



糖超分子水凝胶在组织工程领域的研究进展

卞欣雨¹, 高晨迪^{1*}, 边黎明², 陈国颂^{1*}

1. 聚合物分子工程国家重点实验室, 复旦大学高分子科学系, 上海 200433

2. 生物医学科学与工程教育部重点实验室, 华南理工大学, 广州 510006

*通讯作者, E-mail: guosong@fudan.edu.cn; 17110440002@fudan.edu.cn

收稿日期: 2023-07-21; 接受日期: 2023-08-24; 网络版发表日期: 2023-12-05

国家重点研发计划(2022YFB3804401)资助项目

摘要 组织工程的一般策略是使用生物支架作为人工基质替代天然细胞外基质(ECM)支持细胞的生存和各项功能, 从而形成新的组织. 作为一类重要的生物大分子, 糖质(glycan)是ECM的主要组分, 其所承载的基质和信息功能使其成为一种极有潜力的制备组织工程支架的原材料. 与此同时, 基于可逆非共价相互作用的水凝胶, 因其可以实现对水凝胶时空结构的精确操纵, 从而模拟细胞所需的生存环境, 促进组织的再生修复, 近年来得到了重视和研究. 本文从模拟ECM的结构和功能切入, 将糖质功能与非共价作用结合起来, 介绍多种糖动态超分子水凝胶的设计思路和构筑原理, 讨论其在组织工程应用中需要实现的关键性能, 并对其在该领域的发展趋势进行展望.

关键词 糖, 超分子, 水凝胶, 组织工程, 细胞外基质

1 引言

组织工程支架能够再生或恢复受损组织和器官的功能, 为器官移植提供了一种有前途的替代方法. 理想的组织工程支架应可模拟天然细胞外基质(ECM)的组成和功能, 为细胞黏附、生长、迁移和构建自己的细胞外基质提供一个合适的微环境^[1-3]. 而组织中的大多数ECM是高度复杂的、动态的、水凝胶状的网络, 由包含多糖和包埋蛋白的分层丝状物质组成, 如胶原蛋白、弹性蛋白和纤维连接蛋白等^[4-6]. 复杂的组成使得ECM具有多样性和广泛性. 例如, 骨骼或牙齿的ECM会较硬, 角膜的ECM则是透明柔软的片层, 而肌腱中的ECM会具有巨大的抗拉强度. 另一方面, 在细胞与

其周围ECM的界面上, 存在着由不同细胞表面受体介导的高度动态的相互作用, 具有精确的时空分布^[7,8]. 因此, ECM通过提供组织上的力学支持和生化信号可控制细胞的生长和表型. 一般来说, 组织工程支架材料在组成、形态和性质上越接近ECM, 即越仿生, 再生过程就越高效.

为了更好地模拟天然ECM的组成和功能, 组织工程支架要有合适的力学性能和生化特性来调节细胞行为和促进组织再生. 糖质(glycan)是自然界中与核酸、蛋白质并列的重要生物大分子, 包括糖蛋白、糖脂、蛋白聚糖、多糖等, 其功能可简要分为能量、基质和信息三类^[9,10]. 除了传统意义上葡萄糖作为能量来源的功能之外, 一方面天然多糖和蛋白聚糖等糖质可以

引用格式: Bian X, Gao C, Bian L, Chen G. Research progress of glycan-based supramolecular hydrogels in tissue engineering. *Sci Sin Chim*, 2023, 53: 2433–2443, doi: 10.1360/SSC-2023-0154

提供具有可控力学性能的结构成分来作为细胞壁和胞外基质ECM的主要组分; 另一方面, 糖质中的糖链还可通过糖-蛋白质相互作用(CPIs)参与包括糖缀合物等在细胞内和细胞间的穿行, 调控细胞黏附、胞内与胞间信号的转导等^[7]。因此, 糖质被认为是一种十分有潜力的生物大分子, 可制备出具有合适力学性能和生化特性的组织工程支架。

通过物理或化学交联形成的水凝胶具有相互连接的三维多孔结构, 为水和营养物质的传输提供了条件, 为细胞的渗透和增殖提供了良好的环境, 是目前组织工程等生物医学应用的主要载体材料^[11]。天然多糖由于良好的生物相容性、生物降解性和丰度已经被广泛应用来制备模拟天然ECM的水凝胶支架, 然而通过共价交联等不可逆相互作用形成的经典水凝胶材料往往具有相对静止的网络结构, 限制了细胞-基质和细胞-细胞间的相互作用, 阻碍了细胞的扩散和分化^[12,13]。超分子是一种基于非共价相互作用形成的具有明确结构和性能的聚集体^[14]。通过在多糖体系中引入可逆的超分子交联作用, 所获得的多糖衍生超分子水凝胶支架就可具备动态的力学性能, 包括响应性、自愈合性、黏弹性、应力松弛现象等^[15-18], 是模拟ECM基质的良好载体。此外, 糖小分子通过自组装形成的超分子水凝胶近年来也逐渐受到重视。由于超分子组装的动态性和模块化特性, 使各种功能表位易于整合, 通过CPIs相互作用等可实现高度的复杂性和优良的生物学特性, 介导细胞-细胞通信和细胞-基质相互作用^[10,16]。由于定向、可调、可逆的超分子相互作用, 糖小分子组装的超分子水凝胶还具有独特的动态性、生化特性和类ECM的纤维结构, 是一种可设计性极强的生物活性支架材料。

因此, 受天然ECM的化学成分、纤维结构和生物学功能的启发, 若能通过一系列设计来调控糖超分子水凝胶的动态适应性能, 为细胞封装或细胞增殖提供一个良好的环境, 并通过糖的生化特性介导细胞行为, 将是一种非常有潜力的组织工程策略。本文总结了近年来糖超分子水凝胶的设计思路, 包括超分子水凝胶的设计和材料的关键性能, 并对其在组织工程领域的应用进展进行探讨。

