

文章编号:1004-7220(2013)05-0559-08

双层蛛丝蛋白血管支架的制备及其生物力学性能与细胞相容性研究

赵亮, 徐艳丽, 李敏, 陈雨晴

(福建师范大学 生命科学学院, 福州 350108)

摘要: **目的** 应用静电纺丝法制备一种双层蛛丝蛋白血管支架, 观察血管支架的微观结构, 并研究其生物力学性能和细胞相容性。 **方法** 配制纺丝液, 通过静电纺丝, 以旋转接收棒为收集装置, 制备 (pNSR16/PCL/CS)/(pNSR16/PCL/Gt) 双层蛛丝蛋白血管支架。探讨质量分数和管壁厚度对血管支架孔隙率、爆破强度、拉伸性能、缝合强度和水渗透性的影响, 并检测血管支架的细胞毒性和细胞黏附性能。 **结果** 血管支架的微观结构为纤维随机分布的三维多孔网状, 爆破强度、拉伸强度和缝合强度大小均与支架的质量分数和管壁厚度成正比, 孔隙率、水渗透性和断裂伸长率大小与支架的质量分数和管壁厚度成反比。血管支架爆破强度的范围为 43 ~ 150 kPa, 高于生理血压; 缝合强度高于 0.19 N, 符合体内移植要求; 拉伸强度高于人体桡动脉血管, 满足体内移植的要求; 水渗透性为 0.3 ~ 0.6 mL · min⁻¹ · cm⁻²。血管支架无细胞毒性, 有利于内皮细胞细胞黏附及增殖。 **结论** 使用静电纺丝法制备双层蛛丝蛋白血管支架是可行的, 其优异的生物力学性能和生物相容性能表明其能应用于体外组织工程血管的构建, 具有进一步应用于血管移植研究的前景, 为临床应用奠定了一定的基础。

关键词: 双层蛛丝蛋白血管支架; 生物力学特性; 细胞相容性; 静电纺丝; 组织工程

中图分类号: R 318.01 文献标志码: A

Preparation of bilayer spider silk protein vascular scaffold and its biomechanical properties and cell compatibility

ZHAO Liang, XU Yan-li, LI Min, CHEN Yu-qing (College of Life Sciences, Fujian Normal University, Fuzhou 350108, China)

Abstract: Objective To prepare a bilayer spider silk protein vascular scaffold using electrospinning, observe microstructure of the vascular scaffold and study its biomechanical properties and cell compatibility. **Methods** Spinning solution was electrospun to prepare (pNSR16/PCL/CS)/(pNSR16/PCL/Gt) bilayer spider silk protein vascular scaffold using rotating receiving rod as the collection device. The effects of mass fraction and wall thickness on the porosity, bursting strength, tensile properties, suture retention strength and water permeability of the vascular scaffold were investigated, and cytotoxicity and cell adhesion property of the vascular scaffold were tested. **Results** The vascular scaffold presented three-dimensional porous microstructure with randomly distributed fibers. The bursting strength, tensile strength and suture retention strength were directly proportional to mass fraction and wall thickness, but the porosity, water permeability and elongation at break were inversely proportional to mass fraction and wall thickness. The bursting strength range of vascular scaffold was 43 ~ 150 kPa, which was higher than the physiological blood pressure; the suture strength was above 0.19 N, which was consistent with the transplantation requirement *in vivo*; the tensile strength was higher than that of human radial artery, which met the transplantation requirement *in vivo*; the range of water permeability was 0.3 ~ 0.6 mL · min⁻¹ · cm⁻². The vascular scaffold had no cytotoxicity and facilitated the adhesion and proliferation of endothelial cells. **Conclu-**

收稿日期:2012-10-25; 修回日期:2012-12-05

基金项目:福建省科技厅重点项目(2010Y0020), 国家级大学生创新创业训练计划(201210394016)。

通信作者:李敏, 教授, 博士研究生导师, E-mail: mli@fjnu.edu.cn。

sions It is feasible to prepare the bilayer spider silk protein vascular scaffold through electrospinning. The superior biomechanical properties and biocompatibility properties show that the bilayer spider silk protein vascular can be used for construction of the tissue engineered blood vessels *in vitro*, with prospect for further vascular graft study, which lays a foundation for its clinical application.

