

^{125}I 籽源照射对壳聚糖涂层的聚乙丙交酯载体支架 体外降解性能的影响

陈红红¹ 姜逊² 于雷¹ 郑志清³ 胡昱兴¹ 王文祖² 程文英¹ 邵春林¹

¹ (复旦大学放射医学研究所 上海 200032)

² (东华大学纺织学院 上海 200051)

³ (东华大学材料学院 上海 200051)

摘要 研究 ^{125}I 籽源持续低剂量率照射对壳聚糖涂层的聚乙丙交酯 (Poly (glycolide-co-lactide), PGLA) 薄层支架体外降解性能的影响。在离体条件下, 模拟人体环境采用磷酸盐缓冲液 (Phosphate buffered solution, PBS) 作为降解介质, ^{125}I 籽源单粒表观活度为 29.6MBq, 在薄层支架中 5 粒 ^{125}I 籽源按一定规律排布。采用质量损耗、弹性回复率测试和扫描电镜观察等方法来评价 PGLA 薄层支架的体外降解性能。照射后第 2 周, PGLA 薄层支架的质量损耗仅减少了 10% 左右, 弹性保持率维持在 60% 以上, 材料纤维结构保持完好, 降解行为不明显; 照射第 4 周时, 材料受照剂量最高点处的累积剂量达 $2.2 \times 10^3 \text{ Gy}$, PGLA 薄层支架质量损耗率未超过 50%, 弹性保持率仍有 36%, 扫描电镜观察显示, 部分材料纤维开始出现裂纹和缝隙, 较对照组明显, 表明 ^{125}I 籽源持续低剂量率照射 4 周能使 PGLA 薄层支架降解速率有所加快, 但仍维持了约 59% 质量和一定的弹性, 形态结构保持较好, 能有效维持 ^{125}I 籽源的空间分布。

关键词 碘-125 籽源薄层片, 聚乙丙交酯, 壳聚糖, 生物降解, 体外

中图分类号 Q691.2, O632.52

聚乙丙交酯 (Poly (glycolide-co-lactide), PGLA) 因其良好的生物相容性、机械性能和生物降解性而广泛应用于缓释控释药物载体材料、人体组织工程支架材料、外科用修补材料及体内缝合线等^[1-4]。我们和东华大学合作采用可控降解的新型壳聚糖涂层的 PGLA 设计制作内放疗薄层支架, 将放射性籽源按一定规律插入其中进行固定排布, 用于术中植入肿瘤残基表面进行近距离放射治疗, 以确保放射剂量分布的均匀性, 避免出现剂量“冷点”而导致治疗失败。这种可降解的壳聚糖涂层的 PGLA 薄层支架经 ^{125}I 籽源持续低剂量率照射后的生物降解情况, 能否在机体组织修复前仍维持放射性籽源的空间分布, 是保证该类临床产品应用安全有效的一个重要方面, 目前国内外尚未见相关报道。体外降解实验是最直观且方便的途径, 在离体条件下, 模拟人体环境选用磷酸盐缓冲液 (Phosphate buffered solution, PBS) 作为人工体液, 采用质量损耗、弹性回复率测定和扫描电镜观察等方法, 从多角度来

评价 ^{125}I 籽源薄层片的生物降解性能。

1 材料和方法

1.1 ^{125}I 籽源薄层片

壳聚糖涂层的 PGLA 薄层支架, 呈半透明状, 质地柔韧, 尺寸 $2\text{cm} \times 2\text{cm}$, 环氧乙烷消毒、铝箔包装封口, 由东华大学提供。

单粒 ^{125}I 籽源的表观活度为 29.6MBq (0.8mCi), 空心籽源无放射性, 由宁波君安药业科技有限公司提供。使用前, 籽源经高压蒸气消毒, 在无菌条件下插入载体支架中, 装配成籽源薄层片。

1.2 模拟人体环境

1.2.1 降解介质 采用人工体液 PBS, $\text{pH}=7.4$, 配方: KCl 0.20g, KH_2PO_4 0.24g, NaCl 8.00g, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 2.16g, 用去离子水加至 1000mL。

