

· 综述 ·

静电纺丝治疗脊髓损伤的研究进展[△]

陈继祥¹, 王莹², 武京国^{1*}

(1. 山东第一医科大学第二附属医院骨科, 山东泰安 271000; 2. 山东第一医科大学, 山东泰安 271000)

摘要: 脊髓损伤 (spinal cord injury, SCI) 是一种严重的不可逆性中枢神经系统损伤性疾病, 目前尚无有效的治疗方法。静电纺丝 (electro-spinning) 是一种制备纳米级纤维膜材料的常用方法, 其优点为具有高孔隙率, 孔径可调节, 高表面体积比, 以及与细胞外基质形态相对应, 被广泛应用于生物医学领域。本文就静电纺丝特性、静电纺丝治疗脊髓损伤的临床前研究进展作一综述, 以期探索脊髓损伤治疗的新思路。

关键词: 脊髓损伤, 静电纺丝, 纳米纤维支架, 研究进展

中图分类号: R687 **文献标志码:** A **文章编号:** 1005-8478 (2022) 22-2059-04

Research progress on electrospinning in the treatment of spinal cord injury // CHEN Ji-xiang¹, WANG Ying², WU Jing-guo¹. 1. The Second Affiliated Hospital, Shandong First Medical University, Tai'an 271000, China; 2. Shandong First Medical University, Tai'an 271000, China

Abstract: Spinal cord injury (SCI) is a serious and irreversible central nervous system damage without effective treatment method at present. Electrospinning is a common technique for preparing nano-scale fiber membrane materials, with advantages of high porosity, adjustable pore size, high surface-to-volume ratio, and corresponding to the shape of extracellular matrix, which is widely used in the field of biomedicine. This article reviews the characteristics and the preclinical research progress of electrospinning for spinal cord injury, in order to explore a new idea for the treatment of spinal cord injury.

Key words: spinal cord injury, electrospinning, nanofiber scaffold, research progress

脊髓损伤 (spinal cord injury, SCI) 是一种严重的中枢神经系统损伤性疾病, 因中断了通过损伤节段的神经元轴突, 导致该节段以下不可逆的瘫痪、感觉缺失及自主神经障碍^[1]。日益增加的 SCI 患者给个人、家庭及社会带来了很大的痛苦与负担^[2], 目前脊髓损伤的常规治疗方法主要有手术治疗、牵引固定非手术治疗、激素神经营养物质等药物治疗, 但是效果不佳^[3]。如何解决脊髓损伤后神经功能的再生成为现代医学的重大难题。

静电纺丝 (electro-spinning) 是一种制备含有纳米级纤维膜材料的常用方法, 是利用电场力生产从微米到纳米尺寸的纤维^[4], 由于其高孔隙率, 孔径可调节, 高表面体积比, 以及与细胞外基质的形态学对应的特征, 被广泛应用于生物医学领域^[5]。现围绕静电纺丝特性、静电纺丝治疗脊髓损伤的临床前研究进展作一综述。

1 静电纺丝特性

静电纺丝是一种新型纺织技术, 通过高压电场力的作用, 使聚合物溶液发生喷射拉丝, 在收集器 (通常是金属板) 上随机收集聚合物纤维膜^[6]。纳米或微米级纤维的静电纺丝可以使用许多类型天然聚合物, 如 (多糖、蛋白质) 合成聚合物, 如聚乳酸 (PLA)、聚乙醇酸 (PGA)、聚己内酯 (PCL)、聚左旋乳酸 (PLLA) 及聚乙醇烯 (PVA) 等^[7]。可以通过调整静电纺丝的设备参数控制电纺纤维的直径、排列方式、纳米地形等。

Li 等^[8]发现在一定临界值内, 电纺纳米纤维的直径随溶液喷射速度的增加而增加。盐的加入对静电纺丝过程的影响有 2 个方面: (1) 增加聚合物溶液中的离子数量, 导致流体表面电荷密度增加, 外加电场

