

第二届医疗植入介入体创新技术高峰论坛
2012年9月13—14日，上海



含铜不锈钢

一种具有降低支架内再狭窄（ISR）功能
的不锈钢新材料

杨柯

中国科学院金属研究所

2012年9月14日

报告提纲

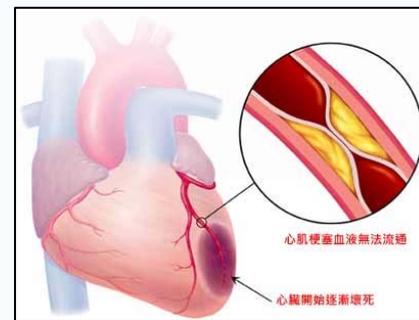
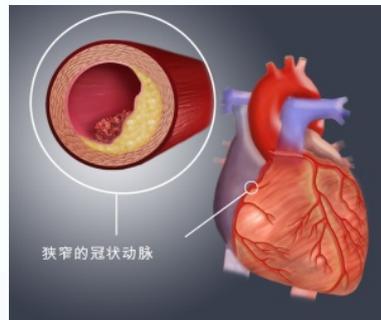
- 支架内再狭窄（ISR）
- 含铜不锈钢降低支架内再狭窄（ISR）功能的体外实验研究
- 含铜不锈钢的生物安全性
- 含铜不锈钢的材料学性能
- 结论

冠状动脉支架内再狭窄 (ISR)

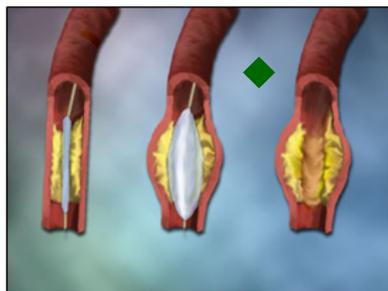


中国科学院金属研究所

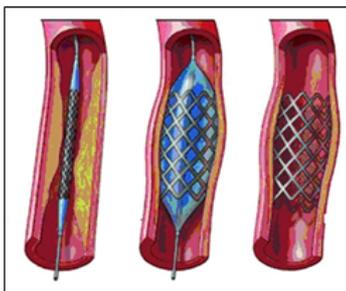
- ◆ 心血管疾病是目前威胁人类健康的首要病因之一。新近一期的《中国卫生事业发展情况统计公报》表明，我国目前各种心血管疾病患者人数至少2.3亿，每年死于心血管疾病的人数多达300万，平均每10个成年人中就有2人是心血管疾病患者。



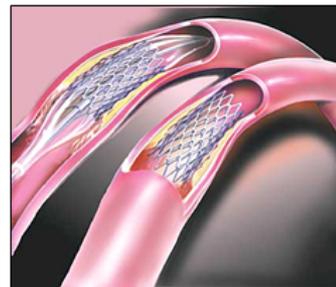
心血管介入治疗发展历程



1977年
气囊成形术

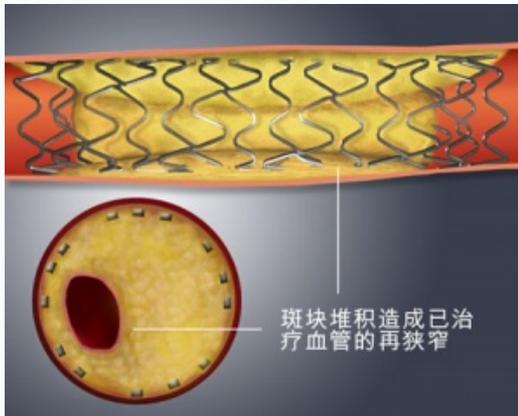


1986年
金属裸支架成形术



现在
药物洗脱支架

支架内再狭窄 (ISR)



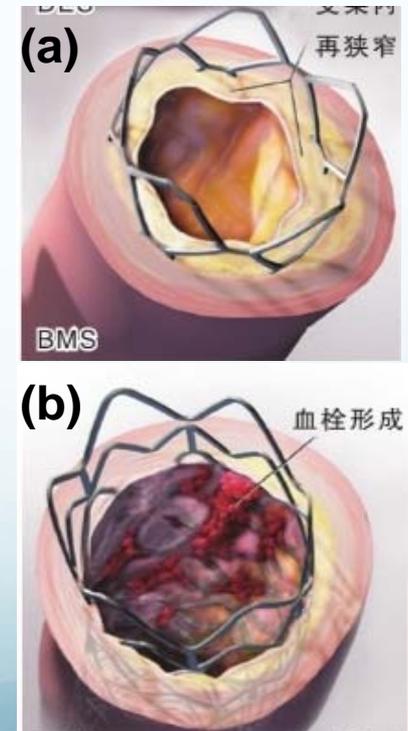
- ◆ 冠状动脉成形术后会有一定比例的支架内再狭窄 (in-stent restenosis, ISR) 现象发生。患者需要长期服用药物，以预防由于血栓形成而造成的支架内再狭窄。

◆ 引起ISR的主要原因

心血管支架置入后造成血管壁损伤，而引发：

- 动脉平滑肌细胞 (VSMCs) 的过度增殖、迁移、变性 (图a)
- 异物刺激，支架表面易形成血栓 (图b)

ISR是心血管支架植入临床中需要解决的重要问题！



支架内再狭窄（ISR）

表1 各种介入治疗方法的ISR发生率

介入治疗方法	气囊成形术	金属裸支架	药物洗脱支架
ISR发生率	30~50%	20-30%	5-10%

药物洗脱支架仍存在的不足：

- ◆ 抑制急性血栓形成的同时，还抑制血管内皮细胞的增殖，导致血管内皮难以愈合，易引起远期血栓发生，从而引发再狭窄。
- ◆ 药物释放完毕，载药的高分子涂层材料引起炎症反应以及远期血栓等问题。

人们仍在从支架材料、支架结构设计、带药方式等多方面入手，期望能够进一步降低ISR的发生率。

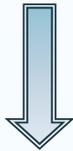
支架内再狭窄 (ISR)

药物洗脱支架和金属裸支架植入后长期随访的临床结果 (2010)

