

双面静电纺角膜支架的连续化构建及其性能

王程毅^{a,b} 李超婧^{a,b} 王璐^{a,b} 王富军^{a,b}

东华大学 a. 纺织学院, b. 纺织面料技术教育部重点实验室, 上海 201620

摘要: 采用静电纺丝技术, 优化纺丝液中壳聚糖 (CS)/聚乙烯吡咯烷酮 (PVP) 及聚己内酯 (PCL)/明胶 (Gel) 的质量分数, 制备出一种具有多功能性的双面 CS/PVP+PCL/Gel 静电纺角膜支架。研究结果显示: 较适宜的 CS 和 PVP 质量分数为 10%, PCL 和 Gel 质量分数为 8%; 制备的双面 CS/PVP+PCL/Gel 静电纺角膜支架强度达 (2.65 ± 0.31) MPa, 符合角膜使用需求, 同时具有一定的抗菌性能和良好的细胞相容性, 细胞活性达 $(135.86 \pm 10.31)\%$, 有望用作角膜缺损修复材料。

关键词: 人工角膜; 角膜支架; 静电纺丝; 组织工程; 生物材料

中图分类号: TB 34

文献标志码: A

文章编号: 1004-7093(2025)06-0001-09

Continuous construction and performance of bilateral electrospun corneal scaffolds

Wang Chengyi^{a,b}, Li Chaojing^{a,b}, Wang Lu^{a,b}, Wang Fujun^{a,b}

a. College of Textiles, b. Key Laboratory of Textile Science & Technology, Ministry of Education, Donghua University, Shanghai 201620, China

Abstract: By using the electrospinning technology and optimizing the mass fractions of chitosan (CS)/polyvinylpyrrolidone (PVP) and polycaprolactone (PCL)/gelatin (Gel) in the spinning solution, a multifunctional bilateral CS/PVP+PCL/Gel electrospun corneal scaffold was prepared. The research results showed that the appropriate mass fraction of CS and PVP was 10%, and the mass fraction of PCL and Gel was 8%. The strength of the prepared bilateral CS/PVP+PCL/Gel electrospun corneal scaffold was (2.65 ± 0.31) MPa, which met the requirements for corneal use. At the same time, it had certain antibacterial properties and good cell compatibility. Cell activity reached $(135.86 \pm 10.31)\%$, which was expected to be used as a material for corneal defect repair.

Keywords: artificial cornea; corneal scaffold; electrospinning; tissue engineering; biomaterial

眼健康是国民健康的重要组成部分。目前, 临床采用的角膜修复材料尚且难以满足患者的临床需

求。据报道, 国内目前共有角膜损伤致盲患者约 400 万人, 且每年约新增 10 万人^[1]。而国内角膜的

基金项目: 上海科技发展基金(21S31900700); 纺织生物医用材料科学与技术创新引智基地 111 计划 2.0(BP0719035)

收稿日期: 2025-03-26

作者简介: 王程毅, 女, 2000 年生, 在读硕士研究生, 研究方向为多功能人工角膜支架

通信作者: 王富军, 教授级高级工程师, wfg@dhu.edu.cn

捐献量每年仅约 5 000 例,供给十分有限,市场缺口很大。角膜损伤在多数情况下属于较严重的伤情,且常伴有眼表组织的损伤,而角膜修复晚期还可能会出现眼睑粘连、角膜瘢痕、角膜穿孔、角膜血管新生、角膜缘干细胞缺乏等多种并发症,甚至会导致患者失明或丧失眼球^[2-3]。因此,对角膜损伤的预防与及时救治尤为重要。

目前,临床用于治疗角膜损伤的主要方法是羊膜移植。羊膜上皮细胞含有大量生长因子,基底层富含层粘连蛋白和胶原蛋白,为角结膜上皮损伤的修复提供了良好的生物环境。同时,羊膜也是一种理想的有助于角膜缘上皮干细胞扩增的生物培养基^[4-5]。羊膜与眼表上皮基底膜组织成分相似,可分泌表皮生长因子(EGF)等多种活性因子,是目前常规采用的修复支架材料^[6-7]。羊膜用作角膜修复材料优势明显,但也存在诸多不足,如:新鲜羊膜可能携带大量细菌、病毒,不适合直接应用,干态羊膜在使用前需进行冷冻干燥及消毒等处理,易导致羊膜中的活性物质如生长因子、蛋白质等失去活性,进而影响其生物功能^[8];灭菌不当的自制羊膜存在交叉感染的风险;移植后若羊膜下积液或渗出物较多,则易导致羊膜过早地自融、脱落,影响治疗效果^[9-10];对于再生较缓慢的组织如骨组织,羊膜还存在降解速度过快、易与植床分离等问题,影响手术效果。此外,来源有限也在很大程度上限制了羊膜的应用^[11]。

针对羊膜的一些不足,近年来已有诸多研究者尝试从不同方面加以改进。如:为改变传统羊膜过厚导致的不透明问题,Zhang 等^[12]制备出厚度低至 30 μm 的、具备良好透光性和生物活性的超薄羊膜。叶国宁等^[10]将羊膜移植与自体角膜缘干细胞移植相结合,为眼部烧伤患者手术,效果显著。该方案能够促进患者眼表修复,提高术后视力水平,调节角膜血管新生,同时降低术后并发症风险。Liu 等^[13]通过界面作用将羊膜与聚己内酯(PCL)复合,制备羊膜基复合膜。相比传统羊膜,该复合膜的力学性能更优。然而,上述研究尚未解决羊膜组织吸收过快以及存在潜在的医源性感染风险等问题。基于此,利用组织工程技术构建替代羊膜的仿生基底膜具有重要的研究意义。

