

文章编号: 1008-9357(2025)05-0400-12

DOI: 10.14133/j.cnki.1008-9357.20250418001

细胞介导交联实现力学增强型可注射水凝胶用于 高效细胞递送

余隆康^{1,2,3}, 臧晶^{1,2,3}, 张建航^{1,2,3}, 黄伟^{1,2,3}, 高洪杰^{1,2,3}, 张逸慧^{1,2,3}, 陈明宇^{1,2,3},
乔磊^{1,2,3}, 尤业宇^{1,2,3}, 王龙海^{1,2,3}(中国科学技术大学 1. 精准智能化学全国重点实验室, 2. 化学与材料科学学院,
3. 中国科学技术大学附属第一医院, 合肥 230026)

摘要: 可注射水凝胶在细胞治疗中具有广泛应用前景,但其力学性能弱和异物反应限制了其在体内的应用效果。本文提出了一种细胞介导共价交联的水凝胶构建策略,利用双端 *N*-羧基琥珀酰亚胺交联剂(NHS-PEG-NHS)将细胞聚集体表面的氨基与共聚多肽侧链氨基原位交联,构建了细胞-多肽杂化水凝胶。细胞交联点的引入显著提升了凝胶的力学强度与抗溶胀性能,实现了细胞的高效原位封装。共聚多肽由 *L*-丝氨酸、*D*-丝氨酸与 *L*-赖氨酸共聚而成,其高水合结构赋予材料优异的生物相容性与抗异物反应能力,能维持细胞长期活性。本策略为构建兼具力学稳定性与免疫友好性的可注射水凝胶提供了新思路,适用于高效细胞递送和细胞治疗。

关键词: 可注射水凝胶; 细胞介导交联; 力学增强; 细胞递送; 生物相容性

中图分类号: R318.08

文献标志码: A

Cell-Mediated Crosslinking Enables Mechanically Robust Injectable Hydrogel for Efficient Cell Delivery

YU Longkang^{1,2,3}, ZANG Jing^{1,2,3}, ZHANG Jianhang^{1,2,3}, HUANG Wei^{1,2,3}, GAO Hongjie^{1,2,3}, ZHANG Yihui^{1,2,3},
CHEN Mingyu^{1,2,3}, QIAO Lei^{1,2,3}, YOU Yezi^{1,2,3}, WANG Longhai^{1,2,3}(1. State Key Laboratory of Precision and Intelligent Chemistry, 2. School of Chemistry and Materials Science; 2. The First
Affiliated Hospital of USTC, University of Science and Technology of China, Hefei 230026, China)

Abstract: Injectable hydrogels hold significant promise for cell therapy. However, their clinical translation is often hindered by insufficient mechanical strength and undesirable foreign body responses (FBR) *in vivo*. Inspired by the reinforcement mechanism of styrene-butadiene-styrene (SBS) elastomers, a cell-mediated covalent crosslinking strategy for constructing a hybrid injectable hydrogel system is proposed. This hydrogel is formed via *in situ* reaction between primary amine groups on the surface of islet-like MIN6 cell aggregates and amino groups on a well-hydrated copolypeptide, mediated by a bifunctional crosslinker, bis-*N*-hydroxysuccinimide polyethylene glycol (NHS-PEG-NHS). By mimicking the polystyrene aggregation

收稿日期: 2025-04-18

基金项目: 国家重点研发计划(2024 YFB3814600); 国家自然科学基金面上项目(52473155); “科大新医学”联合基金(YD2060002501)

作者简介: 余隆康(2000—), 男, 安徽安庆人, 硕士生, 主要研究方向为生物医用高分子材料。E-mail: yulongkang@mail.ustc.edu.cn

通信联系人: 王龙海, E-mail: hiwang@ustc.edu.cn

引用格式: 余隆康, 臧晶, 张建航, 黄伟, 高洪杰, 张逸慧, 陈明宇, 乔磊, 尤业宇, 王龙海. 细胞介导交联实现力学增强型可注射水凝胶用于高效细胞递送 [J]. 功能高分子学报, 2025, 38(5): 400-411.

Citation: YU Longkang, ZANG Jing, ZHANG Jianhang, HUANG Wei, GAO Hongjie, ZHANG Yihui, CHEN Mingyu, QIAO Lei, YOU Yezi, WANG Longhai. Cell-Mediated Crosslinking Enables Mechanically Robust Injectable Hydrogel for Efficient Cell Delivery [J]. Journal of Functional Polymers, 2025, 38(5): 400-411.

domain anchoring observed in SBS elastomers, the incorporation of cell-mediated crosslinking points not only enables gentle *in situ* encapsulation of viable cell clusters, but also significantly enhances compressive modulus and swelling resistance of the hydrogel. The copolypeptide is synthesized via ring-opening polymerization of *L*-serine, *D*-serine, and *L*-lysine, initiated by lithium hexamethyldisilazide. The resulting polymer features a hydrophilic, non-fouling backbone enriched with amide and hydroxyl groups, providing a strong “dual hydrogen-bond hydration” effect. This structure imparts excellent biocompatibility and antifouling properties, minimizing immune cell recruitment at the host-material interface, thereby supporting the long-term viability of encapsulated cells. *In vivo* subcutaneous implantation in C57BL/6 mice reveals that the peptide-based hydrogels induce only mild inflammatory responses, as evidenced by low pro-inflammatory cytokine expression, reduced macrophage accumulation, and minimal collagen capsule formation. These results demonstrate that the proposed cell-mediated crosslinked hydrogel offers a versatile platform combining injectability, mechanical robustness, cytocompatibility, and immunomodulatory capacity for effective cell encapsulation and delivery in biomedical applications such as islet transplantation and cell-based therapies.

Key words: injectable hydrogel; cell-mediated crosslinking; mechanical enhancement; cell delivery; biocompatibility

天然细胞外基质(ECM)为细胞提供了支持结构和生理微环境,但其复杂的生化组成与异质的物理性质限制了其在临床中的直接应用^[1]。研究者致力于开发具有良好可控性的人工替代材料,以模拟天然的ECM功能,使之用于细胞治疗等再生医学领域^[2,3]。水凝胶因其高含水量、良好的生物相容性及可调控的物理化学性质,成为理想的细胞递送载体^[4]。水凝胶的三维网络结构能够维持细胞存活、功能代谢及物质交换,同时便于构建组织仿生微环境,广泛应用于细胞封装与递送^[5]。通过“溶胶-凝胶”转变机制,水凝胶可以制备为可注射形式,实现无创式体内植入^[6],并适应复杂或不规则植入部位的填充需求^[7]。

可注射水凝胶在细胞封装与递送的相关临床转化中仍面临诸多挑战。首先,植入材料需具备良好的生物相容性,以避免诱发异物反应(FBR)^[8]。FBR通常始于非特异性蛋白质的吸附^[9,10],进而激活巨噬细胞并诱导纤维囊形成,严重影响封装细胞与组织间的物质交换^[11]。近年来,聚丝氨酸类水凝胶因其主链含有酰胺键、侧链富含羟基,在水环境中可通过“双氢键水合”作用协同水分子在材料表面形成稳定致密的水合层,展现出优异的抗蛋白吸附能力和对促炎因子表达的抑制作用,为抗FBR材料设计提供了新策略^[12-14]。其次,植入材料需具备良好的力学性能,这对于其在体内的应用尤为关键。可注射水凝胶可分为剪切变稀型和原位成胶型水凝胶。剪切变稀型水凝胶通过动态交联结构(如物理相互作用或可逆化学键)实现流动性^[15],但其力学强度较低、体内长期力学稳定性不足^[16,17];而且注射过程中可能对细胞造成剪切损伤,特别是针对含细胞团的封装体系。相比之下,原位成胶型水凝胶通过注射后实现体内交联,具有更优的力学稳定性及成胶可控性,适用于细胞封装体系。然而,当前的原位交联策略仍存在如交联条件(紫外光、自由基、活性氧等)的细胞毒性大以及细胞-水凝胶界面不连续等问题^[18]。

本文提出了一种基于细胞介导交联的原位成胶策略(图1),通过细胞表面氨基与聚多肽侧链氨基在交联剂双端基 *N*-羟基琥珀酰亚胺酯-聚乙二醇(NHS-PEG-NHS)作用下发生酰胺交换反应,形成空间网络结构。无规共聚多肽(Poly(*D*, *L*-Ser-*r*-poly(*L*-Lys))由 *L*-丝氨酸、*D*-丝氨酸与 *L*-赖氨酸共聚而成,具有显著的水合能力与优异的抗黏附性能。细胞团在水凝胶形成中起到类似苯乙烯(SBS)-丁二烯(PB)-苯乙烯(SBS)嵌段共聚物中聚苯乙烯(PS)域的“物理交联”作用^[19],有效提升了力学性能与结构稳定性。同时,水合结构增强凝胶的抗FBR能力。本研究构建的水凝胶体系兼具生物相容性、力学强度与界面稳定性,为高效细胞递送提供了新的材料平台,在细胞治疗中展现出广阔的应用前景。