1.2.2 降解条件 降解温度为 37°C , 降解液用量为 20mL, 降解过程中不加任何干预措施, 使降解系统保持静态。试验在无菌条件下进行。

上海市科委重点科技攻关项目 (045211026) 资助

第一作者: 陈红红, 女, 1965 年 7 月出生, 1987 年毕业于原上海医科大学, 放射医学专业, 副研究员

收稿日期: 初稿 2006-05-10, 修回 2006-09-28

1.3 籽源排布和实验分组

5粒 ^{125}I 籽源按图1插入PGLA薄层支架中成为 ^{125}I 籽源照射组:4粒排列于边长1cm的正方形四角,1粒置于正方形中心。5粒空籽源按相同排布插入PGLA薄层支架中作为对照组。

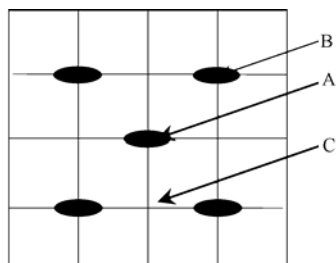


Fig.1 Distribution of seeds in chitosan-coated PGLA carrier
Black spots: seeds; A, B, C: site of the elasticity recovery rate measurement

1.4 质量损耗的测定

质量损耗测定是为了观察PGLA薄层支架在降解各个时段质量损失的情况,以质量损耗率表示。测试的降解周期为1,2,4,6,8周,共5个时段,每个时段测试的试样为5块。试样经真空干燥(4h预干燥,24h干燥)至恒重,电子分析天平(精度为0.1mg)称量。根据公式(1)计算各时段的质量损耗率。

质量损耗率(%)

$$= \frac{\text{初始质量} - \text{降解各时段质量}}{\text{初始质量}} \times 100\% \quad (1)$$

1.5 弹性回复率的测定

弹性回复率测定的是PGLA薄层支架中导管的力学性能变化,它采用YG061型电子强力仪检测,表示上压柱反复作用于导管试样后导管直径的保持情况,见公式(2),导管直径由百分台式测厚仪Q/DBFF2-2001测得。为反映PGLA薄层支架在降解各个时段弹性回复率的变化情况,则以弹性保持率表示,见公式(3)。测试的降解周期为1,2,4,6,8周,共5个时段,每个时段测试的试样为5块。在三个具有代表性的位点A、B、C处进行测定(见图1):支架正中心籽源处的A点,周围四粒籽源的分布点B,周围四粒籽源两相邻籽源的中点C。试样经过真空干燥24h后在干态下测试弹性回复率。根据公式(3)计算各时段的弹性保持率。

弹性回复率(%)

$$= \frac{\text{反复一次的压缩变形量(mm)}}{\text{首次压缩变形量(mm)}} \times 100\% \quad (2)$$

弹性保持率(%)

$$= \frac{\text{降解各时段弹性回复率}}{\text{初始弹性回复率}} \times 100\% \quad (3)$$

1.6 外观形貌和结构观察

取受照剂量最大的A点处的材料,制备扫描电镜(Scanning electron microscope, SEM)样本,观察PGLA薄层支架的外观形貌和结构变化,直观比较在 ^{125}I 籽源照射和未受照情况下,PGLA薄层支架的降解过程差异。

2 结果

2.1 体外降解过程中的质量损耗

从图2我们可以看到,随着时间的延长,照射组和对照组PGLA薄层支架的降解程度均逐步增加。在降解初期的第2周,质量损耗仅减少10%左右,降解速率缓慢,两组间无显著差别。降解至第4周时,照射组的质量损耗率为41%左右,较对照组增加约12%。至第6、8周时,照射组的质量损耗率分别达到71%和86%左右,较对照组增加约14%—19%,表明 ^{125}I 籽源持续照射4周后加快了PGLA薄层支架的降解速率。

