

聚乙烯亚胺在骨组织工程中的研究进展和应用前景

黄艺轩¹, 杜斌², 刘铮², 袁鑫玮¹, 席洪钟¹, 郭铭滨¹, 麦健斌¹<https://doi.org/10.12307/2023.137>

投稿日期: 2022-03-14

采用日期: 2022-05-23

修回日期: 2022-06-22

在线日期: 2022-07-20

中图分类号:

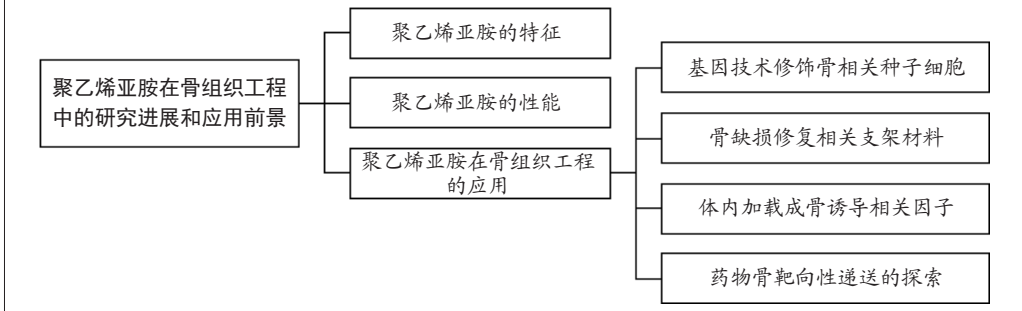
R459.9; R363; R364

文章编号:

2095-4344(2023)16-02563-08

文献标识码: A

文章快速阅读: 聚乙烯亚胺在骨组织工程中的应用



文题释义:

聚乙烯亚胺:是一种有机高分子聚合物,具有丰富的阳离子表面电荷,因此赋予此类聚合物易修饰性、易吸附性、抗菌活性和具备质子海绵效应的特点。目前聚乙烯亚胺已经在石油、纺织、化工和生物医药领域得到广泛的应用。

质子海绵效应:指材料吸收大量氢质子的能力。当该材料进入酸性环境的溶酶体后大量吸收H⁺,为达到电荷平衡,质子泵不断泵入质子的同时Cl⁻内流,导致溶酶体的渗透压大于细胞质内,溶酶体吸水破裂后载药材料释放到细胞质中实现溶酶体逃逸。

摘要

背景:聚乙烯亚胺作为一种阳离子聚合物,目前在医学的诸多领域已得到广泛的研究,凭借自身丰富的胺基基团和阳离子电荷,使其具备易修饰性和静电吸附性,这些特性运用于骨组织工程中,具有潜在的优势与前景。

目的:总结目前聚乙烯亚胺在骨组织工程的研究进展,并且对其用于骨组织工程中的应用前景作了讨论与展望。

方法:检索2000年1月至2022年3月PubMed、Web of Science、中国知网及万方数据库中相关文献,英文检索词:“polyethyleneimine, bone tissue engineering, bone tissue regeneration, bone tissue repair, regenerative medicine, drug delivery”;中文检索词:“聚乙烯亚胺、骨组织工程、骨组织再生、骨组织修复、再生医学、药物递送”,最终纳入57篇文献进行综述分析。

结果与结论:①基于基因技术利用聚乙烯亚胺与成骨相关基因形成的复合物是一种高效的基因载体,能够诱导种子细胞表达成骨相关的细胞因子,促进成骨分化;通过与不同基因进行修饰,可以在不影响聚乙烯亚胺转染效率的同时尽可能的降低对间充质干细胞等种子细胞的毒性,但是对于DNA和聚乙烯亚胺链的长度、聚乙烯亚胺的电荷密度、结构和化学修饰以及氮/磷酸盐等关键参数未达成共识。②聚乙烯亚胺作为表面涂层或直接与支架材料形成复合物制备的骨缺损修复支架,在支架的生物相容性、降解速率、孔隙大小和机械强度方面均有优化;同时聚乙烯亚胺及其衍生物应用于骨缺损修复支架可以赋予支架抗菌性和增强促血管生成的能力。③体内加载成骨诱导因子方面,聚乙烯亚胺搭载的成骨诱导因子基因在体外细胞实验中具有高效的转染能力,负载在支架上植入骨缺损动物模型体内则能提升支架的生物相容性,具有理想的骨缺损修复效果,并且未有严重的不良反应报道,但是对于基因的异位插入及促成骨蛋白的异位表达仍然是目前存在的问题。④为实现药物骨靶向递送,聚乙烯亚胺凭借自身丰富的可修饰基团,成为了靶头与药物载体之间连接的“桥梁”。⑤基于双磷酸盐类、刺激响应性系统及生物素亲和素系统的药物靶向递送方式向骨修复支架靶向持续递送促成骨的药物目前尚未见报道,但聚乙烯亚胺目前在药物递送领域的应用提供了实现该想法的可能,未来值得进一步探索。

关键词:聚乙烯亚胺;阳离子聚合物;骨组织工程;骨再生;骨修复;基因治疗;再生医学;药物递送

Research progress and application prospect of polyethyleneimine in bone tissue engineering

Huang Yixuan¹, Du Bin², Liu Xin², Yuan Xinwei¹, Xi Hongzhong¹, Guo Mingbin¹, Mai Jianbin¹

¹Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China; ²Department of Orthopedics and Traumatology, Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Huang Yixuan, Master candidate, Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Corresponding author: Du Bin, Professor, Chief physician, Doctoral supervisor, Department of Orthopedics and Traumatology, Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Abstract

BACKGROUND: As a cationic polymer, polyethyleneimine has been widely studied in many fields of medicine. With its rich amino and cationic charges, it has

¹南京中医药大学附属医院,江苏省南京市 210029; ²南京中医药大学附属医院骨伤科,江苏省南京市 210029

第一作者:黄艺轩,男,1997年生,甘肃省天水市人,汉族,南京中医药大学附属医院在读硕士,主要从事骨与关节病研究。

通讯作者:杜斌,教授,主任医师,博士生导师,南京中医药大学附属医院骨伤科,江苏省南京市 210029

<https://orcid.org/0000-0003-1464-9073>(黄艺轩); <https://orcid.org/0000-0002-0582-0601>(杜斌)

基金资助:国家自然科学基金面上项目(82074471),项目负责人:杜斌;国家自然科学基金青年基金(81804117),项目负责人:刘铮

引用本文:黄艺轩,杜斌,刘铮,袁鑫玮,席洪钟,郭铭滨,麦健斌.聚乙烯亚胺在骨组织工程中的研究进展和应用前景[J].中国组织工程研究,2023,27(16):2563-2570.



the ability of easy modification and electrostatic adsorption, which has potential advantages and prospects for application in bone tissue engineering.
OBJECTIVE: To summarize the research progress of polyethyleneimine in bone tissue engineering, and discuss and explore its development prospect in bone tissue engineering.

METHODS: Relevant articles were searched on PubMed, Web of Science, CNKI, and Wanfang databases from January 2000 to March 2022 with the search terms of "polyethyleneimine, bone tissue engineering, bone tissue regeneration, bone tissue repair, regenerative medicine, drug delivery" in English and Chinese. Finally, 57 articles were included for analysis.

RESULTS AND CONCLUSION: (1) The complex formed by polyethyleneimine and osteogenic genes based on gene technology is an efficient gene carrier, which can induce seed cells to express osteogenic cytokines and promote osteogenic differentiation. Modification with different groups can reduce the toxicity to seed cells such as mesenchymal stem cells as much as possible without affecting the transfection efficiency of polyethyleneimine. However, no consensus was reached on the key parameters such as the length of DNA and polyethyleneimine chains, charge density of polyethyleneimine, structure and chemical modification, and nitrogen/phosphate. (2) Polyethyleneimine has been optimized in the aspects of biocompatibility, degradation rate, pore size and mechanical strength of the scaffold as a surface coating or a composite prepared directly with the scaffold material. Meanwhile, the application of polyethyleneimine and its derivatives in bone defect repair scaffolds can give the antibacterial activity of scaffolds and enhance the ability of promoting angiogenesis. (3) In terms of *in vivo* loading of osteogenic inducible factor, the osteogenic inducible factor gene carried by polyethyleneimine had efficient transfection ability *in vitro* cell experiments. When loaded on the scaffold and implanted into the bone defect animal model, the biocompatibility of the scaffold could be improved, and the bone defect repair effect was ideal, and no serious adverse reactions were reported. However, ectopic gene insertion and promoting ectopic expression of bone protein are still existing problems. (4) In order to achieve targeted drug bone delivery, polyethyleneimine is a "bridge" between target and drug carrier with its abundant modifiable groups. (5) The targeted drug delivery method based on bisphosphonates, stimulus response system and biotin avidin system has not been reported yet, but the current application of polyethyleneimine in the field of drug delivery provides the possibility of realizing this idea, which is worth further exploration.