Baradaran-Rafii 等^[14]采用静电纺丝技术制备

聚(3-羟基丁酸酯-co-3-羟基戊酸酯)/明胶(PHBV/明胶)支架,用于培养角膜缘上皮细胞。结果表明,上皮细胞在这种结构的支架上具有一定的存活能力。Kim 等^[15]制备了透明的半球形 PCL 三维纳米纤维支架,该支架的纤维排列呈辐射状,可有效诱导兔子角膜细胞生长,促进伤口愈合。Stafiej 等^[16]将 PCL 与聚癸二酸甘油(PGS)、壳聚糖(CS)混合,制备静电纺纳米纤维膜。他们还对比静电纺工艺参数进行优化,结果显示,采用该工艺制备取向和排列方向随机分布的均匀纳米纤维基体均具有可行性。然而,目前相关的研究工作仍处于实验室阶段,尚无临床应用与产业化报道。

本文尝试制备一种双面仿生化角膜基底膜材料。CS 具有内在的抗菌活性,可有效抵御细菌侵袭^[17]。聚乙烯吡咯烷酮(PVP)作为一种合成共聚物,其吡咯烷环能够与 CS 中的羟基和氨基通过氢键结合,并在水环境中形成凝胶结构^[18]。因此,本文使用 CS 和 PVP 复合构建抗菌静电纺丝膜,以增强角膜支架的力学性能,同时保持支架的透明度。明胶(Gel)具有良好的亲水性和透明度,但其力学强度有限^[19],而 PCL 具有良好的力学性能^[20]。将明胶与 PCL 混合,可制备兼具良好力学性能和透明度的静电纺丝膜。基于此,本文采用静电纺丝技术,连续化制备双面多功能 CS/PVP+PCL/Gel(CP/PG)静电纺丝膜,用作角膜支架。随后,对该材料的表观形貌、力学性能、抗菌性能和细胞相容性等进行测试与表征,探究其作为角膜修复材料的可能性,以期实现角膜损伤的理想修复。

1 试验

1.1 试验原料与仪器

试验原料:六氟异丙醇(HFIP,纯度 99.5%),阿拉丁试剂(上海)有限公司;乙酸(冰醋酸,纯度 $\geq 99.8\%$),国药集团化学试剂有限公司;PCL,相对分子质量为 80 000,上海源叶生物科技有限公司;明胶,Sigma-Aldrich 公司;壳聚糖,上海昊海生物科技有限公司;PVP(K29-32 型),阿拉丁试剂(上海)有限公司。

试验仪器:ME204E/02 型电子分析天平,梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;移液枪,大龙兴

创实验仪器(北京)有限公司;X86-2S 型磁力搅拌器,上海梅颖浦仪器仪表制造有限公司;DZF-6050 型真空干燥箱,上海精宏实验设备有限公司;TL-Pro-BM-H 型静电纺丝机,深圳通力维纳科技有限公司。

1.2 双面静电纺角膜支架的制备

1.2.1 CS/PVP 静电纺丝膜

具有抗菌性能的 CS/PVP 静电纺丝膜的制备过程示意如图 1 所示。先使用精密电子天平称取一定质量的 CS 和 PVP 颗粒 [$m(\text{CS}) : m(\text{PVP}) = 40 : 60$] 置于 20 mL 试剂瓶中,再使用移液枪量取 10 mL 乙酸水溶液 [$V(\text{乙酸}) : V(\text{水}) = 9 : 1$] 加入试剂瓶中,分别制备 CS 和 PVP 颗粒质量分数为 8%、10% 及 12% 的 CS/PVP 静电纺丝液。接着,采用封口胶将试剂瓶的封口密封,再将其放在磁力搅拌器上,室温下连续搅拌 3 h,静置消泡后,将 CS/PVP 纺丝液注入 10 mL 的无菌注射器中。最后,将高压直流电源连接到内径为 0.7 mm 的 19 号针头上,采用铝箔纸包覆接收滚轴,设定纺丝接收距离为 15 cm、微量泵推进速率为 2 mL/h、纺丝电压为 30 kV、接收滚轴转速为 100 r/min,开始静电纺丝,制备 CS/PVP-8、CS/PVP-10 和 CS/PVP-12 静电纺丝膜。

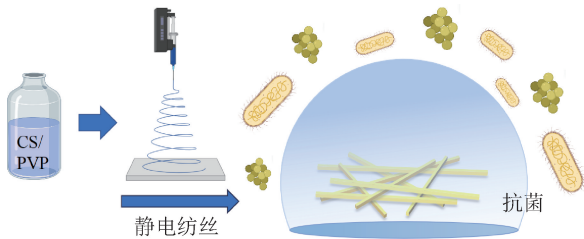


图 1 CS/PVP 静电纺丝膜的制备示意
Fig. 1 Schematic diagram of the preparation of CS/PVP electrospun membrane

1.2.2 PCL/Gel 静电纺丝膜

具有良好细胞相容性的 PCL/Gel 静电纺丝膜的制备过程示意如图 2 所示。先使用精密电子天平称取一定质量的 PCL 和 Gel 颗粒 [$m(\text{PCL}) : m(\text{Gel}) = 50 : 50$] 置于 20 mL 试剂瓶中,再使用移液枪量取 10 mL 六氟异丙醇加入试剂瓶中,分别制备 PCL 和 Gel 颗粒质量分数为 6%、8% 及 10% 的 PCL/Gel 静电纺丝液。接着,采用封口胶将试剂瓶的封口密封,再将其放在磁力搅拌器上,室温下连续搅拌 3 h,静置消泡后,将 PCL/Gel 纺丝液注入 10 mL 的

无菌注射器中。最后,将高压直流电源连接到 19 号针头上,采用油纸包覆接收滚轴,设定纺丝接收距离为 15 cm、微量泵推进速率为 2 mL/h、纺丝电压为 19 kV、接收滚轴转速为 100 r/min,开始静电纺丝,制备 PCL/Gel-6、PCL/Gel-8 和 PCL/Gel-10 静电纺丝膜。

