

电纺纳米纤维可降解输尿管支架肌肉埋植的降解性能**

张 龙, 王晓庆, 姜凤鸣, 管旌旌, 王春喜

Degradation of biodegradable ureteral stent composed of electrospun nanofibers implanted into the muscle

Zhang Long, Wang Xiao-qing, Jiang Feng-ming, Guan Jing-jing, Wang Chun-xi

Abstract

BACKGROUND: The author has completed the preliminary investigation on degradation of electrospun nanofiber poly lactic acid-glycolic acid copolymer (PLGA) biodegradable ureteral stent material *in vitro* and found the degradation time of 80/20 PLGA material in urine could meet the clinical needs.

OBJECTIVE: To investigate the degradation properties of 80/20 PLGA electrospun nanofiber ureteral stents implanted in muscle.

METHODS: The 80/20 PLGA electrospun nanofiber ureteral stents were prepared by electrostatic spinning. The degradation properties of the stents in rabbit paravertebral muscle were observed.

RESULTS AND CONCLUSION: Electrospun nanofiber ureteral stents were successfully prepared with a good morphology under scanning electron microscopy. At 10 weeks of degradation of 80/20 PLGA electrospun nanofiber ureteral stents, their mass was 60% of initial mass, and fracture and disintegration of the stents could be seen. Degradation rate of the stents was slightly decreased than that *in vitro*, but they were still able to meet the clinical needs of biodegradable ureteral stents.

Zhang L, Wang XQ, Jiang FM, Guan JJ, Wang CX. Degradation of biodegradable ureteral stent composed of electrospun nanofibers implanted into the muscle. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2012;16(3): 401-404.
[http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

Department of Urology, First Bethune Hospital of Jilin University, Changchun 130021, Jilin Province, China

Zhang Long★, Studying for master's degree, Department of Urology, First Bethune Hospital of Jilin University, Changchun 130021, Jilin Province, China 3709211985@163.com

Correspondence to: Wang Chun-xi, Professor, Chief physician, Doctoral supervisor, Department of Urology, First Bethune Hospital of Jilin University, Changchun 130021, Jilin Province, China chunxi_wang@126.com

Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No. 50973043*

Received: 2011-10-21
Accepted: 2011-11-28

摘要

背景: 作者前期研究了电纺纳米纤维聚乳酸-羟基乙酸共聚物可降解输尿管支架材料的体外降解性能, 发现 80/20 聚乳酸-羟基乙酸共聚物电纺纳米纤维材料在尿液中的降解时间可以满足临床需要。

目的: 观察 80/20 聚乳酸-羟基乙酸共聚物电纺纳米纤维输尿管支架的肌肉埋植降解性能。

方法: 采用静电纺丝法制备 80/20 聚乳酸-羟基乙酸共聚物纳米纤维输尿管支架, 观察其在家兔脊柱旁肌肉中的降解情况。

结果与结论: 成功制备了电纺纳米纤维输尿管支架, 扫描电镜见微观形貌良好。80/20 的聚乳酸-羟基乙酸共聚物纳米纤维输尿管支架在体内降解至 10 周时, 支架管降解至初始质量的 60%左右, 支架出现断裂和崩解, 虽降解速度较体外降解稍慢, 但其降解性能仍能够满足临床对可降解输尿管支架的需要。

关键词: 电纺丝; 聚乳酸-羟基乙酸共聚物; 肌肉埋植; 降解性能; 生物材料; 可降解输尿管

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2012.03.004

张龙, 王晓庆, 姜凤鸣, 管旌旌, 王春喜. 电纺纳米纤维可降解输尿管支架的肌肉埋植降解性能[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(3):401-404. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

0 引言

可降解输尿管支架的制备是泌尿外科相关组织工程研究的热点之一。普通工艺制备的可降解输尿管支架很难满足临床需要, 因而采用新工艺探索获取更能满足临床需要的支架材料势在必行。聚乳酸-羟基乙酸共聚物(poly(lactic-co-glycolic acid), PLGA)是由丙交酯和乙交酯两种单体在催化剂的作用下聚合而成的高分子共聚物。其常用的制备方法主要有冷压法、粒子沥滤法、热致相分离法等^[1-3]。近年来PLGA由于其良好的生物降解性和生物相容性而被广泛的研究^[4-5], 并通过了美国FDA的批准, 在骨科及美容科的研究和使用已十分普遍^[6-7]。可降解输尿管支架也成为了泌尿外科的研究热点^[8-11]。

