

文章编号: 1008-9357(2026)02-0106-11

DOI: 10.14133/j.cnki.1008-9357.20260202001

抗细胞黏附丝素蛋白基静电纺支架的构筑及其干细胞响应

钱佳垚, 胥学谦, 赵伟焜, 李浩, 姚响, 张耀鹏

(东华大学材料科学与工程学院, 先进纤维材料全国重点实验室, 上海 201620)

摘要: 为有效提升丝素蛋白静电纺支架的抗细胞黏附性能, 同时弥补常规共混或表界面改性策略的不足, 本研究提出利用“多重化学修饰与快速紫外光促共交联相结合”的静电纺丝策略制备抗细胞黏附静电纺支架。通过对丝素蛋白进行甲基丙烯酰化修饰, 并进一步借助聚乙二醇二丙烯酸酯(PEGDA)在静电纺丝过程中的共交联修饰, 成功构筑了抗细胞黏附性能显著提升的丝素蛋白基静电纺支架。采用电子万能试验机、扫描电镜、CCK-8 试剂盒检测等方法, 对不同 PEGDA 含量下支架的理化性能、抗细胞黏附性能及其对干细胞成软骨分化的影响进行了研究。结果表明: 随着 PEGDA 含量的增大, 所制备支架的纤维直径、支架孔径和孔隙率逐渐减小; 支架的断裂伸长率逐渐提升, 断裂强度则先增高后降低。同时, 随着 PEGDA 含量的增大, 支架的抗细胞黏附性能逐渐增强, 细胞黏附形态由铺展状态逐渐转变为近似球形状态; 支架的促细胞成软骨分化能力则呈现先增强后降低的趋势。

关键词: 甲基丙烯酰化丝素蛋白; 聚乙二醇二丙烯酸酯; 静电纺支架; 抗细胞黏附; 细胞-材料相互作用

中图分类号: O63

文献标志码: A

Construction of Anti-Cell-Adhesive Silk Fibroin-Based Electrospun Scaffolds and Their Stem Cell Responses

QIAN Jiayao, XU Xueqian, ZHAO Weikun, LI Hao, YAO Xiang, ZHANG Yaopeng

(State Key Laboratory of Advanced Fiber Materials, College of Materials Science and Engineering, Donghua University, Shanghai 201620, China)

Abstract: To enhance the anti-cell-adhesive properties of silk fibroin electrospun scaffolds and overcome the shortcomings of conventional blending or surface/interface modification strategies, this study proposes an electrospinning strategy combining “multiple chemical modifications and rapid UV-induced co-crosslinking” for fabricating anti-cell-adhesive electrospun scaffolds. Through methacrylated modification of silk fibroin and further co-crosslinking modification with poly(ethylene glycol) diacrylate (PEGDA) during the electrospinning process, silk fibroin-based electrospun scaffolds with significantly improved anti-cell-adhesive performance were successfully constructed. The physicochemical properties, anti-

收稿日期: 2026-02-02

基金项目: 中央高校基本科研业务费专项资金(2232024D-01); 东华大学学科创新领域培育项目(xkcx-202414)

作者简介: 钱佳垚(2001—), 男, 浙江绍兴人, 硕士生, 主要研究方向为丝素蛋白静电纺支架。E-mail: chain1089@163.com

通信联系人: 姚响, E-mail: yaoxiang@dhu.edu.cn

引用格式: 钱佳垚, 胥学谦, 赵伟焜, 李浩, 姚响, 张耀鹏. 抗细胞黏附丝素蛋白基静电纺支架的构筑及其干细胞响应 [J]. 功能高分子学报, 2026, 39(2): 106-116.

Citation: QIAN Jiayao, XU Xueqian, ZHAO Weikun, LI Hao, YAO Xiang, ZHANG Yaopeng. Construction of Anti-Cell-Adhesive Silk Fibroin-Based Electrospun Scaffolds and Their Stem Cell Responses [J]. Journal of Functional Polymers, 2026, 39(2): 106-116.

cell-adhesion ability of the scaffolds with different PEGDA contents, and their effects on chondrogenic differentiation of stem cells were investigated using an electronic universal testing machine, scanning electron microscope (SEM), CCK-8 assay, and other methods. Investigation of the scaffold's physicochemical properties showed that with increasing PEGDA content, the fiber diameter, pore size, and porosity of the prepared scaffolds gradually decreased, the elongation at break increased progressively, while the breaking strength first increased and then decreased. Stem cell response results indicated that with increasing PEGDA content, the scaffold's anti-cell-adhesive capability was gradually enhanced, and cell adhesion morphology transitioned from a spread state to an approximately spherical state, the scaffold's ability to promote chondrogenesis of cells showed a trend of first increasing and then decreasing. This study provides important references and guidance for effectively regulating the anti-cell-adhesive performance and morphological features of silk fibroin based or other similar electrospun scaffolds.

Key words: methacrylated silk fibroin; polyethylene glycol diacrylate; electrospun scaffold; anti-cell-adhesion; cell-material interaction

生物医用材料抗细胞黏附性能的有效调控是其适配特定临床需求的核心前提之一。其中,抗细胞黏附材料在术后防粘连^[1,2]、血栓预防^[3]等特殊场景具有重要应用价值。较为理想的抗细胞黏附材料需具有优秀的生物相容性、稳定而持久的抗细胞黏附性能、适配应用场景的力学性能,以及优秀的仿细胞外基质 (Extracellular matrix, ECM) 特性^[4-6]。

丝素蛋白 (Silk fibroin, SF) 作为源自天然蚕丝的生物大分子, 凭借其优秀的生物相容性、可控的生物降解性及良好的加工可塑性, 已成为生物医用材料领域的研究热点之一^[5-11]。在各类 SF 材料中, 基于静电纺丝技术制备的 SF 基静电纺支架可高度仿生天然 ECM 中的纳米纤维结构和高度连通的多孔结构, 其在组织工程、创面修复等领域展现出广阔的应用前景^[6, 12-15]。天然 SF 分子中相对缺乏可促进细胞特异性黏附的短肽序列 (如精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸 (RGD), 精氨酸-谷氨酸-天冬氨酸-缬氨酸 (REDV) 等)^[7], 因而表现出“相对较差的促细胞黏附”特性, 该特性也为 SF 基静电纺支架在预防术后粘连等领域中的应用提供了可能。然而, SF 材料自身的抗细胞黏附性能也并不理想。综上分析, 如何有效提升 SF 基静电纺支架的抗细胞黏附功能是有有效拓展此类支架在预防术后粘连与血栓形成、修复特定组织等生物医用领域的关键。文献 [16, 17] 指出, 生物支架抗细胞黏附改性的常用策略 (如物理共混、表面涂覆等) 存在功能调控范围有限、改性组分与基体结合不牢固、支架力学性能下降等不足。

为解决开发抗细胞黏附 SF 基静电纺支架中的相关瓶颈问题, 本研究提出“多重化学修饰与快速紫外光促共交联相结合”的静电纺丝策略: 首先通过甲基丙烯酸缩水甘油酯 (Glycidyl methacrylate, GMA) 对 SF 进行化学修饰, 制备出含碳碳双键 (C=C) 的甲基丙烯酰化丝素蛋白 (Methacrylated silk fibroin, SFMA), 以赋予 SF 原料紫外光促快速交联特性; 然后将 SFMA 与兼具优异抗细胞黏附特性和紫外光促快速交联活性的聚乙二醇二丙烯酸酯 (Polyethylene glycol diacrylate, PEGDA) 共混, 采用静电纺丝技术制备复合静电纺支架; 最后在静电纺丝接收端同步施加紫外 (Ultraviolet, UV) 光照射, 引发 SFMA 和 PEGDA 同种或异种分子间的共价交联进而构建结构稳定的化学交联网络, 同时赋予 SF 基静电纺支架更优异的抗细胞黏附性能和力学性能。本研究进一步通过调控 PEGDA 的复配比例, 系统考察了不同 PEGDA 含量对 SF 基复合静电纺支架理化特性和干细胞响应的影响。该研究有望为拓展 SF 基静电纺支架在预防术后粘连、特定组织修复等生物医用领域中的应用提供重要依据和指导, 同时为有效调控 SF 或其他类似静电纺支架的力学性能和形貌特征提供参考。