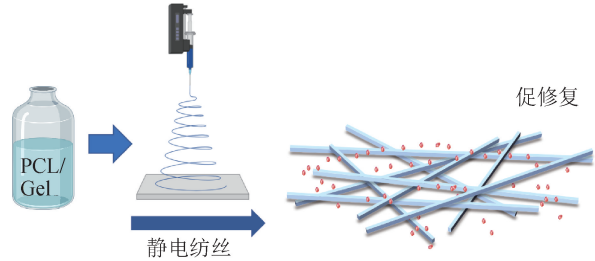


图 2 PCL/Gel 静电纺丝膜的制备示意
Fig. 2 Schematic diagram of the preparation of PCL/Gel electrospun membrane

1.2.3 双面 CP/PG 静电纺丝膜

通过对前文制备的 CS/PVP 静电纺丝膜和 PCL/Gel 静电纺丝膜进行性能表征,优选颗粒质量分数为 10% 的 CS/PVP 静电纺丝液和颗粒质量分数为 8% 的 PCL/Gel 静电纺丝液,分别装入 10 mL 的无菌注射器中;然后将 PCL/Gel 静电纺丝液置于静电纺丝机的前注射泵中,CS/PVP 静电纺丝液置于静电纺丝机的后注射泵中,顺序开启前后注射泵进行连续纺丝,以连续化制备双面 CP/PG 静电纺丝膜。双面静电纺丝膜的纺丝工艺参数同 CS/PVP 静电纺丝膜。

1.3 测试与表征

1.3.1 表面形貌表征

采用扫描电子显微镜(SEM)对 3 种静电纺丝膜的表面形貌进行表征。首先,对 CS/PVP 静电纺丝膜、PCL/Gel 静电纺丝膜及 CP/PG 静电纺丝膜进行喷金处理;然后,采用 SEM 在 5 kV 电压下观察膜的表面形貌;最后,使用图像分析软件 ImageJ 在纤维膜图像上取 100 个测量点,测量纤维直径并计算直径分布。

1.3.2 傅里叶变换红外光谱(FTIR)分析

采用 Spectrum Two 型傅里叶变换红外显微成像光谱仪(PerkinElmer 公司)测定经真空干燥处理的不同静电纺丝膜的 FTIR。扫描范围为 $4\ 000 \sim 400\ \text{cm}^{-1}$,最小分辨率为 $1\ \text{cm}^{-1}$ 。

1.3.3 力学性能测试

尝试将不同组分的静电纺丝膜从基底上剥离下来,观察剥离是否完整。为测试静电纺丝膜的拉伸力学性能,先将静电纺丝膜裁剪成2 cm×3 cm的矩形样条,再采用YG-B026H型医用纺织品多功能强力仪(温州大荣纺织仪器有限公司)进行测试。拉伸速度设置为10 mm/min,每组静电纺丝膜测试3块试样,结果取平均值。

1.3.4 亲水性能测试

采用接触角测试仪测试不同静电纺丝膜表面的水接触角来表征试样的亲水性能。具体测试方法:将去离子水滴加在试样表面,静置10 s,利用高速摄像系统捕捉液滴轮廓,并计算CP/PG静电纺丝膜的水接触角。

1.3.5 抗菌性能测试

对CS/PVP静电纺丝膜进行抗菌性能测试与评价。首先,对抗菌试验用培养皿、枪头、离心管等进行高温高压灭菌处理;其次,按照表1的培养基配料比,配制500 mL的固体琼脂培养基和100 mL的Luria-Bertani(LB)液体培养基,并对其进行高温高压灭菌处理;再次,挑选2个单菌落,垂直放入灭菌后的试管中,在37℃摇床中培养16~24 h,再调整菌液浓度至 10^8 CFU/mL,制得试验菌液;最后,参考GB/T 20944.1—2007,使用金黄色葡萄球菌(*S. aureus*)和大肠埃希菌(*E. coli*)定性表征膜的抗菌性能。

表1 培养基配料比

Tab.1 Ingredient ratio of the culture medium 单位:g

类型	琼脂质量	胰蛋白胨质量	酵母提取物质量	氯化钠质量
固体琼脂培养基	11.75	0	0	0
LB液体培养基	0	1.50	0.50	1.00

抗菌测试中,常使用标准材料作为对照,如棉、聚酯织物等,以便结果具有可比性。本文选择被广泛认可的标准材料——棉织物作为对照。抗菌性能具体测试方法如下:在固体培养基上接种试验菌液,分别放入试样(棉织物和CS/PVP静电纺丝膜)培养18 h后,将试样从固体培养基中取出,用无菌磷酸盐缓冲液(PBS)缓慢冲洗去除试样表面未黏附的物质;采用质量分数为4%的多聚甲醛溶液于4℃下对冲洗后的试样固定10 h,固定完成后,采用无菌

PBS清洗去除试样表面残余的多聚甲醛溶液;依次采用体积分数分别为25%、50%、75%和100%的乙醇溶液对其进行梯度脱水,干燥后使用SEM观察试样表面,对CS/PVP静电纺丝膜的抗菌性能进行测试表征。

1.3.6 细胞相容性测试

将人包皮成纤维细胞(HFF)放入含质量分数为10%的胎牛血清(FBS)和1%的青霉素/链霉素补充剂的完全培养基(DMEM培养基)中培养。在90%细胞汇合度下,细胞以1/3的稀释度传代。在细胞对数生长期进行细胞种植。所有细胞均置于37℃、含5%(体积分数)的CO₂细胞培养箱中。

将HFF以每孔 2×10^4 个细胞的密度接种到24孔板中,培养4 h后,将灭菌后的CS/PVP、PCL/Gel和CP/PG双层静电纺丝膜浸润到培养基中,以不含静电纺丝膜试样的空白组作为对照组,进行细胞相容性测试。

