



仿生黏弹性高分子水凝胶及其生物医学应用

雷萌^{1,2}, 刘婧仪^{1,2}, 谢一洲^{1,2}, 马玉菲^{1,2}, 徐峰^{1,2}, 魏钊^{1,2*}

1. 西安交通大学生命科学与技术学院, 生物医学信息工程教育部重点实验室, 西安 710049;

2. 西安交通大学仿生工程与生物力学中心(BEBC), 西安 710049

* 联系人, E-mail: weizhao@xjtu.edu.cn

收稿日期: 2022-11-09; 接受日期: 2023-01-18; 网络版发表日期: 2023-11-01

国家自然科学基金(批准号: 12002263)、陕西省创新能力支撑计划(批准号: 2022KJXX-52)、中央高校基本科研业务费(批准号: xzy012020079, xzd012021037)和西安交通大学青年拔尖人才经费资助

摘要 天然细胞外基质和生物体软组织固有的黏弹性是调控细胞行为和组织修复与再生过程的关键因素。基于动态建构化学反应交联得到的动态高分子水凝胶材料可有效模拟在体细胞或组织的黏弹性力学微环境, 为体外调控细胞命运、揭示其力学生物学响应机制提供了重要工具, 也为组织修复与再生提供了仿生支架材料。本综述在介绍天然细胞外基质及生物体软组织黏弹性的基础上, 重点对仿生黏弹性水凝胶材料的设计思路、性能表征及影响因素等进行了概括和总结, 并揭示了黏弹性水凝胶调控细胞、组织行为的规律及机制, 最后, 分析了目前该领域研究中所存在的问题并对未来发展方向进行了展望。本综述将有助于启发高分子水凝胶的仿生功能化设计思路及材料生物学效应研究, 进一步拓展高分子水凝胶材料的生物医学应用。

关键词 仿生高分子水凝胶, 黏弹性微环境, 动态建构化学, 力学生物学机制, 组织修复

仿生生物医用材料的研发对重大疾病诊疗、发病机制探究及组织工程与再生医学等领域具有重要科学意义和临床价值, 日益受到科学界和产业界的高度重视, 已被许多国家列入高技术关键新材料发展计划^[1]。借鉴自然界生物体结构、性质和功能等对材料进行仿生设计是目前的研究前沿和热点。生物体除牙齿和骨头外, 其余均属于软组织, 而细胞则存在于这些软组织中由细胞外基质(extracellular matrix, ECM)所构成的复杂物理和生化微环境中^[2]。高分子水凝胶是由高分子交联而成的亲水网络, 具有仿生三维网孔结构和良好生物相容性, 其含水量>80%, 可模拟在体ECM的

“软、湿”微环境, 已为分子和细胞生物学研究、组织工程及再生医学等领域提供了重要工具^[3,4]。

除模拟天然ECM生化因素(如生物活性配体、细胞因子等)的仿生水凝胶可控制细胞行为外^[5,6], 研究人员还可通过改变水凝胶体系中高分子种类、浓度及交联方式等参数赋予水凝胶材料灵活可调的力学刚度以匹配不同ECM或组织的力学微环境。这种刚度仿生水凝胶也可有效调控各种细胞行为(如细胞迁移^[7]、神经突分支^[8]、干细胞增殖及分化^[9]、癌细胞侵袭性表型^[10]等), 进而对器官发育^[11]、疾病进展^[12]和组织再生^[13]等生理和病理过程产生显著影响。例如, Dis-

引用格式: 雷萌, 刘婧仪, 谢一洲, 等. 仿生黏弹性高分子水凝胶及其生物医学应用. 中国科学: 生命科学, 2024, 54: 428-446

Lei M, Liu J Y, Xie Y Z, et al. Biomimetic viscoelastic polymeric hydrogels and their biomedical applications (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2024, 54: 428-446, doi: 10.1360/SSV-2022-0287

cher课题组^[14]通过制备刚度仿生的不同琼脂糖水凝胶以模拟大脑、肌肉以及骨组织天然ECM, 证实干细胞可在不同刚度水凝胶诱导下分别成神经分化、成肌分化和成骨分化. 此外, 刚度仿生水凝胶在维持组织内稳态平衡、调节发育、各类疾病的发生和发展等生理病理过程中也发挥着重要作用^[15-17].

除力学刚度外, 近期研究发现, ECM以及生物体软组织(如脑、肝脏、心脏、皮肤、肌肉和脂肪组织等)还具有黏弹性(即在一定时间尺度内, 其可同时表现出流体和固体性质). 黏弹性微环境对应力或应变不仅可瞬时响应而储存能量(弹性), 同时随时间进行重构而消耗能量(黏性), 具体表现为应力松弛、蠕变和永久变形(塑性)等(图1B). 生物体固有的黏弹性微环境对细胞尺度(如细胞伸长、迁移、分化)和组织尺度(心肌组织搏动, 肺组织舒张和收缩)所产生的力学载荷或应变具有自动调节和适应的能力, 是影响多种细胞形态和行为及组织修复的关键力学因素^[18]. 因此, 通过优化高分子水凝胶结构及交联方式构建仿生黏弹

性水凝胶材料逐渐成为近十来智能仿生生物医用材料的研究前沿和热点. 例如, 2016年Mooney课题组^[19]报道骨髓间充质干细胞的伸长和成骨分化可受水凝胶黏弹性调控; 2017年Heilshorn课题组^[20]又报道了黏弹性水凝胶对维持神经祖细胞干性的影响; 2018年Chaudhuri课题组^[21]报道了黏弹性水凝胶中的塑性变形对癌细胞迁移的影响, 并提出了新的细胞迁移模式; 2019年Burdick课题组^[22]证实, 水凝胶黏弹性可通过调节间充质基质细胞局部初生蛋白的沉积来影响其分化方向; 2019年Gao课题组^[23]报道了适应心肌跳动频率的仿生黏弹性水凝胶补片. 此外, 2020年本课题组^[24]也报道了应力松弛水凝胶对体外血管新生的促进作用及力学生物学机制.

上述仿生黏弹性水凝胶主要是基于动态建构化学的基本原理(constitutional dynamic chemistry, CDC)^[25], 通过非共价键(如氢键^[26]、疏水相互作用^[27]、主客体相互作用^[28]、金属配体相互作用^[29]、离子键^[29])或动态共价键(如亚胺键^[30]、硼酸酯键^[31]等)交联得到, 通

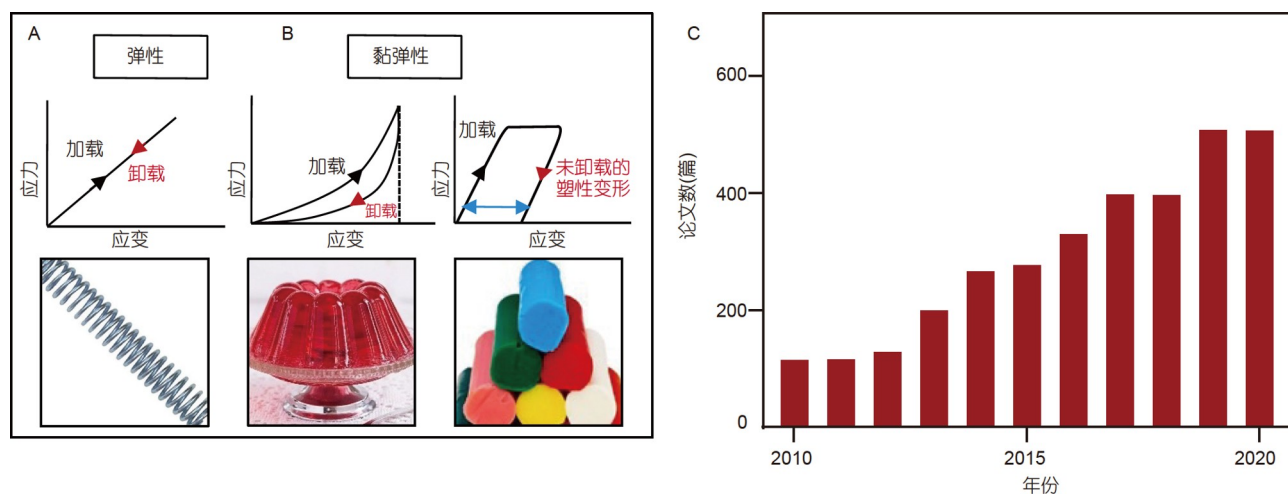


图 1 与生物组织相关的机械行为及黏弹性水凝胶在生物医学中的应用研究进展. A: 线性弹性材料中, 应力与应变呈线性相关, 且没有机械能损失和可逆变形(即加载和卸载曲线遵循相同路径), 典型的例子为金属; B: 黏弹性材料表现出固体形式的弹性能量储存和流体形式的机械能量损失的组合(这反映在加载和卸载期间应力-应变关系中的滞后), 典型例子为果冻(左图); 当应力超过屈服应力时, 材料表现为永久变形(塑性), 即施加机械载荷后材料的不可逆变形(右图), 典型例子为橡皮泥; C: Web of Science数据库中分别以dynamic/adaptable/viscoelastic/plastic hydrogels为关键词统计2010年至2020年间仿生黏弹性水凝胶在生物医学领域的论文数量(网络版彩图)

Figure 1 Mechanical behaviour associated with biological tissues and advances in the study of viscoelastic hydrogels for biomedical applications. A: Linear elastic materials in which stress is linearly related to strain and there is no mechanical energy loss and no reversible deformation (i.e., the loading and unloading curves follow the same path); a typical example is metal; B: viscoelastic materials exhibit a combination of elastic energy storage in the form of a solid and mechanical energy loss in the form of a fluid. (This is reflected in the hysteresis in the stress-strain relationship during loading and unloading), a typical example is jelly (left); when the stress exceeds the yield stress, the material exhibits permanent deformation (plasticity), i.e., irreversible deformation of the material after mechanical load is applied (right); a typical example is Play-Doh; C: Web of Science database with the keywords dynamic/adaptable/viscoelastic/plastic hydrogels to count the number of papers on biomimetic viscoelastic hydrogels in the biomedical field between 2010 and 2020 (color online)

常也称为动态(dynamic)水凝胶或自适应性(adaptable)水凝胶. 本课题组在Web of Science数据库以关键词(dynamic/adaptable/viscoelastic/plastic hydrogels)检索了2010年至2020年间仿生黏弹性水凝胶生物医学领域所发表论文的数量,发现相关文献呈逐年上升趋势,已成为近十年间的研究热点(图1C). 然而,目前国内对于仿生黏弹性水凝胶及其生物医用应用研究报道还较少,且无相关中文综述发表,本文拟在阐明天然ECM及生物体软组织黏弹性的基础上,从动态建构化学的基本原理出发对目前所报道的仿生黏弹性水凝胶材料的设计思路、性能以及影响因素进行总结和分析,阐明细胞和组织对黏弹性微环境的响应规律及机制,并对该领域存在问题及未来发展方向进行展望.

1 生物体软组织的黏弹性

近期研究发现,黏弹性是生物体软组织的重要力

学特征. 大脑^[32]、脂肪^[33]、肝脏^[34]、肌肉^[35]、皮肤^[36]、乳房^[37]、胚胎^[38]、硬组织骨骼^[39]、骨折血肿^[40]等可在几秒到几百秒的尺度上发生应力松弛(图2A). 此外,天然组织和ECM还具有不同程度的蠕变(图2B)和塑性(图2C). 例如,心脏组织塑性程度为0.1~0.4,而脑组织的塑性程度为0.4~0.6^[41]. 除细胞^[42]、细胞外液^[43]外,ECM是生物体软组织黏弹性的主要来源和调节因素,其主要由纤维蛋白、黏连蛋白、多糖和其他生物大分子通过物理作用交联的聚合物网络构成. 胶原纤维的缠结和解离、蛋白质大分子的折叠和解折叠等聚合物网络的动态重构行为导致了ECM及其所构成的生物体软组织的黏弹性.

