自愈合水凝胶在组织工程中的研究进展

张恩勉^{1,3†}, 李紫秀^{2†}, 孙蕾³, 董点点¹, 梁毅³, 魏钊³, 张其清^{4,5}, 陈咏梅^{1,3*}

1. 陕西科技大学中国轻工业皮革清洁生产重点实验室, 轻化工程国家级实验教学示范中心, 轻工科学与工程学院, 西安 710021;

2. 西北农林科技大学化学与药学院, 杨凌 712100;

3. 西安交通大学机械结构强度与振动国家重点实验室, 航天航空学院国际应用力学中心, 西安 710049;

4. 福州大学生物和医药技术研究院, 福州 350108;

5. 福州吉特瑞生物科技有限公司, 福州 350116

†同等贡献

*通讯作者, E-mail: chenym@mail.xjtu.edu.cn

收稿日期: 2018-07-16; 接受日期: 2018-09-31; 网络版发表日期: 2019-02-21

国家自然科学基金(批准号: 11674263, 51173144, 51073127)、陕西省科学技术研究发展计划(批准号: 2013KW14-02)、教育部留学人员回国启动基金(批准号: 18920011)、中央高校基本科研业务费和陕西省重点科技创新团队项目(批准号: 2013KCT-05)资助

摘要 作为新型生物医用智能材料, 自愈合水凝胶在解决柔性生物材料损伤修复问题及实现生物材料智能化和高效化中具有重要意义. 本文综述了目前新型自愈合水凝胶的最新设计思路、性能以及在神经修复、骨缺损修复、心脏组织修复、肝脏止血等组织工程中的应用. 这些研究进展为设计制备智能多功能水凝胶材料提供了创新思路, 为增加柔性自愈合材料的多样性提供了新途径, 为智能水凝胶材料在组织工程中的发展及生物医学中的应用奠定了良好的基础.

关键词 水凝胶, 自愈合, 组织工程

具有生物活性的医用生物材料承担着把无生命的材料转变为有生命的人体组织的重任, 承载着人类治疗疾病、提高健康水平的美好使命. 通过新材料和新技术的研发, 提高生物材料自主创新能力, 促进新型高性能生物材料的研发, 是我国生物材料发展的大势所趋. 我国每年有超过千万台次外科手术需要使用生物材料, 产生的相关费用高达数百亿元的规模, 2008~2010年, 我国生物医用材料的增长率高达30%, 远高于国际市场的22%, 2010年市场销售额近100亿美元, 并且近10年来以超过20%的年增长率持续增长^[1].

为了满足临床的需求, 生物材料的实验室基础研究也呈大幅度上升趋势. 为此, 生物材料的研究受到了世界各国政府和科学界的极大重视, 从某种意义上讲, 已经成为一个国家生物医学发展水平的标志之一.

人体除了硬组织如牙齿和骨头以外, 其余都是由软组织构成的, 因此, 研究与生物体软组织的结构和性能类似的“软、湿”高分子水凝胶(hydrogels)材料在组织工程、再生医学、药学、基础医学及临床医疗领域中的价值巨大, 是当今柔性生物材料发展的一个重要方向. 高分子水凝胶是透明或半透明的黏弹性半固

引用格式: 张恩勉, 李紫秀, 孙蕾, 等. 自愈合水凝胶在组织工程中的研究进展. 中国科学: 生命科学, 2019, 49: 250–265

Zhang E M, Li Z X, Sun L, et al. Novel self-healing hydrogels and their applications in tissue engineering (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2019, 49: 250–265, doi: [10.1360/N052018-00015](https://doi.org/10.1360/N052018-00015)

态柔性生物材料, 因其高分子含量少、水含量占大部分(50%~90%), 也称为“水材料”, 是一类典型的低原材料消耗、低环境污染、高技术附加值的柔性生物医用材料. 鉴于其独特的与细胞外基质(extracellular matrix)类似的可溶胀大量水的三维网络结构特征, 水凝胶成为模拟天然生物软组织材料的最佳选择, 在组织工程、生物传感器以及缓释载体(包埋释放药物、蛋白或细胞)等生物医学领域中有着广泛的应用价值^[2].

随着柔性水凝胶材料在生物医学领域中发挥作用的拓宽, 对其性能也提出了更高的要求, 这些要求促进了新型智能水凝胶材料的优化设计与制备. 自愈合水凝胶就是典型的生物医用水凝胶新型智能材料的产物. 自愈合的概念源于生物体从分子水平(如DNA修复)到宏观水平(如皮肤、骨、肌肉等组织)的自愈合修复现象, 与生物体的繁殖和功能维持密切相关. 然而传统高分子水凝胶材料不具有自愈合功能, 植入人体的水凝胶材料一旦发生破损后难以修复. 该缺点不仅缩短了材料的使用寿命, 而且还隐藏着威胁病人生命安全的隐患. 因此, 将自愈合的概念拓展到生物医用材料领域, 研究开发具有自愈合功能的水凝胶材料, 对于解决柔性生物材料损伤修复问题, 实现生物材料智能化和高效化具有重要意义. 受到自然界的启发, 自愈合水凝胶材料应运而生, 在理想情况下, 植入人体的自愈合水凝胶材料替代软组织在人体中发挥功能, 当受到损伤后可自行愈合, 无需手术便可恢复其性能.

自愈合水凝胶是一类通过动态共价键(如硼酸酯键、二硫键、亚胺键、酰胺键、迪尔斯-阿尔德等)或非共价键(如疏水、主客体化学、氢键、结晶、多重分子间作用等)可逆反应交联而成的、具有自我修复功能的柔性材料. 在受损之后, 可通过水凝胶网络中的可逆交联反应修复受损部位的结构和功能^[3-6]. 动态化学键的特点是“动态”和“可逆”, 通过动态化学键交联而成的自愈合水凝胶对外界刺激具有积极、智能的响应, 水凝胶网络中动态共价键的断裂和生成在不断动态变化, 网络中始终存在着未交联的带有活性基团的高分子链, 这些高分子链并未被水凝胶网络所束缚, 可以在损伤处多次重复反应交联, 最终使被破坏的水凝胶重新愈合为一个整体, 并恢复其原有结构和功能. 根据所需自愈合条件的不同, 自愈合水凝胶分为自主性(autonomous)愈合和非自主性(non-autonomic)愈合材料. 自主性愈合水凝胶的损伤部位本身就可自发地

进行自愈合反应, 不需要任何外界刺激和能量就可实现自愈合功能, 这与其三维网络本身所具有的结构自适应性, 以及自愈合反应的高活性和高效性密切相关. 而非自主性愈合水凝胶需要适度的外界刺激和能量(如磁性吸引、加热、光照或酸碱环境刺激等)才能体现出愈合性能^[3].

可注射自愈合水凝胶体系的研究尚处于起始阶段, 相关报道还较少. 传统可注射医用水凝胶是一类可通过注射器将前驱体溶液(由形成水凝胶的成分构成的水溶液)注射到达靶标位点后, 原位凝胶化固定在靶标部位, 再缓释水凝胶中所包埋的细胞或药物等成分进行治疗的水凝胶材料^[7-9]. 可注射自愈合水凝胶是一种新型具有自愈功能可注射水凝胶.

作为医用生物材料, 只有在生理环境下可自主性愈合的水凝胶才具有更好的实际应用潜力. 我们将适用于生物医学领域的自愈合水凝胶的要求总结如下: (i) 具有良好的生物相容性、无毒性, 可包埋活体细胞、缓释药物、必要时还可生物降解; (ii) 可在生理条件下自主性愈合, 自愈合过程不受体液等其他成分的影响, 也无需外界添加任何修复剂; (iii) 自愈合速度快、效率高, 并且可实现多次重复性自愈合; (iv) 便于植入不同形状病患部位(图1).