Key words: Bilayer spider silk protein vascular scaffold; Biomechanical properties; Cell compatibility; Electrospinning; Tissue engineering

冠状动脉疾病是一种死亡率极高的心血管疾病^[1]。目前自体血管移植是临床上最佳的治疗手段,然而由于其供应有限而存在局限性。移植人工血管也是一种治疗动脉疾病的方法,但因生物相容性较差而在移植时失败率较高^[2]。高速发展的组织工程学为解决这些问题带来了曙光,组织工程血管移植和传统人工血管移植的区别在于支架材料的生物可降解性的和有无种子细胞。研究者尝试了多种方法来制备组织工程血管,包括使用脱细胞天然血管^[3]、细胞-水凝胶复合种植^[4-5]、人工血管支架上种植细胞^[6-7]、将细胞板绕轴卷曲形成管状结构^[8]。然而目前对如何制备一个临床上可行的组织工程血管还没有形成共识,存在的主要问题是与天然血管缺乏力学匹配性。支架材料在组织工程血管构建中起着重要的作用,其作为一个暂时的三维模板,在结构、力学和生物学方面为血管组织再生和重塑提供支持。血管重建受生物、化学和物理等多种体内外因素的影响,其中力学因素在血管重建中的作用尤为重要^[9]。血管支架应具有一定的拉伸强度、顺应性和缝合强度,同时应在结构上模拟天然血管的多层结构。

蛛丝蛋白纤维抗张强度和弹性强度较高,具有良好的生物降解性和组织相容性,是一种理想的支架材料^[10]。利用静电纺丝技术制备的血管支架纤维能达到亚微米尺度,具有较高的比表面积和孔隙率。本文选用 RGD-蛛丝蛋白(pNSR16)、聚己内酯(PCL)、明胶(Gt)、壳聚糖(CS)为原材料,应用静电纺丝技术制备双层血管支架,考察纺丝液质量分数、管壁厚度对支架生物力学性能的影响,并研究支架与内皮细胞的生物相容性,以期获得具有优良生物力学性能和生物相容性的血管移植替代物。

1 材料与方法

1.1 主要材料和试剂

pNSR16(分子量 60 KD,自制),PCL(分子量

8 000,日本大赛璐化学工业株式会社),Gt(国药集团化学试剂有限公司),CS(国药集团化学试剂有限公司),胎牛血清(HyClone),DMEM 低糖培养基(GIBCO)。98%甲酸、乙醇等(分析纯,国药集团化学试剂有限公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 纺丝液配制 以 98% 甲酸为溶剂,配制 pNSR16 : PCL : CS 质量比为 5 : 85 : 10 的混合电纺溶液作为内层纺液,配制 pNSR16 : PCL : Gt 质量比为 5 : 85 : 10 的混合电纺溶液作为外层纺液。纺丝液置于振荡器中,振荡 6 ~ 10 h 后进行电纺。

1.2.2 静电纺丝 将纺丝液装入注射器中,安装在推进泵上。电纺参数设置为:电压 18 kV、固化距离 15 cm、挤出速度 1 mL/h、转轴直径 1.2 mm、温度 30 °C、相对湿度 50%。先电纺内层纺液,再电纺外层纺液。

1.2.3 形态结构观察 用数码相机拍摄血管支架的外观照片;将双层血管支架沿轴向剪开,裁剪成 2 mm × 2 mm 大小的膜,喷金后用 S-4700 型扫描电子显微镜(日本日立公司)观察其形貌,放大 2×10^4 倍。

1.2.4 孔隙率测定^[11] 在恒温 30 °C 条件下,比重瓶装满乙醇称重 W_1 ;把重 W_s 的样品浸入装有乙醇的比重瓶中,脱气,务必使乙醇充盈于血管支架中,然后加满乙醇,称重得 W_2 ;将浸满乙醇的样品取出后,剩余的乙醇与比重瓶称重 W_3 ,则孔隙率 = $\frac{W_2 - W_3 - W_s}{W_1 - W_3} \times 100\%$ 。

1.2.5 爆破强度^[12] 将血管支架在单蒸水中浸泡 24 h。取出后将一端固定在爆破强度测试仪(Merit,美国)的出水端,另一端用相应孔径的不锈钢棒封住,并用胶带裹紧。持续加压,直至支架破裂漏水,记录此时的压强,即为爆破强度。测定 3 个支架的爆破强度,取平均值。

1.2.6 拉伸性能测试^[12] 从管状支架上截取 40 mm × 14 mm(长 × 宽)的长条,每个长条用 bjhb-cz-001 数显螺旋测微仪(西化仪科技有限公司)选择测定 5 个点处的厚度,计算平均值即得其厚度,然后乘以宽度即得试样的断面面积。采用 ALJ-02B 手动螺旋式测试机(福州艾普仪器有限公司)测定双层血管支架的拉伸强度和断裂伸长率,夹持长度为 15 mm,拉伸速率为 10 mm/min,则断裂伸长率 = (样品断裂时样品的长度 - 拉伸试验前样品的长度) / 拉伸试验前样品的长度。

