

石墨烯在组织工程及再生医学中的研究

李林峰¹, 李健^{2*}

(1.华北理工大学, 河北 唐山 063000; 2.厦门大学附属翔安医院口腔科, 福建 厦门 361000)

【摘要】石墨烯(Graphene)是一种平面的碳原子单层,呈二维六角形结构,具有非凡的电、热和物理性能。此外,石墨烯的分子结构可以用相关分子进行化学修饰,使电子器件拥有较高的性能。尽管碳衍生物已广泛应用于工业和电子领域,但其在组织工程(Tissue engineering)与再生医学(Regenerative medicine)中的应用尚处于研究阶段。研究表明,石墨烯具有良好的生物相容性、低毒性和较大的负载能力。本文综述了石墨烯及其相关材料诱导干细胞(stem cells)分化为成骨细胞(Osteoblasts)、神经元(Neuron)和脂肪细胞(Fat cells)的能力。

【关键词】石墨烯, 干细胞, 组织工程, 再生医学**【中图分类号】**R-33**【文献标识码】**A**【文章编号】**ISSN.2095-8803.2019.7.9.03

DOI:10.16269/j.cnki.cn11-9337/r.2019.07.004

Study on graphene in tissue engineering and regenerative medicine

Li Lin-feng¹, Li Jian^{2*}

(1.North China University of Technology, Hebei Tangshan 063000, China,

2.Department of Stomatology, Xiang'an Hospital, Xiamen University, Fujian Xiamen 361000, China)

【Abstract】 Graphene is a planar monolayer of carbon atoms with a two-dimensional hexagonal structure. It has remarkable electrical, thermal and physical properties. In addition, the molecular structure of graphene can be chemically modified by related molecules, so that electronic devices have high performance. Although carbon derivatives have been widely used in industry and electronics, their application in regenerative medicine is still in the research stage. The results show that graphene has good biocompatibility, low toxicity and high loading capacity. This review summarizes the ability of graphene and its related materials to induce stem cells to differentiate into osteoblasts, neurons and adipocytes.

【Key word】 Graphene; Stem cells; Tissue engineering; Regenerative medicine

近年来,再生医学的研究如火如荼,纳米结构材料作为细胞负载材料用于组织工程和再生医学已成为一大热点。组织再生促进了生物材料的发展,从信号转导水平到宏观组织再生,它都需要材料具有良好的生物相容性及合适的物理性能。许多作者已经证明,细胞的形状、形态、附着、增殖和迁移可以通过细胞与外在环境的相互作用来控制目前的纳米级研究主要集中在大量生产的新材料上,最后通过建立体外模型更好地表现自然细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的复杂性,从而形成专门设计用于调节细胞分化的组织工程支架材料^[1-4]。

在寻找可能影响细胞行为的新型细胞支架材料过程中,学者们对石墨烯^[5]给予了极大的关注。石墨烯由平面内呈二维六角形结构的单层碳原子组成^[6],具有良好的理化性质,尽管碳衍生物已广泛应用于工业和电子领域,但其在组织工程及再生医学中的应用仍处于早期阶段^[7]。到目前为止,将碳衍生物材料应用于组织工程主要是涂层其他材料或单纯碳衍生物材料两种。由于纳米材料的基质能够为干细胞提供一种独特的物理框架,其常被用于调节干细胞的行为^[8-9]。石墨烯具有独特的物理、化学和机械特性,可制作为“任意形状”的单原子支架^[10]。同时,石墨烯具有高度的生物相容性、低毒性和大剂量的负载能力,以诱导干细胞分化^[11]。

1 成骨分化(Osteogenic differentiation)

利用石墨烯改善支架材料的生物学特性,以及其促进干细胞或成骨细胞粘附、增殖和成骨分化的能力已在几项

研究中得到证实^[12]。石墨烯作为一种具有生物相容性表面的涂层材料,已被证明是一种可促进干细胞向成骨前体细胞和成骨细胞分化的安全模型^[13]。Kalbacova等人首次在二氧化硅(SiO₂)和石墨烯涂层的SiO₂上培养成骨细胞48小时后,观察到细胞均匀地覆盖石墨烯涂层,同时在SiO₂表面出现单独的斑点。免疫荧光显示,在石墨烯涂层中,成骨细胞的数量几乎是初始的2倍,而SiO₂薄膜中增加为原来的1.5倍左右^[14]。通过Lee等^[10]的进一步研究,表明石墨烯基质培养与成骨分化呈正相关。Crowder等学者的研究也证实了间充质干细胞(mesenchyma stem cell, MSCs)在石墨烯基质上的成骨分化潜能,特别是3D石墨烯结构在诱导成骨分化中的效果比较突出^[15]。作者指出,所使用的泡沫形状结构特别适合作为基质诱导骨髓间充质干细胞分化为成骨细胞。

