

应用于组织工程支架制备的电纺技术

李好义, 刘勇, 何雪涛, 丁玉梅, 阎华, 谢鹏程, 杨卫民

北京化工大学机电工程学院, 北京 100029

李好义, 刘勇, 何雪涛, 等. 应用于组织工程支架制备的电纺技术. 生物工程学报, 2012, 28(1): 15-25.

Li HY, Liu Y, He XT, et al. Electrospinning technology in tissue engineering scaffolds. Chin J Biotech, 2012, 28(1): 15-25.

摘 要: 组织工程技术为修复病损的组织 and 器官提供了一种新的途径, 在组织工程中, 细胞支架起着支撑细胞生长、引导组织再生、控制组织结构和释放活性因子等作用。针对电纺技术的新发展和细胞支架的新理念, 综述了国内外利用电纺技术制备细胞支架的工艺条件、制备方法、组织细胞培养等方面的研究进展, 并结合作者所在研究团队的研究工作提出了对未来电纺技术在组织工程中应用的研究重点和发展方向的认识。

关键词: 组织工程, 电纺技术, 细胞支架

Electrospinning technology in tissue engineering scaffolds

Haoyi Li, Yong Liu, Xuetao He, Yumei Ding, Hua Yan, Pengcheng Xie, and Weimin Yang

College of Mechanical and Electrical Engineering, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029, China

Abstract: Tissue engineering technology provides a new method to repair ill tissue and worn-out organs. In tissue engineering, scaffolds play an important role in supporting cell growth, inducing tissue regeneration, controlling tissue structure and releasing active factor. In the last decade, electrospinning technology developed rapidly and opened vast application fields for scaffolds. In this review, we summarized the technological conditions of electrospinning for scaffolds, the study of electrospun fiber scaffolds applied in tissue cell cultivation, and some new directions of electrospinning technology for scaffolds. We also addressed development directions of electrospinning research for scaffolds.

Keywords: tissue engineering, electrospinning, cell scaffold

组织工程学 (Tissue engineering), 由美国国家科学基金会于 1987 年提出, 其目的是培养生

物替代品来补救或替换损伤和老化的器官和组织。一种前景比较好的方法就是在可降解支架上

Received: May 22, 2011; **Accepted:** August 5, 2011

Corresponding author: Weimin Yang. Tel: +86-10-64434322; Fax: +86-10-64434734; E-mail: yangwm@mail.buct.edu.cn

移植细胞进行培养,但如何设计支架使其能够引导组织的再生是组织工程的一个难点^[1]。

细胞支架必须具备以下特征:1) 支架和组织有很好的相容性,能创造良好的拟细胞外基质(ECM)环境;2) 支架材料具有可降解性,且降解产物对细胞 pH 值的影响和毒性在最小范围内,同时支架的降解速度可控,能和细胞的增殖过程相一致;3) 针对不同组织要求,保证具备相应的力学性能;4) 优化的支架形态和微纳拓扑结构,以及优化的孔隙率、支架孔径、纤维直径、纤维取向、三维形态等将为细胞提供有利的生长条件;5) 具有暂存和缓慢释放生物活性物质的能力。

目前用于组织工程支架的传统制备方法包括气体泡沫法、相分离法、冷冻干燥法、纤维黏结、溶剂浇铸/粒子沥滤、乳化/冻干等,这些方法虽然一次成型简便,但缺点在于孔隙率小、强度差、支架参数(孔隙率、孔尺寸、空间取向等)的可控性差^[2-4]。新的制备方法也在大量涌现,比如采用飞秒激光加工热塑性聚酯材料,成功制备出了血管支架^[5],但是其成本高、效率低;快速成形技术发展迅速,实现了组织工程支架内部多孔结构与复杂外形的精确控制^[6],但所制备的支架孔隙率偏低,通常小于 80%^[7]。

电纺是一种高效低耗的纳米纤维制备技术,其原理是在装有聚合物溶液或熔体的腔体喷头和接收装置之间施加几千到几万伏的高压静电,使溶液或熔体在高压静电场作用下产生与表面张力相反的电场力,驱使溶液或熔体在毛细管末端拉伸成一个泰勒锥,当电场力足够大时,聚合物液滴可克服表面张力形成喷射细流^[8]。电纺最大的特点是可以制备具有高孔隙率、高比表面积

的纳米纤维拓扑结构,其参数的灵活可控为细胞支架的制备提供了充分发挥的空间。

电纺分为溶液电纺法和熔体电纺法。溶液电纺法是利用高分子溶液进行静电纺丝的方法,由于多种细胞支架材料可以较好地分散到相应溶剂中,浓度的控制较易,因此,电纺在组织工程支架方面的应用比较普遍。熔体电纺中加热温度不易实现精确控制,熔体粘度大,研究相对较少,但其特点是不使用溶剂,省去了诸多工艺,避免了残留溶剂的毒性,在组织工程中有很大的应用前景^[9]。

