

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2013.03.020 [http://www.crter.org]
阚瑞, 盛伟斌.人工合成高分子支架材料治疗脊髓损伤[J].中国组织工程研究, 2013, 17(3): 501-508.

人工合成高分子支架材料治疗脊髓损伤★

阚瑞, 盛伟斌

新疆医科大学第一附属医院脊柱外科, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830054

文章亮点:

- 1 此问题的已知信息: 传统脊髓损伤修复研究着重于干细胞移植, 但是缺乏支架材料, 使移植的细胞不能很好的生长。
- 2 本综述增加的新信息: 动物实验显示组织工程支架材在治疗脊髓损伤中有重要的作用, 但临床上目前尚无开展组织工程支架材料修复脊髓损伤的研究。
- 3 临床应用的意义: 文章总结了近年来组织工程支架材料修复脊髓损伤的发展, 为基础研究和向临床的转化提供了更多参考。

关键词:

生物材料; 生物材料综述; 脊髓损伤; 组织工程; 人工合成高分子材料; 聚乳酸; 聚羟基酸; 聚β-羟丁酸; 合成水凝胶; 聚乙二醇

摘要

背景: 治疗脊髓损伤的人工合成高分子支架材料是目前的研究热点之一。

目的: 综述国内外人工合成高分子支架材料在治疗脊髓损伤方面的研究进展。

方法: 应用计算机检索万方医学、中国知网、PubMed、EBSCO 数据库中 2000 年 1 月至 2012 年 1 月关于人工合成高分子支架材料治疗脊髓损伤方面的文章, 在标题和摘要中以“脊髓损伤, 组织工程, 人工合成高分子材料”或“spinal cord injury, tissue engineering, synthetic polymer material”为检索词进行检索。

结果与结论: 治疗脊髓损伤的人工合成高分子材料很多, 主要有聚乳酸、聚羟基酸、聚β-羟丁酸、合成水凝胶、聚乙二醇及其他人工合成高分子材料。每种材料都有其优缺点, 都无法达到完全的组织相容性和可降解性, 这些支架材料不能完全模仿脊髓的三维多孔立体结构, 移植后这些支架材料的位置相对于脊髓结构来讲是随机的, 并未与脊髓的灰、白质组织学结构吻合, 更没有和白质中主要纤维相对应, 所以均未应用于临床。人工合成高分子支架材料在治疗脊髓损伤方面需要进一步研究。

Synthetic polymer scaffolds for spinal cord injury

Kan Rui, Sheng Wei-bin

Department of Spinal Surgery, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Abstract

BACKGROUND: Synthetic polymer scaffolds for treatment of spinal cord injury are currently a focus of research.

OBJECTIVE: To summarize domestic and foreign researches on synthetic polymer scaffolds for the treatment of spinal cord injury.

METHODS: Articles on synthetic polymer scaffolds for treatment of spinal cord injury were searched on WanfangMed, CNKI, PubMed and EBSCO databases from 2000-01 to 2012-01, using “spinal cord injury, tissue engineering, synthetic polymer material” appearing in title/abstract as key words.

RESULTS AND CONCLUSION: Many kinds of synthetic polymer materials are developed for the treatment

阚瑞★, 男, 1984 年生, 陕西省蓝田人, 回族, 在读硕士, 医师, 主要从事脊柱脊髓损伤研究。
kan-rui@126.com

通讯作者: 盛伟斌, 博士, 教授, 主任医师, 博士生导师, 新疆医科大学第一附属医院脊柱外科, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830054
wbsheng@vip.sina.com

中图分类号:R318

文献标识码:B

文章编号:2095-4344
(2013)03-00501-08

收稿日期: 2012-07-19

修回日期: 2012-08-12

(20120614012/GW·W)

Kan Rui★, Studying for master's degree, Physician, Department of Spinal Surgery, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
kan-rui@126.com

Corresponding author: Sheng Wei-bin, Doctor, Professor, Chief physician, Doctoral supervisor, Department of Spinal Surgery, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
wbsheng@vip.sina.com

Received: 2012-07-19
Accepted: 2012-08-12

of spinal cord injury, including polylactic acid, polyglycolic acid, poly-β hydroxybutyric acid, synthetic hydrogel, and polyethylene glycol. Each material has its pros and cons, but none has complete tissue compatibility and biodegradability. These materials cannot completely mimic the three-dimensional porous structure of the spinal cord. After implantation, the materials are located freely to the spinal cord, which cannot be anatomized with the gray and white matters of the spinal cord, and fatherly cannot correspond to the main fibers in the white matter. Therefore, these materials have not been implemented in clinical trial. Further study on synthetic polymer scaffolds for the treatment of spinal cord injury is required.

Key Words: biomaterials; biomaterial review; spinal cord injuries; tissue engineering; synthetic polymer materials; polylactic acid; polyglycolic acid; poly-beta-hydroxybutyric acid; synthetic hydrogel; polyethylene glycol

Kan R, Sheng WB. Synthetic polymer scaffolds for spinal cord injury. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2013;17(3): 501-508.