DOI:10.3977/j.issn.1005-8478.2022.22.09

[△]基金项目: 山东省医药卫生科技发展计划项目 (编号: 202004071169); 山东第一医科大学学术提升计划项目 (编号: 2019QL016)

作者简介: 陈继祥, 硕士研究生在读, 研究方向: 脊髓损伤修复, (电话) 17753833502, (电子信箱) 939266843@qq.com

* 通信作者: 武京国, (电话) 18660866468, (电子信箱) jingguo.wu@hotmail.com

产生的静电力增加；(2) 增加聚合物溶液的电导率，这导致沿流体表面的切向电场减小。Zong 等^[9]发现在将盐单独添加到聚合物溶液中后，纳米纤维不仅光滑，而且与原始纳米纤维相比，直径更小。Pelipenko 等^[10]利用多种不同溶液聚合物研究了纳米纤维直径随湿度变化的变化，发现当湿度从4%增加到60%时，纳米纤维的直径均有所下降，进一步增加湿度，几乎无法制备出静电纺丝。

Schnell 等^[11]发现可以通过高速旋转的滚筒作为收集器制备出定向的纳米纤维，滚筒转速越快，纤维方向越一致。Omidinia-Anarkoli 等^[12]发现环境湿度越大静电纺丝纤维表面越粗糙，溶液喷射速度的差异也会影响纤维表面的孔隙形状；溶液黏性越高，纳米纤维表面越光滑；不同的溶液纤维表面的孔隙形状也不同。Yan 等^[13]发现通过改变电纺纳米纤维网的多巴胺和苯胺四聚体的含量，所制备的静电纺丝纳米纤维网具有规则排列的沟谷结构。溶剂在制备高孔纳米纤维中也起着至关重要的作用。Sill 等^[14]发现当聚合物溶解在2种不同熔点溶剂中时，由于2种溶剂不同蒸发速率将导致聚合物分离，从而可以制备多孔静电纺丝纳米纤维。

综上所述，可以通过调整一系列参数，如：溶液喷射速度、针尖与收集器距离、溶液导电性、转筒速度、环境湿度等，来制备各种实验所需要的静电纺丝纳米纤维。

2 静电纺丝治疗脊髓损伤的研究

中枢神经系统中，神经元与胶质细胞的相互作用对于维持整个神经细胞外基质的内稳态平衡以及实现适当的电生理功能都是至关重要的^[15]。中枢神经系统主要的胶质细胞为：星形胶质细胞（调节突触连接，并组成血脑屏障）、少突胶质细胞（髓鞘化神经元的轴突）以及小胶质细胞（作为固有的固有免疫细胞）^[16]。脊髓受损后，星形胶质细胞产生神经抑制分子，增殖并迁移至损伤部位产生胶质瘢痕。少突胶质细胞损伤和附近轴突脱髓鞘，其前体细胞增殖并迁移到病变部位以稳定营养不良的轴突，小胶质细胞产生促炎信号，清除细胞碎片并激活附近神经胶质^[17]。电纺纳米纤维已经广泛应用于修复体内外脊髓损伤的实验研究，可有效引导再生轴突的延伸，但对损伤后神经胶质活动的影响尚未确定，下面将从静电纺丝纳米纤维各个特性来阐述其在脊髓损伤修复中的影响。

2.1 静电纺丝排列方式对脊髓损伤修复的影响

电纺纤维排列方式是优化电纺纤维作为周围神经移植材料最常用的参数之一。Xia 等^[18]在一项体外研究中，发现在 PMMA 电纺纳米纤维中，定向排列组培养的星形胶质细胞相比随机排列组最终沿着基质纤维轴线形成更长、高度定向的突起。Hurtado 等^[19]在大鼠脊髓横断模型（T₉₋₁₀）中分别放置随机排列与定向排列的电纺 PLLA 纳米纤维，发现置入4周后定向排列组（2 055 μm±150 μm）相比于随机排列组（1 162 μm±87 μm），突触延伸距离更长，差异有统计学意义。Liu 等^[20]在大鼠脊髓半切模型中分别移植了随机排列与定向排列的电纺纳米纤维支架，在移植后10、30 d，不论纤维方向如何，都可以观察到大量细胞渗透到构建物中。然而，纤维排列整齐的支架在第30 d时结构更加完整。综上所述，定向排列的静电纺丝纳米纤维相比随机排列的也许更适合于脊髓损伤的修复。

