

肝素水凝胶在骨组织工程中的应用研究进展

冯少龙 陈泽驹 刘桂宏 刘青华 蒋煜文

暨南大学附属珠海医院（珠海市人民医院）广东 珠海 519000

【摘要】：随着社会得不断发展，组织工程研究得不断深入，肝素在组织工程中得研究成为近年来研究得热点，肝素及其衍生物属于组织工程之家材料得成分，其能够改善支架的生物相容性，促进种子细胞的黏附、增殖以及分化。就骨组织工程研究而言，骨细胞的再生以及相应的调控对于相关疾病的治疗具有深远的意义。肝素水凝胶具有组织相容性优良，细胞毒性低等方面的优势，其能够诱导间质干细胞分化，进而修复骨缺损，同时能够作为细胞因子载体，诱导成软骨分化以及控制药物释放，具有优良的生物学活性。本文将围绕肝素水凝胶在骨组织工程中的应用开展综述。

【关键词】：肝素水凝胶；骨组织工程；应用研究

Research Progress of Heparin Hydrogel in Bone Tissue Engineering

Shaolong Feng, Zeju Chen, Guihong Liu, Qinghua Liu, Yuwen Jiang

Zhuhai Hospital Affiliated to Jinan University (Zhuhai People's Hospital) Guangdong Zhuhai 519000

Abstract: With the continuous development of society and the deepening of tissue engineering research, the research of heparin in tissue engineering has become a hot research topic in recent years. Heparin and its derivatives belong to the ingredients of tissue engineering materials, which can improve the biocompatibility of scaffolds and promote the adhesion, proliferation and differentiation of seed cells. As far as bone tissue engineering is concerned, the regeneration and corresponding regulation of bone cells have far-reaching significance for the treatment of related diseases. Heparin hydrogel has the advantages of excellent histocompatibility and low cytotoxicity. It can induce mesenchymal stem cell differentiation, and then repair bone defects. At the same time, it can be used as a cytokine carrier to induce chondrogenic differentiation and control drug release. It has excellent biological activity. This article will review the application of heparin hydrogel in bone tissue engineering.

Keywords: Heparin hydrogel; Bone tissue engineering; Application research

肝素属于硫酸化糖胺聚糖，其主要由糖醛酸以及葡糖胺的衍生物构成的二糖单位，属于动物体内天然的抗凝血物质。据相关研究显示：肝素及其衍生物均具有优良的抗凝以及抗栓活性，在实际应用的过程中，多数情况下将其用作抗凝剂。同时有学者指出：由于肝素特有的组织相容性，其对于种子细胞的黏附、增殖以及分化等具有明显的促进效果，其能够聚集生长因子以及调控干细胞，现阶段，其在多个领域均得到了较为广泛的影响。临床多种类型的疾病于骨以及软骨缺损存在联系，肝素水凝胶属于新兴的生物材料，其在骨组织工程中的骨缺损修复、诱导分化等方面均具有深远的意义。肝素广泛的分布于机体之中，分析肝素的分子结构，发现：其中存在大量的磺基，其表面存在浮点，能够通过肝素结构上的相关结合域能静电吸附多种重要生物分子，进而于生物活性蛋白产生相互作用。根据此类特性，认为肝素水凝胶不仅具有组织相容性有脸、溶胀不溶解等方面的优势，同时其能够参与调控细胞因子释放等方面的生物学特点^[1-2]。本文将探究分析肝素水凝胶在骨组织工程中的应用，详情如下所示。

1 诱导间充质干细胞分化

间充质干细胞能够分化为骨细胞以及软骨细胞，其属于具有具有优良治疗效果干细胞的来源，对于骨相关疾病的治疗具有深远的意义。据相关研究显示：肝素具有优良的相互效果，其能够与多种成骨细胞以及骨祖细胞黏附相关蛋白产生相应的相互效果，加上水凝胶自身所具有的交联网状3D分子结构，使得寒素水凝胶能够有效的维持间充质干细胞的存货，同时能够起到引导间充质干细胞分化的功能。据国外相关研究显

