



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 118161663 A

(43) 申请公布日 2024. 06. 11

(21) 申请号 202211569450.3

A61L 27/58 (2006.01)

(22) 申请日 2022.12.08

A61L 27/50 (2006.01)

(71) 申请人 杭州祥实生物科技有限公司

地址 310000 浙江省杭州市西湖区北山街
道白沙泉139-1号101室

(72) 发明人 张妮丝 张大宏 魏威 洪逸
王帅 张朴 谈海波 张议丹

(74) 专利代理机构 杭州天昊专利代理事务所
(特殊普通合伙) 33283

专利代理师 向庆宁

(51) Int. Cl.

A61L 27/36 (2006.01)

A61L 27/40 (2006.01)

A61L 27/18 (2006.01)

A61L 27/16 (2006.01)

权利要求书1页 说明书16页 附图12页

(54) 发明名称

一种防结石的脱细胞基质复合膜及其用途

(57) 摘要

本发明提供了一种防结石的脱细胞基质复合膜及其用途,本发明制得的脱细胞基质复合膜通过两层脱细胞基质膜包夹一层高分子膜制备而成,所述脱细胞基质膜为猪小肠、猪膀胱、猪皮中的至少一种生物材料制备而成的,所述高分子膜为聚己内酯、聚二甲基硅氧烷、聚氨酯、聚乳酸-羟基乙酸、聚乙烯醇、聚羟基脂肪酸酯中的至少一种高分子材料制备而成的。本发明制备的脱细胞基质复合膜具有防结石的效果,可让患者痛苦更小、恢复更快、生活更好、花费更少,同时节约医疗资源,亦可为部分回肠原位新膀胱术禁忌患者带来治疗希望。



1. 一种防结石的脱细胞基质复合膜,其特征在于,所述脱细胞基质复合膜包括脱细胞基质膜和高分子膜,所述脱细胞基质复合膜是通过两层脱细胞基质膜将一层高分子膜包夹形成的。

2. 根据权利要求1所述的脱细胞基质复合膜,其特征在于,所述脱细胞基质膜为猪小肠、猪膀胱、猪皮中的至少一种生物材料制备而成的。

3. 根据权利要求2所述的脱细胞基质复合膜,其特征在于,所述高分子膜为聚己内酯、聚乳酸、聚氨酯中的至少一种高分子材料制备而成的。

4. 根据权利要求3所述的脱细胞基质复合膜,其特征在于,所述脱细胞基质膜为猪小肠粘膜下层制备而成的。

5. 根据权利要求4所述的脱细胞基质复合膜,其特征在于,所述高分子膜为聚己内酯制备而成的。

6. 根据权利要求4所述的脱细胞基质复合膜,其特征在于,所述高分子膜为聚氨酯制备而成的。

7. 根据权利要求2所述的脱细胞基质复合膜,其特征在于,所述高分子膜为聚己内酯、聚二甲基硅氧烷、聚氨酯、聚乳酸-羟基乙酸、聚乙烯醇、聚羟基脂肪酸酯中的至少一种高分子材料制备而成的。

8. 脱细胞基质复合膜用于制备防渗水的人工膀胱上的用途,所述脱细胞基质复合膜包括权利要求1-6所述的脱细胞基质复合膜。

9. 脱细胞基质复合膜用于制备可吸收降解的人工膀胱上的用途,所述脱细胞基质复合膜包括权利要求1-6所述的脱细胞基质复合膜。

10. 脱细胞基质复合膜用于制备避免产生结石的人工膀胱上的用途,所述脱细胞基质复合膜包括权利要求5-7所述的脱细胞基质复合膜。

一种防结石的脱细胞基质复合膜及其用途

技术领域

[0001] 本发明属于生物材料技术领域,具体的说是涉及到一种防结石的脱细胞基质复合膜及其用途。

背景技术

[0002] 膀胱癌的发病率在泌尿系统恶性肿瘤中名列首位并且呈逐年增长趋势。研究人员对因恶性肿瘤死亡的患者进行抽样调查,结果显示因膀胱癌而死亡的人数居于前十。膀胱癌会对患者的生活质量和生命健康造成严重威胁,根据肿瘤是否侵犯肌层,可将膀胱癌分为肌层浸润性膀胱癌和非肌层浸润性膀胱癌,其中肌层浸润性膀胱癌是致死性疾病。而根治性全膀胱切除术+淋巴清扫+永久性尿流改道是目前治疗复发、多发浸润性膀胱癌主要的手术方式,也是治疗肌层浸润性膀胱癌的首选方法,可有效减少复发转移,提高生存率。但该手术难度比较大、耗时长、术后并发症多。该方法不仅破坏患者消化道正常结构与功能,而且术后可能有诸多并发症如肠梗阻、代谢异常或营养障碍,以及人工膀胱内粘液分泌、易发炎症、结石形成等,严重影响了术后患者的生活质量。

[0003] 非交联细胞外基质源生物材料(Small Intestinal Submucosa,SIS),是采用动物小肠粘膜下层组织为原料,去除免疫原性等风险,保留天然细胞外基质的结构和活性成分,植入体内后能够内源性诱导再生修复,实现组织功能再生,可完全体内降解,并具有耐受炎症、防粘连等优势,几乎适用于人体所有软组织的再生修复。

[0004] 为了解决上述膀胱手术的问题,急需找到一种防结石的脱细胞基质复合膜。

发明内容

[0005] 本发明提供了一种防结石的脱细胞基质复合膜及其用途,本发明制得的脱细胞基质复合膜通过两层脱细胞基质膜包夹一层高分子膜制备而成,其具有防渗水、防结石的效果,可让患者痛苦更小、恢复更快、生活更好、花费更少,同时节约医疗资源,亦可为部分回肠原位新膀胱术禁忌患者带来治疗希望。

[0006] 为了解决上述问题,本发明采用的技术方案如下:

[0007] 一种防结石的脱细胞基质复合膜,包括脱细胞基质膜和高分子膜。所述脱细胞基质复合膜是通过两层脱细胞基质膜将一层高分子膜包夹形成的。

[0008] 所述脱细胞基质膜为猪小肠、猪膀胱、猪皮中的至少一种生物材料制备而成的。所述高分子膜为聚己内酯、聚乳酸、聚氨酯中的至少一种高分子材料制备而成的。

[0009] 优选地,所述脱细胞基质膜为猪小肠制备而成的。进一步地,所述高分子膜为聚己内酯制备而成的。在一些实施方式中,所述高分子膜为聚乳酸制备而成的。在一些实施方式中,所述高分子膜为聚氨酯制备而成的。所述脱细胞基质复合膜用于制备防渗水的人工膀胱上的用途,所述脱细胞基质复合膜包括上述实施方式中的脱细胞基质复合膜。所述脱细胞基质复合膜用于制备可吸收降解的人工膀胱上的用途,所述脱细胞基质复合膜包括上述实施方式中的脱细胞基质复合膜。具体地,当脱细胞基质膜为猪小肠制备而成,高分子膜为

聚己内酯、聚乳酸或聚氨酯时,所述脱细胞基质复合膜具有用于制备防渗水和/或可吸收降解的人工膀胱的用途。

[0010] 在一些方式中,所述脱细胞基质膜为猪小肠、猪膀胱、猪皮中的至少一种生物材料制备而成的。所述高分子膜为聚己内酯、聚二甲基硅氧烷、聚氨酯、聚乳酸-羟基乙酸、聚乙烯醇、聚羟基脂肪酸酯中的至少一种高分子材料制备而成的。