0 引言

脊髓损伤导致损伤平面以下感觉、运动及植物神经功能障碍, 是继心脑血管病、肿瘤之后严重威胁人类健康的重大疾病, 脊髓损伤后的再生修复一直是临床医生面临的难题。近年来随着医学和组织工程学的发展, 许多新方法、新策略已开始运用于脊髓损伤修复, 尤其是神经组织工程学。组织工程支架在脊髓损伤早期可有效减轻脊髓损伤, 抑制损伤局部炎症反应和胶质瘢痕形成, 改善脊髓修复的微环境^[1]。

在脊髓损伤区域植入支架可诱导内源性神经干细胞再生, 也可作为损伤部位干细胞植入后生长的支持基质, 诱导细胞迁移、增殖、分化, 同时隔离或减少局部胶质瘢痕侵入, 促进和导向轴突再生并穿越移植区域, 与靶组织重新建立突触联系, 可很好促进脊髓修复。将生物支架作为药物载体可使药物的释放更持久, 更接近生理状态, 有利于脊髓长期的营养及功能恢复^[2]。组织工程技术在周围神经修复领域已取得成功^[3], 对于脊髓中枢神经的相关研究也有突破。最新的组织工程技术已可不用任何外源性种子细胞, 仅靠自身损伤处具有再生能力的细胞在适合的生物支架上生长, 最终修复组织。这种方法解决了排异性问题, 但对材料本身的性质要求也明显提高。然而, 由于神经组织在人体内再生能力很差, 目前还未找到一种依靠内源性神经干细胞即能完全修复受损脊髓的生物支架。但生物支架对脊髓修复的作用已被国内外许多专家认可^[4]。神经组织工程技术的核心是支架材料和种子细胞, 支架材料主要有天然支架材料、人工合成高分子支架材料和其他支架材料, 目前研究的热点集中于人工合成高分子支架材料, 作者就人工合成高分子支架材料在治疗脊髓损伤中的研究进展做一综述。

1 资料和方法

1.1 资料来源 由第一作者应用计算机检索万方数据库、中国知网数据库、PubMed 数据库、EBSCO 数据库相关文献。检索时间范围: 2000 年 1 月至 2012 年 1 月。中文检索词为“脊髓损伤, 组织工程, 人工合成高分子材料”; 英文检索词为“spinal cord injury, tissue engineering, synthetic polymer material”。共检索到文献 467 篇。

1.2 入选标准

纳入标准: ①具有原创性, 论点论据可靠的文章。②针对性强, 相关度高的文献。③对同一领域的文献选择近期发表或权威杂志的文献。

排除标准: 较陈旧的理论观点以及一些重复性研究。

1.3 数据提取 文献筛选和质量评价由 3 位作者独立进行并交叉核对, 如有分歧, 则通过讨论或由第 1 作者协助解决。初检得到 467 篇文献, 其中英文文献 312 篇, 中文文

献 155 篇。阅读标题和摘要进行初筛, 排除与研究目的不符和重复性文章, 查阅全文, 判断与纳入标准一致的文章, 最后选择 35 篇符合标准的文献。

1.4 质量评价 符合纳入标准的 35 篇文献中, 文献[1-11]探讨了支架材料在脊髓损伤中的研究现状, 文献[12-15]探讨了支架材料的要求, 文献[16-35]探讨了各支架材料的研究进展。

2 结果

2.1 支架材料在脊髓损伤中的研究现状 目前的支架材料主要有以下几类: 天然支架材料、人工合成高分子支架材料和其他支架材料。天然支架材料主要有壳聚糖、纤维蛋白、葡聚糖、胶原、凝胶等^[5]。Cheng 等^[6]设计的多孔壳聚糖支架用于治疗大鼠脊髓损伤, 观察到该支架能使大鼠脊髓功能部分恢复。也有学者证实壳聚糖-藻酸盐支架, 具有潜在的应用前景^[7]。Alexander 等^[8]证明纤维蛋白支架材料可促进脊髓损伤恢复, 从鲑鱼体内提取的纤维蛋白可促进神经元的再生。除此之外, 透明质酸、胶原和基质明胶等也可促进脊髓损伤的修复^[9-11]。虽然这些天然的支架材料均可促进脊髓损伤的恢复, 但是他们的生物力学特性和正常脊髓组织有着非常大的差别, 因而这些天然高分子材料不能作为理想的脊髓支架材料。

文章选取的支架材料在脊髓损伤中应用的相关研究:

作者	发表时间	发表杂志
Jain A, et al	2006 年	<i>Biomaterials</i>
Cheng H, et al	2007 年	<i>Biochem Biophys Res Commun</i>
汪大彬, 等	2010 年	中国修复重建外科杂志
Alexander H, et al	2007 年	<i>Exp Toxicol Pathol</i>
Gupta D, et al	2006 年	<i>Biomaterials</i>
Lannotti C, et al	2003 年	<i>Exp Neurol</i>
Harley BA, et al	2007 年	<i>Acta Biomaterialia</i>

2.2 支架材料的要求 脊髓损伤后会导致损伤区域的细胞和组织丢失, 损伤后的神经保护策略并不能阻止其病变发展。目前认为组织工程支架可以模拟细胞外基质的生理状态, 促进细胞的黏附、迁移、扩增和分化^[12]。因此理想的支架材料应达到以下要求^[13]: ①具有良好的生物相容性: 有免疫保护作用或无免疫排斥作用, 不会引起炎症反应等。②良好的降解性: 植入后能适时降解, 并与组织细胞相适应。③良好的细胞接触面: 为种子细胞提供生长的框架和附着点。