黏弹性作为天然组织的重要特性,在调节发育、生理学和病理学中起到了关键作用. 例如,黏弹性肌肉或者结缔组织的能量耗散能力减少了运动中所需要的总能量^[44],牙周的黏弹性韧带在咀嚼过程中耗散能量,使人们更容易咀嚼食物^[45]. 更重要的是,组织黏弹

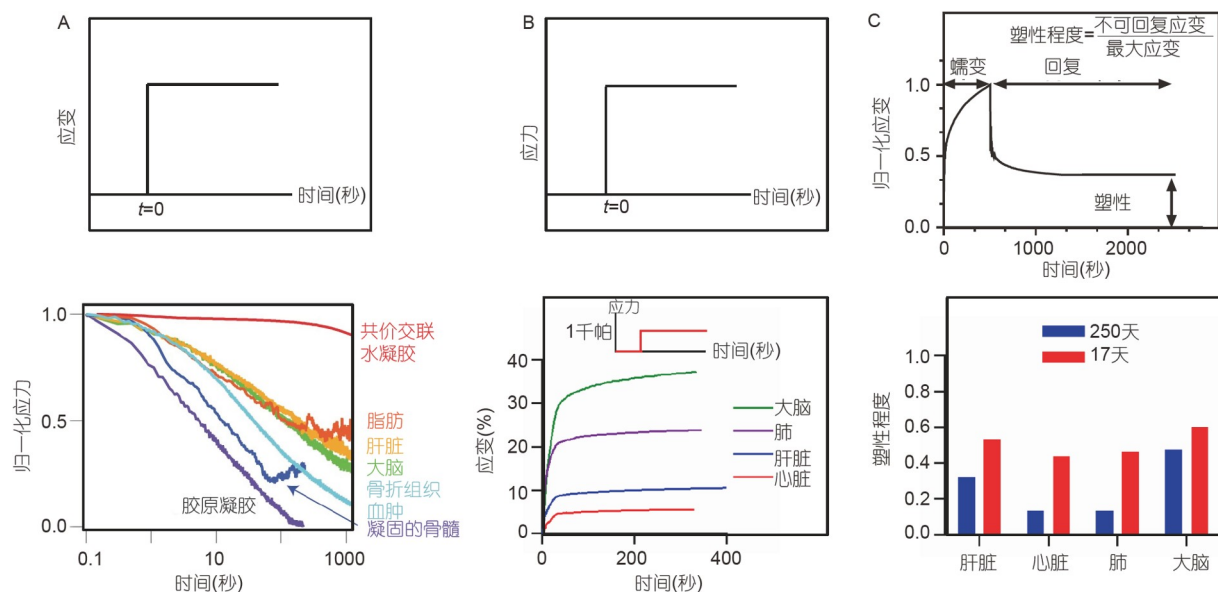


图 2 生物体软组织的黏弹性. A: 应力松弛测试中, 施加恒定应变, 测试应力随时间的变化, 生物体软组织和ECM表现出显著的应力松弛(修改自参考文献[19], 已获得Springer Nature版权许可); B: 在蠕变试验中, 施加恒定应力, 测试应变随时间的变化, 生物体软组织具有不同程度的蠕变(修改自参考文献[41], 已获得Elsevier版权许可); C: 蠕变回复测试可用于测量组织和材料的塑性, 塑性程度由不可逆应变与总应变的比值表示. 生物体软组织具有不同程度的塑性(修改自参考文献[41], 已获得Elsevier版权许可)

Figure 2 Viscoelasticity of the soft tissues of living organisms. A: In the stress relaxation test, a constant strain is applied, and the stress changes with time. Biological soft tissue and ECM exhibit significant stress relaxation (modified from ref. [19] with copyright permission from Springer Nature). B: In the creep test, a constant stress is applied, and the strain changes with time. *In vivo* tissues have different degrees of creep (modified from ref. [41] with copyright permission from Elsevier). C: The creep recovery tests can be used to measure plasticity of tissues and materials, the degree of plasticity is expressed by the ratio of irreversible strain to total strain. The soft tissues of living organisms have varying degrees of plasticity (modified from ref. [41] with copyright permission from Elsevier)

性的变化与疾病的进展有关, 疾病会改变生物体软组织的黏弹性幂律行为^[46]. 例如, 多发性硬化症患者脑部组织的黏弹性与正常脑部组织相比显著降低^[47]; 乳腺组织中存在肿瘤可使应力松弛时间增加至健康组织相应值的6倍以上^[48]; 肝脏组织的黏弹性与肝脏纤维化程度相关, 因此可以作为肝纤维化分期的辅助手段^[49]. 此外, 如引言所述, 组织中ECM的黏弹性能够参与调控细胞增殖^[50]、铺展^[51]、干细胞分化^[19]等多种细胞行为. 因此, 关注生物体组织的黏弹性能够更好地帮助人们研究细胞和组织的各种行为, 理解各种生理及病理过程.

2 黏弹性的表征方法

生物体软组织和水凝胶的黏弹性表现为应力松弛、蠕变、塑性. 测量水凝胶黏弹性的方法可基于剪切流变学, 即使用流变仪施加和测量剪切应力和应变, 或可使用机械拉伸仪施加和测量压缩或拉伸的应力和应变. 此外, 最近随着纳米微观力学表征技术的发展, 人们开始关注在微观尺度上表征黏弹性.

2.1 黏弹性的宏观表征

使用流变仪(图3A)或者机械拉伸仪(图3B)表征组织以及水凝胶的应力松弛性能, 即在测试中, 给材料加载一个恒定应变(剪切、拉伸或压缩)(ϵ_0), 测试其应力随时间变化的规律. 黏弹性材料的应力将随着时间推移而逐渐减小, 通常可使用松弛率 $\tau_{1/2}$ 即应力下降到原始值一半的时间来表征材料的黏弹性(图3C). 蠕变测试可视为应力松弛的补充测试, 即施加一个恒定的应力(σ_0), 测试应变随着时间变化的规律. 黏弹性材料的应变将随着时间推移而逐渐增大, 与应力松弛一样, 蠕变响应也可以用经验参数 $\tau_{(3/2)}$ 来描述, 即材料蠕变到初始应变的150%所需时间(图3D). 此外, 许多黏弹性材料在施加应变或者应力后可表现出永久的不可恢复变形, 即塑性. 塑性测试是在蠕变试验后释放应力, 随时间测量应变, 通过量化不可恢复变形程度来表征塑性, 塑性程度定义为长时间保持的应变与蠕变试验期间诱导的最大应变之比(图2C). 塑性程度既取决于蠕变试验的时间尺度, 也取决于某些情况下各种水凝胶所施加的应力大小. 在众多用于细胞培养的水凝胶材料中, 胶原是应用最多研究最广泛的材料之一, 其具

有显著的塑性行为且随着施加应力的增大, 胶原的塑性程度将提高^[52]. 虽然上述表征方法提供了宏观力学特征, 但是由于ECM的微观排列、细胞与ECM的相互作用, 以及细胞层面的宏观和微观的不一致性使得微观尺度上的黏弹性表征方法对于理解细胞的行为更有意义. 现有的微观表征方法主要分为基于纳米压痕技术以及基于粒子追踪流变学.

2.2 黏弹性的微观表征

基于纳米压痕技术的测量原理是使用微纳米级别的探针接触样品, 测量力-变形曲线, 根据力学模型计算出样品的力学参数进而得到样品的力学性质. 具体而言, 此类技术主要包括基于原子力显微镜(atomic force microscope, AFM)的压痕^[53-56]和基于深度感应纳米压痕^[57-59]. 这两种技术目前已被广泛应用于测试水凝胶、组织甚至细胞的动态力学特性^[60,61]. 基于深度感应纳米压痕(图3E)技术的测量是通过在探针尖端施加校准力, 记录探针在垂直于样品平面上的运动位移, 从而获得压痕的深度. 由于纳米压痕的尖端比细胞大, 因此常用来测试ECM或生物组织的力学特性^[62]. Isaksson等人^[63]使用纳米压痕技术表征了骨组织随时间变化的黏弹性, 并对骨组织黏弹性的最佳测试方法进行了探究. 基于AFM的纳米压痕技术(图3F)是通过AFM探头尖端向弯曲悬梁臂施加定标位移, 记录压痕过程中悬梁臂的弯曲程度来计算施加在样品上的力. 这种技术目前已被应用于脑组织的应力松弛测试, 表征大脑不同解剖区域的黏弹性^[59,61,64]. 此外由于AFM的探头是纳米级别的, 因此可被用于表征细胞的黏弹性. 魏旭等人^[55]基于AFM的蠕变测试研究了使用富勒烯醇处理的肝癌细胞黏弹性的变化.

基于粒子追踪流变学的测试原理是使用亚微米大小的探针微球将其直接嵌入材料或组织内, 根据微球与周围环境的紧密接触来测量其内部的黏弹性, 可分为主动和被动两种方式. 在被动粒子的流变学测试中, 通过动态光学散射和数字视频显微术实时追踪嵌入粒子因布朗运动而引起的波动(图3G). 由于探针粒子的运动受到周围材料的影响^[65], 因此可以通过测量其轨迹的均方位移值来获得材料的局部黏弹性、刚度等特性. 例如, Chiou课题组^[66]利用100 nm(直径)羧化聚苯乙烯珠注入HeLa细胞的细胞质中, 并应用视频粒子追踪微流变学来测量细胞分裂过程中不同阶段的细胞内

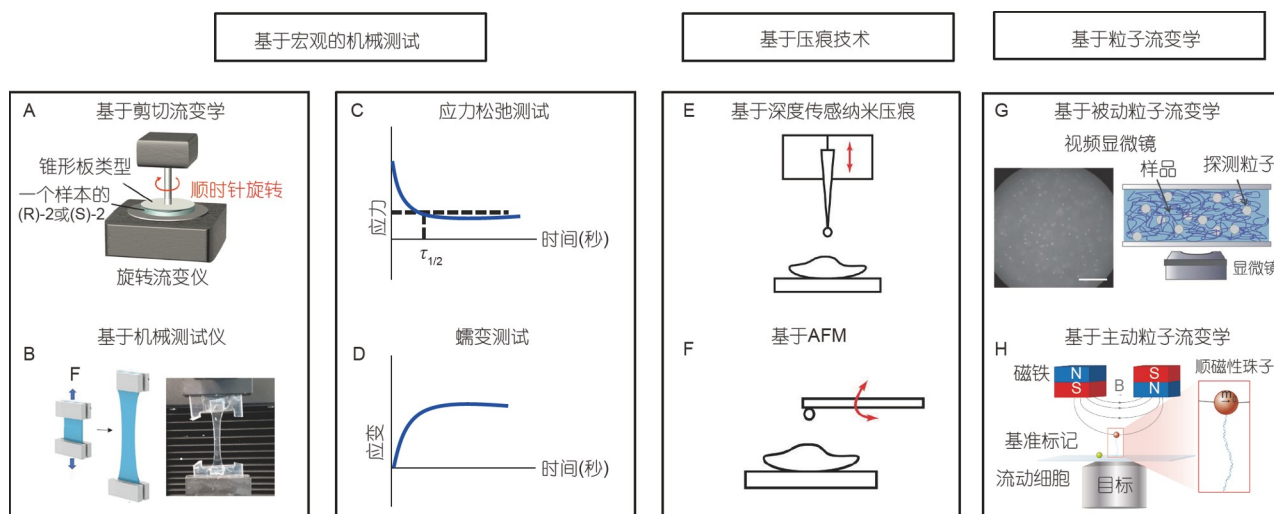


图 3 黏弹性的表征技术手段。A: 基于平行板流变仪测量材料黏弹性示意图(修改自参考文献[69], 已获得Springer Nature版权许可); B: 基于机械测试仪的拉伸测试示意图(修改自参考文献[70], 已获得John Wiley and Sons版权许可); C: 应力松弛测试示意图; D: 蠕变测试示意图; E: 基于深度传感的纳米压痕尖端探针示意图(修改自参考文献[71], 已获得Elsevier版权许可); F: 基于AFM的纳米压痕尖端探针示意图(修改自参考文献[71], 已获得Elsevier版权许可); G: 多粒子跟踪微流变学测量嵌入软材料中的胶体探针粒子的随机热运动图像(比例尺:40 μm)(修改自参考文献[72], 已获得Royal Society of Chemistry版权许可); H: 磁性镊子工作示意图(修改自参考文献[73], 已获得Annual Reviews版权许可)(网络版彩图)

Figure 3 Technical means of characterization of viscoelasticity. A: Schematic diagram of material viscoelasticity measurement based on parallel plate rheometer (modified from ref. [69] with copyright permission from Springer Nature); B: schematic diagram of tensile test based on mechanical tester (modified from ref. [70] with copyright permission from John Wiley and Sons); C: schematic diagram of stress relaxation test; D: schematic diagram of creep test; E: schematic diagram of nanoindentation tip probe based on depth sensing (modified from ref. [71] with copyright permission from Elsevier); F: schematic diagram of AFM-based nanoindentation tip probe (modified from ref. [71] with copyright permission from Elsevier); G: multi-particle tracking microrheology measurement of random thermal motion images of colloidal probe particles embedded in soft materials (scale bar :40 μm) (modified from ref. [72] with copyright permission from Royal Society of Chemistry); H: schematic diagram of the working of magnetic tweezers (modified from ref. [73] with copyright permission from Annual Reviews) (color online)

黏弹性。然而这种技术的局限性是它只能测量约50 Pa以下材料的黏弹性, 因为较硬水凝胶的波动低于当前测试技术所能够达到的分辨率^[67]。为了测试更硬的组织或者凝胶的黏弹性可以使用基于活性粒子的微流变学技术^[68], 即可使用光镊或者磁镊向探测粒子主动施加力, 并测试粒子的响应运动, 这样即使在较硬的材料中, 足够的力也可以引起粒子的运动(图3H)。与其他技术相比, 基于粒子流变学测试的显著特征是可探测材料内部的机械性能, 也可以更好地揭示细胞在更多生理环境(例如胚胎内部)中的微机械特性^[74], 此外, 其还具有测试时间短、非破坏性、时空分辨率强的优点。因此, 基于粒子流变学技术测试组织、ECM和水凝胶黏弹性也是常用表征方法。

上述方法在不同空间尺度及时间尺度上对样品的力学性质进行表征, 不同的测试方法得到的黏弹性信息可相互转换, 多种方法组合使用也可以获得更加全面和准确的信息, 有助于人们更好地掌握所测样品的黏弹性特征。