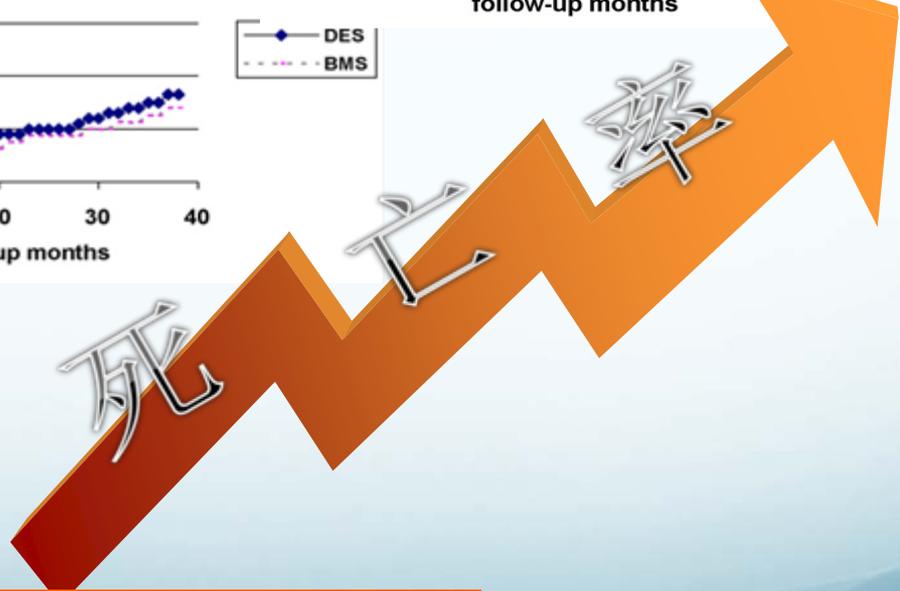
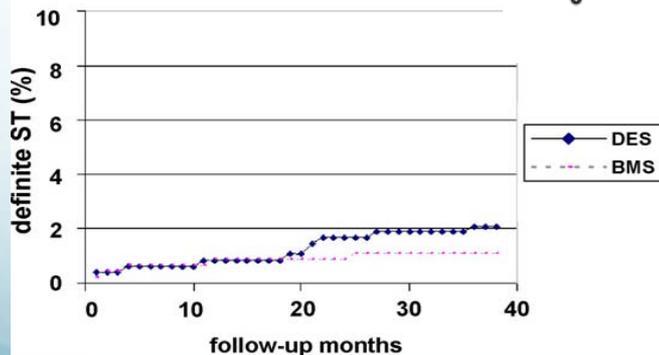
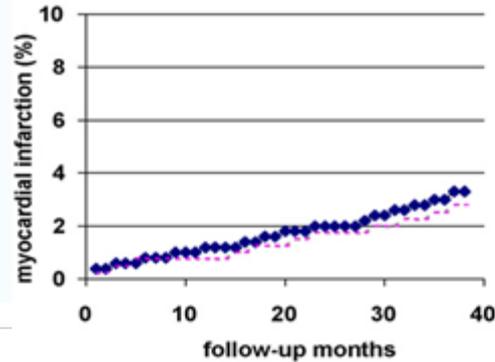
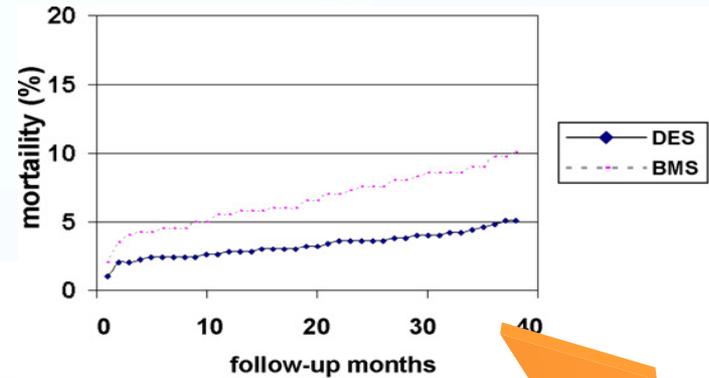
死亡原因



心肌梗塞



支架内血栓



2.7年内患者死亡率达7.4%，裸支架的死亡比率高于药物洗脱支架；但长期结果表明，两种支架的死亡比率相当。

铜元素对心血管系统的有益作用



中国科学院金属研究所

Cu

铜是存在于生物体内的一种必需微量元素，参与体内生命活动中的很多重要环节，具有多种极为重要的生理生化作用。成人每日铜的上限摄取量为10mg。

Cu

铜可抑制心房冠状动脉坏死、冠状动脉中血栓形成、心肌坏死和心室钙化；铜还可抑制动脉平滑肌的增殖和迁移、动脉弹性组织变性和断裂、动脉平滑肌变性以及心室和形成冠状动脉瘤。

Cu

心血管系统中有微量的铜释放，能够抑制上述病变的发生，因而具有降低冠状动脉支架内再狭窄的作用。

Cu

此外，铜对内皮细胞的增殖有促进作用，从而可加快血管内皮的愈合过程，降低支架植入后的近期血栓发生率。

—Ball C. R. *Anat. Rec.* 1963

—Klevay L. M. *Totowa, NJ.* 2000

—Hu GF. *J Cell Biochem.* 1998

铜元素对心血管系统的有益作用



中国科学院金属研究所

核心创新思想

从材料的自身设计入手，在不锈钢中添加适量的铜元素，由其制造的心血管支架植入冠脉病变处后，在保持对血管的支撑作用的同时，通过原位持续释放微量铜元素，发挥其增进内皮愈合、抑制动脉平滑肌细胞增殖和降低血栓发生率的诸多生物功能，进而起到显著降低发生支架内再狭窄（ISR）的医学功能作用。

一项具有重要应用价值的技术创新，国内外未见相关报道

含铜不锈钢抑制ISR的体外研究



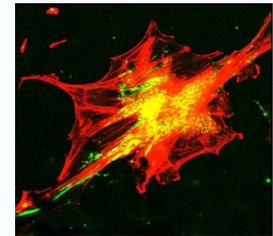
中国科学院金属研究所

含铜不锈钢

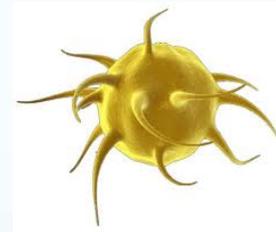
VS

ISR

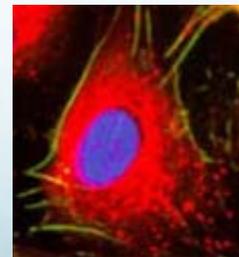
- 对动脉平滑肌细胞（VSMCs）的影响
表面粘附细胞数量观察：荧光显微镜
细胞凋亡率：流式细胞凋亡
细胞迁徙：划痕实验、Transwell实验
- 对血栓形成的影响
动态凝血时间测定：动态凝血实验
表面粘附血小板观察：扫描电镜
- 对血管内皮细胞（VECs）的影响
与VSMCs相同