④能引导细胞的迁移、增值、分化、表型和凋亡。⑤能防止胶质瘢痕的形成。⑥具有高空隙率: 将有利于细胞的植入和植入。⑦高通透性: 将有利于营养物质和神经营养因子通透。⑧可塑性和强度: 在体外便于塑形, 植入后能保持一定时间。

文章选取的有关脊髓损伤对支架要求的研究:

作者	发表时间	文题	发表杂志
Liang D, et al	2007 年	Functional electrospun nanofibrous scaffolds for biomedical applications	<i>Adv Drug Delivery Rev</i>
Madigan NN, et al	2009 年	Current tissue engineering and novel therapeutic approaches to anonal regeneration following spinal cord injury using polymer scaffolds	<i>Respi Physiol Neurobiol</i>

2.3 人工合成高分子支架材料的研究现状 脊髓损伤后神经轴突有一定的再生潜能, 这对脊髓损伤的治疗奠定了理论基础, 但损伤区域细胞、组织的破坏等一系列因素使胶质瘢痕形成和发展, 其微环境不利于轴突再生修复, 使脊髓功能的恢复变得异常困难。目前支架材料在治疗脊髓损伤中的应用主要是通过种子细胞与支架材料构成细胞-支架复合体来治疗脊髓损伤, 在人体组织中细胞指导细胞外基质的合成, 细胞外基质又可促进细胞的迁移、增殖、分化、表型和凋亡, 二者相互作用、相互影响, 细胞外基质又防止胶质瘢痕的形成, 因而支架的构建是治疗脊髓的关键。因为天然高分子支架材料的生物力学特性和正常脊髓组织有着非常大的差别, 因此, 目前的科研工作者集中研究人工合成高分子支架材料。

2.3.1 人工合成聚乳酸 聚乳酸是乳酸的聚合物, 是可再生资源, 植入体内后其代谢具有无毒行, 因而在临床大量应用^[14]。聚乳酸具有很多优点: 生物相容性和组织降解性很好; 具有良好地机械性能; 可作为细胞基质使用。有学者证实聚乳酸在脊髓内也具有较好的生物相容性。Oudega 等^[15]通过实验证明聚乳酸和许旺细胞联合移植可显著改善大鼠后肢功能, 促进轴突的再生。Patist 等^[16]将大孔聚乳酸支架联合细胞移植到受损脊髓中, 观察到其与脊髓神经组织具有更好的生物相容性, 并观察到大孔支架有提高种子细胞的存活率。Hurtado 等^[17]将聚乳酸支架联合细胞移植,

同样观察到大鼠全切模型后肢运动功能的改善。无论是单独聚乳酸移植, 还是联合细胞移植, 聚乳酸作为支架材料仍没有根本解决脊髓损伤后的修复问题。

2.3.2 聚羧基酸 聚羧基酸是人工合成的另一种高分子可降解的聚合物, 主要通过控制聚合物的分子量及其组成成分调控它们的生物力学特性和降解速率。目前以聚羧基乙酸和聚乳酸-羧基乙酸共聚物作为人工合成的支架材料。其优点是: 人工合成; 变异性低, 可体内降解; 机械和物理性能可控制, 重复性

好; 材料制备纯度高。Olson 等^[18]将神经干细胞和雪旺细胞作为种子细胞种植于聚乳酸-羧基乙酸共聚物支架上, 然后移植于脊髓横断的小鼠, 发现种子细胞存活并有促进轴突再生的作用。也有学者通过改变支架张力提高支架材料对神经再生的作用。Nisbe 等^[19]通过氢氧化钾部分水解聚羧基乙酸和聚乳酸-羧基乙酸共聚物支架, 以改变其表面张力, 发现当两种支架的表面张力为 0.40-0.47 mN/cm 时, 神经轴突再生延伸最显著, 这提示接触诱导在引导轴突再生方面起重要作用。

文章选择的人工合成高分子支架材料在脊髓损伤中应用的相关研究:

作者	发表时间	文题	发表杂志
Onose G, <i>et al</i>	2008 年	Recent advancements in biomaterials for spinal cord injury complex therapeutics	<i>Digest J Nanomater Biostruct</i>
Oudega M, <i>et al</i>	2001 年	Axonal regeneration into Schwann cell grafts within resorbable poly(-alpha-hydroxyacid) guidance channels in the adult rat spinal cord	<i>Biomaterials</i>
Patist CM, <i>et al</i>	2004 年	Freeze-dried poly(D,L-lactic acid) macroporous guidance scaffolds impregnated with brain-derived neurotrophic factor in the transected adult rat thoracic spinal cord	<i>Biomaterials</i>
Hurtado A, <i>et al</i>	2006 年	Poly(D,L-lactic acid) macroporous guidance scaffolds seeded with Schwann cells genetically modified to secrete a bi-functional neurotrophin implanted in the completely transected adult rat thoracic spinal cord	<i>Biomaterials</i>
Olsen HE, <i>et al</i>	2009 年	Neural stem cell and Schwann cell loaded biodegradable polymer scaffolds support axonal regeneration in the transected spinal cord	<i>Tissue Eng</i>
Nisbet DR, <i>et al</i>	2007 年	Interaction of embryonic cortical neurons on nanofibrous scaffolds for neural tissue engineering	<i>J Neural Eng</i>
Ljungberg C, <i>et al</i>	1999 年	Neuronal survival using a resorbable synthetic conduit as an alternative to primary nerve repair	<i>Microsurgery</i>
Novikov LN, <i>et al</i>	2002 年	A novel biodegradable implant for neuronal rescue and regeneration after spinal cord injury	<i>Biomaterials</i>
Bakshi A, <i>et al</i>	2004 年	Mechanically engineered hydrogel scaffolds for axonal growth and angiogenesis after transplantation in spinal cord injury	<i>J Neurosurg Spine</i>
Hejcl A, <i>et al</i>	2008 年	Acute and delayed implantation of positively charged 2-hydroxyethyl methacrylate scaffolds in spinal cord injury in the rat	<i>J Neurosurg Spine</i>
Woerly S, <i>et al</i>	2004 年	Prevention of gliotic scar formation by NeuroGel allows partial endogenous repair of transected cat spinal cord	<i>J Neurosci Res</i>
Luo J, <i>et al</i>	2002 年	Polyethylene glycol immediately repairs neuronal membranes and inhibits free radical production after acute spinal cord injury	<i>J Neurochem</i>
Luo J, <i>et al</i>	2004 年	Diffusible oxidative stress following acute spinal cord injury in guinea pigs and its inhibition by polyethylene glycol	<i>Neurosci Lett</i>
Shi R, <i>et al</i>	1999 年	Functional reconnection of severed mammalian spinal cord axons with polyethylene glycol	<i>J Neurotrauma</i>
Luo J, <i>et al</i>	2007 年	Polyethylene glycol inhibits apoptotic cell death following traumatic spinal cord injury	<i>Brain Res</i>
Comolli N, <i>et al</i>	2009 年	In vitro analysis of PNIPAAm-PEG: a novel injectable scaffold for spinal cord repair	<i>Acta Biomater</i>
刘宁, 等	2011 年	神经干细胞-多肽自组装凝胶复合体移植治疗脊髓损伤	中华实验外科杂志
侯天勇, 等	2006 年	RAD16- II 的物理特性及其在神经干细胞假体构建中的应用	中国脊柱脊髓杂志
董运海, 等	2009 年	再生丝素蛋白纳米纤维网支持和引导神经胶质细胞的生长与迁移	中国生物医学工程学报
Shen Y, <i>et al</i>	2010 年	Guidance of olfactory ensheathing cell growth and migration on electrospun silk fibroin scaffolds	<i>Cell Transplant</i>
Edwards SL, <i>et al</i>	2004 年	Design of nonwoven scaffold structures for tissue engineering of the anterior cruciate ligament	<i>AUTEX Res J</i>

2.3.3 聚 β -羟丁酸 聚 β -羟丁酸是新近人工合成的高分子支架材料, 不仅具有生物相容性和在体内可降解性, 并且在植入体内后通过体温的影响缓慢降解, 其代谢产物无毒性, 通过尿液代谢。聚 β -羟丁酸是最早用于周围神经损伤的支架材料^[20], 取得了较好的疗效。

Novikova 等^[21]将聚 β -羟丁酸纤维制成可降解微导管, 并使其在 2 个垂直平面平行排列, 形成片状结构, 以此构建中枢神经支架; 随后将藻酸盐水凝胶、纤连蛋白联合有许旺细胞的聚 β -羟丁酸支架移植到损伤脊髓处, 与对照组相比较胶质瘢痕形成减少, 瘢痕空洞也减少。

2.3.4 合成水凝胶 合成水凝胶主要有聚甲基丙烯酸 β -羟丙酯水凝胶、聚羟乙基丙烯酸甲酯和聚羟乙基丙烯酸甲酯-甲基丙烯酸甲酯共聚物, 其特点为: 亲水性的高分子材料聚合交联形成, 含水量高、表面积大; 在体内无毒性, 属于惰性高分子聚合物; 体内不降解性, 可以为细胞提供粘附及轴突生长的三维支架结构。合成水凝胶具有的网络结构和低表面张力, 能够携带小分子物质(如各种细胞生长因子), 并能制成与脊髓同样力学性能的支架, 植入损伤脊髓后生物相容性好, 并能促进脊髓轴突再生长入支架内部^[22]。

Hejcl 等^[23]通过实验发现, 脊髓损伤后 1 周移植聚羟乙基丙烯酸甲酯支架, 能够减少脊髓囊腔的形成, 促进再生轴突生长。聚甲基丙烯酸 β -羟丙酯和聚羟乙基丙烯酸甲酯都能够抑制脊髓损伤后胶质瘢痕的形成, 提供脊髓轴突再生及髓鞘化的适宜微环境^[24]。这种材料的优点是可以改变其物理和化学特性以适应脊髓修复的需要。