1 实验部分

1.1 原料、试剂和耗材

家蚕茧: 贵州星丝路美好生活科技有限公司; 无水碳酸钠 (Na_2CO_3)、无水乙醇: 分析纯, 国药集团化学试剂有限公司; 溴化锂: 分析纯, 上海中锂实业有限公司; GMA: $w \geq 98\%$, 安徽泽升科技有限公司; 透析袋: 截留分子量为 $14\ 000 \pm 2\ 000$, 上海巨源生物科技有限公司; PEGDA: $w \geq 99\%$, 数均分子量为 700, 美国 Sigma-Aldrich 公司; 苯基 (2,4,6-三甲基苯甲酰基) 磷酸锂盐 (LAP): $w \geq 97\%$, 上海皓鸿生物医药科技有限公司; SD 大鼠骨髓

间充质干细胞(BMSCs):上海语纯生物科技有限公司;胰蛋白酶、低糖 DMEM 培养基、高糖 DMEM 培养基、青霉素与链霉素溶液(双抗)、胎牛血清(FBS)、磷酸盐缓冲溶液(PBS, 0.01 mol/L):美国 Gibco 公司;多聚甲醛: $w=4\%$, 北京兰杰柯科技有限公司; Cell counting kit-8 试剂盒(CCK-8):美国 MCE 公司; T75 细胞培养瓶、24 孔细胞培养板、96 孔细胞培养板:上海卧宏生物科技有限公司; 6 孔超低黏附细胞培养板、24 孔超低黏附细胞培养板:北京兰杰柯科技有限公司。

1.2 实验设备

静电纺丝设备:北京永康乐业科技发展有限公司 ET-2531 型;台式 UV 灯:中山市古镇镇优威固照明电器厂 LG-3535 型;扫描电子显微镜(SEM):日本日立株式会社 FlexSEM 1000 II 型;液体核磁共振波谱仪:德国 Bruker 公司 AVANCE III HD 400 MHz 型;电子天平:日本岛津株式会社 AUW120 型;微机控制电子万能试验机:深圳三思纵横科技股份有限公司 UTM6104 型, 传感器 100 N;接触角测量仪:德国 Dataphysics 公司 OCA40 Micro 型;细胞培养箱:德国 Heraeus 公司 BB15 型;超净台:美国 Thermo Fisher 公司 Heraguard™ ECO 型;多功能酶标仪:美国 ThermoFisher 公司 Multiskan FC 型。

1.3 SF 和 SFMA 溶液的制备

SF 溶液的制备:将蚕茧烘干后去除内部蚕蛹,剥离其最内层与外层茧层,保留洁净茧层,而后将其置于 Na_2CO_3 溶液($w=0.38\%$)中保持沸腾状态 30 min 进行脱胶处理;接着用去离子水反复漂洗以除去丝胶蛋白和残留的 Na_2CO_3 ;重复上述脱胶步骤 2 次,然后风干脱胶丝;进一步将风干的脱胶丝在 $60\text{ }^\circ\text{C}$ 的 9.3 mol/L 的溴化锂溶液中保温溶解 1 h(脱胶丝的质量浓度为 0.1 g/mL);最后加水稀释、抽滤得到质量分数约为 5% 的丝素溴化锂溶液,将该溶液用去离子水进行透析 4 d(共 16 次),于 $8\text{ }^\circ\text{C}$ 环境中风吹浓缩得到质量分数为 10% 的 SF 水溶液,备用^[18-21]。

SFMA 溶液的制备:向上述 SF 水溶液中缓慢加入 GMA(添加质量为 SF 质量的 0.6 倍),再于 $60\text{ }^\circ\text{C}$ 下以 300 r/min 的转速密封搅拌反应 3 h,将所得 SFMA 溶液按上述 SF 溶液类似的透析、浓缩工艺进行处理,制得质量分数 10% 的 SFMA 水溶液,备用。SFMA 的合成原理图如图 1(a)所示。本研究所选的 GMA 用量是在文献 [20, 22] 报道常规用量(添加质量为 SF 质量的 0.3 倍)基础上做进一步的对比探索后筛选获得,所制备 SFMA 中的 $\text{C}=\text{C}$ 键含量随 GMA 用量的增加出现一定程度的提升,本文所选条件具有相对更高的 $\text{C}=\text{C}$ 键含量,有望更好地保障后期实验中 SFMA 与 PEGDA 的牢固稳定结合。

将 SF 溶液和 SFMA 水溶液冷冻干燥得到 SF 和 SFMA 冻干粉,于常温、干燥条件下保存备用。通过核磁共振氢谱($^1\text{H-NMR}$)对 SF 和 SFMA 冻干粉进行表征。使用重水作为溶剂溶解 SF 和 SFMA 冻干粉,在 $25\text{ }^\circ\text{C}$ 下扫描 32 次^[20]。

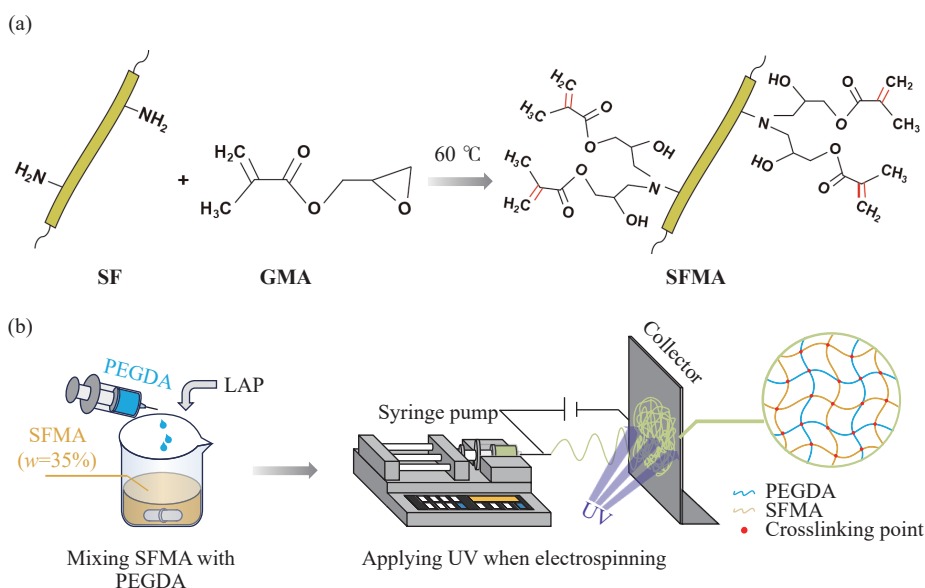


图 1 (a)SFMA 的合成原理;(b)SFMA/PEGDA 静电纺支架的制备示意图

Fig. 1 (a) Synthesis mechanism of SFMA; (b) Preparation diagram of SFMA/PEGDA electrospun scaffold

