

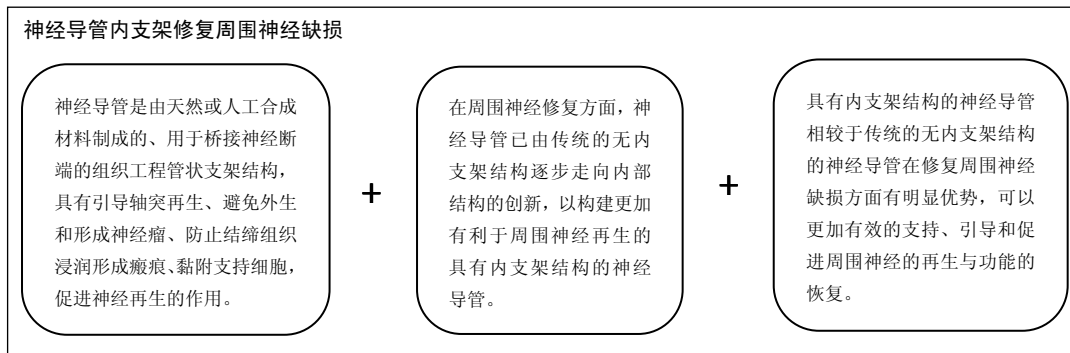
神经导管内支架修复周围神经缺损的研究应用与进展

陈 军, 沈 华(上海交通大学附属第一人民医院整形外科, 上海市 200080)

引用本文: 陈军, 沈华. 神经导管内支架修复周围神经缺损的研究应用与进展[J]. 中国组织工程研究, 2017, 21(8):1273-1279.

DOI:10.3969/j.issn.2095-4344.2017.08.022 ORCID: 0000-0002-8469-2328(陈军)

文章快速阅读:



陈军, 男, 1988年生, 山东省临沂市人, 上海交通大学在读硕士, 主要从事组织工程, 周围神经修复等方面的研究。

通讯作者: 沈华, 副教授, 硕士生导师, 上海交通大学附属第一人民医院整形外科, 上海市 200080

中图分类号:R318
文献标识码:A
文章编号:2095-4344
(2017)08-01273-07
稿件接受: 2016-10-11

文题释义:

天然神经导管材料: 具有生物相容性好、毒副作用少的优点, 并且有利于许旺细胞移动。其主要缺点在于, 这些材料虽然具有与机体极好的生物相容性, 但是这些生物活性材料在缺血后存在管型塌陷、再生不良、吸收瘢痕组织增生及粘连、无法预计的免疫反应、免疫抑制以及制作工艺的繁琐性。当用于临床前, 这类天然材料需要储存相当长的时间, 一般而言, 天然材料在 51 °C 储存 3 周后, 可保持与新鲜时近似的桥接功能, 但随着保存时间和温度的变化, 其内部的降解将影响功能, 典型的天然材料包括静脉管、肌膜。

神经导管内支架: 神经导管内支架是指在传统的神经导管的基础上, 对导管内部结构所作的进一步创新, 如内表面微沟槽化处理, 引入内部置入物, 多层管中管结构, 多管道结构等, 旨在模拟正常神经生长的微环境, 更加精细有效地支持引导和促进神经的再生, 使再生的神经从形态特点和结构功能上更加接近于正常的神经组织。

摘要

背景: 在周围神经修复方面, 神经导管已由传统的无内支架结构逐步走向内部结构的创新, 以构建更加有利于周围神经再生的具有内支架结构的神经导管。因此对于神经导管内部支架结构的全面了解是十分必要的。

目的: 综述近年来神经导管内支架在修复周围神经缺损方面的应用。

方法: 以“nerve conduit/conduits/scaffolds/scaffold/channel/channels, internal scaffolds /scaffold, nerve regeneration/repair, hydrogel, acellularized/ decellularized nerve”或“神经导管, 内支架, 周围神经修复, 凝胶, 去细胞神经”为检索词, 应用计算机分别在 PubMed 数据库和中国知网、万方数据库、中国生物医学文献数据库, 检索 2009 年 1 月至 2015 年 12 月与神经导管内支架相关的文章, 对纳入的 47 篇符合标准的文献进行综述。

结果与结论: 具有内支架结构的神经导管相较于传统的无内支架结构的神经导管在修复周围神经缺损方面有明显优势, 可以更加有效的支持、引导和促进周围神经的再生与功能的恢复, 有些神经导管内支架复合种子细胞、神经营养因子、细胞外基质后修复效果更佳, 甚至与自体神经移植具有相似的修复效果。

关键词:

组织构建; 组织工程; 神经导管; 内支架; 周围神经缺损; 神经再生; 修复

主题词:

生物相容性材料; 周围神经; 支架; 组织工程

基金资助:

上海市科学技术委员会(12DZ1940305)

Tissue-engineered nerve conduits with internal structure in the repair of peripheral nerve defects

Chen Jun, Shen Hua (Department of Plastic Surgery, Shanghai General Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200080, China)

Abstract

BACKGROUND: To enhance peripheral nerve regeneration, the focus on the development of nerve conduits has been shifted from conventional conduits without internal structure to novel conduits with internal structure. Therefore, a comprehensive understanding of the internal structure of nerve conduits is necessary.

Chen Jun, Studying for master's degree, Department of Plastic Surgery, Shanghai General Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200080, China

Corresponding author: Shen Hua, Associate professor, Master's supervisor, Department of Plastic Surgery, Shanghai General Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200080, China

OBJECTIVE: To review the application of tissue-engineered nerve conduits with internal structure in nerve regeneration.