VSMCs



血小板



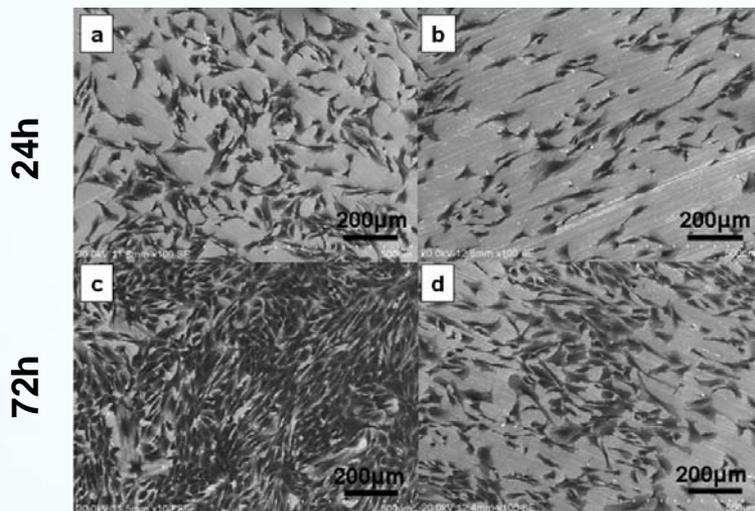
VECs



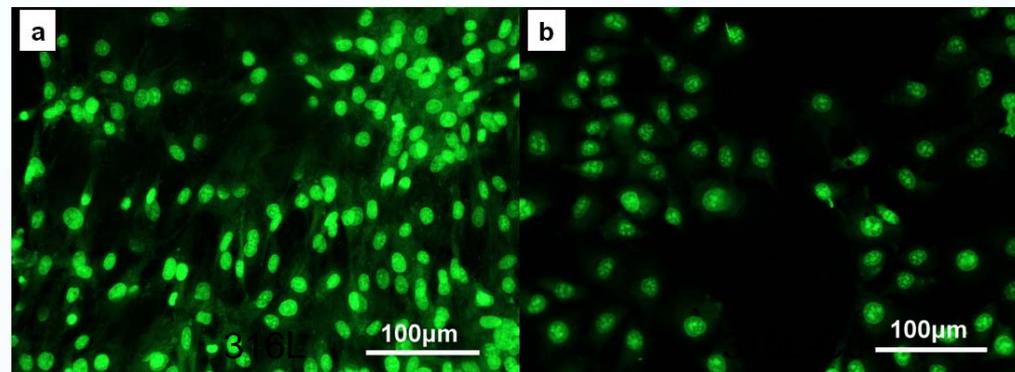
心血管支架用
316L不锈钢+适量
Cu = 316L-Cu

含铜不锈钢抑制ISR的体外实验研究

—对VSMCs的影响



316L 316L-Cu
不锈钢表面VSMC形貌SEM照片



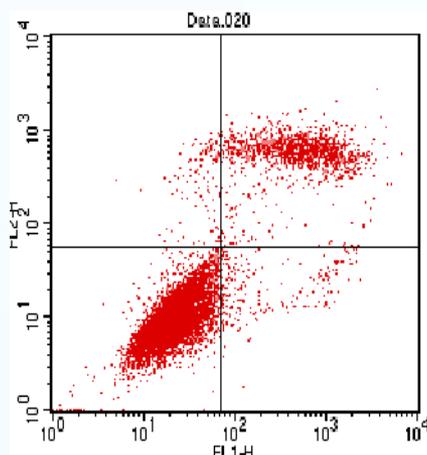
不锈钢表面VSMC荧光染色照片

316L-Cu不锈钢表面上粘附的VSMCs的数量明显少于316L不锈钢，表明含铜不锈钢表面具有明显抑制VSMCs增殖的作用。

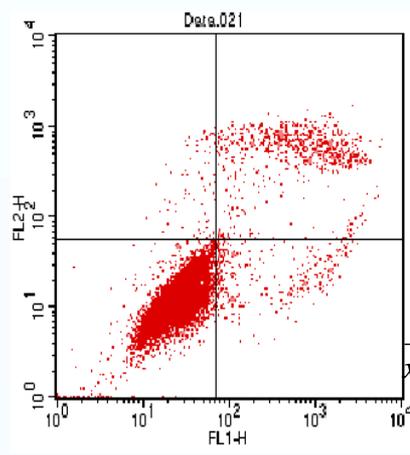
含铜不锈钢抑制ISR的体外实验研究

—对VSMCs的影响

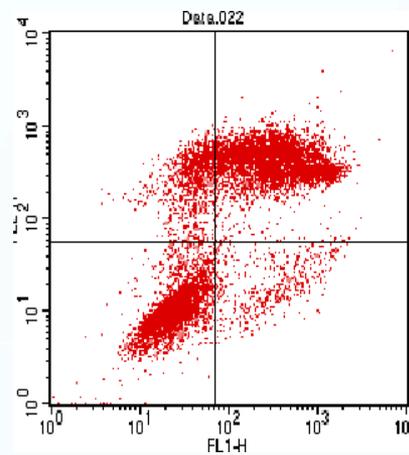
流式细胞检测VSMC凋亡情况



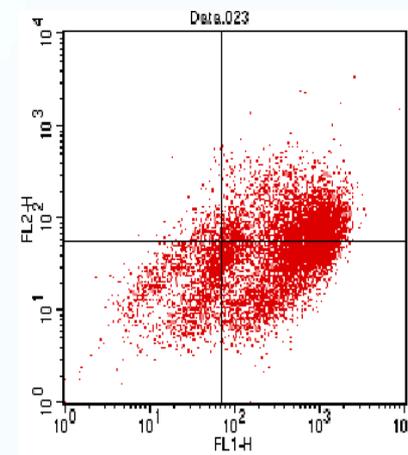
空白对照组



316L



316L-Cu



Cu

流式细胞仪检测结果

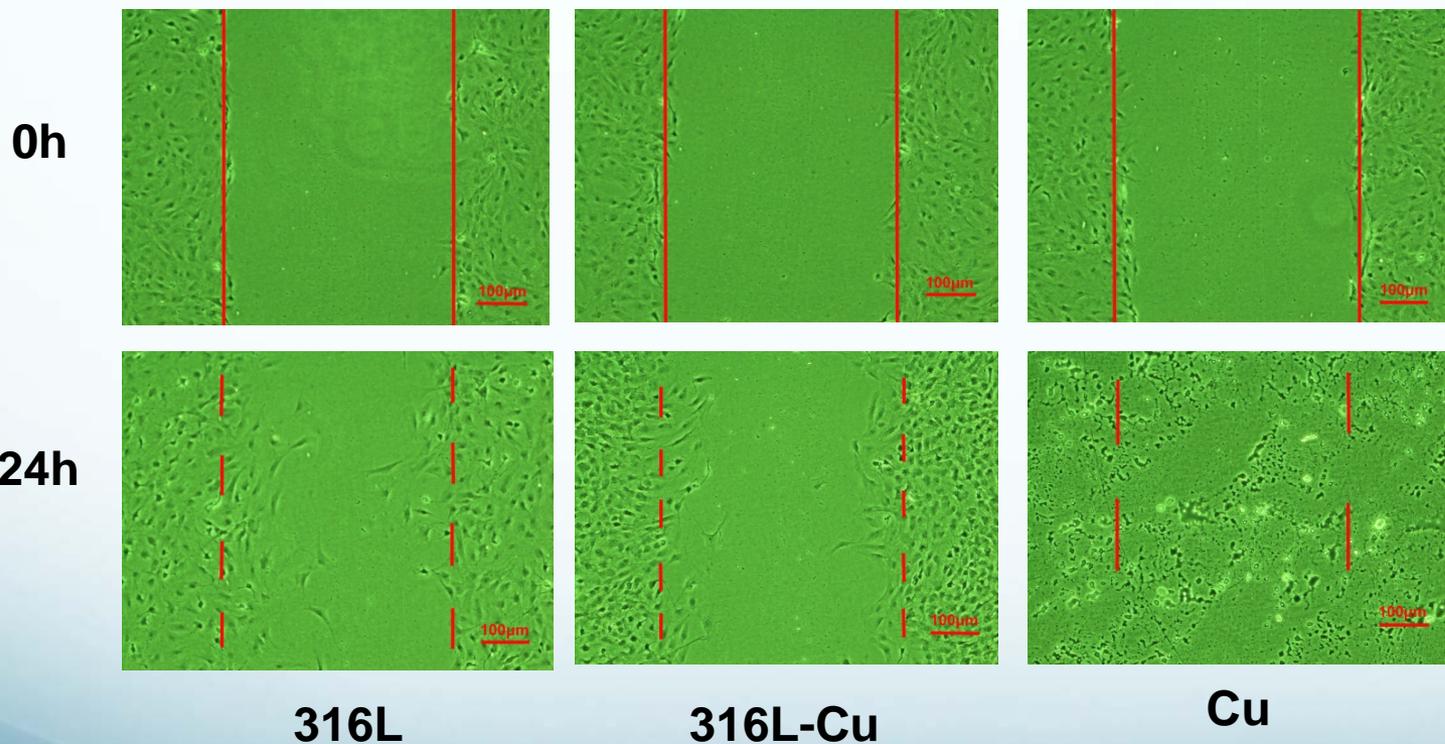
VSMCs	Apoptotic rates
Culture medium	3.71
316L SS extract	4.87
316L-Cu SS extract	6.22