1.2.7 缝合强度^[13] 将双层血管支架沿长轴方向剪开,制备 6 mm × 12 mm 长方形膜。用直径为 0.109 mm 的涤纶手术线将其与硬质模板缝在一起,针孔间距 1 ~ 2 mm,针孔距端部 1 ~ 2 mm,在 ALJ-02B 手动螺旋式测试机上拉伸直至针孔处断裂,拉伸速率为 5 mm/min。取断裂时的拉力值除以针孔数,得到每针所能承受的最大拉力。设 3 个平行组。

1.2.8 水渗透性 在国际标准 ISO7198—1998 心血管植入物血管修复术中,人造血管水渗透性定义为在 15.9 kPa 静压力下单位时间内透过样品单位面积的水流量($\text{mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$)。将血管支架在单蒸水中浸泡 24 h。取出后一端固定在渗透性测试仪(自制)的出水端,另一端用相应孔径的不锈钢棒封住,用胶带裹紧。向测试仪中注入单蒸水至压强为 (15.9 ± 0.1) kPa 时开始测量。打开阀门使水流通,计算 1 min 内血管支架的渗透量。

1.2.9 细胞毒性实验^[14] 将 (pNSR16/PCL/CS) / (pNSR16/PCL/Gt) 和 (PCL/CS) / (PCL/Gt) 两种双层血管支架灭菌后,于含 20% 胎牛血清的 DMEM 中

浸泡制备浸提液。取 96 孔板,接种内皮细胞悬液培养,测试组加入 (pNSR16/PCL/CS) / (pNSR16/PCL/Gt) 浸提液,阴性对照组加入 (PCL/CS) / (PCL/Gt) 浸提液,空白对照组加入新鲜的细胞培养液。培养 24, 48, 72 h 后,加入 MTT 溶液,继续培养 4 h 后加入 DMSO,检测吸光度(波长 570 nm)。计算细胞相对增殖率(RGR) = 实验组吸光度值 / 空白对照组吸光度值 × 100%,每组重复 3 次取平均值。

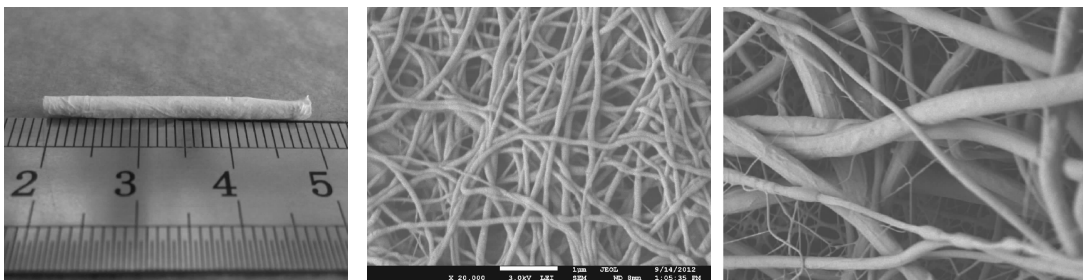
1.2.10 细胞黏附实验^[14] 取铺有 (pNSR16/PCL/CS) / (pNSR16/PCL/Gt) 和 (PCL/CS) / (PCL/Gt) 两种双层血管支架的 96 孔板,分别接种内皮细胞悬液,培养 1 h 后,检测两种支架表面的细胞黏附情况。荧光显微镜(BX51,日本 OLYMPUS 公司)观察并拍片,每个样品选取 9 个不同位置的照片,用凝胶成像分析系统图像处理软件分析照片中的细胞数量。

1.2.11 数据统计及处理 定量实验数据采用平均数 ± 标准差表示,用 SPSS 11.0 软件进行统计分析。生物学检测的数据使用广义线性模型统计分析,均数比较用单因素方差分析,组间比较使用 *t* 检验。检验水准 $\alpha = 0.05, P < 0.05$ 有统计学意义。

2 实验结果

2.1 血管支架的电镜图

如图 1 所示,双层小直径血管支架各层为纤维随机分布的多孔网状结构。内层纤维成网状,严实平整,纤维细小,直径分布较为均匀,孔隙相对较小;而外层纤维直径分布较为分散,孔隙较大,有利于平滑肌细胞的迁移和黏附。



(a) 实物图

(b) 支架内层

(c) 支架外层

图 1 血管支架的宏观形貌和微观结构

Fig. 1 Macro-morphology and microstructure of the vascular scaffold (a) Real picture, (b) Inner layer of the scaffold, (c) Outer layer of the scaffold

2.2 血管支架的孔隙率

在滚轴转速一致的条件下,制备3种质量分数分别为15%、18%和21%的血管支架,各支架的管壁厚度相同,测定其孔隙率(见图2(a))。随着纺丝液质量分数的提高,血管支架的孔隙率逐渐减小。在滚轴转速一致、纺丝液质量分数为18%的条件下,制备不同管壁厚度的血管支架(见图2(b))。随着管壁厚度的增加,其孔隙率有明显下降的趋势。