1 针对支架特性进行电纺所需的工艺条件

1.1 针对支架特性调控纤维结构、形貌和性能

目前可以进行电纺的组织工程支架材料分为天然生物材料和人工合成材料,其中天然生物材料主要为胶原蛋白(Collagen)^[10]、明胶(Gelatine)^[11]、蚕丝(Nature Silk)、蜘蛛丝(Spider Silk)^[12-13]、几丁质(Chitin)及其衍生物、纤维蛋白(Fibrin)^[14]等;合成材料主要是一些生物可降解材料如聚乳酸(PLA)^[15]、聚乙醇酸(PGA)、聚乳酸-羟乙酸、聚己内酯(PCL)^[16]以及可作为血管支架的聚氨酯(PU)等。常用溶剂主要是盐溶液、氯仿(Chloroform)、乙醇、六氟异丙烯(HFIP)、六氟丙烷(HFP)、四氢呋喃(THF)、二氯甲烷(DCM)等。为了增加纤维的韧性、强度,研究者利用了一些复合材料或共聚物进行电纺,取得了很好的效果:Moroni 等^[17]利用聚对苯二甲酸丁二醇酯和聚环氧乙烷(PEOT/PBT)的混合溶液电纺的纳米纤维用于人间叶干细胞的培

养, 效果显著; Zong 等^[18]利用聚丙交酯 (PLLA) 和聚乙交酯 (Poly (glycolic acid)) 的共聚物聚丙交酯乙交酯 (PLGA) 电纺获得支架, 并对其进行拉伸取向, 用于心脏组织工程的研究。

1.2 支架纤维直径的控制

在组织工程中, 不同组织的功能和细胞大小不同, 所对应的最佳支架纤维直径也不同, 因此, 利用合理的纺丝工艺获得不同纤维直径的细胞支架成为必然。电纺中纺丝溶液的粘度对纺丝直径起着至关重要的作用, 溶液的粘度一般取决于聚合物分子量和其配比浓度; 熔体电纺的纤维直径主要取决于熔体的表观粘度, 作者所在的研究小组针对不同的材料其熔体粘度对温度和剪切的敏感性不同, 通过对不同材料熔融温度和剪切作用的精确控制可以获得目标直径的纤维^[19]。一般情况下, 溶液或熔体粘度越高, 获得的纤维直径越大; 溶液或熔体的流动速率越大, 获得的纤维直径就越大, 但是当流动速率超过一定值, 纺丝将无法进行; 电场强度对纤维直径的影响也不可忽视, 在一定范围内, 电场强度越大, 获得的纤维越细, 但是当超过临界值时纤维甚至会变粗^[20]。纺丝针头的孔径也对纤维直径有一定影响, 对于一般的溶液纺丝, 针头孔径越大, 制备的纤维直径越小, 直径分布越趋于一致^[17]。

1.3 支架孔隙率及孔径的控制

组织工程支架的孔隙率和孔径是非常重要的参数, 对于细胞的生长、养分的吸收、代谢排出以及信息的传导具有重要意义^[8]。电纺技术一般可以提供孔隙率 90% 左右的支架, 孔径一般小于 100 μm ^[21], 这样的孔径可能不利于较大的细

胞的生长和渗透, 因此可以结合其他的纤维制备工艺制备复合支架。对于一般的溶液电纺, 其孔隙率和孔径取决于其纤维直径, 随着直径的增加, 孔隙率和孔径也相应增加, 但是纤维比强度相应降低^[22]。但是也有研究表明, 这种影响并不明显^[23]。电纺在获得任意强度、孔隙率和适度孔径的纤维支架方面的灵活性是不可否认的, 但还需要大量的实验进一步明确和细化其工艺。

1.4 支架纤维表面微孔的控制

溶液电纺由于溶剂的挥发一般会在纤维表面形成纳米级微孔。同样直径的电纺纳米纤维, 具有表面纳米微孔结构的纤维具有更高的细胞活力, 细胞不再聚集生长, 取而代之的是分散的细胞, 微孔也激发了不同的生物反馈, 制备过程中溶剂的沸点以及聚合物溶液浓度及气隙都将对微孔孔径的存在及其大小产生影响^[17]。

1.5 支架物理性能的控制

组织支架的物理性能对细胞的生长具有关键作用, 比如肌腱组织支架需要一定的力学拉伸性能, 而人工血管则要求具有与宿主血管相近的强度, 同时, 还要求细胞支架具有一定的时间稳定性, 即随着支架的降解, 其机械支撑性能必须满足一定的要求, 这是一个动态的机械性能变化要求。

目前电纺丝主要通过 5 个方面的改进来逐渐满足支架在机械性能方面的要求:

1) 支架材料的改进: 从单一的高分子向化学性能、物理性能及生物性能俱佳的共混体系和共聚物发展, 比如 PLA 是难结晶易碎材料, 而 PCL 是半结晶材料, 有弹性, 它们的共聚物具有一定的机械性能, 根据不同的复合比例, 可以得到不

