

# 电纺丝法 PLGA 可降解输尿管支架的制备及体外降解研究

王晓庆, 张龙, 侯宇川, 陈岐辉, 姜凤鸣, 张海峰, 王春喜

(吉林大学白求恩第一医院泌尿外科, 长春 130021)

**摘要** 目的 探讨电纺丝法制备聚乳酸-羟基乙酸共聚物(PLGA)可降解输尿管支架管的可行性,并评价支架管的体外降解性能。方法 不同比例 PLGA 合成后,采用电纺丝技术得到纳米输尿管支架管,使用扫描电镜观察支架管表征。将输尿管支架管截成长约 2 cm 小段,并浸于尿液中进行体外降解试验研究,分别于各观察点取出样品,观察大体形态、残重率及分子量变化。结果 支架管具有纳米结构,其物理性质及电镜下结构完全满足可降解输尿管支架管的需求。PLGA 材料的降解的残重率曲线近乎成线性,其中 50:50 比例的 PLGA 降解最快,约至第 6 周材料崩解,而 70:30 比例的 PLGA 降解最慢,在 10 周左右崩解,80:20 降解速率介于二者之间,降解时间约需 8 周。材料的体外降解过程中分子量变化趋势与重量损失大体相同,降解早期分子量下降迅速,后期减慢并趋于平稳。结论 电纺丝技术得到的输尿管支架管物理特性完全满足可降解输尿管支架管的要求。PLGA(80:20)及 PLGA(50:50)两种材料满足了输尿管支架管对降解时间的要求,是制备支架管较为理想的材料。

**关键词** 电纺丝;聚乳酸-羟基乙酸共聚物;输尿管支架;可降解;纳米结构

中图分类号 R693 文献标志码 A 文章编号 0258-4646(2011)09-0784-04

doi CNKI:21-1227/R.20110926.1208.030

网络出版地址 <http://www.cnki.net/kcms/detail/21.1227.R.20110926.1208.030.html>

## The Fabrication and Properties of Co-polymer Poly (lactic-co-glycolic acid) Ureteral Stent By Electrospinning

WANG Xiao-qing, ZHANG Long, HOU Yu-chuan, CHEN Qi-hui, JIANG Feng-ming, ZHANG Hai-feng, WANG Chun-xi

(Department of Urology, First Bethune Hospital of Jilin University, Changchun 130021, China)

**Abstract** **Objective** The present study was designed to discuss the feasibility of the fabrication of co-polymer poly (lactic-co-glycolic acid) (PLGA) ureteral stent by electrospinning and evaluate its degradable properties in vitro. **Methods** After synthesizing of different ratio of PLGA, the electrospinning technique was used to fabricate the ureteral stent. The morphology was investigated by scanning electron microscope. The stent was cut into pieces which were immersed in the urine to evaluate its degradability. The morphology, residual weight rate and molecular weight were investigated in each observation point. **Results** The stent had the nanostructure and the morphology of the stent could satisfy the demand of a degradable stent. The residual weight rate curve of different ratio of PLGA was closed to a straight line. The polymer containing a 50:50 ratio of lactic and glycolic acids was hydrolyzed within 6 weeks, which was much faster than those containing higher proportions of either of the two monomers. An 80:20 ratio of PLGA was degraded completely within 8 weeks, and PLGA (70:30) samples were observed to collapse at the tenth weeks. The decrease of molecular weight was apparently in the early stage and the decreasing was slow down in the later stage. **Conclusion** The properties of PLGA (50:50) and PLGA (80:20) ureteral stent which fabricated by electrospinning technique can fully satisfied the demand of a degradable stent.

**Key words** electrospinning; poly(lactic-co-glycolic acid); ureteral stent; degradable; nanostructure

随着可降解材料在临床的应用,可降解输尿管支架的研究设计受到国内外研究者的广泛关注。本课题组从 2000 年开始进行生物降解材料输尿管支架的研究,已研制出己内酯丙交酯乙交酯三元共聚物、丙交酯乙交酯共聚物、己内酯环氧乙烷共聚物等