2 糖超分子水凝胶的设计

不同于共价相互作用交联形成的传统水凝胶支架

材料, 超分子材料通过可逆的非共价相互作用形成三维的水凝胶网络。而这种可逆的相互作用赋予了材料独特的形态和动态特性, 内部动态的网络结构不会限制细胞-基质和细胞-细胞的相互作用^[13]。基于糖的超分子水凝胶除了继承超分子独特的动态性之外, 还能够传导合适的机械或生化信号来调节各种细胞活动, 包括黏附、迁移、增殖、分化等^[19-21]。糖超分子水凝胶主要包括两大类: 天然多糖衍生的超分子水凝胶和糖小分子组装的超分子水凝胶。其中, 天然多糖由于来源广泛、生物相容性良好和生物降解性是目前主要用于组织工程中的糖分子。其丰富的侧链基团如羟基、羧基等可以方便于研究者进行各种功能基团的化学修饰来实现各种非共价交联以获得动态的超分子水凝胶, 包括引入主-客体相互作用、疏水相互作用、氢键等, 这方面进展较为迅速。此外, 通过分子自组装也可以获得超分子聚合物水凝胶, 这种通过糖分子自组装形成的水凝胶具有独特的类似于ECM的纤维结构和生物活性。基于超分子组装的模块化特性和动态性其可以实现复杂的生化特性以调控细胞行为, 是非常有前途的仿生水凝胶支架^[18]。尽管相比多糖衍生超分子材料, 糖自组装超分子具有更精细的结构和更优异的生物活性, 但由于其合成的复杂和繁琐一定程度上阻碍了应用发展。随着一些新的合成和调控方法的发展, 糖自组装超分子水凝胶研究也逐渐开展并显现出独特的优势。因此, 本节将主要讨论可用于组织工程的糖超分子水凝胶设计策略, 包括天然多糖衍生的以及糖小分子组装形成的两类主要的糖超分子水凝胶, 从而指导设计出合适的组织工程支架材料。

2.1 天然多糖衍生的超分子水凝胶

天然多糖在自然界中无处不在, 常见的包括淀粉、纤维素、海藻酸盐、透明质酸、壳聚糖等, 良好的生物相容性、生物降解性和易于提取使得他们首先被广泛地使用和研究。简单地, 如通过二价阳离子交联海藻酸钠、金属离子交联壳聚糖等方法就可以轻松获得多糖水凝胶。值得注意的是, 天然多糖具有丰富的侧链基团如羟基、氨基、羧基等, 易于进行各种化学修饰或功能肽修饰, 有利于设计出理想的动态水凝胶支架。利用这些基团, 研究者可将各种非共价相互作用引入到体系中, 实现基于分子间非共价键的超分子水凝胶构建。例如, 利用透明质酸上的羧基分别引入金

刚烷或偶氮苯基团和 β -环糊精基团, 两者之间就可以通过主-客体相互作用制备具有光响应性能的透明质酸超分子水凝胶, 该水凝胶在可见光下呈现强凝胶状态, 而在紫外光下呈现松散的水凝胶状态并同步释放生长因子(图1), 显示出高效的伤口愈合效果和显著的动态性能^[22]. 一些研究者也通过调节水凝胶中的功能基团含量和反应条件, 研究出各种具有可调节力学性能的多糖衍生超分子水凝胶, 并进一步研究其对细胞行为的影响^[23~26].

由于非共价相互作用较弱, 单一作用交联的超分子水凝胶强度普遍较弱, 为了进一步强化这类超分子的力学性能, 一些强化策略也被提出, 如“主-客体大单体”(HGM)策略, 其是在天然多糖体系中引入多价的主-客体相互作用. 这种HGM水凝胶具有自修复、可注射、可再塑特性, 由于主-客体相互作用的可逆性, 所得到的超分子水凝胶也表现出快速的应力-弛豫和长期的稳定性, 从而使干细胞的体外三维培养成为可能^[27]. 另一种强化策略是多重交联机制, 该策略仍是利用多糖丰富的侧链基团引入多种非共价交联作用. 例如, 在原有的HGM体系中补充多巴胺功能化的海藻酸盐, 多重交联机制指将主-客体相互作用、氢键作用、 π - π 堆积作用、共价交联作用等同时纳入水凝胶中使水凝胶获得优化的物理性能(图2), 以满足软骨再生的复杂要求^[28]. 值得一提的是, 在非共价和共价

交联之间出现了一类新的作用机制-动态共价交联键. 这类动态共价键与非共价作用相似, 能够可逆地断裂和重组, 本质上都是动态化学. 由此产生的适应性水凝胶具有类似的仿生黏弹性, 可以在保持其长期机械强度的同时允许局部复杂的细胞功能. 与上述策略相似, 通过天然多糖上的侧链基团进行功能基团修饰, 可获得基于动态共价键的动态水凝胶支架, 如引入希夫碱反应、二硫键、酰胺键等^[29~31]. 因此, 天然多糖丰富的侧链基团给超分子水凝胶的设计带来更多的可能性, 通过引入一种或多种功能基团, 利用其产生的非共价相互作用就可以获得力学性能可调的动态水凝胶支架, 从而帮助筛选出合适的组织工程支架材料.

2.2 糖小分子组装的超分子水凝胶

多糖大分子可以通过分子间非共价键作为交联点形成动态的超分子水凝胶, 基于糖的小分子也可以通过分子自组装形成超分子聚合物, 这类糖分子自组装出的超分子水凝胶具有天然多糖衍生的超分子所不具备的独特性能, 如与ECM相似的纤维结构和生物活性. 自组装是从重复的构建单元中通过非共价相互作用构建聚合物的重要过程, 具有复杂的多样性. 通过设计这些体系中小分子的双亲性结构, 调整体系中的氢键作用、 π - π 相互作用等的数量、强度和空间分布, 就可以实现对水凝胶的形成和力学性能的调控. 例如, 通过苯

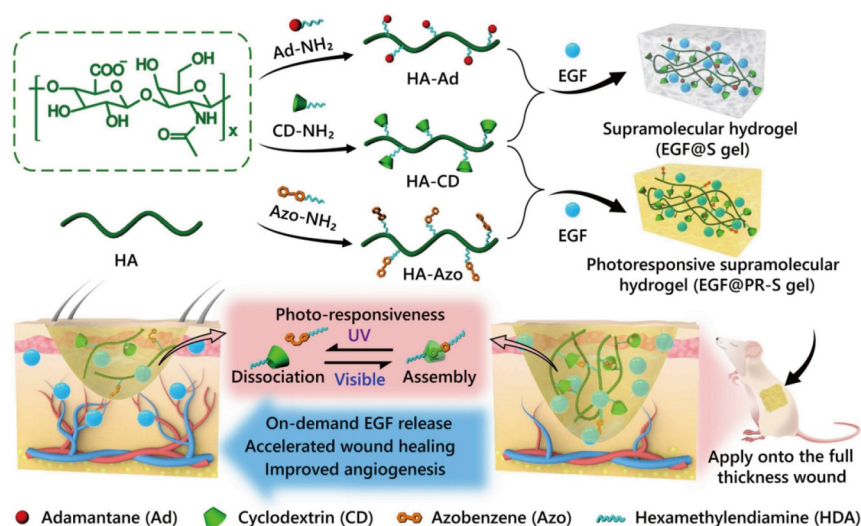


图1 超分子水凝胶的合成路线及其作为加速伤口愈合的可控递送系统示意图^[22] (网络版彩图)

Figure 1 Schematic illustration of the synthetic route of supramolecular hydrogels and their application as controlled delivery systems for accelerated wound healing. Reproduced with permission from Ref. [22]. Copyright@2020, Elsevier (color online).

