



壳聚糖基润滑液的制备及促进骨关节炎软骨修复作用研究

应悦, 柴新想, 刘轩, 江国华

(浙江理工大学材料科学与工程学院, 杭州 310018)

摘要: 为克服临床润滑液作为骨关节炎治疗粘液补充剂仅具抗磨效果的局限, 以壳聚糖、甲基丙烯酸酐、精氨酸、贻贝粘蛋白(Mussel adhesive protein, MAP)及双氯芬酸钠(Diclofenac sodium, DS)为主要材料, 设计了一种具有抗炎性能且摩擦学特性略优于临床润滑液的复合润滑液系统, 并通过组织切片染色和免疫组化染色评估其在骨关节炎治疗中的应用价值。结果表明: 当精氨酸共轭甲基丙烯酸酐化壳聚糖(Arginine-conjugated methacryloylated chitosan, CMA)与 MAP 的质量浓度比为 10:1 时, 在 $0.1 \sim 1000.0 \text{ s}^{-1}$ 的剪切速率下, CMA/MAP 的黏度从 $10.40 \text{ Pa}\cdot\text{s}$ 降至 $0.12 \text{ Pa}\cdot\text{s}$, 摩擦系数显著低于医用玻璃酸钠; DS 功能化后的复合润滑液 DS@CMA/MAP 在体外实验中表现出优异的生物相容性, 与不同浓度复合润滑液共培养的细胞活力均大于 90%, 并呈现增殖趋势, 划痕实验中 DS@CMA/MAP 组迁移效率提升 37.02%; DS@CMA/MAP 复合润滑液能够显著抑制炎症反应并促进软骨修复, 其 TNF- α 阳性率为假手术组的 245.32%, Aggrecan 覆盖率达到假手术组的 50.83%。该研究开发的 DS@CMA/MAP 复合润滑液在维持良好抗摩擦性能的同时, 兼具优异的生物相容性、促细胞迁移能力、抗炎及促进软骨修复功能, 为骨关节炎的综合治疗提供了新的策略。

关键词: 壳聚糖; 贻贝粘蛋白; 润滑液; 摩擦; 骨关节炎; 软骨

中图分类号: TB33

文献标志码: A

文章编号: 1673-3851(2026)07-0404-08

引文格式: 应悦, 柴新想, 刘轩, 等. 壳聚糖基润滑液的制备及促进骨关节炎软骨修复作用研究[J]. 浙江理工大学学报(自然科学), 2026, 55(4): 404-411.

Reference Format: YING Yue, CHAI Xinxiang, LIU Xuan, et al. A study on the preparation of chitosan-based lubricant for promoting cartilage repair in osteoarthritis[J]. Journal of Zhejiang Sci-Tech University, 2026, 55(4): 404-411.

A study on the preparation of chitosan-based lubricant for promoting cartilage repair in osteoarthritis

YING Yue, CHAI Xinxiang, LIU Xuan, JIANG Guohua

(School of Materials Science & Engineering, Zhejiang Sci-Tech University, Hangzhou 310018, China)

Abstract: To overcome the limitation of clinical lubricants used as viscosity-reducing synovial fluid supplements for osteoarthritis treatment, which offer only a single anti-wear effect, a composite lubricant system with anti-inflammatory properties and tribological characteristics slightly better than those of clinical lubricants was developed using chitosan, methacrylic anhydride, arginine, mussel adhesive protein (MAP), and diclofenac sodium (DS) as primary components. Its therapeutic potential for osteoarthritis was evaluated through tissue section staining and immunohistochemical staining. Results indicate that when the mass concentration ratio of arginine-conjugated methacryloylated chitosan (CMA) to MAP is 10:1, the viscosity of CMA/MAP decreases from $10.40 \text{ Pa}\cdot\text{s}$ to $0.12 \text{ Pa}\cdot\text{s}$ at shear rates ranging from 0.1 s^{-1} to 1000.0 s^{-1} , with a friction coefficient significantly lower than that of medical sodium hyaluronate. The DS-functionalized composite lubricant (DS@CMA/MAP) demonstrated excellent biocompatibility in vitro,

收稿日期: 2025-05-07 网络出版日期: 2025-10-09

作者简介: 应悦(2000—), 女, 浙江金华人, 硕士研究生, 主要从事生物医用材料方面的研究。

通信作者: 江国华, E-mail: ghjiang_cn@zstu.edu.cn

exhibiting cell viability $>90\%$ across different concentrations with a proliferation trend, and a 37.02% increase in migration efficiency in scratch assays. DS@CMA/MAP significantly suppressed inflammatory responses and promoted cartilage repair. Its TNF- α positivity rate reached 245.32% of the Sham operation group, while aggrecan coverage achieved 50.83% of the Sham operation group, demonstrating cartilage repair promotion. This study successfully developed the DS@CMA/MAP anti-inflammatory biomimetic composite lubricant, which maintains excellent anti-friction properties while exhibiting outstanding biocompatibility, enhanced cell migration capacity, anti-inflammatory effects, and cartilage repair promotion. It provides a novel potential strategy for the comprehensive treatment of osteoarthritis.