3 基于动态建构化学的黏弹性水凝胶分类及应用

目前报道的黏弹性水凝胶一般是基于动态建构化学的基本原理, 由动态化学反应交联而成的三维聚合物网络, 其中的动态交联点可在生理条件下以可逆方式实现键的断裂和重排, 是水凝胶网络实现应力松弛、蠕变等黏弹性行为的结构基础^[75]。动态建构化学是诺贝尔化学奖获得者超分子化学之父法国化学家Jean-Marie Lehn教授提出的, 其概念包括动态共价化学与非共价的超分子化学。依照动态建构化学的分类方式, 黏弹性水凝胶也可被分为两类(图4), 一类基于非共价键交联体系, 包括亲疏水作用、离子键、主客体相互作用、氢键以及静电相互作用等。这些非共价键的相互作用较弱, 具有很好的可逆性, 但所交联材料稳定性较差。另一类是基于动态共价键形成的黏弹性水凝胶, 包括亚胺键、酰胺键、酮键、二硫键、硼酸酯键、可逆Diels-Alder反应等。这类动态共价交联

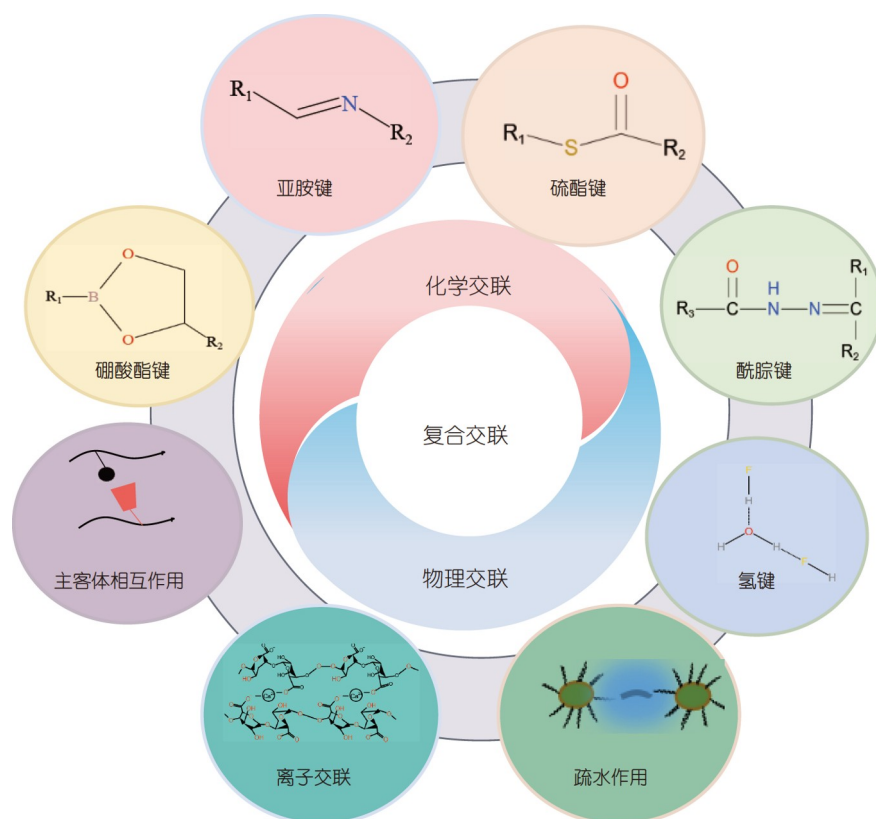


图4 黏弹性水凝胶的分类(网络版彩图)

Figure 4 Classification of viscoelasticity hydrogel (color online)

的水凝胶既具有共价交联的稳定性又具有一定的可逆性(个别反应需外界pH、温度或光照刺激)。此外,为了使所设计的水凝胶体系能够更好地模拟天然ECM且允许细胞重塑周围环境来实现其多种功能,包括两种动态化学键的复合交联双网络或互穿网络水凝胶也有较为广泛的应用。基于动态化学所构建的水凝胶的黏弹性受聚合物分子量、聚合物浓度、反应基团的化学计量比及最终交联密度等参数调控。此外,动态化学交联反应的热力学平衡常数($K_{eq}=k_{on}/k_{off}$)也是决定水凝胶黏弹性的重要因素。通过动态化学反应的选择以及聚合物参数的调控,目前已开发出一系列与生物体软组织黏弹性相匹配的水凝胶体系^[76-78](图5)。本节将对用于构建细胞或组织黏弹性微环境的常用动态水凝胶及各类细胞和组织的响应规律和机制进行重点介绍。

3.1 非共价交联

(1) 离子交联。基于离子交联的海藻酸盐水凝胶

因其毒性小、成本低、生物相容性好而被广泛应用于细胞培养中。在生理温度和pH值下海藻酸盐可与二价阳离子交联。

Mooney课题组^[19]利用海藻酸钠- Ca^{2+} 交联开发了一种可控应力松弛率的黏弹性水凝胶体系。通过改变海藻酸盐分子量及钙离子浓度,并使用聚乙二醇(polyethylene glycol, PEG)作为间隔基来提供空间位阻从而改变凝胶松弛率(图6A)。该水凝胶具有较大范围的应力松弛率,其松弛常数 $\tau_{1/2}$ 为44~3300 s。在应力松弛较慢($\tau_{1/2} \sim 1$ h)的水凝胶中,间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)的铺展和增殖都受到抑制,与弹性水凝胶对照组中的细胞形态相似;而在快速松弛的水凝胶中,由于其流动性和重塑性,细胞产生的牵张力可以更好地释放, MSCs的铺展、增殖以及成骨分化显著增强。细胞可通过整合素介导的黏着斑、RGD配体的局部聚集、肌动蛋白的收缩以及Yes-associated protein(YAP)的核易位(YAP是机械传导的关键转录调控

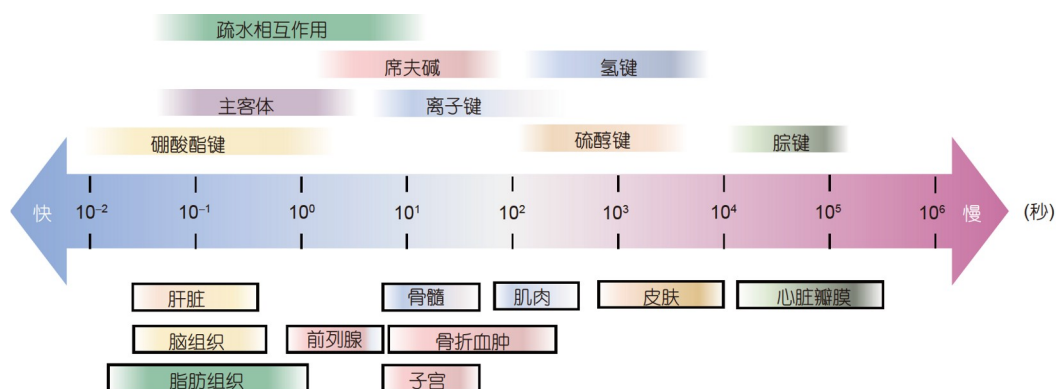


图5 天然组织以及常见动态键的应力松弛时间尺度

Figure 5 Stress relaxation time scales for natural tissues as well as for common dynamic bonds

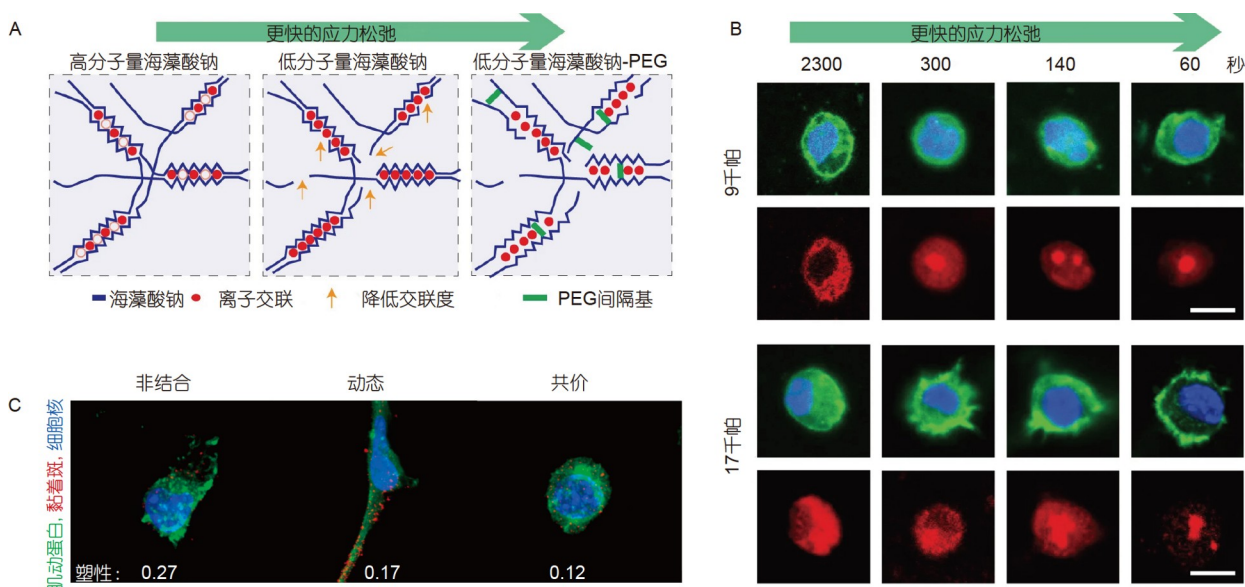


图6 基于离子交联的黏弹性水凝胶及其生物医学应用。A: 基于海藻酸盐- Ca^{2+} 构建的黏弹性水凝胶网络示意图(修改自参考文献[19], 已获得Springer Nature版权许可); B: 在不同黏弹性水凝胶中培养一周的MSCs的肌动蛋白(绿色)、细胞核(蓝色)和YAP(红色)的代表性免疫荧光染色图像(比例尺:10 μm)(修改自参考文献[19], 已获得Springer Nature版权许可); C: 不同塑性程度的海藻酸盐凝胶中包埋的MSCs的共聚焦图像(修改自参考文献[79], 已获得National Academy of Sciences版权许可)

Figure 6 Viscoelastic hydrogels based on ionic cross-linking and their biomedical applications. A: Schematic diagram of the viscoelasticity hydrogel network constructed based on sodium alginate- Ca^{2+} (modified from ref. [19] with copyright permission from Springer Nature); B: representative immunofluorescence staining images for actin (green), nuclei (blue) and YAP (red) of MSCs cultured in different viscoelastic hydrogels for one week (scale bar: 10 μm) (modified from ref. [19] with copyright permission from Springer Nature); C: confocal images of MSCs encapsulated in alginate gels with different plasticity (modified from ref. [79] with copyright permission from National Academy of Sciences)

因子, 其激活水平是各种信号相互协调的结果)来响应快速松弛的水凝胶网络应力, 进而促进MSCs的铺展、增殖和成骨分化(图6B)。

在此材料体系的基础上, Mooney课题组^[79]进一步开发了塑性可控水凝胶体系, 通过与PEG的不同结合方式, 在刚度及松弛率一致下实现了对材料塑性的调控。即通过对海藻酸盐乙酰化后与Ary-Gly-Asp(RGD)

共轭, 再通过1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐/N-羟基琥珀亚酰胺(EDC/NHS)耦合与PEG单独反应, 形成共价连接的PEG; 经过溶解后, 与PEG末端胺基连接, 形成动态结合的PEG; 通过将功能化的海藻酸盐与羧酸末端PEG简单混合, 制备了非结合PEG水凝胶。采用该凝胶体系该课题组系统地研究了单独调控塑性对MSCs形态的影响以及其内在机制。研究结

果表明,在中塑性的水凝胶基质中,细胞的铺展得到显著加强,同时细胞会形成更加聚集的黏着斑(图6C)。这是由于对于塑性较低的材料,网络重组的时间尺度慢于肌动蛋白逆行流,导致细胞铺展速度较慢;高塑性基质中肌动蛋白流与整合素结合的时间尺度慢于网络重组的时间尺度,而ECM中黏附配体的募集程度有限,因此会抑制细胞的铺展和极化;在中等可塑性基质中网络重塑时间尺度与逆行肌动蛋白流和整合素结合的时间匹配,因此细胞可以更好地铺展。Leach课题组^[80]系统地研究了水凝胶的黏弹性在MSCs球体成骨分化以及骨修复中发挥的作用。相比于二酰肼共价交联的弹性海藻酸盐水凝胶对照组,钙离子交联的黏弹性海藻酸盐水凝胶中包埋的MSCs球体分泌的骨钙素和沉积的钙含量明显增加。通过将包埋有MSCs球体的水凝胶植入颅骨缺损部位,发现黏弹性组中新生骨的骨量和骨矿物质密度明显高于弹性对照组,其促进骨修复的能力显著增强。除颅骨修复外,Mooney课题组^[81]的研究工作也证明,海藻酸盐- Ca^{2+} 水凝胶凭借其优异的黏弹性可用于促进大鼠钙静脉缺陷的骨骼形成。此外,Gao课题组^[23]使用有限元模拟对心梗区域以及正常区域的力学环境以及心室重塑过程进行了模拟,并发现“凝胶点”处类似流体的材料可以在抑制扩张和维持正常的心脏跳动之间达到平衡的效果。当水凝胶的储能模量(G')曲线与损耗模量(G'')曲线在一定频率下重合时,其兼具固体和流体的性质,在此频率下水凝胶处于临界凝胶点。水凝胶处于凝胶点时具有优异的黏弹性,不仅可以提供必要的力学支撑,还有很好的流动性。因此,他们利用离子交联的淀粉水凝胶开发了具有凝胶点流变学特性的黏弹性心脏贴片。在大鼠心梗模型中,该贴片不仅适应心脏的循环变形,还可以恢复心梗后的心脏功能,其治疗效果优于大多数现有的脱细胞心外膜贴片。

