

附件 2

项目编号	2022LC107
------	-----------

评审编号: 329 273

吉林省卫生健康科技能力提升项目 申请书（任务书）

项目负责人类别 1. 重点实验室（重点专科）☐

2. 青年骨干☒ 3. 其他☐

项目类别 1. 基础研究☐ 2. 临床研究☒

3. 公共卫生研究☐ 4. 卫生健康管理模式创新☐

5. 实验室生物安全风险防控，生物因素危害防
护技术研究☐

所属学科 骨科学

项目名称 3D 打印多孔 PLGA/水凝胶复合支架的制备及其在椎
体重建中的应用探究

申请者 董荣鹏

承担单位 吉林大学

申请日期 2022 年 8 月 1 日

吉林省卫生健康委员会制

二〇二二年七月

填写说明及装订要求

一、填写说明

（一）封面填写说明。

1. 本申请书封面中“□”所示为所需选择的项目，在对应选项后以√标识。
2. “项目负责人类别”栏按照申请人所属类别填选。
3. “项目类别”栏中按照实际研究类别填选。
4. “所属学科”栏请参照国家标准学科分类，填三级学科名称，应使用四号宋体居中填写。
5. “项目名称”应确切反映研究内容，最多不超过25个汉字，使用四号宋体左顶格填写。
6. “承担单位”请按单位公章全称填写，应使用四号宋体居中填写。
7. “申请者”及“申请日期”栏，应使用四号宋体居中填写。

（二）正文填写说明。

1. 申请书正文内所填内容，请用五号仿宋 GB2312 字体填写（合同签署页除外）。
2. （六、经费预算）栏中经费预算应根据项目研究情况合理编制，项目负责人及依托单位负责人签名应手签或使用个人名章。

3.（八、项目组成员基本情况）中项目组成员签字栏必须由项目组成员本人签字，不得代签或打印。

4.（九、项目承担单位审查意见）中申报项目各意见栏应明确填写，各负责人签字应手签或使用个人名章，不得打印；加盖公章处要求皆为原件，不得复印。

5. 请申报人在填写申请书前认真阅读（十二、合同签署）中的合同条款。项目负责人（乙方）及承担单位（丙方）各处应使用四号宋体清晰打印。“项目负责人”及“单位负责人”处应手签或使用个人名章，日期处应加盖单位公章。