Key words: chitosan; mussel adhesive protein; lubricant; friction; osteoarthritis; gristle

0 引言

骨关节炎(Osteoarthritis, OA)是以关节软骨破坏或损伤为典型特征的退行性疾病^[1-2],削弱患者的骨强度,造成关节功能障碍,使患者活动变得困难,明显降低生活质量,给卫生保健系统和社会经济带来沉重的负担^[3]。当前骨关节炎的临床治疗主要依据患者具体情况,采取阶梯化、个体化治疗^[4]、物理疗法^[5-6]和药物治疗^[7-9],在适宜条件下进行手术治疗,以缓解疼痛、维持或改善关节功能、保护关节结构,提高患者生活质量。口服非甾体抗炎药(Nonsteroidal antiinflammatory drugs, NSAIDs)因治疗成本较低且疗效确切,成为普通患者的常用疗法,但延长服用NSAIDs的疗程会引起一系列不良反应,包括耐药性及严重的胃肠道反应^[10-11],急需开发一种副作用小,且可以通过减弱持续摩擦以减缓炎症发展的局部给药策略。

近年来,关节腔注射(Intra-articular injection, IA)被广泛运用于骨关节炎治疗领域^[12],该方法可以避开药物转运屏障、提高药物利用效率,具有局部药物浓度高、起效快速和全身副作用少等优点^[13]。壳聚糖(Chitosan, CS)的结构与软骨糖胺聚糖相似,两者都是由重复的二糖单元组成的长线性多糖^[14],可参与骨骼和软骨修复^[15-17]。骨关节中的天然透明质酸(Hyaluronic acid, HA)主要通过透明质酸酶进行代谢,而CS主要通过细胞吞噬作用降解,在黏度补充剂疗法中表现出了较慢的降解速率,增强的润滑能力和卓越的抗氧化应激能力,使其成为IA应用中HA的有前途的替代品,但CS固有的不溶于水或大多数有机溶剂的特性阻碍了其广泛应用^[18]。

本文对CS进行改性修饰,赋予其易溶于水的特性,并将所得产物CMA与贻贝粘蛋白(Mussel adhesive protein, MAP)混合,通过摩擦学测试确定复合润滑液CMA/MAP与贻贝粘蛋白的最佳浓度

比,将具有最佳抗磨效果的复合润滑液与非甾体抗炎药——双氯芬酸钠(Diclofenac sodiu, DS)混合形成载药壳聚糖基润滑液DS@CMA/MAP,并对其促细胞增殖与迁移能力、体内软骨修复能力进行评估,旨在制备润滑效果优异且具有抗炎效果的DS@CMA/MAP,为其在骨关节炎注射治疗中的实际应用提供理论依据。

1 实验部分

1.1 实验材料

壳聚糖(CS, 黏度 $100\sim 200\text{ mPa}\cdot\text{s}$)、精氨酸(Arg, 纯度 $\geq 99\%$)、N-羟基琥珀酰亚胺(NHS, 纯度 $\geq 98\%$)均购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司;甲基丙烯酸酐(MA, 纯度 94%)、1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳酰二亚胺盐酸盐(EDC, 纯度 98.5%)和双氯芬酸钠(DS, 纯度 99%)均购自上海麦克林生化科技股份有限公司;胎牛血清(优级)和细胞培养基(α -MEM)均购自赛默飞世尔科技公司;胰酶细胞消化液(质量分数 0.25%)、四甲基偶氮唑蓝(MTT, 质量浓度 5 mg/mL)、Calcein/PI细胞活性和细胞毒性测试试剂盒和多聚甲醛固定液(PFA, 质量分数 4%)均购自上海碧云天生物技术有限公司;贻贝粘蛋白(MAP, AR)购自广东方信生物科技有限公司;医用玻璃酸钠注射液(质量浓度 10 mg/mL)购自华熙生物科技股份有限公司;医用几丁糖注射液(质量浓度 12 mg/mL)购自上海其胜生物制剂有限公司;二甲基亚砷(DMSO, 纯度 99.9%)购自百灵威科技有限公司;磷酸盐缓冲溶液(PBS)购自北京兰杰柯科技有限公司;小鼠胚胎成骨细胞(MC3T3-E1)购自中国科学院细胞库;雄性大鼠(SD, 约 250 g)购自浙江壹分生物科技有限公司;聚四氟乙烯球(PTFE)购自上海穆德明橡塑科技有限公司;钛合金板(Ti6Al4V)购自东莞国理金属材料有限公司;透析袋(MWCO = $8000\sim 14000\text{ Da}$)购自北京微克航科技有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 丙烯酸酯化壳聚糖的合成

参考文献[19-21]方法制备精氨酸共轭甲基丙烯酸酯化壳聚糖(Arginine-conjugated methacryloylated chitosan, CMA), 主要过程如下: 将CS溶解在体积分数为1%的乙酸溶液中, 将MA逐滴滴入CS溶液中, 使 $n(\text{丙烯酸酯基})/n(\text{氨基}) \approx 1.67$, 室温下避光反应12 h, 产物用去离子水透析3 d, 冻干, 获得水溶性海绵状甲基丙烯酸酯化壳聚糖(Methacryloylated chitosan, CM); 将Arg与NHS、EDC共混搅拌1 h以活化羧基, 并将该混合溶液与CM溶液混合, 于40 °C避光反应24 h, 反应结束后, 用透析袋在去离子水中透析3 d, 冻干后室温避光保存, 得到CMA; 采用傅里叶红外光谱(Nicolet iS50, 美国 Thermo Electron Scientific 公司)和核磁共振光谱仪(Advance III 400, 瑞士 BRUKER 公司)对CMA结构进行表征。

1.2.2 DS@CMA/MAP的制备

将CMA与MAP以质量比10:1共混, 形成均匀澄清的CMA/MAP润滑液, 将可溶于水的DS与CMA/MAP共混, 得到DS@CMA/MAP复合润滑液, 其中DS的含量为6 mg/mL^[22]。