[0011] 优选地,所述脱细胞基质膜为猪小肠制备而成的,所述高分子膜为聚己内酯制备而成的。在一些实施方式中,所述高分子膜为聚氨酯制备而成的。在一些实施方式中,所述高分子膜为聚乙烯醇制备而成的。在一些实施方式中,所述高分子膜为聚羟基脂肪酸酯制备而成的。所述脱细胞基质复合膜用于制备避免产生结石的人工膀胱上的用途,所述脱细胞基质复合膜包括上述实施方式中的脱细胞基质复合膜。具体地,当高分子膜为聚己内酯、聚二甲基硅氧烷、聚氨酯、聚乳酸-羟基乙酸、聚乙烯醇或聚羟基脂肪酸酯时,所述脱细胞基质复合膜具有用于制备避免产生结石的人工膀胱上的用途。

[0012] 优选地,当所述脱细胞基质膜为猪小肠制备而成的,所述高分子膜为聚己内酯或聚氨酯制备而成时,所述脱细胞基质复合膜具有能够制备防结石、防渗水、可吸收降解的人工膀胱的用途。上述提到的“防结石”指的是用于膀胱补片、修复或膀胱替代手术中不产生结石。

[0013] 在一些方式中,所述脱细胞基质膜通过以下步骤制成:

[0014] (1) 物理处理生物材料,除去粘膜下层粘附物,得到粘膜下层;

[0015] (2) 将粘膜下层用脱脂液浸泡6-24小时,再用水冲洗至无气味;

[0016] (3) 继续将黏膜下层浸没于脱细胞液中,然后置于恒温震荡设备震荡12-72h,再用水冲洗;

[0017] (4) 继续用盐水冲洗后置于除垢液中,然后置于冰箱4-24h;

[0018] (5) 用水冲洗后、冻干、密封并在2℃-10℃下保存。

[0019] 一种用于制备所述脱细胞基质复合膜的方法,包括以下步骤:

[0020] (1) 称取高分子材料放入溶剂中,避光并在室温下振荡至完全溶解得到高分子溶液;

[0021] (2) 将脱细胞基质膜用水完全浸湿后铺平在球形模具表面,置于通风处,待其表面水分蒸发完;

[0022] (3) 将高分子溶液涂覆在脱细胞基质膜表面得到带有高分子膜的脱细胞基质膜;

[0023] (4) 当溶剂挥发完全后,再取另一脱细胞基质膜完全浸湿后铺平在带有高分子膜的脱细胞基质膜上,至其完全干燥后取出模具,获得脱细胞基质复合膜。

[0024] 其中,步骤(2)中的模具为气球或收缩球形支架。

[0025] 所述步骤(1)中高分子材料与溶剂的质量体积比为(1~10):100。优选的,高分子材料选用聚己内酯,进一步的溶剂选用氯仿,优选的质量体积比为1:100。

[0026] 本发明具有以下有益效果:

[0027] 1、本发明所述脱细胞基质膜为猪小肠,将高分子材料聚己内酯复合到脱细胞基质膜构建得到膜材料,在提高脱细胞猪小肠力学强度的同时,还能具有防水渗透的功能,这是利用了高分子材料防水且易黏附在物体表面、生物相容性好的特性,解决脱细胞基质膜遇水软化变形并且伴随渗水现象的问题。

[0028] 2、本发明的源材料容易获取,成本低,制备方法简单,易量化生产。

[0029] 3、应用此脱细胞基质复合膜的膀胱手术患者无需腹壁造口、不影响患者外在形象,不用像异位尿流改道术患者一样终生配戴集尿袋;另外本发明具有并发症少、不损伤肠道的优点,不用像乙状结肠直肠膀胱术患者一样易发生尿路炎症、水电解质酸碱平衡紊乱,甚至肠道肿瘤等较严重的并发症;此技术相比回肠原位新膀胱术,无需进行肠道手术,降低手术难度、缩短手术时间、降低手术费用;待组织再生后人工膀胱囊体材料降解、吸收、无残留,愈后膀胱以自体组织为主。因此本技术可让患者痛苦更小、恢复更快、生活更好、花费更少,同时节约医疗资源,亦可为部分回肠原位新膀胱术禁忌患者带来治疗希望。

[0030] 4、根据本发明提供的高分子材料与溶剂的质量体积比制作出来的球形人工膀胱具有溶解快,流动性好,速干的优点。本发明制备的脱细胞基质复合膜用于人工膀胱时不会生成结石,不会生成结石说明本发明提供的脱细胞基质复合膜制备的人工膀胱在实际临床上不用像乙状结肠直肠膀胱术患者一样易发生尿路炎症、水电解质酸碱平衡紊乱,甚至肠道肿瘤等较严重的并发症,并发症少、不损害肠道,大大减少了手术风险和病人伤害。

附图说明

[0031] 图1为实施例1.1提供的脱细胞基质膜;

[0032] 图2为实施例5.1提供的脱细胞基质复合膜;

[0033] 图3为本发明提供的制备方法流程图。

[0034] 图4为防渗水实验图;

[0035] 图5为可吸收降解实验中的兔膀胱手术术后1个月的缝合情况图;

[0036] 图6为可吸收降解实验中的兔膀胱手术术后1个月的实验兔的状态图;

[0037] 图7为可吸收降解实验中的实验兔的膀胱病理图一;

[0038] 图8为可吸收降解实验中的实验兔的膀胱病理图二;

[0039] 图9为可吸收降解实验中的实验猪的手术情况图;

[0040] 图10为可吸收降解实验中的实验猪的术后2月病理切片图一;

[0041] 图11为可吸收降解实验中的实验猪的术后2月病理切片图二;

[0042] 图12为膀胱抗炎症动物实验中的实施例5.1的手术图;

[0043] 图13为膀胱抗炎症动物实验中的实施例8的手术图;

[0044] 图14为膀胱抗炎症动物实验中的实施例11的手术图;

[0045] 图15为膀胱抗炎症动物实验中的实施例15的手术图;

[0046] 图16为防结石实验中的实验结果图;

[0047] 图17为韧性实验中实施例5.1的测试结果图;

[0048] 图18为韧性实验中实施例8的测试结果图;

[0049] 图19为韧性实验中实施例11的测试结果图;

[0050] 图20为韧性实验中实施例13的测试结果图;

[0051] 图21为韧性实验中实施例12的测试结果图;

[0052] 图22为韧性实验中实施例15的测试结果图;

[0053] 图23为输尿管抗炎症动物实验中实施例17的手术情况图;

[0054] 图24为输尿管抗炎症动物实验中实施例19的手术情况图;