二、装订及其他要求

（一）所有材料装订成一册（一式 4 份），装订顺序依次是《申请书》及相关佐证材料（可以用复印件），佐证材料应真实、简明。

（二）请用 A4 纸单面打印（复印），自左侧中上 1/4 和中下 1/4 处装订，请勿用塑料及彩色封皮。

（三）对填写及装订不符合要求的申请书，不予补正处理。

一、项目基本信息

研究课题	项目名称	3D 打印多孔 PLGA/水凝胶复合支架的制备及其在椎体重建中的应用探究						
	研究领域	1. 基础医学 ☐ 2. 临床医学 ☒ 3. 口腔医学 ☐ 4. 公卫与预防医学 ☐ 5. 药学 ☐ 6. 中医 ☐ 7. 中西医结合 ☐ 8. 其它 ☐						
	所属学科	临床医学	代码	1002	起止年月	自 2023 年 1 月 至 2025 年 12 月		
申请者	姓 名	董荣鹏	出生年月	1983.10		性别	男	
	技术职称	主治医师	最高学历	研究生		民族	汉族	
	所学专业	临床医学	最高学历毕业 学校及专业	吉林大学 临床医学	本人 电 话	13019132340		
承担单位	名 称	吉林大学						
	通讯地址	吉林省长春市前进大街 2699 号				邮政编码	130000	
	科研联系人	许宁				联系电话	85619276	
课题组	参加单位数	总人数	高级职称	中级职称	初级职称	博士生	硕士生	辅助人员
	2	8	3	3	1		1	
经费预算		经费预算： 5 万元， 其中申请财政专项补助： 5 万元						
研究主要内容摘要	本研究拟制备一种新型可降解且促骨修复的新型复合支架，用以填充脊柱椎体切除后的缺损空间，并完成脊柱稳定性的重建。其由 3D 打印的多孔 PLGA 支架作为支撑结构，同时利用负压抽吸等技术将制备的具有生物活性的低浓度水凝胶充填支架的孔隙中，凝胶缓释生物活性因子（BMP2），进而实现促骨长入的同时，复合支架缓慢降解。在此研究中，通过调控 PLGA 的比例以及水凝胶的浓度，实现骨长入和支架降解相匹配。在成功制备该复合支架后，首先对支架进行性能表征，如力学性能、降解时间、降解 PH 值、孔隙结构、缓释性能等，之后对材料进行细胞水平和动物水平的生物学性能验证，评价材料的生物相容性和促骨生成作用。 通过本研究制备的复合支架，其兼备可降解和促骨修复性能，能够解决目前临床在脊柱重建中使用金属钛笼存在的系列问题：如植入物不降解、不能被移除、金属伪影、长期在体内可出现“金属病”、骨质不愈合、局部沉降等。同时本研究制备的新型材料所需医疗花费成本明显低于目前的钛合金材料。因此本研究拟开发的 3D 打印复合水凝胶支架具备促骨修复、相对低廉、生物相容性良好、可生物降解等优势，其应用前景广阔。							
预期成果摘要	预期研究成果： ①成功制备了具有可降解并促骨修复的医用新型复合支架。并且在下一阶段将该支架应用于大型动物（如羊、猪）的颈椎椎体中，验证其生物学作用和力学支撑，推进其向临床转化。 ②发表 SCI 论文 1-2 篇； ③申请国家发明专利 1 项。							

二、立项依据

项目研究的科学意义与效益，国内外研究现状分析等。

本研究的科学意义：

目前颈椎前路椎体次全切手术、脊柱椎体切除手术等涉及脊柱椎体重建的治疗策略基本采用金属钛笼支撑。但该治疗方案存在以下问题：植入物不降解、不能被移除、金属伪影、长期在体内可出现“金属病”、骨质不愈合、局部沉降等。因此，寻求一种可降解且能促进骨愈合的新型骨科内植物材料是十分必要的。

国内外发展现状及趋势：

骨缺损是一种常见的临床疾病，目前多采用自体或异体骨移植的方法进行治疗。脊柱外科的常见的颈椎前路椎体次全切除、脊柱肿瘤所采用的椎体切除等涉及椎体重建，均需要坚强支撑和大量植骨，与骨缺损类似。传统上，由于受伤或疾病造成的骨折和缺损通过临时和/或永久性植入物进行治疗。目前骨科内固定材料主要有：生物医用金属材料、无机非金属材料、高分子材料、复合材料等。临床上植骨融合的策略包括自体骨移植、同种异体骨移植和人工骨移植。自体骨移植是植骨融合的金标准，但它存在来源有限、对供体有损伤等缺点。异体骨移植同样存在潜在疾病传播及免疫排斥等不足。

骨骼生长不足会导致新形成的骨骼不愈合，在这种情况下，组织工程的进步为骨移植打开了一条新的路径，旨在利用支架、细胞和因子协同促进骨的修复。因此，修复骨缺损的一个主要问题是缺乏合适的植入物来加速骨再生和诱导骨愈合。或者，在骨组织工程中，单独使用生物材料或与合适的生物和化学因素结合使用来恢复受损骨组织的功能。细胞种子支架结构的植入已被用于增强骨再生。此外，生物活性生物材料的存在，例如从患者自身身上采集的自体骨或成骨补充剂，可能有助于骨形成。因此，在过去，已经开发了几种在缺损部位输送成骨细胞（骨形成细胞）和成骨生长因子的方法。同时，三维（3D）打印方法已被用于创建独特设计的支架，以更快地从骨损伤中恢复。具有互连孔隙的 3D 打印多孔支架应允许形成血管化组织，这是为孔隙内生长的细胞提供营养和氧气所必需的。在重建骨缺损所需的各种特征中，需要一种模仿骨折骨的患者特定设计，具有促进骨向内生长和愈合的能力，以便更快地从骨损伤中恢复。而这恰好可通过 3D 打印技术来实现。

