

## 基于心肌梗死微环境的生物材料响应设计

汪意人<sup>1</sup> 韩虎魁<sup>1,2</sup> 程攀科<sup>1,2</sup> 李刚<sup>1,2</sup> 陶剑虹<sup>1,2</sup>

(1. 电子科技大学医学院, 四川 成都 611731; 2. 四川省医学科学院·四川省人民医院心血管内科, 四川 成都 610072)

**【摘要】** 生物材料为梗死后的心肌组织提供支撑作用,并可携带药物、生长因子和细胞等促进梗死区域内细胞的增殖和分化,现已成为治疗心肌梗死的热点。微环境响应的功能化生物材料较传统药物递送系统具有更好的靶向性和药物控释性。心肌梗死后微环境的变化可作为智能生物材料的触发和控释条件,如 pH 下降、活性氧堆积和炎症细胞聚集等。现对心肌梗死后触发和调控智能生物材料的微环境因素进行综述。

**【关键词】** 生物材料;心肌梗死;靶向递送系统;微环境

**【DOI】**10.16806/j.cnki.issn.1004-3934.2023.12.012

## Design of Biomaterials Based on Myocardial Infarction Microenvironment Response

WANG Yiren<sup>1</sup>, HAN Hukui<sup>1,2</sup>, CHENG Panke<sup>1,2</sup>, LI Gang<sup>1,2</sup>, TAO Jianhong<sup>1,2</sup>

(1. Medical School, University of Electronic Science and Technology of China, Chengdu 611731, Sichuan, China; 2. Department of Cardiology, Sichuan Academy of Medical Sciences & Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu 610072, Sichuan, China)

**【Abstract】** Biomaterials provide support for myocardial tissue after infarction, and can load drugs, growth factors and cells to promote the proliferation and differentiation of cells in the infarct area, which has become a hot spot in the treatment of myocardial infarction. Functionalized biomaterials respond to changes in the microenvironment with better targeted and controlled drug release than traditional drug delivery systems. Changes in the microenvironment after myocardial infarction can be used as trigger conditions for smart biomaterials, such as pH decrease, reactive oxygen species accumulation, and inflammatory cell aggregation. This review provide an overview of the microenvironmental factors that trigger and regulate smart biomaterials after myocardial infarction.

**【Key words】** Biomaterials; Myocardial infarction; Targeted delivery system; Microenvironment

心肌梗死(myocardial infarction, MI)引发局部酸中毒、氧化应激反应,活性氧(reactive oxygen species, ROS)生成过多和抗氧化能力减弱,引发溶酶体破裂释放蛋白酶,最终导致心肌坏死。坏死的心肌细胞诱发强烈的无菌性炎症反应,大量炎症细胞在 MI 区域聚集并释放炎症介质加重心肌损伤<sup>[1]</sup>。对环境敏感的生物材料,其理化性质会随着微环境的改变而变化。物理刺激和化学刺激可改变生物材料分子间的能量级别,实现能级跃迁或分子空间构象改变,从而调节生物材料的理化性质<sup>[2]</sup>。基于生物材料的智能递送系统保护其所装载的治疗因子免受血流冲刷和蛋白酶的破坏,提高了治疗效率。响应局部微环境的生物材料靶向定植于治疗区域或通过局部微环境反应控释治疗因子浓度进一步促进心肌修复。通常将适

应微环境的反应器与生物材料有机结合以实现生物材料响应微环境的能力。

### 1 MI 组织微环境

#### 1.1 炎症细胞与炎症介质

心肌细胞坏死后释放损伤相关分子模式,通过树突状细胞介导 T 细胞免疫反应启动无菌性炎症反应。树突状细胞是体内最强大的抗原提呈细胞,是连接固有免疫与获得性免疫间的桥梁。随后中性粒细胞、单核细胞和巨噬细胞等炎症细胞通过细胞膜表面受体感知趋化因子并向梗死组织移动聚集<sup>[3]</sup>。浸润的免疫细胞释放炎症介质吞噬坏死细胞和细胞碎片,为心肌修复创造必要条件。炎症细胞通过细胞表面特异性受体介导细胞内外信号转导,与炎症介质白细胞介素-1 和肿瘤坏死因子- $\alpha$  间存在正反馈调节,导致炎症

