(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国 际 局

(43) 国际公布日
2020 年 7 月 2 日 (02.07.2020)

WIPO | PCT

(10) 国际公布号
WO 2020/133668 A1

(51) 国际专利分类号:
A61L 27/04 (2006.01) *A61L 27/54* (2006.01)
A61L 27/22 (2006.01) *A61L 27/56* (2006.01)
A61L 27/26 (2006.01) *A61L 27/58* (2006.01)
A61L 27/38 (2006.01) *A61F 2/02* (2006.01)
A61L 27/52 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2019/076010

(22) 国际申请日: 2019 年 2 月 25 日 (25.02.2019)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
201811638025.9 2018年12月29日 (29.12.2018) CN

(71) 申请人: 南通纺织丝绸产业技术研究院 (NANTONG TEXTILE & SILK INDUSTRIAL TECHNOLOGY RESEARCH INSTITUTE) [CN/CN]; 中国江苏省南通市通州区新世纪大道266号江海智汇园D1号楼, Jiangsu 226300 (CN)。 苏州大学 (SOOCHOW UNIVERSITY) [CN/CN]; 中国江苏省苏州市相城区济学路8号, Jiangsu 215137 (CN)。

(72) 发明人: 李刚 (LI, Gang); 中国江苏省苏州市相城区济学路8号, Jiangsu 215137 (CN)。 张淑军 (ZHANG, Shujun); 中国江苏省苏州市相城区济学路8号, Jiangsu 215137 (CN)。 郑兆柱 (ZHENG, Zhaozhu); 中国江苏省苏州市相城区济学路8号, Jiangsu 215137 (CN)。 王晓沁 (WANG, Xiaoqin); 中国江苏省苏州市相城区济学路8号, Jiangsu 215137 (CN)。

(54) **Title:** NERVE CONDUIT OF MAGNESIUM FILAMENT AND SILK COMPOSITELY WOVEN STRUCTURE AND PREPARATION METHOD FOR NERVE CONDUIT

(54) 发明名称: 一种镁丝蚕丝复合编织结构神经导管及其制备方法

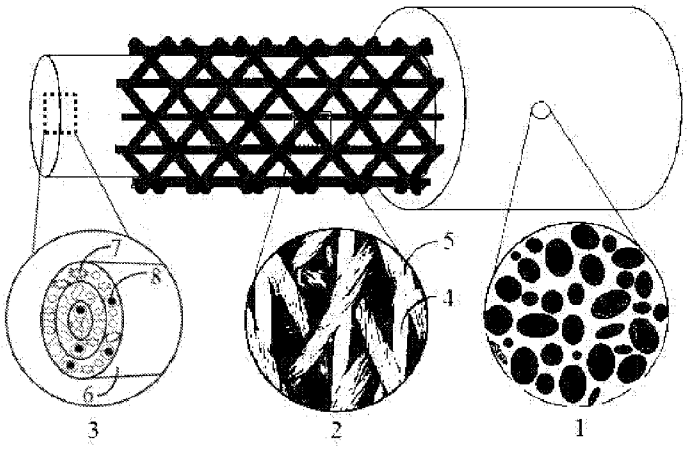


图 1

(57) **Abstract:** A nerve conduit of a magnesium filament and silk compositely woven structure and a preparation method for the nerve conduit.The nerve conduit comprises a porous sponge structure outer layer formed by mixing a silk fibroin solution with a chitosan solution, a three-dimensional structure skeleton middle layer formed by compositely weaving magnesium filament as axial yarn and degummed silk as braiding yarn, and a porous gel structure inner layer. The magnesium filament and silk compositely woven structure can improve radial pressure resistance, slowly degrade to promote the growth and proliferation of schwann cells, facilitate the recovery of damaged nerves, and have good biocompatibility.

(57) 摘要: 一种镁丝蚕丝复合编织结构神经导管及其制备方法。神经导管包括，丝素蛋白溶液和壳聚糖溶液混合后形成的多孔海绵结构外层，镁丝为轴纱、脱胶蚕丝为编织纱复合编织成型的三维结构骨架中间层，多孔凝胶结构内层。镁丝蚕丝复合编织结构能够提高径向抗压性能，缓慢降解促进雪旺细胞的生长和增殖，有利于损伤神经的恢复，具有良好的生物相容性。

WO 2020/133668 A1

[见续页]

(74) 代理人：苏州翔远专利代理事务所（普通合伙）(SUZHOU XIANGYUAN PATENT AGENCY (GENERAL PARTERNERSHIP))；中国江苏省苏州市工业园区东环路1408号东环时代广场1607室陆金星, Jiangsu 215000 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明，要求每一种可提供的国家保护)：AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国(除另有指明，要求每一种可提供的地区保护)：ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布：

— 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

一种镁丝蚕丝复合编织结构神经导管及其制备方法

技术领域

本发明属于生物医用材料技术领域，具体涉及一种镁丝蚕丝复合编织结构神经导管及其制备方法。

背景技术

周围神经损伤是临床上常见的病症，利用生物材料和组织工程技术促进缺损神经修复与再生是神经科学领域的研究热点。理想的生物材料、合适的物理力学引导和适宜的生物微环境是促进受损神经恢复感觉、运动等生物学功能的关键因素。目前神经导管研究较多的是使用模型浇铸法、静电纳米纺丝法、3D 生物打印成型等技术，以及采用丝素蛋白、壳聚糖和胶原蛋白等生物可降解材料制作出具有物理引导作用的中空导管，但是这些技术制备出来的神经导管的机械力学和柔韧性较差。如一种采用丝素纳米纤维定向引导功能的神经导管，使用冷凝诱导丝素溶液形成纳米微孔作为物理引导，但是该发明中形成的微孔难以控制形状大小和方向，而且导管的径向抗压性能一般，弯曲柔韧度未做考虑；又如先用纳米取向纤维制成不同降解浓度的薄膜然后卷成管状结构的神经导管，此种神经导管对细胞的物理导向性优良，但本身机械性能较差，内部供神经再生的空间较少；再如使用 3D 生物打印对材料有较大的限制，以及目前分辨率较低，大概是 1~300 mPa/s。

