导电高分子生物材料在组织工程中的应用

李劭, 郭保林*

西安交通大学前沿科学技术研究院, 生物工程与再生医学研究中心, 西安 710049

* 联系人, E-mail: baoling@mail.xjtu.edu.cn

2019-05-07 收稿, 2019-06-28 修回, 2019-07-09 接受, 2019-08-13 网络版发表

国家自然科学基金(51673155)、金属材料强度国家重点实验室开放基金(20182002)和中央高校基本科研专项资金资助

摘要 导电高分子材料在具有良好生物相容性的同时, 其优异的导电性还可以通过电刺激促进聚合物-组织界面处的细胞黏附、增殖和分化, 从而促进组织生长, 所以导电聚合物材料在组织工程领域受到了越来越多的重视. 单组分导电高分子, 如聚苯胺(PANI)、聚吡咯(PPy)、聚(3,4-乙烯二氧噻吩)(PEDOT)及其衍生物, 具有良好的生物相容性和优异的导电性, 但其较脆且不易加工, 限制了其在组织工程领域中的应用. 因此, 研究开发了基于上述导电高分子和生物相容性可降解聚合物的复合导电聚合物材料, 其在具有良好生物相容性和导电性的同时, 还具有优异的加工性. 本文将总结在组织工程中应用的多种复合导电聚合物材料, 包括导电聚合物薄膜、导电纳米纤维、导电水凝胶和导电复合3D支架. 此外, 组织工程领域的研究表明复合导电高分子材料主要可应用于骨组织工程、肌肉组织工程、神经组织工程、心脏组织工程和皮肤伤口愈合等方面, 我们也将对以上方面的应用进行详细论述.

关键词 组织工程, 导电高分子, 复合导电高分子材料, 聚苯胺, 聚吡咯, 聚(3,4-乙烯二氧噻吩)

组织工程是生命科学与材料科学的跨学科领域, 近20年来发展迅速, 其基本目标是发展功能性生物替代物, 通过结合支架、细胞和生物活性分子的方式来再生或替换有缺陷、患病或缺失的组织和器官, 从而恢复、维持或改善组织功能^[1,2]. 组织工程支架在具有良好组织相容性的同时, 还应具有可调节的生物降解速率、无毒降解产物、适合营养物质和废物运输的孔隙以及优异的机械强度等特性^[3-5]. 此外, 研究表明理想的组织工程支架还必须模拟组织细胞外基质(ECM)的内在结构及物理化学特性, 从而促进宿主细胞迁移、增殖、分化和组织再生. 组织工程支架与宿主细胞之间的相互作用还可通过调节支架的理化特性进行调控, 如机械刚度、弹性、表面形貌和润湿性等^[6].

陶瓷^[7]、生物大分子^[8,9]和合成聚合物^[10,11]在制备组织工程支架中是应用最广泛的3种生物材料. 然而,

陶瓷的柔韧性差且较脆, 生物大分子的降解速率过快等缺点限制了它们在组织工程中的应用. 合成聚合物具有良好的可加工性、生物相容性和适宜的生物降解性, 使其成为制造组织工程支架时应用最广泛的材料之一. 其中聚丙交酯(PLA)、聚乳酸-羟基乙酸共聚物(PLGA)、聚己内酯(PCL)、聚(癸二酸甘油酯)(PGS)和聚氨酯(PU)是制备组织工程支架最主要的聚合物材料, 它们具有良好的机械加工性和生物相容性^[12-15]. 然而上述材料均为非导电材料, 无法对电刺激产生响应, 从而无法进一步模拟细胞外基质特性以调节细胞的生理活动, 如促进细胞增殖、诱导分化和促进组织再生^[16]. 另一方面, 研究发现导电高分子具有优异的导电性, 可以通过电刺激促进聚合物-组织界面处的细胞生长、黏附和增殖, 从而促进组织的生长^[17,18]. 因此, 导电高分子是极具发展潜力的组织工程支架制造材料.

引用格式: 李劭, 郭保林. 导电高分子生物材料在组织工程中的应用. 科学通报, 2019, 64: 2410-2424

Li M, Guo B L. Conductive polymeric biomaterials for tissue regeneration applications (in Chinese). Chin Sci Bull, 2019, 64: 2410-2424, doi: [10.1360/TB-2019-0025](https://doi.org/10.1360/TB-2019-0025)

导电高分子,如聚苯胺(PANi)、聚吡咯(PPy)和聚(3,4-乙烯二氧噻吩)(PEDOT),作为新一代合成聚合物,在具有类似于金属和无机半导体材料的导电性的同时,还具有良好的生物相容性和易合成等优点^[19-21]。研究表明导电高分子可以增强细胞活性、促进细胞黏附、迁移、增殖和分化,且在有或者无电刺激的情况下均可促进聚合物-组织界面的蛋白质分泌^[22-24]。所以导电聚合物尤其适用于如骨骼肌、心肌、神经、皮肤和骨骼等电信号敏感组织的修复^[25]。此外,导电聚合物还可显著促进一系列细胞的黏附和增殖,如成纤维细胞(L929)、成肌细胞(C2C12)、神经细胞株(PC12)、心肌细胞(H9c2)、原代心肌细胞、小鼠胚胎成骨细胞前体细胞(MC3T3-E1)和间充质干细胞^[26, 27]。由于以上优点,上述导电高分子成为了组织工程应用中最有潜力的生物材料之一,但其较脆且不易加工限制了其在组织工程领域的广泛应用。因此,研究人员开发了基于上述单组分导电聚合物和生物相容性可降解聚合物的复合型导电聚合物,其具有良好生物相容性、易合成加工性和可调节的物理化学性质^[28]。另外,其还具有良好的柔韧性,与传统无机和金属导电材料相比,对细胞和组织具有更好的机械兼容性和结构可调节性,因此被广泛应用于生物领域,包括药物传递系统、人造肌肉、生物致动器、生物传感器、神经信号检测和组织工程支架等^[29]。本综述将讨论导电高分子及复合型导电生物材料在组织工程中的应用。首先,我们主要介绍3种最具潜力的导电聚合物;然后,我们将聚焦于在组织工程

中应用的多种复合导电聚合物材料;最后,我们对这些导电聚合物材料在多种组织工程中的应用进行了总结,主要包括骨组织工程、肌肉组织工程、神经组织工程、心脏组织工程和皮肤伤口愈合等多个方面。

1 组织工程中最具潜力的导电聚合物

传统高分子聚合物通常为绝缘体,无法对生物电信号进行响应。研究人员发现部分具有共轭 π -键分子骨架的聚合物,由于其电子相对松散而易于电子高度离域,在特定条件下具有良好的导电性,从而发现了一系列导电聚合物^[27]。在本部分中,我们将介绍三种代表性导电聚合物的分子结构,并对它们的物理化学性质和生物相容性进行讨论。

1.1 聚吡咯(PPy)

1979年,Diaz等人^[30]在乙腈电解液中的铂电极上,使用电化学氧化聚合制备了电导率高达100 S/cm的导电聚吡咯(PPy)薄膜。如图1(a)所示,单体吡咯为含氮五元杂环,而PPy由单体吡咯通过电化学或化学氧化聚合合成^[31,32]。原始状态的PPy是不导电的,但经过掺杂后,PPy的电导率可急剧上升。进一步研究发现,PPy在具有良好的导电性的同时,还具有极佳的化学稳定性,因此PPy一直是研究最多的导电聚合物之一,被广泛应用于多个领域,如传感器^[33]、防腐涂层^[34]、电化学能源装置^[35]及生物医学领域^[36]。在生物医学领域,许多体外和体内实验表明,PPy与细胞及组织均具有良好的生物

图1 三种最具潜力的导电聚合物

Figure 1 Three kinds of the most promising conducting polymers

相容性,且在体内长时间植入时对机体不会产生明显的炎症及损伤^[36],具有发展成为组织工程支架的潜力。

1.2 聚(3,4-乙烯二氧噻吩)(PEDOT)

