

学校代码: 10200  
分类号: Q4

研究生学号: 10200200521267



**东北师范大学**  
**硕士学位论文**

**电活性可生物降解材料聚乳酸与苯胺五聚  
体嵌段共聚物在心肌组织工程中的应用**  
**Enhancement of myoblasts adhesion, spreading and proliferation  
on biodegradable and electroactive triblock copolymer of Poly  
(L-lactide) and aniline pentamer with electric stimulation and its  
potential application in cardiac tissue engineering**

作者: **张薇**

指导教师: **曾庆华 教授**  
学科专业: **生理学**  
研究方向: **分子细胞生理学**  
学位类型: **学历硕士**

东北师范大学学位评定委员会

2008年5月

学校代码: 10200  
分类号: Q4

研究生学号: 10200200521267



**东北师范大学**  
**硕士学位论文**

**电活性可生物降解材料聚乳酸与苯胺五聚  
体嵌段共聚物在心肌组织工程中的应用**  
**Enhancement of myoblasts adhesion, spreading and proliferation  
on biodegradable and electroactive triblock copolymer of Poly  
(L-lactide) and aniline pentamer with electric stimulation and its  
potential application in cardiac tissue engineering**

作者: 张薇

指导教师: 曾庆华 教授  
学科专业: 生理学  
研究方向: 分子细胞生理学  
学位类型: 学历硕士

东北师范大学学位评定委员会

2008年5月

## 独创性声明

本人郑重声明：所提交的学位论文是本人在导师指导下独立进行研究工作所取得的成果。据我所知，除了特别加以标注和致谢的地方外，论文中不包含其他人已经发表或撰写过的研究成果。对本人的研究做出重要贡献的个人和集体，均已在文中作了明确的说明。本声明的法律结果由本人承担。

学位论文作者签名：张蕊 日期：2008.6.10

## 学位论文使用授权书

本学位论文作者完全了解东北师范大学有关保留、使用学位论文的规定，即：东北师范大学有权保留并向国家有关部门或机构送交学位论文的复印件和电子版，允许论文被查阅和借阅。本人授权东北师范大学可以采用影印、缩印或其它复制手段保存、汇编本学位论文。同意将本学位论文收录到《中国优秀博硕士学位论文全文数据库》（中国学术期刊（光盘版）电子杂志社）、《中国学位论文全文数据库》（中国科学技术信息研究所）等数据库中，并以电子出版物形式出版发行和提供信息服务。

（保密的学位论文在解密后适用本授权书）

学位论文作者签名：张蕊 指导教师签名：张蕊  
日 期：2008.6.10 日 期：2008.6.10

学位论文作者毕业后去向：

工作单位：\_\_\_\_\_ 电话：\_\_\_\_\_

通讯地址：\_\_\_\_\_ 邮编：\_\_\_\_\_

## 摘 要

成熟的心肌细胞是终末分化细胞, 缺乏再生能力, 因此, 心肌损伤后导致心肌细胞不可逆的丢失, 只能由成纤维细胞增生形成瘢痕而修复。设法增加心脏内心肌细胞或心肌样细胞的数量能改善此类患者的心功能。组织工程学的诞生为人类再造各种有功能的人体组织或器官带来了希望, 同时也为病损的心肌提供了修复的可能性。组织工程学是将细胞生物学和材料学、工程学相结合进行体外构建组织或器官的新兴学科。其基本原理是将体外培养、扩增的, 具有特定生物学功能的种子细胞与可降解材料相结合, 形成细胞-材料复合物, 在体外培养一定时间后植入体内用以修复替代病损的组织器官。近年来, 国内外心肌组织工程研究取得了明显进展, 展现了良好的临床应用前景。当今可供临床应用的修复材料都缺乏导电性, 并有钙化和血栓生成的危险。目前导电高分子材料已悄然走进生物医学领域, 是生物材料和组织工程学家关注的焦点。聚吡咯等高分子聚合物可以像金属一样导电; 而且可以制作成各种特殊性能的新材料, 但缺乏导电性限制了其在心肌组织工程中的应用。