研究发现，镁元素是人体必需的重要元素之一，在大脑及中枢神经系统中参与蛋白质的合成，激活体内多种酶，调节神经肌肉的活动。在微环境下，金属镁离子具有抗炎、抗氧化、抗凋亡以及调节线粒体钙缓冲等多种生物学功能。最新研究表明镁离子在适宜的微环境的培养下可以促进雪旺细胞的增殖，如分泌生长因子、细胞外基质（Extracellular Matrix，ECM）等，对神经元起到支持和保护的作用。家蚕丝是由家蚕合成与分泌的天然动物蛋白，来源广泛，丝素蛋白是蚕丝中主要的组成部分，约占蚕丝质量的 70%-80%，其余主要成分为丝胶蛋白及碳水化合物等。丝素蛋白含有多种氨基酸，其中比较常见的丙氨酸(Ala)、甘氨酸(Gly)、丝氨酸(Ser)约占总组成的 85%。丝素本身具有良好的理化性质、透气透湿、生物相容性，能在体

内降解为多肽和游离的氨基酸可被机体吸收从而促进神经细胞的生长。丝素蛋白制成的神经导管体内炎症反应低，可生物降解，能够促进周围神经损伤的功能性恢复。壳聚糖又称脱乙酰甲壳素，是由自然界广泛存在的几丁质(chitin)经过脱乙酰作用得到的，结构性质与 ECM 中氨基多糖极为相似，吸附性良好，降解速度可调节，其降解的中间产物壳寡糖可抑制神经元凋亡，支持细胞黏附，促进受伤轴突再生。

用于制备神经导管的常见技术有：（1）浇铸-浸渍法，该方法虽然操作简便，但是支架上易残留有毒溶剂，且不易控制孔洞的大小和分布；（2）传统静电纺丝技术，能形成高孔隙率和比表面积的纳米纤维，可制造出类似细胞外基质网状结构的微环境，有利于神经再生长，但是传统静电纺制造出的神经导管机械强度不足，无法为受损神经提供稳定的力学环境；（3）编织技术，该技术采用锭子编织机，使纱线编织成管状织物，可增大导管内部的表面积，力学性能较好。但是，在诱导细胞定向迁移和组织再生方面，仍然有不足之处。

针对上述问题，本发明提出了一种镁丝蚕丝复合编织结构神经导管及其制备方法。

发明内容

本发明目的是：提供一种镁丝蚕丝复合编织结构神经导管及其制备方法，能提高神经再生有序性以及神经导管机械强度，以解决上述问题。

本发明的一种技术方案是：

一种镁丝蚕丝复合编织结构神经导管，包括神经导管外层、神经导管中间层和神经导管内层，所述神经导管中间层包覆于所述神经导管内层的外部，所述神经导管外层包覆于所述神经导管中间层的外部，所述神经导管外层为丝素蛋白溶液和壳聚糖溶液混合后形成的多孔海绵结构，所述神经导管外层的厚度为 0.5-1.5mm，孔径为 20-150μm，孔隙率为 75%-90%，所述神经导管中间层为三维编织结构，所述神经导管中间层的厚度为 0.3-1mm，所述三维编织结构的编织角为 45-60°，所述神经导管内层为多孔凝胶结构，所述神经导管内层的直径为 1.8-5mm。

进一步的，所述三维编织结构为菱形编织结构、规则编织结构和赫格利

斯编织结构中的任意一种。

进一步的，所述三维编织结构是以镁丝为轴纱、脱胶蚕丝为编织纱复合编织成型的三维结构导管骨架，所述镁丝的直径为 0.1-0.25mm，根数为 4-16 根，相邻两根镁丝之间的间距为 200-2000μm，所述脱胶蚕丝的线密度为 20-120D。

进一步的，所述多孔凝胶结构为丝素蛋白凝胶、雪旺细胞和神经生长因子组成的复合凝胶层，所述丝素蛋白凝胶冷冻形成网状纤维，所述雪旺细胞和神经生长因子设置于所述网状纤维内，所述网状纤维的直径为 10-1000nm，孔径为 10-500μm。

本发明的另一种技术方案是：

一种镁丝蚕丝复合编织结构神经导管的制备方法，该方法包括如下步骤：

（1）制备神经导管中间层：采用带芯功能的立锭式编织机制备神经导管骨架结构，以镁丝为轴纱、脱胶蚕丝为编织纱复合编织成型；

（2）制备神经导管外层：按照丝素蛋白溶液:壳聚糖溶液=1:1~1:5，将所述丝素蛋白溶液缓慢加入至所述壳聚糖溶液中，搅拌混合 6-12 小时，获得第二混合溶液，将所述神经导管中间层固定在模具中，再将所述第二混合溶液浇入所述模具中，然后放入-20℃冰箱冷冻 4-12 小时，再放入冷冻干燥机中冷冻干燥 12-36 小时后取出，得到具有多孔且为中空结构的神经导管外层；

（3）制备神经导管内层：将浓度为 0.01-0.5%培养有雪旺细胞的丝素蛋白溶液注入到所述神经导管外层的中空结构内，在温度为 37℃下放置 12 小时，形成凝胶化导管；将所述凝胶化导管垂直插入到液氮罐中，沿所述凝胶化导管的轴向以 0.1-1mm/s 的速度缓慢向下进行冷冻，再放入冷冻干燥机中冷冻干燥 24-48 小时，获得镁丝蚕丝复合编织结构神经导管。

