

· 综述 ·

生物相容高分子水凝胶在椎间盘修复再生方面作用的研究进展

唐国柯¹, 刘彦斌¹, 朱亮¹, 傅泽泽¹, 王星^{2*}, 付强^{1*}

1. 上海交通大学附属第一人民医院骨科, 上海 200080

2. 中国科学院化学研究所高分子物理与化学实验室, 北京 100190

【关键词】水凝胶; 椎间盘退行性变; 再生; 综述文献

【中图分类号】R 318.1 【文献标志码】A 【文章编号】1672-2957(2022)05-0348-05

【DOI】10.3969/j.issn.1672-2957.2022.05.012

Research progress of biocompatible tissue engineering hydrogels in intervertebral disc repair and regeneration

Tang Guoke¹, Liu Yanbin¹, Zhu Liang¹, Fu Zeze¹, Wang Xing^{2*}, Fu Qiang^{1*}

1. Department of Orthopaedics, Shanghai General Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200080, China

2. Laboratory of Polymer Physics and Chemistry, Institute of Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100190, China

【Key Words】Hydrogels; Intervertebral disc degeneration; Regeneration; Literature review

J Spinal Surg, 2022, 20(5): 348-352

椎间盘退行性变为慢性疾病, 会导致脊柱承重不稳, 进而损伤脊髓、马尾神经和神经根, 60%的70岁以上老年人群会发病^[1-2]。由于椎间盘退行性变的病理学、病理生理学及生物力学机制并不完全清楚, 目前的治疗手段仅能减轻疼痛症状, 不能完全消除疾病^[3-4]。椎间盘切除术和椎间融合术是治疗椎间盘退行性变的常用术式, 但易造成脊柱生物力学的改变^[5]。人工椎间盘可应用于椎间盘退行性变的治疗, 但因椎间盘的结构和功能复杂, 很难设计出理想的椎间盘假体来保持天然组织结构和生物力学特征。理想的生物组织替代物应具有高强度、高柔性和高韧性^[6]。高分子水凝胶具有三维交联网

络状结构(类似细胞外基质的结构特征)和可调节的理化性质(生物相容性、生物降解性、溶质运输、机械强度和低黏度等), 有利于细胞黏附和增殖, 在椎间盘再生领域引起广泛关注^[7-9]。通过改变水凝胶材料的类型、分子量、交联度、表界面性质等可以模拟天然组织的结构和机械性能, 进一步用作组织工程支架材料负载细胞/生长因子植入手内, 从而调节组织黏弹性、扩散运输和间隙流动等特性, 传递营养物质和释放活性药物, 以促进新组织的生成或用作永久性的植入物来代替缺损组织^[10-13]。同时还可以根据特殊需要, 使用物理或化学交联方法(聚合物、分子掺杂), 调节水凝胶的溶胀率、降解率、孔隙率、生物相容性、力学强度等性能。高分子水凝胶可分为天然高分子水凝胶和合成高分子水凝胶^[14], 天然高分子水凝胶具有优异的生物相容性、生物降解性和安全性, 主要包括壳聚糖、海藻酸盐、透明质酸、胶原蛋白、琼脂糖等, 它们通常可以从自然界中的动物、植物、藻类和微生物等各种可再生资源中获得。合成高分子水凝胶具有可调节

*通信作者 (Corresponding author)

基金项目 中国博士后科学基金面上项目(2020M683733)
上海市长宁区科学技术委员会科研课题计划项目
(CNKW2020Y01)

作者简介 唐国柯(1979—), 博士, 副主任医师;
shell_tang@163.com 13472625928

通信作者 王星 wangxing@iccas.ac.cn
付强 Johson.f@163.com

的特性, 可制造多功能性产品, 主要包括聚乙二醇(PEG)、聚氨酯(PU)、聚己内酯(PCL)等, 但是其使用必须确保完全去除污染物、未反应的试剂、多余的单体、催化剂和其他不良产物等, 以确保水凝胶材料的生物安全性。本文通过查阅文献, 总结高分子水凝胶和支架应用于椎间盘再生的研究现状, 分析各自的优缺点, 综述如下。

