

- infants caused by hypocalcaemia: a case report and review of the literature [J].
Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2005, 120(1):115-116.
- [20] Al-Wahab S, Munyard P. Functional atrioventricular block in a preterm infant [J]. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed, 2001, 85(3):F220-F221.
- [21] Battiste CE. Prolonged QT interval and 2:1 atrioventricular block [J]. Kans Med, 1993, 94(1):16-19.
- [22] Chang IK, Shyu MK, Lee CN, et al. Prenatal diagnosis and treatment of fetal long QT syndrome: a case report [J]. Prenat Diagn, 2002, 22(13):1209-1212.
- 收稿日期:2015-06-24 修回日期:2015-10-20

聚羟基脂肪酸脂膜的介绍及在心血管方面的应用新进展

许士俊 综述 穆军升 审校

(首都医科大学附属北京安贞医院心外科 心肺血管研究所, 北京 100029)

【摘要】生物制造产业是包括生物燃料、生物材料和生物化学品的产业,也被称为“白色生物技术”。随着石油资源的日益枯竭,国内外一直致力于研究开发可再生资源,因此生物制造产业得到了快速发展的机会。聚羟基脂肪酸脂作为一种生物聚酯,具有优良的生物可降解性、生物相容性、光学特性和气体相隔性等许多优秀性能,是当今生物制造的重点之一,在生物和医学应用方面受到了广泛的关注。现简单介绍聚羟基脂肪酸脂,并综述其在心血管方面的应用新进展。

【关键词】聚羟基脂肪酸脂;心血管;医学;细胞培养

【中图分类号】R318.08;R54

【文献标志码】A

【DOI】10.16806/j.cnki.issn.1004-3934.2016.02.000

Introduction and Application in Cardiovascular of Microbial Polyhydroxyalkanoates

XU Shijun, MU Junsheng

(Department of Cardiac Surgery, Beijing Anzhen Hospital, Capital Medical University, Beijing Institute of Heart, Lung and Blood Vessel Diseases, Beijing 100029, China)

【Abstract】The biomanufacturing industry, also called “white biotechnology” includes biofuels, biomaterials and biochemical. With the exhaustion of oil resources, researchers have been committed to the research and development of renewable resources at home and abroad. Due to this, there has been rapid development in the biomanufacturing industry. Being a family of biopolyesters with biodegradability, biocompatibility and chirality, microbial polyhydroxyalkanoates have become one of the focuses of biomanufacturing today and received much attention in biological and medical applications. In this review, we describe the most recent polyhydroxyalkanoates developments including new applications in cardiovascular field.

【Key words】Polyhydroxyalkanoates; Cardiovascular; Medicine; Cell culture

1 聚羟基脂肪酸脂简介

聚羟基脂肪酸脂 (polyhydroxyalkanoates, PHA) 是一类由细菌在碳源和氮源供应不平衡条件下合成、能够被生物降解、无细胞毒性的热塑性聚酯^[1]。在细菌体内, PHA 的生理功能是作为碳源和能源的储备物质; 在体外, 其应用范围由生物塑料、精细化工原材料和可植入生物材料拓展到药物和生物燃料的原材料^[2]等方面。因其有良好的生物可降解性、可调节的机械性能和组织相容性, PHA 作为支架材料已经广泛

用于组织工程的研究: 包括聚 3-羟基丁酸脂 (PHB)、3-羟基丁酸-3-羟基戊酸共聚酯 (PHBV)、聚 4-羟基丁酸、3-羟基丁酸-3-羟基己酸共聚酯 (PHBHHx) 和聚 3-羟基辛酸在内的 PHA 家族中多个成员已被用于缝线、吊带、心血管补片、骨钉、防粘连膜、内支架、关节软骨支架、神经导管支架、肌腱修复和医用敷料等多个组织工程领域的研究中。

2 PHA 的结构和分类

PHA 具有 159 种单体结构^[3], 其中包括含有

基金项目: 2014 年度北京市朝阳区科技计划项目 (SF1417)

作者简介: 许士俊 (1990—), 在读硕士, 主要从事心肌再生的研究。Email: shijxu116@126.com

通信作者: 穆军升 (1968—), 主任医师, 副教授, 硕士研究生导师, 博士, 主要从事心肌再生的研究。Email: wesleymu@hotmail.com