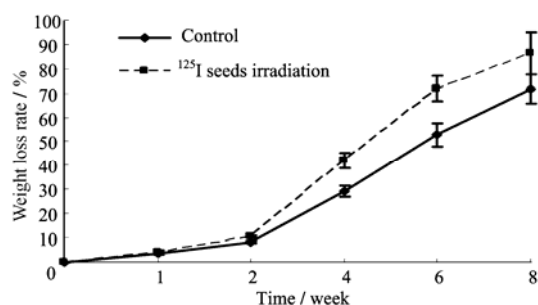


Fig.2 Change of weight loss of chitosan-coated PGLA carrier sheet with degradation under ^{125}I seeds irradiation

2.2 体外降解过程中的弹性回复率变化

由图3可见,空籽源对照组PGLA薄层支架在降解初期的第1周内弹性回复率保持很好,降解2周时弹性回复率降低超过20%,弹性保持率约为74%,之后弹性保持率以较为平均的速率逐渐减小,第6周以后无法测定其弹性。受到 ^{125}I 籽源照射的PGLA薄层支架在最初降解的第1周内弹性回复率

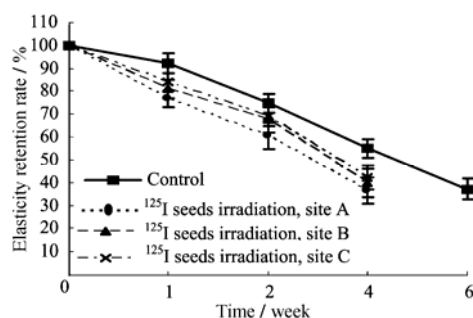


Fig.3 Change of elasticity of chitosan-coated PGLA carrier sheet with degradation under ^{125}I seeds irradiation

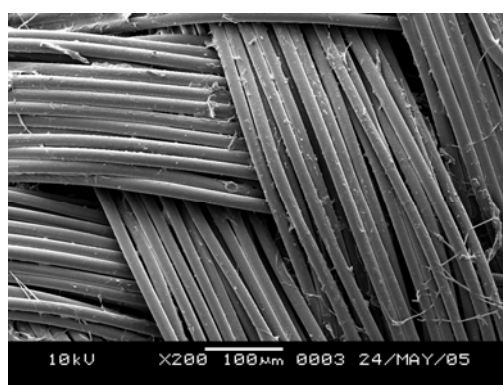
降低了 1/5 左右, 降解至第 2 周时保持原始弹性回复率的 60%—70%, 降解至第 4 周时的弹性保持率相当于空籽源对照组第 6 周时的弹性保持率, 约为

37%, 第 4 周以后无法测定其弹性回复率。同时我们还发现, A、B、C 三处测试点 (见图 1) 在同一降解时段的弹性保持率并无明显差异。

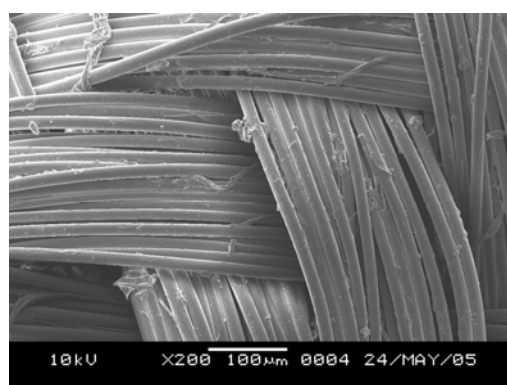
2.3 体外降解过程中 PGLA 薄层支架结构形态的扫描电镜观察

PGLA 薄层支架在降解各个时段的扫描电镜照片见图 4—7, 放大倍数分别为 50、200 和 5000 倍, 以观察 ^{125}I 籽源照射组和空籽源对照组在体外降解过程中的结构形态变化。