316L-Cu不锈钢表面对VSMCs的细胞凋亡率高于316L不锈钢，因而含铜不锈钢表面具有促进VSMCs凋亡的作用。

含铜不锈钢抑制ISR的体外实验研究

—对VSMCs的影响

含铜不锈钢对VSMCs迁徙的影响（划痕实验）

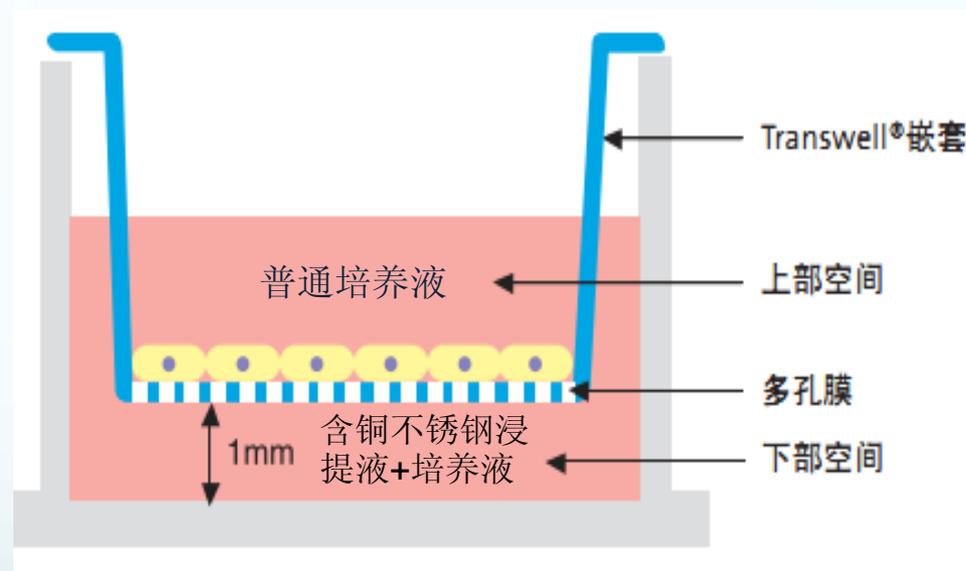


316L-Cu 不锈钢表面上的 VSMCs 迁徙数量明显少于 316L 不锈钢，但纯 Cu 表面上细胞大量凋亡。表明含铜不锈钢对 VSMCs 的迁徙有明显的抑制作用。