1.3 测试与表征

1.3.1 摩擦性能测试

为模拟关节假体中聚乙烯内衬和金属植入物之间的摩擦行为, 采用PTFE球(直径4 mm)和Ti6Al4V板组成摩擦副, 通过摩擦磨损测试仪(UMT, 美国 Center For Tribology 公司), 在室温下使用往复模式(振幅4 mm)持续测试300 s。测试参数包括不同载荷(2、5 N和10 N)、不同频率(1 Hz和3 Hz), Medical SH、Medical CS、质量浓度15 mg/mL CMA+质量浓度0.5 mg/mL MAP(15CMA/0.5MAP)、质量浓度15 mg/mL CMA+质量浓度1.0 mg/mL MAP(15CMA/1.0MAP)、质量浓度15 mg/mL CMA+质量浓度1.5 mg/mL MAP(15CMA/1.5MAP), 通过摩擦系数(Coefficient of friction, COF)曲线评估润滑性能。

1.3.2 黏度测试

通过流变仪(MCR30, 奥地利 Anton Paar 公司)分别对15CMA/1.5MAP、Medical SH、Medical CS溶液的黏度进行测试。将锥形板(直径50 mm, CP50)和基板距离固定在0.341 mm, 在二者之间加入500 μL 待测溶液, 去除多余溶液, 在0.1~

1000.0 s^{-1} 的剪切速率下收集黏度数据, 将得到的数据与临床润滑液黏度进行对比分析。

1.3.3 体外细胞毒性检测

利用MTT法评估DS@CMA/MAP的细胞毒性。以 α -MEM为溶剂, 分别配成质量浓度25、50、100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的CMA、MAP、CMA/MAP、DS、DS@CMA/MAP稀释溶液, 将MC3T3-E1细胞以 1×10^5 个/mL的密度接种于96孔板中, 置于CO₂培养箱(温度为37 °C, CO₂体积分数为5%)培养24 h; 每个孔中加入100 μL 的润滑液, 继续共培养24 h, 加入5 mg/mL MTT稀释液, 避光孵育4 h, 加入100 μL DMSO, 在摇床上振荡15 min, 通过酶标仪(LM-MK3, 美国 Thermo LabSystems 公司)在450 nm的波长下测量溶液的吸光度。细胞存活率计算公式为:

$$X/\% = \frac{OD_2 - OD_1}{OD_0 - OD_1} \times 100,$$

其中: X为细胞存活率; OD_0 为不含细胞和材料的空白对照组吸光度值; OD_1 为仅含有细胞的对照组吸光度值; OD_2 为含有细胞和材料的实验组的吸光度值。

为了进一步测试复合润滑液的体外细胞毒性, 取1 mL密度为 1×10^5 个/mL的MC3T3-E1细胞悬液接种于玻璃培养皿中, 待充分贴壁生长后将200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的复合润滑液加入与细胞共培养24 h, 利用Calcein/PI细胞活性和细胞毒性试剂盒对细胞进行荧光染色, 分析在不同组分培养下的MC3T3-E1细胞状态, 通过激光共聚焦显微镜(C2日本Nikon公司)在488 nm和568 nm的激发波长下对活细胞(绿色荧光)和死细胞(红色荧光)进行可视化观察。

1.3.4 体外细胞迁移测试

通过MC3T3-E1细胞划痕试验来分析载药复合润滑液对细胞迁移的影响。将MC3T3-E1细胞以 1×10^5 个/mL的密度, 接种于6孔板中, 当细胞培养至密度超过90%时, 丢弃原始培养基, 用10 μL 无菌枪头进行划痕; 分别将DS、CMA/MAP、DS@CMA/MAP的无血清 α -MEM稀释液加入孔板中, 继续培养24 h, 并用显微镜于0 h和24 h观察细胞迁移情况, 通过软件Image J软件计算细胞划痕的封闭面积。

1.3.5 骨关节炎治疗效果评估

所有动物实验均经浙江省实验动物中心实验动物福利伦理委员会(编号: ZJCLA-IACUC-

20010985)和浙江理工大学实验动物伦理会(编号:20241101-01)批准,所有实验均按照《实验动物护理和使用指南》进行。

选用雄性 SD 大鼠进行实验,在 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ 下对大鼠进行 12 h 的明暗循环,在实验前适应 2 d。麻醉成功后取仰卧位,对大鼠的右膝部进行脱毛,膝关节部做切口,进行前交叉韧带横切(Anterior Cruciate Ligament Transection, ACLT)及内侧半月板切除术(Destabilization of the Medial Meniscus, DMM),术后将外部肌肉皮肤进行缝合,使用碘伏消毒,建立骨关节炎模型。将大鼠随机分成 Sham 组(进行假手术处理即仅剖开关节囊后逐层缝合不做关节手术处理,注射无菌 PBS)、OA 组(注射无菌 PBS)、DS 组(注射 DS 溶液)和 DS@CMA/MAP 组(注射 DS@CMA/MAP 溶液)。每组建模 4 周,自骨关节炎模型成功建立之日起(定义为 Day 0),所有实验大鼠按治疗周期分为短期组(4 周)和长期组(8 周),期间于第 0、7、14、21、28、35、42 天和 49 天通过 26 G 针头实施关节腔注射(单次剂量 $(90 \pm 10) \mu\text{L}$);非干预时段动物自由摄食饮水,最终短期组于第 28 天、长期组于第 56 天实施安乐死,并采集右膝关节样本。

将收集的关节组织置于质量分数为 4% 的 PFA 溶液中振荡 4 周,脱钙后用石蜡包埋,分别采用苏木精-伊红染色法和番红固绿染色法对骨组织进行染色,通过生物显微镜进行检测,之后采用软件 Image J 对 8 周治疗后的免疫组化切片中的肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 和聚集蛋白聚糖 (Aggrecan) 进行统计分析。