METHODS: A computer-based research of CNKI, WanFang, SinoMed and PubMed databases was performed to retrieve relevant literatures about the tissue-engineered nerve conduits with internal structure published from January 2009 to December 2015, using the keywords of "nerve conduit/conduits/scaffolds/scaffold/channel/channels, internal scaffolds/scaffold, nerve regeneration/repair, hydrogel, acellularized/decellularized nerve" in Chinese and English, respectively. Forty-seven eligible literatures were included for overview.

RESULTS AND CONCLUSION: The novel nerve conduits with internal structure have many advantages over conventional conduits without internal structure, which can support, guide, promote peripheral nerve regeneration and functional recovery, especially, when modified with seed cells, neurotrophic factors or extracellular matrix, can achieve more effective results comparable to autologous nerve grafts.

Subject headings: Biocompatible Materials; Peripheral Nerves; Stents; Tissue Engineering

Funding: a grant from the Shanghai Commission of Science and Technology, No. 12DZ1940305

Cite this article: Chen J, Shen H. Tissue-engineered nerve conduits with internal structure in the repair of peripheral nerve defects. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2017;21(8):1273-1279.

0 引言 Introduction

由于交通意外、创伤或者肿瘤组织的切除及其他一些创伤疾病,均可导致周围神经的缺损,严重的周围神经损伤若不能得到及时有效的修复,将导致神经闭合环路受损,从而引起运动及感觉异常。短距离的神经损伤可采用直接缝合法,若神经损伤较长,直接缝合会导致张力过大,或者无法进行直接缝合,需行神经移植治疗^[1]。就目前的研究来说,自体神经移植仍然是治疗周围神经损伤的金标准,但由于存在供区神经损伤、运动感觉功能障碍、供区痛性神经瘤的形成、移植后运动神经元的丢失、手术时间的增加等问题,限制了自体神经移植方法的使用^[2-3]。组织工程技术以其在治疗神经缺损方面所具有的独特优势越来越受到重视,各种各样的天然生物材料和合成材料应运而生。对于周围神经修复而言,以往的组织工程材料主要停留于构建空腔导管,或腔道内表面未经过形态学修饰的导管,这些神经导管缺乏起到支撑和引导轴突再生作用的内部支架,因此在修复长节段神经缺损时效果不显著^[4]。为了解决这些问题,各种各样的具有内部支架结构的组织工程神经导管被先后设计出来,并且通过体外的细胞实验和体内动物实验验证后,大多数取得了良好的效果,有研究报告在临床上应用亦取得较佳的疗效。文章对神经导管内支架应用进展作一综述。

1 资料和方法 Data and methods

1.1 资料来源 以“nerve conduit/conduits/scaffolds/scaffold/channel/channels, internal scaffolds /scaffold, nerve regeneration/repair, hydrogel, acellularized/decellularized nerve”或“神经导管,内支架,周围神经修复,凝胶,去细胞神经”为检索词,应用计算机分别在PubMed数据库和中国知网、万方数据库、中国生物医学文献数据库检索2009年1月至2015年12月与神经导管内支架相关的文章。

1.2 入选标准

纳入标准: 内容与神经导管修复周围神经缺损密切

相关;涉及神经导管内部支架结构方面的研究。

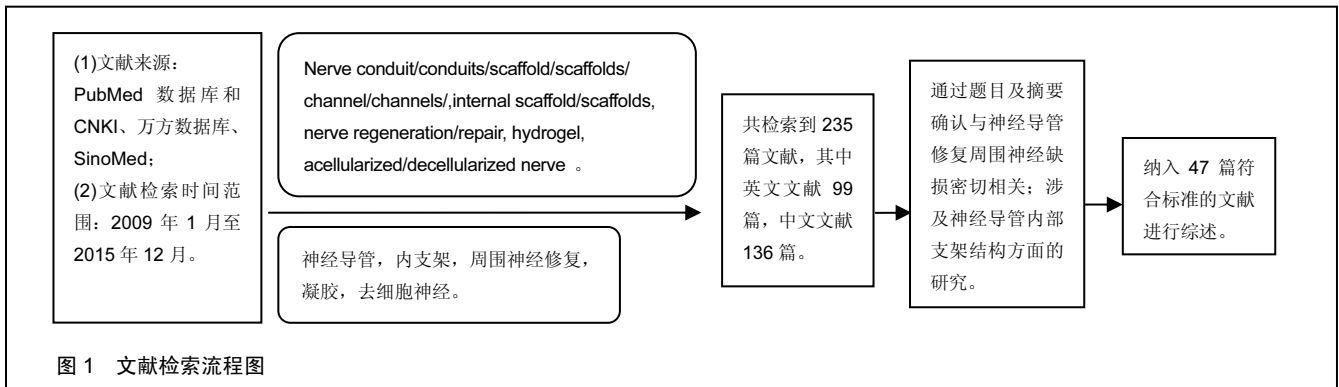
排除标准: 重复性研究,相关性差,或已有更新的研究进展。

1.3 质量评估 计算机共检索到了235篇文章,其中英文文献99篇,中文文献136篇,排除与本文研究目的无关及相关性差的文章,排除研究内容陈旧和重复性的研究,纳入47篇符合标准的文献进行综述。文献检索流程图见图1。

