

•综述•

水凝胶在骨组织工程中的应用进展

曹建泽 张杰 刘永飞 赵海燕

摘要 骨缺损是骨科的常见疾病之一,随着骨组织工程技术的不断发展与进步,越来越多的骨修复材料被应用于临床,为骨组织修复提供了新型的治疗策略。水凝胶因具有良好的生物相容性和生物降解性,有望成为一种有潜力的骨组织修复材料。近年来,更多有关水凝胶的研究和应用聚焦于对水凝胶进行改性。改性后的水凝胶一方面可以更高效地释放负载因子并发挥作用,另一方面其力学性能也变得更优异,从而更符合组织工程支架的要求。该文就近年来在新型杂化纳米颗粒水凝胶负载细胞因子促进骨修复、水凝胶预防和治疗骨科细菌感染及开发性能更好的骨组织工程支架和 3D 打印支架等方面的最新进展进行综述。

关键词 水凝胶;杂化纳米颗粒水凝胶;骨再生;骨组织修复;

DOI: 10.3969/j.issn.1673-7083.2023.05.010

骨组织缺损可由多种情况引起,如创伤、关节炎和运动相关损伤^[1]。由于骨组织可以自我修复和再生,因而小的缺损无需额外治疗即可正常愈合。但较大面积骨缺损(节段性缺损>2 cm 或者缺损骨周长>50%)可能会引发骨不连、畸形愈合等情况,此时需要对损伤进行干预,如采取骨移植或置换手术^[2]。然而,自体骨移植和同种异体骨移植均存在供体部位并发症发病率高、潜在感染风险大和宿主组织愈合率不高等不足,在应用方面受到限制^[3-4]。因此,受损骨组织的理想修复方案尚待明确。对于骨缺损患者治疗而言,开发有效的、可持续的受损骨组织修复方法意义重大^[5-6]。

水凝胶具有独特性能优势,不仅可以用作可注射的组织填充剂,以液态形式将负载细胞和(或)

细胞因子输送到缺损区域并原位固化,从而诱导细胞和组织生长,还可以用作 3D 生物打印的生物墨水或用作细胞或药物输送的纳米级颗粒。在生物医学领域,水凝胶的性能得到了广泛的探索。为改善骨修复,近年来水凝胶设计取得了进展,以提高其效用^[7-8]。

1 水凝胶分类

水凝胶由具有 3D 网络结构的亲水聚合物形成。水凝胶通常是由一种或几种单体通过化学反应制备的,通过在聚合物链之间形成缔合键,其水吸收能力可高达其自身干重的成百上千倍^[9]。根据驱动 3D 网络结构的相互作用的不同,水凝胶可分为化学水凝胶和物理水凝胶 2 种(见表 1)。

表 1 水凝胶的分类

	交联方式	优势	劣势
物理水凝胶	分子间相互作用	作用力数量多,相抵黏度低,剪切变稀,快速恢复	分子间相互作用力弱,作用强度依赖外部刺激
化学水凝胶	官能团共价作用	力学性能好,稳定性强,亲水性较好	会因大孔的形成而发生相分离

1.1 物理水凝胶

物理水凝胶是经温度、pH 和离子浓度的变化等物理交联过程生成,并通过分子纠缠和(或)氢

键、离子力、疏水力及范德华力连接在一起的网路^[10-12],主要包括静电相互作用形成的水凝胶、温度或 pH 诱导的凝胶化水凝胶、超分子组装水凝胶、剪切稀化水凝胶等^[13]。在上述类型的水凝胶中发生的相互作用虽然很弱,但数量众多,有利于发挥复杂的功能。由于这些相互作用在很大程度上与 pH、离子浓度、溶剂组成或温度等外部刺激有关,因此与依靠共价键结合的材料不同,物理水凝胶

基金项目:国家自然科学基金(82060394)、甘肃省自然科学基金(20JR10RA673)、兰州市人才创新创业项目(2020-RC-45)、兰州大学第一医院院内基金(ldyyyn2019-01)