2 成神经分化(Neurogenetic differentiation)

诱导人类神经干细胞分化为神经元是再生医学的一个重要挑战,这为神经的再生治疗提供了新的希望^[16-17]。Park等^[18]测试石墨烯底物作为人类神经干细胞向神经元分化的启动因子,比较30天后种植在石墨烯和玻璃基质上的人类神经干细胞,免疫荧光显示细胞在石墨烯基质上的附着程度随细胞向神经元分化的速率而增大,而玻璃表面则是胶质细胞多于神经元。Hong等^[19]的研究还表明,石墨烯基的底物可以促进神经分化。在未覆盖或石墨烯覆盖的玻璃基质上培养PC-12细胞株,观察到在石墨烯涂层的基质上随着细胞增殖和神经分化的增加,细胞粘附性更好。Wang等^[20]

通讯作者:李健,厦门大学附属翔安医院口腔科,主任医师,硕士生导师, E-mail:lijianimplant@163.com

作者简介:李林峰,华北理工大学,硕士生, E-mail:943071785@qq.com

在含氟石墨烯片上培养MSC,与种植在石墨烯上的细胞相比,神经分化显著增强。这表明氟化石墨烯可能是一种促进神经元分化的良好载体。Li等人使用基于石墨烯的新型3D支架材料石墨烯泡沫来调节小鼠神经干细胞行为,结果显示石墨烯泡沫可支持干细胞的生长并使细胞处于活跃的增殖状态^[17]。其多孔结构是一种良好的神经干细胞黏附基质,可能是由于其表面不规则,从而提高了机械黏附性^[21]。由于未观察到细胞毒性且不影响细胞活性,因此该支架也被证明具有高度的生物相容性。此外,与二维石墨烯结构相比,三维结构具有更高的电刺激性能,并且电刺激能够诱导神经分化^[22]。

3 成脂分化 (Adipogenic differentiation)

许多学者也曾研究石墨烯和氧化石墨烯 (graphene oxide, GO) 基质对MSCs脂肪分化的影响。特别是在Lee等^[10]的研究中,在含脂肪分化培养基的条件下,将MSCs分别在石墨烯或GO板上培养14天。然后用油红O染色细胞并计数。结果表明,石墨烯基质对脂肪分化有很强的抑制作用;相反,GO则对脂肪分化有很强促进效果。这种差异可能是由于石墨烯具有使胰岛素变性的能力,而GO不使胰岛素变性,因此可以维持其在脂肪酸合成中的介导作用。Kim等^[8]评估了将人脂肪干细胞 (human adipose stem cells, hADSC) 分化为脂肪细胞的潜力,与对照组 (聚苯乙烯) 相比,GO基质上的脂肪生成更高。同时,GO作为一种独特的支架材料,允许hADSC的附着和增殖,并调节细胞分化,不仅向脂肪分化,而且向成骨和上皮表型分化。然而,GO可抑制hADSC的软骨分化。

4 讨论

石墨烯及其衍生复合材料在干细胞分化中的确切机制尚不清楚。目前普遍认为,石墨烯族纳米材料的表面特性,如纳米形貌、表面刚度和大负载能力,会影响控制干细胞分化的分子途径。许多研究证实,石墨烯及其相关材料能够诱导人类干细胞分化为特定的谱系,与传统的基质或支架^[3,8,10,11,14,15]相比,涂有石墨烯或GO或3D石墨烯泡沫的材料能够保证生存能力并诱导干细胞的成骨分化。在神经元再生方面,石墨烯和GO表现出相同的分化潜能。凭借石墨烯材料的结构和功能,可以很好地在体外模拟细胞外基质结构^[18-20]。除了成骨和神经细胞分化外,GO还可以控制脂肪生成^[8,10]。相信随着石墨烯材料在组织工程中研究的深入,最终将为临床再生医学打开新的篇章。

