

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2016.10.041

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2016.10.041>

人工髓核材料的研究进展

杨斐 综述 徐海栋, 许斌, 赵建宁 审校

(南京大学医学院临床学院(南京军区南京总医院)骨科, 南京 210000)

[摘要] 椎间盘退变性疾病是一种临床常见疾病, 40%的下腰背疼痛是由腰椎间盘突出引起的。临床手术治疗只能在短期内缓解症状, 无法达到根治的目的。在髓核摘除术后, 人工髓核组织材料包括最早的硅橡胶、不锈钢和现在使用的水凝胶材料被用来填补病变的髓核组织, 维持椎间盘足够的高度。随着组织工程和材料科学的不断发展, 有希望使用干细胞或多能细胞来修复病变椎间盘或逆转其退变过程, 重塑椎间盘的生理功能。现阶段组织工程仍然需要面临的问题是能否找到一种近似于髓核组织结构和功能的细胞外支架, 为种子细胞的生长和生理活动提供合适的环境。文章就人工髓核材料的发展历史以及目前的研究情况展开综述。

[关键词] 人工髓核; 组织工程; 水凝胶支架; 髓核细胞

Advances in prosthetic disc nucleus material

YANG Fei, XU Haidong, XU Bin, ZHAO Jianning

(Department of Orthopedics, Nanjing School of Clinical Medicine, Nanjing University (Nanjing General Hospital of Nanjing Military Command), Nanjing 210002, China)

Abstract Degenerative disc disease is very common in clinical, and 40% of low back pain is caused by lumbar disc degeneration. Clinical surgery can relieve symptoms in the short term, but it cannot achieve the purpose of cure. In discectomy surgery, the artificial nucleus pulposus material such as silicone rubber, stainless steel, and hydrogel material is used to fill the defect of nucleus pulposus, in order to maintain a sufficient height of disc. With the continuous development of tissue engineering and materials science, it will be possible to use stem cells or multipotent cells to cure disc disease, and to restore the physiological function of the intervertebral disc. Now the problem that tissue engineering still has to face is how to find an extracellular scaffold which has similar structure and function of the nucleus pulposus to provide a suitable environment for the growth and physiological activity of nucleus pulposus cells. The article reviews the history of the development of artificial nucleus material and the current research situation.

Keywords artificial nucleus; tissue engineering; hydrogel scaffold; nucleus pulposus cells

收稿日期 (Date of reception): 2016-07-20

通信作者 (Corresponding author): 赵建宁, Email: zhaojianning.0207@163.com

基金项目 (Foundation item): 国家自然科学基金项目资助 (81501925)。This work was supported by National Natural Science Foundation of China (81501925).

在美国大约有75%~85%的人在一生中都至少有过一次下腰背疼痛(low back pain, LBP)的经历, 下腰背疼痛严重限制了病人的日常工作和活动, 并且是引起年龄低于45岁的中青年人群工作和活动受限的最常见原因^[1]。40%的下腰背疼痛是由于腰椎间盘突出性退变疾病造成的。对于腰椎间盘突出退变的诱因目前主要认为是压力、应激和椎间盘髓核细胞衰老和凋亡以及细胞外基质代谢障碍共同作用的结果^[2]。正常的椎间盘组织是由3个高度分化的部分组成: 终板、纤维环(annulus fibrosus, AF)和髓核(nucleus pulposus, NP)组成。髓核主要由类软骨细胞及Ⅱ型胶原构成, 富含蛋白聚糖, 亲水呈凝胶状, 其功能是保持正常椎间盘含水量及其渗透压, 维持椎间盘的形态和静水压力, 承载脊柱运动应力从而实现生物学效应^[3]。髓核能够抵抗脊柱的轴向压力, 并且通过膨胀的方式传递给纤维环。纤维环外围由多层排列整齐的Ⅰ型胶原纤维构成, 向内逐渐替换为排列相对较为杂乱的Ⅱ型胶原纤维, 这样的排列使纤维环具有较强的抗拉伸能力。在正常情况下, 髓核的膨胀压力与纤维化的抗张强度处于相对平衡, 保证了椎间盘恒定的高度和脊柱协调的运动^[4]。在椎间盘退变的过程中, 由于长期的应力刺激和低氧状态下的代谢异常蓄积, 髓核细胞逐渐出现凋亡、髓核细胞数目减少, 细胞外基质合成和分解异常, 导致首先出现了髓核正常结构的破坏, 随着退变效应逐渐扩大, 后期出现纤维环胶原纤维薄层结构破坏以及纤维环裂缝的形成, 最终出现纤维环的破裂和髓核的膨出, 椎间盘的高度降低, 脊柱的稳定性下降, 出现下腰背疼痛。因此, 治疗椎间盘退变性疾病需要包括髓核以及纤维环两个方面, 而髓核退变是最早的改变, 纤维环退变破裂随后出现, 所以针对髓核的治疗有助于早期修复和逆转椎间盘退变性疾病, 也是本文阐述的主要对象。

