

基于贻贝仿生化学改善聚己内酯纤维多孔支架的细胞相容性

doi:10.3969/j.issn.1674-7100.2020.03.005

经鑫 张青 冯培勇
谢智晖 马振萍

湖南工业大学
包装与材料工程学院
湖南 株洲 412007

摘要: 在组织工程领域, 支架的表面化学性能对调控细胞的生长行为起着关键的作用。为进一步改善聚己内酯 (PCL) 纤维支架的细胞相容性, 开发了一种基于贻贝仿生化学在 PCL 纤维支架表面接枝生物相容性大分子的方法。该方法主要包含多巴胺在 PCL 纤维的表面涂覆和自聚合, 以及生物活性大分子精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸 (RGD) 和肝素的引入。傅里叶变换红外光谱测试结果表明 RGD 和 PDA 被成功地引入到 PCL 纤维支架表面。扫描电镜形貌检测和水接触角测试结果表明该改性手段不仅增大了纤维支架的表面粗糙度并且改善了支架的表面润湿性能。血管内皮细胞在改性的支架表面表现出了良好的细胞黏附性和细胞存活性。这种不涉及任何有毒溶剂的改性方法在组织工程支架领域具有广阔的应用前景。

关键词: 聚己内酯; 多巴胺; 细胞相容性; 组织工程

中图分类号: TQ32

文献标志码: A

文章编号: 1674-7100(2020)03-0036-07

引文格式: 经鑫, 张青, 冯培勇, 等. 基于贻贝仿生化学改善聚己内酯纤维多孔支架的细胞相容性 [J]. 包装学报, 2020, 12(3): 36-42.

1 研究背景

血栓形成和内膜增生是小口径血管 (≤ 6 mm) 移植面临的挑战。将内皮细胞植入移植腔表面是一种简便易行的办法, 可以改善潜在血管支架的可行性。这是因为内皮细胞能释放调节血栓/纤溶和血小板活化/抑制的因子, 从而改善血管支架的抗血栓性^[1-2]。因此, 在血管组织工程中, 如何改善内皮细胞在血管支架上的生物活性引起了人们的广泛关注。静电纺丝技术制备的纳米纤维在结构上与人体细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 类似, 在组织工程领域应用广泛。许多人工合成聚合物

如聚己内酯 (polycaprolactone, PCL)、聚乙丙交酯 (poly(lactide-co-glycolide), PLGA) 和聚乳酸 (poly(lactic acid), PLA) 已经被成功加工成纳米纤维支架。该类人工合成聚合物制备的纳米纤维支架具有良好的生物相容性和可降解性, 但是人工合成聚合物的亲水性差且缺乏可供细胞黏附的结合位点, 导致细胞在纳米纤维支架上的生长受到限制^[3-4]。

目前, 对支架的改性方法包括表面涂层法^[5]、物理共混法^[6-7]、化学接枝法^[8]。表面涂层法主要是通过将支架浸在生物分子的溶液中, 在支架表面引入活性成分, 如胶原、明胶或其他生物活性分子。这种方法虽然简单, 但在生理条件下涂层不稳定, 容易

收稿日期: 2020-03-20

基金项目: 国家自然科学基金青年基金资助项目 (21604026)

作者简介: 经鑫 (1987-), 女, 河南商丘人, 湖南工业大学教授, 博士, 主要从事生物可降解材料及柔性纳米器件方面的研究, E-mail: jingxin@hut.edu.cn

与支架分离。物理共混法总是涉及两个不同的成分, 天然聚合物和合成聚合物。这些成分需要溶解在各自的共同溶剂中, 但是由于天然聚合物和合成聚合物的物理化学性质不同, 导致该混合体系相分离^[9]。化学接枝法是将支架水解来进一步引入羧基和羟基, 然后将生物活性分子接枝在疏水性支架上。然而在活性过程中, 聚合物分子骨架会受到影响, 从而影响支架的机械强度。

采用多巴胺对基底进行改性是一种简便的方法。在微弱碱性 (pH 值为 8.5) 条件下, 多巴胺可以很容易聚合在各种材料表面, 如钛、烷、聚苯乙烯、聚乙烯、聚四氟乙烯和硅橡胶^[10]。所形成的聚多巴胺 (polydopamine, PDA) 层也被称为贻贝仿生涂层, 因为多巴胺含有负责贻贝黏附特性的特征基团, 儿茶酚羟基和氨基, 可以通过席夫碱反应或迈克尔加成反应与含有主要胺或硫醇基团的分子结合。例如, 通过 PDA 可成功将血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 接枝到聚左旋乳酸-己内酯 (poly(lactide-caprolactone), PLCL) 膜上^[11]。

