



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 110344151 B

(45) 授权公告日 2024. 04. 16

(21) 申请号 201910677294.4

D02G 3/04 (2006.01)

(22) 申请日 2019.07.25

A61F 2/82 (2013.01)

(65) 同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 110344151 A

(56) 对比文件

CN 103767806 A, 2014.05.07

CN 107929803 A, 2018.04.20

(43) 申请公布日 2019.10.18

CN 102107021 A, 2011.06.29

(73) 专利权人 东华大学

CN 103976805 A, 2014.08.13

地址 201620 上海市松江区松江新城人民
北路2999号

CN 102048595 A, 2011.05.11

CN 106913393 A, 2017.07.04

(72) 发明人 莫秀梅 谢宪瑞 吴晶磊 陈玉杰

CN 103445884 A, 2013.12.18

US 2009287308 A1, 2009.11.19

(74) 专利代理机构 上海泰能知识产权代理事务
所(普通合伙) 31233

US 5078744 A, 1992.01.07

EP 0437174 B1, 1993.12.22

专利代理师 黄志达

审查员 朱敏

(51) Int. Cl.

D02G 3/44 (2006.01)

D02G 3/36 (2006.01)

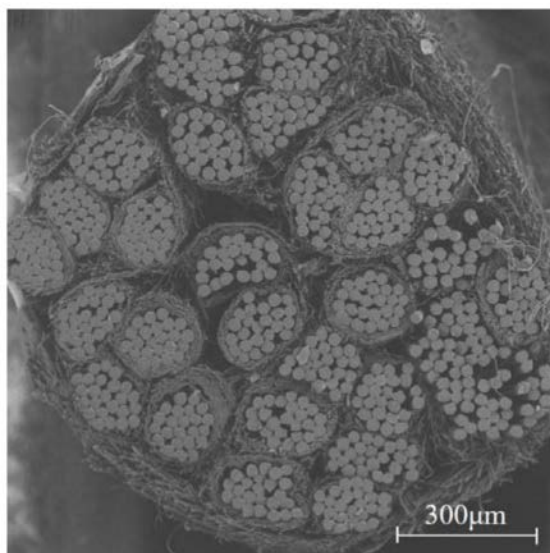
权利要求书1页 说明书6页 附图4页

(54) 发明名称

模拟天然肌腱组织纤维层次结构的仿生支
架及其制备方法

(57) 摘要

本发明涉及一种模拟天然肌腱组织纤维层
次结构的仿生支架及其制备方法,所述材料为模
拟肌腱组织纤维的多层级结构。采用双喷头纺
丝头,分别加上正负电场,经过一个旋转漏斗
接收纳米纤维并加捻到芯层纱线上,制备出稳
定连续的一级包芯纱。然后将若干根一级包
芯纱合股后作为芯层纱线,外层静电纺纳米
纤维,制备出模拟肌腱组织的纤维多层级结
构的三级包芯纱,用于肌腱修复支架。本发
明利于肌腱修复及正常功能恢复,很适合作
为肌腱损伤修复、医用器械材料,具有很
好的应用前景,制备方法,简单方便,生产
效率高。



1. 一种模拟天然肌腱组织纤维结构材料,其特征在于,所述材料为模拟肌腱组织纤维的多层级结构,包括:聚合物纱线作为一级结构,聚合物纱线外层包裹电纺纳米纤维,形成包芯纱作为二级结构;二级结构合股形成纤维束,外层包裹电纺纳米纤维,形成包芯纱作为三级结构;三级结构合股形成纤维束,外层包裹电纺纳米纤维,形成包芯纱作为四级结构;同理的n-1级结构合股形成纤维束,外层包裹电纺纳米纤维,形成n级结构,其中n>3的正整数;其中纤维平行排列组成的纤维束,并且纤维束与材料的轴向一致,纤维束中的包芯纱平行排列;

其中所述模拟天然肌腱组织纤维结构材料由下列方法制备:采用双喷头纺丝头,分别加上正负电场,经过一个旋转漏斗接收纳米纤维并加捻到芯层纱线上,制备出一级包芯纱;然后将一级包芯纱合股后作为芯层纱线,外层包裹静电纺纳米纤维,得到的二级包芯纱继续合股后仍作为芯层纱线,外层包裹静电纺纳米纤维,重复,制备模拟天然肌腱组织纤维结构材料。