新型自愈合水凝胶材料的设计和应用对医用生物材料的发展具有显著推动作用. 例如, Oguz课题组^[10]将长链丙烯酸烷酯在十二烷基硫酸钠胶束中聚合, 获得了基于疏水作用的自愈合水凝胶; Varghese课题组^[11]制备了由丙烯酰-6-氨基己酸聚合而成的基于氢键作用的自愈合水凝胶; Aida课题组^[12]制备了由锂蒙脱土和树枝状大分子构成的基于非共价键(氢键、疏水作用、静电吸引)的有机/无机复合自愈合水凝胶; Chen课题组^[13]利用两端修饰有苯甲酰肼的聚环氧乙烷与小分子交联剂三[(4-醛基苯氧基)-甲基]乙烷的三个末端的醛基进行脱水缩合反应, 得到了以酰胺键为交联点的凝胶网络; Yamaguchi课题组^[14]以分别修饰了6-氨基- β -环糊精和二茂铁的聚丙烯酸高分子链为主客体, 制备了一种具有氧化还原响应性的自愈合水凝胶; 虽然这些基于合成高分子的水凝胶表现出良好的自愈合性能, 但是存在所用水凝胶成分的生物相容性、毒性等尚不明确等缺点. 通过对自愈合水凝胶研究现状进行系统分析发现, 国内外学者大多主要集中在研究设计可实现自愈合行为的水凝胶体系以及自愈

图1 生物医学用自愈合水凝胶的特性要求(网络版彩图)

Figure 1 Characteristics of biomedical self-healing hydrogels (color online)

合机理的研究,而忽略了实际应用于生物医学领域中需要考虑的问题,如是否具有可在生理条件下的自愈合性能、生物相容性、细胞毒性等问题。

仅有部分学者报道了一些具有生物相容性的基于天然高分子的自愈合水凝胶,例如,Wei课题组^[15-17]采用壳聚糖和两端缩合有苯甲醛基的遥爪聚乙二醇制备了以动态亚胺键为交联点的水凝胶;Chen课题组^[18]将含有苯硼酸修饰的海藻酸钠和钙离子溶液与聚乙烯醇混合反应,得到了基于可逆硼酸酯键和离子键的自愈合水凝胶。Osada课题组^[19]将球状肌动蛋白组装成为具有双螺旋结构的纤维丝状蛋白,再通过两端修饰有马来酰亚胺的聚乙二醇共价交联得到一种基于肌动蛋白的自愈合水凝胶。本课题组^[20]以天然多糖类大分子作为水凝胶骨架,基于动态共价化学的原理设计制备了可在生理条件下发挥自愈合功能的多糖基自愈合水凝胶材料。例如,以修饰有富烯基团的葡聚糖为双烯体,二氯马来酸修饰的聚乙二醇为亲双烯体,提出了一种可在生理环境下自愈合的、基于可逆迪尔斯-阿尔德(Diels-Alder, DA)反应的葡聚糖自愈合水凝胶的制备方法。

在自愈合可注射凝胶方面,Wei课题组^[21]报道了基于亚胺键的乙二醇基壳聚糖自愈合可注射水凝胶,Liu课题组^[22]合成了基于希夫碱反应的硫酸软骨素多醛和N-琥珀酰壳聚糖的自愈合可注射水凝胶,这两种水凝胶注射后可重新自愈合为一个整体,并可维持三维包埋细胞的活性。近期,本课题组^[23]设计合成了集酰胺键和亚胺键两种动态共价化学键于一体的多糖基自愈合可注射水凝胶。经注射器注射出的水凝胶微粒

之间具有稳固的自愈合性能,可迅速建立与软组织近似的模量(100~1000 Pa)。自愈合后的注射样品即使浸泡在磷酸盐缓冲溶液(phosphate buffered saline, PBS)中,依然可保持其完整性。这些研究揭示了自愈合水凝胶替代传统可注射水凝胶作为细胞/药物缓释载体的优势。此外,自愈合后的可注射水凝胶具有较大的孔隙和相互连通的孔状结构,有助于促进细胞的新陈代谢、迁移和细胞间的通讯,在生物医学领域中具有巨大应用前景。

本文综述了近期新型自愈合水凝胶的最新设计思路、性能以及在生物医学中的应用潜能。这些具有优良性能的自愈合水凝胶材料有望作为神经修复、骨缺损修复、心脏组织修复、肝脏止血等生物材料应用于组织工程,这些研究为设计制备新型多功能医用水凝胶材料提供了创新思路,为增加柔性自愈合材料的多样性提供了新途径,为智能水凝胶材料的发展及拓展在生物医学中的应用奠定了良好的基础。

1 自愈合水凝胶在神经修复中的应用

神经干细胞(neural stem cells, NSCs)移植是目前治疗神经类疾病的一种有效方法^[24]。被移植的神经干细胞在脑损伤缺损处分化增殖,为神经修复提供细胞源。虽然目前已开发出多种自愈合水凝胶,但将自愈合水凝胶用于神经干细胞移植载体的报道还很罕见。为了达到脑神经干细胞移植载体微环境的要求,不仅需要自愈合水凝胶能够达到一些基本性能要求,如自主性的自愈合性能、良好的生物相容性、易于制备等,更重要的是需模拟动物脑组织的力学模量,并且能够提供适合神经干细胞增殖分化和神经组织再生的三维微环境^[25]。

本课题组研发了一种新型生物相容性自愈合可注射多糖基水凝胶,并研究了小鼠神经干细胞在该水凝胶中的三维扩增以及促进神经干细胞向神经元分化的能力^[23,26]。该多糖基自愈合水凝胶含有酰胺键和亚胺键两种动态共价化学键,通过己二酰肼(adipic acid dihydrazide, ADH)交联氧化海藻酸钠(oxidized sodium alginate, OSA)生成可逆酰胺键,同时通过氧化海藻酸钠交联水溶性N-羧基乙基壳聚糖(N-carboxy ethyl chitosan, CEC)得到可逆亚胺键,称为CEC-I-OSA-I-ADH水凝胶(“I”表示“交联”)(图2)。

在PBS中将OSA与不同活性基团摩尔比(R)CEC与ADH混合即可简便制备得到具有良好自愈性能的CEC-I-OSA-I-ADH水凝胶。将两块分别用亚甲基蓝和罗丹明B染色的水凝胶圆片用刀片沿直径均分为8瓣,然后将不同颜色的水凝胶瓣重新组合成两种混合颜色的水凝胶圆片后室温放置6 h,两种混合颜色的水凝胶圆片完全愈合,即使将其竖立起来也不会破碎,且不同颜色间隔的界限变得模糊难分。为了进一步证实拼接起来的水凝胶圆片界面间的自愈合作用,继续将其浸泡在PBS中3 h,取出后发现自愈合后的水凝胶圆片仍然可以保持其完整形状而不分离,说明该自愈合现象是通过水凝胶切口间的活性基团发生动态交换反应而重新交联发生的,而不是简单的黏合作用。横梁压缩测试表明在生理环境下(PBS, pH 7, 37°C)该水凝胶自愈合效率可高到95%(自愈合后水凝胶的断裂强度与未被破坏的原始水凝胶的断裂强度之比)。