1.3.6 统计学分析

使用 Origin Paired Comparison Plot 分析显著性差异。n. s. 表示不存在显著性差异, $P > 0.05$ (不着重标出); * 表示存在显著差异, $P < 0.05$; ** 表示存在高度显著差异, $P < 0.01$; *** 表示存在极高度显著性差异, $P < 0.001$ 。

2 结果与讨论

2.1 CMA 化学表征分析

红外光谱结果如图 1 所示: 1712 cm^{-1} 处 $\text{C}=\text{O}$ 的伸缩振动峰几乎未见位移,但 1538 cm^{-1} 的酰胺基 ($-\text{CO}-\text{NH}-$) 吸收峰强度显著增加,表明甲基丙烯酰基在壳聚糖上接枝,精氨酸与甲基丙烯酸酐修饰的都是 C2 氨基, CMA 在红外谱图上并未看见较为明显的多余峰出现。

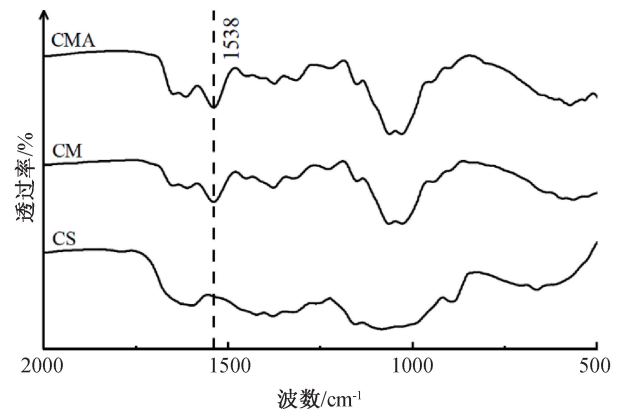


图 1 红外光谱图

核磁氢谱结果如图 2 所示,从图中可以看出: 5.6 ppm 与 5.4 ppm 两处信号归属于甲基丙烯酰基团末端双键上的 $=\text{CH}$, 1.9 ppm 处的化学位移为甲基丙烯酰基团的 $-\text{CH}_2$, 表明 CM 的成功合成; CMA 在 2.5 ppm 处有一个小峰,对应 Arg 的氨基, 3.3 ppm 处有一个明显的吸收峰,代表与胍基相连的亚甲基,表明 Arg 被成功接枝到了 CM; 根据文献 [19-21] 计算方法,本文制备了甲基丙烯酰化纯度约为 57%、精氨酸接枝率为 41.3% 的 CMA 产物。

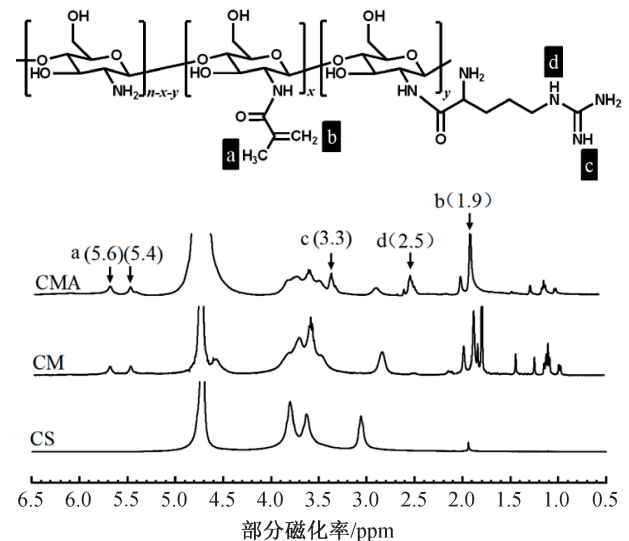


图 2 核磁氢谱图

2.2 摩擦性能分析

在不同负载不同频率下通过摩擦磨损测试仪 (UMT-3, 美国 Bruker 公司) 测试不同比例复合润滑液的摩擦系数, 结果如图 3 所示。从图 3 可以看出: 通过提升 MAP 的质量浓度可在一定程度上有效地提高抗摩擦性能, 添加了质量浓度 1.5 mg/mL MAP 的复合润滑液的润滑性能相较于医用玻璃酸钠与医用几丁糖表现出了更优异的性能。负载力越大, COF 值越大; 摩擦频率越高, COF 值越小。综

上所述,质量浓度 15 mg/mL CMA 与质量浓度 1.5 mg/mL MAP 组合的复合润滑剂在润滑性能测试中展现出优于临床关节滑液的特性,完全能够满足人工关节的生物润滑需要。