1.4 SF、SFMA 和 SFMA/PEGDA 静电纺支架的制备

SF 静电纺支架的制备:将 $w=10\%$ 的 SF 水溶液进一步浓缩至 $w=35\%$ 以用于纺丝(表 1)。采用覆有铝箔层的金属板作为纤维收集器,取 2 mL 上述纺丝溶液装入注射器,经内径 0.6 mm 金属针头,由注射泵以 1.2 mL/h 的速率驱动挤出;纺丝电压设为正电极 17 kV、负电极 2 kV,针头尖端至收集器表面纺丝距离控制为 20 cm,纺丝环境维持温度(20±5) °C、相对湿度(40±5)%。纺丝结束后,初生纤维经硅胶干燥剂环境干燥 24 h,再于 37 °C、相对湿度 90% 条件下后处理 36 h,制得 SF 静电纺支架。

SFMA 静电纺支架的制备:将 $w=10\%$ 的 SFMA 水溶液进一步浓缩至 $w=35\%$,向其中加入 4.67 mg 引发剂 LAP(表 1),在避光条件下充分混匀制得 SFMA 纺丝溶液。静电纺基础操作同 SF 静电纺支架的制备,同时在与收集器呈 45° 夹角、距离收集器 28 cm 处放置 365 nm 紫外灯(光强 16 mW/cm²),为纺丝过程提供同步紫外交联的辐照条件。纺丝结束后,初生纤维按 SF 静电纺支架的干燥、后处理工艺操作,最终获得 SFMA 静电纺支架。

SFMA/PEGDA 静电纺支架的制备:将 $w=10\%$ 的 SFMA 水溶液进一步浓缩至 $w=35\%$,同时配制好 $w=35\%$ 的 PEGDA 溶液,随后按表 1 所示配方分别配制支架 S10P1、S10P3 和 S10P5 所对应的纺丝液。三者在必光条件下充分混匀后,依据“SFMA 静电纺支架制备”的纺丝策略制备不同 PEGDA 含量的 SFMA/PEGDA 静电纺支架,其制备示意图如图 1(b)所示。

1.5 静电纺支架的理化性能表征

1.5.1 拉伸力学性能 待测试支架材料均被裁剪成矩形(35 mm×5 mm),用膜厚仪测量并记录样品厚度。随后在温度(20±5) °C 和相对湿度(50±5)% 下,通过微机控制电子万能试验机测试不同静电纺支架的拉伸力学性能。测试过程中将拉伸速率设定为 3 mm/min,夹具初始夹持间距为 20 mm。断裂强度是样条完全断裂瞬间的应力数值,断裂伸长率是样条完全断裂瞬间的应变数值^[23]。

1.5.2 表面形貌 裁剪相关静电纺支架样品,将其粘贴于贴有导电胶的样品台上进行 120 s 喷金处理(10 mA 电流),采用 SEM 在 3 kV 电压下进行支架微观形貌的拍摄。根据典型的 SEM 图像,用 Image J 软件测量并计算支架中纤维的直径、支架的孔径和孔隙率^[24, 25]。

1.5.3 接触角 用水接触角测角仪测得支架表面的接触角,以评估它们的润湿性。具体操作如下:裁剪尺寸为 1 cm×1 cm 的静电纺支架样品,将其平整粘贴于洁净平整玻璃片上,置于硅胶干燥剂环境中静置 10 min,去除表面吸附水分以排除干扰。随后将样品平稳放置于测角仪测试平台,调整平台至水平状态校准仪器。向样品表面中心位置滴加 2 μL 去离子水。用于测量相应接触角的所有图像均在水滴接触支架表面后 0.5 s 拍摄,每组样品选取 5 个不同测试点,取平均值作为最终接触角数据。

1.6 PEGDA 含量对静电纺支架表面黏附干细胞行为的影响

1.6.1 BMSCs 细胞的培养与传代 细胞培养液由低糖 DMEM 培养基、胎牛血清、青霉素与链霉素溶液以 100:10:1 的体积比混合配制得到。选用 T75 细胞培养瓶,将细胞接种于含上述培养液的培养瓶中,置于 37 °C 的恒温培养箱(CO₂ 体积分数为 5%,下同)中静置培养,每 2 d 更换一次新鲜培养液,维持细胞生长微环境稳定。用显微镜观察到细胞在培养瓶底部的汇合度达到 80% 左右时,弃去旧培养液,用 PBS 缓冲液轻轻漂洗细胞表面 2 次;随后加入适量胰蛋白酶消化液($w=0.25\%$),37 °C 孵育 2~3 min 至细胞脱落。随即加入等量培养液终止消化,将细胞悬液转移至离心管中,以 1000 r/min 的转速离心 5 min。进一步弃去上清液,用新鲜培养液重悬细胞沉淀,获得细胞悬液。将细胞悬液均分至 3 个新的 T75 培养瓶中继续传代培养,扩增细胞数量,满足后续实验需求。

1.6.2 BMSCs 细胞在支架表面的接种与培养 将制备好的 SF、SFMA 和 SFMA/PEGDA 静电纺支架裁剪为直径 15 mm 的圆片,置入 24 孔超低黏附细胞培养板中,并用适配尺寸的聚四氟乙烯压环压住底部的圆片状支

表 1 SF、SFMA 和 SFMA/PEGDA 静电纺支架所对应纺丝液的配方

Table 1 Formulation of the spinning dopes corresponding to the SF, SFMA, and SFMA/PEGDA electrospun scaffolds

Sample	$m_{\text{SF(aq)}} \text{ or } m_{\text{SFMA(aq)}/\text{g}}$	$m_{\text{PEGDA}/\text{g}}$	$m_{\text{LAP}/\text{mg}}$
SF	2.00	/	/
SFMA	2.00	/	4.67
S10P1	1.82	0.18	4.67
S10P3	1.54	0.46	4.67
S10P5	1.33	0.67	4.67

Mass fractions of SF, SFMA, and PEGDA are all 35%

架。随即加入乙醇溶液($\varphi=75\%$)浸泡 2 h 灭菌后,用无菌 PBS 缓冲液反复漂洗 8 次(每次 30 min),以洗去残留乙醇和体系中可能存在的微量引发剂。洗涤完毕后,每孔加入培养基 500 μL ,置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 的恒温培养箱中预处理 2 h。最后弃去培养基,每孔加入细胞悬浮液 500 μL (6×10^4 cells/mL)进行细胞接种。将接种细胞后的孔板置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 的恒温培养箱中静置培养,每 2 d 更换一次新鲜培养液进行细胞培养。在后续考察细胞黏附和增殖状态的实验中,支架表面细胞培养所用培养液由低糖 DMEM 所配制;而在细胞分化状态的实验中,支架表面细胞培养所用培养液则由高糖 DMEM 所配制。

1.6.3 BMSCs 细胞在支架表面的黏附情况观察 细胞在支架表面培养 3 d 后,通过 SEM 观察每种支架上的细胞黏附情况。在观察前,先将细胞负载支架置于含 4%(体积分数)多聚甲醛的 PBS 溶液中,4 $^{\circ}\text{C}$ 下固定 2 h;吸去残留溶液,随后进行梯度脱水处理,依次浸入 30、50、70、75、80、90、100%(体积分数)的乙醇溶液中,每个梯度浸泡 10 min;脱水完成后将样品自然干燥,采用铂溅射仪对样品进行喷镀处理(10 mA, 50 s);最后使用 SEM(5 kV)观察并记录相关细胞黏附状态,同时直接反映支架的抗细胞黏附性能。

1.6.4 BMSCs 细胞在支架表面的增殖情况表征 采用 CCK-8 试剂盒检测细胞在不同支架上培养 6 d 的增殖情况。细胞培养 1 d 或 6 d 后,弃去各孔原有培养基,每孔加入 500 μL CCK-8 工作溶液(配方:体积分数 10% 的 FBS,体积分数 10% 的 CCK-8 试剂,体积分数 80% 的 DMEM 培养液);将培养板置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 的恒温培养箱中孵育 2 h 后,每孔吸取 100 μL 上清液转移至 96 孔板中;使用酶标仪在 450 nm 波长处测定各孔光密度(OD)值;通过对比培养 1 d 与 6 d 的 OD 值大体评估每种支架表面的细胞总活力情况,同时间接反映支架的抗细胞黏附性能。