2. 根据权利要求1所述材料,其特征在于,所述聚合物纱线为0.03-0.1mm;二级结构的直径为0.1-0.2mm;三级结构的直径为0.3mm-0.6mm;2-10根二级结构合股形成纤维束;4-8根三级结构合股形成纤维束。

3. 根据权利要求1所述材料,其特征在于,所述材料的直径为1-12mm;多层级结构为3-6级结构。

4. 根据权利要求1所述材料,其特征在于,所述聚合物纱线为聚对苯二甲酸乙二酯线、聚乳酸线、聚己内酯线、聚乳酸-羟基乙酸共聚物线、丝素线中的一种或几种;电纺纳米纤维为包括聚合物和天然高分子的电纺纳米纤维;其中聚合物包括乳酸-己内酯共聚物、聚己内酯、聚乳酸-羟基乙酸共聚物中的一种或几种;天然高分子包括丝素蛋白、胶原蛋白、明胶中的一种或几种。

5. 根据权利要求4所述材料,其特征在于,所述电纺纳米纤维中还含有药物、生长因子的一种或几种。

6. 一种权利要求1所述模拟天然肌腱组织纤维结构材料的制备方法,包括:采用双喷头纺丝头,分别加上正负电场,经过一个旋转漏斗接收纳米纤维并加捻到芯层纱线上,制备出一级包芯纱;然后将一级包芯纱合股后作为芯层纱线,外层包裹静电纺纳米纤维,得到的二级包芯纱继续合股后仍作为芯层纱线,外层包裹静电纺纳米纤维,制备模拟天然肌腱组织纤维结构材料。

7. 根据权利要求6所述制备方法,具体包括:

将聚合物和天然高分子溶于溶剂中,得到纺丝溶液;

采用步骤(1)纺丝液进行静电纺的纳米纤维加捻到聚合物纱线内芯,得到一级包芯纱;

将步骤(2)的一级包芯纱合股形成一束纱线作为内芯,采用步骤(1)纺丝溶液进行静电纺的纳米纤维加捻到内芯,得到二级包芯纱;

将上述二级包芯纱合股形成一束纱线作为内芯,采用步骤(1)纺丝溶液进行静电纺的纳米纤维加捻到内芯,得到三级包芯纱。

8. 根据权利要求7所述制备方法,其特征在于,所述步骤(1)中聚合物和天然高分子的质量比90:10-10:90;纺丝溶液中聚合物和天然高分子的质量分数为5%-20%。

9. 一种权利要求1所述模拟天然肌腱组织纤维结构材料作为仿生支架的应用。

模拟天然肌腱组织纤维层次结构的仿生支架及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明属于仿生材料领域,特别涉及一种模拟天然肌腱组织纤维层次结构的仿生支架及其制备方法。

背景技术

[0002] 随着人类文明的进步以及人们对健康体魄的追求,人们的户外运动显著增加。由于意外事故的不断发生和社会老龄化趋势的日益明显,运动损伤也越来越多,其中肌腱和韧带的损伤50%以上。有统计结果显示,每年至少有3000万的肌腱受损病人。由于肌腱和韧带再生能力有限,愈合时常伴随着纤维化疤痕组织的形成。目前,肌腱损伤的修复方法主要有自体肌腱移植、异种肌腱移植、人工肌腱替代等。除了捐赠者稀缺外,这些移植物的使用还存在许多风险,如组织排斥、疾病传染、捐赠点不健全和修复不充分等。肌腱损伤的不良修复,不仅影响到日常生活质量,甚至断送了许多顶尖运动员的运动生涯。因此,寻找新型的、可促进肌腱生理性再生修复的方法具有极其重要的临床意义。

[0003] 目前,关于组织工程人工肌腱的研究报道主要有有用可生物降解纤维经过机织、针织或编织的方法制备的人工肌腱支架和冷冻干燥法制备的多孔材料制备的人工肌腱支架等。然而,上述方法制备的肌腱支架大多无法模拟肌腱组织的纤维多层次结构,生物力学功能仍达不到正常肌腱,并且修复的过程中肌腱支架易于周围组织黏连,延缓肌腱愈合,影响愈合后肌腱的正常功能。

[0004] 近年来,由于静电纺纳米纤维能够仿生组织细胞外基质的丝状结构而被广泛用于组织修复支架,特别是肌腱的修复。大量研究表明纳米纤维组织修复材料能显著地促进了细胞的粘附、增殖和分化,调节细胞内控制转录活性和基因表达的信号路径,引导细胞骨架蛋白的定向排列,并且纳米级支架(如纳米纤维)更大的比表面积有利于吸附更多的蛋白质,能够为细胞膜上的受体提供更多的黏附位点,吸附的蛋白质也可通过改变构象暴露更多隐蔽的黏附位点,从而有利于细胞黏附。