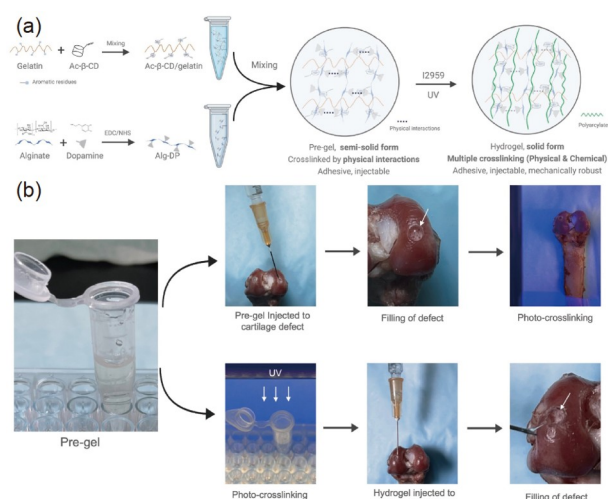


图2 (a) 水凝胶设计示意图. (b) 水凝胶通过多重交联机制应用于软骨缺损模型^[28] (网络版彩图)

Figure 2 (a) Schematic illustration of the hydrogel design. (b) Hydrogels were applied to a cartilage defect model through multiple cross-linking mechanisms. Reproduced with permission from Ref. [28]. Copyright@2023, The Author(s) (color online).

丙氨酸与一系列单糖或双糖的键合, 探索固有结构对超分子糖聚合物自组装和凝胶行为的影响^[32]. 发现由于亲疏水平衡, 与双糖取代相比, 单糖取代的二苯丙氨酸更容易形成水凝胶. 另一个双亲性结构的例子也证明, 长链烷基半乳糖酰胺可以自组装形成一种软水凝胶(弹性模量为8 kPa), 成功支持了神经元干细胞分化并发展出一个密集的神经网络^[33]. 研究发现, 借助于另一个新的结构参数, 即糖单元数与苯丙氨酸数之比^[34], 可描述糖-氢键/肽-氢键的数量比(S/P)对体系中糖肽纤维的聚集及凝胶强度变化的影响^[18]. 如图3所示, 当S/P比值在1.4~1.9的范围时, 具有强疏水表面的双链原纤维倾向于形成厚原纤维, 进一步形成了模量为520~2100 Pa的弱水凝胶. 当S/P比超过1.9时, 完全由糖氢键主导的单链原纤维具有强疏水表面, 这些原纤维倾向于进行有限地横向缔合形成一种模量高达32 kPa的糖肽水凝胶. 同时, 在这项工作中, 由于材料表现出与细胞外基质高度的结构相似性, 他们还进一步考察了材料对肿瘤细胞侵袭和迁移的影响, 发现材料具有独特的抗肿瘤活性.

可以看到糖分子的固有结构对于设计超分子水凝胶十分关键, 调整其结构可以影响水凝胶的微观结构和力学性能. 将糖化合物修饰在多肽侧链上, 可赋予

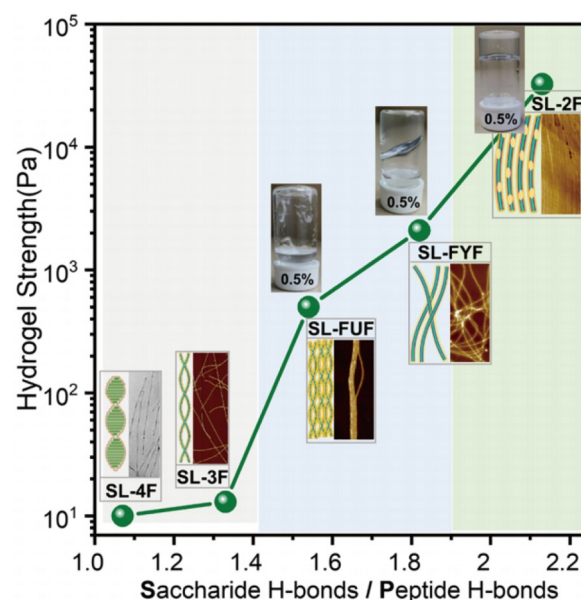


图3 水凝胶强度(G')与糖氢键与肽氢键的数量比(S/P)的相图^[18] (网络版彩图)

Figure 3 Hydrogel strength (G') as a function of number ratios of saccharide H-bonds to peptide H-bonds (S/P). Reproduced with permission from Ref. [18]. Copyright@2021, American Chemical Society (color online).

其额外的超分子自组装能力, 生成具有新分子结构和自组装特性的超分子水凝胶^[35]. 研究发现, 通过改变糖的大小、修饰位置、结构和含量等都可以影响糖肽分子的自组装能力以及所产生超分子的微观形态, 从而制备出合适于细胞黏附和增殖的仿生支架^[36,37]. 例如, 不同含量的葡萄糖残基修饰在相同四肽不同位点, 通过 π - π 堆叠以及葡萄糖和氨基酸之间的分子间氢键, 可制备一系列超分子水凝胶材料^[36]. 由于结构形态和组成与ECM相似, 这类水凝胶展现出更优的生物稳定性、热稳定性和细胞黏附性, 是很有潜力的促进细胞黏附和增殖的新型仿生支架. 此外, 立体化学策略在调控中的作用也逐渐被重视^[37]. 例如, 研究具有不同手性羟基的单糖对多肽进行位点特异性修饰, 可发现具有合适立体化学性质的糖基团可通过独特的糖-芳香相互作用即CH- π 键为超分子组装提供关键的稳定性(图4). 不同类型单糖修饰下的水凝胶存储模量从10到>1000 Pa不等, 通过调整CH- π 键的强度, 有助于提高水凝胶的力学性能和热稳定性从而寻找合适于模拟不同ECM强度的超分子自组装水凝胶支架.

磷酸化/去磷酸化也是调节超分子材料转化的一

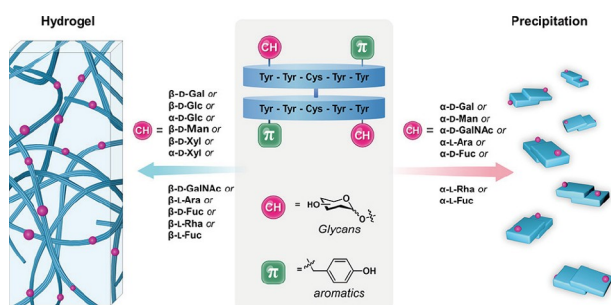


图4 糖肽自组装可以根据含有不同单糖的立体化学性质形成水凝胶^[37] (网络版彩图)。

Figure 4 Glycopeptides may self-assemble to form hydrogels depending on the stereochemistry of contained monosaccharides. Reproduced with permission from Ref. [37]. Copyright@2020, American Chemical Society (color online).