作者单位:730000, 兰州大学第一临床医学院骨科

通信作者:赵海燕 E-mail: zhaohaiyan8606@163.com

在环境方面具有高度适应性^[14]。物理水凝胶的可注射或可 3D 打印性能要求其在高剪切速率下黏度相对较低,以便于注射或打印。而在注入和沉积到指定位置后,则需要发生快速的相转变,以防止凝胶流动。换言之,物理水凝胶在剪切应力作用下呈黏性流体状态,而在剪切应力消除后可以快速恢复,即剪切变稀和快速恢复,这是物理水凝胶实现可注射或可打印的关键。

1.2 化学水凝胶

由共价交联的网络组成的水凝胶被称为化学水凝胶,也称永久性水凝胶。它是指由聚合物链中官能团之间的共价相互作用形成的水凝胶,官能团常见的共价偶联反应主要包括迈克尔加成反应、点击反应、席夫碱形成、光交联、酶介导交联等^[13]。与物理水凝胶类似,化学水凝胶也是非均质的,通常是高交联密度和低溶胀度的区域分散在低交联密度和高溶胀度的区域中,这些不同溶胀度区域是受交联剂的疏水聚集影响形成的。在某些情况下,根据凝胶化过程中成分、溶剂、温度和固体浓度不同,化学水凝胶会随着大孔的形成而发生相分离^[15]。与物理水凝胶不同,化学水凝胶具有带有共价键的交联网络结构。这种水凝胶可以通过交联水溶性单体和聚合物,将疏水性单体和聚合物转化为亲水性单体和聚合物来制备。此外,化学水凝胶因成键多为共价键,其力学性能较物理水凝胶更优异,稳定性也更高^[16]。

2 水凝胶在骨组织工程中的应用

2.1 作为细胞和(或)生长因子载体促进骨修复

骨组织工程是一种潜力巨大的骨修复方式,通常是先将细胞和(或)生长因子包裹在水凝胶中,再通过水凝胶将细胞或生长因子定向输送到骨缺损部位,从而可以持续释放细胞和(或)生长因子,以促进缺损部位修复,其修复效果明显。

2.1.1 杂化纳米颗粒水凝胶

金属杂化的纳米颗粒与水凝胶材料结合可以有效改善水凝胶的性质。有研究者设计了一种红外光响应性杂化(UCNP-Au-Alg)水凝胶,即可以在红外光照下快速加热。该水凝胶一方面可以通过非侵入性近红外光有效治疗肿瘤并预防其复发,另一方面则可以使胫骨骨缺损大鼠的胫骨更加光滑,显示该水凝胶可以促进受损骨骼有效愈合,这一策略为治疗由骨肿瘤引起的病理性骨折提供了全新的理论支持^[17]。

Wang 等^[18]报道了一种杂化纳米颗粒(NP)/聚乙二醇水凝胶(PEG)递送系统,他们将包埋在水凝胶中的 siRNA/NP 递送到骨折部位,并使这些颗粒以一定的速度持续定点释放。动物实验证实,在骨折后 1 周 siRNA/NP 水凝胶组钙化愈合组织明显多于对照组。虽然这种方法可能会降低 siRNA 在愈合后期的功效,但它对开发负载其他治疗性 siRNA 或 miRNA 水凝胶的骨组织工程策略具有重大意义,为未来骨缺损修复提供了一个有潜力的研究方向。

2.1.2 调节骨微环境

骨缺损部位常常因缺氧而出现大量活性氧(ROS)堆积,ROS 的过度产生会阻碍骨折愈合,使骨折部位发生延迟愈合^[19]。因此,改善骨缺损部位的缺氧环境对骨再生具有重大意义。

Sun 等^[20]设计了可以调控骨微环境的 ROS 清除和响应性延长产氧水凝胶(CPP-L/GelMA),并将其填充在骨缺损部位,该水凝胶可连续释放氧气 2 周以上,在骨缺损部位形成一个富氧环境,从而有效改善缺氧,并抑制 ROS 过度产生^[20]。这在骨组织修复领域属于重大突破。虽然有研究致力于制造释放氧气的支架,但其释放氧气时间过短,无法与骨组织修复过程相匹配,所以仍需进一步改进^[21]。通过调节 ROS 堆积的治疗策略有望成为修复骨缺损的重要手段之一。