进一步的，步骤（2）中所述丝素蛋白溶液的制备方式为：称取家蚕生丝在沸腾的 Na_2CO_3 水溶液中脱胶 30 分钟，每 10 分钟用玻璃棒进行搅拌，用去离子水多次冲洗后放在通风橱中过夜自然风干，获得干燥的家蚕丝素纤维，将所述干燥的家蚕丝素纤维溶于 LiBr 溶液中，在 60℃的烘箱中溶解 4 小时，每小时轻微摇晃以保证溶解完全，获得第一混合溶液，将透析后的第

一混合溶液离心，获得丝素蛋白溶液，放置于4℃冰箱中放置待用。

进一步的，步骤（2）中所述透析为：将所述第一混合溶液倒入截留分子量为3500D的透析袋中，在去离子水中透析36小时，每4小时换一次水。

进一步的，步骤（2）中所述离心为：在高速离心机中以9000 r/min离心两次，每次20分钟。

进一步的，步骤（2）中所述壳聚糖溶液的制备方式为：称取脱乙酰度为80-95%的壳聚糖，溶于0.5-4%的醋酸溶液中，搅拌4-12小时，制成质量百分比为1-5%的壳聚糖溶液。

本发明提供了一种镁丝蚕丝复合编织结构神经导管及其制备方法，其优点是：

（1）增加了导管的径向抗压和拉伸等机械性能，同时增加了神经导管的柔韧弯曲性能，更适应复杂的体内受力环境；

（2）导管生物相容性、表面活性和通透性良好，能促进神经元细胞的粘附、生长和增殖，加快受损神经的再生速度；

（3）可通过选择不同的材料和改性工艺，调控导管的降解速率，从而为神经的再生提供合适的生长空间；

（4）由于导管中的镁丝有导电性，可刺激和引导神经生长，同时降解时产生的镁离子有助于提高神经元细胞的活性。

附图说明

为了更清楚地说明本发明实施例的技术方案，下面将对实施例描述中所需要使用的附图作简单地介绍，显而易见地，下面描述中的附图仅仅是本发明的一些实施例，对于本领域普通技术人员来讲，在不付出创造性劳动性的前提下，还可以根据这些附图获得其它的附图。其中，

图1为本发明所述的一种镁丝蚕丝复合编织结构神经导管在实施例1中的结构示意图；

图2为本发明所述的一种镁丝蚕丝复合编织结构神经导管在实施例2中的结构示意图；

图3为本发明所述的一种镁丝蚕丝复合编织结构神经导管在实施例1中的结构示意图；

图 4 为本发明实施例 1 所述的采用不同参数制备的内径分别为 2 mm 和 3 mm 镁丝蚕丝复合编织结构神经导管的编织角；

图 5 为本发明实施例 1 所述的采用不同参数制备的内径分别为 2 mm 和 3 mm 镁丝蚕丝复合编织结构神经导管的载荷-拉伸应变曲线。

其中：1 为神经导管外层、2 为神经导管中间层、3 为神经导管内层、4 为轴纱、5 为编织纱、6 为丝素蛋白凝胶、7 为雪旺细胞、8 为神经生长因子、9 为钛、镍合金丝。

具体实施方式

为使本发明的上述目的、特征和优点能够更加明显易懂，下面结合具体实施方式和附图对本发明作进一步详细的说明。

本发明提供一种镁丝蚕丝复合编织结构神经导管，如图 1 所示，该导管分为三层，包括：神经导管外层 1 为丝素蛋白溶液和壳聚糖溶液混合后形成的多孔海绵结构，厚度为 0.5-1.5mm，孔径在 20-150μm，孔隙率在 75%-90%，神经导管中间层 2 为三维编织结构，可以为菱形编织（1/1 交织）、规则编织（2/2 交织）和赫格利斯（3/3 交织）三种编织结构中的任意一种编织结构，厚度在 0.3-1mm，编织角为 45-60°，神经导管内层 3 为多孔凝胶结构，直径为 1.8-5mm，其降解时间为 1-5 天。神经导管中间层 2 是由镁丝为轴纱 4，其直径为 0.1-0.25mm，根数为 4-16 根，镁丝之间的间距为 200-2000μm，脱胶蚕丝为编织纱 5，其线密度为 20-120D，复合编织成型的三维结构导管骨架；神经导管内层 3 由丝素蛋白凝胶 6、雪旺细胞 7 和神经生长因子 8 组成的复合凝胶层，具有引导神经细胞定向生长的效果。神经生长因子 8 为神经元生长和存活所必需的蛋白质分子，其冷冻形成的网状纤维直径为 10-1000nm，孔径在 10-500μm。导管结构具有优良的柔韧性和弯曲性，能很好地适应体内复杂的受力环境。

上述镁丝蚕丝复合编织结构神经导管的制备方法包括以下步骤：

（一）制备神经导管中间层 2，采用带芯功能的立锭式编织机制备神经导管骨架结构，镁丝为轴纱 4，脱胶蚕丝为编织纱 5，复合编织成型。

（二）丝素蛋白溶液的制备：称取 30g 家蚕生丝在 12L 沸腾的 Na_2CO_3（0.02 M）水溶液中脱胶 30 分钟，每 10 分钟用玻璃棒进行搅拌，以保证脱

胶的彻底性，然后用去离水多次冲洗，将洗好的丝素蛋白纤维放在通风橱中过夜自然风干。称取干燥后的 25 g 家蚕丝素纤维溶于 100 mL LiBr（9.3M）溶液中，在 60℃的烘箱中溶解 4 小时，每小时轻微摇晃以保证溶解完全，获得第一混合溶液。取出第一混合溶液倒入透析袋（截留分子量 3500D）中，在去离子水中透析 36 小时，每 4 小时换一次水。透析后的溶液在高速离心机中以 9000 r/min 离心两次，每次 20 分钟，以去除杂质，最终获得丝素蛋白溶液，放置于 4℃冰箱中放置待用。