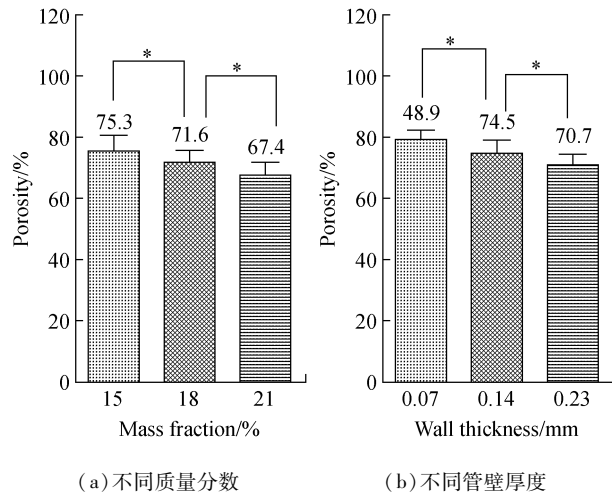


图2 血管支架的孔隙率 (* $P < 0.05$)

Fig. 2 Porosity of the vascular scaffold (a) Different mass fraction, (b) Different wall thickness

2.3 爆破强度

本研究制备的双层血管支架的爆破强度为43~150 kPa,高于人体的正常血压,有良好的抗内压能力,并接近隐静脉的抗内压能力。因此,能够满足组织工程血管的应用。随着质量分数和管壁厚度的增加,爆破强度不断增加,这与孔隙率变小有关(见图3)。

2.4 拉伸性能

随着纺丝液质量分数和管壁厚度的提高,双层血管支架的拉伸强度逐渐增大,断裂伸长率有下降趋势(见图4和5)。这是因为随着纺丝液质量分数和管壁厚度的提高,纤维直径增大,孔隙率减小,从而导致双层血管支架的拉伸强度增大,断裂伸长率减小。

2.5 缝合强度

缝合强度是指手术线从人工血管管壁中拉出至管壁被破坏时所需的力学强度,直接关系到人工血

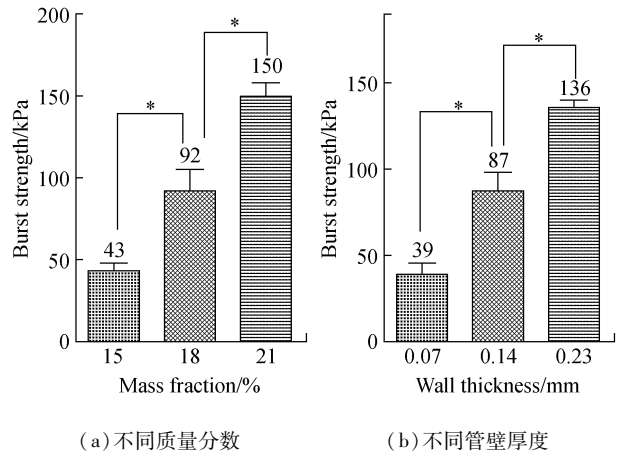


图3 血管支架的爆破强度 (* $P < 0.05$)

Fig. 3 Burst strength of the vascular scaffold (a) Different mass fraction, (b) Different wall thickness

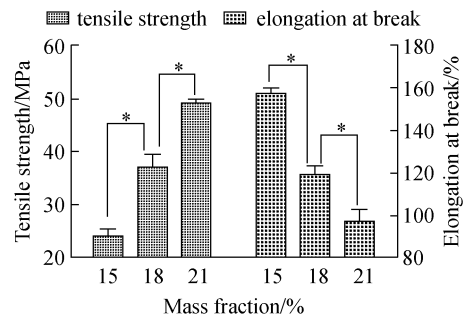


图4 不同质量分数血管支架的拉伸性能 (* $P < 0.05$)

Fig. 4 Tensile properties of the vascular scaffold with different mass fraction

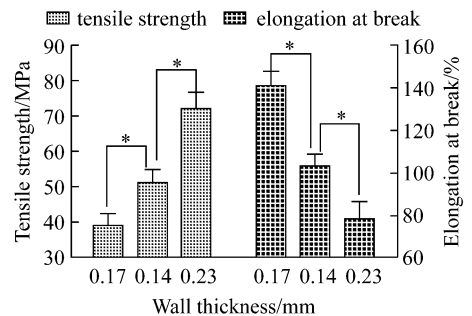


图5 不同管壁厚度血管支架的拉伸性能 (* $P < 0.05$)