- [0055] 图25为输尿管抗炎症动物实验中实施例23的手术情况图；
[0056] 图26为输尿管抗炎症动物实验中实施例17的手术情况图；
[0057] 图27为输尿管抗炎症动物实验中实施例21的手术情况图；
[0058] 图28为输尿管抗炎症动物实验中实施例17的术后1周导尿管膀胱造影图；
[0059] 图29为刚度和强度实验的测试设备图；
[0060] 图30为刚度和强度实验的测试示意图；
[0061] 图31为本发明脱细胞基质复合膜的结构示意图；
[0062] 图32为实施例6制得的球形脱物质细胞复合膜的示意图；
[0063] 图33为实施例17制得的管状脱物质细胞复合膜的示意图；
[0064] 图34为膀胱抗炎症细胞实验中实验1的荧光强度图；
[0065] 图35为膀胱抗炎症细胞实验中实验2的细胞活性图。

具体实施方式

[0066] 为了更为具体地描述本发明,下面结合附图及具体实施方式对本发明的技术方案进行详细说明。这些说明仅仅是表明本发明是如何实现的,并不能限定本发明的具体范围。本发明的范围在权利要求中限定。

[0067] 实施例1.1脱细胞基质膜的制备(生物材料-猪小肠)

[0068] 本实施例提供的脱细胞基质膜的制备步骤如下:

[0069] (1) 采用物理方法处理猪小肠,除去粘膜下层粘附物,得到粘膜下层;

[0070] (2) 将得到的猪小肠粘膜下层浸没于脱细胞液(10mL曲拉通和1 mL氨水加至1000mL去离子水中),并置于4℃冰箱以100rpm振荡12h。

[0071] (3) 大量去离子水冲洗后,置于1L脱脂液(甲醇/氯仿=1:1)中浸泡24小时;

[0072] (4) 用去离子水冲洗后,置于1L无水乙醇中振荡浸泡24小时,充分萃取残留的甲醇/氯仿,得到制备好的猪小肠粘膜下层脱细胞基质膜;

[0073] (5) 最后将所得的脱细胞基质膜用去离子水反复清洗,冻干,密封保存于4℃冰箱。

本实施例制得的脱细胞基质膜如图1所示。

[0074] 实施例1.2脱细胞基质膜的制备(生物材料-猪膀胱)

[0075] 本实施例提供的脱细胞基质膜的制备步骤如下:

[0076] (1) 采用物理方法处理猪膀胱,除去粘膜下层粘附物,得到粘膜下层;

[0077] (2) 将得到的猪膀胱粘膜下层浸没于脱细胞液(10mL曲拉通和1 mL氨水加至1000mL去离子水中),并置于4℃冰箱以100rpm振荡12h。

[0078] (3) 大量去离子水冲洗后,置于1L脱脂液(甲醇/氯仿=1:1)中浸泡24小时;

[0079] (4) 用去离子水冲洗后,置于1L无水乙醇中振荡浸泡24小时,充分萃取残留的甲醇/氯仿,得到制备好的猪膀胱粘膜下层脱细胞基质膜;

[0080] (5) 最后将所得的脱细胞基质膜用去离子水反复清洗,冻干,密封保存于4℃冰箱。

[0081] 实施例1.3脱细胞基质膜的制备(生物材料-猪皮)

[0082] 本实施例提供的脱细胞基质膜的制备步骤如下:

[0083] (1) 采用物理方法处理猪皮,除去粘膜下层粘附物,得到粘膜下层;

[0084] (2) 将得到的猪皮粘膜下层浸没于脱细胞液(10mL曲拉通和1 mL氨水加至1000mL

去离子水中),并置于4℃冰箱以100rpm振荡12h。

[0085] (3)大量去离子水冲洗后,置于1L脱脂液(甲醇/氯仿=1:1)中浸泡24小时;

[0086] (4)用去离子水冲洗后,置于1L无水乙醇中振荡浸泡24小时,充分萃取残留的甲醇/氯仿,得到制备好的猪皮粘膜下层脱细胞基质膜;

[0087] (5)最后将所得的脱细胞基质膜用去离子水反复清洗,冻干,密封保存于4℃冰箱。

[0088] 实施例1.4脱细胞基质膜的制备(生物材料-猪小肠和猪膀胱)

[0089] 本实施例提供的脱细胞基质膜的制备步骤如下:

[0090] (1)采用物理方法处理猪小肠和猪膀胱,除去粘膜下层粘附物,得到粘膜下层;

[0091] (2)将得到的猪小肠和猪膀胱粘膜下层浸没于脱细胞液(10mL曲拉通和1 mL氨水加至1000mL去离子水中),并置于4℃冰箱以100rpm振荡12h。

[0092] (3)大量去离子水冲洗后,置于1L脱脂液(甲醇/氯仿=1:1)中浸泡24小时;

[0093] (4)用去离子水冲洗后,置于1L无水乙醇中振荡浸泡24小时,充分萃取残留的甲醇/氯仿,得到制备好的猪小肠和猪膀胱粘膜下层脱细胞基质膜;

[0094] (5)最后将所得的脱细胞基质膜用去离子水反复清洗,冻干,密封保存于4℃冰箱。

[0095] 实施例1.5脱细胞基质膜的制备(生物材料-猪小肠和猪皮)

[0096] 本实施例提供的脱细胞基质膜的制备步骤如下:

[0097] (1)采用物理方法处理猪小肠和猪皮,分别除去粘膜下层粘附物,得到粘膜下层;

[0098] (2)将得到的猪小肠和猪皮粘膜下层浸没于脱细胞液(10mL曲拉通和1 mL氨水加至1000mL去离子水中),并置于4℃冰箱以100rpm振荡12h。

[0099] (3)大量去离子水冲洗后,置于1L脱脂液(甲醇/氯仿=1:1)中浸泡24小时;

[0100] (4)用去离子水冲洗后,置于1L无水乙醇中振荡浸泡24小时,充分萃取残留的甲醇/氯仿,得到制备好的猪小肠和猪皮粘膜下层脱细胞基质膜;

[0101] (5)最后将所得的脱细胞基质膜用去离子水反复清洗,冻干,密封保存于4℃冰箱。

[0102] 实施例1.6脱细胞基质膜的制备(生物材料-猪膀胱和猪皮)

[0103] 本实施例提供的脱细胞基质膜的制备步骤如下:

[0104] (1)采用物理方法处理猪膀胱和猪皮,分别除去粘膜下层粘附物,得到粘膜下层;

[0105] (2)将得到的猪膀胱和猪皮粘膜下层浸没于脱细胞液(10mL曲拉通和1 mL氨水加至1000mL去离子水中),并置于4℃冰箱以100rpm振荡12h。

[0106] (3)大量去离子水冲洗后,置于1L脱脂液(甲醇/氯仿=1:1)中浸泡24小时;

[0107] (4)用去离子水冲洗后,置于1L无水乙醇中振荡浸泡24小时,充分萃取残留的甲醇/氯仿,得到制备好的猪膀胱和猪皮粘膜下层脱细胞基质膜;

[0108] (5)最后将所得的脱细胞基质膜用去离子水反复清洗,冻干,密封保存于4℃冰箱。

[0109] 实施例1.7脱细胞基质膜的制备(生物材料-猪小肠、猪膀胱和猪皮)

[0110] 本实施例提供的脱细胞基质膜的制备步骤如下:

[0111] (1)采用物理方法处理猪小肠、猪膀胱和猪皮,分别除去粘膜下层粘附物,得到粘膜下层;

[0112] (2)将得到的猪小肠、猪膀胱和猪皮粘膜下层浸没于脱细胞液(10mL曲拉通和1 mL氨水加至1000mL去离子水中),并置于4℃冰箱以100rpm振荡12h。

