

综述与论文

甲基丙烯酰胺基明胶水凝胶研究进展

王毅虎^{1,2}, 曹霄峰¹, 张兵¹, 王佳宁^{1,2}, 张炜杰¹, 郭燕川^{1*}

(1. 中国科学院理化技术研究所 化学转化与功能材料重点实验室, 北京 100190;

2. 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 甲基丙烯酰胺基明胶(GelMA)水凝胶的制备及其在生物医学领域的应用是最近十几年的研究热点。GelMA水凝胶因其独特的光致交联特性, 可以加工成不同形貌的水凝胶支架材料, 同时, 因其具有可控的力学性能、降解性能, 以及优秀的生物相容性, 已成为具有广泛应用前景的生物高分子聚合物材料。本文主要介绍了GelMA水凝胶在止血材料、创伤敷料、组织工程支架、药物控释、骨缺损修复等领域的研究进展。

关键词: 甲基丙烯酰胺基明胶; 水凝胶; 生物医用材料; 组织工程

doi: 10.7517/issn.1674-0475.190612

The Research Progress of Methacrylamide Gelatin Hydrogel

WANG Yihu^{1,2}, CAO Xiaofeng¹, ZHANG Bing¹, WANG Jianing^{1,2}, ZHANG Weijie¹, GUO Yanchuan^{1*}

(1. *Key Laboratory of Photochemical Conversion and Optoelectronic Materials, Technical Institute of Physics and Chemistry, CAS, Beijing 100190, P. R. China;* 2. *University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, P. R. China*)

Abstract: The preparation of methacrylamide gelatin (GelMA) hydrogel and its application in biomedicine is a research hotspot in the past decade. Due to its unique photocrosslinking properties, GelMA hydrogel can be processed into hydrogel scaffolds with different morphologies, with controlled mechanical properties and degradation properties, and excellent biocompatibility, making them a biopolymer material with broad application prospects. This paper mainly introduces the research progress of GelMA hydrogel in the fields of hemostatic materials, wound dressings, tissue engineering scaffolds, drug release, and bone defect repair.

Key words: methacrylamide gelatin; hydrogel; biomedical materials; tissue engineering

水凝胶是由亲水性高分子交联形成的三维网络支架材料,具有理化性质可控、生物相容性好等特点,常被应用于生物医用领域,如组织工程、创伤修复、药物控释等^[1-3]。明胶是胶原水解后的产物,具有比胶原更低的免疫原性,更容易加工,并且保留了胶原所具备的 RGD 细胞粘附肽^[4]和蛋白酶降解位点^[5],是水凝胶的重要原料之一。

明胶具有溶胶-凝胶转化特性,在低温情况下能够自发地物理交联形成水凝胶^[6]。但是以明胶作为单一原料制备水凝胶材料,其在热稳定性、力学性能和降解性能方面存在不足,往往不能满足医用材料的需求。明胶分子链含有大量的活性基团,可以通过改性、交联或与其它材料复合的方式制备不同性能的水凝胶^[7-9]。

2000 年, Van den Bulcke 等^[6]首次报道了应用甲基丙烯酸酐与明胶反应,修饰明胶的氨基侧链,生成甲基丙烯酸酰胺基明胶(GelMA),并将 GelMA 溶于水中,以 Irgacure2959 为光引发剂,在 UV 光的照射下发生交联反应,制备出 GelMA 水凝胶。引入甲基丙烯酸酰胺基赋予了明胶在光引发剂和光照下可以光交联的性质,这种交联可以在温和的条件下进行(室温、中性 pH、水环境中等),并允许反应的时间和空间控制,这使得水凝胶可以通过微加工产生独特的图案、形态和 3D 结构,提供控制细胞行为、研究细胞物质相互作用和组织工程的理想平台,受到研究者的广泛关注^[10,11]。本文拟对 GelMA 水凝胶在生物医用领域的研究新进展进行梳理总结。

1 止血材料

目前,对于组织损伤常采用传统的缝合方式,但是当面对肺、肝、肾等薄壁组织损伤时,传统的缝合方式面临巨大的挑战。因为这些内脏组织内外结构比较一致,不利于缝合线或缝合钉的强力紧固。在肺部,呼吸作用所施加的重复且快速变

化的应力为受损组织的修复带来额外的风险,增加感染的可能性。而对于可以缝合的组织,也常与粘合剂配合使用以达到更高的封闭效果。此外,对于一些微创手术,常常没有足够的空间进行缝合操作,所以需要一种能够快速封闭的粘合剂进行操作。