Key words: polyethyleneimine; cationic polymers; bone tissue engineering; bone regeneration; bone repair; gene therapy; regenerative medicine; drug delivery

Funding: General Project of National Natural Science Foundation of China, No. 82074471 (to DB); National Natural Science Foundation of China (Youth Fund), No. 81804117 (to LX)

How to cite this article: HUANG YX, DU B, LIU X, YUAN XW, XI HZ, GUO MB, MAI JB. Research progress and application prospect of polyethyleneimine in bone tissue engineering. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2023;27(16):2563-2570.

0 引言 Introduction

因创伤、肿瘤和退行性改变造成的骨缺损发病率逐年上升^[1], 因此自体骨、同种异体骨是目前最常用的骨缺损植入物。但自体骨和同种异体骨移植仍然受限于诸多问题, 如移植骨来源的匮乏、移植骨的感染和排斥反应等^[2]。随着骨组织工程学的发展, 模仿骨的物理强度和化学成分的仿生支架材料不断涌现^[3], 展现出潜在的临床应用能力。然而骨组织工程仍然存在许多问题尚未解决, 限制了目前在临床方面的应用, 如支架材料的降解性和机械性之间的平衡、种子细胞表面黏附不佳、生长因子活性和利用率低及血管化困难等诸多问题。

聚乙烯亚胺作为非病毒基因载体的代表, 已经在基因递送领域作为评判其他基因载体转染效率的黄金标准; 同时聚乙烯亚胺是目前已知最高阳离子电荷密度的阳离子聚合物, 丰富的胺基团使其具有较强的可修饰性。凭借这些特点, 在利用基因工程修饰成骨相关种子细胞及对骨缺损修复支架材料的改进方面展现出了巨大的潜力, 但同时因为这些特性带来了如细胞毒性、制备困难等问题。随着新的化学制备技术的发展, 因为聚乙烯亚胺自身特点所带来的细胞毒性等问题逐渐得到改善; 结合支架材料的最新发展, 聚乙烯亚胺在修饰骨缺损修复支架材料方面也取得新的突破。

文章首先介绍聚乙烯亚胺的基本情况, 然后介绍基于聚乙烯亚胺的基因技术在修饰骨相关种子细胞的最新研究, 再进行聚乙烯亚胺修饰骨缺损修复支架材料目前的进展和药物骨靶向递送的可行性探讨, 最后对该综述的意见和局限性等进行讨论。

1 资料和方法 Data and methods

1.1 资料来源

1.1.1 检索人及检索时间 第一作者在 2022 年 3 月进行检索。

1.1.2 检索文献时限 2000 年 1 月至 2022 年 3 月。

1.1.3 检索数据库 PubMed、Web of Science、中国知网和万方数据库。

1.1.4 检索词 英文检索词: "polyethyleneimine, bone tissue engineering, bone tissue regeneration, bone tissue repair, regenerative medicine, drug delivery", 中文检索词: "聚乙烯亚胺、骨组织工程、骨组织再生、骨组织修复、再生医学、药物递送"。

1.1.5 检索文献类型 研究原著和综述。

1.1.6 检索策略 以 PubMed 和中国知网数据库文献检索策略为例, 见图 1。

PubMed 数据库	中国知网数据库
#1 Polyethyleneimine [Mesh]	#1 聚乙烯亚胺
#2 Polyethyleneimine [Title/Abstract]	#2 骨组织工程
#3 #1 OR #2	#3 骨修复
#4 bone tissue engineering [Title/Abstract]	#4 骨再生
#5 bone tissue regeneration [Title/Abstract]	#5 再生医学
#6 bone tissue repair [Title/Abstract]	#6 药物递送
#7 regenerative medicine [Title/Abstract]	#7 #1 in 主题
#8 drug delivery [Title/Abstract]	#8 #2 in 主题
#9 #4 OR #5 OR #6 OR #7 OR #8	#9 #3 in 主题
#10 #3 AND #10	#10 #4 in 主题
	#11 #4 in 主题
	#12 #5 in 主题
	#13 #6 in 主题
	#14 #7 OR #8 OR #9 OR #10 OR
	#11 OR #12 OR #13
	#15 #1 AND #14

图 1 | 中英文数据库检索策略图

1.1.7 检索文献量 初检得到中英文文章 676 篇, 其中英文 602 篇, 中文 74 篇。

1.2 入组标准

1.2.1 纳入标准 ①与聚乙烯亚胺相关的高质量文献; ②有关聚乙烯亚胺在骨组织工程应用中的高质量文献; ③聚乙烯亚胺在药物靶向递送系统中应用的高质量文献; ④优先选择与主题相关性高、证据充足、数据明确及实验结果可靠的文献。

1.2.2 排除标准 ①与研究内容符合度低的文章; ②重复和相似的数据; ③数据不完整、实验可靠性差的文章; ④非中文、英文类文章; ⑤ Meta 分析类文章。

1.3 文献质量评估和数据提取 计算机初步检索得到 676 篇文章, 通过阅读文章题目和摘要筛选出 91 篇文章; 剔除重复文章、实验设计不可靠、数据不完整的文献, 最终纳入 57 篇文献进行综述, 见图 2。

2 结果 Results

2.1 聚乙烯亚胺的特征 聚乙烯亚胺是由乙烯亚胺在酸性环境下

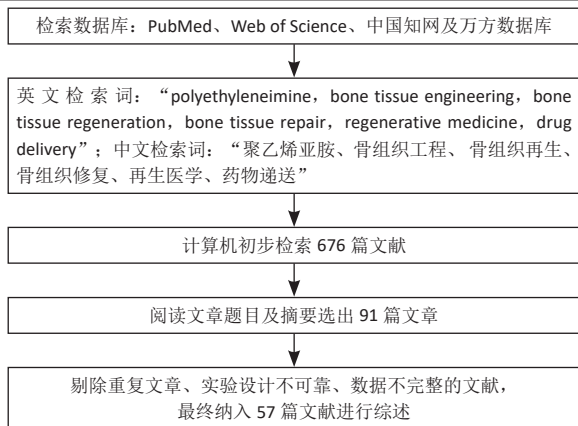


图 2 | 文献筛选流程图

聚合得到一种水溶性阳离子聚合物。根据结构分为线性和支链化两种，线性聚乙烯亚胺胺基团均为伯胺，支链聚乙烯亚胺有比例为 1 : 2 : 1 的伯胺及仲胺、叔胺基团^[4]，以及侧链基团大量的活泼氢，使其具有阳离子活性。

2.2 聚乙烯亚胺的性能 聚乙烯亚胺最突出的特点是丰富的胺基基团及每 3 个原子就有一个能够质子化的氮原子，因此聚乙烯亚胺具有以下性能：①易修饰性：丰富的胺基基团赋予其较强的可修饰性，利用聚乙烯亚胺对其他物质表面进行改性，使其表面功能化；②易吸附性：阳性表面电荷增强细胞黏附、增殖的能力^[5]，同时可以通过静电作用吸附核苷酸；③具有质子海绵效应：当聚乙烯亚胺进入细胞内被溶酶体吞噬后，溶酶体内的酸性环境使得聚乙烯亚胺吸收大量质子，导致 Cl⁻ 离子内流，渗透压失衡后溶酶体破裂，将内吞的载体和携带的药物/基因释放到细胞质内而不被破坏^[6]；④具有抗菌性：季铵化的聚乙烯亚胺通过与细菌体之间强静电作用，穿透细胞壁，破坏细胞膜。

2.3 聚乙烯亚胺在骨组织工程的应用 因为廉价易制备的特性，聚乙烯亚胺已经被广泛用于污水处理、造纸工业、纤维纺织工业、化妆品、石油开采和生物医药等众多领域。尤其是在医学领域中，聚乙烯亚胺已在生物工程、基因治疗、影像学对比剂和纳米荧光探针等方面得到广泛研究^[7-10]。

