

新型 TiO₂ 纳米管透析膜与传统透析膜对细胞生长状态的影响

朱文^{1,2}, 李继伟^{1,2}, 刘剑峰³, 谭聪¹, 崇保和¹, 杨学兵¹

1. 华中科技大学材料成形与模具技术国家重点实验室, 武汉 430074
2. 深圳信息功能陶瓷重点实验室, 广东深圳 518057
3. 华中科技大学生命科学与技术学院, 武汉 430074

摘要 研究采用阳极氧化法制备新型高强度的 TiO₂ 纳米管阵列薄膜, 通过对纳米管底部进行腐蚀获得两端通透的 TiO₂ 纳米管阵列薄膜。在纳米管阵列薄膜表面和高分子透析膜表面种植 HK-2 细胞和 HUVEC 细胞, 成功制备具有生理功能的生物膜材料。采用 MTT 方法对比研究了 TiO₂ 纳米管阵列薄膜、聚醚砜(PES)、混合纤维素以及再生纤维素 4 种薄膜材料黏附细胞的活性; 利用荧光显微镜观察 4 种材料对两种细胞黏附的影响; 同时使用扫描电镜观察细胞在 4 种薄膜材料上的生长形态。结果表明, TiO₂ 纳米管阵列薄膜最有利于细胞的黏附及增殖, 且细胞活性最高, PES 薄膜的效果次之, 再生纤维素薄膜最不适合细胞的增殖及黏附; 荧光显微镜观察证实 TiO₂ 纳米管阵列薄膜相比高分子薄膜更能促进细胞的黏附及生长, 证实所制备的 TiO₂ 纳米管阵列薄膜能够很好地与两种细胞相容, 克服了传统透析材料的不足, 改善了细胞与材料的黏附, 是用于生物人工肾研究较为理想的候选材料。

关键词 TiO₂ 纳米管阵列; 高分子透析膜; 人肾近曲小管上皮细胞; 血管内皮细胞; 细胞活性

中图分类号 R318.08

文献标志码 A

doi 10.3981/j.issn.1000-7857.2013.18.001

Effect of Novel TiO₂ Nanotube Dialysis and Traditional Dialysis Films on Cells Growth State and Their Comparison

ZHU Wen^{1,2}, LI Jiwei^{1,2}, LIU Jianfeng³, TAN Cong¹, CHONG Baohe¹, YANG Xuebing¹

1. State Key Laboratory of Material Processing and Die & Mould Technology, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430074, China
2. State Key Laboratory of Functional Ceramics, Shenzhen 518057, Guangdong Province, China
3. School of Life Science and Technology, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430074, China

Abstract Novel high intensity TiO₂ nanotube array film was fabricated via electrochemical anodization, and then open-ended TiO₂ nanotubes array membrane was obtained by HF gas etching the bottom of nanotubes. HK-2 cells and HUVEC cells were cultivated on the open-ended TiO₂ nanotube array surface and polymer dialysis film surface, and biomembrane materials which have physiological function are successfully achieved. Cell viability of TiO₂ nanotube array, Polyether Sulfone (PES), mixed cellulose ester, and regenerated cellulose was investigated by using MTT method. Cell morphology on these membranes was examined by using fluorescence microscope and Field Emission Scanning Electron Microscope (FESEM). The results indicate that TiO₂ nanotube array film is of the most benefit to cell adhesion and cell proliferation, and the cell viability is the highest, and the second place belongs to the PES membrane, the worst case is regenerated cellulose that is unsuitable for cell proliferation and cell adhesion. Fluorescence microscope shows that TiO₂ nanotube array membrane could promote the cell adhesion and cell proliferation better than polymeric membrane does. It demonstrates that TiO₂ nanotube array film has excellent biocompatibility, overcoming the deficiency of traditional dialysis materials, improving the cell adhesive; and the film is the ideal candidate materials for biological dialysis.

Keywords TiO₂ nanotube array; polymer dialysis film; HK-2; HUVEC; cell viability

收稿日期: 2013-01-18; 修回日期: 2013-03-15

基金项目: 国家自然科学基金项目(21173090, 30970717); 深圳市战略性新兴产业发展专项资金项目(JCYJ20120618100557119)

作者简介: 朱文, 副教授, 研究方向为生物材料、光电材料及锂电材料, 电子信箱: wennar@mail.hust.edu.cn

0 引言

近年来,肾脏疾病的发病率及死亡率在全球呈现出快速增长的趋势,肾脏移植因供体器官太少而受到极大限制^[1-2]。传统的血液透析依然是目前最有效的维持性替代治疗方式,但这种治疗方法费用昂贵且极不方便,患者需要定期去医院接受治疗,冗长痛苦的过程使患者不堪重负,严重影响了患者的正常生活,发病率和死亡率依旧很高^[3]。此外,血液透析仅有肾小球的过滤功能,肾小管的内分泌、重吸收等功能不能实现,导致透析并发症大量出现。资料报道这些并发症已成为肾衰患者的主要死因^[4]。