参考文献

- [1] Bressan E, Carraro A, Ferroni L, et al. Nanotechnology to drive stem cell commitment [J]. *Nanomedicine*, 2013, 8(3):469-486.
- [2] McMurray R J, Gadegaard N, Tsimbouri P M, et al. Nanoscale surfaces for the long-term maintenance of mesenchymal stem cell phenotype and multipotency [J]. *NATURE MATERIALS*, 2011, 10(8):637-644.
- [3] Nayak T R, Andersen H, Makam V S, et al. Graphene for Controlled and Accelerated Osteogenic Differentiation of Human Mesenchymal Stem Cells [J]. *ACS NANO*, 2011, 5(6):4670-4678.
- [4] Reilly G C, Engler A J. Intrinsic extracellular matrix properties regulate stem cell differentiation [J]. *Journal of Biomechanics*, 2010, 43(1):55-62.
- [5] Novoselov, K. S. Electric Field Effect in Atomically Thin Carbon Films [J]. *Science*, 2004, 306(5696):666-669.
- [6] Chen G Y, Pang W P, Hwang S M, et al. A graphene-based platform for induced pluripotent stem cells culture and differentiation [J]. *Biomaterials*, 2012, 33(2):418-427.
- [7] Spradling A, Drummond-Barbosa D, Kai T. Stem cells find their niche [M]. *Nature* 2001, 414:98-104.
- [8] Kim J, Seonwoo H, Cho C S. Bioactive effects of graphene oxide cell culture substratum on structure and function of human adipose-derived stem cells. [J]. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 2013, 101(12):3520-3530.
- [9] Mooney E, Dockery P, Greiser U, et al. Carbon Nanotubes and Mesenchymal Stem Cells: Biocompatibility, Proliferation and Differentiation [J]. *Nano Letters*, 2008, 8(8):2137-2143.
- [10] Lee W C, Lim C H Y X, Shi H, et al. Origin of Enhanced Stem Cell Growth and Differentiation on Graphene and Graphene Oxide [J]. *ACS NANO*, 2011, 5(9):7334-7341.
- [11] La W G, Park S, Yoon H H, et al. Delivery of a Therapeutic Protein for Bone Regeneration from a Substrate Coated with Graphene Oxide [J]. *Small*, 2013, 9(23):4051-4060.
- [12] Gu M, Liu Y, Chen T, et al. Is Graphene a Promising Nano-Material for Promoting Surface Modification of Implants or Scaffold Materials in Bone Tissue Engineering? [J]. *Tissue Engineering Part B Reviews*, 2014, 20(5):477-491.
- [13] Sanchez V C, Jachak A, Hurt R H, et al. Biological Interactions of Graphene-Family Nanomaterials: An Interdisciplinary Review [J]. *CHEMICAL RESEARCH IN TOXICOLOGY*, 2012, 25(1):15-34.
- [14] Kalbacova M, Broz A, Kong J, et al. Graphene substrates promote adherence of human osteoblasts and mesenchymal stromal cells [J]. *Carbon*, 2010, 48(15):4323-4329.
- [15] Crowder S W, Prasai D, Rath R, et al. Three-dimensional graphene foams promote osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells [J]. *Nanoscale*, 2013, 5(10):4171-4176.
- [16] Orive G, Anitua E, Pedraz, José Luis, et al. Biomaterials for promoting brain protection, repair and regeneration [J]. *Nature Reviews Neuroscience*, 2009, 10(9):682-692.
- [17] Three-dimensional graphene foam as a biocompatible and conductive scaffold for neural stem cells [J]. *Scientific Reports*, 2013, 3:1604.
- [18] Park S Y, Park J, Sim S H, et al. Enhanced Differentiation of Human Neural Stem Cells into Neurons on Graphene [J]. *Advanced Materials*, 2011, 23(36):263-267.

(下转18页)

力纤维,随着年龄增长胆道弹力纤维逐渐发育成熟^[3]。印其友等认为胆胰合流异常和先天性胆道局部发育异常可能是胆道穿孔的重要病理基础,而胆道炎症、结石、胆道寄生虫、胰腺炎等可能是该病发生的诱因^[4]。

胆管扩张可发生于肝外、肝内胆管的任何部位,常见的是囊状或梭状扩张^[5]。本文中27例患儿中有20例合并胆道扩张,并且其中胆总管囊样扩张有14例,我们的数据也表明儿童胆道穿孔与胆道扩张密切相关。27例患儿中3岁以上7例(25.93%),其余患儿年龄均小于3岁,符合胆道纤维发育不良的理论。并且27例患儿中有18例穿孔部位在胆总管,表明儿童胆道穿孔部位较多位于胆总管。而成年人的胆道穿孔中胆囊穿孔较多,多继发于急性胆囊炎,腹部超声常可发现胆囊壁有不同程度增厚^[6]。本组中27例患儿中有12例可探测到胆囊壁增厚,虽未发现胆囊穿孔的明确证据,但印证了胆道炎症是胆道穿孔的重要诱因。2例合并胆囊腔内结石,也支持结石是胆道穿孔的诱因这一观点。综上所述,笔者认为胆胰合流异常是自发性胆道穿孔与先天性胆管扩张症的病理基础,小儿胆道弹力纤维发育不成熟是胆道穿孔的重要原因,而胆道炎症、结石等是胆道穿孔的重要诱因。