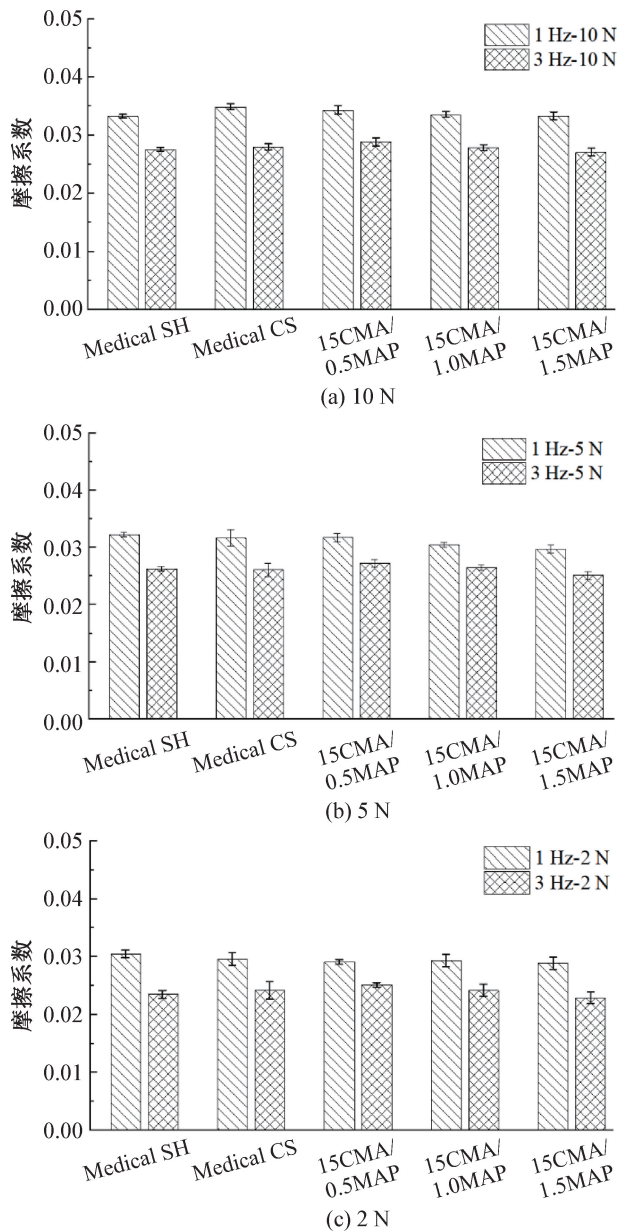


图3 不同负荷、不同频率下不同比例 CMA/MAP 的摩擦性能柱状图

2.3 黏度性能分析

对润滑性能较好的 15CMA/1.5MAP 进行黏度评估,结果如图 4 所示。从图 4 可以看出:随着剪切速率的增加,15CMA/1.5MAP 黏度降低,在高速剪切下($100\sim 1000\text{ s}^{-1}$),剪切黏度降低的速率趋于平缓;15CMA/1.5MAP 的黏度介于临床滑液玻璃酸钠与几丁糖之间,在 $600\sim 1000\text{ s}^{-1}$ 剪切速率下略高于临床滑液,说明了制备的 15CMA/1.5MAP

(后简称 CMA/MAP)能作为关节的黏度补充剂使用,本文选取其用于后续细胞和动物实验。

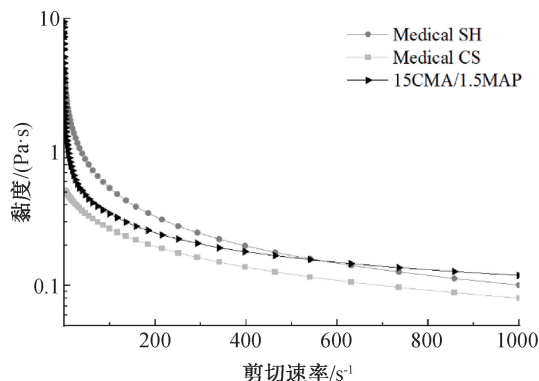


图4 流变黏度曲线图

2.4 体外细胞相容性分析

为了研究 DS@CMA/MAP 的体外细胞相容性,采用 MTT 法对 MC3T3-E1 细胞活力进行评估,结果如图 5 所示。在模拟人体体温条件下, CMA/MAP、DS 和 DS@CMA/MAP 在质量浓度为 $25\sim 400\text{ }\mu\text{g/mL}$ 范围内的细胞存活率均 $>80\%$, 各组之间不存在显著性差异,且一定质量浓度的 DS@CMA/MAP 对细胞生存表现出增殖效果。

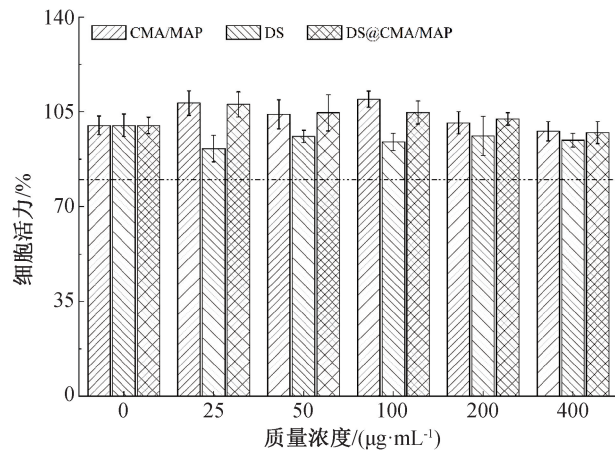


图5 不同润滑液组分与 MC3T3-E1 共孵育 24 h 的细胞活力率柱状图

通过 Calcein-AM/PI 染色试剂对 DS@CMA/MAP 与细胞共培养后的存活死亡情况与增值效果进行可视化评估(绿色代表活细胞,红色代表死细胞)。结果如图 6 所示:经不同材料处理的 MC3T3-E1 细胞均可观察到明显的绿色荧光信号,说明了各组材料对细胞活力均没有显著影响;与 DS 组相比较, CMA/MAP、DS@CMA/MAP 共培养的 MC3T3-E1 细胞表现出更强的绿色荧光信号和更弱的红色荧光信号, CMA/MAP 滑液在下对 MC3T3-E1 细胞有明显的促细胞增殖作用,且 DS 没有影响该增殖能力。