美国 Humes 等^[5-7]于 1996 年首次使用犬肾细胞(Madin Darby Canine Kidney cell line, MDCK)构建生物人工肾小管辅助装置(bioartificial Renal tubule Assist Device, RAD),初步试验证明其可以实现部分肾小管功能。之后,通过大量的研究和临床试验^[8,9],科研工作者初步确定了 RAD 的构建方法。国内学者采用细胞混合种植的方法构建生物人工肾小管,初步研究表明转染人 *Nanog* 基因的血管内皮细胞(HUVEC)与肾小管上皮细胞(HKC)能在聚酰胺纤维上较好地黏附生长,并检测到混合种植的两种细胞均能发挥各自的生理功能,从而证明利用混合种植细胞的方法构建复合功能的生物人工肾单位具有可行性^[10],这为生物人工肾的可移植化、功能复合化提供了新的研究思路。

但传统透析膜是由高分子材料通过挤出或溶液压延技术生产^[11],导致其孔径大小分布不均,孔密度较低($<10^9/\text{cm}^2$),致使这些透析膜的流通量下降,溶质渗透性较差并且不能通过 β_2 微球蛋白等大分子,导致蛋白质在薄膜上吸附而引起淤塞^[12,13]。与多分散孔径材料相比,孔径分布均匀的薄膜能够减小液体流动的阻力,并且对溶质分子具有选择透过性。理想情况下,适合移植条件的人工肾是以毛细血管压作为驱动力,要满足此要求,透析膜的孔密度应大于 $5 \times 10^{10}/\text{cm}^2$ ^[14]。

随着科技的发展,纳米技术在材料上的应用也越来越多。 TiO_2 纳米管阵列薄膜作为一种新型材料,有望克服传统透析膜的缺点。 TiO_2 纳米管阵列薄膜具有良好的生物相容性,均匀的孔径分布,是理想的生物医用材料^[15,16]。 TiO_2 纳米管阵列薄膜的管密度可以达到 $10^{10}/\text{cm}^2$ 以上,并且通过调节试验参数可以得到不同管径和厚度的薄膜^[17-19]。将纳米管底部打通能够获得两端通透的 TiO_2 纳米管阵列薄膜^[20]。近年来,科研工作者们进行了大量的科学试验,证明 TiO_2 纳米管阵列薄膜在生物医用方面具有广阔的前景。通过对血清蛋白的吸附、血小板的黏附和活化以及全血凝血动力学研究,证实 TiO_2 纳米管具有很好的生物相容性;Popat 等^[21]研究了 TiO_2 纳米管阵列薄膜对酚红的通透性能,结果表明 TiO_2 纳米管用于生物透析是可行性的;在细胞工程方面,文献报道 TiO_2 纳米管阵列薄膜可以作为骨细胞和干细胞支架平台,以应用于血管移植工程; TiO_2 纳米管的表面特性可以激发细胞活化和细胞因子的分泌,改善成骨细胞的黏附和增殖^[22,23]。本

课题组在前期工作中进行了大量的试验,证明人肾近曲小管上皮细胞和血管内皮细胞能够在 TiO_2 纳米管阵列薄膜上较好地增殖、生长,并且两种细胞能够很好地发挥各自的生理功能,成功制备了具有肾小管功能的生物透析膜^[24-26]。但与传统高分子透析膜对比,两种细胞在 TiO_2 纳米管阵列薄膜的生长状态有何不同,以及在动态剪切力作用下细胞在不同透析膜上的增殖活性相比于静态条件下有何差异等关键科学问题目前还没有相关的系统研究报道。基于此,本文将细胞分别培养在 TiO_2 纳米管阵列薄膜与商用高分子透析膜表面,通过对比研究细胞的活性及形貌,探讨在特定动态流液条件下细胞增殖活性状态,为 TiO_2 纳米管在生物透析方面应用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与仪器

0.5mm 厚纯钛片(99.9%,购于宝鸡九鼎钛制品厂);乙二醇、氟化铵、丙酮、乙醇试剂(国药集团化学试剂有限公司,分析纯);HK-2(人肾近曲小管上皮细胞)细胞株、HUVEC 细胞株(中国典型培养物保藏中心,CCTCC);DMEM 高糖培养基(Gibco);胎牛血清(杭州四季青生物工程材料有限公司);胰酶(Sigma); TiO_2 纳米管阵列薄膜(厚度 $150\mu\text{m}$ 左右,实验室自制);聚醚砜(PES)薄膜、混合纤维素薄膜、再生纤维素薄膜(BASF)。

倒置荧光显微镜(Olympus);低速离心机(中佳 SC-3610);原子吸收分光光度计(Perkin Elmer);场发射扫描电子显微镜(FESEM, Sirion 200)。

1.2 试验方法

1.2.1 TiO_2 纳米管通透膜的制备

高纯度钛片(长 $80\text{mm} \times$ 宽 11mm)依次经 $600^\#$ 、 $800^\#$ 、 $1000^\#$ 、 $1200^\#$ 和金相砂纸抛光,除去表面机械划痕,再依次用丙酮、蒸馏水及无水乙醇超声清洗 10min ,最后用 N_2 吹干备用。预处理的钛箔作为阳极,铂电极作为阴极,两电极间距 $20\sim 30\text{mm}$,电解液为 100mL 乙二醇+2%体积比的蒸馏水+0.36%(质量分数) NH_4F ,在直流恒压 56V 、室温下阳极氧化 30h 。