在浸润的第1天、第4天和第7天,使用Alamar Blue试剂盒对细胞数量进行表征。将500 μL含Alamar Blue工作液的DMEM培养基加入细胞培养板中,然后在培养箱中孵育2 h。接着,吸出上清液,使用Multiskan Sky型酶标仪(Thermo Fisher Scientific,美国)检测各样品上清液在波长为570 nm和600 nm处的吸光度值,计算细胞活性,用于表征细胞相容性。细胞活性越高,即细胞相容性越好。

2 结果与讨论

2.1 纺丝液质量分数优化

采用SEM分别观察3种不同质量分数CS/PVP静电纺丝膜和PCL/Gel静电纺丝膜的表面形貌。可以看出:CS/PVP-8上存在大量串珠,且纤维间粘连明显,而CS/PVP-10与CS/PVP-12的纤维表面光滑且结构均匀(图3);PCL/Gel-6的纤维间粘连明显,而PCL/Gel-8与PCL/Gel-10的纤维形态均匀(图4)。

采用软件ImageJ计算试样的直径和孔径分布,结果表明:随着纺丝液中溶质质量分数的改变,纤维直径存在明显的差异;CS/PVP纺丝液质量分数分别为8%、10%及12%,对应的纤维平均直径分别为(0.20±0.09)、(0.56±0.23)和(0.36±0.14) μm;PCL/Gel纺丝液质量分数分别为6%、8%及10%,对

应的纤维平均直径分别为 (0.22 ± 0.09) 、 (0.40 ± 0.09) 和 $(0.75 \pm 0.12) \mu\text{m}$ 。

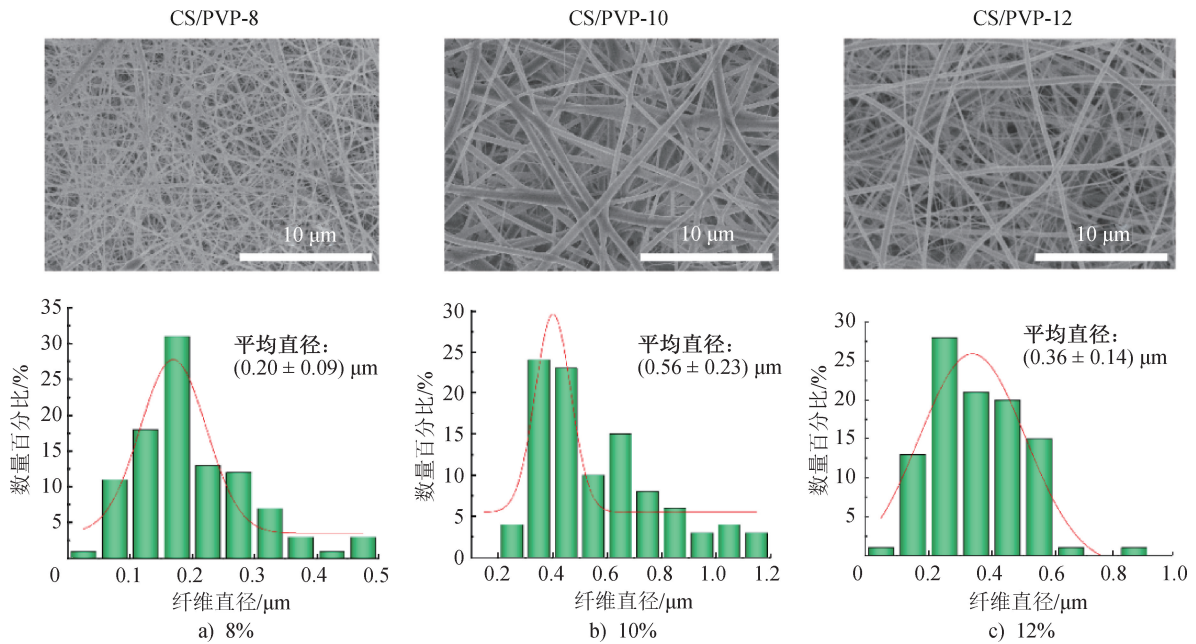


图 3 不同质量分数 CS/PVP 静电纺丝膜的 SEM 图及其纤维直径分布

Fig. 3 SEM images and fiber diameter distribution of the CS/PVP electrospun membranes with different mass fractions