精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸 (arginine-glycine-aspartic acid, RGD) 是改善细胞黏附的常用物质^[12]。由于 RGD 易溶于水, 因此需将其接枝在基底表面, 但是在疏水表面直接接枝较为困难, 通常是在进行接枝 RGD 前, 需要将疏水性聚合物与海藻酸盐或胶原蛋白等亲水性物质结合^[13-14]。虽然该方法可行, 但会给制备支架带来额外的加工费用, 并且如果支架内部不能被内皮细胞完全覆盖, 该支架仍然具有产生血栓的危险。因此, 除了促进血管内表面的快速内皮化外, 提高支架的抗凝血性能也是一种行之有效的有效的方法。据报道, 肝素的引入是一种改善抗凝血性能的有效途径, 已被成功应用于壳聚糖/氧化石墨烯凝胶^[15-16]、多孔 PLA 膜^[17]、脱细胞化处理的细胞外基质上^[18]。

受贻贝仿生化学启发, 为加速支架的内皮化和提高其抗凝血性能, 本课题组以 PDA 为中介, 提出了一种改性 PCL 纤维支架的方法, 分别研究了固定化的 RGD 和肝素对血小板黏附、人脐静脉内皮细胞 (human umbilical vein endothelial cells, HUVEC) 扩散和增殖的影响。所有化学修饰都是在室温下的水溶液中进行, 可见此改进方法在血管组织工程领域具备一定的可行性, 且改性 PCL 纤维支架能实现批量化生产。

2 实验部分

2.1 主要原料与仪器

原料: PCL ($M_n=80\ 000$)、2, 2, 2-三氟乙醇 (2, 2, 2-trifluoroethanol, TFE, 分析纯)、盐酸多巴胺、RGD 及肝素购于 Sigma-Aldrich 公司。除非特别标明, 文中涉及到的其他用品也购于 Sigma-Aldrich 公司。实验用水均为去离子水。

仪器: 红外光谱仪, Tensor 27 型, Bruker 公司生产; 扫描电子显微镜 (scanning electron microscope, SEM), LEO GEMINI 1530 型, Zeiss 公司生产; 视频接触角测试仪, OCA15EC 型, 德国 Dataphysics 公司生产; 倒置荧光显微镜, Ti-E 型, 尼康生产; 流式细胞仪, Accuri C6 型, BD 公司生产; 微孔板型多功能检测仪, Glomax-Multi, 美国 Promega 生产。

2.2 样品的制备

室温下将粒状的 PCL 原料溶解于 TFE 溶剂中, 搅拌 8 h, 配制成体积分数为 10% 的 PCL 纺丝溶液, 再将溶液装入 6 mL 的针管中进行纺丝制备 PCL 纤维支架。纺丝电压为 18 kV, 纺丝针头为 20 号, 流量为 0.5 mL/h。接收装置采用铝箔纸和不锈钢垫圈。

将制备的 PCL 纤维支架浸入质量浓度为 2 mg/mL 的 PDA 溶液 (pH 值为 8.5) 中 16 h, 涂层后, 将改性 PCL 纤维支架用去离子水洗涤 3 遍, 用氮气干燥。改性后的支架命名为 PDA-PCL。

为了进一步提高支架表面的生物相容性和抗凝血性能, 以聚乙烯亚胺 (polyethyleneimine, PEI) 为中间介质将 RGD 和肝素接枝在 PDA-PCL 纤维支架表面。此过程中, 将 PEI 溶解在柠檬酸/磷酸钠二元缓冲液即得质量浓度为 0.25 mg/mL、pH 值为 5.5 的 PEI 溶液, 然后在室温下, 将 PDA-PCL 在 PEI 溶液中孵化 1 h, 用去离子水冲洗 5 次。在接枝前, 分别将浓度为 20 mmol/L 的 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐 (N-(3-dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimide hydrochloride, EDC)、浓度为 50 mmol/L 的 N-羟基丁二酰亚胺 (N-hydroxysuccinimide, NHS) 和浓度为 0.1 mol/L 的 2-(N-吗啉基) 乙磺酸 (2-(N-morpholino) ethanesulfonic acid, MES) 溶解在去离子水中, 制得缓冲液。然后将 RGD 和肝素分别溶解在上述制得的缓冲液中制备相应溶液 (采用 10 mmol/L 三盐酸缓冲液将溶液 pH 值调节至 8.5), 其中 RGD 的质量浓度为 100 $\mu\text{g/mL}$, 肝素的质量浓