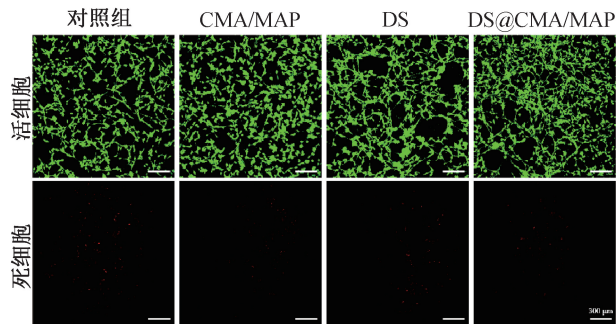


图 6 不同润滑液组分与 MC3T3-E1 细胞的染色照片

2.5 体外细胞迁移分析

从图 7 和图 8 可以看出:CMA/MAP 组在划痕试验中的细胞迁移速度表现尤为突出,划痕宽度显著减少了约 51.83%;DS@CMA/MAP 组虽较 CMA/MAP 组迁移效率略低,但仍显著优于对照组,划痕宽度减少了约 37.02%,其原因可能是 DS 通过干预细胞代谢通路抑制趋化因子释放^[11,23];各个处理组细胞在迁移过程中均保持良好的形态特征,未出现异常的形态变化,同时也未观察到明显的细胞凋亡或坏死现象,说明 DS@CMA/MAP 能通

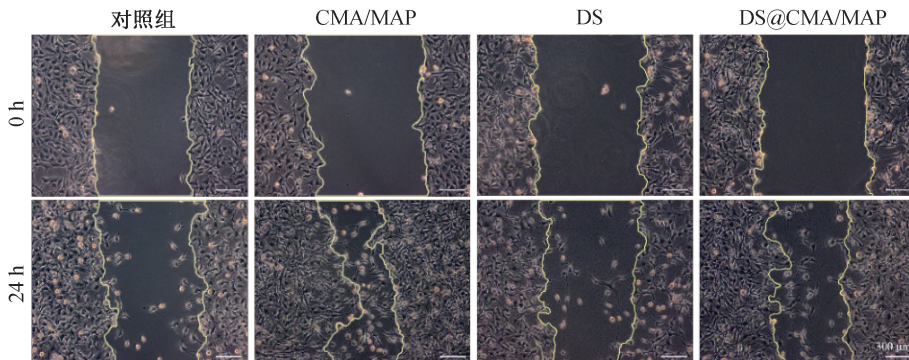


图 7 不同组分润滑剂与 MC3T3-E1 细胞共培养 24 h 细胞迁移照片

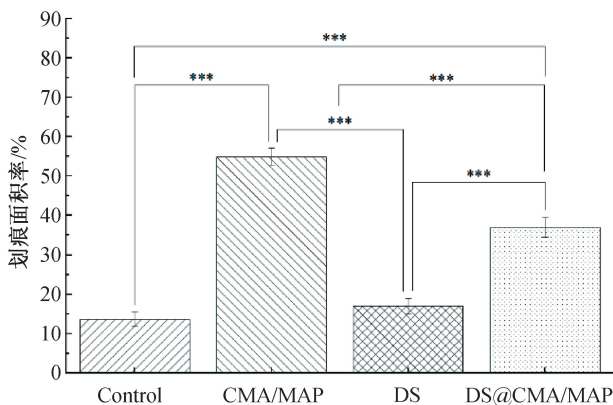


图 8 不同组分润滑剂与 MC3T3-E1 细胞共培养 24 h 细胞划痕面积率柱状图

2.7 免疫组化分析

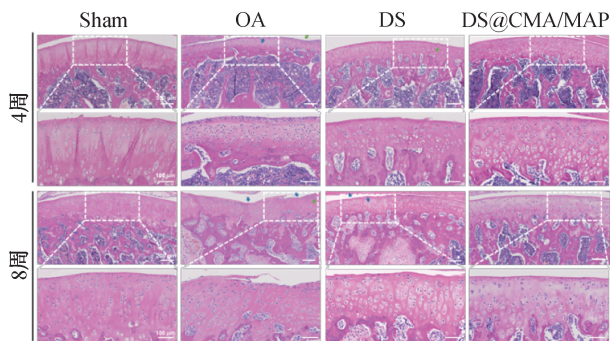
DS 作为一种非甾体抗炎药通过抑制环氧化

过协同增效机制显著提升细胞迁移动力学特性与生存稳态,为后续软骨修复体内实验提供理论支撑。

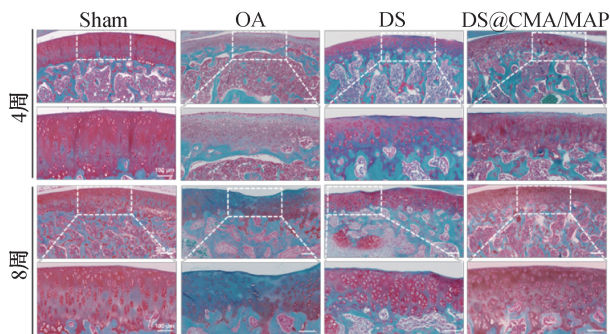
2.6 组织病理学

组织学分析表明,软骨细胞形态、表面平整度及胶原沉积可作为关节炎进展的关键指征,通过 H&E 与 S-O/FG 染色分别对大鼠骨关节炎模型治疗 4 周和 8 周的疗效评估,结果如图 9 所示。从图 9 可以看出:DS 及 DS@CMA/MAP 组均未出现炎性细胞浸润,且软骨表面缺损程度显著低于 OA 组,未见纤维化现象,说明了 DS 的抗炎主导作用;OA 组软骨严重破坏,DS 组因单纯抗炎无法补偿关节液黏度缺失,软骨完整性丧失,DS@CMA/MAP 组维持了近似健康组的表面结构(仅成熟软骨细胞略少);DS@CMA/MAP 组的胶原/蛋白多糖再生面积显著超越对照组,且随时间扩展至全软骨区,而 DS 组修复速率滞后于炎症降解。以上结果表明,DS@CMA/MAP 兼具延缓病变与抑制炎症的双重效能。