1.6.5 BMSCs 细胞在支架表面的成软骨分化情况表征 通过逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)技术检测成支架表面细胞成软骨分化相关的特征基因表达水平,评估不同支架对 BMSCs 成软骨分化的影响。具体检测基因包括 II 型胶原蛋白基因(Col II)、蛋白聚糖 4 基因(PRG4)、软骨寡聚基质蛋白基因(COMP)及软骨分化关键转录因子基因(SOX9),以甘油醛-3-磷酸脱氢酶基因(GAPDH)作为内参基因校准实验数据。具体实验中,按照 1.6.2 节“BMSCs 细胞在支架表面的接种与培养”流程,完成细胞接种,持续培养 6 d 后,委托上海代轩生物科技有限公司测定相关基因表达。Col II、PRG4、COMP、SOX9 及内参基因 GAPDH 的特异性引物序列详见表 2。采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法^[26] 对荧光定量 PCR 检测得到的原始数据进行分析,计算各组成软骨相关特征基因的相对表达量,进而量化评估不同支架对 BMSCs 成软骨分化的影响。

2 结果与讨论

2.1 $^1\text{H-NMR}$ 表征

SF 及 SFMA 的 $^1\text{H-NMR}$ 表征结果如图 2 所示。相较于 SF, SFMA 在化学位移 6.01 与 5.56 处显现了甲基丙烯酸乙烯基的特征共振峰^[20];同时在 1.76 处可检测到 GMA 甲基基团的特征信号峰^[20]。上述特征峰的出现,证实了 GMA 已成功接枝至 SF 分子链上,进而在 SF 分子链上成功修饰了碳碳双键。

表 2 特征基因和内参基因的 RT-PCR 引物序列

Table 2 RT-PCR primer sequences for target genes and reference gene

Primer	Forward (5'-3')	Reverse (5'-3')
Col II	GGCGAGTCTTGCGTCTAC	GTGCTTCTTCTCCTTGCTCTT
PRG4	GTATTCCCTCTCCATTGAC	GATACCCAGCATCCATTACAT
COMP	ACTGGGTGGTGCTCAATCA	ATCGGTGGCGGTGTTTAC
SOX9	CAGACCAGTACCCGCATC	TCTTCTCGTCTCGTTTCAG
GAPDH	TGTTCTACCCCAATGTAT	TTCACCACCTTCTTGATGTC

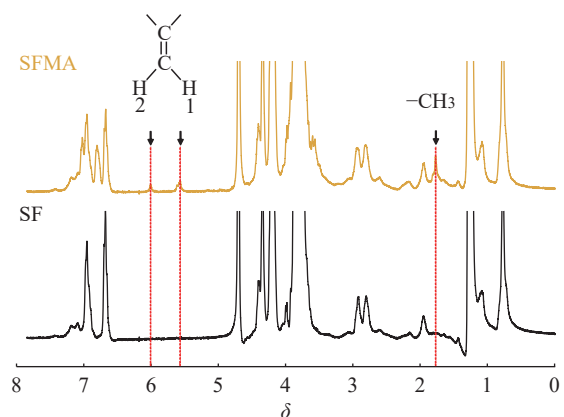


图 2 SF 和 SFMA 的 $^1\text{H-NMR}$ 谱图
Fig. 2 $^1\text{H-NMR}$ spectra of SF and SFMA

2.2 PEGDA 含量对静电纺支架拉伸性能的影响

SF、SFMA 及 SFMA/PEGDA 静电纺支架的应力-应变曲线如图 3(a) 所示, 进一步依据应力-应变曲线计算而得的断裂强度和断裂伸长率分别见图 3(b, c)。

SF、SFMA、S10P1、S10P3 和 S10P5 支架的断裂强度平均值分别为 1.5、2.8、4.1、4.0、3.1 MPa, SFMA 较 SF 支架的断裂强度有明显升高, 这一差异很可能源于紫外光促交联过程中 SFMA 分子间的碳碳双键可形成牢固的化学键和交联点^[20], 从而增强了 SFMA 分子链的结合力, 提升了 SFMA 支架的断裂强度。所述结果也在一定程度上间接证实碳碳双键成功修饰到 SFMA 中。在 SFMA 基础上进一步引入 PEGDA 后, 复合支架 S10P1、S10P3 的断裂强度进一步升高, 而 S10P5 (PEGDA 含量最高) 的断裂强度则略有回落, 但仍高于 SF 和 SFMA。出现这一现象的原因可能在于: PEGDA 的数均分子量显著小于 SFMA, 且仅在分子两端含有碳碳双键。在仅有少量 PEGDA 混入的情况下, PEGDA 可起到类似交联剂的作用, 将分子量较大的 SFMA 共价交联到一起, 从而在一定程度上提高交联网络强度并增强复合支架的断裂强度。在过高含量 PEGDA 混入的情况下, 体系中提供更多交联位点的 SFMA 大分子链占比明显降低, 整体交联网络中交联密度的下降将综合导致支架断裂强度的减小。

SF、SFMA、S10P1、S10P3 和 S10P5 支架的断裂伸长率平均值分别为 1.4%、1.6%、2.3%、4.5% 和 16.4%。SFMA 支架的断裂伸长率较 SF 支架略有提升, 但无显著性差异, 这表明 SFMA 支架中交联点的引入并未显著提高支架的断裂伸长率。随着 PEGDA 含量的增加, 复合支架的断裂伸长率呈现明显的递增趋势。这一变化趋势的核心可能在于: PEGDA 仅在分子端含有碳碳双键, 大量 PEGDA 的引入将会降低复合材料体系整体的交联密度; 此外, PEGDA 分子链段不如丝素蛋白分子链段那般较易诱导组装形成 β -折叠结晶结构, 其具有更好的柔顺性。上述因素综合导致 PEGDA 含量较高的复合静电纺支架展现出更大的断裂伸长率。

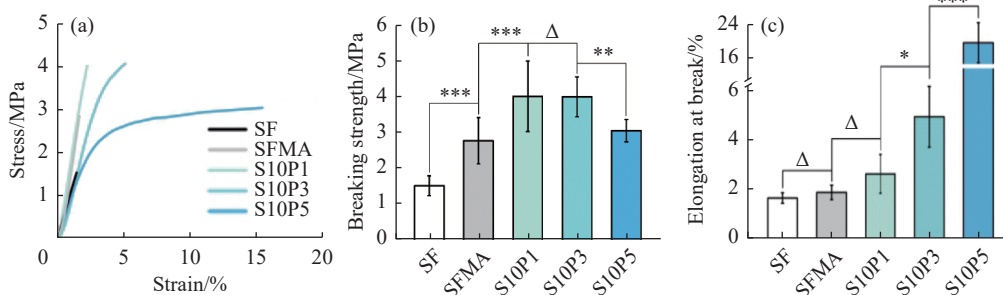


图 3 丝素蛋白基静电纺丝支架的拉伸力学性能: (a) 应力-应变曲线; (b) 断裂强度; (c) 断裂伸长率 (***: $p \leq 0.001$, **: $0.001 < p \leq 0.01$, *: $0.01 < p \leq 0.05$, Δ : $p > 0.05$)

Fig. 3 Tensile properties of silk fibroin-based electrospun scaffolds: (a) Stress-strain curve; (b) Breaking strength; (c) Elongation at break (***: $p \leq 0.001$, **: $0.001 < p \leq 0.01$, *: $0.01 < p \leq 0.05$, Δ : $p > 0.05$)