2.3.1 基因技术修饰骨相关种子细胞 骨组织工程中常见的种子细胞包括成骨细胞、骨髓基质细胞、间充质干细胞及胚胎干细胞。为了让种子细胞更好地黏附于支架并且成骨分化，需要多种生长因子的调控。目前治疗骨缺损领域已经有包括骨形态发生蛋白 (bone morphogenetic protein, BMP)、转化生长因子 β (transforming growth factor-β, TGF-β)、成纤维细胞生长因子 (fibroblast growth factor, FGF) 和血小板衍生因子 (platelet-derived growth factor, PDGF) 等在内的多种生长因子，其中骨形态发生蛋白 2 已经是科学界广泛共识的能诱导胚胎骨生长和成人骨修复的重要生长因子^[11]。但单纯的生长因子存在提取困难、半衰期短，需大剂量反复使用，且价格较贵的问题。利用基因载体通过将诱导成骨相关基因导入到种子细胞进行调节自身分化并实现持续的骨修复已经是研究热点，借此可以实现长效、高效的成骨因子的释放^[12]。聚乙烯亚胺自身自带的大量正电荷和可修饰的胺基基团，与带负电荷的核酸产生带正电荷的复合物，然后复合物与带负电荷的细胞膜相接处，通过胞吞或非胞吞作用的途径进入细胞中。根据目前的“质子海绵效应”假说，不但能够保护遗传物质不被降解而且相比于其他阳离子聚合物载体提高转染效率、降低细胞毒性。质子海绵效应机制图见图 3。

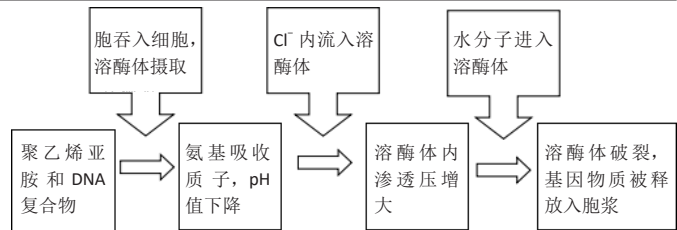


图 3 | 质子海绵效应机制图

BOUSSIF 等^[13]最早实现利用聚乙烯亚胺进行基因的转染，在随后的发展中，聚乙烯亚胺衍生物更好地提升其转染的性能。聚乙烯亚胺通过静电作用将 DNA 或 RNA 凝聚成稳定的聚合物^[14]，分子质量越高转染效率越大^[15]，但细胞毒性也越大，相对分子质量 25 000 的聚乙烯亚胺是迄今为止最有效的基因传递阳离子聚合物之一。基因的转染效应与毒性之间的矛盾也是聚乙烯亚胺研究中不得不考虑的问题^[16]，克服此障碍至关重要。

近年来，通过对聚乙烯亚胺的修饰在降低细胞毒性方面取得了许多令人振奋的成果。目前可以通过 3 种方法实现。一种是通过使用可降解基团将低分子量的聚乙烯亚胺组装成高分子量聚乙烯亚胺，在转染之后降解成低分子量的低毒聚乙烯亚胺；高度支化的聚乙烯亚胺形成更小的复合物，而且能获得更高的转染效率^[17]。另一种方法是利用其他分子基团对低分子量的聚乙烯亚胺进行修饰，以提高其转染效率。根据文献报道，聚乙烯亚胺经过与壳聚糖、葡聚糖、环糊精等碳水化合物；或者亮氨酸、组氨酸、精氨酸和酪氨酸等氨基酸类的修饰后比未修饰的聚乙烯亚胺更高效和安全^[18]。TONG 等^[19]利用低分子量聚乙烯亚胺与 β- 环糊精设计了一种新的多链质粒递送剂聚乙烯亚胺 600-β- 环糊精；相比于未修饰的相对分子质量 25 000 的聚乙烯亚胺不但降低了细胞毒性，同时明显提高了骨髓间充质干细胞对基因载体的吞噬效率。LIU 等^[20]则制备了壳聚糖-低分子量聚乙烯亚胺载体来评价该载体的安全性和转染效率。在近几年的发展中，研究者提出了采用将 2 种方法结合的方式开发新的基因载体复合物。ZHAO 等^[21]通过对低分子量聚乙烯亚胺与壳聚糖的修饰，并用可逆交联性的二硫键连接，不但进一步降低了毒性，而且在还原性的环境中二硫键的断裂促进 DNA 的释放，提高了转染效率；成骨分化方法也优于单纯的聚乙烯亚胺和壳聚糖。有团队设计了通过可生物降解的二硫键使低分子量聚乙烯亚胺交联，并用酪氨酸修饰；体外实验证实与未修饰或单一修饰相比增强了转染效率并具有良好的生物相容性^[15]，见表 1。

此外，不同于其他组织修复，在骨修复的过程中，环境中的 Ca²⁺ 发挥了不可或缺的作用，并且直接与骨组织工程的种子细胞相关^[24]。ACRI 等^[25]首次确定了当培养基中 Ca²⁺ 的浓度在 8-12 mmol/L 时对用聚乙烯亚胺-pDNA 复合物转染骨髓间充质干细胞产生积极影响。因此，相比于优化转染细胞的方法，探讨细胞外环境如何影响这些转染方式也是另一种值得研究的思路。

综上所述，聚乙烯亚胺的应用提高了种子细胞转染诱导其表达生长因子的效率，避免重复注射相关因子，更有利于干细胞向成骨的分化，加速了新生骨的形成，并且通过进一步的修饰降低了复合物的细胞毒性。虽然聚乙烯亚胺已经在许多的报道中成功使用，但对于遗传物质递送的关键参数仍缺乏共识：DNA 和聚乙烯亚胺链的长度、聚乙烯亚胺的电荷密度、结构和化学修饰以及氮/磷酸盐等均会影响聚乙烯亚胺介导的 DNA 递送。同时像上文合成的较大复合物是如何被细胞摄取并裂解释放质粒 DNA 的过程尚不明确，因此这类复合物的大小、形态都需要进一步的探索。

表 1 | 修饰骨相关种子细胞体外实验研究汇总表

第一作者	发表年份	运载体类型	转运物质	种子细胞	细胞毒性	转染效率	主要结论
TONG ^[19]	2013	聚乙烯亚胺 (600 Da)-β-环糊精	pBMP-2、pBMP-7	人肺癌细胞系、大鼠骨髓间充质干细胞	聚乙烯亚胺 600-β 环糊精的毒性大于聚乙烯亚胺 600 Da, 小于聚乙烯亚胺 25 kDa	聚乙烯亚胺 600-β-CD 与聚乙烯亚胺 25 kDa 无差异, 显著高于聚乙烯亚胺 600 Da	聚乙烯亚胺 600-β-环糊精相比于聚乙烯亚胺 25 kDa 在保证相同的转染效率下, 降低了细胞毒性
ZHAO ^[21]	2013	CS-ss-LMW 聚乙烯亚胺 (1 000 Da)	pCl-neo-BMP2pGL3、pEGFP-N1	骨髓间充质干细胞、人脐血间充质干细胞	CS-ss- 聚乙烯亚胺低于对照组聚乙烯亚胺, 与 CS 相当; 当 LMW 聚乙烯亚胺组增加时, 细胞毒性相应增加	基因表达随着聚乙烯亚胺比重的增加而增加, 然后逐渐趋于平稳	在成骨方面, CS-ss-LMWPE 介导的 BMP2 基因载体在体外对成骨细胞和间充质干细胞的细胞毒性小、转染效率高、对成骨分化有明显的影
LIU ^[20]	2018	CS- 聚乙烯亚胺 1 200 Da	pGL3、TGF-β、CXCR-4	人肺癌细胞系、大鼠骨髓间充质干细胞、斑马鱼胚胎	CS- 聚乙烯亚胺 1 200 Da 毒性远低于未修饰的聚乙烯亚胺	N/P 为 40 : 1 时, CS- 聚乙烯亚胺 1 200 Da 显著高于聚乙烯亚胺 25 kDa	TGF-β 和 CXCR4 基因表达具有诱导成骨和改变骨髓间充质干细胞迁移能力; CS- 聚乙烯亚胺 1 200 Da 是性能良好的运载体
HOSSEINPOUR ^[22]	2021	介孔二氧化硅-聚乙烯亚胺	miRNA-26a-5p	大鼠骨髓间充质干细胞	经过聚乙烯亚胺修饰的介孔二氧化硅细胞生存率低于未修饰的聚乙烯亚胺	经过聚乙烯亚胺修饰的介孔二氧化硅细胞显著促进骨髓间充质干细胞的成骨分化	介孔二氧化硅-聚乙烯亚胺纳米复合体有效地将 miRNA-26a-5p 模拟物导入大鼠骨髓间充质干细胞
WANG ^[23]	2017	聚乙烯亚胺-mTAT	pBMP-2	人脐血间充质干细胞	聚乙烯亚胺-mTAT 在人对人脐血间充质干细胞没有明显毒性, 明显优于聚乙烯亚胺 25 kDa	与聚乙烯亚胺 25 kDa 对照相比转染效率更高	聚乙烯亚胺-mTAT 是一种高转染效率、低细胞毒性的基因载体