同程度的机械性能;PGA只溶解于高氟代有机溶剂如FHIP等,由于单纯的PGA机械强度较差,而且脆性大,难于加工,因此人们常通过共聚得到PLGA以改善材料的机械性能和降解性能,如今这类材料已经在软骨、骨、神经组织工程以及人工肝、人工膀胱等领域得到了广泛的应用^[24]。

2) 电纺条件的精确控制如溶剂的选择、溶液浓度、熔体电纺的熔融温度、加热时间、电极间距、针头内径等。

3) 对支架的后处理可以有效地提高机械强度,研究发现,纺丝过程中的纤维取向对强度影响很大,因此,在纺丝过程中,利用不同的纤维取向方法提高纤维强度,是简单易行和广泛使用的方法^[18],还有些研究者利用乙醇溶液对纤维进行后处理,增加了纤维的强度。

4) 电纺丝结合其他微米级纤维制备方法,制备多层复合支架,利用粗纤维支架作为主要支撑结构,电纺支架作为功能支架。

5) 利用同轴电纺技术,将力学性能差的材料或不易电纺的材料作为芯材,力学性能好的作为壳材,通过降解速度的控制,使得核壳结构发挥功能。

2 电纺纤维细胞支架用于组织细胞培养的研究

2.1 电纺纤维细胞支架用于软骨及骨组织工程

软骨及骨组织其特殊的组织结构、生物学和生物力学特点决定了软骨及骨修复的复杂性。支架一直是该组织工程的研究重点,美国塔夫斯大学的Li等^[25]利用丝素蛋白、骨形态发生蛋白、羟磷灰石纳米颗粒制备了纤维支架,利用人骨骨

髓间叶干细胞通过31d的培养,发现骨形态发生蛋白的后处理有助于更多钙的沉积并促进了骨细胞遗传物质中特异性标记物的转录水平,羟磷灰石纳米颗粒的加入促进了骨的形成。瑞典的Thorvaldsson等^[26]通过电纺的方法将聚己内酯的纳米纤维缠绕到了聚乳酸微米纤维上,获得了孔隙率达95%以上的支架,研究了可控的孔隙率对细胞浸润的作用,研究显示支架空隙率对细胞浸润具有很大的影响,孔隙率越大,浸润效果越好,进一步证明了该制备方法的优点。Lee^[27]的博士论文研究了两种复合电纺丝材料的性能,用于医治关节炎患者,一种是含有盐孔的烧结电纺纤维,该支架降低了电纺材料的机械性能,同时改善了细胞向支架内部渗透的能力;另外在支架中加入了热固的水凝胶来复制关节软骨蛋白聚糖的表达功能。

2.2 电纺纤维细胞支架用于血管组织培养

血管的手术替代和心脏搭桥手术在心血管疾病的治疗中具有重要地位,目前聚对苯二甲酸乙二醇酯或者膨体聚四氟乙烯的合成血管广泛用于大直径的血管嫁接,但是小于6mm的血管的移植一直以来由于其易堵、易成栓、易内膜增生等原因,成为一个较复杂的难题。北卡罗莱纳州大学的Chung等^[28]集成了熔融纺丝和静电纺丝方法利用PCLA共聚体制备了直径为5mm,孔隙率大于75%的血管组织支架,该支架生物可吸收且具有弹性,经测定该支架机械性能超过了天然动脉的横向拉伸值,发现细胞培养初期,细胞增殖较慢,后期随着时间增值速度增加(图1),利用两种方法制备的双层管状结构,其包括超细的电纺纤维和粗的熔融纺制纤维,该结构模拟了真

正的血管结构,有利于差异性内层和平滑肌肉组织层的形成。

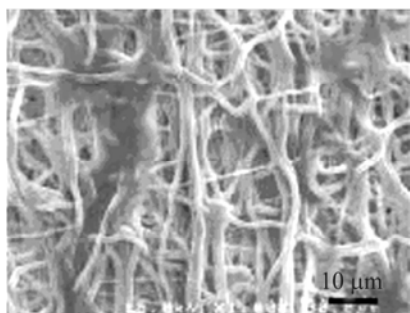


图1 细胞在 PLCL 支架上培养 7 d 后细胞粘连的电镜图^[28]

Fig. 1 SEM photomicrographs of cell attachment on PLCL scaffolds after 7 days of culture^[28].

2.3 电纺纤维细胞支架用于神经组织培养

早发性痴呆症和帕金森综合症作为典型的神经变性病,通常是由不溶性丝状纤维的堆积、聚集所引起的早期轴突功能紊乱和病变所致。电纺网格已经成为最有希望应用于神经纤维的修复材料,只要选择合适的神经细胞类型,获得适当的三维结构就可以完全恢复神经功能^[29]。目前主要研究内容包括:各种纤维取向和纤维尺寸对神经细胞的影响, Yang 等通过和微米尺寸纤维相比,证实了纳米尺寸的 PLLA 能增强新生鼠小脑 C17.2 干细胞的增殖^[30];将一些化学物质加入纤维用来改善细胞功能,如使用乙二胺处理的 PCL 电纺纤维增加了其亲水性,这样促进了细胞粘连,但不影响小鼠脑神经干细胞^[31];增加电纺支架的电活性来改善纤维取向、增强细胞功能,如在 PLGA 网格中涂覆一层聚吡咯提供电刺激来促进和引导神经细胞轴突的延展。

