

## 组织工程软骨构建中不同支架材料的特征

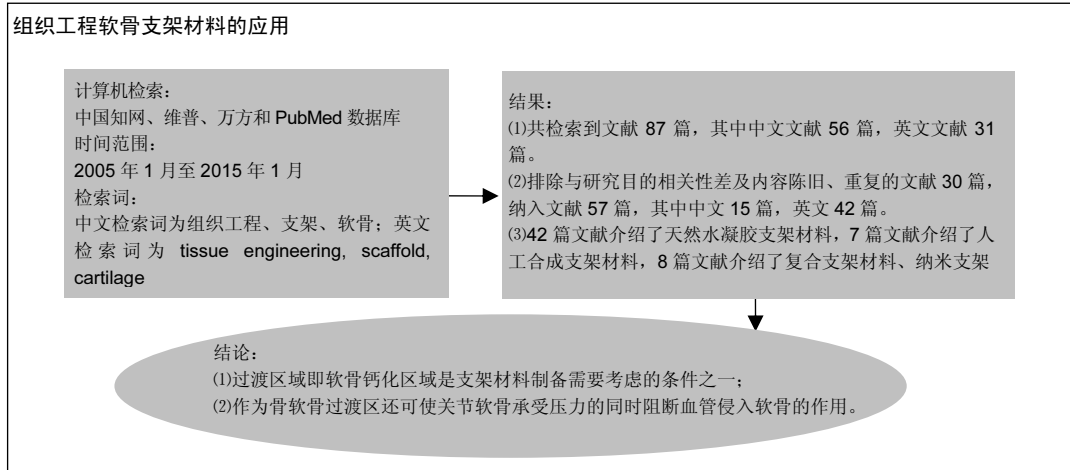
郑宇<sup>1,2</sup>, 党建军<sup>2</sup>, 金鸿宾<sup>3</sup>, 程宏毅<sup>2</sup>, 李强<sup>2</sup>, 齐磊<sup>2</sup>, 王雷<sup>1</sup>, 王建武<sup>2</sup>, 辛荣超<sup>2</sup>, 李慧敏<sup>4</sup> (天津中医药大学研究生院, 天津市300193; <sup>2</sup>陕西省中医医院骨伤一科, 陕西省西安市710003; <sup>3</sup>天津医院创伤骨科, 天津市300211; <sup>4</sup>广州中医药大学, 广东省广州市510006)

引用本文: 郑宇, 党建军, 金鸿宾, 程宏毅, 李强, 齐磊, 王雷, 王建武, 辛荣超, 李慧敏. 组织工程软骨构建中不同支架材料的特征[J]. 中国组织工程研究, 2016, 20(3):423-429.

DOI:10.3969/j.issn.2095-4344.2016.03.022

ORCID: 0000-0002-5924-4064(金鸿宾)

文章快速阅读:



郑宇, 男, 1985 年生, 陕西省西安市人, 博士, 主治医师, 主要从事组织工程修复关节软骨损伤基础及临床研究。

通讯作者: 金鸿宾, 博士生导师, 教授, 主任医师, 天津医院创伤骨科, 天津市 300211

中图分类号:R318  
文献标识码:B  
文章编号:2095-4344  
(2016)03-00423-07  
稿件接受: 2015-11-30  
<http://WWW.crter.org>

文题释义:

**组织工程化软骨:** 将自体或异体组织细胞在体外进行培养扩增后, 接种到良好生物性能的支架材料上, 形成细胞-支架复合体, 将复合体移植至软骨缺损部位, 随着支架材料的慢慢降解, 组织细胞形成具有与类似软骨功能的组织, 以此达到修复缺损软骨的目的。

**人工合成高分子支架材料:** 是指应用物理化学等方法合成的可以替代细胞外基质的高分子物质, 要包括无机高分子材料和有机高分子材料两大类。其主要优点为材料来源不受限制, 可根据需要对其化学、物理及生物学性能进行调控, 但组织相容性较自然支架材料低。

摘要

**背景:** 国内外研究认为软骨组织工程是治疗软骨缺损的新方向, 目前在目前基础研究方面已取得部分进展, 同时支架材料的构建在软骨组织工程中必不可少, 至关重要。

**目的:** 系统回顾及总结目前软骨组织工程中不同支架材料在关节软骨缺损修复中的应用。

**方法:** 以“组织工程、支架、软骨”为中文检索词, 以“tissue engineering, scaffold, cartilage”为英文检索词, 应用计算机检索中国知网、维普、万方和 PubMed 数据库 2005 年 1 月至 2015 年 1 月的基础研究文献, 同时对文章中的参考文献进行人工检索。

**结果与结论:** 对组织工程软骨支架的选择与制备, 应充分考虑到天然水凝胶材料、人工合成支架材料、复合支架材料、纳米支架材料、可注射性支架材料的优缺点。目前组织工程软骨支架材料与人体自然软骨达不到正常过渡, 因此, 含有过渡区域即软骨钙化层的多层一体化支架的研制将可能是今后骨软骨组织工程研究的重点之一。

**关键词:**

生物材料; 软骨生物材料; 支架; 软骨缺损; 综述

**主题词:**

软骨; 组织支架; 组织工程

Zheng Yu<sup>1,2</sup>, Dang Jian-jun<sup>2</sup>, Jin Hong-bin<sup>3</sup>, Cheng Hong-yi<sup>2</sup>, Li Qiang<sup>2</sup>, Qi Lei<sup>2</sup>, Wang Lei<sup>1</sup>, Wang Jian-wu<sup>2</sup>, Xin Rong-chao<sup>2</sup>, Li Hui-min<sup>4</sup>  
(<sup>1</sup>School of Graduate, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China; <sup>2</sup>Department of Orthopedics and Traumatology, Shaanxi Hospital of Traditional Chinese Medicine, Xi'an 710003, Shaanxi Province, China; <sup>3</sup>Department of Traumatic Orthopedics, Tianjin Hospital, Tianjin 300211, China; <sup>4</sup>Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, Guangdong Province, China)

Zheng Yu, M.D., Attending physician, School of Graduate, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China; Department of Orthopedics and Traumatology, Shaanxi Hospital of Traditional Chinese Medicine, Xi'an 710003, Shaanxi Province, China

## Construction of tissue-engineered cartilage: characteristics of different scaffolds

Abstract

**BACKGROUND:** Most scholars believe that the cartilage tissue engineering is a new direction for the treatment of cartilage defects. It has made partial progress in the basic research, and to construct a scaffold is essential in cartilage tissue engineering.