水凝胶是一类独特的支架材料，可以通过分子组合和结构调控赋予多种不同的特异性功能，它还可以模拟自然的组织环境，为缺损部位提供结构支持，使骨缺损通过内在愈合机制修复。此外，用于制备水凝胶的原料广泛且易于获得，并且可以对其进行定制以获得用于植入或注射所需的几何形状，并且可以通过改变交联方法和程度轻松控制降解速率和孔隙率或释放曲线。

因此基于 3D 打印为代表的材料制造技术,可制备具有优异骨传导、骨诱导和骨整合特性的骨修复支架,结合生物活性水凝胶,构建复合支架成为骨科内固定材料发展的新趋势。

目前文献中已有报道开发了一种由填充有水凝胶的 3D 打印高分子组成的混合系统,如 Ivan Hernandez 等人开发了填充有生物活性水凝胶的 3D 打印聚己内酯 (PCL) 组成的混合系统,用于重建长骨缺损,实验证实可该技术的可行性。但由于凝胶内部网络的孔隙和降解速率,可能在一定程度上限制了骨细胞的长入,进而影响骨修复。此外, PCL 材料的降解时间较长,可长达 4 年以上,与骨修复过程并不相匹配。

而通过文献调研可知, PLGA 材料可通过调节聚丙交酯-乙交酯的比例,调控材料的降解时间。同时,越低浓度的水凝胶系统,其内部网络的孔隙率越大,孔径越大,进而促进骨细胞的长入和营养物质的运输。因而选择合适的 3D 打印技术和原料,以及与相匹配的生物活性水凝胶构建复合支架成了目前的研究重心和关键。

三、研究内容与预期成果

项目的具体研究内容和拟解决的关键科学问题、预期成果和提供形式,如系应用研究,应写明其应用前景。

一、主要研究内容

本课题拟制备一种新型医用可降解且促骨长入的复合支架,用于脊柱的椎体重建手术,从而解决当前颈椎使用的内固定材料存在的问题。本课题的研究内容主要分为3个部分。

1、制备新型复合支架

本课题拟采用的复合支架由3D打印的PLGA多孔支架和新型水凝胶组成。其中支架起支撑作用,而水凝胶起缓释蛋白(BMP-2)作用。

2、体外生物学特征的评价

体外生物学特征评价主要包括细胞毒性和支架的成骨作用评价。

3、在体生物学特征

载体生物学评价利用兔子股骨髁骨缺损疾病模型进行评价,进而评价支架植入体内的生物安全性和促骨修复作用。

二、拟解决的关键问题和关键技术

本研究中的关键问题主要有:①如何调控好3D打印时喷头的温度和走行速度制备合理的3D多孔PLGA支架;②筛选合理比例的OPA-gelatin水凝胶,合理缓释凝胶的同时最大限度保证生物蛋白分子的活性;③复合支架合理的力学性能。

本研究的关键技术为3D打印技术和4armPEG-OPA的合成。

三、研究成果:

①成功制备了具有可降解并促骨修复的医用新型复合支架。并且在下一阶段将该支架应用于大型动物(如羊、猪)的颈椎椎体中,再次验证其生物学作用和力学支撑,推进其向临床转化。

②发表SCI论文1-2篇;

③申请国家发明专利1项。

四、转化前景分析:

若能成功制备上述新型复合支架,其应用转化前景广阔。因为本研究中采用的PLGA是已经经过美国FDA批准的可降解材料,明胶是骨组织的组成成分之一,BMP-2蛋白早已经在临床上使用了。而椎体重建在颈椎前路、脊柱椎体肿瘤切除、脊柱结核椎体切除等治疗中应用需求巨大。而目前所使用的钛笼等金属器械存在诸多的问题,上述材料都能解决。同时材料的医疗花费成本明显低于目前的钛合金材料。因此本研究拟开发的3D打印复合水凝胶支架具备促骨修复、相对低廉、生物相容性良好、可生物降解等优势,其应用前景广阔。