2 结果 Results

2.1 以肌肉作为内支架的组织工程神经导管 脱细胞的肌肉组织置入组织工程导管后,随着时间的推移,肌浆和肌膜可被巨噬细胞清除,剩下肌肉的基底膜将对再生的轴突起引导作用^[5]。李政等^[6]在利用聚乳酸-羟基乙酸神经导管联合自体变性肌桥修复大鼠10 mm神经缺损的实验研究中发现,聚乳酸-羟基乙酸神经导管联合变性肌桥组,无论是大体观察、坐骨神经功能指数测定、腓肠肌湿重恢复率测定,还是组织学观察和图像分析对比等均优于单纯聚乳酸-羟基乙酸导管组。此研究证实了聚乳酸-羟基乙酸神经导管联合化学萃取自体骨骼肌肌桥在修复大鼠坐骨神经缺损方面具有良好的桥梁作用和促神经生长的作用。他们采用的化学萃取法制作的肌肉基底膜管,能模拟形成一种中空网管状结构,且肌肉基底膜含有层粘连蛋白和IV型胶原蛋白,能促进周围神经再生,有助于许旺细胞黏附及轴突沿支架延伸生长。实验中除了肌桥的内支架作用外,聚乳酸-羟基乙酸神经导管还可以将肌桥和神经断端与周围环境进行隔绝,可避免周围组织的压迫和炎症细胞的浸润。

内置肌肉的组织工程支架在修复人的长节段周围神经缺损方面也取得了良好的疗效,Manoli等^[7]通过3种方法即内置肌肉的静脉复合导管、自体神经移植和神经断端直接吻合来评价神经修复效果,他们发现肌肉静脉复合导管组与自体神经移植组的修复效果相似,并且在修复较长节段(30-60 mm)的神经缺损上也取得了满意的效果。此方法中除了肌肉的内支架的载体作用,



静脉作为鞘管也发挥了重要作用, 静脉的外膜富含胶原蛋白和层粘连蛋白, 可以提供新生神经血管再生的微环境。静脉导管既可以对再生神经起引导作用, 又具有防止周围组织长入的作用。Riccio等^[8]报道用内置骨骼肌肌桥的羊膜导管修复人长达50 mm的正中神经缺损, 感觉和运动功能都得到了良好的恢复, 此实验中不仅肌肉起到了内支架作用, 羊膜所富含的层粘连蛋白、胶原、纤连蛋白、多能干细胞和生长因子也发挥了重要作用。

以肌肉作为载体, 复合骨髓基质干细胞可提高周围神经修复效果。Nijhuis等^[9]将大鼠的自体肌肉片段复合骨髓基质干细胞后充填于静脉导管中, 导管取自大鼠自体的左侧颈外静脉, 修复大鼠15 mm的坐骨神经神经缺损。研究发现内置复合骨髓基质干细胞的自体肌肉片段的修复效果要优于不复合细胞组。

虽然充填肌肉的神经导管在修复周围神经缺损方面相较于自体神经具有很多优势, 但是对于充填在导管的中的肌肉是否需要经过变性预处理, 以及变性预处理的流程仍然存在一些问题, 因为这些直接关系到肌肉的降解时间和降解程度, 而肌肉的降解时间和程度直接关系到是否会阻碍再生神经的生长^[10]。

2.2 以神经碎屑作为内支架的组织工程神经导管

Sahin等^[11]利用内置周围神经碎屑的静脉导管修复大鼠10 mm长的胫神经缺损, 在与自体神经移植组和单纯静脉组比较时发现, 内置神经碎屑的静脉导管组的运动功能的恢复, 有髓神经纤维的数量都与自体神经移植组相近, 且具有正常形态的轴突的数量要比单纯静脉导管组多。该实验中填充到静脉导管内的神经碎屑组织具有防止静脉塌陷的作用, 填充的神经碎屑是远端将要进行瓦勒氏变性的部分, 因此不存在供区的损伤。相较于单纯自体神经移植所需要的神经的量, 填充到静脉导管中的神经的量要少。因此可以使用较不重要的区域, 较少的供区神经作为填充物来修复较长节段神经缺损, 从而可以尽可能的减少供区的神经损伤。

Eren等^[12]以复合有血管内皮生长因子或骨髓间充质干细胞的自体周围神经碎屑作为内支架, 填充到静脉导管内, 与单纯静脉导管组对照来修复鼠的16 mm长的腓总神经缺损。结果步态分析、神经电生理学检测和神

经形态学分析都证实复合血管内皮生长因子组的修复效果与自体神经移植组的修复效果类似, 其次是复合间充质干细胞组, 单纯静脉导管组的修复效果最差。他们的实验证实填充有神经碎屑内支架的神经导管可以提高轴突的再生效率, 复合血管内皮生长因子或骨髓间充质干细胞后修复效果更佳。

2.3 以合成的纤维丝或纤维条索作为内支架的组织工程神经导管

2.3.1 以合成的纤维丝作为内支架的组织工程神经导管

神经导管内导入纤维丝支架可以为轴突提供支架, 并引导轴突的生长。Kriebel等^[13]将同向的聚己内酯(PCL)纤维丝包埋进I型胶原基质后, 充填于PCL神经导管内, 与胶质瘤细胞(U373)和鸡胚背根神经节(DRG)混合培养后发现, 包埋在胶原基质导管的纤维丝能够引导许旺细胞的迁移和轴突的生长。

李志跃等^[14]用内置聚乳酸聚羟基乙酸微丝的聚乳酸-羟基乙酸三维神经导管修复大鼠12 mm神经缺损, 并按照导管内纤维丝的数量进行了分组, 分别为20根聚乳酸-羟基乙酸微丝, 40根聚乳酸-羟基乙酸微丝, 并在导管内注入层粘连蛋白和神经生长因子混合液。结果显示内置20根微丝支架的神经导管组修复神经缺损的效果接近于自体神经移植组, 且优于内置40根微丝支架的神经导管组, 此实验证实适量的微丝内支架有利于神经再生, 数量过多的微丝置入反而可能抑制神经再生。研究者认为内层微支架及层粘连蛋白基质有利于许旺细胞黏附爬行, 外源性神经生长因子的注入, 可作为生物活性物质诱导神经轴突再生并沿支架生长, 更接近正常神经的微环境, 但导管内微丝过多可能产生“拥挤”和“空间占位”效应不利于周围神经再生, 同时不利于酸性降解产物的排除。