1 实验部分

1.1 原料和试剂

无水四氢呋喃($w=99.5\%$)、无水二氯甲烷($w=99.9\%$)、无水乙酸乙酯($w=99.8\%$)、无水正己烷($w=99.0\%$)、无水乙腈($w=99.9\%$)、无水吡啶($w=99.5\%$)、三氟乙酸($w=99.0\%$)、 α -蒎烯($w=98.0\%$):安徽泽升科技股份有限公司;无水硫酸镁(分析纯)、三光气($w=99.0\%$)、聚乙二醇($M_n = 4000$)、*N,N'*-二琥珀酰亚胺基碳酸酯

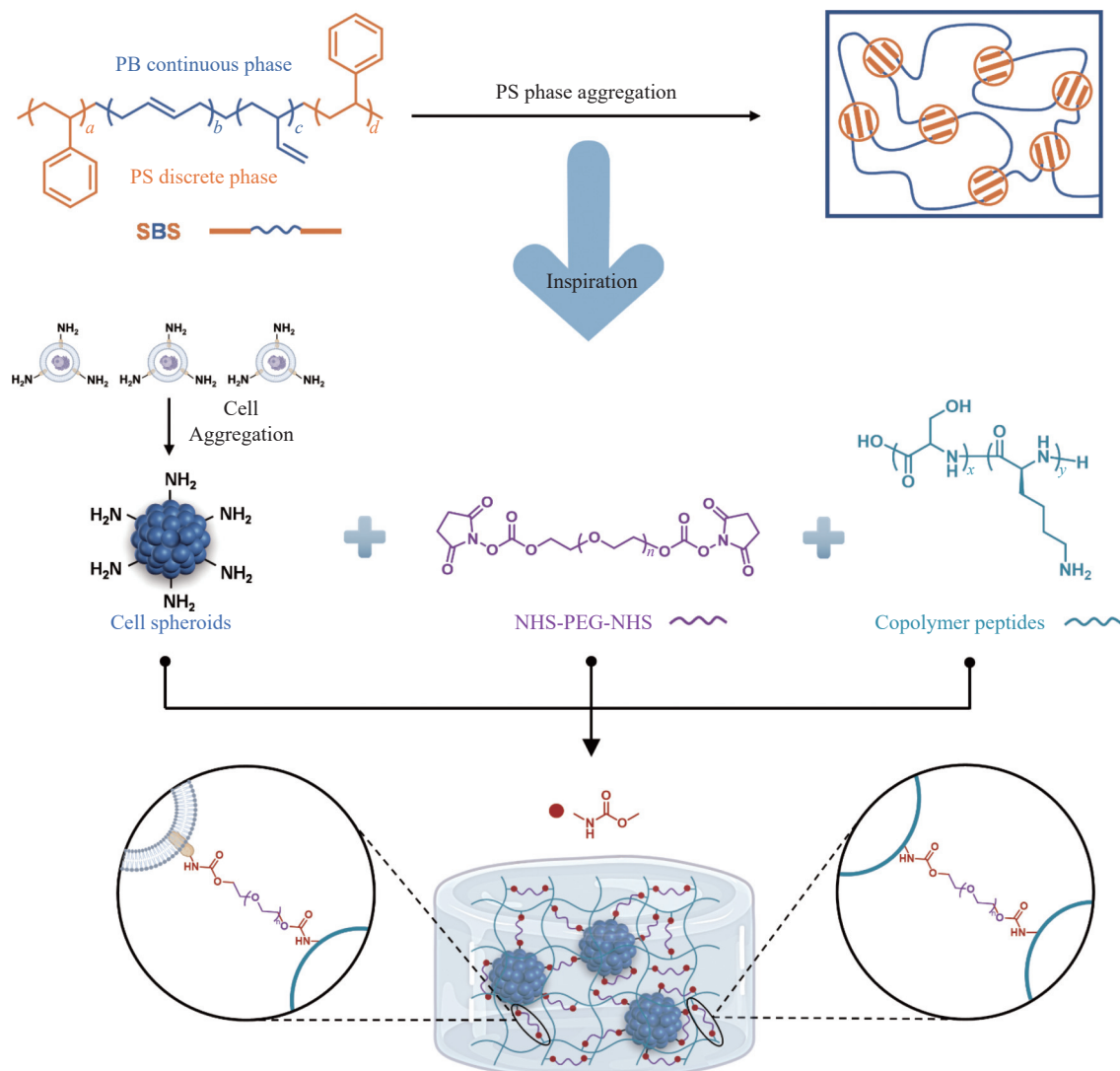


图 1 细胞交联水凝胶的构建策略示意图

Fig. 1 Schematic illustration of the design and formation of the cell-mediated crosslinking hydrogel

($w=98.0\%$): 上海阿拉丁生化科技股份有限公司; *O*-叔丁基-*L*-丝氨酸 (*t*Bu-*L*-Ser, $w=97.0\%$)、*O*-叔丁基-*D*-丝氨酸 (*t*Bu-*D*-Ser, $w=96.0\%$)、 ϵ -*N*-叔丁氧羰基-*L*-赖氨酸 (*Boc-L*-Lys, $w=97.0\%$)、四臂-聚乙二醇-氨基 ($w=97.0\%$, $M_n=5000$): 上海毕得医药科技股份有限公司; 双三甲基硅基氯化锂 (溶于四氢呋喃, 浓度 1.0 mol/L): 上海阿达玛斯试剂有限公司; 邻苯二胺 ($w=99.0\%$): 上海麦克林生化科技股份有限公司; $\text{DMSO-}d_6$ ($w=99.9\%$)、 D_2O ($w=99.9\%$): 美国剑桥 CIL 公司。试剂均为分析纯。

DMEM 高糖培养基: Biochannel 公司; 胎牛血清 (FBS)、青霉素-链霉素溶液 (P/S)、纤维蛋白原 (牛血) (Fg): Biosharp 公司; MEM 必需氨基酸溶液 (NEAA): 武汉普诺赛生命科技有限公司; 辣根过氧化物酶 (HRP) 偶联的抗纤维蛋白原抗体: Bellancom Chemistry 公司; 乳酸脱氢酶 (LDH) 细胞毒性检测试剂盒: 上海碧云天生物技术有限公司; Live & Dead 动物细胞活力/毒性检测试剂盒: 上海百赛生物技术有限公司。

1.2 仪器

核磁共振波谱仪 (德国 Bruker 公司 AVAVCE III HD400 型); 凝胶渗透色谱仪 (美国 Waters 公司 Waters 1515 型); 傅里叶变换红外光谱仪 (德国 Bruker 公司 TENSOR II 型); 万能机械试验机 (美国 Instron 公司 34 TM-10 型); 流变仪 (美国 TA Instruments 公司 Discovery HR 30 型); 荧光倒置显微镜 (日本 Olympus 公司 IX73 型); 酶标仪 (瑞士 Tecan 公司 Infinite 200 pro 型)。