（三）制备神经导管外层 1：称取 2-8g 脱乙酰度为 80-95%的壳聚糖，溶于 0.5-4%的醋酸溶液中，搅拌 4-12 小时，制成质量百分比为 1-5%的壳聚糖溶液。按照丝素蛋白溶液:壳聚糖溶液=1:1~1:5，将丝素溶液缓慢加入到制备好的壳聚糖溶液中，搅拌混合 6-12 小时，获得第二混合溶液。将脱胶蚕丝编织层（神经导管中间层 2）固定在模具中，再将第二混合溶液浇入模具中，然后放入-20℃冰箱冷冻 4-12 小时，再放入冷冻干燥机中冷冻干燥 12-36 小时后取出，得到具有多孔结构的海绵外层材料。

（四）制备神经导管内层 3：

1）密封冷冻后的导管，将浓度为 0.01-0.5%培养有雪旺细胞的丝素蛋白溶液注入到导管中空结构内，37℃下放置 12 小时诱导其凝胶化；2）将导管垂直插入到液氮罐中，沿导管轴向以 0.1-1 mm/s 的速度缓慢向下进行冷冻，再放入冷冻干燥机中冷冻干燥 24-48 小时。

为使本发明的上述目的、特征和优点能够更加明显易懂，下面结合附图和实施例进一步说明本发明的技术方案。但是本发明不限于所列出的实施例，还应包括在本发明所要求的权利范围内其他任何公知的改变。

首先，此处所称的“一个实施例”或“实施例”是指可包含于本发明至少一个实现方式中的特定特征、结构或特性。在本说明书中不同地方出现的“在一个实施例中”并非均指同一个实施例，也不是单独的或选择性的与其他实施例互相排斥的实施例。

其次，本发明利用结构示意图等进行详细描述，在详述本发明实施例时，为便于说明，示意图会不依一般比例作局部放大，而且所述示意图只是实例，其在此不应限制本发明保护的范围。此外，在实际制作中应包含长度、宽度及深度的三维空间。

实施例 1

本实施案例展示一种镁丝蚕丝复合编织结构神经导管结构及制备方法，如图 1 所示，该神经导管共有三层，其中，神经导管中间层 2 的轴纱 4 为镁丝，神经导管中间层 2 的编织纱 5 为脱胶蚕丝，神经导管外层 1 为丝素蛋白和壳聚糖溶液混合制成的多孔海绵层，丝素蛋白与壳聚糖质量比为 10:1，壳聚糖溶液浓度为 3-6 mg/mL，丝素蛋白水溶液浓度为 5-10%（w/v）。神经导管内层 3 是由浓度为 5-10%（w/v）丝素蛋白水溶液制成的多孔丝素凝胶层。制备工艺流程如下：

（1）采用编织方法制备神经导管中间层 2：原材料为 20-100 D 脱胶蚕丝，直径在 0.05-0.2 mm 的镁丝，编织工艺采用 8-32 锭立式编织机，菱形编织（1/1 交织），上机编织角为 45-60°，齿轮比（大齿轮:小齿轮 = 80-120:18-60），转速设置为 5-100 rpm。

（2）将编织好的神经导管中间层 2 固定在管状聚四氟乙烯模具中，再将制备好的溶液浇入模具中，成型温度为 60±2℃，成型时间 15-30 min。放入-20℃冰箱冷冻 4-12 小时，再放入冷冻干燥机中冷冻干燥 12-36 小时后取出后，对导管进行水蒸气处理，水蒸气处理 5-10 小时，处理温度为 50-70℃，得到带有多孔海绵层的神经导管。

（3）密封冷冻后的导管，将含有雪旺细胞的浓度为 0.01-0.5%的丝素蛋白溶液注入到导管中空结构内，37℃下放置 12 小时诱导其凝胶化；再将导管垂直插入到液氮罐中，沿导管轴向以 0.1-1mm/s 的速度缓慢向下进行液氮冷冻，最后，置于冷冻干燥机进行冷冻干燥 24-48 小时，得到含有雪旺细胞的丝素凝胶层。

上述方法所制得的镁丝蚕丝复合编织结构神经导管的性能请参阅图 4-图 5，如图 4 可知，镁丝蚕丝复合编织结构神经导管的编织角在 40-55° 之间变化，编织角稳定；如图 5 可知，第一个峰表示编织纱断裂峰，此时拉伸应变为 8%，载荷高达 35N，第二个峰表示轴纱的断裂峰，此时载荷大于 65N，表明轴纱的加入大大增强了神经导管的拉伸性能。

实施例 2

本实施案例展示一种镁丝蚕丝复合编织结构神经导管结构及的制备方

法，如图 2 所示，该神经导管共有三层，其中，神经导管中间层 2 的轴纱 4 为镁丝，编织纱 5 中对称加入四根可降解的钛、镍合金丝 9 以增强神经导管的径向抗压强度，神经导管外层 1 是由浓度为 3-6 mg/mL 的壳聚糖溶液制成的多孔海绵层，其溶液浓度为 3-6 mg/mL，神经导管内层 3 是由浓度为 5-10%（w/v）丝素蛋白水溶液制成的丝素凝胶。制备工艺流程如下：

（1）采用编织方法制备神经导管中间层 2：原材料为 20-100 D 脱胶蚕丝，直径在 0.05-0.2 mm 的镁丝和钛、镍合金丝，编织工艺采用 8-32 锭立式编织机，规则编织（2/2 交织），上机编织角为 45-60°，齿轮比（大齿轮:小齿轮 = 80-120:18-60），转速设置为 5-100 rpm。

（2）将神经导管中间层固定在管状聚四氟乙烯模具中，再将制备好的溶液浇入模具中，成型温度为 60±2℃，成型时间 15-30 min。放入-20℃冰箱冷冻 4-12 小时，再置入冷冻干燥机中冷冻干燥 12-36 小时后取出后，对导管进行水蒸气处理，水蒸气处理 5-10 小时，处理温度为 50-70℃，得到神经导管的多孔海绵层。