**OBJECTIVE:** To systematically review and summarize the application of different tissue-engineered scaffolds in articular cartilage repair.

Corresponding author: Jin Hong-bin, Doctoral supervisor, Professor, Chief physician, Department of Traumatic Orthopedics, Tianjin Hospital, Tianjin 300211, China

**Subject headings:** Cartilage; Tissue Scaffolds; Tissue Engineering

**METHODS:** A computer-based search of CNKI, VIP and PubMed databases was performed for relevant basic research literatures published from January 2005 to January 2015 using the keywords of "tissue engineering, scaffold, cartilage" in Chinese and English, respectively. Meanwhile, references in the retrieved articles were retrieved manually.

**RESULTS AND CONCLUSION:** For selection and preparation of tissue-engineered cartilage scaffolds, it is necessary to fully take into account the advantages and disadvantages of natural hydrogel materials, synthetic scaffolds, composite scaffolds, nano-scaffolds, and injectable scaffolds. Currently, there is still no normal transition between all tissue-engineered cartilage scaffolds and the natural cartilage. Therefore, to develop nano-multilayer integrated scaffolds with the calcified cartilage layer is expected to become one of the research focuses of bone and cartilage tissue engineering.

**Cite this article:** Zheng Y, Dang JJ, Jin HB, Cheng HY, Li Q, Qi L, Wang L, Wang JW, Xin RC, Li HM.

*Construction of tissue-engineered cartilage: characteristics of different scaffolds. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2016;20(3):423-429.*

## 0 引言 Introduction

由于软骨损伤后不会自发性修复,其再生和修复一直是骨科界亟待解决的难题之一。目前国内外大多数学者认为,软骨组织工程是治疗软骨缺损的新方向,而软骨组织工程中支架材料的构建是至关重要的因素之一。文章就目前软骨组织工程中不同支架材料的构建做一系统回顾及总结,提出目前软骨缺损修复支架构建理论上的选择和未来软骨修复研究的发展方向。

## 1 资料和方法 Data and methods

**1.1 资料来源** 以“组织工程、支架、软骨”为中文检索词,以“tissue engineering, scaffold, cartilage”为英文检索词,由第一作者应用计算机检索中国知网、维普、万方和PubMed数据库2005年1月至2015年1月的基础研究文献,同时对文章中参考文献进行人工检索。

### 1.2 纳入与排除标准

**纳入标准:** 临床新材料应用性研究、与组织工程支架材料的优劣分析、个案报道等文献;软骨修复的动物实验等基础性研究;关节软骨修复与组织工程支架技术研究进展等综述性研究。

**排除标准:** 质量较差,公认度较低杂志上的文献;联合其他药物或等多种手段来修复软骨面文章。

**1.3 数据提取** 共检索到文献87篇,其中中文文献56篇,英文文献31篇,排除与研究目的相关性差及内容陈旧、重复的文献30篇,纳入57篇符合标准的文献进行综述。

**1.4 质量评价** 符合纳入标准的57篇文献中,文献[1-42]介绍了天然水凝胶支架材料,文献[43-49]介绍了人工合成支架材料,文献[50-57]介绍了复合支架材料、纳米支架。

## 2 结果 Results

**2.1 天然水凝胶支架材料** 天然水凝胶支架材料主要包括蛋白质类及多糖类,被广泛用于关节软骨组织修复,其支架内含软骨细胞<sup>[1-2]</sup>、生长因子<sup>[3]</sup>、相关基因及药物和生物基质<sup>[4-6]</sup>,被种植至病变部位,诱导原位细胞增殖、分化并形成软骨。经改性、优化后,天然水凝胶支架不

但具有再生关节软骨的理化特性,且还具有良好的生物特性(即组织相容性、低免疫原性、低细胞毒性、自身可降解性),同时还可促进细胞的黏附、增殖和分化,促进新组织再生,甚至可用作药物释放载体,在关节软骨再生、修复领域前景甚好。

**2.1.1 血纤维蛋白** 血纤维蛋白可栽种骨骼肌细胞、平滑肌细胞和软骨细胞,以形成细胞骨架结构,最终形成工程组织。雍志军等<sup>[7]</sup>通过在兔心脏采血制备自体富血小板纤维蛋白,研究富血小板纤维蛋白对体外培养的兔骨髓间充质干细胞成软骨分化的影响,结果表明富血小板纤维蛋白在体外对兔骨髓间充质干细胞成软骨分化的促进有重要影响。张永涛<sup>[8]</sup>采用不连通双层PLGA支架负载自体骨髓间充质干细胞与富血小板血浆复合体修复软骨缺损,结果认为富血小板纤维蛋白对成软骨分化的促进有重要作用。血纤维蛋白制作方法简单易学,术前、术中均可以制备,临床应用简便、快捷<sup>[9]</sup>,其来自自体血液,具有良好的生物相容性,来源丰富,价格低廉,制备过程中未使用任何抗凝剂及促凝剂,不存在免疫排斥问题和传播疾病的危险,供区无二次损伤风险,可大量制备使用,生物安全性好,临床应用前景广泛。然而,纤维蛋白容易发生急剧萎缩、退化,机械刚度较低<sup>[10]</sup>。