反应持续暴发,最终延缓愈合<sup>[4]</sup>。此外中性粒细胞介导呼吸暴发产生大量的 ROS 加重损伤。

## 1.2 基质金属蛋白酶

心肌细胞周围大分子物质构成细胞外基质 (extracellular matrix, ECM), 如黏结蛋白聚糖、胶原蛋白。ECM 除为细胞提供支撑作用外, 还通过周围细胞表面受体介导信号传递参与控制细胞的生长、极性分化和迁移。梗死组织内白细胞介素-1、肿瘤坏死因子- $\alpha$  等炎症介质是刺激基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase, MMP) 表达的强烈信号, MMP 是梗死组织重建 ECM 重要的蛋白酶。MMP 不同成员具有不同功能, 其表达与心肌愈合进程密切相关。MMP8/9 协同中性粒细胞清除坏死组织, 并在一定程度上增强中性粒细胞的分化, MMP2 放大炎症反应信号通路扩大梗死面积<sup>[5]</sup>。MMP 是一类蛋白水解酶, 化学性质为蛋白质。其催化结构依赖酶活性中心  $Zn^{2+}$  的激活从而参与酶促反应。MMP 不同成员的表达和活性随时间动态变化, 炎症介质持续释放或 MMP 的蓄积最终将导致心肌纤维化。

## 1.3 酸中毒和电解质紊乱

心肌细胞氧份依赖冠状动脉持续的血流灌注, MI 时心肌细胞有氧代谢受到抑制, 因此无氧代谢成为 MI 区腺苷三磷酸的唯一来源<sup>[6]</sup>。无氧代谢使大量乳酸等酸性代谢废物堆积, 导致细胞内酸中毒、pH 下降, 加重线粒体氧化磷酸化障碍和心肌细胞死亡, 增加患者死亡率。腺苷三磷酸依赖  $Na^+$ - $Ca^{2+}$  交换体, 因缺乏能量失活导致细胞内  $Ca^{2+}$  超载, 引起细胞内离子紊乱, 介导心肌缺血再灌注损伤<sup>[7]</sup>。pH 下降快速激活  $Na^+$ - $H^+$  交换体, 将细胞内  $H^+$  转移至细胞外, 同时引起细胞内  $Na^+$  升高, 进而激活  $Na^+$ - $Ca^{2+}$  交换体进一步升高细胞内  $Ca^{2+}$  浓度<sup>[8]</sup>。而细胞外  $H^+$  浓度升高增加细胞内  $K^+$  与细胞外  $H^+$  交换, 引起细胞外  $K^+$  过高。细胞内外酸碱失衡和离子代谢紊乱引起细胞膜通透性升高, 加剧细胞内外物质交换障碍, 导致细胞肿胀、死亡, 最终增加心律失常和心力衰竭的发生。

## 1.4 氧化应激反应

MI 激活氧化应激反应导致体内氧自由基生成过多, 造成 ROS 的增多与体内抗氧化系统失衡, 进而加重心肌组织损伤。线粒体是细胞氧化磷酸化反应的主要场所, 也是 ROS 产生的主要场所。ROS 是体内梗死组织内主要氧化剂, 包括超氧阴离子、过氧化氢、脂质自由基等。氧化应激反应的激活造成细胞膜和细胞器膜的流动性降低, 阻碍细胞内外的物质转运, 加剧能量代谢障碍, 最后引起线粒体和细胞的进一步减少<sup>[9]</sup>。此外过氧化氢可通过调节 Smad2/3 和 ERK1/2

等信号分子的表达参与心肌纤维化和心肌细胞凋亡过程<sup>[10]</sup>。此外过氧化氢可作为底物与来源于中性粒细胞的过氧化物酶发生酶促反应损伤心肌。ROS 可加重细胞坏死并启动细胞凋亡程序造成心室壁变薄, 并通过促进间质胶原酶活化和转化生长因子的表达引起 ECM 不规则的降解与合成, 最终导致心室僵硬。

## 1.5 血管管腔压力变化

正常情况下, 血管中血液以层流方式运动, 液体在血管中心处流速最快, 越靠近血管壁的流层流速越慢, 各流层流速矢量为一抛物线<sup>[11]</sup>。血管阻塞部位干扰血流正常运动出现流动再循环和高振荡剪切指数, 血流层内各质点的流动方向不一致, 血流便会在血管腔内出现漩涡形成湍流。血管狭窄处有效横截面积减小、内径减小, 同等血流量被推过较小的横截面积时便会出现血流速度增加, 引起血流层对狭窄血管内壁切应力急剧增加。高血流切应力对血管壁的压迫抑制血管内细胞的增生, 同时抑制 MMP2 活性, 从而导致平滑肌细胞迁移受阻、局部血管内膜增殖<sup>[12]</sup>。增生的内膜沿血管壁不规则蔓延加重血管狭窄, 增加血管阻力, 最终导致慢血流或血管闭塞。