1980年, Yamamoto等人^[37]首先利用金属催化剂将2,5-二溴代噻吩缩聚成无取代基的聚噻吩(PTH)。PTH由含硫杂环单元聚合而成,具有良好的热稳定性及导电性,但较差的加工性极大地限制了其应用。所以研究人员研发了多种含有取代基的聚噻吩,如烷基取代聚噻吩^[38]和杂原子取代的聚噻吩^[39]。其中如图1(b)所示,由二氧乙烯基团桥连聚噻吩杂环上的3位和4位而形成的PEDOT,由于其优异的电活性及化学稳定性被广泛研究^[39]。但是PEDOT溶解及加工性依然较差,所以研究人员将PEDOT与聚苯乙烯磺酸盐(PSS)进行复合以改善其溶解度。在生物医学领域,许多研究表明PEDOT对多种细胞和组织,如上皮细胞、神经细胞均具有良好的生物相容性^[40,41],所以PEDOT也是一个极具潜力的导电聚合物。

1.3 聚苯胺(PANi)

如图1(c)所示, PANi由苯胺单体聚合形成,与PPy合成类似, PANi也可通过多种化学和电化学氧化法合成。PANi的氧化还原状态分为完全氧化态、中间氧化态和完全还原态。在不同的氧化还原状态下, PANi具有不同的分子结构。其中,中间氧化态由于其化学稳定性、导电性和氧化态可调节性,是研究最多的PANi结构。碱性形式的PANi是不导电的,当中间氧化态的PANi用盐酸、硫酸或磺酸掺杂后,醌二亚胺上的氮原子质子化,赋予了PANi优异的导电性。在生物医学领域, PANi具有优异的导电性和良好的生物相容性,且研究表明基于PANi的复合型导电聚合物可以促进成肌细胞和神经元细胞的增殖,其取向的结构还可以诱导上述两种细胞的分化^[42-44]。

2 导电聚合物在组织工程中的应用

导电聚合物(例如PANi, PPy和PEDOT)支持多种类型细胞的体外黏附、增殖和分化^[26]。此外,在动物模型中导电聚合物也被证实具有良好的生物相容性^[45],研究表明导电聚合物长期存在于动物体内时,对动物无明显不良影响或仅产生微弱的炎症反应^[46]。不同形式的导电生物材料,如薄膜和水凝胶,可以改善导电聚合物的加工性能并增加其应用形式(图2)。

图2 (网络版彩色)在组织工程中应用的多种复合导电高分子材料
Figure 2 (Color online) A variety of composite conductive polymer materials used in tissue engineering

2.1 导电单组分聚合物薄膜

导电聚合物可以通过化学或电化学合成,电化学合成的导电聚合物通常以薄膜的形式存在,可直接用于细胞培养。例如,纳米级的PPy薄膜是通过电沉积在氧化铟锡玻片上形成的,其上均匀分布着平均直径为62 nm的PPy颗粒。研究发现在PPy薄膜上培养MC3T3-E1细胞并施加电刺激,细胞可受到电信号和机械双重刺激。细胞增殖和胶原蛋白-1的基因表达等方面的结果显示:与单一刺激相比,电信号和机械双重刺激可以显著地促进MC3T3-E1细胞的增殖与分化,表明纳米PPy薄膜有可能成为一种新型骨组织修复材料^[47]。利用原位聚合技术,在聚对苯二甲酸乙二醇酯薄膜上制备逐层自掺杂的磺化PANi聚合物薄膜。在其上培养骨髓间充质干细胞(BMSCs)和MC3T3-E1细胞的结果表明,两种细胞的黏附率和细胞生长速率随着聚合物磺化度的增加而增加。两种细胞的von Kossa染色结果显示,与没有电刺激的对照组相比,电刺激组的细胞矿化程度显著增加^[48],表明在施加电刺激时该聚合物薄膜可促进骨组织修复。

2.2 导电共混或复合聚合物薄膜

导电高分子较脆,大多数导电聚合物难以形成单组分膜^[49],因此,导电聚合物与其他可降解聚合物制成的导电共混聚合物材料被广泛应用于组织工程。聚氨酯(PU)、聚乳酸(PLA)、聚乳酸-羟基乙酸共聚物(PLGA)、聚己内酯(PCL)、壳聚糖和丝素蛋白等都曾被用于合成导电共混聚合物^[17,50]。例如,导电PPy/PCL薄膜的合成过程为:首先将PCL薄膜浸泡在聚苯乙烯磺酸和吡咯的去离子水混合溶液中;随后,在混合溶液

中加入三氯化铁作为氧化剂,得到PPy涂层的PCL互穿网络结构的导电共混聚合物薄膜.该薄膜的电阻率为 $1.0\pm 0.4\text{ k}\Omega\text{ cm}$,与心脏组织的电阻率类似^[51],在心脏组织工程方面显示出巨大的应用潜力.

聚氨酯(PU)具有嵌段结构,通常表现出可调节的机械、物理、生物学性能以及良好的生物相容性^[52].研究人员合成了基于PU和PPy的复合导电薄膜,其合成过程为:首先,将吡咯在PU乳化混合物溶液中原位聚合,然后将得到的复合物制成薄膜后在真空中干燥.研究表明复合物薄膜的强度随着PPy含量的增加而增加.如图3所示,该薄膜对C2C12细胞显示出了良好的生物活性,接种的C2C12细胞在薄膜上可以分化形成肌管^[53].

最新研究制备了基于聚己内酯(PCL)、壳聚糖和不同浓度PPy的一系列新型导电共聚物薄膜,该薄膜在含有PPy(7.5 wt%)的情况下,导电率上升至 $0.55\pm 0.03\text{ mS/m}$,显示出良好的弹性、适宜的亲水性和多孔结构.进一步研究发现,该薄膜对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌均具有良好的抗菌活性,表明该薄膜具有应用于组织工程的潜力^[54].

2.3 导电共聚物薄膜

单组分的导电聚合物如PPy, PANi均不可体内降解^[55].研究发现基于苯胺/吡咯的共聚物,被亲水基团

功能化后,所得材料在具有与导电聚合物类似的电活性的同时,还新增了可生物降解的优点^[56].苯胺低聚物如苯胺三聚体、苯胺四聚体和苯胺五聚体具有确定的结构、良好的电活性和肾脏清除性,被广泛应用于合成可降解导电生物材料^[57,58].

本课题组^[59,60]开发了一系列基于苯胺低聚物的导电可降解薄膜和其他用于组织工程的可降解聚合物.例如,合成了一系列基于氨基封端苯胺三聚体、2,2-二羟甲基丙酸、聚丙交酯和六亚甲基二异氰酸酯(HDI)的弹性聚氨酯-脲(PUU)电活性薄膜.如图4所示,所得的薄膜表现出良好的生物可降解性、弹性、电活性及润湿性,且进一步研究发现该薄膜可以促进C2C12细胞的增殖及分化形成肌管^[59].此外,还合成了基于羧基封端苯胺五聚体(AP)、甘油(G)和癸二酸的聚氨酯电活性导电薄膜.其合成过程为:先合成聚(癸二酸甘油酯)-g-苯胺五聚体(PGSAP)预聚物,然后使用HDI将预聚物进一步交联形成上述聚合物导电薄膜(PGSAP-H).聚合物薄膜具有良好的生物可降解性、电活性及机械性能.细胞实验表明,该聚氨酯导电薄膜对施旺细胞(SCs)显示出良好的生物相容性,还可以显著促进SCs的髓鞘基因表达和神经营养因子分泌.而SCs形成的髓鞘对周围受损神经能否成功再生至关重要.此外,进一步实验表明通过添加在上述导电薄膜培养的SCs细胞产生的神经营养因子培养基悬浮液,可以诱导PC12细胞的神

图3 (网络版彩色)C2C12细胞在PPy-PU复合薄膜和PU薄膜上的肌管分化情况^[53].复合材料上C2C12细胞的荧光图像.复合薄膜PPy:PU的重量比为1:5(a), 1:10(b), 1:20(c), 1:100(d). (e) PU薄膜.肌球蛋白重链(MHC)MF20被染成绿色,然后用DAPI进行蓝色复染.图片由荧光显微镜拍摄($\times 200$)