[0005] 人体肌腱是有大量的纳米胶原纤维组成的纤维束,纤维平行排列,与肌腱的轴向基本一致,使其承受一定的拉伸力,在轴向的拉伸的强度是径向的200-500倍。具有一定取向排列的纳米纤维纱线可仿生天然肌腱中的胶原纤维束,且纳米纤维有序排列可以增加轴向的拉伸强度。现有的研究表明纳米纤维纱是一种非常理想的肌腱组织再生支架。

[0006] CN 103445884 A公开了一种具有双向形状记忆功能的智能肌腱修复器件及其制备方法,但其智能肌腱修复器件无法模拟天然肌腱组织纤维层次结构并且制备方法较为复杂,本发明填补了模拟天然肌腱组织纤维层次结构人工肌腱支架的空白。

发明内容

[0007] 本发明所要解决的技术问题是提供一种模拟天然肌腱组织纤维层次结构的仿生支架及其制备方法,克服现有技术无法仿生天然肌腱组织纤维层次结构的缺陷。本发明中采用双喷头纺丝头,分别加上正负电场,经过一个旋转漏斗接收纳米纤维并加捻到芯层纱

线上,制备出稳定连续的一级包芯纱。然后将若干根一级包芯纱合股后作为芯层纱线,外层静电纺纳米纤维,得到二级包芯纱继续合股后仍作为芯层纱线,外层静电纺纳米纤维,制备出模拟天然肌腱组织纤维层次结构的三级包芯纱,用于组织工程人工肌腱。

[0008] 本发明的一种模拟天然肌腱组织纤维结构材料,所述材料为模拟肌腱组织纤维的多层级结构,所述多层级结构包括:聚合物纱线作为一级结构,聚合物纱线外层包裹电纺纳米纤维,形成包芯纱作为二级结构;二级结构合股形成纤维束,外层包裹电纺纳米纤维,形成包芯纱作为三级结构;三级结构合股形成纤维束,外层包裹电纺纳米纤维,形成包芯纱作为四级结构…同理的n-1级结构合股形成纤维束,外层包裹电纺纳米纤维,形成n级结构,其中 $n \geq 3$ 的正整数。

[0009] 所述二级结构的直径为0.1-0.2mm;三级结构的直径为0.3mm-0.6mm;2-10根二级结构合股形成纤维束;4-8根三级结构合股形成纤维束。

[0010] 所述材料的直径为1-12mm;多层结构的层数为3-6层(也即多层级结构为3-6级结构)。

[0011] 模拟天然肌腱组织纤维结构材料外观包括但不限于圆柱体、扁状、长方体。

[0012] 所述材料中的纤维束与材料的轴向一致,纤维束中的包芯纱平行排列。

[0013] 所述聚合物纱线为聚对苯二甲酸乙二酯线、聚乳酸线、聚己内酯线、聚乳酸-羟基乙酸共聚物线、丝素线中的一种或几种。

[0014] 进一步地,所述聚合物纱线是由直径在20-50微米的单纤维经并合、牵伸形成的直径为0.03-0.1mm纱线。

[0015] 所述电纺纳米纤维为包括聚合物和天然高分子的电纺纳米纤维;其中优选地,聚合物包括乳酸-己内酯共聚物P(LLA-CL)、聚己内酯、聚乳酸-羟基乙酸共聚物中的一种或几种;天然高分子包括丝素蛋白、胶原蛋白、明胶中的一种或几种。

[0016] 进一步地,电纺纳米纤维是丝素蛋白含量为25%的丝素蛋白-P(LLA-CL)复合纳米纤维。

[0017] 本发明优选聚乳酸纱线为内芯,是因为聚乳酸无毒性,其具有良好的生物可降解性,优良的生物相容性以及良好的抗拉强度及延展度。天然材料与合成材料的复合可以得到最佳力学性能和最佳生物相容性的新材料,现已发现当丝素蛋白和P(LLA-CL)的复合比为25:75时材料的力学性能和生物学性能达到最佳,因此将制备丝素蛋白含量为25%的丝素蛋白-P(LLA-CL)复合纳米纤维纱线。

[0018] 所述电纺纳米纤维中还含有药物、生长因子的一种或几种。

[0019] 本发明的一种模拟天然肌腱组织纤维结构材料的制备方法,包括:

[0020] 采用双喷头纺丝头,分别加上正负电场,经过一个旋转漏斗接收纳米纤维并加捻到芯层纱线上,制备出稳定连续的一级包芯纱。然后将若干根一级包芯纱合股后作为芯层纱线,外层静电纺纳米纤维,得到的纱线继续合股后仍作为芯层纱线,外层静电纺纳米纤维,可重复,制备出模拟肌腱组织的纤维多层级结构的仿生支架,用于组织工程人工肌腱。

[0021] 进一步地,制备方法,具体包括:

[0022] (1) 制备纺丝液:将聚合物和天然高分子溶于溶剂中,得到纺丝溶液;

[0023] (2) 制备连续的一级包芯纱:

[0024] 采用步骤(1)纺丝液进行静电纺的纳米纤维包裹(加捻到)聚合物纱线内芯,得到

一级包芯纱；

[0025] 进一步具体为：将聚合物纱线置于电纺纳米纤维纱线制备设备中作为内芯，将步骤

[0026] (1) 中纺丝液进行静电纺纳米纤维，制备出一级包芯纱；

[0027] (3) 将步骤(2)的一级包芯纱合股形成一束纱线作为内芯，采用步骤(1)纺丝溶液进行静电纺的纳米纤维包裹(加捻到)内芯，得到二级包芯纱；

[0028] 进一步具体为：将步骤(2)中得到的一级包芯纱合股形成一束纱线，并将合股后纱线置于电纺纳米纤维纱线制备设备中作为内芯，将步骤(1)中纺丝液进行静电纺纳米纤维，制备出二级包芯纱；

[0029] (4) 将上述二级包芯纱合股形成一束纱线作为内芯，采用步骤(1)纺丝溶液进行静电纺的纳米纤维包裹(加捻到)内芯，得到三级包芯纱。

[0030] 进一步具体为：将步骤(3)中得到的二级包芯纱合股形成一束纱线，并将合股后纱线置于电纺纳米纤维纱线制备设备中作为内芯，将步骤(1)中纺丝液进行静电纺纳米纤维，制备出三级包芯纱，用于模拟天然肌腱组织纤维层次结构的仿生支架。

[0031] 所述步骤(1)中聚合物和天然高分子的质量比90:10-10:90；进一步，聚合物和天然高分子的质量比90:10、80:20、70:30、75:25、60:40、50:50、40:60、25:75、30:70、20:80或10:90等。纺丝溶液中聚合物和天然高分子的质量分数为5%-20%，优选地，6%、8%、9%或10.5%等，进一步优选8%。

[0032] 所述步骤(1)中溶剂为六氟异丙醇、三氟乙醇、二氯甲烷、三氟乙酸中的一种或几种。

[0033] 所述步骤(2)中一级包芯纱的直径为0.1-0.2mm。

[0034] 所述步骤(3)中2-10根一级包芯纱并成一束；二级包芯纱直径为0.3mm-0.6mm。

[0035] 所述步骤(4)中4-8根二级包芯纱合并成一束。

[0036] 所述步骤(2)-(4)中的静电纺具体工艺均为：将纺丝液加入注射器中，然后分别连接纱线左右两端的纺丝喷头，分别施加9KV的正负高压，推进泵速度1.2mL/h，接收距离10cm，旋转漏斗转速400转/分钟，接收辊10转/分钟，进行静电纺纳米纤维，经过旋转漏斗接收纳米纤维并加捻到芯层纱线上，制备包芯纱。

[0037] 本发明的一种所述方法制备的模拟天然肌腱组织纤维结构材料。

[0038] 本发明还提供一种所述制备方法采用的装置，所述装置包括：正、负高压电源装置、双喷头、中空旋转漏斗、接收辊等，其中中空旋转漏斗垂直设于接收辊上方，双喷头上分别施加正负电场，当两个喷头向上喷射纳米纤维到中间的旋转漏斗上时，旋转漏斗将纳米纤维捻成纱线，旋转纱线接收辊接收得到连续纳米纱线。

[0039] 具体为：采用双喷头纺丝头，分别加上正负电场，经过一个旋转漏斗接收纳米纤维并加捻到芯层纱线上，制备出一级包芯纱。然后将一级包芯纱合股后作为芯层纱线，外层静电纺纳米纤维，得到二级包芯纱，二级包芯纱合股后仍作为芯层纱线，外层静电纺纳米纤维，制备出模拟天然肌腱组织纤维层次结构的三级包芯纱，用于组织工程人工肌腱。