**2.1.2 富血小板血浆** 富血小板血浆是通过离心全血后得到的血小板浓缩物,通过钙离子和凝血酶凝胶,具有多种生物学特性:①从自体静脉血抽取离心获得,生物相容性好,无免疫排斥、炎症反应等问题。②加入激活剂后,富血小板血浆凝成胶状物并含有高浓度的纤维蛋白原,经透射电镜观察证实形成纤维网状支架结构。③富血小板血浆被激活后,血小板 $\alpha$ 颗粒释放出大量生长因子(如血小板源性生长因子、转化生长因子 $\beta$ 、胰岛素样生长因子、成纤维细胞生长因子及血管内皮生长因子等),这些生长因子对细胞增殖及细胞外基质合成起到重要促进作用,对创伤愈合及组织的再生有着极其重要作用。④可以任意塑形,也可以注射使用,对于修复临床上常见的不规则软骨缺损具有优势<sup>[11-15]</sup>。

Akeda等<sup>[16]</sup>以含10%富血小板血浆、10%贫血小板血浆和体积分数10%胎牛血清的培养基分别培养软

骨细胞, 检测细胞增殖及细胞外蛋白聚糖与胶原含量, 结果证明富血小板血浆能够促进软骨细胞增殖及基质中蛋白聚糖和胶原合成, 促胶原合成的能力较促进蛋白聚糖合成的能力更强。Park等<sup>[17]</sup>研究了不同浓度(1%, 5%, 10%, 20%)富血小板血浆和培养时间对软骨细胞增殖及相关特征性基因(转化生长因子 $\beta$ 、血小板源性生长因子受体 $\beta$ 、Sox-9、蛋白聚糖、骨形态发生蛋白2、骨形态发生蛋白7、血管内皮生长因子、ChM-I)表达的影响。培养24 h时, 5%富血小板血浆对软骨细胞增殖的促进作用最明显; 培养至96 h时, 富血小板血浆浓度与促进细胞增殖的能力呈正相关; 在相同的培养时间, 富血小板血浆浓度与软骨细胞相关基因的表达量, 或者富血小板血浆在浓度不变的情况下, 培养时间与软骨细胞相关基因的表达量之间没有明确的正相关性。Deponti等<sup>[18]</sup>从猪关节软骨提取软骨细胞并分别种植于胶原海绵与纤维蛋白-胶原海绵, 结果显示纤维蛋白-胶原海绵复合材料能更好地促进软骨细胞的播种及生存, 为软骨细胞生存和合成提供了良好的静态环境。

**2.1.3 胶原蛋白** 胶原是细胞外最重要的水不溶性纤维蛋白, 是构成细胞外基质的骨架。常用作组织工程材料的胶原主要是I、II及III型胶原, 其中又以I型胶原在临床应用最为广泛。胶原蛋白网中尽管含有70%水分, 但足以提供关节的机械强度, 塑造软骨形态。研究证实I、II型胶原纤维蛋白均可促进软骨细胞增殖、分化, 诱导软骨组织的生成, 但I型胶原纤维同时可诱导软骨细胞的去分化<sup>[19-20]</sup>。I型胶原凝胶的三维网状基质结构是其产生、分泌及储存II型胶原蛋白, 以及新生软骨细胞外基质内矿物沉积的关键<sup>[21]</sup>。影响胶原蛋白凝胶在软骨再生组织工程应用中的最大障碍是缺乏机械强度, 难以应用于原位关节软骨的修复, 有报道表明I型胶原凝胶的杨氏模量为65.5 kPa, 远低于人体关节软骨的杨氏模量<sup>[22-23]</sup>。Hirschmann等<sup>[25]</sup>在膝关节镜下置入胶原半月板移植治疗67例膝关节半月板损伤患者, 随访1年, 所有患者的膝关节功能不同程度改善, 疼痛减轻。但膝关节核磁共振检查结果示, 几乎所有患者的胶原半月板移植都出现了退化和变形。胶原半月板移植物的机械特性不及天然半月板, 主要用于半月板周围区无受损的情况。

**2.1.4 壳聚糖** 壳聚糖(壳聚糖, 亦称几丁质、甲壳质, 是甲壳素的脱乙酰化产物)具有良好的生物相容性、生物可降解性, 病理性炎症反应率和诱发感染及内毒素率低, 同时抗菌能力好, 使其成为最重要的生物材料之一。作为氨基葡萄糖类似物, 壳聚糖是一种在软骨组织工程及软骨修复中格外受关注的生物材料<sup>[24]</sup>。以壳聚糖作为组织支架, 骨髓间质干细胞在其表面黏附生长, 骨骼组织细胞得到了很好的再生修复<sup>[25]</sup>, 同时其作为非病毒基因载体也被用于广泛研究<sup>[26-28]</sup>。林涛<sup>[29]</sup>采用壳聚糖水凝胶复合脂肪间充质干细胞修复兔关节软骨缺损, 得出结

论: 采用胶原酶消化的方法可以获得大量纯度较高、分化能力好的脂肪间充质干细胞, 可作为构建组织工程软骨的种子细胞; 利用脂肪间充质干细胞作为种子细胞与壳聚糖水凝胶支架构建组织的工程软骨, 对缺损关节软骨具有良好的修复作用, 且修复是一种完全的结构性修复。有研究证实壳聚糖/磷酸甘油复合自体间充质干细胞可促进对兔关节软骨缺损的修复。赵明等<sup>[30]</sup>对新型壳聚糖水凝胶结合软骨细胞修复兔关节软骨缺损进行实验, 发现兔软骨细胞能在壳聚糖水凝胶上增殖并分泌细胞外基质, 植入到兔关节软骨缺损处后, 对缺损关节软骨具有良好的修复作用(图1)。