此外,该水凝胶还具有良好的可注射自愈合性能。将两块染色的水凝胶圆片分别放入两支注射器中,然后将水凝胶颗粒注入小烧杯底部,放置6 h后,这些从针头挤出的水凝胶颗粒重新聚集并愈合为一块完整的水凝胶整体。而再将该自愈合后的水凝胶浸泡在PBS中3 h后,其依然可以保持完整而不破碎。该水凝胶具有良好的细胞相容性以及三维包埋细胞和释放细胞的能力。死活染色表明三维包埋的NIH3T3细胞48 h后的存活率为95.3%。该水凝胶具有良好的生物降解性能。当继续培养至72 h后,由于动态化学键的水解作用和细胞释放出来的一些酶对多糖分子的降解作用,CEC-I-OSA-I-ADH水凝胶网络开始逐步坍塌降解并释放出部分细胞。将这些释放出的细胞收集起来,在组织培养聚苯乙烯(tissue cultured polystyrene, TCPS)板上继续培养使其扩增,3天后可观察到正常形态的细胞^[25]。

直接通过CEC与OSA之间的希夫碱反应生成动态亚胺键可交联得到CEC-I-OSA可注射自愈合水凝胶。高分子水凝胶的杨氏模量对干细胞的分化起着决定性作用^[27,28]。通过简单调节高分子的浓度,CEC-I-OSA水凝胶便可模拟天然脑组织与神经组织的杨氏模量(100~1000 Pa)。3D培养干细胞的研究表明CEC-I-OSA有望作为递送神经干细胞的载体。只需调节CEC多糖大分子在神经干细胞培养基DF-12中的成胶浓度,就可将水凝胶的成胶时间控制在几分钟之内,便于三维细胞包埋以及实际应用时的操作(图3)。

图2 CEC-I-OSA-I-ADH水凝胶的制备示意图。A: 水凝胶成型前后的照片($R=0.5$); B: 水凝胶的制备机理图及CEC, OSA和ADH的化学结构^[23] (网络版彩图)

Figure 2 Synthesis scheme of the CEC-I-OSA-I-ADH hydrogels. A: The photographs before and after gelation of CEC-I-OSA-I-ADH hydrogel ($R=0.5$) in PBS (pH 7.0). B: Synthesis mechanism of hydrogel and chemical structures of OSA, CEC and ADH^[23] (color online)

为了结合神经干细胞移植的实际应用,我们将与脑组织模量接近的CEC-I-OSA水凝胶(~500 Pa)进行了注射-愈合实验。先将制备好的水凝胶圆片放入注射器中,然后将其注射到“2”,“0”,“1”,“5”几个数字的模具里,再将该模具放入37°C生化培养箱中静置5 min。自愈合后的水凝胶数字组成的“2015”可被取出并放在手指上也不会散开。此外,当将这些已经完全自愈合的水凝胶数字浸入到含有PBS的小瓶内,并反复摇晃和倒置小瓶,可以观察到这些水凝胶数字在PBS溶液中并未发生分散或破裂,依然能够保持完整的状态(图4)。流变学测试进一步证实了与传统溶胶-凝胶转变的注射方式相比,通过使用新型的可注射-自愈合,可使注射出的水凝胶迅速建立并恢复其原有的力学性能,增加了注射移植后的安全性。

我们发现在不需要添加任何其他物质的情况下,

图3 负载神经干细胞的CEC-I-OSA可注射自愈水凝的制备及用于神经修复的示意图^[26] (网络版彩图)

Figure 3 The synthesis and transplantation strategy of injectable NSC-loaded self-healing CEC-I-OSA hydrogels ^[26] (color online)

CEC-I-OSA水凝胶可有效促进胎鼠大脑皮质神经干细胞向神经元细胞分化, 而限制其向胶质细胞方向分化^[26]。由于水凝胶网络中的动态希夫碱反应将不断释放出氨基活性基团, 该基团具有促进神经干细胞向神经元细胞分化的能力。BrdU/DAPI染色表明, 细胞增殖率随培养时间的延长, 在5天时大幅上升, 说明神经干细胞在被包埋于水凝胶后, 可能需要一定时间以适应水凝胶的三维网络微环境, 在经过适应性阶段后, 其依然可在水凝胶中正常的扩增。在分化培养基中培养9天后, 分别对水凝胶组和二维培养TCPS对照组进行了分化性能染色。在9天时, 水凝胶组的 β -III tubulin(向神经元细胞分化的标记基因)显性细胞明显多于二维培养对照组, 而gfap(向胶质细胞分化的标记基因)显性

细胞却明显少于对照组(图5)。包埋在水凝胶中的神经干细胞向神经元细胞方向分化的比例比对照组高38%, 而向胶质细胞分化的比例则比对照组低51%。此外, 虽然由于在注射过程中产生的挤压力会造成包埋的细胞少量死亡, 但依然可保持有70%以上的细胞存活率。

Wei课题组^[29]采用乙二醇壳聚糖(glycol chitosan, GC)与两端修饰有苯甲醛基的聚乙二醇(telechelic di-functional poly(ethylene glycol), DF-PEG)在室温下混合反应, 壳聚糖上的氨基与DF-PEG末端的苯甲醛基通过希夫碱反应生成动态亚胺键, 快速交联(37°C, 100 s)得到自愈合GC/DF-PEG水凝胶。因网络中的高分子链具有较好的流动性, 赋予GC/DF-PEG水凝胶优异的自主性自愈合能力, 在不需要任何外界条件刺激下, 水凝胶圆片中间直径为0.5 cm的孔洞可在12 h内融合消失(图6A)。此外, 该水凝胶还具有低弹性模量、可降解性以及良好的可注射性能(图6B)。

基于上述综合性能, 进一步探索了该水凝胶在神经修复中的应用潜力。三维包埋在水凝胶中的球状神经干细胞集落(~100 μ m)可很好地保持其形状, 并且在3天后显著长大, 每个球状集落周围25~100 μ m处均可观察到晕环(细胞代谢产物分布在细胞周围, 产生的圆圈状的薄层), 晕环只出现在细胞球体的周围, 且在2周时变大, 表明其形成可能与细胞代谢相关, 可能是由于细胞球体增殖得较快, 在细胞球体周围产生更多的代谢物(如乳酸和CO₂等)而造成的(图7A)。神经干细胞集落在自愈合水凝胶中的增殖速度显著大于在对照组海藻酸钠水凝胶中的增长速率(图7B)。

图4 CEC-I-OSA水凝胶的注射性能和自愈能力展示图。A: 成型后的CEC-I-OSA水凝胶; B~D: 将水凝胶材料注射到数字模具中重新成型; E~H: 重新成型后的水凝胶数字在PBS溶液中依然保持原有形状^[26] (网络版彩图)

Figure 4 The injectable performance and self-healing capability of CEC-I-OSA hydrogel. A: A disc-shaped hydrogel was formed. B~D: The hydrogel was injected into number mold and self-healed into continuous structures. E~H: The self-healed structures were stable in PBS^[26] (color online)

图 5 在 CEC-I-OSA 水凝胶中三维包埋 NSCs 细胞(A)和在二维培养板上分别培养 NSCs 细胞(B)9 天后的 β -III tubulin/DAPI 染色照片, 标尺: 100 μm [26]

Figure 5 The expression of β -III tubulin/DAPI marker of the NSCs loaded inside the CEC-I-OSA hydrogels (A) and the NSCs cultured on 2D cell culture plates (B) for 9 days. Scale bar is 100 μm [26]

图 6 A: GC/DF-PEG 自愈水凝胶制备机理图; B: 水凝胶的自愈合性能及可注射性能展示照片, 标尺: 1 cm [29]

Figure 6 A: Synthesis scheme of the self-healing hydrogel GC/DF-PEG. B: The self-healing properties and injectability of hydrogels. Scale bar is 1 cm [29]

