

开发与应用

静电纺定向纳米纤维及其组织工程支架应用研究进展

李博昱¹ 刘呈坤^{1,2,3*} 谭耀红¹ 于 群¹ 孙润军¹

(1.西安工程大学纺织与材料学院,西安 710048;2.东华大学纺织学院,上海 201620;
3.山东如意科技集团有限公司,济宁 272073)

摘 要 静电纺纳米纤维以其具有模拟细胞外基质(ECM)的结构与功能,已在组织工程支架材料领域受到广泛研究。传统随机排列纳米纤维支架显示出较低的机械强度,缺少足够的生物地形指引,而定向纳米纤维的应用优势凸显。为了扩展定向纳米纤维在组织工程支架的应用,系统综述了近年来不同制备方法在构建血管、肌肉、骨和神经组织工程支架的应用进展。结果表明,三维(3D)定向纳米纤维支架具有明显的使用优势,可以结合多种电纺技术和后加工处理,以及结合其他制备组织工程支架的方法进行制备。

关键词 静电纺丝,定向纳米纤维,组织工程,支架应用

Research progress for electrospun aligned nanofiber and its application in tissue engineering scaffold

Li Boyu¹ Liu Chengkun^{1,2,3} Tan Yaohong¹ Yu Qun¹ Sun Runjun¹

(1.School of Textile and Materials,Xi'an Polytechnic University,Xi'an 710048;
2.College of Textiles,Donghua University,Shanghai 201620;
3.Shandong Ruyi Textile Co.,Ltd.,Jining 272073)

Abstract Electrospun nanofiber has been widely used in the area of tissue engineering scaffold material due to its structure and function of emulating extracellular matrix (ECM). Traditional random nanofiber shows lower strength and lacks enough topographic cues, while aligned nanofiber can overcome the shortcomings. In order to extend the application of aligned nanofiber in the area of tissue engineering scaffold, application progress of different preparation methods in construction of blood vessel, muscle, bone and nerves tissue engineering scaffold were studied. Results showed that three dimensional (3D) aligned nanofiber scaffold had obvious advantage in using. It can be prepared through combination of many electrospinning technologies, finishing processes, and some other methods to prepare tissue engineering scaffold.

Key words electrospinning, aligned nanofiber, tissue engineering, scaffold application

组织工程又名再生医学,是以生物学和工程学为基础,制备人体组织替代品来促进人体损伤组织的修复^[1]。细胞外基质(ECM)在组织修复中起着至关重要的作用,它是由直径 50~500nm 糖类和蛋

白纤维组成,是组织细胞生长和传递信息的体内环境,组织工程的关键技术是如何来模拟 ECM。组织工程支架为细胞提供良好的支撑,模拟了 ECM 结构,有效引导组织再生。组织工程支架材料的结构

基金项目:国家自然科学基金项目(51503168);陕西省创新人才推进计划-青年科技新星项目(2017KJXX-23);陕西省教育厅重点实验室科研计划项目(13JS035);山东省博士后创新项目专项资金资助项目(201504);西安工程大学研究生创新基金(CX201729)

作者简介:李博昱(1991-),男,硕士,研究方向为静电纺丝制品的制备及应用。

联系人:刘呈坤(1981-),男,博士,副教授,研究方向为静电纺丝过程机理及制品应用研究。

与性能影响组织细胞的增殖和分化,支架材料需拥有良好的生物相容性,大的比表面积为细胞粘附提供良好的界面,还需有合适的孔径和较高的孔隙率,这有利于细胞信息传递和代谢物的去除^[2]。制备支架的方法多为气体泡沫法、相分离法、冷冻干燥法和溶剂浇铸/粒子沥滤等,这些方法存在孔隙率小、可控性差等缺陷^[3]。