1.3 实验步骤

无规共聚多肽 Poly(*D*, *L*-Ser-*r*-poly(*L*-Lys) 和交联剂 NHS-PEG-NHS 的合成路线如图 2 所示。

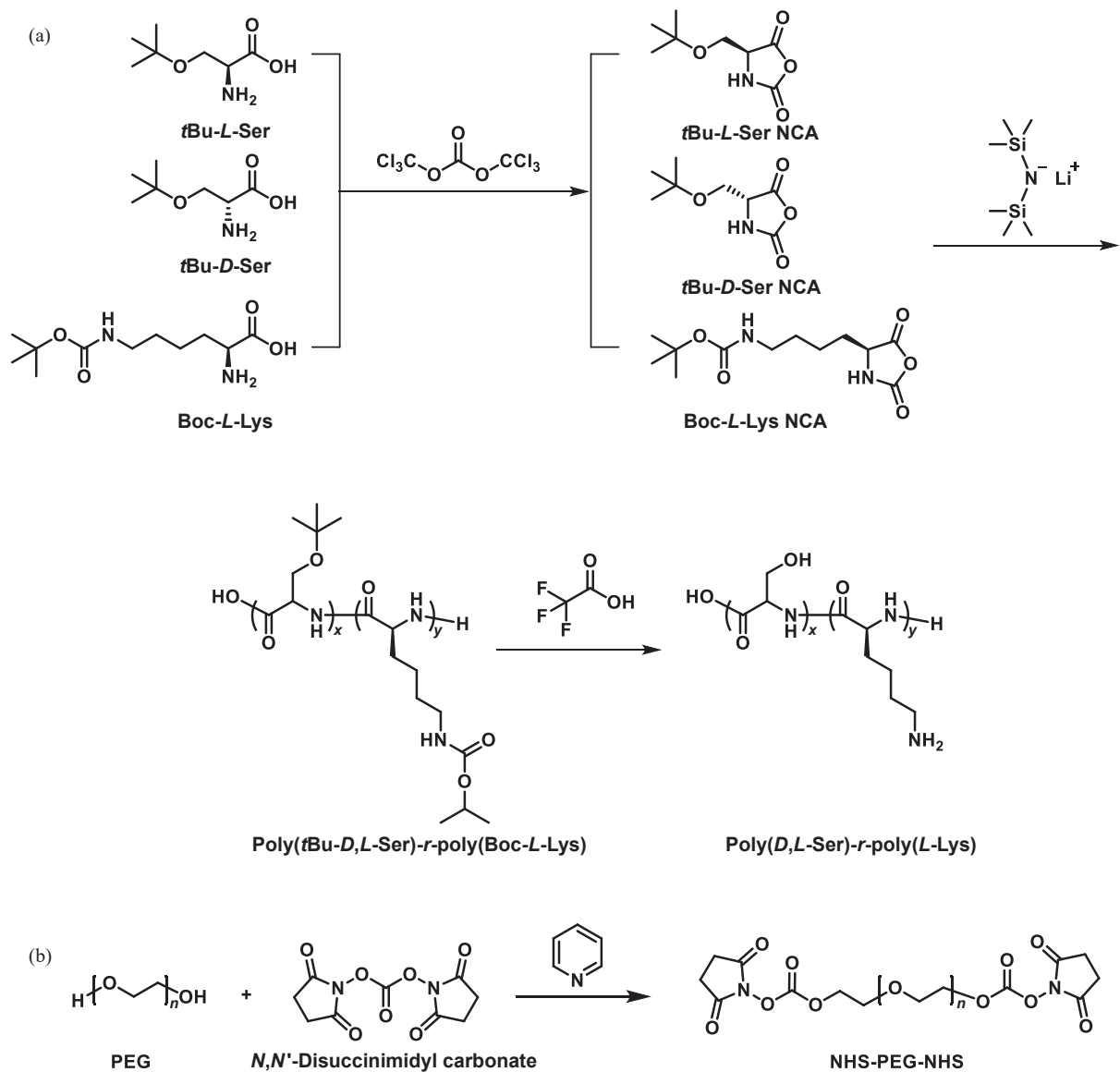


图 2 (a)无规共聚多肽和(b)NHS-PEG-NHS 的合成路线

Fig. 2 Synthesis route of (a) random copolypeptide and (b) NHS-PEG-NHS

1.3.1 Boc-L-Lys NCA 单体(NCA 为 α -amino acid *N*-carboxyanhydrides 的简称)的合成 在厚壁压力容器中依次加入 Boc-L-Lys(4.0 g, 16.4 mmol)、无水四氢呋喃(80 mL)、1, 2-环氧丙烷(11.2 mL, 162.4 mmol)、三光气(2.48 g, 8.4 mmol), 立即密封容器, 在室温下搅拌反应 3 h。反应结束后加入 4 °C 的冷水(40 mL), 搅拌 3 min 以猝灭过量的三光气。用乙酸乙酯(80 mL \times 2)萃取混合物, 合并有机相, 经饱和氯化钠溶液洗涤后, 用无水硫酸镁干燥过夜。除去溶剂后得到粗产物, 并在无水四氢呋喃-正己烷中重结晶, 获得白色固体 Boc-L-Lys NCA。

1.3.2 *t*Bu-D-Ser NCA 与 *t*Bu-L-Ser NCA 单体的合成 在氮气氛围和冰水浴条件下, 向干燥三口烧瓶中加入 *t*Bu-D-Ser(4.03 g, 25 mmol)、 α -蒎烯(10.5 mL, 66 mmol)和无水四氢呋喃(75 mL)。另取三光气(3.26 g, 11 mmol)溶于无水四氢呋喃(15 mL)后加入反应体系中。在氮气氛围下, 50 °C 搅拌 2 h 至溶液澄清。旋蒸除去溶剂后, 用乙酸乙酯(50 mL)溶解残留物, 依次用冰水(3 次)和冰盐水(1 次)洗涤有机相, 干燥后除去溶剂。粗产物在手套箱中用无水乙酸乙酯和无水正己烷重结晶纯化 3 次, 得到白色针状晶体 *t*Bu-D-Ser NCA。*t*Bu-L-Ser NCA 的合成步骤同上。

1.3.3 Poly(*D,L*-Ser)-*r*-poly(*L*-Lys)的合成 将 *t*Bu-L-Ser NCA、*t*Bu-D-Ser NCA(各 0.94 g, 5 mmol)和 Boc-L-Lys NCA(2.72 g, 10 mmol)溶于四氢呋喃(90 mL)中, 立即向溶液中加入六甲基二硅氮化锂(0.1 mmol/mL, 10 mL)的无水四氢呋喃溶液。室温搅拌反应 10 min 后, 将反应混合物滴加到无水冷乙醚(1 L)中, 得到白色絮状沉淀, 通过离心收集(5000 r/min, 4 °C)并在氮气流下初步干燥。反复进行 3 次溶解(THF)-沉淀(乙醚)循环后获

得侧链保护的共聚多肽。随后,将该多肽溶于三氟乙酸(80 mL),室温搅拌脱保护 2 h。通过减压旋蒸除去三氟乙酸,得到黄色油状物。将其溶解于甲醇(40 mL)中,并滴加到甲基叔丁基醚(400 mL)中,沉淀出白色絮状固体。通过离心(5000 r/min, 4 °C)收集固体,并在氮气流下初步干燥。将收集到的固体溶解于甲醇(40 mL)中,再次沉淀,经过 3 次溶解-沉淀循环后,得到脱保护的无规共聚多肽 Poly(*D,L*-Ser)-*r*-poly(*L*-Lys)。

1.3.4 NHS-PEG-NHS 的合成 将聚乙二醇(PEG)($M_n = 4000$, 20 g, 5 mmol)溶于无水二氯甲烷(250 mL)中,在氮气氛围下搅拌 10 min,另将 *N,N'*-二琥珀酰亚胺基碳酸酯(6.4 g, 25 mmol)溶于无水乙腈(100 mL)中,加入反应体系中,同时加入无水吡啶(1 mL, 12.5 mmol)。在氮气氛围下室温搅拌 24 h 后,将混合物过滤并减压旋蒸,除去溶剂后,用三氯甲烷(50 mL)溶解残留物,并滴加到无水冷乙醚(200 mL)中,沉淀出白色絮状固体。通过离心收集(5000 r/min, 4 °C)固体,在氮气流下初步干燥。将收集到的固体溶解于三氯甲烷(50 mL)中,再次沉淀,经过 3 次溶解-沉淀循环后,得到 NHS-PEG-NHS。

1.3.5 模拟计算 采用有限元方法在 COMSOL Multiphysics 6.1 中构建三维传质模型,用于模拟移植后水凝胶内氧分压的空间分布情况。模型的建立及氧气消耗相关的数学描述参考文献 [20-22] 的建模方法。水凝胶结构被简化为半径 1.26 mm、高 20 mm 的圆柱体。小鼠胰岛 β 细胞(MIN6)细胞团以固定直径的球体形式表示,空间分布通过 Matlab 脚本进行随机化处理。模型边界设定为恒定氧分压 10 mmHg(1 mmHg=133.3 Pa),以模拟小鼠皮下微环境中的典型氧张力条件^[23]。

1.3.6 细胞表面交联反应对细胞活性的影响 为评估 NHS 基团与细胞表面氨基之间的共价反应是否对细胞活性产生影响,采用 LDH 检测试剂盒进行细胞毒性分析。首先将 NHS-PEG-NHS 溶解于培养基中,配制质量分数为 2% 的储备液。随后在 48 孔板中每孔加入 100 个 MIN6 细胞团,加入 NHS-PEG-NHS 储备液与新鲜培养基的混合液(总体积 500 μ L),使 NHS 基团的终浓度分别为 0.5、1.25、2.5 mmol/L。以未含 NHS 活性酯的 PEG 处理组为阴性对照。细胞在 37 °C、5%(体积分数)CO₂ 条件下培养 48 h 后,收集上清液进行 LDH 含量检测。为获得最大 LDH 释放量,在空白对照组孔中加入 50 μ L LDH 裂解液孵育 1 h。取每孔上清液 120 μ L 至 96 孔板,加入 60 μ L LDH 显色试剂,室温孵育 30 min 后在 490 nm 波长下测定吸光度,600 nm 作为参考波长。

1.3.7 细胞交联多肽水凝胶的制备 NHS-PEG-NHS 和共聚多肽分别溶于 pH 8.0 的 Hank's 平衡盐(HBSS)缓冲液中,其质量分数分别为 30% 和 10%。MIN6 细胞团(直径 100 μ m 左右)经 pH 7.2 的 HBSS 缓冲液洗涤 3 次后,均匀分散于 50 μ L 共聚多肽溶液中,再加入 50 μ L NHS-PEG-NHS 溶液,轻柔混合后(细胞密度为 1×10^7 Cell/mL 或 2×10^7 Cell/mL)于 37 °C 孵育形成细胞交联的多肽水凝胶。以同样方法制备不含细胞团的非细胞交联水凝胶。

1.4 测试与表征

1.4.1 核磁共振氢谱(¹H-NMR)和 GPC 表征 采用核磁共振氢谱表征 Boc-*L*-Lys NCA、*t*Bu-*D,L*-Ser NCA、侧链保护的无规共聚多肽 Poly(*t*Bu-*D,L*-Ser)-*r*-poly(Boc-*L*-Lys) 和脱保护的无规共聚多肽 Poly(*D,L*-Ser)-*r*-poly(*L*-Lys) 的分子结构。采用凝胶渗透色谱(GPC)测定 Poly(*t*Bu-*D,L*-Ser)-*r*-poly(Boc-*L*-Lys) 的分子量,以 PS 为标样,含有 0.01 mol/L LiBr 的二甲基甲酰胺为流动相,流速为 1 mL/min。

1.4.2 傅里叶变换红外光谱(FT-IR)表征 为了研究 NHS-PEG-NHS 和共聚多肽氨基之间的分子间相互作用,并验证交联网络结构的形成,对共聚多肽、NHS-PEG-NHS 和水凝胶进行 FT-IR 表征。将水凝胶溶胀后进行冷冻干燥,并彻底研磨与溴化钾混合,然后压片用于表征。