图 4 为第 1 周的 SEM 结果, 所有支架材料的纤维光滑、无裂纹, 表面的壳聚糖覆膜清晰可见, 几乎没有降解。



a Control

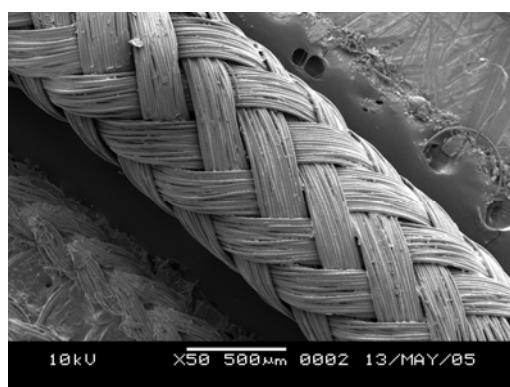


b ^{125}I seeds irradiation

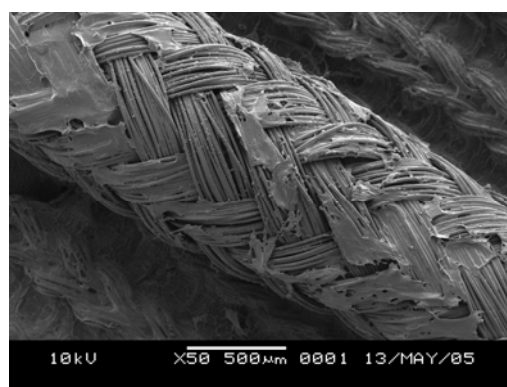
Fig.4 SEM photograph of chitosan-coated PGLA carrier sheet at 1 week with degradation (magnification $\times 200$)

第 2 周 (见图 5), ^{125}I 籽源照射组 PGLA 薄层支架表面涂层开始皸裂, 小部分涂层已脱落, 但纤维

保持较好。对照组支架的形态结构则与第 1 周无明显差异。



a Control



b ^{125}I seeds irradiation

Fig.5 SEM photograph of chitosan-coated PGLA carrier sheet at 2 week with degradation (magnification $\times 50$)

第 4 周 (见图 6), ^{125}I 籽源照射组 PGLA 薄层支架表层壳聚糖进一步脱落, 部分纤维开始出现裂纹和缝隙, 少数纤维排列不规整, 降解行为较为明

显; 同时, 对照组支架也开始表面脱落, 出现细微裂纹, 降解行为逐渐明显。

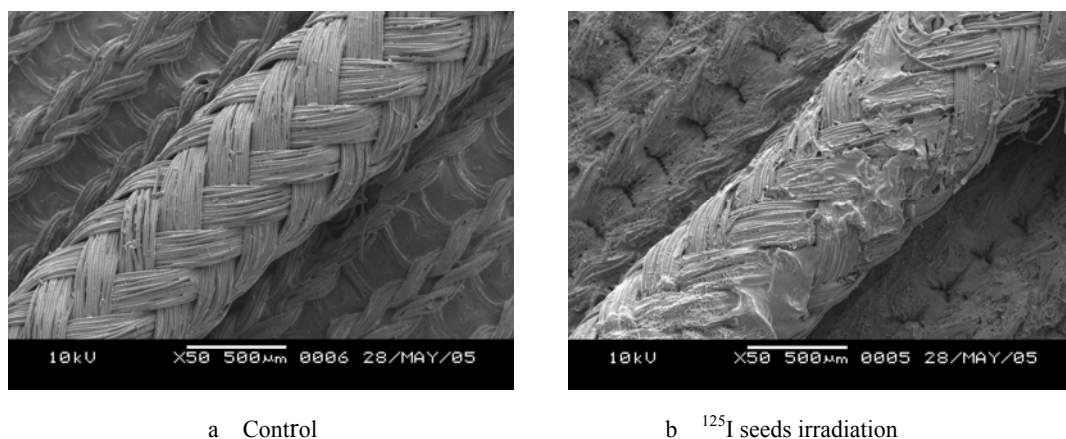


Fig.6 SEM photograph of chitosan-coated PGLA carrier sheet at 4 week with degradation (magnification $\times 50$)