系列高分子材料输尿管支架,经体内、体外试验证明材料降解时间 4~8 周,组织相容性良好。研究取得了阶段性成果,但仍存在形态记忆性不良、质地较硬、易折断等弊端,且降解过程中易出现全程多处断裂,造成一过性输尿管梗阻<sup>[1,2]</sup>。本研究采用电纺丝工艺来进行可降解输尿管支架管的加工制作,并评价其物理特性及体外降解特性。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料合成

基金项目 国家自然科学基金资助项目(50973043)

作者简介 王晓庆(1980-)男,助教,硕士研究生。

E-mail: xupw018@126.com

收稿日期 2011-03-16

网络出版时间 2011-09-26 12:08

PLGA(80:20)的制备:80%L-乳酸水溶液经脱水、预聚合、裂解、重结晶制成 L-丙交酯,采用本体聚合工艺,以辛酸亚锡为催化剂,与乙交酯(聚羟基乙酸)开环共聚制成 PLGA(80:20),单体 L-丙交酯和乙交酯的摩尔比为 80/20。同法合成 PLGA(70:30)及 PLGA(50:50),分子量约为 60 000。

### 1.2 纺丝液的制备及输尿管支架管的制备

PLGA 纺丝液的制备:用三氯甲烷将 PLGA 溶解并配成 5%的溶液,加入活性物质,充分搅拌 6 h,备用。将上述纺丝液注入 5 mL 玻璃注射器内,将注射器固定在纺丝装置上,电源阳极输出端与铁注射器针头相连。自制接受装置,将直径约 1.0 mm 的钢丝一端连于可调速电机,另一端与阴极输出端相接,保持钢丝与地面平行,两电极间的距离为 15 cm。打开静电发射器电源,调节电压至 30KV,电机转速调至 60 r/min,得到纳米输尿管支架管。

### 1.3 体外降解实验

体外降解试验中降解液来自健康志愿者尿液。体外降解试验方法:将输尿管支架管截成长约 2 cm 小段,每种材料 36 个,真空干燥,称重;分别浸于尿液中并置于恒温震荡器内,调节温度至 37℃,尿液每日更换一次,按浸泡时间分别于 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、12、14 周时取出 3 个平行样品,观察大体形态后测量残重率及分子量检测。残重率=100%×残重/初重,重量损失情况,每组取试样的算术平均值。

## 2 结果

### 2.1 支架管的表征

2.1.1 支架管大体形态观察:肉眼观察支架管呈白色,长度 10~20 cm,内径约 1.0 mm,外径约 2.5 mm,质地柔软,具有一定的韧性和记忆性,弯曲后不会折断(图 1a)。

2.1.2 电镜扫描:电镜扫描见纤维均匀分布,直径约在 40~1 000 nm 之间,网孔直径约在 40~200 μm 之间,结构均匀,各种比例的支架的直径及孔径的差异无统计学意义( $P>0.05$ )(图 1b、c、d)。

### 2.2 体外降解性能

2.2.1 形态结构变化:测试材料原始试件呈纯白色,质地柔韧,降解初期材料逐渐略吸水膨大,质地变硬,真空干燥后观察材料形状无明显变化,降解中期材料表面有部分小块溶蚀剥离,质地略软,此时材料尚保留原有形态,体积膨大,后期材料已完全失去原始形态,崩解为小块。上述为材料总体大体形态变化,因各种比例的降解速度不同,各时相历时长短

亦不相同,但总体形态变化趋势过程同上述。

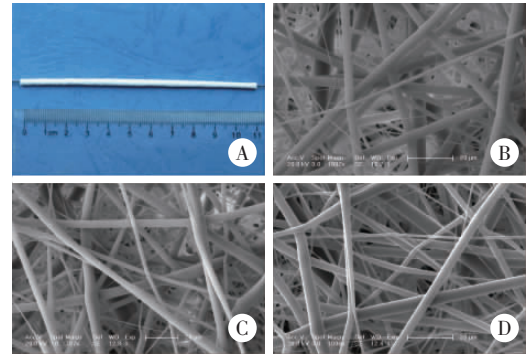


图1 支架管大体形态(A)及各种不同比例 PLGA 的电镜扫描照片:50:50(B),70:30(C),80:20(D),图中 B-D 标尺为 20 μm。

Fig.1 The morphology of the stent (A) and the electroscanning of the PLGA 50:50 (B), PLGA 70:30 (C) and PLGA 80:20 (D). All bar lengths are 20 μm (B-D).