2.3 PEGDA 含量对静电纺支架形貌的影响

SF、SFMA 及 SFMA/PEGDA 支架的微观形貌如图 4(a) 所示, 支架中纤维直径、孔径及孔隙率特征如图 4(b~d) 所示。SFMA 与 SF 支架在纤维直径、孔径及孔隙率特征方面均无显著性差异。随着 PEGDA 含量增加, SFMA、S10P1、S10P3 和 S10P5 支架的纤维直径、孔径及孔隙率均呈现出逐渐降低的趋势。在静电纺丝过程中, PEGDA 的加入降低了纺丝液中 SFMA 大分子链的有效占比, 从而弱化了纺丝液中大分子链的缠结作用, 使静电纺过程中射流更易被高压电场拉伸细化^[27], 进而呈现出随着 PEGDA 含量的提升, 静电纺支架纤维直径逐渐变小的趋势 (图 4(b))。此外, 由于所用纺丝液的总体积相等且纺丝液中固体含量相同, 纤维直径的降低将导致 PEGDA 含量越高的纤维支架中纤维的数量变多。更多数量纤维的沉积和堆叠势必会降低静电纺支架的孔径 (图 4(c)) 和孔隙率 (图 4(d))。

2.4 PEGDA 含量对静电纺支架亲疏水性的影响

各组支架的亲疏水性结果如图 5 所示。SFMA 支架的接触角与 SF 支架相当, 分别为 113.8° 和 114.9° , 表明 GMA 的修饰并不会明显改变最终静电纺纤维支架的亲疏水性。随着 PEGDA 含量的提升, S10P1、S10P3、S10P5 支架的接触角依次减小至约 81.3° 、 21.3° 和 0° 。研究报道^[28, 29] 表明, PEGDA 及其所形成水凝胶等材料具有较强的亲水性。这很可能是本研究中材料亲水性随 PEGDA 含量增加而增加的原因。

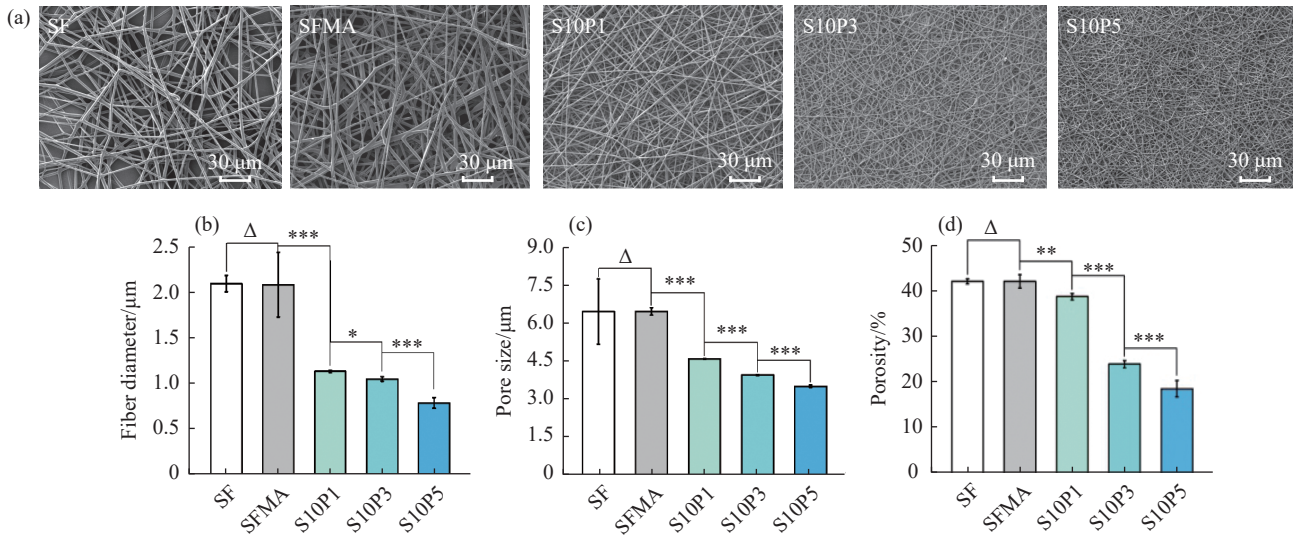


图 4 丝素蛋白基静电纺丝支架的形貌特征: (a) SEM 图像; (b) 纤维直径; (c) 支架孔径; (d) 支架孔隙率; (***: $p \leq 0.001$, **: $0.001 < p \leq 0.01$, *: $0.01 < p \leq 0.05$, Δ : $p > 0.05$)

Fig. 4 Morphological characteristics of silk fibroin-based electrospun scaffolds: (a) SEM images; (b) Fiber diameter; (c) Pore size; (d) Porosity (***: $p \leq 0.001$, **: $0.001 < p \leq 0.01$, *: $0.01 < p \leq 0.05$, Δ : $p > 0.05$)

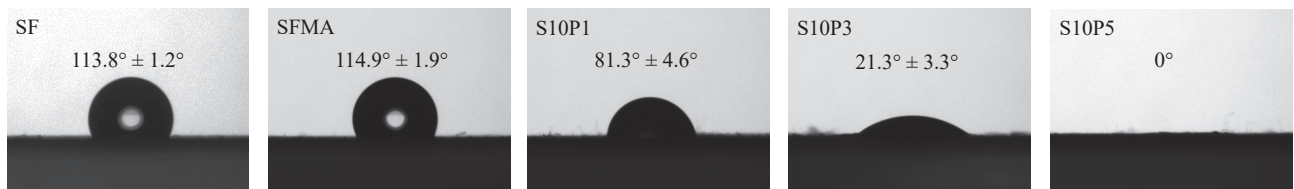


图 5 丝素蛋白基静电纺丝支架的水接触角

Fig. 5 Water contact angle of silk fibroin-based electrospun scaffolds

2.5 PEGDA 含量对静电纺支架表面细胞黏附和活力的影响

细胞培养 3 d 后, BMSCs 细胞在 SF、SFMA、S10P1、S10P3 及 S10P5 支架上的黏附情况如图 6(a~e) 所示。细胞在 SF 和 SFMA 支架上的黏附数量相对较多, 细胞铺展面积也相对更大。随着支架中 PEGDA 含量逐渐提升, 支架 SFMA、S10P1、S10P3 和 S10P5 上细胞黏附的数量逐渐减少, 细胞形态也逐渐由较好的铺展状态转变为收缩状态(近似球状)。这表明随着 PEGDA 含量的提升, 复合支架整体表现出更优的抗细胞黏附特征。大量研究证实, PEG 及其衍生物(如 PEGDA)所形成水凝胶等材料具有优异的抗细胞黏附特性, 因而被广泛应用于抗细胞黏附反差图案的制备^[2, 30]以及预防术后粘连水凝胶材料的制备^[31, 32]等领域。这也正是本研究中 PEGDA 含量提升显著增强复合静电纺支架抗细胞黏附特征的关键原因所在。

本研究同时采用 CCK-8 试剂检测各组支架材料表面细胞培养 1 d 和 6 d 后的细胞总活力情况, 以进一步评估不同 PEGDA 含量对静电纺支架表面细胞黏附和细胞活力的影响(图 6(f))。培养 1 d 后, 各组支架对应的 OD 值均相对较低, 但大体呈现出 SF 和 SFMA 中的细胞总活力无显著差异, SFMA、S10P1、S10P3、S10P5 中的细胞总活力逐渐降低的趋势。培养 6 d 后, 所有支架上细胞总活力相较于培养 1 d 后的相应值均有显著上升, 说明细胞均发生不同程度的增殖。横向对比可知, 培养 6 d 后, 各支架上细胞总活力变化规律与培养 1 d 后类似, 即 SF 和 SFMA 组无显著性差异, SFMA、S10P1、S10P3、S10P5 组中的细胞总活力逐渐降低。这一现象与 SEM 观察到的细胞黏附结果(图 6(a~e))高度吻合: SF 和 SFMA 支架表面细胞黏附数量多、铺展状态佳, 因而细胞总活力更高; 随着 PEGDA 含量提升, 支架抗细胞黏附性能增强, 表面细胞数量逐渐减少且部分细胞逐渐收缩为球形, 最终导致细胞总活力逐步降低。