个常见的“调节开关”^[38-40]。磷酸酶是一种可以去除分子中磷酸基团的酶类, 这种去磷酸化过程常在细胞内发生, 能够调节细胞内的信号传递、代谢和细胞周期等过程。因此, 研究者多使用磷酸酶指导糖肽分子等的自组装过程, 通过去除带负电荷的磷酸盐侧链驱动分子组装形成有序的超分子水凝胶。例如, 在生理条件下, 通过酶的去磷酸化可以诱导合成的糖肽分子自组装形成纳米纤维, 并导致纳米纤维缠结而形成超分子水凝胶^[41]。该研究还探索了糖肽水凝胶对细胞的影响, 由于所合成的纳米纤维在表面暴露出高密度的葡萄糖残基, 模拟了ECM的高度糖基化微环境, 材料显示出良好的促内皮细胞黏附和增殖特征, 在体内可以触发新毛细血管的生成, 预示了糖肽自组装水凝胶在组织工程领域的应用潜力(图5)。这种通过外加酶调控超分子自组装的策略具有更精准的时空操纵能力、可操作性, 在各种复杂的应用环境中具有独特的优势。此外, 研究者们也通过修饰不同磷酸化位点、设计特殊的含磷酸多肽片段等来广泛利用这种酶促自组装策略制备生物相容性优异的水凝胶材料^[40]。利用pH值也可以驱动超分子的自组装和凝胶化, 改变体系中的静电相互作用和疏水相互作用等可驱动糖分子在不同pH值下的自组装行为^[35,42,43]。但是调整pH值的策略在生物体内应用具有一定的局限性, pH值条件要在体内可承受的pH值范围内, 并需要适配组织的微环境变化。此外, 包括加热、盐离子浓度变化、剪切力等外部因素调控的策略也被用于调节超分子水凝胶的制备^[44-49]。与天然多糖衍生的超分子水凝胶构建策略类似, 研究者也将一些糖分子修饰到其他聚合物侧链上,

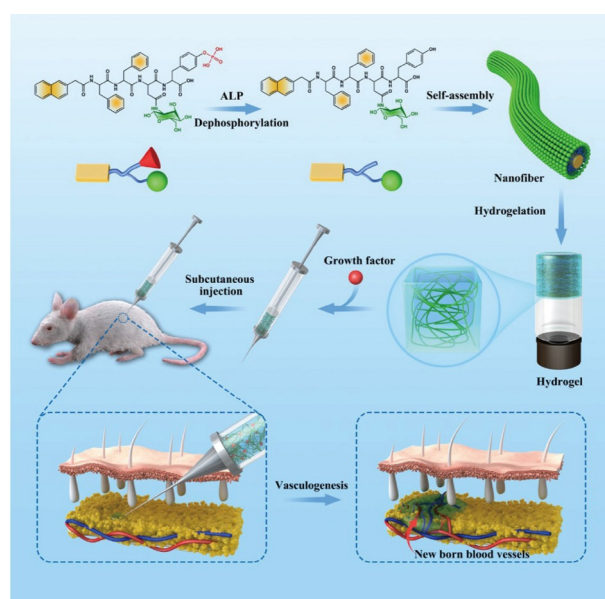


图5 糖肽分子的分子结构及其自组装过程以生成超分子水凝胶, 可用于在体内诱导血管生成^[41] (网络版彩图)

Figure 5 Illustration of the molecular structure of a glycopeptide molecule and its self-assembly process for the generation of a supramolecular hydrogel with Glc decoration, which could be exploited for inducing angiogenesis *in vivo*. Reproduced with permission from Ref. [41]. Copyright@2018, American Chemical Society (color online).

并引入非共价相互作用或动态化学键来制备超分子水凝胶, 所制备的水凝胶也可同时具备动态力学性能和独特的生化性能, 但是这类材料性能受聚合物主链性能的影响较大, 包括主链的生物相容性、生物降解性、水溶性、合成复杂程度等, 他们在组织工程领域的应用例子还较少。

因此, 通过设计体系中糖分子的结构和改变条件, 可实现对亲疏水作用、氢键作用、立体化学、 π - π 堆叠作用等非共价相互作用的调整, 制备出一系列基于分子自组装的糖超分子水凝胶; 通过调整体系内部一系列可逆相互作用强度, 可筛选出强度适合于模拟特定ECM的水凝胶支架, 并值得进一步推动这些超分子水凝胶对细胞的黏附、增殖、分化等行为的深入研究。

3 糖超分子水凝胶模拟ECM性能

一些研究将脱细胞组织中提取的细胞外基质作为支架与细胞结合, 来获得具有良好生物相容性的组织工程支架^[50], 但这类材料来源有限、成分不明确并且

存在批次差异, 阻碍了其在临床的广泛应用和发展^[51]. 因此具有明确组分的合成或天然水凝胶是目前组织工程和模拟ECM基质等生物医学应用的主要载体材料. 但是共价交联下形成的经典静态水凝胶网络会限制细胞与周围空间的持续相互作用, 导致细胞受限的生存环境(图6)^[13]. 因此, 设计具备动态力学性能的水凝胶会更符合模拟ECM的要求, 从而更好地引导细胞行为和和组织再生^[52]. 超分子水凝胶由于内部的非共价相互作用具有独特的动态力学性能, 聚合物网络通过可逆键的解离和再结合被局部和暂时地分解和修复, 从而在保持水凝胶长期完整性的同时实现各种细胞功能. 前文已经总结了各种糖超分子水凝胶的设计方法, 尽管具有与ECM相似的组成成分, 这类水凝胶往往具有良好的生物相容性, 但在制备出仿ECM基质的超分子水凝胶的基础之上, 我们仍有许多需要进一步考虑的关键点, 如对于ECM功能的仿生. 本节将主要讨论糖超分子水凝胶在组织工程应用中所需要实现的关键性能, 包括合适的力学性能、生化性能调节细胞行为, 以及材料对免疫微环境的调节.