2.2.2 材料失重率:各种比例材料降解过程中重量损失均呈平稳过程。PLGA(50:50)观察至第 5 周时材料重量损失 45%左右,至第 6 周材料降解为细小颗粒,无法行重量测定。PLGA(80:20)至 7 周时观察见材料开始崩解,至 8 周后已无法进行进一步检测,PLGA(70:30)降解速度相对较慢,至 8 周观察结束时材料重量损失 40%左右,第 10 周完全崩解(图 2)。

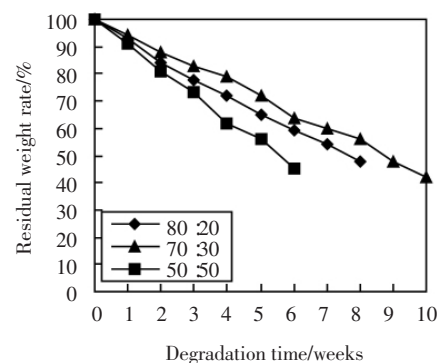


图2 不同比例的 PLGA 降解过程中重量变化

Fig.2 The weight loss of different ratio of PLGA

2.2.3 分子量变化:材料的体内降解过程中分子量变化趋势与重量损失大体相同,降解早期分子量下降迅速,后期减慢并趋于平稳(图 3)。

## 3 讨论

自 1978 年双猪尾管或称双 J 管问世以来,大大提高了上尿路手术的成功率,降低了手术并发症的发生率。但留置后仍存在需经膀胱镜取出、膀胱输

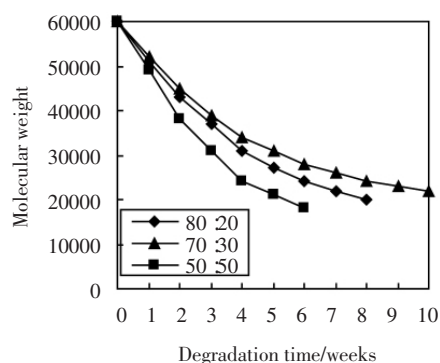


图3 不同比例PLGA降解过程中分子量变化

Fig.3 The decrease of molecular weight of different ratio of PLGA

尿管返流、回缩、移位后需要二次手术及产生膀胱刺激症状等弊端,个别病例甚至因严重血需提前撤除双J管<sup>[3,4]</sup>。为克服上述缺点,许多研究者将目光转向可降解输尿管支架管的研制领域。可降解输尿管支架管需满足以下条件:(1)有良好的生物降解性能;(2)降解后材料碎片不造成输尿管梗阻;(3)具有良好的组织相容性;(4)具有良好的可塑性和适宜的力学性能。本课题组已研制出多种高分子材料输尿管支架,研究取得了阶段性成果,但仍存在一些亟待解决的问题:(1)质地较硬,记忆性较差,易折断,导致研制的支架管缺乏内固定性能;(2)在降解过程中出现支架管全程多处断裂,造成一过性输尿管梗阻。Lingeman等<sup>[5]</sup>研制的可“溶解”输尿管支架临床试验结果也不理想,一方面支架管自身固定效果不佳,容易早期脱落,造成肾积水乃至尿液外渗,另一方面支架管碎解后部分碎片残留在肾盂内不能降解排出,需要后续体外冲击波治疗。Boris等<sup>[6,7]</sup>研制了系列Uriprene可降解输尿管支架,其降解时间控制不理想,动物实验观察到支架管降解过程中出现碎裂并造成一过性梗阻现象,另有部分支架管表面结石形成。为解决上述问题,本研究采用不同比例的聚乳酸-羟基乙酸共聚物为研究对象,采用电纺丝工艺进行输尿管支架管的加工制作,进而改善支架管的相关性能。

电纺丝技术聚合物熔体或溶液在高压静电作用下,利用电场力克服聚合物溶液表面张力形成一股带电的喷射流,溶剂挥发,纳米级纤维无序地排列在收集板上,形成类似无纺布纤维膜。PLGA是组织工程领域常用的聚合物材料,是第一批被美国FDA批准的用于临床的生物可降解材料,它具有良好的生物相容性和生物可降解性,且无严重毒性作用,被广泛应用于组织工程研究中<sup>[8,9]</sup>。PLGA的玻璃化温