临床上脊柱融合术被用于减轻下腰背疼痛, 但它的缺点是严重限制了脊柱的运动, 同时还将会引起手术部位临近节段的退变。非手术治疗同样也只能缓解临床症状, 对椎间盘退变的发展无能为力^[5]。单纯髓核摘除在短期内具有较好的治疗效果, 然而从长期来看复发率较高^[6]。为了保证椎间盘具有一定的高度, 在髓核摘除术后, 使用人工髓核组织材料包括最早的硅橡胶、不锈钢和现在使用的水凝胶材料来替换或填补病变的髓核组织成为了研究的方向, 并且该类人工髓核材料逐渐向组织工程材料发展, 构造近似于人体椎间

盘髓核形态结构以及功能的特殊植入体, 做到从细胞层面来修复和逆转退变的椎间盘髓核, 最新的研究还将组织工程材料进一步修饰, 做到纳米化、功能化以及特殊结构化, 最终达到与正常椎间盘相同的力学和生理特性。文章就人工髓核材料的研究进展进行综述。

1 早期人工髓核材料

使用人工髓核假体材料来替换退变的髓核是一种思路。硅橡胶是最早的尝试, 瑞典医生Nachemson首次在退变椎间盘髓核中注入硅橡胶, 纵向加压实验验证了硅橡胶作为人工髓核的可行性, 但由于生物力学特性较低的缘故限制了它的应用。Fernström^[7]尝试使用不锈钢球体植入切除椎间盘的椎间隙, 用来维持椎间高度和活动度, 然而不锈钢球体存在移位和陷入椎体的现象, 无法维持正常的椎间高度, 加上金属材料硬度过大的问题最终被淘汰。水凝胶具有膨胀和压缩特性, 在力学特征上与髓核最为相近, Bao和Yuan^[8]使用水凝胶材料制作的髓核假体在动物实验和生物力学实验中都能够维持椎间盘正常高度, 恢复椎间盘的解剖和功能。随后美国Raymedica公司制作由聚丙烯腈与聚丙烯酰胺共聚物为材料的半流体水凝胶髓核, 使用聚乙烯纤维包裹的人工髓核假体(prosthetic disc nucleus, PDN)并应用于临床。这类人工髓核假体良好的机械性能和稳定的生物力学特征在临床运用中表现较好, 短期内极大地保护了脊柱的运动功能, 患者的临床症状也得到明显缓解^[9]。然而从长期疗效来看这类人工髓核假体的表现并不理想, 对34例移植PDN的患者在长达526个月的随访后, 有25例发生假体移位, 所有患者均出现不同程度的下腰背疼痛, 椎间盘高度明显下降, 高比例的发生终板的破裂和退变^[10]。所以这类人工假体并不能满足长期替代人体髓核的需要, 而要想获得较为满意的长期疗效, 需要在细胞水平延缓或逆转椎间盘病理退变, 组织工程学修复和重建椎间盘成为了一种新的选择。

2 髓核组织工程重建

髓核组织工程包括3方面的内容: 种子细胞、支架以及信号因子。种子细胞一般可以选用髓核类软骨细胞(Nucleus pulposus chondrocyte, NPCs), 鼻软骨细胞(nasal chondrocytes, NCs), 骨髓间充质干细胞(mesenchymal stem cells,

MSCs)以及脂肪间充质干细胞(adipose derived mesenchymal stem cells, ADSCs)。它们的共同特点是: 1)具有一定的分化潜能或特定的表型; 2)不容易引发免疫排斥; 3)有丰富的来源和良好的体外扩增效率。在体外一定条件下种子细胞能够培养存活并增殖, 最后形成组织。而决定种子细胞能否存活以及增殖效率和活性的关键是细胞外支架材料。支架在组织工程中扮演着细胞外基质的角色, 一个理想的支架必须达到以下要求: 1)具有优秀的生物相容性和适当的可降解性; 2)结构为三维立体多孔网状; 3)能保证一定的机械强度和力学特性; 4)构造细胞在体内生存相似的环境^[11]。常用的支架材料主要有天然材料、合成材料以及复合材料。