3.1 力学性能转导机械信号

天然ECM和许多组织器官如肝脏、大脑、软骨等一样具有明显的黏弹性, 并表现出应力松弛等特性. 这些动态特性使ECM能够响应性存储或释放细胞产生的牵引力, 并将外部机械力传递给细胞^[12]. 因此基质的黏弹性可显著影响细胞的行为和功能. 例如, 研究证明更快的应力松弛可以显著促进由软骨细胞形成的、相互连接的软骨基质体积的增加^[53]. 另一项研究也发现通过改变体系中交联剂的亲和度、分子量或浓度可以调节黏弹性, 促进细胞扩散、纤维重塑和黏附形成^[54]. 局部的力学性能也会影响细胞的行为, 有研究发现在超分子水凝胶中掺入丙烯酸基纳米颗粒可以创造区域刚性的网络结构, 在不影响适应性水凝胶网络的动态特性的前提下, 这种具有局部硬化网络的动态水凝胶可以促进骨缺损的原位再生^[55]. 然而, 普通的水凝胶一般不能具备这些重要的特征, 他们通常是弹性的, 这不仅限制了聚合物链在水凝胶中的运动, 降低了水凝胶的柔韧性, 被包裹在这些水凝胶中的细胞的许多功能也同样被阻止. 因此, 用于组织工程的超分子水凝胶需要进行精巧设计, 重视支架材料的微观力学性能如黏弹性等, 从而获得与ECM相适配的动

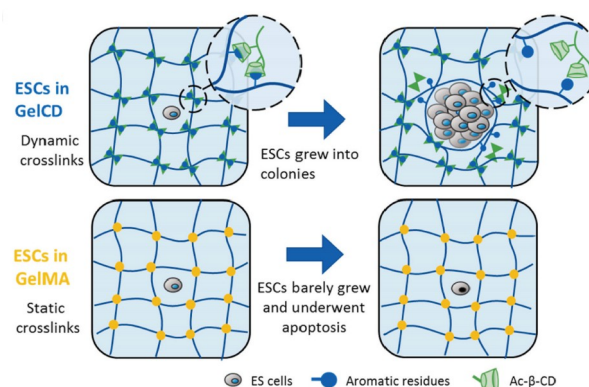


图6 主-客体交联明胶基(GelCD)水凝胶的动态网络可以适应胚胎干细胞(mESC)生长下的大体积膨胀, 而甲基丙烯酸明胶(GelMA)水凝胶中静态和密集的共价交联限制了mESC的生长^[13] (网络版彩图)

Figure 6 Schematic illustration of the hypothesis that the dynamic network of GelCD hydrogels can accommodate the substantial volumetric expansion associated with mESC colony growth, while the static and dense covalent crosslinks in GelMA hydrogels restrict the growth of mESC colonies. Reproduced with permission from Ref. [13]. Copyright@2022, Elsevier (color online).

态力学特性, 才能更好地调节细胞的行为和功能, 给细胞传递正确的机械信号^[56].

除了与细胞紧密相关的微观黏弹性, 水凝胶宏观的力学性能也十分重要, 这需要支架材料的强度能够与周围的组织相适配. 例如, 一些由ECM基质蛋白形成的非共价交联水凝胶虽然具有黏弹性, 但它们往往具有较差的整体力学性能, 限制了它们在高强度组织工程中的应用, 如软骨的修复等^[57]. 在血管再生应用中支架的力学性能同样关键. 例如, 针对小直径血管的再生, 开发出的中空组织工程支架需要其具有和天然血管相似的力学强度来承受一定的爆破压和血管扩张和收缩的动作, 利用共混其他网络增强的多糖水凝胶支架就可以很好地重建静脉和动脉样组织^[4,58]. 无论是天然多糖衍生的超分子水凝胶还是糖分子组装形成的超分子水凝胶, 由于较弱的相互作用和柔性的聚合物链, 这类水凝胶的整体力学强度相对偏弱. 为了获得具有合适力学性能的超分子水凝胶材料, 可利用糖的侧链基团引入多种非共价或共价相互作用, 或者共混其他网络来改善力学性能^[58], 也可复合另一种高强度支架作为框架填充物^[57]等来保证支架的整体强度, 使最终的水凝胶材料具有局部力学性能和整体稳定性的微妙平衡, 能够支持细胞在整个愈合过程中的

生长, 同时以最佳速度降解, 使细胞随着时间的推移逐渐取代支架材料。

3.2 生化特性调控细胞行为

糖是一种与核酸、蛋白质并列的重要生物大分子, 独特的生化特性使其可通过不同的生化线索影响细胞行为, 诱导直接或间接的细胞-支架相互作用, 并实现对细胞行为的有效调控^[16]。一些天然多糖具有内在的生化特性, 如透明质酸可与细胞表面的CD44和CD168受体结合^[59]、硫酸肝素可与各种蛋白质配体结合^[60]等。由于多糖衍生的支架可继承上述的生化特性, 在组织工程中引起了极大的关注。例如, 与惰性聚乙二醇水凝胶相比, 具有CD44结合作用的透明质酸水凝胶可促进干细胞向软骨分化^[61]。糖超分子水凝胶除了可直接与细胞表面受体结合来介导细胞行为, 也可通过接枝的功能肽或生长因子来介导细胞行为^[62,63]。多糖丰富的侧链基团可进行功能化以实现间接的调控作用, 如在侧链上接枝蛋白衍生的RGD肽可支持细胞黏附^[64]; 修饰硫酸化基团于天然非硫酸化多糖中, 可模拟硫酸肝素的结构和功能^[65]等。研究发现, 将Wnt5a模拟配体(Foxy5肽)固定在修饰了RGD肽的透明质酸基水凝胶上, 可激活Wnt信号并增强细胞内钙水平、肌球蛋白收缩性和细胞黏附性, 强调了RGD与这些次级功能肽共存的协同效应, 有助于丰富多糖衍生超分子水凝胶支架的复杂性^[66]。

对于小分子组装形成的超分子水凝胶, 其生化特性的调节可通过在纳米纤维表面呈现不同的糖结构或通过调整纳米纤维表面不同生物活性基团来实现。例如, 富含葡萄糖基团和羧基的糖肽水凝胶是透明质酸分子与CD44受体相互作用的良好模拟物, 可用于干细胞的软骨再生^[67]。这种自组装形成的纳米纤维表面含有的生物活性基团包括糖、羧基、氨基等都是调节干细胞分化的关键因素, 需要进行仔细地设计和对比, 从而获得合适的水凝胶材料。但目前研究糖自组装形成的超分子水凝胶对细胞行为生化调控的例子仍然较少, 需要更多研究来推进。因此, 基于糖内在生化性能介导与细胞表面受体的直接相互作用, 或运用生物活性物质如修饰功能化基团或者偶联功能肽介导与细胞间接的相互作用, 都可以赋予超分子水凝胶所需要的各种生物功能和生物活性, 实现对细胞行为的有效调控。

3.3 成分组成调节免疫反应

外来的支架材料在进入体内后会刺激宿主发生免疫反应, 尽管支架材料的成分尽量做到接近天然组织, 最大限度地减少免疫反应, 但是异体材料引起的免疫反应仍然难以忽视。传统的原则是减少免疫反应的“免疫友好”, 近年来生物材料的设计开始关注免疫微环境调节即“免疫调节”, 着手利用免疫细胞来促进受损组织的修复。免疫细胞, 主要是巨噬细胞在材料植入后会向M1或M2亚型极化, 分别表现出促炎反应或抗炎反应, 其分泌的各种化学成分可调节微环境并与细胞相互作用, 在组织再生中发挥至关重要的作用。例如, 研究将RADA 16肽接到葡甘露聚糖(GM-RADA16)上自组装形成的纤维糖肽水凝胶可以诱导巨噬细胞向M2极化并与间充质干细胞串扰进一步增强成骨分化, 从而获得更优异的颅骨修复效果^[68]。这种具有骨免疫调节功能的糖肽水凝胶可以诱导与正常颅骨类似的修复性微环境, 其特征是抗炎M2巨噬细胞和成骨细胞的成百分比增加, 以及高水平的血管化(图7)。通过免疫调节的手段, 水凝胶支架也可以促进神经再生以实现脊髓损伤的再生, 由于仿ECM的组成成分, 其同样可以调节巨噬细胞的浸润和极化, 将招募的巨噬细胞诱导为M2表型, 从而加速炎症状态从促炎到抗炎转变, 实现对神经损伤的修复和再生^[4,69-72]。总之, 这类材料