2.2 静电纺丝直径对脊髓损伤修复的影响

电纺纤维直径是另一个关键特性，它被改进以优化电纺纳米纤维的各种应用。Johnson 等^[21]制备了具有2种不同纳米级纤维直径（808和386 nm）的对齐纤维，并随时间测量了星形胶质细胞的反应，发现大直径纤维上的星形胶质细胞的伸长明显高于小直径纤维上的星形胶质细胞，沿着大直径纤维延伸的星形胶质细胞更易于支持长神经突的生长。与之相反，Qu 等^[22]将星形胶质细胞培养于400、800 nm和1 200 nm电纺纤维材料，发现星形胶质细胞在较小直径的纤维中扩散面积显著增加。Christopherson 等^[23]首次发现，神经干细胞在平均直径接近0.3 μm的纤维上培养时更倾向于少突细胞谱系，而更大的直径则更倾向于神经元谱系。Prabhakaran 等^[24]制备了直径300~900 nm、以200 nm为单位递增的静电纺丝 PLLA 支架，在平均纤维直径为500 nm的支架上培养的C17.2细胞诱导的神经突延长最长。综上所述，可能因材料不同，适合脊髓损伤修复促进轴突再生的纳米纤维支架直径也不同，仍需进一步探索，从而确定更适合的电纺纳米纤维直径参数。

2.3 静电纺丝纳米形态对脊髓损伤修复的影响

静电纺丝纳米形态也会对脊髓损伤的修复造成不同的影响。Cnops 等^[25]发现高密度纤维支架具有良好的宿主-置入整合性能。纤维密度对细胞浸润无影响，有效的血管生长可能需要纤维之间更大的间隙或者更快的降解纤维。Johnson 等^[26]在一项体外研究中发现，星形胶质细胞在有凹陷的纳米纤维上比在光滑纤维，生长的短而宽，纤维表面纳米形貌可以影响星

形胶质细胞的伸长, 从而影响星形胶质细胞引导神经元生长的能力。对于外周神经系统的雪旺细胞, 静电纺丝纤维纳米形态也会对其生长有所影响, Huang等^[27]发现, 与光滑纤维相比, 电纺醋酸丁酸纤维素纤维上纳米沟槽的存在提高了雪旺细胞的伸长。此外, Wu等^[28]还观察到, 与光滑的PCL纤维相比, 纳米槽静电纺PCL纤维上的雪旺细胞迁移更大。这与星形胶质细胞的反应正相反, 也许不同来源的细胞对于电纺纤维表面纳米形态的反应不尽相同。综上所述, 应进一步研究电纺纳米纤维表面纳米特性与脊髓损伤修复的关系, 从而制备一种更适合于修复脊髓损伤的电纺纳米纤维。

2.4 静电纺丝联合其他物质对脊髓损伤修复的影响

Shu等^[29]将一种导电材料导电聚吡咯(PPy)嵌入PLA纳米纤维支架, 在大鼠脊髓横断模型(T₉)内分别置入PLA/PPy支架及单纯PLA支架, 损伤后6周, 使用PLA/PPy支架显著降低了星形胶质细胞的活化并增加了轴突再生, 运动诱发电位(MEP)测试和BBB运动评分中, PLA/PPy支架组也有更好的表现, 他们认为使用生物支架恢复电导率有利于微环境, 有利于SCI大鼠模型中脊髓组织的再生和功能恢复。