（3）密封冷冻后的导管，将含有雪旺细胞的浓度为 0.01-0.5%的丝素蛋白溶液注入到导管中空结构内，37℃下放置 12 小时诱导其凝胶化；再将导管垂直插入到液氮罐中，沿导管轴向以 0.1-1mm/s 的速度缓慢向下进行冷冻，最后，置于冷冻干燥机进行冷冻干燥 24-48 小时，得到含有雪旺细胞的丝素凝胶层。

实施例 3

本实施案例展示一种镁丝蚕丝复合编织结构神经导管结构及的制备方法，如图 3 所示，该神经导管共有三层，其中，神经导管中间层 2 的轴纱 4 为镁丝和脱胶蚕丝交织，编织纱 5 为脱胶蚕丝，神经导管外层 1 是由浓度为 5-10%（w/v）的丝素蛋白水溶液制备的多孔海绵层；神经导管内层 3 是由浓度为 5-10%（w/v）丝素蛋白水溶液制成的多孔丝素凝胶层。制备工艺流程如下：

（1）采用编织方法制备神经导管中间层 2：原材料为 20-100 D 脱胶蚕丝，直径为 0.05-0.2 mm 的镁丝，编织工艺采用 8-32 锭立式编织机，赫格利斯（3/3 交织），上机编织角为 45-60°，齿轮比（大齿轮:小齿轮 = 80-120:18-60），转速设置为 5-100 rpm。

（2）将神经导管中间层固定在管状聚四氟乙烯模具中，再将制备好的溶液浇入模具中，成型温度为 60±2℃，成型时间 15-30 min。放入-20℃冰箱冷冻 4-12 小时，再置入冷冻干燥机中冷冻干燥 12-36 小时后取出后，对导管进行水蒸气处理 5-10 小时，处理温度为 50-70℃，得到外层 1 为多孔海绵层的神经导管。

（3）密封冷冻后的导管，将含有雪旺细胞的浓度为 0.01-0.5%的丝素蛋白溶液注入到导管中空结构内，37℃下放置 12 小时诱导其凝胶化；再将导管垂直插入到液氮罐中，沿导管轴向以 0.1-1 mm/s 的速度缓慢向下进行冷冻，最后，置于冷冻机进行冷冻干燥 24-48 小时，得到含有雪旺细胞的丝素凝胶层。

综上所述，本发明公开了一种镁丝蚕丝复合编织结构神经导管及其制备方法，采用具有较强力学性能的医用金属镁丝为轴纱加入到蚕丝编织结构中，既起到纵向引导作用，又能提高编织骨架的径向抗压性能，同时，镁丝能缓慢降解，促进雪旺细胞的生长和增殖，有利于损伤神经的恢复；编织纱线为脱胶蚕丝，具有良好的生物相容性，在保证力学性能良好的同时，产生促进神经再生的生物微环境。

应说明的是，以上实施例仅用以说明本发明的技术方案而非限制，尽管参照较佳实施例对本发明进行了详细说明，本领域的普通技术人员应当理解，可以对本发明的技术方案进行修改或者等同替换，而不脱离本发明技术方案的精神和范围，其均应涵盖在本发明的权利要求范围当中。

权 利 要 求 书

1. 一种镁丝蚕丝复合编织结构神经导管，其特征在于：包括神经导管外层、神经导管中间层和神经导管内层，所述神经导管中间层包覆于所述神经导管内层的外部，所述神经导管外层包覆于所述神经导管中间层的外部，所述神经导管外层为丝素蛋白溶液和壳聚糖溶液混合后形成的多孔海绵结构，所述神经导管外层的厚度为 0.5-1.5mm，孔径为 20-150μm，孔隙率为 75%-90%，所述神经导管中间层为三维编织结构，所述神经导管中间层的厚度为 0.3-1mm，所述三维编织结构的编织角为 45-60°，所述神经导管内层为多孔凝胶结构，所述神经导管内层的直径为 1.8-5mm。

2. 根据权利要求 1 所述的镁丝蚕丝复合编织结构神经导管，其特征在于：所述三维编织结构为菱形编织结构、规则编织结构和赫格利斯编织结构中的任意一种。

3. 根据权利要求 1 所述的镁丝蚕丝复合编织结构神经导管，其特征在于：所述三维编织结构是以镁丝为轴纱、脱胶蚕丝为编织纱复合编织成型的三维结构导管骨架，所述镁丝的直径为 0.1-0.25mm，根数为 4-16 根，相邻两根镁丝之间的间距为 200-2000μm，所述脱胶蚕丝的线密度为 20-120D。

4. 根据权利要求 1 所述的镁丝蚕丝复合编织结构神经导管，其特征在于：所述多孔凝胶结构为丝素蛋白凝胶、雪旺细胞和神经生长因子组成的复合凝胶层，所述丝素蛋白凝胶冷冻形成网状纤维，所述雪旺细胞和神经生长因子设置于所述网状纤维内，所述网状纤维的直径为 10-1000nm，孔径为 10-500μm。

5. 一种镁丝蚕丝复合编织结构神经导管的制备方法，其特征在于，该方法包括如下步骤：

（1）制备神经导管中间层：采用带芯功能的立锭式编织机制备神经导管骨架结构，以镁丝为轴纱、脱胶蚕丝为编织纱复合编织成型；

（2）制备神经导管外层：按照丝素蛋白溶液:壳聚糖溶液=1:1~1:5，将所述丝素蛋白溶液缓慢加入至所述壳聚糖溶液中，搅拌混合 6-12 小时，获得第二混合溶液，将所述神经导管中间层固定在模具中，再将所述第二混合溶液浇入所述模具中，然后放入-20℃冰箱冷冻 4-12 小时，再放入冷冻干燥机中冷冻干燥 12-36 小时后取出，得到具有多孔且为中空结构的神经导管外层；