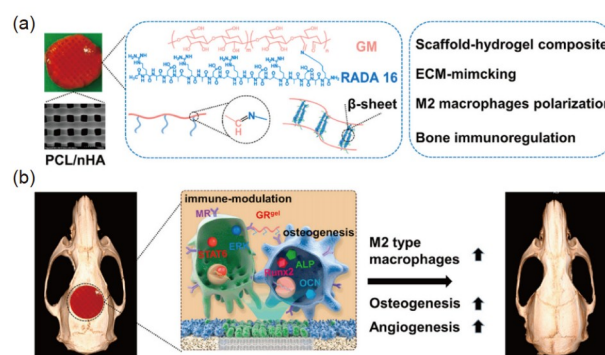


图7 用于骨缺损修复的PH@GRgel植入物的制备及功能示意图。(a) ECM启发的GM-RADA16水凝胶与PCL/nHA支架组成。(b) 该支架通过介导免疫调节和局部组织微环境显著促进颅骨缺损的体内再生^[68] (网络版彩图)

Figure 7 Diagram of the preparation and function of PH@GRgel implant for bone defect repair. ECM-inspired GM-RADA16 hydrogel was composited with PCL/nHA scaffold (a), which significantly promoted *in vivo* regeneration of skull defect by GR-mediated immune-modulation and RADA16-induced osteogenesis in the local tissue microenvironment (b). Reproduced with permission from Ref. [68]. Copyright@2022, Elsevier (color online).

可通过对免疫微环境的调节, 实现对多种损伤再生部位生态的优化, 达到更好的修复效果. 巨噬细胞向M1或M2极化分别会介导促炎或抗炎反应, 这对于不同阶段下的组织修复十分重要, 也需要更多的机理研究来帮助理解这类组织工程支架免疫调节能力的来源. 这种具备免疫调节能力的超分子水凝胶或将成为未来更智能的自适应生物材料, 创造可愈合、修复和再生的微环境.

当然, 除了以上提到的几个水凝胶关键性能, 针对不同的应用, 支架的透明度、孔隙率、孔隙大小、抗菌性、细胞穿透能力和生物降解性等都是影响其生物医学应用的重要参数^[73~75].

4 总结与展望

基于非共价交联形成的超分子水凝胶由于可逆的相互作用, 可赋予材料独特的动态性, 其内部动态网络结构不会限制细胞-基质和细胞-细胞之间的相互作用, 是极有潜力的能够模拟ECM动态性能的载体材料. 糖是天然ECM的主要组成成分, 因此糖超分子水凝胶或能更好地模仿天然ECM的基质和功能. 利用天然多糖丰富的侧链基团, 通过调整和设计体系内部的主-客体作用、 π - π 堆积作用、氢键作用、疏水作用、糖-芳香作用等, 可获得动态性能可调的超分子水凝胶材料; 通过对糖分子的精确设计, 利用糖基化、酶促组装等诱导分子自组装也可实现对超分子水凝胶精准的时空调

控, 从而适应更为复杂的应用场景. 这种糖超分子水凝胶在模拟ECM基质中具有独特的优势. 同时, 糖超分子水凝胶在组织工程的应用中仍有许多性能需要关注, 来更好地模拟ECM的相关功能, 包括局部的黏弹性、整体的力学强度和组织的适配性、生化特性调节细胞行为以及对免疫微环境的调节等.

天然ECM具有分层的复杂结构, 包括强韧的胶原蛋白纤维和分散在纤维间的基质如糖胺聚糖等, 其中胶原纤维能提供机械性能和强度, 纤维间基质能保留水分和提供黏弹性, 因此未来的超分子水凝胶材料还需要更精准地模拟这种复杂的层次结构. 一方面, 目前的这些软水凝胶机械性能普遍较弱, 需要复合更硬的支架来满足应用需求, 如可以考虑复合目前新兴的三维(3D)打印支架在满足强度时同步进行定制化的复杂层次设计; 另一方面, 目前仍需要更多的研究来探索这些动态水凝胶对细胞行为包括黏附、增殖分化等的影响, 尤其是在免疫微环境调节和组织再生修复中的应用. 此外, 动态是天然组织的一个重要标志, 设想未来的生物材料应可做到更加“智能化”, 不仅能够对各种外加刺激做出反应, 还能够对支架环境中各种生化和物理变化自发做出适应, 即对环境的自适应性, 从而在可控的时间内控制药物释放和生物因子释放等. 目前超分子水凝胶材料虽然被广泛研究, 但是很多水凝胶材料仍局限于在体外进行评估, 需要进一步推动这些超分子水凝胶在体内应用的测试, 从而最终实现组织工程支架对损伤组织的修复或完全替代.

参考文献

- 1 O'Brien FJ. *Mater Today*, 2011, 14: 88-95
- 2 Naahidi S, Jafari M, Logan M, Wang Y, Yuan Y, Bae H, Dixon B, Chen P. *Biotechnol Adv*, 2017, 35: 530-544
- 3 Saldin LT, Cramer MC, Velankar SS, White LJ, Badylak SF. *Acta Biomater*, 2017, 49: 1-15
- 4 Liu S, Yu JM, Gan YC, Qiu XZ, Gao ZC, Wang H, Chen SX, Xiong Y, Liu GH, Lin SE, McCarthy A, John JV, Wei DX, Hou HH. *Military Med Res*, 2023, 10: 16
- 5 Xing H, Lee H, Luo L, Kyriakides TR. *Biotechnol Adv*, 2020, 42: 107421
- 6 Lou J, Stowers R, Nam S, Xia Y, Chaudhuri O. *Biomaterials*, 2018, 154: 213-222
- 7 Frantz C, Stewart KM, Weaver VM. *J Cell Sci*, 2010, 123: 4195-4200
- 8 Liu Q, Zheng S, Ye K, He J, Shen Y, Cui S, Huang J, Gu Y, Ding J. *Biomaterials*, 2020, 263: 120327
- 9 Bertozzi CR, Kiessling LL. *Science*, 2001, 291: 2357-2364
- 10 Su L, Feng Y, Wei K, Xu X, Liu R, Chen G. *Chem Rev*, 2021, 121: 10950-11029
- 11 Yao D, Li M, Wang T, Sun F, Su C, Shi T. *ACS Biomater Sci Eng*, 2021, 7: 636-647
- 12 Zhang K, Feng Q, Fang Z, Gu L, Bian L. *Chem Rev*, 2021, 121: 11149-11193