1 天然高分子水凝胶

1.1 壳聚糖

壳聚糖也被称为 β -(1, 4)-2-乙酰氨基-2-脱氧- β -D-葡萄糖, 是一种以N-乙酰氨基葡萄糖为主要成分的生物多糖, 在伤口止血、抗感染、药物负载和基因传递等方面应用广泛^[15]。壳聚糖在体内可以通过溶菌酶活性降解, 增加脱乙酰度, 延长其降解时间。尽管壳聚糖的阳离子有利于生长因子等活性物质的负载能力, 但是壳聚糖比天然髓核更软, 通常情况下与其他生物材料(如海藻酸盐、明胶)共同使用以改善生物力学性能。Alinejad等^[16]通过壳聚糖与碳酸氢钠和/或 β -甘油磷酸酯制备了一种热敏壳聚糖, 具有比人类椎间盘髓核组织更高的压缩和扭转性能; 并通过测量细胞活性、细胞代谢和蛋白聚合糖评估其细胞相容性和多功能性, 证实其能够用于椎间盘退行性变的治疗, 减轻腰部疼痛并保持生物力学多功能性。壳聚糖虽然可以促进组织分化, 但由于溶解性差和加工条件苛刻, 极大地限制了其应用范围。

1.2 海藻酸盐

海藻酸盐是一种从褐藻中提取的天然生物聚合物, 可以通过离子键或共价键交联形成海藻酸盐水凝胶, 目前已经应用于药物释放和伤口敷料领域^[17-18]。交联海藻酸盐水凝胶可以改善体内细胞外基质合成并促进纤维环、髓核和终板衍生干细胞的黏附、生长和增殖。与纤维环和髓核衍生细胞相比, 终板衍生细胞具有最强的再生能力, 在兔椎间盘退行性变模型中已经得到验证, 其能够促进髓核再生^[18]。在海藻酸盐水凝胶中加入硫酸软骨素可有效促进髓核细胞分化和基质生成。Du等^[19]提出了一种仿生纤维环-髓核复合材料, 其中以负载髓核细胞的藻酸盐水凝胶为核心, 向PCL微纤维接种纤维环细胞。与原生椎间盘相类似, 纤维环细胞可以沿着圆周取向的PCL微纤维扩散, 而海藻酸盐水凝胶中髓核细胞不会在纤维环和髓核区域之间相互渗

透。这种组织工程椎间盘被植入裸鼠皮下后发现能够促进椎间盘组织形成。尽管海藻酸盐水凝胶作为再生支架具有广阔的前景, 但其主要缺点是体内降解机制尚未完全清楚。

1.3 透明质酸

透明质酸是由D-葡萄糖醛酸和N-乙酰-D-葡萄糖胺残基的重复单元组成, 是一种用于组织再生、药物输送和伤口愈合的高级多糖, 临床中将透明质酸水凝胶用作可植人生物材料具有许多优势^[20]。Kazezian等^[21]制备了一种具有抗炎和基质调节作用的透明质酸水凝胶, 可下调炎性反应相关基因的表达。在细胞外基质中, 蛋白聚糖在治疗受伤和发炎的椎间盘后, I型胶原蛋白上调, ADAMTS4下调, 表明抗炎透明质酸可以调节椎间盘环境以促进椎间盘基质的产生。

透明质酸是天然椎间盘组织的组成部分, 可以与其他天然或者合成水凝胶混合改性, 有望用于椎间盘的再生, 其主要缺点是不同批次之间分子量存在差异, 较高分子量的透明质酸水凝胶在机械上类似于椎间盘, 而较低分子量的透明质酸水凝胶却能够促进细胞功能。尽管如此, 生物相容和生物降解的透明质酸水凝胶仍然具有巨大的髓核再生潜力。