目前已经有人针对聚苯胺等电活性聚合物存在的生物相容性差、不可降解以及溶解性差难以加工等等缺陷进行了相关的改性研究工作, 制备出了可生物降解的脂肪族聚酯与苯胺低聚体的嵌段共聚物。通过将脂肪族聚酯和天然生物高分子的引入, 不仅可以大大提高电活性材料的溶解性, 使其可以在如氯仿, 四氢呋喃和水等低沸点溶剂中具有较高的溶解度, 同时还极大地提高了材料的生物相容性。而引入的苯胺低聚体, 它不仅具有和聚苯胺相似的电活性, 同时由于其短的共轭结构, 当材料中可生物降解的部分消失之后, 苯胺低聚体可以通过肾脏排出体外, 真正达到了可吸收生物材料的体内应用要求。

本实验的目的是研究聚乳酸与苯胺低聚体的嵌段共聚物在心肌组织工程中的应用。方法: 利用C6和H9c2细胞系, MTT法及荧光染色法研究材料的细胞毒性, 细胞粘附性; 并且在特定的电压及(5v, 1Hz, 500ms) 频率的存在下, 研究一段时间内, 材料的电活性对细胞的形态及增殖的影响。同时对细胞内的钙离子浓度进行了检测。结果: 结果表明, 嵌段共聚物的细胞毒性小(仅次于聚乳酸), 细胞粘附性最好, 在特定的电压及(5v, 1Hz, 500ms) 频率的存在下, 材料的电活性促进了细胞的增殖, 同时, 在形态上, 出现了类似神经“突触”样的结构, 并且, 电刺激后, 细胞内的钙离子浓度有所增加。

关键词: 聚乳酸; 苯胺低聚物; 电活性; 生物相容性; H9c2

## **Abstract**

Biological application of PLA-b-AP-b-PLA (PAP) triblock copolymer of polylactide (PLA) and aniline pentamer (AP) with electroactivity and biodegradability is studied. Biocompatibility of PAP copolymer was investigated by cytotoxicity test, and cell attachment and morphological analysis. The effects of electrical stimulation on myoblasts (H9c2 cell lines) cultured on the thin film surface of the PAP/PLA (1:1) were subsequently investigated by cell proliferation test and ion image analysis. The survival rate of C6 cells in PAP copolymer extract stock solution is higher than those in AP and PLA/AP (1:1). The area fraction and perimeter of H9c2 cells on PAP/PLA film surface were the highest, and circularity was the lowest at each time point which proved that the copolymer has favorable biocompatibility. After electrical stimulation (5V, 1Hz, 500ms), the proliferation ratio and intracellular calcium concentration of H9c2 cells on PAP/PLA film surface were improved more significantly than those on PANi, PLA and the glass control at 3 and 6 days culture in vitro. Besides these, something that looks like "pseudopodia" was observed from H9c2 cells on PAP/PLA film surface after stimulation at the 7th day. These results proved that PAP copolymer has well biocompatibility, and properties of electroactive can improve a multitude of cell functions, such as cell attachment, proliferation, migration, and differentiation.

**Keywords:** PAP copolymer; electroactive; biocompatibility; H9c2 cell; electrical stimulation

# 目 录

引 言.....	1
第一章 实验材料.....	4
一、实验高分子材料.....	4
二、实验药品.....	4
三、实验主要器材与设备.....	5
第二章 实验方法.....	6
一、材料的准备.....	6
二、接触角测量.....	6
三、扫描电子显微镜测试.....	7
四、细胞培养.....	7
五、材料毒性实验.....	7
六、细胞粘附性和伸展性实验.....	8
七、电刺激实验.....	8
八、细胞增殖实验.....	9
九、细胞形态学观察实验.....	9
十、细胞内钙离子浓度的测定.....	10
十一、统计学分析.....	11
第三章 实验结果.....	12
一、接触角测量.....	12
二、扫描电子显微镜测试.....	12
三、改性聚苯胺的细胞毒性.....	13
四、各种高分子材料的细胞粘附性比较.....	14
五、电刺激对细胞增殖能力的影响.....	18
六、电刺激对细胞形态的影响.....	19
七、电刺激对细胞内钙离子浓度的影响.....	21
第四章 讨论.....	24
结 论.....	26
参考文献.....	27
附 录.....	29
致 谢.....	30