表注: pBMP-2 为携带骨形态发生蛋白 2 基因的质粒; β-CD 为 β-环糊精; ss 为二硫键; TGF-β 为转化生长因子 β; CXCR-4 为趋化性细胞因子受体 4; CS 为壳聚糖; miRNA 为微小 RNA; mTAT 为一种由组氨酸、半胱氨酸组成的肽链; LMW 为低分子量

2.3.2 骨缺损修复相关支架材料 应用于骨组织工程学的支架材料包括天然支架材料、人工合成的无机和有机高分子材料、复合支架材料。但由于骨组织不同于其他组织的结构, 理想的支架材料应有以下特点: ①较好的生物相容性; ②彻底的生物降解性; ③足够的骨细胞攀附孔隙; ④降解速率与骨再生速率匹配; ⑤足够的支持强度。由于骨组织结构特殊性^[26], 没有一种单一材料能完全符合要求, 研究者们对其进行一系列修饰改性的研究。凭借聚乙烯亚胺自身特性, 目前应用于提高支架结构、性能、抗菌性和促血管化方面。

支架材料的修饰: 在生物相容性方面, 为了使种子细胞黏附在支架上, 目前常用的方法是将细胞悬液直接滴加到支架表面, 虽然简便, 但存在接种率低、分布不均匀的问题, 这严重影响组织工程骨的质量。人工合成有机材料支架聚乳酸 (polylactic acid, PLA) 及其衍生物目前研究最为广泛, 但因为表面活性和亲水性低及细胞黏附性差限制了其在骨组织工程学中的运用。氨解是一种能促进细胞附着和增殖的技术, 并且随后可以进行其他化学处理。聚乙烯亚胺通过的氨基与聚左旋乳酸 (L-polylactic acid, PLLA) 的酯基反应, 引入游离的氨基, 可以增加亲水性并提高细胞黏附的效率^[21]。GUO 等^[27]首次以聚乙烯亚胺为改性剂, 利用氨解结合热诱导相分离技术制备了新的 PLLA 纳米纤维支架, 成骨细胞的增殖性能明显优于单纯 PLLA 支架。

在支架的降解速率方面, 支架的降解速率理想中应与骨组织细胞的生长速率同步, 目前金属支架虽然力学性能较好, 但降解速率并不理想。针对这一问题, 目前已有聚乙二醇、聚乳酸、聚乳酸-羟基乙酸共聚物 [poly(L-glutamic acid), PLGA] 被用作涂层材料来调整降解速率。GOREJOVÁ 等^[28]在铁金属泡沫表面涂层上首次应用聚乙烯亚胺, 旨在加快铁金属支架的降解速率, 并研究该涂层对支架的机械性能和生物相容性的影响; 最后得出聚乙烯亚胺涂层可以加快降解速度, 并且能够提高机械性和骨细胞攀附性同时不影响生物稳定性。

在支架孔隙方面, 支架的孔隙为骨细胞的生长提供空间, 孔隙密集不利于骨细胞的长入, 过于稀疏则影响力学性能。因此, ZIMINSKA 等^[29]开发出的聚乙烯亚胺-聚丙烯酸 (polyacrylic acid, PAA)- 纳米黏土涂层在开孔的聚氨酯泡沫模板上进行了逐层组装, 旨在平衡泡沫板较高的机械性能和较低的孔隙率与涂层

厚度之间的关系, 该研究结果表明, 逐层组装技术的涂层在获得与松质骨相同的力学性能时孔隙率可 > 70%。

在支架的机械强度方面, 理想的支架材料应具有足够的机械强度以满足骨组织力学性能的要求。生物活性玻璃作为第 3 代骨修复材料存在力学性能中表现一般的问题, 不能适合高负荷应用。AGHAYAN 等^[30]开发出的 70Si30Ca 生物活性玻璃-聚乙烯亚胺的新型多功能无机-有机杂化物, 通过观察不同添加不同浓度的三甲氧基硅烷, 在聚乙烯亚胺和二氧化硅网络之间建立化学相互作用, 从而提高力学性能和控制降解速度, 促进骨向植入物内生长, 增强骨组织与植入物的结合强度。聚乙烯亚胺在骨缺损修复相关支架材料的应用具体见表 2。

表 2 | 聚乙烯亚胺在骨缺损修复相关支架材料的应用

第一作者	发表年份	支架材料	聚乙烯亚胺的作用	结论及意义
GUO ^[27]	2019	PLLA- 聚乙烯亚胺支架	增强支架诱导成骨的能力	经聚乙烯亚胺改性后的 PLLA 支架比单纯 PLLA 支架具有更强的诱导磷灰石形成的能力; 并且能促进支架表面的细胞增殖, 具有良好的细胞相容性
GOREJOVÁ ^[28]	2022	铁金属泡沫- 聚乙烯亚胺	聚乙烯亚胺涂层加快降解速度; 增强了机械性能; 不影响原材料的细胞相容性; 提高高细胞的黏附性能	虽然聚乙烯亚胺涂层在多方面提高了支架的性能, 但因加速降解后降解产物的释放量增高, 增加了细胞毒性和溶血率。目前还需进一步优化整体生物学性能
ZIMINSKA ^[29]	2019	聚乙烯亚胺 / PAA / 聚乙二醇 / 纳米黏土复合涂层 + 聚氨酯泡沫模板	通过静电作用使涂层吸附到模板表面	涂层的厚度与机械性能直接相关, 当达到 116QL 时获得与松质骨相同的机械强度和硬度, 并有 73.1% 的高孔隙率; 最后一层使用 PAA 热交联覆盖时可避免聚乙烯亚胺的细胞毒性
WANG ^[31]	2021	壳聚糖- 硅土- 聚乙烯亚胺水凝胶支架	通过静电作用吸附蛋白质; 提高支架的生物相容性	经聚乙烯亚胺修饰后硅藻土加入壳聚糖- 聚乙烯亚胺水凝胶支架的生物相容性提高了 26.15%; 缓释了骨形态发生蛋白 2 的释放; 增强了细胞相容性; 5% 聚乙烯亚胺添加量能促进细胞生长, 10% 则发生轻微的细胞毒性
AGHAYAN ^[30]	2021	生物活性玻璃- 聚乙烯亚胺	与二氧化硅之间形成氢键, 提高机械性能; 提供抗菌性能	无机- 有机复合材料具有良好的机械强度、抗菌性、生物相容性; 无明显细胞毒性。调整键合剂浓度能提升机械强度和成骨活性