3~16个C原子的各种饱和、非饱和、支链或非支链的3-羟基、4-羟基、5-羟基、6-羟基脂肪酸,具有脂肪族或芳香族的侧链,也可能具有甲基、卤原子、羟基、环氧基、氰基、羰基、苯基、苯腈基、硝基苯基和酯化羰基等取代基^[4]。根据PHA的单体组成,可将其大致分成以下3类:单体组成在3~5个C原子的PHA称为短链PHA(short chain length PHA, scl-PHA);单体组成在6~16个C原子的PHA称为中长链PHA(medium chain length PHA, mcl-PHA);由短链和中长链单体共聚形成的短链中长链共聚PHA(scl-mcl-PHA)^[5]。

3 PHA 的性能

PHA具有从硬的晶体到软的弹性体等一系列不同聚合物的性质,这主要由其单体组成和单体比例决定的。短链PHA大多数有比较高的结晶度,表现出硬而强的塑料特性;而中长链PHA由于结晶度很低,表现出软而韧的弹性体特征。除了热塑性外,PHA还具有生物可降解性、生物相容性、疏水性、光学异构性、压电性等特殊性能^[6]。与传统石化塑料相比,PHA的最大优势就是其可降解性和生物相容性。因此可作为生物可降解塑料,其优良的生物相容性又使其在生物医学方面得到广泛的应用。

4 PHA 与细胞的相互作用

在2000年的一项研究中,绵羊颈动脉血管细胞被植入由PHA制成的心脏瓣膜多孔支架中,4 d后可见细胞在支架表面完全汇合。表明绵羊颈动脉血管细胞与PHA有着良好的生物相容性^[7]。Prabhakaran等^[8]在2012年的一项研究发现,利用悬滴法培养小鼠胚胎干细胞成为拟胚体,然后接种到PLGA/Col纳米纺丝膜上,经过诱导分化后,可以定向分化为心肌细胞,为心肌再生提供了一种有趣的策略。PHBHHx经过丝素蛋白改性后,水接触角从90°降至51°,表面自由能从37.9 mJ/m²增至57.4 mJ/m²,增加了材料的亲水性,然后与人脐静脉内皮细胞共培养,MTT法细胞活力测定分析表明,改性后的PHBHHx多孔支架更有利于细胞的生长,活力显著高于未改性的PHBHHx支架材料,扫描电镜观察细胞在改性后的多孔支架上生长状态优于在未改性的PHBHHx支架上的生长状态^[8]。Kang等^[9]研究了人成纤维细胞在PHBV膜上的生长情况,研究表明:PHBV膜在经过等离子体辉光放电、聚丙烯酸接枝、聚环氧乙烷链接和胰岛素固定等一系列表面修饰后,材料的水接触角由75°降到33°,人成纤维细胞的增殖速率有了显著提高。科学家们通过研究表明材料的亲水性和疏水性对细胞的生长非常重要,材料较好的细胞相容性需要有合适的亲疏水性;并非亲水性越强,材料的生物相容性越好,与酯酶处理过的PHA表面相比,他们研

究中所用的小鼠成纤维细胞在亲水性更好的透明脂酸包被的PHA表面生长反而较差^[10]。

Deng等^[11]利用盐析的方法制备了PHBHHx/PHB三维多孔支架,将兔关节软骨细胞植入其中,发现软骨细胞在支架上生长情况比在PHB上更好,并且都在接种7 d后达到最大细胞密度,刚接种时,大量的软骨细胞在支架表面生长,7 d后细胞长入支架的空隙内部。在支架表面生长的细胞呈扁平状并形成汇合的多层细胞,在支架内部细胞呈圆球状并聚集成岛样细胞团,而且在28 d的增殖后软骨细胞仍能保持它的形态。You等^[12]在体外条件下进行了人骨髓间质细胞与PHBHHx的生物相容性研究,结果显示PHBHHx与骨髓间质细胞有着良好的相容性并且可能在骨组织工程中有潜在的用途。到目前为止,已研究过的与PHA相互作用的细胞种类有内皮细胞、平滑肌细胞、成纤维细胞、巨噬细胞、软骨细胞、角质细胞、成骨细胞、神经干细胞和间充质干细胞。