Figure 3 (Color online) Myotube formation of C2C12 myoblasts on PPy-PU composites and PU^[53]. Fluorescent images of C2C12 myoblasts on composite films 1:5 (a), 1:10 (b), 1:20 (c), 1:100 (d) of the weight ratios of PPy:PU, and PU (e). Myosin heavy chain (MHC) MF20 was stained in green, and DAPI was counterstained in blue. Images were taken by using a fluorescence microscope ($\times 200$)

图4 (网络版彩色)PUU电活性薄膜的性质及促进C2C12细胞增殖和分化形成肌管^[59]

Figure 4 (Color online) The properties of PUU electroactive film and promotion of C2C12 cells proliferation and differentiation into myotubes^[59]

经突触生长和伸长,证明这些可降解聚氨酯导电薄膜具有促进神经再生应用的巨大潜力^[43]。

研究人员合成了PPy-肝素-胶原蛋白(PHC膜)导电薄膜作为神经组织工程支架,其合成过程为:先用吡咯改性肝素,然后在三氯化铁的氧化下进一步与吡咯单体聚合,最后通过酰胺键交联胶原蛋白得到PHC导电薄膜。研究发现该导电薄膜对PC12神经细胞具有良好生物相容性,并可促进PC12细胞的生长。所以PHC膜有望成为一种促进神经再生的神经组织工程支架^[61]。

2.4 导电纳米纤维

理想的生物材料还必须可以模拟目标组织细胞外基质(ECM)的内在结构及物理化学特性,从而促进宿主细胞迁移、增殖、分化和组织再生。胶原蛋白作为ECM的主要蛋白,以纳米纤维的形式存在,为了模仿天然ECM,研究人员使用了不同的技术制备纳米纤维聚合物支架,包括静电纺丝、相分离和分子组装^[62]。静电纺丝是使用最广泛的制造纳米纤维的技术。各种天然和合成的可生物降解聚合物与导电聚合物混合后,

均可进一步静电纺丝成纳米纤维用于组织工程^[63]。由静电纺丝制成的纳米纤维具有高比表面积和孔隙率,其直径可在几纳米到几微米之间调控^[64]。例如,研究人员合成了用于心脏组织工程的具有内轴和外壳的复合型导电纳米纤维材料,其内轴为基于聚乳酸(PLA)和PANi(PLA-PANi)的单轴导电纳米纤维束,或PLA纳米纤维与PLA-PANi导电纳米纤维复合的同轴导电纳米纤维束(PLA//PLA-PANi),外壳为基于PLA与聚乙二醇(PEG)共聚物和PANi的导电纳米纤维。随着PANi的加入,两种纳米纤维均具有良好的电导率和弹性。如图S1所示,内核PLA-PANi和PLA//PLA-PANi的导电纳米纤维束对小鼠心脏原代细胞显示出良好的生物相容性,且在上述两种导电纳米纤维束上培养的心脏成纤维细胞呈现出良好的伸长状态和较高的亲水性。上述导电纳米纤维具有应用于心脏组织工程的潜力^[42]。

本课题组^[65]通过静电纺丝制备了可降解的电活性壳聚糖-苯胺四聚体(CS-AT)纳米纤维。首先合成电活性壳聚糖-苯胺四聚体共聚物,然后将其溶解在三氟乙酸和二氯甲烷的混合溶液中,通过静电纺丝制成了具有电活性的纳米纤维,纳米纤维的直径可以通过改变聚合物浓度和苯胺四聚体含量进行控制。如图5所示,通过C2C12和软骨细胞的细胞黏附和增殖来评价纳米纤维的生物相容性,结果表明纳米纤维材料具有良好的生物相容性,浓度合适的苯胺四聚体纳米纤维可以促进软骨细胞和C2C12细胞的黏附和增殖。

2.5 导电水凝胶

人体的绝大多数软组织均具有良好的弹性,而水凝胶在具有类似弹性的同时,还具有良好的机械可调节性、生物可降解性和生物相容性,所以被广泛应用

图5 (网络版彩色)在培养2 d后CS-AT聚合物膜上的软骨细胞(顶部)和C2C12细胞(底部)的死/活细胞染色图片^[65]。标尺为50 μm

Figure 5 (Color online) Fluorescent images of chondrocytes (top) and C2C12 myoblasts (bottom) on CS-AT polymer films stained by live/dead assay after culturing for 2 d^[65]. Scale bars: 50 μm

于组织工程^[66-68]。例如, 研究人员通过自由基聚合反应将丙烯酸、双键改性PEDOT和聚乙二醇二丙烯酸酯进行聚合, 制备了具有电活性的聚PEDOT/聚丙烯酸(PAA)水凝胶。这种导电水凝胶具有显著的溶胀比、适当的机械性能和良好的电活性^[69]。

可注射水凝胶具有更易储存、携带及使用等优点, 受到了生物医学领域的广泛关注。氨基和醛基之间的席夫碱反应可以在生理条件下进行, 因此被广泛应用于制备可注射的导电水凝胶。本课题组^[70]合成了一种水溶性的季铵化壳聚糖-g-聚苯胺(QCSP)导电共聚物。首先, 将PANi原位接枝到QCS主链上; 然后, 使用氧化葡聚糖(Odex)作为交联剂通过席夫碱反应交联QCSP, 生成可注射的导电水凝胶。我们还通过席夫碱反应合成了基于壳聚糖-g-苯胺四聚体和苯甲醛封端的PEG2000的自修复导电水凝胶。该水凝胶显示出快速的自我修复能力、对宿主组织的良好黏附性和抗菌性, 其电导率为 $\sim 10^{-3}$ S/cm, 与心脏组织类似^[71]。

2.6 导电复合3D支架

除水凝胶外, 上述导电生物材料或纳米纤维通常以薄膜等2D的形式存在, 不具有对组织再生至关重要的三维结构^[72]。因此, 研究人员开发了应用于组织工程的3D导电复合支架, 其中导电聚合物纳米复合材料已广泛应用于组织工程。设计能够模仿具有取向结构的天然骨骼肌和心肌组织细胞外基质结构, 并诱导3D细胞排列的组织支架仍然是一个挑战。本课题组^[73]制备

了核-壳复合支架, 以模仿天然骨骼肌结构, 支架由取向的纳米纤维(NFYs)核和光固化水凝胶壳组成。NFYs由PCL、丝素蛋白和PANi的复合物溶液通过干湿静电纺丝法制备而成。通过光交联将取向的NFYs核心包封在水凝胶壳内来制造一系列复合支架。这些核-壳支架结合了取向的NFY核心和水凝胶壳, 可以模拟天然骨骼肌的结构, 并可以实际应用于骨骼肌修复。

研究人员近期设计了基于聚乙二醇二丙烯酸酯(PEGDA)和PEDOT:PSS的光交联可打印3D导电水凝胶。水凝胶的导电性随PEDOT:PSS的浓度增加而增加。他们借助背根神经节细胞(DRG)研究导电水凝胶的细胞毒性, 如图6(a), (b)所示。Cell Counting Kit(CCK)及死/活细胞染色两种细胞活性检测结果表明, 随着PEDOT:PSS浓度的增加, 细胞活性及活细胞的数量均显著增加, 说明在PEGDA水凝胶中加入PEDOT:PSS可以显著促进DRG细胞的黏附与增殖。在上述实验的基础上, 研究人员进一步将DRG细胞包裹在导电水凝胶中, 且给予适当电刺激。结果表明, 3D打印导电水凝胶提供的优异结构与性能可以系统地将电刺激传导给包封的DRG细胞, 从而促进了细胞的神经元分化。上述结果证明该可3D打印的导电水凝胶具有应用于神经组织工程的潜力^[74]。

3 导电生物材料的多种组织工程应用

理想的生物材料在具有良好生物相容性的同时, 还应能够促进宿主细胞的增殖、分化, 并改善特定细

图6 (网络版彩色)通过CCK(a)和死/活细胞染色法(b)研究含有PEDOT:PSS的水凝胶表面上背根神经节(DRG)细胞的活性^[74]。标尺为100 μm, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, $n = 5$

Figure 6 (Color online) Proliferation and viability of dorsal root ganglion (DRG) cell cultured on the PEDOT/PSS hydrogel surface, investigated by CCK (a) and live/dead assay (b). Scale bar: 100 μm, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, $n = 5$

胞功能,从而促进组织生长和维持组织功能.导电生物材料可以通过传递电信号刺激电敏感细胞(图7),如骨骼、骨骼肌、神经、心肌和皮肤细胞,促进上述细胞的电信号响应,从而促进上述细胞的增殖与分化,已被广泛用于这些电信号敏感组织的再生^[75].