2.4 电纺纤维细胞支架用于心脏组织的构建研究

纽约州立大学的 Zong 等^[18]利用电纺支架用于心脏组织结构的培养研究,通过电纺制备了生物可降解的 PLGA 膜,通过后处理使纤维呈现各向异性,使用含有不同含量聚乙交脂的亚微米纤维对原发性心肌细胞培养了类心脏组织结构,研究发现,可以通过纤维微纳表面的化学和几何设计获得预设的心脏组织和功能,发现心肌细胞沿着纤维取向方向生长的特性(图2),在快速降解及亲水性纤维上细胞密度较低。

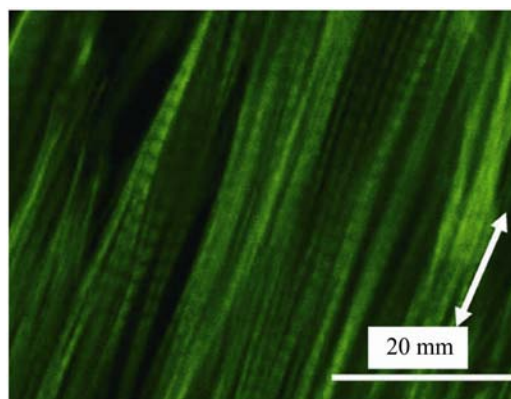


图2 PLLA 预设取向纤维上心肌细胞激光扫描共聚焦显微镜图^[18]

Fig. 2 CLSM images of cardiac myocytes on predefined oriented fibers of PLLA. Arrows indicate matrix fiber direction^[18].

3 电纺用于细胞支架制备的新思维

3.1 共混电纺或共聚物电纺

共混纺丝是一种有效改善电纺纤维性能的方法,不同的材料由于生物相容性、降解速度、机械强度、可纺性等方面的差异,一种材料已无法满足组织支架的要求,因此,各种支架制备材料的共混组合相继被开发了出来。例如聚乙烯吡

咯烷酮 (Polyvinyl pyrrolidone, PVP) 在空气中极易吸湿, 所制纤维不能长时间存放, 尤其当所纺纤维为纳米级时, 更不容易保存, 但通过将 PVP 与聚环氧乙烷 (PEO)、共聚维酮 S~630 及聚偏二氟乙烯 (PVDF) 进行共混电纺, 降低 PVP 纳米纤维的吸湿性^[26]; 鲍鞞鞞等^[23]将丝素和明胶以不同质量比共混于甲酸溶剂, 电纺制得了在丝素与明胶质量比为 70:30 下的平均直径为 83.9 nm 的纳米纤维, 不仅有利于克服低质量分数丝素纺丝溶液电纺中出现的珠状物和断头多等问题, 而且有望应用于生物组织工程中。但是很多情况下两种材料的相容性差, 找不到共溶剂^[32], 所以溶液共混电纺只适用于少数几种高聚物, 因此有人提出利用熔体电纺克服这一问题^[9]。针对溶液共混电纺所存在的缺点, 本研究组发明了一种熔体静电纺丝生产复合纤维的装置, 该装置可以同时两种或多种聚合物进行熔体纺丝, 以制得并列型或皮芯型等类型的复合纤维^[35]。

3.2 同轴电纺技术

传统的复合纤维由于两种材料很少能同时溶解于同一溶剂, 而同轴电纺技术则解决了这一问题, 它不但可以满足不同材料的混合电纺, 同时其独特的芯-壳结构为支架提供了更好的机械性能和生长环境, 一方面其芯材料可以随着壳材料的降解而逐渐释放, 同时也可以用于药物释控的应用。这种方法非常适用于天然材料和合成材料的复合纺丝, 一般外喷头中的纺丝液为天然材料, 内喷头中的纺丝液为合成材料, 制备出来的纤维为同时具备良好的生物黏附性和较好的物理机械性能的芯-壳结构的纳米纤维。

黎雁在其博士论文^[36]中提到用此装置将模

型蛋白 BSA 和溶菌酶分别混入聚乙二醇 (PEG) 水溶液中作为内层纺丝液, PCL 溶于二甲基甲酰胺和氯仿的混合溶剂作为外层纺丝液, 得到了具有芯-壳结构的纳米纤维膜, 这种包埋方法有效避免药物的突然释放引起的细胞失活, 使水溶性蛋白质以稳定的速度持续释放。McCann^[37]则报道了用同轴熔体电纺制备微胶囊和相变纳米纤维的方法, 所用装置如图 3 所示, 在塑料注射器末端的金属针头内插入聚合物涂敷的硅毛细管, 这样, 熔点在室温左右的含 16~20 个碳的烷烃就可以与溶剂 (壳层 PVP/TiO₂:) 一起从同轴喷丝头中喷出, 在纺丝过程中, 喷射物的冷却主要依赖溶剂的蒸发而使里面的熔融态固化。与传统同轴电纺相似, 电纺的材料 (熔融态或固态) 必须不溶于溶剂才能获得芯-壳结构的纤维。芯-壳型