度为 1 mg/mL。将 PEI 修饰过的样品进行氮气干燥后, 37 °C 下分别浸泡在上述准备的含有 RGD 和 RGD/ 肝素的溶液中 8 h, 得到接枝 RGD 的 RGD-PCL、接枝 RGD 和肝素的 R/H-PCL。

在对 PCL 纤维支架的改性中, 先通过在碱性环境中引导多巴胺在 PCL 纤维表面进行自聚, 形成有效 PDA 涂层, 获得 PDA-PCL 纤维支架; 然后以 PDA 为中间介质, 将含有大量反应性氨基基团的 PEI 引入到支架表面, 在这一过程中, PEI 的质量浓度控制在 0.25 mg/mL, 因为本课题组之前的研究表明, 少量的 PEI 会有利于细胞黏附而高浓度 PEI 会导致细胞死亡^[19]; 最后, 通过 EDC/NHS 化学偶联法将 RGD 和肝素生物活性分子引入到支架表面, PEI 中的氨基与 RGD 和肝素中的羧基进行反应, 从而将活性成分保留并暴露在支架表面, 这有利于细胞黏附和繁殖。

2.3 支架的性能表征

形貌表征: 采用 LEO GEMINI 1530 型扫描电子显微镜观察纤维形貌。扫描电压为 3 kV。测试前对样品进行喷金处理 40 s 以增加样品的导电性。

傅里叶变换红外光谱分析 (fourier transform infrared spectrometer, FTIR): 采用 Bruker Tensor 27 型红外光谱谱仪对支架进行红外光谱分析。测试范围为 600~4 000 cm^{-1} , 分辨率为 4 cm^{-1} 。

水接触角测试: 采用视频接触角测试仪分析接枝前后支架的表面润湿性能。水滴大小为 5 μL 。

2.4 支架的生物相容性表征

2.4.1 HUVEC 的培养和种植

采用 T75 聚苯乙烯细胞培养瓶对 HUVEC 进行培养, 细胞培养液为 Lonza EGM-2-MV 内皮细胞培养基套, 培养液每隔 2 d 更换一次。种植细胞前, 将样品置于 24 孔培养盘中, 经磷酸缓冲盐溶液 (phosphate buffered saline, PBS) 洗涤 3 次后, 用紫外光对样品两面进行消毒 30 min。采用胰蛋白酶-EDTA 溶液将 HUVEC 从培养瓶中剥离并以细胞浓度为 2×10^4 cells/ cm^2 种植在样品上, 以进行活/死测试和细胞繁殖测试 (3-(4, 5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium, MTS)。细胞骨架表征所种植的细胞浓度为 2×10^3 cells/ cm^2 。

2.4.2 细胞黏附测试

细胞种植 4 h 后, 对细胞黏附进行表征。首先采用质量分数为 4% 的多聚甲醛溶液 (paraformaldehyde, PFA) 固定细胞 15 min, 经 PBS 洗涤后,

在室温下用质量分数为 0.1% 的 4-(1, 1, 3, 3-四甲基丁基) 苯基-聚乙二醇 (triton-X) 对细胞处理 6 min, 再经 PBS 洗涤, 用 2-(4-氨基苯基)-6-吡啶甲酰胺二盐酸盐 (2-(4-aminophenyl)-1H-indole-6-carboxamide, DAPI) 对细胞进行染色 1 h, 经 PBS 洗涤后, 用倒置荧光显微镜对样品进行表征。

2.4.3 细胞活/死测试

细胞培养 7 d 后, 用细胞毒性检测试剂盒对细胞存活性进行表征。测试中, 绿色荧光 (钙黄绿素-AM, calcein-AM) 被用来靶向活细胞胞浆内的酯酶活性, 红色荧光 (同二聚乙胺, EthD-1) 表示细胞死亡。染色完成后, 采用倒置荧光显微镜对支架进行表征, 再用 Accuri C6 流式细胞仪计算发出红色和绿色荧光的单元数, 得到细胞存活率。