2.3.5 聚乙二醇 聚乙二醇是水溶性的聚合物, 其特点为抑制自由基的产生, 有阻止脂质过氧化反应的作用。将其移植于损伤脊髓区域, 发现其有逆转因损伤引起的细胞膜通透性增加的作用^[25-26]。Shi 等^[27]将聚乙二醇植入猪完全横断的脊髓损伤区域, 发现其能够重建脊髓解剖结构的连续性, 促进脊髓功能恢复。Luo 等^[28]报道聚乙二醇能够显著降低细胞凋亡蛋白酶 3 的活性, 减少细胞程序性死亡, 聚乙二醇与线粒体相互作用能提高线粒体的功能, 减少细胞凋亡因子细胞

色素 C 的释放, 认为聚乙二醇是通过与线粒体相互作用抑制细胞程序性死亡, 聚乙二醇主要通过修复损伤的细胞膜, 减少细胞死亡和保护线粒体功能抑制细胞凋亡, 在脊髓损伤再生修复方面起到十分重要的作用。

2.3.6 其他新型合成支架材料 除上述人工合成的高分子支架材料外, 也学者通过体外实验制备了可注射支架材料-异丙基丙烯酸-乙二醇共聚物, 这种支架材料能够持续 4 周左右释放神经营养因子, 其力学性能与正常脊髓组织相适应, 并与骨髓间充质干细胞有良好的相容性, 是可以用于脊髓损伤修复的理想支架材料^[29]。

刘宁等^[30]构建的异亮氨酸-赖氨酸-缬氨酸-丙氨酸-缬氨酸支架材料与神经干细胞联合移植治疗脊髓损伤, 观察到此种支架材料不仅促进了神经干细胞向神经元分化, 而且促进脊髓损伤的恢复。侯天勇等^[31]构建的精氨酸-丙氨酸-天门冬氨酸按照 can-RARADADARARADA-DA-CNH2 顺序组成的 16 个氨基酸短肽联合骨髓间充质干细胞治疗脊髓损伤, 发现此支架材料能够提高神经干细胞的迁移、增殖和分化, 认为此种支架材料在脊髓损伤的修复中可能具有潜在的应用前景。也有学者研究了神经胶质细胞在丝素蛋白纳米纤维网上的生长与迁移, 结果表明纳米级纤维状丝素材料可很好地支持星形胶质细胞的黏附、生长、增殖及迁移^[32]。

Shen 等^[33]研究了丝素蛋白纳米纤维对嗅鞘细胞生长及迁移引导的作用, 结果表明丝素蛋白纳米纤维与组织工程支架材料在脊髓损伤修复中的应用具有良好的生物相容性, 对嗅鞘细胞生长迁移起重要的支持引导作用, 同时对细胞神经营养因子基因和蛋白的表达没有任何不良影响。因此, 可以展望, 丝素蛋白纳米纤维有望成为修复脊髓损伤的理想组织工程支架材料, 而联合细胞移植更是有待于深入研究^[34]。

2.4 万方医学网近年有关人工高分子材料修复脊髓损伤的相关学位论文 邓许勇探讨了脐血间充质干细胞体外分离、纯化、扩增的方法与条件。以及向神经细胞定向诱导分化的可行性, 为脐血干细胞移植治疗脊髓损伤提供理论依据; 探讨了氯化锂体外诱导人脐血间

充质干细胞向神经细胞分化的可行性; 制备脊髓去细胞支架, 观测脊髓内基质骨架的结构特点; 探索了氯化锂联合脐血干细胞及脊髓去细胞支架移植对大鼠脊髓全横断损伤的效果及其机制。

王璐应用改良 Allen 法制造大鼠急性脊髓损伤模型, 体外培养神经干细胞并观察氯化锂对其增殖分化的影响, 并将神经干细胞与氯化锂二者结合起来对急性脊髓损伤进行联合干预, 观察神经干细胞移植与氯化锂联合干预对于脊髓损伤的修复效果, 并探讨其作用机制, 为临床进一步应用提供理论依据。

闫慧博拟应用 GDNF 基因修饰嗅鞘细胞移植和微泵局部定点持续给予轴突生长抑制蛋白抗体 IN-1

来修复脊髓损伤, 观察该方法对脊髓损伤后神经再生和脊髓修复的影响, 并探讨其促进脊髓修复的可能作用机制。

蒲渝拟体外构建天然支架材料胶原并对其进行交流改性, 并通过支架材料的性能测试和生物相容性研究与人工合成材料聚乙醇酸, 聚乳酸-乙醇酸进行比较。然后选择脊髓源性神经干细胞作为种子细胞接种在筛选出来的支架材料上, 再以胚胎脊髓悬浮液提供神经干细胞生长分化所需的细胞因子和细胞外基质, 以期构建组织工程化脊髓用于移植修复成年大鼠脊髓损伤。