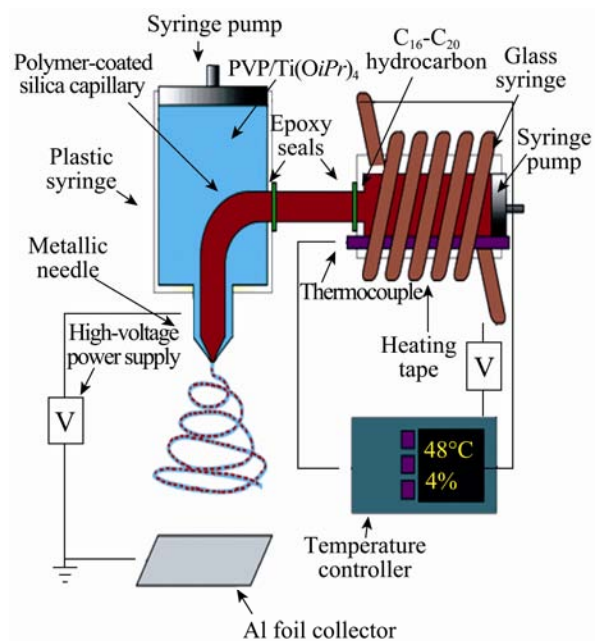


图 3 同轴电纺装置^[37]

Fig. 3 Schematic of the melt coaxial electrospinning setup used for fabricating TiO₂-PVP nanofibers loaded with hydrocarbon PCMs^[37].

结构的纳米纤维可广泛用于不稳定的生物试剂的保存、防止不稳定的化合物分解、分子药物的持续释放、组织工程支架的构建、导电纳米线、军事中的生物化学防护服等方面。

3.3 电纺技术和快速成型方法的结合

可能同一组织的不同部分或不同组织层需要不同的支架形态和功能,这就需要电纺提供灵活多变的纤维直径和取向,一直以来电纺技术中的纤维取向方法都比较单一,主要是通过改变纤维或是通过接收辊子的水平和旋转运动获得单向取向的纤维^[9,38],最近本研究组发明了一种结合电纺和快速成型技术的新方法(图4),有望为电纺在组织工程中的应用带来新突破,其基本思想就是利用纳米级纤维的电纺设备,结合快速成型中的精密接收装置,获得任意想要的三维立体结构,有望实现对纤维直径、支架孔隙率和孔径、纤维形态的动态实时控制^[39]。

3.4 一些后处理技术

尽管电纺技术制备的支架在强度、生物相容性、可降解性方面性能卓越,且结构简单,操作容易。但是对于严格的组织培养,仍然需要一定的后处理来完善其性能,以便模拟更加符合细胞外基质的条件。戴有刚等^[20]研究了乙醇对丝素(SF)/PLGA人工血管后处理以后的力学性能,发现100%乙醇水溶液处理后明显提高了其管状支架材料的强度,但是脆性增加,柔软性下降。一般为了获得不能直接电纺的纤维,利用同轴电纺,制备好后可以用适当的溶剂去掉壳层结构,也可以利用适当的溶剂将内核去除,制成纳米微管。Wang等^[40]首先制备了硅胶包裹润滑油/PVP的芯-壳纳米纤维,然后将核层的润滑油和PVP

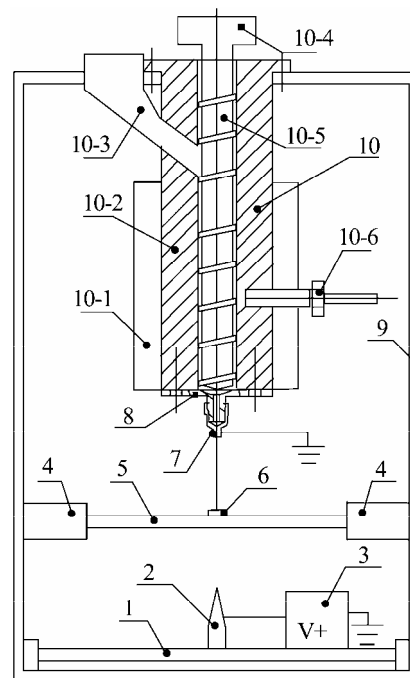


图4 一种结合电纺和快速成型的装置示意图^[39]

Fig. 4 Schematic of an electrospinning device based on rapid prototyping process which mainly includes tip electrode, electrode scaffold, DC voltage source, platform and moving system, capillary, nozzle, stand and spinning control system^[39].

