

用于脊髓损伤修复的细胞外基质水凝胶材料的研究进展*

冯浩^{1,2}, 赵毓杰²

(1. 来宾市人民医院 骨科, 广西 来宾 546199; 2. 福建医科大学附属协和医院 骨科, 福建 福州 350001)

摘要: 脊髓损伤 (SCI) 是一种严重的中枢神经系统创伤性疾病, 可导致运动和感觉功能的丧失。由于其复杂的病理机制, 该病的治疗仍面临着巨大的挑战。水凝胶具有良好的生物相容性和生物降解性, 可以很好地模拟脊髓微环境中的细胞外基质。近年来, 水凝胶被认为是一种很有前途的脊髓损伤修复材料, 不断有研究证实, 水凝胶治疗可以有效地消除炎症, 促进脊髓修复和再生, 从而改善脊髓损伤。本文总结近年来脊髓细胞外基质水凝胶的相关研究进展, 以进一步阐明其在脊髓损伤修复中的具体作用机制, 为脊髓损伤的治疗提供新方法。

关键词: 脊髓损伤; 水凝胶; 细胞外基质

中图分类号: R651.2; R318.08

Research progress of extracellular matrix hydrogel materials for spinal cord injury repair*

FENG Hao^{1,2}, ZHAO Yujie²

(1. Department of Orthopedics, Laibin People's Hospital, Laibin, Guangxi 546199, China; 2. Department of Orthopedics, Fujian Medical University Union Hospital, Fujian, Fuzhou 350001, China)

Abstract: Spinal cord injury (SCI) is a severe traumatic disease of the central nervous system that can lead to loss of motor and sensory function. Due to its complex pathological mechanism, the treatment of this disease still faces great challenges. Hydrogels have good biocompatibility and biodegradability and can mimic the extracellular matrix in the spinal cord microenvironment. In recent years, hydrogel has been recognized as a promising material for spinal cord injury repair, and continuous research has confirmed that hydrogel therapy can effectively eliminate inflammation and promote spinal cord repair and regeneration, thereby improving spinal cord injury. This article summarizes the recent research progress of spinal extracellular matrix hydrogels to further elucidate their specific mechanism in spinal cord injury repair and provide a new method for the treatment of spinal cord injury.

Keywords: spinal cord injury; hydrogel; extracellular matrix

1 脊髓损伤

脊髓损伤 (spinal cord injury, SCI) 是一种使中枢神经系统 (central nervous system, CNS) 衰弱的全身性疾病, 是最严重的创伤性疾病之一。每年影响成千上万的人, 其中大多数是年轻人^[1]。它会导致运动和感觉功能的逐渐丧失, 对患者的健康构成威胁, 严重影响患者的预期寿命。长期的治疗、护理费用和经济损失可能会影响患者及其

家人, 造成社会负担加重^[2]。然而, 到目前为止, 仍未开发出有效的脊髓损伤治疗方法。随着生物材料在医学上应用的不断深入, 许多研究表明生物材料具有修复脊髓损伤的潜力。水凝胶作为一种新型生物材料, 由于其亲水性和生物相容性, 在神经系统中有很好的应用前景^[3]。

1.1 脊髓损伤的病理机制

脊髓作为中枢神经系统的组成部分之一, 在

收稿日期: 2023-07-09

* 基金项目: 广西壮族自治区卫生健康委员会科技研究计划课题 (Z20170030)

[通信作者] 冯浩, E-mail: fenghao79@163.com; Tel: 13977276103

生命活动的调节中起着关键作用。因此，当脊髓损伤发生时，可引起复杂的病理生理变化，影响神经、血管和免疫系统，导致运动和感觉功能丧失、呼吸节律丧失、肠道调节功能障碍，甚至导致永久性残疾。中央脊髓在挫伤、压迫或创伤性事故后会引发复杂的病理变化^[1]。脊髓压迫是脊髓损伤最常见的形式，在损伤后仍然存在^[2]。它可以导致椎管血肿。脊髓损伤以神经元和神经胶质膜的机械性损伤、微血管破坏、离子调节异常、细胞凋亡信号转导为特征，常导致继发性损伤级联反应，包括炎症细胞激活、神经元和胶质细胞凋亡、胶原纤维酸性蛋白表达、轴索损伤和胶质瘢痕形成^[4-6]。继发性损伤可将损伤范围扩大到远离损伤中心的部位，加重脊髓损伤。此外，脊髓损伤通常由巨噬细胞、中性粒细胞、T 细胞和一系列促炎因子诱导的广泛的炎症反应，可导致病变生长和组织损伤。每种模型的炎症渗透程度略有不同，这阻碍了组织再生。脊髓损伤造成的功能丧失往往是持久的，因为受损神经元和弥漫性损伤部位的再生能力有限^[7]。