此外, 该可注射自愈水凝胶显著影响三维包埋的神经干细胞的分化行为。随着培养时间的延长, 在水凝胶中培养的神经干细胞标记基因 Nestine 的表达下调, 而在传统 TCPS 培养板表面培养的细胞的表达保持不变。此外, 培养 3 和 7 天后, 包埋在自愈水凝胶中的细胞表达出更强的神经元标记基因 (β -tubulin 和 Map2)。培养 7 天后, 包埋在水凝胶中的神经干细胞的早期神经元标记 β -tubulin 基因的表达比培养 3 天的细

胞有所下调, 相反, 成熟神经元标记 Map2 基因的表达水平有所上调。表明在自愈水凝胶中分化成神经元样细胞的趋势更大。培养在自愈水凝胶中的 NSCs 神经球状聚集体的增殖速度约为在海藻酸钠水凝胶中的两倍(图 7C)。

斑马鱼 (*Barchydanio rerio* var) 是神经科学研究中的一种重要脊椎动物模型。将发育的斑马鱼胚胎暴露在乙醇中可导致中枢神经系统缺损。使用该模型可以评估各种治疗方法对神经缺损的治疗效果。将包埋在自愈水凝胶中的细胞移植进入斑马鱼胚胎中发现, 当水凝胶中包埋的是神经干细胞球时, 胚胎孵化率高达 73%, 当水凝胶中包埋的是分散的神经干细胞时, 胚胎孵化率降低到 39%, 高于仅仅注射了分散的神经干细胞 (24%) 和水凝胶 (34%) 的对照组。注射 PBS 胚胎和经甲醇处理组的胚胎孵化率最低, 分别为 20% 和 18%。与野生型对照组 (90%) 相比, 在自愈水凝胶中包埋的神经干细胞球具有约 81% 的恢复率, 表明自愈水凝胶在斑马鱼胚胎中没有不良反应。这些结果表明新型可生物降解、自愈水凝胶在修复中枢神经系统方面的潜力巨大。

上述工作虽然对自愈水凝胶在神经干细胞增殖分化的调节因素、调控机制及应用方面做了初步的工作, 取得了一些研究进展。但是神经干细胞在自愈水凝胶中向神经元的分化是一个非常复杂的过程, 细胞-水凝胶、细胞-细胞间的相互作用, 以及体内各种细胞因子的分泌等都可能对细胞行为产生影响。更加深入的研究自愈水凝胶对神经干细胞向神经元分化的影响机制和调控因素仍然是我们面临的复杂课题。

2 骨缺损修复

骨缺损是临床中的常见疾病, 往往由于受到意外创伤、感染及自体的一些疾病所导致。骨缺损尺寸小于 8 mm 时, 健康人可以自行修复愈合。然而, 骨缺损过大很难自行愈合, 往往需要通过手术干预。但是, 骨移植大多采用自体骨、同种异体骨或异种骨移植, 存在免疫排斥、疼痛与不适感增加等较多问题, 这些问题有望通过组织工程人工骨的方法有效避免。

骨组织中的主要矿物质磷酸钙 (CaP) 陶瓷是良好的刺激骨再生的无机合成材料 [30-32]。透明质酸大量存在于结缔组织的细胞外基质中, 目前已在临床中用作

图 7 不同水凝胶中NSCs的形态、增殖和分化情况。A: 在藻酸盐或自愈水凝胶中三维包埋的NSCs细胞的形态; B: 培养3天后水凝胶中的细胞总量; C: 培养3天和7天后, RT-PCR分析凝胶中细胞的特异性神经元相关基因的表达, 标尺: $100\ \mu\text{m}$ ^[29] (网络版彩图)
Figure 7 Morphology, proliferation, and differentiation of NSCs encapsulated in different hydrogels. A: The morphology of dispersed NSCs encapsulated in the self-healing and alginate hydrogels. B: The total amounts of cells in the hydrogels after 3 days. C: The expressions of specific neuronal-related genes analyzed by real-time RT-PCR for cells in the hydrogels after 3 and 7 days. Scale bar is $100\ \mu\text{m}$ ^[29] (color online)

黏弹性填充剂、治疗关节炎的可注射制剂和药物递送载体^[33,34]。二磷酸盐是治疗骨质疏松症最常用的处方药, 并且对骨中的矿物CaP表现出特别强的亲和力。Leeuwenburgh课题组^[35]依据以上3种原料在生物体内所具有的特殊性能, 成功研发了基于CaP纳米粒子和二磷酸功能化透明质酸(hyaluronan-bisphosphonate, HABP)的纳米复合水凝胶(HABP•CaP)。将适量浓度的HABP溶液与CaP纳米粒子混合之后便可得到纳米复合水凝胶。该水凝胶由HABP与CaP之间的可逆非共价键交联而成, CaP纳米粒子可以作为交联HABP三维网络的非共价交联剂。连续剪切应变测试表明该纳米复合水凝胶可瞬间恢复其力学性能(98%), 宏观自愈行为观察表明从中间切成两半的圆柱形水凝胶只需5 s即可自愈。非共价交联的HABP•CaP纳米复合材料在乙二胺四乙酸(ethylene diamine tetraacetic acid,

EDTA)溶液中浸泡3 h内完全溶解, 证实了基于在透明质酸大分子链上的双磷酸基团与CaP纳米粒子的相互作用。这种自愈行为归因于结合在透明质酸大分子链上的双磷酸基团与CaP纳米粒子表面的钙离子之间的可逆非共价键作用对受损部位的快速修复作用。这种基于双磷酸基团与CaP纳米粒子之间较强的特异性非共价相互作用, HABP•CaP纳米复合水凝胶表现出显著而快速的自愈合行为。

此外, 该水凝胶还具有良好的黏附性和稳定性。HABP•CaP纳米复合水凝胶表面含有高密度的双磷酸盐基团, 可与羟基磷灰石表面的钙离子之间形成强而可逆的相互作用, 因此, 该纳米复合水凝胶对矿物表面具有非常强的黏附力。体内皮下植入实验表明非共价交联的HABP•CaP在植入1周后保持其原始形状, 并且其中杂化的CaP纳米粒子在复合材料中保持均匀分

布。然而, CaP 纳米粒子的分布在对照组共价交联的 HA+CaP 水凝胶(透明质酸-酞肼和透明质酸-醛交联的水凝胶中加入 CaP 纳米离子形成的水凝胶)中变得不均匀。在植入皮下 4 周后, 观察到不含双磷酸盐的 HA+CaP 水凝胶有明显的降解, 而含有双磷酸盐的 HAP•CaP 水凝胶保持其原始尺寸以及微观结构, 并且被成纤维细胞的薄纤维囊包裹。HAP•CaP 杂化纳米水凝胶中的二磷酸盐与 CaP 纳米粒子之间的有效相互作用保持了纳米粒子的均匀分布, 限制了细胞向水凝胶基质内的生长, 保持了材料的完整性。

注射修复骨缺损动物实验证明了 HAP•CaP 杂化纳米水凝胶修复骨组织的优越性能。植入 1 周后的组织学分析显示, 注入的水凝胶材料填充了缺损部位, 仅在水凝胶-骨界面观察到新骨形成。4 周后观察到丰富的骨形成, HAP•CaP 杂化纳米复合水凝胶显示新形成的骨小梁样骨均匀地散布在整个材料中, 而填充了对照组 HA+CaP 材料的样品仅在缺损的边缘显示新骨的形成。此外, 非共价交联的 HAP•CaP 纳米复合水凝胶在体内可生物降解, 并不引起任何不良的组织反应, 如炎症等。上述研究结果为推动纳米复合自愈水凝胶在骨组织工程中的应用提供了新的思路。然而, 自愈水凝胶在体内诱导形成的骨的微观结构、力学性能等还有待深入探讨。