除去,得到SiO₂纳米管,内径仅有20 μm,并允许单分子从中通过。研究发现,不同的后外理方法对PLLA支架形貌影响差别很大,在制造和使用支架过程中应尽量避免一些对支架结构形貌有影响的处理方式,如对支架进行灭菌,尽量选用对支架影响较小的环氧乙烷灭菌法;又如在支架上进行细胞培养应尽量避免使用乙酸异戊酯进行脱水,直接使用钨酸固定及真空干燥,以保护支架和细胞,从而得到更好的实验结果。Zong等^[18]在心脏组织支架的制备过程中,进行了双轴取向拉伸的后处理,获得了各项异性的PLGA膜支架,随着拉伸率的提高,纤维的孔隙率降低,

所以提出双向拉伸可以有效地控制电纺支架的取向和孔隙率。

3.5 多层电纺和混合电纺

除了同一根纤维中复合多种材料的共混电纺和同轴电纺,一些研究者还利用了多层纤维结构,以满足不同组织的要求,即不同的组织部位使用不同的纺丝材料和电纺工艺,甚至同一个支架,不同层的纤维使用不同的纤维制备工艺和电纺工艺结合起来,充分利用不同制备工艺的优点。Kidoaki 等^[41]提出了多层电纺 (Multilayering electrospinning) 和混合电纺 (Mixing electrospinning) 的加工方法,在多层电纺中, I 型胶原 (Collagen) 苯乙烯化明胶 (ST-Gelatine) 和聚氨酯 (PU) 依次沉积到同一收集屏上,层层叠加,最终得到了具有 3 层结构的纤维膜;在混合电纺中,PU 和 PEO 分别从 2 个喷口同时沉积到一个高速旋转并作水平运动的接收辊上,获得了 2 种材料交叉编织的复合纤维膜,这些方法有助于提高纤维支架的孔径和孔隙率,便于细胞的生长和迁移。

混合电纺是载有不同聚合物溶液的 2 个或多个喷丝头同时纺丝。这两种方法都可以根据具体的要求得到针对性较强的细胞支架,在组织工程支架的制备方面有很好的发展前景。

葛丽芹等^[42]通过将层层组装技术转移到一维电纺纳米纤维表面后选择性的去除模板获得一类全新的材料-中空多层有机复合纳米纤维(图 5)。他们发现在碱性条件下有机聚合物在模板上的生长速度是最快的,而且表面的形貌也保持得相当好,可以看成是 pH 的最优条件,沉积 10 层有机聚合物在模板上的结果比较令人满意,

而且表面的形貌也保持的比较好,可以看成是沉积层数的最优条件。

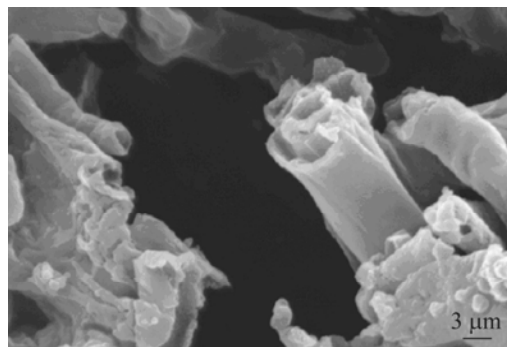


图 5 基于电纺技术的中空多层聚合电解质纳米纤维^[42]

Fig. 5 Hollow multilayered polyelectrolyte nanofiber based on electrospinning method^[42].

4 电纺在组织工程应用的研究展望

溶液电纺工艺的不断完善和发展为其在组织工程中的应用打下了良好的基础,其温和的加工工艺也使得在人体组织或细胞培养基上直接电纺成为可能。同时具有特殊功能和精确控制的电纺装置不断出现为更为复杂的组织支架的制备创造了条件。熔体电纺工艺的不断进步也为环境友好的组织支架制备带来了新的希望。但是目前也存在不少问题和改进之处:

1) 电纺工艺稳定性、重复性差,实现纺丝过程的精确实时控制,并逐步开展量产的研究有利于电纺制备生物支架工艺的进一步完善。

2) 针对溶液纺丝中残留溶剂的问题,应当利用更加经济或安全的溶剂替代有环境危害性或是残留致病性的溶剂,同时深入研究熔体电纺在组织支架纤维制备中的应用有更加重要的意义。

3) 组织工程细胞支架具有其自身的特点,

更加重视仿生设计在电纺中的应用, 将其和电纺、快速成型技术结合起来, 迅速推动支架优化、取向优化的组织支架的研究和应用, 这也是电纺技术的发展方向之一。

4) 在以往的研究中过多地考虑了工艺, 忽视了纺丝材料, 通过电纺材料的改性、优化后处理工艺、改进材料生物相容性及其力学性能等来改进细胞支架细胞培养过程中活性传输特性, 可以保证细胞健康快速的增殖。

