

聚羟基脂肪酸酯在组织工程中的应用

陈国强^{1,2,3}, 刘心怡¹, 刘 絮⁴

(1. 清华大学 生命科学学院, 北京 100084; 2. 清华大学 合成与系统生物学中心, 北京 100084;

3. 清华大学 化工系, 北京 100084; 4. 北京微构工厂生物技术有限公司, 北京 101309)

摘要: 聚羟基脂肪酸酯(polyhydroxyalkanoate, PHA)是一系列由微生物合成的天然高分子材料,目前已发现有超过150种组成单体不相同的PHA聚合物。由于最常见也是研究最广泛的PHA——聚3-羟基丁酸(PHB)具有优良的生物相容性和生物可降解性,且其降解产物3-羟基丁酸(3HB)对多种疾病具有潜在的治疗功能,PHA相关材料在组织修复与再生领域得到广泛的关注。介绍了不同单体组成的PHA在修复骨缺损、愈合皮肤伤口、重建神经和递送药物等不同组织工程领域的应用,总结了对应的材料制备方法及组织修复机制,为后续PHA的生物医疗应用提供新的思路。

关键词: 聚羟基脂肪酸酯;组织工程;生物材料;药物载体

中图分类号: Q819

文献标志码: A

Application of Polyhydroxyalkanoates in Tissue Engineering

CHEN Guoqiang^{1,2,3}, LIU Xinyi¹, LIU Xu⁴

(1. School of Life Sciences, Tsinghua University, Beijing 100084, China; 2. Center for Synthetic and Systems Biology, Tsinghua University, Beijing 100084, China; 3. Department of Chemical Engineering, Tsinghua University, Beijing 100084, 4. ChinaPhaBuilder Biotech Co., Ltd., Beijing 101309, China)

Abstract: Polyhydroxyalkanoates (PHA) are a series of natural polymers synthesized by microorganisms, with more than 150 monomers and various properties. Since PHA has an excellent biocompatibility and biodegradability, and the degradation product 3HB, the most common and widely studied type of PHA, i.e., poly (3-hydroxybutyrate) or PHB, has potential therapeutic functions for a variety of diseases, PHA-related materials have received extensive attentions in the field of tissue repair and regeneration. This paper summarizes the application of PHA consisting of different monomers in different tissue engineering fields, including repairing bone defects, healing skin wounds, nerve reconstruction

and drug delivery. It also summarizes the relevant preparation methods of materials and mechanisms of tissue repair, which provides a new idea for the future biomedical application of PHA.

Key words: polyhydroxyalkanoates; tissue engineering; biomaterials; drug carriers

聚羟基脂肪酸酯(PHA)是一系列微生物在过量碳源和有限的氮/磷源存在的不利生长条件下,作为碳源、能量和还原力的存储物质在细胞内合成和积累的微生物线性聚酯^[1]。从100余年前首次发现PHA开始,目前已有超过150种不同单体、种类多样的PHA被发现^[2]。如聚3-羟基丁酸酯(polyhydroxybutyrate, PHB)、聚3-羟基丁酸-3-羟基戊酸共聚酯(poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate), PHBV)、聚3-羟基丁酸-3-羟基己酸共聚酯(poly(3-hydroxybutyrate-3-hydroxyhexanoate), PHBHHx)、聚3-羟基丁酸-4-羟基丁酸共聚酯(poly(3-hydroxybutyrate-4-hydroxybutyrate), P34HB)等都是常见的PHA材料。同时,合成生物学、基因编辑、代谢工程等技术的快速发展,进一步扩大了PHA的大规模商业化应用前景^[3]。近年来,通过基因工程改造微生物已经可以获得不同单体结构、聚合模式以及相对分子质量的定制PHA^[4]。

PHA材料表现出十分优越的材料性能,包括优良的热塑加工性、可调节的机械性能,以及在组织工程领域最值得关注的生物相容性和生物可降解性^[5]。通过不同的物理、化学、生物修饰,如将PHA与其他生物基可降解高分子(如聚乳酸、透明质酸、

