纳米复合水凝胶在人工软骨中的研究进展

萧彤¹, 陈怡霏¹, 黄江鸿², 孙树清^{1*}

1. 清华大学深圳国际研究生院, 深圳 518055

2. 深圳市第二人民医院中心实验室, 深圳 518000

*通讯作者, E-mail: sun.shuqing@sz.tsinghua.edu.cn

收稿日期: 2021-08-06; 接受日期: 2021-10-25; 网络版发表日期: 2021-11-29

国家自然科学基金(编号: 21874082)和深圳市科技创新委员会基础研究学科布局(编号: JCYJ20200109143014453, JCYJ20170817172150505)资助项目

摘要 纳米复合水凝胶(nanocomposite hydrogels, NC hydrogels)作为人工软骨修复材料有很大的应用价值和吸引力. 由于NC水凝胶具有与天然软骨细胞外基质(extracellular matrix, ECM)相似的结构, 以及较好的力学性能、刺激响应性等优势, 是软骨修复的理想支架材料. 本综述详细介绍了用于人工软骨的NC水凝胶的最新研究进展, 并按其成分加以分类, 同时, 介绍了其新型制备方法及使用范围, 并讨论了NC水凝胶在临床应用的挑战与展望.

关键词 纳米复合水凝胶, 组织工程, 软骨修复

1 引言

关节软骨组织受损是临床常见疾病^[1], 通常可由运动磨损、意外创伤、包括骨性关节炎(osteoarthritis, OA)、类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)在内的炎症及肿瘤在内的机械性、物理性、化学性等因素导致. 软骨组织主要成分包括水、软骨细胞、II型胶原、蛋白多糖. 与人体内其他大多数组织不同, 软骨组织中仅含软骨细胞一种细胞. 软骨ECM中最主要的成分是水, 其含量高达60%~80%^[2], 且水分子在纤维网状中运动赋予了软骨组织在多种不同压力下的稳定性. 由于成人的软骨组织中没有血管或神经, 因此软骨组织受损后自我修复能力较差, 当其受损直径较大时(>4 mm)^[3]将无法自我愈合. 目前, 常见软骨组织修复手段主要包括软骨移植、软骨细胞移植等. 然而, 通过

这些治疗方法制备的软骨不含天然软骨的组织结构, 其力学性能往往不能满足正常需要. 除此以外, 还可能诱发供体部位病变和可用性受限等问题.

人工软骨支架材料为软骨缺损修复提供了更多选择及可能性^[4]. 其中, 水凝胶支架材料由于其交联网络结构含水量高、易于合成及功能化, 可以较好地模拟天然软骨ECM微环境, 有利于细胞的增殖与分化, 是修复软骨组织的理想材料之一^[5~7]. 在组织工程中, 支架材料除了需要具备较好的生物相容性以外, 同时也需满足一定的力学性能以提供有效的物理支撑. 近年来, 有关制备高强度和断裂伸长率水凝胶的研究取得了很大进展. 例如, 拓扑凝胶^[8]、互穿网络水凝胶^[9]、滑环水凝胶^[10]、四臂星形水凝胶^[11]和NC水凝胶^[12]等. 其中, NC水凝胶格外受到关注, 由于其具有易于制备、力学性能较好, 并可通过纳米粒子的协同作用来

引用格式: Xiao T, Chen Y, Huang J, Sun S. Research progress of nanocomposite hydrogels in artificial cartilage. *Sci Sin Chim*, 2022, 52: 162–180, doi: 10.1360/SSC-2021-0176

增强刺激响应性^[13]等优势,而在药物递送^[14]、生物检测、环境保护^[15]及组织工程等诸多领域被广泛研究^[16,17].

2 纳米复合水凝胶

NC水凝胶是由水凝胶与纳米材料通过化学或物理交联形成的具有网络结构的复合材料.在生物医学领域,各种纳米粒子、聚合物已被广泛研究用于制备具有可调节功能的纳米复合水凝胶^[18],如图1所示^[19].与普通水凝胶相比,NC水凝胶中纳米复合物具有较大的比表面积,可与聚合物网络相互作用形成紧密的界面,从而显著改善其力学性能.有关增韧增强性能的具体作用机理有多种理论,包括逾渗理论、聚合物与纳米复合物形成交联结构或插层结构等^[20].其中,逾渗理论是指当纳米粒子含量较少,为孤立岛状小集团时,NC水凝胶网络性质取决于聚合物基体,而当纳米

粒子含量增加到某一临界值时,岛状结构在体系中连通,NC水凝胶性能会产生突变.聚合物与纳米粒子形成交联结构是由于纳米颗粒表面具有不饱和键或功能基团,其在NC水凝胶中形成化学交联点从而增强材料强度.聚合物与纳米粒子形成插层结构可分为插层型和剥离型两种,分别指当聚合物链段进入纳米复合物片层中使其层间距扩大后,保留部分层状有序结构或完全剥离且无规则分布,二者均可通过聚合物与纳米粒子间作用力改善NC水凝胶力学性能.

2.1 纳米粒子

NC水凝胶中的聚合物链结构中含有许多活性官能团,可与纳米材料发生物理或化学交联,通过选择不同物理、化学及生物性质的纳米材料可设计调整NC水凝胶的结构与功能.常用于软骨组织修复的NC水凝胶中的纳米粒子按照物理化学性质分类可分为以下4种:碳基纳米粒子、聚合物纳米粒子、金属和金属氧

图1 用于多种类型组织工程的各种纳米粒子与聚合物链结合形成的NC水凝胶^[19] (网络版彩图)

Figure 1 NC hydrogels formed by the combination of various nanoparticles and polymer chains for various types of tissue engineering ^[19] (color online).

化物纳米粒子、无机非金属纳米粒子等。

2.1.1 碳基纳米粒子

碳基纳米材料复合水凝胶中, 碳点(carbon dots, CDs)起到网络中的物理和化学交联的作用, 主要种类包括石墨烯纳米材料、碳纳米材料和碳化聚合物纳米材料等。与其他纳米粒子相比, CDs具有可产生荧光、易于制备、易于表面功能化、生物相容性好、成本低、毒性低等诸多优势。Sui等^[21]对其制备、性能及应用进行了较为详尽的综述。

CDs的加入在改善NC水凝胶的润滑性能方面具有极大优势。例如, Li团队^[22]报道了利用超声处理的方法合成PEG接枝的CDs, 其产物在未经过任何后处理的条件下, 于四球试验600 N条件下进行测定, 表现出超低的平均摩擦系数(0.02)和磨损疤痕直径(0.55 mm)。对于CDs的润滑机制, 在基于大量实验表征和分析的基础上, 已提出的作用机理可分为四种主要类型。(1) 阻隔作用: 当CDs作为间隔物进入高分子化合物的分子链之间时, 可削弱分子链间的相互作用力, 引起滑动和旋转, 从而减少摩擦; (2) 滚动作用: CDs可在摩擦界面之间起到滚珠轴承的作用; (3) 修复作用: 当处理内部有少量磨损缺陷时, CDs可沉积在磨损表面进行修复; (4) 抛光作用: CDs的磨损作用可降低摩擦表面的粗糙度^[23]。将CDs引入水凝胶系统, 可用于实现人工软骨关节滑膜组织的超润滑, 具有极大的研究价值。

除此以外, CDs的加入可增强NC水凝胶的力学性能, 例如, Lu等^[24]报道制备了碳纳米颗粒/聚乙二醇/壳聚糖/甘油磷酸钠(CDs/PEG/CS/GP)可注射复合水凝胶, 其中, CDs、PEG和GP通过氢键相互交联, 使其具有良好的润滑性能。与PEG/CS/GP水凝胶相比, 加入CDs的水凝胶储能模量、损耗模量及复数黏度均有所提高。同时, 在0~1000 S⁻¹剪切速率的条件下进行测试, NC水凝胶表现出更高的剪切应力和更高的黏度, 即表明CDs增强了水凝胶的分子间相互作用, 使其流变和机械性能明显改善。此外, Lu等报道将CDs引入聚丙烯酰胺(PVA)网络中制备NC水凝胶, 其力学性能显著提高, 拉伸率超过3700%, 断裂强度高达166 kPa, 在500%拉伸率的条件下恢复率可达97%以上, 溶胀率最高可达235倍^[25]。上述NC凝胶的良好机械性能主要归功于其中CDs与聚合物形成交联结构, 并在网络中充当物理交联剂和润滑剂。

除此以外, 该材料具有易于制备、生物相容性较好等优势, 可用作人工滑膜组织并延长人工关节的使用寿命。碳纳米粒子不仅可以提高NC水凝胶的机械强度, 还可以通过提高其导电性来刺激细胞分化生长。对此, Gopinathan等^[26]报道使用碳纳米纤维、纳米石墨和液体剥离石墨对聚ε-己内酯(PCL)水凝胶进行掺杂改性, 并以人半月板细胞进行体外实验。结果表明该纳米复合支架的导电性有助于细胞信息传递, 可有效提高半月板细胞的附着、生长和增殖能力。

氧化石墨烯(GO)是石墨烯的衍生物, 其表面具有含氧官能团, 因而易于进行化学修饰, 将其与水凝胶结合具有很大的应用潜力。例如, Chen等^[27]报道以β-环糊精交联的无机氧化石墨烯网络(β-CD-DA)与聚乙烯醇(PVA)制备了互穿网络水凝胶, 该水凝胶具有较好的压缩模量(0.91 MPa)、断裂伸长率(857%)和生物相容性。GO同样被用于制备可以用软骨修复的NC水凝胶。最近, Cao等^[28]提出利用PEG的双锚定效应, 即PEG分子链上的羟基通过氢键与PVA/GO分子相互作用的同时与羟基磷灰石(HA)中的钙离子络合, 如图2a所示, 成功制备了HA粒子无团聚均匀覆盖的GO, 并将其引入PVA水凝胶中。实验结果表明, 覆盖于GO薄片的尖锐边缘的HA可显著改善复合材料的抗压缩性和润滑性, 同时可促进细胞增殖, 改善其细胞相容性。当浸入缓冲溶液中, 该复合水凝胶质量显著增加, 并且表面有球形颗粒沉积, 表明其具有较好的骨诱导沉积效应和矿化能力。

2.1.2 聚合物纳米粒子

聚合物纳米材料包括胶束、纳米凝胶、核壳状颗粒、脂质体、超支化聚合物等。其中, 支化聚合物纳米粒子的端基中具有大量官能团, 因此具有更高反应性, 可通过与聚合物链的共价键或非共价键作用交联, 从而提高水凝胶网络结构的规整度及机械强度, 由此其格外受到关注^[29]。

例如, 早在21世纪初, Söntjens等^[30]就曾报道利用含生物树枝状聚合物纳米粒子的水凝胶支架进行软骨组织修复, 该水凝胶是以PEG为线性骨架, 树枝状聚(甘油-琥珀酸)作为末端制备的三嵌段共聚物, 软骨组织修复实验结果表明, 适宜浓度的树枝状聚合物的加入有利于封装的软骨细胞维持圆形形态, 且利于II型胶原及蛋白多糖的产生。此后, 该团队以PEG为核心,

图 2 (a) PEG 分子的双锚定效应; (b) PVA/GO-PEG 培养 mBMSCs 示意图^[28] (网络版彩图)

Figure 2 (a) Double-anchoring effect of PEG; (b) mBMSCs cultured with PVA/GO-PEG^[28] (color online).