[0040] 本发明的一种所述模拟天然肌腱组织纤维结构的材料作为仿生支架的应用，如人体肌腱损伤修复支架中的应用、作为医用器械材料的应用。

[0041] 优选地，修复人类肌腱组织时，考虑肌腱的尺寸，制备仿生支架的直径为1-12mm。

[0042] 有益效果

[0043] (1) 本发明提供的模拟天然肌腱组织纤维层次结构的仿生支架,能够模拟天然肌腱组织复杂的纤维层次结构,跨越几个长度尺度从纳米级到宏观级排列的多层次胶原纤维结构,更好地仿生天然肌腱组织形态;

[0044] (2) 本发明提供的模拟天然肌腱组织纤维层次结构的仿生支架,具有一定取向排列的纳米纤维纱线,纤维平行排列组成的纤维束,并且纤维束与材料的轴向一致,使其承受一定的拉伸力,且纳米纤维有序排列可以增加轴向的拉伸强度;

[0045] (3) 本发明提供的模拟天然肌腱组织纤维层次结构的仿生支架,力学性能可调且能够匹配人体不同部位肌腱的力学要求,并且能够模拟天然肌腱的应力-应变曲线,低应变时为非线性趾区,高应变时为线性区,纳米纤维纱线的粗细可根据芯层纱线的根数以及并股的数量来调整;

[0046] (4) 本发明提供的模拟天然肌腱组织纤维层次结构的仿生支架,根据临床需求,可在制备过程中在材料不同层加入抗炎、防止组织粘连药物或生长因子,减轻炎症反应、避免组织粘连和促进肌腱修复及正常功能恢复,同时起到药物缓释作用;

[0047] (5) 本发明提供的模拟天然肌腱组织纤维层次结构的仿生支架,具有三维结构能够诱导细胞和血管长入,在新组织长入的同时自身会由外向内逐渐降解,最终形成完全的肌腱愈合,生物降解过程中无残留毒性,具有很好的生物相容性;

[0048] (6) 本发明中肌腱仿生支架具有匹配天然肌腱的力学性能,避免组织粘连,利于肌腱修复及正常功能恢复,所述肌腱仿生支架制作方法简单方便,生产效率高。

附图说明

[0049] 图1为电纺纳米纤维纱线制备设备原理示意图;

[0050] 图2为肌腱仿生支架的实物图;

[0051] 图3为肌腱仿生支架的表面扫描电镜图;

[0052] 图4为肌腱仿生支架的横截面扫描电镜图;

[0053] 图5为肌腱仿生支架的应力-应变曲线图;

[0054] 图6为肌腱仿生支架的水接触角图;

[0055] 图7为肌腱仿生支架对NIH3T3细胞各时间点(1天、4天、7天、14天)影响扫描电镜图。

具体实施方式

[0056] 下面结合具体实施例,进一步阐述本发明。应理解,这些实施例仅用于说明本发明而不适用于限制本发明的范围。此外应理解,在阅读了本发明讲授的内容之后,本领域技术人员可以对本发明作各种改动或修改,这些等价形式同样落于本申请所附权利要求书所限定的范围。

[0057] 实施例1

[0058] (1) 丝素蛋白提取:将蚕茧剪开,去除蚕蛹,蚕茧剥成数层置入0.5%碳酸氢钠水溶液中煮沸30分钟,重复两次,以除去表面丝胶,去离子水充分冲洗、晾干,即得到纯的丝素蛋白纤维。将丝素蛋白纤维置入CaCl₂/H₂O/无水乙醇(摩尔比为1:8:2)三元溶剂中,加热至70

℃溶解40分钟,再装入截留分子量为14000Da的透析袋室温下透析3天,过滤溶液即得到纯净的丝素蛋白水溶液,冷冻干燥得到海绵状的丝素蛋白。

[0059] (2) 制备纺丝液:称取0.6g分子量约为二十万的P(LLA-CL) (75:25) (购于济南岱罡生物科技有限公司)和0.2g丝素蛋白溶于10mL六氟异丙醇(购于上海达瑞精细化学品有限公司)中,配成质量浓度为8%的纺丝液。

[0060] (3) 制备连续的一级包芯纱:

[0061] 将聚乳酸纱线置于电纺纳米纤维纱线制备设备的旋转漏斗中作为内芯层,将步骤(1)中纺丝液加入注射器中,然后分别连接纱线左右两端的纺丝喷头,分别施加9KV的正负高压,推进泵速度1.2mL/h,接收距离10cm,旋转漏斗转速400转/分钟,接收辊10转/分钟,进行静电纺纳米纤维,经过旋转漏斗接收纳米纤维并加捻到芯层纱线上,制备出连续的一级包芯纱。

[0062] (4) 将4-6根步骤(2)中得到的一级包芯纱合股形成一束纱线,并将此束纱线置于电纺纳米纤维纱线制备设备的旋转漏斗中作为内芯,重复步骤(2)中的纺丝过程,制备二级包芯纱。

[0063] (5) 将8根步骤(3)中得到的二级包芯纱合股形成一束纱线,并将此束纱线置于电纺纳米纤维纱线制备设备的旋转漏斗中作为内芯,重复步骤(2)中的纺丝过程,制备出三级包芯纱,用于模拟天然肌腱组织纤维层次结构的仿生支架。

[0064] (6) 上述(2)-(4)静电纺具体工艺为:将纺丝液加入注射器中,然后分别连接纱线左右两端的纺丝喷头,分别施加9KV的正负高压,推进泵速度1.2mL/h,接收距离10cm,旋转漏斗转速400转/分钟,接收辊10转/分钟,进行静电纺纳米纤维。

[0065] 将上述实施例1中得到的肌腱仿生支架横切制得横截面,将其表面和横截面喷金后通过扫描电子显微镜观察形貌。支架实物如图2所示,支架为圆柱形,直径约为1-2mm,修复人类肌腱组织时,支架长度可根据实际受损肌腱的尺寸定制。支架表面纤维直径均匀分布,纤维沿轴向取向排列(图3)。芯层纱线由纳米纤维包裹,形成一级包芯纱;合股后的一级包芯纱外层包裹纳米纤维,得到二级包芯纱;二级包芯纱合股后,外层电纺纳米纤维,得到模拟天然肌腱组织纤维层次结构的三级包芯纱(图4)。

[0066] 将上述实施例1中得到的肌腱仿生支架置于万能测试机上进行力学拉伸测试,试样横截面直径为1.5mm,试样标距为2.0cm,拉伸速率为20.0mm/min。应力-应变曲线如图5所示,结果显示该支架最大的拉伸强度为105.08MPa,断裂伸长率为79.66%,杨氏模量326.85MPa力学性能较好。

[0067] 上述实施例1中得到的肌腱仿生支架采用接触角仪(DSA100)对其表面的水接触角进行测定。将支架水平放在接触角仪的载物台上,调整蒸馏水液滴大小(直径6 μ L),将蒸馏水液滴滴在样品表面平整处,滴水后5s内测量接触角大小并记录数据。肌腱仿生支架的表面水接触角如图6所示,接触角为63.8°小于90°,表现为亲水性,有利于细胞粘附生长。

[0068] 通过扫描电镜观察小鼠胚胎成纤维细胞(NIH 3T3)在实例1的肌腱仿生支架上分别培养1、4、7和14天的形态和生长情况。从图中可以看出,第1天NIH 3T3细胞在仿生支架表面生长状态良好,形态保持完整,黏附在支架上,由于细胞接种到新的环境对细胞的生长有一定的影响,此时细胞还没有长入纤维膜内部,并且数量不多。第4、7天细胞生长和增殖明显,细胞伸长铺展并向外围生长,并且细胞的触角有些已经伸展到纤维下方,有深入纤维下

方生长趋势,能够紧密的黏附在纤维上,显示细胞具有良好的生长活性。第14天细胞呈铺展状态,延生连接成片,在支架表面形成一层单细胞层,可能由于电纺纳米纤维的高比表面积和高空隙率为细胞的生长增殖提供了有利条件。