电纺纳米纤维具有类似于 ECM 的结构与功能,已广泛应用于组织工程支架。早在 20 世纪 30 年代,Formhals 描述了静电纺丝技术,该方法是聚合物液滴尖端喷出的射流在高压电场下被拉伸细化,最终形成纳米纤维的过程。然而,近年来电纺纳米纤维在组织工程领域的优势才受到各国学者的重视。不同的生物相容性材料能够通过静电纺丝方法制得,电纺纳米纤维的优势在纳米级尺寸、高孔隙率和极大的比表面积,这为组织细胞的生长和分化提供了理想的环境。相比与传统的组织工程支架制备技术,静电纺丝技术成本低廉、操作灵活。

通常电纺进程由于聚合物射流在高压电场中的不稳定,导致纳米纤维以二维无纺纤维膜形式被收集^[4]。这种无纺纤维膜纤维排列杂乱,显示出较低的机械强力,缺少足够的生物地形指引。随着近年来静电纺丝技术快速发展,科研人员相继改进了电纺制备方法,制备出具有定向排列、杂化结构和三维(3D)构造的电纺纤维制品,制备的纳米纤维支架比无规则排列电纺纤维有更大的比表面积、孔隙率和尺寸稳定等特点,并有利于组织细胞的粘附、生长及分化。

1 定向纳米纤维支架的优势

组织细胞的生长是按一定的排列生长分化,ECM 的基底形态和力学性能影响细胞的生长方向、迁移和细胞骨架结构的形成,支架的生物地形指引在细胞行为中起重要作用,并且是组织工程应用中被控制的重要参数^[5-6]。定向纳米纤维支架的力学性能优于随机排列的纳米纤维支架,并且有较高的孔隙率,这使得定向纳米纤维能够模仿如纤维束状、管状和环状等 ECM 的 3D 结构。定向排列的纳米纤维为细胞提供有效的生物地形指引,细胞可以识别支架的指引,并生长成有组织的形态,而随机排列的纳米纤维使细胞形态呈无规则状态^[7]。

2 电纺定向纳米纤维支架的应用

随着电纺定向纳米纤维制备技术不断应用于组

织工程支架,一些研究报道了电纺定向排列的纳米纤维膜能够促进肌肉、神经、骨和血管等细胞的生长分化,支架还能有效模拟组织的生物结构,提供合适的机械性能,可用于多种组织的修复。特别是在定向排列基础上,制备具有杂化和 3D 仿生结构的支架,并逐步成为研究的热点。

2.1 血管组织工程支架

常规血管材料由于生物相容性差,形成血栓风险高而很少被应用于小尺寸血管(内径 $<5\text{mm}$)支架^[8]。定向纳米纤维应用于小尺寸血管支架具有很大优势,不仅能支持血管细胞的生长和分化,还能有效模拟血管的结构和力学强度。Xu 等^[9]采用左旋聚乳酸(PLLA)定向纳米纤维支架培养人的冠状动脉平滑肌细胞,细胞沿着定向支架的纤维轴向粘附、生长并呈梭形,细胞骨架蛋白分布与纤维轴方向一致。Shalumon 等^[10]制备了定向左旋聚乳酸(PLLA)/明胶(Gt)(PLLA/Gt)纤维管状支架,引入的明胶改善了支架的亲水性能,支架支持细胞的粘附与增殖,并且能促进平滑肌细胞沿着纤维排列方向生长和分化,同时在培养人脐静脉内皮细胞时可得到同样的趋势。为了模拟血管的构造,他们还设计了 1 种多层杂化管状结构,其内层为定向排列的聚乳酸(PLA)纤维与血流方向一致,利于血管内壁细胞的粘附与增殖,而外层结构为多层随机排列的 PLA 与聚己内酯(PCL)纳米纤维,促进支架的稳定性,使细胞均匀分布。研究表明,人脐静脉内皮细胞在支架内层整齐排列,同时外围均匀分布有平滑肌细胞,这种多层血管支架模拟了血管结构,有望应用于人体内^[11]。