天然材料在成分上更接近于细胞外基质, 主要包括藻酸盐类、壳聚糖、琼脂糖、胶原蛋白、硫酸软骨素等, 这类材料具有较好的生物活性和生物相容性, 可诱导种子细胞的增殖和功能的发挥, 然而机械性能较差, 不能达到人体髓核的力学要求。合成材料如高分子有机材料聚乳酸、聚羟基乙酸及其共聚物以及生物陶瓷材料聚磷酸钙等力学性能优秀, 结构和性能可以进行人为修饰, 可调控性高, 缺点是亲水性和溶胀能力较差, 无生物活性, 生物相容性差, 可能对细胞具有一定毒性作用。于是由不同天然材料和合成材料混合制作兼顾生物相容性以及力学性能的复合材料成为了新的选择, 在多种材料复合的同时, 还可以进一步修饰, 将其功能化、纳米化、特殊结构化。下面将提到目前研究主要的水凝胶支架材料及有关特殊处理、修饰方法。

2.1 II型胶原—透明质酸复合材料

II型胶原蛋白是髓核细胞外基质的重要成分, 具有不错的生物相容性和力学性质, 在发生退变的髓核组织中, II型胶原含量减少。由II型胶原为基础制作的水凝胶材料对比I型胶原能诱导脂肪间充质干细胞向软骨方向分化, 促进软骨的生成^[12]。为了提高II型胶原材料的力学性能和对降解酶的抵抗能力, 戊二醛和碳化亚二胺曾被用作制备水凝胶的交联剂, 然而在实验中^[13-14]观察到它们对种子细胞具有高度的毒性作用。在正常人体髓核组织中透明质酸的含量较高, 能够促进髓核细胞外基质的生成, 髓核细胞的增殖以及软骨表型的保持^[15]。Tsaryk等^[16]制作了一种特殊的胶原—低分子透明质酸半互穿网状结构, 并在其中加入包裹有TGF- β 3因子的明胶微粒, 发现该材料

黏弹性极佳, MSC细胞能够沿着胶原纤维生长, 细胞活性高, 并向成软骨方向分化。Halloran^[17]使用II型胶原—透明质酸复合水凝胶支架作为载体培养髓核细胞, 发现髓核细胞表型得到较好保留。之后Estelle使用聚乙二醇醚四琥珀酰亚胺戊二酸酯(4S-StarPEG)作为交联剂, 将II型胶原交联形成水凝胶并混合不同比例的透明质酸作为支架在体外培养髓核细胞, 发现4S-StarPEG的细胞毒性低, 成胶速度快, 可控性高, 该水凝胶能够促进髓核细胞的生存, 并且与加入透明质酸的比例无关^[18]。因为II型胶原以及透明质酸天然纯在于髓核组织细胞外基质中, 所以使用II型胶原和透明质酸构建的髓核水凝胶支架在成分上更接近于天然髓核, 这类水凝胶对比人工合成的高分子水凝胶具有更高的生物相容性, 可以维持种子细胞的活性, 所以该类水凝胶最有望未来应用于临床, 但是目前它的缺点是力学强度低, 机械性能比较差, 不能够满足正常髓核承受应力的要求。因此, 现在距离其临床运用尚有一段距离。随着材料科学的不断发展, 新的材料修饰技术不断进步, II型胶原、透明质酸这类天然水凝胶随着不断地被修饰, 其机械性能会逐步提高, 最终实现临床运用。