四、研究方案

(一) 拟采取的研究方法及可行性分析

研究方法:

1、制备新型复合支架

①多孔 PLGA 支架

拟采用熔融沉积 (FDM) 3D 打印技术制备多孔圆柱体支架, 支架尺寸 $\phi 5\text{mm} \times \text{H}8\text{mm}$, 通过调控纤维丝粗细、孔隙率、孔径大小等参数, 控制支架的力学强度, 同时保证支架的生物学特性。

②新型水凝胶

在前期基础上, 调控 4armPEG-OPA 与明胶的比例, 选择两者的合适比, 从而达到合适的降解速率, 缓慢并合理的释放 BMP-2。

③构建复合支架

在获得满意的 3D 多孔 PLGA 支架和合适比的 OPA/gelatin 水凝胶, 利用真空负压抽吸方法将混有 BMP-2 蛋白的水凝胶灌入多孔支架, 成功构建多孔 3D 复合支架。

④复合支架释放 BMP-2 情况

将复合支架浸泡在 PBS 溶液中, 定期更换 PBS 溶液, 采用 BMP-2 试剂盒测试不同时间点 BMP2 的释放。

2、体外生物学特征

①细胞毒性: 将材料、复合支架与细胞共培养, 利用 CCK-8、活体染色、共聚焦等方式评价新型材料、复合支架的细胞毒性。

②成骨作用: 将 BMSCs 包裹于复合水凝胶支架中, 并利用成骨细胞诱导培养液培养细胞, 培养 3d, 7d, 14d, 21d 天后进行 HE、茜素红及 Vossa Kossa 染色, 并对样品进行成骨相关基因 (ALP、OCN 和 ColI) 的免疫荧光染色, 拍照。同时将不同时间包裹 BMSCs 的水凝胶进行免疫组化染色。

3、在体生物学特征

复合支架的在体生物学特征通过将支架植入日本大耳白兔的股骨髓中进行评价。

①组织相容性: 抽取不同时间点兔子的血液, 进行血生化检测, 并取相应的组织 (心、肝、肾) 进行切片染色, 观察是否有血生化的异常和脏器的损伤。

②成骨作用: 在不同时间点将兔子死后用甲醛固定, 现行 Micro-CT 检查, 判断新生骨长入和支架降解情况, 然后行 BMP-2 免疫组化然后, 评价 BMP-2 的释放和生成情况。

可行性分析:

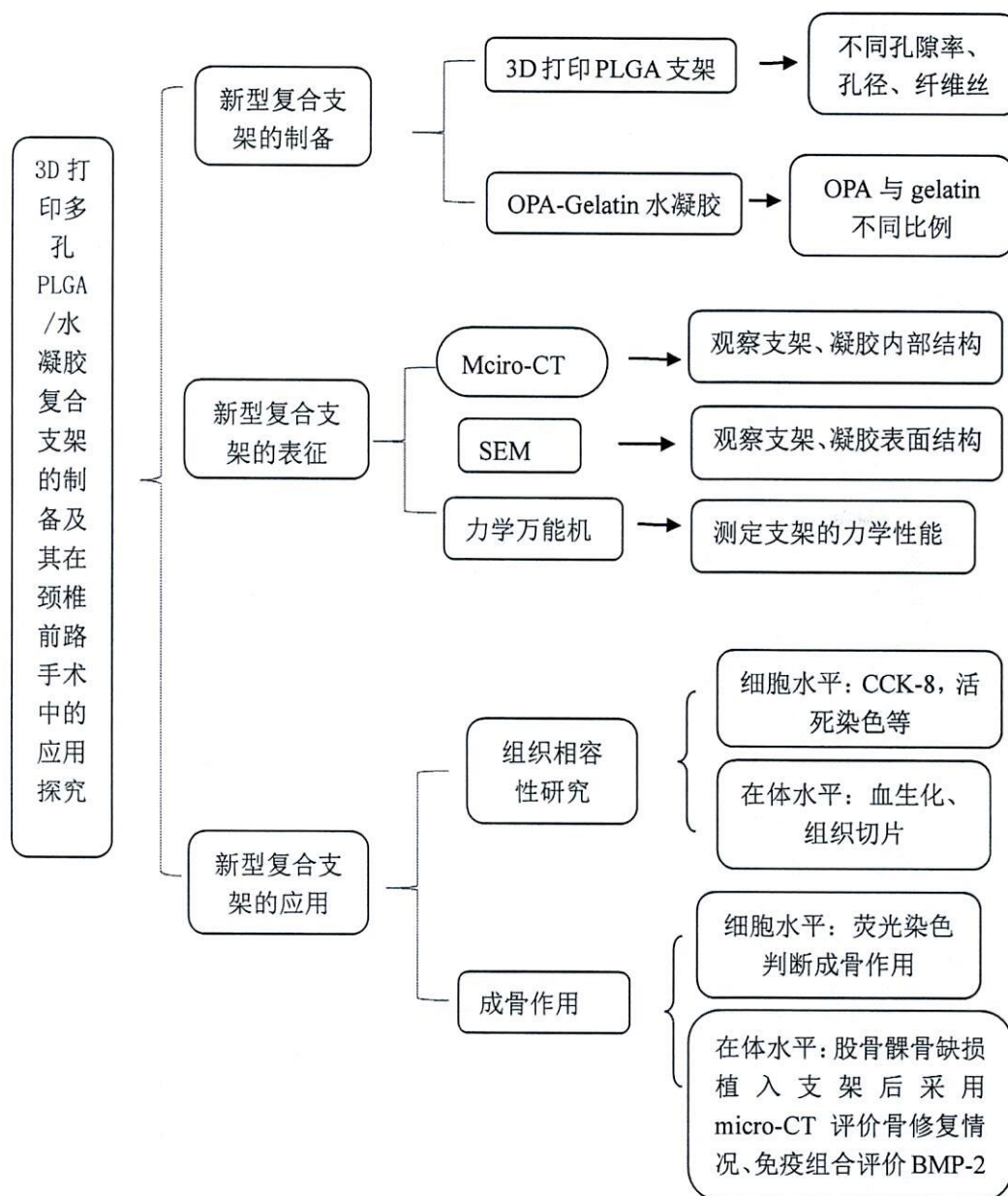
本研究所采用的 PLGA 材料可通过商业购买获得,同时骨科研究所配置 3D 打印机,可实现支架的成功 3D 打印,为支架的制备提供基础。

本研究拟采用的缓释凝胶体系成分之一由中国科学院长春应用化学研究所陈学思课题组所开发和制备,通过合作开发等方式获得邻苯二醛封堵的聚乙二醇。基于此,我们制备新型低浓度凝胶缓释体系。

同时我们依托吉林大学第二医院研究所、吉林大学基础医学院动物实验中学以及长春应用化学研究所,开展本研究。

（二）项目的技术路线与创新点。

项目的技术路线：



项目的创新点：

- 1、成功制备一种新型 3D 打印可降解复合支架，其降解速率与骨修复相匹配。
- 2、采用低浓度水凝胶缓释体系，最大程度保证蛋白分子的释放和活性。
- 3、低浓度水凝胶孔隙率大，有利于细胞穿梭和营养物质传送，促进骨长入和骨修复。