壳聚糖及其降解产物参与了关节软骨中多种物质(包括硫酸软骨素、透明质酸、II型胶原蛋白)的合成。作为支架材料, 壳聚糖水凝胶目前在骨组织工程中已被广泛应用, 其可在关节软骨的胶原网络中进行原位水合模拟, 保持新的软骨细胞增殖, 生长和再生<sup>[31]</sup>。

**2.1.5 藻酸盐** 藻酸是褐藻类细胞壁成分的多糖, 高分子材料藻酸盐具有良好的生物相容性、可降解性, 无明显免疫原性, 除了能够提供细胞生长所需的三维生长支架外, 有利于承载大量细胞, 还能创造类似细胞生长的微环境, 有利于细胞之间的营养和代谢物质的交换, 有利于细胞间的信号传导, 维持细胞的表型及其表达, 是骨组织工程研究中一种理想的携带种子细胞的支架材料<sup>[32]</sup>。国内外学者常用藻酸盐作为细胞培养的载体材料, 来构建组织工程骨<sup>[33]</sup>。陈小菊<sup>[34]</sup>将藻酸盐/ $\beta$ -磷酸三钙复合材料作为骨组织工程支架进行初步研究, 认为细胞生物材料复合体的优点是可形成具有生物活性的组织, 对病损组织进行形态、结构和功能的重建并达到永久性替代; 用较少的组织细胞通过在体外培养扩增后, 进行大块组织缺损修复; 可按组织器官缺损情况塑形, 实现比较完美的功能及形态修复。汪群力等<sup>[35]</sup>可将注射藻酸盐支架与人骨髓基质干细胞的体外复合培养, 扫描电镜见骨髓基质干细胞在藻酸钙表面贴附、增殖良好, 初步表明藻酸钙与人骨髓基质干细胞体外生物相容性较好。

**2.1.6 透明质酸** 透明质酸是天然细胞外基质中糖胺聚糖的重要组成物, 在结缔组织中含丰富, 广泛存在于机体软骨、滑液和眼的玻璃体液中, 它通过组装、聚集蛋白聚糖、大软骨蛋白多糖, 使关节软骨细胞外基质成为弹性结构。蛋白聚糖/透明质酸可为细胞外基质蓄积大量的水分, 在软骨的黏弹性能、润滑及稳定软骨基质等方面起着重要作用。

关节腔内注射透明质酸是早期治疗骨关节炎一种行之有效的办法, 但透明质酸分子质量的高低对治疗效果具有决定性作用, 低分子质量具有致炎作用, 而高分子质量具有抗炎保护作用<sup>[36]</sup>。透明质酸对蛋白质的黏附及提供软骨细胞和细胞外基质之间附着位点都具有关

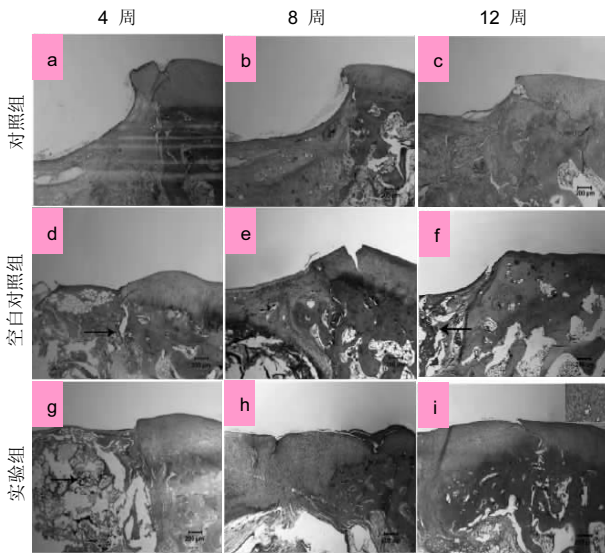


图1 新型壳聚糖水凝胶结合软骨细胞修复兔关节软骨缺损  
图注: 箭头显示壳聚糖支架。

键作用。Solchaga等<sup>[37]</sup>把透明质酸制成海绵支架, 用于治疗骨软骨缺损。另外透明质酸可通过羧基团反应而进行化学改性, 透明质酸的羧基团与不同的醇类进行酯化反应, 可以产生出具备不同降解度的衍生物。如交联二硫化物、二胺和酪胺等, 可使透明质酸化学改性成为许多不同功能的可交联透明质酸衍生物, 这些衍生物可用来生产不同的透明质酸水凝胶。目前光聚合或光交联已成为在可注射透明质酸内整合入软骨细胞最重要的方法, 其中透明质酸分子改性的部分称光交联功能团, 例如甲基丙烯酸甲酯、甲基丙烯酸缩水甘油酯, 光交联反应通过可见光或低能量的紫外线照射激活, 多种光交联系统具有低度的黏性, 因而方便注射和填充成不规则软骨缺损。尽管透明质酸水凝胶具有颇多促进软骨再生的优势, 但因交联密度不够, 导致其在体内不能提供足够的机械性能, 使透明质酸水凝胶作为软骨修复支架材料受到一定限制<sup>[38-41]</sup>。