Fig. 5 Tensile properties of the vascular scaffold with different wall thickness

管缝合手术的难度及与血管吻合口连接处的牢固程度,是一项重要的生物力学性能指标。管壁厚度为0.23 mm的双层血管支架的缝合强度为2.6 N/针,

随着管壁厚度的减小,缝合强度逐渐减小;不同质量分数血管支架的缝合强度也有较大差异,且随质量分数的变化成正比关系(见图6)。

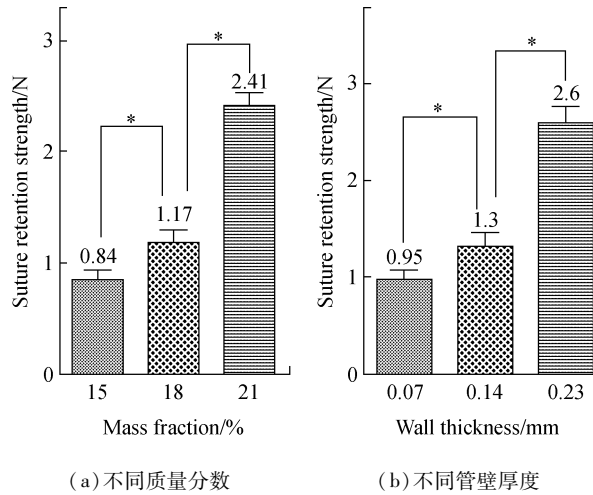


图6 血管支架的缝合强度 (**P* < 0.05)

Fig.6 Suture retention strength of the vascular scaffold (a) Different mass fraction, (b) Different wall thickness

2.6 水渗透性测试

临床上使用的膨体聚四氟乙烯(ePTFE)人工血管水渗透性为 $0.43 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$,制备的双层血管支架水渗透性在 $0.3 \sim 0.6 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$ 之间。随着质量分数和管壁厚度的增加,双层血管支架的水渗透性都在减小(见图7)。

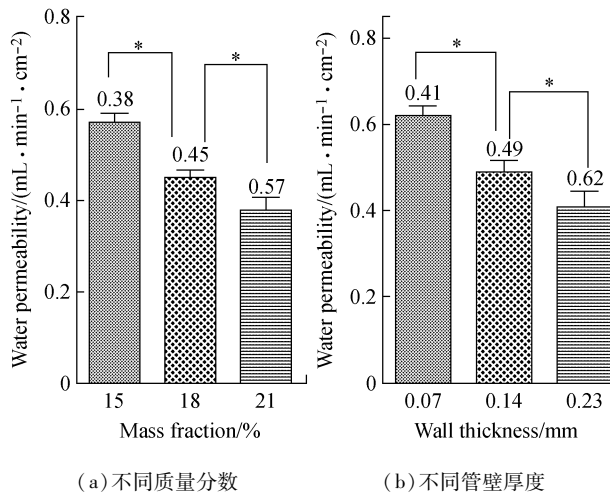


图7 双层血管支架的水渗透性 (**P* < 0.05)

Fig.7 Water permeability of the vascular scaffold (a) Different mass fraction, (b) Different wall thickness

2.7 细胞毒性实验

由图8可知,两组血管支架的细胞相对增殖率(RGR)均值大于75%,但(pNSR16/PCL/CS)/(pNSR16/PCL/Gt)支架相对于(PCL/CS)/(PCL/Gt)而言,在统计学上具有显著差异性。

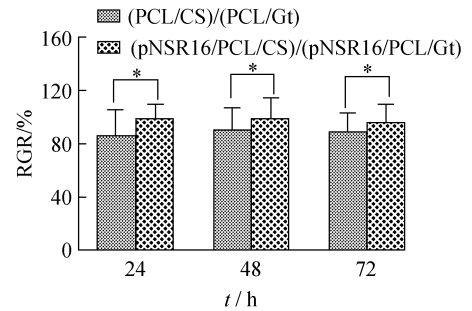


图8 血管支架浸提液对内皮细胞的细胞毒性 (**P* < 0.05)

Fig.8 Effect of vascular scaffold extract on endothelial cell cytotoxicity

2.8 细胞黏附实验

内皮细胞与血管支架复合培养1h后,两种支架上黏附了一定数量的细胞。(pNSR16/PCL/CS)/(pNSR16/PCL/Gt)血管支架表面细胞黏附量明显多于(PCL/CS)/(PCL/Gt)支架(见图9),这是由于加入pNSR16所致。pNSR16含有RGD三肽序列,其作为细胞间识别体系的基本单位和细胞附着位点,促进了内皮细胞在支架上的黏附。

3 讨论

人工血管在植入体内应用于血管缺损修复时,其接触的是体内动态的血流环境,血液的周期性搏动必然对血管支架产生一定的影响,要承受体内环境中力学应力的作用。力学应力是指由舒张压和收缩压共同作用形成的周期性动脉压力,在血管的生物、生理和病理发展过程中起着十分重要的作用^[15],故有必要对人工血管进行一系列的生物力学测试。本文制备的双层血管支架在制备时受到质量分数和管壁厚度两个因素的影响,故有必要探讨质量分数和管壁厚度对血管支架的生物力学指标的影响,从而为制备合适的双层血管支架奠定理论基础。