作者前期研究发现普通PLGA输尿管支架

管在材料的降解速率、材料的强度等方面不能满足临床要求^[12-13]。因此, 需要研究新的制备工艺。目前静电纺工艺是惟一能直接、连续制备聚合物纳米纤维的方法, 也是有潜力大量生产的惟一加工方法^[14]。静电纺丝法制备的纳米纤维有孔隙率高、孔径可调、表面积大、均一性好、生物相容性良好等特点^[15]。课题组的前期实验利用电纺丝法制备3种不同比例的PLGA纳米纤维^[16], 并进行体外降解性能研究, 发现80/20 PLGA可降解输尿管支架在降解时间上最能满足临床需要。本实验采用家兔肾埋植实验评价该支架的体内降解性能, 以期制备出较理想的组织工程可降解输尿管支架。

1 材料和方法

设计: 观察性实验。

吉林大学白求恩第一医院泌尿外科, 吉林省长春市130021

张龙★, 男, 1984年生, 山东省泰安市人, 汉族, 吉林大学白求恩第一医院在读硕士, 主要从事高分子医用材料的研究。
3709211985@163.com

通讯作者: 王春喜, 教授, 主任医师, 博士生导师, 吉林大学白求恩第一医院泌尿外科, 吉林省长春市130021
chunxi_wang@126.com

中图分类号: R318
文献标识码: B
文章编号: 1673-8225 (2012)03-00401-04

收稿日期: 2011-10-21
修回日期: 2011-11-28
(20111021010/W · L)

时间及地点: 于2011-02/07在中国科学院长春应用化学研所高分子物理与化学国家重点实验室完成。

材料: 3月龄纯种新西兰大白兔5只, 体重2.0~3.0 kg, 由吉林大学实验动物中心提供。

材料及设备:

材料及设备	来源
PLGA (PLGA 80/20, $M_w=60\ 000$)	合成于中国科学院长春应用化学研所高分子物理与化学国家重点实验室
三氯甲烷	北京化学试剂厂
场发射环境扫描电子显微镜 (XL30ESEM-FEG)	FEL COMPANY

实验方法:

PLGA纺丝液的制备: 将80/20PLGA共聚物按质量分数为5%溶于三氯甲烷中, 搅拌24 h, 得到纺丝液。

纤维支架管的制备: 注射器固定在纺丝装置上, 电源阳极输出端与针头相连, 阴极输出端与电机带动的接受装置相接, 阳极与接收器的距离为15 cm。将纺丝液注入注射器, 打开电源, 调节电压至20 kV, 电机转速调至120 r/min, 得到纳米纤维支架管。

体内降解实验: 将PLGA纳米纤维支架管裁剪成长约2 cm的试样见图1, 真空干燥24 h, 精确称量初质量(m_0), 紫外照射40 min后备用。



Figure 1 Samples of nanofiber poly lactic acid-glycolic acid copolymer stents
图1 聚乳酸-羟基乙酸共聚物纳米纤维支架管试样

新西兰大白兔5只, 取2.5 g/L戊巴比妥钠, 按0.1 mL/kg的剂量进行耳缘静脉注射全麻后, 兔俯卧, 背部备皮、消毒、铺巾。沿兔中段脊柱两侧2 cm, 切开皮肤、皮下组织, 分离背阔肌达深部肌肉, 将无菌的支架管分别植入脊柱旁肌肉内, 每侧2个。手术后3 d内给予肌注青霉素 30×10^4 U, 预防术后感染。于第2, 4, 6, 8, 10周末处死动物, 立即将植入的4个材料取

出, 用体积分数95%的乙醇清洗材料, 真空干燥24 h, 称残质量(m_r)。失重率($WL\% = 100(m_0 - m_r)/m_0$), 用扫描电镜观察不同时期试样降解后的表面特征。然后在电子显微镜下观察降解后的微观形态。

扫描电镜观察: 对PLGA纳米纤维支架管及体内降解不同阶段取出的材料喷金后进行表面微观形态分析。

主要观察指标: ①PLGA纳米纤维支架管微观形态及结构分析。②PLGA纳米纤维支架管的肌肉埋植降解性能。

2 结果

2.1 PLGA纳米纤维支架管微观形态及结构分析 通过上述方法制备80/20 PLGA纳米纤维支架管。喷金后电镜观察到微观纤维形貌, 见图2、3。纤维直径在200~5 000 nm。

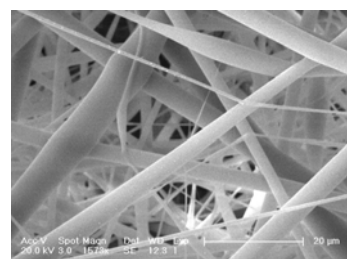


Figure 2 Microstructure of the surface of poly lactic acid-glycolic acid copolymer stents before degradation under scanning electron microscopy (Scale bar=20 μm)
图2 降解前扫描电镜观察 PLGA 支架管表面的微观结构(标尺=20 μm)