2.1.7 琼脂糖 琼脂糖是一种海藻多糖, 是线性多聚物, 基本结构是1, 3连结的 $\beta$ -D-半乳糖和1, 4连结的3, 6-内醚-L-半乳糖交替连接起来的长链。构建软骨细胞/琼脂糖结构, 可用来研究的领域包括: 细胞形态、细胞代谢(包括生长因子)、细胞外基质的合成和在动物关节软骨缺损模型中形成的速率等。用同种异体软骨细胞/琼脂糖凝胶结构物修复关节软骨缺损, 形成的软骨和自体关节软骨组织相容性较好。周建新等<sup>[42]</sup>制备21个猪体外软骨细胞环, 实验组18只软骨环上覆盖琼脂糖凝胶, 对照组3个软骨环无琼脂糖覆盖, 2组都植入分离的软骨细胞, 分别在1, 2, 4周观察软骨环边界细胞漏出情况, 并测量新生软骨面积。结果发现, 实验组第1, 2周新生软骨面积增大较为明显, 到第4周时, 在原有基础面积上也有进一步增大, 但第2-4周的面积极大不明显;

对照组软骨细胞早期从软骨环底部漏出, 未能在软骨环中形成软骨细胞聚集, 也未能做后期处理。该动物实验模型对自体软骨细胞体外移植修复关节软骨全层缺损的过程进行了成功模拟, 有望成为软骨缺损修复及软骨组织工程研究的新方向。

2.2 人工合成支架材料 人工合成高分子支架材料是指应用物理化学等方法合成的可以替代细胞外基质的高分子物质, 主要优点为材料来源不受限制, 可根据需要对其化学、物理及生物学性能进行调控。但合成支架材料的组织相容性较自然支架材料低。合成支架材料主要包括无机高分子材料和有机高分子材料两大类。

2.2.1 无机高分子材料 用于软骨组织工程中的无机支架材料主要为 $\beta$ -磷酸三钙。 $\beta$ -磷酸三钙具有良好的生物相容性, 降解产物呈碱性, 可中和壳聚糖的酸性降解产物, 减轻壳聚糖作为支架材料的不利影响。然而, 由于此类材料组织相容性差, 未做为研究热点, 目前仅见少量报道。Gou等<sup>[43]</sup>首次将软骨细胞接种至 $\beta$ -磷酸三钙支架后植入山羊肩关节骨软骨缺损区, 24周后组织学染色可观察到透明软骨形成。

2.2.2 有机高分子材料 有机高分子支架材料以聚乳酸、聚羟基乙酸及它们的共聚物等为主。Iza1等<sup>[44]</sup>将骨髓间充质干细胞种植于左旋聚乳酸支架上, 发现左旋聚乳酸支架可有效吸附间充质干细胞, 促进其向软骨分化和细胞外基质沉积。Gong等<sup>[45]</sup>采用聚羟基乙酸/聚乳酸诱导间充质干细胞向纤维软骨分化, 2周后将其移植入猪半月板的人造孔隙中, 3, 6个月后观察新植入的半月板和原有半月板发现, 软骨下骨有较为良好的连接, 并且行免疫组化分析表明组织工程半月板中的糖胺聚糖、II型胶原与原有半月板相似。但人工植入的半月板仍和天然半月板毕竟有所差异, 且间充质干细胞向软骨细胞分化的明确机制仍尚未清楚。Kose等<sup>[46]</sup>将成骨细胞接种到聚羟基脂肪酸酯支架体外培养, 细胞在支架上增殖良好并能分泌碱性磷酸酶和骨钙素。随着培养时间延长, 细胞外基质慢慢钙化, 表明聚羟基脂肪酸酯可成为骨组织工程支架的一种选择。聚羟基脂肪酸酯是一类以微生物不平衡条件为基础, 存在于微生物细胞下发酵产生的天然生物材料。相对于聚羟基脂肪酸酯家族的其他成员, 聚羟基丁酸戊酸酯和聚羟基丁酸己酸酯具有更好的生物相容性、机械强度和降解速率可控<sup>[47-48]</sup>。高天喜等<sup>[49]</sup>研究聚羟基丁酸戊酸酯和聚羟基丁酸己酸酯经PhaP-RGD融合蛋白修饰后的亲水性及其与软骨细胞的组织相容性, 结果显示经PhaP-RGD融合蛋白修饰的聚羟基丁酸己酸酯高分子材料具有更好的亲水性及组织相容性。

2.3 复合支架材料 天然材料的复合主要是尽可能从组件上获得与细胞外基质相似的组织工程支架。而把天然材料和合成材料进行复合, 是在保证其降解行为前提

下, 既可获得良好的机械强度又可以获得更好的生物活性表面。人体各个组织器官在它的组成、结构和功能等方面是高度复杂的, 因此对组织工程支架能够表现出的功能的要求也是多方面的, 既要求所选材料具有良好的组织相容性和组织活性, 同时也要有良好的机械性能。单一材料构成的组织工程支架不能提供上述要求的所有功能, 因此必须通过改变组合物、组合物之间的配比、具有差异性组合材料间的接触界面, 来获得具有集众多性能为一体的组织工程支架材料。

Park等<sup>[50]</sup>分别将单纯异丁烯酸乙二醇-CTS和注入透明质酸的MeGc植入软骨, 经比较发现注入透明质酸的MeGc有促进软骨细胞增殖和软骨细胞外基质沉积的作用, 具有修复软骨的潜力。陆兴等<sup>[51]</sup>将兔软骨细胞分别种植于羟基丁酸-羟基辛酸聚合物/胶原支架和羟基丁酸-羟基辛酸聚合物支架上, 结果发现, 在促进软骨细胞的黏附、增殖方面, 羟基丁酸-羟基辛酸聚合物/胶原复合材料支架比羟基丁酸-羟基辛酸聚合物复合材料支架更有优势, 表明羟基丁酸-羟基辛酸聚合物/胶原复合支架具备更好的细胞亲和力。刘建斌<sup>[52]</sup>将壳聚糖、明胶和 $\beta$ -磷酸三钙3种材料通过二次冻干技术制备软骨细胞复合支架, 一方面可以通过调节 $\beta$ -磷酸三钙的添加量来调节复合材料的孔隙率, 也利用了3种材料各自的优点, 使复合材料支架更适宜作为软骨细胞支架。