[0113] (3)大量去离子水冲洗后,置于1L脱脂液(甲醇/氯仿=1:1)中浸泡24小时;

[0114] (4) 用去离子水冲洗后,置于1L无水乙醇中振荡浸泡24小时,充分萃取残留的甲醇/氯仿,得到制备好的猪小肠、猪膀胱和猪皮粘膜下层脱细胞基质膜;

[0115] (5) 最后将所得的脱细胞基质膜用去离子水反复清洗,冻干,密封保存于4℃冰箱。

[0116] 实施例2脱细胞基质膜的制备(生物材料-猪小肠和猪皮)

[0117] 本实施例提供的脱细胞基质膜的制备步骤如下:

[0118] (1) 采用物理方法处理猪小肠和猪皮,除去粘膜下层粘附物,得到猪小肠和猪皮粘膜下层;

[0119] (2) 将得到的猪小肠和猪皮粘膜下层浸没于脱细胞液(0.05g胰蛋白酶,0.05g乙二胺四乙酸二钠,100mL水),置于恒温振荡设备37℃,100rpm振荡12h;

[0120] (3) 用去离子水冲洗后,置于脱细胞液(10mL曲拉通和1mL氨水加至1000mL去离子水中)在4℃冰箱中浸泡24h;

[0121] (4) 用去离子水冲洗后,置于1-2L脱脂液(甲醇/氯仿=1/1)浸泡24小时;

[0122] (5) 用去离子水冲洗后,置于1-2L无水乙醇中100rpm振荡浸泡24小时,充分萃取残留的甲醇/氯仿,得到制备好的脱细胞基质膜;

[0123] (6) 最后将所得的脱细胞基质膜用去离子水反复清洗,冻干,密封保存于4℃冰箱。

[0124] 实施例3脱细胞基质膜的制备(生物材料-猪皮和猪膀胱)

[0125] 本实施例提供的脱细胞基质膜的制备步骤如下:

[0126] (1) 采用物理方法处理生物材料,除去粘膜下层粘附物,得到猪皮和猪膀胱粘膜下层;

[0127] (2) 将猪皮和猪膀胱粘膜下层用1-2L脱脂液(甲醇/氯仿=1/1)浸泡24小时,再用去离子水冲洗5次至无明显气味;

[0128] (3) 将得到的猪皮和猪膀胱粘膜下层浸没于脱细胞液(0.05g胰蛋白酶,0.05g乙二胺四乙酸二钠,100mL水),置于恒温振荡设备37℃,100rpm振荡12h,再用去离子水冲洗;

[0129] (4) 用生理盐水冲洗3次后,置于除垢液(5g十二烷基硫酸钠,1000mL水)中,置于4℃冰箱24h;

[0130] (5) 最后将所得的脱细胞基质膜用去离子水反复清洗,沥干水分,冻干,密封保存于4℃冰箱。

[0131] 实施例4脱细胞基质膜的制备(生物材料-猪小肠、猪皮和猪膀胱)

[0132] 本实施例提供的脱细胞基质膜的制备步骤如下:

[0133] (1) 采用物理方法处理生物材料,除去粘膜下层粘附物,得到猪小肠、猪皮和猪膀胱的混合粘膜下层;

[0134] (2) 用1-2L脱脂液(甲醇/氯仿=1/1)浸泡24小时混合粘膜下层,再用去离子水冲洗5次至无明显气味;

[0135] (3) 将得到的混合粘膜下层浸没于1000mL脱细胞液(0.05g胰蛋白酶,0.05g乙二胺四乙酸二钠,100mL水),置于恒温振荡设备37℃,100rpm振荡12h,再用去离子水冲洗;

[0136] (4) 用生理盐水冲洗3次后,置于除垢液(10mL曲拉通和1mL氨水加至1000mL去离子水中)4℃冰箱浸泡24小时;

[0137] (5) 用去离子水冲洗4次后,沥干水分,冻干,密封保存于4℃冰箱。

[0138] 实施例5.1脱细胞基质复合膜的制备(PCL高分子膜-猪小肠)

[0139] 本实施例提供的脱细胞基质复合膜的制备步骤如下,如图3所示,

[0140] (1) 称取1g的聚己内酯(PCL)加入100mL氯仿中,用锡纸包好避光,于室温下搅拌60分钟至完全溶解后,得到高分子溶液;

[0141] (2) 取一块4cmx4cm的实施例1.1的脱细胞基质膜用去离子水完全浸湿,并铺平在裁剪好的脱细胞基质膜,放置于通风处静置60分钟。待其表面水分蒸发完后,取2mL上述高分子溶液涂覆在脱细胞基质膜表面,静置60分钟等溶剂氯仿挥发完全后,得到带有高分子材料的脱细胞基质膜;

[0142] (3) 再取一块4cmx4cm的实施例1.1的脱细胞基质膜用去离子水完全浸湿,铺平置上述做好的带有高分子材料的脱细胞基质膜上,静置60分钟等其完全风干后,得到最终的脱细胞基质复合膜,如图2和图31所示。

[0143] 实施例5.2脱细胞基质复合膜的制备(PCL高分子膜-猪膀胱)

[0144] 本实施例提供的脱细胞基质复合膜的制备步骤如下:

[0145] (1) 称取1g的聚己内酯(PCL)加入100mL氯仿中,用锡纸包好避光,于室温下搅拌60分钟至完全溶解后,得到高分子溶液;

[0146] (2) 取一块4cmx4cm的实施例1.2的脱细胞基质膜用去离子水完全浸湿,并铺平在裁剪好的脱细胞基质膜,放置于通风处静置60分钟。待其表面水分蒸发完后,取2mL上述高分子溶液涂覆在脱细胞基质膜表面,静置60分钟等溶剂氯仿挥发完全后,得到带有高分子材料的脱细胞基质膜;

[0147] (3) 再取一块4cmx4cm的实施例1.2的脱细胞基质膜用去离子水完全浸湿,铺平置上述做好的带有高分子材料的脱细胞基质膜上,静置60分钟等其完全风干后,得到最终的脱细胞基质复合膜。

[0148] 实施例5.3脱细胞基质复合膜的制备(PCL高分子膜-猪皮)

[0149] 本实施例提供的脱细胞基质复合膜的制备步骤如下:

[0150] (1) 称取1g的聚己内酯(PCL)加入100mL氯仿中,用锡纸包好避光,于室温下搅拌60分钟至完全溶解后,得到高分子溶液;

[0151] (2) 取一块4cmx4cm的实施例1.3的脱细胞基质膜用去离子水完全浸湿,并铺平在裁剪好的脱细胞基质膜,放置于通风处静置60分钟。待其表面水分蒸发完后,取2mL上述高分子溶液涂覆在脱细胞基质膜表面,静置60分钟等溶剂氯仿挥发完全后,得到带有高分子材料的脱细胞基质膜;

[0152] (3) 再取一块4cmx4cm的实施例1.3的脱细胞基质膜用去离子水完全浸湿,铺平置上述做好的带有高分子材料的脱细胞基质膜上,静置60分钟等其完全风干后,得到最终的脱细胞基质复合膜。

[0153] 实施例5.4脱细胞基质复合膜的制备(PCL高分子膜-猪小肠和猪膀胱)