2.2 藻酸盐水凝胶材料

藻酸盐是存在于海洋褐藻的一种天然多糖, 在易于分离的交联剂二价阳离子作用下能够发生聚合形成水凝胶, 并且具有网状结构, 符合细胞生存环境要求, 生物相容性较高, 细胞毒性低, 同时成本又相对较低。所以较早被运用于制备可注射式水凝胶^[19]。然而藻酸盐的聚合过程并不均一, 当溶液表面发生聚合后会限制下层藻酸盐的进一步聚合, 并影响其成胶后的机械强度^[20]。因此控制藻酸盐成胶的过程对制备该类水凝胶至关重要, 多数研究选择使用氯化钙(CaCl_2)作为交联剂, 其钙离子解离程度高, 交联过程不可控, 成胶后的性状存在差异。Growney Kalaf等^[21]选用碳酸钙(CaCO_3)作为交联剂, 由于碳酸钙的解离程度可以被葡萄糖 δ 内酯(GDL)调控, 于是他通过控制温度和PH来调节葡萄糖 δ 内酯的水解从而调控碳酸钙的解离程度, 使藻酸盐的交联过程实现可控。Emily通过这种方式制备的慢成胶藻酸盐水凝胶在机械性能、黏弹性、扩散性、保水性以及溶胀比率上得到了较大的提高, 为藻酸盐水凝胶人工髓核的运用提供了更多可能。藻酸盐由于是从褐藻中提取, 属于天然多糖, 生物毒性较低, 有利于

种子细胞的存活, 对比Ⅱ型胶原它的价格相对便宜, 能够大量获取, 但和Ⅱ型胶原一样, 它的力学强度较低, 虽然制备工艺在不断改进, 但是目前来说仍然不是很成熟, 无法得到机械性能较好的水凝胶。但是藻酸盐依然可以作为辅助材料。与其他材料复合应用于实验研究中。

2.3 壳聚糖水凝胶材料

壳聚糖是由随机分布的N-乙酰葡萄糖胺和葡萄糖胺单位组成的一种多糖, 它在结构和功能上与组织中的葡糖氨基葡聚糖(GAGS)相近, 壳聚糖能够通过自缔合或者共价交联的方式形成水凝胶^[22]。壳聚糖水凝胶能够促进软骨细胞的生长分化, 诱导软骨特异性细胞外基质的生成^[23]。同时壳聚糖水凝胶天然的阳离子特性使它能够与软骨细胞产生的带阴离子的蛋白聚糖结合。Manitha使用壳聚糖与聚羟基丁酸酯共戊酸酯(PHBV)制备复合水凝胶, 并加入硫酸软骨素(chondroitin sulfate, CS)纳米微粒, 制备过程不需要交联剂, 得到了近似于人体髓核的粘弹性, 能承受相当于人体腰椎每天活动如躺下(0.01 MPa)、坐(0.5 MPa)和站立(1.0 MPa)时的变应力。在种子细胞体外培养中发现, 对比无CS纳米微粒的壳聚糖(一帕)时的水凝胶, 具有CS纳米微粒的复合水凝胶明显增强大鼠脂肪间充质干细胞的活性和成软骨方向分化的能力^[24]。因为壳聚糖在结构上与髓核细胞外基质中的糖胺聚糖相似, 具有较强的吸水性, 能够维持髓核的渗透性和电解质, 同时又具有抗菌能力, 其生物相容性较好, 价格便宜, 所以壳聚糖水凝胶能够作为组织工程细胞外支架的不错选择^[25]。新的工艺也让该类水凝胶的机械性能不断提高, 然而真正实现其临床运用还需要更多的实验研究来验证。

2.4 吉兰糖胶水凝胶材料

吉兰糖胶(gellan gum, GG)是由鞘氨伊乐藻(*Sphingomonas elodea*)产生的一种细胞外多糖, 以葡萄糖-葡萄糖醛酸-葡萄糖-鼠李糖作为重复单元, 具有凝胶状性质, Oliveira等^[26]将其运用在软骨组织工程修复中并取得不错效果。Silva在低酰基GG渗入甲基丙烯酸后形成的共聚结构中得到了甲基丙烯酸化的GG(GG-MA), 相比未修饰的GG, 具有更好的机械性能和较低的降解率^[27]。该类水凝胶可以通过离子交联或者光交联的方式成胶, 在体外培养人的骨髓间充质干细胞实验中, 可以保证细胞长达21 d的生长和存活^[28]。此后, Roman再次通过体外细胞实验发现两种不同交联方

式的GG-MA都不会在体外诱导细胞毒性以及促炎症反应, 但是离子交联的GG-MA具有更好的生物相容性, 并且在皮下植入后, 能够证明骨髓间充质干细胞以及鼻软骨细胞形成软骨的潜能^[29]。GG虽然对比Ⅱ型胶原和透明质酸等细胞外基质材料在生物相容性上有一定差距, 然而它的优点在于成胶方式简单, 易于操控, 并且能够通过修饰可获得不同的机械性能, 可调控性大, 可用于不同的组织工程研究中。