2.4.4 细胞繁殖测试

细胞培养 7 d 后, 用细胞效价 96 水溶液试剂盒 (Promega 生产) 对其进行 MTS 测试。首先用质量分数为 20% 的 MTS 溶液对细胞进行处理, 孵化 1 h 后, 分别取出 100 μL 加入到 96 孔板中, 然后采用 Glomax-Multi 多孔读数仪在 450 nm 波长下读数。

3 结果与讨论

3.1 形貌表征

用 SEM 分析了 4 种纤维支架 PCL、PDA-PCL、RGD-PCL 及 R/H-PCL 的微观形貌, 结果如图 1 所示。

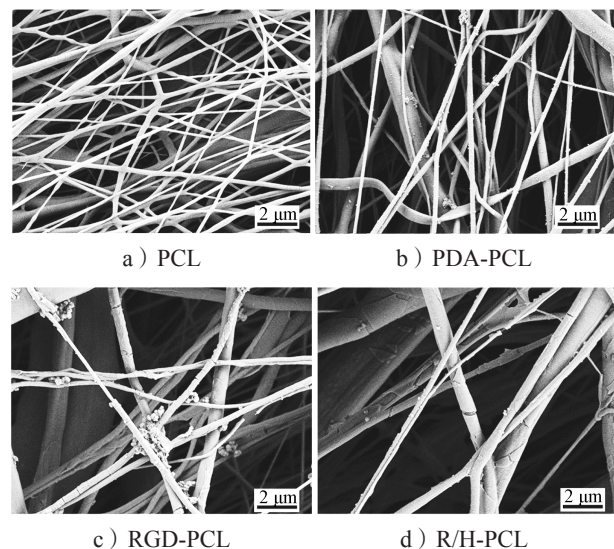


图 1 PCL、PDA-PCL、RGD-PCL 和 R/H-PCL 的表面微观形貌

Fig. 1 The surface morphology of PCL, PDA-PCL, RGD-PCL, R/H-PCL

由图 1 可知, PCL 纤维支架为一个随机定向的多孔结构, 该多孔结构有利于细胞的浸润、营养物质及气体的输送, 并且在结构上仿生了 ECM; PDA 涂层改性后, PDA-PCL 纤维支架的表面变得粗糙, 并且随着生物活性分子的接枝, RGD-PCL 及 R/H-PCL 纤维支架的表面变得更为粗糙; PCL 纤维支架经 PDA 涂层和生物活性分子的接枝后, 纤维的直径逐渐增大。