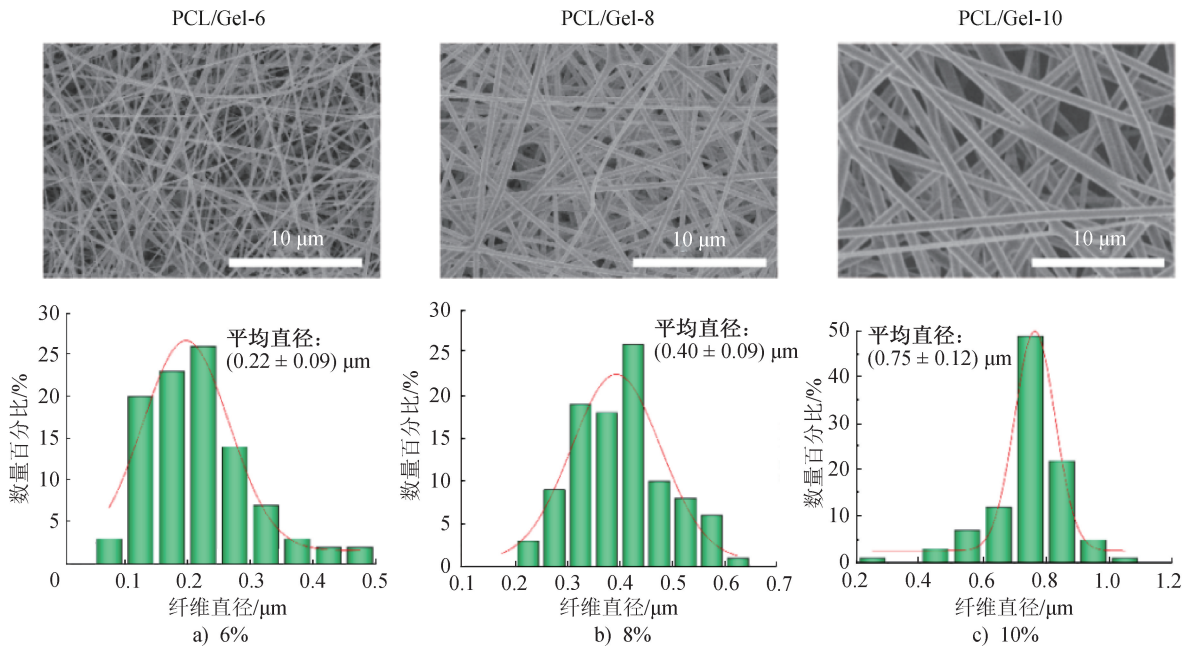


图 4 不同质量分数 PCL/Gel 静电纺丝膜的 SEM 图及其纤维直径分布图

Fig. 4 SEM images and fiber diameter distribution of the PCL/Gel electrospun membranes with different mass fractions

2.2 FTIR 分析

图 5 为 CS 膜、PVP 膜及 CS/PVP 静电纺丝膜的 FTIR 图。由 CS/PVP 静电纺丝膜的 FTIR 图可以看出,在波数为 2929 和 1078 cm^{-1} 处能够观察到 CS 的 C—H 和 C—O 吸收峰,在波数为 3365 、

1655 、 1429 和 1286 cm^{-1} 处能够观察到 PVP 的 C—H、C=O、吡咯烷酮环骨架振动峰及 C—N 特征峰,表明两者已成功结合^[21]。此外, 3365 cm^{-1} 处 O—H 特征峰和 2910 cm^{-1} 处 C—H 特征峰的展宽,归因于 CS 与 PVP 之间的氢键作用^[21-22]。这有助

于CS/PVP静电纺丝膜在潮湿环境中凝胶化的实现^[18]。

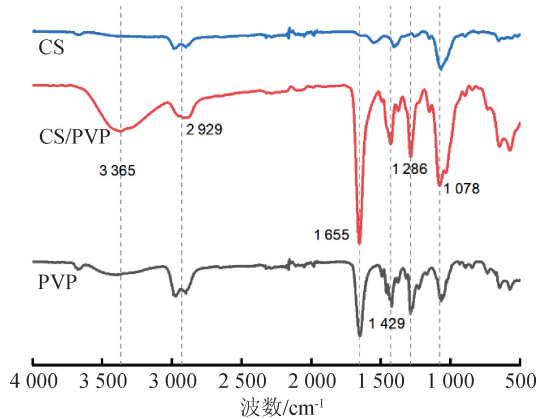


图5 CS膜、PVP膜及CS/PVP静电纺丝膜的FTIR图
Fig. 5 FTIR of the CS membrane, PVP membrane and CS/PVP electrospun membrane

图6为PCL膜、Gel膜及PCL/Gel静电纺丝膜的FTIR图。在PCL/Gel静电纺丝膜的FTIR图中,波数为 $1\ 258\ \text{cm}^{-1}$ 处C—N的吸收峰,波数为 $1\ 542\ \text{cm}^{-1}$ 处N—H的吸收峰,以及波数为 $1\ 649\ \text{cm}^{-1}$ 处酰胺I带的特征峰,表明Gel已与PCL成功结合^[23-24]。

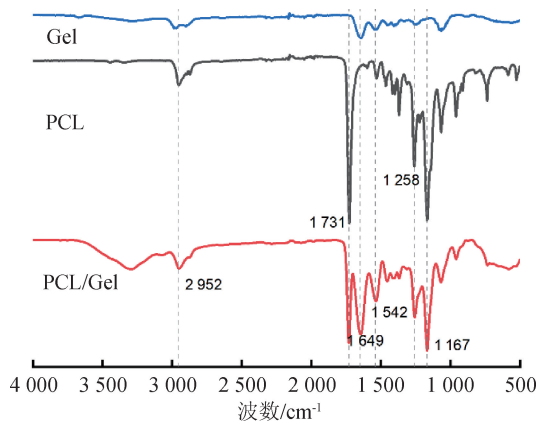


图6 PCL膜、Gel膜及PCL/Gel静电纺丝膜的FTIR图
Fig. 6 FTIR of the PCL membrane, Gel membrane and PCL/Gel electrospun membrane

由图5和图6还可以看出,CS/PVP与PCL/Gel的FTIR图上均出现了不同原料的特征峰,且未产生新的特征峰,表明CS和PVP及PCL和Gel的结合没有产生新的基团与化学键,纤维膜各组分仅表现为不同组分的物理共混,不涉及化学反应。

2.3 力学性能

随着纺丝液中溶质质量分数的变化,试样的力

学性能出现差异。将不同质量分数的PCL/Gel和CS/PVP静电纺丝膜自基底剥离,发现不同质量分数的PCL/Gel静电纺丝膜均能成功剥离,而CS/PVP-8静电纺丝膜的力学性能最差,其结构不稳定,膜易破裂,难以自基底剥离。这主要是因为纺丝液的质量分数过低时,纤维成丝不均匀,静电纺丝膜结构中存在多处弱节,力学性能差。CS/PVP-10和CS/PVP-12则能够顺利从基底剥离(图7)。