REFERENCES

- [1] Lee JW, Lee KS, Cho N, et al. Topographical guidance of mouse neuronal cell on SiO₂ microtracks. *Sens Actuators B*, 2008, 128(1): 252–257.
- [2] Liao CJ, Chen CF, Chen JH, et al. Fabrication of porous biodegradable polymer scaffolds using a solvent merging/particulate leaching method. *Biomed Mater Res*, 2002, 59(4): 676–681.
- [3] Almirall A, Larrecq G, Delgado JA, et al. Fabrication of low temperature macroporous hydroxyapatite scaffolds by foaming and hydrolysis of an α -TCP paste. *Biomaterials*, 2004, 25(17): 3671–3680.
- [4] Kim HD, Bae EH, Kwon IC, et al. Effect of PEG-PLLA diblock copolymer on macroporous PLLA scaffolds by thermally induced phase separation. *Biomaterials*, 2004, 25(12): 2319–2329.
- [5] Weiss P. Hot flashes, cold cut: ultrafast laser give power tools a new edge. *Sci News*, 2002, 162(20): 315–318.
- [6] Li X, Wang CT. Current progress of fabricating tissue engineering scaffold using rapid prototyping techniques. *Chin J Biotech*, 2008, 24(8): 1321–1326.
李祥, 王成焘. 快速成型技术制造组织工程支架研究进展. *生物工程学报*, 2008, 24(8): 1321–1326.
- [7] Wu LB, Ding JD. Advances in fabrication methodology and technology of three-dimensional porous scaffolds for tissue engineering. *J Funct Polym*, 2003, 16(1): 91–96.
吴林波, 丁建东. 组织工程三维多孔支架的制备方法和技术进展. *功能高分子学报*, 2003, 16(1): 91–96.
- [8] Doshi J, Reneker DH. Electrospinning process and applications of electrospun fibers. *Journal of Electrostatics*. 1995, 35(2/3): 151–160.
- [9] Liu TQ, Xu YQ, Cao BB, et al. Research development on melt-electrospinning and its equipments. *New Technol New Proc*, 2009(12): 93–97.
刘太奇, 许远秦, 操彬彬, 等. 熔体静电纺丝及其装置的研究进展. *热加工工艺技术与材料研究*, 2009(12): 93–97.
- [10] Rho KS, Jeong L, Lee G, et al. Electrospinning of collagen nanofibers: effects on the behavior of normal human keratinocytes and early-stage wound healing. *Biomaterials*, 2006, 27(8): 1452–1461.
- [11] Huang ZM, Zhang YZ, Ramakrishna S, et al. Electrospinning and mechanical characterization of gelatin nanofibers. *Polymer*, 2004, 45(15): 5361–5368.
- [12] Fang Q. Study of RGD restructuring silk protein and tussah silk fibroin as tissue engineering scaffolds materials [D]. Fuzhou: Fujian Normal University, 2008.
房乾. RGD 重组蛛丝蛋白和柞蚕丝素蛋白作为组织工程支架材料的研究 [D]. 福州: 福建师范大学, 2008.
- [13] Parka KE, Jung SY, Lee SJ, et al. Biomimetic nanofibrous scaffolds: preparation and characterization of chitin/silk fibroin blend nanofibers. *Int J Biol Macromol*, 2006, 38(3/5): 165–173.
- [14] McManus MC, Boland ED, Koo HP, et al. Mechanical properties of electrospun fibrinogen structures. *Acta Biomater*, 2006, 2(1): 19–28.
- [15] Zhou HJ, Green TB, Joo YL. The thermal effects on electrospinning of polylactic acid melts.