1.4 胶原蛋白和明胶

胶原蛋白作为细胞外基质的重要组成部分, 是一种天然的生物材料, 广泛存在于皮肤、骨骼、软骨、血管、牙齿和肌腱中。明胶是从动物胶原蛋白中提取, 经热变性得到的物质。胶原蛋白和明胶的降解产物安全无毒, 因此, 其在重建手术、药物负载及释放、伤口愈合、组织再生中具有重要应用价值^[22]。胶原蛋白水凝胶可以保持良好的流变行为, 类似于天然髓核, 胶原基质可以恢复椎间盘高度和脊柱节段的机械行为。Tsaryk等^[23]将负载明胶微球的胶原蛋白-低分子量透明质酸半互穿网络水凝胶用于椎间盘组织工程, 其注射到发生退行性变的部位后不会诱导炎性反应, 可促进间充质干细胞和鼻中隔软骨细胞的生长和软骨分化; 同样, 将明胶加入其他水凝胶, 不仅可提高机械性能, 而且改善了髓核细胞的微环境; 因而, 基于明胶的水凝胶可在体内抑制髓核凋亡和椎间盘进一步退行性变; 实验结果表明, 将无细胞明胶微球注射到兔椎间盘退行性变模型后, 注射组的细胞凋亡率低于未进行任何处理的对照组。

胶原和明胶水凝胶作为细胞外基质的一部分,

是一类有利于细胞黏附、生长和增殖的生物材料, 但在37℃以上环境中的热稳定性较差, 往往需要与其他材料复合以满足医学应用需求。

1.5 琼脂糖

琼脂糖是一种从藻类中提取的多糖, 由D-半乳糖和3, 6-无水L-半乳糖单体组成。琼脂糖水凝胶具有3D螺旋结构, 能够与合成静电纺丝聚合物相结合来模拟椎间盘的压缩和扭转实验, 其中琼脂糖用于髓核, 静电纺丝聚合物用于纤维环^[24]。在琼脂糖水凝胶中注入转化生长因子β(TGF-β)可以产生用于细胞生成和增殖的细胞外基质成分, 同时响应循环压缩载荷并增加基因表达^[25]。尽管琼脂糖水凝胶本身可能不适用于椎间盘再生, 但是研究者正在将琼脂糖引入复合支架中^[26], 以对髓核-纤维环复合物进行更全面的力学测试, 这对于开发多功能水凝胶支架并实现有效的椎间盘再生修复具有重要的研究意义。

2 合成高分子水凝胶

2.1 PEG

PEG衍生物是亲水性和生物相容性聚合物, 在体内不易被免疫系统识别^[27]。PEG水凝胶是一类重要的用于髓核修复再生的合成高分子水凝胶。尽管表现出与关节软骨相似的生物力学特性, 但由于他们的非细胞黏附行为, 很少单独用于再生医学。因此, 基于PEG的水凝胶往往通过添加合成/天然成分, 如聚乳酸(PLA)、精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸(RGD), 以满足细胞黏附和增殖的需求^[28]。Tellegen等^[29]报道了一种具有生物相容性的(聚ε-己内酯-丙交酯)-b-(聚乙二醇)-(聚ε-己内酯-丙交酯)水凝胶, 对具有早期自发性椎间盘变性的狗注射装载塞来昔布的凝胶进行观察, 结果表明, 10只狗中的9只背部疼痛减轻且无不良反应, 表明这种椎间盘内注射负载塞来昔布的水凝胶有望成为新材料以治疗慢性腰痛。

2.2 PU

因PU独特的化学结构, 其兼具刚性和柔性高分子链段, 具有良好的韧性、生物相容性、热稳定性和可降解性, 在组织工程修复等生物医疗器械领域获得广泛应用, 例如椎间盘置换术, 脊柱活动限制动力固定, 以缓解神经根压迫和疼痛^[30]。使用静电纺丝技术, Li等^[31]制备了具有快速溶胀性能的双相PU支架, 在动态载荷下植入2周后, 动态压缩