表注: PLLA 为聚左旋乳酸; PAA 为聚丙烯酸

支架材料的抗菌性能: 组织工程研究中如何有效抑制局部细菌的滋生是必须面对的问题,如慢性牙周炎因为细菌侵入导致周围组织炎症致使牙周骨组织丧失、吸收和牙齿松动,使用组织工程骨支架成为了修复缺损的可行方案。虽然人工材料的机械性能和耐磨性都有较大提高,但他们的抗菌性能仍然有限,而且还有可能积累更多的细菌^[32]。在一些报道中,季胺化的疏水聚乙烯亚胺已经被用作杀菌涂层材料,其原理是能够穿透细菌的细胞膜,从而杀死细菌。BEYTH等^[33]研究了季胺化聚乙烯亚胺与复合树脂支架结合后的抗菌活性和机械强度,采用琼脂扩散实验、直接接触实验、淋洗液中细菌生长实验和透射电镜观察等方法检测其对变形链球菌的抗菌活性,发现该材料有至少维持1个月的抗菌活性,并且添加质量分数1%的季胺化聚乙烯亚胺纳米粒子对牙科复合材料的弯曲模量和弯曲强度没有影响,并未改变材料的力学性能。相比于小分子季胺盐类抗菌剂,高分子季胺盐具备更强的抗菌能力,而且季胺化聚乙烯亚胺在静电作用下能与菌体之间形成强烈的吸附作用,抗菌效率进一步提升。然而,单一功能的抗菌材料不能满足理想骨缺损植入物具备的良好生物相容性和生物活性,近几年双功能骨修复材料成为了新的发展方向。朱敏闻等^[34]通过静电纺丝技术,在鱼胶原中加入了1800 Da 聚乙烯亚胺制备了一种引导组织再生膜接种骨髓间充质干细胞上,结果表明这种鱼胶/聚乙烯亚胺电纺膜与单纯鱼胶原电纺膜相比不但具有极强的抗菌能力而且有良好的成骨能力。SUN等^[35]则利用乙二胺功能化聚甲基丙烯酸缩水甘油酯刷将钛植入物表面进行季胺化聚乙烯亚胺和阿仑膦酸盐功能化,结果表明,新的植入物具备早期抑制细菌感染,后期增强与骨组织整合的能力。这些双功能材料为今后的抗菌骨缺损植入物提供了新的设计与开发的思路。

支架材料的血管化: 大面积的骨缺损因为供血不足,而导致移植骨难以存活。因此目前骨组织工程学不得不面对的一个问题就是血管化的问题。目前主要以4种途径来提高血管化的效率:包括了血管内皮细胞和种子细胞的联合培养^[36];应用血管内皮生长因子等生长因子促进血管的形成^[37];通过显微技术移植筋膜瓣;肌肉瓣和血管束等促进血管的形成^[38];将外源性的基因移植入种子细胞中^[39]。聚乙烯亚胺在这方面目前文献报道中,依然多以基因治疗的方式来提高血管化水平。除此之外,因聚乙烯亚胺表面丰富的表面阳离子电荷,在HADJIZADEH等^[40]制备的聚对苯二甲酸乙二酯纤维支架上,加入乙醛等离子体表面功能化之后,通过细胞黏附性实验证明乙醛和聚乙烯亚胺涂层增强了内皮细胞的黏附性,这也可能和聚乙烯亚胺能够在培养环境中吸附血清中的蛋白质,使得细胞摄取有关。GIGLIOLIBANCO等^[41]更进一步报道了一种电纺支架,通过聚乙烯亚胺聚阳离子和聚丙烯酸聚阴离子的多层聚合物设计不但有助于细胞的黏附和生长,而且通过ELISA实验证明相比于单纯的聚乙烯亚

胺-肝素涂层更有利于结合血管内皮生长因子的能力;植入到鸡绒毛膜尿囊膜中,涂层支架显示出了较强的血管生成活性。但是该设计缺乏对支架表面涂层稳定性的进一步研究。因此,聚乙烯亚胺结合其他材料制备的复合材料支架在促进细胞成骨分化、内皮细胞的黏附生长等方面是未来的发展方向。

2.3.3 体内加载成骨诱导相关因子 在HUANG等^[42]首次报道聚乙烯亚胺作为基因载体在修复骨缺损应用以来,随着成骨相关基因片段和支架材料种类的不断丰富,聚乙烯亚胺基因载体复合物在对于诱导种子细胞成骨分化的能力以及骨缺损修复的能力在不断被得到验证^[13, 42-45]。基因激活基质是基因转染的一种方式,由基因载体和支架材料构成。不同于上文介绍的体外转染,体内转染法使通过含有生长因子基因的基因激活基质直接植入骨缺损部位,相对较简单,并且减少了污染的风险。聚乙烯亚胺的应用不但增强了对遗传物质的保护,而且提高了成骨相关细胞的转染效率。KHORSAND等^[46]设计了由胶原基质(外层)和纤维蛋白基质(内层)组成的双层支架,将封装有胰岛素和维生素D3的PLGA颗粒植入内层;周围包绕含有聚乙烯亚胺-p(BMP-2+pFGF-2)的基因活化基质中,植入到糖尿病大鼠的腰椎区域;实验证明搭载胰岛素和维生素D3药物的成骨能力优于单纯支架植入物。ACRI等^[47]进一步确定当pBMP-2:pFGF-2为5:3时可获得最佳成骨性能。

除了传统的质粒基因载体外,近几年研究热门外泌体凭借自身阴离子能屏蔽部分聚乙烯亚胺,从而降低细胞毒性^[48-49]。LIANG等^[48]利用外泌体与搭载pBMP-2的聚乙烯亚胺负载到脱钙骨基质支架上。OU等^[43]则未选择促进生长因子表达的质粒DNA,而是选择目前新的热门发展方向microRNA-214抑制剂促进成骨分化;同时将氧化石墨烯纳米片与聚乙烯亚胺的结合实现了miRNA抑制剂的缓释释放。聚乙烯亚胺在骨缺损动物体内实验时间脉络图如图4所示,近3年具体应用进展如表3中所示。

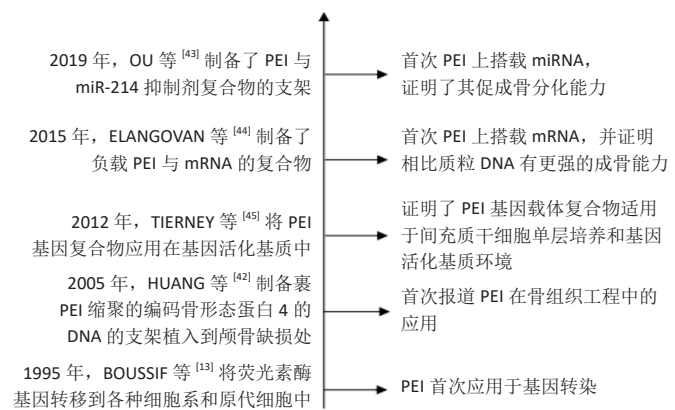


图4 | 基于聚乙烯亚胺(PEI)在体内加载成骨诱导因子的研究时间脉络图

表3 | 聚乙烯亚胺在骨缺损动物体内实验具体应用汇总

第一作者	发表年份	支架材料	运载体	基因	植入部位	生物相容性	结论及意义
OU ^[43]	2019	丝素蛋白/羟基磷灰石	聚乙烯亚胺+外泌体	miRNAs-214抑制剂	大鼠颅骨缺损	石墨烯-聚乙烯亚胺的质量浓度<40 g/L时,对细胞无明显的毒性	该研究证明了以丝素/羟基磷灰石支架、石墨烯-聚乙烯亚胺为高效、可控释放的载体搭载miRNA-214抑制剂具有良好的成骨能力
LIANG ^[48]	2020	脱钙骨基质支架	聚乙烯亚胺+外泌体	BMP-2	兔股骨髁部缺损	结合外泌体的聚乙烯亚胺组细胞死亡率明显低于无外泌体组	该研究提出了一种基于外泌体的基因活化脱钙基质支架,是有前途的骨替代材料
KHORSAND ^[46]	2020	胶原基质+纤维蛋白基质	聚乙烯亚胺+质粒	BMP-2+FGF-2	糖尿病大鼠腰椎	血液生化指标未见明显异常	该研究证明在糖尿病大鼠模型中支架搭载胰岛素、维生素D3有利于骨缺损的修复
ACRI ^[47]	2021	胶原海绵	聚乙烯亚胺+质粒	BMP-2+FGF-2	大鼠颅骨缺损	未提及	该研究确定了聚乙烯亚胺-pBMP-2和聚乙烯亚胺-pFGF-2复合体的最佳比例;展现SBF矿化骨基质在骨组织工程应用的价值
CHAKKA ^[49]	2021	3D打印PLA支架	聚乙烯亚胺+质粒	VEGF	大鼠颅骨缺损	PLA-PDA-聚乙烯亚胺-pVEGF支架细胞增殖能力明显优于单纯PLA支架	该研究证明了PLA-PDA-聚乙烯亚胺-pVEGF的3D打印骨再生支架材料的潜在应用价值

表注: BMP-2为骨形态发生蛋白2; FGF-2为成纤维细胞生长因子2; PDA为聚多巴胺; VEGF为血管内皮生成因子; PLA为聚乳酸; miRNA为微小核糖核酸