1.4.3 力学性能 为了研究细胞交联策略的机械增强性,测定了凝胶的压缩模量和储能模量(G')。将细胞团均匀分散在 100 μ L 共聚多肽溶液中,再加入 100 μ L NHS-PEG-NHS 溶液。轻柔混合后将前体溶液注入内径为 8 mm 的中空圆柱形聚四氟乙烯模具中,在 37 °C 下孵育得到圆柱状(厚度 4 mm、直径 8 mm)的细胞交联水凝胶。将水凝胶在配备 50 N 称重传感器的仪器中进行压缩试验。当预加载力达到 0.001 N 后,以 1 mm/min 的横梁速率进行压缩。此外,在流变仪上进行了振幅扫描流变学研究,采用应变扫描模式,37 °C 保温 3 min,以 0.01 Hz 的频率测量 0.1%~100% 剪切应变范围;上部平行几何板的直径为 8 mm,表面光滑;每 20 s 进行一次采样,用厚度为 2 mm、直径为 8 mm 的圆柱状试样来表征储能模量。储能模量取前 5 个数据点的平均值。

1.4.4 水凝胶的溶胀性能 将制备好的水凝胶用滤纸吸干表面液体,称其初始质量 m_0 。将样品置于 37 °C PBS 缓冲液中孵育指定时间,取出后再次吸干并称其质量 m_t ,计算溶胀率为: $(m_t - m_0)/m_0$,当水凝胶质量不再变化时,记录其平衡溶胀率。

1.4.5 细胞死/活染色 将细胞交联水凝胶(直径约 8 mm,厚度约 2 mm)置于 24 孔板中,使用含 FBS($w=10\%$)、P/S($w=1\%$) 和 NEAA($w=10\%$) 的 DMEM 高糖培养基在 37 °C、5% CO₂ 条件下培养 7 d。特定时间点用 PBS 清洗后,加入 Live&Dead 染色液染色 30 min,采用荧光显微镜观察细胞存活情况。

1.4.6 LDH 细胞毒性检测 将细胞交联水凝胶置于 24 孔板中,于 2 mL 完全培养基中培养 48 h。为获得最大 LDH 释放量,对照组孔中加入 200 μ L LDH 裂解液孵育 1 h。取每孔上清液 120 μ L 至 96 孔板,加入 60 μ L LDH 显色试剂,室温孵育 30 min 后,在 490 nm 波长下测定吸光度,600 nm 作为参考波长。

1.4.7 纤维蛋白原吸附 为了评估聚多肽水凝胶的抗蛋白吸附能力,选择 Fg 作为测试蛋白,并采用酶联免疫吸附法(ELISA)进行分析。实验对照组为普通 PEG 凝胶:将四臂 PEG-NH₂ 溶于 pH 7.2 的 HBSS 缓冲液($w=20\%$),NHS-PEG-NHS 溶于 pH 8.0 的 HBSS 缓冲液($w=3\%$)。分别取 25 μ L 的四臂 PEG-NH₂ 溶液和 25 μ L 的 NHS-PEG-NHS 溶液混合均匀,并将前体溶液注入内径为 8 mm 的中空圆柱形聚四氟乙烯模具中,在 37 °C 下孵育 5 min,制备出 PEG 水凝胶对照组样品。样品置于含 1 mg/mL Fg 的磷酸盐(PBS)缓冲液中孵育 1 h,用 PBS 溶液冲洗 3 次后浸入 1 μ g/mL HRP 标记的抗 Fg 抗体 0.5 h,再洗涤 5 次。加入显色底物(邻苯二胺,OPD),反应 15 min 后加盐酸终止反应,在 490 nm 波长下测定吸光度。

1.4.8 体外抗细胞黏附实验 为了评估聚多肽凝胶和 PEG 对照凝胶的体外抗细胞黏附能力,将水凝胶置于 12 孔板底部,加入含 NIH 3T3 细胞的悬液(1.0×10^5 Cell/mL)2 mL,在 37 °C 孵育 3 d。孵育结束后转移至新孔板,用 PBS 清洗并使用 Live&Dead 染色液染色 30 min,用荧光显微镜成像分析细胞附着情况。

1.4.9 体内抗 FBR 实验 将 100 μ L 多肽水凝胶和 PEG 对照水凝胶分别注射于 6 周龄 C57 BL/6 雄性小鼠背部皮下。植入 2 周后取出凝胶样品和周围组织,用多聚甲醛(40 g/L)固定过夜后石蜡包埋、切片。分别进行 H&E、F4/80 和 Masson 三色染色,评估局部炎症反应、巨噬细胞浸润及胶原沉积情况。

2 结果与讨论

2.1 无规共聚多肽和 NHS-PEG-NHS 的合成与表征

共聚多肽的合成采用 NCA 开环聚合方法。3 种 NCA 单体的 ¹H-NMR 谱图如图 3(a~c)所示。由于传统的伯胺引发剂体系聚合速率慢、对无水环境依赖性高,本研究采用六甲基二硅氮化锂作为新型引发剂,实现高效、开放环境下的快速聚合,整个反应可在 10 min 内完成^[24]。由于聚 L-丝氨酸链段间结合牢固,具有明显的 β -折叠结构倾向,聚集后可形成刚性结构,导致其水溶性极差(质量浓度小于 0.1 mg/mL)^[13]。为了提高聚 L-丝氨酸的溶解性,设计中引入 D-丝氨酸,通过扰乱氢键网络以破坏规整的二级结构,使共聚多肽呈现无规卷曲状态,从而显著提高其在水相中的可溶性。图 3(d, e)分别展示了侧链保护聚合物的 ¹H-NMR 和 GPC 分子量分析结果。聚合物经三氟乙酸去保护后,其结构通过图 3(f)的 ¹H-NMR 谱图进一步确认。

2.2 模拟计算

在细胞治疗中,细胞团的尺寸与封装密度直接影响细胞在封装体系内的活性及后续治疗效果。在糖尿病治疗中,一般以胰岛当量(Islet Equivalent Quantity, IEQ)作为细胞计量单位,1 IEQ 定义为直径 150 μ m 的 1 个胰岛细胞团,常见胰岛封装密度一般为 5000 ~ 20000 IEQ/mL。已有研究表明,小尺寸的细胞团可显著缓解氧扩散受限带来的低氧损伤,从而提高细胞的功能保持及胰岛素分泌效率^[20,25]。为评估水凝胶封装体系内细胞团尺寸与密度对氧运输和细胞活性的影响,本文基于 COMSOL Multiphysics 建立了三维有限元模型,评估了封装系统内细胞氧分压和细胞存活率。如图 4(a)所示,随着细胞团直径的增大,平均氧分压逐渐下降;当细胞团直径为 150 μ m 时,会有部分细胞的中心区域出现局部坏死(体积分数约 5%);在直径为 100 μ m 的细胞团中,未观察到坏死情况。图 4(b)显示,随着细胞密度增加,氧分压整体下降;即使细胞密度高达 2×10^7 Cell/mL 时,也未观察到明显细胞坏死,说明该封装密度可维持有效氧供。因此,在后续实验中选用直径约 100 μ m 的细胞团,并设置细胞团密度为 10000、20000 团/mL(所对应的单个细胞密度分别约为 1×10^7 、 2×10^7 Cell/mL),以保障细胞活性,避免因低氧造成的生物学损伤。

2.3 可注射细胞交联凝胶的制备与结构表征

细胞介导交联的凝胶通过 NHS-PEG-NHS 与共聚多肽侧链氨基及细胞聚集体表面氨基的反应原位形成。为评估该共价反应对细胞活性的潜在影响,我们将不同浓度的 NHS-PEG-NHS(NHS 终浓度为 0、0.5、1.25、2.5 mmol/L)与 MIN6 细胞团共培养 48 h,并通过测定培养基中 LDH 含量评估细胞损伤程度。如图 4(c)所示,