2.5 糖胺聚糖水凝胶材料

透明质酸作为一种常见的糖胺聚糖在维持髓核组织基质的正常生理功能中起到了关键的作用。透明质酸的长链可以作为聚集蛋白聚糖的骨架, 有助于细胞外基质的发展并促进髓核细胞生成细胞外基质, 其形成的较高负电荷增加了对水的吸收, 保证了髓核的机械应力。同时具有维持软骨细胞和髓核细胞的表型作用^[30]。鉴于透明质酸的生物学功能, 它被经常和其他材料结合形成复合水凝胶。Jeong等^[31]将聚乙二醇和不同分子量的透明质酸合成复合水凝胶, 通过测试其力学性能发现随着透明质酸分子量的增加, 复合水凝胶的刚度就越大。在体外细胞培养时, 低分子量透明质酸的复合水凝胶更有利于髓核细胞的生存以及细胞外硫酸盐黏多糖的合成。Sivan运用钠2-丙烯酸酰胺、2-甲基丙烷磺酸(NaAMPS)和3-磺基丙基丙烯酸酯钾盐(KSPA)单体合成了糖胺聚糖类似物, 在生物学性能上能做到与糖胺聚糖相近^[32]。作为髓核细胞外基质的重要成分, 糖胺聚糖维持了髓核的吸水性和溶胀能力, 并且具有极高的生物相容性, 能够促进髓核细胞的生存和功能, 维持其细胞表型。它往往被用来与Ⅱ型胶原复合构建水凝胶支架, 或者与其他材料复合构建性能更为稳定的复合材料, 其构建的材料亲水性较好。因此, 糖胺聚糖水凝胶在髓核组织工程中应用前景较大。

2.6 聚磷酸盐材料

聚磷酸盐是磷酸盐重复单元的复合物, 属于生物活性化合物, 作为防腐剂被广泛应用于牙膏, 烘焙食品和肉类行业中^[33]。它存在于所有原核以及真核细胞之中, 在低等生物如细菌和真菌中是能量的替代来源, 并且维持其毒力, 在哺乳动物细胞系统中能够调节多种重要的生理过程^[34]。在体外实验中, 聚磷酸盐材料加强软骨细胞的合成代谢, 促进软骨组织的生成^[35]。Rahul使用聚磷酸盐支

架材料在体外培养髓核细胞,发现聚磷酸盐对髓核细胞外基质的生成和堆积具有调节作用,与聚磷酸盐浓度和分子链的长度有关^[36]。虽然聚磷酸盐具有不错的机械性能同时又兼具一定的生物相容性,然而其生物降解度较差。髓核组织工程修复退变椎间盘的原理是诱导种子细胞生成髓核基质,重新构建正常髓核的组织结构,因此要求支架材料能够在髓核修复过程中缓慢降解,然而聚磷酸盐并不能够满足这样的要求,这限制了其在髓核组织工程中的进一步运用。

3 小结与展望

因为椎间盘髓核组织是人体免疫豁免部位,所以运用干细胞或功能细胞的同种异体移植存在高度可行性。虽然目前由美国Raymedica公司制作的水凝胶人工髓核假体已经能够运用于临床治疗,但是这样的假体不存在种子细胞,只能在短期内缓解症状,长期疗效不佳。真正理想的治疗方式是运用髓核组织工程来修复和重建椎间盘。当前组织工程学需要解决的最重要问题是开发一种具有与髓核组织基质结构和功能相似的细胞水凝胶支架,为种子细胞的生存和活动提供有利的微环境,促进种子细胞合成细胞外基质,同时具有适当的机械强度和力学性能以维持椎间盘的高度和脊柱的运动。随着材料科学的发展和进步,支架材料必将进一步纳米化、功能化、特殊结构化,最终达到髓核功能要求。然而现阶段多数支架材料的研发仍主要停留在体外实验水平,缺少动物实验数据的支持,离临床运用还存在一定的距离,同时动物椎间盘退变模型和人体存在固有差异,也为这项技术在未来临床运用中的疗效增加了不确定性。总而言之,椎间盘组织工程学为根治椎间盘退变性疾病带来了可能,但在实现其临床运用的道路中也同样充满了挑战。