5 PHA 作为医疗材料的应用

在过去的很多年中,研究者们一直致力于将PHA应用到医疗材料当中。目前,多种PHA被研究者开发应用到包括诸如修复装置、缝线、维修补丁、绷带、心血管补丁、骨科针、防粘连膜、支架、引导组织修复/再生设备、关节软骨修复支架、神经导管、肌腱修复装置、脊髓支架、人造食管及伤口敷料等方面^[13]。因为具有良好的压电性,PHBHHx被成功的应用于促进骨骼再生。许多研究表明,PHBHHx在神经损伤的修复和人工血管方面的应用也具有巨大的前景^[14]。PHBHHx作为医学植入材料,其最重要的性质为无毒、无免疫刺激性、易降解,且降解产物包括单体和低聚物,甚至可以激活钙离子通道并促进受损组织再生^[15]。Shishatskaya等发现,PHB和PHBV单纤维缝合在长达1年的试验期中没有造成植入区的体内任何不良反应,而且在对于PHBHHx的研究中同样发现了类似的现象^[16]。在美国,以聚4-羟基丁酸为原料生产的可吸收缝线产品已经批准上市,在不久的将来,更多的PHA材料将很快进入临床。

6 PHA 在心血管方面的应用

心血管疾病是全球范围内引起死亡的主要疾病,严重威胁人类的生命和健康。缺陷修补、血管重建往往需要进行外科手术。因此,理想的心血管修补材料需要具有持久性、防退化和感染、无毒、不引起免疫排斥,有较好的可塑性以便适应不同类型、尺寸的心脏和血管。另外还需要能够与周围组织缝合并且避免出血等特点^[17-18]。

临床上所用的心脏瓣膜,包括机械瓣、生物瓣等,属于植入材料,不能随着机体的生长而变化,也不能

修复损伤的组织,只能替代,因此,儿童瓣膜植入患者往往需要多次外科开胸手术,给患者带来极大地创伤^[19]。组织工程学领域致力于研究通过细胞接种在类似心脏瓣膜形状的 PHA 上,形成可生长的、有功能的的心脏瓣膜来替代传统的机械瓣和生物瓣膜^[20]。一些材料已经应用于临床上,包括细胞外基质、聚羟基乙酸、聚乳酸、聚己酸内酯和 PHA,这些材料为细胞的增殖和分化提供了舒适的环境。有研究表明,一些组织工程心脏瓣膜体积随着时间的推移在不断地膨胀。由聚羟基乙酸融合聚 4-羟基丁酸脂制作的三尖瓣膜,在植入体内 2 周后,直径由 19 mm 长到 23 mm,意味着有希望创造一个可以随着身体的生长而生长的心脏瓣膜^[21]。

心脏大血管疾病譬如主动脉夹层等在很多情况下需要植入人工血管,和通常的大直径合成材料相比,小直径植入材料(<6 mm)往往不能完全内皮化,因为存在低流量很快阻塞的问题。针对此类问题,研究者们通过改变 PHA 材料的组成,制作了与自然血管依从性更好的血管,并且已经被 FDA 批准上市使用。通过调整 PHA 单元的组成成分,可以制作具有良好机械性、生物相容性、随时间变化的血管材料,这扩大了组织工程学中 PHA 在心血管方面的应用^[22]。目前,PHA 材料在血管组织工程学方面的应用所面对的主要挑战是匹配不协调。一些方法已经在开发应用解决此类问题,包括诸如利用电纺丝和 3D 打印技术制造具有良好机械性的支架材料^[23]。随着 PHA 表面改性等方法的应用,能够极大地提高 PHA 的生物相容性,并且拓展它们在心血管组织工程方面的应用。

7 结论与展望

许多研究表明,PHA 及其衍生品可以成为非常有用的材料应用到生物医学领域。通过改变它们的单体结构、单元含量以及表面改性,几种单体相互混合,可以得到生物相容性更好、机械强度更高、降解更迅速、可塑性更好的生物医用材料。随着科技的发展,研究的不断深入,有理由相信,在不久的将来,会有更多的 PHA 材料应用到生物医学领域。

[参 考 文 献]