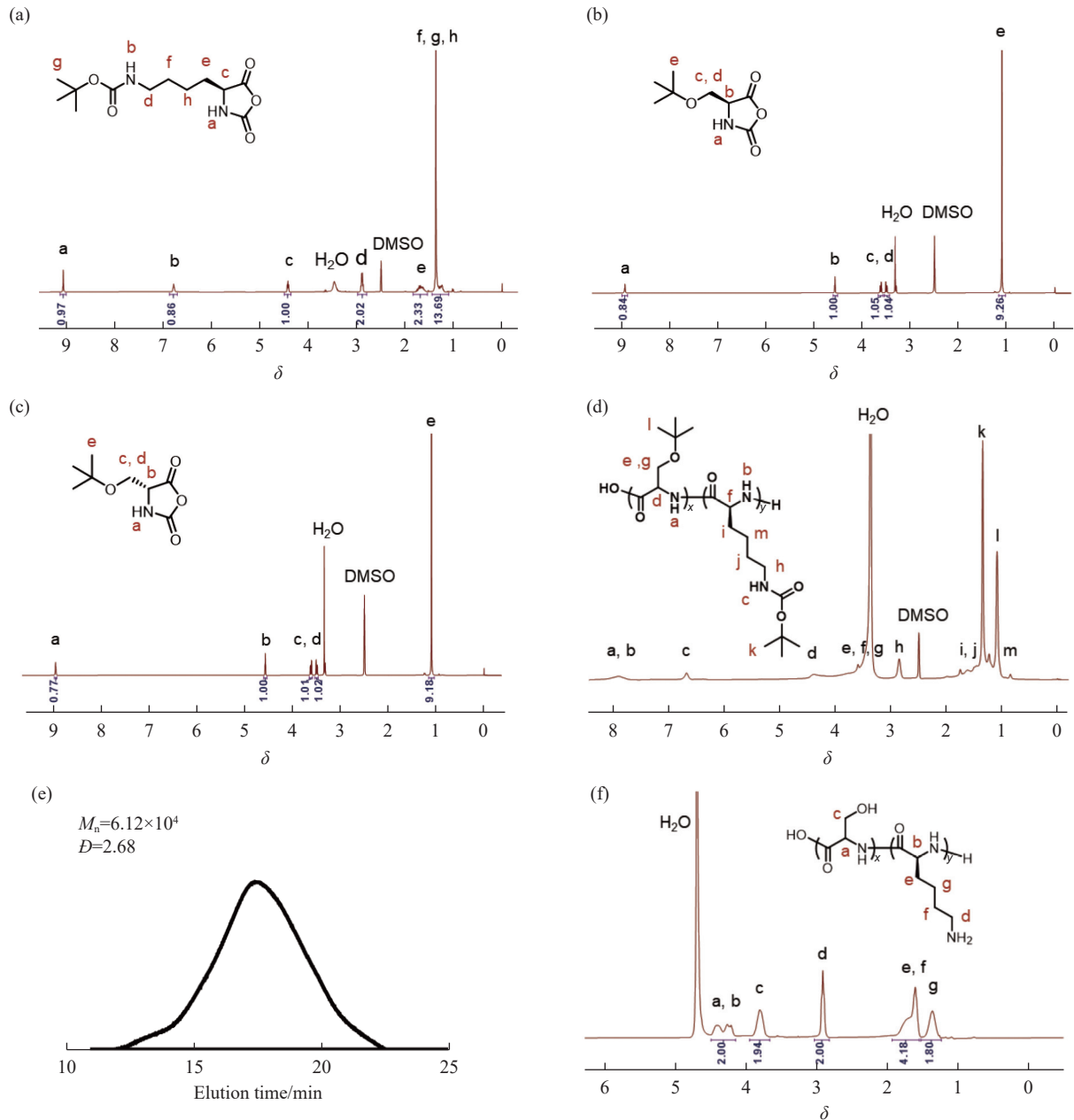


图 3 (a~d) NCA 单体和共聚多肽的¹H-NMR 谱图(400 MHz, DMSO-*d*₆): (a) Boc-*L*-Lys NCA, (b) *t*Bu-*L*-Ser NCA, (c) *t*Bu-*D*-Ser NCA 和 (d) Poly(*t*Bu-*D,L*-Ser)-*r*-poly(Boc-*L*-Lys); (e) Poly(*t*Bu-*D,L*-Ser)-*r*-poly(Boc-*L*-Lys) 的 GPC 曲线; (f) Poly(*D,L*-Ser)-*r*-poly(*L*-Lys) 的¹H-NMR 谱图(400 MHz, D₂O)

Fig. 3 (a~d) ¹H-NMR spectra of NCA monomers and copolypeptide (400 MHz, DMSO-*d*₆): (a) Boc-*L*-Lys NCA, (b) *t*Bu-*L*-Ser NCA, (c) *t*Bu-*D*-Ser NCA, and (d) Poly(*t*Bu-*D,L*-Ser)-*r*-poly(Boc-*L*-Lys); (e) GPC curve of Poly(*t*Bu-*D,L*-Ser)-*r*-poly(Boc-*L*-Lys); (f) ¹H-NMR spectrum of Poly(*D,L*-Ser)-*r*-poly(*L*-Lys) (400 MHz, D₂O)

各处理组中 LDH 释放量与阴性对照组无显著差异,且释放量均远低于阳性裂解组,仅为 2.4%、2.6% 和 1.9%,说明 NHS 与细胞表面氨基的反应并未显著影响细胞活性。为了验证细胞表面共价反应的发生,我们还对水凝胶样品经过溶胀和冻干后用红外进行了表征。如图 4(d)所示,在反应前,NHS-PEG-NHS 在 2888 cm⁻¹ 和 1109 cm⁻¹ 处分别为 PEG 主链上 -CH₂ 的伸缩振动峰和 C-O-C 的伸缩振动峰,1740 cm⁻¹ 处对应于 NHS 基团的 C=O 伸缩振动峰;共聚多肽的特征吸收峰则出现在 1650 cm⁻¹ (酰胺 I 带, C=O 伸缩振动)和 1540 cm⁻¹ (酰胺 II 带, N-H 弯曲振动)处。水凝胶形成后,聚合物主链上对应的 2888、1109、1650、1540 cm⁻¹ 各峰仍然保留,而 NHS 基团中与 1740 cm⁻¹ 对应的峰消失,表明胺基与 NHS 基团完全反应,成功构建水凝胶网络。

2.4 凝胶化时间的调控

凝胶化时间是评估水凝胶可注射性和操作窗口的重要参数。通过调节 NHS-PEG-NHS 和共聚多肽的质

量分数对凝胶形成时间进行系统研究。如图 4(e)所示, 针对非细胞交联水凝胶体系(NCCH), 当 NHS-PEG-NHS 的质量分数低于 10% 时, 体系无法形成稳定凝胶, 即使共聚多肽浓度升高亦无明显改善。当 NHS-PEG-NHS 的质量分数增大时, 体系可以凝胶化, 但是当共聚多肽质量分数较小(2%, 5%)时, 凝胶化时间过长; 而共