聚唾液酸(polysialic acid, PSA)是一种天然的、可生物降解的多糖, 通过调节细胞粘附特性和促进轴突生长来控制中枢神经系统的发育^[30]。Zhang等^[31]制备了一种包裹糖皮质激素甲基强的松龙(MP)和PSA混合PCL纳米纤维支架材料, 在大鼠脊髓横断模型移植MP/PSA/PCL支架, 发现MP/PSA/PCL可以减少肿瘤坏死因子- α 和白细胞介素6的释放, 降低凋亡相关的caspase-3蛋白的表达, 增加神经丝蛋白200(nf-200)的表达, 大鼠行为学BBB评分也有显著恢复, 他们认为PSA混合纳米纤维支架具有促进轴突生长和提高脊髓损伤后功能恢复的潜力。神经生长因子(nerve growth factor, NGF)是一种蛋白质, 可以调节周围和中枢神经元的生长发育, 维持神经元的存活^[32]; 硫酸软骨素酶ABC(ChABC)可通过介导硫酸软骨素蛋白聚糖的降解, 增强轴突的再生和可塑性^[33]; Colello等^[34]在大鼠脊髓全切模型中置入含有NGF和ChABC的静电纺丝纳米纤维, 相比置入单纯电纺纳米纤维, 含有NGF和ChABC的静电纺丝纳米纤维更能显著促进神经功能恢复。DHA(docosahexaenoic acid, DHA)是二十二碳六烯酸, 是一种对人体非常重要的不饱和脂肪酸, DHA是神经系统细胞生长及维持的一种主要成分^[35], Liu等^[36]在大鼠

脊髓损伤模型中分别移植含有DHA和不含DHA的PLA纳米纤维支架, 行为评估显示, PLA/DHA组与PLA组相比, 可以显著改善神经功能。经组织学分析, PLA/DHA组还能有效减少神经元损失, 增加5-羟色胺能神经发芽。

紫杉醇(Paclitaxel)是一种常用的癌症化疗药物^[37], 低浓度紫杉醇给药已被证明在脊髓损伤后可促进轴突延伸和减弱抑制分子的上调, Roman等^[38]在体外研究中发现, 幼鼠中分离出背根神经节(DRG)神经元培养于含有紫杉醇的PLA电纺纳米纤维中, 可以促进神经突的伸展。综上所述, 静电纺丝纳米纤维支架可以作为多种药物、天然材料、生长因子等的优异载体, 可用于脊髓损伤中, 以促进轴突生长及神经功能的恢复。

3 展望

静电纺丝作为一种制备纳米纤维的方法, 在修复脊髓损伤方面具有良好的发展前景, 不同静电纺纤维特性对脊髓损伤修复的效果不尽相同, 进一步优化纤维直径、材料、排序、表面纳米形态的参数, 还需要大量的研究工作; 静电纺丝纳米纤维作为各种药物、生长因子、天然材料的载体, 对于修复脊髓损伤已有明确效果, 静电纺丝能否作为干细胞的载体应用于脊髓损伤修复是下一步研究工作的重点。相信随着未来对静电纺丝研究的不断深入, 可以探索出一条治疗脊髓损伤的新思路。

参考文献

- [1] 王庆峰, 梁学刚, 刘学起. TLR4/NF- κ B信号通路在脊髓损伤中的作用[J]. 中国矫形外科杂志, 2021, 29(6): 531-535.
- [2] 景文, 李生, 李永盛, 等. microRNAs在脊髓损伤中的研究进展[J]. 中国矫形外科杂志, 2022, 30(2): 115-148.
- [3] 李宇博, 丁立祥. 脊髓损伤的近期研究进展[J]. 中国矫形外科杂志, 2014, 22(22): 2075-2078.
- [4] 刘钟, 刘现峰, 王学艳, 等. 便携式静电纺丝装置在医学方面的应用[J]. 青岛大学学报(工程技术版), 2021, 36(4): 40-54.
- [5] 徐炜, 尹晓红, 张灏, 等. 静电纺丝纳米纤维在骨组织工程中的应用[J]. 中国矫形外科杂志, 2014, 22(10): 907-910.
- [6] 赵守进, 刘哲鹏, 付子让, 等. 静电纺丝在组织工程学中的应用进展[J]. 生物医学工程学进展, 2021, 42(3): 149-153.
- [7] Schaub NJ, Johnson CD, Cooper B, et al. Electrospun fibers for spinal cord injury research and regeneration[J]. J Neurotrauma, 2016, 33(15): 1405-1415.
- [8] Li S, Kong L, Ziegler GR. Electrospinning of octenylsuccinylated starch-pullulan nanofibers from aqueous dispersions[J]. Carbohydr