2.2 作为药物载体预防和治疗骨科细菌感染

细菌感染可在骨折后或假体置换术后造成严重后果,目前主要的治疗方法是口服抗生素或外科治疗。随着抗生素的过度使用,大量耐药菌株出现,导致抗生素疗效减退^[22]。此外,将抗生素与假体混合后置入受损部位是另一种可行方式,但抗生素易聚集会导致应力集中,且其释放后所留孔隙可能破坏材料结构的完整性。

水凝胶因其卓越的生物相容性、可控的理化特性和高度的组织适应性,逐渐成为受损骨组织的理想修复材料。Johnson 等^[23]的研究表明,递送溶葡萄球菌素的可注射 PEG 不但对骨折后的金黄色葡萄球菌感染具有较好的治疗效果,而且在治疗感染的同时亦可促进骨折愈合,表明负载药物的水凝胶在治疗骨科感染性疾病中具有双重作用。Liu 等^[24]用阳离子季铵盐(QAS)基团改性可光交联的明胶基聚合物(GelMA)制备了一种新型水凝胶系统,该系统可以发挥良好的细胞亲和性和抗

菌性的协同作用,在大鼠股骨骨折感染模型中表现出优异的抗菌能力。此外,有研究将 miRNA 拮抗剂负载到细菌敏感性透明质酸基水凝胶中,这类可注射水凝胶被证实有良好的可注射性、组织黏附性和抗菌性,可通过持续释放 miRNA 拮抗剂在抗菌的环境中促进骨折修复^[25-26]。上述研究表明,这些水凝胶本身具有抗菌作用,可以直接注射在骨折或骨缺损部位,从而预防或治疗感染,但单纯水凝胶的抗菌作用有限。在水凝胶中负载抗菌物质既能有效抗菌,又可最大程度减轻抗菌物质对骨缺损部位的不良影响。

2.3 作为骨再生支架促进骨修复

组织工程技术是一种具有巨大应用潜力的骨修复新方法,其目标是创建可以模拟细胞外基质并能为新骨形成提供坚固机械支持的支架^[27],以修复受损骨组织。传统的用于骨修复的支架制造技术已得到广泛研究,但其在模拟生物组织的复杂微环境方面存在局限性^[28]。

2.3.1 明胶和海藻酸钠水凝胶

Wu 等^[29]使用明胶和海藻酸钠分别用于模拟细胞外基质中胶原蛋白和糖胺聚糖的组成,构建了在生理环境下具有稳定溶胀性能的高强度明胶-HAlg-DN 水凝胶。在用作组织工程支架时,该水凝胶的抗溶胀能力有利于防止支架术后变形,并可降低支架施加在周围组织的压力。在大鼠骨缺损模型中,负载补骨脂素的明胶-HAlg-DN 水凝胶可有效促进骨再生,并显示出作为骨组织工程支架的巨大潜力。

2.3.2 3D 打印复合水凝胶支架

近年来,3D 打印技术掀起了材料制作的热潮,3D 打印技术可以将一些不易结合的物质联系起来,共同发挥它们的优势,是未来研究的一个重点方向。Liu 等^[30]设计并开发了一种通过 3D 打印技术制作的纳米凹凸棒石(nano-ATP)/GelMA 复合水凝胶,该水凝胶既保留了水凝胶优良的生物相容性,又通过加入凹凸棒石的改性大大提升了水凝胶的力学性能。他们将小鼠骨髓间充质干细胞(BMSC)和脐静脉内皮细胞负载到该复合水凝胶支架中,结果表明支架内的细胞不仅活力高,而且具有明显促进 BMSC 成骨分化的倾向^[30]。

此外,有大量研究将具有骨诱导活性的天然生物矿物质、新型脱细胞骨细胞外基质、 La^{3+} 离子、miRNA 等通过 3D 打印技术制成复合水凝胶支架,

以促进骨缺损修复^[31-34]。上述研究为 3D 打印生物材料提供了良好的例证,即在保证具有明显疗效的同时,也保证了材料尺寸的精确性,为精准化医疗提供了一个新的思路和方向。