但对于体内转染来说,靶蛋白在其他组织细胞的异位表达和靶细胞内基因的异位插入均阻碍了成骨相关因子基因的正常表达,是目前亟待解决的问题。

2.3.4 药物骨靶向性递送的探索 目前虽然有许多方法实现支架上负载药物的缓控释技术,但是仍受限于载药量以及骨缺损修复周期长等多种因素的影响,植入后不能重新加载药物或生物制剂。例如在股骨坏死中骨修复及整合的过程较长,研究表明至少3-6个月的免负重期内均为骨修复-整合期;然而支架植入30 d后,药物释放和支架降解速率存在不同步的问题影响了成骨能力,后期骨修复和骨整合的速度明显减缓^[50]。因此探索一种体外持续给药系统的方法可以较好解决上述问题。考虑到骨组织血运和结构的特殊性,维持有效的药物浓度而且不会对其其他组织细胞产生毒性,药物递送系统的靶向性同样非常重要。

自从“骨靶向”概念被研究者们提出以来,双膦酸盐类得到广泛的研究^[51],以双膦酸盐类作为靶头可以去识别和结合羟基磷灰石。FORTE团队^[52]用聚乙烯亚胺修饰羟基磷灰石得到了表面带有正电荷的功能化羟基磷灰石晶体,从而促进了带负电的双膦酸盐类以物理方式吸附配合原有的化学吸附的方式固定在其表面,并调控了双膦酸盐类的释放。利用这一成果,可以将聚乙烯亚胺修饰过的羟基磷灰石作为支架材料,并有待开发出一种以双膦酸盐类作为修饰聚合物的药物载体,靶向递送药物的输送系统。最近,PLESSELOVA等^[53]报道了一种三元偶联聚合物的设计,即聚乙烯亚胺-BPS-环糊精;环糊精内的疏水空腔可搭载疏水药物阿霉素,非共价键结合的方式不会影响运载药物的药理活性;并且聚乙烯亚胺同时连接了乙烯基磺官能化的靶向配体双膦酸盐和药物载体环糊精。该研究证明了聚乙烯亚胺作为不同材料之间充当“桥梁”的角色,同时连接双膦酸盐作为靶向配体和环糊精作为药物载体。对于羟基磷灰石支架材料,开发一种结合双膦酸盐制备的药物载体,是否具备对支架的靶向药物释放性能,这为研究者提供了新的思路 and 方向。

除了利用双膦酸盐类递送骨靶向药物外,利用生理病理环境或外部施加环境的智能相应性递送系统也值得研究。DUAN等^[54]制备的一种纳米载体聚乙烯亚胺-超顺磁性氧化铁纳米颗粒向关节炎输送治疗性siRNA,在体外实验中诱导特异性基因沉默,外加磁场可以使siRNA在关节局部积累并提高疗效。GONG等^[55]同样介绍了聚乙烯亚胺、右旋糖酐及氧化铁纳米颗粒合成的磁性基因载体,在体外磁场环境中将miR302b的质粒转染到骨肉瘤细胞中。在此基础上设想,如果制备出一种磁性支架,通过磁驱动吸引结合在磁性纳米颗粒的基因和药物,则磁性颗粒药物载体从而可以实现靶向递送。通过利用聚乙烯亚胺修饰磁性颗粒表面,使其表面氨基化,可以实现接枝其他载药聚合物。例如AEINEH等^[56]利用聚乙烯亚胺和谷胱甘肽开发出一种新型的pH敏感性的表面功能化磁性纳米颗粒,表面聚乙烯亚胺层的氨基与谷胱甘肽的羧基反应形成酰氨键;姜黄素最终通过氢键和/或偶极-偶极相互作用被加载到磁性纳米颗粒中,可用于在酸性环境下姜黄素的靶向传递;体外释放分析中,所制备的磁性纳米颗粒在酸洗介质(pH 5.5)比中性介质(pH 7.4)中药物释放总量高43%;并且流式细胞仪证明了利用聚乙烯亚胺与细胞表面的阴离子蛋白多糖来增加细胞摄取。但目前尚未有利用体内磁性支架吸引磁性纳米颗粒的文献报道,因为药物的释放和药物活性的改变仍然是最大的问题和挑战。

生物素-亲和素体系是一种理想的分子识别模型,之间可以产生非常稳定的非共价键相互作用。在BRICOUT等^[57]设计的具有聚多巴胺涂层的铬钴(CoCr)支架,通过聚乙烯亚胺使多巴胺表面胺基化;利用偶联反应将亲和素接枝到CoCr-聚多巴胺-

聚乙烯亚胺表面,生物素化的抗凝药EP224283实现了支架表面的固定;在抗凝活性试验中,聚多巴胺-聚乙烯亚胺-亲和素组与单纯裸露的CoCr组比较,前者具有更显著的抗FXA活性,这说明抗凝药EP224283被有效地接枝到CoCr样品上,且不影响药物活性;血小板黏附实验也证实该装置对血小板的活化有抑制作用。该心血管领域的支架设计有一定的启发,是否能利用生物素-亲和素系统将促成骨的药物靶向固定在体内支架表面,同时确保药物活性?这值得进一步的研究。

3 讨论 Discussion

3.1 既往他人该领域研究的贡献和存在的问题 该文章主要从骨组织工程3个要素:基因技术修饰骨相关种子细胞、缺损修复相关支架材料、体内加载成骨诱导相关因子方面论述了聚乙烯亚胺在这些领域的研究进展。现在研究表明,在诱导骨分化相关因子的基因递送载体中,经修饰后的聚乙烯亚胺复合载体具有较高的转染效率和相对较低的细胞毒性,在转染成骨相关的种子细胞中已经是非病毒载体的代表。同时随着新型复合材料支架的出现,聚乙烯亚胺不但能够增强材料的机械性能、提高生物相容性、抗菌性方面发挥作用,而且通过静电作用将其他涂层材料和支架材料更好的结合,同时促进骨细胞和蛋白质的黏附。

在体内加载骨诱导因子中,现在的研究证明了搭载复合聚乙烯亚胺载体支架植入骨缺损中均表现出了良好的成骨能力,并且生物相容性好,未报道有明显的不良反应。虽然在骨缺损修复中聚乙烯亚胺以取得了不同程度的研究,但所获得的结果背后真正的机制及代谢途径并不完全清楚,一定程度上限制了聚乙烯亚胺向临床应用的转换;同时在研发载体过程中复合载体的关键参数仍缺乏共识。同时,在体内转染没有长期研究,对于聚乙烯亚胺复合载体基因递送后可能产生的异位骨化和诱发肿瘤等目前尚未见报道。在药物骨靶向治疗骨缺损的探索中,目前相关文献较少。基于骨肿瘤和其他组织的递送系统是否可应用于骨缺损中需要解决许多问题,如是否骨缺损中存在区别于其他组织的微环境可以指导药物的靶向释放;对于骨靶向药物的活性、毒理学和在骨内代谢分布的具体情况。

3.2 作者综述区别于他人他篇的特点 聚乙烯亚胺作为一种阳离子聚合物,其表面具有大量的阳离子电荷,具有易修饰、易吸附、质子海绵效应和抗菌性的特性,目前未有文章在骨相关领域聚乙烯亚胺的应用进行综述。该文基于聚乙烯亚胺的特性,围绕骨诱导、骨修复阐述了其目前在骨组织工程中的初步探究,其可以利用基因技术修饰骨相关种子细胞,提升了诱导成骨分化相关基因的转染效率,显著地促进成骨细胞的分化;也可以用在修复缺损支架的改进中,增强支架的力学强度、生物相容性、细胞黏附性,并作为中介连接不同材料或涂层;在骨缺损动物体内实验中,基于聚乙烯亚胺的基因载体负载在不同材料的支架上促进了成骨分化,而且生物相容性好,无明显不良反应,对骨缺损的修复效果明显。此外,可以期待将聚乙烯亚胺应用在药物骨靶向递送中,促进骨缺损部位精准、持续的给药成为可能,为治疗缺损等相关疾病打开新的大门,推动骨组织工程的发展。

3.3 综述的局限性 文章主要列举了聚乙烯亚胺基因递送载体、支架材料在成骨方面的效果,未对具体的制备过程进行系统论述;对于药物骨靶向递送的可能进行探索,但对于具体问题的解决办法未讨论;对于在研究动物模型中加载支架的修复机制、毒理学及药代动力学等目前研究尚不透彻。因此,聚乙烯亚胺的应用均在实验研究阶段,未有临床研究进行。