参考文献

1. Andersson GB. Epidemiological features of chronic low-back pain[J]. *Lancet*, 1999, 354(9178): 581-585.
2. Molinos M, Almeida CR, Caldeira J, et al. Inflammation in intervertebral disc degeneration and regeneration[J]. *J R Soc Interface*, 2015, 12(104): 20141191.
3. Adams MA, Dolan P, McNally DS. The internal mechanical functioning of intervertebral discs and articular cartilage, and its relevance to matrix

- biology[J]. *Matrix Biol*, 2009, 28(7): 384-389.
4. Kepler CK, Ponnappan RK, Tannoury CA, et al. The molecular basis of intervertebral disc degeneration[J]. *Spine J*, 2013, 13(3): 318-330.
5. Iatridis JC, Nicoll SB, Michalek AJ, et al. Role of biomechanics in intervertebral disc degeneration and regenerative therapies: what needs repairing in the disc and what are promising biomaterials for its repair[J]. *Spine J*, 2013, 13(3): 243-262.
6. 陈学明,刘亚东,许崧杰,等.单节段腰椎间盘突出症单纯髓核摘除术后10年以上随访观察[J]. *中国脊柱脊髓杂志*, 2011, 21(8): 644-649.
CHEN Xueming, LIU Yadong, XU Songjie, et al. Result of lumbar discectomy for single-level lumbar intervertebral disc herniation: a ten-year report[J]. *Chinese Journal of Spine & Spinal Cord*, 2011, 21(8): 644-649.
7. Fernström U. Arthroplasty with intercorporeal endoprosthesis in herniated disc and in painful disc[J]. *Acta Chir Scand Suppl*, 1966, 357: 154-159.
8. Bao QB, Yuan HA. Prosthetic disc replacement: the future[J]. *Clin Orthop Relat Res*, 2002, (394): 139-145.
9. Selviaridis P, Foroglou N, Tsitlakidis A, et al. Long-term outcome after implantation of prosthetic disc nucleus device (PDN) in lumbar disc disease[J]. *Hippokratia*, 2010, 14(3): 176-184.
10. Ma YZ, Xue HB, Chen X, et al. The mid- or long-term clinical results of prosthetic disc nucleus replacement in the treatment of lumbar disc disease[J]. *Zhonghua Wai Ke Za Zhi*, 2008, 46(5): 350-353.
11. 白亦光,冯刚.椎间盘退行性变组织工程研究进展[J]. *西部医学*, 2016, 26(8): 1100-1102.
BAI Yiguang, FENG Gang. The development of research of tissue engineering on intervertebral disc degeneration[J]. *Medical Journal of West China*, 2016, 26(8): 1100-1102.
12. Lu Z, Doulabi BZ, Huang C, et al. Collagen type II enhances chondrogenesis in adipose tissue-derived stem cells by affecting cell shape[J]. *Tissue Eng Part A*, 2010, 16(1): 81-90.
13. Orban JM, Wilson LB, Kofroth JA, et al. Crosslinking of collagen gels by transglutaminase[J]. *J Biomed Mater Res A*, 2004, 68(4): 756-762.
14. Saito H, Murabayashi S, Mitamura Y, et al. Characterization of alkali-treated collagen gels prepared by different crosslinkers[J]. *J Mater Sci Mater Med*, 2008, 19(3): 1297-1305.
15. Pek YS, Kurisawa M, Gao S, et al. The development of a nanocrystalline apatite reinforced crosslinked hyaluronic acid-tyramine composite as an injectable bone cement[J]. *Biomaterials*, 2009, 30(5): 822-828.
16. Tsaryk R, Gloria A, Russo T, et al. Collagen-low molecular weight hyaluronic acid semi-interpenetrating network loaded with gelatin microspheres for cell and growth factor delivery for nucleus pulposus regeneration[J]. *Acta Biomater*, 2015, 20: 10-21.
17. Halloran DO, Grad S, Stoddart M, et al. An injectable cross-linked