第6周(见图7), ^{125}I 籽源照射组PGLA支架表面出现破洞,在放大5000倍的照片中,可清楚看到

部分纤维断裂甚至断截成两段;对照组的支架表面出现裂缝,部分纤维断裂抽丝。

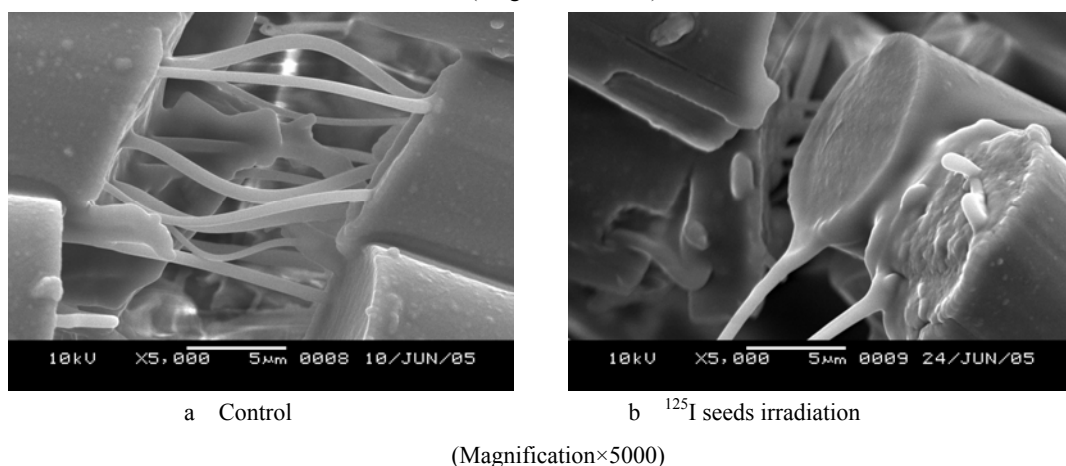
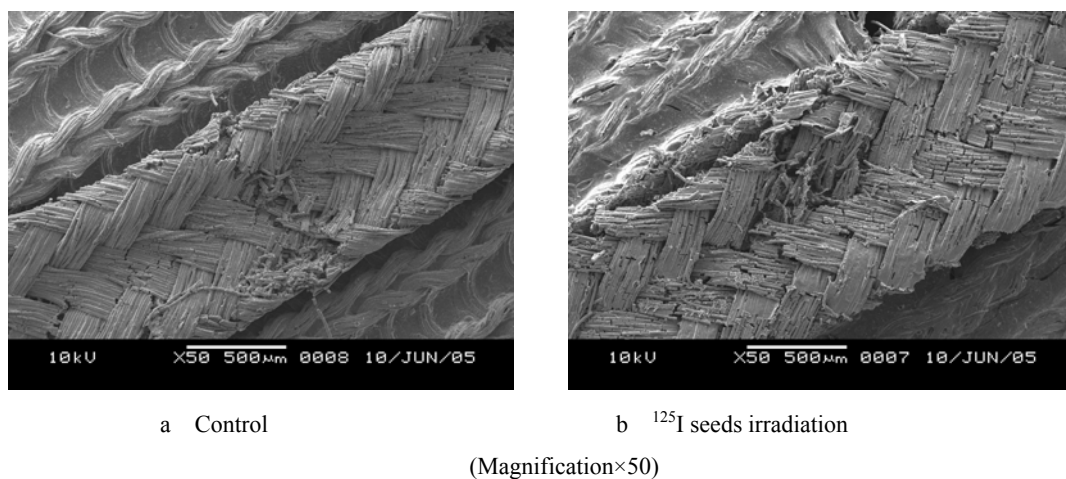