[0154] 本实施例提供的脱细胞基质复合膜的制备步骤如下:

[0155] (1) 称取1g的聚己内酯(PCL)加入100mL氯仿中,用锡纸包好避光,于室温下搅拌60分钟至完全溶解后,得到高分子溶液;

[0156] (2) 取一块4cmx4cm的实施例1.4的脱细胞基质膜用去离子水完全浸湿,并铺平在裁剪好的脱细胞基质膜,放置于通风处静置60分钟。待其表面水分蒸发完后,取2mL上述高分子溶液涂覆在脱细胞基质膜表面,静置60分钟等溶剂氯仿挥发完全后,得到带有高分子

材料的脱细胞基质膜；

[0157] (3)再取一块4cmx4cm的实施例1.4的脱细胞基质膜用去离子水完全浸湿,铺平置上述做好的带有高分子材料的脱细胞基质膜上,静置60分钟等其完全风干后,得到最终的脱细胞基质复合膜。

[0158] 实施例6防水复合球囊的制备--聚己内酯(PCL)

[0159] 本实施例提供的防水复合球囊的制备步骤如下:

[0160] (1)PCL溶液的配制:称取5g的聚己内酯(PCL)放入500mL氯仿中,锡纸包好避光,室温下振荡1h至完全溶解;

[0161] (2)将气球内注入500mL去离子水,封口;

[0162] (3)将实施例1.1的脱细胞基质膜用去离子水完全浸湿,铺平在气球表面,置于通风处,待其表面水分蒸发完;

[0163] (4)取10mLPCL溶液涂覆在脱细胞基质膜表面,等溶剂氯仿挥发完全;

[0164] (5)再取一块大小适量的完全浸湿脱细胞基质膜(实施例1.1)并小心的铺平在步骤(4)制作的带高分子膜的脱细胞基质膜上,等其完全风干;

[0165] (6)将气球内的去离子水倒出,取出气球,获得球形的脱细胞基质复合膜,如图32所示。

[0166] 实施例7防水复合球囊的制备---聚乳酸(PLA)

[0167] 本实施例提供的防水复合球囊的制备步骤如下:

[0168] (1)取一个空心可分两瓣的球形工装和空心部分可收缩的球形支架;

[0169] (2)将实施例1.1的脱细胞基质膜用去离子水浸湿后贴满球形支架表面,连接真空装置,调节真空度,排除脱细胞基质膜中的气泡后拆除,待其表面水分蒸发完后,取按照实施例6步骤(1)制备的高分子溶液(本实施例的高分子材料采用聚乳酸,其它和实施例6一样)均匀涂敷于脱细胞基质膜表面,待氯仿挥发后,再用另一完全浸湿的脱细胞基质膜小心的铺上,再次连接真空装置,排除脱细胞基质膜中的气泡后拆除,将球形工装合并包裹住球形支架,防止材料翘起,待其完全风干后,取下球形支架,收缩球形支架取出,获得球形的脱细胞基质复合膜。

[0170] 对比例1防水复合球囊的制备--聚氰基丙烯酸烷酯(PACA)

[0171] 本实施例提供的防水复合球囊的制备步骤如下:

[0172] (1)PCL溶液的配制:称取5g的聚氰基丙烯酸烷酯(PACA)放入500mL氯仿中,锡纸包好避光,室温下振荡1h至完全溶解;

[0173] (2)将气球内注入500mL去离子水,封口;

[0174] (3)将实施例1.1的脱细胞基质膜用去离子水完全浸湿,铺平在气球表面,置于通风处,待其表面水分蒸发完;

[0175] (4)取10mLPACA溶液涂覆在脱细胞基质膜表面,等溶剂氯仿挥发完全;

[0176] (5)再取一块大小适量的完全浸湿脱细胞基质膜(实施例1.1)并小心的铺平在步骤(4)制作的带高分子膜的脱细胞基质膜上,等其完全风干;

[0177] (6)将气球内的去离子水倒出,取出气球,获得球形的脱细胞基质复合膜。

[0178] 对比例2防水复合球囊的制备--左旋聚乳酸(PLLA)

[0179] 本对比例与对比例1制备步骤一致,区别之处在于高分子材料为左旋聚乳酸。

[0180] 防渗水性能测试

[0181] 测试样品:实施例6、7和对比例1、2制得的球形的脱细胞基质复合膜;

[0182] 测试方法:堵住非测试端,用 $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 的人工尿液注满球形脱细胞基质复合膜中,放置于室温下4小时,肉眼观察其表面有无液体渗出,并用手擦拭其外表面是否有液体渗出,如图4所示;

[0183] 同时另取一球形脱细胞基质复合膜,堵住非测试端,用 $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 的人工尿液注满球形脱细胞基质复合膜中,在测试端施加压力值并至少保持12h,目视检察样品是否有泄露,测试结果见下表。

[0184]		实施例6	实施例7	对比例1	对比例2
	常压	无渗水	无渗水	无渗水	无渗水
	加压2KPa	无泄漏	无泄漏	无泄漏	无泄漏
	加压4KPa	无泄漏	无泄漏	有轻微泄漏	有轻微泄漏
	加压6KPa	无泄漏	无泄漏	有大量泄漏	有大量泄漏
	加压8KPa	无泄漏	无泄漏	有破裂	有破裂

[0185] 测试结果:实施例6和7的防渗水性能较之对比例1和对比例2较好,且至多能承受8KPa的正压加压,而人体膀胱能承受的临界值为40cm水柱,即4KPa左右,实施例6和7的防渗水性能可达到人体膀胱的标准。

[0186] 可吸收降解实验

[0187] 测试样品:实施例5.1制得的脱细胞基质复合膜。

[0188] 测试方法:

[0189] 兔膀胱手术:(1)麻醉:用1%浓度戊巴比妥钠(40mg/kg)将实验兔腹腔注射麻醉。

[0190] (2)备皮:在无菌环境下剔除实验兔腹部的毛发,清洁皮肤,用2%碘伏消毒。

[0191] (3)在实验兔的腹部皮肤上切一个长度为7-8cm的伤口,找到膀胱,在膀胱上剪一个1cm的伤口,裁剪样品至合适大小,将样品贴合伤口处缝合。

[0192] (4)定期观察实验兔活动及进食情况,并在术后1个月后进行解剖做降解研究。

[0193] 猪膀胱手术:(1)术前30min肌内注射阿托品0.05mg/kg、咪达唑仑0.1mg/kg、盐酸吗啡注射液5mg,取仰卧位四肢固定,耳缘静脉穿刺,滴注5%葡萄糖注射液下腹正中切口入腹。

[0194] (2)下腹正中切口入腹,切口长15~20cm。术者用拇指和食指在切口两旁固定皮肤,手术刀刀尖先垂直刺入皮肤,然后再转至于皮面 45° 斜角,用刀均匀切开皮肤及皮下5cm处组织,在转刀为 90° 与皮面垂直方向将其提出;若皮下组织切开长度较皮肤切口短,可用剪刀剪开;切开时的力度应以可以一次切开皮肤为宜,使切口边缘整齐呈线状,避免多次切割致边缘不齐影响愈合;