含铜不锈钢抑制ISR的体外实验研究

—对VSMCs的影响

含铜不锈钢对VSMCs迁徙的影响（Transwell实验）

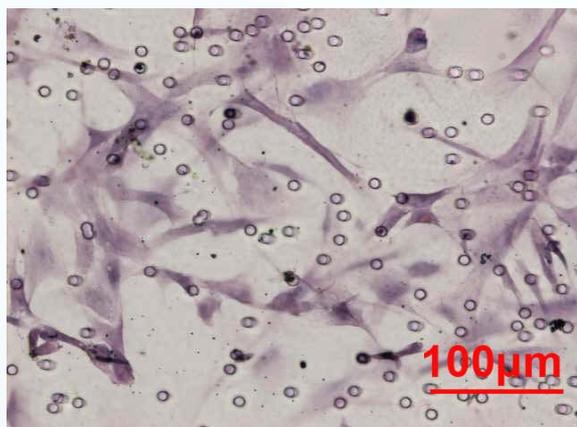


采用Transwell实验考察含铜不锈钢对VSMCs迁移能力的影响

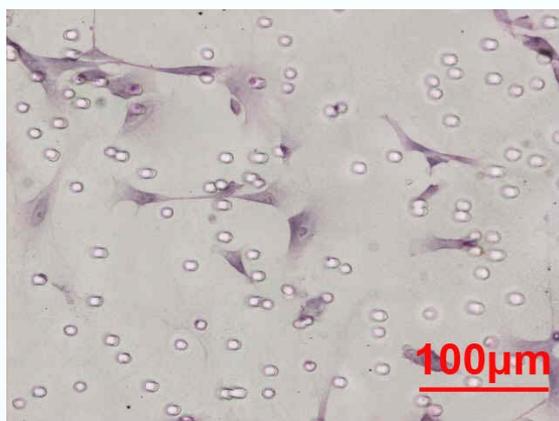
含铜不锈钢抑制ISR的体外实验研究

—对VSMCs的影响

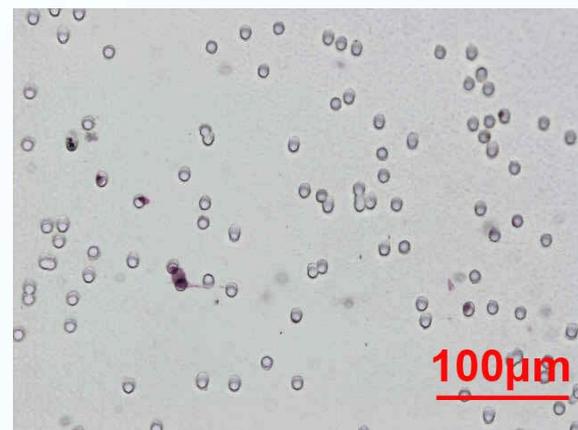
VSMCs在不同浸提液中的迁徙能力



316L



316L-Cu

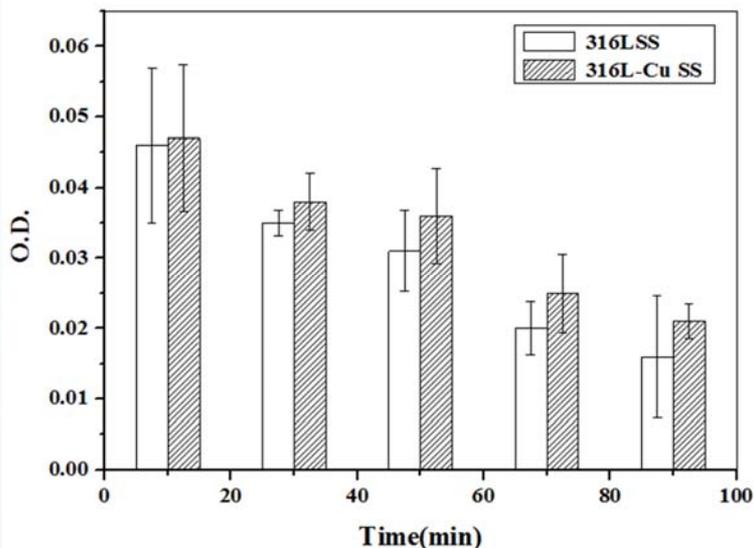


Cu

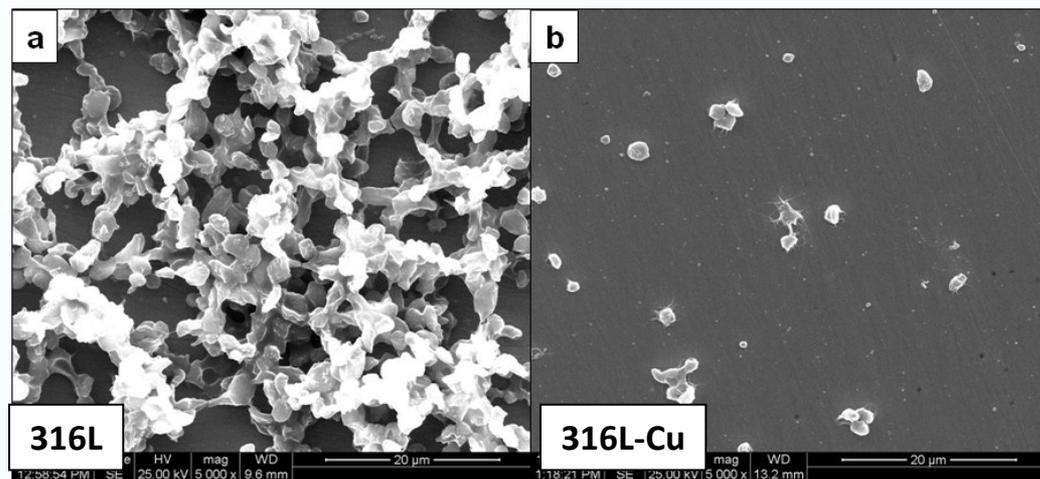
与316L浸提液相比，316L-Cu浸提液中仅有少量的VSMCs从多孔膜的上表面迁徙至下表面，而纯Cu浸提液已导致细胞大量凋亡。含铜不锈钢可明显降低VSMCs的迁徙能力，因而具有抑制其增殖的作用。