将反应后的钛片取下,用乙醇超声清洗 80s ,待乙醇挥发后将 TiO_2 纳米管阵列薄膜剥落。剥落的薄膜放在盛有蒸馏水的烧杯中,然后将烧杯放在小功率超声器中继续超声 5min ,超声后将薄膜浸泡在乙醇中,防止其卷曲破碎。为获得两端通透的 TiO_2 纳米管阵列薄膜,将 TiO_2 纳米管阵列薄膜的底部用40%(体积分数)氟化氢(HF)挥发的蒸汽腐蚀 15min ,将腐蚀过的薄膜放在蒸馏水中漂洗 10min ,漂洗后再用乙醇脱水,之后放入六甲基二硅胺烷中浸泡 20min ,以防止 TiO_2 纳米管阵列薄膜卷曲。浸泡结束后取出在空气中晾干。

1.2.2 细胞培养及传代

将贴壁生长细胞的培养皿置于倒置相差显微镜下观察细胞生长情况,当细胞覆盖培养皿底部90%时进行传代。用

移液枪移去旧培养液,用磷酸盐缓冲液(Phosphate Buffer Solution,PBS)清洗培养皿1~2次,加2mL消化液TE(0.25% Trypsin+0.02% EDTA)于培养皿中,置于37℃、5%CO₂培养箱中消化5min,取出后轻轻摇动培养皿10s,倒置显微镜下观察,如果大部分细胞收缩变圆,立即加入3mL细胞培养基(Dulbecco's Modified Eagle Medium,DMEM)终止消化。将细胞悬液吸入15mL的离心管中,1000r/min离心5min沉淀细胞后,弃上清液,加入2~3mL DMEM培养液,按1:10的比例接种到新的培养皿中。细胞每2~3d更换一次培养液。

1.2.3 细胞在薄膜材料上的黏附培养

将准备好的PES、混和纤维素、再生纤维素、TiO₂纳米管阵列薄膜(4种薄膜的尺寸均为11mm×8mm),材料放入24孔板中,每孔加入1mL相同密度(10⁵/cm²)的细胞悬液,然后将孔板置于37℃、5%CO₂培养箱中培养,2d更换一次DMEM培养液。培养时间根据细胞活性及细胞形貌等试验内容确定。

1.2.4 细胞活性检测

细胞活性检测采用商业试剂3-(4,5-二甲基噻唑-2)-2,5-二苯基四氮唑溴盐(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide,MTT)。MTT方法简单、精确并且重复性好。细胞在薄膜材料上生长3d后,使用移液枪将旧培养液移去,用PBS洗涤薄膜2次,然后将薄膜材料移入新的培养孔,每孔加入1mL DMEM培养液,再加入100μL MTT(5mg/mL, Sigma),37℃培养箱继续培养4h。待形成结晶后,小心吸弃上清,向每孔中加入1mL二甲基亚砷(Dimethyl sulfoxide, DMSO),37℃培养箱中培养20min使结晶全部溶解后用酶标仪检测液体在490nm处的吸光度。

细胞在动态剪切力条件下的活性检测在本课题组自行构建的一个动态透析系统中进行。其中最主要的透析装置如图1所示。将准备好的培养细胞的薄膜样品固定于一铝箔上,并用橡胶垫压实放于上下封闭腔室之间。种植细胞面朝上,然后上下分别通代血浆,上下代血浆通入方向相反,流速2.5mL/min。37℃下动态2h后取出样品,继续静置培养至3、5、7d后进行细胞活性检测。

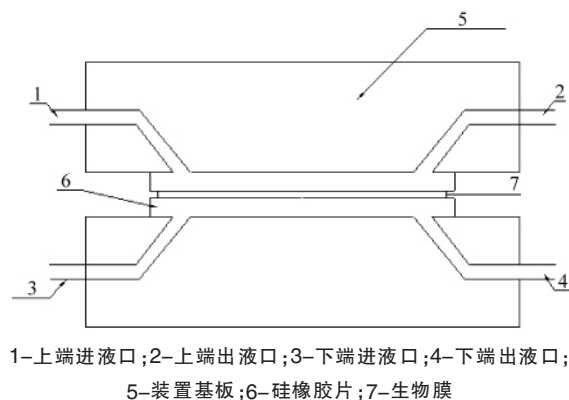


图1 透析装置示意图

Fig. 1 Scheme of dialysis device

1.2.5 细胞形貌观察

细胞在薄膜材料上生长3d后,采用移液枪将旧培养液移去,用PBS洗涤薄膜2次。然后加入1mL细胞核染色剂Hoechst33342(beyotime),37℃培养箱中染色30~45min。最后用PBS洗涤薄膜2次,荧光显微镜下观察细胞核的形貌。

细胞在薄膜材料上培养3d后移去培养基,然后用PBS清洗薄膜2次,加入适量的2.5%戊二醛于4℃下固定2h。之后用PBS洗2次,依次采用35%、50%、70%、95%和100%的乙醇水溶液于4℃下进行脱水,每次10min。最后在六甲基二硅胺烷中浸泡10min后取出于空气中干燥。采用场发射扫描电子显微镜观察细胞的形貌。

2 试验结果与分析

2.1 TiO₂ 纳米管阵列的形貌特性

图2是TiO₂纳米管阵列薄膜与PES薄膜的场发射扫描电子显微镜(FE-SEM)图片。其中图2(a)为纳米管阵列薄膜顶部形貌。如图所示,纳米管排布规整,管径均匀且表面平整光滑,其纳米管内径约在100nm。图2(b)为TiO₂纳米管阵列薄膜的底部图,薄膜底部为排列紧密的规则六边形封口,六边形封口形成一层致密的阻挡层,阻挡层上部为均匀分布、垂直于基体的TiO₂纳米管阵列。图2(c)为HF气体腐蚀纳米管底部后的形貌图,经HF气体腐蚀后,纳米管底端被腐蚀通透,底部基本完全打开,获得两端通透的TiO₂纳米管阵列薄膜。图2(d)为PES薄膜的表面形貌。由图可看出,其孔径大小分布极不均匀,孔密度也较低。与其相比,TiO₂纳米管的孔径分布十分均匀,孔密度十分高,理论上完全符合透析膜的要求。