上述结果共同证实 PEGDA 与 SFMA 的共价交联可以有效提升丝素蛋白基复合静电纺支架的抗细胞黏附性能。随着 PEGDA 含量升高, 支架的抗细胞黏附效果逐步增强, 具体表现为表面细胞逐渐收缩成近似球状, 细胞总活力逐渐下降。

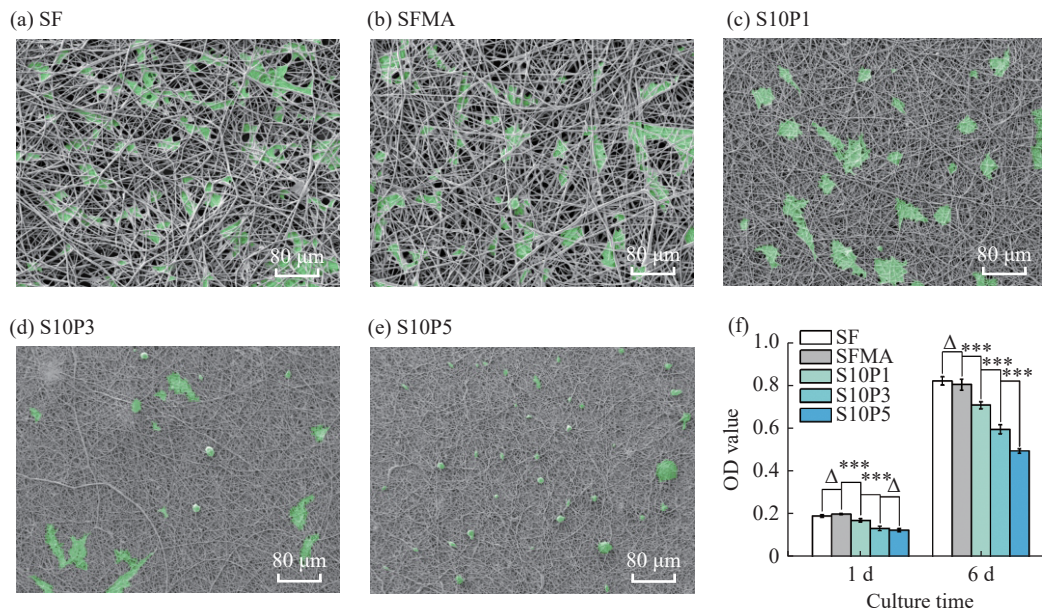


图 6 BMSCs 细胞在不同丝素蛋白基静电纺丝支架上的黏附和增殖情况: (a~e) 细胞培养 3 d 后 SEM 图像(细胞被伪彩为绿色); (f) 细胞培养 1 d 和 6 d 后相对细胞活力变化情况 (***: $p \leq 0.001$, Δ : $p > 0.05$)

Fig. 6 Adhesion and proliferation of BMSCs cells on varied silk fibroin-based electrospun scaffolds: (a—e) SEM images of cells after 3 d culture (cells are pseudo-colored green); (f) Changes of relative cell viability of cells after 1 d and 6 d culture (***: $p \leq 0.001$, Δ : $p > 0.05$)

2.6 PEGDA 含量对静电纺支架表面细胞成软骨分化的影响

已有研究表明, 材料对干细胞黏附状态的改变和调控会进一步影响细胞的分化行为^[2, 33]。McBeath^[34]和Eyckmans 等^[35]的研究结果表明: 材料表面铺展面积较大的细胞更容易发生成骨分化, 而铺展面积较小的细胞和细胞团聚体则更利于发生成软骨分化。鉴于此, 本研究以成软骨分化为切入点, 进一步考察了不同 PEGDA 含量对静电纺支架表面细胞成软骨分化的可能影响。

BMSCs 细胞在 SF、SFMA、S10P1、S10P3 和 S10P5 支架上培养 6 d 后的成软骨特异性基因 (Col II、PRG4、COMP 和 SOX9) 表达如图 7 所示。综合 4 种特征性基因的相对表达量, SFMA 和 SF 支架上细胞的成软骨分化能力相差不大, 这与两种支架相似的形貌特征以及类似的细胞黏附效果密切相关。此外, 共价交联有 PEGDA 的复合支架表面细胞的成软骨分化能力显著优于不含 PEGDA 的 SFMA 支架; 其中 PEGDA 含量居中的 S10P3 支架最优。具体而言, 在 3 种 SFMA/PEGDA 支架中, S10P3 支架上细胞的 Col II、PRG4 和 COMP 基因表达量均为最高, 仅 SOX9 基因表达量低于 S10P5 支架, 因而可综合认为 S10P3 支架最利于促进细胞的成软骨分化。

上述结果可结合细胞形态特征及已有研究规律进一步阐释。天然软骨细胞通常呈球状形态^[36]。此外, 干细胞分化行为考察的典型研究亦表明收缩为近似球形的细胞或细胞聚集体也更有利于干细胞的成软骨分化^[37, 38]。本研究中, PEGDA 的共价引入赋予了丝素蛋白基静电纺支架抗细胞黏附性能, 且引入比例越大, 支架的抗细胞黏附性能越强。在所考察的各组支架中, SF 和 SFMA 支架中不含 PEGDA, 细胞铺展面积相对较大(图 6(a, b)), 因而对应细胞的成软骨分化能力相对最弱。加入少量 PEGDA 后, S10P1 支架的抗细胞黏附性能稍有提升, 其上细胞很可能由于发生少量收缩而表现出综合强于 SF 和 SFMA 支架上细胞的成软骨分化能力(图 6(c))。随着 PEGDA 的进一步提升, S10P3 支架上的部分细胞收缩为近似球状(图 6(d)), 同时保持相对适当的细胞活力, 因而综合表现出最强的成软骨分化能力。对于 PEGDA 含量最高的 S10P5 支架, 最强的抗细胞黏附性能导致其表面细胞显著收缩(图 6(e)), 但这一作用也将显著降低细胞的整体活力。细胞整体活性的降低将不利于细胞功能的发挥和特征基因的表达^[39, 40], 因而综合表现出低于 S10P3 的成软骨分化能力。

本研究通过“多重化学修饰与快速紫外光促共交联相结合”的静电纺丝策略有效实现了丝素蛋白基静电纺支架的抗细胞黏附改性, 所开发策略具有较好的普适性, 为丝素蛋白基静电纺支架的多样化功能改性提供