- 13 xu X, Feng Q, Ma X, Deng Y, Zhang K, Ooi HS, Yang B, Zhang ZY, Feng B, Bian L. *Biomaterials*, 2022, 289: 121802
- 14 Busseron E, Ruff Y, Moulin E, Giuseppone N. *Nanoscale*, 2013, 5: 7098–7140
- 15 Wang Y, Sun S, Wu P. *Adv Funct Mater*, 2021, 31: 2101494
- 16 Freudenberg U, Liang Y, Kiick KL, Werner C. *Adv Mater*, 2016, 28: 9013
- 17 Qiao Z, Lv X, He S, Bai S, Liu X, Hou L, He J, Tong D, Ruan R, Zhang J, Ding J, Yang H. *Bioactive Mater*, 2021, 6: 2829–2840
- 18 Liu R, Zhang R, Li L, Kochovski Z, Yao L, Nieh MP, Lu Y, Shi T, Chen G. *J Am Chem Soc*, 2021, 143: 6622–6633
- 19 Liang Y, Xu H, Li Z, Zhangji A, Guo B. *Nano-Micro Lett*, 2022, 14: 185
- 20 Liu W, Gao R, Yang C, Feng Z, Ouyang W, Pan X, Huang P, Zhang C, Kong D, Wang W. *Sci Adv*, 2022, 8: eabn7006
- 21 Sadjadi Z, Zhao R, Hoth M, Qu B, Rieger H. *Biophys J*, 2020, 119: 2141–2152
- 22 Zhao W, Li Y, Zhang X, Zhang R, Hu Y, Boyer C, Xu FJ. *J Control Release*, 2020, 323: 24–35
- 23 Cao C, Yang N, Zhao Y, Yang D, Hu Y, Yang D, Song X, Wang W, Dong X. *Nano Today*, 2021, 39: 101165
- 24 Rosales AM, Rodell CB, Chen MH, Morrow MG, Anseth KS, Burdick JA. *Bioconjugate Chem*, 2018, 29: 905–913
- 25 Tong C, Wondergem JAJ, Heinrich D, Kieltyka RE. *ACS Macro Lett*, 2020, 9: 882–888
- 26 Rodell CB, Kaminski AL, Burdick JA. *Biomacromolecules*, 2013, 14: 4125–4134
- 27 Wei K, Zhu M, Sun Y, Xu J, Feng Q, Lin S, Wu T, Xu J, Tian F, Xia J, Li G, Bian L. *Macromolecules*, 2016, 49: 866–875
- 28 Li Y, Li L, Li Y, Feng L, Wang B, Wang M, Wang H, Zhu M, Yang Y, Waldorff EI, Zhang N, Viohl I, Lin S, Bian L, Lee WYW, Li G. *Bioactive Mater*, 2023, 22: 312–324
- 29 Wu T, Zhang X, Liu Y, Cui C, Sun Y, Liu W. *Bioactive Mater*, 2023, 21: 20–31
- 30 Smith LJ, Taimoory SM, Tam RY, Baker AEG, Bintah Mohammad N, Trant JF, Shoichet MS. *Biomacromolecules*, 2018, 19: 926–935
- 31 Sun P, Huang T, Wang X, Wang G, Liu Z, Chen G, Fan Q. *Biomacromolecules*, 2020, 21: 556–565
- 32 Tsuzuki T, Kabumoto M, Arakawa H, Ikeda M. *Org Biomol Chem*, 2017, 15: 4595–4600
- 33 Chalard A, Vaysse L, Joseph P, Malaquin L, Souleille S, Lonetti B, Sol JC, Loubinoux I, Fitremann J. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2018, 10: 17004–17017
- 34 Liu Y, Zhang Y, Wang Z, Wang J, Wei K, Chen G, Jiang M. *J Am Chem Soc*, 2016, 138: 12387–12394
- 35 Wang H, Liu Z, An C, Li H, Hu F, Dong S. *Adv Sci*, 2020, 7: 2001264
- 36 Liu J, Sun Z, Yuan Y, Tian X, Liu X, Duan G, Yang Y, Yuan L, Lin HC, Li X. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2016, 8: 6917–6924
- 37 He C, Wu S, Liu D, Chi C, Zhang W, Ma M, Lai L, Dong S. *J Am Chem Soc*, 2020, 142: 17015–17023
- 38 Shi J, Fichman G, Schneider JP. *Angew Chem Int Ed*, 2018, 57: 11188–11192
- 39 Bah A, Vernon RM, Siddiqui Z, Krzeminski M, Muhandiram R, Zhao C, Sonenberg N, Kay LE, Forman-Kay JD. *Nature*, 2015, 519: 106–109
- 40 Chen Y, Zhang W, Ding Y, Liang C, Shi Y, Hu ZW, Wang L, Yang Z. *Sci China Chem*, 2021, 64: 1554–1559
- 41 Qi J, Yan Y, Cheng B, Deng L, Shao Z, Sun Z, Li X. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2018, 10: 6180–6189
- 42 Martinez MJ, Farias ME, Pilosof AMR. *Food Hydrocolloids*, 2011, 25: 860–867
- 43 Chen H, Cheng J, Cai X, Han J, Chen X, You L, Xiong C, Wang S. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2022, 14: 18120–18132
- 44 Feng Z, Su Q, Zhang C, Huang P, Song H, Dong A, Kong D, Wang W. *Adv Funct Mater*, 2020, 30: 2006454
- 45 Li Z, Wang H, Zhang K, Yang B, Xie X, Yang Z, Kong L, Shi P, Zhang Y, Ho YP, Zhang ZY, Li G, Bian L. *Bioactive Mater*, 2022, 13: 9–22
- 46 Yang X, Yang B, Deng Y, Xie X, Qi Y, Yan G, Peng X, Zhao P, Bian L. *Adv Mater*, 2023, 35: 2300636
- 47 Wang C, Gao X, Zhang F, Hu W, Gao Z, Zhang Y, Ding M, Liang Q. *Small*, 2022, 18: e2200336
- 48 Lange SC, Unsleber J, Drucker P, Galla HJ, Waller MP, Ravoo BJ. *Org Biomol Chem*, 2015, 13: 561–569
- 49 Zhang J, Yang H, Abali BE, Li M, Xia Y, Haag R. *Small*, 2019, 15: e1901920
- 50 Spang MT, Middleton R, Diaz M, Hunter J, Mesfin J, Banka A, Sullivan H, Wang R, Lazerson TS, Bhatia S, Corbitt J, D’Elia G, Sandoval-Gomez G, Kandell R, Vratsanos MA, Gnanasekaran K, Kato T, Igata S, Luo C, Osborn KG, Gianneschi NC, Eniola-Adefeso O, Cabrales P, Kwon EJ, Contijoch F, Reeves RR, DeMaria AN, Christman KL. *Nat Biomed Eng*, 2023, 7: 94–109
- 51 Lee SW, Lee HJ, Hwang HS, Ko K, Han DW, Ko K. *anim Cells Syst*, 2015, 19: 175–180
- 52 Liu T, van den Berk L, Wondergem JAJ, Tong C, Kwakernaak MC, Braak B, Heinrich D, van de Water B, Kieltyka RE. *Adv Healthcare Mater*, 2021, 10: 2001903
- 53 Chaudhuri O, Gu L, Klumpers D, Darnell M, Bencherif SA, Weaver JC, Huebsch N, Lee HP, Lippens E, Duda GN, Mooney DJ. *Nat Mater*,