度约40℃~60℃,故37℃时易表现为质地相对较硬、脆,易折断。所以以往使用熔融状态下挤管生产的输尿管支架管易折断,折断后堵塞输尿管,造成梗阻。本研究使用电纺丝工艺制作的支架管质地柔软,具备一定的韧性和抗牵拉能力的特点,且具备足够的支撑作用,不易被机械力所折断,完全满足降解输尿管支架管所需要的可塑性和力学性能。电纺丝技术得到的输尿管支架管管壁呈现网状结构,纤维直径约在200~1500 nm之间,网孔直径约在40~200 μm之间,尿液中的各种分子可自由通过管壁。因此,理论上即使支架管在降解过程中断裂、管腔堵塞,尿液仍可通过管壁进入膀胱内,不会造成梗阻,但需经下一步动物实验证实。

PLGA的降解机制是水解机制,即在水的存在下其酯键发生水解作用,产生乳酸和羟基乙酸单体,这2种物质是生理条件下体内多种代谢途径的副产物,参与到体内的三羧酸循环,最终以二氧化碳和有机酸的形式排出体外<sup>[10]</sup>。降解过程中PLGA由不溶于水的固体变成水溶性物质,分子量会迅速降低,失去原有的力学强度,整体结构被破坏,体积变小。当分子量小到可溶于水的极限时,整体结构发生变形和失重。PLGA聚合物的降解率与各种单体的比例有关,多个研究表明50:50比例的PLGA降解最快,其他无论哪种单体比例降解速度均低于50:50<sup>[11,12]</sup>。本研究主要通过材料的失重率及分子量的变化来评价其降解速率。通过对残重率的观察我们可以看到各种比例的PLGA材料的降解的残重率曲线近乎成线性,其中50:50比例的PLGA降解最快,约至第6周材料崩解,而70:30比例的PLGA降解最慢,在10周左右崩解,80:20降解速率介于2者之间,降解时间约需8周。赵莉等<sup>[12]</sup>认为PGA和PLA均为结晶状聚合物,当2种单体无规共聚后破坏了原均聚物的分子规整性,结晶度大大降低乃至完全失去结晶性。50:50比例的PLGA聚合物达到最大限度的无规结构,水分子渗透快,因此降解速度要比其他比例的PLGA聚合物快得多。本研究中,PLGA(50:50)及PLGA(80:20)的降解时间均可满足了输尿管支架管对降解时间的要求,是较为理想的材料。由于本研究体内降解部分正在进行之中,各种材料在体内降解是否与体外降解情况一致需进一步证实。

(下转第815页)



注的不良反应也限制了其应用。本研究对联合应用吡柔比星和干扰素抑制大鼠膀胱癌生长进行了初步的观察,并就抑制微血管生长和促进肿瘤细胞凋亡进行了初步探讨,但仍需进一步深入研究,尤其是对机体和膀胱局部的免疫反应进行研究。

#### 参考文献:

- [1] Sylvester RJ, der Meijden AP, Oosterlinck W, et al. Predicting recurrence and progression in individual patients with stage Ta T<sub>1</sub> bladder cancer using EORTC risk tables: a combined analysis of 2596 patients from seven EORTC trials [J]. *Eur Urol* 2006; 49 (3): 466–475.
- [2] Brausi M, Collette L, Kurth K, et al. Variability in the recurrence rate at first follow-up cystoscopy after TUR in stage Ta T<sub>1</sub> transitional cell carcinoma of the bladder: a combined analysis of seven EORTC studies [J]. *Eur Urol* 2002; 41(5): 523–531.
- [3] Shah SC, Kusiak A, O'Donnell MA. Patient-recognition data-mining model for BCG-plus interferon immunotherapy bladder cancer treatment [J]. *Comput Biol Med* 2006; 36(6): 634–655.
- [4] Rosevear HM, Lightfoot AJ, Nepple KG, et al. Usefulness of the Spanish Urological Club for Oncological Treatment scoring model to predict nonmuscle invasive bladder cancer recurrence in patients treated with intravesical bacillus Calmette-Guérin plus interferon-alpha [J].

*J Urol* 2011; 185(1): 67–71.