（3）制备神经导管内层：将浓度为 0.01-0.5%培养有雪旺细胞的丝素蛋白溶液注入到所述神经导管外层的中空结构内，在温度为 37℃下放置 12 小时，形成凝胶化导管；将所述凝胶化导管垂直插入到液氮罐中，沿所述凝胶化导管的轴向以 0.1-1mm/s 的速度缓慢向下进行冷冻，再放入冷冻干燥机中冷冻干燥 24-48 小时，获得镁丝蚕丝复合编织结构神经导管。

6. 根据权利要求 5 所述的镁丝蚕丝复合编织结构神经导管的制备方法，其特征在于，步骤（2）中所述丝素蛋白溶液的制备方式为：称取家蚕生丝在沸腾的 Na_2CO_3 水溶液中脱胶 30 分钟，每 10 分钟用玻璃棒进行搅拌，用去离子水多次冲洗后放在通风橱中过夜自然风干，获得干燥的家蚕丝素纤维，将所述干燥的家蚕丝素纤维溶于 LiBr 溶液中，在 60℃的烘箱中溶解 4 小时，每小时轻微摇晃以保证溶解完全，获得第一混合溶液，将透析后的第一混合溶液离心，获得丝素蛋白溶液，放置于 4℃冰箱中放置待用。

7.根据权利要求 6 所述的镁丝蚕丝复合编织结构神经导管的制备方法，其特征在于，步骤（2）中所述透析为：将所述第一混合溶液倒入截留分子量为 3500D 的透析袋中，在去离子水中透析 36 小时，每 4 小时换一次水。

8. 根据权利要求 6 所述的镁丝蚕丝复合编织结构神经导管的制备方法，其特征在于，步骤（2）中所述离心为：在高速离心机中以 9000 r/min 离心两次，每次 20 分钟。

9. 根据权利要求 5 所述的镁丝蚕丝复合编织结构神经导管的制备方法，其特征在于，步骤（2）中所述壳聚糖溶液的制备方式为：称取脱乙酰度为 80-95%的壳聚糖，溶于 0.5-4%的醋酸溶液中，搅拌 4-12 小时，制成质量百分比为 1-5%的壳聚糖溶液。