结果见表 1。

表 1 万方医学网收录近年有关支架材料修复脊髓损伤的博士论文

作者	发表时间	文题	实验结论	发表单位
邓许勇	2010 年	氯化锂联合脐血干细胞及脊髓去细胞支架移植修复大鼠脊髓损伤的实验研究	脐血间充质干细胞经碱性成纤维细胞生长因子体外诱导可以向神经元样细胞分化, 并部分表达神经元特异性标志 MAP-2; 氯化锂体外可诱导人脐血间充质干细胞分化为神经元样细胞, 结合生长因子碱性成纤维细胞生长因子预诱导可大大提高其诱导效果; 采用化学萃取方法可以成功制备大鼠脊髓去细胞支架; 脊髓去细胞支架保存有天然的脊髓内基质纤维骨架, 可有效的引导神经细胞和神经纤维定向生长和迁移; 氯化锂能促进人脐血间充质干细胞在损伤区的存活并向神经细胞分化, 脊髓去细胞支架内天然的脊髓基质骨架能为脊髓两侧残端基质提供良好对接, 阻止外源性瘢痕长入, 引导神经细胞和神经轴突定向生长和迁移, 氯化锂联合脐血干细胞与脊髓去细胞支架移植能够促进细胞移植修复大鼠脊髓损伤的效果	南方医科大学; 骨外科学(博士)
王璐	2009 年	神经干细胞移植联合氯化锂对急性脊髓损伤后神经功能恢复的影响	应用改良 Allen 法制作大鼠脊髓损伤模型具有操作简捷、损伤程度统一, 临床模拟程度较高的特点。应用机械分离乳鼠大脑海马的体外培养方法可以得到纯度较高的神经干细胞; 氯化锂可以促进神经干细胞增殖与分化; 在体移植神经干细胞联合氯化锂修复脊髓损伤, 可以保护残存的神经元, 促进皮质脊髓束神经轴突再生, 引导再生轴突通过损伤区, 部分改善后肢运动功能	南方医科大学; 骨外科学(博士)
闫慧博	2008 年	GDNF 基因修饰嗅鞘细胞移植联合 IN-1 抗体修复急性脊髓损伤	嗅鞘细胞可以有有效的诱导神经干细胞向神经元方向分化; 脊髓横断大鼠的自发性后肢运动功能恢复可达到并维持在 BBB 评分 8 分的水平, 大鼠术后死亡率及自发性后肢运动功能恢复 BBB 得分与性别无关, 因术后护理上雌性大鼠优于雄性大鼠, 故建议应用雌性大鼠构建脊髓全横断模型; 携带有 GDNF 基因的慢病毒载体在体外可以有效地感染嗅鞘细胞, 感染的嗅鞘细胞能够长期稳定表达 GDNF; 在体移植 GDNF 修饰嗅鞘细胞联合轴突生长抑制蛋白抗体 IN-1 修复脊髓损伤, 可以保护残存的神经元, 促进皮质脊髓束神经轴突再生, 引导再生轴突通过损伤区, 能部分改善后肢运动功能	南方医科大学; 骨外科学(博士)
蒲渝	2007 年	改性胶原支架组织工程化脊髓修复成年鼠脊髓损伤的实验研究	胚胎脊髓提取液支持神经干细胞成活并有效的诱导其分化为神经元、星形胶质细胞和少突胶质细胞; 采用 EDC 交联制备的胶原海绵保持了胶原固有的良好的生物相容性, 同时在细胞培养基中塌陷不明显, 仍保持其形状和多孔性, 体外试验表明改性胶原降解速度显著减慢, 有利于作为脊髓组织工程中的支架材料; 以改性胶原为支架材料, 神经干细胞为种子细胞, 并以胚胎脊髓提取液提供细胞因子和细胞外基质所构建的组织工程化脊髓, 在体外可进一步成熟并分化, 其内包含有神经元, 星形胶质细胞和少突胶质细胞等成分, 有独特的组织结构; 以改性胶原为支架的组织工程化脊髓移植至成年鼠体内后, 其种子细胞存活并进一步分化, 形成功能相活跃的神经元, 分化的胶质细胞形成了较为规则的网状结构。改性胶原为支架的组织工程化脊髓对成年鼠损伤脊髓的结构重建和功能恢复都有一定的作用	第三军医大学; 外科学(骨外)(博士)

2.5 CNKI 中国知网近年有关人工高分子材料修复脊髓损伤的相关学位论文 见表 2。

表 2 CNKI 中国知网近年有关支架材料修复脊髓损伤的相关学位论文

作者	发表时间	文题	发表单位
闫铭	2011 年	大剂量维生素 C 对急性脊髓损伤轴索的保护及组织工程技术引导其再生的研究	第四军医大学
唐国强	2011 年	序胶原支架联合胶原靶向神经营养因子-3 应用于脊髓损伤修复的可行性研究	南方医科大学
郭树章	2009 年	大鼠脱细胞脊髓支架制备及相关性能的实验研究	第三军医大学
薛辉	2010 年	羊膜上皮细胞与化学去细胞肌肉支架联合移植治疗大鼠脊髓损伤的研究	吉林大学
谢青松	2007 年	组织工程脊髓研制和应用的实验研究	南京医科大学
张秀英	2012 年	NDGA 与去细胞肌肉支架及 AECs 联合治疗大鼠脊髓损伤的研究	吉林大学
邹枕玮	2011 年	功能化自组装多肽神经支架材料 FGL-NS 的构建和修复大鼠脊髓损伤的研究	华中科技大学
余黎明	2010 年	BMSCs 移植联合应用 IN-1 抗体修复大鼠急性脊髓损伤的实验研究	中南大学
谢亮	2012 年	丝素蛋白多孔支架在大鼠脊髓血管化的实验研究	苏州大学
汪大彬	2010 年	壳聚糖—藻酸盐支架复合 BMSCs 修复脊髓损伤的实验研究	兰州大学
王新宏	2012 年	丝素蛋白支架对大鼠脊髓损伤后胶质瘢痕形成和功能改善的影响	苏州大学
王树森	2004 年	新型神经组织工程材料的制备及其在周围神经和脊髓损伤修复中的应用	第四军医大学
殷迪	2008 年	人羊膜上皮细胞与肌基膜管支架相容性的实验研究	吉林大学
张振兴	2010 年	功能化自组装多肽水凝胶与神经干细胞生物相容性研究	华中科技大学
林海淋	2010 年	GFP 基因修饰的大鼠骨髓间充质干细胞复合 PLGA 的形态学观察	福建医科大学
吴鹏	2011 年	丝素蛋白纳米纤维直径对嗅鞘细胞生长和迁移影响的研究	苏州大学