Ahn等^[15]用左消旋聚乳酸(PLDLA)导管修复大鼠10 mm的神经缺损, 导管内置入左消旋聚乳酸包裹的纤维内支架, 这种纤维内支架是由纳米碳管共价键结合到磷酸盐玻璃纤维复合而成。体外实验显示脊髓背根神经节的轴突能够沿着复合神经纤维生长, 复合了纳米碳管的磷酸盐玻璃纤维能显著促进轴突的生长, 使轴突的长度增加。研究者用此种神经导管修复鼠的10 mm坐骨神经缺损后发现, 再生神经的轴突的数量, 再支配靶肌肉的横截面积

均显著增加, 且神经电生理学检查结果也显著提升。

Hinüber等^[16]设计具有渗透性的以聚-3-羟丁酸(P3HB)为基础的渗透性神经导管, P3HB熔纺纤维填充内腔。他们发现此种导管可以支持神经元的存活和轴突的生长, 导管内置入的纤维能够促进轴突的定向生长, 结合细胞外基质蛋白后更能促进神经节的黏附和细胞的迁移。此实验中, 结合有层粘连蛋白和胶原的熔纺纤维类似于神经内膜的结构。

Cui等^[17]选择与人的面神经解剖相似的猪的面神经作为修复对象, 用内置复合有睫状神经营养因子和碱性成纤维细胞生长因子线性胶原丝状支架的胶原神经导管修复微型猪的35 mm长的面神经缺损, 结果显示复合有两种因子导管组的再生神经纤维的数量和分布, 髓鞘形成和神经功能的恢复均优于复合单一因子组。

2.3.2 以合成的纤维条索束作为内支架的组织工程神经导管 Koh等^[18]用内置聚乳酸-羟基乙酸纤维条索束的神经导管修复大鼠10 mm的坐骨神经缺损。神经导管利用静电纺丝技术做成多孔的双层结构, 内层为定向排列的聚左旋乳酸纳米纤维, 外层为无序的聚左旋乳酸纳米纤维, 导管内腔充填纤维条索束。研究发现, 内置纤维条索束的神经导管组的一些病例在肌肉的重新支配, 感觉功能的恢复方面均优于自体神经移植组, 但再生神经中段的轴突的数量要低于自体神经移植组, 并且将导管壁复合层粘连蛋白以及纤维条索束复合神经生长因子后, 一定程度上可促进神经的再生, 有助于神经缺损的修复。

2.4 以内部凹槽结构作为内支架的组织工程神经导管 导管生物学性能以及与周围组织的相互作用, 是制作导管时需要考虑的重要因素, 当被植入不同的解剖学部位时, 导管会受到不同的生物学力量。对导管进行表面形态学修饰来改变导管的生物学性能和机械力学性能, 提高神经再生的效率, 特别是较长节段(大于30 mm)的神经缺损的神经再生的效率是学者们的一大关注点, 其中一种方法就是对神经导管的内表面进行微沟槽化处理, 而这种方法背后隐藏的规律是“接触导向作用”^[19]。

近年来, 学者们对神经导管内表面微沟槽的形状, 凹槽脊背的宽度, 底部的宽度的设计等方面的问题进行了深入的探索。Mobasser等^[20]对用聚己内酯/聚乳酸(PCL/PLA)做成的表面具有SL型凹槽, V型凹槽, SQ型凹槽的膜片进行了实验研究, 他们发现, 有凹槽的结构有利于细胞的定位, 黏附以及扩散, SL型的效果最好。然而Mobasser等^[21]则发现许旺细胞沿着膜片上的V型和SL型凹槽定向延伸, 未出现交叉现象, 且最长的细胞出现在V型凹槽的膜片上, 但在SQ型凹槽上则不能很好的伸展, 且出现交叉现象。他们在另一项研究中也发现凹槽壁的倾斜角度和凹槽底部的宽度影响NG108-15(一种神经细胞株)细胞的反应, 但斜坡倾斜度的影响更大^[19]。Cai等^[22]的实验也证实, 微槽结构可以促进细胞呈线性定向排列,

引导细胞迁移和分化, 微槽的宽度和深度都对细胞的线性定向排列有重要影响。Yin等^[23]甚至对导管内的几何形状等进行了大量的数据研究, 他们做了一个在具有凹槽的神经导管内生长的轴突的粘弹性模型, 神经导管内的凹槽具有一定的圆周方向上的宽度和径向上的高度, 并且此模型中轴突被看做弹性机械臂, 运用杠杆理论对轴突的延伸、弯曲和扭转等方面的变形与运动进行了深入的研究。他们发现当减少凹槽的宽度和增加凹槽的高度时, 轴突沿导管纵向的延伸也会增加。