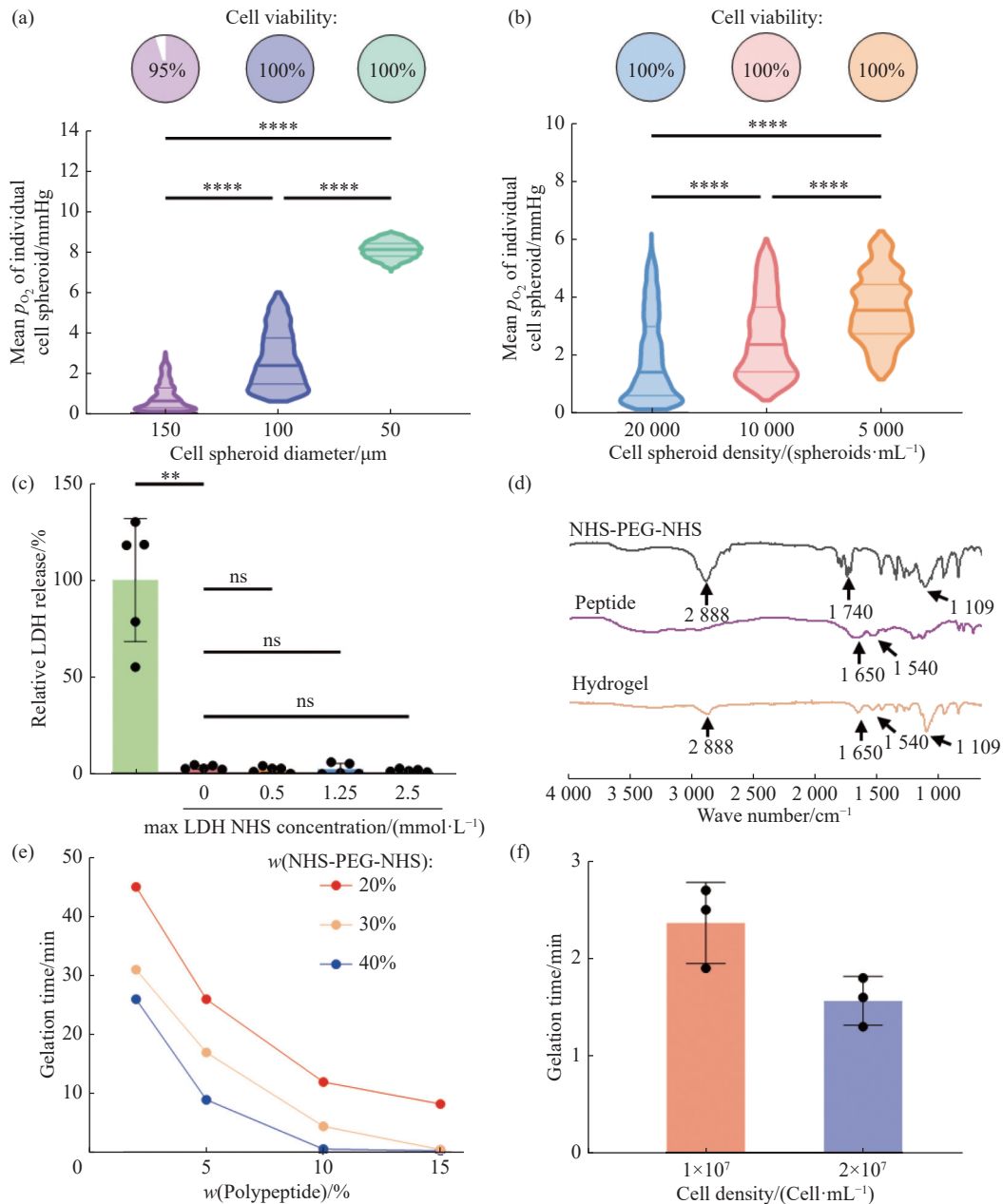


图 4 (a)细胞团直径(细胞团密度设为 10 000 团/mL)和(b)细胞团密度(细胞团直径设为 100 μm)对封装体系中每个细胞团的平均氧分压和细胞活性的影响(采用 Dunn 多重比较检验的非参数方差分析, **** $P < 0.0001$; 饼图展示各封装体系中活细胞的体积分数, 当细胞内 $p_{O_2} < 0.08 \text{ mmHg}$ 时视为发生坏死); (c)NHS 与细胞表面氨基的化学反应对细胞活性的影响(平均值 \pm 标准差, $n = 5$; ** $P = 0.0078$, ns: 无显著差异, 采用 Dunnett T3 多重比较检验的 Welch 方差分析); (d)NHS-PEG-NHS、多肽及其形成的水凝胶的 FT-IR 谱图; (e)具有不同质量分数的多肽和 NHS-PEG-NHS 的前体溶液的凝胶化时间; (f)不同细胞密度下的凝胶化时间(平均值 \pm 标准差, $n = 3$; 多肽和 NHS-PEG-NHS 的质量分数分别为 10% 和 30%)

Fig. 4 Effect of (a) cell spheroid diameter (cell seeding density set to 10,000 spheroids/mL) and (b) cell spheroid density (spheroid diameter set to 100 μm) on mean p_{O_2} of individual cell spheroid and cell viability within the encapsulation system hydrogels (**** $P < 0.0001$, nonparametric analysis of variance (ANOVA) with Dunn's multiple comparison test; Pie charts show the volume fraction of viable cells in each system; cells with $p_{O_2} < 0.08 \text{ mmHg}$ are considered necrotic); (c) Effect of the chemical reaction between NHS and cell-surface amines on cell viability (mean \pm s.d., $n = 5$; ** $P = 0.0078$, ns: no significant difference, Welch's ANOVA with Dunnett's T3 multiple comparison test); (d) FT-IR spectra of NHS-PEG-NHS, peptides and formed hydrogels; (e) Gelation time of precursor solutions with various mass fractions of polypeptide and NHS-PEG-NHS; (f) Gelation time at different cell densities (mean \pm s.d., $n = 3$; The mass fractions of peptide and NHS-PEG-NHS are 10% and 30%, respectively)

聚多肽质量分数较大($\geq 15\%$)时凝胶化时间又过快,不适用于可注射体系。当 NHS-PEG-NHS 质量分数为 30%, 共聚多肽质量分数为 10% 时,成胶时间约为 4 min, 适合原位注射应用。在此条件下加入细胞后,凝胶形成速率明显加快。如图 4(f) 所示,当细胞密度为 1×10^7 、 2×10^7 Cell/mL 时,体系的凝胶化时间分别为 2.2 min 和 1.6 min, 显示细胞在交联反应中不仅提供功能性氨基位点,还促进网络结构快速构建,所得水凝胶分别命名为 CCH-1 和 CCH-2。

2.5 水凝胶的力学性能

为系统评估细胞交联对水凝胶力学性能的增强作用,制备了如图 5(a) 所示的圆片状水凝胶样品(直径约 8 mm, 高约 4 mm, $n=5$) 进行压缩测试。如图 5(b, c) 所示,水凝胶 NCCH、CCH-1、CCH-2 均具有良好的压缩形变能力,压缩应变分别为 88%、86% 和 75%。然而,压缩模量随着细胞密度增加显著提升,CCH-2 的压缩模量为 NCCH 的 4.1 倍,显示出细胞交联点可有效增强凝胶网络刚性。进一步通过流变测试分析储能模量(G'),如图 5(d, e) 所示,CCH-2 的 G' 值显著高于 NCCH,提升幅度达 1.8 倍,说明细胞的参与有助于形成更致密、更

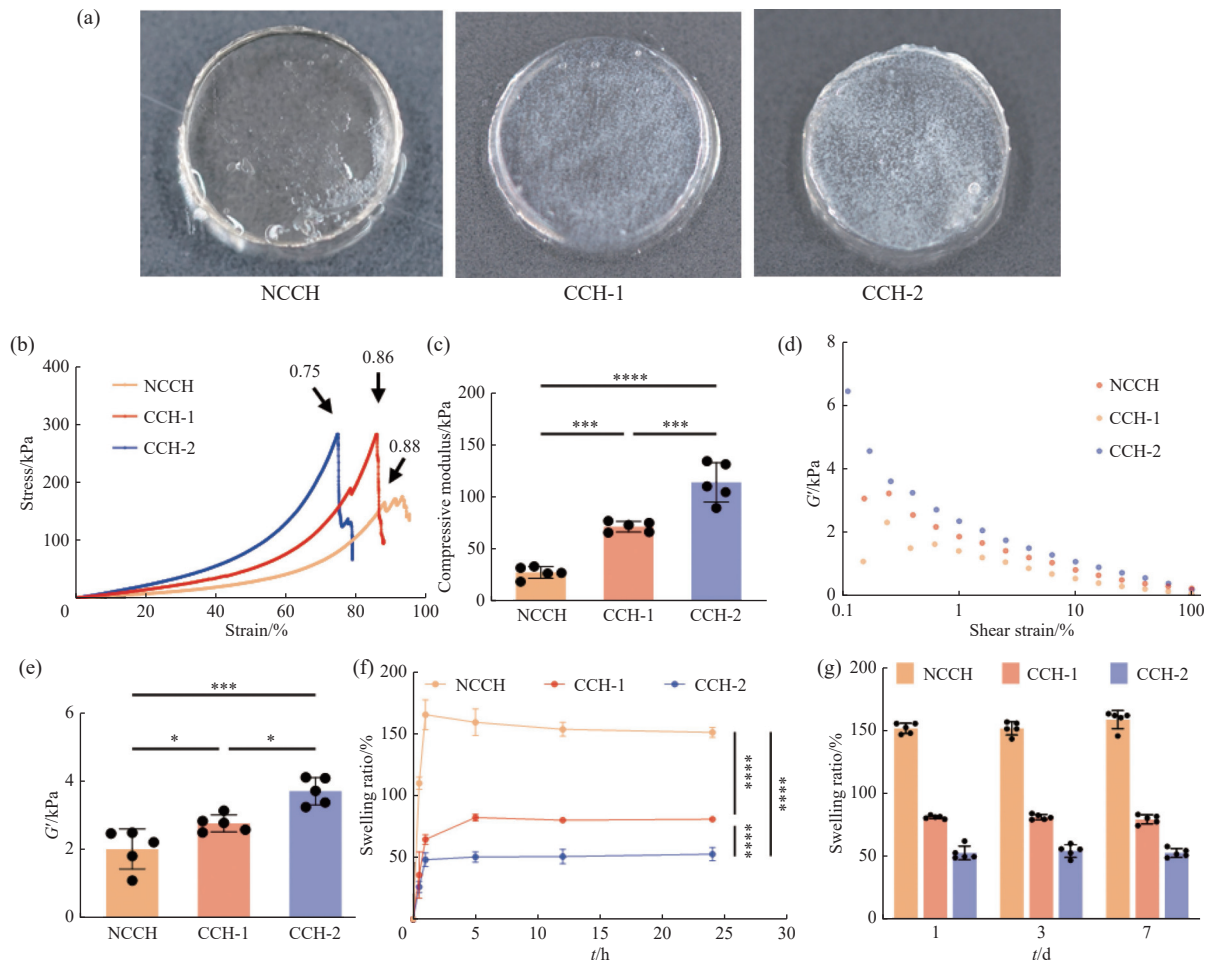


图 5 (a)水凝胶压缩测试样品实物图;(b)水凝胶在压缩测试中的应力-应变曲线;(c)水凝胶的压缩模量(平均值 \pm 标准差, $n=5$; $***P=0.0002$ (CCH-1 对 NCCH), $***P=0.0003$ (CCH-2 对 CCH-1), $****P<0.0001$ (CCH-2 对 NCCH);采用 Tukey 多重比较检验的单因素方差分析);(d)水凝胶的储能模量变化曲线;(e)水凝胶的储能模量对比(平均值 \pm 标准差, $n=5$; $*P=0.0436$ (CCH-1 对 NCCH), $*P=0.0129$ (CCH-2 对 CCH-1), $****P<0.0001$ (CCH-2 对 NCCH);采用 Tukey 多重比较检验的单因素方差分析);(f)水凝胶在 PBS 中 24 h 的溶胀率(平均值 \pm 标准差, $n=5$; $****P<0.0001$;采用 Tukey 多重比较检验的双因素方差分析);(g)水凝胶在 PBS 中 7 d 的溶胀率(平均值 \pm 标准差, $n=5$)