- Polymer, 2006, 47(21): 7497–7505.
- [16] Fujihara K, Kotaki M, Ramakrishna S. Guided bone regeneration membrane made of polycaprolactone/calcium carbonate composite nano-fibers. *Biomaterials*, 2005, 26(19): 4139–4147.
- [17] Moroi L, Licht R, de Boer J, et al. Fiber diameter and texture of electrospun PEOT/PBT scaffolds influence human mesenchymal stem cell proliferation and morphology, and the release of incorporated compounds. *Biomaterials*, 2006, 27(28): 4911–4922.
- [18] Zong XH, Bien H, Chung CY, et al. Electrospun fine-textured scaffolds for heart tissue constructs. *Biomaterials*, 2005, 26(26): 5330–5338.
- [19] Kwon IK, Kidoaki S, Matsuda T. Electrospun nano-to microfiber fabrics made of biodegradable copolyesters: structural characteristics, mechanical properties and cell adhesion potential. *Biomaterials*, 2005, 26(18): 3929–3939.
- [20] Dai YG. Study on Fabrication of Silk/PLGA artificial blood vessel through electrospinning [D]. Suzhou: Suzhou University, 2009.
戴有刚. SF/PLGA 共混静电纺丝人工血管材料的研究 [D]. 苏州: 苏州大学, 2009.
- [21] Chen ZJ. Study on P (LLA-co-CL) electrospun membrane for drug-loading [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2008.
陈正坚. P (LLA-co-CL) 电纺膜用于药物控制释放的研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2008.
- [22] Sheng BB. Preparation of biocompatible nano-fibers by electrospinning [D]. Qingdao: Qingdao University, 2008.
盛冰冰. 静电纺丝法制备生物相容性纳米纤维 [D]. 青岛: 青岛大学, 2008.
- [23] Bao WW, Zhang YZ, Yin GB. Electrospinning of hybrid nanofibers of silk fibroin and gelatin. *J Textile Res*, 2007, 28(3): 1–4.
鲍鞞鞞, 张幼珠, 尹桂波, 等. 丝素与明胶共混静电纺丝. *纺织学报*, 2007, 28(3): 1–4.
- [24] Zhao PC. Application of coaxial electrospinning in surface modification of tissue engineering scaffolds [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2006.
赵鹏程. 同轴电纺在组织工程支架表面改性中的应用 [D]. 杭州: 浙江大学, 2006.
- [25] Li CM, Vepari C, Jin HJ, et al. Electrospun silk-BMP-2 scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials*, 2006, 27(16): 3115–3124.
- [26] Thorvaldsson A, Stenhamre H, Gatenholm P, et al. Electrospinning of highly porous scaffolds for cartilage regeneration. *Biomacromolecules*, 2008, 9(3): 1044–1049.
- [27] Lee David W. Tissue Engineering Cartilage with a Composite Electrospun and Hydrogel Scaffold [D]. Virginia Tech Campus, 2011.
- [28] Chung S, Ingle NP, Montero GA, et al. Bioresorbable elastomeric vascular tissue engineering scaffolds via melt spinning and electrospinning. *Acta Biomater*, 2010, 6(6): 1958–1967.
- [29] Lee YS, Arinzeh TL. Electrospun nanofibrous materials for neural tissue engineering. *Polymers*, 2011, 3(1): 413–426.
- [30] Yang F, Murugan R, Wang S, et al. Electrospinning of nano/micro scale poly (L-lactic acid) aligned fibers and their potential in neural tissue engineering. *Biomaterials* 2005, 26(15): 2603–2610.
- [31] Li WS, Guo Y, Wang H, et al. Electrospun nanofibers immobilized with collagen for neural stem cells culture. *J Mater Sci Mater Med*, 2008, 19(2): 847–854.
- [32] Deng RJ, Liu Y, Ding YM, et al. Investigation on producing micro-nano fibers by melt electrospinning. *Materials Sci Technol*, 2010, 18(3): 425–433.
邓荣坚, 刘勇, 丁玉梅, 等. 熔体电纺丝法制备微纳米纤维的探索. *材料科学与工艺*, 2010, 18(3): 425–433.
- [33] Deitzel JM, Kleinmeyer J, Harris D, et al. The effect of processing variables on the morphology of electrospun nanofibers and textiles. *Polymer*, 2001, 42(1): 261–272.
- [34] Curry JD. *Bones: Structure and Mechanical*.

- Princeton: Princeton University Press, 2002.
- [35] Liu Y. An apparatus for preparation of composite fiber using melt electrospinning method: CN, 200910078502. 5, 2010-08-25.
刘勇. 一种熔体静电纺丝生产复合纤维的装置. 中国: 200910078502. 5, 2010-08-25.
- [36] Li Y. Novel Copolyanhydrides combining strong inherent fluorescence and a wide range of biodegradability: synthesis, characterization and in vitro degradation [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2005.
黎雁. 基于可生物降解聚合物的微米纳米结构药物控释体系: 制备、表征及体内外评价研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2005.
- [37] McCann JT, Marquez M, Xia YN. Melt coaxial electrospinning: a versatile method for the encapsulation of solid materials and fabrication of phase change nanofibers. *Nano Lett*, 2006, 6(12): 2868–2872.
- [38] Xue H, Xiong J, Li N, et al. Progress of the research on electro-spinning technique and device. *Adv Textile Technol*, 2010, 18(2): 48–54.
薛花, 熊杰, 李妮, 等. 静电纺丝工艺与装置的研究进展. *现代纺织技术*, 2010, 18(2): 48–54.
- [39] Beijing university of chemical technology. Apparatus combining electrospinning and rapid prototyping technology: CN, 200920106284. 7, 2009-12-09.
北京化工大学. 一种结合静电纺丝技术的快速成型装置: 中国, 200920106284. 7, 2009-12-09.
- [40] Wang M, Jing N, Su CB, et al. Electrospinning of silica nanochannels for single molecule detection. *Appl Phys Lett*, 2006, 88(3): 33–106.
- [41] Kidoaki S, Kwon K, Matsuda T. Mesoscopic spacial designs of nano- and microfiber meshes for tissue-engineering matrix and scaffold based on newly devised multilayering and mixing electrospinning techniques. *Biomaterials*, 2005, 26(1): 37–46.
- [42] Ge LQ, Ji JY, Bo LL, et al. Fabrication of hollow multilayer nanofibers from electrospun fiber. The 4th Episodes of Chinese Chemical Society 27th Annual Conference, 2010.
葛丽芹, 嵇剑宇, 柏林玲, 等. 基于电纺纤维模版的多层中空纳米纤维制备. 中国化学会第 27 届学术年会第 04 分会场摘要集, 2010.