[0195] (3)分离皮下脂肪、肌肉及筋膜。术者用两把止血钳夹住样品往上提,在两钳之间剪开样品。用力适宜,刀尖始终向上避免伤及深部脏器、组织。在距腹壁中线左右0.5cm处分别用有齿镊夹起腹壁肌肉,用手术刀垂直下刀,切开小口后,沿中线切开腹壁肌肉;

[0196] (4)无菌纱布用生理盐水浸湿后铺于切口附近,方便后续手术操作,然后探及膀胱,纵形切开膀胱2-3cm伤口;

[0197] (5)将备好的膀胱支架材料分别缝合于实验动物并检查是否牢固,修补线为4-0微

乔,连续缝合,间断性锁边,修复完成后留置导尿,并行注水试验。

[0198] (6) 用2-0丝线逐层连续缝合,关闭腹壁肌肉和皮肤。最后用有齿镊调整好皮肤切口对合,用碘伏消毒2遍。

[0199] (7) 手术结束后停止吸入麻醉剂,给予全氧呼吸,待实验动物清醒,恢复自主呼吸后拔除气管导管

[0200] (8) 定期观察实验猪活动及进食情况,并在术后2个月后进行解剖做降解研究。

[0201] 测试结果:实验兔的术后1个月情况图如图6所示,进食生存良好,排尿正常;术后1个月的实验兔缝合情况图如图5所示,图中显示伤口处恢复良好,无渗液、红肿的情况,显示手术良好;

[0202] 实验兔膀胱病理图如图7和图8所示,图中病理切片弧度处可见无膀胱细胞缺口,说明膀胱修补处愈合良好,膀胱支架材料降解,膀胱细胞爬行良好。

[0203] 实验猪缝合情况图如图9所示,图中显示了在猪体内完成开腹膀胱修补术。

[0204] 术后2月所取标本病理切片如图10和11所示,图中膀胱细胞爬行良好,说明膀胱组织愈合良好,膀胱支架溶解,基本符合原有组织形态要求。

[0205] 综上所述,兔膀胱手术和猪膀胱手术均说明了本发明制备的脱细胞基质复合膜用于膀胱修复和全膀胱修复时能够做到防渗水、可吸收降解的效果,可预见地,在实际临床中,当本发明提供的脱细胞基质复合膜能够被降解、吸收、做到无残留,愈后膀胱也以自体组织为主。

[0206] 实施例8:脱细胞基质复合膜的制备(PU高分子膜)

[0207] 本实施例提供一种脱细胞基质复合膜的制备方法,包括以下步骤:

[0208] (1) 称取1g的聚氨酯(PU)加入100mL丙酮中,用锡纸包好避光,于室温下搅拌60分钟至完全溶解后,得到高分子溶液;

[0209] (2) 用去离子水完全浸湿并铺平裁剪好(4cm×4cm)的实施例1.1的脱细胞基质膜,放置于通风处静置待其表面水分蒸发完后。取2mL上述高分子溶液涂覆在脱细胞基质膜表面,待溶剂丙酮蒸发完后,得到带有高分子膜的脱细胞基质膜;

[0210] (3) 用去离子水完全浸湿另一块裁剪好的脱细胞基质膜,铺平置步骤(2)做好的带有高分子膜的脱细胞基质膜上,静置60分钟,得到脱细胞基质复合膜。

[0211] 实施例9:脱细胞基质复合膜的制备(PLGA高分子膜)

[0212] 本实施例的制备步骤以及高分子的用量与实施例8基本一致,区别之处在于高分子材料选用的聚乳酸-羟基乙酸,溶剂选用的氯仿。

[0213] 实施例10:脱细胞基质复合膜的制备(PDMS高分子膜)

[0214] 本实施例的制备步骤以及高分子的用量与实施例8基本一致,区别之处在于高分子材料选用的聚二甲基硅氧烷,溶剂选用的氯仿。

[0215] 实施例11:脱细胞基质复合膜的制备(PVC高分子膜)

[0216] 本实施例的制备步骤以及高分子的用量与实施例8基本一致,区别之处在于高分子材料选用的聚氯乙烯,溶剂选用的环己酮。

[0217] 实施例12:脱细胞基质复合膜的制备(PVA高分子膜)

[0218] 本实施例的制备步骤以及高分子的用量与实施例8基本一致,区别之处在于高分子材料选用的聚乙烯醇,溶剂选用的氯仿。

[0219] 实施例13:脱细胞基质复合膜的制备 (PHA高分子膜)

[0220] 本实施例的制备步骤以及高分子的用量与实施例8基本一致,区别之处在于高分子材料选用的聚羟基脂肪酸酯,溶剂选用的氯仿。

[0221] 实施例14:脱细胞基质复合膜的制备 (PEEK高分子膜)

[0222] 本实施例的制备步骤以及高分子的用量与实施例8基本一致,区别之处在于高分子材料选用的聚醚醚酮,溶剂选用的氯仿。

[0223] 实施例15:脱细胞基质复合膜的制备 (PAN高分子膜)

[0224] 本实施例的制备步骤以及高分子的用量与实施例8基本一致,区别之处在于高分子材料选用的聚丙烯腈。

[0225] 实施例16:脱细胞基质复合膜的制备 (PS高分子膜)

[0226] 本实施例的制备步骤以及高分子的用量与实施例8基本一致,区别之处在于高分子材料选用的聚苯乙烯,溶剂选用的二甲基亚砷。

[0227] 膀胱抗炎症动物实验

[0228] 测试样品:实施例5.1以及实施例8-16所制得的脱细胞基质复合膜。

[0229] 测试方法:测试方法同猪膀胱手术。

[0230] 测试结果:SIS和PU,PCL,PLGA,PDMS、PVA、PHA高分子材料制备的脱物质细胞复合膜的术后情况如图12和13所示,图12为膀胱抗炎症动物实验中的实施例5.1 (PCL) 的手术图;图13为膀胱抗炎症动物实验中的实施例8 (PU) 的手术图;从图中可看出创口部位无渗液、红肿现象,说明动物实验中没有出现炎症,其它的与PU结果一样,没有出现渗液、红肿现象。

[0231] SIS和PVC,PEEK,PAN,PS高分子材料制备的脱物质细胞复合膜的术后情况如图14和15所示,其中图14为膀胱抗炎症动物实验中的实施例11 (PVC) 的手术图,图15为膀胱抗炎症动物实验中的实施例15 (PAN) 的手术图;从图中可看出动物创口出现了红肿、渗液现象,说明动物实验中有轻微或中度炎症。因此,说明SIS和PU,PCL,PLGA,PDMS、PVA、PHA高分子材料制备的脱物质细胞复合膜能够做到抗炎症的效果。

[0232] 人工膀胱细胞实验

[0233] 实验1

[0234] 测试样品:实施例5.1所制得的脱细胞基质复合膜。

[0235] 测试方法:将转染了GFP荧光蛋白的尿路正常上皮细胞SVHUC-1接种于使用了实施例5.1所制得的脱细胞基质复合膜进行修复的膀胱补片上,待细胞贴壁8h后,充分漂洗3次,后使贴壁细胞脱吸附,测定荧光强度。