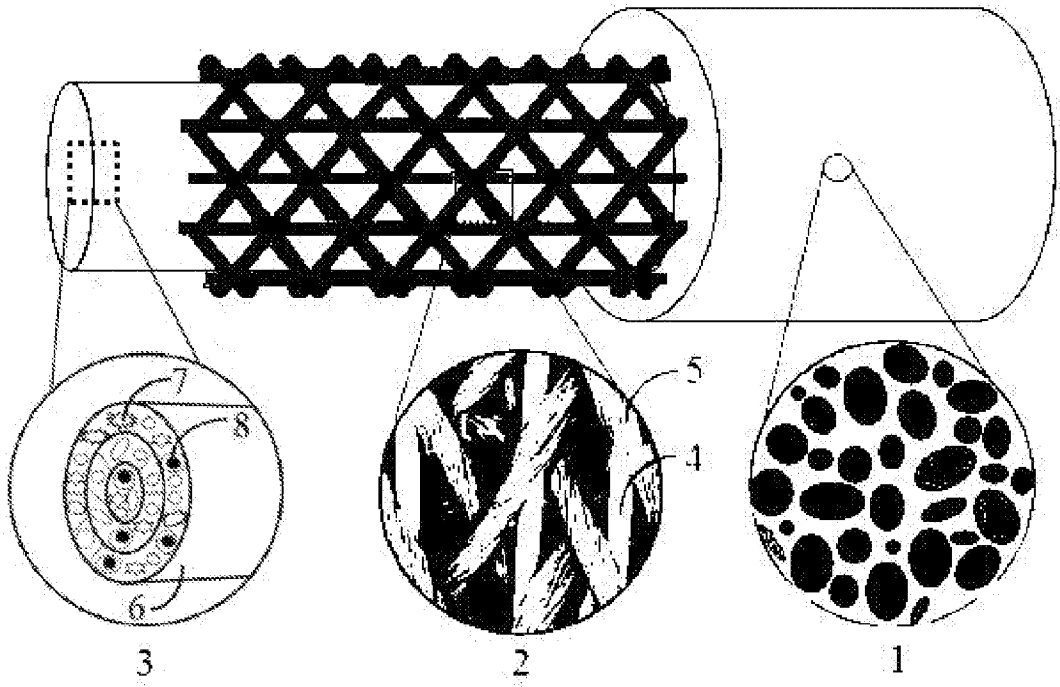


图 1

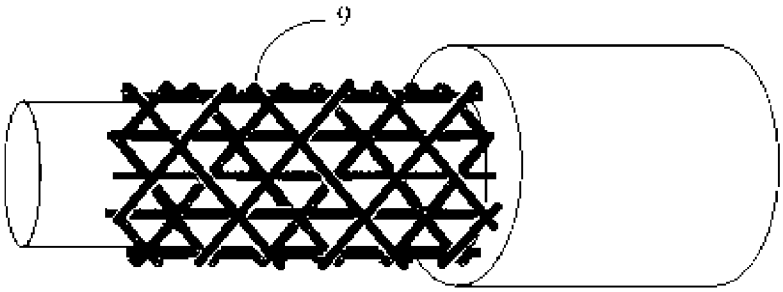


图 2

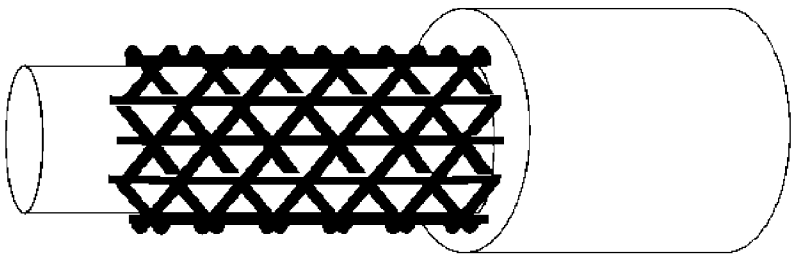


图 3

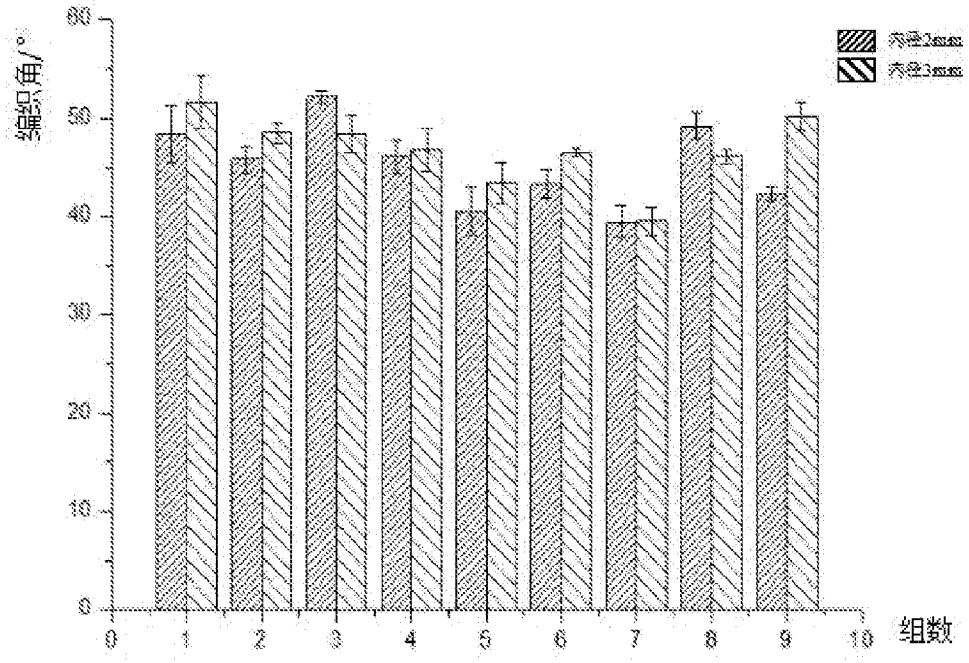

编织角/°
0
10
20
30
40
50
60
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
组数

图 4

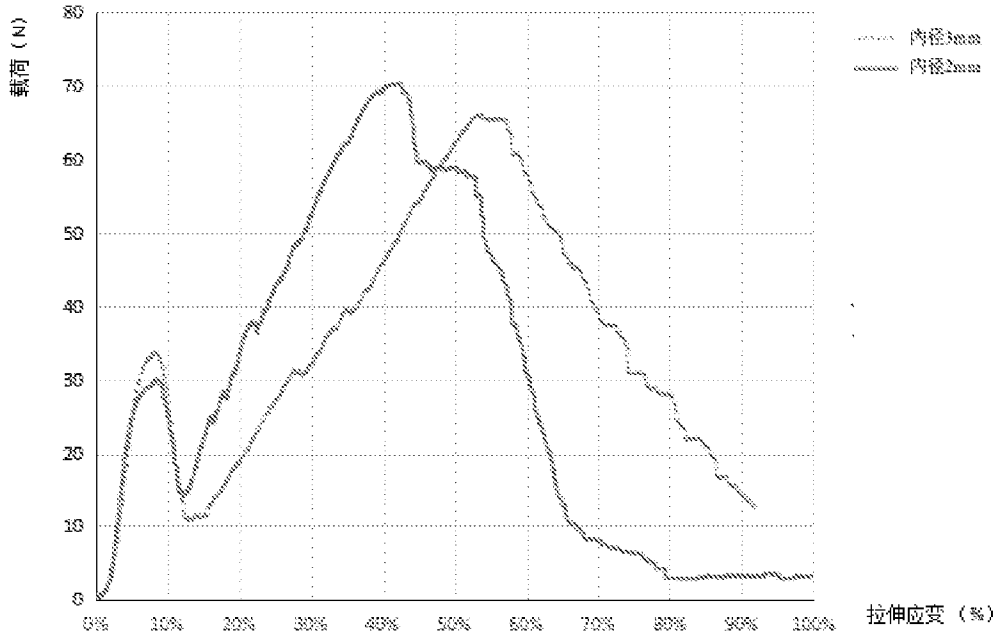

载荷（N）
0
10
20
30
40
50
60
70
80
0%
10%
20%
30%
40%
50%
60%
70%
80%
90%
100%
拉伸应变（%）

图 5

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2019/076010

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61L 27/04(2006.01)i; A61L 27/22(2006.01)i; A61L 27/26(2006.01)i; A61L 27/38(2006.01)i; A61L 27/52(2006.01)i; A61L 27/54(2006.01)i; A61L 27/56(2006.01)i; A61L 27/58(2006.01)i; A61F 2/02(2006.01)n

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61L27, A61F2

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

DWPI; SIPOABS; CNABS; CNTXT; CNKI: silk, magnesium, wire, tussah, fiber, filament, nerve, thread, tussur, fibre, 编织, 蚕丝, 丝素, 镁, 金属, 神经

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	CN 109513041 A (NANTONG TEXTILE & SILK INDUSTRIAL TECHNOLOGY RESEARCH INSTITUTE et al.) 26 March 2019 (2019-03-26) claims 1-9	1-9
Y	CN 102274089 A (SOOCHOW UNIVERSITY) 14 December 2011 (2011-12-14) description, paragraphs 8-25	1-9
Y	CN 104107096 A (SHANDONG JIAOTONG UNIVERSITY) 22 October 2014 (2014-10-22) description, paragraphs 7-28	1-9
A	EP 1987850 A1 (ETHICON, INC.) 05 November 2008 (2008-11-05) entire document	1-9
A	CN 102274089 A (SOOCHOW UNIVERSITY) 14 December 2011 (2011-12-14) entire document	1-9
A	CN 105748171 A (XINXIANG MEDICAL UNIVERSITY) 13 July 2016 (2016-07-13) entire document	1-9
A	WO 2015142631 A1 (UNIV. PITTSBURGH) 24 September 2015 (2015-09-24) entire document	1-9