Huang等^[24]则是对做成导管的纤维的纤维表面进行微沟槽化处理, 用此种导管修复大鼠的坐骨神经缺损。电生理学、足迹、腓肠肌、免疫组织化学等方面的分析均提示微沟槽化处理后的纤维丝做成的神经导管能促进坐骨神经再生。Huang等^[25]则通过体外实验证实, 聚左旋乳酸纤维丝表面经过微沟槽化处理不仅能够引导许旺细胞的延长和轴突的延伸, 在与许旺细胞和PC12共培养后, 还可引导髓鞘化的轴突沿着纤维表面的微沟槽定向延伸。Zamani等^[26]对利用静电纺丝技术制成导管的纳米纤维丝做成粗糙(多孔和槽)的还是表面光滑的进行了比较, 发现粗糙的纤维丝做成的导管相较于光滑纤维丝做成的导管更能促进神经的生长, 纤维表面结构会对吸收特点以及细胞的黏附和增殖产生影响, 这可能主要是因为增大了可利用的表面积。

2.5 以内层作为内支架的具有多层结构的组织工程神经导管 孙丹丹等^[27]用聚乙丙交酯可降解生物医用纤维和甲壳素无纺布制备了新型编织型神经导管, 导管既有管中管结构又有内支架结构。新型双层编制型神经导管相较于单层神经导管改变了导管的力学性能, 拉伸性能、抗扭转能力较单层导管有一定的提高。导管的内层有较好的通道, 不仅可以引导轴突定向生长还为细胞的黏附和生长提供了良好的载体, 为物质交换提供了适宜的环境。

Uemura等^[28]在双层管壁的基础上又引入了诱导多能干细胞(IPSc)。他们所设计的神经导管外层为由聚左旋丙交酯构成的纤维网, 内层为50%聚左旋丙交酯和50%的聚-ε-己内酯的共聚物构成的海绵状疏松多孔的结构, 将内层管壁复合神经球来源的诱导多能干细胞来修复鼠的5 mm坐骨神经缺损。术后发现复合诱导多能干细胞的一组鼠的运动功能和感觉功能相较于单纯导管组都有了显著的恢复, 组织学分析显示, 复合诱导多能干细胞组导管内轴突的再生和髓鞘化的程度均显著提高。诱导多能干细胞理论上形成畸胎瘤的可能, 但他们的长期观察未发现畸胎瘤的形成。

Kakinoki等^[29]则以聚左旋乳酸为基础, 根据不同的功能需要, 将其与其他的有机物或人工蛋白聚合成不同的聚合物制备出具有3层结构的神经导管。导管的内层由含有25%的类弹性蛋白一层粘连蛋白的人工蛋白(AG73-(VPGIG)30)的聚左旋乳酸纤维静电纺织而成,

起引导轴突再生的作用; 中间层最厚, 由纯聚左旋乳酸纤维静电纺织而成, 具有很好的机械性能可以起到支撑的作用; 外层由含有10%聚乙二醇的聚左旋乳酸纤维静电纺织而成, 具有防止与周围组织粘连的作用。用此种神经导管修复兔的20 mm的胫神经缺损, 术后2个月观察, 周围组织未发生粘连, 并且内层导管内再生神经的动作电位有所提高。

2.6 以内部管道结构作为内支架的神经导管 正常神经结构是由神经外膜, 神经内膜, 神经束膜包裹神经纤维形成的。目前研究中所设计的各种各样的内部具有管道结构的神经导管旨在利用仿生学原理来模拟天然的周围神经结构^[30]。

Tansey等^[31]设计了一种用琼脂糖凝胶做成的多管道结构的神经导管, 导管内部的管道内充填胶原蛋白来修复鼠的坐骨神经10 mm缺损, 修复的效果在组织学水平上与自体神经移植相似。此外, 他们还将其与单腔导管的修复结果进行了对比, 发现用单腔导管修复后, 再生的神经呈单束状, 而内部为多管道结构的神经导管修复后, 再生的神经呈多束状分布, 并且还产生了类似于神经束膜的结构。他们认为多管道结构避免了神经再生过程中紊乱的情况的出现, 防止了轴突之间的相互交叉, 并且胶原可以为轴突再生提供再生的基质。

改进导管结构, 包括增加导管内部微管结构, 以内部微管结构作为支架搭载合适的生长因子从而为神经再生提供营养支持可能是解决限制神经导管发展的一个重要因素。Zeng等^[32]设计了一种模拟正常的神经结构的胶原-壳聚糖神经导管, 内部做成蜂窝状定向排列的管道结构, 并结合搭载有神经生长因子的壳聚糖缓释微球体用来修复雄性SD大鼠15 mm的神经缺损。结果显示以内部的蜂窝状管道结构作为支架, 搭载含有神经生长因子的缓释微球体组实验结果要优于单纯导管组和非微球体组(生长因子未包埋在壳聚糖微球体中)。此种复合型神经导管体外可以缓慢释放神经生长因子28 d, 缓慢释放的机制很可能是搭载有神经生长因子的壳聚糖微球体随着胶原-壳聚糖神经导管的缓慢降解而释放。

新生血管生成不足限制了神经导管在神经修复方面所发挥的作用。自体大网膜不仅具有很好的生物相容性, 不会产生免疫排斥反应, 而且具有很好的形成血管的能力, 可结合神经导管修复长节段的神经缺损。Zhang等^[33]根据大网膜的上述特点对内部多管道结构的胶原-壳聚糖神经导管作了进一步的改进。他们在胶原-壳聚糖神经导管的基础上外包一层大网膜来修复SD大鼠15 mm的坐骨神经缺损。结果显示在轴突的再生和神经功能的恢复上, 大网膜包绕的神经导管组与自体神经移植组相似, 神经导管内多种蛋白质(血管内皮生长因子, 脑源性神经营养因子, 神经生长因子)的水平均高于单纯导管组。修复结果好的原因除了内部导管的蜂窝状结构外, 还可能