含铜不锈钢抑制ISR的体外实验研究

—对VSMCs的影响



动态凝血实验



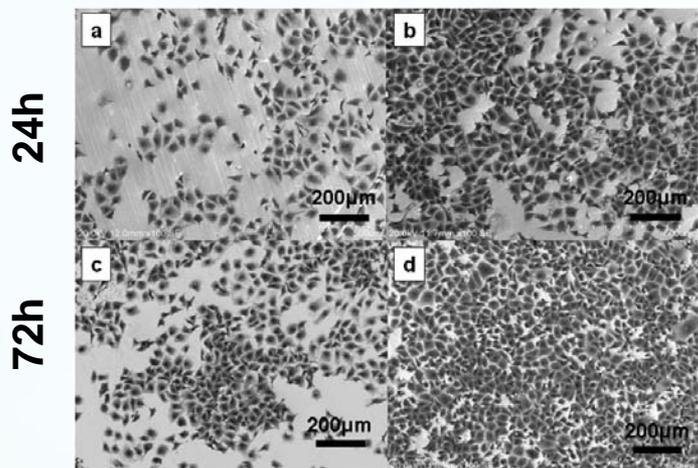
血小板粘附观察

材料	316L	316L-Cu
全凝时间 (min)	71	120

含铜不锈钢可明显降低血栓形成倾向

含铜不锈钢抑制ISR的体外实验研究

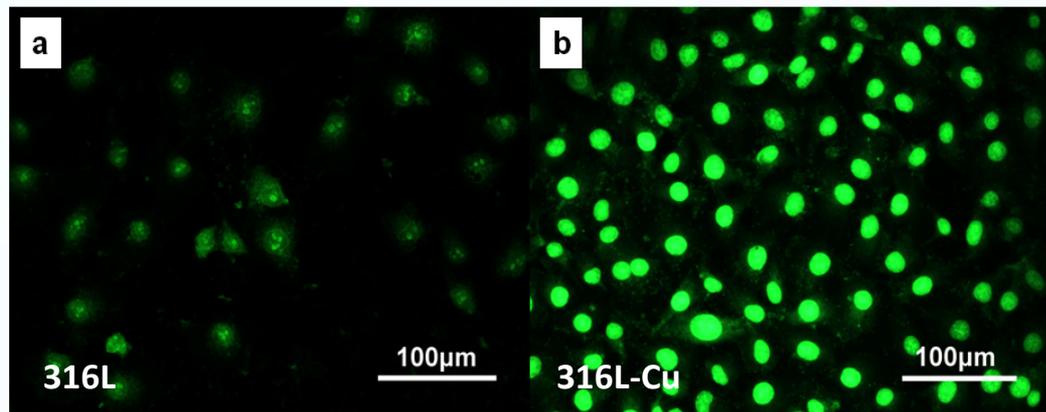
一对VECs的影响



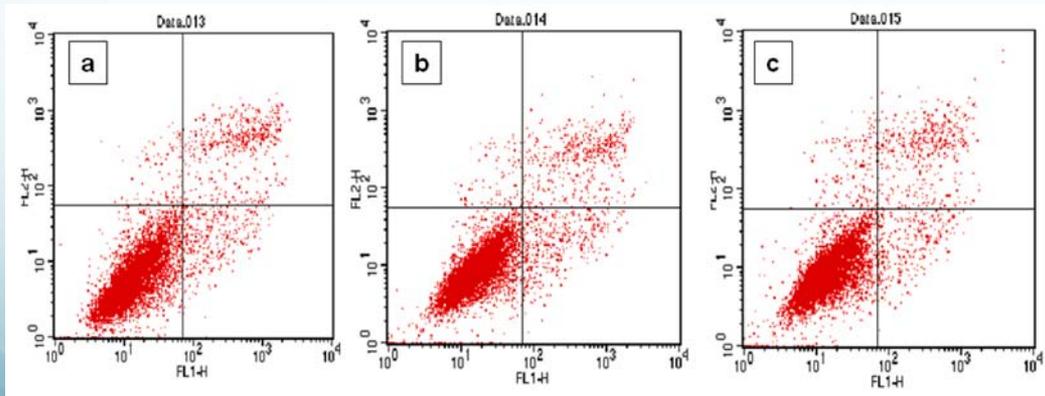
316L

316L-Cu

不锈钢表面VEC形貌SEM照片



不锈钢表面VEC荧光染色照片



培养液

316L

316L-Cu

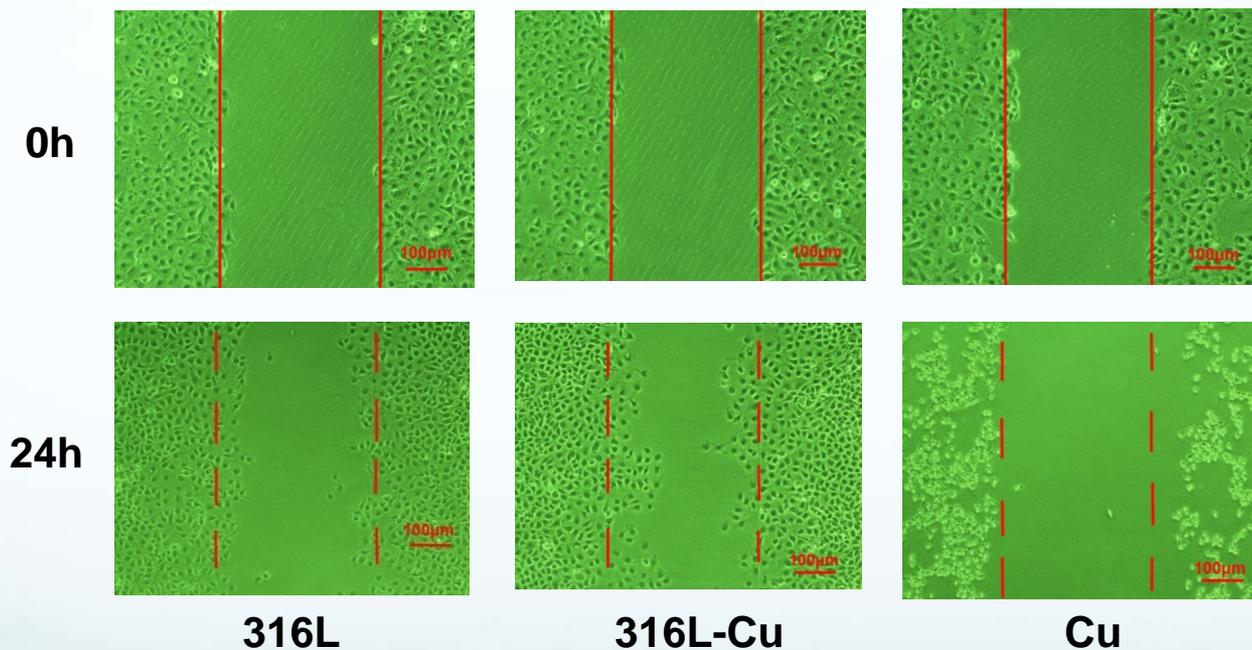
流式细胞检测VEC凋亡情况

HUVECs	Apoptotic rates
Culture medium	1.23
316L SS extract	4.00
316L-Cu SS extract	1.79

含铜不锈钢抑制ISR的体外实验研究

一对VECs的影响

含铜不锈钢对VECs迁徙的影响

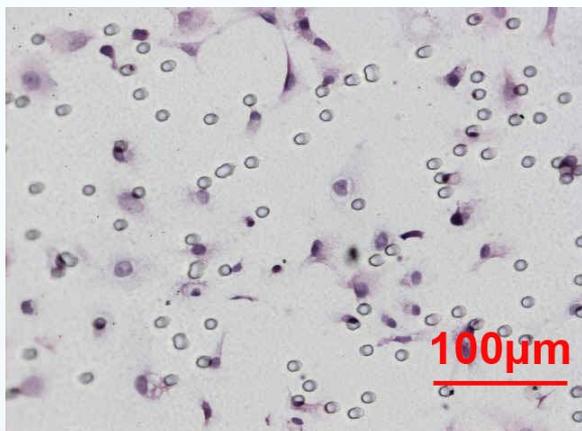


316L-Cu不锈钢表面VECs的迁徙数量明显多于316L不锈钢，但纯Cu表面细胞大量凋亡。表明含铜不锈钢具有促进VECs迁徙的作用。

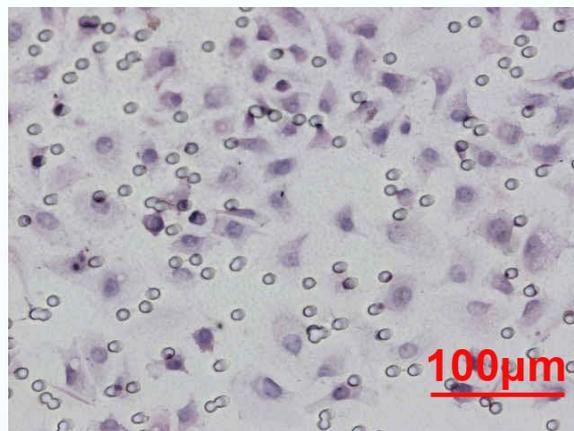
含铜不锈钢抑制ISR的体外实验研究

—对VECs的影响

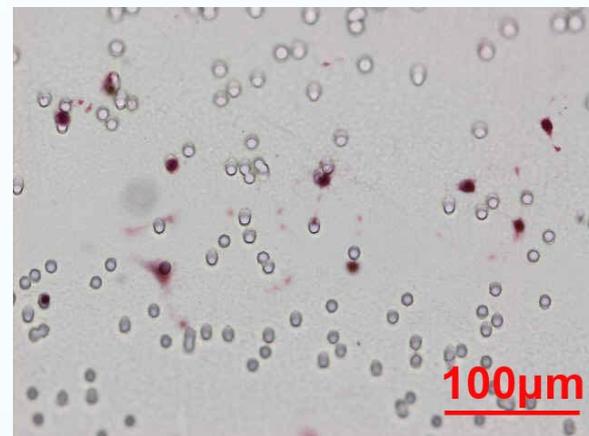
VECs在不同浸提液中的迁徙能力



316L



316L-Cu

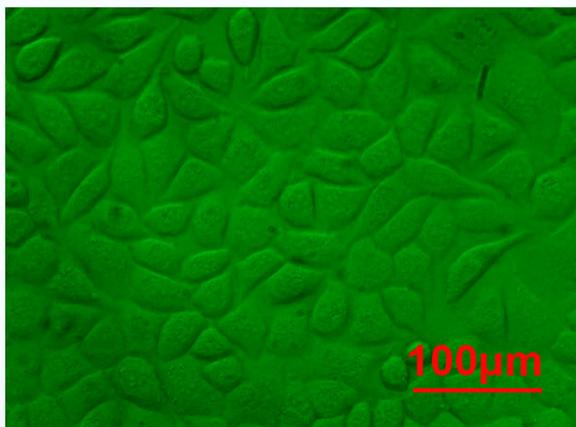


Cu

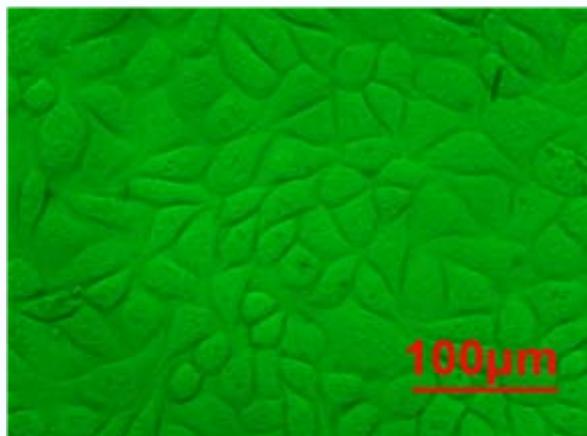
与316L浸提液相比，316L-Cu浸提液中有更多的VECs从多孔膜的上表面迁徙至下表面，但纯Cu浸提液导致细胞大量凋亡。因而含铜不锈钢表面可明显促进VECs的迁徙。

含铜不锈钢的生物安全性

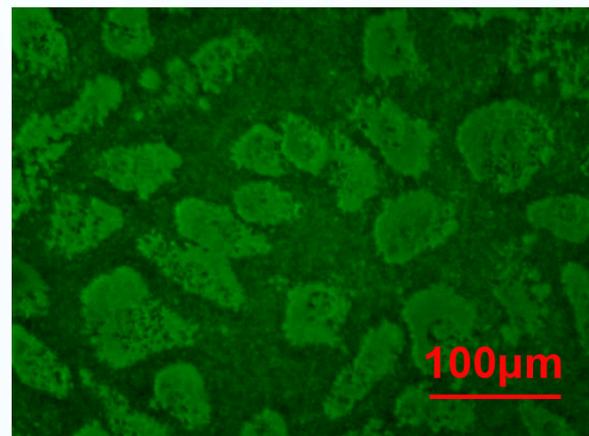
采用CCK-8试剂盒考察含铜不锈钢对L-929（成纤维细胞）的细胞毒性



316L



316L-Cu



Cu

316L-Cu不锈钢表面上的L-929细胞形貌和状态与316L不锈钢没有显著差别，但纯**Cu**表面上的细胞均已凋亡。因而含铜不锈钢无明显细胞毒性。

含铜不锈钢的生物安全性

316L和316L-Cu浸提液培养L-929不同时间的吸光度值

Groups	24h	48h	72h
Culture medium	0.5663±0.0673*	0.6015±0.0065*	0.7718±0.0076*
Extracted 316L SS liquid	0.5154±0.0132	0.5225±0.0032	0.6849±0.0315
Extracted 316L-Cu SS liquid	0.4571±0.0298	0.5189±0.0345	0.658±0.0424