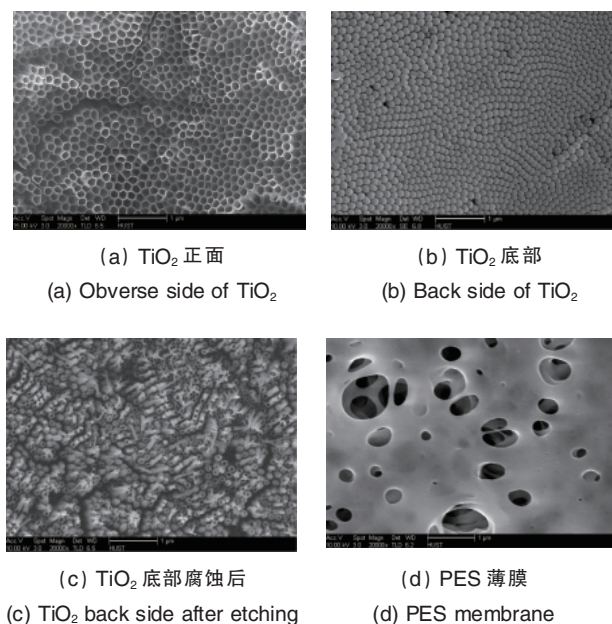


图2 TiO₂ 纳米管阵列薄膜与PES薄膜的场发射扫描电子显微镜照片

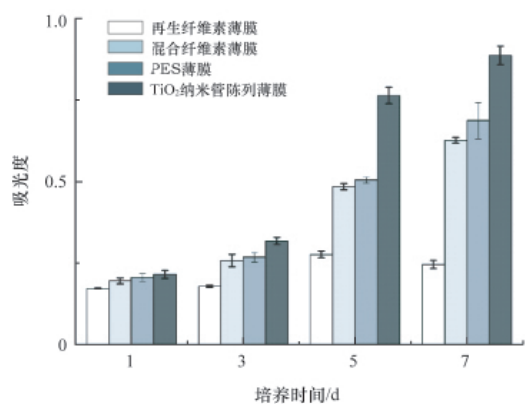
Fig. 2 FE-SEM images of TiO₂ nanotubes array membrane and PES membrane

2.2 细胞在薄膜材料上的增殖活性

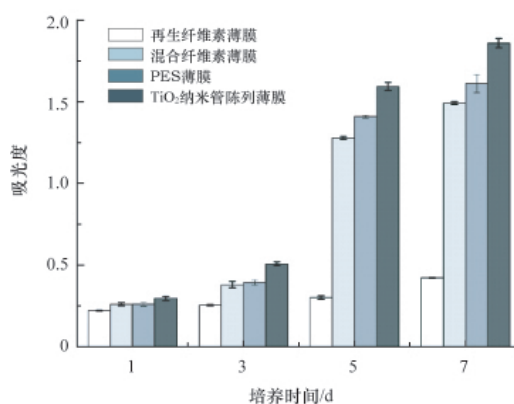
为对比细胞在不同薄膜材料上的增殖活性,本研究对比考查了静止状态和动态剪切力条件下的细胞活性情况。图 3 为 4 种不同薄膜材料上细胞 MTT 活性检测结果。

图 3(a)为 HUVEC 细胞在 4 种薄膜材料上静态条件下的吸光度值,由图可知细胞在 TiO₂ 纳米管阵列薄膜上的吸光度值最大,即黏附细胞的数量最多、活性最高;PES 与混合纤维素薄膜的吸光度基本相等,但次于 TiO₂ 纳米管阵列薄膜,表明细胞在 PES 与混合纤维素薄膜上的活性不如 TiO₂ 纳米管上的好,黏附活细胞数量较少,与细胞的相容性较差;再生纤维素薄膜上的吸光度值最小,表明细胞活性很低,该薄膜材料不适合细胞的生长。

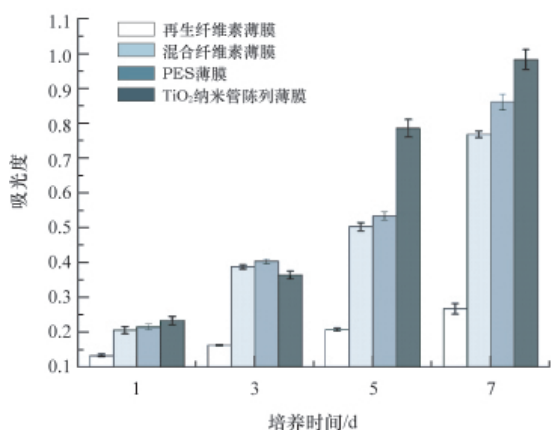
图 3(b)为 HUVEC 细胞在动态剪切力下细胞的活性。可以看出,细胞在 4 种薄膜材料上的活性趋势与在静态条件下的基本一致,但细胞活性有显著提高。说明在动态剪切环境下,细胞能够更好地增殖、黏附生长,符合生物人工肾的要求。图 3(c)和图 3(d)是 HK-2 细胞在静、动态下细胞的活性。由图可看出, HK-2 细胞在 4 种薄膜材料上的活性与 HUVEC 细胞的趋势大致相同,也是在 TiO₂ 纳米管阵列薄膜上的活性最好,再生纤维素薄膜最差,动态条件下活性有较大提高。细胞在 TiO₂ 纳米管阵列薄膜上的吸光度值均随种植时间的延长而增加,说明细胞在薄膜材料上随着培养时间的延长,其活性也增加,但之后就会保持平衡,而不是无限制的增加。