在用扫描电子显微镜观察血管支架的微观结构时,双层微观结构出现差异是由外层有明胶、而内层含有壳聚糖所导致。调节纺丝时的电压、纺速、温

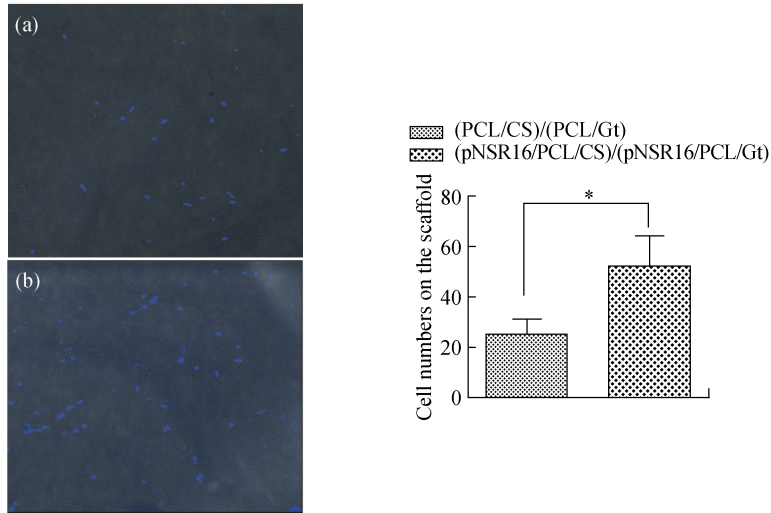


图9 内皮细胞在血管支架上的黏附 (a) (PCL/CS)/(PCL/Gt)细胞黏附荧光图(1 h, $\times 25$), (b) (pNSR16/PCL/CS)/(pNSR16/PCL/Gt)细胞黏附荧光图(1 h, $\times 25$), (c) 细胞在支架上的黏附数量(* $P < 0.05$)

Fig. 9 Endothelial cells adhesion on the vascular scaffold (a) Fluorescence images of (PCL/CS)/(PCL/Gt) cell adhesion(1 h, $\times 25$), (b) Fluorescence images of(pNSR16/PCL/CS)/(pNSR16/PCL/Gt) cell adhesion, (c) Numbers of cells adhesion on the scaffold

度、湿度可对纤维形貌产生一定的控制。内层一般为单层或数层结构,厚度相对外层较小,内层支架的纤维空隙直径较小,纤维又比较致密,可以在一定程度上降低血液渗透性,主要支持内皮细胞的生长增殖,从而形成有分区功能的组织工程血管。

人工血管植入体内后,管壁内因吸附大量血浆蛋白会形成内膜,而人工血管单位面积内含孔数量和孔径大小对维持内膜起着重要作用。如果孔隙率偏低,仅靠表面血液弥散无法维持新内膜的营养,最终会导致蛋白变性裂解,引起局部吞噬和活化反应,并通过化学趋化作用引起平滑肌细胞和成纤维细胞移行增生,导致移植血管狭窄闭塞。相反如果孔隙率过大,可能会在人工血管周围形成水肿或假性动脉瘤^[16]。因此,临床上多采用管壁孔隙率较高的人工血管进行周围血管重建,而在胸主动脉等大血管移植时采用较密实的人工血管。血管支架的孔隙率应为60%~90%^[17]。本研究制备的双层血管支架孔隙率为67.4%~78.9%,可满足要求。双层血管支架孔隙率大小与质量分数和管壁厚度皆成反比,这是因为纺丝液质量分数的升高导致纤维直径和管壁密度的增大,而管壁厚度的增加导致纤维层数增多,纤维层与层之间交错排列更加缜密,故血管支架

的孔隙率逐渐变小。

人工血管的爆破强度越大,耐压性能就越强,其应用的可靠性就越大。人体的血压是由心脏搏动挤压血液引起的,在一个相对稳定的范围,收缩压在12.0~18.7 kPa,舒张压在8.0~12.0 kPa。若人工血管的爆破强度小于收缩压的高值18.7 kPa,就难以承受人体的生理血压从而发生爆破。因此,血管支架的爆破强度应该高于18.7 kPa,本研究制备的双层血管支架完全满足此要求。人体的桡动脉血管的拉伸强度为(13.38 \pm 2.33) MPa,断裂伸长率为(21.58 \pm 1.30)%。徐志强等^[18]经脱细胞处理制备的脱细胞血管支架的断裂伸长率为30%,拉伸强度为9 MPa。双层血管支架的拉伸强度和断裂伸长率均高于桡动脉血管和脱细胞血管支架,故能满足体内移植的要求。