刚度和椎间盘高度保持良好的稳定性, 支架对天然椎间盘细胞表现出良好的细胞组织相容性。在剩余髓核组织中蛋白多糖和Ⅱ型胶原蛋白强度增加, I型胶原蛋白强度降低, 表明支架材料能够延缓变性并保留椎间盘细胞表型, 这将是一种用于促进椎间盘再生的新型微创方法。由于PU支架的易用性和良好的生物组织相容性, 能够通过不同形式(凝胶和电纺支架)用于生物医学领域, 但目前很少有关髓核细胞与PU支架相互作用的报道。

2.3 PCL

PCL是一种典型的合成聚酯, 已经被美国食品药品监督管理局(FDA)批准用于人体, 其在各种医疗应用中显示出巨大潜力。PCL可通过酯键的水解进行降解, 时间从几个月到几年不等。PCL支架被证明是一个完整的椎间盘替代品, 有望实现椎间盘再生, 因为电纺PCL纤维可以模拟纤维环的纤维结构排列并增强机械性能^[32]。一般而言, PCL支架需要其他合成支架材料复合来形成可注射水凝胶, 其中PCL在增强水凝胶支架的力学强度和延长使用寿命方面发挥着重要的作用^[33-34]。Yang等^[35]制备了一种组织工程椎间盘, 它是由海藻酸盐水凝胶的髓核和同心环型的电纺PCL/聚乳酸-羟基乙酸共聚物/I型胶原纤维基纤维环组成, 具有优异的亲水性、结构和功能, 可模拟天然椎间盘并在体内长期治疗椎间盘变性, 以减轻慢性颈部和背部疼痛。

3 总结和展望

椎间盘的主要功能是将机械力传递到脊柱, 并保持脊柱各节段的弯曲、拉伸、旋转运动的活动度^[36-37]。尽管临床中在椎间盘修复方面已经取得了重要进步, 但是残疾和疼痛仍将是一个长期存在的问题。主要原因: ①椎间盘退行性变损伤程序难以准确评估, 阻碍了大多数替代品的设计。②椎间盘的复杂性和异质性致使目前还不能全面了解椎间盘退行性变的相关过程及细节。③目前没有实现单一组织修复再生椎间盘。水凝胶是促进椎间盘修复医学发展的最佳备选材料, 可提供直接的机械支持, 并促进椎间盘细胞的分化和细胞外基质的产生。天然高分子水凝胶具有良好的生物相容性、安全性和生物降解性, 为细胞的黏附、生长、增殖和再生提供了更有利、更适宜的环境, 但溶解性较差、加工成本高。相比之下, 合成高分子水凝胶可以灵活调节物理、化学性质, 但降解的不良产物或残留单体

在某些情况下难以完全祛除,因而限制了与细胞和组织的相互作用。为了解决这些问题,可将天然材料与合成材料复合构建兼具生物相容性、降解性、加工性、生物活性和力学性能的多功能水凝胶,用于椎间盘的再生和组织修复。

对于髓核修复,水凝胶组织工程支架需要恢复椎间盘的高度和运动节段的稳定性,具有足够维持物理支撑的耐久性,为髓核细胞提供合适的环境以避免炎性反应,从而保护纤维环;对于纤维环修复,水凝胶支架需要模仿胶原纤维结构,它像天然纤维环一样具有定向微结构和高力学性能。而且,髓核和纤维环再生材料有相当长的开发滞后时间,尽管生物材料在椎间盘再生方面的应用取得了显著进展,但迄今为止只有一种水凝胶进入了临床实验。因此,制订用于再生医学的生物椎间盘产品设计和开发的方法或标准,有望获得结构灵活可调、机械强度优异、生物相容好并可降解的组织工程凝胶支架,从而真正应用于临床,造福患者。