选取不同含氨基甲酸酯和酯键的树枝状大分子作为端基, 合成了一批用于软骨修复的水凝胶材料. 实验结果表明, 氨基甲酸酯交联的树枝状聚合物基水凝胶的压缩刚度和黏弹性与天然关节软骨相当. 且该材料可以大分子单体溶液形式注射入软骨组织缺损处, 随后进行光交联固化, 其形态可与缺损更好吻合^[31]. 该方法的亮点在于可通过选取含不同功能基的树枝状聚合物纳米粒子, 并调节其浓度来筛选进行优化, 更具有可设

计性.

随后, Wang 等^[32]开发了一种聚酰胺-胺型树枝状高分子(PAMAM)水凝胶来模拟 ECM, 如图 3 所示, 以聚乙二醇-聚乳酸与丙烯酸酯端基(PEG-LA-DA)形成线性嵌段共聚物作为连接, 同时, 以末端为精氨酸-甘氨酸-(天冬氨酸)-(D-酪氨酸)-半胱氨酸(RGDyC)或丙烯酸基的 PEG 链段对 PAMAM 改性作为球状“分子岛”. 其中, PAMAM 的引入有利于增加交联度、限制水凝胶膨胀并提高其力学性能、增加端基数目以引入更多纳米级官能团. 该支架可促进间充质干细胞(MSC)增殖和分化, 无细胞毒性, 可进一步应用于软骨组织工程.

除此以外, 聚合物纳米颗粒同样可用于软骨组织工程 NC 水凝胶的制备. 例如, Asadi 等^[33]报道以明胶为基体, 引入负载有生长因子 $\beta 1$ 的 PCL-PEG 共聚物纳米颗粒, 制备了共聚物纳米颗粒 NC 水凝胶. 体外实验结果表明该支架具有良好的生物相容性和细胞黏附性, 且 RT-PCR 结果表明检测到 II 型胶原、聚集聚糖等软骨特异性 ECM 基因的表达, 即该支架能够有效促进 ECM 生成, 后续将进一步进行体内实验的研究.

2.1.3 金属及其氧化物纳米粒子

由于金属及其氧化物纳米粒子具有独特的物理性质, 例如, 金纳米粒子的导电性、银纳米粒子的抗菌性、氧化铁纳米粒子的磁性等, 利用其制备的纳米复合水凝胶材料已在导电支架、可切换电子设备、传感器及驱动装置^[34]等领域被广泛研究. 除此以外, 其在生物医学领域, 同样被用作显像剂、药物递送系统等.

金属及其氧化物 NC 水凝胶通常具有抗菌、抗病

图 3 聚酰胺-胺型树枝状高分子水凝胶示意图^[32] (网络版彩图)

Figure 3 Schematic diagram of polyamide-amine dendritic hydrogel (color online)^[32].

毒、抗炎症等优异性能^[35], 其复合水凝胶材料在组织工程中常用于治疗创伤、制备促进创口愈合的敷料。其在软骨组织工程中同样具有重要研究价值。例如, Kumar^[36]报道将TiO₂纳米颗粒掺杂于壳聚糖水凝胶中, 与未掺杂的支架相比, 复合凝胶的密度(1.287 g/cm³)、承载能力(13475 N/m²)和断裂时间均有所提高。除此以外, TiO₂纳米颗粒的加入可减缓支架材料的降解, 并有利于种子细胞的生长。

同时, 材料的生物相容性是植入支架的首要考虑因素。对此, Grant等^[37]用金纳米粒子对胶原进行复合, 以市售的羟基磷灰石复合的胶原作为对照, 将样品植入猪耳皮下进行6个月的体内实验, 结果表明金属粒子的引入不会引发组织反应, 具有良好的生物相容性, 且该材料寿命比对照组有所延长。此外, 还需注意的是虽然已有很多研究表明金、银等贵金属纳米粒子可有效增强复合水凝胶的理化性能, 然而, 从细胞实验、体内实验到进一步临床应用仍要进行大量实验研究^[38]。

磁性纳米粒子(MNP), 例如Fe₃O₄, 可促进MSC的增殖和分化, 其NC水凝胶已被广泛研究以制备用于软骨修复的多孔支架材料。例如, Chen等^[39]将超顺磁性氧化铁颗粒掺杂于纤维素纳米晶体(CNC)/丝素蛋白(SF)以制备磁性NC水凝胶, 该材料在体内的降解和软骨再生可通过多参数磁共振成像进行表征, 具有无创检测的优势。Huang等^[40]设计利用磁效应对MSC产生机械刺激, 以促进软骨分化的实验。该实验以明胶、β-环糊精和Fe₃O₄制备磁性NC水凝胶作为磁响应性材料, 如图4(a)所示。细胞活性实验结果如图4(b)所示, 表明该磁性水凝胶具有生物相容性。该材料与MSC在脉冲电磁场(PEMF)作用下软骨修复作用良好, 以兔子为实验对象进行评估, 12周后再生组织可完全填充缺损, 见图4(c), 且其组织学染色与天然软骨相似。

2.1.4 无机纳米粒子

将硬度较大的无机纳米粒子引入柔性的有机聚合物基体中, 可形成无机-有机网络, 二者的协同作用有利于改善NC水凝胶的物理、化学和生物学性能, 从而可制备功能性或刺激响应型纳米复合支架材料^[41]。常用于生物医学的无机纳米材料包括羟基磷灰石(HA)、二氧化硅、磷酸钙、硅酸盐、β-硅灰石等纳米颗粒。

其中, SiO₂纳米粒子由于其固有的模量高、表面

图 4 (a) (A, C) 明胶/β-环糊精/Fe₃O₄磁性水凝胶; (B, D) 明胶/β-环糊精普通水凝胶; (b) 细胞活性染色实验; (c) 8、12周软骨修复效果, (A, E) 磁性水凝胶+MSC于PEMF作用下, (B, F) 磁性水凝胶+MSC, (C, G) 磁性水凝胶, (D, H) 空白对照^[40]; 术后8 (I)、12 (J)周软骨修复肉眼评分(基于国际软骨修复学会标准) (网络版彩图)

Figure 4 (a) (A, C) Gelatin/β-cyclodextrin/Fe₃O₄ magnetic hydrogel; (B, D) gelatin/β-cyclodextrin hydrogel; (b) cell activity staining experiment; (c) 8, 12-week cartilage repair effect: (A, E) magnetic hydrogel+MSC in PEMF, (B, F) magnetic hydrogel +MSC, (C, G) magnetic hydrogel, (D, H) blank control ^[40]; the macroscopic scores of the repaired cartilage at 8 (I) and 12 (J) weeks based on the International Cartilage Repair Society (color online).

积大、功能性多等优势而备受关注. 例如, Xia等^[42]报道以SiO₂接枝聚(丙烯酸丁酯) (PBA)的杂化胶乳颗粒为核心, 聚(丙烯酰胺-甲基丙烯酸月桂酯) (P(AAm-co-LMA))为基体的复合水凝胶材料. 由于硬质SiO₂核心刚性较强, 可承受较大外力, 且PBA软壳上的疏水链段可通过物理聚集和缠结与杂化胶乳颗粒相互作用, 从而耗散大量能量, 从而显著增强其机械性能(断裂应力1.48 Mpa; 断裂应变2511%). 该核壳结构水凝胶为提高支架材料力学性能提供了有效途径, 在软骨组织修复应用中具有很大潜力.

除此以外, 一些无机黏土也被用于制备纳米复合水凝胶. 其中, 最常见的纳米粒子多具有片层状结构, 如锂藻土、蒙脱土、膨润土、水滑石及云母等. 其层状结构具有较大的比表面积, 有利于聚合物分子进入纳米粒子片层中, 形成具有插层结构的复合体系, 从而增强其力学性能. 例如, Bonifacio等^[43]报道使用介孔二氧化硅(MS)和钠钙膨润土(BE)对结冷胶基水凝胶进行改性, 其机械性能明显改善, 即静态压缩实验结果表明其压缩杨氏模量(BE改性112±9 kPa; MS改性140±25 kPa)显著高于未经改性的天然水凝胶材料(86±5 kPa). 除此以外, 小鼠体内实验表明, MS的引入不会产生严重的免疫反应, 并且能有效增强支架材料的抗菌性.

2.2 水凝胶聚合物基体

水凝胶聚合物基体作为人工软骨的主体框架, 起到了提供物理支撑、模拟ECM微环境以确保新陈代谢物质的扩散、细胞的黏附、渗透及生长的作用. 其结构往往具有一定的复杂性, 即不仅体现在宏观结构的梯度分层, 还需具有定向的微观结构. 因此, 水凝胶聚合物基体的选择至关重要. 根据水凝胶中聚合物骨架材料的来源, 可将其分为天然聚合物水凝胶与合成聚合物水凝胶两大类. Del Bakhshayesh等^[44]对可用于软骨、骨骼、骨骼肌、肌腱和韧带等组织修复的生物相容性材料进行了较为详尽的综述. 通常需要根据目标修复组织的物理、化学和生物性质, 对其进行选取, 同时还需考虑是否需要多种材料进行复合, 或是否需要添加剂等多重因素.