1.2 脊髓损伤的治疗

目前，治疗脊髓损伤的主要策略有两种。第一种策略是通过早期临床减压或在损伤急性期消除继发性炎症来保护剩余轴突和神经元免受继发性损伤，但治疗效果有限、预后差。第二种策略是基于细胞的治疗，以促进慢性损伤期神经组织的修复和再生，包括手术治疗、干细胞移植、高压氧治疗和中医针灸理疗等。因此，治疗脊髓损伤的关键是抗炎、修复受损的脊髓组织及促进再生。其抗炎作用可通过清除炎症细胞和抑制促炎因子的表达来实现。通过抑制胶质瘢痕的形成，促进受损神经元的修复和新神经元的形成，可以实现对受损脊髓组织的修复。轴突生长和再生可促进脊髓再生。在此背景下，新的治疗策略包括可注射水凝胶治疗、组织工程和基于水凝胶支架的联合治疗，其重点是通过生物材料支架将特定的生长神经营养因子、干细胞和抗炎剂输送到脊髓损伤的特定损伤部位^[8]。

2 细胞外基质

细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 是由细胞合成后分泌到胞外大分子结构网络，在维持全身每个器官系统的组织内稳态方面起着关键作用。在组织驻留细胞和它们周围的细胞外基质之

间存在着一种动态的相互作用，这最终决定了组织的特异性、表型和功能。因此，中枢神经系统 and 外周神经系统的细胞外基质都需要各自独特的结构和功能特征，使它们能够适应宿主细胞的职责。

细胞外基质约占中枢神经系统组织体积的 20%，主要由透明质酸、硫酸软骨素蛋白多糖和肌腱蛋白多糖组成。此外，细胞外基质分子，如硫酸乙酰肝素蛋白多糖、层粘连蛋白、胶原蛋白和纤维连接蛋白结合在一起，形成基底膜，加强血脑屏障 (blood-brain barrier, BBB)。不规则的细胞外基质沉积和组成导致损伤相关分子模式 (damage-associated molecular patterns, DAMP) 的存在，这可能引发不可预测的炎症反应^[9]。

2.1 脱细胞细胞外基质

细胞外基质含有层粘连蛋白和蛋白多糖，它们是运动神经元生存和生长所必需的。由于去除了同种/异种细胞抗原，支架的免疫原性大大降低。细胞外基质通常被用作药物、干细胞和营养因子的载体，以促进损伤部位的神经再生，并广泛应用于组织工程和再生医学。从不同组织中提取的脱细胞细胞外基质凝胶可通过微环境调控促进人骨髓间充质干细胞的分化。有报道将脱细胞脑细胞外基质凝胶用于促进人诱导的多能干细胞向神经元分化^[10]。

2.2 脊髓脱细胞细胞外基质

脱细胞细胞外基质是一种来源于组织的生物支架，其细胞成分已被去除，但保留了结构成分和细胞外基质蛋白。由于去除了同种/异种细胞抗原，脱细胞细胞外基质植入后对宿主的免疫原性显著降低。通过酶消化、pH 中和和离子平衡，脱细胞的脊髓细胞外基质可以转变为脱细胞的脊髓细胞外基质凝胶，具有可注射性、能够填充不规则形状的间隙等优点。脱细胞细胞外基质作为一种具有细胞吸引力的基质，可用于三维培养，促进干细胞的增殖和分化。但脱细胞细胞外基质不稳定，仅通过调节 pH、盐离子浓度和温度不能明显改善脱细胞细胞外基质。有研究发现，脱细胞细胞外基质在促进脊髓损伤大鼠功能恢复方面的优势总是在治疗后 4~8 周内消失，这可能与快速降解有关。因此，脱细胞细胞外基质应与其他生物活性材料联合使用，以提高其力学性能^[10]。

3 水凝胶

水凝胶是一种具有水分子和亲水性聚合物网络的高度水合材料。它们已经成为最引人注目的生物材料之一，其固有的生物相容性、细胞相互作用、亲水性、渗透性和生物降解性使其成为模拟自然分子微环境的合适基质^[11]。水凝胶通常由天然或合成材料制成。一般来说，水凝胶包括可注射水凝胶和非可注射水凝胶。可注射水凝胶是液体，可以很容易地输送到受伤的组织。重要的是，可注射水凝胶的配方具有与脊髓细胞外基质非常匹配的机械性能，这可能会促进轴突生长^[12]。