3.4 综述的重要意义 文章总结了聚乙烯亚胺在骨诱导基因的递送方面研究成果, 讨论了近几年聚乙烯亚胺在骨缺损修复材料中的应用, 阐述了在动物模型体内的最新研究成果, 探讨基于聚乙烯亚胺新的药物骨靶向递送系统, 这为未来利用聚乙烯亚胺在骨组织工程领域进行研究提供了新的思路。

3.5 结论及展望 随着聚乙烯亚胺修饰的工艺不断提高, 通过低分子聚乙烯亚胺之间或与其他基团组合的方式实现了降低聚乙烯亚胺对于成骨相关种子细胞的毒性、提升转染效率、促进成骨分化的目的。同时随着新型材料和涂层技术的不断涌现, 聚乙烯亚胺作为表面涂层或直接与支架材料形成的复合物在机械强度、生物相容性、孔隙大小和降解速率方面均可提升成骨的效果, 并且植入物的抗菌性能和促血管生成方面比原材料更适合骨缺损的修复。在体内加载成骨诱导相关因子的研究中, 聚乙烯亚胺搭载含有成骨相关基因能促进成骨分化, 促进骨向植入物内生长, 增强骨组织与植入物的结合强度。

近几年有研究报道采用与外泌体结合的方式更降低了聚乙烯亚胺基因复合体的毒性。在药物骨靶向递送领域, 聚乙烯亚胺凭借自身丰富的可修饰基团, 目前在骨靶体与促成骨药物载体之间扮演“桥梁”的角色, 实现了不同功能分子之间的连接。基于双磷酸盐类、刺激响应性系统及生物素亲和素系统的药物靶向递送方式向骨修复支架靶向持续递送促成骨的药物目前尚未见报道, 但聚乙烯亚胺目前的在药物递送领域的应用提供了实现该想法的可能, 值得进一步探索。需要注意的是, 作为一种阳离子聚合物, 聚乙烯亚胺不同的结构、电荷密度、修饰方式对于其成骨基因转染性能、促成骨种子细胞毒性等均有不同程度的影响, 且在修复过程中的代谢途径并未清楚, 限制了其在临床的应用。

因此, 研究聚乙烯亚胺在种子细胞和骨组织中的代谢途径、复合材料的生物相容性仍然是目前的重难点。未来在对聚乙烯亚胺在细胞内和体内的作用机制方面进行更深入的研究, 是基于聚乙烯亚胺的骨组织工程应用于临床骨缺损修复的重要前提和保障。

作者贡献: 文章设计者为杜斌和刘铮。资料收集者为黄艺轩、袁鑫玮、郭铭滨和麦健斌。数据分析者为席洪钟。黄艺轩撰写论文。杜斌和刘铮审核。

利益冲突: 文章的全部作者声明, 在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。

开放获取声明: 这是一篇开放获取文章, 根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享 4.0”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。

版权转让: 文章出版前全体作者与编辑部签署了文章版权转让协议。

出版规范: 文章撰写遵守了《系统综述和荟萃分析报告规范》(PRISMA 声明)。文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行 3 次查重。文章经小同行外审专家双盲外审, 同行评议认为文章符合期刊发稿宗旨。

4 参考文献 References

- [1] MORE N, KAPUSETTI G. Piezoelectric material-a promising approach for bone and cartilage regeneration. *Med Hypotheses*. 2017;108:10-16.
- [2] WINKLER T, SASS FA, DUDA GN, et al. A review of biomaterials in bone defect healing, remaining shortcomings and future opportunities for bone tissue engineering: the unsolved challenge. *Bone Jt Res*. 2018; 7(3):232-243.
- [3] YANG Y, SONG X, LI X, et al. Recent progress in biomimetic additive manufacturing technology: from materials to functional structures. *Adv Mater*. 2018;30(36):1706539.

- [4] AMARA M, KERDJOUJ H. Modification of the cation exchange resin properties by impregnation in polyethyleneimine solutions: application to the separation of metallic ions. *Talanta*. 2003;60(5): 991-1001.
- [5] 吴慎剑, 刘源岗, 王士斌. PEI 用于磁性纳米颗粒载药及联合载药抗肿瘤的研究进展 [J]. *材料导报*, 2015, 29(13):89-92, 111.
- [6] 刘云, 潘杰, 董伟, 等. 半乳糖基化壳聚糖-聚乙烯亚胺递送 siRNA 对肝癌耐药细胞 BEL7402/5-Fu 中 MRE11 表达的影响 [J]. *中国组织工程研究*, 2017, 21(6):934-939.
- [7] HUSSAIN Z, PEI R. Necessities, opportunities, and challenges for tympanic membrane perforation scaffolding-based bioengineering. *Biomed Mater Bristol Engl*. 2020. doi:10.1088/1748-605X/abcf5d.
- [8] HONG SJ, AHN MH, SANGSHETTI J, et al. Sugar alcohol-based polymeric gene carriers: synthesis, properties and gene therapy applications. *Acta Biomater*. 2019;97:105-115.
- [9] ZHU J, LI H, XIONG Z, et al. Polyethyleneimine-coated manganese oxide nanoparticles for targeted tumor PET/MR imaging. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2018;10(41):34954-34964.
- [10] ZHANG B, DUAN Q, LI Y, et al. A “Turn-on” fluorescent probe for glutathione detection based on the polyethylenimine-carbon dots-Cu²⁺ system. *J Photochem. Photobiol B*. 2019;197:111532.
- [11] WANG X, LI Y, HAN R, et al. Demineralized bone matrix combined bone marrow mesenchymal stem cells, bone morphogenetic protein-2 and transforming growth factor-β3 gene promoted pig cartilage defect repair. *PLoS One*. 2014;9(12):e116061.
- [12] 俞莉敏, 马俊轩, 李继云, 等. 稳定表达人骨形态发生蛋白 2 基因骨组织工程种子细胞的构建 [J]. *中国组织工程研究*, 2017, 21(17): 2722-2728.
- [13] BOUSSIF O, LEZOUALC HF, ZANTA MA, et al. A versatile vector for gene and oligonucleotide transfer into cells in culture and in vivo: polyethylenimine. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1995;92(16):7297-7301.
- [14] BRONICH T, KABANOV AV, MARKY LA. A thermodynamic characterization of the interaction of a cationic copolymer with DNA. *J Phys Chem B*. 2001;105(25):6042-6050.
- [15] KARIMOV M, APPELHANS D, EWE A, et al. The combined disulfide cross-linking and tyrosine-modification of very low molecular weight linear PEI synergistically enhances transfection efficacies and improves biocompatibility. *Eur J Pharm Biopharm*. 2021;161:56-65.
- [16] KHORSAND B, ELANGOVAN S, HONG L, et al. A comparative study of the bone regenerative effect of chemically modified RNA encoding BMP-2 or BMP-9. *AAPS J*. 2017;19(2):438-446.
- [17] JIANG HL, ISLAM MA, XING L, et al. Degradable polyethylenimine-based gene carriers for cancer therapy. *Curr Chem Cham*. 2017;375(2):34.
- [18] KUBCZAK M, MICHLEWSKA S, KARIMOV M, et al. Unmodified and tyrosine-modified polyethylenimines as potential carriers for siRNA: biophysical characterization and toxicity. *Int J Pharm*. 2022;614:121468.
- [19] TONG H, WANG C, HUANG Y, et al. Polyethylenimine600-β-cyclodextrin: a promising nanopolymer for nonviral gene delivery of primary mesenchymal stem cells. *Int J Nanomedicine*. 2013;8:1935-1946.
- [20] LIU M, ZHANG L, ZHAO Q, et al. Lower-molecular-weight chitosan-treated polyethyleneimine: a practical strategy for gene delivery to mesenchymal stem cells. *cellular physiology and biochemistry. Cell Physiol Biochem*. 2018;50(4):1255-1269.
- [21] ZHAO X, LI Z, PAN H, et al. Enhanced gene delivery by chitosan-disulfide-conjugated LMW-PEI for facilitating osteogenic differentiation. *Acta Biomater*. 2013;9(5):6694-6703.
- [22] HOSSEINPOUR S, CAO Y, LIU J, et al. Efficient transfection and long-term stability of Rno-miRNA-26a-5p for osteogenic differentiation by large pore sized mesoporous silica nanoparticles. *J Mater Chem*. 2021; 9(9):2275-2284.