(2) 主客体相互作用。除了上述基于离子交联的海藻酸盐- Ca^{2+} 水凝胶之外,主客体相互作用也被广泛用于细胞包埋的黏弹性水凝胶制备中。主客体配对的关键是宿主空腔和客体分子的尺寸互补以及疏水相互作用。由于天然ECM是通过物理相互作用而不是化学结合相互连接的,因此基于主客体相互作用的超分子水凝胶相对于动态共价交联而言能够更好地模仿天然ECM。同时,主客体水凝胶剪切变稀和自愈合的特征也使其具有可注射的特性,能够应用于药物递送以及

微创治疗等再生医学领域。

环糊精(cyclodextrin, CD)是天然衍生的水溶性环状低聚糖,具有高水溶性、低毒性、生物相容性,其外缘亲水内缘疏水,可以提供疏水结合位点与多种客体分子,如金刚烷(adamantane, Ad)^[27]、PEG^[82]、明胶^[83]等形成包络聚合物,是最普遍的主体大分子之一。Burdick课题组^[27]基于金刚烷接枝的透明质酸(客体分子Ad-HA)和环糊精接枝的透明质酸(主体分子CD-HA)之间的主客体相互作用形成了超快速应力松弛的可注射性水凝胶。其黏弹性取决于大分子单体浓度、客体大分子的改性程度以及主客体官能团的摩尔比。然而,基于超分子主客体相互作用的水凝胶通常表现出较低的机械特性,因此也开发了许多具有二次交联的双网络主客体水凝胶。例如,Rodell等人^[84]通过在Ad-HA上接枝硫醇(-SH),在CD-HA上引入Michael受体(即甲基丙烯酸酯或丙烯酸酯),合成了基于主客体自组装和迈克尔加成反应的双网络水凝胶(图7A)。主客体相互作用不仅使水凝胶具有黏弹性,还赋予其剪切变稀和自愈合的特性,迈克尔加成反应的引入则增强了其机械性能,并减慢了降解速率。将该双网络水凝胶应用于心肌梗死模型表明,与未经治疗的和仅使用超分子水凝胶的对照组相比,其治疗效果有显著提升。Bian课题组^[85]在原有环糊精和明胶芳香残基自组装主客体水凝胶的基础上,通过在环糊精上接枝丙烯酸酯进行二次光交联,在保持其快速应力松弛的动态力学的基础上提高了机械强度及稳定性。该课题组使用上述体系作为黏弹性基质,研究了水凝胶网络黏弹性对胚胎干细胞干性维持、增殖和分化的影响。结果表明,黏弹性主客体水凝胶网络显著促进了小鼠胚胎干细胞的克隆扩增和增殖,并能长期保持细胞的多功能性和完全分化能力。Tong等人^[86,87]利用PEG链为“线”,穿过 α 环糊精(α -CD)的滑动“环”,并引入含硫醇的生化配体,合成可用于干细胞培养和分化的超分子滑动环主客体水凝胶。主客体的滑动交联赋予水凝胶网络黏弹性,包埋在该水凝胶中的MSCs能够通过对黏弹性网络施加细胞牵引力来重组黏附配体进而执行特定功能,黏弹性水凝胶网络能够适应细胞诱导的力和形态变化。因此,滑动环水凝胶能够促进MSCs通过牵引力来启动下游信号通路传导,进而响应可溶性诱导因子(成骨、成软骨、成脂诱导因子),增强MSCs向多个谱系的分化。而共价交联限制了水凝胶网络的动

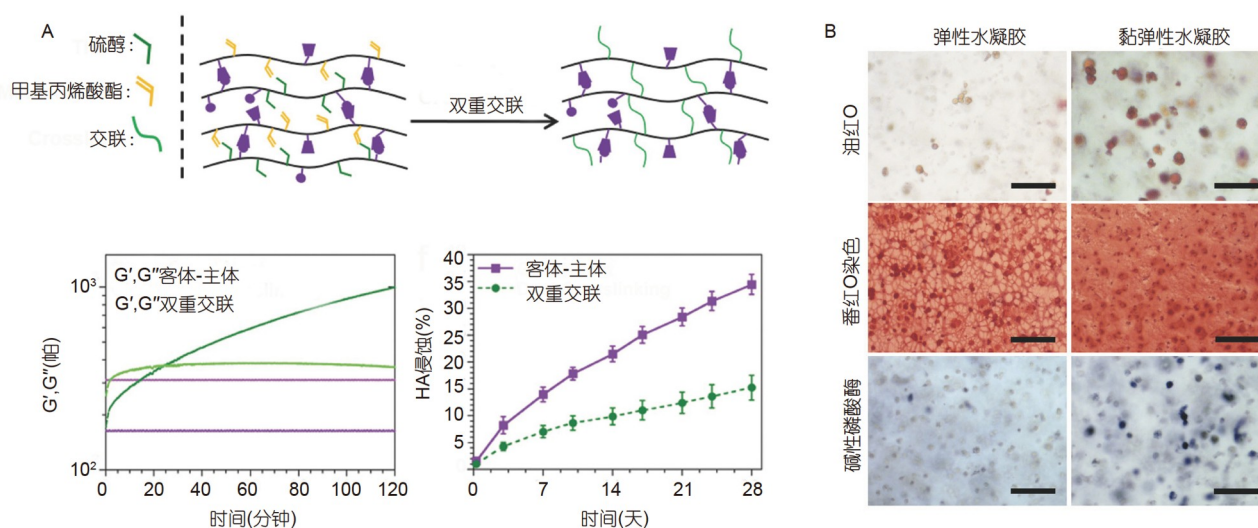


图 7 基于主客体相互作用的黏弹性水凝胶及其生物医学应用。A: 双网络交联水凝胶形成示意图(顶部); 主客体单网络水凝胶和双网络交联水凝胶的振荡时间扫描图以及体外侵蚀曲线(底部)(修改自参考文献[84], 已获得John Wiley and Sons版权许可); B: 共价化学交联以及滑动环交联水凝胶示意图以及弹性水凝胶和黏弹性水凝胶中包埋hMSCs的成脂、成软骨和成骨标志物免疫荧光染色代表性图像(比例尺: 100 μm)(修改自参考文献[86], 已获得John Wiley and Sons版权许可)

Figure 7 Viscoelastic hydrogels based on host-guest interactions and their biomedical applications. A: Schematic diagram of double network cross-linked hydrogel formation (top); oscillation time scans of host-guest single network (GH) hydrogels and double network cross-linked (DC) hydrogels and *in vitro* erosion curves (bottom) (modified from ref. [84] with copyright permission from John Wiley and Sons); B: schematic diagram of covalent chemically cross-linked and sliding ring cross-linked hydrogels and the representative images of immunofluorescence staining for lipogenic, chondrogenic and osteogenic markers of hMSCs embedded in elastic and viscoelastic hydrogels (scale bar: 100 μm) (modified from ref. [86] with copyright permission from John Wiley and Sons)

态重组, 使水凝胶中的MSCs识别和重组黏附配体的能力下降, 影响了其铺展和分化能力. 因此, 与弹性水凝胶相比, 滑动环黏弹性水凝胶能支持包埋的MSCs分化为多个谱系, 包括脂肪、软骨和成骨谱系(图7B).

(3) 其他类型的物理交联水凝胶. 除上述重点讨论的基于离子交联和主客体交联的黏弹性水凝胶外, 还有许多其他的物理交联作用(例如氢键、疏水作用等)可用于设计黏弹性水凝胶. Hu课题组^[88]基于核碱基之间的氢键自组装行为, 开发了动态DNA水凝胶. 利用腺嘌呤(A)和胸腺嘧啶(T)功能化的四臂PEG之间的A-T氢键自组装形成水凝胶网络用于生长因子递送和细胞支架. 此外, Liu课题组^[89]选用聚N-羟乙基丙烯酰胺侧链的羟基和仲酰胺基团作为氢键的受体与单宁酸的羟基相互作用形成稳定的氢键, 制备了可注射水凝胶. 该水凝胶黏附强度高且稳定, 具有抗菌止血的功能, 可作为优异的黏性止血材料. Yang课题组^[90]通过将疏水相互作用作为牺牲键结合到海藻酸盐离子网络中来制备基于丝素蛋白的疏水水凝胶. 疏水相互作用体系由疏水单体甲基丙烯酸十八酯和两性亲性再生丝素溶液组成. 由于可逆疏水相互作用的存在, 该水凝胶具有良好

的可注射和自愈合性能.

然而, 以上物理作用交联的水凝胶研究目前仍集中在自愈合和可注射等方面, 对于黏弹性(应力松弛、蠕变等)及其在细胞-基质相互作用和组织再生中的应用方面还较缺乏, 有待进一步研究.

3.2 动态共价键交联

(1) 硼酸酯键水凝胶. 硼酸酯键作为一种动态共价键也应用于制备黏弹性水凝胶, 其可通过硼酸和顺式1,2-二醇之间的反应形成^[31]. 二醇浓度、硼酸 pK_a 、溶液酸碱度、溶液组成和引入的二醇二面角都会影响二醇和硼酸的结合亲和力. 硼酸盐毒性小、细胞相容性好, 且反应特异性高, 较少受到生化环境中其他官能团的影响, 因此硼酸酯键被广泛应用于探索细胞对黏弹性微环境的响应性.

Anderson课题组^[91]使用各种苯硼酸衍生物修饰四臂PEG和PEG-二醇单体反应, 基于硼酸和二醇间的可逆相互作用制备了一系列具有黏弹性、剪切变稀和自愈合性能的水凝胶网络, 使其适用于可注射临床应用. Lee课题组^[92]由海藻酸盐骨架存在的固有顺式二醇制

备的海藻酸盐-硼酸水凝胶(alginate-BA)表现出自修复、拉伸、重塑、pH和葡萄糖敏感、黏附性能等多种动态功能. 利用这些特征, 该课题组测试了水凝胶的黏膜黏附特性: 与未修饰的海藻酸盐相比, alginate-BA水凝胶的口服给药形成更加持久的体内黏膜黏连, 因此可作为黏膜黏附口服递送应用的潜在材料(图8A). Anseth课题组^[31]选择邻苯二酚作为二醇, 通过使用不同的硼酸衍生物以获得松弛时间可调的硼酸酯键水凝胶. 使用快速松弛的水凝胶对MSCs进行培养发现, 黏弹性水凝胶能够增强细胞与基质的相互作用, 进而导致核体积的增加, 并诱导YAP/Transcriptional coactivator with PDZ-binding motif(YAP/TAZ)的结合物在细胞核中出现更长时间, 证实了细胞响应水凝胶黏弹性的YAP通路(图8B).

利用硼酸酯键动态性能制备的黏弹性水凝胶还被应用于治疗脑组织损伤. 本课题组^[93]利用苯基硼酸接枝透明质酸(hyaluronic acid-phenylboronic acid, HA-PBA)和多巴胺接枝明胶(Gel-Dopa)之间的动态硼酸酯键交联制备了一种具有快速止血、高组织附着力可注射黏弹性水凝胶, 该水凝胶可促进细胞浸润, 减少胶质瘢痕和促进神经再生.

(2) 亚胺键水凝胶. 亚胺键代表一种具有可逆碳氮双键($R-C=N-R$)的动态共价键体系, 其可通过亲核

胺基($R-NH_2$)和亲电羰基化合物($R-CHO-R$)之间的反应形成. 亚胺键可以不断地断裂和重建, 以快速达到化学平衡. 动态亚胺键交联制备的水凝胶具有良好的动态力学性能、溶胀性能、pH值响应性能, 且不需要外界的刺激便可实现应力松弛、剪切变稀和自愈合等动态特性, 因此在生物医学领域具有广泛应用.