3.1 天然材料与合成材料

天然聚合物，即生物聚合物，是有优势的，因为许多聚合物含有细胞黏附的固有氨基酸基序，很容易被人体降解^[13]。由生物聚合物制成的凝胶非常接近天然 ECM 的形态和力学性能，有利于神经元和轴突的生长。这些材料由蛋白质和/或糖胺聚糖组成，可以形成高水分的 3D 纳米纤维网络，允许细胞迁移和营养物质和废物在材料中扩散。它们很容易获得，可能由脊髓 ECM 中自然存在的材料组成。天然材料的凝胶已被广泛用于体外和体内培养和研究中枢神经系统细胞的行为^[14]。天然材料的缺点包括疾病传播的风险和激发免疫反应的能力，如果不对促炎抗原进行治疗，其力学性能、粘接部位和降解率之间难以解耦。此外，天然支架的降解率可能很难控制，因为酶水平因物种、个体和注射位置的不同而不同。

合成材料可以定制，具有特定的生物活性序列和降解机制。合成材料不受批次到批次来源变化的影响，具有更可控的最终性能。合成材料的缺点包括材料和降解产物的生物相容性，以及整合素缺乏黏附部位。合成材料目前也无法概括天然细胞外基质材料中存在的组织和生物活性基元的复杂性。

3.2 原位物理凝胶

由合成或天然聚合物形成的物理凝胶可以在环境条件（如温度、离子浓度或 pH）或其他条件（如混合两种组分）发生变化时从液体转变为凝胶。物理凝胶对于可注射材料很有吸引力，因为凝胶反应温和，在没有添加交联剂的情况下从水溶液中发生，这可能会由于未反应的单体、引发剂或放热反应而导致注射部位的额外损害。该系统与细胞和敏感的治疗剂兼容，反应速度可以调

整为在注射到体内后迅速发生。虽然最初的反应能够将材料限制在注射位置，但在某些系统中，材料的完全固化可能需要长达一个小时。物理凝胶通常很弱，模数在几十到数百帕斯卡的数量级，与脊髓的机械性能相当，最适合促进神经元生长和阻止疤痕形成^[14]。

3.3 原位化学凝胶

化学交联剂使原本较弱的材料具有机械完整性和耐降解性。它可以通过各种机制发生，但主要涉及共价键，它利用一个反应性部分，该部分可以连接到预聚体上，或者以小分子/酶的形式添加，以产生自由基，在相邻的聚合物链之间形成共价键^[14]。与预制支架不同，可注射凝胶中包含的交联剂在植入前不能被洗脱或淬灭，因此所有反应物在使用的浓度下都必须是无细胞毒性的。

3.4 甲基丙烯酰明胶

明胶甲基丙烯酰水凝胶（gelatin methylacrylyl hydrogel, GelMA）是一种由天然细胞外基质加工而成的多孔性、亲水性和光敏性的水凝胶^[15]。通过改变 GelMA 的浓度、交联剂和光照时间，可以改变其力学性能，从而模拟脊髓的力学性能。研究人员发现，GelMA 水凝胶不仅能减轻炎症，而且能促进轴突再生和神经元发育，抑制神经胶质疤痕的形成^[16]。已有报道，用 GelMA 水凝胶构建的仿生支架，促进了内源性神经干细胞的迁移和向神经细胞的分化，促进了血管生成，抑制了损伤脊髓神经胶质疤痕的形成。然而，单独使用 GelMA 治疗脊髓损伤存在缺陷，特别是在改善损伤部位的微环境和限制生物活性方面^[17]。综合优缺点，可将 DSCG 与 GelMA 水凝胶混合，开发一种三维复合支架。这种复合支架提高了 DSCG 的机械强度，弥补了 GelMA 水凝胶生物活性的不足。同时提高了该复合支架的力学性能和生物相容性。

4 水凝胶综合治疗

由于脊髓损伤复杂的病理生理机制，目前尚无有效的治疗方法。这种复杂性表明，多种治疗方法可能比单一治疗方法更有效。目前，基于水凝胶的组织工程策略包括支架、光疗、细胞、小分子和玻璃纤维等，为脊髓损伤的治疗提供了广阔的前景。水凝胶具有类似于细胞外基质的三维网络结构和微环境，可以促进细胞生长并嵌入生物大分子维持释放。