- dr Polym, 2021, 258 (1) : 116933.
- [9] Zong X, Kim K, Fang D, et al. Structure and process relationship of electrospun bioabsorbable nanofiber membranes [J]. *Polymer*, 2002, 43 (16) : 4403-4412.
- [10] Pelipenko J, Kristl J, Jankovic B, et al. The impact of relative humidity during electrospinning on the morphology and mechanical properties of nanofibers [J]. *Int J Pharm*, 2013, 456 (1) : 125-134.
- [11] Schnell E, Klinkhammer K, Balzer S, et al. Guidance of glial cell migration and axonal growth on electrospun nanofibers of poly-epsilon-caprolactone and a collagen/poly-epsilon-caprolactone blend [J]. *Biomaterials*, 2007, 28 (19) : 3012-3025.
- [12] Omidinia-Anarkoli A, Rimal R, Chandorkar Y, et al. Solvent-induced nanotopographies of single microfibers regulate cell mechanotransduction [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2019, 11 (8) : 7671-7685.
- [13] Yan H, Wang Y, Li L, et al. A micropatterned conductive electrospun nanofiber mesh combined with electrical stimulation for synergistically enhancing differentiation of rat neural stem cells [J]. *J Mater Chem B*, 2020, 8 (13) : 2673-2688.
- [14] Sill TJ, von Recum HA. Electrospinning: applications in drug delivery and tissue engineering [J]. *Biomaterials*, 2008, 29 (13) : 1989-2006.
- [15] 汤钊良, 王乐, 刘少喻, 等. 脊髓损伤中程序性坏死的研究进展 [J]. *中国脊柱脊髓杂志*, 2021, 31 (10) : 941-945.
- [16] 朱正桓, 邹红军, 宋志文, 等. 脊髓损伤后神经修复过程中的细胞微环境 [J/OL]. *中国组织工程研究*, 2022. 网络首发. <https://www.cnki.com.cn/Article/CJFDTOTAL-XDKF20220312007.htm>
- [17] Puhl DL, Funnell JL, Nelson DW, et al. Electrospun fiber scaffolds for engineering glial cell behavior to promote neural regeneration [J]. *Bioengineering (Basel)*, 2020, 8 (1) : 4.
- [18] Xia H, Xia Y. An in vitro study of non-aligned or aligned electrospun poly (methyl methacrylate) nanofibers as primary rat astrocytes-loading scaffold [J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2018, 91 (2) : 228-235.
- [19] Hurtado A, Cregg JM, Wang HB, et al. Robust CNS regeneration after complete spinal cord transection using aligned poly-L-lactic acid microfibers [J]. *Biomaterials*, 2011, 32 (26) : 6068-6079.
- [20] Liu T, Houle JD, Xu J, et al. Nanofibrous collagen nerve conduits for spinal cord repair [J]. *Tissue Eng Part A*, 2012, 18 (9-10) : 1057-1066.
- [21] Johnson C, Zuidema JM, Kearns KR, et al. The effect of electrospun fiber diameter on astrocyte-mediated neurite guidance and protection [J]. *ACS Appl Bio Mater*, 2019, 2 (1) : 104-117.
- [22] Qu J, Wang D, Wang H, et al. Electrospun silk fibroin nanofibers in different diameters support neurite outgrowth and promote astrocyte migration [J]. *J Biomed Mater Res A*, 2013, 101 (9) : 2667-2678.
- [23] Christopherson GT, Song H, Mao HQ. The influence of fiber diameter of electrospun substrates on neural stem cell differentiation and proliferation [J]. *Biomaterials*, 2009, 30 (4) : 556-564.