- scaffold for nucleus pulposus regeneration[J]. *Biomaterials*, 2008, 29(4): 438-447.
18. Collin EC, Grad S, Zeugolis DI, et al. An injectable vehicle for nucleus pulposus cell-based therapy[J]. *Biomaterials*, 2011, 32(11): 2862-2870.
 19. Drury JL, Mooney DJ. Hydrogels for tissue engineering: scaffold design variables and applications[J]. *Biomaterials*, 2003, 24(24): 4337-4351.
 20. Van Tomme SR, Storm G, Hennink WE. In situ gelling hydrogels for pharmaceutical and biomedical applications[J]. *Int J Pharm*, 2008, 355(1-2): 1-18.
 21. Growney Kalaf EA, Flores R, Bledsoe JG, et al. Characterization of slow-gelling alginate hydrogels for intervertebral disc tissue-engineering applications[J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2016, 63: 198-210.
 22. Suh JK, Matthew HW. Application of chitosan-based polysaccharide biomaterials in cartilage tissue engineering: a review[J]. *Biomaterials*, 2000, 21(24): 2589-2598.
 23. Chicatun F, Pedraza CE, Muja N, et al. Effect of chitosan incorporation and scaffold geometry on chondrocyte function in dense collagen type I hydrogels[J]. *Tissue Eng Part A*, 2013, 19(23-24): 2553-2564.
 24. Nair MB, Baranwal G, Vijayan P, et al. Composite hydrogel of chitosan-poly(hydroxybutyrate-co-valerate) with chondroitin sulfate nanoparticles for nucleus pulposus tissue engineering[J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2015, 136: 84-92.
 25. Di Martino A, Sittinger M, Risbud MV. Chitosan: a versatile biopolymer for orthopaedic tissue-engineering[J]. *Biomaterials*, 2005, 26(30): 5983-5990.
 26. Oliveira JT, Santos TC, Martins L, et al. Gellan gum injectable hydrogels for cartilage tissue engineering applications: in vitro studies and preliminary in vivo evaluation[J]. *Tissue Eng Part A*, 2010, 16(1): 343-353.
 27. Silva-Correia J, Oliveira JM, Caridade SG, et al. Gellan gum-based hydrogels for intervertebral disc tissue-engineering applications[J]. *J Tissue Eng Regen Med*, 2011, 5(6): e97-e107.
 28. Silva-Correia J, Gloria A, Oliveira MB, et al. Rheological and mechanical properties of acellular and cell-laden methacrylated gellan gum hydrogels[J]. *J Biomed Mater Res A*, 2013, 101(12): 3438-3446.
 29. Tsaryk R, Silva-Correia J, Oliveira JM, et al. Biological performance of cell-encapsulated methacrylated gellan gum-based hydrogels for nucleus pulposus regeneration[J]. *J Tissue Eng Regen Med*, 2014, Epub ahead of print.
 30. Chung C, Erickson IE, Mauck RL, et al. Differential behavior of auricular and articular chondrocytes in hyaluronic acid hydrogels[J]. *Tissue Eng Part A*, 2008, 14(7): 1121-1131.
 31. Jeong CG, Francisco AT, Niu Z, et al. Screening of hyaluronic acid-poly(ethylene glycol) composite hydrogels to support intervertebral disc cell biosynthesis using artificial neural network analysis[J]. *Acta Biomater*, 2014, 10(8): 3421-3430.
 32. Sivan SS, Roberts S, Urban JP, et al. Injectable hydrogels with high fixed charge density and swelling pressure for nucleus pulposus repair: biomimetic glycosaminoglycan analogues[J]. *Acta Biomater*, 2014, 10(3): 1124-1133.
 33. Gunther NW 4th. Effects of polyphosphate additives on *Campylobacter* survival in processed chicken exudates[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2010, 76(8): 2419-2424.
 34. Rao NN, Kornberg A. Inorganic polyphosphate regulates responses of *Escherichia coli* to nutritional stringencies, environmental stresses and survival in the stationary phase[J]. *Prog Mol Subcell Biol*, 1999, 23: 183-195.
 35. St-Pierre JP, Wang Q, Li SQ, et al. Inorganic polyphosphate stimulates cartilage tissue formation[J]. *Tissue Eng Part A*, 2012, 18(11-12): 1282-1292.
 36. Gawri R, Shiba T, Pilliar R, et al. Inorganic polyphosphates enhances nucleus pulposus tissue formation in vitro[J]. *J Orthop Res*, 2016, Epub ahead of print.

本文引用: 杨斐, 徐海栋, 许斌, 赵建宁. 人工髓核材料的研究进展[J]. 临床与病理杂志, 2016, 36(10): 1683-1688. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2016.10.041

Cite this article as: YANG Fei, XU Haidong, XU Bin, ZHAO Jianning. Advances in prosthetic disc nucleus material[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2016, 36(10): 1683-1688. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2016.10.041