3 结语

水凝胶由于其良好的生物相容性、亲水性和生物降解性而备受瞩目,在生物医药领域具有较大应用潜力,在骨科领域主要于组织工程、药物递送等。由于受到水凝胶材料响应时间太长、力学性能有待改善、可能产生毒理学反应以及可能引发机体免疫排斥反应等问题限制,水凝胶尚未得到广泛的临床应用。

未来的研究应致力于继续改善水凝胶的性能或发现性能更好的水凝胶种类,并且进一步探究它们的作用机制,使其尽早广泛应用于实际,造福于骨组织损伤患者。

参考文献

- [1] Li Y, Cao J, Han S, et al. ECM based injectable thermo-sensitive hydrogel on the recovery of injured cartilage induced by osteoarthritis[J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2018, 46(Suppl 2): S152-S160.
- [2] Keating JF, Simpson AH, Robinson CM. The management of fractures with bone loss[J]. *J Bone Joint Surg Br*, 2005, 87(2): 142-150.
- [3] Filipowska J, Tomaszewski KA, Niedźwiedzki Ł, et al. The role of vasculature in bone development, regeneration and proper systemic functioning[J]. *Angiogenesis*, 2017, 20(3): 291-302.
- [4] Lee EJ, Jain M, Alimperti S. Bone microvasculature: stimulus for tissue function and regeneration[J]. *Tissue Eng Part B Rev*, 2021, 27(4): 313-329.
- [5] Liu M, Zeng X, Ma C, et al. Injectable hydrogels for cartilage and bone tissue engineering[J]. *Bone Res*, 2017, 5: 17014.
- [6] Zhao Z, Sun Y, Qiao Q, et al. Human periodontal ligament stem cell and umbilical vein endothelial cell co-culture to prevascularize scaffolds for angiogenic and osteogenic tissue engineering[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(22): 12363..
- [7] Ghiorghita CA, Humelnicu D, Dinu MV, et al. Polyelectrolyte complex composite cryogels with self-antibacterial properties and wide window for simultaneous removal of multiple contaminants[J]. *CHEM ENG J*, 2023, 459.
- [8] Yu T, Hu Y, He W, et al. An injectable and self-healing hydrogel with dual physical crosslinking for in-situ bone formation[J]. *Materials Today Bio*, 2023, 19: 100558.
- [9] Hoffman AS. Hydrogels for biomedical applications[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2002, 54(1): 3-12.
- [10] Ullah F, Othman MB, Javed F, et al. Classification, processing and application of hydrogels: a review[J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2015, 57: 414-433.