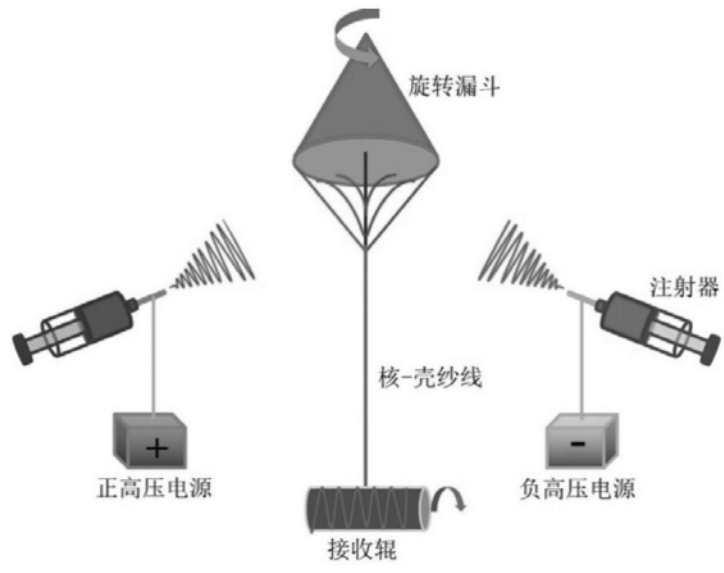


图1

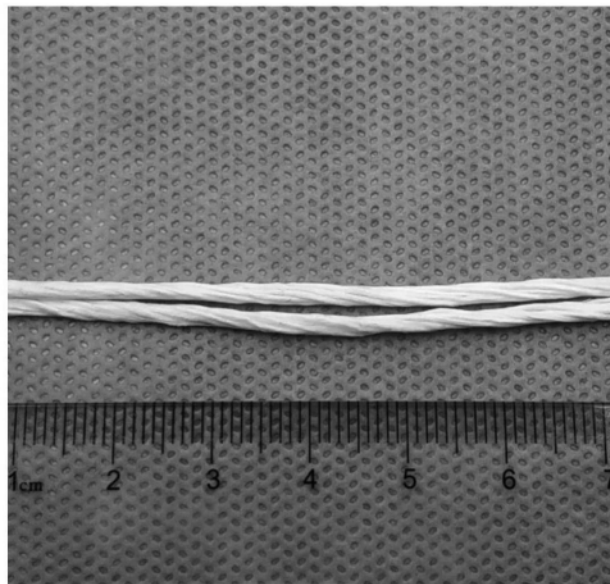


图2

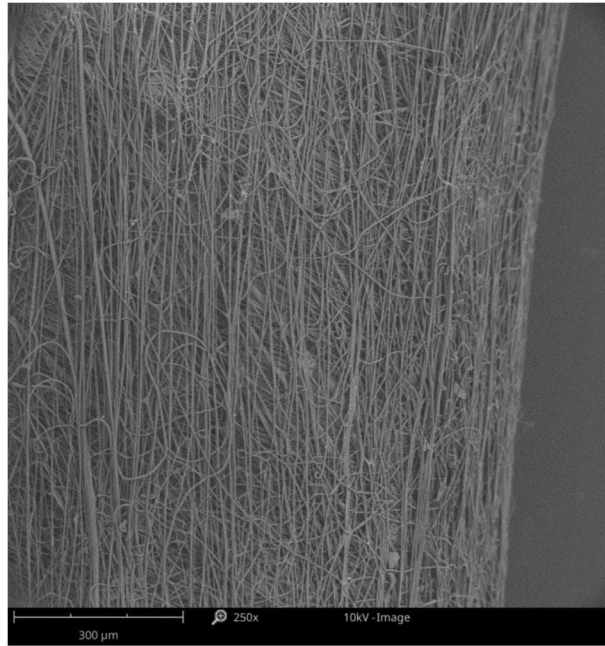


图3

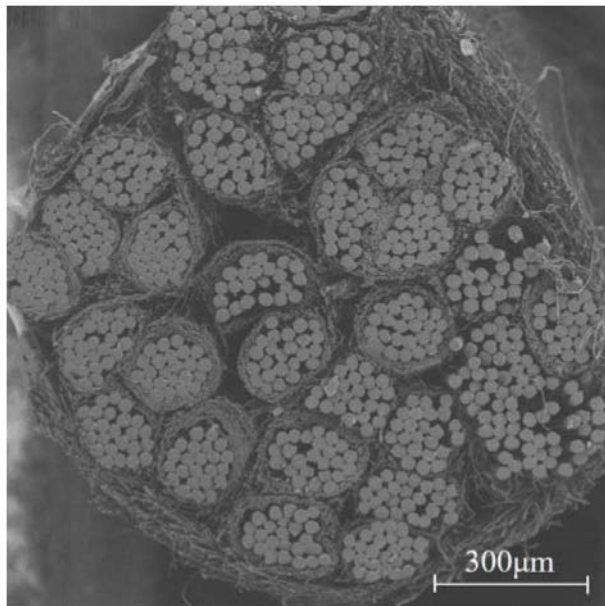