也是未来治疗脊髓的趋势。

3 讨论

综上所述,单从组织工程脊髓支架材料而言,无论是天然支架材料、人工合成高分子支架材料还是新近的研究的新型支架材料,都存在着弊端。第一,这些支架材料无法达到完全的组织相容性和可降解性;第二,这些支架材料不能完全模仿脊髓的三维多孔立体结构;第三,移植后的这些支架材料的位置相对于脊髓的结构来讲是随机的,并未与脊髓的灰、白质组织学结构吻合,更没有和白质中主要纤维相对应。因此在移植后的这些支架材料中,位于脊髓周边白质内分区分布的上下行纤维束即使再生,也只能在不匹配的甚至是错位的管道或微孔中生长,造成再生神经纤维无法规则地在相应区域部位生长和延伸,而只能无序生长,最终导致上下行再生纤维互相缠绕成团影响其他纤维的延伸或神经元的迁移,使修复效果大打折扣。

尽管,支架材料在治疗脊髓损伤中有诸多困难,但有学者通过同种异体天然脱细胞基质作为脊髓组织的修复材料,即通过反复冷冻、化学处理、机械振荡、酶消化等方法处理同种异体脊髓组织,部分或全部脱去脊髓中的细胞成分,尽可能保留细胞外基质,并去除抗原性,增加强度等处理,从而构建生物支架,这种支架具有良好的生物相容性和组织降解性,可能成为理想的支架材料^[35],同时支架联合种子细胞移植

作者贡献: 第一作者和通讯作者构思并设计本综述,分析并解析数据,所有作者共同起草,经通讯作者审校,第一作者对本文负责。

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。

伦理要求: 无涉及伦理冲突的内容。

作者声明: 文章为原创作品,数据准确,内容不涉及泄密,无一稿两投,无抄袭,无内容剽窃,无作者署名争议,无与他人课题以及专利技术的争执,内容真实,文责自负。

4 参考文献

- [1] Jurga M,Dainiak MB, Sarnowska A, et al. The performmnce of laminincontaining cryogel scaffolds in neural tissue regeneration. *Biomaterials*. 2011; 32(13): 3423-3434.
- [2] Wllerth SM,Saldy-Ebert SE.Appmaches to neural tissue engineering using scaffolds for drug delivery. *Adv Drug Delive*.2007;59(4-5):325-338.
- [3] Meek MF,Coert JH.Clinical use of nerve conduits in peripheral-nerve repair:review of the literature. *J Reconstr Microsurg*.2002;18(2)97-109.
- [4] Straley KS,Foo CW,Heilshom SC.Biomaterial design strategies for the treatment of spinal cord injuries. *J Neurotrauma*.2010;27(1):1-19.
- [5] Jain A,Kim YT,McKeon RJ,et al.In situ gelling hydrogels for conformal repair of spinal cord defects and local delivery of BDNF after spinal cord injury. *Biomaterials*.2006; 27(3):497-504.