2.2 肌肉组织工程支架

肌肉组织是由高度定向排列肌纤维组成,在肌肉组织工程中肌肉细胞的生长形态对其分化为肌管至关重要,定向纳米纤维支架能促进肌肉细胞的延伸使其分化为肌管。Avis 等^[12]制备出高度定向的聚乳酸-羟基乙酸共聚物(PLGA)纳米纤维支架,研究表明,该支架能够促进小鼠成肌细胞的生长分化,细胞培养 2 周后,细长形态的细胞和分化为肌管的比率都高于随机排列支架培养的细胞。Park 等^[13]制备具有定向排列与随机排列纤维的杂化支架,通过小鼠成肌细胞的研究表明,该支架适用于肌肉组织工程。定向排列纤维位于支架表层,为细胞提供了生物地形指引,引导细胞生长,而位于底层的随机排列纤维为支架提供了稳定支撑,有效模拟了

为肌肉细胞提供稳定支撑和力传递的结缔组织,这种双层杂化支架还具有高孔隙率和渗透性。Wang 等^[14]提出一种 3D 支架用于模拟骨骼肌结构,芯材料为定向排列的聚己内酯/丝素/聚苯胺(PCL/SF/PANI)纳米纤维束被包封在水凝胶内,定向排列的纳米纤维束具有类似肌纤维的排列结构,外部水凝胶则模仿了细胞外结缔组织为细胞生长提供合适的 3D 内环境。小鼠成肌细胞接种在该支架上显示出很好的生物相容性,细胞能沿着纤维排列方向定向延伸,长时间培养后,形成了 3D 细长状肌管。因此,该 3D 支架在肌肉组织修复中具有重要价值。

2.3 骨组织工程支架

骨组织工程支架需拥有 3D 大孔结构,各个孔之间相互连通,孔径 200~400 μm 之间利于骨细胞生长分化。定向纳米纤维可通过后加工处理与其他方法结合制备骨组织工程支架。Cai 等^[15]将定向排列的纳米纤维膜折叠和叠层制备 3D 支架。该支架具有高孔隙率和良好的连接性大孔,研究结果显示,这种结构有利于骨细胞的增殖和向内生长,细胞沿着定向排列纳米纤维逐步分化为疏松骨质结构,并能明显检测到钙化沉积物。体内外的研究结果显示,支架的周围和内部形成了良好的骨组织。Shao 等^[16]采用传统的编织技术,以定向排列的 PLA 纳米纤维束为编织材料,制备多层结构的 3D 支架,由于采用了编织工艺,支架具有很高的杨氏模量和拉伸强度,分别可达到 417.65MPa 和 180.36MPa,是相同条件下无纺织物的 2 至 4 倍。支架支持小鼠间充质干细胞的粘附和增殖,并促使矿物沉积产生。研究结果显示,在兔损伤的股骨髁模型植入该支架较对照组可更快形成新骨。

在软骨修复中,Liu 等^[17]研究了一种 3D 支架,具有定向排列,通过冷冻干燥法被固定在胶原/透明质酸中,以提高支架的机械性能,这使得支架具有多孔性,有利于细胞的亲润和粘附。使用多孔 β -磷酸三钙(TCP)作为骨质相与该支架组装成混合双相支架,双相支架成功用于修复兔模型中的软骨缺陷,促进了软骨缺陷修复。另外,由于内部的纳米纤维束定向排列,增强了修复软骨的压缩模量。

2.4 神经组织工程支架

Ghasemi 等^[18]将神经干细胞分别接种在定向排列与随机排列的纳米纤维支架上,经过 6d 培养,定向排列支架上细胞增殖情况明显高于随机排列支架。Chew 等^[19]研究了人雪旺细胞在定向 PCL 纤