3.1 骨组织工程

导电生物支架与生长因子结合,可以促进和调控细胞的增殖与分化,形成不同形状和功能组织,这是骨组织工程技术的基本策略.3D多孔或纤维导电支架结构具有提供细胞外诱导和传导微环境的作用,还可将生长因子传递给干细胞.导电生物材料可以促进MC3T3-E1细胞、类成骨细胞(SaOS-2)、C2C12细胞和间充质干细胞的黏附和增殖^[55,76].而上述细胞均具有成骨分化能力,在骨组织修复中具有重要作用.如图8(a)~(c)所示,具有多孔结构和良好电活性的PEDOT:PSS晶胶支架的孔径大于50 μm ,允许MC3T3-E1细胞浸润和细胞外基质沉积.此外,如图8(c)所示,该支架还可促进ALP, COL1和Runx2的基因表达、促进细胞外基质矿化和促进MC3T3-E1细胞的骨钙蛋白沉积.这些结果证明,导电PEDOT:PSS支架可以诱导MC3T3-E1细胞分化为可被骨钙素阳性染色的成骨细胞(图8(d), (e)).但PEDOT:PSS支架促进基质矿化和成骨细胞相关基因表达的作用机制目前尚不明确^[77].此外,研究人员还合成了基于PEDOT:PSS、明胶和生物活性玻璃的3D导电复合支架,具有~60%的孔隙率,通过改变PEDOT:PSS的含量,其孔径可以在110~160 μm 之间进行调节.该支架支持人骨髓间充质干细胞黏附,且细胞活性随着支架中导电聚合物浓度的增加而增加,可能是由于支架的微观结构改善或增强了细胞间电信号传递^[78].

3.2 骨骼肌组织工程

骨骼肌具有强大的再生能力,但在严重创伤的情况下,其功能也会严重丧失.骨骼肌是一种组织严密的复合结构,由肌纤维、血管、神经以及细胞外结缔组织组成^[79].骨骼肌组织工程通常在体外将肌肉前体细胞或干细胞在功能性组织支架上进行分化和成熟^[80].支架的取向结构可以模拟骨骼肌中肌纤维的各向异性结构.研究发现,由取向的纳米纤维组成的静电纺丝支架可以通过形状诱导,来促进骨骼肌细胞的排列和伸长^[52].因此,取向的导电纳米纤维被用于制备骨骼肌组织工程材料.例如,与无规则纤维相比,具有高度取向

图7 (网络版彩色)导电生物材料的多种组织工程应用

Figure 7 (Color online) Various tissue engineering applications of conductive biomaterials

结构的导电PCL/PANi纳米纤维可以诱导成肌细胞定向,并且更好地促进肌管形成.此外,导电和取向的PCL/PANi纳米纤维显示出比非导电取向的PCL纤维和无规则导电PCL/PANi纤维更强的促肌管成熟能力,与只具有单一属性的纳米纤维相比,具有导电与取向排列双重性质的纳米纤维能够更好地促进肌管成熟^[81].本课题组^[82]结合静电纺丝和电喷雾技术,制备了电活性纳米纤维复合支架,其兼具支架的取向排列和聚氨酯(PUU)纳米粒子的电活性.与无规则和非电活性支架相比,它们可以促进C2C12细胞的增殖和分化,证明了取向的支架形状诱导和电活性对C2C12细胞的分化具有协同作用.因此,电活性纳米纤维复合支架具有巨大的肌肉再生潜力.

3.3 神经组织工程

神经组织的损伤很难治疗,并且可能导致身体功能的永久性缺陷.修复神经组织病变的方法有很多种,代表性的治疗方式是在神经缺陷组织植入自体移植、同种异体移植或异种移植.然而,这种方法有一定几率会发生供体部位的严重免疫排斥反应.因此,为了克服传统植入物的这一问题,研究人员开发了很多种可植入的组织工程支架用于神经组织再生.神经组织具有电信号交换和传导的内在本质,同时一系列的研究已经证明电刺激可以促进神经细胞的增殖和分化,导电生物材料成为神经组织工程的研究热点之一.

研究人员发现以PPy和PANi为基础的导电生物材料,可以促进神经细胞的增殖^[83].例如导电PCL/PPy纳米纤维在具有良好细胞相容性的同时,还可以促进神经细胞(PC12)分化,且导电纳米纤维上PC12细胞存在神经突触向外生长的现象.此外,与无PPy涂层的PCL

图 8 (网络版彩色) PEDOT:PSS 支架对 MC3T3-E1 细胞的增殖及分化的影响. (a), (b) PEDOT:PSS 支架的扫描电子显微镜 (SEM) 图像. (c) 在 PEDOT:PSS 支架上培养 1, 7 和 28 d 的 MC3T3-E1 细胞的 SEM 图像. (d) SEM 二次电子成像 (d1) 和背散射电子成像 (d2) 图片, 图中点状为钙化颗粒; 其余部位为有机材料. (e) 第 28 天 OsteoImage 染色的 MC3T3-E1 细胞的共聚焦显微镜图像. 图中球状结构为用 DAPI 复染的细胞核, 其余部分为矿化骨结节, 分别显示在初始阶段 (e1) 和连续包埋后 (e2) 从支架的中心横向切片的细胞存在状态^[77]

Figure 8 (Color online) Effect of PEDOT:PSS scaffold on proliferation and differentiation of MC3T3-E1 cells. (a), (b) SEM images of PEDOT:PSS scaffolds. (c) SEM images of MC3T3-E1 cells cultured on PEDOT:PSS scaffolds. Samples were harvested on day 1, 7, and 28 post-seeding. (d) False-colored SEM image of back scattered and secondary electrons (d1), (d2). Calcified particles are depicted in dots; the remaining parts are the organic material. (e) Confocal microscopy images of OsteoImage stained MC3T3-E1 cells on Day 28 (e1), (e2). Nuclei were counterstained with DAPI as round. Whereas mineralized bone nodules are the remaining parts. Images were acquired on cryosections, sliced from the center of the scaffolds after an initial transversal cut and consecutive embedding^[77]

纳米纤维相比, PC12 细胞在导电纳米纤维上能够显著迁移. 这些结果表明了导电纳米纤维支架在神经组织工程中存在着巨大的潜力^[84]. 本课题组^[85]还研发了基于 PEDOT/壳聚糖/明胶的导电支架, 其表现出良好的生物相容性, 并可以显著促进 PC12 细胞的黏附和增殖. 此外, 导电支架还可以促进神经细胞轴突生长, 以及上调 GAP43 和 SYP 蛋白的基因表达水平, 这表明其可能是一种有前途的神经组织工程支架.

电刺激已被证明是可以促进神经元功能和神经再生的有效方法^[86]. 将 PC12 细胞接种到导电 PPy/聚 (DL-乳酸) (PDLLA) 导管上, 并以 100 mV 施加电刺激 2 h 后, 随着 PPy 含量的增加, 含有神经突起的细胞百分比及神经突起的长度均逐渐增加. 研究人员使用含有 5% PPy

的 PPy/PDLLA 神经导管修复大鼠 10 mm 缺损的坐骨神经. 与 PDLLA 导管相比, 含有 PPy 的神经导管可以显著促进神经修复, 展现了促进神经组织再生的巨大潜力^[87]. 取向的导电 PPy 纳米纤维可以诱导神经突起沿一个方向定向生长, 与生长在随机排列的纤维上的细胞相比, 其上的细胞神经突起的长度显著增长. 进一步对随机和取向的导电纳米纤维施加电刺激, 与没有电刺激的对照相比, 神经元细胞的神经突起长度均进一步增加, 表明其在神经组织工程方面具有光明前景^[88].