收稿日期: 2023-08-12

第一作者: 陈国强(1963—),男,教授,博士生导师,工学博士,主要研究方向为合成生物学。

E-mail: chengq@mail. tsinghua. edu. cn



论文
拓展
介绍

壳聚糖等)进行共混,引入不同官能团或新的功能性单体,都可以赋予PHA新的性能,满足不同的应用场景^[6-8]。PHA和聚乳酸(PLA)共混后,对其制备纤维材料的可纺性有较大的提升,便于加工成纤维状的制品,用于医疗领域,如手术缝线等^[5]。通过与透明质酸的接枝,可以增强化合物的亲水性,扩展其在药物递送领域的应用可能性^[7]。与壳聚糖等其他材料的共混,可以获得不同形貌和孔洞的支架,为细胞培养的研究提供了更多的选择空间^[8]。

最常见也是研究最广泛的PHA——聚3-羟基丁酸酯(PHB)以及其他含有3-羟基丁酸(3HB)单元的共聚物还具有另一个突出优点:该类聚合物的降解产物3HB具有多种生物活性功能。3HB是哺乳动物酮体的重要组成部分,能够在极端条件下(如长时间运动、饥饿等)为机体提供能量^[9]。更重要的是,许多研究表明3HB对多种疾病具有潜在的治疗作用。3HB具有抑制脂质分解的能力^[10],从而可以

通过提高心肌线粒体解偶联蛋白的表达和降低葡萄糖转运蛋白4的表达来抑制延长心肌损伤的游离脂肪酸的产生,起到保护心肌的作用^[11]。3HB还可以通过不同的机制改善阿尔茨海默病、癫痫等神经退行性疾病^[12-13],而以3HB为主要作用成分的生酮饮食对人乳腺癌^[14]、神经性母细胞瘤^[15]、结肠癌^[16]、前列腺癌^[17]和胃癌^[18]等肿瘤也具有明显的治疗效果。

基于以上优势,PHA材料已被广泛用于组织工程、植入材料、药物缓释、医疗保健等多个领域中^[19]。2007年,以聚4-羟基丁酸酯(P4HB)为原料的可吸收缝合线(TephaFLEX®)获美国食品和药品管理局(FDA)批准上市,成为首个商品化的PHA医疗产品,进一步打开了PHA在组织工程中的应用前景^[20]。

本文将针对PHA材料在骨、皮肤、神经等组织工程中的应用进行介绍,并简述PHA作为药物载体的应用前景(表1)。

表1 PHA在组织工程中的应用

Tab. 1 Applications of PHA in tissue engineering

组织工程类型	具体例子	参考文献
骨组织工程	PHB/羟基磷灰石复合支架	[21]
	PHBV/磷酸盐玻璃复合材料	[22]
	PHBHHx 3D支架	[23]
	P34HB/氧化石墨烯多孔纳米纤维支架	[24]
皮肤组织工程	P34HB 静电纺膜作伤口辅料	[25]
	微流控3D打印仿生P34HB/聚己内酯支架	[26]
	孔隙可调节的不对称PHA抗菌纤维支架	[27]
神经组织工程	添加施万细胞或诱导多能干细胞的PHB神经导管	[28-29]
	PHBV微球	[30]
药物载体	装载玫瑰树碱的PHBV纳米粒	[31]
	装载多西紫杉醇的PHB纳米载体	[32]
	封装抗生素的PHA微球	[33]
	携带含GFP基因腺病毒的PHBHHx微球	[34]
	含有增殖干细胞的可注射PHA高度开放多孔微球	[35]
	负载肉桂醛的PHBV基介孔生物活性玻璃纳米颗粒	[36]

1 PHA在骨组织工程中的应用

由于PHA材料良好的力学性质和生物相容性等,许多基于PHA(如PHB, PHBHHx, PHBV和P34HB)的支架已被应用于骨组织工程中^[37]。将PHB与纳米羟基磷灰石(nHA)共混后制备了PHB/nHA复合支架,其显示出高度互连的多孔结构,具有

相对较高的孔隙率。体外实验中,该支架对成纤维细胞、内皮细胞和上皮细胞都具有较强的生物相容性,证明了其在骨组织工程中的应用潜力^[21]。Knowles等人制备了PHBV/磷酸盐玻璃复合材料,并在大鼠皮下和非负重股骨作为种植体进行骨修复评价。细胞的初始活性非常高;4周后,大量细胞进入由增溶玻璃形成的股骨种植体表面孔隙,种植体