- [23] WANG Y, YOU C, WEI R, et al. Modification of human umbilical cord blood stem cells using polyethylenimine combined with modified TAT peptide to enhance BMP-2 production. *BioMed Res Int.* 2017; 2017:2971413.
- [24] ATLURI K, SEABOLD D, HONG L, et al. Nanoplex-mediated codelivery of fibroblast growth factor and bone morphogenetic protein genes promotes osteogenesis in human adipocyte-derived mesenchymal stem cells. *Mol Pharm.* 2015;12(8):3032-3042.
- [25] ACRI T M, LAIRD NZ, GEARY SM, et al. Effects of calcium concentration on nonviral gene delivery to bone marrow-derived stem cells. *J Tissue Eng Regen Med.* 2019;13(12):2256-2265.
- [26] REZNIKOV N, BILTON M, LARI L, et al. Fractal-like hierarchical organization of bone begins at the nanoscale. *Science.* 2018;360(6388): eaa02189.
- [27] GUO R, CHEN S, XIAO X. Fabrication and characterization of poly (ethylenimine) modified poly (l-Lactic acid) nanofibrous scaffolds. *J Biomater Sci Polym.* 2019;30(16):1523-1541.
- [28] GOREJOVÁ R, ORIŇAKOVÁ R, MACKO J, et al. Electrochemical Behavior, Biocompatibility and Mechanical Performance of Biodegradable Iron with PEI Coating. *J Biomed. Mater Res A.* 2022;110(3):659-671.
- [29] ZIMINSKA M, CHALANQUI MJ, CHAMBERS P, et al. Nanocomposite-coated porous templates for engineered bone scaffolds: a parametric study of layer-by-layer assembly conditions. *Biomed Mater Bristol Engl.* 2019;14(6):065008.
- [30] AGHAYAN M, ALIZADEH P, KESHAVARZ M. Multifunctional polyethylene imine hybrids decorated by silica bioactive glass with enhanced mechanical properties, antibacterial, and osteogenesis for bone repair. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2021;131:112534.
- [31] WANG X, LI Y, REN W, et al. PEI-Modified Diatomite/chitosan composites as bone tissue engineering scaffold for sustained release of BMP-2. *J Biomater Sci Polym Ed.* 2021;32(10):1337-1355.
- [32] STERZENBACH T, HELBIG R, HANNIG C, et al. Bioadhesion in the oral cavity and approaches for biofilm management by surface modifications. *Clin Oral Investig.* 2020;24(12):4237-4260.
- [33] BEYTH N, YUDOVIN-FARBER I, BAHIR R, et al. Antibacterial activity of dental composites containing quaternary ammonium polyethylenimine nanoparticles against streptococcus mutans. *Biomaterials.* 2006;27(21): 3995-4002.
- [34] 朱敏闻, 孙兵, 李志耀, 等. 增强成骨及抗菌性能的鱼胶原 / 聚乙烯亚胺电纺膜用于牙周组织修复 [J]. *组织工程与重建外科*, 2021, 17(2):102-107.
- [35] SUN Y, ZHAO YQ, ZENG Q, et al. Dual-functional implants with antibacterial and osteointegration-promoting performances. *ACS Appl Mater Interfaces.* 2019;11(40):36449-36457.
- [36] BOULAND C, PHILIPPART P, DEQUANTER D, et al. Cross-talk between mesenchymal stromal cells (MSCs) and endothelial progenitor cells (EPCs) in bone regeneration. *Front Cell Dev Biol.* 2021;9:674084.
- [37] LI Y, LIU Y, BAI H, et al. Sustained release of VEGF to promote angiogenesis and osteointegration of three-dimensional printed biomimetic titanium alloy implants. *Front Bioeng Biotechnol.* 2021;9: 757767.
- [38] YANG YP, GADOMSKI BC, BRUYAS A, et al. Investigation of a prevascularized bone graft for large defects in the ovine tibia. *Tissue Eng Part A.* 2021;27(23-24):1458-1469.
- [39] WANG XT, LIU PY, TANG JB. PDGF gene therapy enhances expression of VEGF and BFGF genes and activates the NF- κ B gene in signal pathways in ischemic flaps. *Plast. Reconstr Surg.* 2006;117(1):129.
- [40] HADJIZADEH A. Acetaldehyde plasma polymer-coated PET fibers for endothelial cell patterning: chemical, topographical, and biological analysis. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2010;94(1):11-21.
- [41] GIGLIOBIANCO G, CHONG CK, MACNEIL S. Simple surface coating of electrospun Poly-L-Lactic acid scaffolds to induce angiogenesis. *J Biomater Appl.* 2015;30(1):50-60.
- [42] HUANG YC, SIMMONS C, KAIGLER D, et al. Bone regeneration in a rat cranial defect with delivery of PEI-condensed plasmid DNA encoding for bone morphogenetic protein-4 (BMP-4). *Gene Ther.* 2005;12(5): 418-426.
- [43] OU L, LAN Y, FENG Z, et al. Functionalization of SF/HAP scaffold with GO-PEI-MiRNA inhibitor complexes to enhance bone regeneration through activating transcription factor 4. *Theranostics.* 2019;9(15):4525-4541.
- [44] ELANGOVAN S, KHORSAND B, DO AV, et al. Chemically modified RNA activated matrices enhance bone regeneration. *J Control Release.* 2015;218:22-28.
- [45] TIERNEY EG, DUFFY GP, HIBBITTS AJ, et al. The development of non-viral gene-activated matrices for bone regeneration using polyethyleneimine (PEI) and collagen-based scaffolds. *J Control Release Off J Control Release Soc.* 2012;158(2):304-311.
- [46] KHORSAND B, ACRI TM, DO AV, et al. A multi-functional implant induces bone formation in a diabetic model. *Adv Healthc Mater.* 2020; 9(18):e2000770.
- [47] ACRI TM, LAIRD NZ, JAIDEV LR, et al. Nonviral gene delivery embedded in biomimetically mineralized matrices for bone tissue engineering. *Tissue Eng Part A.* 2021;27(15-16):1074-1083.
- [48] LIANG Z, LUO Y, LV Y. Mesenchymal stem cell-derived microvesicles mediate BMP2 gene delivery and enhance bone regeneration. *J Mater Chem B.* 2020;8(30):6378-6389.
- [49] CHAKKA JL, ACRI T, LAIRD NZ, et al. Polydopamine functionalized VEGF gene-activated 3D printed scaffolds for bone regeneration. *RSC Adv.* 2021;11(22):13282-13291.
- [50] 刘铎, 杜斌, 孙光权, 等. 多孔 β 磷酸三钙 - 聚吡咯 - 生物素 - 淫羊藿素微球复合支架促进骨髓间充质干细胞的募集 [J]. *中国组织工程研究*, 2020, 24(34):5532-5537.
- [51] 向海滨, 李新霞, 梁求真, 等. 特异性骨靶向纳米递药系统的优势与临床可应用性 [J]. *中国组织工程研究*, 2020, 24(4):612-618.
- [52] FORTE L, SARDA S, COMBES C, et al. Hydroxyapatite functionalization to trigger adsorption and release of risenedronate. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2017;160:493-499.
- [53] PLESSELOVA S, GARCIA-CEREZO P, BLANCO V, et al. Polyethylenimine-bisphosphonate-cyclodextrin ternary conjugates: supramolecular systems for the delivery of antineoplastic drugs. *J Med Chem.* 2021; 64(16):12245-12260.
- [54] DUAN J, DONG J, ZHANG T, et al. Polyethyleneimine-functionalized iron oxide nanoparticles for systemic siRNA delivery in experimental arthritis. *Nanomed.* 2014;9(6):789-801.
- [55] GONG M, LIU H, SUN N, et al. Polyethyleneimine-dextran-coated magnetic nanoparticles loaded with miR-302b suppress osteosarcoma in vitro and in vivo. *Nanomed.* 2020;15(7):711-723.
- [56] AEINEH N, SALEHI F, AKRAMI M, et al. Glutathione conjugated polyethyleneimine on the surface of Fe₃O₄ magnetic nanoparticles as a theranostic agent for targeted and controlled curcumin delivery. *J Biomater Sci Polym.* 2018;29(10):1109-1125.
- [57] BRICOUT N, CHAI F, SOBOCINSKI J, et al. Immobilisation of an anti-platelet adhesion and anti-thrombotic drug (EP224283) on polydopamine coated vascular stent promoting anti-thrombogenic properties. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2020;113:110967.

(责任编辑: WJ, ZN, ZJP)