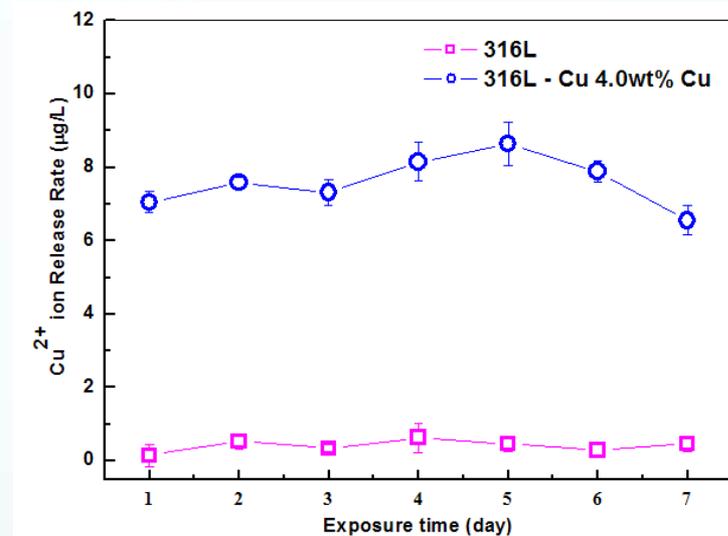
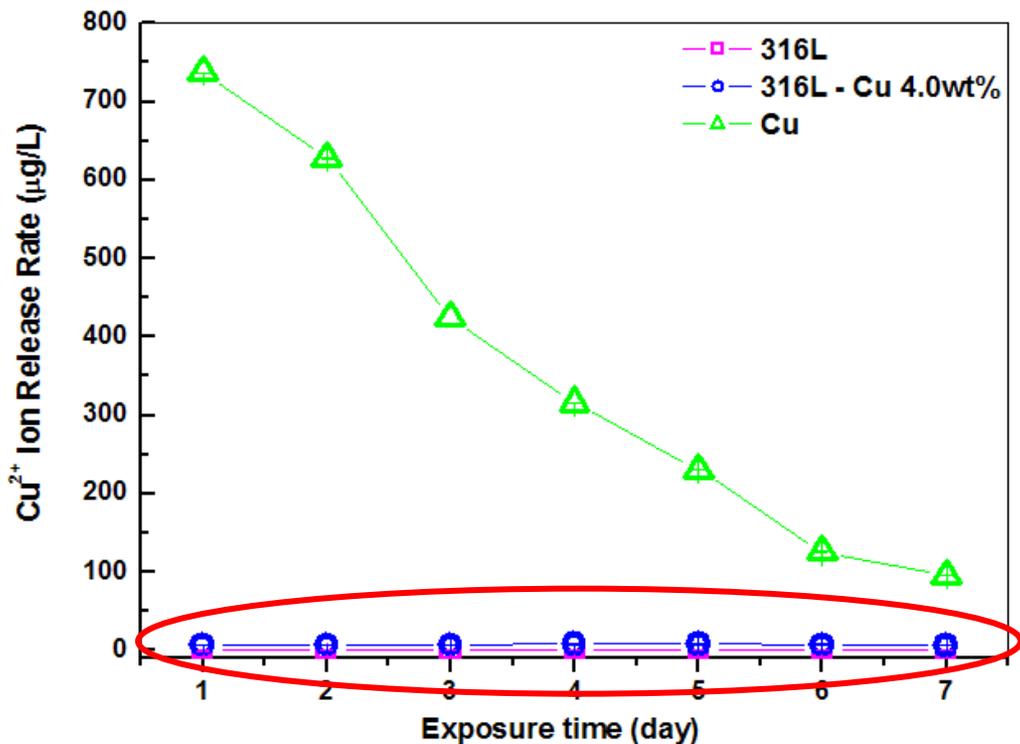
316L和316L-Cu浸提液对L-929的细胞相对增值率（RGR）及细胞毒性评级

Groups	24h		48h		72h	
	RGR (%)	Level	RGR (%)	Level	RGR (%)	Level
Culture medium	100.00	0	100.00	0	100.00	0
316L SS	91.01	1	86.87	0	88.74	1
316L-Cu SS	80.72	1	86.27	0	85.25	1

316L-Cu不锈钢的细胞毒性评级为1级，符合外科植入用不锈钢的基本要求（≤2级），是生物安全的。

含铜不锈钢的生物安全性

含铜不锈钢在生理溶液中的微量铜释放（生物安全性分析）



- ◆ 316L-Cu (10×10×5mm) 每日在模拟体液中释放出的微量铜：**0.0076 µg/cm²**;
- ◆ 一枚316L-Cu心血管支架的每日铜释放量约为：**0.0026 µg**;
- ◆ 远远低于世界卫生组织（WHO）推荐的成年人每天的2-3mg铜摄入量。

含铜不锈钢的力学性能

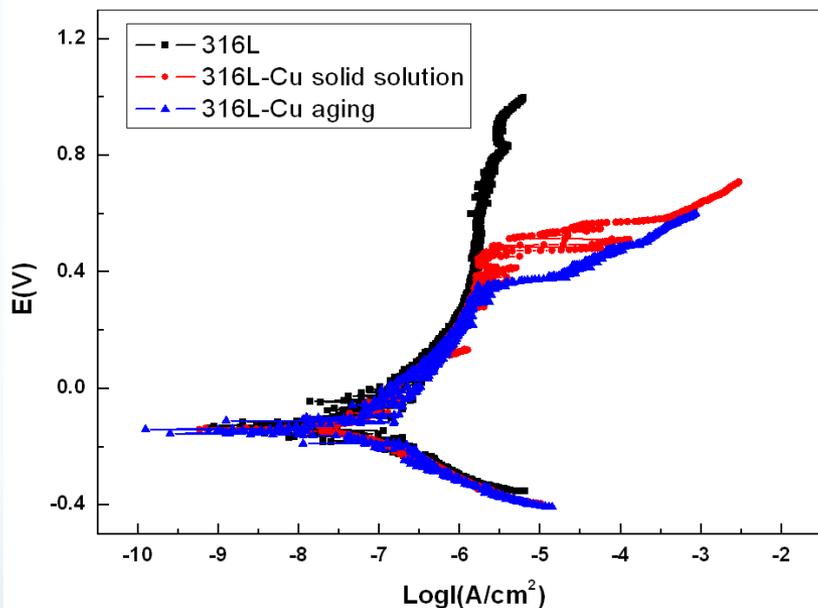
316L-Cu不锈钢的拉伸力学性能

	$R_{p0.2}$ N/mm ²	R_m N/mm ²	A %	Z %
316L-Cu	325	632	44	47
Hot finished	≥ 170	≥ 485	≥ 40	≥ 50
Cold finished	≥ 310	≥ 620	≥ 30	≥ 40