## 2 MI 微环境响应性生物材料

生物材料最初被用于填充梗死区域以提供心室壁厚度和支撑作用, 防止心室扩张或破裂。随着改善心肌组织微环境及空间结构生物材料的出现, 生物材料被证实可以促进细胞的分化和组织再生。因此生物材料作为运载工具和反应平台, 运载和释放治疗因子。为更好地适应微环境, 更重要的是提高治疗的精准性, 靶向生物材料药物递送系统应运而生<sup>[13]</sup>。

### 2.1 温度响应性生物材料

人体温度在不同的病理生理状态下有所不同, 生物材料所处环境温度的变化可实现生物材料在体内的迁移和驻留<sup>[14]</sup>。温度响应性生物材料存在疏水性基团或亲水性基团, 如甲基、乙基、酰胺、羧基等。亲水性基团在低温条件下与水结合膨胀呈液体状态。当环境温度逐渐上升接近人体温度时, 生物材料与水结合逐渐减少进而形成凝胶状态。聚异丙基丙烯酸酯处于最低临界温度时, 分子链与水发生水合溶于水; 当环境温度高于最低临界温度时, 分子链从水中析出形成凝胶。因此聚异丙基丙烯酸酯常被用于制备温度响应性生物材料, 并在治疗大鼠体内实验中抑制心室重塑。基于温度响应性生物材料物理状态随温度变化的特点, 可利用温度差实现药物在体外的封装或与生物材料的混合。携带药物的生物材料进入体内后转变为凝胶状态, 从而实现药物的缓慢持续释放, 避免了药物释放的峰谷现象, 有利于降低药物的

毒副作用。Karam 等<sup>[15]</sup>利用温度敏感性材料制备生物支架,在靶向梗死组织后释放具有药理活性的生长因子发挥作用。

## 2.2 pH 响应性生物材料

心肌缺血缺氧引发的 pH 下降可作为智能生物材料递送系统的刺激因素<sup>[16]</sup>。pH 响应性生物材料通过其结构中的化学基团与微环境中的离子基团的结合或解离实现 pH 响应,如亚胺键、酰胺键等。海藻酸盐通过响应 pH 的变化实现与微环境中二价阳离子的交换,从而改变其物理状态。pH > 6 时海藻酸盐与金属阳离子发生交换形成海藻酸盐凝胶,且局部金属二价阳离子浓度越高,生成的凝胶强度越高<sup>[17]</sup>。利用此类生物材料 pH 下降形成凝胶的特性,在正常环境下将药物混合于生物材料中,经静脉注射的生物材料到达 MI 区形成凝胶持续缓慢地释放生长因子促进血管生成。此外含聚丙烯酸的复合材料在 pH = 7.4 时以液态形式存在,在 pH = 6.8 时形成凝胶<sup>[18]</sup>。该凝胶依赖 pH 成形,经静脉注射到达缺血区域响应酸性环境转化为凝胶。该凝胶保护生长因子在体内的消耗,同时保证生长因子在梗死组织持续定量释放,刺激微循环的形成。

## 2.3 酶促反应响应性生物材料

MI 诱导心肌细胞内外酶的表达和活性发生巨大的变化,在 ECM 中 MMP 的异常表达导致心肌纤维化。酶响应性生物材料通过特定酶与其肽链的交联作用发生特异性酶促反应,导致生物材料内部分子发生能量跃迁而溶胀变化<sup>[19]</sup>。生物材料进行特异底物的加工修饰以对特定的酶做出反应,酶促反应的特异性提高了生物材料的定植或药物释放的精准性。最近一种纳米颗粒经特定肽修饰后,通过肽链与 ECM 中沉积的 MMP 发生酶促反应,实现生物材料靶向定植。酶促反应发生的同时,生物材料携带的生长因子随着肽链的断裂得到持续的释放,从而促进局部细胞的增殖和分化<sup>[20]</sup>。

## 2.4 免疫细胞响应性生物材料

心肌细胞坏死后诱导大量免疫细胞参与调节炎症反应,免疫细胞释放细胞因子并通过调节组织内细胞的募集、增殖与分化控制修复与再生<sup>[21]</sup>。这些细胞表面表达特定的整合素受体,通过整合素受体介导细胞内外的信号传递。如树突状细胞表面能表达甘露糖受体和整合素受体 44,能特异性识别甘露糖基或透明质酸。树突状细胞通过受体与配基之间的相互作用实现生物材料药物输送系统迅速摄取。此外整合素受体介导生物材料与细胞的黏附,是生物材料在组织中锚定的桥梁。因此生物材料经过表面修饰分子