表面出现新骨,说明 PHBV 作为骨修复材料可以促进骨组织的修复和再生^[22]。PHBHHx 具有适当的疏水性,且相比 PHB 和 PHBV 具有更好的机械性能。将兔骨髓细胞分别接种到 PHB、PLA 和 PHBHHx 的 3D 支架上,PHBHHx 表现出更好的成骨细胞附着和骨髓细胞增殖性能。结合其更好的弹性和加工性,PHBHHx 也可以用作骨重建的潜在生物材料^[23]。通过静电纺丝技术,Lin 等人使用 P34HB 和氧化石墨烯合成了纳米纤维支架。这种复合材料支架制备简单,具有良好的多孔结构,增强的机械性能和快速成骨能力,在大鼠严重颅骨缺损的体内骨再生中表现十分优异^[24]。综上所述,多种不同种类的 PHA 均可用于骨组织工程中作为支架材料,促进骨组织的修复和再生。

2 PHA 在皮肤组织工程中的应用

PHA 材料在皮肤组织工程中的修复应用也有较为广泛的研究。Volova 等人通过溶剂浇铸和静电纺丝技术分别制备了 P34HB 膜和由超细纤维组成的无纺布静电纺膜,作为伤口敷料,分别测试了两者促进皮肤修复和再生的能力。在磷酸盐缓冲液中,两种膜没有显著膨胀,也没有快速水解,但 P34HB 本身的生物降解性保证了它们可以在血液中缓慢生物降解的同时保留其应有的机械强度。相对于传统的溶剂蒸发法得到的 P34HB 薄膜,静电纺丝膜更有利于干细胞的增殖并向成纤维细胞进行分化,而敷料上存在的成纤维细胞可同时促进伤口愈合、血管形成和再生。同时,细胞分泌的细胞外基质蛋白还可以在静电纺丝膜表面形成一层基质,促进表皮细胞向伤口周围的邻近组织迁移^[25]。

基于以上原理,具有细胞外基质模拟结构(ECM)的仿生支架已在伤口愈合应用中得到广泛研究,但它们不足的机械强度和有限的生物活性仍然是临床应用的主要挑战。为解决这一缺陷,近期一项研究制备了一种微流控 3D 打印仿生 PHA 支架。该支架主要由 P34HB 和聚己内酯(PCL)组成,具备优异的拉伸强度(2.99 MPa)和降解性。它的 ECM 模拟分层多孔结构允许骨髓间充质干细胞(BMSCs)和人脐静脉内皮细胞(HUVEC)增殖并黏附在支架上。此外,负载 BMSCs 和 HUVEC 的各向

异性复合支架可以显著促进大鼠伤口缺损中的再上皮化、胶原沉积和毛细血管形成,其表明具有令人满意的体内组织再生活性^[26]。

通过湿法诱导相分离技术,Marcano 团队开发了一种孔隙可调节的不对称 PHA 纤维支架。在抗菌实验中,当细菌与支架接触时,高达 33% 的表皮葡萄球菌的生物膜形成受到抑制,而 26% 的已形成的生物膜会被破坏。这种抗菌性能对于解决皮肤组织修复愈合中的感染问题十分有效^[27]。

以上结果均表明了基于 PHA 的敷料或仿生支架用于皮肤修复和再生的可行性,为皮肤组织工程应用提供了有效的治疗策略和新的应用前景。

3 PHA 在神经组织工程中的应用

神经组织损伤后的神经再生是医学领域的一个重要难题,而 PHA 基生物材料有望为其提供解决方案^[38]。Khorasani 等人通过固/液相分离方法制造了 PHB 支架,并使用 P19 小鼠胚胎细胞系作为体外评价的模型系统。体外实验表明,该支架可以促进细胞附着并分化到神经细胞^[28]。而在 PHB 神经导管中添加施万细胞或诱导多能干细胞可能会达到更好的效果,进一步增强神经再生^[29]。PHBV 微球具有降解速度慢和药物释放效率高等性能,对神经组织工程具有重要意义。Chen 等人通过使用皮层神经元(CN)和神经祖细胞(NPCs)来研究 PHBV 微球是否能够支持神经元生长,以检测 PHBV 微球作为神经组织工程支架对于不同神经元类型的适用性。结果表明,NPCs 可以在微球上分化为神经元,PHBV 微球作为神经组织工程的支架可以支持多种神经元细胞类型,并促进了更大的轴突-树突分离,可能有助于修复中枢神经系统损伤^[30]。而作为 PHA 家族的新成员,3-羟基丁酸、3-羟基戊酸和 3-羟基己酸的三元共聚物(PHBVHHx)也可以使人骨髓间充质干细胞(hBMSC)分化为神经细胞^[39]。