3.2 傅里叶变换红外光谱分析

采用 FTIR 对 4 种纤维支架的化学结构进行了表

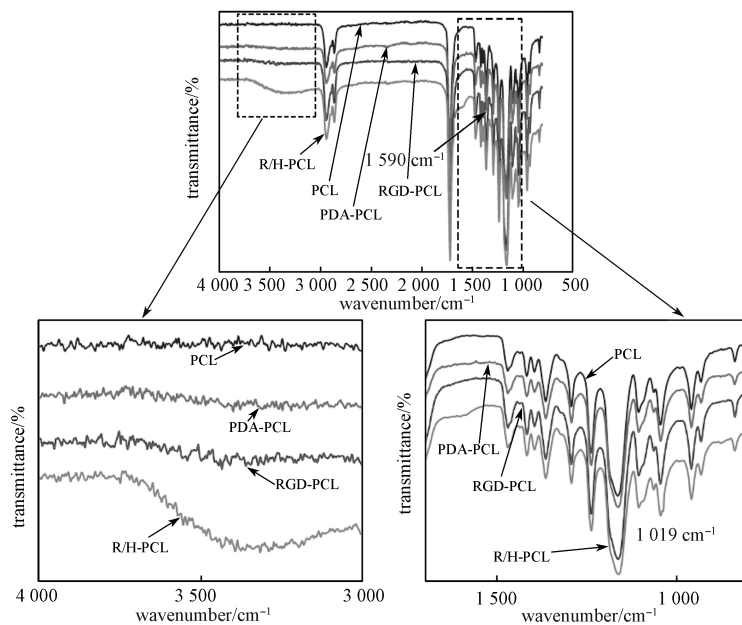


图 2 PCL、PDA-PCL、RGD-PCL 及 R/H-PCL 的红外光谱图

Fig. 2 The FTIR results of PCL, PDA-PCL, RGD-PCL, and R/H-PCL

3.3 亲水性分析

支架的表面性质在细胞与 ECM 的相互作用中起着重要的作用。在影响支架表面化学的诸多因素中, 支架表面的亲水性对细胞黏附具有重要意义。据报道, 当支架的水接触角高于 90° 时, 细胞在支架上的附着和扩散情况可能不理想^[20]。因此, 对 PCL 纤维支架改性前后的润湿性进行了研究, 结果如图 3 所示。由图可知, 由于 PCL 材料本身的憎水性, PCL 纤维支架的水接触角达到 125° ; 经 PDA 涂层改性后, 其水接触角降低到 90° ; 当其表面进一步接枝 RGD 和肝素后, 由于生物大分子的亲水性, RGD-PCL 及 R/H-PCL 的水接触角进一步减小, R/H-PCL 降低至 56° 。上述结果表明 PDA 涂层和接枝生物活性分子极大地改善了 PCL 纤维支架的亲水性, 这将有利于细

征, 结果如图 2 所示。由图可知, 与 PCL 纤维支架相比, 在 PDA-PCL 的红外光谱图中 3300 cm^{-1} 处有 O—H 和 N—H 基团的伸缩振动峰; 在 PDA-PCL 纤维支架上引入 RGD 后, 3300 cm^{-1} 处的峰强进一步增强, 此外, 在 $1630, 1540\text{ cm}^{-1}$ 处出现新的小峰, 这主要归因于 C=C 芳香环的共振振动及 N—H 基团的弯曲振动, 同时表明 RGD 被成功接枝到 PDA-PCL 纤维支架上; 在 R/H-PCL 的红外光谱图中 1710 cm^{-1} 处 C=O 峰强度增强, 1019 cm^{-1} 处有 S=O 不对称振动峰, 这表明肝素被成功接枝到 PCL 纤维支架上。

胞的黏附和营养物质的传输^[21-22]。

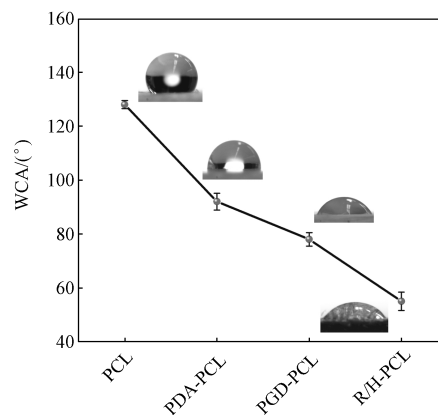


图 3 改性前后纤维支架的亲水性测试结果

Fig. 3 The surface wettability of the nanofibrous scaffolds before and after modification

3.4 生物相容性表征

通常,细胞在基质上的黏附过程由3步组成,细胞附着、细胞伸展和细胞骨架生长。细胞培养4 h后,使用DAPI对细胞核染色,分析细胞在改性前后纤维支架上的附着情况,结果如图4所示。由图可知,R/H-PCL纤维支架上的附着细胞最多,其次为RGD-PCL和PDA-PCL纤维支架,在PCL纤维支架上的细胞最少,这表明改性的支架更有助于细胞附着。对于PDA-PCL纤维支架,PDA可能与细胞基底上的黏附受体发生反应,从而有助于细胞的黏附。将RGD

或者RGD/肝素接枝到支架表面后,支架表面能增加从而有助于蛋白质的黏附,并且RGD可以与细胞基底上的受体发生反应以改善细胞的黏附。

采用细胞活/死测试表征不同支架表面的细胞存活性。培养7 d后的细胞活/死测试结果如图5所示。绿色代表活细胞,红色代表死细胞。由图可知,细胞在PCL纤维支架上呈现圆形,而在改性后的支架上细胞呈现出纺锤形;PDA-PCL、RGD-PCL及R/H-PCL上细胞的存活能力明显高于PCL纤维支架,这表明细胞在改性后的支架上呈现蓬勃发展的生存状态。