近期, 研究人员使用静电纺丝法制备了含有聚己内酯 (PCL)、壳聚糖和聚吡咯 (PPy) (PCL/壳聚糖/PPy) 的导电纳米纤维^[89]. 该导电纳米纤维具有良好的亲水性, 且纤维直径可通过壳聚糖浓度进行调节. 使用 PC12 细胞对

其体外细胞生物相容性进行研究发现, PCL/壳聚糖/PPy纳米纤维支架支持PC12细胞附着、迁移, 与纯PCL纳米纤维相比, PCL/壳聚糖/PPy纳米纤维组的PC12细胞增殖率高达356%, 且神经突触长度明显增长. 因此, 该导电纳米纤维支架有望成为神经组织替代物.

3.4 心脏组织工程

心脏兴奋-收缩耦合的行为是以电信号的形式在心肌细胞中传播的^[90], 而较为严重的心血管疾病, 如心肌梗死(MI)、心力衰竭, 都与心肌细胞严重缺失所导致的的心脏电信号传导异常有关. 与其他组织(如骨骼肌和皮肤)相比, 心肌细胞的修复或再生能力有限, 一旦受损, 心肌梗塞通常会导致心脏中相关细胞永久性功能损失, 产生纤维瘢痕组织^[91]. 近10年的研究发现, 电生理刺激可以促进心肌细胞和相关祖细胞群的增殖和迁移, 为了成功模仿心脏组织中细胞的这种内在属性, 具有电活性的导电材料被广泛应用于心脏组织工程.

与单纯的PCL薄膜相比, PPy/PCL导电薄膜可以提高钙离子的传播速度, 缩短心肌细胞的钙瞬变持续时间, 并且可以促进心肌细胞黏附. 此外, PPy/PCL薄膜上的心肌细胞外周聚集了更多的缝隙连接蛋白-43(CX43). 然而, CX43的基因表达水平在两种材料之间并无明显差异^[51]. 本课题组^[17]通过静电纺丝制备了具有相同直径的PLA纳米纤维和PLA/PANi导电纳米纤维薄膜. 该薄膜在提高心肌细胞(H9c2)活性的同时, 还可以在H9c2细胞成熟及融合方面促进其分化. PLA/PANi纳米纤维还可以改善心肌细胞间相互作用, 促进其分泌更多 α -辅肌动蛋白和CX-43, 并增强原代心肌细胞的自发搏动, 表明PLA/PANi导电纳米纤维具有应用于心肌组织工程的潜力.

全世界的心肌梗塞(MI)治疗依旧是个极大的难题, 本课题组^[92]设计了一种基于壳聚糖-苯胺四聚体和苯甲醛封端的聚(乙二醇)的自愈导电水凝胶, 具有良好的生物相容性. 注射水凝胶后, 包封在水凝胶中的C2C12细胞的存活率与注射前相比没有明显差异, 包封了细胞的水凝胶显示出可调节的细胞释放曲线和良好的体内细胞保留能力, 可以作为MI治疗的细胞递送载体. 水凝胶在体内还具有良好的降解能力和生物相容性, 是治疗MI的细胞递送载体的良好选择^[71].

心肌细胞具有高度的取向性, 理想的心脏组织工程支架在具有良好的机械性能、生物相容性及优异电活性的基础上, 还应该理想的表面结构, 以诱导细胞

排列和促进细胞伸长. 本课题组^[14]研发了基于苯胺三聚体(AT)与聚甘油癸二酸酯(PGS)(PGSAT), 具有高度取向表面微结构的可降解导电生物弹性薄膜. 导电薄膜具有与天然心脏组织同一数量级的导电性和机械模量. 细胞实验表明: 具有不同AT含量(5 wt%, 10 wt%和15 wt%)的所有薄膜对H9c2细胞均显示出良好的细胞相容性, 且可以促进H9c2细胞增殖. 含有10 wt%AT的电活性薄膜能够显著增强新生大鼠原代心肌细胞(CMs)的细胞间相互作用、细胞成熟和同步钙瞬变. 此外, 如图S2所示, 与平面的导电薄膜(PGSAT-Flat)相比, 具有表面微结构的导电薄膜(PGSAT-P50/100)可以沿其图案化方向诱导CMs排列, 促进CMs细胞伸长, 并可增加细胞间的 Ca^{2+} 含量. 具有高度取向表面微结构的导电薄膜显示出可用于制备促进心脏组织修复和再生的心脏组织工程支架的潜力.

3.5 皮肤组织工程

皮肤保护人体免受损害和微生物入侵, 人体在受到外界侵害时, 皮肤是最易损伤的. 在皮肤损伤愈合方面, 研究人员开发出了多种具有良好抗菌活性的生物材料基伤口敷料^[93]. 导电材料可以提高成纤维细胞和角质细胞活性, 这两种细胞在皮肤愈合过程中发挥着重要的作用^[50]. 此外, 导电聚合物(如PANi)还显示出良好的抗菌能力^[94], 具有促进皮肤愈合的潜力^[72,95]. 本课题组^[96]研发了基于N-羧乙基壳聚糖(CEC), 氧化透明质酸-g-苯胺四聚体(OHA-AT)的可降解可注射导电水凝胶作为新型抗菌、抗氧化伤口敷料, 并通过在小鼠背部采用全层皮肤损伤模型证实了该材料可以促进皮肤伤口愈合. 在测试过程中, 导电水凝胶敷料具有比对照组更弱的组织炎症反应. 如图9(a), (b)所示, 与对照组相比, 导电水凝胶敷料组的小鼠在第5, 10, 15天后, 伤口愈合速度更快. 如图9(c)~(e)所示, 与对照组相比, 导电水凝胶组新生皮肤中的胶原蛋白含量和肉芽组织厚度明显增加, 表明其可以加快小鼠伤口封闭, 并提高伤口愈合质量.

4 结论和展望

本文从导电聚合物在组织工程中常见的应用形式(薄膜、纳米纤维、水凝胶和复合3D支架)及适合使用导电生物材料的主要组织工程(骨组织工程、骨骼肌组织工程、神经组织工程、心脏组织工程、皮肤组织工程)两个方面, 对应用于组织工程的多种导电聚合物

图9 (网络版彩色)水凝胶伤口敷料对皮肤损伤小鼠伤口愈合的影响。(a) 商用3M敷料(Tegaderm™)(对照), OHA/CEC水凝胶, OHA-AT10/CEC水凝胶和D-OHA-AT10/CEC水凝胶在第5, 10和15天的伤口照片。(b) 第5, 10, 15天各组伤口大小统计图。(c) 第10和15天各组的肉芽组织厚度(肉芽组织厚度如图上箭头所示)。比例尺: 200 μm。(d) 第10和15天不同处理的肉芽组织厚度的统计图。(e) 各组伤口周围胶原蛋白中羟脯氨酸含量^[97]。* $P < 0.05$

Figure 9 (Color online) Effect of hydrogel wound dressing on wound healing in mice with skin injury. (a) Photographs of wounds on the 5th, 10th and 15th day for commercial film dressing (Tegaderm™) (control), OHA/CEC hydrogel, OHA-AT10/CEC hydrogel and D-OHA-AT10/CEC hydrogel. (b) Wound contraction for each treatment. (c) Granulation tissue thickness for different treatment on the 10th and 15th day (granulation tissue: blank arrows). Scale bar: 200 μm. (d) Statistical graph of granulation tissue thickness for different treatments on the 10th and 15th day. (e) Collagen amount for different treatment by determining the hydroxyproline. * $P < 0.05$

材料进行了总结。导电生物材料具有优异的生物相容性、可调节的导电性、易于合成与改性等优点, 具有制备组织工程支架的潜力。不同形式的导电生物材料, 如薄膜、纳米纤维或水凝胶, 可以增加导电聚合物的应用方式和改善导电聚合物的性能。

导电生物材料可以通过促进细胞间的信号传导来增强骨骼、骨骼肌、神经、心脏和皮肤组织中多种细胞的活性, 促进上述细胞增殖和分化。导电生物材料支架有望促进骨骼、肌肉、神经和皮肤等组织的修复与再生。

虽然导电聚合物在体外具有良好的生物相容性, 且在导电聚合物生物材料的合成和官能化方面的研究已经取得了显著进步, 但组织工程材料需要在体内长期存在, 所以导电聚合物在体内长期的细胞毒性、生物相容性及在体内的生物降解性成为下一步研究的重点。因此, 需要对现有优异的导电生物材料开展广泛的体内实验, 以研究其在体内的生物相容性和体内降解性, 为其在临床方面的研究打下基础。我们相信, 导电生物材料一定能够成为新型的具有巨大潜力的组织工程材料。