Fan课题组^[94]基于亚胺基, 制备了一种以胶原和PEG为主要成分的应力松弛可调的黏弹性水凝胶. 该水凝胶是通过胶原上的胺基与PEG链末端的苯甲醛基团形成动态的亚胺键来构建的, 通过改变体系中醛基和胺基的化学计量比可以在刚度以及胶原密度一致的情况下独立调控网络的应力松弛率(图9A). 在获得具有可快速应力松弛的亚胺基水凝胶的基础上, 该课题组研究了应力松弛对细胞铺展、增殖和成骨分化的调节作用. 结果表明, 增加的基质松弛率与增强的细胞铺展、增殖、成骨性能之间存在对应关系, 证明了快速松弛对细胞功能的调节和基质机械信号的有效传递. 基质的应力松弛可通过激活的TRPV4瞬态电压感受器阳离子通道和增加的钙内流调节细胞的成骨分化(图9B). 此外, 本课题组^[95]也构建了一种利用氧化葡聚糖交联, 基于明胶的自愈合水凝胶用来作为输送内皮祖细胞的注射载体. 明胶和氧化葡聚糖之间的动态亚胺交联提供了良好的自愈能力保护内皮祖细胞免受注

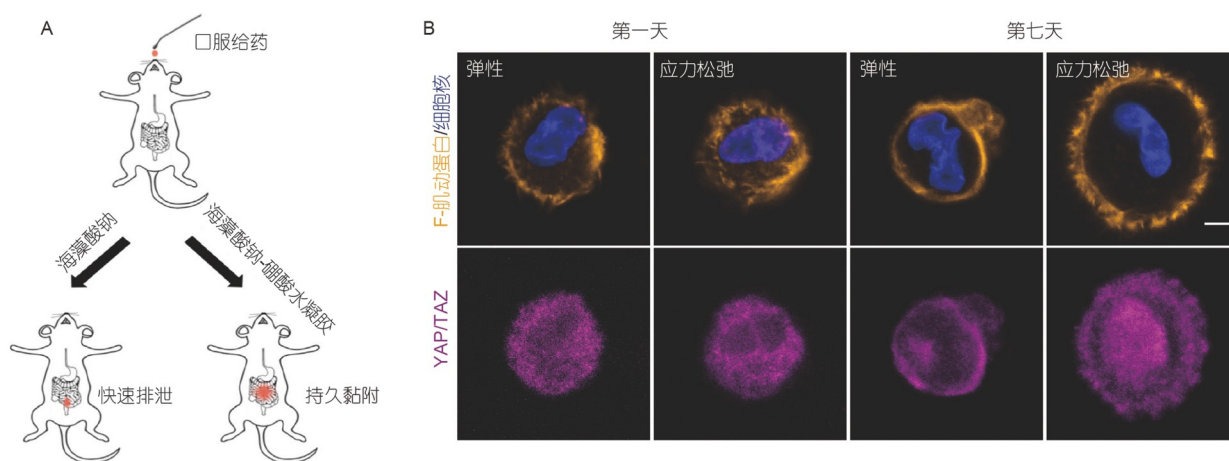


图 8 基于硼酸酯键的黏弹性水凝胶及其生物医学应用. A: Alginate-BA和alginate的口服给药示意图(修改自参考文献[92], 已获得American Chemical Society版权许可); B: 弹性和黏弹性水凝胶中细胞形态和YAP/TAZ亚细胞定位的比较(比例尺:5 μ m)(修改自参考文献[31], 已获得John Wiley and Sons版权许可)

Figure 8 Viscoelastic hydrogels based on borate ester bonds and their biomedical applications. A: Schematic diagram of oral administration of alginate-BA and alginate (modified from ref. [92] with copyright permission from American Chemical Society); B: comparison of cell morphology and YAP/TAZ subcellular localization in elastic and stress-relaxing gels (scale bar: 5 μ m) (modified from ref. [31] with copyright permission from John Wiley and Sons)

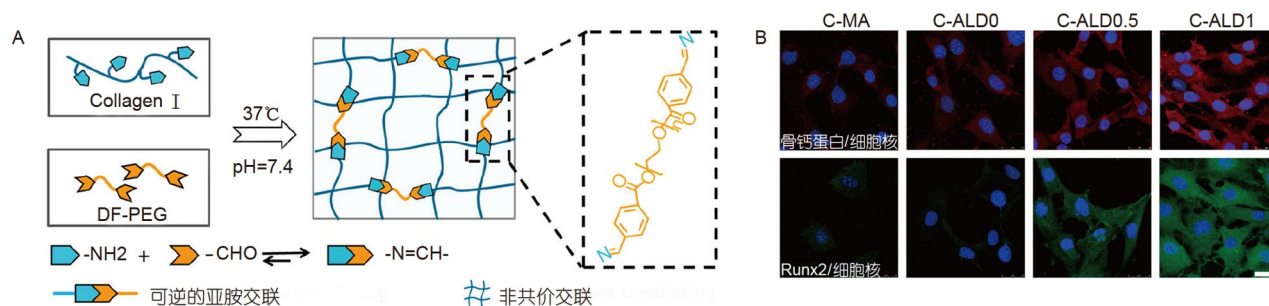


图 9 基于亚胺键的黏弹性水凝胶及其生物医学应用. A: 基于亚胺的快速松弛水凝胶设计示意图(修改自参考文献[94], 已获得American Chemical Society版权许可); B: 包埋在不同应力松弛水凝胶中细胞成骨分化标记物的免疫荧光图像(比例尺: 25 μm) (修改自参考文献[94], 已获得American Chemical Society版权许可)

Figure 9 Viscoelastic hydrogels based on imine bonds and their biomedical applications. A: Schematic design of a fast-relaxing hydrogel based on imine bonds (modified from ref. [94] with copyright permission from American Chemical Society); B: immunofluorescence images of cellular osteogenic differentiation markers encapsulated in different stress-relaxing hydrogels (scale bar :25 μm) (modified from ref. [94] with copyright permission from American Chemical Society)

射剪切力, 进而支持内皮祖细胞的复杂血管网络形成, 为再生带来了巨大的潜力。

Park课题组^[96]开发了一种模拟贻贝足蛋白的用于湿黏附的黏弹性自修复聚丙烯胺水凝胶。该水凝胶通过EDC反应将儿茶酚(catechol, CA)引入聚丙烯胺(polyacrylamide, PAA)聚合物中, PAA共轭物的儿茶酚和氨基发生席夫碱反应形成动态亚胺键提供黏弹性。此外, 还通过添加纳米硅酸盐来改善水凝胶的机械强度, 形成双重交联的PAA水凝胶。所形成的PAA-CA黏弹性水凝胶表现出高黏合强度和自愈合特性。由于PAA-CA水凝胶中残留氨基和儿茶酚基团的协同作用, PAA-CA水凝胶在潮湿的环境中表现出增强的黏附性能, 克服了常规水凝胶在含水条件下低黏附的问题。

(3) 酰肼键水凝胶。酰肼键是酰肼和醛基反应得到的一种特殊亚胺, 由C=N和C(O)-NH组成, 其动态特性取决于C=N, C(O)-NH则赋予材料氢键位点。酰肼键形成速度快、生物相容性好, 具有温度和pH值的双响应, 通常用于生物偶联和材料合成领域。

McKinnon课题组^[50]合成并表征了一系列脲键交联的水凝胶作为黏弹性支架, 以研究黏弹性对细胞行为的影响。该水凝胶是通过亲核PEG-胍与两种不同的亲电PEG-醛(苯甲醛或脂肪族醛)反应形成的。通过调整PEG聚合物臂数、醛基种类、脂肪族醛与苯甲醛大分子比例, 以及胍和醛成分的相对化学计量, 可以精确控制凝胶的模量和应力松弛特性。将成肌细胞(C2C12)包埋在具有不同应力松弛率的黏弹性水凝胶网络中, 结果表明, 成肌细胞仅在快速松弛的水凝胶中铺展, 而

静态弹性水凝胶阻止细胞骨架重排和延伸(图10A)。在此材料的基础上, 该课题组还系统地研究了黏弹性对软骨细胞增殖和基质沉积的影响。通过改变与PEG-胍交联的烷基脲(aHz)和苄基脲(bHz)的相对百分比, 可实现应力松弛率从数小时(4.01×10^3 s)到数月(2.78×10^6 s)的精确调控。与缓慢应力松弛(12% bHz)以及快速应力松弛(100% bHz)的水凝胶相比, 在中等应力松弛率(22% bHz)的水凝胶中软骨细胞沉积的硫酸软骨素以及胶原蛋白含量最多。这表明黏弹性水凝胶可以促进软骨再生, 但稳定的水凝胶网络也尤其重要^[97]。此外, 本课题组^[24]基于酰肼键开发了黏弹性水凝胶系统地研究了水凝胶黏弹性对血管新生过程的影响。黏弹性水凝胶是通过葡萄糖上所修饰的醛基和己二酸二酰肼修饰的明胶上原始氨基和酰肼基团交联而成。本课题组发现, 水凝胶黏弹性可增强人内皮祖细胞(endothelial progenitor cells, EPCs)的收缩性, 促进 $\beta 1$ 整合素($\beta 1$ -integrin)的聚集、纽蛋白的募集, 进而激活黏着斑激酶(focal adhesion kinase, FAK)和金属蛋白酶表达, 最终促进脉管系统的组装。而弹性水凝胶对照组则抑制了FAK信号转导, 进而阻碍血管形态发生(图10B)。以上研究表明, 基于酰肼键的黏弹性水凝胶在探索细胞行为方面具有很好的应用前景。

(4) 硫酯键水凝胶。硫酯水凝胶是基于硫醇-烯的点击化学反应合成。当溶液pH值大于硫醇 pK_a 时, 硫代盐阴离子($R-S^-$)攻击硫酯($R-CH(O)-S-R$), 生成硫酯键并释放硫醇(图10A)。通过控制反应pH值、交联剂、凝胶的化学计量可有效调节硫酯交换, 从而产生以硫

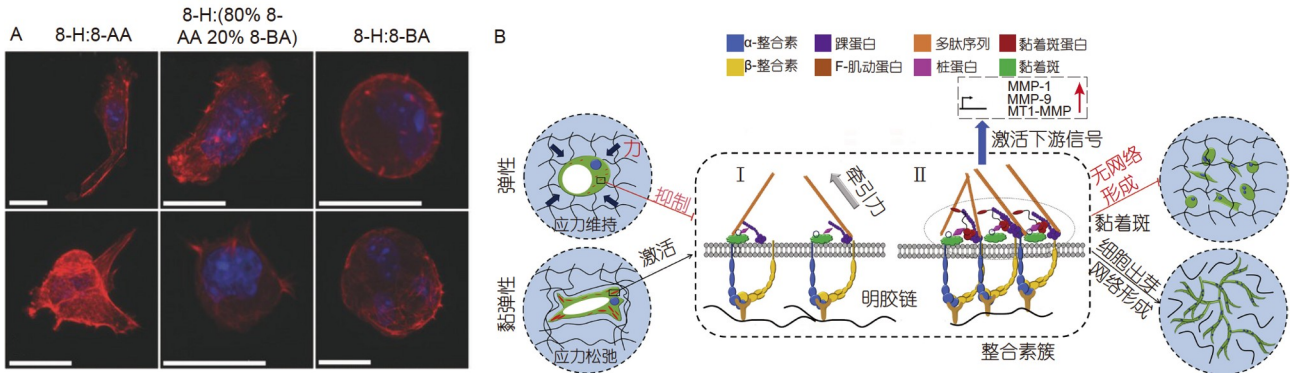


图 10 基于酰肼键的黏弹性水凝胶及其生物医学应用. A: 包埋在不同类型水凝胶中的细胞肌动蛋白骨架(红色)和细胞核(蓝色)的免疫荧光染色图像(8-H:8-AA: 黏弹性水凝胶; 8-H:8-BA: 弹性水凝胶)(比例尺: 20 μm)(修改自参考文献[50], 已获得 American Chemical Society 版权许可); B: 黏弹性水凝胶网络能够快速形成黏着斑, 而弹性共价水凝胶不促进黏着斑的形成(修改自参考文献[24], 已获得 Elsevier 版权许可)

Figure 10 Acylhydrazone bond-based viscoelastic hydrogels and their biomedical applications. A: Immunofluorescence staining images of cellular actin backbones (red) and nuclei (blue) encapsulated in different types of hydrogels. (8-H:8-AA: viscoelasticity hydrogel; 8-H:8-BA: elastic hydrogel) (scale bar: 20 μm) (modified from ref. [50] with copyright permission from American Chemical Society); B: the viscoelastic hydrogel network can rapidly form FA, while the elastic covalent hydrogels do not promote the formation of FA, leading to an abrogation of vascular morphogenesis (modified from ref. [24] with copyright permission from Elsevier)

酯交换为基础的黏弹性水凝胶。硫酯反应与硼酸盐的裂解反应相比较慢, 但是快于脲键的裂解反应, 其交换反应速率通常在 10^{-4} 到 10^{-2} s之间。虽然可逆的硫代酯化反应一直被认为是天然化学连接的基础, 但直到最近才开始研究其动态特性对细胞行为的影响。