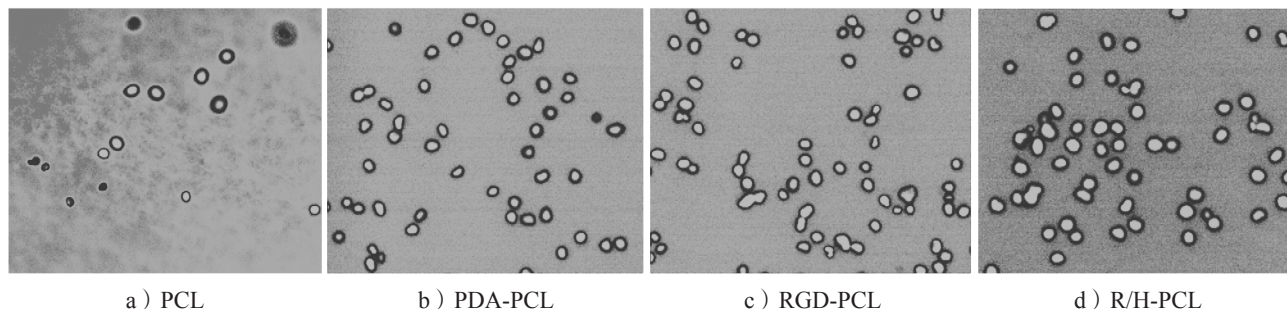


图4 细胞培养4 h后在不同支架上的黏附结果

Fig. 4 The cell attachment results after culturing for 4 h on the scaffolds

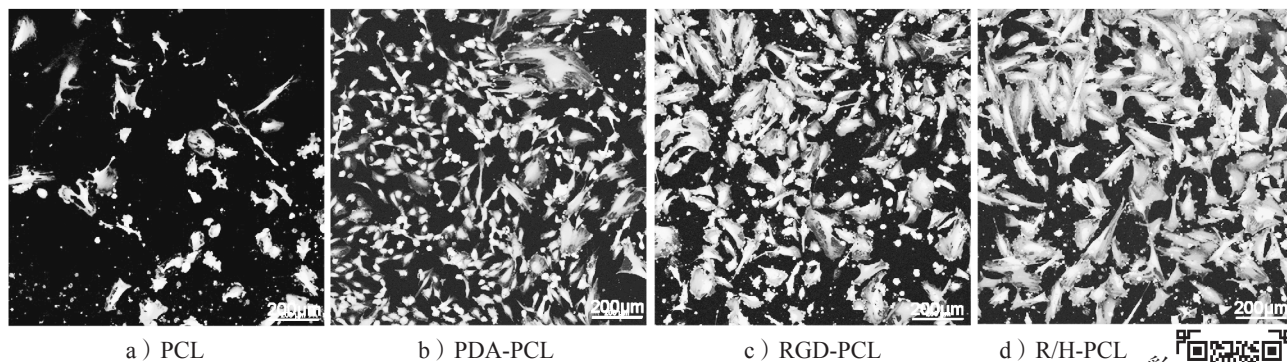


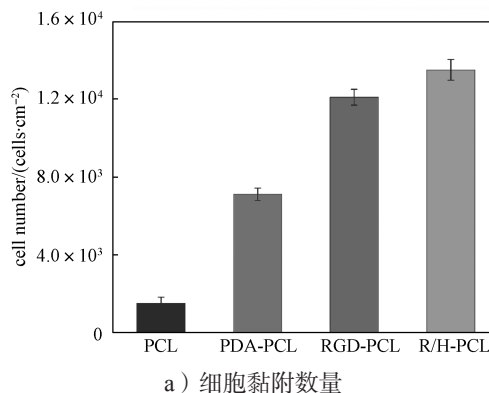
图5 细胞培养7 d后在不同支架上的活/死测试结果

Fig. 5 The live/dead assay results after culturing for 7 d on the scaffolds



根据DAPI染色及细胞活/死测试的结果,对细胞的黏附性和存活率进行数据统计(见图6),其中每组试样选取了6张不同的图片。由图可知,细胞在PDA-PCL纤维支架表面的黏附数量明显高于PCL纤维支架,且在PDA-PCL纤维支架上进一步引入RGD和肝素后,细胞的黏附数量得以进一步提升;经PDA涂层及生物大分子的引入来改性PCL纤维支架后,细胞在改性的PCL纤维支架上的存活率可达到95%以上,表明改性后的支架更加有助于细胞的黏附和生长,其原因在于引入的生物大分子可以更好地提供细胞与支架上的结合位点,从而有助于细胞在