2.2.1 天然高分子

用于制备水凝胶的常见天然聚合物包括透明质

酸、胶原、明胶、海藻酸盐、壳聚糖等, 可从多种天然来源获得, 如壳聚糖可从贝类外骨骼中获取, 胶原可从哺乳动物中获取等. 由于天然高分子具有较好的生物相容性及可降解性, 因此成为制备生物医用水凝胶的首选材料^[45].

(1) 透明质酸

透明质酸(hyaluronic acid, HA), 俗称玻尿酸, 是一种阴离子非硫酸化的GAG, 是软骨ECM中的主要结构成分, 可为软骨提供抗压强度并保持胶原蛋白的有序结构. 除此以外, 有研究表明HA可与软骨细胞表面受体相互作用, 进而影响细胞功能^[46]. 考虑到HA具有较好的生物相容性和细胞分化潜力, Zhang等^[47]选取HA、II型胶原蛋白为基体, 并引入PEG以增强其力学性能, 结果表明, 该NC水凝胶可成功交联并具有较好的BMSCs细胞相容性. 此外, 当加入磁性纳米颗粒进行改性后, 该NC水凝胶可表现出磁响应性. 该磁性NC水凝胶支架可以通过外部磁铁远程引导至软骨缺损部位, 对于软骨的靶向修复具有很大研究价值.

除此以外, NC水凝胶中HA的浓度对其性质同样有重要影响. 例如, Nikbakht等^[48]报道用聚(3-羟基丁酸酯) (PHB)、CS、多壁碳纳米管(MWNTs)和不同浓度HA通过静电纺丝制备纳米复合支架. 结果表明, 当HA的质量分数从0增加到15%时, 纳米纤维的直径和亲水性显著增加, 而其孔隙率和拉伸强度略有降低. 实验结果表明, 当HA浓度为15%时, 支架具有较好的生物活性、生物降解性及软骨细胞黏附性.

然而, 以HA为基体制备水凝胶同样有其局限性, 如由于HA分子具有较高的负电荷密度、细胞黏附不强、加工性能较差等. 对此, 通常解决途径为利用乙酰化等化学修饰来降低其负电荷和亲水性. 例如, Khataami等^[49]报道将HA乙酰化并与PCL共混, 通过静电纺丝成型制备了用于软骨修复的支架材料. 以该NC水凝胶为支架进行体外细胞培养, 结果表明软骨分化标志物Sox9和Col II的表达显著增加, 即表明乙酰化HA具有良好的生物相容性及软骨诱导特性.

(2) 明胶

明胶由胶原蛋白不可逆水解形成, 通过不同的物理和化学变性方法水解而成的多肽, 其分子量具有多分散性. 常见的明胶改性是通过甲基丙烯酸甲酯修饰形成甲基丙烯酰胺基明胶(gelatin methacrylate, GelMA). 例如, Gan等^[50]报道以GelMA为骨架, 并引入聚

多巴胺(PDA)来制备可用于软骨修复的双层水凝胶支架材料。其中, GelMA-PDA水凝胶可用于修复上层软骨缺损, 而在下层中PDA可诱导羟基磷灰石原位矿化以模拟软骨下骨的结构, 如图5a所示。由于水凝胶中共价键和非共价键的协同作用, 以及矿化羟基磷灰石的纳米增强作用, 该水凝胶表现出优异的机械性能。同时, 体内实验结果表明该双层纳米复合水凝胶比纯

GelMA的修复效果更好, 更利于再生软骨组织的良好生长及软骨细胞的均匀排列, 如图5c所示。

(3) 海藻酸盐

海藻酸钠(sodium alginate, SA)是从褐藻中提取的碘和甘露醇后的产物, 是由 β -D-甘露糖醛酸(M)和 α -L-古洛糖醛酸(G)形成的天然共聚物。当水凝胶体系中存在某些二价阳离子(如 Ca^{2+} 、 Sr^{2+} 等)时, 可与G链段上的 Na^+ 发生离子交换从而形成交联网络, 这种较为温和的交联条件有利于维持黏附细胞和负载的生物活性^[51]。对此, Farokhi等^[52]从海藻酸盐的物理交联、化学交联、酶交联、与细胞间的作用及形状记忆等方面对海藻酸盐基的软骨组织工程支架的相关研究进展做了较为详尽的综述。

(4) 壳聚糖

壳聚糖(CS)又称脱乙酰几丁质, 是一种由氨基葡萄糖和N-乙酰氨基葡萄糖无规共聚构成的线性多糖。由于其具有聚阳离子的性质, 壳聚糖表现出一定的组织黏附性。同时, 由于其结构与软骨组织中多种糖胺聚糖(GAG)类似, 因此常常用于软骨组织修复材料。但由于其机械性能不足, CS水凝胶支架的应用受到限制。对此, Mirahmadi等^[53]报道利用蚕丝素蛋白(SF)对其进行增强, 其制备的壳聚糖/甘油磷酸(CS/GP)与丝素蛋白纤维的复合水凝胶具有较好的力学性能, 同时支持软骨细胞的生长。Shemshad等^[54]报道分别从虾壳和牛骨中提取壳聚糖和羟基磷灰石, 采用溶胶-凝胶法制备透辉石纳米颗粒, 利用羟基磷灰石和透辉石来增强壳聚糖水凝胶制备了支架材料。以人成骨细胞进行研究, 结果表明细胞附着在支架内的孔壁上, 没有毒性迹象。Chen等^[55]通过辣根过氧化物酶和过氧化氢进行化学交联, 以及乙醇的物理交联作用, 制备了丝素蛋白和羧甲基壳聚糖NC水凝胶(SF/CMCS), 以免软骨细胞进行体外实验, 该支架可促进软骨细胞表型, 此外还具有可控的力学性能及生物降解性, 具有很大的应用潜力。

(5) 结冷胶

结冷胶(gellan gum, GG)是一种由嗜鞘单胞菌产生的水溶性阴离子多糖, 其具有良好的生物相容性, 最初被用来替代琼脂作为微生物培养基。目前, 已有许多文献报道GG在软骨组织工程中的应用。例如, Xing等^[56]报道通过促进钙离子扩散到二次交联的双层水凝胶, 制备了一种界面结合力强(40 kPa)的双层水凝胶材料, 其中结冷胶和海藻酸钠作为软骨层, 结冷胶和羟基磷

图 5 (a) GelMA与PDA混合制备用于软骨缺损修复的NC水凝胶; (b) 兔膝关节软骨缺损处植入水凝胶的示意图; (c) 在6周和12周时对提取标本的形态学检查; (d) 修复缺损评估^[50] (网络版彩图)

Figure 5 (a) Preparation of NC hydrogel with the mixture of GelMA and PDA for cartilage defect repair. (b) Schematic diagram of hydrogel implantation at osteochondral defect of rabbit knee joint. (c) Morphological examination of extracted specimens after 6 and 12 weeks; (d) defect repair evaluation^[50] (color online).

灰石充当软骨下层. 该支架细胞相容性较好, 可以接种与不同功能蛋白表达相关的MSCs分别用于软骨和骨形成. 此外, 该水凝胶含有大量钙离子并可进行缓释, 在兔软骨缺损模型中可有效促进新生血管再生和软骨组织缺损修复.

此外, Kouhi等^[57]报道了以GG/木质纤维素纳米纤维(LGNF)为基体, 并引入褪黑素(MEL)负载的镁石(FS)纳米颗粒(FS-MEL), 制备了可注射的NC水凝胶. 实验结果表明, LGNF和FS的加入可显著提高水凝胶的力学性能, 且水凝胶的降解和溶胀行为受LGNF和FS浓度的影响. 细胞培养研究结果显示, LGNF、FS、MEL具有协同作用, 可改善NC水凝胶对软骨细胞增殖分化和基因表达的诱导能力.

(6) 多种混合天然水凝胶

Kaviani等^[58]报道通过化学水解法从波斯湾虾废料中提取壳聚糖, 从鼠尾肌腱中提取胶原蛋白, 并采用冷冻凝胶法制备了以明胶为基体, 掺杂HA的NC水凝胶, 该支架含水量高达92%以上, 具有多尺度的孔洞结构, 且具有一定的力学强度(杨氏模量80~800 kPa), 有望进一步应用于软骨组织修复. 其最大优势在于制备流程简单、成本低廉.

Hu等^[59]报道CS、HA及硅烷化-羟丙基甲基纤维素(Si-HPMC), 在无添加交联剂的条件下制备了可注射NC水凝胶. 力学研究表明, 随着Si-HPMC含量的增加, 水凝胶的溶胀率和流变性能提高, 抗压强度下降, 降解速度加快. 结果表明, 当Si-HPMC和CS/HA浓度分别为3.0% (w/v)和2.5/4.0% (w/v)时, 该支架具有的物理性能和生物活性较好. CS/HA和CS/HA/Si-HPMC水凝胶包覆软骨细胞的体外研究表明, 适量的Si-HPMC可促进软骨细胞外基质的增殖和沉积, 21天的再生率达到约79.5%, 表明体内骨再生能力良好.

此外, Liu等^[60]报道以黄原胶(XG)和甲基纤维素(MC)共混水溶液为前驱体, 结合XG剪切变稀及MC温度响应凝胶化的性质, 制备了具有高黏度的双网络可注射水凝胶. 体外和体内实验均表明, 该混合天然水凝胶具有良好的生物相容性和生物降解性, 有望进一步与纳米粒子、种子细胞及生物活性因子结合, 应用于软骨组织的无创修复.

(7) 天然水凝胶面临的挑战

天然水凝胶面临的最大挑战是其力学性能不强, 在人工软骨支架的制备过程中机械性能不足导致其应

用范围受限. 除此以外, 天然水凝胶还需考虑抗感染的因素, 即使手术引发的软骨组织感染并不常见, 但它们同样可能导致严重的并发症, 如化脓性关节炎等. 基于这一考虑, Bonifacio等^[61]提出利用源于新西兰的麦卢卡蜂蜜(MH)来提高支架材料的抗菌性. 除此以外, 基于蛋白质的生物聚合物用于制备天然水凝胶仍然面临着许多挑战. 例如, 将其从天然组织中分离出时通常需要强溶剂、还原剂和稳定剂, 以及热、压力和酶的作用, 该过程中需考虑对其天然构象的保护^[62].