**2.4 纳米支架材料** 纳米材料是指在三维空间中至少有一维处于纳米尺度范围(1-100 nm)或由它们作为基本单元构成的材料, 可将纳米材料加工及创制成具有特定功能的产品。因为特定尺度范围的要求, 因此加工及创制纳米维度的支架结构对研制出符合特性要求的组织工程软骨有着重要意义。纳米支架材料与天然细胞外基质的结构最为相似, 具有优良的组织相容性、机械性能, 在组织工程化支架结构的研究及运用中得到了重视<sup>[53-54]</sup>。Kai等<sup>[53]</sup>通过静电纺丝制作聚己内酯纳米纤维, 并将其分散于明胶中, 制备了纳米纤维水凝胶, 相比单纯的明胶溶液, 此水凝胶的机械性能和溶胀性得到明显改善。

**2.5 可注射性支架材料** 根据支架制备特点的不同, 组织工程软骨可分为预制成型软骨和可注射性软骨两类。近年, 预制成型软骨修复关节软骨缺损的研究取得了显著进展, 其部分产品已成功用于临床并取得较好疗效, 但其临床应用仍存在很大限制<sup>[55]</sup>。薛震等<sup>[56]</sup>采用可注射式纳米羟基磷灰石复合支架与骨髓间充质干细胞修复兔桡骨骨缺损, 植入第12周末, 实验组骨缺损完全修复, 桡骨形状基本恢复到术前形态, 两断端向中间有少许的骨髓腔再通, 缺损区影像与正常骨组织已无区别, 可见大量新生板层骨组织、哈佛氏系统形成, 原缺损区被新生板层骨组织填充, 骨组织相互连续, 骨髓腔相通; 对照组骨缺损未完全愈合, 有部分骨皮质缺损, 骨密度影

略低于正常骨组织, 部分骨髓腔再通, 可见少量板层样骨组织形成, 纤维组织填充。结果表明可注射式纳米羟基磷灰石复合支架复合骨髓间充质干细胞可促进骨缺损的修复。马勇等<sup>[57]</sup>发现可注射性壳聚糖/ $\beta$ -甘油磷酸二钠凝胶复合同种异体软骨细胞能够修复关节软骨缺损, 威灵仙能够促进其对软骨缺损的修复, 威灵仙在组织工程技术修复关节软骨缺损中可能起到类生长因子作用。

### 3 展望 Prospects

组织工程化软骨用于关节软骨损伤和缺损修复是目前组织工程中的研究热点。组织工程化软骨修复缺损软骨的基本原理是将自体或异体组织细胞在体外进行培养扩增后, 接种到良好生物性能的支架材料上, 形成细胞-支架复合体, 将复合体移植至软骨缺损部位, 随着支架材料的慢慢降解, 组织细胞形成具有与类似软骨功能的组织, 以此达到修复缺损软骨的目的。

作为软骨组织工程的重要要素之一——软骨支架材料的制备, 目前存在几大问题: 怎么样提高支架材料的组织相容性? 怎样制备出一种利于细胞植入、附着、吸收、排泄等生存三维立体结构的软骨支架材料? 怎样提高组织材料支架的机械力学性能及表面活性? 材料支架的降解转归及对人体影响如何, 怎样把控支架材料的降解率? 所以对组织工程软骨支架的选择与制备应充分考虑到天然水凝胶材料、人工合成支架材料、复合支架材料、纳米支架材料、可注射性支架材料的优缺点。正常关节结构的构成, 包括软骨区、软骨钙化区和骨化区等多个部分, 这几个部分的结构构成是不同的, 但是逐渐过渡的, 它们之间没有明显的界面, 因而理化性质比较稳定。然而目前组织工程软骨支架材料的制备, 与人体自然软骨达不到正常过渡, 容易导致组织相容性差、不易长合、应力集中、易磨损破碎等一系列问题。以上这些目前遇到的问题表明, 过渡区域即软骨钙化区域是支架材料制备需要考虑的条件之一。作为骨软骨过渡区还可使关节软骨承受压力的同时阻断血管侵入软骨的作用。