对于直径5 mm的双层小直径血管支架而言,按平均针孔间距1.5 mm计算和总缝合强度不低于2 N的要求,需要最小的缝合强度为0.19 N/针。目前国内外对于各种各样人工血管的缝合强度测定较多,由于制备材料的不同,其缝合强度也有较大差异,单独PCL电纺血管支架可达到4.9 N/针^[19],缝合强度最小的为SF-明胶血管支架^[20],仅为

0.454.9 N/针,但都高于0.19 N/针。双层血管支架的缝合强度高于0.19 N/针,符合体内移植要求;但是若厚度继续降低到一定程度,血管支架的缝合强度就会小于0.19 N/针,故人工血管管壁应有一定厚度。

供移植用的组织工程血管,管壁的抗渗透性是首要条件,可以用水渗透性表征。水渗透性是表征人工血管通透性的一个重要指标,能够反映人工血管在植入体内后,其管壁对血液的抗渗透性。水渗透性的大小决定人工血管植入前是否需要预凝处理,较小的渗透性可以保证手术过程中不发生血液渗漏,从而防止血肿的形成。适宜的渗透性有利于细胞与周围环境中生物活性物质相互作用,促进支架管腔内表面的内皮化,防止血栓形成,进而保持良好的通畅率。人工血管的水渗透性和孔隙率有一定相关性,但是在对人工血管的生物力学性能进行表征时,两个指标不可以相互替代。孔隙率考察的是人工血管中孔隙占介质体积比例的大小,人工血管中的孔隙可以横向也可以纵向,而水渗透性主要是纵向作用,某些横向孔隙的改变对水渗透性的影响不大。周飞等^[21]研究小口径微孔聚氨酯人造血管的生物力学性能,发现随着人造血管壁厚的增加,其水渗透性能逐渐降低。本研究的水渗透性测试结果与上述文献资料的结果类似。

细胞毒性实验作为一种评价组织工程支架与细胞生物相容性的手段,简单方便,能准确确定支架材料的毒性强度和细胞相容性优劣。6级毒性评级标准为:RGR \geq 100%为0级,75%~99%为I级,50%~74%为II级,25%~49%为III级,1%~24%为IV级,0为V级。毒性分级为0~I级即可认为无细胞毒性,可以作为生物材料使用。王宏昕等^[22]制备的pNSR16/PVA支架经浸提后,获得的浸提液与小鼠胚胎成纤维细胞(NIH-3T3细胞)复合培养,显示pNSR16/PVA支架材料的细胞毒性为0级,而细胞在4d后可覆盖支架材料表面,并呈一定方向排列。本研究制备的双层血管支架的细胞毒性普遍在I级或0级,分析认为(pNSR16/PCL/CS)/(pNSR16/PCL/Gt)含有pNSR16,pNSR16具有良好的生物相容性,降低了支架的细胞毒性,细胞黏附的实验结果也进一步证明了pNSR16促进细胞黏附和细胞增殖的作用。

4 结论

静电纺丝法制备的双层蛛丝蛋白血管支架的微观结构为纤维随机分布的三维多孔网状,爆破强度、拉伸强度和缝合强度大小均与支架的质量分数和管壁厚度成正比,孔隙率、水渗透性和断裂伸长率大小与支架的质量分数和管壁厚度成反比。血管支架爆破强度的范围为43~150 kPa,高于生理血压;缝合强度高于0.19 N,符合体内移植要求;拉伸强度高于人体桡动脉血管,满足体内移植的要求;水渗透性为0.3~0.6 mL \cdot min⁻¹ \cdot cm⁻²。(pNSR16/PCL/CS)/(pNSR16/PCL/Gt)双层蛛丝蛋白血管支架无细胞毒性,有利于内皮细胞细胞黏附及增殖。使用静电纺丝法制备双层蛛丝蛋白血管支架是可行的,具有潜在的临床应用前景。

本文制备的双层血管支架在结构上能充分模拟天然血管的多层结构,给血管各层细胞以不同的三维微环境,促进细胞的增殖和细胞外基质的分泌。本文将具有优良生物力学性能和生物相容性的蛛丝蛋白纤维引入到血管支架的制备中,具有一定的新颖性。但是由于双层血管支架最终将应用于动物体内,动物体内环境与体外环境具有较大的差异性,因而十分有必要探讨双层蛛丝蛋白血管支架应用于动物体内时的生物力学性能,这也是将来本课题组的研究方向。

参考文献:

- [1] Lynda V, Thomas U, Arun S, et al. A biodegradable and biocompatible PVA-citric acid polyester with potential applications as matrix for vascular tissue engineering [J]. J Mater Sci Mater Med, 2009, 20(Suppl 1): S259-269.
- [2] Jeffrey TK, David AV. Adult stem cell-based tissue engineered blood vessels: A review [J]. Biomaterials, 2012, 33(12): 3388-400.
- [3] Wang XN, Chen CZ, Yang M, et al. Implantation of decellularized small-caliber vascular xenografts with and without surface heparin treatment [J]. Artif Organs, 2007, 31(2): 99-104.
- [4] Grassl ED, Oegema TR, Tranquillo RT. A fibrin-based arterial media equivalent [J]. J Biomed Mater Res A, 2003, 66(3): 550-561.
- [5] Seliktar D, Nerem RM, Galis ZS. Mechanical strain-stimu-

- lated remodeling of tissue-engineered blood vessel constructs [J]. *Tissue Eng*, 2003, 9(4): 657-666.
- [6] Nieponice A, Soletti L, Guan J, *et al.* Development of a tissue-engineered vascular graft combining a biodegradable scaffold, muscle-derived stem cells and a rotational vacuum seeding technique [J]. *Biomaterials*, 2008, 29(7): 825-833.
- [7] Niklason LE, Gao J, Abbott WM, *et al.* Functional arteries grown in vitro [J]. *Science*, 1999, 284(5413): 489-493.
- [8] LHeureux N, Dusserre N, Konig G, *et al.* Human tissue-engineered blood vessels for adult arterial revascularization [J]. *Nat Med*, 2006, 12(3): 361-365.
- [9] 孔翰, 张明亮, 严志强, 等. 高血压与低切应力对大鼠颈总动脉血管重建的影响[J]. *医用生物力学*, 2011, 26(2): 109-115.
- Kong H, Zhang ML, Yan ZQ, *et al.* Effects of hypertension and low shear stress on common carotid remodeling in rats [J]. *J Med Biomech*, 2011, 26(2): 109-115.
- [10] Osnat H, David PK, Fritz V, *et al.* Spider and mulberry silkworm silks as compatible biomaterials [J]. *Compos B Eng*, 2007, 38(3): 324-337.
- [11] 余厚德. 羟基磷灰石及组织工程用聚己内酯复合支架的制备和研究[D]. 福州: 福建师范大学, 2007.
- [12] 王曙东, 尹桂波, 张幼珠, 等. 静电纺 PLA 管状支架的结构及其生物力学性能[J]. *材料工程*, 2008, 10: 316-320.
- [13] 陶梅, 张磊, 向虎, 等. 具有三层管壁结构组织工程血管支架的生物力学性能[J]. *中国生物医学工程学报*, 2006, 25(6): 728-733.
- [14] 贺薇, 胡作军, 徐安武, 等. 小口径聚氨酯人工血管的制备及其力学性能、细胞相容性评价[J]. *南方医科大学学报*, 2011, 31(12): 2006-2011.
- [15] Hyun-Min K, Tadashi K, Shunsuke F, *et al.* Bioactive macroporous Titanium surface layer on Titanium substrate [J]. *J Biomed Mater Res*, 2000, 52(3): 553-557.
- [16] 虞希高, 陈正坚, 蒋宏亮, 等. 静电纺丝小直径人工血管机械力学性质[J]. *中国生物医学工程学报*, 2010, 29(5): 770-776.
- [17] 韩海潮, 姜宗来. 纵向应力作用下的血管重建[J]. *医用生物力学*, 2012, 27(1): 7-12.
- Han HC, Jiang ZL. Vascular remodeling under axial tension [J]. *J Med Biomech*, 2012, 27(1): 7-12.
- [18] 徐志强, 刘彬, 王艳萍, 等. 几种组织工程支架材料生物力学性能的研究[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2007, 77(3): 7117-7120.
- [19] Lee SJ, Liu Jie, Oh SH, *et al.* Development of a composite vascular scaffolding system that with stands physiological vascular conditions [J]. *Biomaterials*, 2008, 29(19): 2891-2898.
- [20] Wang SD, Zhang YZ, Yin GB, *et al.* Electrospun poly(lactide)/silk fibroin-gelatin composite tubular scaffolds for small-diameter tissue engineering blood vessels [J]. *J Appl Polym Sci*, 2009, 113(4): 2675-2682.
- [21] 周飞, 徐卫林, 欧阳晨曦, 等. 小口径微孔聚氨酯人造血管生物力学性能研究[J]. *医用生物力学*, 2008, 23(4): 270-274.
- Zhou F, Xu WL, Ouyang CX, *et al.* Biomechanics properties of small-diameter & microporous polyurethane vascular graft [J]. *J Med Biomech*, 2008, 23(4): 270-274.
- [22] 王宏昕, 魏梅红, 薛正翔, 等. 精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸-重组蛛丝蛋白/聚乙炔醇支架材料的细胞相容性研究[J]. *中国修复重建外科杂志*, 2009, 23(6): 747-750.