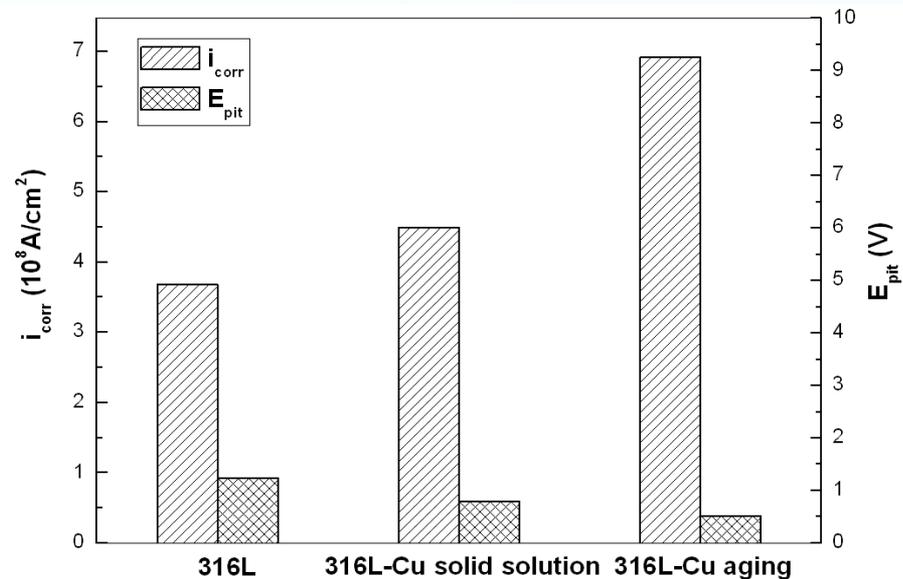
含铜不锈钢在发挥其生物医学功能的同时，仍然保持普通不锈钢所具备的优良力学性能。

含铜不锈钢的耐腐蚀性能

含铜不锈钢在0.9% NaCl溶液中的动电位极化曲线



动电位极化曲线

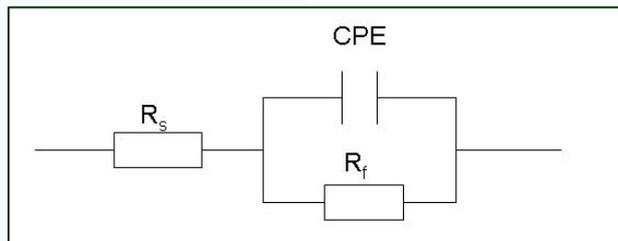


腐蚀电流密度 (i_{corr}) 及点蚀电位 (E_{pit}) 对比

三种不锈钢的点蚀电位高低顺序为：

$316\text{L} > 316\text{L-Cu (solution)} > 316\text{L-Cu (aging)}$

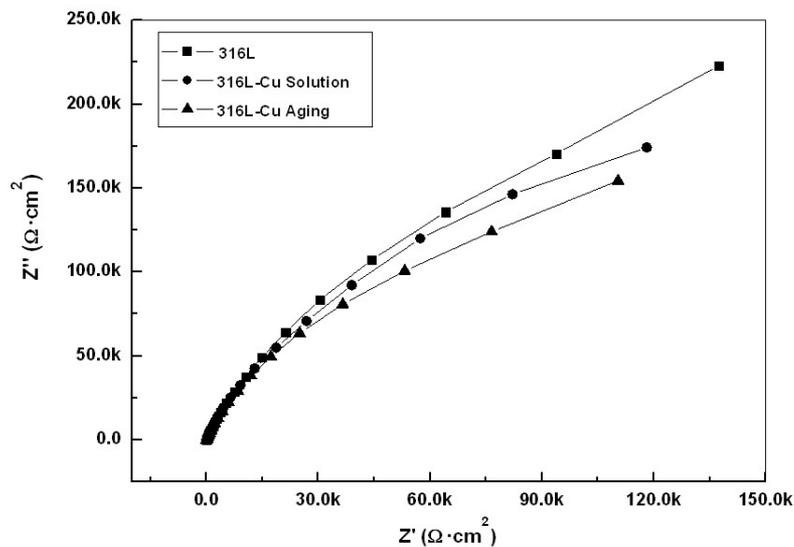
含铜不锈钢的耐腐蚀性能



电化学阻抗测试等效电路图

交流阻抗谱等效电路分析参数

实验材料	$R_f (\times 10^5 \Omega \cdot \text{cm}^2)$	$R_s (\Omega \cdot \text{cm}^2)$	$\text{CPE} (\times 10^{-5} \text{F}/\text{cm}^2)$
316L	3.64	35.8	2.67
316L-Cu (固溶)	2.94	34.9	3.19
316L-Cu (时效)	2.48	33.0	3.34



Nyquist图

R_f 值由大到小的顺序为：316L > 316L-Cu (固溶) > 316L-Cu (时效)，与动电位极化测试结果一致。

含铜不锈钢的电化学腐蚀性能分析

- 与316L不锈钢相比，含铜不锈钢（时效）中由于富铜析出相的存在，使其耐点蚀能力有一定程度的下降，点蚀电位下降到400mV左右。
- 含铜不锈钢的动电位极化曲线有明显的钝化过程，仍然保持不锈钢的性能；其耐局部腐蚀能力仍然远高于普通钢铁材料，例如耐蚀较好的耐候钢（Fe-Ni-Cu-P钢、Fe-Cr-Cu-P钢）在海水腐蚀环境中的点蚀电位也仅达到-460~-420mV。
- 因而含铜不锈钢在为微量铜离子持续溶出提供有利条件的同时，仍具有良好的耐腐蚀能力。
- 氮（N）是显著提高不锈钢点蚀电位的元素，通过添加适当N（0.1-0.2%）可以改善含铜不锈钢的电化学腐蚀性能。

含铜不锈钢的耐腐蚀性能



中国科学院金属研究所

三种不锈钢在生理盐水（0.9%NaCl）中浸泡至3个月后测得的均匀腐蚀速度

不锈钢	316L	316L-Cu (solution)	316L-Cu (aging)
均匀腐蚀速率 mm/year	0.0022	0.0019	0.0026

材料	腐蚀速 (mm/y)
低碳钢	0.13
304	0.005
316	0.0025

含铜不锈钢的均匀腐蚀速率与“Handbook of Corrosion Data”数据手册中给出的316、304等不锈钢的腐蚀速率相当，甚至更好，因此添加铜元素不会影响含铜不锈钢的耐均匀腐蚀能力。

含铜不锈钢的塑形加工性能



中国科学院金属研究所



316L-Cu含铜不锈钢具有与**316L**不锈钢相当的塑形加工性能，可以容易地加工成心血管支架用薄壁管材。

通过冷轧加工的尺寸为
 $\Phi 3.0 \times 0.1\text{mm}$ 的**316L-Cu**
不锈钢管材，可用于加工心
血管支架。



结论

含铜不锈钢（316L-Cu）

- ◆ 抑制血管平滑肌细胞增殖 → 降低ISR发生率
- ◆ 抗凝血 → 降低血栓形成倾向 → 降低ISR发生率
- ◆ 促进内皮细胞增殖 → 加速内皮愈合 → 降低血栓倾向 → 降低ISR发生率
- ◆ 良好的生物安全性
- ◆ 良好的力学性能、耐腐蚀性能、加工性能

一种具有临床应用前景的心血管支架用不锈钢新材料



中国科学院金属研究所

谢谢各位
欢迎合作