☑ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☑ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
12 September 2019	**27 September 2019**
Name and mailing address of the ISA/CN **China National Intellectual Property Administration** **No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing 100088** **China** Facsimile No. **(86-10)62019451**	Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2019/076010

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN 104548205 A (DONGGUAN SUBVERSION PRODUCT DESIGN CO., LTD.) 29 April 2015 (2015-04-29) entire document	1-9

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2019/076010

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
CN 109513041 A	26 March 2019	None	
CN 102274089 A	14 December 2011	None	
CN 104107096 A	22 October 2014	CN 104107096 B	07 September 2016
EP 1987850 A1	05 November 2008	EP 1216717 A1	26 June 2002
		US 2003193104 A1	16 October 2003
		US 6599323 B2	29 July 2003
		AU 762895 B2	10 July 2003
		JP 2006334430 A	14 December 2006
		CA 2365543 A1	21 June 2002
		US 2002120348 A1	29 August 2002
		JP 4558694 B2	06 October 2010
		JP 2002272833 A	24 September 2002
		AU 9739701 A	27 June 2002
		EP 1216717 B1	09 July 2008
		JP 4480928 B2	16 June 2010
		CA 2365543 C	14 June 2005
		EP 1987850 B1	29 June 2016
		DE 60134710 D1	21 August 2008
CN 105748171 A	13 July 2016	CN 105748171 B	15 September 2017
WO 2015142631 A1	24 September 2015	EP 3119447 A4	08 November 2017
		US 2017014548 A1	19 January 2017
		EP 3119447 A1	25 January 2017
CN 104548205 A	29 April 2015	CN 104548205 B	21 July 2017
		WO 2016107107 A1	07 July 2016

国际检索报告

国际申请号 PCT/CN2019/076010

A. 主题的分类

A61L 27/04(2006.01)i; A61L 27/22(2006.01)i; A61L 27/26(2006.01)i; A61L 27/38(2006.01)i; A61L 27/52(2006.01)i; A61L 27/54(2006.01)i; A61L 27/56(2006.01)i; A61L 27/58(2006.01)i; A61F 2/02(2006.01)n

按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

A61L27, A61F2

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))

DWPI;SIPOABS;CNABS;CNTXT;CNKI:silk, magnesium, wire, tussah, fiber, filament, nerve, thread, tussur, fibre, 编织, 蚕丝, 丝素, 镁, 金属, 神经

C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
PX	CN 109513041 A (南通纺织丝绸产业技术研究院 等) 2019年 3月 26日 (2019-03-26) 权利要求1-9项	1-9
Y	CN 102274089 A (苏州大学) 2011年 12月 14日 (2011-12-14) 说明书第8-25段	1-9
Y	CN 104107096 A (UNIV SHANGHAI JIAOTONG) 2014年 10月 22日 (2014-10-22) 说明书第7-28段	1-9
A	EP 1987850 A1 (ETHICON INC) 2008年 11月 5日 (2008-11-05) 全文	1-9
A	CN 102274089 A (苏州大学) 2011年 12月 14日 (2011-12-14) 全文	1-9
A	CN 105748171 A (新乡医学院) 2016年 7月 13日 (2016-07-13) 全文	1-9
A	WO 2015142631 A1 (UNIV PITTSBURGH) 2015年 9月 24日 (2015-09-24) 全文	1-9

☑ 其余文件在C栏的续页中列出。 ☑ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型:

"A" 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

"E" 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

"L" 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的)

"O" 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

"P" 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

"T" 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件

"X" 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

"Y" 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性

"&" 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期	国际检索报告邮寄日期
2019年 9月 12日	2019年 9月 27日
ISA/CN的名称和邮寄地址 中国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088 传真号 (86-10)62019451	受权官员 杨金辉 电话号码 62084764

国际检索报告

国际申请号
PCT/CN2019/076010

C. 相关文件

类 型*	引用文件，必要时，指明相关段落	相关的权利要求
A	CN 104548205 A (DONGGUAN SUBVERSION PRODUCT DESIGN CO LTD) 2015年 4月 29日 (2015 - 04 - 29) 全文	1-9

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2019/076010

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	109513041	A	2019年 3月 26日	无			
CN	102274089	A	2011年 12月 14日	无			
CN	104107096	A	2014年 10月 22日	CN	104107096	B	2016年 9月 7日
EP	1987850	A1	2008年 11月 5日	EP	1216717	A1	2002年 6月 26日
				US	2003193104	A1	2003年 10月 16日
				US	6599323	B2	2003年 7月 29日
				AU	762895	B2	2003年 7月 10日
				JP	2006334430	A	2006年 12月 14日
				CA	2365543	A1	2002年 6月 21日
				US	2002120348	A1	2002年 8月 29日
				JP	4558694	B2	2010年 10月 6日
				JP	2002272833	A	2002年 9月 24日
				AU	9739701	A	2002年 6月 27日
				EP	1216717	B1	2008年 7月 9日
				JP	4480928	B2	2010年 6月 16日
				CA	2365543	C	2005年 6月 14日
				EP	1987850	B1	2016年 6月 29日
				DE	60134710	D1	2008年 8月 21日
CN	105748171	A	2016年 7月 13日	CN	105748171	B	2017年 9月 15日
WO	2015142631	A1	2015年 9月 24日	EP	3119447	A4	2017年 11月 8日
				US	2017014548	A1	2017年 1月 19日
				EP	3119447	A1	2017年 1月 25日
CN	104548205	A	2015年 4月 29日	CN	104548205	B	2017年 7月 21日
				WO	2016107107	A1	2016年 7月 7日