酶 COX-2 活性来调控炎症通路。从图 10(a) 的免疫组化分析可以看出:DS 与 DS@CMA/MAP 均能促进软骨标志物 Aggrecan 的棕黄色阳性表达,其中 DS@CMA/MAP 组因复合润滑剂的协同抗炎作用显著优于 DS 组,这种增强效应源于 CMA/MAP 通过上调 Aggrecan 合成代谢保护软骨细胞免于变性。TNF- α 检测进一步证实协同机制,经 DMM+ ACLT 处理 OA 组激活了大量巨噬细胞而呈现强棕黄色阳性,DS@CMA/MAP 组仅见微弱淡黄色,其表达水平较 OA 组降低幅度显著大于 DS 组(见图 10(b)),表明复合材料通过双重路径即润滑性改善与抗炎强化,可以有效抑制 TNF- α 释放,延缓骨关节炎进展。

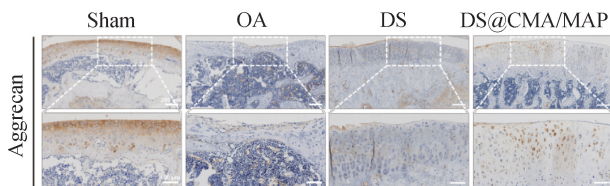


(a) 苏木精-伊红(H&E)染色照片

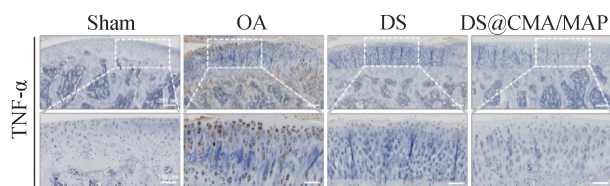


(b) 番红-O/固绿(S-O/FG)染色照片

图9 DS@CMA/MAP治疗8周后体内治疗效果评估



(a) 膝关节Aggrecan



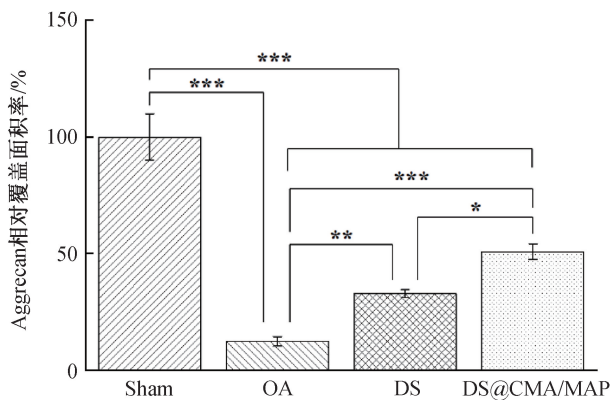
(b) 关节滑膜TNF-α

图10 治疗8周免疫组化切片照片

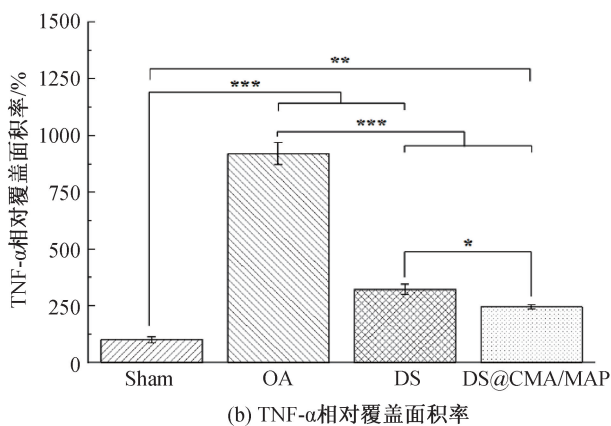
3 结论

本文以CS作为主要材料,通过MA、Arg的改性接枝改变其不溶于水的固有特性,并与MAP、DS共混,制备复合润滑液DS@CMA/MAP,通过分析其摩擦性能、体外细胞毒性、细胞迁移性能、体内动物实验治疗效果,主要结论如下:

a)CMA易溶于水,其溶液呈透明粘稠状。质量浓度15 mg/mL的CMA和1.5 mg/mL MAP混合后的复合滑液具有与临床滑液相似的黏度性能,且在不同负荷及不同频率下的摩擦性能较临床润滑液优异。



(a) Aggrecan相对覆盖面积率



(b) TNF-α相对覆盖面积率

图11 治疗8周免疫组化定量分析柱状图

b)DS的加入不影响细胞活力,不同浓度DS@CMA/MAP与细胞共培养后,细胞活力均>80%;活死染色中绿色荧光面积大,荧光强度高,证明了DS@CMA/MAP具有良好的细胞相容性。细胞迁移实验中,DS@CMA/MAP组划痕宽度显著减少了约51.83%,表明DS@CMA/MAP复合润滑液具有促细胞迁移能力。

c)骨关节炎治疗模型表明,在经过DS@CMA/MAP治疗8周后,软骨表面较OA模型组更为完整,细胞形态均匀,未出现异常增殖。TNF-α表达降低,显著抑制了炎症发展;Aggrecan表达增多,促进了软骨胶原生成。

本文制备的DS@CMA/MAP复合润滑液抗磨效果稳定,生物相容性良好,促细胞迁移能力优异,抑制炎症效果显著,在骨关节炎临床治疗领域具有潜在的应用价值。

参考文献:

- [1] Tang S, Zhang C, Oo W M, et al. Osteoarthritis[J]. Nat Rev Dis Primers, 2025, 11(1):10.
- [2] Shen P, Löhning M. Insights into osteoarthritis development

- from single-cell RNA sequencing of subchondral bone[J]. *RMD Open*, 2022, 8(2): e002617.
- [3] Hunter D J, Bierma-Zeinstra S. Osteoarthritis[J]. *The Lancet*, 2019, 393(10182): 1745-1759.
- [4] Allen K D, Woolson S, Hoening H M, et al. Stepped exercise program for patients with knee osteoarthritis: a randomized controlled trial[J]. *Annals of Internal Medicine*, 2021, 174(3): 298-307.
- [5] Slomski A. Physical therapy outperforms injections for knee osteoarthritis[J]. *JAMA*, 2020, 323(24): 2453.
- [6] Walker A, Sibley F, Carter A, et al. Social return on investment analysis of a physiotherapy-led service for managing osteoarthritis in primary care[J]. *The Lancet*, 2017, 389: S98.
- [7] Richard M J, Driban J B, McAlindon T E. Pharmaceutical treatment of osteoarthritis[J]. *Osteoarthritis and Cartilage*, 2023, 31(4): 458-466.
- [8] Laslett L L, Scheepers L E J M, Antony B, et al. Krill oil for knee osteoarthritis: a randomized clinical trial [J]. *JAMA*, 2024, 331(23): 1997-2006.
- [9] Neogi T, Dubreuil M, Peloquin C, et al. Association of physical therapy care with use of intra-articular injections in people with knee osteoarthritis: a real-world cohort study[J]. *Arthritis & Rheumatology*, 2025, 77(8): 1006-1014.
- [10] Dubreuil M, Louie-Gao Q, Peloquin C E, et al. Risk of myocardial infarction with use of selected non-steroidal anti-inflammatory drugs in patients with spondyloarthritis and osteoarthritis[J]. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 2018, 77(8): 1137-1142.
- [11] Bindu S, Mazumder S, Bandyopadhyay U. Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and organ damage: a current perspective[J]. *Biochemical Pharmacology*, 2020, 180: 114147.
- [12] Qiu S, Shi Y, Zang H, et al. Multifunctional injectable microspheres for osteoarthritis therapy via spatiotemporally modulating macrophage polarization and inflammation[J]. *NPJ Regenerative Medicine*, 2024, 9: 22.
- [13] Zhang Y, Chen X, Tong Y, et al. Development and prospect of intra-articular injection in the treatment of osteoarthritis: a review[J]. *Journal of Pain Research*, 2020, 13: 1941-1955.
- [14] Tan H, Chu C R, Payne K A, et al. Injectable in situ forming biodegradable chitosan-hyaluronic acid based hydrogels for cartilage tissue engineering[J]. *Biomaterials*, 2009, 30(13): 2499-2506.
- [15] Meng T, Zhao Z, Song M, et al. Carboxybetaine modified chitosan as viscosupplementation for osteoarthritis therapy[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2025, 307: 142155.
- [16] Zhao X, Yang L, Zhang L, et al. Novel biomimetic macromolecules system for highly efficient lubrication, ROS scavenging and osteoarthritis treatment [J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2024, 239: 113956.
- [17] Scognamiglio F, Travan A, Donati I, et al. A hydrogel system based on a lactose-modified chitosan for viscosupplementation in osteoarthritis [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2020, 248: 116787.
- [18] Fan X, Chen G, Wang S, et al. Applications of chitosan and its derivatives in the treatment of osteoarthritis[J/OL]. *Aging and Disease*, 2024. (2024-12-16)[2025-05-07]. <https://doi.org/10.14336/AD.2024.1080>.
- [19] Xu P, Chen P, Sun Y, et al. A novel injectable thermo/photo dual-crosslinking hydrogel based on modified chitosan for fast sealing open globe injury[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2024, 331: 121854.
- [20] Liu W G, Zhang J R, Cao Z Q, et al. A chitosan-arginine conjugate as a novel anticoagulation biomaterial[J]. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 2004, 15(11):1199-1203.
- [21] Huang L, Wang W, Xian Y, et al. Rapidly in situ forming an injectable Chitosan/PEG hydrogel for intervertebral disc repair [J]. *Materials Today Bio*, 2023, 22:100752.
- [22] Hanafy A S, El-Ganainy S O. Thermoresponsive Hyalomer intra-articular hydrogels improve monoiodoacetate-induced osteoarthritis in rats[J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 2020, 573: 118859.
- [23] Ghosh S. Metabolomic studies for metabolic alterations induced by non-steroidal anti-inflammatory drugs: Mini review [J]. *Biomolecules*, 2021, 11(10): 1456.

团队介绍

江国华教授团队长期从事组织修复材料制备及修复机制研究,利用多糖、丝素蛋白等天然高分子材料固有的结构与性能特性,通过多重动态交联、超分子组装以及纳米复合等策略,仿生制备组织修复材料,阐明其微结构环境对仿细胞外基质结构和功能的调控机制以及在皮肤、骨组织、心肌组织等再生修复过程中的细胞生物导向作用机制。团队负责人江国华,教授,2006年3月毕业于浙江大学,获理学博士学位。2006年8月至2008年7月先后在新加坡南洋理工大学、美国密歇根大学从事博士后研究。以第一/通信作者在 *Chem. Eng. J.*、*Acta Biomater.*、*Biomaterials*、*J. Mater. Chem. A*、*ACS Appl. Mater. Interfaces* 等学术期刊发表 SCI 论文 170 余篇,获授权发明专利 20 余项。

(责任编辑:廖乾生)