维支架上的生长状况,经过 7d 的培养,细胞骨架和细胞核能沿着纤维的轴向生长分化,模拟了 Büngner 带状结构,他们还发现在定向支架上培养的细胞,髓鞘蛋白 P0 基因表达更显著,同时定向纳米纤维束还可以模拟神经轴突与导管结构。Xue 等^[20]发现定向纳米纤维不仅能促进骨髓间充质干细胞分化为雪旺细胞,而且还能决定衍生细胞的形态和排列。Zamani 等^[21]报道了 3D 芯壳支架促进脊髓神经再生,定向排列的 PLGA 纳米纤维束作为芯材料,外部包裹有随机排列的纳米纤维提高表面的粗糙程度。体外研究结果显示,神经细胞很好地附着在粗糙的表面,并能穿透支架的内部结构沿着纤维的排列方向定向生长。移植入切断脊髓的大鼠体内 8 周后,能促进脊髓轴突再生,并能为恢复肢体运动提供有效的神经刺激。Li 等^[22]制备了 3D 神经导管支架,导管内部具有多组定向排列 PLLA 纳米纤维束,形成导管的内部通道,通过体外实验评价,雪旺细胞呈现出比 PLLA 无纺纤维膜更好的增殖率。共聚焦显微图像表明轴突沿着 PLLA 轴向生长,雪旺细胞在管道中分化良好,分布整个内腔,这些结果证明了该导管支架在神经再生中具有应用潜力。这种方法结合同轴电纺工艺,将神经生长因子包封在纤维中,有望用于外周神经修复^[23]。

3 结论

近年来,定向排列纳米纤维在组织工程领域应用优势逐步凸显,具有高孔隙率和大比表面积,能提高支架的机械性能,还能有效模拟 ECM 结构,可为细胞提供良好的生物地形指引,故研究人员不断将其应用在组织工程的新领域。虽然现阶段已经研究出众多制备技术,但是由于静电纺丝过程不稳定因素太多,不能有效控制纺丝进程,这是稳定、高效制备定向纳米纤维的一个挑战。现阶段,在组织工程应用中,3D 定向纳米纤维支架受到了广泛关注和研究,制备 3D 定向纳米纤维支架不仅限于一种方法,还需要结合多种电纺技术和后加工处理,以及结合其他制备组织工程支架的方法,这样才能合理发挥电纺定向纳米纤维在组织工程的结构和功能优势。

参考文献

- [1] Langer R, Vacanti J P. Tissue engineering[J]. Science, 1993, 260(5110):920-926.