动物实验中,Young 等人研究了 PHB 神经导管在兔腓总神经损伤模型中桥接长神经间隙(高达 4 cm)的潜力。术后第 63 天,再生轴突在自体神经移植组和 PHB 导管组中已经桥接了所有长度的神经间隙,且 PHB 组的免疫染色再生纤维面积甚至大于自体神经移植组。因此,PHB 导管支持周围神经再

生的能力至少长达63天,并且适合于长间隙神经损伤修复^[40]。

而在一项具有前瞻性的临床研究中,PHB导管作为神经外缝合的一种替代方法,用于治疗手腕到前臂水平的周围神经损伤。12名有不同程度损伤的患者通过PHB导管或显微外科神经外端缝合进行治疗。在经过18个月的临床、神经生理学、形态学和生理学评估后,大多数结果显示PHB组患者与传统治疗组间不存在显著差异,亦未报告与PHB相关的任何不良事件或并发症。因此,PHB导管可被视为显微外科神经外缝合的安全替代方案^[41]。但这一研究涉及的患者数量有限,临床上仍需要进一步的探究确认。

4 PHA 用作药物载体

除在上述组织工程中的应用外,PHA还可以用作药物载体搭载包括小分子药物、蛋白质、RNA和细胞在内的生物活性物质(BAS)。基于PHA的纳米粒子已广泛用于BAS递送,尤其是用于肿瘤治疗的药物^[42]。例如,将高毒性和低溶解度的模型抗癌药物玫瑰树碱封装在PHBV纳米粒中可以提高药物的治疗效果,使其对A549癌症细胞系的抑制活性提高^[31]。基于PHB的纳米载体还用于传递和控制多西紫杉醇(DTXL)的释放,这是一种有效的抗癌药物,与常用的聚乳酸-羟基乙酸共聚物(PLGA)相比,PHB纳米载体显示出更高的载药效率和更缓慢的释放速率^[32]。利用这一优势,Xiong等人还开发了使用混合PHA纳米颗粒(PHB和PHBHHx)的罗丹明B异硫氰酸盐(RBITC)的细胞内控制释放,并实现了经验证的治疗效果^[43]。更重要的是,紫杉醇负载的PHBV纳米颗粒表现出48h的毒性保护窗口,允许靶细胞充分内吞药物载体,这可以通过增强的渗透性和保留效应保护抗癌剂免于过早降解^[44]。

由于局部注射方便且无不良反应,PHA微球在抗肿瘤治疗和组织再生方面具有巨大潜力^[45]。PHA微球中沉积的抗生素(如四环素和庆大霉素)的高封装效率和可持续释放可以在相应的疾病模型中获得治疗效果^[33]。Zhang等人制备了直径为5~10 μm的PHBHHx微球,该微球携带了含有绿色荧光蛋白GFP的基因的腺病毒。通过腹腔将微球注射到小鼠

的胰腺中;手术后5天,胰腺中约40%的血管内皮细胞被标记。这种基于PHA微球腺病毒复合物的高效胰腺毛细血管靶向植入物在未来毛细血管相关疾病治疗中具有巨大潜力和价值^[43]。