示：研究这这肝素泊洛沙姆水凝胶、结冷胶双网水凝胶作为间充质干细胞的载体，并对其进行相应的培养，通过长期的研究观察发现：肝素在提供改善黏附增殖表面的基础之上，两种不同的水凝胶复合对细胞的增殖具有明显的促进效果。而肝素泊洛沙姆水凝胶有效的消除了天然多糖结冷胶在装载细胞过程中成胶温度过高以及凝胶自身不具备配体结合部等方面的问题，观察间充质干细胞发现，其具有优良的存活状态，同时表现出良好的形态表现。提示：肝素水凝胶在对间充质干细胞产生影响的同时，其组织细胞的毒性相对偏低。同时国内有研究显示：肝素水凝胶相比与明胶水凝胶，其在促进间充质干细胞成软骨分化以及抑制成骨分化方面具有更为优良的效果。研究者次啊用肝素水凝胶对间充质干细胞以及成骨细胞进行共同培养，发现间充质干细胞虽然出现成骨明显的情况，但是其细胞边缘的矿化却表现相对明显，提示：肝素自身所具有负电荷，因而其能够选择性的与可溶性带正电荷的蛋白产生相互作用，进而对成骨细胞分泌的细胞因子作用产生相应的影响。同时有研究显示：研究中通过将肝素水凝胶与间充质干细胞今年新共同培养，通过观察发现，间充质干细胞具有细胞黏附性优良的特点，其在经过无血清培养条件所培养的间充质干细胞生物学性能明显由于采用普通细胞培养板进行培养的间充质干细胞^[3-4]。提示：肝素水凝胶的发挥作用是通过肝素自身与细胞之间的作用，而肺借助吸附于肝素水凝胶表面的生物蛋白。

2 促进软骨细胞的增殖

软骨组织的自我修复能力存在一定的局限性，同时其具有结构复杂的特点，不存在于血管、伸进组织以及淋

巴组织之中，因而当患者软骨组织出现相应的损伤之后，其自身不会存在明显的再生，同时在其修复之后，此类软骨组织缺乏正常功能所需要的带状结构。现阶段，多数研究显示：水凝胶在性质方面具有软骨组织样的特点，其在吸水之后能够持续性的保持结构的稳定型，因而现阶段在对软骨组织缺损的治疗研究中，水凝胶作为多数研究者的重要研究目标。国内有研究显示：在对肝素添加水凝胶之后，能够有效的抑制间充质干细胞的成骨效果，进而提升软骨细胞表型的增殖，强化成软骨作用。国外有研究显示：研究者在分析将右旋糖酐酪胺水凝胶对软骨修复的影响之中，将肝素加入其中，通过研究发现，细胞出现黏附，同时使得右旋糖酐酪胺水凝胶中的细胞归为。提示：将肝素加入水凝胶，能够诱导细胞的聚集，二肝素的浓度的变化，则能够对细胞黏附、增殖以及分化产生相应的影响。分析其原因，认为肝素与生长因子以及趋化因子存在优良的亲和力。进而得出结论：肝素水凝胶不仅能够促进如那副修复除能诱导间充质干细胞分化，同时能够引导周围的相关细胞参与到修骨的过程之中。有研究显示：通过将肝素加入水凝胶之中，能够提升水凝胶自身的溶胀效果，进而为细胞输送必须的营养，相比于单纯的右旋糖酐酪胺水凝胶，但肝素的占比在水凝胶中 $\geq 50\%$ 的情况下，培养基中软骨细胞的活力以及增殖能力能够达到顶峰，同时能够促进细胞基质的产生。有学者指出，在水凝胶之中加入肝素，能够有效的避免软骨区出现矿化的情况，进而保障抑制钙化软骨成骨的长期生长，提升邻近水凝胶诱导的软骨曾X型胶原提升。同时肝素水凝胶能够参与II型胶原蛋白以及蛋白多糖的调控，保障软骨的稳定形成^[5-6]。