Assmann 等^[12]开发了一种基于 GelMA 的高粘性、可生物降解的光反应粘合剂,通过调整明胶改性程度、预聚物浓度、光引发剂浓度和交联条件,优化 GelMA 粘合剂的物理性能和粘附力。GelMA 粘合剂显示的粘合性能优于临床使用的纤维蛋白和聚乙二醇基胶水。在小型及大型动物模型的实验中证明 GelMA 粘合剂能有效封闭大的肺部泄露,而不需要传统的缝合。

Hong 等^[13]开发了一种在湿表面具有较强粘附力和较强力学性能的粘合剂,主要成分为 GelMA 和邻硝基苄基类光扳机分子(NB)修饰的透明质酸(HA-NB)。通过紫外光照, GelMA 分子上的双键交联,形成第一层网络, HA-NB 上的光生醛基与 GelMA 上的氨基反应交联,形成第二层网络,从而增强了力学性能。同时, HA-NB 的光生醛基与组织上的氨基反应,能够增强胶体在湿面组织上的粘附力。动物实验证明,对于猪颈动脉损伤,该粘合剂能够在 20 s 内完全封闭伤口,术后动物全部存活,无血栓形成。猪左心室壁穿透伤止血实验发现,粘合剂能够在 30 s 内达到止血效果,完全封闭伤口。

2 创伤敷料

皮肤伤口的愈合涉及表皮的重建和结缔组织的修复。真皮组织的再上皮化过程加速了伤口的愈合,并且提供了早期的重建功能性屏障,这对预防过度水分流失和感染至关重要。因此,再上皮化被认为是皮肤伤口愈合的主要步骤。天然水凝胶是人工表皮的潜在修复材料,目前用于表皮再生的天然水凝胶主要是基于胶原蛋白和明胶材料。

Zhao 等^[14]使用具有可调机械性能的可降解 GelMA 水凝胶制备人工表皮,通过改变水凝胶的浓度调节其机械性能和降解性能,并且显示出很好的细胞活力。细胞实验还发现,GelMA 水凝胶皮肤能够支持角质形成细胞的生长、分化和分层成为具有足够屏障功能的重建多层表皮。

可吸收水分和抗感染的可更换伤口敷料可以用于预防慢性伤口的发展。可更换伤口敷料的主要标准是抑制细胞粘附以防止移除时的疼痛。Resmi 等^[15]将含有 PEG 保护的纳米银颗粒的 GelMA 单体与 2-羟丙基异丁烯酸甲酯交联制备水凝胶,该水凝胶具有优秀的机械性能和保湿性,能够抑制细菌生长,并且对真皮成纤维细胞没有粘附特性。

3 组织工程支架

血管网络的发展是组织工程的重要目标。血管化是设计功能性 3D 组织(如心脏、肝脏、肾脏和骨骼)的关键要求,其为周围的组织提供营养和氧气,并促进代谢产物的排出。GelMA 水凝胶已经成功应用于 3D 环境中血管网络发展的多项研究中。Chen 等^[16]和 Lin 等^[17]的研究证明了使用含有内皮集落形成细胞(ECFC)和间充质干细胞(MSCs)的 GelMA 水凝胶可作为体内和体外的血管形态发生支架。这两项研究均报道了小鼠血管网络的形成,并与小鼠的脉管系统功能性吻合。将载有 ECFC 和 MSC 的 GelMA 预聚物溶液直接注入小鼠体内,然后通过 UV 光透皮原位聚合形成凝胶。7 天后,他们将 GelMA 水凝胶移出并观察到在支架内形成了均匀稳定且互相连接的脉管网络。

细胞微环境在改善微工程组织的功能中起着不可或缺的作用。通过对载有细胞的水凝胶进行光图案化,可以控制工程化组织的微结构。Nichol 等^[9]运用 GelMA 水凝胶创建了负载细胞的微组织和微流体装置。实验证明,当细胞接种在微图

案化的 GelMA 水凝胶基底上或包覆在 GelMA 水凝胶中时,细胞更容易粘附、增殖、伸长和迁移。GelMA 水凝胶可用于制备复杂的细胞反应性微组织。

Shin 等^[18]将 GelMA 水凝胶中掺杂还原的氧化石墨烯(rGO)用于心脏组织工程材料。实验证明,rGO 结合到 GelMA 基质中显著增强了材料的导电性和机械性能。此外,与 GelMA 水凝胶相比,rGO 掺杂的 GelMA 水凝胶表现出更好的细胞活力和增殖,心肌细胞在 rGO-GelMA 水凝胶支架上显示出更强的收缩性和更快的自发搏动速率。