- [1] Hooks DO, Venning-Slater M, Du J, et al. Polyhydroxyalkanoate synthase fusions as a strategy for oriented enzyme immobilisation[J]. *Molecules*, 2014, 19(6):8629-8643.
- [2] Gao X, Chen JC, Wu Q, et al. Polyhydroxyalkanoates as a source of chemicals, polymers, and biofuels[J]. *Curr Opin Biotechnol*, 2011, 22(6):768-774.
- [3] Ciesielski S, Przybylek G. Volatile fatty acids influence on the structure of microbial communities producing PHAs[J]. *Braz J Microbiol*, 2014, 45(2):395-402.
- [4] 陈国强. 微生物聚羟基脂肪酸酯的应用新进展[J]. *中国材料进展*, 2012, 31(2):7-15.
- [5] Andreessen B, Taylor N, Steinbuchel A. Poly(3-hydroxypropionate): a promising alternative to fossil fuel-based materials[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2014, 80(21):6574-6582.
- [6] Phithakrotchanakoon C, Champreda V, Aiba S, et al. Engineered *Escherichia coli* for short-chain-length medium-chain-length polyhydroxyalkanoate copolymer biosynthesis from glycerol and dodecanoate[J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2013, 77(6):1262-1268.
- [7] Sodian R, Sperling JS, Martin DP, et al. Fabrication of a trileaflet heart valve scaffold from a polyhydroxyalkanoate biopolyester for use in tissue engineering[J]. *Tissue Eng*, 2000, 6(2):183-188.
- [8] Prabhakaran MP, Mobarakeh LG, Kai D, et al. Differentiation of embryonic stem cells to cardiomyocytes on electrospun nanofibrous substrates[J]. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 2014, 102(3):447-454.
- [9] Kang IK, Choi SH, Shin DS, et al. Surface modification of polyhydroxyalkanoate films and their interaction with human fibroblasts[J]. *Int J Biol Macromol*, 2001, 28(3):205-212.
- [10] Li G, Li P, Qiu H, et al. Synthesis, characterizations and biocompatibility of alternating block polyurethanes based on P3/4HB and PPG-PEG-PPG[J]. *J Biomed Mater Res A*, 2011, 98(1):88-99.
- [11] Deng Y, Zhao K, Zhang XF, et al. Study on the three-dimensional proliferation of rabbit articular cartilage-derived chondrocytes on polyhydroxyalkanoate scaffolds[J]. *Biomaterials*, 2002, 23(20):4049-4056.
- [12] You M, Peng G, Li J, et al. Chondrogenic differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells on polyhydroxyalkanoate (PHA) scaffolds coated with PHA granule binding protein PhaP fused with RGD peptide[J]. *Biomaterials*, 2011, 32(9):2305-2313.
- [13] Chen GQ, Wu Q. The application of polyhydroxyalkanoates as tissue engineering materials[J]. *Biomaterials*, 2005, 26(33):6565-6578.
- [14] Sakar M, Korkusuz P, Demirbilek M, et al. The effect of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) (PHBHHx) and human mesenchymal stem cell (hMSC) on axonal regeneration in experimental sciatic nerve damage[J]. *Int J Neurosci*, 2014, 124(9):685-696.
- [15] Lu H, Yang Z, Lu X, et al. Biocompatibility of surface modified PHBHHx with rat embryonic neural stem cells[J]. *Sheng Wu Gong Cheng Xue Bao*, 2012, 28(10):1216-1226.
- [16] Qu XH, Wu Q, Zhang KY, et al. In vivo studies of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) based polymers: biodegradation and tissue reactions[J]. *Biomaterials*, 2006, 27(19):3540-3548.
- [17] Masood F, Yasin T, Hameed A. Polyhydroxyalkanoates—what are the uses? Current challenges and perspectives[J]. *Crit Rev Biotechnol*, 2014, 35(4):514-521.
- [18] Diaconescu MR, Costea I, Glod M, et al. Cardiothoracosis: Pathogenic Conjectures, Clinical Aspects and Surgical Approach[J]. *Chirurgia (Bucur)*, 2015, 110(4):333-338.
- [19] Abushaban L, Vel MT, Rathinasamy J, et al. Normal reference ranges for cardiac valve annulus in preterm infants[J]. *Pediatr Cardiol*, 2016, 37(1):112-119.
- [20] Cheung DY, Duan B, Butcher JT. Current progress in tissue engineering of heart valves: multiscale problems, multiscale solutions[J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2015, 15(8):1155-1172.
- [21] Hoerstrup SP, Sodian R, Daebritz S, et al. Functional living trileaflet heart valves grown in vitro[J]. *Circulation*, 2000, 102(19 Suppl 3):I44-I49.
- [22] Wu Q, Wang Y, Chen GQ. Medical application of microbial biopolyesters polyhydroxyalkanoates[J]. *Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol*, 2009, 37(1):1-12.
- [23] Li K, Zhu M, Xu P, et al. Three-dimensionally plotted MBG/PHBHHx composite scaffold for antitubercular drug delivery and tissue regeneration[J]. *J Mater Sci Mater Med*, 2015, 26(2):102.

收稿日期:2015-06-26 修回日期:2015-09-09