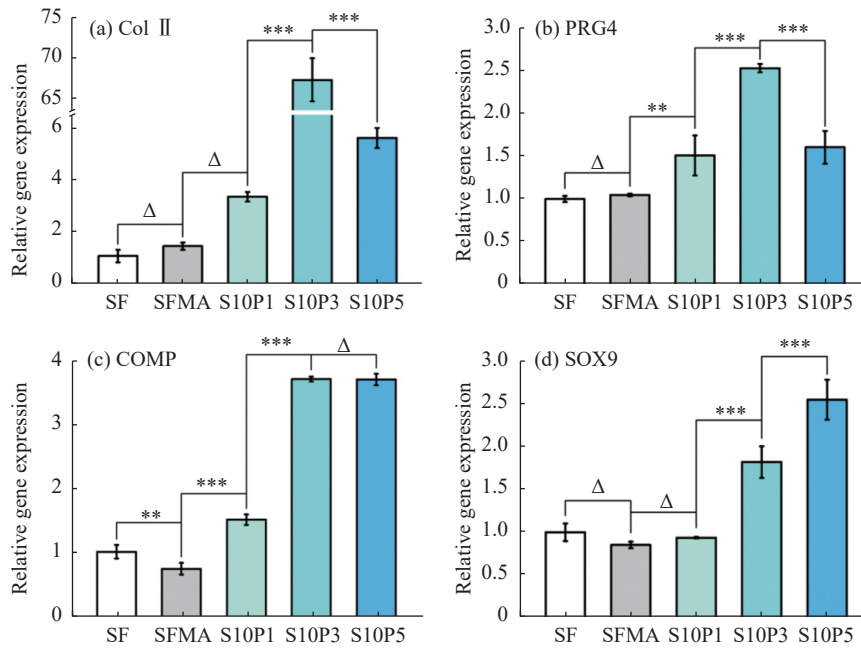


图 7 BMSCs 细胞在不同丝素蛋白基静电纺丝支架表面培养 6 d 后的成软骨特征性基因表达情况 (***: $p \leq 0.001$, **: $0.001 < p \leq 0.01$, Δ : $p > 0.05$)

Fig. 7 Chondrogenic characteristic genes expression of BMSCs cells cultured on the surfaces of varied silk fibroin-based electrospun scaffolds for 6 d (***: $p \leq 0.001$, **: $0.001 < p \leq 0.01$, Δ : $p > 0.05$)

了重要参考。该策略的核心是通过甲基丙烯酸酯化修饰赋予丝素蛋白碳碳双键,使其具备快速紫外光促交联特性。基于此,可将 PEGDA 替换为其他带有碳碳双键的功能“单体”,通过在静电纺丝的同时共交联修饰实现支架功能的有效调控:如引入同时含碳碳双键和 RGD 等短肽序列的功能“单体”,可在丝素蛋白基静电纺支架中引入促细胞特异性黏附的短肽序列位点,有望提升支架的促细胞黏附能力;引入同时含碳碳双键和季铵盐阳离子基团的功能单体则有望赋予丝素蛋白基静电纺支架优异的抗菌性能。综上,本研究为丝素蛋白基或其他类似静电纺支架的功能化修饰和支架形貌特征调控提供了重要参考和指导。

3 结 论

(1) 基于“多重化学修饰与快速紫外光促共交联相结合”的静电纺丝策略,成功制备了具有明显抗细胞黏附功能的丝素蛋白基静电纺支架。

(2) 随着 PEGDA 含量的增大,所制备支架的纤维直径、支架孔径和孔隙率逐渐减小;支架的亲水性逐渐提高;支架的断裂伸长率逐渐提升,断裂强度则先增高后降低。

(3) 随着 PEGDA 含量的增大,支架的抗细胞黏附性能逐渐增强,细胞的黏附形态将由相对充分的铺展状态转变为近似球形的收缩状态,整体细胞活力逐渐下降;干细胞的成软骨分化能力则呈现出先增强后降低的综合趋势。

参考文献:

- [1] LI J N, FENG X R, LIU B C, YU Y J, SUN L M, LIU T J, WANG Y H, DING J D, CHEN X S. Polymer materials for prevention of postoperative adhesion [J]. *Acta Biomaterialia*, 2017, 61: 21-40.
- [2] YAO X, PENG R, DING J D. Cell-material interactions revealed via material techniques of surface patterning [J]. *Advanced Materials*, 2013, 25(37): 5257-5286.
- [3] LUU C H, NGUYEN N T, TA H T. Unravelling surface modification strategies for preventing medical device-induced thrombosis [J]. *Advanced Healthcare Materials*, 2024, 13(1): 2301039.
- [4] HAMRAOUI A. Cell adhesion and surface interactions: A comprehensive review of surface energy, wettability, and topography

- effects [J]. *Aip Advances*, 2025, 15(9): 90702
- [5] YAO X, ZOU S Z, FAN S N, NIU Q Q, ZHANG Y P. Bioinspired silk fibroin materials: From silk building blocks extraction and reconstruction to advanced biomedical applications [J]. *Materials Today Bio*, 2022, 16: 100381.
- [6] LIU X J, YAO X, OUYANG Q J, OLIVERA A L, YAN L, ZHANG Y P. Nanofiber scaffold-based tissue engineering for the treatment of acute liver failure [J]. *Advanced Fiber Materials*, 2024, 6(3): 686-712.
- [7] ZOU S Z, YAO X, SHAO H L, REIS R L, KUNDU S C, ZHANG Y P. Nonmulberry silk fibroin-based biomaterials: Impact on cell behavior regulation and tissue regeneration [J]. *Acta Biomaterialia*, 2022, 153: 68-84.
- [8] 耿亚楠, 赵梦露, 姚响, 张耀鹏. 强韧支架用丝素蛋白基生物墨水及其3D打印支架模拟软件的开发 [J]. *功能高分子学报*, 2023, 36(2): 107-116.
- GENG Y N, ZHAO M L, YAO X, ZHANG Y P. Development of silk fibroin based bio-ink for tough scaffold and related simulation software for 3D printing scaffold [J]. *Journal of Functional Polymers*, 2023, 36(2): 107-116.
- [9] 蔡国龙, 赵伟焜, 祝天浩, 姚响, 张耀鹏. 丝素蛋白水凝胶中的蛋白构象转变速率对其表面黏附细胞增殖的影响 [J]. *功能高分子学报*, 2024, 37(4): 312-321.
- CAI G L, ZHAO W K, ZHU T H, YAO X, ZHANG Y P. Effect of protein conformational transition rate in silk fibroin hydrogel on proliferation of cells adhering to its surface [J]. *Journal of Functional Polymers*, 2024, 37(4): 312-321.
- [10] 赵伟焜, 蔡国龙, 姚婉情, 姚响, 张耀鹏. 具有等效初始特征、不同蛋白构象转变快慢丝素蛋白水凝胶的构筑研究 [J]. *东华大学学报*, 2025, 51(5): 80-87.
- ZHAO W K, CAI G L, YAO W Q, YAO X, ZHANG Y P. Construction of silk fibroin hydrogels with equivalent initial properties and different protein conformational transition rates [J]. *Journal of Donghua University*, 2025, 51(5): 80-87.
- [11] 祝天浩, 蔡国龙, 黄亮, 胥学谦, 姚响, 张耀鹏. 丝素蛋白水凝胶的降解速率对其表面黏附细胞增殖的影响 [J]. *功能高分子学报*, 2024, 37(3): 215-222.
- ZHU T H, CAI G L, HUANG L, XU X Q, YAO X, ZHANG Y P. Effects of degradation rate of silk fibroin hydrogel on proliferation of cells adhering to its surface [J]. *Journal of Functional Polymers*, 2024, 37(3): 215-222.
- [12] DOS S F V, SIQUEIRA R L, DE M R L, AKINOBU Y S, CRISTINA B M, SOUZA C D. Silk fibroin-derived electrospun materials for biomedical applications: A review [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2024, 254: 127641.
- [13] WANG Q Y, RAN X Y, WANG J, WANG S N, ZHANG P L, GAO E J, BAI B S, ZHANG J F, ZHOU G D, LEI D. Elastic fiber-reinforced silk fibroin scaffold with a double-crosslinking network for human ear-shaped cartilage regeneration [J]. *Advanced Fiber Materials*, 2023, 5(3): 1008-1024.
- [14] ZOU S Z, WANG X R, FAN S N, YAO X, ZHANG Y P, SHAO H L. Electrospun regenerated antheraea pernyi silk fibroin scaffolds with improved pore size, mechanical properties and cytocompatibility using mesh collectors [J]. *Journal of Materials Chemistry B*, 2021, 9(27): 5514-5527.
- [15] CHEN K, LI Y H, LI Y B, PAN W S, TAN G X. Silk fibroin combined with electrospinning as a promising strategy for tissue regeneration [J]. *Macromolecular Bioscience*, 2023, 23(2): 2200380.
- [16] RAIKAR A S, PRIYA S, BHILEGAONKAR S P, SOMNACHE S N, KALASKAR D M. Surface engineering of bioactive coatings for improved stent hemocompatibility: A comprehensive review [J]. *Materials*, 2023, 16(21): 6940.
- [17] SHEN Y H, YU X, CUI J, YU F, LIU M Y, CHEN Y J, WU J L, SUN B B, MO X M. Development of biodegradable polymeric stents for the treatment of cardiovascular diseases [J]. *Biomolecules*, 2022, 12(9): 1245.
- [18] KLUGE J A, KAHN B T, BROWN J E, OMENETTO F G, KAPLAN D L. Optimizing molecular weight of lyophilized silk as a shelf-stable source material [J]. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 2016, 2(4): 595-605.
- [19] GU M J, FAN S N, ZHOU G D, MA K, YAO X, ZHANG Y P. Effects of dynamic mechanical stimulations on the regeneration of *in vitro* and *in vivo* cartilage tissue based on silk fibroin scaffold [J]. *Composites Part B: Engineering*, 2022, 235: 109764.
- [20] KIM S H, YEON Y K, LEE J M, CHAO J R, LEE Y J, SEO Y B, SULTAN M T, LEE O J, LEE J S, YOON S, HONG I, KHANG G, LEE J S, YOO S J, PARK C H. Precisely printable and biocompatible silk fibroin bioink for digital light processing 3D printing [J]. *Nature Communications*, 2018, 9(1): 1620.
- [21] LI Z B, LIU Q Q, WANG H S, SONG L J, SHAO H L, XIE M K, XU Y M, ZHANG Y P. Bladder acellular matrix graft reinforced silk fibroin composite scaffolds loaded VEGF with aligned electrospun fibers in multiple layers [J]. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 2015, 1(4): 238-246.
- [22] HONG H, SEO Y B, KIM D Y, LEE J S, LEE Y J, LEE H, AJITERU O, SULTAN M T, LEE O J, KIM S H, PARK C H. Digital light processing 3D printed silk fibroin hydrogel for cartilage tissue engineering [J]. *Biomaterials*, 2020, 232: 119679.
- [23] HANG Y C, ZHANG Y P, JIN Y, SHAO H L, HU X C. Preparation of regenerated silk fibroin/silk sericin fibers by coaxial