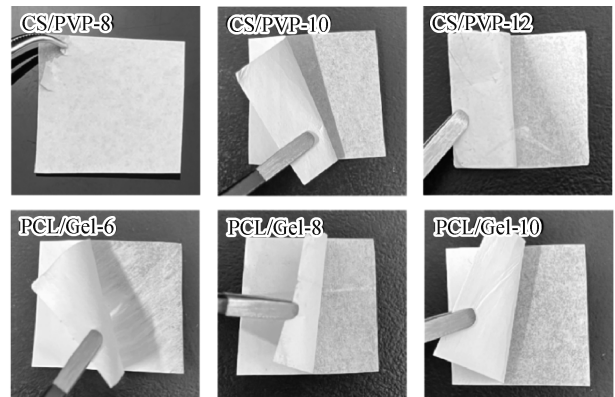


图7 不同组分静电纺丝膜自基底的剥离情况
Fig. 7 The peeling-off conditions of electrospun membranes with different components peeled from the substrate

对3种不同质量分数的CS/PVP静电纺丝膜与3种不同质量分数的PCL/Gel静电纺丝膜进行拉伸性能测试,结果如图8所示。可以看出:CS/PVP-10的极限抗拉强度为 $(3.89 \pm 0.15)\ \text{MPa}$,弹性模量为 $(2\ 391.55 \pm 73.40)\ \text{kPa}$,力学性能较好,满足角膜支架的力学性能要求;CS/PVP-12因纤维直径分布不均匀,纤维膜结构中弱节较多,因而力学性能较差。基于此,本文采用质量分数为10%的CS/PVP静电纺丝液进行双面CP/PG静电纺丝膜的制备。由图8还可以看出,PCL/Gel-6的极限抗拉强度较小,为 $(1.05 \pm 0.02)\ \text{MPa}$,这是因为当纺丝液质量分数较低时,溶液黏度不足,在较强的电场拉伸作用下,形成的纤维直径过小。尽管强拉伸作用可能会使分子链的取向度和结晶度提高,但纤维直径过小会导致纤维间接触点密度显著减小,且形成的纤维网络呈松散多孔结构,应力传递效率低,因而力学性能较差^[25]。PCL/Gel-8的极限抗拉强度为 $(1.37 \pm 0.08)\ \text{MPa}$,高于PCL/Gel-10的极限抗拉强度 $(0.98 \pm 0.04)\ \text{MPa}$,同时弹性模量也较大,为 $(236.22 \pm 20.72)\ \text{kPa}$ 。原因可能是PCL/Gel-10的纺丝液黏

度过高,导致电场拉伸阻力大,形成的纤维直径显著增大,分子链取向受阻,纤维沉积过程中溶剂残留量增加,最终形成局部粘连而非均匀的纤维结构。而对于 PCL/Gel-8,适度的电场拉伸作用使聚

合物链充分取向,形成了相对完善的晶体结构,因此,PCL/Gel-8 的强度高于 PCL/Gel-10。基于此,本文采用质量分数为 8% 的 PCL/Gel 静电纺丝液进行双面 CP/PG 静电纺丝膜的制备。

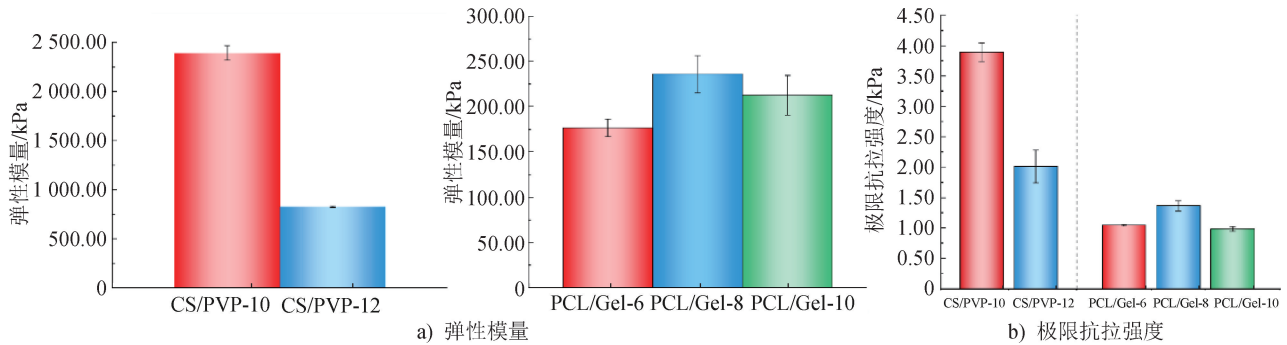
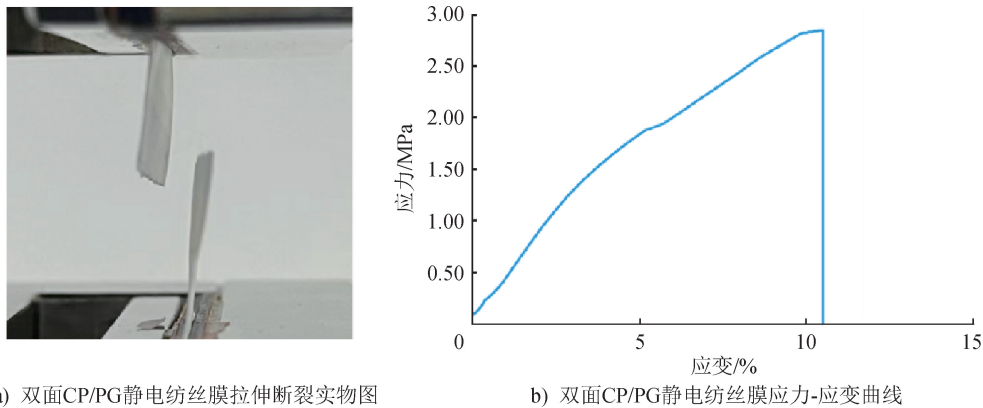


图 8 不同质量分数静电纺丝膜的力学性能

Fig. 8 Mechanical properties of the electrospun membranes with different mass fractions

对双面 CP/PG 静电纺丝膜进行力学性能测试,结果如图 9 所示。可以看出:拉伸过程中双面 CP/PG 静电纺丝膜并未发生分层,表现出较好的结合力[图 9a)];双面 CP/PG 静电纺丝膜的断裂强度