Fig.7 SEM photograph of chitosan-coated PGLA carrier at 6 week with degradation

由此可见,支架材料受到 ^{125}I 籽源照射后,在第1—2周时的形态结构与对照组相似,自第4周起,受照组支架降解速率比未受照组加快。

3 讨论

放射性籽源在肿瘤组织中的空间定位决定了放射剂量的分布,是影响疗效的至关重要的因素。对

于手术切除后小于 1cm 的肿瘤残基及临近重要组织脏器,籽源无法植入组织内,此时完全取决于载体支架的定位作用。由于载体支架伴随放射性籽源永久性植入体内,所以要求使用生物相容性好、无毒无副作用的可吸收生物材料,一方面要求其降解时间,应与临床预期应用部位组织修复所需的时间相匹配,以满足放射性籽源空间定位的需要;另一方面,能在体内逐渐降解,以减少对机体的不良反应。为此我们选择了壳聚糖涂层的 PGLA 材料制备载体支架。PGLA 纤维强度高、伸长适中、柔软性好,且无毒性、无刺激、生物相容性好、吸收周期适中(60—90d),对人体无排异反应和副作用^[5,6]。壳聚糖具有良好的抗菌、止血、镇痛功能,还可在一定范围内调控 PGLA 的降解时间。作为一种可生物降解的脂肪族聚酯,PGLA 降解主要通过酯键水解进行,当水解导致分子链断裂至游离出低聚物及小分子羧基酸时,才发生明显的质量损耗。影响其降解的因素很多,如共聚物组成、降解介质、辐射和 pH 值等等。为此,在应用于人体前需对其降解周期及

影响其降解动力学的有关因素进行研究,以评价其临床应用的有效性和可行性。

已有研究表明^[6-8],PGLA 对辐射敏感,25kGy γ 射线辐照会使 PLA-PGA 分子链断裂;20kGy γ 射线照射的 PGLA 在大鼠体内的降解速率较未照射材料明显增加,特效粘度显著下降。本实验采用 PBS 作为人工体液体外模拟人体环境,观察低剂量率 ^{125}I 籽源持续照射对壳聚糖涂层的 PGLA 薄层支架降解性能的影响。临床 ^{125}I 籽源植入治疗肿瘤常用单粒籽源的表现活度为 22MBq (0.6mCi) 左右,籽源间距为 1cm,为达到临床实际应用时的受照剂量,实验选择单粒表现活度为 29.6MBq (0.8mCi) 籽源 5 粒,按图 1 排布。采用我们自行研制的放射性籽源植入治疗计划系统软件 Fudan TPS 2.00,计算薄层支架周边和三个受照剂量具有代表性的位点 A、B、C 在不同时段的受照累积剂量(见表 1)。受照剂量最高的是 A 点,其次为 B 点,剂量较低的是 C 点。

Table 1 Accumulated dose/Gy at the sites of elasticity recovery rate measurement of the chitosan-coated PGLA carrier at different degradation time

Weeks	Periphery of carrier sheet	Site A	Site B	Site C
1	~18	621	279	23
2	~35	1193	535	43
4	~65	2207	991	80
6	~85	3070	1378	111

从弹性回复率测试对应照射累积剂量的数据可以看出,在同一降解时段,尽管剂量最高的 A 处与剂量最小的 C 处受照剂量相差约 28 倍,但弹性保持率相差约 5%—8%,无明显差异。实验结果还显示,在降解前 2 周内,壳聚糖涂层的 PGLA 薄层支架周边受照累积剂量约为 35Gy 时,质量损耗仅为 10%左右,与未受照射组相比无差别,弹性保持率在 60%以上,扫描电镜观察进一步显示,支架纤维结构依然保持较好,只是表面涂层开始皸裂、脱落,表明我们设计研制的 ^{125}I 籽源薄层支架能够确保在降解前 2 周保持较好的弹性回复率等力学性能。至降解第 4 周时,支架周边受照累积剂量约达 65Gy,照射组的质量损耗未超过 50%,而且材料受照剂量最高点处的累积剂量达 2.2kGy,其弹性保持率仍具有 36%左右,相当于空籽源对照组第 6 周时的弹性保持率,扫描电镜观察显示,表面涂层进一步脱落,

有部分纤维开始出现裂纹和缝隙,但仍保持较好的形态结构。表明随着降解时间的延长,照射累积剂量不断增加,自降解 4 周起,支架的降解速率有所加快,但仍维持了约 59%的质量和一定的弹性,未能影响 PGLA 薄层支架对 ^{125}I 籽源的固定作用。预计 ^{125}I 籽源薄层片植入体内后对于维持籽源空间分布是可行的,因为在此期间机体在 PGLA 支架周围产生纤维结缔组织增生,进一步固定了放射性籽源的位置(论文待发表),所以即使载体支架完全降解,放射性籽源也不会产生明显的位移,能够满足临床应用的要求。

参考文献

- 1 张国栋,杨纪元,冯新德,等.化学进展,2000,12(1): 89-102
ZHANG Guodong, YANG Jiyuan, FENG Xinde, et al.