2.2.2 合成高分子

合成高分子与天然高分子相比, 其力学性能较好且易于加工, 然而生物相容性通常较差. 常见的用于组织工程中的合成高分子水凝胶材料包括聚乙二醇(PEG)、聚羟基乙酸(PGA)、聚乙烯醇(PVA)、聚丙烯酰胺(PAM)、聚 ϵ -己内酯(PCL)及其他多元共聚物等. 除此以外, 还有无机高分子, 如 β -磷酸三钙等.

(1) 聚乳酸-羟基乙酸共聚物

聚乳酸-羟基乙酸共聚物(PLGA)是由PLA与聚羟基乙酸(PGA)构成的无规或嵌段共聚物, 具有良好的生物相容性, 然而较低的细胞黏附性限制了其在人工支架中的应用. 纳米粒子的加入为此提供了可行的解决途径. 例如, Xue等^[63]报道采用热诱导相分离技术制备了PLGA/HA支架, 体外实验结果表明HA的加入可显著改善支架复合材料中的细胞附着和增殖. 同时体内实验结果表明, PLGA/HA支架的骨软骨修复效果优于PLGA支架. Huang等^[64]报道通过3D打印低温沉积制造(LDM)技术制备了双层磁性纳米复合支架, 其中PLGA/Col I为软骨层, PLGA/nHA/Fe₂O₃为下层骨相. 体外实验结果表明骨髓间充质干细胞可黏附于该支架上, 并具有良好的增殖和分化性能. 除羟基磷灰石以外, 磷酸钙(TCP)、双相磷酸钙陶瓷(BCP)、生物玻璃(BG)、碳纳米管(CNTs)等无机纳米材料同样可被用于与PLGA制备复合支架, Zhao等^[65]对其进行了较为详尽的综述.

(2) 聚乙二醇

PEG水凝胶被广泛应用于生物医学和组织工程, 如包埋或负载细胞、RGD序列固定化, 在软骨组织工程中具有很大的应用价值. Nojoomi等^[66]通过亚胺开环反应制备了含PEG嵌段的共聚物, 并引入锂藻土纳米粒子, 制备了连通孔径为100~250 μm 的水凝胶. 与

常规PEG水凝胶相比, 其黏弹性模量提高约50%, 接近动物模型中关节软骨性能(380~650 kPa). 此外, hMSCs细胞活力测试表明该水凝胶具有生物相容性, 可进一步用于体内实验研究. Chen等^[67]报道通过甲基丙烯酸修饰的PEG、明胶和肝素制备三元混合水凝胶, 可有效促进骨髓间充质干细胞的软骨形成和生长.

(3) 聚乙烯醇

PVA水凝胶是一种水溶性合成聚合物, 由于其分子链上羟基密度较高, 其具有良好的水溶性、黏结性等. 同时, PVA的力学性能、生物相容性较好, 因此在软骨组织工程领域被广泛地研究. 然而, PVA水凝胶仍然面临着孔隙率较低、细胞黏附性不足、降解性差等挑战.

对此, 多种纳米颗粒被引入PVA基水凝胶以改善上述问题. 例如, Cui等^[68]采用一步法制备了具有多孔结构的PVA-硼酸(BA)/PEG双层水凝胶, 其中BA和PVA的络合显著增强了PVA-BA/PEG水凝胶网络的稳定性. 当BA浓度为1.4 wt%时, 该支架的拉伸强度、延伸率、压缩切线模量、应变分别可达4.41 MPa、573%、4.6 MP及60%. 即使在高负荷条件下, 该材料在水或牛血清中仍具有较低的摩擦系数, 在关节软骨修复中具有很大的应用潜力.

Meng等^[69]通过冻融法引入PEG制备了PVA/GO复合水凝胶, 其中GO表面可与PVA分子形成氢键作用, 并均匀分布在其中. 通过控制GO的浓度, 可形成以GO为中心的二次网络结构并提高PVA的结晶度, 从而提高水凝胶的有效交联密度及储能模量. 因此, 该NC水凝胶具有较高的机械强度和韧性, 其抗拉强度、断裂伸长率和压缩模量分别比纯PVA水凝胶提高了200%、40%和100%, 且摩擦系数降低了50%以上. 该NC水凝胶可用于制备具有较好力学性能及润滑性能的软骨替代材料.

(4) 聚丙烯酰胺

PAM具有水溶性、无毒性、黏弹性稳定和生物相容性较好等优势, 常被用作生物医用水凝胶. Awasthi等^[70]报道通过在PAM基质中分别使用碳纳米管(CNT)和氧化钛(TiO_2), 以及二者同时使用来制备(PAM- TiO_2 -CNT)复合水凝胶材料. 多种复合材料的加入有效改善了水凝胶的性能, (PAM- TiO_2 -CNT)复合水凝胶材料具有较高的压缩强度(>0.43 MPa)、弹性模量(>2.340 MPa)和较好的抗穿刺性、生物活性、细胞

相容性及自愈性, 在软骨修复应用中具有极大的潜力.

Wang等^[71]报道将 α -D-乳糖为碳源制备的CDs引入PAM网络中, 制备了具有约300 nm均匀分布孔径的CDs/PAM复合水凝胶. 实验结果表明, 当各组分分配比最优时, 材料具有较好的机械性能, 其断裂强度为161.4 kPa, 断裂拉伸强度为842.1%. 除此以外, 该材料具有荧光性, 可用于光学可视化软骨修复材料的研究.

(5) 聚 ϵ -己内酯

PCL是一种疏水性半结晶的聚酯化合物, 在生理条件下可通过酯键的水解而降解, 因此被广泛应用于可植入生物材料, 由于其降解速度比PLA更慢, 其作为长期植入人工替代材料很有研究意义. PCL在软骨修复的主要限制因素在于其细胞黏附性较差, 加入纳米粒子为此提供了有效的解决途径. 其中, 有关碳纳米粒子的研究引起了格外广泛的兴趣. 例如, Zadehna-jar等^[72]采用静电纺丝法制备了PCL-明胶/多壁碳纳米管(MWNTs) NC水凝胶. 支架的形态表明, MWNTs可增强静电纺丝溶液的电导率并使其沿纳米纤维方向有序排列, 从而使纤维直径减小. MWNTs的羧基可使支架的亲水性加强, 此外, MWNTs的高内在强度可有效提高支架的抗拉强度. 同时, MWNTs有利于降低支架降解速率, 增强其稳定性, 可为软骨组织的长期愈合提供有效支持.

(6) 聚(丙交酯-共-己内酯)

聚L-丙交酯-己内酯(PLCL)具有可生物降解性, 在药物缓释载体、细胞、组织培养支架及可降解手术缝合线等领域都有所应用. 其NC水凝胶同样被研究应用于骨和软骨修复. 例如, Felfel等^[73]以弹性重组(SELR)体修饰过的PLCL共聚物为基体, 加入2 wt%羟基磷灰石纳米粒子, 制备了NC水凝胶支架. 由于与SELR的力学性能与PLCL之间存在显著差异, 因此含有SELR或SELR-HA纳米复合材料的力学性能和降解性能无显著变化. 该材料的优势在于降解机制为逐渐的表面侵蚀, 而非突发的力学性能明显下降, 且该支架对hMSCs未表现出细胞毒性, 因此在软骨修复长期植入材料中具有应用价值.

3 NC水凝胶支架成型方法

由于纳米粒子与水凝胶的相互作用对复合水凝胶的性质有重要影响, 因此纳米粒子在水凝胶中的分散

程度及其与高分子链段的交联是制备纳米复合水凝胶的重点^[19].

Thoniyot等^[74]按照制备流程将纳米复合水凝胶制备方法分为以下五大类,如图6所示.方法1中将单体、交联剂与纳米粒子混合于悬浊液,凝胶化形成纳米复合水凝胶;方法2即凝胶化后将纳米颗粒物理嵌入水凝胶基质中;方法3使用纳米颗粒前体,在预凝胶内反应生成纳米颗粒;方法4使用交联性纳米粒子形成水凝胶;方法5通过在纳米粒子和聚合物中加入不同的凝胶剂分子制备水凝胶.纳米复合水凝胶材料的不同应用决定了所选取的制备方法.

目前,研究最为广泛深入的NC水凝胶软骨支架成型方法包括可注射水凝胶成型、3D打印梯度软骨支架,以及静电纺丝成型等.前两者通常以预凝胶的形式成型,后进一步交联固化,即可归类为方法1、3、4和5.而后者则是通过静电纺丝制备聚合物纤维支架,后进一步引入纳米粒子,通常属于方法2.

3.1 水凝胶注射成型

可注射水凝胶可对软骨缺损进行微创式的原位修复,即将包覆种子细胞与生长因子的水凝胶支架材料直接注射到缺损部位.与预成型支架材料相比,可注射水凝胶在骨软骨组织工程中更具优越性,因其更易进行临床应用,患者的依从性更高.其侵入性小且靶向能力强,可直接递送大型不规则或几何复杂的缺损部位进行修复.由于对患者十分友好,已被广泛研究用于软骨组织修复^[75].已有许多报道对可注射水凝胶在骨软骨组织工程中的应用进行了综述评价^[76,77](图7).

近年来,已有大量研究将NC水凝胶通过可注射水凝胶成型来制备支架材料.例如, Lee等^[78]以聚乙二醇-聚L-丙氨酸-聚L-天冬氨酸(PEG-PA-PD)三嵌段共聚物为基体,引入软骨细胞诱导剂kartogenin和精酰甘油天冬氨酸包裹的层状双氢氧化物(LDHs)纳米复合材料,制备了可注射水凝胶支架,以扁桃体来源的间充质干细胞(TMSCs)进行体外实验.与纯水凝胶体系相比,纳米复合体系的加入有利于改善细胞聚集,并显著增强软骨生物标志物的表达.此外,可以用其他多种生物活性分子通过离子相互作用对LDHs表面进行修饰,以设计并制备多种可用于软骨修复的可注射NC水凝胶.