支架表面更快更好地进行黏附和生长。



a) 细胞黏附数量

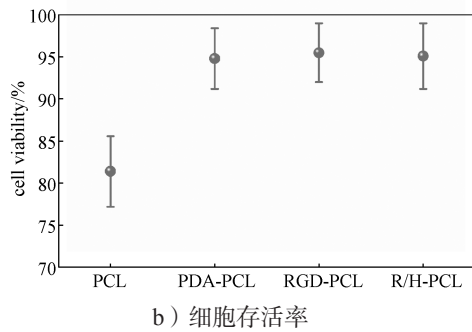


图6 改性前后纤维支架的细胞黏附性和存活率统计图

Fig. 6 The number of cells attaching on the scaffolds and the statistical results of cell viability via live/dead assay

4 结语

针对常用生物相容性材料的细胞相容性较差的问题, 本课题组开发了一种简便的改性方法, 主要用于对纤维支架的功能化, 以及组织工程尤其是血管移植中。FTIR、SEM 和表面润湿性测试表征结果表明, PCL 纤维支架经 PDA 涂层和生物活性分子接枝均匀修饰, 可以使血管内皮细胞更好地黏附在其表面。由于细胞的亲和性显著增强, 血管内皮细胞骨架在改性支架上的生长状态良好。可见, 本文所提改性方法成功地实现了对常见生物相容材料的内皮细胞亲和性和抗凝血性能的改善, 使其能促进血管快速内皮化和有效抗血栓。

参考文献:

- [1] HSU S H, TSAI I J, LIN D J, et al. The Effect of Dynamic Culture Conditions on Endothelial Cell Seeding and Retention on Small Diameter Polyurethane Vascular Grafts[J]. *Medical Engineering & Physics*, 2005, 27(3): 267-272.
- [2] DEUTSCH M, MEINHART J, ZILLA P, et al. Long-Term Experience in Autologous in Vitro Endothelialization of Infrainguinal ePTFE Grafts[J]. *Journal of Vascular Surgery*, 2009, 49(2): 352-362.
- [3] VENUGOPAL J, MA L, YONG T, et al. In Vitro Study of Smooth Muscle Cells on Polycaprolactone and Collagen Nanofibrous Matrices[J]. *Cell Biology International*, 2005, 29(10): 861-867.
- [4] JING X, MI H Y, WANG X C, et al. Shish-Kebab-Structured Poly(ϵ -Caprolactone) Nanofibers Hierarchically Decorated with Chitosan-Poly(ϵ -Caprolactone) Copolymers for Bone Tissue Engineering[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2015, 7(12): 6955-6965.
- [5] CAI K Y, YAO K D, CUI Y L, et al. Influence of Different Surface Modification Treatments on Poly(D, L-Lactic Acid) with Silk Fibroin and Their Effects on the Culture of Osteoblast in Vitro[J]. *Biomaterials*, 2002, 23(7): 1603-1611.
- [6] FENG B, TU H B, YUAN H H, et al. Acetic-Acid-Mediated Miscibility Toward Electrospinning Homogeneous Composite Nanofibers of GT/PCL[J]. *Biomacromolecules*, 2012, 13(12): 3917-3925.
- [7] JING X, MI H Y, PENG J, et al. Electrospun Aligned Poly(Propylene Carbonate) Microfibers with Chitosan Nanofibers as Tissue Engineering Scaffolds[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2015, 117: 941-949.
- [8] JING X, MI H Y, CORDIE T M, et al. Fabrication of Shish-Kebab Structured Poly(E-Caprolactone) Electrospun Nanofibers that Mimic Collagen Fibrils: Effect of Solvents and Matrigel Functionalization[J]. *Polymer*, 2014, 55(21): 5396-5406.
- [9] JING X, SALICK M R, CORDIE T, et al. Electrospinning Homogeneous Nanofibrous Poly(Propylene Carbonate)/Gelatin Composite Scaffolds for Tissue Engineering[J]. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 2014, 53(22): 9391-9400.
- [10] LEE H, DELLATORE S M, MILLER W M, et al. Mussel-Inspired Surface Chemistry for Multifunctional Coatings[J]. *Science*, 2007, 318(5849): 426-430.
- [11] SHIN Y M, LEE Y B, KIM S J, et al. Mussel-Inspired Immobilization of Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) for Enhanced Endothelialization of Vascular Grafts[J]. *Biomacromolecules*, 2012, 13(7): 2020-2028.
- [12] KIM S, CUI Z K, FAN J B, et al. Photocrosslinkable Chitosan Hydrogels Functionalized with the RGD Peptide and Phosphoserine to Enhance Osteogenesis[J]. *Journal of Materials Chemistry B*, 2016, 4(31): 5289-5298.
- [13] JEON H J, LEE H, KIM G H. Fabrication and Characterization of Nanoscale-Roughened PCL/Collagen Micro/Nanofibers Treated with Plasma for Tissue Regeneration[J]. *Journal of Materials Chemistry B*, 2015, 3(16): 3279-3287.
- [14] LEE J Y, CHUNG J, CHUNG W J, et al. Fabrication and in Vitro Biocompatibilities of Fibrous Biocomposites Consisting of PCL and M13 Bacteriophage-Conjugated Alginate for Bone Tissue Engineering[J]. *Journal of Materials Chemistry B*, 2016, 4(4): 656-665.
- [15] WEI H L, HAN L L, TANG Y C, et al. Highly