Fig. 5 (a) Photographs of hydrogels used for compression test; (b) Stress-strain curves of hydrogels in compression test; (c) Compression modulus of hydrogels (mean \pm s.d., $n=5$; $***P=0.0002$ (CCH-1 versus NCCH), $***P=0.0003$ (CCH-2 versus CCH-1), $****P<0.0001$ (CCH-2 versus NCCH), one-way ANOVA with Tukey's multiple comparisons test); (d) Change in storage modulus of hydrogels; (e) Storage modulus of hydrogels (mean \pm s.d., $n=5$; $*P=0.0436$ (CCH-1 versus NCCH), $*P=0.0129$ (CCH-2 versus CCH-1), $****P<0.0001$ (CCH-2 versus NCCH); one-way ANOVA with Tukey's multiple comparisons test); (f) Swelling ratio of hydrogels in PBS for 24 h (mean \pm s.d., $n=5$; $****P<0.0001$; two-way ANOVA with Tukey's multiple comparisons test); (g) Swelling ratio of hydrogels in PBS for 7 d (mean \pm s.d., $n=5$)

稳定的三维网络结构, 增强水凝胶的弹性储能能力。

2.6 水凝胶的溶胀行为

为评估水凝胶的体积稳定性, 分别对 NCCH、CCH-1 和 CCH-2 进行平衡溶胀和动态溶胀测试。在 37 °C PBS 中溶胀 24 h 后, NCCH 的溶胀率约为 150%, 并在 5 h 内趋于平衡(图 5(f))。CCH-1 和 CCH-2 的溶胀率分别为 80% 和 50%, 远低于 NCCH, 表明细胞交联有效限制了水凝胶体积膨胀。随后进行为期 7 d 的溶胀测试, 结果如图 5(g) 所示, 各样品在 24 h 后溶胀程度基本稳定, 7 d 内无显著变化, 进一步证实细胞交联结构具有良好的水稳定性和抗溶胀能力, 可适应体内复杂微环境。

2.7 生物相容性

对于用于细胞封装基质的可注射水凝胶, 生物相容性是首要考虑因素, 它涉及水凝胶与细胞、组织及体内环境的兼容性。以 MIN6 胰岛细胞团为模型, 将其封装于 CCH 凝胶中, 并在体外培养 7 d 后, 使用 Live&Dead 试剂盒对细胞活性进行表征, 结果如图 6(a) 所示。7 d 内几乎所有细胞团显示绿色荧光, 表明细胞活力高。此外, 细胞团培养 48 h 后的 LDH 检测结果(图 6(b))显示, CCH 凝胶中细胞所释放的 LDH 仅为阳性裂解对照组的 2.5%, 说明材料细胞毒性低, 具备良好的细胞相容性。

为进一步验证材料的免疫相容性, 分别评估其体外蛋白吸附与细胞黏附性能。以纤维蛋白原为模型蛋白, ELISA 检测结果(图 6(c))表明, 多肽水凝胶吸附量仅为 PEG 对照组的约 30%, 表现出明显的抗蛋白吸附能力。由图 6(d) 可以看出, 细胞在 PEG 水凝胶表面有轻微黏附现象, 而在多肽水凝胶表面几乎没有观察到细胞, 这表明前者具有优异的抗细胞黏附特性。

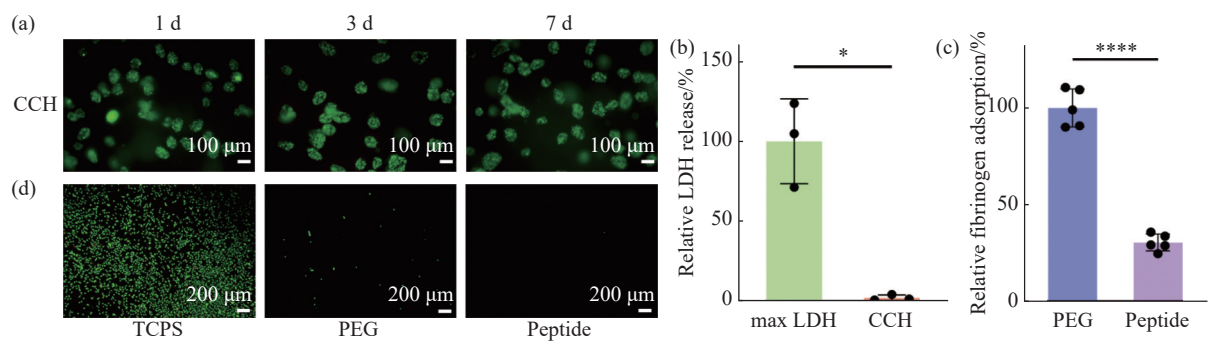


图 6 (a) CCH 中 MIN6 细胞团在 CCH 中的活/死染色荧光显微镜照片; (b) 48 h 后 CCH 的 LDH 释放率(平均值 \pm 标准差, $n = 3$; $*P = 0.0232$; 采用 Welch 校正的未配对 t 检验分析); (c) 多肽水凝胶和 PEG 水凝胶的体外蛋白吸附比较(平均值 \pm 标准差, $n = 5$; $****P < 0.0001$; 采用未配对 t 检验分析); (d) 多肽水凝胶和 PEG 水凝胶的体外细胞黏附

Fig. 6 (a) Fluorescence microscopy images of MIN6 cell clusters in cell crosslinked gels after 7 d of culture after live/dead staining; (b) LDH release rate of cell crosslinked gels after 48 h (mean \pm s.d., $n = 3$; $*P = 0.0232$; Welch's unpaired t-test); (c) *In vitro* protein adsorption of peptide hydrogels and PEG hydrogels (mean \pm s.d., $n = 5$; $****P < 0.0001$; unpaired t-test); (d) *In vitro* cell adhesion of peptide hydrogels and PEG hydrogels

为了探究水凝胶体内抗 FBR 的能力, 将多肽水凝胶和 PEG 水凝胶皮下注射到 C57 BL/6 小鼠体内, 并在植入 2 周后评估植入体周围组织的炎症反应和纤维囊形成。图 7(a) 中 H&E 染色显示, PEG 水凝胶周围有明显的炎症浸润, 而多肽水凝胶周围无明显炎症反应。图 7(b) 中 F4/80 染色也证实巨噬细胞在 PEG 凝胶周围聚集, 而在多肽凝胶周围密度显著降低。图 7(c) 中 Masson 三色染色进一步表明多肽水凝胶的胶原沉积显著低于 PEG 水凝胶。图 8 展示了促炎因子(CCR7、IL-6 和 IL-12)的免疫组化染色结果, 结果显示多肽水凝胶周围组织中上述炎症标志物表达水平远低于 PEG 水凝胶组, 进一步表明其对局部免疫微环境具有较强的调控能力。以上数据表明该多肽水凝胶具有良好的生物相容性, 适用于高效细胞递送和细胞治疗的载体材料。

3 结 论

(1) 通过引入 NHS-PEG-NHS 作为交联剂, 实现共聚多肽与细胞表面氨基之间的原位交联, 形成稳定的三维网络结构。细胞交联点类似于 SBS 弹性体中的物理交联域, 有效提升了水凝胶的力学强度, 增强了其在体内环境下的结构稳定性。

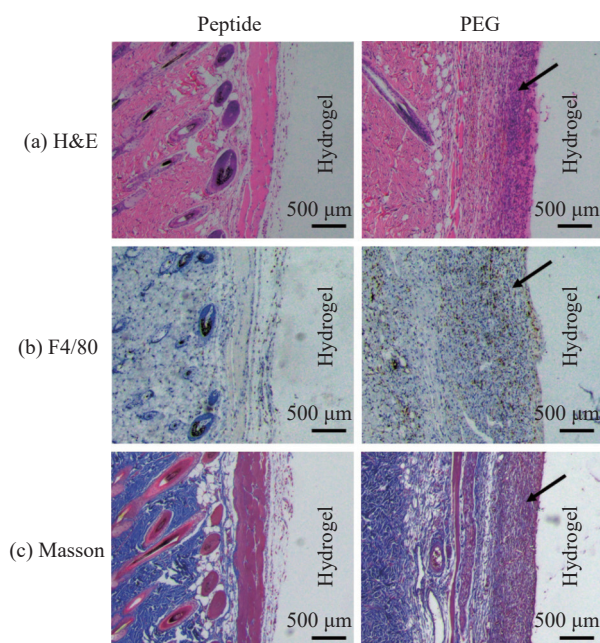


图7 小鼠皮下注射2周后水凝胶组织切片的染色图像: (a) H&E 染色(箭头指向炎症细胞); (b) F4/80 染色(棕色区域代表巨噬细胞); (c) Masson 三色染色(蓝色箭头部分表示胶原沉积)

Fig. 7 Histological staining of tissue sections after subcutaneous injection of hydrogels in mice for 2 weeks: (a) H&E staining (arrows indicate infiltrating inflammatory cells); (b) F4/80 immunostaining (brown regions indicate macrophage infiltration); (c) Masson's trichrome staining (blue regions indicate collagen deposition)