改善亲疏水性及细胞黏附性,是细胞通过整合素受体与生物材料附着的关键举措。借助抗纤连蛋白适配体功能化生物支架增强细胞对透明质酸/聚乙二醇基水凝胶的黏附性<sup>[22]</sup>。以树突状细胞抗体修饰的纳米材料通过与微环境中树突状细胞受体结合定向 MI 区聚集并驻留。

## 2.5 应力响应性生物材料

正常血流的血流切应力 < 70 dyne/m<sup>2</sup>,而在血管狭窄处血流切应力可达到 1 000 dyne/m<sup>2</sup>。高切应力可通过破坏生物材料的正常结构或改变生物材料的临界水动力切应力,从而降低生物材料的稳定性<sup>[23]</sup>。如由二氨基磷酸基制备的球形脂质体由亲水和疏水部分的磷脂双分子层构成。该脂质体通过血管狭窄处时,高切应力迫使亲水部分与疏水部分接触,导致磷脂膜完整性遭到破坏,使得装载于其内部的治疗因子得以释放,从而实现了药物的靶向释放。此外水凝胶在承受高压时会引起分子间自由能的变化导致水凝胶膨胀,膨胀的水凝胶具有更高的渗透率。因此,水凝胶可顺应自身承受的压力增大而具备更高的通透性,从而控制其内部药物的释放。鉴于此,可通过压力差实现水凝胶对药物的装载和释放。

## 2.6 ROS 响应性生物材料

氧化应激产物 ROS 可作为生物材料的响应条件。最近发现,含有透明质酸的可注射水凝胶封装环孢素具备 ROS 响应性,能精确地将药物递送至 MI 模型线粒体中,从而减少线粒体的损伤<sup>[24]</sup>。该水凝胶主要由两个功能单位构成:线粒体靶向的 Szeto-Schiller 多肽修饰的两亲性聚合物,与环孢素经组装转化为纳米微球。然后将纳米微球封装到 pH/ROS 响应的水凝胶中,通过可逆性亚胺和硼酸酯交联。该聚合物通过纳米微球在低 pH 和高 ROS 条件下靶向定植,并在与 ROS 发生反应的同时从水凝胶基质中可控地释放环孢素,从而减轻氧化应激反应。水凝胶中的硼酸酯消耗微环境中的 ROS,定植释放的环孢素抑制线粒体介导凋亡信号通路,抑制心肌细胞凋亡,同时抑制线粒体通透性转换孔的开放,降低细胞质内 ROS 水平。

## 3 讨论

生物材料应用于 MI 治疗中表现出巨大潜能。功能化生物材料适应梗死心肌组织微环境,对促进心肌的修复功能具有重要意义。为了促使生物材料特异性,保证其在特殊条件下响应的设计将有利于调节控释性及靶向性。基于微环境设计的生物材料不仅保证治疗因子免受消耗,同时降低对其他非目标器官、细胞的聚集及损伤。但是梗死组织内部微环境各信号通路之间、各个细胞与细胞因子之间、各种细胞因

子之间、细胞内环境与细胞器之间往往相互交联相互作用,因此难以控制单一因素而改变全局。另一方面,微环境随时间动态变化,因此很难做到精准把握生物材料的触发和释放条件。目前对生物材料的毒理学研究资料有限,绝大多数在体实验均为动物且实验周期短,因此生物材料的长期安全性值得探究。再者,各生物材料自身属性不同,在进行加工修饰中使用的方法不同,所获得的生物材料属性差异大。难以做到以具体一个实验中的生物材料代表此类生物材料的属性。因此,未来应用生物材料时需要对材料的短期和长期安全性进行验证。