- [6] Cheng H,Huang YC,Chang PT,et al.Laminin-incorporated nerve conduits made by plasma treatment for repairing spinal cord injury. *Biochem Biophys Res Commun*.2007;357(4): 938-944.
- [7] 汪大彬,文益民,蓝旭,等. 壳聚糖-藻酸盐支架复合BMSCs修复急性脊髓损伤的实验研究[J].*中国修复重建外科杂志*,2010, 24(2):190-196.
- [8] Alexander H,Puchner P,Froetscher W,et al.The long-term neurocompatibility of human fibrin sealant and equine collagen as biomatrices in experimental spinal cord injury.*Exp Toxicol Pathol*.2007;58(4):237-245.
- [9] Gupta D,Tator CH,Shoichet MS. Fast-gelling injectable blend of hyaluronan and methylcellulose for intrathecal, localized delivery to the injured spinal cord.*Biomaterials*.2006; 27(11): 2370-2379.
- [10] Lannotti C,Li H,Yan P,et al.Glial cell line derived neurotrophic factor enriched bridging ransplants promote propriospinal anonal regeneration and enhance myelination after spinal cord injury. *Exp Neurol*.2003;183(2):397-393.
- [11] Harley BA,Leung JH,Silva EC,et al.Mechanical characterization of collagen glycosaminoglycan scaffolds. *Acta Biomaterialia*.2007;4(3):463-474.
- [12] Liang D,Hsiao BS,Chu B. Functional electrospun nanofibrous scaffolds for biomedical applications.*Adv Drug Delivery Rev*.2007;59(14):1392-1412.
- [13] Madigan NN,McMahon S,O'Brien T,et al. Current tissue engineering and novel therapeutic approaches to anonal regeneration following spinal cord injury using polymer scaffolds. *Resp Physiol Neurobiol*.2009;169(2):183-199.
- [14] Onose G,Ciureaa AV,Rizeaa RE,et al. Recent advancements in biomaterials for spinal cord injury complex therapeutics. *Digest J Nanomater Biostruct*. 2008;2(4): 307-314.
- [15] Oudega M,Gautier SE,Chapon P,et al.Axonal regeneration into Schwann cell grafts within resorbable poly-(alpha-hydroxyacid) guidance channels in the adult rat spinal cord. *Biomaterials*.2001;22(10):1125-1136.
- [16] Patist CM,Mulder MB,Gautier SE,et al.Freeze-dried poly(D,L-lactic acid) macroporous guidance scaffolds impregnated with brain-derived neurotrophic factor in the transected adult rat thoracic spinal cord.*Biomaterials*. 2004;25(9):1569-1582.
- [17] Hurtado A,Moon LD,Maquet V,et al.Poly(D,L-lactic acid) macroporous guidance scaffolds seeded with Schwann cells genetically modified to secrete a bi-functional neurotrophin implanted in the completely transected adult rat thoracic spinal cord.*Biomaterials*.2006;27(3):430-442.
- [18] Olsen HE,Rooney GE,Gross L,et al.Neural stem cell and Schwann cell loaded biodegradable polymer scaffolds support anonal regeneration in the transected spinal cord. *Tissue Eng*.2009;15(7):1797-1805.
- [19] Nisbet DR,Pattanawong S,Ritchie NE,et al.Interaction of embryonic cortical neurons on nanofibrous scaffolds for neural tissue engineering. *J Neural Eng*.2007;4(2):35-41.
- [20] Ljungberg C,Johansson-Ruden G,Bostrom KJ,et al.Neuronal survival using a resorbable synthetic conduit as an alternative to primary nerve repair. *Microsurgery*.1999;19(6):259-264.
- [21] Novikov LN,Novicova LN,Mosahebi A,et al.A novel biodegradable implant for neuronal rescue and regeneration after spinal cord injury. *Biomaterials*.2002; 23(16):3369-3376.
- [22] Bakshi A,Fisher O,Dagci T,et al.Mechanically engineered hydrogel scaffolds for axonsl growth and angiogenesis after transplantation in spinal cord injury.*J Neurosurg Spine*.2004; 1(3):32-329.
- [23] Hejcl A,Urdzikova L,Sedy J,et al.Acute and delayed implantation of positively charged 2-hydroxyethyl methacrylate scaffolds in spinal cord injury in the rat.*J Neurosurg Spine*.2008;8(1):67-73.
- [24] Woerly S,Doan VD,Sosa N,et al.Prevention of gliotic scar formation by NeuroGel allows partial endogenous repair of transected cat spinal cord. *J Neurosci Res*.2004; 75(2): 262-272.
- [25] Luo J,Borgens R,Shi R.Polyethylene glycol immediately repairs neuronal membranes and inhibits free radical production after acute spinal cord injury. *J Neurochem*.2002; 83(2):471-480.
- [26] Luo J,Shi R. Diffusire oxidative stress following acute spinal cord injury in guinea pigs and its inhibition by polyethylene glycol.*Neurosci Lett*.2004;359(3):167-170.
- [27] Shi R,Borgens RB,Blight AR.Functional reconnection of severed mammalian spinal cord axons with polyethylene glycol. *J Neurotrauma*. 1999;16(8):727-738.
- [28] Luo J,Shi R.Polyethylene glycol inhibits apoptotic cell death following traumatic spinal cord injury. *Brain Res*.2007; 1155:10-16.
- [29] Comolli N,Neuhuber B,Fischer I,et al.In vitro analysis of PNIPAAm-PEG: a novel injectable scaffold for spinal cord repair.*Acta Biomater*.2009;5(4):1046-1055.
- [30] 刘宁,郭海龙,盛伟斌,等. 神经干细胞-多肽自组装凝胶复合体移植治疗脊髓损伤[J].*中华实验外科杂志*,2011,28(11):1961-1963.
- [31] 侯天勇,伍亚民,龙在云,等.RAD16-II的物理特性及其在神经干细胞假体构建中的应用[J].*中国脊柱脊髓杂志*,2006,16(10): 781-784.
- [32] 董运海,张峰,左宝齐,等.再生丝素蛋白纳米纤维网支持和引导神经胶质细胞的生长与迁移[J].*中国生物医学工程学报*,2009, 28(1) : 96-102.
- [33] Shen Y,Qian Y,Zhang HX.Guidance of olfactory ensheathing cell growth and migration on electrospun silk fibroin scaffolds.*Cell Transplant*.2010;19(2):147-157.
- [34] Edwards SL,Mitchell W,Matthews JB,et al.Design of nonwoven scaffold structures for tissue engineering of the anterior cruciate ligament. *AUTEX Res J*.2004;4(2):86-94.
- [35] Guo SZ,Ren XJ,Wu B,et al.Preparation of the acellular scaffold of the spinal cord and the study of biocompatibility. *Spinal Cord*.2010;48(7):576-581.