3 促进血管的形成

在骨组织重建的过程之中，细胞母鸡与血管的形成对于组织的成活具有重要的意义。有研究显示：肝素水凝胶能够促进断裂血管的连接，晚上上皮结构，同时不会对组织的再生产生影响。提示：肝素水凝胶具有促进血管再生的可能性。血管内皮生长因子属于肝素结合生长因子，其从肝素水凝胶中释放，保障了肝素水凝胶在通过血管内皮生长因子修复可在成血管方面的优良效果。国外有研究显示：通过脱硫酸肝素聚乙二醇二丙稀酸酯水凝胶释放传递外源性基质细胞衍生因子-1 α ，从水凝胶中释放的外源性基质细胞衍生因子-1 α ，能够对先天免疫反应进行调节，参与微血管网络的生长，进而有效的提升了周围微血管口径以及数量。研究显示：骨保护素结合肝素水凝胶能够刺激患者体内血管的生成，研究中将成纤维细胞生长因子与血管内皮生长因子同时加入至肝素水凝胶之中，发现：肝素水凝胶能够与血管内皮因子以及FGF-2等类型的细胞因子进行结合，交联固化，同时能够调节FGF以及血管内皮因子的释放，在形成血管方面具有相对明显的效果。通过总结上述研究发现，肝素水凝胶能够通过释放存在肝素结合结构域的生长因子，衍变为有效的细胞因子传递基质，进而提升新生血管的形成。国内有研究显示：在羧甲基壳聚糖氧化硫酸软骨素水凝胶之中，加入低分子肝素，装载TGF- $\beta 3$ 作为外周血MSC基质，进而促进软骨的修复，实验中证明了

水凝胶中低分子肝素使得TGF- $\beta 3$ 凝胶化时间降低，提升机械强度，减缓降解速度，TGF- $\beta 3$ 释放稳定持久^[7-8]。

4 作为细胞因子载体

水凝胶结构中存在86%左右的水以及三维多孔结构，肝素分子自身存在负电性，同时具有特殊的结构域，其能够与多种类型的生物蛋白（凝血酶、脂蛋白、生长因子、外科蛋白等），相互作用，两者通过相互结合，能够使得肝素会凝胶在机体内外具有控释效果。肝素修饰促进水凝胶整体与细胞因子结合的特异性以及亲和力，同时具有细胞毒性低等方面的优势^[9-10]。国内有研究显示：在羧甲基壳聚糖氧化硫酸软骨素水凝胶之中加入低分子肝素，将存在转化生长因子- $\beta 3$ 作为外周血MSC的基质，进而促进软骨的修复。在研究完成后，发现水凝胶中所存在的低分子肝素使得转化生长因子- $\beta 3$ 凝胶化的时间出了了降低，提升了七机械强度，同时缩短了降解速度，使得转化生长因子- $\beta 3$ 的释放更为稳定且持久。同时由研究显示：将负载骨形态出现蛋白-2的肝素化纳米颗粒水凝胶应用与强化骨再生，在研究结束后发现，在肝素化纳米颗粒水凝胶的效果之下，培养基中出现成熟以及高度矿化骨，BMP-2促进新股重塑的效果得到了明显的提升。国外研究发现：肝素化壳聚糖水凝胶对蛋白-2的生活活性具有优良的保护效果，肝素化壳聚糖水凝胶能够通过对抗蛋白拮抗剂NOggin的活性进行抑制，进而提升蛋白效力。同时由研究显示：将可注射肝素透明质酸水凝胶作为生物支架，装载转化生长因子- $\beta 1$ 并能够有效的控制七释放，肝素自身存在相对较多的磺基以及羧基，使得肝素分子自身存在负电。有研究者将存在正电的小分子抗炎类药物（龙胆紫）加入至肝素水凝胶之中，结果显示：小分子抗炎类厌恶释放相对较慢，且在完成释放之后，维持七自身的生物活性，提示肝素水凝胶成为药物载体存在理论上的可能。