参考文献

- 1 Makris E A, Gomoll A H, Malizos K N, et al. Repair and tissue engineering techniques for articular cartilage. *Nat Rev Rheumatol*, 2015, 11: 21–34
- 2 Vacanti J P, Vacanti C A. The history and scope of tissue engineering. In: Lanza R, Langer R, Vacanti J, eds. *Principles of Tissue Engineering*. 4th ed. Boston: Academic Press, 2014. 3–8
- 3 Schumann D, Ekaputra A K, Lam C X F, et al. Biomaterials/scaffolds. In: Hauser H, Fussenegger M, eds. *Tissue Engineering*. Totowa: Humana Press, 2007. 101–124
- 4 Guo B L, Ma P X. Synthetic biodegradable functional polymers for tissue engineering: A brief review. *Sci China Chem*, 2014, 57: 490–500
- 5 Van Vlierbergh S, Dubruel P, Schacht E. Biopolymer-based hydrogels as scaffolds for tissue engineering applications: A review. *Biomacromolecules*, 2011, 12: 1387–1408
- 6 Li X, Cui R, Sun L, et al. 3D-printed biopolymers for tissue engineering application. *Int J Polym Sci*, 2014, 2014: 13
- 7 Kim J A, Lim J, Naren R, et al. Effect of the biodegradation rate controlled by pore structures in magnesium phosphate ceramic scaffolds on bone tissue regeneration *in vivo*. *Acta Biomater*, 2016, 44: 155–167
- 8 Muthukumar T, Aravinthan A, Sharmila J, et al. Collagen/chitosan porous bone tissue engineering composite scaffold incorporated with Ginseng compound K. *Carbohydrate Polymers*, 2016, 152: 566–574
- 9 Entekhabi E, Haghbin N M, Moztarzadeh F, et al. Design and manufacture of neural tissue engineering scaffolds using hyaluronic acid and polycaprolactone nanofibers with controlled porosity. *Mater Sci Eng-C*, 2016, 69: 380–387
- 10 Liang Y, Zhao X, Ma P X, et al. pH-responsive injectable hydrogels with mucosal adhesiveness based on chitosan-grafted-dihydrocaffeic acid and oxidized pullulan for localized drug delivery. *J Colloid Interface Sci*, 2019, 536: 224–234
- 11 Liang Y, Zhao X, Hu T, et al. Adhesive hemostatic conducting injectable composite hydrogels with sustained drug release and photothermal antibacterial activity to promote full-thickness skin regeneration during wound healing. *Small*, 2019, 15: 1900046
- 12 Inkinen S, Hakkarainen M, Albertsson A C, et al. From lactic acid to poly(lactic acid) (PLA): Characterization and analysis of PLA and its precursors. *Biomacromolecules*, 2011, 12: 523–532
- 13 Wu Y, Wang L, Zhao X, et al. Self-healing supramolecular bioelastomers with shape memory property as a multifunctional platform for biomedical applications via modular assembly. *Biomaterials*, 2016, 104: 18–31
- 14 Hu T, Wu Y, Zhao X, et al. Micropatterned, electroactive, and biodegradable poly(glycerol sebacate)-aniline trimer elastomer for cardiac tissue engineering. *Chem Eng J*, 2019, 366: 208–222
- 15 Zhao X, Dong R, Guo B, et al. Dopamine-incorporated dual bioactive electroactive shape memory polyurethane elastomers with physiological shape recovery temperature, high stretchability, and enhanced C2C12 myogenic differentiation. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2017, 9: 29595–29611
- 16 Aufan M R, Sumi Y, Kim S, et al. Facile synthesis of conductive polypyrrole wrinkle topographies on polydimethylsiloxane via a swelling-deswelling process and their potential uses in tissue engineering. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2015, 7: 23454–23463
- 17 Wang L, Wu Y, Hu T, et al. Electrospun conductive nanofibrous scaffolds for engineering cardiac tissue and 3D bioactuators. *Acta Biomater*, 2017, 59: 68–81
- 18 Xu X, Fan P, Ren J, et al. Self-healing thermoplastic polyurethane (TPU)/polycaprolactone (PCL)/multi-wall carbon nanotubes (MWCNTs) blend as shape-memory composites. *Compos Sci Tech*, 2018, 168: 255–262
- 19 Ouyang L, Jafari M J, Cai W, et al. The contraction of pedot films formed on a macromolecular liquid-like surface. *J Mater Chem C*, 2018, 6: 654–660
- 20 Checkol F, Elfving A, Greczynski G, et al. Highly stable and efficient lignin-PEDOT/PSS composites for removal of toxic metals. *Adv Sustain Syst*, 2018, 2: 1700114
- 21 Deng Z, Hu T, Lei Q, et al. Stimuli-responsive conductive nanocomposite hydrogels with high stretchability, self-healing, adhesiveness, and 3D printability for human motion sensing. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2019, 11: 6796–6808
- 22 Mawad D, Stewart E, Officer D L, et al. A single component conducting polymer hydrogel as a scaffold for tissue engineering. *Adv Funct Mater*, 2012, 22: 2692–2699
- 23 Kaur G, Adhikari R, Cass P, et al. Electrically conductive polymers and composites for biomedical applications. *RSC Adv*, 2015, 5: 37553–37567
- 24 Harris A R, Wallace G G. Organic electrodes and communications with excitable cells. *Adv Funct Mater*, 2018, 28: 1700587
- 25 Qazi T H, Rai R, Boccaccini A R. Tissue engineering of electrically responsive tissues using polyaniline based polymers: A review. *Biomaterials*, 2014, 35: 9068–9086
- 26 Zhao F, Shi Y, Pan L, et al. Multifunctional nanostructured conductive polymer gels: Synthesis, properties, and applications. *Acc Chem Res*, 2017, 50: 1734–1743
- 27 Balint R, Cassidy N J, Cartmell S H. Conductive polymers: Towards a smart biomaterial for tissue engineering. *Acta Biomater*, 2014, 10: 2341–