(三) 年度计划进度及预期目标 (“起止年月”从立项之日算起)
第一年 年度计划: 探究不同打印条件打印出来的 3D 多孔支架的力学性能; 选择不同比例的 OPA/Gelatin 水凝胶, 测试成胶特性、流变和在体降解时间。 预期目标: 阶段性成果: 选择了合理力学和生物学特性的 PLGA 多孔支架和合适比例的 OPA/gelatin 水凝胶, 成功构建复合 PLGA/OPA/Gelatin 复合支架。
第二年 年度计划: 探究支架体外 BMP-2 的释放、复合支架降解情况及支架的相关表征 预期目标: 阶段性成果: 明确了复合支架的相关特性, 选择合适浓度的 BMP-2 进行实验。
第三年 年度计划: 进行相关的细胞实验和动物实验, 探究复合支架的生物相容性、成骨特性, 并撰写论文。 预期目标: 阶段性成果: 证实了复合支架在成骨方面的优势, 同时能够提供足够的力学支撑, 并完成相关论文数据的整理及论文写作。

五、研究基础

(一) 申请者的学术水平和研究工作经历。
本人 2012 年研究生毕业后至今，工作于吉林大学第二医院脊柱外科，临床及科研工作双管齐下，多次参与省级、校级项目的申请、完成及最终结题工作，多次参与动物实验的设计及操作，其中以主要参与人身份参与与本次项目相关课题两项：1、一种新型医用可降解非晶金属内固定材料的研制与开发；2、全自动骨水泥机在治疗 OVCF 中的力学特点与骨水泥分布及相关的临床疗效探究。
(二) 申请者与本项目有关的前期工作基础。
1、制备 OPA-gelatin 水凝胶及相关表征。 通过前期的工作，将 4 臂聚乙二醇接枝邻苯二醛 (4armPEG-OPA) 与明胶成胶构建新型水凝胶 OPA-gelatin. 并测试了该材料的流变和 SEM 图像。 2、不同单体比例的 PLGA 材料力学及降解性能。 通过查阅文献及体外降解实验，掌握了 PLGA85/15、PLGA75/25、PLGA50/50，发现 PLGA75/25 的降解速率与骨组织长入相适应。
(三) 已具备的实验条件（仪器设备、实验动物、试剂等），尚缺少的实验条件和拟解决的途径。
已具备实验条件： 吉林大学第二医院骨科研究所具有完成本研究材料制备和材料生物学实验的所有实验条件。吉林大学基础医学院实验动物中心可以满足本实验相关的动物实验条件需求。 缺少的实验条件和拟解决途径： 本实验中涉及对材料的表征，需要力学万能机、超低温扫描电镜、Micor-CT 等仪器，均可在长春应化所有偿使用获得相关数据。
(四) 申请者近三年发表的与本项目有关的论著、论文目录（写明论著名称、作者、出版年份、发表的刊物名称及卷期页或出版社及页码）；承担的科研项目和获得成果奖励情况（将相关资料复印件附后）。
相关课题基础： 1. 一种新型医用可降解非晶金属内固定材料的研制与开发，2017/01-2019/12, 50 万，主要参与人，在研。 2. 全自动骨水泥机在治疗 OVCF 中的力学特点与骨水泥分布及相关的临床疗效探究，2020/01-2021/12，在研，主要参与人，2.5 万。

六、经费预算

单位：万元

经费来源合计：2				
其中	1. 省财政专项资助	2	2. 各渠道自筹	0

项目支出预算明细：

支出科目	数量	单价	金额	其中： 省财政专项资助额	备注/计算依据
设备费	0	0	0	0	
其中：设备购置费	0	0	0	0	
其他设备费	0	0	0	0	
业务费	5	0.3	1.5	1.5	材料费、试剂购买费及后期实验材料检测费
劳务费	2	0.2	0.4	0.4	研究生劳务费
间接经费	1	0.1	0.1	0.1	管理费按照总经费 5% 计算
费用总计：2					
项目负责人（签名）：董荣鹏 项目依托单位负责人（签名）： 					

七、项目承担单位、参加单位及分工

序号	单位名称	地址 邮编	联系人 联系电话	分工
1	吉林大学第二医院	吉林省长春市南 关区自强街 218 号	董荣鹏 13019132340	课题的设计、申报，及相关实验的开展
2	中国人民武警警察部队吉林省总队医院	吉林省长春市宽 城区农安南街 766 号	徐畅 13756043387	协助开展相关实验
3				