- Flexible Heparin-Modified Chitosan/Graphene Oxide Hybrid Hydrogel as a Super Bilirubin Adsorbent with Excellent Hemocompatibility[J]. *Journal of Materials Chemistry B*, 2015, 3(8): 1646–1654.
- [16] 韦厚良. 肝素化胆红素吸附剂和抗凝血表面涂层的制备及性能研究 [D]. 大连: 大连理工大学, 2015.
WEI Houliang. Preparation and Characterization of Heparinized Bilirubin Adsorbent and Anticoagulant Surface Coating[D]. Dalian: Dalian University of Technology, 2015.
- [17] GAO A L, LIU F, XUE L X. Preparation and Evaluation of Heparin-Immobilized Poly (Lactic Acid) (PLA) Membrane for Hemodialysis[J]. *Journal of Membrane Science*, 2014, 452: 390–399.
- [18] GONG W H, LEI D, LI S, et al. Hybrid Small-Diameter Vascular Grafts: Anti-Expansion Effect of Electrospun Poly E-Caprolactone on Heparin-Coated Decellularized Matrices[J]. *Biomaterials*, 2016, 76: 359–370.
- [19] JING X, MI H Y, SALICK M R, et al. In Vitro Evaluations of Electrospun Nanofiber Scaffolds Composed of Poly(ϵ -Caprolactone) and Polyethylenimine[J]. *Journal of Materials Research*, 2015, 30(11): 1808–1819.
- [20] TAMADA Y, IKADA Y. Effect of Preadsorbed Proteins on Cell Adhesion to Polymer Surfaces[J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 1993, 155(2): 334–339.
- [21] JIN H H, KIM D H, KIM T W, et al. In Vivo Evaluation of Porous Hydroxyapatite/Chitosan-Alginate Composite Scaffolds for Bone Tissue Engineering[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2012, 51(5): 1079–1085.
- [22] 经鑫. 可降解聚合物多孔支架的制备及细胞相容性研究 [D]. 广州: 华南理工大学, 2015.
JING Xin. Study on Preparation and Cellular Compatibility of Porous Scaffolds of Degradable Polymers[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2015.

(责任编辑: 邓彬)

Enhancing the Biocompatibility of PCL Nanofibrous Scaffolds Based on Mussel-Inspired Modification

JING Xin, ZHANG Qing, FENG Peiyong, XIE Zhihui, MA Zhenping

(College of Packaging and Materials Engineering, Hunan University of Technology, Zhuzhou Hunan 412007, China)

Abstract: The surface chemistry of the scaffolds plays vital role in regulating cell behavior in the tissue engineering. In order to enhance the biocompatibility of the polycaprolactone (PCL) scaffolds, a mussel-inspired modification and multiple bioactive molecules grafting method was developed. The modification method contained coating and polymerization of dopamine, the immobilization of bioactive molecules arginine-glycine-aspartic acid (RGD), and heparin. Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) results verified the successful polydopamine (PDA) coating and heparin grafting on the PCL scaffolds. Scanning electron microscope (SEM) and water contact angle tests verified the modification not only increased the nanofiber surface roughness, but also efficiently enhanced their surface wettability. Moreover, human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) showed enhanced cell attachment, higher cell viability and greater cell proliferation on the RGD immobilized PCL electrospun nanofibers, which indicated great application prospect of this green method in the tissue engineering fields.

Keywords: PCL; dopamine; biocompatibility; tissue engineering