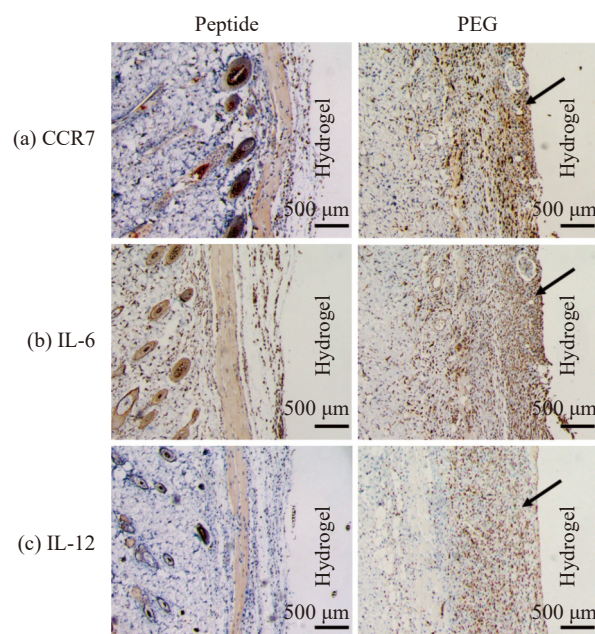


图8 小鼠皮下注射水凝胶2周后,植入部位周围组织中炎症标记物的免疫组织化学染色图: (a) CCR7 染色; (b) IL-6 染色; (c) IL-12 染色

Fig. 8 Immunohistochemical staining of inflammatory markers in tissues after subcutaneous injection of hydrogels in mice for 2 weeks: (a) CCR7 immunostaining; (b) IL-6 immunostaining; (c) IL-12 immunostaining

(2) 制备的水凝胶表现出优异的抗蛋白吸附和抗细胞黏附性能,可实现对胰岛细胞团的温和封装并维持高活性。

(3) 构建的细胞介导交联水凝可作为可注射的细胞封装基质,为糖尿病、肿瘤免疫治疗等细胞治疗策略提供良好的材料支撑,具有广阔的应用前景。

参考文献:

- [1] MAIA F R, OLIVEIRA J M, REIS R L. Handbook of the Extracellular Matrix: Biologically-Derived Materials [M]. [s.l.]: Springer Cham, 2024: 33-54.
- [2] LOU J, MOONEY D J. Chemical strategies to engineer hydrogels for cell culture [J]. *Nature Reviews Chemistry*, 2022, 6(10): 726-744.
- [3] XIE M, TIAN M Y, SUN Y R, SUN H, XU W G, WANG G L, DING J X. Bioactive hydrogels promote skin chronic wound healing through regulating cell behaviors [J]. *Materials Reports*, 2025, 39(5): 24120195-24120114.
- [4] ESKIZENGIN H, ERGUN C. Advancements and applications of 4D bioprinting in biomedical science [J]. *Chinese Journal of Polymer Science*, 2025, 43(1): 18-39.
- [5] 潘琦璠, 丁雨樵, 董原辰, 刘冬生. DNA 超分子水凝胶的构筑、功能化与生物医学应用 [J]. *高分子学报*, 2023, 54(7): 1012-1027.
PAN Y F, DING Y Q, DONG Y C, LIU D S. Construction, functionalization and biomedical application of DNA supramolecular hydrogels [J]. *Acta Polymerica Sinica*, 2023, 54(7): 1012-1027.
- [6] LI G, LIU S, CHEN Y, ZHAO J, XU H, WENG J, YU F, XIONG A, UDDUTTULA A, WANG D, LIU P, CHEN Y, ZENG H. An injectable liposome-anchored teriparatide incorporated gallic acid-grafted gelatin hydrogel for osteoarthritis treatment [J]. *Nature Communications*, 2023, 14(1): 3159.
- [7] ZHOU H, LIANG C, WEI Z, BAI Y, BHADURI S B, WEBSTER T J, BIAN L, YANG L. Injectable biomaterials for translational

- medicine [J]. *Materials Today*, 2019, 28: 81-97.
- [8] GRIFFIN M F, PARKER J B, TEVLIN R, LIANG N E, VALENCIA C, MORGAN A, KUHNERT M, DOWNER M, MEANY E L, GUO J L, HENN D, NAVARRO R S, SHEFREN K, NGUYEN D, GURTNER G C, HEILSHORN S C, CHAN C K F, JANUSZYK M, APPEL E A, MOMENI A, WAN D C, LONGAKER M T. Osteopontin attenuates the foreign-body response to silicone implants[J/OL]. *Nature Biomedical Engineering*, 2025-03-24. <https://doi.org/10.1038/s41551-025-01361-4>.
- [9] CAPUANI S, MALGIR G, CHUA C Y X, GRATTONI A. Advanced strategies to thwart foreign body response to implantable devices [J]. *Bioengineering & Translational Medicine*, 2022, 7(3): e10300.
- [10] ZHOU X, CAO W, CHEN Y, ZHU Z, CHEN Y, NI Y, LIU Z, JIA F, LU Z, YE Y, HAN H, YAO K, LIU W, WEI X, CHEN S, WANG Y, JI J, ZHANG P. Poly glutamic acid-lysine hydrogels with alternating sequence resist the foreign body response in rodents and non-human primates [J]. *Advanced Science*, 2024, 11(16): 2308077.
- [11] CHANDORKAR Y, RAVIKUMAR K, BASU B. The foreign body response demystified [J]. *ACS Biomater Sci Eng*, 2019, 5(1): 19-44.
- [12] ZHANG D, CHEN Q, ZHANG W, LIU H, WAN J, QIAN Y, LI B, TANG S, LIU Y, CHEN S, LIU R. Silk-inspired β -peptide materials resist fouling and the foreign-body response [J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2020, 59(24): 9586-9593.
- [13] ZHANG D, CHEN Q, BI Y, ZHANG H, CHEN M, WAN J, SHI C, ZHANG W, ZHANG J, QIAO Z, LI J, CHEN S, LIU R. Bio-inspired poly-*D,L*-serine materials resist the foreign-body response [J]. *Nature Communications*, 2021, 12(1): 5327.
- [14] QIN C, YANG G, WEI Q, XIN H, DING J, CHEN X. Multidimensional role of amino acid metabolism in immune regulation: From molecular mechanisms to therapeutic strategies [J]. *Chemical Research in Chinese Universities*, 2025, 41(1): 1-14.
- [15] JANA S. Biomaterial-Based Hydrogels: Therapeutics Carrier and Tissue Regeneration [M]. Singapore: Springer Nature Singapore, 2024: 285-311.
- [16] LI S, YU J, ZHANG M, MA Z, CHEN N, LI X, BAN J, XIE J, CHEN Z, MA J, TIAN C, QIN Y, WANG J, GAO W, LONG L, ZHAO J, HOU X, YUAN X. An intermediate unit-mediated, continuous structural inheritance strategy for the dilemma between injectability and robustness of hydrogels [J]. *Advanced Functional Materials*, 2022, 32(14): 2110617.
- [17] 蔡国龙, 赵伟焜, 祝天浩, 姚响, 张耀鹏. 丝素蛋白水凝胶中的蛋白构象转变速率对其表面黏附细胞增殖的影响 [J]. *功能高分子学报*, 2024, 37(4): 312-321.
- CAI G L, ZHAO W K, ZHU T H, YAO X, ZHANG Y P. Effect of protein conformational transition rate in silk fibroin hydrogel on proliferation of cells adhering to its surface [J]. *Journal of Functional Polymers*, 2024, 37(4): 312-321.
- [18] XING R, LIU K, JIAO T, ZHANG N, MA K, ZHANG R, ZOU Q, MA G, YAN X. An injectable self-assembling collagen-gold hybrid hydrogel for combinatorial antitumor photothermal/photodynamic therapy [J]. *Advanced Materials*, 2016, 28(19): 3669-3676.
- [19] MCKEEN L W. The Effect of Long Term Thermal Exposure on Plastics and Elastomers [M]. Oxford: William Andrew Publishing, 2014: 73-84.
- [20] ERNST A U, WANG L H, WORLAND S C, MARFIL-GARZA B A, WANG X, LIU W, CHIU A, KIN T, O'GORMAN D, STEINSCHNEIDER S, DATTA A K, PAPAS K K, SHAPIRO J A M, MA M. A predictive computational platform for optimizing the design of bioartificial pancreas devices [J]. *Nature Communications*, 2022, 13(1): 6031.
- [21] BUCHWALD P. FEM-based oxygen consumption and cell viability models for avascular pancreatic islets [J]. *Theor Biol Med Model*, 2009, 6: 5.
- [22] CORONEL M M, LIANG J P, LI Y, STABLER C L. Oxygen generating biomaterial improves the function and efficacy of beta cells within a macroencapsulation device [J]. *Biomaterials*, 2019, 210: 1-11.
- [23] WANG L H, MARFIL-GARZA B A, ERNST A U, PAWLICK R L, PEPPER A R, OKADA K, EPEL B, VISWAKARMA N, KOTECHA M, FLANDERS J A, DATTA A K, GAO H J, YOU Y Z, MA M, SHAPIRO A M J. Inflammation-induced subcutaneous neovascularization for the long-term survival of encapsulated islets without immunosuppression [J]. *Nature Biomedical Engineering*, 2024, 8(10): 1266-1284.
- [24] WU Y, ZHANG D, MA P, ZHOU R, HUA L, LIU R. Lithium hexamethyldisilazide initiated superfast ring opening polymerization of alpha-amino acid *N*-carboxyanhydrides [J]. *Nature Communications*, 2018, 9(1): 5297.
- [25] JOHNSON A S, FISHER R J, WEIR G C, COLTON C K. Oxygen consumption and diffusion in assemblages of respiring spheres: Performance enhancement of a bioartificial pancreas [J]. *Chemical Engineering Science*, 2009, 64(22): 4470-4487.

(责任编辑: 刘亚萍)