Ma 课题组^[36]通过在生物相容性多糖上接枝大量的多氢键单元(multiple-hydrogen-bond units)研发了一种具有剪切变稀功能的自愈水凝胶, 并采用动物模型探索了基于该水凝胶材料的软骨-骨组织复合体在体内的再生行为。所选择的多氢键单元是具有四重氢键阵列的脲基-嘧啶酮(ureido pyrimidinone, UPy), 它比单个氢键拥有更高的分子间键合强度。所选择的多糖是食品药品监督管理局(food and drug administration, FDA)批准的葡聚糖(dextran, DEX), 它具有可使 UPy 单元沿着多糖主链共价接枝的大量羟基官能团。利用 DEX 上的羟基, 大量 UPy 单元接枝到 DEX 上形成含 UPy 的聚合物(DEX-UPy)。当 UPy 密度足够高时, 多氢键单元功能化的 DEX-UPy 高分子链通过高度特异性物理相互作用进行自组装, 可瞬时交联形成自愈水凝胶。只需将 DEX-UPy 高分子链溶解在热水中(约 70℃), 然后冷却至室温后便可得到水凝胶。该水凝胶中的瞬时超分子交联在受到外部刺激(如机械力)时可被暂时性破坏, 并且在去除刺激之后可重建。

这种独特的剪切变稀(表观黏度随着剪切应力速率的增加而降低)特性赋予自组装水凝胶兼具良好的可注射性和自愈合性能。可将已经成型的水凝胶通过注射器的针头注入到不同形状的模具中, 得到各种复杂形状的水凝胶, 也可将两块不同形状和颜色的水凝胶(一半水凝胶用罗丹明染色成粉红色, 另一半为原始浅黄色), 放置在一起触数分钟之后, 便可自愈合形成不同图案的水凝胶(图 8 和 9)。细胞三维包埋实验表明, DEX-UPy 水凝胶具有良好的细胞相容性, 封装在水凝胶中的软骨细胞和骨髓间充质干细胞(bone marrow stem cells, BMSCs)均匀分布在支架材料中, 并且培养 2 周后仍然保持较高的细胞存活率。此外, 将分别包埋软骨细胞和 BMSCs/骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein 2, BMP-2)水凝胶植入裸鼠皮下 8 周后发现, 组织切片中矿化组织(茜素红)和硫酸化糖胺聚糖(阿尔新蓝)的阳性染色分别验证了在包埋了软骨细胞的水凝胶样品中形成了软骨组织, 包埋了 BMSCs/BMP-2 的水凝胶样品中形成了骨组织(图 10A), 证实了 DEX-UPy 水凝胶具有支持骨和软骨组织再生的能力。

鉴于 DEX-UPy 水凝胶快速自愈合、可注射、良好的生物相容性及促进骨和软骨组织再生的能力, 可应用于软骨-骨组织再生研究的自集成支架复合体。分别将软骨细胞和 BMSCs/BMP-2 包埋在水凝胶中, 随后将每种包埋细胞的水凝胶分别注射到带有特氟隆薄膜的圆盘形聚二甲基硅氧烷模具的两侧, 在移除隔膜之后可快速实现两种凝胶的紧密结合(图 10B, C)。裸鼠皮下植入表明 DEX-UPy 水凝胶具有促进骨-软骨组织复合体再生的潜能。8 周后组织切片染色表明在不同细胞空间限定的区域内鉴定出骨和软骨组织。在包埋了软骨细胞的水凝胶一侧(左侧)仅对软骨成分染色为阳性, 包埋了 BMSCs/BMP-2 的水凝胶的一侧(右侧)仅对骨成分染色为阳性, 并且再生的软骨和骨组织之间紧密整合在一起(图 10D)。其中软骨组织约占据总体积的 70%, 而骨组织仅占据约 30%(图 10E)。这是由于 BMSCs 细胞与软骨细胞共培养时, 诱导 BMSCs 细胞分化为软骨细胞造成的^[37,38]。可以推测一些 BMSCs 细胞在界面区被诱导成软骨细胞, 因此导致软骨形成时跨越原始边界, 形成更多的软骨组织。如果需要产生等体积的骨和软骨组织, 可考虑采用减小包埋软骨细胞的水凝胶的初始体积的方法, 用于平衡在界面处软骨细胞诱导 BMSCs 细胞生成过量的软骨细胞。上述方法

图 8 DEX-UPy水凝胶的设计。A: DEX-UPy水凝胶的形成示意图和剪切稀化及自恢复机理; B: 将包封软骨细胞(蓝色)和BMSCs/BMP-2(红色)的水凝胶整合到构建体中, 然后皮下植入裸鼠中以形成软骨-骨组织复合物示意图^[36]

Figure 8 Design of a DEX-UPy hydrogel. A: Schematic illustration of DEX-UPy hydrogel formation and the mechanisms of the shear-thinning and self-recovery properties. B: Schematic illustration of hydrogels encapsulating chondrocytes (blue) and BMSCs/BMP-2 (red) were integrated into a construct and then implanted subcutaneously in a nude mouse to form the cartilage-bone tissue complex^[36]

的优势在于, 分别携带不同细胞类型和生物信号分子的水凝胶支架可以通过可注射和自愈合功能集成构建两个或多个组织, 其中构成组织的不同部分在空间限定的区域中再生, 并且实现在其接口处无缝集成。该研究利用自愈合水凝胶与选定的细胞和生物分子成功建立了软骨-骨组织复合体的皮下植入模型, 启发自愈合水凝胶有望通过组合包埋不同类型的细胞和生物分子实现其他组织复合体的再生, 为复合生物组织体系研究提供了新的思路。

3 心脏组织修复

近年来, 全世界有不少人因心肌梗死(myocardial infarction, MI)而死亡^[39-41]。当急性心肌梗死发生时,

图 9 DEX-UPy水凝胶注射性和自愈合性能展示。A: 具有不同UPy取代密度的凝胶状态照片; B: 罗丹明染色的粉红色水凝胶与浅黄色水凝胶自愈合展示照片(标尺: 5 mm)^[36]

Figure 9 The injectability and self-integrating property of DEX-UPy hydrogel. A: Gel-forming property of dextran (DEX) polymers with different UPy substitution densities (DS). B: Self-integration of the hydrogel pieces to form various structures. Some hydrogel disks were dyed pink with rodamine and the others were left with the original light yellow color to visualize the interfaces. Scale bar is 5 mm^[36]

将会造成大量的心肌细胞损失, 进而导致患者的心力衰竭和死亡。通过向心肌梗死区域递送适当类型的活体细胞, 以便降低心肌梗死期间造成损伤的细胞治疗是一种极有前景的治疗心肌梗死的方法。使用具有自愈合功能的可注射水凝胶作为细胞递送载体, 可增强细胞滞留性及准确定位细胞生存空间, 从而提高细胞治疗的效果。为达到可作为心脏组织修复材料的目的, 需要一种同时具有自愈合、可注射和导电性能的水凝胶, 用于开发心肌细胞递送的柔性载体。该自愈合水凝胶载体需具有以下特点: (i) 具有可注射性及可降解性, 可将包封在水凝胶内部的细胞定向输送到指定点, 显著减少患者因手术带来的疼痛和风险; (ii) 水凝胶具有自愈合及黏附性, 避免水凝胶载体在心脏的收缩作用下被损坏、移动, 并且能够承受较高的机械负荷; (iii) 电导率与心肌细胞相近, 生物相容性好, 可以有效培养增殖心肌细胞; (iv) 较好的抗菌性。