**作者贡献:** 郑宇、党建军、金鸿宾进行实验设计, 实验实施为郑宇、党建军, 实验评估为党建军、金鸿宾, 资料收集为郑宇、王建武, 郑宇成文, 党建军、金鸿宾审校, 郑宇对文章负责。

**利益冲突:** 所有作者共同认可文章无相关利益冲突。

**伦理问题:** 无涉及伦理冲突的内容。

**文章查重:** 文章出版前已经过 CNKI 反剽窃文献检测系统进行 3 次查重。

**文章外审:** 本刊实行双盲外审制度, 文章经国内小同行外审专家审核, 符合本刊发稿宗旨。

**作者声明:** 文章第一作者对研究和撰写的论文中出现的不

端行为承担责任。论文中涉及的原始图片、数据(包括计算机数据库)记录及样本已按照有关规定保存、分享和销毁,可接受核查。

**文章版权:** 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

#### 4 参考文献 References

- [1] Zeng L, Yao Y, Wang D, et al. Effect of microcavitary alginate hydrogel with different pore sizes on chondrocyte culture for cartilage tissue engineering. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2014;34:168-175
- [2] Dahlin RL, Kinard LA, et al. Articular chondrocytes and mesenchymal stem cells seeded on biodegradable scaffolds for the repair of cartilage in a rat osteochondral defect model. *Biomaterials.* 2014;35:7460-7469.
- [3] Hu X, Ma L, Wang C, et al. Gelatin Hydrogel Prepared by Photo-initiated Polymerization and Loaded with TGF- $\beta$ 1 for Cartilage Tissue Engineering. *Macromol Biosci.* 2009;9(12):1194-1201.
- [4] Zhu S, Zhang B, Man C, et al. Combined Effects of Connective Tissue Growth Factor-Modified Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells and NaOH-Treated PLGA Scaffolds on the Repair of Articular Cartilage Defect in Rabbits. *Cell Transplant.* 2014;23:715-727.
- [5] Fan W, Wu C, Miao X, et al. Biomaterial scaffolds in cartilage-subchondral bone defects influencing the repair of autologous articular cartilage transplants. *J Biomater Appl.* 2013;27:979-989.
- [6] Zhao Q, Wang S, Tian J, et al. Combination of bone marrow concentrate and PGA scaffolds enhance bone marrow stimulation in rabbit articular cartilage repair. *J Mater Sci Mater Med.* 2013;24:793-801.
- [7] 雍志军, 贾帅军, 韩林章, 等. 富血小板纤维蛋白对兔骨髓间充质干细胞成软骨分化的影响[J]. *现代生物医学进展*, 2014, 14(8): 1407-1410.
- [8] 张永涛. 不连通双层PLGA支架负载自体骨髓间充质干细胞与富血小板血浆的复合体修复软骨缺损的实验研究[D]. 南方医科大学, 2013.
- [9] Naik B, Karunakar P, Jayadev M, et al. Role of Platelet rich fibrin in wound healing: A critical review. *J Conserv Dent.* 2013; 16(4):284-293.
- [10] 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.
- [11] Kim HY, Park JH, Han YS, et al. The effect of platelet-rich plasma on flap survival in random extension of an axial Pattern flap in rabbits. *Plast Reconstr Surg.* 2013;132:85-92.
- [12] Browning SR, Weiser AM, Woolf N, et al. Platelet-rich plasma increases matrix metalloproteinases in cultures of human synovial fibroblasts. *J Bone Joint Surg Am.* 2012;94: e1721-1727.
- [13] Yuan T, Guo SC, Han P, et al. Applications of leukocyte- and platelet-rich plasma(L-PRP) in trauma surgery. *Curr Pharm Biotechnol.* 2012;13:1173-1184.
- [14] Lenza M, Ferraz Sde B, Viola DC, et al. Platelet-rich plasma for long bone healing. *Einstein (Sao Paulo).* 2013;11:122-127.
- [15] Sommeling CE, Heyneman A, Hoeksema H, et al. The use of platelet-rich plasma in plastic surgery: a systematic review. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2013;66:301-311.
- [16] Akeda K, An HS, Okuma M, et al. Platelet-rich plasma stimulates porcine articular chondrocyte proliferation and matrix biosynthesis. *Osteoarthritis Cartilage.* 2006;14(12):1272-1280.
- [17] Park SI, Lee HR, Kim S, et al. Time-sequential modulation in expression of growth factors from platelet-rich plasma (PRP) on the chondrocyte cultures. *Mol Cell Biochem.* 2012; 361(1-2):9-17.
- [18] Deponti D, di Giancamillo A, Gervaso F, et al. Collagen scaffold for cartilage tissue engineering: the benefit of fibrin glue and the proper culture time in an infant cartilage model. *Tissue Eng Part A.* 2014;20(56):1113-1126.
- [19] Fukui N, Sato T, Kuboki Y, et al. Bone tissue reaction of nano-hydroxyapatite/collagen composite at the early stage of implantation. *Bio-Med Mater Eng.* 2008;18:25-33.
- [20] Zhang L, Yuan T, Guo L, et al. An in vitro study of collagen hydrogel to induce the chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells. *J Biomed Mater Res A.* 2012; 100(10):2717-2725.
- [21] Freyria AM, Ronzière MC, Cortial D, et al. Comparative phenotypic analysis of articular chondrocytes cultured within type I or type II collagen scaffolds. *Tissue Eng Part A.* 2009; 15:1233-1245.
- [22] Rutherford RB, Gu K, Racenis P, et al. Early events: the in vitro conversion of BMP transduced fibroblasts to chondroblasts. *Connect Tissue Res.* 2003;44:117-123.
- [23] Yamaoka H, Asato H, Ogasawara T, et al. Cartilage tissue engineering using human auricular chondrocytes embedded in different hydrogel materials. *J Biomed Mater Res A.* 2006; 78(1):1-11.
- [24] 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.
- [25] Hirschmann MT, Keller L, Hirschmann A, et al. One-year clinical and MR imaging outcome after partial meniscal replacement in stabilized knees using a collagen meniscus implant. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2013;21(3):740-747.
- [26] Qi BW, Yu AX, Zhu SB, et al. Chitosan/poly(vinyl alcohol) hydrogel combined with Ad-hTGF- $\beta$ 1 transfected mesenchymal stem cells to re-pair rabbit articular cartilage defects. *Exp Biol Med (Maywood).* 2013;238(1):23-30.
- [27] Eroglu E, Tiwari PM, Waffo AB, et al. A nonviral pHEMA+ chitosan nanosphere-mediated high-efficiency gene delivery system. *Int J Nano-medicine.* 2013;8:1403-1415.
- [28] Hagiwara K, Kishimoto S, Ishihara M, et al. In vivo gene transfer using pDNA/chitosan/chondroitin sulfate ternary complexes: influence of chondroitin sulfate on the stability of freeze-dried complexes and transgene expression in vivo. *J Gene Med.* 2013;15(2):83-92.
- [29] 林涛. 壳聚糖水凝胶复合脂肪间充质干细胞修复兔关节软骨缺损的实验研究[D]. 川北医学院, 2015.
- [30] Zhao M, Chen Z, Liu K, et al. Repair of articular cartilage defects in rabbits through tissue-engineered cartilage constructed with chitosan hydrogel and chondrocytes. *Journal of Zhejiang University-Science B(Biomedicine & Biotechnology).* 2015;16(11):914-923.
- [31] Di Martino A, Sittinger M, Risbud MV. Chitosan: A versatile biopolymer for orthopaedic tissue-engineering. *Biomaterials.* 2005;26:5983-5990.