Anseth课题组^[54]利用硫酯水凝胶研究了黏弹性对MSCs铺展的影响(图11A)。其利用硫醇官能化的8臂PEG大分子单体与含有和不含有硫酯的二乙烯基分子交联, 分别产生黏弹性网络和弹性网络。研究发现, 在硫酯水凝胶中, 细胞可凭借网络的黏弹性在24 h之内铺展并提高增殖率, 而在弹性非硫酯交联网络中, 由于hMSCs无法重塑其周围环境而保持圆形(图11B)。此外, 该课题组^[98]基于硫酯交换实现了水凝胶的光可控黏弹性。其利用LAP和5-降冰片烯-2-羧酸在材料中溶胀并引发第二硫醇-烯反应, 从而消耗网络中的硫醇物质, 从而有效降低黏弹性。在不损伤细胞且不改变弹性模量的情况下, 可将平均松弛时间为740000 s黏弹性硫酯水凝胶原位转变为纯弹性水凝胶。与培养在纯弹性水凝胶上的成纤维细胞相比, 黏弹性水凝胶促进了细胞的铺展, 提高了YAP/TAZ核质比。培养24 h后通过降低水凝胶黏弹性, 细胞的铺展面积以及YAP/TAZ核质比明显下降(图11C)。Grinstaff课题组^[99]开发了一种基于可逆硫酯键的黏弹性水凝胶用于促进烧伤创面愈合。该水凝胶是通过聚乙烯亚胺末端的胺基与内部含

有硫酯连接的NHS激活的PEG反应, 形成酰胺交联的原位聚合水凝胶。将上述水凝胶注射于皮肤的烧伤部位, 其表现出优异的黏附性能和吸收渗出液的能力, 并能促进新血管的形成和伤口的愈合。与传统的烧伤敷料相比, 该黏弹性水凝胶不仅可以促进伤口愈合还可以避免更换或去除敷料所造成的二次机械伤害, 具有良好的临床应用前景。

3.3 复合交联

复合交联是指通过动态共价键-非共价键、动态共价键之间或非共价键之间以不同的组合方式形成水凝胶, 将不同的键合方式所赋予的力学因素引入其中并进行单独调控。通过复合交联的方式, 可以实现水凝胶力学性能解耦, 对于体外基质微环境的复杂模拟和独立调控具有重要的实际意义和应用价值。此外, 复合交联水凝胶, 通过交联互穿网络或半互穿网络的构建, 一方面可保证水凝胶网络黏弹性, 另一方面通过胶原或基底膜等天然网络的引入, 为细胞提供了黏附位点。复合交联网络为研究人员提供了更丰富的水凝胶构建手段, 逐渐成为近年来水凝胶网络的研究热点。

Chaudhuri课题组^[21]构建了重组基底膜(reconstituted basement membrane, rBM)和海藻酸钠- Ca^{2+} 交联互穿的网络进行三维包埋细胞。该网络可在保持刚度

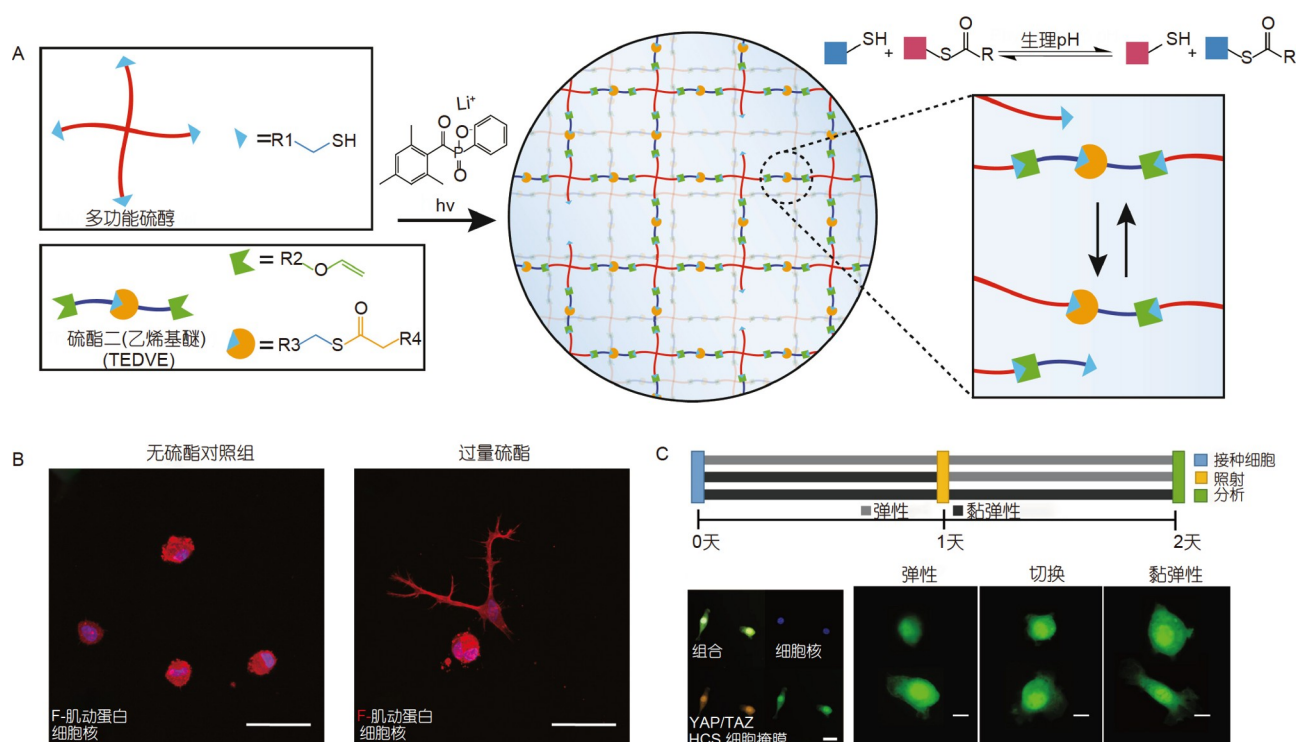


图 11 基于硫酯键的黏弹性水凝胶及其生物医学应用. A: 光聚合硫酯交换水凝胶示意图: 在光引发剂和光照下, 多官能团硫醇和双官能团烯烃之间发生硫烯反应; 网络中存在的过量硫醇在硫酯交换反应中与主链硫酯反应(修改自参考文献[54], 已获得Elsevier版权许可); B: 细胞形态的代表图像: 弹性网络中的细胞保持圆形, 而黏弹性网络中的细胞呈现出铺展的形态(比例尺: 50 μm)(修改自参考文献[54], 已获得Elsevier版权许可); C: 分别将细胞接种到弹性、黏弹性和转换水凝胶网络的YAP/TAZ染色, 细胞掩膜(橙色)、DAPI(蓝色)和YAP/TAZ(绿色)(比例尺: 30 μm)(修改自参考文献[98], 已获得Springer Nature版权许可)

Figure 11 Viscoelastic hydrogels based on thioester bonds and their biomedical applications. A: Schematic diagram of photopolymerized thioester exchange hydrogel; under photoinitiator and light, thiol reaction occurs between multifunctional thiol and bifunctional alkene; excess thiol present in the network reacts with the main chain thioester in the thioester exchange reaction (modified from ref. [54] with copyright permission from Elsevier); B: representative image of cell shape: cells in the elastic network remain round, while cells in the viscoelastic network present a spreading shape (scale bar: 50 μm) (modified from ref. [54] with copyright permission from Elsevier); C: YAP/TAZ staining of cells seeded on elastic, viscoelastic and switched hydrogel network, respectively; cell mask (orange), DAPI (blue), and YAP/TAZ (green) (scale bar: 30 μm) (modified from ref. [98] with copyright permission from Springer Nature)

和配体密度一致的情况下, 提供不同的塑性力学环境(图12A)。其中rBM网络主要提供黏附作用, 例如提供如层粘连蛋白和IV型胶原蛋白等基底膜中常见的细胞配体; 海藻酸盐- Ca^{2+} 网络提供力学性能的控制, 其通过调控海藻酸盐的分子量与交联剂的浓度来改变交联程度, 从而调节塑性大小。作者利用该水凝胶体系研究了在受限环境中, 基质塑性对于乳腺癌细胞MDA-MB-231迁移的影响, 发现在高塑性网络中, 细胞产生类似于伪足的凸起中富含 β -integrin, Rac1, 以及Arp2/3复合物, 这种伪足凸起会促进周围的交联互穿网络机械性地打开通道并重塑, 以此来促进细胞迁移(图12B)。此外, 复合交联可增强对凝胶机械性能的调控。例如, Chaudhuri课题组^[100]开发了基于HA和I型胶原的应力

松弛互穿网络水凝胶, 用于研究ECM的黏弹性对MSCs行为的影响。其中, HA网络是通过在HA上修饰醛基和酰肼基, 基于腙键交联所形成, 该网络的应力松弛率可由醛基修饰的种类、HA的浓度调控。HA网络与胶原复合所得到的互穿网络表现出两种不同的应力松弛过程: 一种来自胶原纤维的重组和流动; 另一种来自HA中酰肼键的交联解离动力学。通过对比两种不同的应力松弛性能改变方式发现, 通过动态共价交联调整应力松弛性能的互穿网络水凝胶可以促进细胞铺展、胶原纤维重组以及机械信号黏着斑的形成。此外, $\beta 1$ -integrin和桩蛋白(paxillin)两种黏着斑的标志物在动态的网络中高度表达, 证明应力松弛较快的水凝胶通过形成黏着斑来介导机械力, 影响细胞骨架收缩, 实现不

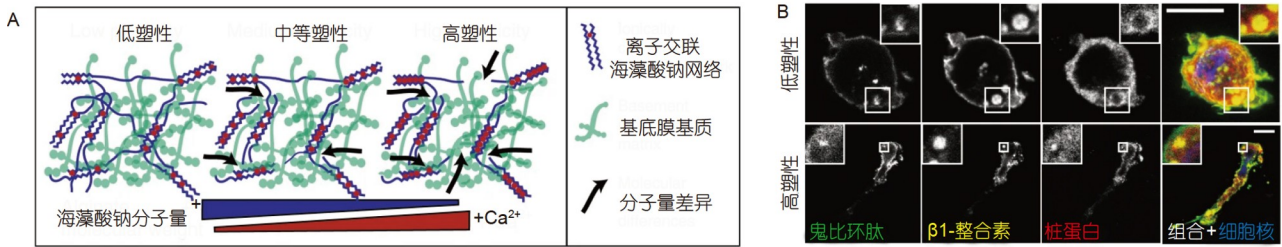


图 12 基于复合交联的黏弹性水凝胶及其生物学应用。A: 利用海藻酸盐(蓝色)和重组基底膜基质(绿色)的互穿网络调控水凝胶塑性的方法示意图(修改自参考文献[21], 已获得Springer Nature版权许可); B: 黏着斑的标记物 $\beta 1$ -integrin在高塑性水凝胶网络中高表达, paxillin分布在其外周, 而在低塑性网络中 $\beta 1$ -integrin和paxillin均低表达(比例尺: $10 \mu\text{m}$)(修改自参考文献[21], 已获得Springer Nature版权许可)

Figure 12 Viscoelastic hydrogels based on composite cross-linking and their biomedical applications. A: Schematic illustration of the method for regulating matrix plasticity in the interpenetrating network of alginate (blue) and rBM matrix (green) (modified from ref. [21] with copyright permission from Springer Nature); B: The marker of adhesive spots, $\beta 1$ -integrin, is highly expressed in the high plasticity hydrogel network, paxillin is distributed in its periphery, while both $\beta 1$ -integrin and paxillin are lowly expressed in the low plasticity network (scale bar: $10 \mu\text{m}$) (modified from ref. [21] with copyright permission from Springer Nature)

同应力松弛的凝胶内细胞形态和功能上的差异。

除了在细胞层面发挥作用, 复合交联黏弹性水凝胶也在组织工程中释放出巨大的潜力。通过将高分子聚合物网络与胶原蛋白、层粘连蛋白、基底膜等复合, 形成可控的黏弹性水凝胶材料来促进类器官的形成^[101]。Mooney课题组^[102]利用rBM和海藻酸钠- Ca^{2+} 交联的互穿网络水凝胶研究了基质黏弹性对肠道类器官生长的影响。相比于弹性水凝胶对照组, 包埋在黏弹性水凝胶中的肠道类器官生长迅速, 形成了成熟的肠道隐窝和绒毛结构。Shoichet课题组^[103]构建了具有可控应力松弛特性的HA-层粘连蛋白水凝胶用于调节胆管类器官的分化和形态发生。该水凝胶是通过HA-酮和HA-醛与PEG-四氧胺或肽双氧胺反应生成肟键交联而成。通过在HA网络中掺杂层粘连蛋白可诱导胆管细胞自组装为类器官, 该水凝胶的应力松弛率可通过HA以及层粘连蛋白的含量来调控。研究发现, 与低应力松弛率水凝胶相比, 包埋在快速应力松弛水凝胶中的胆管细胞可以自组装成更多的胆管类器官。胆管细胞可通过肌球蛋白的收缩以及YAP的激活来促进原发性胆管类器官的形态发生。上述研究证实, 基质黏弹性是调节类器官形态发生的一个关键因素, 类器官与黏弹性水凝胶的结合将有助于推动类器官在个性化医疗和药物筛选等领域的应用和发展。

4 总结和展望

近十几年来, 随着材料科学、化学、细胞生物物

理学等多学科的蓬勃发展, 人们通过使用各种生物支架来研究细胞和材料的关系, 促进了对细胞和ECM之间相互作用以及信号转导的理解。对该领域的研究也从具有恒定特性的生物材料发展到能够指导细胞行为的具有时间特性的仿生黏弹性材料。与传统共价交联的弹性水凝胶相比, 黏弹性水凝胶能够更好地模拟天然ECM和组织的力学微环境。然而, 从目前的研究情况来看, 仿生黏弹性水凝胶的制备和调控, 以及其在生物学领域应用方面还处于起步阶段, 仍存在许多问题与不足, 亟需解决和改进。