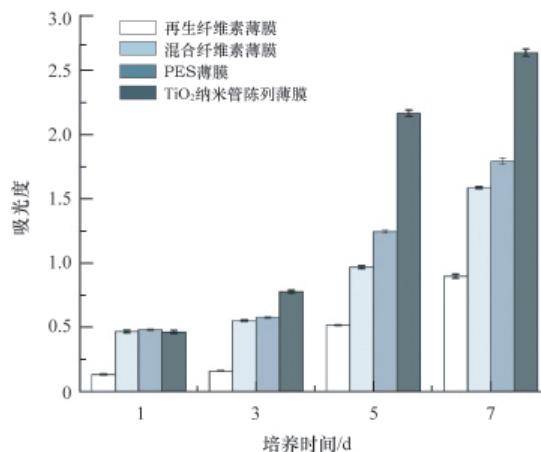
(a) HUVEC 静态
(a) HUVEC static



(b) HUVEC 动态
(b) HUVEC dynamic



(c) HK-2 静态
(c) HK-2 static



(d) HK-2 动态
(d) HK-2 dynamic

图 3 细胞黏附在 4 种薄膜材料上的增殖活性

Fig. 3 Proliferation viability with cell adhering on the surfaces of four different materials

2.3 细胞在薄膜材料表面的形态

2.3.1 荧光照片

图 4 为细胞经 Hoechst33342 染色后用荧光显微镜观察到的不同材料上细胞的黏附状况。其中图 4(a)~(d) 为 HUVEC 细胞在 4 种薄膜材料上的生长状况照片,图 4(e)~

(h) 为 HK-2 细胞在 4 种薄膜材料上的生长状况照片。对比发现两种细胞均为在 TiO₂ 纳米管阵列薄膜表面的生长状态最佳(图 4(d)和(h)),细胞核正常且胞质清晰,细胞形态、大小一致,铺展均匀,细胞黏附情况最佳,黏附细胞数最多,细胞形态大小一致且均匀铺展,细胞核圆润且胞质清晰。

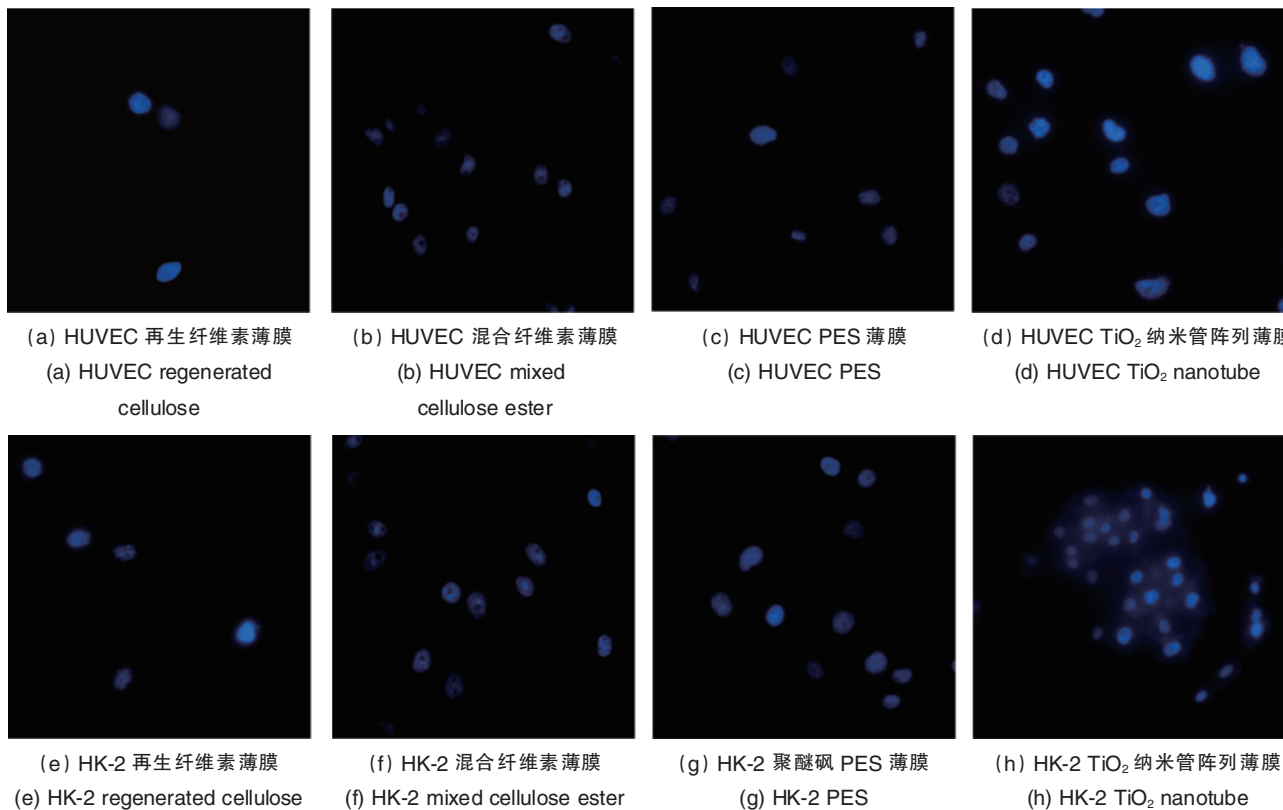


图 4 细胞在 4 种不同薄膜材料上的荧光显微照片(400x)