与大网膜分泌的蛋白质有关。

Stoyanova等^[34]设计了一种用聚二甲基硅氧烷做成的直径三级递减的神经导管, 并将此导管置于硅胶管中, 用来修复鼠的神经损伤。这种方法可以防止单一导管修复神经缺损时出现的所有神经轴突长成一簇的现象, 这种逐级分开引导的方式可以使再生神经更接近正常神经, 使再生神经在传导时更加精细有效。

不仅导管内部做成微管结构引起了人们的重视, 目前神经导管内部管与管之间间隔部分的微观结构也引起了学者的重视。通过制作工艺的改进和创新可以将导管内部的管道之间的连接部分做成阶梯状, 球状多孔, 纳米纤维状等。管与管之间的连接部分的微观结构对管的机械特性, 营养物质的吸收、神经细胞之间的交流以及神经网络的形成将产生重要的影响^[35]。

近年来, 在制作带有微管的神经导管的工艺方面有了很大的提高, 导管内微管制作的可控性也越来越强, 可以根据需要设定不同的参数, 来改变导管内微管的分布、数量、直径、长度、管壁的厚度以及微管间隔部分的孔隙率等^[36-37]。

2.7 其他类型具有内支架结构的神经导管

2.7.1 以凝胶作为内支架的组织工程神经导管 由于哺乳动物体内没有降解角蛋白的酶, 因此经一定处理后的角蛋白的降解速率是可控的, 较其他的天然蛋白填充物的降解速率慢, 并且角蛋白凝胶充填的神经导管可通过细胞的渗入而被重塑, 可以为神经修复的早期提供临时基质而后期也不会影响神经的再生^[38-39]。Pace等^[38]将角蛋白水凝胶充填于牛I型胶原导管内修复猴的10 mm的正中神经缺损, 而对照组导管内充填无菌生理盐水。角蛋白凝胶填充组再生神经的电生理学结果、组织学结果均优于充填生理盐水组。

Jin等^[40]设计了一种外壁为聚L-丙交酯-co-己内酯共聚物(PLCL)纳米定向纤维, 内部充填胶原/透明质酸复合凝胶的神经导管来修复鼠的10 mm的坐骨神经缺损。结果发现, 充填有胶原/透明质酸复合凝胶的聚L-丙交酯-己内酯神经导管体外能促进感觉神经元轴突的生长, 体内可以促进感觉功能的恢复, 但导管内填充凝胶不能增加运动功能的恢复, 凝胶复合神经因子体外短期内可提高轴突的剂量依赖相关性生长但体内实验未发现明显影响。

Black等^[41]设计了一种以两亲性肽为基础的凝胶(C16GSH gels), 与胶原凝胶相比, 此种凝胶体外更有利于许旺细胞的伸展, 增殖, 迁移, 且鼠的体内实验证实此凝胶具有很好的生物相容性, 生物可降解性, 且支持血管生成, 无炎症反应和异物免疫反应。McGrath等^[42]设计了BDTM PuraMatrixTM 多肽凝胶充填于纤维素超滤膜神经导管内, 与藻酸盐/纤连蛋白凝胶相比修复神经缺损效果更佳, 但无论哪一种凝胶在复合许旺细胞后仅对神经再生的早期起作用, 而对于神经再生远期效果和腓肠肌的恢复

无明显效果。最近Wang等^[43]的一项研究证实, 神经导管内充填复合骨髓基质干细胞的细胞外基质凝胶不但有助于周围神经缺损的修复, 并且修复的效果要优于自体神经移植组。

2.7.2 去细胞神经的天然网状结构作为内支架的组织工程神经导管 去细胞神经天然网状支架呈三维管状立体结构, 将许旺细胞、髓鞘及轴突等抗原物质去除后, 支架的抗原性被降低, 基底膜成分予以保留, 因基底膜所含有的层粘连蛋白、纤维粘连蛋白、胶原、硫酸乙酰肝素蛋白多糖等大分子物质以及多种神经营养因子, 不仅对神经再生有明显的引导和促进作用, 而且可为神经再生构建良好的微环境^[44-45]。Guo等^[46]用同种异体神经修复人的指神经缺损后, 发现患者的感觉功能得到了很好的恢复。近来, 有研究证实去细胞异种神经移植取得了与去细胞同种异体移植相似的效果^[47]。

3 问题与展望 Problems and prospects

从内支架结构的神经导管到具有内支架结构的神经导管是组织工程神经导管发展史上的一个巨大的飞跃, 具有内支架的组织工程神经导管修复周围神经缺损的效果明显优于无内支架结构的组织工程神经导管, 并且在复合种子细胞、神经营养因子、细胞外基质后修复效果更加显著, 组织工程神经导管正以其独特的优势发挥越来越重要的作用。然而, 具有内支架结构的组织工程神经导管的修复效果总体上仍稍逊色于自体神经移植, 基础研究与临床实践的结合有待提升, 只有将基础研究真正的应用到临床实践中才是研究的意义之所在, 因此在以后的研究中应该更加注重基础研究与临床研究的结合。相信随着周围神经再生的机理的进一步揭示, 材料科学的飞速发展, 多学科之间的密切合作, 周围神经修复将不再是一个世界性的难题。

作者贡献: 沈华老师完成文章的方向指导、评估及审校, 陈军完成资料的收集及成文。

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: 未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: 文章经国内小同行外审专家双盲外审, 符合本刊发稿宗旨。

作者声明: 第一作者对于研究和撰写的论文中出现的不良行为承担责任。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。

开放获取声明: 这是一篇开放获取文章, 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。根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享3.0”条款, 在合理引用的情况下, 允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展, 同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献, 并为之建立索引, 用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