4.1 水凝胶负载

近年来,水凝胶负载能够在微环境中指示特定的细胞反应,促进轴突的萌发和再生,调节受损神经元的活性和阻断抑制分子,因此可以应用于脊髓损伤的治疗。然而,水凝胶负载存在半衰期短、稳定性低、血脊髓屏障(blood-spinal cord barrier, BSCB)通透性差等缺点,难以维持长期的活性^[18]。为了解决这一问题,可以将 GFS 固定在具有良好生物相容性和生物力学性能的水凝胶上,并将其注入囊腔中,以再生良好的微环境,促进受损组织的修复。最适合装载水凝胶负载的水凝胶应该是一种可以作为输送系统并最大限度地发挥其改善脊髓损伤的潜力的水凝胶。

4.2 水凝胶负载小分子

到目前为止,许多药物已经用于脊髓损伤的治疗。然而,由于血脊髓屏障的特殊结构、血脑屏障和首过效应,向中枢神经系统输送治疗药物是一个挑战^[8]。此外,由于脑脊液快速清除,药物可以快速清除更新,这需要更高的剂量/频率。因此,延长药物在脊髓损伤部位的释放是很重要的。在中枢神经系统疾病的治疗中,水凝胶为组织再生提供支持底物,并在局部作为缓释药库,可以减少给药频率和总剂量,从而减少副作用,提高患者的依从性。

4.3 水凝胶负载干细胞

近年来,基于细胞的治疗策略在脊髓损伤的治疗中取得了良好的效果。干细胞和水凝胶支架的植入是一种很有前途的脊髓损伤修复方法。然而,在细胞治疗方法中存在许多挑战,如迁移到靶点、附着到干细胞表面和细胞在脑脊液中存活^[19]。克服这些缺陷的一种策略是植入干细胞和水凝胶支架,这种支架可以通过释放神经保护因子来促进组织再生。

4.4 水凝胶结合光疗

水凝胶可以很好地模拟细胞外基质的微环境。光疗作为一种很有前途的策略可以进一步促进水凝胶模拟细胞外基质的动态和复杂性质,因为它具有提供剂量控制的性质^[20],水凝胶与光疗相结合治疗脊髓损伤更为有效。例如目前应用的光交联明胶 3D 水凝胶系统具有良好的生物相容性和生物降解性,可以模拟脊髓内细胞外基质的微环境,抑制炎症因子。然而,由于缺乏靶向性,它只能在损伤部位发挥作用。此外,该系统需要光激活。

5 结语

脊髓损伤是一种严重的中枢神经系统创伤性疾病,它会对患者的生活方式产生很大的影响,对患者的生理和心理方面造成一定的压力。水凝胶作为一种生物材料的引入,为脊髓损伤后诱导再生的治疗开辟了新的途径。水凝胶是一种含有水分子和亲水性聚合物网络的高度水化材料,具有与神经组织相似的特殊性。它们有能力填充囊腔,促进轴突生长和细胞分化^[21]。

水凝胶支架作为一种优良的多功能平台,可以进一步与其他治疗物质结合,如营养因子、小分子和各种干细胞。它们可以保护分子或细胞免受酶降解或不良免疫反应的影响,并增加移植细胞的潜在作用^[21]。水凝胶具有良好的生物相容性和生物降解性,被认为是脊髓损伤后修复的桥梁。它们可以很好地模拟脊髓微环境的细胞外基质。因此,水凝胶在治疗脊髓损伤方面具有较好的应用前景。

脊髓损伤的有效治疗策略必须结合多种因素,以协调的方式解决每一个挑战,因为 SCI 具有复杂的病理生理机制,如干细胞、抗炎药物和生长因子,所有这些都需水凝胶作为支架才能进入损伤部位。然而,水凝胶由于其自身的特点,形状不稳定,容易流出脊髓损伤部位,影响治疗效果。因此,有必要进一步优化水凝胶的结构,如添加纤维或制备复合水凝胶来提高水凝胶的强度。此外,目前的研究大多是在脊髓损伤模型上进行的,但尚不清楚是否会在临床上看到同样的效果。