Fig. 4 Fluorescence image of cells adhesion on four different materials surface (400x)

2.3.2 FESEM 照片

采用 FESEM 观察 HK-2 细胞在 TiO₂ 纳米管阵列薄膜和 PES 薄膜上的形貌特征。图 5(a) 为 HK-2 在 TiO₂ 纳米管阵列薄膜上培养 3d 的形貌图,图 5(b) 为 HK-2 在 PES 薄膜上培养 3d 的形貌图。结果显示,在 TiO₂ 纳米管阵列薄膜上,细胞基本长成片状,表面黏附的细胞出现明显的丝状伪足,丝状伪足不断向两端延伸,形成长条状;可见明显的细胞质基

质成分,并且分泌的细胞质基质基本覆盖薄膜材料表面,表明细胞与薄膜材料能够良好地黏附生长。相对 TiO₂ 纳米管阵列薄膜而言,在 PES 薄膜上种植的植物生长形态有些变化,虽细胞基本已铺展为平板状,但没有明显的丝状伪足,细胞质基质的分泌量也较少,表明在 PES 薄膜上细胞的活性相对较低,这与 MTT 活性检测结果一致,同时也表明细胞在 TiO₂ 纳米管阵列薄膜上的生长状况优于高分子聚合物膜。

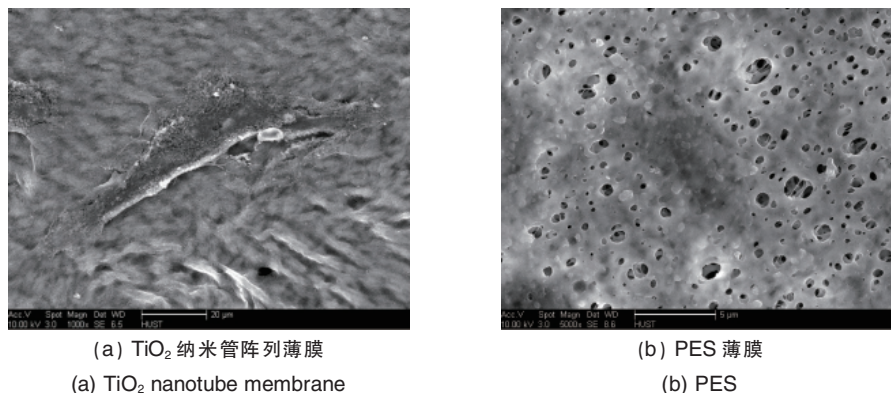


图 5 HK-2 细胞在 TiO₂ 纳米管阵列薄膜和 PES 薄膜上的 FESEM 照片

Fig. 5 FESEM image of HK-2 cells adhesion on TiO₂ nanotube array and PES membranes

3 讨论

MTT 溶解于平衡盐溶液中形成微黄色的溶液。活细胞线粒体中的琥珀酸脱氢酶与 MTT 反应生成蓝紫色结晶甲臞 (Formazan), 而死细胞无此功能。蓝紫色结晶甲臞溶于二甲基亚砷中, 用酶标仪在 490nm 波长处测定其光吸收值, 吸光值与活细胞数量成正比, 因此可用吸光值表示细胞的活性大小。

在动态剪切力作用下细胞活性增加的现象应与动态液流对细胞生长形态的影响, 以及透析膜材料与细胞之间的相互作用特性有关。Sato^[27]已报道, 在机械力下, 如剪切力或者液体静压力, 细胞会伸长。细长形状细胞具有较高的迁移速率, 能够增加细胞的增殖和分泌细胞质基质, 进而增加细胞活性^[28]。在透析环境下, 细胞同时受剪切力和液体静压力影响, 细胞具备变成细长形状的前提条件, 但动态条件下细胞活性增加还与透析膜材料—细胞之间的相互作用特性相关。

图 3(b) 显示细胞在 TiO₂ 纳米管阵列薄膜上的活性最好, 说明 TiO₂ 纳米管材料特性以及均匀规整的孔结构有利于细胞的迁移和增殖生长。由图 3 可以得出, 两种细胞在 TiO₂ 纳米管阵列薄膜上的吸光度值均比其他材料的大, 表明 TiO₂ 纳米管阵列薄膜更有利于细胞的黏附及增殖; 同时各实验组的吸光度值均随种植时间的延长而增加, 说明细胞的活性越来越高。TiO₂ 纳米管材料特性以及均匀规整的孔结构有利于细胞的迁移, 使细胞具有较高的迁移速率, 进而增加细胞质基质分泌, 促进细胞活性增加。

图 4 显示 PES 薄膜材料表面细胞黏附也较多, 铺展较为均匀, 但与 TiO₂ 纳米管阵列薄膜相比仍不理想; 混合纤维素薄膜材料表面尽管细胞黏附较多, 但铺展不均匀, 细胞核有一些空洞, 染色质减少, 核片段化, 显示有凋亡的迹象; 再生纤维素薄膜材料表面细胞黏附数量非常少, 表明该薄膜材料表面的黏附性能较差, 大部分细胞不能在其上生长。