参考文献

- [1] Vos T, Flaxman AD, Naghavi M, et al. Years lived with disability (YLDs) for 1160 sequelae of 289 diseases and injuries 1990-2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010 [J]. Lancet, 2012, 380 (9859): 2163-2196.
- [2] Lawrence JS. Rheumatism in coal miners. III. Occupational factors [J]. Br J Ind Med, 1955, 12(3): 249-261.
- [3] 吴旋, 陈建, 余利鹏, 等. Jack椎体扩张器与球囊扩张后凸成形术后伤椎高度丢失与邻近椎间盘退变的比较研究 [J]. 中华创伤骨科杂志, 2022, 24(1): 61-67.
- [4] 陈仁场, 李念虎, 管华鹏, 等. 椎间盘退变中的炎症反应与通路作用机制的研究进展 [J]. 中华骨科杂志, 2021, 41(20): 1509-1518.
- [5] 蔡鑫义, 都承斐, 杨强. 腰椎间盘退变与侧前方入路腰椎椎体间融合术 (OLIF) 的生物力学研究 [J]. 医用生物力学, 2021, 36(S1): 232.
- [6] Kalson NS, Richardson S, Hoyland JA. Strategies for regeneration of the intervertebral disc [J]. Regen Med, 2008, 3(5): 717-729.
- [7] Zhu T, Wang H, Jing Z, et al. High efficacy of tetra-PEG hydrogel sealants for sutureless dural closure [J]. Bioact Mater, 2021, 8: 12-19.
- [8] 石坤, 黄勇, 黄雷震, 等. 水凝胶再生修复退变椎间盘的研究进展 [J]. 中国修复重建外科杂志, 2020, 34(3): 275-284.
- [9] Cao Q, Sun G, Wang X, et al. Bioinspired self-degradable hydrogels towards wound sealing [J]. Biomater Sci, 2021, 9(10): 3645-3649.
- [10] Liu H, Wang X, Cao Y, et al. Freezing-tolerant, highly sensitive strain and pressure sensors assembled from ionic conductive hydrogels with dynamic cross-links [J]. ACS Appl Mater Interfaces, 2020, 12(22): 25334-25344.
- [11] Yang Y, Zhou M, Peng J, et al. Robust, anti-freezing and conductive bonding of chitosan-based double-network hydrogels for stable-performance flexible electronic [J]. Carbohydr Polym, 2022, 276: 118753.
- [12] Yang Y, Wang X, Yang F, et al. Highly elastic and ultratough hybrid ionic-covalent hydrogels with tunable structures and mechanics [J]. Adv Mater, 2018, 30(18): e1707071.
- [13] Zhang Y, Dou X, Zhang L, et al. Facile fabrication of a biocompatible composite gel with sustained release of aspirin for bone regeneration [J]. Bioact Mater, 2021, 11: 130-139.
- [14] Wang X, Yang Y, Shi Y, et al. Editorial: smart hydrogels in tissue engineering and regenerative medicine [J]. Front Chem, 2020, 8: 245.
- [15] Di Martino A, Sittiger M, Risbud MV. Chitosan: a versatile biopolymer for orthopaedic tissue-engineering [J]. Biomaterials, 2005, 26(30): 5983-5990.
- [16] Alinejad Y, Adoungotchodo A, Grant MP, et al. Injectable chitosan hydrogels with enhanced mechanical properties for nucleus pulposus regeneration [J]. Tissue Eng Part A, 2019, 25(5-6): 303-313.
- [17] 周逸驰, 张丹, 张沛, 等. 海藻酸钠复合多能诱导干细胞修复椎间盘研究 [J]. 中国矫形外科杂志, 2021, 29(9): 830-834.
- [18] Wang H, Zhou Y, Huang B, et al. Utilization of stem cells in alginate for nucleus pulposus tissue engineering [J]. Tissue Eng Part A, 2014, 20(5-6): 908-920.
- [19] Du L, Yang Q, Zhang J, et al. Engineering a biomimetic integrated scaffold for intervertebral disc replacement [J]. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl, 2019, 96: 522-529.
- [20] Choi UY, Joshi HP, Payne S, et al. An injectable Hyaluronan-Methylcellulose (HAMC) hydrogel combined with Wharton's Jelly-Derived Mesenchymal Stromal Cells (WJ-MSCs) promotes degenerative disc repair [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(19): 7391.
- [21] Kazezian Z, Li Z, Alini M, et al. Injectable hyaluronic acid hydrogels for intervertebral disc repair [J]. Biomater Sci, 2021, 9(10): 3645-3649.