- electrospinning [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2012, 51(5): 980-986.
- [24] SEMNANI D, NAGHASHZARGAR E, HADJIANFAR M, MANSHADI F D, MOHAMMADI S, KARBASI S, EFFATY F. Evaluation of PCL/chitosan electrospun nanofibers for liver tissue engineering [J]. International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials, 2017, 66(3): 149-157.
- [25] GHASEMI-MOBARAKEH L, SEMNANI D, MORSHED M. A novel method for porosity measurement of various surface layers of nanofibers mat using image analysis for tissue engineering applications [J]. Journal of Applied Polymer Science, 2007, 106(4): 2536-2542.
- [26] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method [J]. Methods, 2001, 25(4): 402-408.
- [27] XUE J J, WU T, DAI Y Q, XIA Y N. Electrospinning and electrospun nanofibers: Methods, materials, and applications [J]. Chemical Reviews, 2019, 119(8): 5298-5415.
- [28] DUAN J H, CAO Y Y, SHEN Z Z, CHENG Y Q, MA Z W, WANG L J, ZHANG Y T, AN Y C, SANG S B. 3D bioprinted GelMA/PEGDA hybrid scaffold for establishing an *in vitro* model of melanoma [J]. Journal of Microbiology and Biotechnology, 2022, 32(4): 531.
- [29] YANG X, DARGAVILLE B L, HUTMACHER D W. Elucidating the molecular mechanisms for the interaction of water with polyethylene glycol-based hydrogels: Influence of ionic strength and gel network structure [J]. Polymers, 2021, 13(6): 845.
- [30] YAO X, WANG X L, DING J D. Exploration of possible cell chirality using material techniques of surface patterning [J]. Acta Biomaterialia, 2021, 126: 92-108.
- [31] BRAET H, FRANSEN P, CHEN Y, VAN H S, MARIËN R, VANHOORNE V, CEELLEN W, MADDER A, BALLEET S, HOOGENBOOM R, DE G B, HOORENS A, DANKERS P Y W, DE S S C, REMAUT K. Smart hydrogels delivered by high pressure aerosolization can prevent peritoneal adhesions [J]. Journal of Controlled Release, 2023, 362: 138-150.
- [32] SINGH P, VERMA C, GUPTA A, MUKHOPADHYAY S, GUPTA B. Development of κ -carrageenan-PEG/lecithin bioactive hydrogel membranes for antibacterial adhesion and painless detachment [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2023, 247: 125789.
- [33] DISCHER D E, JANMEY P, WANG Y L. Tissue cells feel and respond to the stiffness of their substrate [J]. Science, 2005, 310(5751): 1139-1143.
- [34] MCBEATH R, PIRONE D M, NELSON C M, BHADRIRAJU K, CHEN C S. Cell shape, cytoskeletal tension, and RhoA regulate stem cell lineage commitment [J]. Developmental Cell, 2004, 6(4): 483-495.
- [35] EYCKMANS J, LIN G L, CHEN C S. Adhesive and mechanical regulation of mesenchymal stem cell differentiation in human bone marrow and periosteum-derived progenitor cells [J]. Biology Open, 2012, 1(11): 1058-1068.
- [36] BENYA P D, SHAFFER J D. Dedifferentiated chondrocytes reexpress the differentiated collagen phenotype when cultured in agarose gels [J]. Cell, 1982, 30(1): 215-224.
- [37] LIU Y T, DU L J, ZHANG H, LI G R, LUO Y, HU Z M, XU R, YAO J, SHI Z Y, CHEN Y G, ZHANG C, JIN Z P, ZHANG C H, XIE C C, FU J, ZHU Y B, ZHU Y C. Bioprinted biomimetic hydrogel matrices guiding stem cell aggregates for enhanced chondrogenesis and cartilage regeneration [J]. Journal of Materials Chemistry B, 2024, 12(22): 5360-5376.
- [38] TOMIDA K, KIM J, MAEDA E, ADACHI T, MATSUMOTO T. Spatiotemporal analysis of multi-scale cell structure in spheroid culture reveals hypertrophic chondrocyte differentiation [J]. Cell and Tissue Research, 2024, 397(3): 263-274.
- [39] PINTO-CARDOSO R, BESSA-ANDRÊS C, PEREIRA-COSTA F, NEIVA R, MARTINS-FERREIRA R, GUERRA-LEAL B, NÓBREGA CATELAS D, VILAÇA A, OLIVEIRA A, PELLETIER J, SÉVIGNY J, NORONHA-MATOS J B, CORREIA-DE-SÁ P. HIF-1 α stabilization hampers the chondrogenic differentiation of aged bone marrow mesenchymal stem cells by adenosine A2A/A2B receptors imbalance [J]. ACS Pharmacology & Translational Science, 2025, 8(7): 2075-2092.
- [40] LUO S, XIAO S, AI Y, WANG B, WANG Y F. Changes in the hepatic differentiation potential of human mesenchymal stem cells aged *in vitro* [J]. Annals of Translational Medicine, 2021, 9(21): 1628.

(责任编辑: 王吉晶)