-48. 郭海霞, 梁成浩. 生物材料血液相容性研究进展[J]. 上海生物医学工程, 2001, 22(3):44-48.
- [17] Liu X, Shi HD. Touxu yu Rengong Qiguan. 2003;14(10):40-44. 刘欣, 史弘道. 医用生物材料血液相容性评价研究概况[J]. 透析与人工器官, 2003, 14(10):40-44.

来自本文课题的更多信息——

基金资助: 国家高新技术研究发展计划“863”项目(2007AA02Z487), 课题名称: 微粒生物人工肝反应器构建的研究; 国家自然科学基金项目(30672043), 课题名称: 微粒肝细胞生物反应器-微囊化三维多孔微载体构建的研究; 国家自然科学基金项目(30772105), 课题名称: 新型超分子自组装微囊/肝细胞球形聚集体构建的研究; 国家自然科学基金项目(20074031), 课题名称: 人肝细胞/聚合物杂化界面和生物人工肝的研究。

作者贡献: 第一作者进行实验设计、实施, 实验评估及资料收集为第一、二作者, 第一作者成文, 第三作者审校, 第一作者对文章负责。

致谢: 感谢上海交通大学医学院附属瑞金医院器官移植中心(上海消化外科研究所)实验室提供的研究工作平台!

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。

伦理批准: 实验过程中对动物处置符合动物伦理学标准。