2353

- 28 Ravichandran R, Sundarajan S, Venugopal J R, et al. Applications of conducting polymers and their issues in biomedical engineering. *J R Soc Interface*, 2010, 7: S559
- 29 Hardy J G, Lee J Y, Schmidt C E. Biomimetic conducting polymer-based tissue scaffolds. *Curr Opin Biotech*, 2013, 24: 847–854
- 30 Diaz A F, Kanazawa K K, Gardini G P. Electrochemical polymerization of pyrrole. *J Chem Soc Chem Comm*, 1979, 14: 635–636
- 31 Sabouraud G, Sadki S, Brodie N. The mechanisms of pyrrole electropolymerization. *Chem Soc Rev*, 2000, 29: 283–293
- 32 Duchet J, Legras R, Demoustier-Champagne S. Chemical synthesis of polypyrrole: Structure-properties relationship. *Synth Met*, 1998, 98: 113–122
- 33 Tian L, Feng Y, Qi Y, et al. Investigations of electrochemical polymerization processes of thin poly(pyrrole) films and its application to anion sensor based on surface plasmon resonance. *J Polym Res*, 2011, 18: 2379–2387
- 34 Ioniță M, Prună A. Polypyrrole/carbon nanotube composites: Molecular modeling and experimental investigation as anti-corrosive coating. *Prog Org Coatings*, 2011, 72: 647–652
- 35 Zhao J, Zhang S, Liu W, et al. Fe₃O₄/PPy composite nanospheres as anode for lithium-ion batteries with superior cycling performance. *Electrochim Acta*, 2014, 121: 428–433
- 36 Ramanaviciene A, Kausaite A, Tautkus S, et al. Biocompatibility of polypyrrole particles: An *in-vivo* study in mice. *J Pharmacy Pharmacol*, 2007, 59: 311–315
- 37 Yamamoto T, Sanechika K, Yamamoto A. Preparation of thermostable and electric-conducting poly(2,5-thienylene). *J Polym Sci Polym Lett*, 1980, 18: 9–12
- 38 Elsenbaumer R L, Jen K Y, Oboodi R. Processible and environmentally stable conducting polymers. *Synth Met*, 1986, 15: 169–174
- 39 Cui X, Martin D C. Electrochemical deposition and characterization of poly(3,4-ethylenedioxythiophene) on neural microelectrode arrays. *Sens Actuat B-Chem*, 2003, 89: 92–102
- 40 Green R A, Lovell N H, Poole-Warren L A. Cell attachment functionality of bioactive conducting polymers for neural interfaces. *Biomaterials*, 2009, 30: 3637–3644
- 41 Bertran O, Armelin E, Estrany F, et al. Poly(2-thiophen-3-yl-malonic acid), a polythiophene with two carboxylic acids per repeating unit. *J Phys Chem B*, 2010, 114: 6281–6290
- 42 Bertuoli P T, Ordoño J, Armelin E, et al. Electrospun conducting and biocompatible uniaxial and core-shell fibers having poly(lactic acid), poly(ethylene glycol), and polyaniline for cardiac tissue engineering. *ACS Omega*, 2019, 4: 3660–3672
- 43 Wu Y, Wang L, Guo B, et al. Electroactive biodegradable polyurethane significantly enhanced schwann cells myelin gene expression and neurotrophin secretion for peripheral nerve tissue engineering. *Biomaterials*, 2016, 87: 18–31
- 44 Srisuk P, Berti F V, da Silva L P, et al. Electroactive gellan gum/polyaniline spongy-like hydrogels. *ACS Biomater Sci Eng*, 2018, 4: 1779–1787
- 45 Liu S, Wang J, Zhang D, et al. Investigation on cell biocompatible behaviors of polyaniline film fabricated via electroless surface polymerization. *Appl Surf Sci*, 2010, 256: 3427–3431
- 46 Humpolíček P, Kašpárková V, Pacherník J, et al. The biocompatibility of polyaniline and polypyrrole: A comparative study of their cytotoxicity, embryotoxicity and impurity profile. *Mater Sci Eng-C*, 2018, 91: 303–310
- 47 Liu L, Li P, Zhou G, et al. Increased proliferation and differentiation of pre-osteoblasts MC3T3-E1 cells on nanostructured polypyrrole membrane under combined electrical and mechanical stimulation. *J BioMed Nanotechnol*, 2013, 9: 1532–1539
- 48 Min Y, Liu Y, Poojari Y, et al. Self-doped polyaniline-based interdigitated electrodes for electrical stimulation of osteoblast cell lines. *Synth Met*, 2014, 198: 308–313
- 49 Green R A, Lovell N H, Wallace G G, et al. Conducting polymers for neural interfaces: Challenges in developing an effective long-term implant. *Biomaterials*, 2008, 29: 3393–3399
- 50 Zhao X, Guo B, Wu H, et al. Injectable antibacterial conductive nanocomposite cryogels with rapid shape recovery for noncompressible hemorrhage and wound healing. *Nat Commun*, 2018, 9: 2784
- 51 Spearman B S, Hodge A J, Porter J L, et al. Conductive interpenetrating networks of polypyrrole and polycaprolactone encourage electrophysiological development of cardiac cells. *Acta Biomater*, 2015, 28: 109–120
- 52 Chattopadhyay D K, Raju K V S N. Structural engineering of polyurethane coatings for high performance applications. *Prog Polym Sci*, 2007, 32: 352–418
- 53 Broda C R, Lee J Y, Sirivisoot S, et al. A chemically polymerized electrically conducting composite of polypyrrole nanoparticles and polyurethane for tissue engineering. *J Biomed Mater Res*, 2011, 98A: 509–516
- 54 Talebi A, Labbaf S, Karimzadeh F. A conductive film of chitosan-polycaprolactone-polypyrrole with potential in heart patch application. *Polym Testing*, 2019, 75: 254–261
- 55 Guo B, Glavas L, Albertsson A C. Biodegradable and electrically conducting polymers for biomedical applications. *Prog Polym Sci*, 2013, 38: 1263–1286

- 56 Guimard N K E, Sessler J L, Schmidt C E. Toward a biocompatible and biodegradable copolymer incorporating electroactive oligothiophene units. *Macromolecules*, 2009, 42: 502–511
- 57 Cui H, Cui L, Zhang P, et al. *In situ* electroactive and antioxidant supramolecular hydrogel based on cyclodextrin/copolymer inclusion for tissue engineering repair. *Macromol Biosci*, 2014, 14: 440–450
- 58 Guo B, Finne-Wistrand A, Albertsson A C. Facile synthesis of degradable and electrically conductive polysaccharide hydrogels. *Biomacromolecules*, 2011, 12: 2601–2609
- 59 Chen J, Dong R, Ge J, et al. Biocompatible, biodegradable, and electroactive polyurethane-urea elastomers with tunable hydrophilicity for skeletal muscle tissue engineering. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2015, 7: 28273–28285
- 60 Chen J, Guo B, Eyster T W, et al. Super stretchable electroactive elastomer formation driven by aniline trimer self-assembly. *Chem Mater*, 2015, 27: 5668–5677
- 61 Su D, Zhou J, Ahmed K S, et al. Fabrication and characterization of collagen-heparin-polypyrrole composite conductive film for neural scaffold. *Int J Biol Macromolecules*, 2019, 129: 895–903
- 62 Arioiz I, Erol O, Bakan G, et al. Biocompatible electroactive tetra(aniline)-conjugated peptide nanofibers for neural differentiation. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2018, 10: 308–317
- 63 Jaganathan S K, Mani M P. Single-stage synthesis of electrospun polyurethane scaffold impregnated with zinc nitrate nanofibers for wound healing applications. *J Appl Polym Sci*, 2019, 136: 46942
- 64 Jiang T, Carbone E J, Lo K W H, et al. Electrospinning of polymer nanofibers for tissue regeneration. *Prog Polym Sci*, 2015, 46: 1–24
- 65 Ma X, Ge J, Li Y, et al. Nanofibrous electroactive scaffolds from a chitosan-grafted-aniline tetramer by electrospinning for tissue engineering. *RSC Adv*, 2014, 4: 13652–13661
- 66 Zhao W, Nugroho R W N, Odelius K, et al. *In situ* cross-linking of stimuli-responsive hemicellulose microgels during spray drying. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2015, 7: 4202–4215
- 67 Deng Z, Guo Y, Zhao X, et al. Multifunctional stimuli-responsive hydrogels with self-healing, high conductivity, and rapid recovery through host-guest interactions. *Chem Mater*, 2018, 30: 1729–1742
- 68 Guo B, Qu J, Zhao X, et al. Degradable conductive self-healing hydrogels based on dextran-graft-tetraaniline and *N*-carboxyethyl chitosan as injectable carriers for myoblast cell therapy and muscle regeneration. *Acta Biomater*, 2019, 84: 180–193
- 69 Mawad D, Artzy-Schnirman A, Tonkin J, et al. Electroconductive hydrogel based on functional poly(ethylenedioxy thiophene). *Chem Mater*, 2016, 28: 6080–6088
- 70 Zhao X, Li P, Guo B, et al. Antibacterial and conductive injectable hydrogels based on quaternized chitosan-graft-polyaniline/oxidized dextran for tissue engineering. *Acta Biomater*, 2015, 26: 236–248
- 71 Dong R, Zhao X, Guo B, et al. Self-healing conductive injectable hydrogels with antibacterial activity as cell delivery carrier for cardiac cell therapy. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2016, 8: 17138–17150
- 72 Zhao X, Wu H, Guo B, et al. Antibacterial anti-oxidant electroactive injectable hydrogel as self-healing wound dressing with hemostasis and adhesiveness for cutaneous wound healing. *Biomaterials*, 2017, 122: 34–47
- 73 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. *ACS Nano*, 2015, 9: 9167–9179
- 74 Heo D N, Lee S J, Timsina R, et al. Development of 3D printable conductive hydrogel with crystallized PEDOT:PSS for neural tissue engineering. *Mater Sci Eng-C*, 2019, 99: 582–590
- 75 Baniasadi H, Ramazani S A A, Mashayekhan S. Fabrication and characterization of conductive chitosan/gelatin-based scaffolds for nerve tissue engineering. *Int J Biol Macromol*, 2015, 74: 360–366
- 76 Li L, Yu M, Ma P X, et al. Electroactive degradable copolymers enhancing osteogenic differentiation from bone marrow derived mesenchymal stem cells. *J Mater Chem B*, 2016, 4: 471–481
- 77 Guex A G, Puetzer J L, Armgarth A, et al. Highly porous scaffolds of PEDOT:PSS for bone tissue engineering. *Acta Biomater*, 2017, 62: 91–101
- 78 Shahini A, Yazdimaghani M, Walker K J, et al. 3D conductive nanocomposite scaffold for bone tissue engineering. *Int J Nanomed*, 2013, 9: 167–181
- 79 Koning M, Harmsen M C, van Luyn M J A, et al. Current opportunities and challenges in skeletal muscle tissue engineering. *J Tissue Eng Regen Med*, 2009, 3: 407–415
- 80 Mohamadali M, Irani S, Soleimani M, et al. PANI/PAN copolymer as scaffolds for the muscle cell-like differentiation of mesenchymal stem cells. *Polym Adv Technol*, 2017, 28: 1078–1087
- 81 Chen M C, Sun Y C, Chen Y H. Electrically conductive nanofibers with highly oriented structures and their potential application in skeletal muscle tissue engineering. *Acta Biomater*, 2013, 9: 5562–5572
- 82 Chen J, Ge J, Guo B, et al. Nanofibrous polylactide composite scaffolds with electroactivity and sustained release capacity for tissue engineering. *J*