- [2] Kim B S, Mooney D J. Development of biocompatible synthetic extracellular matrices for tissue engineering[J]. Trends in Biotechnology, 1998, 16(5): 224-230.
- [3] Li W J, Laurencin C T, Caterson E J, et al. Electrospun nanofibrous structure: a novel scaffold for tissue engineering[J]. Journal of Biomedical Materials Research, 2002, 60(4): 613-621.
- [4] Yarin A L, Koombhongse S, Reneker D H. Bending instability in electrospinning of nanofibers[J]. Journal of Applied Physics, 2001, 89(5): 3018-3026.
- [5] Cao H, Mchugh K, Chew S Y, et al. The topographical effect of electrospun nanofibrous scaffolds on the in vivo and in vitro foreign body reaction[J]. Journal of Biomedical Materials Research Part A, 2009, 93(3): 1151-1159.
- [6] Flemming R G, Murphy C J, Abrams G A, et al. Effects of synthetic micro-and nano-structured surfaces on cell behavior[J]. Biomaterials, 1999, 20(6): 573-588.
- [7] Wu J, Huang C, Liu W, et al. Cell infiltration and vascularization in porous nanoyarn scaffolds prepared by dynamic liquid electrospinning[J]. Journal of Biomedical Nanotechnology, 2014, 10(4): 603-614.
- [8] Ju Y M, Ahn H, Arenasherrera J, et al. Electrospun vascular scaffold for cellularized small diameter blood vessels: a pre-clinical large animal study[J]. Acta Biomaterialia, 2017, 59(1): 58-67.
- [9] Xu C Y, Inai R, Kotaki M, et al. Aligned biodegradable nanofibrous structure: a potential scaffold for blood vessel engineering[J]. Biomaterials, 2004, 25(5): 877-886.
- [10] Shalumon K T, Deepthi S, Anupama M S, et al. Fabrication of poly (L-lactic acid)/gelatin composite tubular scaffolds for vascular tissue engineering[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2015, 72: 1048-1052.
- [11] Shalumon K T, Sreerekha P R, Sathish D, et al. Hierarchically designed electrospun tubular scaffolds for cardiovascular applications[J]. Journal of Biomedical Nanotechnology, 2011, 7(5): 609-620.
- [12] Aviss K J, Gough J E, Downes S. Aligned electrospun polymer fibres for skeletal muscle regeneration[J]. European Cells & Materials, 2010, 19(1): 193-204.
- [13] Park S H, Kim M S, Lee B J, et al. Creation of a hybrid scaffold with dual configuration of aligned and random electrospun fibers[J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2016, 8(4): 2826-2832.
- [14] Wang L, Wu Y, Guo B, et al. Nanofiber yarn/hydrogel core-shell scaffolds mimicking native skeletal muscle tissue for guiding 3D myoblast alignment elongation, and differentiation[J]. ACS Nano, 2015, 9(9): 9167-9179.
- [15] Cai Y Z, Zhang G R, Wang L L, et al. Novel biodegradable three-dimensional macroporous scaffold using aligned electrospun nanofibrous yarns for bone tissue engineering[J]. Journal of Biomedical Materials Research Part A, 2012, 100(5): 1187-1194.
- [16] Shao W, He J, Han Q, et al. A biomimetic multilayer nanofiber fabric fabricated by electrospinning and textile technology from polylactic acid and tussah silk fibroin as a scaffold for bone tissue engineering[J]. Materials Science & Engineering C, 2016, 67: 599-610.
- [17] Liu S, Wu J, Liu X, et al. Osteochondral regeneration using an oriented nanofiber yarn-collagen type I/hyaluronate hybrid/TCP biphasic scaffold[J]. Journal of Biomedical Materials Research Part A, 2015, 103(2): 581-592.
- [18] Ghasemi Mobarakeh L, Prabhakaran M P, Morshed M, et al. Electrospun poly (3-caprolactone)/gelatin nanofibrous scaffolds for nerve tissue engineering[J]. Biomaterials, 2008, 29(34): 4532-4539.
- [19] Chew S Y, Mi R, Hoke A, et al. The effect of the alignment of electrospun fibrous scaffolds on schwann cell maturation[J]. Biomaterials, 2008, 29(6): 653-661.
- [20] Xue Jiajia, Yang Junyu, Deirdre Margaret O'Connor, et al. Differentiation of bone marrow stem cells into schwann cells for the promotion of neurite outgrowth on electrospun fibers[J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2017, 9(14): 12299-12310.
- [21] Zamani F, Amani-Tehran M, Latifi M, et al. Promotion of spinal cord axon regeneration by 3D nanofibrous core-sheath scaffolds[J]. Journal of Biomedical Materials Research Part A, 2014, 102(2): 506-513.
- [22] Li D, Pan X, Sun B, et al. Nerve conduits constructed by electrospun P(LLA-CL) nanofibers and PLLA nanofiber yarns[J]. Journal of Materials Chemistry B, 2015, 45(3): 8823-8831.
- [23] Sun B, Wu T, He L, et al. Development of dual neurotrophins-encapsulated electrospun nanofibrous scaffolds for peripheral nerve regeneration[J]. Journal of Biomedical Nanotechnology, 2016, 12(11): 1987-2000.

收稿日期: 2017-08-29

修稿日期: 2018-09-05