- acid down-regulates interferon signaling molecules, IGFBP3 and IFIT3 in the bovine intervertebral disc [J]. *Acta Biomater*, 2017, 52: 118-129.
- [22] Wang SJ, Jiang D, Zhang ZZ, et al. Biomimetic nanosilica-collagen scaffolds for in situ bone regeneration: toward a cell-free, one-step surgery [J]. *Adv Mater*, 2019, 31(49): e1904341.
- [23] Tsaryk R, Gloria A, Russo T, et al. Collagen-low molecular weight hyaluronic acid semi-interpenetrating network loaded with gelatin microspheres for cell and growth factor delivery for nucleus pulposus regeneration [J]. *Acta Biomater*, 2015, 20: 10-21.
- [24] Gruber HE, Hoelscher GL, Leslie K, et al. Three-dimensional culture of human disc cells within agarose or a collagen sponge: assessment of proteoglycan production [J]. *Biomaterials*, 2006, 27(3): 371-376.
- [25] Zheng K, Du D. Recent advances of hydrogel-based biomaterials for intervertebral disc tissue treatment: a literature review [J]. *J Tissue Eng Regen Med*, 2021, 15(4): 299-321.
- [26] Lang G, Obri K, Saravi B, et al. Architecture-promoted biomechanical performance-tuning of tissue-engineered constructs for biological intervertebral disc replacement [J]. *Materials (Basel)*, 2021, 14(10): 2692.
- [27] Li D, Zhou J, Zhang M, et al. Long-term delivery of alendronate through an injectable tetra-PEG hydrogel to promote osteoporosis therapy [J]. *Biomater Sci*, 2020, 8(11): 3138-3146.
- [28] Benoit DS, Anseth KS. The effect on osteoblast function of colocalized RGD and PHSRN epitopes on PEG surfaces [J]. *Biomaterials*, 2005, 26(25): 5209-5220.
- [29] Tellegen AR, Willems N, Beukers M, et al. Intradiscal application of a PCLA-PEG-PCLA hydrogel loaded with celecoxib for the treatment of back pain in canines: what's in it for humans? [J]. *J Tissue Eng Regen Med*, 2018, 12(3): 642-652.
- [30] Santerre JP, Woodhouse K, Laroche G, et al. Understanding the biodegradation of polyurethanes: from classical implants to tissue engineering materials [J]. *Biomaterials*, 2005, 26(35): 7457-7470.
- [31] Li Z, Lang G, Chen X, et al. Polyurethane scaffold with in situ swelling capacity for nucleus pulposus replacement [J]. *Biomaterials*, 2016, 84: 196-209.
- [32] van Uden S, Silva-Correia J, Correlo VM, et al. Custom-tailored tissue engineered polycaprolactone scaffolds for total disc replacement [J]. *Biofabrication*, 2015, 7(1): 015008.
- [33] Dash TK, Konkimalla VB. Poly-ε-caprolactone based formulations for drug delivery and tissue engineering: a review [J]. *J Control Release*, 2012, 158(1): 15-33.
- [34] Zhou ZX, Chen YR, Zhang JY, et al. Facile strategy on hydrophilic modification of poly(ε-caprolactone) scaffolds for assisting tissue-engineered meniscus constructs *in vitro* [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 471.
- [35] Yang J, Yang X, Wang L, et al. Biomimetic nanofibers can construct effective tissue-engineered intervertebral discs for therapeutic implantation [J]. *Nanoscale*, 2017, 9(35): 13095-13103.
- [36] 梁航, 邓享誉, 邵增务. 椎间盘内源性干细胞在椎间盘组织修复再生中的研究进展 [J]. 中国修复重建外科杂志, 2017, 31(10): 1267-1272.
- [37] Sakai D, Andersson GB. Stem cell therapy for intervertebral disc regeneration: obstacles and solutions [J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2015, 11(4): 243-256.

(接受日期: 2022-02-21)

(本文编辑: 张建芬)