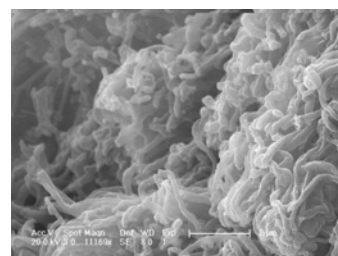


Figure 3 Microstructure of the surface of poly lactic acid-glycolic acid copolymer stents at 4 wk of degradation under scanning electron microscopy (Scale bar=20 μm)
图3 第4周时扫描电镜观察 PLGA 支架管表面的微观结构(标尺=20 μm)

2.2 PLGA纳米纤维支架管的肌肉埋植降解性能 80/20 PLGA纳米纤维支架管在不同观察点的失重率及相对分子量变化曲线见图4、5。

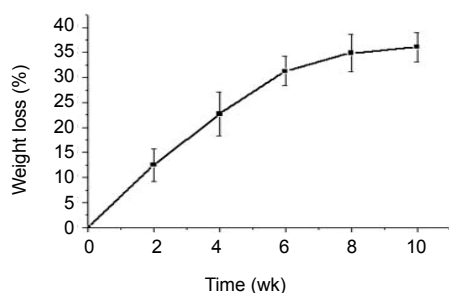


Figure 4 Weight loss curve of 80/20 electrospun nanofiber poly lactic acid-glycolic acid copolymer stents during degradation

图4 电纺纳米纤维 80/20PLGA 输尿管支架降解过程中的失重率曲线

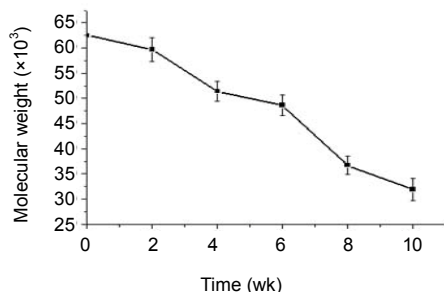


Figure 5 Molecular weight changes of 80/20 electrospun nanofiber poly lactic acid-glycolic acid copolymer stents during degradation

图5 电纺纳米纤维 80/20 PLGA 输尿管支架降解过程中的相对分子质量变化

从图4看出, 80/20PLGA电纺丝纳米纤维支架管试样埋植在家兔脊柱旁肌肉中的质量损失在4周前较快, 以后逐渐减慢, 质量损失与相对分子质量变化基本一致。随着降解的进行支架管出现了断裂和崩解现象, 而电镜观察其纺丝条理紊乱, 纤维出现毛糙, 部分纤维断裂。实验中发现, 当支架管降解至初始质量的60%左右时, 即降解10周时, 支架出现断裂和崩解, 不能用镊子夹取, 当然也就起不到支撑和引流作用。前期研究80/20PLGA的支架管在体外降解时间上, 最能满足临床需要。肌肉埋植实验证实, 其降解时间比尿液中降解时间略慢, 但仍在临床需求的范围之内。

3 讨论

随着组织工程和支架材料的技术发展, 电纺纳米材料的制备成为当前研究的热点。电纺技术是在电场作用下的纺丝技术, 即对聚合物溶液或其熔体施加电场而形成连续纤维^[17]。该技术快速高效, 设备简单, 易于控制产品的化学组分, 纤维长径比大、生物相容性好, 适用于制备人体组织工程支架。电纺过程中, 纤维随机分布,

形成不同尺寸的孔隙, 大多数的尺寸在25~100 nm范围内^[18]。电纺丝纤维间的结合较弱, 这样尿液可以进入相对较小的孔中, 从而提高了材料的尿液引流能力。