(1) 缺乏针对黏弹性水凝胶定量分析的模型。目前对水凝胶黏弹性的定量分析以基于宏观的剪切流变学以及基于微观的压痕测试为主, 但在评估生物组织以及水凝胶的黏弹性时, 其特征参数易受到测试条件影响, 例如温度、加载频率等。因此, 为了更好地定量分析以及比较不同材料和生物组织的黏弹性, 需要建立统一的测试标准以及读取分析数据的方法。

(2) 缺乏针对黏弹性水凝胶精确控制的模型。除了准确地获取材料的黏弹性特征, 精确控制和调节材料的应力松弛时间也尤其重要。开发具有广泛黏弹性尺度且可精确调控的黏弹性水凝胶可为模拟重要的生物学过程, 如胞内的机械传导过程(约几秒钟)、干细胞的分化(约数十天)、类器官的培养(约数周)等提供重要的研究平台。目前, 通过引入动态构建化学的概念已经设计了一系列物交联和动态交联的黏弹性水凝胶。综合来看, 物理交联的水凝胶具有很好的可逆性和快速的应力松弛率(例如, 疏水作用和主客体相互作用的

水凝胶松弛时间为0.1~10 s), 但其稳定性和机械强度较差; 而基于化学交联的水凝胶键交换和反应动力学速率慢, 应力松弛时间长, 但体系较为稳定. 此外, 基于不同动态共价键所构建的黏弹性水凝胶具有广泛可调的应力松弛率, 其松弛时间尺度可从 10^{-2} s(如硼酸酯键水凝胶)跨越到 10^7 s(如脲键). 因此, 可根据应用目的选择适当的动态共价交联策略以获得不同黏弹性的水凝胶材料. 此外, 虽然目前已经开发了一系列的理论模型, 如麦克斯韦模型^[104]、分子离合器模型^[105]等来预测和精准设计材料的黏弹性, 但是尚未设计出统一的标准模型. 进一步提高对水凝胶黏弹性的精准调控将有助于分析和理解细胞和ECM之间的动态相互作用.

(3) 缺乏原位时空可控的黏弹性水凝胶. 生理条件下在不同时间点独立调节水凝胶交联动力学而不改变平衡网络结构、化学成分及刚度来实时调控水凝胶的黏弹性对于研究迁移、自组装、衰老、干细胞的机械

记忆等复杂的生物学行为至关重要. 目前对该领域的研究集中于在pH^[106]、光照^[98]等外部刺激下, 通过改变交联剂的动力学来实现对水凝胶黏弹性的实时独立调控. 然而, 这些外部刺激与细胞培养条件不相容, 其调控尺度也很有限, 限制了其在生物医学领域的应用. 因此, 研究生理条件下基于刺激响应的时空动态黏弹性水凝胶将为克服这一挑战提供有效工具.

(4) 细胞响应黏弹性基质的分子路径尚不清楚. 虽然人们对细胞如何感知和响应黏弹性微环境的机械信号通路和分子路径的理解在不断发展, 但目前大多数的分子路径仍集中在肌球蛋白收缩性、YAP/TAZ蛋白响应通路以及基于整合素的机械敏感受体等途径上, 然而这些机制通路仍然不完整和明确, 基质黏弹性调控细胞及组织行为的力学生物学机制仍待进一步阐明. 随着越来越多的人开始关注该领域, 相信仿生黏弹性水凝胶将在生理/病理研究、细胞治疗、组织修复和再生医学方面实现突破.

参考文献

- Zhang L Y. The development status of medical polymer materials in China (in Chinese). *Shanxi Chem*, 2005, 25: 11–14+33 [张立英. 我国医用高分子材料的发展现状. *山西化工*, 2005, 25: 11–14+33]
- Bartnikowski M, Wellard R, Woodruff M, et al. Tailoring hydrogel viscoelasticity with physical and chemical crosslinking. *Polymers*, 2015, 7: 2650–2669
- Mantha S, Pillai S, Khayambashi P, et al. Smart hydrogels in tissue engineering and regenerative medicine. *Materials*, 2019, 12: 3323
- Allen M E, Hindley J W, Baxani D K, et al. Hydrogels as functional components in artificial cell systems. *Nat Rev Chem*, 2022, 6: 562–578
- Liu Q, Zheng S, Ye K, et al. Cell migration regulated by RGD nanospacing and enhanced under moderate cell adhesion on biomaterials. *Biomaterials*, 2020, 263: 120327
- Yousef M, Tsiani E. Metformin in lung cancer: review of *in vitro* and *in vivo* animal studies. *Cancers*, 2017, 9: 45
- Dembo M, Wang Y L. Stresses at the cell-to-substrate interface during locomotion of fibroblasts. *Biophys J*, 1999, 76: 2307–2316
- Tarus D, Hamard L, Caraguel F, et al. Design of hyaluronic acid hydrogels to promote neurite outgrowth in three dimensions. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2016, 8: 25051–25059
- Oh S H, An D B, Kim T H, et al. Wide-range stiffness gradient PVA/HA hydrogel to investigate stem cell differentiation behavior. *Acta Biomater*, 2016, 35: 23–31
- Cassereau L, Miroshnikova Y A, Ou G, et al. A 3D tension bioreactor platform to study the interplay between ECM stiffness and tumor phenotype. *J Biotechnol*, 2015, 193: 66–69
- Kolahi K S, Donjacour A, Liu X, et al. Effect of substrate stiffness on early mouse embryo development. *PLoS ONE*, 2012, 7: e41717
- Narkhede A A, Crenshaw J H, Manning R M, et al. The influence of matrix stiffness on the behavior of brain metastatic breast cancer cells in a biomimetic hyaluronic acid hydrogel platform. *J Biomed Mater Res A*, 2018, 106: 1832–1841
- Sargeant T D, Desai A P, Banerjee S, et al. An *in situ* forming collagen-PEG hydrogel for tissue regeneration. *Acta Biomater*, 2012, 8: 124–132
- Engler A J, Sen S, Sweeney H L, et al. Matrix elasticity directs stem cell lineage specification. *Cell*, 2006, 126: 677–689
- Hanjaya-Putra D, Yee J, Ceci D, et al. Vascular endothelial growth factor and substrate mechanics regulate *in vitro* tubulogenesis of endothelial progenitor cells. *J Cell Mol Med*, 2010, 14: 2436–2447

- 16 Levental K R, Yu H, Kass L, et al. Matrix crosslinking forces tumor progression by enhancing integrin signaling. *Cell*, 2009, 139: 891–906
- 17 Moore S W, Keller R E, Koehl M A R. The dorsal involuting marginal zone stiffens anisotropically during its convergent extension in the gastrula of *Xenopus laevis*. *Development*, 1995, 121: 3131–3140
- 18 Toh W S, Loh X J. Advances in hydrogel delivery systems for tissue regeneration. *Mater Sci Eng C*, 2014, 45: 690–697
- 19 Chaudhuri O, Gu L, Klumpers D, et al. Hydrogels with tunable stress relaxation regulate stem cell fate and activity. *Nat Mater*, 2016, 15: 326–334
- 20 Madl C M, Lesavage B L, Dewi R E, et al. Maintenance of neural progenitor cell stemness in 3D hydrogels requires matrix remodelling. *Nat Mater*, 2017, 16: 1233–1242
- 21 Wisdom K M, Adebowale K, Chang J, et al. Matrix mechanical plasticity regulates cancer cell migration through confining microenvironments. *Nat Commun*, 2018, 9: 1–3
- 22 Loebel C, Mauck R L, Burdick J A. Local nascent protein deposition and remodelling guide mesenchymal stromal cell mechanosensing and fate in three-dimensional hydrogels. *Nat Mater*, 2019, 18: 883–891
- 23 Lin X, Liu Y, Bai A, et al. A viscoelastic adhesive epicardial patch for treating myocardial infarction. *Nat Biomed Eng*, 2019, 3: 632–643
- 24 Wei Z, Schnellmann R, Pruitt H C, et al. Hydrogel network dynamics regulate vascular morphogenesis. *Cell Stem Cell*, 2020, 27: 798–812.e6
- 25 Wei Z, Yang J H, Zhou J, et al. Self-healing gels based on constitutional dynamic chemistry and their potential applications. *Chem Soc Rev*, 2014, 43: 8114–8131
- 26 Qin Z, Buehler M J. Cooperative deformation of hydrogen bonds in beta-strands and beta-sheet nanocrystals. *Phys Rev E*, 2010, 82: 061906
- 27 Okay O. Self-healing hydrogels formed via hydrophobic interactions. In: Seiffert S, ed. *Supramolecular Polymer Networks and Gels. Advances in Polymer Science*. Cham: Springer, 2015. 101–142
- 28 Rodell C B, Kaminski A L, Burdick J A. Rational design of network properties in guest-host assembled and shear-thinning hyaluronic acid hydrogels. *Biomacromolecules*, 2013, 14: 4125–4134
- 29 Nam S, Stowers R, Lou J, et al. Varying PEG density to control stress relaxation in alginate-PEG hydrogels for 3D cell culture studies. *Biomaterials*, 2019, 200: 15–24
- 30 Zhang Y, Tao L, Li S, et al. Synthesis of multiresponsive and dynamic chitosan-based hydrogels for controlled release of bioactive molecules. *Biomacromolecules*, 2011, 12: 2894–2901
- 31 Tang S, Ma H, Tu H C, et al. Adaptable fast relaxing boronate-based hydrogels for probing cell-matrix interactions. *Adv Sci*, 2018, 5: 1800638
- 32 Weickenmeier J, Kurt M, Ozkaya E, et al. Magnetic resonance elastography of the brain: A comparison between pigs and humans. *J Mech Behav Biomed Mater*, 2018, 77: 702–710
- 33 Juliar B A, Strieder-Barboza C, Karmakar M, et al. Viscoelastic characterization of diabetic and non-diabetic human adipose tissue. *Biorheology*, 2020, 57: 15–26
- 34 Liu Z, Bilston L. On the viscoelastic character of liver tissue: experiments and modelling of the linear behaviour. *Biorheology*, 2000, 37: 191–201
- 35 Klatt D, Papazoglou S, Braun J, et al. Viscoelasticity-based MR elastography of skeletal muscle. *Phys Med Biol*, 2010, 55: 6445–6459
- 36 Clancy N T, Nilsson G E, Anderson C D, et al. A new device for assessing changes in skin viscoelasticity using indentation and optical measurement. *Skin Res Tech*, 2010, 16: 210–228
- 37 Sridhar M, Insana M F. Ultrasonic measurements of breast viscoelasticity. *Med Phys*, 2007, 34: 4757–4767
- 38 Forgacs G, Foty R A, Shafir Y, et al. Viscoelastic properties of living embryonic tissues: a quantitative study. *Biophys J*, 1998, 74: 2227–2234
- 39 Fell N L A, Lawless B M, Cox S C, et al. The role of subchondral bone, and its histomorphology, on the dynamic viscoelasticity of cartilage, bone and osteochondral cores. *Osteoarthritis Cartilage*, 2019, 27: 535–543
- 40 Gersh K, Nagaswami C, Weisel J. Fibrin network structure and clot mechanical properties are altered by incorporation of erythrocytes. *Thromb Haemost*, 2009, 102: 1169–1175
- 41 Nam S, Lee J, Brownfield D G, et al. Viscoplasticity enables mechanical remodeling of matrix by cells. *Biophys J*, 2016, 111: 2296–2308
- 42 Kasza K E, Rowat A C, Liu J, et al. The cell as a material. *Curr Opin Cell Biol*, 2007, 19: 101–107
- 43 Lakes R S, Katz J L. Viscoelastic properties of wet cortical bone—II. Relaxation mechanisms. *J BioMech*, 1979, 12: 679–687
- 44 Biewener A A, Roberts T J. Muscle and tendon contributions to force, work, and elastic energy savings: a comparative perspective. *Exerc Sport Sci Rev*, 2000, 28: 99–107