### 参 考 文 献

- [1] Soni SS, D'Elia AM, Rodell CB. Control of the post-infarct immune microenvironment through biotherapeutic and biomaterial-based approaches[J]. *Drug Deliv Transl Res*, 2023, 13(7):1983-2014.
- [2] Yang JM, Olanrele OS, Zhang X, et al. Fabrication of hydrogel materials for biomedical applications[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2018, 1077:197-224.
- [3] Daseke MJ 2nd, Chalise U, Becirovic-Agic M, et al. Neutrophil signaling during myocardial infarction wound repair[J]. *Cell Signal*, 2021, 77:109816.
- [4] Nian W, Huang Z, Fu C. Immune cells drive new immunomodulatory therapies for myocardial infarction; from basic to clinical translation[J]. *Front Immunol*, 2023, 14:1097295.
- [5] Zhou L, Kou DQ. Correlation between acute myocardial infarction complicated with cerebral infarction and expression levels of MMP-2 and MMP-9[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(1):297-302.
- [6] Ramachandra CJA, Hernandez-Resendiz S, Crespo-Avilan GE, et al. Mitochondria in acute myocardial infarction and cardioprotection [J]. *EBioMedicine*, 2020, 57:102884.
- [7] Odunewu-Aderibigbe A, Fliegel L. The  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchanger and pH regulation in the heart[J]. *IUBMB Life*, 2014, 66(10):679-685.
- [8] Xia H, Zahra A, Jia M, et al.  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchanger 1, a potential therapeutic drug target for cardiac hypertrophy and heart failure[J]. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2022, 15(7):875.
- [9] Teixeira RB, Pfeiffer M, Zhang P, et al. Reduction in mitochondrial ROS improves oxidative phosphorylation and provides resilience to coronary endothelium in non-reperused myocardial infarction [J]. *Basic Res Cardiol*, 2023, 118(1):3.
- [10] Liu Z, Xu Q, Yang Q, et al. Vascular peroxidase 1 is a novel regulator of cardiac fibrosis after myocardial infarction[J]. *Redox Biol*, 2019, 22:101151.
- [11] 't Hart DC, van der Vlag J, Nijenhuis T. Laminar flow substantially affects the morphology and functional phenotype of glomerular endothelial cells[J]. *PLoS One*, 2021, 16(5):e0251129.
- [12] Garanich JS, Pahakis M, Tarbell JM. Shear stress inhibits smooth muscle cell migration via nitric oxide-mediated downregulation of matrix metalloproteinase-2 activity[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2005, 288(5):H2244-H2252.
- [13] Borrelli MA, Turnquist HR, Little SR. Biologics and their delivery systems: trends in myocardial infarction[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2021, 173:181-215.
- [14] Yoshizaki Y, Takai H, Mayumi N, et al. Cellular therapy for myocardial ischemia using a temperature-responsive biodegradable injectable polymer system with adipose-derived stem cells[J]. *Sci Technol Adv Mater*, 2021, 22(1):627-642.
- [15] Karam JP, Muscari C, Sindji L, et al. Pharmacologically active microcarriers associated with thermosensitive hydrogel as a growth factor releasing biomimetic 3D scaffold for cardiac tissue-engineering [J]. *J Control Release*, 2014, 192:82-94.
- [16] Kumbhani DJ, Healey NA, Birjiniuk V, et al. Determinants of regional myocardial acidosis during cardiac surgery [J]. *Surgery*, 2004, 136(2):190-198.
- [17] Shkand TV, Chizh MO, Sleta IV, et al. Assessment of alginate hydrogel degradation in biological tissue using viscosity-sensitive fluorescent dyes [J]. *Methods Appl Fluoresc*, 2016, 4(4):044002.
- [18] Garbarn JC, Minami E, Stayton PS, et al. Delivery of basic fibroblast growth factor with a pH-responsive, injectable hydrogel to improve angiogenesis in infarcted myocardium [J]. *Biomaterials*, 2011, 32(9):2407-2416.
- [19] Sood N, Bhardwaj A, Mehta S, et al. Stimuli-responsive hydrogels in drug delivery and tissue engineering[J]. *Drug Deliv*, 2016, 23(3):758-780.
- [20] Nguyen MM, Carlini AS, Chien MP, et al. Enzyme-responsive nanoparticles for targeted accumulation and prolonged retention in heart tissue after myocardial infarction[J]. *Adv Mater*, 2015, 27(37):5547-5552.
- [21] Gurtner GC, Werner S, Barrandon Y, et al. Wound repair and regeneration [J]. *Nature*, 2008, 453(7193):314-321.
- [22] Galli C, Parisi L, Piergianni M, et al. Improved scaffold biocompatibility through anti-fibronectin aptamer functionalization [J]. *Acta Biomater*, 2016, 42:147-156.
- [23] Epshtein M, Korin N. Shear targeted drug delivery to stenotic blood vessels [J]. *J Biomech*, 2017, 50:217-221.
- [24] Zhang X, Sun Y, Yang R, et al. An injectable mitochondria-targeted nanodrug loaded-hydrogel for restoring mitochondrial function and hierarchically attenuating oxidative stress to reduce myocardial ischemia-reperfusion injury [J]. *Biomaterials*, 2022, 287:121656.

收稿日期:2023-03-27