然而,要实现可注射水凝胶的临床应用,必须面临

提高其力学性能这一挑战.对此, Kuang等^[79]报道通过在甲基丙烯酸二甲氨基乙酯(DMAEMA)和甲基丙烯酸-2-羟乙酯(HEMA)基体中引入原位生长的磷酸钙纳米粒子及聚-L-谷氨酸(PGA),制备了可注射NC水凝胶.其中,PGA的羧基可以与DMAEMA片段的叔胺相

图6 纳米复合水凝胶制备的主要方法^[74] (网络版彩图)
Figure 6 Main preparation methods of nanocomposite hydrogels ^[74] (color online).

图7 软骨组织工程可注射水凝胶的不同制备方法^[76] (网络版彩图)

Figure 7 Different preparation methods of cartilage tissue-engineered injectable hydrogels ^[76] (color online).

互作用, 从而提高水凝胶的机械强度. 与原位制备的共混水凝胶相比, 该NC水凝胶具有适宜的注射时间, 抗拉强度、断裂能分别提高到321.1 kPa、29.0 kJ/m², 并可显著促进细胞黏附及分化. 体内实验表明, 与不含纳米粒子纯基体水凝胶相比, 该NC水凝胶具有更好的成骨作用, 同时其链段上的甲基丙烯酸酯基团易于被适配体功能化, 在体内外实验中均可促进骨髓基质细胞的识别和捕获, 利于骨再生.

3.2 3D打印成型及梯度软骨支架

3D打印成型可用于制造各种可定制的复杂结构, 已被广泛应用于各行各业. 其中, 将生物3D打印技术应用于组织工程领域, 可赋予目标种子细胞、生长因子等生物材料三维结构培养环境, 有利于其生长、渗透及扩散, 以获得具有生物活性的组织或器官, 常见的3D打印生物模型如图8所示^[80]. 其中, 目前, 用于软骨组织工程的常见的3D打印技术包括光固化成型(stereo lithography appearance, SLA)、选择性激光烧结(selective laser sintering, SLS)、熔融层积成型(fused deposition modelling, FDM)、喷墨印刷(ink jet print-

ing)、微挤出成型(micro molding)等^[81-83]. 已有大量研究报道通过3D打印技术制备可用于软骨修复的水凝胶支架材料. 例如, Park等^[84]以甲基丙烯酸缩水甘油基酯(GMA)改性的丝素(Sil-MA)水凝胶为生物墨水进行实验, 结果表明Sil-MA水凝胶具有良好的生物相容性, 且可通过3D打印制备多种复杂结构. Zhou等^[85]采用光交联3D打印技术制备了GelMA和透明质酸丙烯酸甲酯(HAMA)复合水凝胶支架, 可实现对其宏观形状和内部孔结构的精确调控, 并再生出具有软骨特异性ECM的成熟软骨.

NC水凝胶同样被广泛用于3D打印成型制备软骨修复支架, 其中纳米粒子的引入不仅可以改善支架材料的力学性能, 还可通过控制生长因子的缓释来促进软骨修复. 例如, Castro等^[86]报道以PEG为基体, 分别引入经水热处理的nHA和具有核壳结构并包裹TGF- β 1的PLGA纳米球, 制备了两种可经3D打印制备的NC水凝胶. 其中, HA纳米粒子的尺寸为80~100 nm, PLGA纳米球的直径为75 $\pm$ 17 nm, 实验结果表明与对照组纯水凝胶相比, 含有HA的NC水凝胶更利于hMSCs的增殖, 同时其压缩模量增加29%, 即机械强度有所改善; 而含有PLGA纳米球的NC水凝胶则可实现TGF- β 1的缓释, 有助于软骨组织的长期恢复生长.

此外, 天然软骨组织具有梯度结构, 人工支架替代材料要具备相似的力学性能, 对其内部分层结构的研究、模拟必不可少. 已有大量针对关节软骨度梯度的研究, 通过制备具有梯度硬度的双层或多层水凝胶, 更好地修复软骨及软骨下骨缺损, 3D打印技术为此提供了有效的途径. 例如, Meng等^[87]以PVA为基体, 引入GO及HA纳米颗粒, 采用挤压式3D打印技术制备了具有梯度硬度的软骨修复支架, 其流程如图9A所示. 所设计的支架材料具有独特的结构, 即表面光滑平整, 无打印线间距, 有利于材料承重. 且支架从上到下线间距逐层增大, 利于材料与骨基底形成牢固的连接, 同时各层之间紧密连接无界面, 以防止样品植入后松动脱落. 材料孔隙也因成型时的温度梯度作用而具有梯度差异, 即从基底到表面成型的温度逐层升高, 晶核生长变慢, 水凝胶孔隙梯度减少, 如图9B所示. 此外, 该研究认为GO-HA的加入可降低分子间氢键作用及分子缠结密度, 并提高了水凝胶的动态黏度. 该溶液在打印剪切速率范围内表现出明显的剪切变稀行为, 可有效避免挤出膨胀, 从而提高样品的打印适用范围和打印

图 8 由复合水凝胶与种子细胞制成的3D打印结构材料. (a) 3D打印小网格(7.2 mm×7.2 mm); (b) 受外力挤压; (c) 挤压后变形; (d) 3D打印人耳; (e, f) 3D打印羊半月板^[80] (网络版彩图)

Figure 8 Structures of 3D printed materials made from composite hydrogel and seed cells. (a) 3D printed small mesh (7.2 mm×7.2 mm). (b) Extricated by external force; (c) deformed after extrusion; (d) 3D printed human ear; (e, f) 3D printed sheep meniscus ^[80] (color online).

图 9 (A) NC水凝胶人工软骨的梯度多孔结构设计示意图; (B) NC水凝胶3D打印网状结构的数码照片和扫描电子显微镜图像^[87] (网络版彩图)

Figure 9 (A) Schematic diagram of gradient porous structure design of NC hydrogel artificial cartilage; (B) digital photos and scanning electron microscopy images of NC hydrogel with 3D printed mesh structure^[87] (color online).

精度。

3D打印成型中,除了支架的结构设计以外,成型

过程中的条件参数对材料同样具有很大影响。例如, Gao等^[88]以GelMA为基体,在软骨下层支架中加入HA,通过挤出成型低温沉积3D打印,及紫外光固化制备了双层支架。该报道分别以大鼠间充质干细胞(rMSCs)、兔骨软骨进行体外、体内实验,其中着重强调了3D打印纤维的线间距及线宽对支架孔径大小、孔隙率、比表面积、机械强度及软骨修复能力的影响。结果表明随着打印线间距的增大,材料的力学性能逐渐降低,软骨修复能力出现先增强后减弱的现象,因此,3D打印成型中选择适当的线宽具有重要意义。

除此以外,同样有文献报道希望通过聚合物熔体的3D打印制备软骨修复支架。例如, Shalom等^[89]报道通过熔体挤出将WS₂无机纳米管(WS₂-NT)在PLA中分散,进行熔丝制造(FFF) 3D打印。结果表明WS₂-NT可提高印刷PLA的力学性能,如弹性模量、屈服强度和断裂应变分别提高了20%、23%和35%。此外,经FFF处理后,WS₂-NT在基体中的分散性较预打印长丝有所改善。与聚合物溶液相比,熔融聚合物凝固缓慢且结晶度更高,从而具有更高的模量。该材料有望进一步应用于软骨组织修复中。然而,与以聚合物水溶液为原料的水凝胶支架相比,聚合物支架的机械性能虽然较好,但是生物相容性往往较差,其在软骨组织修复方面的应用仍面临很大的挑战。

3.3 静电纺丝

静电纺丝是通过电场作用将聚合物溶液或熔体喷射纺丝以制备一维的纳米级纤维,在组织工程、药物递送、医疗诊断、环境保护和防护服等织物以及牙科材料等领域都引起了很大的研究兴趣。常见的静电纺丝设备由三部分组成,即高压电源装置、金属针头注射器以及接地装置,如图10A所示^[90]。因其制备的纤维直径相对均匀且具有可调的结构,通过静电纺丝制备的纳米纤维,已被广泛应用于软骨组织工程。例如, Scaffaro等^[91]采用静电纺丝法分别制备了不同浓度GO和表面接枝PEG修饰的GO-g-PEG的PCL复合纳米纤维支架,具有较高的机械强度和良好的细胞相容性,可进一步用于软骨组织修复。Chen等^[92]采用同轴静电纺丝技术,用PCL对甲壳素水解得到的硫酸氨基葡萄糖(GAS)进行包覆,制备了PCL/GAS复合纳米纤维。该支架中GAS的缓释有利于软骨细胞的生长和增殖,有望进一步用于软骨组织修复。Silva等^[93]制备并表征了同

轴聚癸二酸甘油酯(PGS)/PCL的静电纺丝支架, 以模拟关节软骨ECM中胶原纤维的纳米结构和排列. 与单轴取向PCL支架相比, 同轴PGS/PCL排列的纳米纤维能够促进骨细胞诱导剂KGN的缓释.

将高度取向的纳米纤维与水凝胶系统结合, 可形成具有细胞活性的水凝胶纤维复合支架材料, 进而设计并制备各种结构复杂的组织工程支架. 同时, 将该技术应用于NC水凝胶的制备成型, 可结合电纺纤维与水凝胶优势, 为制备支架材料提供更具竞争力的选择^[94]. 通过静电纺丝成型的用于组织工程的NC水凝胶, 通常需要考虑聚合物原料、复合纤维网络的微观结构以及支架材料的渗透性、对细胞的毒性及黏附性等诸多因素. 其中, 静电纺丝纤维与纳米粒子复合的微观结构通常有以下5种: 单组分纳米粒子或电纺纤维层、分子尺度复合的纳米粒子和电纺纤维层、同轴静电纺复合纤维网、颗粒增强的水凝胶、颗粒增强的电

纺纤维层等, 其示意图依次如图10B所示. 而静电纺丝纤维与水凝胶支架结构的复合方式可分为如下4种: 水凝胶包裹纤维的块状结构、水凝胶和纤维层状堆叠结构、凝胶沉积的块状静电纺丝纤维结构以及管状卷绕纤维和水凝胶结构, 依次如图10C所示^[95].