八、项目组成员基本情况

	姓 名	性 别	年 龄	职 称	单 位（部门）	研究分工	本人 签名
主要研究 人员	董荣鹏	男	39	主治医师	吉大二院（脊柱外科）	课题设计、 审核、申报	董荣鹏
	徐畅	男	48	副主任医师	武警总院（骨科）	课题设计及 实验开展	徐畅
	马殿栋	男	43	主治医师	武警总院（骨科）	实验的开展 及数据收集	马殿栋
项目参 加人员	赵建武	男	56	主任医师	吉大二院（脊柱外科）	指导课题及 实验	赵建武
	曲扬	男	40	副主任医师	吉大二院（脊柱外科）	实验的开展 及数据收集	曲扬
	程学良	男	32	医师	吉大二院（脊柱外科）	复合支架的 制备及表征	程学良
	康明阳	男	37	主治医师	吉大二院（脊柱外科）	完成动物实 验及部分材 料表征	康明阳
	张胜杰	男	26	研究生	吉大二院（脊柱外科）	完成动物实 验	张胜杰

九、项目承担单位审查意见

(一) 申请者所在单位学术委员会意见。

同意申报

负责人:



2022年8月11日

(二) 申请者所在单位意见 (包括对申请书的真实性, 项目实施中经费、人员、工作条件等的支持措施签署具体意见)。

同意申报

单位负责人:



(三) 合作单位意见 (如没有合作单位, 不填写)。

单位负责人:

唐毅



(四) 主管部门审查意见 (市州卫生健康委、高校科研管理部门)。

负责人:

常毅



十、专家评审意见

十一、省卫生健康委审核意见

同意立项。

负责人：傅强

2022 年 月 日
(公章)
科技管理专用章

十二、合同签署

(一) 合同条款。

第一条 吉林省卫生健康委（计划下达单位，以下简称甲方）与项目负责人董荣鹏（以下简称乙方）、项目承担单位吉林大学（以下简称丙方）依据《中华人民共和国合同法》和国家有关法律和规定，为顺利完成《3D 打印多孔 PLGA/水凝胶复合支架的制备及其在椎体重建中的应用探究》项目，特订立本合同，作为甲、乙、丙三方在合同执行中共同遵守的依据。

第二条 签约各方一致同意项目申请书（任务书）所列内容，并信守本合同约定的权利和义务。

第三条 甲方的权利及义务：

- （一）按合同约定核拨项目经费；
- （二）协调项目相关工作；
- （三）对合同的执行情况进行监督、检查；
- （四）鼓励乙方和丙方争取其他途径对本项目提供资助。

第四条 乙方的权利及义务：

- （一）按照申请书（任务书）约定的时间、方法完成项目任务；
- （二）严格履行申请书（任务书）约定的预算开支，对甲方所拨付经费专款专用，并严格履行申请书（任务书）中所做的自筹经费承诺。
- （三）按要求向甲方如实报告项目执行情况及经费使用情况；

（四）项目完成后，按合同规定的内容向甲方提出结题申请，并提交完整的相关材料。

第五条 丙方的权利义务：

- （一）督促乙方保证合同执行；
- （二）协助乙方履行申请书（任务书）中所做的自筹经费承诺；
- （三）协调解决合同执行过程中出现的问题；
- （四）配合做好甲方检查乙方合同履行情况等有关工作。

第六条 本合同文本一式四份，分存甲方、乙方、丙方和项目组，每份具有同等法律效力。

第七条 本合同自甲、乙、丙三方均签字、盖章之日起生效。

(二) 合同签署各方。

计划下达单位（甲方）：吉林省卫生健康委

本项目经专家论证，省卫生健康委批准列入 2022 年度吉林省卫生健康委科技能力提升计划，资助经费 2 万元，项目编号为 2022LC107

负责人：



2022 年 9 月 7 日

(公章)



项目负责人(乙方)：_

项目负责人：董荣鹏

2022 年 8 月 8 日

项目承担单位（丙方）：吉林大学

单位负责人：

2022 年 月 日

(公章)