- Prog Chem, 2000, **12**(1): 89-102
- 2 Vert M, Schwarch G, Loudance J. Present and future of PLA polymers. Pure Appl Chem, 1995, **A32**(4), 786-796
- 3 李孝红, 袁明龙, 熊成东, 等. 高分子通报, 1999, **3**(1): 24-32
- LI Xiaohong, YUAN Minglong, XIONG Chengdong, *et al.* Poly Bull, 1999, **3**(1): 24-32
- 4 谢立信, 史伟云, 王治宇, 等. 中华眼科杂志, 2002, **38**(7): 422-425
- XIE Lixin, SHI Weiyun, WANG Zhiyu, *et al.* Chin J Ophthalmol, 2002, **38**(7): 422-425
- 5 孙皎, 何伟. 生物医学工程学杂志, 2004, **21**(5): 717-720
- SUN Jiao, HE Wei. Biomed Eng Mag, 2004, **21**(5): 717-720
- 6 Athanasiou K A, Niederauer G G, Agrawal C M. Biomaterials, 1996, **17**(2): 93-102
- 7 Chu C C, Williams D F. J Biomed Mater Res, 1983, **17**(6): 1029-1040
- 8 郭尚春, 孙皎. 口腔材料器械杂志, 2002, **11**(4): 201-203
- GUO Shangchun, SUN Jiao. Chin J Dental Mat Dev, 2002, **11**(4): 201-203

Effect of ^{125}I seed irradiation on biodegradation properties of chitosan-coated PGLA carrier sheet *in vitro*

CHEN Honghong¹ JIANG Xun² YU Lei¹ TAN Zhiqing³ HU Yuxing¹
WANG Wenzhu² CHENG Wenying¹ SHAO Chunlin¹

¹(Institute of Radiation Medicine, Fudan University, Shanghai 200032)

²(College of Textiles, Donghua University, Shanghai 200051)

³(College of Material, Donghua University, Shanghai 200051)

ABSTRACT Biodegradation properties of chitosan-coated PGLA (poly (lactic-glycolic acid)) brachytherapy seedling carrier was investigated by continuous low-dose-rate irradiation of ^{125}I seeds *in vitro*. PBS (phosphate-buffered solution) was used to simulate internal environment *in vitro*. Five ^{125}I seeds with an apparent activity of 29.6MBq each were arranged in coated PGLA carrier. Weight loss, elasticity recovery rate and SEM (Scanning electron microscope) observation were used to evaluate its biodegradation properties. The coated PGLA carrier was slightly degraded by losing the weight of 10% and elasticity retention rate still kept at above 60% after two week's exposure. The PGLA filament structure was well maintained and only a few coating layers were detached. With a maximum dose of 2.2kGy in the coated PGLA carrier after four weeks' exposure to the ^{125}I seeds, the weight loss rate was less than 50% and elasticity retention rate was 36%. SEM observation indicated further detachment of coating layers and fissure and slit of a few filaments. The results showed that continuous low-dose-rate irradiation delivered by the ^{125}I seeds caused to some extent accelerated biodegradation of chitosan-coated PGLA after four weeks' exposure *in vitro*, but majority of mass and certain elasticity were retained and the morphology structure was well maintained. The chitosan-coated PGLA carrier could maintain the space distribution of ^{125}I seeds.

KEYWORDS ^{125}I seed carrier sheet, PGLA(Poly (lactic-glycolic acid)), Chitosan, Biodegradation, *in vitro*

CLC Q691.2, O632.52