例如, Hejazi等^[96]利用静电纺丝制备了用于骨再生的PCL/Gel/nHA及用于软骨再生的Cs/PVA软五层梯度纳米纤维支架. Rajzer等^[97]报道通过静电纺丝和3D打印技术, 制备了PLA纤维层状堆叠结构支架, 并将明胶水凝胶渗透入其中, 实验结果表明该支架可用于鼻软骨及软骨下骨重建. Bas等^[98]利用带高度负电荷的星形PEG/肝素水凝胶(PEG/Hep)作为基体, 将其与医用PCL熔体电纺丝纤维网络相结合制备了NC水凝胶. 该材料表现出各向异性、非线性、黏弹性等与天然材料相似的力学性质, 实现了体外人软骨细胞培养和新软骨形成. 此外, 该研究采用p型有限元法对材料

图 10 (A) 静电纺丝成型制备NC水凝胶示意图^[90]; (B) 静电纺丝纤维与纳米粒子复合的微观结构; (C) 静电纺丝纤维与水凝胶支架的复合结构^[95] (网络版彩图)

Figure 10 (A) Schematic diagram of NC hydrogel prepared by electrospinning molding [90]. (B) Microstructure of electrospinning fiber and nanoparticle composite. (C) Composite structure of electrospinning fiber and hydrogel scaffold [95] (color online).

进行仿真模拟,研究了软骨组织的整体平衡和动态瞬间生物力学性能. Guo等^[99]报道通过静电纺丝技术将SF与PCL复合,同时以 Sr^{2+} 作为活性因子,制备了NC水凝胶半月板支架.实验结果表明,在不引入种子细胞的条件下,该支架可有效地保护软骨、延缓骨关节炎发展.

除此以外,还有相关研究将天然生物材料与静电纺丝结合,以制备软骨修复支架材料.例如,Chen等^[100]以牛肩胛骨软骨的脱细胞基质(CDM)为基体,通过静电纺丝技术制备了明胶/聚乳酸短纤维,作为增强材料,通过3D打印制备了可用于软骨修复的支架材料. Feng等^[101]通过静电纺丝成功制备了软骨源性细胞外基质(cECM)/PCL复合纳米纤维支架,其中cECM是通过将软骨切片磨成粉状,用胃蛋白酶消化过滤所制备的.该支架具有良好的生物相容性,无明显的细胞毒性,可有效促进软骨细胞增殖.

3.4 冷大气等离子体表面修饰

等离子体是物质除固、液、气之外的第四种存在状态,由高能活性物质组成,是改善生物医用材料物理和生化特性的有力工具,已被用于表面消毒、伤口愈合、血液凝固、皮肤病/癌症治疗等领域^[102].其中,冷大气等离子体(cold atmospheric plasma, CAP)是一种由

带电粒子、光子以及静电和电磁场等多种环境组成的部分电离的气体,每 1×10^9 个粒子中约有一个被电离. CAP的优点在于其温度较低,可在常温常压下制备并使用.与其他等离子体表面改性技术相比,由于不需要成本高昂的真空或压缩系统,近年来, CAP已成为一种很有前景的表面改性方法,其实验装置与示意图如图11所示^[103].

在组织工程应用中, CAP可以用于对材料进行修饰以创造有利于细胞的环境.例如,先前的研究表明, CAP处理的支架可促进骨髓来源间充质干细胞的成骨分化和软骨形成分化^[104]. Alemi等^[105]通过静电纺丝成型制备了PCL-CS和PCL-羧甲基壳聚糖(CMC)复合支架,结果表明经过高压CAP处理可有效改善干细胞与支架的相互作用,并诱导干细胞分化.

此外,已有研究将CAP处理应用于NC水凝胶的表面改性.例如, Lee等^[106]以聚乙二醇二丙烯酸酯(PEG-DA)为基体,引入包覆牛血清白蛋白或TGF- β 1生长因子的核壳PLGA纳米颗粒,通过3D打印及同轴静电纺丝技术制备了NC水凝胶软骨支架,以支持hMSCs生长和软骨分化.结果表明,经过CAP处理的支架可以提高亲水性和表面纳米粗糙度,从而促进干细胞黏附. Zhu等^[107]将CAP修饰的微球嵌入静电纺丝支架以促进软骨再生,实验结果表明间充质干细胞增殖随CAP处理

图 11 (a) 冷大气等离子体射流结构示意图; (b) 常规 4×4 阵列及单喷射 1×1 阵列; (c) 前视图试验装置^[103] (网络版彩图)

Figure 11 (a) Schematic diagram of the structure of a cold atmospheric plasma jet; (b) general devices with 4×4 array and single jet with 1×1 array; (c) the front view of the experimental set-up ^[103] (color online).

时间的延长而增强。经5天培养后,与未处理对照组相比,经CAP处理3 min及1 min的支架细胞数量分别增加了17.3%、10.9%。

4 软骨修复

根据ECM的组成,软骨可分为弹性软骨、纤维软骨及透明软骨三种类型,其ECM中的特征成分分别为弹性纤维、胶原纤维及GAGs。其中,相关研究最为广泛的关节软骨属于透明软骨,介于其底端骨质与上端关节面之间,具有低摩擦系数的超润滑性,可促进关节骨的运动,并支持高动态压缩负荷。此外,在骨和软骨组织之间的还有骨软骨组织,其位置与功能的需求反映了其组成的复杂性,由上到下依次由软骨、钙化软骨和软骨下骨梯度组成。其中,各组分的力学、结构及生化特性均有所不同。例如,从机械性能来看,骨软骨组织由上到下的压缩模量呈梯度递增,反映出其结构上,即从软骨到骨面矿物质含量递增,而胶原蛋白和水的浓度递减,纤维孔径、孔隙度和血管化程度递增。因此,软骨修复材料不仅需要具有多层次的复合结构,同时,需要引入生物进行配合以模拟天然ECM生理环境^[108]。软骨组织工程修复需要支架材料、种子细胞及生长因子三大要素^[109]。目前,常见NC水凝胶的结构、加工成型方法及其在人工软骨中的应用如图12所示。

4.1 种子细胞

软骨修复组织工程中种子细胞通常需要满足如下特点:易于提取与传代、具有软骨细胞表型并可合成软骨ECM、且不会引起免疫反应。目前,常用于软骨组织修复的种子细胞主要有多种来源的间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)。例如,骨髓间充质干细胞(bone mesenchymal stem cells, BMSCs)、滑膜间充质干细胞(synovial mesenchymal stem cells, SMSCs)等。此外还有软骨细胞、成纤维细胞等^[5]。

在NC水凝胶支架中接种种子细胞时,往往需要考虑细胞与支架材料之间的相互作用。例如, Burdick等^[110]以甲基丙烯酸透明质酸(MeHA)电纺纤维为基体制备水凝胶支架,通过改变其硬度,探究了网络的力学和形变能力对细胞间的相互作用的影响。结果表明,较软的纤维网络易在细胞牵引作用下发生下形变和致密

图12 纳米复合水凝胶的结构、加工成型方法及其在人工软骨中的应用(网络版彩图)

Figure 12 Fabrication of nanocomposite hydrogel and its application in artificial cartilage (color online).

化,较硬的维网络可沉积更多胶原,易于促进软骨组织修复。除此以外,还需考虑NC水凝胶内部复合结构对细胞流动性及生物活性的影响。对此, Lim等^[111]通过快速光交联制备了丝素蛋白水凝胶,该支架具有较好的力学性能,可高密度地包裹细胞($1.5 \times 10^7 \text{ mL}^{-1}$),同时保持其存活率大于80%。该支架具有良好的软骨组织形成能力,可进一步应用于软骨组织修复。此外, Zhao等^[112]对各种常见来源的种子细胞及其与水凝胶支架材料之间的相互作用进行了详细评述。

4.2 生物活性因子

组织工程中,生长因子是培养基或生物材料支架中最常用的蛋白质生物活性剂,可在组织前体的细胞增殖、迁移、分化和成熟中发挥重要作用。目前,常用于软骨组织修复的活性因子包括成软骨转化生长因子 $\beta 1$ (transforming growth factor- β , TGF- β)、成纤维生长因子(FGF)、骨形态发生蛋白(BMP)和胰岛素生长

因子(IGF)等. TGF- β 系列生长因子对软骨细胞增殖、生长具有重要作用. 其中, TGF- β 1可增强细胞间相互作用, TGF- β 2可对细胞的分化进行调节, TGF- β 3有助于MSC分化为软骨细胞. IGF-1可促进分泌II型胶原和黏多糖, FGF-2可促进细胞增殖以加速伤口愈合. BMPs可调节细胞分化状态并增加ECM合成^[5].

在复合水凝胶中引入生长因子同样可显著促进软骨的修复再生. 例如, Wang等^[113]利用壳聚糖复合水凝胶材料来研究生长因子与种子细胞在软骨修复中的作用. 实验结果显示, 负载TGF- β 3的壳聚糖复合水凝胶可有效促进兔半月板缺损的修复.

5 挑战与展望

NC水凝胶具有易于制备、力学性能较好, 并可通过纳米粒子的协同作用来增强刺激响应性等诸多优势, 已被广泛应用于软骨组织修复领域. 本综述按照NC水凝胶中聚合物基体及复合纳米颗粒种类加以分

类, 详细介绍了多种可用于软骨组织修复的NC水凝胶的最新进展.

然而, 不可否认的是目前NC水凝胶在临床应用中仍存在挑战. 例如, NC水凝胶中的纳米颗粒为提高纯水凝胶力学性能提供了有效解决途径, 可有效避免人工水凝胶软骨组织在实际承重条件下可能会导致的结构破坏, 但同时也需考虑其对营养物质、生物活性因子和细胞代谢物在水凝胶中的扩散能力的影响. 除此以外, 降解性也是水凝胶支架的重要软骨修复组织工程中的重要影响因素. 其降解时间既不宜过长也不能过快, 一方面需要在组织愈合期间提供物理、生化微环境的支持, 同时, 也需要具有可降解能力, 减少由于支架材料长时间残留对组织愈合的不良影响. 目前, 大多数研究报道的体外体内生物实验的周期都较为有限, 并且大多使用动物细胞或动物模型. 且大多数研究的重点是聚合物基体的合成以及支架的宏观机械性能, 未来可从基质聚合物链等微观结构进行研究分析, 以获得更加清晰的长期结果.