为了避免使用支架移植进行大型开放手术,已经开发出小型细胞载体并用于修复复杂的组织缺损。Wei等人成功制造了直径为300~360 μm的PHA高度开放多孔微球(OPMs),用作含有增殖干细胞的注射载体^[35]。与PLA微球相比,PHA OPMs在小鼠同种异体骨形成和体外实验中显示出更好的生物相容性,可以支持人骨髓间充质干细胞(hMSCs)的增殖和分化。作为细胞的微型诺亚方舟,PHA微球有助于将体外增殖的细胞运输到缺陷组织中进行组织再生。近期,Chotchindakun等人制备了负载有不同浓度肉桂醛(CIN)的PHBV基介孔生物活性玻璃纳米颗粒(MBGN),证明了PHA颗粒作为无抗生素材料在骨缺损修复中的巨大潜力^[36]。综上所述,无论是纳米颗粒、微球还是细胞载体,PHA都可以搭载不同的生物活性物质,适配不同的应用场景。

5 结语

本文系统地总结了不同种类、不同材料形式的PHA在骨、皮肤和神经修复及药物递送中的应用和进展,充分展示了PHA材料在组织工程中的能力和潜在价值。未来的研究将更多地集中在开发不同单聚或共聚的PHA,应用不同的改性手段使它们适用于新的组织工程场景,并逐步走向临床和市场。

作者贡献声明:

陈国强:制定选题,文章撰写与修改。

刘心怡:文献搜集及文章撰写。

刘 絮:文章修改润色。

参考文献:

- [1] ZHENG Y, CHEN J C, MA Y M, *et al.* Engineering biosynthesis of polyhydroxyalkanoates (PHA) for diversity and cost reduction[J]. *Metabolic Engineering*, 2020, 58: 82.
- [2] CHOI S Y, RHIE M N, KIM H T, *et al.* Metabolic engineering for the synthesis of polyesters: a 100-year journey from polyhydroxyalkanoates to non-natural microbial polyesters