PLGA由两种单体——乳酸和羟基乙酸按照一定的摩尔比聚合而成, 是一种可降解的高分子有机化合物, 具有良好的生物相容性、无毒、良好的成囊和成膜的性能, 被广泛应用于制药、医用工程材料和现代化工业领域, 在美国已通过FDA认证, 被正式作为药用辅料收录进美国药典。破坏酯键会导致PLGA的降解, 降解程度随单体比不同而有差异, 乙交酯比例越大越易降解。PLGA的降解产物是乳酸和羟基乙酸, 同时也是人代谢途径的副产物, 所当它应用在医药和生物材料中时不会有毒副作用。通过调整单体比, 进而改变PLGA的降解时间。

作者前期研究显示, 电纺80/20PLGA可降解输尿管支架浸泡在健康志愿者尿液中至7周时观察见材料开始崩解^[16], 至8周后已无法进行进一步检测; 相对分子质量变化趋势与质量损失大体相同, 降解早期相对分子质量下降迅速, 后期减慢并趋于平稳。而本实验将其埋植于家兔的脊柱旁肌肉中, 由于失去了尿液的腐蚀及冲刷作用, 其降解速度比体外降解研究中的降解速率稍慢。但也与体位降解实验中发现的早期降解迅速, 后期减慢并趋于平稳相一致。至于体内的考虑初期植入体内后, 创面分离和外来物刺激引起周围组织亚急性炎症反应, 出现炎性细胞增生以及渗出液增多, 造成初期的酶降解及水降解效应较大^[19]。总之, 电纺PLGA支架管在体内和体外的降解行为相似, 受体内的酶促作用较小^[20]。

实验观察了80/20PLGA电纺纳米支架管的肌肉埋植降解性能, 发现其体内降解在降解时间上可以满足临床需要, 具有重要的研究价值。但是尚需对其组织相容性、力学性能等进行进一步研究, 也为今后的研究指明了方向。

致谢: 感谢中国科学院长春应用化学研究所高分子物理与化学国家重点实验室给予的指导和帮助。

4 参考文献

- [1] Kim J, Reneker DH. Polybenzimidazole nanofiber produced by electrospinning. *Polym Eng Sci.* 1999;39(5): 849-854.
- [2] Shin YM, Hohman MM, Brenner MP, et al. Electrospinning: A whipping fluid jet generates submicron polymer fibers. *Applied Physics Letters.* 2001;78(8):1149-1151.
- [3] Welle A, Kröger M, Döring M, et al. Electrospun aliphatic polycarbonates as tailored tissue scaffold materials. *Biomaterials.* 2007;28(13):2211-2219.
- [4] Meng S, Rouabhi M, Shi G, et al. Heparin dopant increases the electrical stability, cell adhesion, and growth of conducting polypyrrole/poly(L,L-lactide) composites. *J Biomed Mater Res A.* 2008;87(2):332-344.
- [5] Mert O, Doganci E, Erbil HY, et al. Surface characterization of poly(L-lactic acid)-methoxy poly(ethylene glycol) diblock copolymers by static and dynamic contact angle measurements, FTIR, and ATR-FTIR. *Langmuir.* 2008;24(3):749-757.
- [6] Popp JR, Laffin KE, Love BJ, et al. In vitro evaluation of osteoblastic differentiation on amorphous calcium phosphate-decorated poly(lactic-co-glycolic acid) scaffolds. *J Tissue Eng Regen Med.* 2011;5(10):780-789.