参考文献

- 1 Tang X, Wang S, Zhan S, Niu J, Tao K, Zhang Y, Lin J. *Arthritis Rheumatol*, 2016, 68: 648–653
- 2 Armiento AR, Stoddart MJ, Alini M, Eglon D. *Acta Biomater*, 2018, 65: 1–20
- 3 Asadi N, Alizadeh E, Salehi R, Khalandi B, Davaran S, Akbarzadeh A. *Artificial Cells Nanomed Biotechnol*, 2018, 46: 465–471
- 4 Puppi D, Chiellini F, Piras AM, Chiellini E. *Prog Polym Sci*, 2010, 35: 403–440
- 5 Yang J, Zhang YS, Yue K, Khademhosseini A. *Acta Biomater*, 2017, 57: 1–25
- 6 Caló E, Khutoryanskiy VV. *Eur Polym J*, 2015, 65: 252–267
- 7 Zhang YS, Khademhosseini A. *Science*, 2017, 356
- 8 Chen J, Xu X, Liu M, Li Y, Yu D, Lu Y, Xiong M, Wyman I, Xu X, Wu X. *Carbohydrate Polym*, 2021, 264: 117978
- 9 Lee WF, Chen YJ. *J Appl Polym Sci*, 2001, 82: 2487–2496
- 10 Murayama H, Imran AB, Nagano S, Seki T, Kidowaki M, Ito K, Takeoka Y. *Macromolecules*, 2008, 41: 1808–1814
- 11 Wang J, Zhang F, Tsang WP, Wan C, Wu C. *Biomaterials*, 2017, 120: 11–21
- 12 Rafeian S, Mirzadeh H, Mahdavi H, Masoumi ME. *Sci Eng Composite Mater*, 2019, 26: 154–174
- 13 Eslahi N, Abdorahim M, Simchi A. *Biomacromolecules*, 2016, 17: 3441–3463
- 14 Merino S, Martín C, Kostarelos K, Prato M, Vázquez E. *ACS Nano*, 2015, 9: 4686–4697
- 15 Sharma G, Thakur B, Naushad M, Kumar A, Stadler FJ, Alfadul SM, Mola GT. *Environ Chem Lett*, 2018, 16: 113–146
- 16 Chen T, Hou K, Ren Q, Chen G, Wei P, Zhu M. *Macromol Rapid Commun*, 2018, 39: 1800337
- 17 Vashist A, Kaushik A, Ghosal A, Bala J, Nikkiah-Moshaie R, A.Wani W, Manickam P, Nair M. *Gels*, 2018, 4: 75
- 18 Gaharwar AK, Peppas NA, Khademhosseini A. *Biotechnol Bioeng*, 2014, 111: 441–453
- 19 Zhao H, Liu M, Zhang Y, Yin J, Pei R. *Nanoscale*, 2020, 12: 14976–14995
- 20 Zhang M, Jin G, Huang M. *Chin Polym Bull*, 2010, 6: 41–46 (in Chinese) [张敏东, 金高军, 黄梅. 高分子通报, 2010, 6: 41–46]
- 21 Sui B, Li Y, Yang B. *Chin Chem Lett*, 2020, 31: 1443–1447
- 22 He C, Yan H, Li X, Wang X. *Green Chem*, 2019, 21: 2279–2285

- 23 He C, Yan H, Li X. *Chin Chem Lett*, 2021, 32: 2693–2714
- 24 Lu H, Lv L, Ma J, Ban W, Ren S, Dong G, Li J, Dang X. *J Mech Behav Biomed Mater*, 2018, 88: 261–269
- 25 Hu M, Gu X, Hu Y, Wang T, Huang J, Wang C. *Macromolecules*, 2016, 49: 3174–3183
- 26 Gopinathan J, Pillai MM, Santosh Sahanand K, Dinakar Rai BK, Selvakumar R, Bhattacharyya A. *Biomed Mater*, 2017, 12: 065001
- 27 Chen J, Shi X, Ren L, Wang Y. *Curr Alzheimer Reson*, 2017, 111: 18–27
- 28 Cao J, Meng Y, Zhao X, Ye L. *Ind Eng Chem Res*, 2020, 59: 20359–20370
- 29 Ghobril C, Rodriguez EK, Nazarian A, Grinstaff MW. *Biomacromolecules*, 2016, 17: 1235–1252
- 30 Söntjens SHM, Nettles DL, Carnahan MA, Setton LA, Grinstaff MW. *Biomacromolecules*, 2006, 7: 310–316
- 31 Degoricija L, Bansal PN, Söntjens SHM, Joshi NS, Takahashi M, Snyder B, Grinstaff MW. *Biomacromolecules*, 2008, 9: 2863–2872
- 32 Wang Y, Zhao Q, Zhang H, Yang S, Jia X. *Adv Mater*, 2014, 26: 4163–4167
- 33 Asadi N, Alizadeh E, Rahmani Del Bakhshayesh A, Mostafavi E, Akbarzadeh A, Davaran S. *ACS Omega*, 2019, 4: 449–457
- 34 Jiang H, Zhang G, Feng X, Liu H, Li F, Wang M, Li H. *Compos Sci Tech*, 2017, 140: 54–62
- 35 Teow SY, Wong MMT, Yap HY, Peh SC, Shameli K. *Molecules*, 2018, 23: 1366
- 36 Kumar P. *Int J Biomater*, 2018, 2018: 1–7
- 37 Grant SA, Zhu J, Gootee J, Snider CL, Bellrichard M, Grant DA. *Tissue Eng Part A*, 2018, 24: 1091–1098
- 38 Tan HL, Teow SY, Pushpamalar J. *Bioengineering*, 2019, 6: 17
- 39 Chen Z, Yan C, Yan S, Liu Q, Hou M, Xu Y, Guo R. *Theranostics*, 2018, 8: 1146–1158
- 40 Huang J, Jia Z, Liang Y, Huang Z, Rong Z, Xiong J, Wang D. *RSC Adv*, 2020, 10: 541–550
- 41 Motealleh A, Kehr NS. *Adv Healthc Mater*, 2017, 6: 1600938
- 42 Xia S, Song S, Ren X, Gao G. *Soft Matter*, 2017, 13: 6059–6067
- 43 Bonifacio MA, Cochis A, Cometa S, Scalzone A, Gentile P, Procino G, Milano S, Scalia AC, Rimondini L, De Giglio E. *Mater Sci Eng-C*, 2020, 108: 110444
- 44 Del Bakhshayesh AR, Asadi N, Alihemmati A, Tayefi Nasrabadi H, Montaseri A, Davaran S, Saghati S, Akbarzadeh A, Abedelahi A. *J Biol Eng*, 2019, 13: 85
- 45 Balakrishnan B, Banerjee R. *Chem Rev*, 2011, 111: 4453–4474
- 46 Vasvani S, Kulkarni P, Rawtani D. Hyaluronic acid: A review on its biology, aspects of drug delivery, route of administrations and a special emphasis on its approved marketed products and recent clinical studies. *Inter J Biol Macromol*, 2020, 151: 1012–1029
- 47 Zhang N, Lock J, Sallee A, et al. Magnetic nanocomposite hydrogel for potential cartilage tissue engineering: Synthesis, characterization, and cytocompatibility with bone marrow derived mesenchymal stem cells. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2015, 7: 20987–20998
- 48 Nikbakht M, Karbasi S, Rezayat SM. *Mater Tech*, 2020, 35: 141–151
- 49 Khatami S M, Parivar K, Naderi Sohi A, Soleimani M, Hanaee-Ahvaz H. *Tissue Cell*, 2020, 65: 101363
- 50 Gan D, Wang Z, Xie C, Wang X, Xing W, Ge X, Yuan H, Wang K, Tan H, Lu X. *Adv Healthcare Mater*, 2019, 8: 1901103
- 51 Zhang W, Song Y, Peng W, Zhang Y. *Chem Bioeng*, 2020, 37: 9–12 (in Chinese) [张伟, 宋颖, 彭伟, 张云泉. 化学与生物工程, 2020, 37: 9–12]
- 52 Farokhi M, Jonidi Shariatzadeh F, Solouk A, Mirzadeh H. *Int J Polymic Mater Polymic Biomater*, 2020, 69: 230–247
- 53 Mirahmadi F, Tafazzoli-Shadpour M, Shokrgozar MA, Bonakdar S. *Mater Sci Eng-C*, 2013, 33: 4786–4794
- 54 Shemshad S, Kamali S, Khavandi A, Azari S. *Int J Polymic Mater Polymic Biomater*, 2019, 68: 516–526
- 55 Li T, Song X, Weng C, Wang X, Gu L, Gong X, Wei Q, Duan X, Yang L, Chen C. *Int J Biol Macromol*, 2019, 137: 382–391
- 56 Xing J, Peng X, Li A, Chen M, Ding Y, Xu X, Yu P, Xie J, Li J. *Carbohydrate Polym*, 2021, 270: 118382
- 57 Kouhi M, Varshosaz J, Hashemibeni B, Sarmadi A. *Mater Sci Eng-C*, 2020, 115: 111114
- 58 Kaviani A, Zebarjad SM, Javadpour S, Ayatollahi M, Bazargan-Lari R. *Int J Polym Anal Charact*, 2019, 24: 191–203
- 59 Hu M, Yang J, Xu J. *Drug Deliver*, 2021, 28: 607–619
- 60 Liu Z, Yao P. *Carbohydrate Polym*, 2015, 132: 490–498
- 61 Bonifacio MA, Cometa S, Cochis A, Gentile P, Ferreira AM, Azzimonti B, Procino G, Ceci E, Rimondini L, De Giglio E. *Carbohydrate Polym*, 2018, 198: 462–472
- 62 Jabbari E. *Gels*, 2019, 5: 30
- 63 Xue D, Zheng Q, Zong C, Li Q, Li H, Qian S, Zhang B, Yu L, Pan Z. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 2010, 94A: 259–270