图4

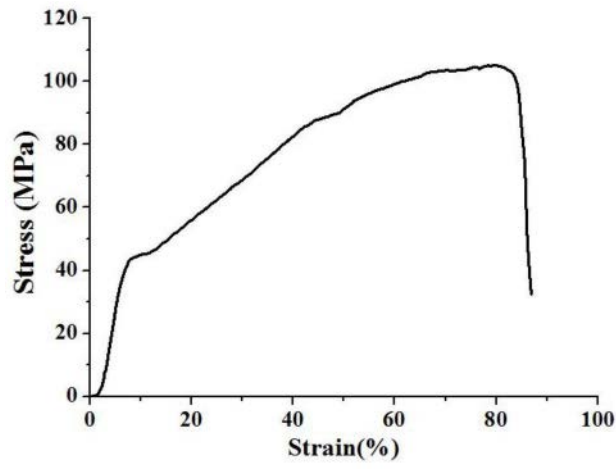


图5

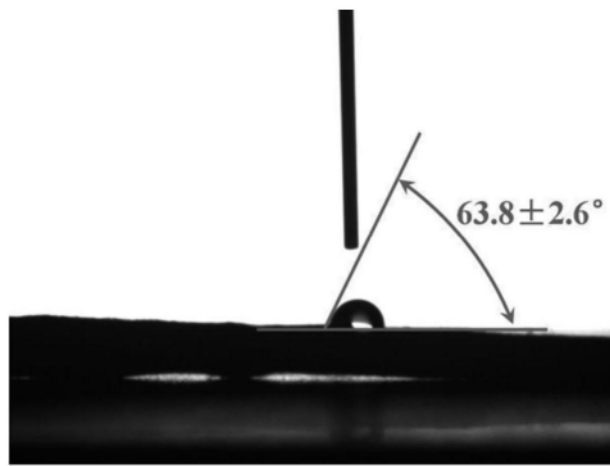


图6

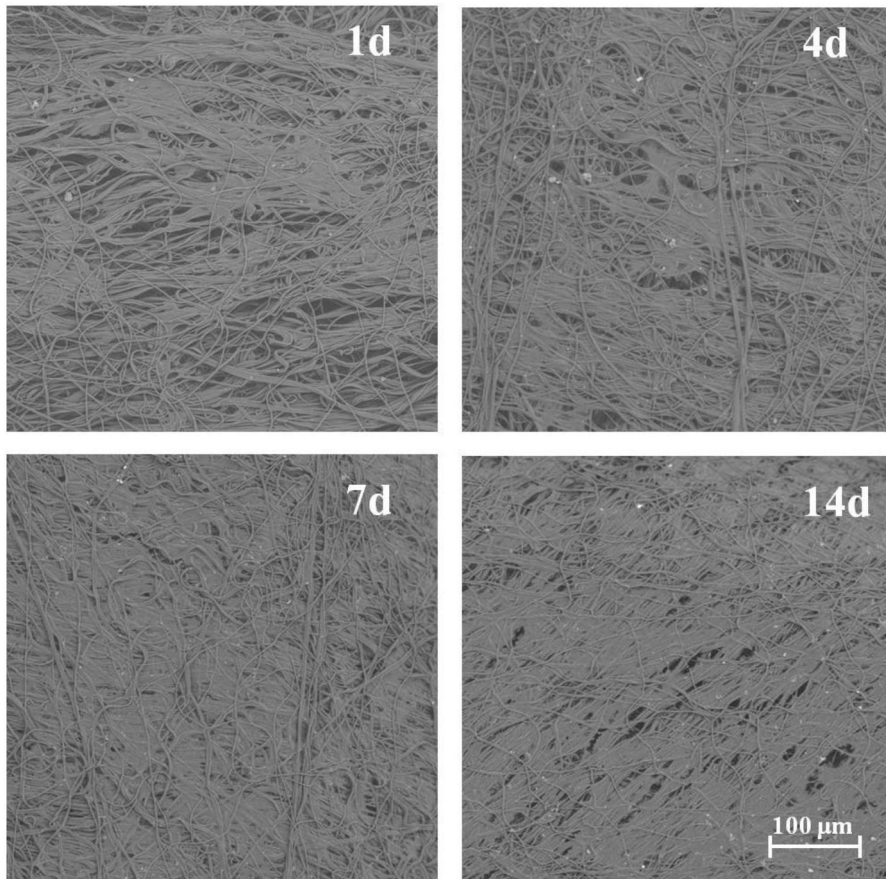


图7