- [J]. *Metabolic Engineering*, 2020, 58: 47.
- [3] ZHANG X, LIN Y, WU Q, *et al.* Synthetic biology and genome-editing tools for improving PHA metabolic engineering [J]. *Trends in Biotechnology*, 2020, 38(7): 689.
- [4] ZHANG X, LIU X Y, YANG H, *et al.* A polyhydroxyalkanoates-based carrier platform of bioactive substances for therapeutic applications [J]. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2022, 9: 1332.
- [5] 李义, 张旭, 黄威, 等. 聚羟基脂肪酸酯 (PHA) 及其共混纤维研究进展 [J]. *生物工程学报*, 2020, 36(5): 829.
- LI Yi, ZHANG Xu, HUANG Wei, *et al.* Research progress of polyhydroxyalkanoates (PHA) and its blend fiber [J]. *Journal of Biotechnology*, 2020, 36(5): 829.
- [6] WENG Y X, WANG L, ZHANG M, *et al.* Biodegradation behavior of P (3HB, 4HB)/PLA blends in real soil environments [J]. *Polymer Testing*, 2013, 32(1): 60.
- [7] HUERTA-ANGELES G, BRANDEJSOVÁ M, NIGMATULLIN R, *et al.* Synthesis of graft copolymers based on hyaluronan and poly (3-hydroxyalkanoates) [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2017, 171: 220.
- [8] MEDVECKY L, GIRETOVA M, STULAJTEROVA R. Properties and in vitro characterization of polyhydroxybutyrate - chitosan scaffolds prepared by modified precipitation method [J]. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 2014, 25: 777.
- [9] NEWMAN J C, VERDIN E. β -hydroxybutyrate: a signaling metabolite [J]. *Annual Review of Nutrition*, 2017, 37: 51.
- [10] HRON W T, MENAHAN L A, LECH J J. Inhibition of hormonal stimulation of lipolysis in perfused rat heart by ketone bodies [J]. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 1978, 10(2): 161.
- [11] ZOU Z, SASAGURI S, RAJESH K G, *et al.* D1-3-hydroxybutyrate administration prevents myocardial damage after coronary occlusion in rat hearts [J]. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 2002, 283(5): H1968.
- [12] HERTZ L, CHEN Y, WAAGEPETERSEN H S. Effects of ketone bodies in Alzheimer's disease in relation to neural hypometabolism, β -amyloid toxicity, and astrocyte function [J]. *Journal of Neurochemistry*, 2015, 134(1): 7.
- [13] MCNALLY M A, HARTMAN A L. Ketone bodies in epilepsy [J]. *Journal of Neurochemistry*, 2012, 121(1): 28.
- [14] GLUSCHNAIDER U, HERTZ R, OHAYON S, *et al.* Long-chain fatty acid analogues suppress breast tumorigenesis and progression suppression of breast cancer by fatty acid analogue [J]. *Cancer Research*, 2014, 74(23): 699.
- [15] MORSCHER R J, AMINZADEH-GOHARI S, FEICHTINGER R G, *et al.* Inhibition of neuroblastoma tumor growth by ketogenic diet and/or calorie restriction in a CD1-Nu mouse model [J]. *PLoS One*, 2015, 10(6): e0129802.
- [16] 郝光伟, 王海玉, 何德明, 等. 生酮饮食对人结肠癌裸鼠皮下移植瘤生长的影响 [J]. *中国肿瘤临床*, 2014, 41(18): 1154.
- HAO Guangwei, WANG Haiyu, HE Deming, *et al.* Effect of ketogenic diet on the growth of human colon cancer transplanted subcutaneously in nude mice [J]. *China Cancer Clinic*, 2014, 41 (18): 1154.
- [17] DÜREGGER A D, RAMONER R, PANTE J, *et al.* 305 differential metabolic effects of medium-chain triglycerides and omega-3 fatty acids in benign and malignant prostate cells - evidence for a ketogenic diet as adjuvant therapy for prostate cancer [J]. *European Urology Supplements*, 2014, 1 (13) : e305.
- [18] OTTO C, KAEMMERER U, ILLERT B, *et al.* Growth of human gastric cancer cells in nude mice is delayed by a ketogenic diet supplemented with omega-3 fatty acids and medium-chain triglycerides [J]. *BMC Cancer*, 2008, 8(1): 1.
- [19] CHEN G Q, ZHANG J. Microbial polyhydroxyalkanoates as medical implant biomaterials [J]. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 2018, 46(1): 1.
- [20] MARTIN D P, WILLIAMS S F. Medical applications of poly-4-hydroxybutyrate: a strong flexible absorbable biomaterial [J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2003, 16(2): 97.
- [21] HAYATI A N, HOSSEINALIPOUR S M, REZAIIE H R, *et al.* Characterization of poly (3-hydroxybutyrate)/nano-hydroxyapatite composite scaffolds fabricated without the use of organic solvents for bone tissue engineering applications [J]. *Materials Science and Engineering: C*, 2012, 32(3): 416.
- [22] KNOWLES J C, HASTINGS G W, OHTA H, *et al.* Development of a degradable composite for orthopaedic use: in vivo biomechanical and histological evaluation of two bioactive degradable composites based on the polyhydroxybutyrate polymer [J]. *Biomaterials*, 1992, 13(8): 491.
- [23] WANG Y W, WU Q, CHEN G Q. Attachment, proliferation and differentiation of osteoblasts on random biopolyester poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) scaffolds [J]. *Biomaterials*, 2004, 25(4): 669.
- [24] ZHOU T, LI G, LIN S, *et al.* Electrospun poly (3-hydroxybutyrate-co-4-hydroxybutyrate)/graphene oxide scaffold: enhanced properties and promoted in vivo bone repair in rats [J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2017, 9(49): 42589.
- [25] SHISHATSKAYA E I, NIKOLAEVA E D, VINOGRADOVA O N, *et al.* Experimental wound dressings of degradable PHA for skin defect repair [J]. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 2016, 27: 1.
- [26] GUO W, WANG X, YANG C, *et al.* Microfluidic 3D printing polyhydroxyalkanoates-based bionic skin for wound healing [J]. *Materials Futures*, 2022, 1(1): 015401.
- [27] MARCANO A, BOU HAIDAR N, MARAIS S, *et al.* Designing biodegradable PHA-based 3D scaffolds with antibiofilm properties for wound dressings: optimization of the microstructure/nanostructure [J]. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 2017, 3(12): 3654.
- [28] TOHILL M, MANTOVANI C, WIBERG M, *et al.* Rat