4 药物控释

药物控释是 GelMA 水凝胶的另一个研究领域。Serafim 等^[19]制备了一系列 GelMA-聚丙烯酰胺(PAA)杂化水凝胶,作为基质用于控释萘夫西林钠(一种常用于葡萄球菌的 β -内酰胺类抗生素)。通过增加杂化水凝胶中 PAA 的比例,可以调节抗生素的释放特性。与未杂化的 GelMA 水凝胶相比,GelMA-PAA 杂化水凝胶 10 h 内的药物释放率从 50%提升到 95%。

生物相容性和生物响应性微针是用于持续药物释放的新兴技术平台,Luo 等^[20]报道了一种负载抗癌药物多柔比星(DOX)的 GelMA 微针。GelMA 微针可以有效刺穿小鼠皮肤的角质层,通过调节交联度控制微针的机械性质和药物释放行为,并证明释放的药物对黑素瘤细胞系 A375 具有抗癌功效。预期 GelMA 微针可以作为递送各种治疗剂的通用平台。

5 骨缺损修复

基于 GelMA 的水凝胶在骨组织工程中,可以通过特定的加工方式,如光刻、微流体、3D 打印等,加工制备出仿生人工骨,使其在结构、力学性

能和生物学性能方面与天然骨相似。Fang 等^[21]通过热致相分离技术制备了 GelMA 水凝胶支架,模拟了天然骨细胞外基质的物理结构和化学组成,结果表明,GelMA 水凝胶能够显著增强脂肪来源的干细胞(ADSCs)的粘附和活力,提高碱性磷酸酶活性和矿物质沉积,以及 ADSCs 成骨基因的 mRNA 表达水平。实验结果证实,在临界尺寸的大鼠颅骨骨缺损模型中,GelMA 水凝胶和 ADSCs 的组合能够显著增强骨生成。

Visser 等^[22]制备了包含多功能基质细胞(MSCs)和软骨衍生基质(CDM)颗粒的 GelMA 水凝胶,研究发现,CDM 颗粒可在体外通过 GelMA 水凝胶中的 MSCs 刺激软骨模板的形成。在皮下大鼠模型中,该模板随后被重塑为矿化的骨组织,并且 GelMA 完全降解。通过在 GelMA 水凝胶中形成软骨内骨,这项研究为相关大小的骨移植物的工程化提供了新的途径。

除上述应用外,GelMA 水凝胶在生物医学领域的应用还包括电化学传感器、DNA 载体、细胞培养、吸附剂、手术导管等。

6 总结与展望

明胶通过甲基丙烯酸的修饰使改性后的明胶分子具备了紫外光照下聚合生成水凝胶的特性。根据这一特性,可以通过不同的加工方式,制备不同功能、不同形貌的 GelMA 水凝胶材料。并且,GelMA 材料自身可控的力学性能、降解性能,以及优秀的生物相容性,均使其成为一种非常有潜力的生物医用材料。

目前,对于 GelMA 水凝胶的研究有很多,但是在临床应用前还是面临很多问题,包括 GelMA 合成标准、光引发剂的安全性、凝胶时间的标准,以及水凝胶材料的安全性标准等。展望未来,我们相信,随着研究工作的不断深入,GelMA 水凝胶及其复合材料一定会在止血、骨修复、组织工程、药物控释等领域发挥更大的作用。

参考文献:

- [1] Rahali K, Ben Messaoud G, Kahn C J F, *et al.* Synthesis and characterization of nanofunctionalized gelatin methacrylate hydrogels[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2017, **18**(12): 2675.
- [2] Shin H, Olsen B D, Khademhosseini A. The mechanical properties and cytotoxicity of cell-laden double-network hydrogels based on photocrosslinkable gelatin and gellan gum biomacromolecules[J]. *Biomaterials*, 2012, **33**(11): 3143-3152.
- [3] Lee B H, Lum N, Seow L Y, *et al.* Synthesis and characterization of types A and B gelatin methacryloyl for bioink applications[J]. *Materials*, 2016, **9**(10): 1-13.
- [4] Liu Y, Chan-Park M B. A biomimetic hydrogel based on methacrylated dextran-graft-lysine and gelatin for 3D smooth muscle cell culture[J]. *Biomaterials*, 2010, **31**(6): 1158-1170.
- [5] van den Steen P E, Dubois B, Nelissen I, *et al.* Biochemistry and molecular biology of gelatinase B or matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) [J]. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 2002, **37**(6): 375-536.
- [6] van den Bulcke A I, Bogdanov B, de Rooze N, *et al.* Structural and rheological properties of methacrylamide modified gelatin hydrogels[J]. *Biomacromolecules*, 2000, **1**(1): 31-38.
- [7] Jayakrishnan A, Jameela S R. Glutaraldehyde as a fixative in bioprostheses and drug delivery matrices[J]. *Biomaterials*, 1996, **17**(5): 471-484.
- [8] Sung H W, Hsu H L, Shih C C, *et al.* Cross-linking characteristics of biological tissues fixed with monofunctional or multifunctional epoxy compounds[J]. *Biomaterials*, 1996, **17**(14): 1405-1410.
- [9] Nichol J W, Koshy S T, Bae H, *et al.* Cell-laden microengineered gelatin methacrylate hydrogels [J]. *Biomaterials*, 2010, **31**(21): 5536-5544.
- [10] Schuurman W, Levett P A, Pot M, *et al.* Gelatin-methacrylamide hydrogels as potential biomaterials for fabrication of tissue-engineered cartilage constructs[J]. *Macromolecular Bioscience*, 2013, **13**(5): 551-561.
- [11] Soman P, Chung P H, Zhang A P. Digital microfabrication of user-defined 3D microstructures in cell-laden hydrogels [J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2013, **110**(11): 3038-3047.
- [12] Assmann A, Vegh A, Ghasemi-Rad M, *et al.* A highly ad-

- hesive and naturally derived sealant[J]. *Biomaterials*, 2017, **140**: 115-127.
- [13] Hong Y, Zhou F F, Hua Y J, *et al.* A strongly adhesive haemostatic hydrogel for the repair of arterial and heart bleeds[J]. *Nature Communications*, 2019, 1-11.
- [14] Zhao X, Lang Q, Yildirimer L, *et al.* Photocrosslinkable gelatin hydrogel for epidermal tissue engineering[J]. *Advanced Healthcare Materials*, 2016, **5**(1): 108-118.
- [15] Resmi R, Unnikrishnan S, Krishnan L K, *et al.* Synthesis and characterization of silver nanoparticle incorporated gelatin-hydroxypropyl methacrylate hydrogels for wound dressing applications[J]. *Journal of Applied Polymer Science*, 2017, **134**(10). 10.1002/app.44529.
- [16] Chen Y C, Lin R Z, Qi H. Functional human vascular network generated in photocrosslinkable gelatin methacrylate hydrogels[J]. *Advanced Functional Materials*, 2012, **22**(10): 2027-2039.
- [17] Lin R Z, Chen Y C, Moreno-Luna R. Transdermal regulation of vascular network bioengineering using aphotopolymerizable methacrylated gelatin hydrogel[J]. *Biomaterials*, 2013, **34**(28): 6785-6796.
- [18] Shin S R, Zihlmann C, Akbari M, *et al.* Reduced graphene oxide-gelMA hybrid hydrogels as scaffolds for cardiac tissue engineering[J]. *Small*, 2016, 3677-3689.
- [19] Serafim A, Tucureanu C, Petre D. One-pot synthesis of superabsorbent hybrid hydrogels based on methacrylamide gelatin and polyacrylamide[J]. *New Journal of Chemistry*, 2014, 3112-3126.
- [20] Luo Z M, Sun W J, Fang J, *et al.* Biodegradable gelatin methacryloyl microneedles for transdermal drug delivery [J]. *Advanced Healthcare Materials*, 2019, **8**(3): 1801054.
- [21] Fang X X, Xie J, Zhong L X, *et al.* Biomimetic gelatin methacrylamide hydrogel scaffolds for bone tissue engineering[J]. *Journal of Materials Chemistry B*, 2015, **4**(6): 1070-1080.
- [22] Visser J, Gawlitta D, Benders K E M, *et al.* Endochondral bone formation in gelatin methacrylamide hydrogel with embedded cartilage-derived matrix particles[J]. *Biomaterials*, 2015, **37**: 174-182.