Ma课题组^[42]研发的基于壳聚糖-接枝-苯胺四聚体(chitosan-graft-aniline tetramer, CS-AT)和二苯甲醛封端聚乙二醇(dibenzaldehyde-terminated poly(ethylene glycol), PEG-DA)的可注射自愈合导电水凝胶有望作为治疗心肌梗死的细胞递送载体。CS-AT中的胺基和PEG-DA中的醛基之间生成席夫碱, 通过动态交联得到自愈合可注射水凝胶。由于胺基和醛基形成席夫碱

图 10 皮下植入三维包埋细胞的DEX-UPy水凝胶, 培养8周之后的组织切片结果。A: 包埋BMSCs/BMP-2细胞组, 用茜素红染色(阳性染色代表矿化骨组织); B: 包埋软骨细胞组, 用阿尔金蓝染色(阳性染色代表软骨组织); C: 自愈合组, 用茜素红和茜素蓝染色; D: C图界面区域的放大图像; E: 在皮下植入8周后骨体积及软骨体积统计数据, 其中A, B和C中的标尺: 5 mm; D中的标尺: 100 μm ^[36]

Figure 10 DEX-UPy hydrogel was used for subcutaneous implantation and the tissue-sliced results were shown after 8 weeks of culture. A: A section of BMSCs/BMP-2 only group, stained with Alizarin red (positive staining represents mineralized bone tissue). B: A section of chondrocytes only group, stained with Alcian blue (positive staining represents cartilage tissue). C: A section of the self-integrated group, stained with both Alizarin red and Alcian blue. D: A magnified image of the interface region of image C. E: Quantified bone and cartilage volumes using an image analysis software after subcutaneous implantation for 8 weeks. Scale bar is 5 mm in A, B and C; scale bar is 100 μm in D^[36]

的反应活性较高, 可在温和条件下形成水凝胶, 且随着CS-AT聚合物中AT含量的增加, 凝胶化时间从约20 s增加到约60 s, 以便适用于体内注射的需求(图11A~C)。此外, 该水凝胶的电导率($2.29 \times 10^{-3} \sim 2.42 \times 10^{-3} \text{ S cm}^{-1}$)与心肌的电导率($1 \times 10^{-3} \sim 4 \times 10^{-3} \text{ S cm}^{-1}$)极为近似(图11D)。该水凝胶还可承受心脏收缩时产生的较高机械负荷。将此水凝胶注射到心形模具中, 2 h后获得完整

的一块水凝胶(图12A~C)。当水凝胶被从中间切成两片后, 将切面对接在一起时, 水凝胶立即愈合为一个整体(图12D~F)。

由于水凝胶表面存在聚合物链的运动和席夫碱的动态作用, 使得受损的水凝胶容易重新交联在一起, 赋予其快速自我修复能力。将该水凝胶作为用于心脏细胞治疗的多细胞载体, 在水凝胶中保持一定数量的细胞是非常重要的。CS-AT水凝胶可起到细胞外基质的作用, 避免细胞的死亡, 且促进细胞增殖, 可用于修复受损心脏组织细胞。与CS水凝胶相比, CS-AT水凝胶可极大地促进脂肪间充质干细胞(adipose-derived mesenchymal stem cell, ADMSCs)的增殖。C2C12骨骼肌细胞和H9c2心肌细胞释放数量随时间变化呈现线性增长(图13A)。此导电水凝胶可作为注射细胞递送载体, 注射后细胞仍保持良好的活力。通过22号针头注射3D包埋C2C12细胞的水凝胶(1×10^6 个细胞 mL^{-1}), 细胞的形态在注射前后没有明显变化, 并且水凝胶中的细胞数目没有显著减少(图13B, C)。上述结果表明, 该水凝胶用于心脏修复的细胞递送时, 可为心脏组织修复提供稳定的细胞数量, 并且具有良好的细胞持续递送能力。

此外, 导电CS-AT水凝胶具有优异的抗菌性能, 作为细胞递送载体可减少细胞治疗过程中细菌感染风险, 壳聚糖和AT的协同抗菌作用有助于CS-AT水凝胶的优异抗菌活性。它对大肠杆菌(*Escherichia coli*)和金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)杀灭率均高达100%, 然而纯的壳聚糖水凝胶仅显示50%的大肠杆菌杀灭效率和87%金黄色葡萄球菌的杀灭率。该水凝胶除了具有良好的电活性、生物相容性、可承受心脏的收缩而引起的机械负荷外, 还具有一定组织黏附性和生物降解性。CS-AT水凝胶中的醛基可以与天然组织中的氨基反应, 赋予递送系统良好的组织黏合性质。皮下实验可知, CS-AT水凝胶可以注射后快速成胶, 且在45天内体内明显降解。

4 肝脏止血

Zhang课题组^[43]通过碳二亚胺法偶联反应对4-羧基苯甲醛与四臂PEG的末端羟基偶联, 合成苯甲醛封端的四臂聚乙二醇(benzaldehyde-terminated telechelic

图 11 CS-AT聚合物(A), PEG-DA聚合物(B)和水凝胶(C)的制备示意图; D: 不同AT含量的水凝胶的电导率^[42] (网络版彩图)

Figure 11 Scheme of synthesis procedure of the CS-AT polymer (A), PEG-DA polymer (B) and CS-AT hydrogel (C). D: Conductivity of the hydrogels with different AT contents^[42] (color online)

four-armed polyethylene glycol, PEG-BA), 再将其与羧甲基壳聚糖(carboxymethyl chitosan, CMC)动态交联形成CMC/PEG-BA自愈合水凝胶, 并研究了该自愈合水凝胶的止血性能。

在室温下将CMC溶液与PEG-BA溶液均匀混合 2 min便可制备得到透明CMC/PEG-BA水凝胶(图 14A)。CMC高分子骨架上的胺基通过与PEG-BA末端的醛基交联形成可逆亚胺键。通过优化CMC与PEG-BA的质量比以及水凝胶中的总固体含量可获得具有较强力学性能的快速自愈合的水凝胶。该水凝胶中的动态交联基于醛基和胺基之间亚胺键的形成和解离的平衡。一旦CMC溶液与PEG-BA混合后, CMC主链上的

胺基与PEG-BA链端的醛基反应, 在形成动态亚胺键的作用推动下形成水凝胶网络。当水凝胶受到破坏产生裂纹时, 在损伤界面处产生“流动相”, 亚胺键断裂的同时暴露出游离的醛基和酰胺基团, 高分子朝着损坏的界面移动, 并且由于它们的动态和可逆性质, 通过重新形成新的亚胺键而连接裂纹界面, 逐渐恢复裂纹(图14B)。

此外, CMC/PEG-BA水凝胶还具有可注射性能, 装载到注射器中的水凝胶可通过针头挤出, 并书写成不同形状的字。将不同颜色染色的两片水凝胶分别注射到烧杯中后, 从注射针头挤出的水凝胶混合碎片在5 min内愈合成圆柱形水凝胶。当水凝胶在注射器中

图 12 CS-AT水凝胶自愈过程照片. 首先将水凝胶注射到心形模具中(A)并愈合3 h (B, C); 将自愈合的水凝胶切成两半(D)放在一起并愈合成一块(E, F), 标尺: 1 cm^[42]

Figure 12 Photographs of self-healing process of CS-AT hydrogels. The hydrogel was injected into a heart shaped mold (A) and healed together after 3 h (B, C). This healed hydrogel was cut into two pieces (D), put together and healed into one block (E, F). Scale bar is 1 cm^[42]

被压缩时, 压力导致希夫碱键的解离, 使水凝胶变形并像液体一样“流动”穿过针头, 由于其快速的自愈能力, 挤出的水凝胶碎片之间相互作用, 重建动态亚胺键而形成一块整体. 当交联的亚胺键断裂、胺基和醛基暴露在损伤区域的界面时, 水凝胶网络遭受损坏, 暴露的胺基和醛基可通过它们的可逆性而重新形成新的亚胺键, 诱导水凝胶网络重整. 最后, 水凝胶碎片之间自愈合恢复形成一块完整的水凝胶.