- bone marrow mesenchymal stem cells express glial markers and stimulate nerve regeneration[J]. *Neuroscience Letters*, 2004, 362(3): 200.
- [29] CHEN W, TONG Y W. PHBV microspheres as neural tissue engineering scaffold support neuronal cell growth and axon - dendrite polarization[J]. *Acta Biomaterialia*, 2012, 8(2): 540.
- [30] BIAZAR E. Polyhydroxyalkanoates as potential biomaterials for neural tissue regeneration [J]. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, 2014, 63(17): 898.
- [31] MASOOD F, CHEN P, YASIN T, *et al.* Encapsulation of ellipticine in poly- (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) based nanoparticles and its in vitro application [J]. *Materials Science and Engineering: C*, 2013, 33(3): 1054.
- [32] DI MASCOLO D, BASNETT P, PALANGE A L, *et al.* Tuning core hydrophobicity of spherical polymeric nanoconstructs for docetaxel delivery [J]. *Polymer International*, 2016, 65(7): 741.
- [33] SENDIL D, GÜRSEL I, WISE D L, *et al.* Antibiotic release from biodegradable PHBV microparticles [J]. *Journal of Controlled Release*, 1999, 59(2): 207.
- [34] HANG S L, ZHENG D J, FAN W Z, *et al.* Transient embolization with microspheres of polyhydroxyalkanoate renders efficient adenoviral transduction of pancreatic capillary in vivo[J]. *The Journal of Gene Medicine*, 2012, 14(8): 530.
- [35] WEI D X, DAO J W, CHEN G Q. A micro-ark for cells: highly open porous polyhydroxyalkanoate microspheres as injectable scaffolds for tissue regeneration [J]. *Advanced Materials*, 2018, 30(31): 1802273.
- [36] CHOTCHINDAKUN K, PEKKOH J, RUANGSURIYA J, *et al.* Fabrication and characterization of cinnamaldehyde-loaded mesoporous bioactive glass nanoparticles/PHBV-based microspheres for preventing bacterial infection and promoting bone tissue regeneration[J]. *Polymers*, 2021, 13(11): 1794.
- [37] LIM J, YOU M, LI J, *et al.* Emerging bone tissue engineering via polyhydroxyalkanoate (PHA)-based scaffolds[J]. *Materials Science and Engineering: C*, 2017, 79: 917.
- [38] KHORASANI M T, MIRMOHAMMADI S A, IRANI S. Polyhydroxybutyrate (PHB) scaffolds as a model for nerve tissue engineering application: fabrication and in vitro assay[J]. *International Journal of Polymeric Materials*, 2011, 60(8): 562.
- [39] KARIMI M, BIAZAR E, KESHEL S H, *et al.* Rat sciatic nerve reconstruction across a 30 mm defect bridged by an oriented porous PHBV tube with schwann cell as artificial nerve graft[J]. *Asaio Journal*, 2014, 60(2): 224.
- [40] YOUNG R C, TERENCE G, WIBERG M. Poly-3-hydroxybutyrate (PHB) : a resorbable conduit for long-gap repair in peripheral nerves [J]. *British Journal of Plastic Surgery*, 2002, 55(3): 235.
- [41] ÅBERG M, LJUNGBERG C, EDIN E, *et al.* Clinical evaluation of a resorbable wrap-around implant as an alternative to nerve repair: a prospective, assessor-blinded, randomised clinical study of sensory, motor and functional recovery after peripheral nerve repair[J]. *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery*, 2009, 62(11): 1503.
- [42] BAROUTI G, JAFFREDO C G, GUILLAUME S M. Advances in drug delivery systems based on synthetic poly (hydroxybutyrate) (co) polymers [J]. *Progress in Polymer Science*, 2017, 73: 1.
- [43] XIONG Y C, YAO Y C, ZHAN X Y, *et al.* Application of polyhydroxyalkanoates nanoparticles as intracellular sustained drug-release vectors [J]. *Journal of Biomaterials Science (Polymer Edition)*, 2010, 21(1): 127.
- [44] VILOS C, MORALES F A, SOLAR P A, *et al.* Paclitaxel-PHBV nanoparticles and their toxicity to endometrial and primary ovarian cancer cells[J]. *Biomaterials*, 2013, 34(16): 4098.
- [45] YUAN S, SHEN Y, LI Z. Injectable cell-and growth factor-free poly (4-hydroxybutyrate) (P4HB) microspheres with open porous structures and great efficiency of promoting bone regeneration [J]. *ACS Applied Bio Materials*, 2021, 4(5): 4432.