4 参考文献 References

- [1] Lokanathan Y, Ng M, Hasan S, et al. Olfactory ensheathing cells seeded muscle-stuffed vein as nerve conduit for peripheral nerve repair: A nerve conduction study. *J Biosci Bioeng.* 2014;118(2):231-234.
- [2] Neal RA, Tholpady SS, Foley PL, et al. Alignment and composition of laminin-polycaprolactone nanofiber blends enhance peripheral nerve regeneration. *J Biomed Mater Res A. Journal of Biomedical Materials Research Part A.* 2012; 100(2):406-423.
- [3] Sabongi RG, Fernandes M, Santos JOBG. Peripheral nerve regeneration with conduits: use of vein tubes. *Neural Regen Res.* 2015;10(4):529-533.
- [4] Li A, Hokugo A, Yalom A, et al. A bioengineered peripheral nerve construct using aligned peptide amphiphile nanofibers. *Biomaterials.* 2014;35(31):8780-8790.
- [5] Hassan NH, Sulong AF, Ng M, et al. Neural-differentiated mesenchymal stem cells incorporated into muscle stuffed vein scaffold forms a stable living nerve conduit. *J Orthop Res.* 2012;30(10):1674-1681.
- [6] 李政, 周明. 神经导管联合自体变性肌桥修复大鼠周围神经缺损的实验研究[J]. *组织工程与重建外科杂志*, 2012, 8(3):146-149.
- [7] Manoli T, Schulz L, Stahl S, et al. Evaluation of sensory recovery after reconstruction of digital nerves of the hand using muscle-in-vein conduits in comparison to nerve suture or nerve autografting. *Microsurgery.* 2014; 34(8):608-615.
- [8] Riccio M, Pangrazi PP, Parodi PC, et al. The amnion muscle combined graft (AMCG) conduits: A new alternative in the repair of wide substance loss of peripheral nerves. *Microsurgery.* 2014; 34(8):616-622.
- [9] Nijhuis THJ, Bodar CWJ, van Neck JW, et al. Natural conduits for bridging a 15-mm nerve defect: Comparison of the vein supported by muscle and bone marrow stromal cells with a nerve autograft. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2013; 66(2):251-259.
- [10] Dornseifer U, Fichter AM, Leichtle S, et al. Peripheral nerve reconstruction with collagen tubes filled with denatured autologous muscle tissue in the rat model. *Microsurgery.* 2011;31(8):632-641.
- [11] Sahin C, Karagoz H, Kulahci Y, et al. Minced Nerve Tissue in Vein Grafts Used as Conduits in Rat Tibial Nerves. *Ann Plast Surg.* 2014;73(5):540-546.
- [12] Eren F, Öksüz S, Kūçūkodacı Z, et al. Targeted mesenchymal stem cell and vascular endothelial growth factor strategies for repair of nerve defects with nerve tissue implanted autogenous vein graft conduits. *Microsurgery.* 2015. doi: 10.1002/micr.22401. [Epub ahead of print].
- [13] Kriebel A, Rumman M, Scheld M, et al. Three-dimensional configuration of orientated fibers as guidance structures for cell migration and axonal growth. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2014;102B:356-365.
- [14] 李志跃, 李际才, 赵群. 聚乳酸聚羟基乙酸共聚物三维神经导管修复周围神经缺损[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2010, 14(34):6313-6318.
- [15] Ahn H, Hwang J, Kim MS, et al. Carbon-nanotube-interfaced glass fiber scaffold for regeneration of transected sciatic nerve. *Acta Biomaterialia.* 2015;13:324-334.
- [16] Hinüber C, Chwalek K, Pan-Montojo FJ, et al. Hierarchically structured nerve guidance channels based on poly-3-hydroxybutyrate enhance oriented axonal outgrowth. *Acta Biomaterialia.* 2014;10(5):2086-2095.