- [32] 张东,杨克,马忠石,等.藻酸盐三维细胞培养在骨组织工程中的应用的研究进展[J]. 生物技术通报,2007,23(6):62-66.
- [33] Oju J, Bouhadir Kamal H, Mansour Joseph M, et al. Photocrosslinked alginate hydrogels with tunable biodegradation rates and mechanical properties. *Biomaterials*. 2009;30(14):2724.
- [34] 陈小菊.藻酸盐/ $\beta$ -磷酸三钙复合材料作为骨组织工程支架的初步研究[D].重庆医科大学,2006.
- [35] 汪群力,龚继承,邹重文,等.可注射藻酸盐支架与人骨髓基质干细胞的体外复合培养[J].中国组织工程研究, 2012, 16(21): 3895-3898.
- [36] Campo GM, Avenoso A, Nastasi G, et al. Hyaluronan reduces inflammation in experimental arthritis by modulating TLR-2 and TLR-4 cartilage expression. *Biochim Biophys Acta*. 2011;1812(9):1170-1181.
- [37] Solchaga LA, Yoo JU, Lundberg M, et al. Hyaluronan-based polymers in the treatment of osteochondral defects. *J Orthop Res*. 2000;18:773-780.
- [38] Nettles DL, Vail TP, Morgan MT, et al. Photocrosslinkable hyaluronan as a scaffold for articular cartilage repair. *Ann Biomed Eng*. 2004;32:391-397.
- [39] Leach JB, Bivens KA, Collins CN, et al. Development of photocrosslinkable hyaluronic acid-polyethylene glycol-peptide composite hydrogels for soft tissue engineering. *J Biomed Mater Res A*. 2004;70A:74-82.
- [40] Leach JB, Schmidt CE. Characterization of protein release from photocrosslinkable hyaluronic acid-polyethylene glycol hydrogel tissue engineering scaffolds. *Biomaterials*. 2005; 26:125-135.
- [41] Burdick JA, Chung C, Jia X, et al. Controlled Degradation and Mechanical Behavior of Photopolymerized Hyaluronic Acid Networks. *Biomacromolecules*. 2004;6:386-391.
- [42] 周建新,高峰,桂鉴超,等.组织工程化软骨修复界面整合的体外模型[J].中国组织工程研究,2014,18(27):4324-4329.
- [43] Guo X, Wang C, Duan C, et al. Repair of osteochondral defects with autologous chondrocytes seeded onto bioceramic scaffold in sheep. *Tissue Eng*. 2004;10(11-12):1830-1840.
- [44] Izla I, Aranda P, Sanz-Ramos P, et al. Culture of human bone marrow-derived mesenchymal cells on poly(L-lactic acid) scaffolds: potential application for the tissue engineering of cartilage. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2013; 21(8):1737-1750.
- [45] Gong L, Zhou X, Wu Y, et al. Proteomic analysis profile of engineered articular cartilage with chondrogenic differentiated adipose tissue derived stem cells loaded polyglycolic acid mesh for weight bearing area defect repair. 2014;20(3-4): 575-587.
- [46] Kose GT, Korkusuz F, Korkusuz P, et al. Bone generation on PHBV matrices: an invitro study. *Biomaterials*. 2003;24: 4999-5007.
- [47] Sudesh K. Potential Applications of PHA// Polyhydroxyalkanoates from palm oil: biodegradable plastics. Berlin: Springer. 2013:79-100.
- [48] He Y, Hu Z, Ren M, et al. Evaluation of PHBHHx and PHBV/PLA fibers used as medical sutures. *J Mater Sci Mater Med*. 2014; 25(2):561-571.
- [49] 高天喜,常会敏,范敏杰,等.聚羟基脂肪酸酯的生物修饰及其生物相容性研究[J].中国修复重建外科杂志,2014,28(8):1018-1024.
- [50] Park H, Choi B, Hu J, et al. Injectable chitosan hyaluronic acid hydrogels for cartilage tissue engineering. *Acta Biomater*. 2013;9(1):4779-4786.
- [51] 陆兴,张永红,李二峰,等.羧基丁酸-羧基辛酸聚合物/胶原软骨组织工程支架的细胞亲和性[J].中国组织工程研究, 2014, 18(12): 1895-1900.
- [52] 刘建斌.壳聚糖-明胶/ $\beta$ -磷酸三钙复合体作为组织工程软骨支架材料的实验研究[J].组织工程与重建外科杂志, 2010, 6(6): 319-322.
- [53] Kai D, Prabhakaran MP, Stahl B, et al. Mechanical properties and in vitro behavior of nanofiber-hydrogel composites for tissue engineering applications. *Nanotechnology*. 2012;23(9): 095705.
- [54] Schlichting KE, Copeland JTM, Goodman M, et al. Synthesis of a novel photopolymerized nanocomposite hydrogel for treatment of acute mechanical damage to cartilage. *Acta Biomater*. 2011;7(8):3094-3100.
- [55] 李忠.可注射性壳聚糖/磷酸甘油复合间充质干细胞修复猪关节软骨缺损的可行性研究[D].第三军医大学,2007.
- [56] 薛震,牛丽媛,安刚,等.可注射式纳米羟基磷灰石复合支架与骨髓间充质干细胞修复兔桡骨骨缺损[J].中国组织工程研究, 2015, 19(3):378-383.
- [57] 马勇,陈金飞,张允申,等.可注射性壳聚糖/ $\beta$ -甘油磷酸二钠凝胶复合同种异体软骨细胞修复兔膝关节软骨缺损及威灵仙的干预效应[J].中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(16): 2864-2869.