因此, 可以得出 TiO₂ 纳米管阵列薄膜与两种细胞的相容性最好, 能够很好地促进细胞的生长, 是做生物人工肾比较理想的候选材料。

4 结论

采用阳极氧化法制备的 TiO₂ 纳米管阵列薄膜管径均匀, 纳米管阵列薄膜厚度 150μm 左右, 纳米管形貌参数可控。采用挥发的 HF 气体对 TiO₂ 纳米管阵列薄膜底部进行腐蚀, 可以得到两端通透的 TiO₂ 纳米管阵列薄膜, 以便用于生物透析。

MTT 实验结果表明, TiO₂ 纳米管阵列薄膜有利于细胞的黏附及增殖, 其他 3 种高分子透析膜对细胞的黏附均小于 TiO₂ 纳米管阵列薄膜, 其中目前使用最广泛的 PES 透析膜最接近 TiO₂ 纳米管阵列薄膜, 而再生纤维素薄膜的 MTT 很小, 表明细胞在其表面很难正常生存。荧光显微镜照片结果显示, 两种细胞均为在 TiO₂ 纳米管阵列薄膜表面的生长状态最佳, 细胞核圆润且胞质清晰、形态大小一致, 细胞铺展均匀, 黏附的细胞数最多; PES 和混合纤维素薄膜材料表面尽管细

胞黏附也较多, 铺展较为均匀, 但细胞核有些许空洞, 染色质减少, 生长状态不如在 TiO₂ 纳米管阵列薄膜上的好; 再生纤维素薄膜材料表面细胞黏附数量非常少, 表明材料表面的黏附性能较差, 不适合细胞的生长。扫描电子显微镜照片显示, HK-2 细胞在 TiO₂ 纳米管阵列薄膜上铺成长片状, 细胞出现明显的丝状伪足与细胞质基质, 表明细胞与材料能够良好地黏附生长。而在 PES 薄膜上种植的植物基本铺展为平板状, 但生长状态不佳, 表明细胞与 PES 薄膜不能较好相容。

通过对两种细胞在 TiO₂ 纳米管阵列薄膜与 3 种高分子透析膜上的生长活性及生长状态的研究可以得出, 细胞在 TiO₂ 纳米管阵列薄膜上能够很好地增殖生长, 且相对于传统高分子透析膜有很大的优势, 是将来生物人工肾研究较为理想的候选材料。

参考文献 (References)

- [1] Sun I F, Lee S S, Lin S D, et al. Continuous arteriovenous hemodialysis and continuous venovenous hemofiltration in burn patients with acute renal failure [J]. Kaohsiung Journal of Medical Sciences, 2007, 23(7): 344–351.
- [2] Zobel G, Rodl S, Urlesberger B, et al. Continuous renal replacement therapy in critically ill patients [J]. Kidney International, 1998, 66: 169–173.
- [3] Humes H D, Mackay S M, Funke A J, et al. Tissue engineering of the bioartificial renal tubule assist device: in vitro transport and metabolic characteristics[J]. Kidney International, 1999, 55: 2502–2514.
- [4] Ozgen N, Terashima I M, Aung T, et al. Evaluation of long-term transport ability of a bioartificial renal tubule device using HK-2 cells [J]. Nephrol Dial Transplant, 2004, 19: 2198–2207.
- [5] Humes H D, Mackay S M, Funke A J, et al. Tissue engineering of the bioartificial renal tubule assist device: in vitro transport and metabolic characteristics[J]. Kidney International, 1999, 55: 2502.
- [6] Humes H D. The bioartificial renal tubule: Prospects to improve supportive care in acute renal failure[J]. Renal Fail, 1996, 18(3): 405–408.
- [7] Humes H D, Buffington D A, Mackay S M, et al. Replacement of renal function in uremic animals with a tissue-engineered kidney [J]. Nature Biotechnology, 1999, 17: 451–455.
- [8] Fissell W H, Lou L, Abrishami S, et al. Bioartificial kidney ameliorates gram-negative bacteria-induced septic shock in uremic Animals [J]. Journal of the American Society of Nephrology, 2003, 14(2): 454–461.
- [9] Humes H D, Buffington D A, Lou L, et al. Cell therapy with a tissue-engineered kidney reduces the multiple-organ consequences of septic shock[J]. Critical Care Medicine, 2003, 31(10): 2421.
- [10] 黄大伟, 傅博, 陈香美, 等. 细胞混合种植法构建生物人工肾小管的初步研究[J]. 中国药物与临床, 2008, 8(3): 165–167.
Huang Dawei, Fu Bo, Chen Xiangmei, et al. Chinese Remedies & Clinics, 2008, 8(3): 165–167.
- [11] 李立. 血液净化透析膜的最新进展 [J]. 中国血液净化, 2007, 6(11): 610–613.
Li Li. Chinese Journal of Blood Purification, 2007, 6(11): 610–613.
- [12] Humes H D, Fissell W H, Tiranathanagul K. The future of hemodialysis membranes[J]. Kidney International, 2006, 69(7): 1115–1119.
- [13] Paulose M, Lily P, Grimes C A, et al. Fabrication of mechanically robust, large area, polycrystalline nanotubular/porous TiO₂ membranes