- 2016, 15: 326–334
- 54 Shi L, Carstensen H, Hölzl K, Lunzer M, Li H, Hilborn J, Ovsianikov A, Ossipov DA. *Chem Mater*, 2017, 29: 5816–5823
- 55 Yuan W, Wang H, Fang C, Yang Y, Xia X, Yang B, Lin Y, Li G, Bian L. *Mater Horiz*, 2021, 8: 1722–1734
- 56 Tong C, Wondergem JAJ, van den Brink M, Kwakernaak MC, Chen Y, Hendrix MMRM, Voets IK, Danen EHJ, Le Dévédec S, Heinrich D, Kieltyka RE. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2022, 14: 17042–17054
- 57 Zhang Q, Xu Z, Zhang X, Liu C, Yang R, Sun Y, Zhang Y, Liu W. *Adv Funct Mater*, 2022, 32: 2200360
- 58 Wang D, Maharjan S, Kuang X, Wang Z, Mille LS, Tao M, Yu P, Cao X, Lian L, Lv L, He JJ, Tang G, Yuk H, Ozaki CK, Zhao X, Zhang YS. *Sci Adv*, 2022, 8: eabq6900
- 59 López-Ruiz E, Jiménez G, Álvarez de Cienfuegos L, Antich C, Sabata R, Marcha JA, Gálvez-Martín P. *Eur Cells Mater*, 2019, 37: 186–213
- 60 Weiss RJ, Esko JD, Tor Y. *Org Biomol Chem*, 2017, 15: 5656–5668
- 61 Bian L, Guvendiren M, Mauck RL, Burdick JA. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 10117–10122
- 62 Noel S, Fortier C, Murschel F, Belzil A, Gaudet G, Jolicoeur M, De Crescenzo G. *Acta Biomater*, 2016, 37: 69–82
- 63 Wu L, Zhang Y, Li Z, Yang G, Kochovski Z, Chen G, Jiang M. *J Am Chem Soc*, 2017, 139: 14684–14692
- 64 Song H, Fan Y, Hu Y, Cheng G, Xu F. *Adv Funct Mater*, 2021, 31: 2005978
- 65 Feng Q, Lin S, Zhang K, Dong C, Wu T, Huang H, Yan X, Zhang L, Li G, Bian L. *Acta Biomater*, 2017, 53: 329–342
- 66 Li R, Lin S, Zhu M, Deng Y, Chen X, Wei K, Xu J, Li G, Bian L. *Sci Adv*, 2019, 5: eaaw3896
- 67 Ustun Yaylaci S, Sardan Ekiz M, Arslan E, Can N, Kilic E, Ozkan H, Orujalipoor I, Ide S, Tekinay AB, Guler MO. *Biomacromolecules*, 2016, 17: 679–689
- 68 Wang Y, Wang J, Gao R, Liu X, Feng Z, Zhang C, Huang P, Dong A, Kong D, Wang W. *Biomaterials*, 2022, 285: 121538
- 69 Yang J, Yang K, Man W, Zheng J, Cao Z, Yang CY, Kim K, Yang S, Hou Z, Wang G, Wang X. *Bioactive Mater*, 2023, 25: 160–175
- 70 Chen Y, Long X, Lin W, Du B, Yin H, Lan W, Zhao D, Li Z, Li J, Luo F, Tan H. *J Mater Chem B*, 2021, 9: 322–335
- 71 Wang Y, Yan Z, Liu W, Liu C, Xu N, Wu Y, Sun F, Wang X, Qian Y, Jiang L, Sun X. *Adv Healthcare Mater*, 2022, 11: e2201596
- 72 Prest TA, Yeager E, LoPresti ST, Zygelyte E, Martin MJ, Dong L, Gibson A, Olutoye OO, Brown BN, Cheetham J. *J BioMed Mater Res*, 2018, 106: 450–459
- 73 Kong B, Chen Y, Liu R, Liu X, Liu C, Shao Z, Xiong L, Liu X, Sun W, Mi S. *Nat Commun*, 2020, 11: 1435
- 74 Ghalei S, Douglass M, Handa H. *ACS Biomater Sci Eng*, 2022, 8: 273–283
- 75 Hu C, Liu W, Long L, Wang Z, Zhang W, He S, Lu L, Fan H, Yang L, Wang Y. *Biomaterials*, 2022, 290: 121849

Research progress of glycan-based supramolecular hydrogels in tissue engineering

Xinyu Bian¹, Chendi Gao^{1*}, Liming Bian², Guosong Chen^{1*}

¹ The State Key Laboratory of Molecular Engineering of Polymers, Department of Macromolecular Science, Fudan University, Shanghai 200433, China

² Key Laboratory of Biomedical, Materials and Engineering of the Ministry of Education, South China University of Technology, Guangzhou 510006, China

*Corresponding authors (email: guosong@fudan.edu.cn; 17110440002@fudan.edu.cn)

Abstract: The general strategy of tissue engineering is to use bioactive scaffolds as artificial extracellular matrix (ECM) to support cell survival and functions to repair and regenerate injured tissues. Glycans are the major component of ECM, and the matrix and information properties of glycans make them promising building blocks for fabricating biomaterial scaffolds for tissue engineering. Meanwhile, dynamic hydrogels based on reversible non-covalent interactions have attracted much attention in recent years because they can achieve precise manipulation of the network dynamics of supramolecular hydrogels to simulate the conducive microenvironment required by cells and promote the eventual regeneration of injured tissues. Based on the combination of glycan functions and non-covalent interactions, this review summarizes the design strategies of glycan-based dynamic supramolecular hydrogels inspired by the dynamic structure and functions of ECM and the applications of these hydrogels in the field of tissue engineering.

Keywords: glycan, supramolecular, hydrogel, tissue engineering, extracellular matrix

doi: [10.1360/SSC-2023-0154](https://doi.org/10.1360/SSC-2023-0154)