- 45 Pei D, Hu X, Jin C, et al. Energy storage and dissipation of human periodontal ligament during mastication movement. *ACS Biomater Sci Eng*, 2018, 4: 4028–4035
- 46 Sack I, Jöhrens K, Würfel J, et al. Structure-sensitive elastography: on the viscoelastic powerlaw behavior of *in vivo* human tissue in health and disease. *Soft Matter*, 2013, 9: 5672–5680
- 47 Wuerfel J, Paul F, Beierbach B, et al. MR-elastography reveals degradation of tissue integrity in multiple sclerosis. *NeuroImage*, 2010, 49: 2520–2525
- 48 Baghban M, Mojra A. Early relaxation time assessment for characterization of breast tissue and diagnosis of breast tumors. *J Mech Behav Biomed Mater*, 2018, 87: 325–335
- 49 Chen S, Sanchez W, Callstrom M R, et al. Assessment of liver viscoelasticity by using shear waves induced by ultrasound radiation force. *Radiology*, 2013, 266: 964–970
- 50 McKinnon D D, Domaille D W, Cha J N, et al. Biophysically defined and cytocompatible covalently adaptable networks as viscoelastic 3D cell culture systems. *Adv Mater*, 2014, 26: 865–872
- 51 Chaudhuri O, Gu L, Darnell M, et al. Substrate stress relaxation regulates cell spreading. *Nat Commun*, 2015, 6: 1800638
- 52 Chaudhuri O. Viscoelastic hydrogels for 3D cell culture. *Biomater Sci*, 2017, 5: 1480–1490
- 53 Mahaffy R E, Shih C K, MacKintosh F C, et al. Scanning probe-based frequency-dependent microrheology of polymer gels and biological cells. *Phys Rev Lett*, 2000, 85: 880–883
- 54 Brown T E, Carberry B J, Worrell B T, et al. Photopolymerized dynamic hydrogels with tunable viscoelastic properties through thioester exchange. *Biomaterials*, 2018, 178: 496–503
- 55 Zhu X, Cirovic S, Shaheen A, et al. Investigation of fullerene-induced changes in poroelasticity of human hepatocellular carcinoma by AFM-based creep tests. *Biomech Model Mechanobiol*, 2018, 17: 665–674
- 56 Zhu X, Wang Z, Liu X. Investigation of effect of fullerene on viscoelasticity properties of human hepatocellular carcinoma by AFM-based creep tests. *J Mater Res*, 2017, 32: 2521–2531
- 57 Grant C A, Twigg P C, Tobin D J. Static and dynamic nanomechanical properties of human skin tissue using atomic force microscopy: effect of scarring in the upper dermis. *Acta Biomater*, 2012, 8: 4123–4129
- 58 Rubiano A, Delitto D, Han S, et al. Viscoelastic properties of human pancreatic tumors and *in vitro* constructs to mimic mechanical properties. *Acta Biomater*, 2018, 67: 331–340
- 59 Galli M, Comley K S C, Shean T A V, et al. Viscoelastic and poroelastic mechanical characterization of hydrated gels. *J Mater Res*, 2009, 24: 973–979
- 60 Darling E M, Zauscher S, Guilak F. Viscoelastic properties of zonal articular chondrocytes measured by atomic force microscopy. *Osteoarthritis Cartilage*, 2006, 14: 571–579
- 61 Efremov Y M, Okajima T, Raman A. Measuring viscoelasticity of soft biological samples using atomic force microscopy. *Soft Matter*, 2020, 16: 64–81
- 62 Oyen M L. Nanoindentation of biological and biomimetic materials. *Exp Techniques*, 2013, 37: 73–87
- 63 Isaksson H, Nagao S, MaLkiewicz M, et al. Precision of nanoindentation protocols for measurement of viscoelasticity in cortical and trabecular bone. *J Biomech*, 2010, 43: 2410–2417
- 64 Canovic E P, Qing B, Mijailovic A S, et al. Characterizing multiscale mechanical properties of brain tissue using atomic force microscopy, impact indentation, and rheometry. *J Vis Exp*, 2016, 115: e54201
- 65 Schnurr B, Gittes F, MacKintosh F C, et al. Determining microscopic viscoelasticity in flexible and semiflexible polymer networks from thermal fluctuations. *Macromolecules*, 1997, 30: 7781–7792
- 66 Chen Y Q, Kuo C Y, Wei M T, et al. Intracellular viscoelasticity of HeLa cells during cell division studied by video particle-tracking microrheology. *J Biomed Opt*, 2014, 19: 011008
- 67 Kloxin A M, Kloxin C J, Bowman C N, et al. Mechanical properties of cellularly responsive hydrogels and their experimental determination. *Adv Mater*, 2010, 22: 3484–3494
- 68 Liu W, Gong X, Ngai T, et al. Near-surface microrheology reveals dynamics and viscoelasticity of soft matter. *Soft Matter*, 2018, 14: 9764–9776
- 69 Kajitani T, Motokawa K, Kosaka A, et al. Chiral crystal-like droplets displaying unidirectional rotational sliding. *Nat Mater*, 2019, 18: 266–272

- 70 Ghovvati M, Baghdasarian S, Baidya A, et al. Engineering a highly elastic bioadhesive for sealing soft and dynamic tissues. *J Biomed Mater Res*, 2022, 110: 1511–1522
- 71 Huang D, Huang Y, Xiao Y, et al. Viscoelasticity in natural tissues and engineered scaffolds for tissue reconstruction. *Acta Biomater*, 2019, 97: 74–92
- 72 Schultz K M, Furst E M. Microrheology of biomaterial hydrogelators. *Soft Matter*, 2012, 8: 6198–6205
- 73 De Vlaminck I, Dekker C. Recent advances in magnetic tweezers. *Annu Rev Biophys*, 2012, 41: 453–472
- 74 Wirtz D. Particle-tracking microrheology of living cells: principles and applications. *Annu Rev Biophys*, 2009, 38: 301–326
- 75 Wang H, Heilshorn S C. Adaptable hydrogel networks with reversible linkages for tissue engineering. *Adv Mater*, 2015, 27: 3717–3736
- 76 Chaudhuri O, Cooper-White J, Janmey P A, et al. Effects of extracellular matrix viscoelasticity on cellular behaviour. *Nature*, 2020, 584: 535–546
- 77 Tang S, Richardson B M, Anseth K S. Dynamic covalent hydrogels as biomaterials to mimic the viscoelasticity of soft tissues. *Prog Mater Sci*, 2021, 120: 100738
- 78 Ma Y, Han T, Yang Q, et al. Viscoelastic cell microenvironment: hydrogel-based strategy for recapitulating dynamic ECM mechanics. *Adv Funct Mater*, 2021, 31: 2100848
- 79 Grolman J M, Weinand P, Mooney D J. Extracellular matrix plasticity as a driver of cell spreading. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2020, 117: 25999–26007
- 80 Whitehead J, Griffin K H, Gionet-Gonzales M, et al. Hydrogel mechanics are a key driver of bone formation by mesenchymal stromal cell spheroids. *Biomaterials*, 2021, 269: 120607
- 81 Darnell M, Young S, Gu L, et al. Substrate stress-relaxation regulates scaffold remodeling and bone formation *in vivo*. *Adv Healthc Mater*, 2017, 6: 1601185
- 82 Chen X, Dong C, Wei K, et al. Supramolecular hydrogels cross-linked by preassembled host-guest PEG cross-linkers resist excessive, ultrafast, and non-resting cyclic compression. *NPG Asia Mater*, 2018, 10: 788–799
- 83 Feng Q, Wei K, Lin S, et al. Mechanically resilient, injectable, and bioadhesive supramolecular gelatin hydrogels crosslinked by weak host-guest interactions assist cell infiltration and *in situ* tissue regeneration. *Biomaterials*, 2016, 101: 217–228
- 84 Rodell C B, MacArthur Jr J W, Dorsey S M, et al. Shear-thinning supramolecular hydrogels with secondary autonomous covalent crosslinking to modulate viscoelastic properties *in vivo*. *Adv Funct Mater*, 2015, 25: 636–644
- 85 xu X, Feng Q, Ma X, et al. Dynamic gelatin-based hydrogels promote the proliferation and self-renewal of embryonic stem cells in long-term 3D culture. *Biomaterials*, 2022, 289: 121802
- 86 Tong X, Yang F. Sliding hydrogels with mobile molecular ligands and crosslinks as 3D stem cell niche. *Adv Mater*, 2016, 28: 7257–7263
- 87 Tong X, Yang F. Recent progress in developing injectable matrices for enhancing cell delivery and tissue regeneration. *Adv Healthc Mater*, 2018, 7: 1701065
- 88 Tan H, Xiao C, Sun J, et al. Biological self-assembly of injectable hydrogel as cell scaffold via specific nucleobase pairing. *Chem Commun*, 2012, 48: 10289–10291
- 89 Zhang D, Xu Z, Li H, et al. Fabrication of strong hydrogen-bonding induced coacervate adhesive hydrogels with antibacterial and hemostatic activities. *Biomater Sci*, 2020, 8: 1455–1463
- 90 Meng L, Shao C, Cui C, et al. Autonomous self-healing silk fibroin injectable hydrogels formed via surfactant-free hydrophobic association. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2020, 12: 1628–1639
- 91 Yesilyurt V, Webber M J, Appel E A, et al. Injectable self-healing glucose-responsive hydrogels with pH-regulated mechanical properties. *Adv Mater*, 2016, 28: 86–91
- 92 Hong S H, Kim S, Park J P, et al. Dynamic bonds between boronic acid and alginate: hydrogels with stretchable, self-healing, stimuli-responsive, remoldable, and adhesive properties. *Biomacromolecules*, 2018, 19: 2053–2061
- 93 Hu Y, Jia Y, Wang S, et al. A self-healing, viscoelastic hydrogel promotes healing of brain lesions. *bioRxiv*, 2022, doi: 10.1101/2022.05.05.490746
- 94 Liu A, Wu K, Chen S, et al. Tunable fast relaxation in imine-based nanofibrillar hydrogels stimulates cell response through TRPV4 activation. *Biomacromolecules*, 2020, 21: 3745–3755
- 95 Wei Z, Gerecht S. A self-healing hydrogel as an injectable instructive carrier for cellular morphogenesis. *Biomaterials*, 2018, 185: 86–96

- 96 Lee J N, Lee S Y, Park W H. Bioinspired self-healable polyallylamine-based hydrogels for wet adhesion: synergistic contributions of catechol-amino functionalities and nanosilicate. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2021, 13: 18324–18337
- 97 Richardson B M, Wilcox D G, Randolph M A, et al. Hydrazone covalent adaptable networks modulate extracellular matrix deposition for cartilage tissue engineering. *Acta Biomater*, 2019, 83: 71–82
- 98 Carberry B J, Rao V V, Anseth K S. Phototunable viscoelasticity in hydrogels through thioester exchange. *Ann Biomed Eng*, 2020, 48: 2053–2063
- 99 Cook K A, Naguib N, Kirsch J, et al. *In situ* gelling and dissolvable hydrogels for use as on-demand wound dressings for burns. *Biomater Sci*, 2021, 9: 6842–6850
- 100 Lou J, Stowers R, Nam S, et al. Stress relaxing hyaluronic acid-collagen hydrogels promote cell spreading, fiber remodeling, and focal adhesion formation in 3D cell culture. *Biomaterials*, 2018, 154: 213–222
- 101 Kratochvil M J, Seymour A J, Li T L, et al. Engineered materials for organoid systems. *Nat Rev Mater*, 2019, 4: 606–622
- 102 Elosegui-Artola A, Gupta A, Najibi A J, et al. Matrix viscoelasticity controls spatio-temporal tissue organization. *bioRxiv*, 2022, doi: 10.1101/2022.01.19.476771
- 103 Rizwan M, Ling C, Guo C, et al. Viscoelastic notch signaling hydrogel induces liver bile duct organoid growth and morphogenesis. *Adv Healthc Mater*, 2022, 11: 2200880
- 104 Renaud F, Dion J L, Chevallier G, et al. A new identification method of viscoelastic behavior: application to the generalized Maxwell model. *Mech Syst Signal Process*, 2011, 25: 991–1010
- 105 Chen S, Liu A, Wu C, et al. Static-dynamic profited viscoelastic hydrogels for motor-clutch-regulated neurogenesis. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2021, 13: 24463–24476
- 106 Chen H, Zhang J, Yu W, et al. Control viscoelasticity of polymer networks with crosslinks of superposed fast and slow dynamics. *Angew Chem Int Ed*, 2021, 60: 22332–22338

Biomimetic viscoelastic polymeric hydrogels and their biomedical applications

LEI Meng^{1,2}, LIU JingYi^{1,2}, XIE YiZhou^{1,2}, MA YuFei^{1,2}, XU Feng^{1,2} & WEI Zhao^{1,2}

1 The Key Laboratory of Biomedical Information Engineering of Ministry of Education, School of Life Science and Technology, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710049, China;

2 Bioinspired Engineering and Biomechanics Center (BEBC), Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710049, China

The intrinsic viscoelasticity of natural extracellular matrix and soft tissues of living organisms is a key factor in regulating cell behavior and tissue repair and regeneration. Dynamic polymeric hydrogels based on cross-linking of dynamic constructs can effectively mimic the viscoelastic mechanical microenvironment of *in vivo* cells or tissues, providing an important tool to regulate cell fate *in vitro* and reveal their mechanobiological response mechanisms, as well as providing a biomimetic scaffold material for tissue repair and regeneration. Based on the introduction of natural extracellular matrix and viscoelasticity of biological soft tissues, this review focuses on summarizing the design ideas, performance characterization and influencing factors of dynamic hydrogel materials, revealing the mechanisms of the viscoelastic microenvironment affecting cellular and tissue behavior. Finally, the existing problems in this field are analyzed and the future development direction is prospected. This review will help to inspire the design ideas of biomimetic functionalization of polymer hydrogels and the study of biological effects of materials, and further expand the biomedical applications of polymeric hydrogel materials.

biomimetic polymeric hydrogels, viscoelastic microenvironment, constitutional dynamic chemistry, mechanobiological mechanisms, tissue repair

doi: 10.1360/SSV-2022-0287