- [17] Cui Y, Lu C, Meng D, et al. Collagen scaffolds modified with CNTF and bFGF promote facial nerve regeneration in minipigs. *Biomaterials*. 2014;35(27):7819-7827.
- [18] Koh HS, Yong T, Teo WE, et al. In vivo study of novel nanofibrous intra-luminal guidance channels to promote nerve regeneration. *J Neural Eng*. 2010;7(4):046003.
- [19] Mobasser SA, Terenghi G, Downes S. Micro-structural geometry of thin films intended for the inner lumen of nerve conduits affects nerve repair. *J Mater Sci Mater Med*. 2013; 24(7):1639-1647.
- [20] Mobasser A, Faroni A, Minogue BM, et al. Polymer Scaffolds with Preferential Parallel Grooves Enhance Nerve Regeneration. *Tissue Eng Part A*. 2015;21(5-6):1152-1162.
- [21] Mobasser SA, Terenghi G, Downes S. Schwann cell interactions with polymer films are affected by groove geometry and film hydrophilicity. *Biomedical Materials*. 2014;9(5):055004.
- [22] Cai L, Zhang L, Dong J, et al. Photocured Biodegradable Polymer Substrates of Varying Stiffness and Microgroove Dimensions for Promoting Nerve Cell Guidance and Differentiation. *Langmuir*. 2012; 28(34):12557-12568.
- [23] Yin J, Coutris N, Huang Y. Numerical study of axonal outgrowth in grooved nerve conduits. *J Neural Eng*. 2012; 9(5):056001.
- [24] Huang C, Ouyang Y, Niu H, et al. Nerve Guidance Conduits from Aligned Nanofibers: Improvement of Nerve Regeneration through Longitudinal Nanogrooves on a Fiber Surface. *ACS Applied Materials & Interfaces*. 2015;7(13):7189-7196.
- [25] Huang WC, Liao JD, Lin CC, et al. Myelinated nerve bundles developed on the plano-concave fibers containing nerve conduit. *J Biomed Mater Res A*. 2012;100(12):3490-3495.
- [26] Zamani F, Amani-Tehran M, Latifi M, et al. The influence of surface nanoroughness of electrospun PLGA nanofibrous scaffold on nerve cell adhesion and proliferation. *J Mater Sci Mater Med*. 2013;24(6):1551-1560.
- [27] 孙丹丹, 陈南梁. 新型编织型神经导管的制备及其性能[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2009, 13(3):505-509.
- [28] Uemura T, Ikeda M, Takamatsu K, et al. Long-Term Efficacy and Safety Outcomes of Transplantation of Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Neurospheres with Bioabsorbable Nerve Conduits for Peripheral Nerve Regeneration in Mice. *Cells Tissues Organs*. 2015;200(1): 78-91.
- [29] Kakinoki S, Nakayama M, Moritan T, et al. Three-layer microfibrillar peripheral nerve guide conduit composed of elastin-laminin mimetic artificial protein and poly(L-lactic acid). *Frontiers in Chemistry*. 2014;2:52.
- [30] Dinis TM, Elia R, Vidal G, et al. 3D multi-channel bi-functionalized silk electrospun conduits for peripheral nerve regeneration. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2015; 41:43-55.
- [31] Tansey KE, Seifert JL, Botterman B, et al. Peripheral Nerve Repair Through Multi-Luminal Biosynthetic Implants. *Ann Biomed Eng*. 2011;39(6):1815-1828.
- [32] Zeng W, Rong M, Hu X, et al. Incorporation of Chitosan Microspheres into Collagen- Chitosan Scaffolds for the Controlled Release of Nerve Growth Factor. *PLoS ONE*. 2014;7(9):e101300.
- [33] Zhang YG, Huang JH, Hu XY, et al. Omentum-Wrapped Scaffold with Longitudinally Oriented Micro-Channels Promotes Axonal Regeneration and Motor Functional Recovery in Rats. *PLoS One*. 2011;12(6):e29184.
- [34] Stoyanova II, van Wezel RJ, Rutten WL. In vivo testing of a 3D bifurcating microchannel scaffold inducing separation of regenerating axon bundles in peripheral nerves. *J Neural Eng*. 2013;10(6):066018.
- [35] Zeng C, Xiong Y, Xie G, et al. Fabrication and Evaluation of PLLA Multichannel Conduits with Nanofibrous Microstructure for the Differentiation of NSCs In Vitro. *Tissue Eng Part A*. 2014; 20(5-6):1038-1048.
- [36] Tran RT, Choy WM, Cao H, et al. Fabrication and characterization of biomimetic multichanneled crosslinked-urethane-doped polyester tissue engineered nerve guides. *J Biomed Mater Res A*. 2014;102(8):2793-2804.
- [37] Lynam D, Bednark B, Peterson C, et al. Precision microchannel scaffolds for central and peripheral nervous system repair. *J Mater Sci Mater Med*. 2011;22(9):2119-2130.
- [38] Pace LA, Plate JF, Mannava S, et al. A Human Hair Keratin Hydrogel Scaffold Enhances Median Nerve Regeneration in Nonhuman Primates: An Electrophysiological and Histological Study. *Tissue Eng Part A*. 2014;20(3-4):507-517.
- [39] Hill PS, Apel PJ, Barnwell J, et al. Repair of Peripheral Nerve Defects in Rabbits Using Keratin Hydrogel Scaffolds. *Tissue Eng Part A*. 2011;17(11-12):1499-1505.
- [40] Jin J, Limburg S, Joshi SK, et al. Peripheral Nerve Repair in Rats Using Composite Hydrogel-Filled Aligned Nanofiber Conduits with Incorporated Nerve Growth Factor. *Tissue Eng Part A*. 2013;19(19-20):2138-2146.
- [41] Black KA, Lin BF, Wonder EA, et al. Biocompatibility and Characterization of a Peptide Amphiphile Hydrogel for Applications in Peripheral Nerve Regeneration. *Tissue Eng Part A*. 2015;21(7-8):1333-1342.
- [42] McGrath AM, Novikova LN, Novikov LN, et al. BD™ PuraMatrix™ peptide hydrogel seeded with Schwann cells for peripheral nerve regeneration. *Brain Research Bulletin*. 2010;83(5):207-213.
- [43] Wang Y, Li ZW, Luo M, et al. Biological conduits combining bone marrow mesenchymal stem cells and extracellular matrix to treat long-segment sciatic nerve defects. *Neural Regen Res*. 2015;10(6):965-971.
- [44] 管树军, 王伟, 李岩. 冻融联合优化化学法制备粗大去细胞同种异体神经[J]. *中国组织工程研究*, 2015, 19(12):1914-1918.
- [45] 曹荣龙, 李长宇, 张相彤. 去细胞坐骨神经天然支架的成分分析[J]. *中国组织工程研究*, 2012, 16(8):1367-1370.
- [46] Guo Y, Chen G, Tian G, et al. Sensory recovery following decellularized nerve allograft transplantation for digital nerve repair. *J Plast Surg Hand Surg*. 2013; 47(6):451-453.
- [47] Wang W, Itoh S, Takakuda K. Comparative study of the efficacy of decellularization treatment of allogenic and xenogeneic nerves as nerve conduits. *J Biomed Mater Res A*. 2015;104(2): 445-454.