- [24] Prabhakaran MP, Venugopal JR, Chyan TT, et al. Electrospun bio-composite nanofibrous scaffolds for neural tissue engineering [J]. *Tissue Eng Part A*, 2008, 14 (11) : 1787-1797.
- [25] Cnops V, Chin JS, Milbreta U, et al. Biofunctional scaffolds with high packing density of aligned electrospun fibers support neural regeneration [J]. *J Biomed Mater Res A*, 2020, 108 (12) : 2473-2483.
- [26] Johnson CD, D'Amato AR, Puhl DL, et al. Electrospun fiber surface nanotopography influences astrocyte-mediated neurite outgrowth [J]. *Biomed Mater*, 2018, 13 (5) : 54101.
- [27] Huang C, Tang Y, Liu X, et al. Electrospinning of nanofibres with parallel line surface texture for improvement of nerve cell growth [J]. *Soft Matter*, 2011, 7 (22) : 10812.
- [28] Wu T, Xue J, Xia Y. Engraving the surface of electrospun microfibers with nanoscale grooves promotes the outgrowth of neurites and the migration of Schwann cells [J]. *Angewandte Chemie Int Edit*, 2020, 59 (36) : 15626-15632.
- [29] Shu B, Sun X, Liu R, et al. Restoring electrical connection using a conductive biomaterial provides a new therapeutic strategy for rats with spinal cord injury [J]. *Neurosci Lett*, 2019, 692 (1) : 33-40.
- [30] Ghosh M, Tuesta LM, Puentes R, et al. Extensive cell migration, axon regeneration, and improved function with polysialic acid-modified Schwann cells after spinal cord injury [J]. *Glia*, 2012, 60 (6) : 979-992.
- [31] Zhang S, Wang XJ, Li WS, et al. Polycaprolactone/polysialic acid hybrid, multifunctional nanofiber scaffolds for treatment of spinal cord injury [J]. *Acta Biomater*, 2018, 77 (1) : 15-27.
- [32] 石胜柳, 丁桃, 孙瑜, 等. 神经生长因子对创伤性脊髓损伤大鼠膀胱功能和轴突损伤修复的作用 [J]. *西安交通大学学报(医学版)*, 2021, 42 (5) : 700-705.
- [33] 谢兴奇, 胡伟, 屠冠军. 骨髓间充质干细胞来源外泌体与硫酸软骨素酶 ABC 联合治疗大鼠脊髓损伤 [J]. *中国组织工程研究*, 2022, 26 (1) : 20-26.
- [34] Colello RJ, Chow WN, Bigbee JW, et al. The incorporation of growth factor and chondroitinase ABC into an electrospun scaffold to promote axon regrowth following spinal cord injury [J]. *J Tissue Eng Regen Med*, 2016, 10 (8) : 656-668.
- [35] 喻少敏, 郭卫春. 二十二碳六烯酸在急性脊髓损伤后早期炎症反应中的作用 [J]. *临床外科杂志*, 2017, 25 (4) : 301-303.
- [36] Liu ZH, Huang YC, Kuo CY, et al. Docosahexaenoic acid-loaded poly(lactic acid) core-shell nanofiber membranes for regenerative medicine after spinal cord injury: in vitro and in vivo study [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21 (19) : 7301.
- [37] 孔维健, 方红娟, 潘肃, 等. 搭载紫杉醇脂质体的聚乳酸-羟基乙酸共聚物静电纺丝膜对神经干细胞增殖分化的影响 [J]. *吉林大学学报(医学版)*, 2020, 46 (3) : 509-514.
- [38] Roman JA, Reucroft I, Martin RA, et al. Local release of paclitaxel from aligned, electrospun microfibers promotes axonal extension [J]. *Adv Healthc Mater*, 2016, 5 (20) : 2628-2635.

(收稿:2021-12-01 修回:2022-05-30)
(同行评议专家:陈君生 张鹏)
(本文编辑:宁桦)