- 64 Huang J, Liu W, Liang Y, Li L, Duan L, Chen J, Zhu F, Lai Y, Zhu W, You W, Jia ZF, Xiong J, Wang D. *Mater Sci Eng-C*, 2018, 87: 70–77
- 65 Zhao D, Zhu T, Li J, Cui L, Zhang Z, Zhuang X, Ding J. *Bioactive Mater*, 2021, 6: 346–360
- 66 Nojoomi A, Tamjid E, Simchi A, Bonakdar S, Stroeve P. *Int J Polymic Mater Polymic Biomater*, 2017, 66: 105–114
- 67 Chen J, Chin A, Almarza AJ, Taboas JM. *Biomed Mater*, 2020, 15: 045006
- 68 Cui L, Tong W, Zhou H, Yan C, Chen J, Xiong D. *J Mater Sci*, 2021, 56: 3935–3946
- 69 Meng Y, Ye L, Coates P, Twigg P. *J Phys Chem C*, 2018, 122: 3157–3167
- 70 Awasthi S, Gaur JK, Pandey SK, Bobji MS, Srivastava C. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2021, 13: 24505–24523
- 71 Wang YQ, Xue YN, Li SR, Zhang XH, Fei HX, Wu XG, Sang SB, Li XN, Wei M, Chen WY. *J Polym Res*, 2017, 24: 224
- 72 Zadehnajar P, Akbari B, Karbasi S, Mirmusavi MH. *Int J Polym Mater Polym Biomater*, 2020, 69: 326–337
- 73 Felfel RM, Gupta D, Zabidi AZ, Prosser A, Scotchford CA, Sottile V, Grant DM. *Mater Des*, 2018, 160: 455–467
- 74 Thoniyot P, Tan MJ, Karim AA, Young DJ, Loh XJ. *Adv Sci*, 2015, 2: 1400010
- 75 Wu X, Chen K, Zhang D. *Mater Engineer*, 2021, 1–13 (in Chinese) [吴晓芳, 陈凯, 张德坤. 材料工程, 2021, 1–13]
- 76 Singh YP, Moses JC, Bhardwaj N, Mandal BB. *J Mater Chem B*, 2018, 6: 5499–5529
- 77 Sivashanmugam A, Kumar RA, Vishnu Priya M, Nair SV, Jayakumar R. *Eur Polym J*, 2015, 72: 543–565
- 78 Lee SS, Choi GE, Lee HJ, Kim Y, Choy JH, Jeong B. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2017, 9: 42668–42675
- 79 Kuang L, Ma X, Ma Y, Yao Y, Tariq M, Yuan Y, Liu C. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2019, 11: 17234–17246
- 80 Markstedt K, Mantas A, Tournier I, Martínez Ávila H, Hägg D, Gatenholm P. *Biomacromolecules*, 2015, 16: 1489–1496
- 81 Chimene D, Kaunas R, Gaharwar AK. *Adv Mater*, 2020, 32: 1902026
- 82 Gopinathan J, Noh I. *Biomater Res*, 2018, 22: 11
- 83 Huang J, Huang Z, Liang Y, Yuan W, Bian L, Duan L, Rong Z, Xiong J, Wang D, Xia J. *Biomater Sci*, 2021, 9: 2620–2630
- 84 Kim SH, Yeon YK, Lee JM, Chao JR, Lee YJ, Seo YB, Sultan MT, Lee OJ, Lee JS, Yoon SI, Hong IS, Khang G, Lee SJ, Yoo JJ, Park CH. *Nat Commun*, 2018, 9: 1620
- 85 Xia H, Zhao D, Zhu H, Hua Y, Xiao K, Xu Y, Liu Y, Chen W, Liu Y, Zhang W, Liu W, Tang S, Cao Y, Wang X, Chen HH, Zhou G. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2018, 10: 31704–31715
- 86 Castro NJ, O'Brien J, Zhang LG. *Nanoscale*, 2015, 7: 14010–14022
- 87 Meng Y, Cao J, Chen Y, Yu Y, Ye L. *J Mater Chem B*, 2020, 8: 677–690
- 88 Gao J, Ding X, Yu X, Chen X, Zhang X, Cui S, Shi J, Chen J, Yu L, Chen S, Ding J. *Adv Healthc Mater*, 2021, 10: 2001404
- 89 Shalom H, Kapishnikov S, Brumfeld V, Naveh N, Tenne R, Lachman N. *Sci Rep*, 2020, 10: 8892
- 90 Sadat-Shojai M, Khorasani MT, Jamshidi A. *Chem Eng J*, 2016, 289: 38–47
- 91 Scaffaro R, Lopresti F, Maio A, Botta L, Rigogliuso S, Ghersi G. *Compos Part A-Appl Sci Manuf*, 2017, 92: 97–107
- 92 Chen W, Wang C, Gao Y, Wu Y, Wu G, Shi X, Du Y, Deng H. *Carbohydrate Polym*, 2020, 229: 115544
- 93 Silva JC, Udangawa RN, Chen J, Mancinelli CD, Garrudo FFF, Mikael PE, Cabral JMS, Ferreira FC, Linhardt RJ. *Mater Sci Eng-C*, 2020, 107: 110291
- 94 De Mori A, Peña Fernández M, Blunn G, Tozzi G, Roldo M. *Polymers*, 2018, 10: 285
- 95 Shapiro JM, Oyen ML. *JOM*, 2013, 65: 505–516
- 96 Hejazi F, Bagheri-Khoulanjani S, Olov N, Zeini D, Solouk A, Mirzadeh H. *J Biomed Mater Res*, 2021, 109: 1657–1669
- 97 Rajzer I, Kurowska A, Jabłoński A, Jatteau S, Śliwka M, Ziąbka M, Menaszek E. *Mater Des*, 2018, 155: 297–306
- 98 Bas O, De-Juan-Pardo EM, Meinert C, D'Angella D, Baldwin JG, Bray LJ, Wellard RM, Kollmannsberger S, Rank E, Werner C, Klein TJ, Catelas I, Huttmacher DW. *Biofabrication*, 2017, 9: 025014
- 99 Li Y, Chen M, Zhou W, Gao S, Luo X, Peng L, Yan J, Wang P, Li Q, Zheng Y, Liu S, Cheng Y, Guo Q. *Acta Biomater*, 2020, 113: 196–209
- 100 Chen W, Xu Y, Li Y, Jia L, Mo X, Jiang G, Zhou G. *Chem Eng J*, 2020, 382: 122986
- 101 Feng B, Ji T, Wang X, Fu W, Ye L, Zhang H, Li F. *Mater Des*, 2020, 193: 108773
- 102 Liu P, Wang G, Ruan Q, Tang K, Chu PK. *Bioactive Mater*, 2021, 6: 2134–2143
- 103 Park HJ, Kim SH, Ju HW, Lee H, Lee Y, Park S, Yang H, Park SJ, Eden JG, Yang J, Park CH. *Sci Rep*, 2018, 8: 2422
- 104 Wang M, Cheng X, Zhu W, Holmes B, Keidar M, Zhang LG. *Tissue Eng Part A*, 2014, 20: 1060–1071
- 105 Alemi PS, Atyabi SA, Sharifi F, Mohamadali M, Irani S, Bakhshi H, Atyabi SM. *Polym Adv Technol*, 2019, 30: 1356–1364

- 106 Lee SJ, Yan D, Zhou X, Cui H, Esworthy T, Hann SY, Keidar M, Zhang LG. *Mater Sci Eng-C*, 2020, 111: 110844
- 107 Zhu W, Castro NJ, Cheng X, Keidar M, Zhang LG. *PLoS ONE*, 2015, 10: e0134729
- 108 Nicolas J, Magli S, Rabbachin L, Sampaolesi S, Nicotra F, Russo L. *Biomacromolecules*, 2020, 21: 1968–1994
- 109 Wasyleczko M, Sikorska W, Chwojnowski A. *Membranes*, 2020, 10: 348
- 110 Song KH, Heo SJ, Peredo AP, Davidson MD, Mauck RL, Burdick JA. *Adv Healthcare Mater*, 2020, 9: 1901228
- 111 Cui X, Soliman BG, Alcalá-Orozco CR, Li J, Vis MAM, Santos M, Wise SG, Levato R, Malda J, Woodfield TBF, Rnjak-Kovacina J, Lim KS. *Adv Healthcare Mater*, 2020, 9: 1901667
- 112 Zhao Z, Fan C, Chen F, Sun Y, Xia Y, Ji A, Wang DA. *Macromol Biosci*, 2020, 20: 1900278
- 113 Wang Y, Xu H, Pan Z, Ni L, Wang G, Zhao Y, Zheng Q. *Basic Clin Med*, 2020, 40: 1512–1518 (in Chinese) [王赞, 徐宏宇, 潘宗友, 倪利承, 王刚祥, 赵勇, 郑强. 基础医学与临床, 2020, 40: 1512–1518]

Research progress of nanocomposite hydrogels in artificial cartilage

Tong Xiao¹, Yifei Chen¹, Jianghong Huang², Shuqing Sun^{1*}

¹ Shenzhen International Graduate School, Tsinghua University, Shenzhen 518055, China

² Central Laboratory of Shenzhen Second People's Hospital, Shenzhen 518000, China

*Corresponding author (email: sun.shuqing@sz.tsinghua.edu.cn)

Abstract: Nanocomposite hydrogels (NC hydrogels) have great application and attract much attention as artificial cartilage repair materials. It is an ideal scaffold material for cartilage repair due to its structural similarity to natural chondrocyte extracellular matrix (ECM), good mechanical properties and stimulating response. In this review, the latest research progress of NC hydrogels for artificial cartilage is introduced in detail, which is classified by their components. At the same time, the new molding methods and application of NC hydrogel scaffolds are summarized. Besides, the challenges and prospects of the clinical application of NC hydrogels are discussed.

Keywords: nanocomposite hydrogel, tissue engineering, cartilage repair

doi: [10.1360/SSC-2021-0176](https://doi.org/10.1360/SSC-2021-0176)