- [7] Endres S, Hiebl B, Hägele J, et al. Angiogenesis and healing with non-shrinking, fast degradable PLGA/CaP scaffolds in critical-sized defects in the rabbit femur with or without osteogenically induced mesenchymal stem cells. Clin Hemorheol Microcirc. 2011;48(1):29-40.
- [8] Hadaschik BA, Paterson RF, Fazli L, et al. Investigation of a novel degradable ureteral stent in a porcine model. J Urol. 2008;180(3):1161-1166.
- [9] Chew BH, Lange D, Paterson RF, et al. Next generation biodegradable ureteral stent in a yucatan pig model. J Urol. 2010;183(2):765-771.
- [10] Elayarajah, Rajendran R, Venkatrajah, et al. Biodegradable tocopherol acetate as a drug carrier to prevent ureteral stent-associated infection. Pak J Biol Sci. 2011;14(5):336-43.
- [11] Lumiaho J, Heino A, Aaltomaa S, et al. A short biodegradable helical spiral ureteric stent provides better antireflux and drainage properties than a double-J stent. Scand J Urol Nephrol. 2011;45(2):129-33.
- [12] Wang CX, Hou YC, Wang Y, et al. Zhonghua Miniao Waiké Zazhi. 2006;27(11):738-741.
王春喜,侯宇川,王勇,等.漏斗形生物降解材料输尿管支架的动物实验研究[J].中华泌尿外科杂志,2006,27(11):738-741.
- [13] Wang CX, Hou YC, Jiang FM, et al. Zhonghua Miniao Waiké Zazhi. 2006, 44(18):1261-1262.
王春喜,侯宇川,姜凤鸣,等.丙交酯乙交酯共聚材料输尿管支架的动物实验研究[J].中华外科杂志,2006,44(18):1261-1262.
- [14] Qian YF, Mo XM, Ke QF, et al. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2007;11(22):4371-4375.
钱永芳,莫秀梅,柯勤飞,等.静电纺纳米纤维用于组织工程支架[J].中国组织工程研究与临床康复[J].2007,11(22):4371-4375.
- [15] Zussman E, Burman M, Yarin AL, et al. Tensile Deformation of electrospun nylon-6,6 nanofibers. Journal of Polymer Science Part B Polymer Physics. 2006; 44:1482-1489.
- [16] Wang XQ, Zhang L, Hou YC, et al. Zhongguo Yike Daxue Xuebao. 2011;40(9):784-786.
王晓庆,张龙,侯宇川,等.电纺丝法PLGA可降解输尿管支架的制备及体外降解研究[J].中国医科大学学报,2011,40(9):784-786.
- [17] Majid MIA, Ismail J, Few LL, et al. The degradation kinetics of poly(3,2-hydroxybutyrate) under nonaqueous and aqueous conditions. Eur Polym J. 2002; 38: 837-839.
- [18] Zhao DM, Wang YX, Yu DS, et al. Composition graded films of fluorapatite P/PHB fabricated via electrospinning for tissue engineering. Journal of Bioactive and Compatible Polymers. 2007; 22(4): 379-393.
- [19] Guo QK, Lv ZQ, Zhang W, et al. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2011,15(34):6368-6374.
郭清奎,吕志前,张玮,等.新型可完全降解材料聚外消旋乳酸-三亚甲基碳酸酯聚合物体内降解行为和生物相容性[J].中国组织工程研究与临床康复,2011,15(34):6368-6374.
- [20] Cai Q, Bei JZ, Wang SG, et al. Gongneng Gaofenzi.
蔡晴,贝建中,王身国,等.乙交酯/丙交酯共聚物的体内降解行为及生物相容性研究[J].功能高分子学报.2000,13(3):249-254.

来自本文课题的更多信息——

基金资助: 国家自然科学基金资助项目(50973043),项目名称: 新型梯度降解高分子材料输尿管支架的研制。

作者贡献: 实验设计为通讯作者,实验实施为第一、二作者,实验评估为第三、四作者,非盲法评估。资料收集为第一作者。第一作者成文,通讯作者审核,通讯作者对文章负责。

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: 没有与相关伦理道德冲突的内容。

本文创新性: 实验表明电纺纳米纤维可降解输尿管支架具有更好的肌肉埋植降解性能,作为一种新型高分子聚合物材料,能够达到可降解输尿管支架降解性能的要求。



ISSN 1673-8225 CN 21-1581/R 2012 年版权归《中国组织工程研究》杂志社所有

SCI 收录的 Journal of Bioactive and Compatible Polymers(《生物活性与相容性聚合物》杂志)介绍

英文刊名: Journal of Bioactive and Compatible Polymers	英文简介: The <i>Journal of Bioactive and Compatible Polymers</i>
中文刊名: 《生物活性与相容性聚合物杂志》	provides biomedical polymer scientists and researchers throughout
ISSN: 0883-9115	the world with current frontier research advances in the field.
2010 年影响因子: 2.610	Coverage includes polymeric scaffolds for tissue engineering and
出版周期: 双月刊	tissue regeneration, polymeric drugs and pro-drug systems, drug
载文量: 39 篇	delivery and targeted delivery systems, biosensors and
出版单位(或出版地): SAGE PUBLICATIONS LTD	stimuli-sensitive biosystems, modeling and modification of enzyme
期刊网址: http://jbc.sagepub.com/	sensitive polymer systems, biorelated polymers with unique
收录数据库:	properties and bioapplications.
Science Citation Index	中文简介: 《生物活性与相容性聚合物杂志》刊载包括聚合药物及其
Science Citation Index Expanded	设计、聚合官能作用与结构、天然聚合物改性、酶的聚合物模型化、
Current Contents - Life Sciences	生物用薄膜、脂质体稳定与细胞模型化等领域内论文。读者对象为生
BIOSIS Previews	物学与聚合物科学家。