- [J]. Journal of Membrane Science, 2008, 319(1): 199–205.
- [14] Fissell W H, Dubnisheva A, Eldridge A N, et al. High-performance silicon nanopore hemofiltration membranes [J]. Journal of Membrane Science, 2009, 326(1): 58–63.
- [15] Park J, Bauer S, Schmuki P, et al. Narrow window in nanoscale dependent activation of endothelial cell growth and differentiation on TiO₂ nanotube surfaces[J]. NANO Letters, 2009, 9(9): 3157–3164.
- [16] Bauer S, Park J, Mark K, et al. Improved attachment of mesenchymal stem cells on super-hydrophobic TiO₂ nanotubes [J]. Acta Biomaterialia, 2008, 4(5): 1576–1582.
- [17] Roy P, Berger S, Patrik S. TiO₂ nanotubes: Synthesis and applications [J]. Angewandte Chemie International Edition, 2011, 50 (13): 2904–2939.
- [18] Sulka G D, Kapusta-Kolodziej J, Brzozka A, et al. Fabrication of nanoporous TiO₂ by electrochemical anodization[J]. Electrochimica Acta, 2010, 55(14): 4359–4367.
- [19] Zhu W, Liu X, Liu H Q, et al. Coaxial heterogeneous structure of TiO₂ nanotube arrays with CdS as a superthin coating synthesized via modified electrochemical atomic layer deposition [J]. Journal of the American Chemistry Society, 2010, 132(36): 12619–12626.
- [20] Fang D, Huang K L, Liu S Q, et al. High-density NiTiO₃/TiO₂ nanotubes synthesized through solgel method using well-ordered TiO₂ membranes as template[J]. Journal of Alloys and Compounds, 2010, 498(1): 37–41.
- [21] Paulose M, Prakasam H E, Varghese O K, et al. TiO₂ nanotube arrays of 1000μm length by anodization of titanium foil: Phenol red diffusion[J]. Journal of Chemical Physics, 2007, 111(41): 14992–14997.
- [22] Peng L, Eltgroth M L, La Tempa T J, et al. The effect of TiO₂ nanotubes on endothelial function and smooth muscle proliferation[J]. Biomaterials, 2009, 30(7): 1268–1272.
- [23] Peng L, La Tempa T J, Grimes C A, et al. Whole genome expression analysis reveals differential effects of TiO₂ nanotubes on vascular cells [J]. American Chemical Society, 2010, 10(1): 143–148.
- [24] 柳慧琼, 朱文, 刘剑峰, 等. TiO₂ 纳米管阵列的表面特性对猪肾小管上皮细胞生长状态的影响[J]. 中国科学: 生命科学, 2011, 41(3): 249–257.
Liu Huiqiong, Zhu Wen, Liu Jianfeng, et al. Science China Life Sciences, 2011, 41(3): 249–257.
- [25] 柳慧琼, 朱文, 刘剑峰, 等. 肾小管上皮细胞与内皮细胞在 TiO₂ 纳米管上种植的对比[J]. 中华肾脏病杂志, 2011, 27(7): 525–529.
Liu Huiqiong, Zhu Wen, Liu Jianfeng, et al. Chinese Journal of Nephrology, 2011, 27(7): 525–529.
- [26] Li J W, Zhu W, Liu J F, et al. The hemocompatibility and the reabsorption function of TiO₂ nanotubes bio-membranes [J]. Chinese Science Bulletin, 2012, 57(16): 2022–2028.
- [27] Sato M, Ohashi T. Biorheological views of endothelial cell responses to mechanical stimuli[J]. Biorheology, 2005, 42(6): 421–441.
- [28] Tanaka M, Takayama A, Ito E, et al. Effect of pore size of self-organized honeycomb-patterned polymer films on spreading, focal adhesion, proliferation, and function of endothelial cells[J]. Journal of Nanoscience and Nanotechnology, 2007, 7(3): 763–772.
- [29] McGrath J L, Osborn E A, Tardy Y S, et al. Regulation of the actin cycle in vivo by actin filament severing [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA, 2000, 97(12): 6532–6537.

(责任编辑 王媛媛)

· 学术动态 ·



全国科学道德和学风建设宣讲教育工作电视电话会议召开

2013年6月6日,中国科协、教育部、中国科学院、中国社会科学院、中国工程院召开全国科学道德和学风建设宣讲教育工作电视电话会议。全国政协副主席、中国科协主席韩启德作重要讲话,十一届全国政协副主席王志珍出席会议,教育部部长、党组书记袁贵仁对2012年科学道德和学风建设宣讲教育工作进行了系统总结,并对2013年工作进行了部署,中国科协党组书记、书记处第一书记申维辰主持会议并作总结讲话。

全国政协副主席、中国科协主席韩启德指出,实现中国梦的基础,是实现“科技强国梦”和“教育兴国梦”;科技强国和教育兴国的根本,在于培养造就大批德才兼备的一流人才,在于营造执着攀登科学新高峰的科研环境,在于为新发现新突破厚培土壤的科学素质;我们要站在这样的全局高度来认识科学道德、科学精神的重要意义,以中国梦引领科学道德和学风建设全面深入开展,引导科技工作者自觉践行社会主义核心价值观体系,凝聚智慧和力量在实现中国梦的伟大征程中更加奋发有为、做出新的更大贡献。

详见中国科协网 <http://www.cast.org.cn>。