5 肝素在骨组织工程中的应用

肝素应用于钛合金、不锈钢等金属材料作为代表的第一代骨修复类型的产品，其主要作为媒介，将药物修饰于组织工程材料的表面之上，其主要目的是为了提升产品与使用者之间的相容性，促进成骨细胞的分化，现阶段存在多方面的应用，如：阿屈磷酸盐在肝素的介导之下，能够固定于钛金属表面，使得其能够抑制破骨细胞的分化，促进成骨细胞的分化。在以PLA、磷灰石等为代表类型的骨组织工程支架产品之中，加入肝素，能够有效的使得材料的性质得到改善，同时能够作为骨形态发生蛋白的载体，在一定程度上为仿生功能化骨组织的形成提供了基础。其中将黏着分子HE加入PLA支架材料之中，能够促进骨髓基质干细胞的黏附。肝素在构建组织工程软骨中所起到的作用包括：促进软骨细胞外基质的分娩以及介导细胞因子与支架材料复合，进而促进干细胞分化，达到缩短组织工程构建的时间^[11-12]。

6 结语

骨组织工程包括了骨与软骨细胞增殖、以及分化，对于相关疾病的治疗具有深远的意义，通过本次研究总结发现，肝素水凝胶具有优良的组织相容性，同时其具有细

胞毒性小、免疫原性低等方面的优势。由于肝素自身所具备的抗凝活性以及其所存在的电荷，对其羟基加以修饰即可用于凝胶的合成。肝素水凝胶能够诱导间充质干细胞的分化修复古却顺，同时能够作为细胞因子载体，诱导成软

骨分化，控制药物的释放，使其具有优良的生物学活性。现阶段，国内外多数研究均是针对实验对象进行现象的分析，在肝素水凝胶生物说行的具体机制方面的研究相对较少，因而在今后的研究过程中仍需进行不断的深入。

参考文献:

- [1]陈财,曾平,刘金富.介导软骨细胞相关机制调控骨性关节炎的长链非编码RNA[J].中国组织工程研究,2023,27(29):4729-4735.
- [2]吴宗健.负载脂源性生长因子的光敏肝素水凝胶促进创面愈合的实验研究[D].宜春学院,2022.
- [3]尹培毅.树枝状两亲性多功能自组装水凝胶诱导骨髓间充质干细胞向神经元方向分化的研究[D].南昌大学,2021.
- [4]瞿杭波,李庆庆,蒋增辉,竺军高,茹选良,虞惊涛.姜黄素对骨关节炎软骨细胞增殖及分泌MMP-13、IL-6的影响[J].中国现代医生,2020,58(26):38-40+45.
- [5]构建骨髓间充质干细胞-透明质酸水凝胶复合物并向神经元诱导分化的研究[C]//中华医学会第十三次全国神经病学学术会议论文汇编.[出版者不详],2010:192.
- [6]马艳,岳秀丽,刘萌,彭涛,刘绍琴,戴志飞.共价交联的肝素/海藻酸盐水凝胶表面修饰膨体聚四氟乙烯人工血管(英文)[J].中国组织工程研究与临床康复,2008(10):1954-1957.
- [7]阮宏.功能性多肽自组装纳米纤维水凝胶诱导骨髓间充质干细胞向神经元分化研究[D].南昌大学,2019.
- [8]农桔安.富血小板血浆复合胶原水凝胶诱导骨髓间充质干细胞成软骨分化作用的研究[D].广西医科大学,2018.
- [9]李喆.可注射式明胶衍生类水凝胶用于软组织工程促血管化的研究[D].第三军医大学,2016.
- [10]鲁翠涛.应用可控相变的肝素-泊洛沙姆水凝胶实现高效血管吻合术的实验研究.浙江省,温州医科大学,2014-05-29.
- [11]王冠云.水滑石复合生物活性材料的制备及其在骨组织工程中的应用[D].北京化工大学,2022.
- [12]卿云安.负载黑磷纳米片/纳米氧化镁复合水凝胶促进骨修复及相关机制研究[D].吉林大学,2022.