CMC/PEG-BA具有良好的细胞相容性, 可有效减少肝脏出血, 改善止血性能. 在水凝胶中三维包埋正

常人原发性皮肤成纤维细胞(normal adult human primary dermal fibroblast cells)2天后, 细胞存活率高达90%. 兔出血肝模型评价表明该水凝胶材料具有优异的止血性能, 在出血部位用水凝胶治疗后, 自愈合水凝胶物理屏障可有效导致总失血量急剧下降, 止血时间显著缩短. 水凝胶治疗显著改善了止血性能. 在将CMC/PEG-BA水凝胶直接注射到出血部位表面之后, 它可以迅速紧密覆盖伤口表面, 作为止血屏障阻止出血. 水凝胶黏附在出血部位, 并且不会被流出的血液冲走. 在没有施压的情况下, 使用水凝胶止血后的总失血量降低到0.29 g, 显著低于无菌纱布阳性组(0.65 g)和无处理的阴性对照治疗(1.33 g)的失血量. 水凝胶的止血时间为120 s, 比纱布(167 s)和阴性对照组(311 s)的止血时间缩短很多(图15A和B). 损伤的肝脏表面的组织学评价显示水凝胶组中观察到血细胞填充的间隙, 但是, 在阳性组中将无菌纱布压在切口上吸收血液, 导致伤口界面之间存在较宽的间隙. 然而, 阴性对照组中的切口的间隙比较窄, 这是由于在止血过程中伤口连接在一起造成的. 动物止血实验表明与传统的纱布治疗相比, 这种有效的物理屏障导致出血时间更短和的血液损失更少.

5 总结与展望

长期研究水凝胶生物材料的经验告诉我们, 细胞

图 13 A: C2C12成肌细胞和H9c2细胞释放数量随时间的变化曲线; B: C2C12细胞三维包埋在水凝胶中的细胞增殖情况; C: 注射前后水凝胶中的活细胞数目变化图^[42] (网络版彩图)

Figure 13 A: Number changes in the release of C2C12 myoblasts and H9c2 cells over time. B: Cell proliferation of the C2C12 cells encapsulated in the hydrogel. C: Live cell numbers in the hydrogel before and after injection^[42] (color online)

图 14 CMC/PEG-BA水凝胶的制备和自愈过程。A: 形成自愈水凝胶的照片; B: 水凝胶制备机理及自愈过程的示意图; C: 从注射器挤出的水凝胶颗粒自愈形成一个稳定的水凝胶条, 水凝胶条纹之间的边界逐渐消失, 水凝胶条纹愈合成整体。D: 在室温下愈合0, 1和2 h后的水凝胶的光学显微镜图像^[43] (网络版彩图)

Figure 14 Preparation and self-healing process of CMC/PEG-BA hydrogel. A: Gel formation of CMC/PEG-BA self-healing hydrogel. B: Schematic illustration of the gelation and self-healing process. C: The hydrogel particles extruded from the syringe self-heal to form a stable hydrogel strip, the boundaries between hydrogel stripes disappeared gradually, and the hydrogel strips heal into a whole. D: Optical microscope images of hydrogel after healing for 0, 1, and 2 h at room temperature^[43] (color online)

图 15 CMC/PEG-BA自愈合水凝胶的止血性能与阴性对照(未处理)和阳性对照(压缩纱布)相比, CMC/PEG-BA水凝胶(CMC/PEG-BA=1/2, 聚合物总浓度=6 wt%)对兔肝损伤的止血能力的定量分析。A: 止血完全停止; B: 止血时间^[43]

Figure 15 The quantitative analysis of hemostatic ability of CMC/PEG-BA hydrogel (CMC/PEG-BA=1/2, total polymer concentration=6 wt%) compared with negative control (without treatment) and positive control (gauze with compression) against a rabbit liver injury. A: Total blood loss until bleeding stopped completely. B: Hemostasis time^[43]

对自身所处微环境非常敏感, 来自水凝胶的微小物理或化学刺激就足以激发细胞性能发生变化. 水凝胶材料是细胞赖以生存的“土壤”, 它不仅仅是一个简单的支架, 而且是能够直接影响细胞的功能、调控细胞性能的活性材料. 通过材料本身的结构设计在一定条件下即可实现自愈合. 虽然自愈合是活体组织最基本的特性, 自愈合水凝胶在生物医学中应用的相关研究尚处于起步阶段. 由于自愈合过程是可逆的, 因此基于

动态共价化学的自愈合水凝胶理论上可实现多次重复性自愈合. 然而, 由于目前将自愈合水凝胶用于生物医学领域的研究还处于起始阶段, 依然存在着许多问题和不足, 需要解决和改进, 如制备繁杂、难以大批量获得、力学性能较低, 在手术过程中难以精准植入靶标部位等. 这些问题的解决将极大推动自愈合水凝胶在组织工程中的研究进展以及在临床医学中的应用研究.

参考文献

- 1 Xi T F. Status and development trends for biomedical materials (in Chinese). *China Med Dev Inf*, 2013, 19: 1–5 [奚廷斐. 我国生物医用材料现状和发展趋势. *中国医疗器械信息*, 2013, 19: 1–5]
- 2 Cabral J, Moratti S C. Hydrogels for biomedical applications. *Future Med Chem*, 2011, 3: 1877–1888
- 3 Wei Z, Yang J H, Zhou J, et al. Self-healing gels based on constitutional dynamic chemistry and their potential applications. *Chem Soc Rev*, 2014, 43: 8114–8131
- 4 Dong K, Wei Z, Yang Z M, et al. Self-healing gels: structure, performance and future perspective. *Sci Sin Chim*, 2012, 42: 741–756 [董坤, 魏钊, 杨志懋, 等. 自愈合凝胶: 结构、性能及展望. *中国科学: 化学*, 2012, 42: 741–756]
- 5 Chen Y M, Dong K, Liu Z Q, et al. Double network hydrogel with high mechanical strength: performance, progress and future perspective. *Sci China Technol Sci*, 2012, 55: 2241–2254
- 6 Kakuta T, Takashima Y, Nakahata M, et al. Preorganized hydrogel: self-healing properties of supramolecular hydrogels formed by polymerization of host-guest-monomers that contain cyclodextrins and hydrophobic guest groups. *Adv Mater*, 2013, 25: 2849–2853
- 7 Yu L, Ding J. Injectable hydrogels as unique biomedical materials. *Chem Soc Rev*, 2008, 37: 1473–1481
- 8 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
- 9 Fu S Z, Ni P Y, Wang B Y, et al. Injectable and thermo-sensitive PEG-PCL-PEG copolymer/collagen/n-HA hydrogel composite for guided bone regeneration. *Biomaterials*, 2012, 33: 4801–4809
- 10 Tuncaboylu D C, Sari M, Oppermann W, et al. Tough and self-healing hydrogels formed via hydrophobic interactions. *Macromolecules*, 2011, 44: 4997–5005
- 11 Phadke A, Zhang C, Arman B, et al. Rapid self-healing hydrogels. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109: 4383–4388
- 12 Wang Q, Mynar J L, Yoshida M, et al. High-water-content mouldable hydrogels by mixing clay and a dendritic molecular binder. *Nature*, 2010, 463: 339–343
- 13 Deng G, Li F, Yu H, et al. Dynamic hydrogels with an environmental adaptive self-healing ability and dual responsive sol-gel transitions. *ACS Macro Lett*, 2012, 1: 275–279
- 14 Nakahata M, Takashima Y, Yamaguchi H, et al. Redox-responsive self-healing materials formed from host-guest polymers. *Nat Commun*, 2011, 2: 511
- 15 Wang Y, Adokoh C K, Narain R. Recent development and biomedical applications of self-healing hydrogels. *Expert Opin Drug Deliv*, 2017, 15: 77–91
- 16 Zhang Y, Yang B, Zhang X, et al. A magnetic self-healing hydrogel. *Chem Commun*, 2012, 48: 9305–9307
- 17 Li Y, Zhang Y, Shi F, et al. Modulus-regulated 3D-cell proliferation in an injectable self-healing hydrogel. *Colloids Surfs B-Biointerfaces*, 2017, 149: 168–173
- 18 Meng H, Zheng J, Wen X, et al. pH- and sugar-induced shape memory hydrogel based on reversible phenylboronic acid-diol ester bonds. *Macromol Rapid Commun*, 2015, 36: 533–537
- 19 Sano K, Kawamura R, Tominaga T, et al. Self-repairing filamentous actin hydrogel with hierarchical structure. *Biomacromolecules*, 2011, 12:

- 4173–4177
- 20 Wei Z, Yang J H, Du X J, et al. Dextran-based self-healing hydrogels formed by reversible diels-alder reaction under physiological conditions. *Macromol Rapid Commun*, 2013, 34: 1464–1470
- 21 Zhang Y, Tao L, Li S, et al. Synthesis of multiresponsive and dynamic chitosan-based hydrogels for controlled release of bioactive molecules. *Biomacromolecules*, 2011, 12: 2894–2901
- 22 Lü S, Gao C, Xu X, et al. Injectable and self-healing carbohydrate-based hydrogel for cell encapsulation. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2015, 7: 13029–13037
- 23 Wei Z, Yang J H, Liu Z Q, et al. Novel biocompatible polysaccharide-based self-healing hydrogel. *Adv Funct Mater*, 2015, 25: 1352–1359
- 24 Temple S. The development of neural stem cells. *Nature*, 2001, 414: 112–117
- 25 Engler A J, Sen S, Sweeney H L, et al. Matrix elasticity directs stem cell lineage specification. *Cell*, 2006, 126: 677–689
- 26 Wei Z, Zhao J, Chen Y M, et al. Self-healing polysaccharide-based hydrogels as injectable carriers for neural stem cells. *Sci Rep*, 2016, 6: 37841
- 27 Ye K, Wang X, Cao L, et al. Matrix stiffness and nanoscale spatial organization of cell-adhesive ligands direct stem cell fate. *Nano Lett*, 2015, 15: 4720–4729
- 28 Kai Y, Cao L, Li S, Yu L, Ding J. Interplay of matrix stiffness and cell-cell contact in regulating differentiation of stem cells. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2015, 8: 21903–21913
- 29 Tseng T C, Tao L, Hsieh F Y, et al. An injectable, self-healing hydrogel to repair the central nervous system. *Adv Mater*, 2015, 27: 3518–3524
- 30 Chai Y C, Carlier A, Bolander J, et al. Current views on calcium phosphate osteogenicity and the translation into effective bone regeneration strategies. *Acta Biomater*, 2012, 8: 3876–3887
- 31 Troczynski T. Bioceramics: a concrete solution. *Nat Mater*, 2004, 3: 13–14
- 32 Yuan H, Fernandes H, Habibovic P, et al. Osteoinductive ceramics as a synthetic alternative to autologous bone grafting. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 13614–13619
- 33 Fakhari A, Berklund C. Applications and emerging trends of hyaluronic acid in tissue engineering, as a dermal filler and in osteoarthritis treatment. *Acta Biomater*, 2013, 9: 7081–7092
- 34 Prestwich G D. Hyaluronic acid-based clinical biomaterials derived for cell and molecule delivery in regenerative medicine. *J Control Release*, 2011, 155: 193–199
- 35 Nejadnik M R, Yang X, Bongio M, et al. Self-healing hybrid nanocomposites consisting of bisphosphonated hyaluronan and calcium phosphate nanoparticles. *Biomaterials*, 2014, 35: 6918–6929
- 36 Hou S, Wang X, Park S, et al. Rapid self-integrating, injectable hydrogel for tissue complex regeneration. *Adv Healthc Mater*, 2015, 4: 1491–1495
- 37 Wang D A, Varghese S, Sharma B, et al. Multifunctional chondroitin sulphate for cartilage tissue-biomaterial integration. *Nat Mater*, 2007, 6: 385–392
- 38 Chen W H, Lai M T, Wu A T H, et al. *In vitro* stage-specific chondrogenesis of mesenchymal stem cells committed to chondrocytes. *Arthritis Rheum*, 2009, 60: 450–459
- 39 Hastings C L, Roche E T, Ruiz-Hernandez E, et al. Drug and cell delivery for cardiac regeneration. *Adv Drug Deliv Rev*, 2015, 84: 85–106
- 40 Wei H, Ooi T H, Tan G, et al. Cell delivery and tracking in post-myocardial infarction cardiac stem cell therapy: an introduction for clinical researchers. *Heart Fail Rev*, 2010, 15: 1–14
- 41 Liu Q, Tian S, Zhao C, et al. Porous nanofibrous poly(l-lactic acid) scaffolds supporting cardiovascular progenitor cells for cardiac tissue engineering. *Acta Biomater*, 2015, 26: 105–114
- 42 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
- 43 Huang W, Wang Y, Chen Y, et al. Strong and rapidly self-healing hydrogels: potential hemostatic materials. *Adv Healthc Mater*, 2016, 5: 2813–2822

Novel self-healing hydrogels and their applications in tissue engineering

ZHANG EnMian^{1,3}, LI ZiXiu², SUN Lei³, DONG DianDian¹, LIANG Yi³, WEI Zhao³,
ZHANG QiQing^{4,5} & CHEN YongMei^{1,3}

1 Key Laboratory of Leather Cleaner Production, China National Light Industry, National Demonstration Center for Experimental Light Chemistry Engineering Education, College of Bioresources Chemical and Materials Engineering, Shaanxi University of Science & Technology, Xi'an 710021, China;

2 College of Chemistry and Pharmacy, Northwest A&F University, Yangling 712100, China;

3 State Key Laboratory for Strength and Vibration of Mechanical Structures, International Centre for Applied Mechanics and School of Aerospace Engineering, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710049, China;

4 Institute of Biomedical and Pharmaceutical Technology, Fuzhou University, Fuzhou 350108, China;

5 Fujian GTR Biotech. Co., Ltd, Fuzhou 350116, China

The novel self-healing hydrogel is a typical intelligent and multi-functional biomedical material. It is of great significance to resolve the challenge of repairing damages in flexible biomaterials, which could facilitate intelligent activity and efficiency in biomaterials. The present paper reviews the design strategies and performance of recently developed self-healing hydrogels and their applications in tissue engineering, including transplantation of neural stem cells, repair of the central nervous system, bone regeneration, regeneration of cartilage-bone tissue complex, cardiac cell therapy, as well as hemostasis. Such advances and applications promote the innovative design and fabrication of intelligent multifunctional hydrogels and offer new opportunities to increase the diversity of flexible self-healing materials. Such a synthesis of research and applications lays a foundation for further development of intelligent hydrogels for tissue engineering and their application in the biomedical field.

hydrogels, self-healing, tissue engineering

doi: [10.1360/N052018-00015](https://engine.scichina.com/doi/10.1360/N052018-00015)