为 (2.65 ± 0.31) MPa [图 9b)],介于 CS/PVP 静电纺丝膜和 PCL/Gel 静电纺丝膜之间,并且高于羊膜的强度^[26],表明其力学强度满足角膜支架的使用需求。



a) 双面CP/PG静电纺丝膜拉伸断裂实物图

b) 双面CP/PG静电纺丝膜应力-应变曲线

图 9 双面 CP/PG 静电纺丝膜的力学性能

Fig. 9 Mechanical properties of the bilateral CP/PG electrospun membrane

2.4 水接触角

双面 CP/PG 静电纺丝膜的水接触角测试结果如图 10 所示。可知,该膜的水接触角为 32.5° ,具有良好的亲水性。通常,细胞在亲水性表面表现出更好的黏附性和生长能力,因此,亲水性较好的 CP/PG 静电纺丝膜有利于细胞的黏附和生长^[27-28]。

2.5 抗菌性能

羊膜移植存在感染和排斥反应的风险^[4],而壳聚糖因其生物相容性好和抗炎特性而被广泛应用于

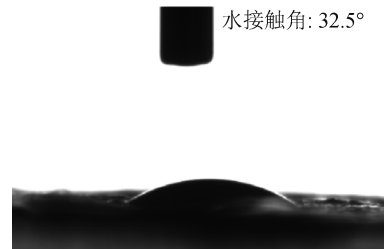


图 10 双面 CP/PG 静电纺丝膜的水接触角

Fig. 10 The water contact angle of the bilateral CP/PG electrospun membrane

抗菌敷料、抗菌缝合线等产品^[29]。壳聚糖基于刺穿细菌膜,导致细胞膜渗透性增强,细胞内容物外泄的杀菌机制,表现为接触性抗菌^[30]。棉织物与CS/PVP静电纺丝膜试样的抗菌性能测试结果如图11所示。可以看出,棉织物表面细菌形态完整,而CS/PVP静电纺丝膜表面的菌体皱缩、粘连,即CS/PVP静电纺丝膜表现出明显的抗菌效果。

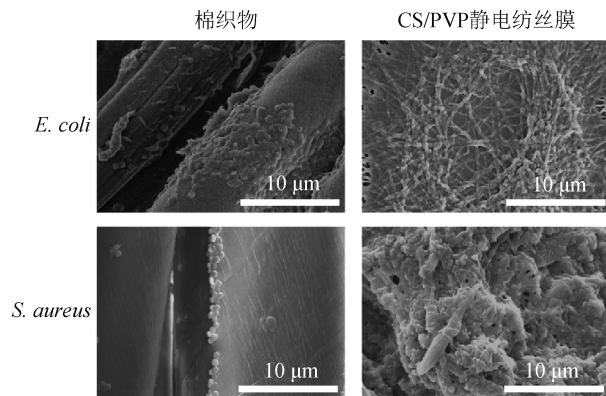


图 11 棉织物和 CS/PVP 静电纺丝膜的抗菌性能对比
Fig. 11 Comparison of antibacterial property between cotton fabrics and CS/PVP electrospun membranes

2.6 细胞相容性

灭菌后 CS/PVP、PCL/Gel 和 CP/PG 静电纺丝膜试样的细胞相容性测试结果如图 12 所示。可以看出,细胞在 3 种静电纺丝膜试样上培养 1 d 和 4 d 时,活性均较高。细胞在 CP/PG 静电纺丝膜上培养 4 d 时,其活性达(135.86±10.31)%,明显高于另外 2 种试样,表现出更好的细胞相容性。

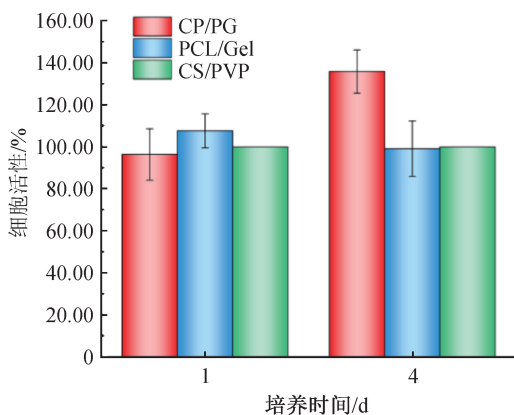


图 12 细胞在 3 种静电纺丝膜试样上分别培养 1 d 和 4 d 时的活性
Fig. 12 Cell activity on three types of electrospun membranes after culturing for 1 d and 4 d

3 结论

采用静电纺丝技术制备了不同质量分数的 CS/PVP 静电纺丝膜及 PCL/Gel 静电纺丝膜,并通过表面形貌表征及力学性能分析,优选出制备 CS/PVP 静电纺丝膜较适宜的 CS 和 PVP 颗粒质量分数为 10%,制备 PCL/Gel 静电纺丝膜较适宜的 PCL 和 Gel 颗粒质量分数为 8%。基于该优选的纺丝液质量分数,制备双面多功能 CS/PVP+PCL/Gel 静电纺丝膜。所得双面 CP/PG 静电纺丝膜具有较好的力学性能,断裂模量达(2.65±0.31)MPa,满足角膜支架的力学性能要求,同时具有一定的抗菌效果,且细胞相容性明显高于对照组。后续可将这种双面多功能静电纺丝膜应用于角膜缺损表面进行进一步的试验,并对其促角膜再上皮化和长期修复效果进行测试与表征。



期刊采编平台



中国知网下载

参考文献

[1] 杨杰凤. 引流颈部淋巴结在大鼠角膜移植免疫中作用的实验研究[D]. 广州:南方医科大学,2007.

[2] POPELKA Š, STUDENOVSKÁ H, ABELOVÁ L, et al. A frame-supported ultrathin electrospun polymer membrane for transplantation of retinal pigment epithelial cells[J]. Biomedical Materials, 2015, 10(4): 045022.