- [Mater Chem B](#), 2016, 4: 2477–2485
- 83 Wu Y, Wang L, Hu T, et al. Conductive micropatterned polyurethane films as tissue engineering scaffolds for schwann cells and PC12 cells. [J Colloid Interface Sci](#), 2018, 518: 252–262
- 84 Shafei S, Foroughi J, Stevens L, et al. Electroactive nanostructured scaffold produced by controlled deposition of PPy on electrospun PCL fibres. [Res Chem Intermed](#), 2017, 43: 1235–1251
- 85 Wang S, Sun C, Guan S, et al. Chitosan/gelatin porous scaffolds assembled with conductive poly(3,4-ethylenedioxythiophene) nanoparticles for neural tissue engineering. [J Mater Chem B](#), 2017, 5: 4774–4788
- 86 Lee J Y, Bashur C A, Goldstein A S, et al. Polypyrrole-coated electrospun PLGA nanofibers for neural tissue applications. [Biomaterials](#), 2009, 30: 4325–4335
- 87 Xu H, Holzwarth J M, Yan Y, et al. Conductive PPy/PDLLA conduit for peripheral nerve regeneration. [Biomaterials](#), 2014, 35: 225–235
- 88 Xie J, Macewan M R, Willerth S M, et al. Conductive core-sheath nanofibers and their potential application in neural tissue engineering. [Adv Funct Mater](#), 2009, 19: 2312–2318
- 89 Sadeghi A, Moztarzadeh F, Aghazadeh M J. Investigating the effect of chitosan on hydrophilicity and bioactivity of conductive electrospun composite scaffold for neural tissue engineering. [Int J Biol Macromolecules](#), 2019, 121: 625–632
- 90 Wu Y, Wang L, Guo B, et al. Interwoven aligned conductive nanofiber yarn/hydrogel composite scaffolds for engineered 3D cardiac anisotropy. [ACS Nano](#), 2017, 11: 5646–5659
- 91 Kashi M, Baghbani F, Moztarzadeh F, et al. Green synthesis of degradable conductive thermosensitive oligopyrrole/chitosan hydrogel intended for cartilage tissue engineering. [Int J Biol Macromolecules](#), 2018, 107: 1567–1575
- 92 Jin E, Zhang Z, Lian H, et al. Injectable electroactive hydrogels based on Pluronic® F127 and tetraaniline copolymer. [Eur Polym J](#), 2017, 88: 67–74
- 93 GhavamiNejad A, Park C H, Kim C S. *In situ* synthesis of antimicrobial silver nanoparticles within antifouling zwitterionic hydrogels by catecholic redox chemistry for wound healing application. [Biomacromolecules](#), 2016, 17: 1213–1223
- 94 Nazarzadeh Z E, Mansour L M, Mohseni M. Biodegradable polypyrrole/dextrin conductive nanocomposite: Synthesis, characterization, antioxidant and antibacterial activity. [Synthetic Met](#), 2014, 187: 9–16
- 95 Li M, Chen J, Shi M, et al. Electroactive anti-oxidant polyurethane elastomers with shape memory property as non-adherent wound dressing to enhance wound healing. [Chem Eng J](#), 2019, 375: 121999
- 96 Qu J, Zhao X, Liang Y, et al. Degradable conductive injectable hydrogels as novel antibacterial, anti-oxidant wound dressings for wound healing. [Chem Eng J](#), 2019, 362: 548–560

补充材料

图S1 心脏成纤维细胞在导电纳米纤维上的生长情况

图S2 具有表面微结构的导电薄膜对CMs细胞排列方向的影响

本文以上补充材料见网络版csb.scichina.com. 补充材料为作者提供的原始数据, 作者对其学术质量和内容负责.

Summary for “导电高分子生物材料在组织工程中的应用”

Conductive polymeric biomaterials for tissue regeneration applications

Meng Li & Baolin Guo^{*}

Center of Biomedical Engineering and Regenerative Medicine, Frontier Institute of Science and Technology, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710049, China

^{*} Corresponding author, E-mail: baoling@mail.xjtu.edu.cn

Tissue engineering involves materials science, bioengineering, and regenerative medicine and many other disciplines. In the early stage, it aims to develop functional biological alternatives that improve, or maintain the function of lost or damaged tissue by combining the scaffold, cells, and biological molecules (such as growth factors). In addition, the ultimate goal of tissue engineering is to regenerate or repair damaged tissues with the help of the biological substitutes. Therefore, the tissue engineering scaffold should mimic the property, structure of the damaged tissue and mimic the extracellular matrix to support cell survival and growth to improve the tissue function. Moreover, the scaffold should also enhance cell proliferation and guide differentiation to regenerate or repair damaged tissues. Over the years, numerous studies have demonstrated that electrical signals can influence cellular behavior and function and conductive materials can enhance cell proliferation and guide differentiation of stem cells through promoting intercellular signaling.

Traditional polymers have good process property, biodegradability, and good biocompatibility. So they are most widely used in tissue engineering, but traditional polymers are insulators, which cannot respond to signal transmission between cells to further control cellular activities, such as cell proliferation, migration and differentiation. However, researchers have discovered a variety of electrically conducting polymers in recent decades, such as polyaniline (PANi), polypyrrole (PPy), polythiophene, and their derivatives (mainly aniline oligomers and poly(3,4-ethylenedioxythiophene)) which have good biocompatibility and excellent electrical conductivity. They have been widely used in biomedical fields including drug delivery systems, biosensors, neural implants, and biological actuator, mostly used in the field of tissue engineering scaffolds. Moreover, their excellent electrical conductivity can promote cell adhesion and proliferation at the interface between the polymer and tissue by electrical stimulation, thereby promoting tissue growth. Therefore, the field of tissue engineering by conductive polymeric biomaterials has received more and more attention. However, the pure conductive polymers are brittle and their poor processability limits their applications in tissue engineering. Therefore, composite conductive polymeric biomaterials have been developed based on the above-mentioned conductive polymers and biocompatible degradable polymers, which have excellent biocompatibility, electrical conductivity, and processability. This review will summarize a variety of composite conductive polymeric biomaterials used in tissue engineering, such as pure conducting polymers, conducting blends or composite films, conducting copolymer films, conducting nanofibers, conducting hydrogels, and conducting composite three-dimensional (3D) scaffolds. In addition, recent research in tissue engineering has found that these conductive polymeric biomaterials can be used in various electrical signal sensitive tissues engineering including bone, muscle, nerve and cardiac tissue engineering. The above aspects will be discussed in detail in this paper.

tissue engineering, conductive polymer, composite conductive polymer material, polyaniline, polypyrrole, poly(3,4-ethylenedioxythiophene)

doi: [10.1360/TB-2019-0025](https://doi.org/10.1360/TB-2019-0025)