- [5] 高建国, 田涛, 宋亚林, 等. 围手术期大剂量吡柔比星膀胱灌注预防膀胱癌复发的临床观察 [J]. *中华外科杂志* 2010; 48(21): 1650–1652.
- [6] Qian L, Ding H, Zhou J, et al. Intravesical N-(4-hydroxyphenyl) retinamide and adriamycin induces apoptosis in bladder cancer [J]. *Front Biosci* 2006; 11(9): 2045–2051.
- [7] 李清, 徐涛, 王晓峰. 吡柔比星膀胱内灌注预防非肌层浸润性膀胱尿路上皮癌复发的机制 [J]. *中华肿瘤杂志* 2009; 31(12): 904–907.
- [8] Yao JC, Phan A, Hoff PM, et al. Targeting vascular endothelial growth factor in advanced carcinoid tumor: a random assignment phase II study of depot octreotide with bevacizumab and pegylated interferon alpha-2b [J]. *J Clin Oncol* 2008; 26(8): 1316–1323.
- [9] Caraccio N, Cuccato S, Pratesi F, et al. Effect of type I interferon(s) on cell viability and apoptosis in primary human thyrocyte cultures [J]. *Thyroid* 2009; 19(2): 149–155.
- [10] Duchek M, Johansson R, Jahnson S, et al. Bacillus Calmette-Guérin is superior to a combination of epirubicin and interferon-alpha2b in the intravesical treatment of patients with stage T<sub>1</sub> urinary bladder cancer. A prospective randomized Nordic study [J]. *Eur Urol* 2010; 57(1): 25–31.

(编辑 陈 姜 英文编辑 刘宝林)

(上接第 786 页)

#### 参考文献:

- [1] 侯宇川, 王春喜, 陈学思. 新型生物降解材料输尿管支架的生物相容性研究 [J]. *中华实验外科杂志* 2006; 23(5): 571–572.
- [2] 王春喜, 侯宇川, 陈学思. 漏斗形生物降解材料输尿管支架的动物实验研究 [J]. *中华泌尿外科杂志* 2006; 27(11): 738–741.
- [3] Meeks JJ, Helfand BT, Thaxton CS, et al. Retrieval of migrated ureteral stents by coaxial cannulation with a flexible ureteroscope and paired helical basket [J]. *J Endourol* 2008; 22(5): 927–929.
- [4] Vega Vega A, García Alonso D, García Alonso CJ. Characterization of urinary tract symptoms and quality of life in patients with double-pig-tailed ureteral stents [J]. *Actas Urol Esp* 2007; 31(7): 738–742.
- [5] Lingeman JE, Preminger GM, Berger Y, et al. Use of a temporary ureteral drainage stent after uncomplicated ureteroscopy: results from a phase II clinical trial [J]. *J Urol* 2003; 169(5): 1682–1688.
- [6] Boris AH, Ryan FP, Ladan F, et al. Investigation of a novel degradable ureteral stent in a porcine model [J]. *J Urol* 2008; 180 (3): 1161–1166.

- [7] Ben HC, Dirk L, Ryan FP, et al. Next generation biodegradable ureteral stent in a Yucatan pig model [J]. *J Urol* 2010; 183(2): 765–771.
- [8] Klose D, Laprais M, Leroux V, et al. Fenofibrate-loaded PLGA microparticles: effects on ischemic stroke [J]. *Eur J Pharm Sci* 2009; 37(1): 43–52.
- [9] Iverson N, Plourde N, Chnari E, et al. Convergence of nanotechnology and cardiovascular medicine: progress and emerging prospects [J]. *BioDrugs* 2008; 22(1): 1–10.
- [10] Jain RA. The manufacturing techniques of various drug loaded biodegradable poly(lactide-co-glycolide) (PLGA) devices [J]. *Biomaterials* 2000; 21(23): 2475–2490.
- [11] Athanasiou K A, Niederauer G G, Agrawal C M. Sterilization toxicity biocompatibility and clinical applications of polylactic acid/polyglycolic acid copolymers [J]. *Biomaterials* 1996; 17 (2): 93–102.
- [12] 赵莉, 何晨光, 高永娟, 等. PLGA 的不同组成对支架材料性能的影响研究 [J]. *中国生物工程杂志* 2008; 28(5): 22–28.

(编辑 孙宪民 英文编辑 刘宝林)