[3] 颜静. 明胶/PLLA 复合纤维膜的制备及在角膜组织工程中的性能研究[D]. 长春:吉林大学,2012.

[4] KAFLE P A, SINGH S K, SARKAR I, et al. Amniotic membrane transplantation with and without limbal stem cell transplantation in chemical eye injury[J]. Nepalese Journal of Ophthalmology, 2015, 7(1): 52-55.

[5] 杜小东, 冯云. 人羊膜的制备保存及临床应用[J]. 中国生物制品学杂志, 2016, 29(5): 548-551.

[6] KONG B, CHEN Y, LIU R, et al. Fiber reinforced GelMA hydrogel to induce the regeneration of corneal stroma[J]. Nature Communications, 2020, 11(1): 1435.

[7] ALIÓ DEL BARRIO J L, ARNALICH-MONTIEL F, DE MIGUEL M P, et al. Corneal stroma regeneration;

- preclinical studies [J]. *Experimental Eye Research*, 2021, 202: 108314.
- [8] 何琪, 许发亚, 李细艳, 等. 人脱细胞羊膜支架的制备及灭菌方法[J]. *中国组织工程研究*, 2022, 26(25): 4028-4033.
- [9] DUA H S, GOMES J A P, KING A J, et al. The amniotic membrane in ophthalmology [J]. *Survey of Ophthalmology*, 2004, 49(1): 51-77.
- [10] 叶国宁, 田朋飞, 张敏, 等. 羊膜移植联合自体角膜缘干细胞移植治疗眼部烧伤[J]. *国际眼科杂志*, 2018, 18(10): 1886-1889.
- [11] FENELON M, GALVEZ P, KALBERMATTEN D, et al. Emerging strategies for the biofabrication of multilayer composite amniotic membranes for biomedical applications [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(19): 14424.
- [12] ZHANG L Y, ZOU D L, LI S M, et al. An ultra-thin amniotic membrane as carrier in corneal epithelium tissue-engineering [J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 21021.
- [13] LIU H H, ZHOU Z B, LIN H, et al. Synthetic nanofiber-reinforced amniotic membrane *via* interfacial bonding [J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2018, 10(17): 14559-14569.
- [14] BARADARAN-RAFII A, BIAZAR E, HEIDARI-KESHEL S. Cellular response of limbal stem cells on PHBV/gelatin nanofibrous scaffold for ocular epithelial regeneration [J]. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, 2015, 64(17): 879-887.
- [15] KIM E S, HONG S, HWANG C, et al. Corneal surface regeneration using human conjunctiva epithelial cells-cultured biodegradable membrane scaffold [J]. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 2016, 57(12): 884.
- [16] STAFIEJ P, KÜNG F, THIEME D, et al. Adhesion and metabolic activity of human corneal cells on PCL based nanofiber matrices [J]. *Materials Science & Engineering C: Materials for Biological Applications*, 2017, 71: 764-770.
- [17] REDDY N, SANTOSH M S, VENKATESH K, et al. Alkali treated 3D chitosan scaffolds with enhanced strength and stability[J]. *Journal of Polymers and the Environment*, 2021, 29(10): 3302-3310.
- [18] SAEEDI GARAKANI S, DAVACHI S M, BAGHER Z, et al. Fabrication of chitosan/polyvinylpyrrolidone hydrogel scaffolds containing PLGA microparticles loaded with dexamethasone for biomedical applications [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 164: 356-370.
- [19] 陈昱欣, 王雅娟, 郑小凡, 等. 各向异性 PCL/明胶复合人工心脏瓣膜瓣叶材料的制备及性能[J]. *产业用纺织品*, 2024, 42(7): 1-10.
- [20] 李彦, 王富军, 关国平, 等. 生物医用纺织品的发展现状及前沿趋势[J]. *纺织导报*, 2020(9): 28-37.
- [21] GRANT J J, PILLAI S C, PEROVA T S, et al. Electrospun fibres of chitosan/PVP for the effective chemotherapeutic drug delivery of 5-fluorouracil [J]. *Chemosensors*, 2021, 9(4): 70.
- [22] POONGUZHALI R, BASHA S K, KUMARI V S. Synthesis and characterization of chitosan/poly (vinylpyrrolidone) biocomposite for biomedical application[J]. *Polymer Bulletin*, 2017, 74(6): 2185-2201.
- [23] REN K, WANG Y, SUN T, et al. Electrospun PCL/gelatin composite nanofiber structures for effective guided bone regeneration membranes [J]. *Materials Science & Engineering C: Materials for Biological Applications*, 2017, 78: 324-332.
- [24] SANIE-JAHROMI F, EGHTEADARI M, MIRZAEI E, et al. Propagation of limbal stem cells on polycaprolactone and polycaprolactone/gelatin fibrous scaffolds and transplantation in animal model [J]. *BioImpacts*, 2020, 10(1): 45-54.
- [25] GAVANDE V, NAGAPPAN S, LEE W K. Considering electrospun nanofibers as a filler network in electrospun nanofiber-reinforced composites to predict the tensile strength and Young's modulus of nanocomposites: a modeling study[J]. *Polymers*, 2022, 14(24): 5425.
- [26] KOH C T, TONSOMBOON K, OYEN M L. Fracture toughness of human amniotic membranes [J]. *Interface Focus*, 2019, 9(5): 20190012.
- [27] GUO X, WANG X F, LI X Y, et al. Endothelial cell migration on poly (ϵ -caprolactone) nanofibers coated with a nanohybrid shish-kebab structure mimicking collagen fibrils[J]. *Biomacromolecules*, 2020, 21(3): 1202-1213.
- [28] 胡星友, 赵新哲, 高晶, 等. 静电纺材料结构对细胞生长的影响[J]. *产业用纺织品*, 2016, 34(5): 1-5.

(下转第 21 页)