- [11] Thakur VK, Thakur MK. Recent advances in green hydrogels from lignin: a review[J]. Int J Biol Macromol, 2015, 72: 834-847.
- [12] Liu R, Dai L, Xu C, et al. Lignin-based micro- and nanomaterials and their composites in biomedical applications[J]. Chem Sus Chem, 2020, 13(17): 4266-4283.
- [13] Sikdar P, Uddin MM, Dip TM, et al. Recent advances in the synthesis of smart hydrogels[J]. Materials Advances, 2021, 2(14): 4532-4573.
- [14] Li G, Chen J, Yan Z, et al. Physical crosslinked hydrogel-derived smart windows: anti-freezing and fast thermal responsive performance[J]. Mater Horiz, 2023, 10(6): 2004-2012.
- [15] Muñana-González S, Veloso-Fernández A, Ruiz-Rubio L, et al. Covalent cross-linking as a strategy to prepare water-dispersible chitosan nanogels[J]. Polymers (Basel), 2023, 15(2): 434.
- [16] Lagneau N, Terriac L, Tournier P, et al. A new boronate ester-based crosslinking strategy allows the design of nonswelling and long-term stable dynamic covalent hydrogels[J]. Biomater Sci, 2023, 11(6): 2033-2045.
- [17] Liu B, Gu X, Sun Q, et al. Injectable in situ induced robust hydrogel for photothermal therapy and bone fracture repair[J]. Adv Funct Mater, 2021, 31(19).
- [18] Wang Y, Malcolm DW, Benoit DSW. Controlled and sustained delivery of siRNA/NPs from hydrogels expedites bone fracture healing[J]. Biomaterials, 2017, 139: 127-138.
- [19] Teh SW, Koh AE, Tong JB, et al. Hypoxia in bone and oxygen releasing biomaterials in fracture treatments using mesenchymal stem cell therapy: a review[J]. Front Cell Dev Biol, 2021, 9: 634131.
- [20] Sun H, Xu J, Wang Y, et al. Bone microenvironment regulative hydrogels with ROS scavenging and prolonged oxygen-generating for enhancing bone repair[J]. Bioact Mater, 2023, 24: 477-496.
- [21] Wang Y, Xie C, Zhang Z, et al. 3D printed integrated bionic oxygenated scaffold for bone regeneration[J]. ACS Appl Mater Interfaces, 2022, 14(26): 29506-29520.
- [22] 张青, 马慧娜. 大肠埃希菌生物膜形成与耐药机制的研究进展[J]. 中国抗生素杂志, 2018, 43(5): 497-501.
- [23] Johnson CT, Wroe JA, Agarwal R, et al. Hydrogel delivery of lysostaphin eliminates orthopedic implant infection by Staphylococcus aureus and supports fracture healing[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2018, 115(22): E4960-E4969.
- [24] Liu Y, Dong T, Chen Y, et al. Biodegradable and cytocompatible hydrogel coating with antibacterial activity for the prevention of implant-associated infection[J]. ACS Appl Mater Interfaces, 2023, 15(9): 11507-11519.
- [25] Yu C, Chen L, Zhou W, et al. Injectable bacteria-sensitive hydrogel promotes repair of infected fractures via sustained release of mirna antagonist[J]. ACS Appl Mater Interfaces, 2022, 14(30): 34427-34442.
- [26] Liu P, Xiong Y, Chen L, et al. Angiogenesis-based diabetic skin reconstruction through multifunctional hydrogel with sustained releasing of M2 Macrophage-derived exosome[J]. Chem Eng J, 2022, 431: 132413.
- [27] Haugen HJ, Lyngstadaas SP, Rossi F, et al. Bone grafts: which is the ideal biomaterial?[J]. J Clin Periodontol, 2019, 46 Suppl 21: 92-102.
- [28] Ansari MAA, Golebiowska AA, Dash M, et al. Engineering biomaterials to 3D-print scaffolds for bone regeneration: practical and theoretical consideration[J]. Biomater Sci, 2022, 10(11): 2789-2816.
- [29] Wu T, Liu L, Gao Z, et al. Extracellular matrix (ECM)-inspired high-strength gelatin-alginate based hydrogels for bone repair[J]. Biomater Sci, 2023, 11(8): 2877-2885.
- [30] Liu C, Dai T, Wu X, et al. 3D bioprinting of cell-laden nano-attapulgit/gelatin methacrylate composite hydrogel scaffolds for bone tissue repair[J]. J Mater Sci Technol, 2023, 135: 111-125.
- [31] Kara A, Distler T, Polley C, et al. 3D printed gelatin/decellularized bone composite scaffolds for bone tissue engineering: fabrication, characterization and cytocompatibility study[J]. Mater Today Bio, 2022, 15: 100309.
- [32] Xu Z, Lin B, Zhao C, et al. Lanthanum doped octacalcium phosphate/poly(lactic acid) scaffold fabricated by 3D printing for bone tissue engineering[J]. J Mater Sci Technol, 2022, 118: 229-242.
- [33] Pan T, Song W, Xin H, et al. MicroRNA-activated hydrogel scaffold generated by 3D printing accelerates bone regeneration[J]. Bioact Mater, 2022, 10: 1-14.
- [34] Gang F, Ye W, Ma C, et al. 3D Printing of PLLA/biomimetic composite bone tissue engineering scaffolds[J]. Materials (Basel), 2022, 15(12): 4280.

(收稿日期 : 2023-04-05)

(本文编辑 : 富饶)