本病发病率低,早期漏诊、误诊率高,需注意患儿病史,若是患儿有腹胀、呕吐、发热、黄疸、白陶土样便等儿童胆道穿孔常出现的症状,需警惕胆道穿孔的可能,行腹部超声或CT等影像学检查,若是发现胆道扩张、腹水、

胆囊壁增厚等表现需高度警惕,进一步行腹腔穿刺术进行腹水检查,若腹水为胆汁性腹水,腹水淀粉酶显著升高,血清淀粉酶正常或仅轻度升高^[4],则可明确诊断,一旦确诊,需尽早手术。

参考文献

- [1] Banani SA, Bahador A, Nezakatgoo N. Idiopathic perforation of the extrahepatic bile duct in infancy: pathogenesis, diagnosis, and management. *J Pediatr Surg*. 1994;29(5):718.
- [2] 李勤, 李晓庆, 金先庆, 周德凯, 蒲丛伦. 儿童自发性胆道穿孔的诊治. *重庆医科大学学报*. 2007;32(12):1334-1335.
- [3] Okada A, Nakamura T, Higaki J, Okumura K, Kamata S, Oguchi Y. Congenital dilatation of the bile duct in 100 instances and its relationship with anomalous junction. *Surgery Gynecology & Obstetrics*. 1990;171(4):291.
- [4] 印其友, 周以明, 肖现民. 小儿胆道穿孔的诊治经验. *临床小儿外科杂志*. 004.3(2):88-91.
- [5] 黎明. 胆道扩张症的诊断与治疗. *中国实用乡村医生杂志*. 1998(6):13-14.
- [6] 魏达友, 梁玉婷, 谭小燕, 刘思怡, 蔡永秋, 彭鸿运. 彩色多普勒超声在胆道穿孔诊断中的价值. *广西医科大学学报*. 2004.21(3):390-391.

本文编辑: 李 豆

(上接10页)

- [19] Won H S, Ho L J, Hee K S, et al. Enhanced Neural Cell Adhesion and Neurite Outgrowth on Graphene-Based Biomimetic Substrates[J]. *BioMed Research International*, 2014, 2014(1):1-8.
- [20] Wang Y, Lee W C, Manga K K, et al. Fluorinated graphene for promoting neuro-induction of stem cells[J]. *Advanced Materials*, 2012, 24(31):4284-4284.
- [21] Li X, Macewan M R, Xie J, et al. Fabrication of Density

Gradients of Biodegradable Polymer Microparticles and Their Use in Guiding Neurite Outgrowth[J]. *Advanced Functional Materials*, 2010, 20(10):1632-1637.

- [22] Chang K A, Kim J W, Kim J A, et al. Biphasic Electrical Currents Stimulation Promotes both Proliferation and Differentiation of Fetal Neural Stem Cells[J]. *PLoS ONE*, 2011, 6(4):e18738.

本文编辑: 李 豆

(上接13页)

- [5] Winkler J, Gollner N, Gollner P, et al. Apical root resorption due to mandibular first molar mesialization: A split-mouth study[J]. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 2017, 151(4):708-717.
- [6] Stepovich M L. A clinical study on closing edentulous spaces in the mandible[J]. *Angle Orthod*, 1979, 49(4):227-33.
- [7] Santos P, Herrera Sanchez F S, Ferreira M C, et al. Movement of mandibular molar into edentulous alveolar ridge: A cone-beam computed tomography study[J]. *Am J*

Orthod Dentofacial Orthop, 2017, 151(5):907-913.

- [8] 郭鑫, 刘进, 韩剑丽, 葛元翰. 正畸治疗中磨牙的拔除和保留(十五)——正畸关闭陈旧性磨牙间隙前后牙槽嵴高度变化[J]. *临床口腔医学杂志*, 2007(02):112-114.
- [9] Kondo T, Hotokezaka H, Hamanaka R, et al. Types of tooth movement, bodily or tipping, do not affect the displacement of the tooth's center of resistance but do affect the alveolar bone resorption[J]. *Angle Orthod*, 2017, 87(4):563-569.

本文编辑: 李 豆