参考文献

- [1] ALIZADEH A, DYCK SM, KARIMI-ABDOLREZAEI S. Traumatic spinal cord injury: an overview of pathophysiology, models and acute injury mechanisms[J]. *Front Neurol*, 2019, 10: 282.
- [2] ZHANG Y, MAMUN AA, YUAN Y, et al. Acute spinal cord injury: Pathophysiology and pharmacological intervention (Review) [J]. *Mol Med Rep*, 2021, 23(6): 417.
- [3] WANG B, LIU S, XIE YY. Role and prospects of regenerative biomaterials in the repair of spinal cord injury[J]. *Neural Regen Res*, 2019, 14(8): 1352.
- [4] GHANE N, BEIGI MH, LABBAF S, et al. Design of hydrogel-based scaffolds for the treatment of spinal cord injuries[J]. *J Mater Chem B*, 2020, 8(47): 10712-10738.
- [5] BADHIWALA JH, AHUJA CS, FEHLINGS MG. Time is spine: a review of translational advances in spinal cord injury[J]. *J Neurosurg Spine Journal Of Neurosurgery-spine*, 2018, 30(1): 1-18.

- [6] BÖTHIG R, TIBURTIUS C, SCHÖPS W, et al. Urinary bladder cancer as a late sequela of traumatic spinal cord injury[J]. *Mil Med Res*, 2021, 8(1): 29.
- [7] TAN HL, TEOW SY, PUSHAMALAR J. Application of metal Nanoparticle - Hydrogel composites in tissue regeneration[J]. *Bioengineering*, 2019, 6(1): 17.
- [8] WANG Y, LV HQ, CHAO X, et al. Multimodal therapy strategies based on hydrogels for the repair of spinal cord injury[J]. *Mil Med Res*, 2022, 9(1): 16.
- [9] BUCKENMEYER MJ, MEDER TJ, PREST TA, et al. Decellularization techniques and their applications for the repair and regeneration of the nervous system[J]. *Methods*, 2020, 171: 41-61.
- [10] HE WH, ZHANG XX, LI XZ, et al. Decellularized spinal cord extracellular matrix-gel/GelMA hydrogel three-dimensional composite scaffold promotes recovery from spinal cord injury via synergism with human menstrual blood-derived stem cells[J]. *SSRN Journal*, 2022. 10(30): p. 5753-5764. .
- [11] TONG ZR, JIN LL, OLIVEIRA JM, et al. Adaptable hydrogel with reversible linkages for regenerative medicine: dynamic mechanical microenvironment for cells[J]. *Bioact Mater Bioactive Materials*, 2021, 6(5): 1375-1387.
- [12] WANG CG, GONG Z, HUANG XP, et al. An injectable heparin-Laponite hydrogel bridge FGF4 for spinal cord injury by stabilizing microtubule and improving mitochondrial function[J]. *Theranostics*, 2019, 9(23): 7016-7032.
- [13] MANO JF, SILVA GA, AZEVEDO HS, et al. Natural origin biodegradable systems in tissue engineering and regenerative medicine: present status and some moving trends[J]. *J R Soc Interface*, 2007, 4(17): 999-1030.
- [14] MACAYA D, SPECTOR M. Injectable hydrogel materials for spinal cord regeneration: a review[J]. *Biomed Mater*, 2012, 7(1): 012001.
- [15] KONG B, CHEN Y, LIU R, et al. Fiber reinforced GelMA hydrogel to induce the regeneration of corneal stroma[J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 1435.
- [16] ZHOU PH, XU PP, GUAN JJ, et al. Promoting 3D neuronal differentiation in hydrogel for spinal cord regeneration[J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2020, 194: 111214.
- [17] JONIDI SHARIATZADEH F, SOLOUK A, BAGHERI KHOULENJANI S, et al. Injectable and reversible preformed cryogels based on chemically crosslinked gelatin methacrylate (GelMA) and physically crosslinked hyaluronic acid (HA) for soft tissue engineering[J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2021, 203: 111725.
- [18] HU XL, LI R, WU YQ, et al. Thermosensitive heparin-poloxamer hydrogel encapsulated bFGF and NGF to treat spinal cord injury [J]. *J Cellular Molecular Medi*, 2020, 24(14): 8166-8178.
- [19] BOIDO M, GHIBAUDI M, GENTILE P, et al. Chitosan-based hydrogel to support the paracrine activity of mesenchymal stem cells in spinal cord injury treatment[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 6402.
- [20] CAI ZW, GAN YB, BAO CY, et al. Photosensitive hydrogel creates favorable biologic niches to promote spinal cord injury repair[J]. *Adv Healthc Mater*, 2019, 8(13): e1900013.
- [21] SHULTZ RB, ZHONG YH. Hydrogel-based local drug delivery strategies for spinal cord repair[J]. *Neural Regen Res*, 2021, 16(2): 247-253.

(方丽蓉 编辑)