[0236] 测试结果:如图34所示,说明本发明的脱细胞基质复合膜具有很好的细胞黏附亲和性。同样,也测试了PU,PLGA,PDMS、PVA、PHA对于细胞细胞黏附亲和性与PCL的效果一样,没有显著差异,但是PVC,PEEK,PAN,PS高分子材料制备的脱物质细胞复合膜却表现较弱的细胞黏附亲和性(他们之间无显著差异),但是与PCL,PU,PLGA,PDMS、PVA、PHA所制备的复合膜具有显著差异(P小余0.05),具体实验数据略。

[0237] 实验2

[0238] 测试样品:实施例5.1所制得的脱细胞基质复合膜。

[0239] 测试方法:将使用了实施例5.1所制得的脱细胞基质复合膜进行修复的膀胱补片

培养一定时间(1day, 3day, 6day, 9day)的培养基与转染了GFP荧光蛋白的尿路正常上皮细胞SVHUC-1一起培养24h后检测其细胞活性。

[0240] 测试结果:细胞活性如图35所示,说明本发明的脱细胞基质复合膜具有很好的细胞相容性。同样,也测试了PU, PLGA, PDMS、PVA、PHA对于细胞细胞细胞相容性与PCL的效果一样,没有显著差异,但是PVC, PEEK, PAN, PS高分子材料制备的脱物质细胞复合膜却表现较弱的细胞相容性(他们之间无显著差异),但是与PCL, PU, PLGA, PDMS、PVA、PHA所制备的复合膜具有显著差异(P小余0.05),具体实验数据略。

[0241] 防结石实验

[0242] 测试样品:实施例5.1以及实施例8-16所制得的脱细胞基质复合膜。

[0243] 测试方法:测试方法同猪膀胱手术。

[0244] 测试结果:SIS和PVC, PEEK, PAN, PS高分子材料制备的脱物质细胞复合膜的结石生成情况如图16所示,从图中可看出,SIS和PVC有6mm结石生成,SIS和PEEK有5mm结石生成,SIS和PAN有7mm结石生成,SIS和PS有5mm结石生成。SIS和PU、PCL、PLGA, PDMS、PVA、PHA高分子材料制备的脱物质细胞复合膜用于膀胱手术时不会出现结石。

[0245] 韧性实验

[0246] 测试样品:实施例5.1以及实施例8-16所制得的脱细胞基质复合膜。

[0247] 测试方法:将脱细胞基质复合膜进行180°的对折或再对折。

[0248] 测试结果:韧性合格标准是,将人工膀胱在任意方向上对折180°后,沿相同方向再次对折180°,人工膀胱应能恢复且目测人工膀胱囊体不应出现打折或断裂等缺陷;

[0249] SIS和PU, PCL, PLGA, PDMS、PEEK、PS高分子材料制备的脱物质细胞复合膜的测试结果如图17和18所示,其中图17是SIS和PCL高分子材料制备的脱物质细胞复合膜的测试结果,图18是SIS和PU高分子材料制备的脱物质细胞复合膜的测试结果,从图中能看出任意方向对折180°后,沿相同方向再次对折180°,能恢复且目测未出现打折或断裂等缺陷。

[0250] SIS和PVC、PHA高分子材料制备的脱物质细胞复合膜的测试结果如图19和20所示,其中图19是SIS和PVC高分子材料制备的脱物质细胞复合膜的测试结果,图20是SIS和PHA高分子材料制备的脱物质细胞复合膜的测试结果,从图中能看出对折180°后再次对折180°,未能恢复但目测未出现打折或断裂等缺陷。

[0251] SIS和PVA、PAN分子材料制备的脱物质细胞复合膜的测试结果如图21和22所示,其中图21是SIS和PVA高分子材料制备的脱物质细胞复合膜的测试结果,图22是SIS和PAN高分子材料制备的脱物质细胞复合膜的测试结果,从图中能看出对折180°后再次对折180°,未能恢复且目测出现打折或断裂等缺陷。因此,SIS和PU, PCL, PLGA, PDMS、PEEK、PS高分子材料制备的脱物质细胞复合膜的韧性好。

[0252] 上述实验结果具体见下表:

[0253]

	实施例 5.1 (PCL)	实施例 8 (PU)	实施例 9 (PLGA)	实施例 10(PDM S)	实施例 11(PVC)	实施例 12(PVA)	实施例 13(PHA)	实施例 14(PEEK)	实施例 15(PAN)	实施例 16(PS)
炎症 情况	未见炎症	未见炎症	未见炎症	未见炎症	轻微炎症	未见炎症	未见炎症	轻微炎症	中度炎症	轻微炎症
生成 结石	未见结石	未见结石	未见结石	未见结石	可见 6mm 结 石	未见结 石	未见结 石	可见 5mm 结 石	可见 7mm 结 石	可见 5mm

[0254]

					石			石	石	结石
韧性	任意方向 对折 180° 后, 沿相 同方向再 次对折 180°, 能 恢复且目 测未出现 打折或断 裂等缺陷	任意方 向对折 180°后, 沿相同 方向再 次对折 180°, 能 恢复且 目测未 出现打 折或断 裂等缺 陷	任意方向 对折 180° 后, 沿相 同方向再 次对折 180°, 能 恢复且 目测未 出现打 折或断 裂等缺陷	任意方 向对折 180°后, 沿相同 方向再 次对折 180°, 能 恢复且 目测未 出现打 折或断 裂等缺陷	对折 180°后 再次对 折 180°, 未能恢 复但目 测未出 现打折 或断裂 等缺陷	对折 180°后 再次对 折 180°, 未能恢 复且目 测出现 打折或 断裂等 缺陷	对折 180°后 再次对 折 180°, 未能恢 复但目 测未出 现打折 或断裂 等缺陷	任意方 向对折 180°后, 沿相同 方向再 次对折 180°, 能 恢复且 目测未 出现打 折或断 裂等缺 陷	对折 180°后 再次对 折 180°, 未能恢 复且目 测出现 打折或 断裂等 缺陷	任意方 向对折 180° 后, 沿 相同方 向再次 对折 180°, 能恢复 且目测 未出现 打折或 断裂等 缺陷

[0255] 结果分析:脱细胞基质膜与PCL、PU、PLGA、PDMS所制备的脱细胞基质复合膜用于膀胱补片时不会出现炎症现象和生成结石,同时能够在任意方向上对折180°后,沿相同方向再次对折180°后都能恢复原形态,且根据对折后的外观可判断不会出现打折或断裂等缺陷。不会出现炎症现象和生成结石说明本发明提供的脱细胞基质复合膜制备的人工膀胱在实际临床上不用像乙状结肠直肠膀胱术患者一样易发生尿路炎症、水电解质酸碱平衡紊乱,甚至肠道肿瘤等较严重的并发症,并发症少、不损伤肠道,大大减少了手术风险和病人伤害,韧性达标说明利用本发明提供的脱物质细胞复合膜用于膀胱手术后,在人体内抗扭曲性能较低,形变性能好,不会因为复合膜发生形变而出现打折断裂现象,防止尿液泄露,膀胱挛缩时不会影响补片缝合情况,术后不容易出现异物感,具有良好的稳定性。

[0256] 实施例17管状的脱细胞基质复合膜(PCL高分子膜)

[0257] 本实施例提供一种管状的脱细胞基质复合膜制备方法,包括以下步骤:

[0258] (1)PCL溶液的配制:称取1g的聚己内酯(PCL)放入100mL氯仿中,用锡纸包好避光,室温下振荡1h至完全溶解;

- [0259] (2) 在5mm直径的玻璃棒表面包上一层塑料薄膜;
- [0260] (3) 将实施例1.1的脱细胞基质膜用去离子水完全浸湿,缠绕在直径5mm的玻璃棒表面,置于通风处,待其表面水分蒸发完;
- [0261] (4) 取0.5mLPCL溶液涂覆在脱细胞基质膜表面,等溶剂氯仿挥发完全;
- [0262] (5) 再取一块大小适量的完全浸湿脱细胞基质膜小心的铺平在步骤(4)做好的带有高分子膜的脱细胞基质膜上,等其完全风干,获得管状的脱细胞基质复合膜,如图33所示。
- [0263] 实施例18管状的脱细胞基质复合膜(PACA高分子膜)
- [0264] 本实施例的制备步骤与实施例17基本一致,区别之处在于高分子材料选用的聚氰基丙烯酸烷酯(PACA)。
- [0265] 实施例19管状的脱细胞基质复合膜(PLGA高分子膜)
- [0266] 本实施例的制备步骤与实施例17基本一致,区别之处在于高分子材料选用的聚乳酸-羟基乙酸(PLGA)。
- [0267] 实施例20管状的脱细胞基质复合膜(PLLA高分子膜)
- [0268] 本实施例的制备步骤与实施例17基本一致,区别之处在于高分子材料选用的左旋聚乳酸(PLLA)。
- [0269] 实施例21管状的脱细胞基质复合膜(PE高分子膜)
- [0270] 本实施例的制备步骤与实施例17基本一致,区别之处在于高分子材料选用的聚乙烯。
- [0271] 实施例22管状的脱细胞基质复合膜(PTFE高分子膜)
- [0272] 本实施例的制备步骤与实施例17基本一致,区别之处在于高分子材料选用的聚四氟乙烯(PTFE)。
- [0273] 实施例23管状的脱细胞基质复合膜(PP高分子膜)
- [0274] 本实施例的制备步骤与实施例17基本一致,区别之处在于高分子材料选用的聚丙烯(PP)。
- [0275] 实施例24管状的脱细胞基质复合膜(PC高分子膜)
- [0276] 本实施例的制备步骤与实施例17基本一致,区别之处在于高分子材料选用的聚碳酸酯(PC)。
- [0277] 实施例25管状的脱细胞基质复合膜(PVP高分子膜)
- [0278] 本实施例的制备步骤与实施例17基本一致,区别之处在于高分子材料选用的聚乙烯吡咯烷酮(PVP)。
- [0279] 实施例26管状的脱细胞基质复合膜(PNVP高分子膜)
- [0280] 本实施例的制备步骤与实施例17基本一致,区别之处在于高分子材料选用的聚N-乙烯吡咯烷酮(PNVP)。
- [0281] 输尿管抗炎症动物实验
- [0282] 测试样品:实施例17-26制得的脱细胞基质复合膜。
- [0283] 测试方法:测试方法同猪膀胱手术,测试部位替换为输尿管。
- [0284] 测试结果:SIS与PACA,PCL,PLGA,PLLA,PTFE高分子材料制备的脱细胞基质复合膜的测试结果如图23-24所示,其中图23是SIS和PCL高分子材料制备的脱物质细胞复合膜的

手术情况图,图24是SIS和PLGA高分子材料制备的脱物质细胞复合膜的手术情况图,从图23和24中可看出,术后的输尿管无渗液、红肿现象,说明输尿管未有炎症;

[0285] SIS与PE、PP、PC、PVP、PNVP高分子材料制备的脱细胞基质复合膜的术后情况如图25所示,图25是SIS和PP高分子材料制备的脱物质细胞复合膜的手术情况图,从图中可看出有渗液现象,说明有轻微或中度炎症。

[0286] SIS与PACA,PCL,PLGA,PLLA,PTEF、PP、PNVP高分子材料制备的脱细胞基质复合膜的术后狭窄测试结果如图26和图28所示,图26是SIS和PCL高分子材料制备的脱物质细胞复合膜的手术情况图,图28是SIS和PCL高分子材料制备的脱物质细胞复合膜的术后1周导尿管膀胱造影图,从图26可看出,输尿管的管路通畅,从图28可看出,输尿管的管路通畅,说明输尿管未有狭窄,SIS与PE、PC、PVP材料结合高分子材料制备的脱细胞基质复合膜的测试结果如图27所示,图27是SIS和PE高分子材料制备的脱物质细胞复合膜的手术情况图,从图27中可看出,输尿管的管路不通畅,有较小或中度狭窄。

[0287] 刚度和强度实验

[0288] 测试样品:实施例17-26制得的脱细胞基质复合膜。

[0289] 测试方法:使用如图29-30所示的测试设备进行测试

[0290] 测试结果:接受标准是,对产品施加1N的力,挠度应不大于25mm,持续1min变形应不大于2.5mm,输尿管实验结果如下表所示:

[0291]	实施例	实施例	实施例	实施例	实施例	实施例	实施例	实施例	实施例	实施例
	17(PCL)	18(PACA)	19(PLGA)	20(PLLA)	21PE	22PTFE	23PP	24PC	25PVP	26PNVP
[0292]	炎症情况	未见炎症	未见炎症	未见炎症	中度炎症	未见炎症	轻微炎症	轻微炎症	中度炎症	轻微炎症
	狭窄情况	无狭窄	无狭窄	无狭窄	较小狭窄	无狭窄	无狭窄	较小狭窄	中度狭窄	无狭窄
	刚度和强度	对产品施加 1N 的力, 挠度 16mm, 持续 1min 变形 1.4mm	对产品施加 1N 的力, 挠度 15mm, 持续 1min 变形 1.9mm	对产品施加 1N 的力, 挠度 18mm, 持续 1min 变形 1.5mm	对产品施加 1N 的力, 挠度 20mm, 持续 1min 变形 1.2mm	对产品施加 1N 的力, 挠度 22mm, 持续 1min 变形 2.5mm	对产品施加 1N 的力, 挠度 28mm, 持续 1min 变形 2.7mm	对产品施加 1N 的力, 挠度 26mm, 持续 1min 变形 2.2mm	对产品施加 1N 的力, 挠度 29mm, 持续 1min 变形 2.3mm	对产品施加 1N 的力, 挠度 18mm, 持续 1min 变形 2.3mm

[0293] 结果分析:SIS与PCL、PACA、PLGA、PLLA高分子材料制备的脱细胞基质复合膜用于输尿管临床实验中,不会出现炎症、狭窄的情况,避免了异体组织带来的排斥反应和在术后狭窄引起的输尿管积水和肾积水,解决了人工材料替代容易出现的组织相容性问题;对于

患者而言,避免了并发症的发生,大大减缓了病人的手术风险和手术疼痛,同时其刚度和强度使得其在患者体内能够具有一定支撑力,在输尿管正常浮动范围内,不会发生挛缩,避免发生穿孔或移位变形。

[0294] 虽然本发明披露如上,但本发明并非限定于此。任何本领域技术人员,在不脱离本发明的精神和范围内,均可作各种更动与修改,因此本发明的保护范围应当以权利要求所限定的范围为准。



图1



图2

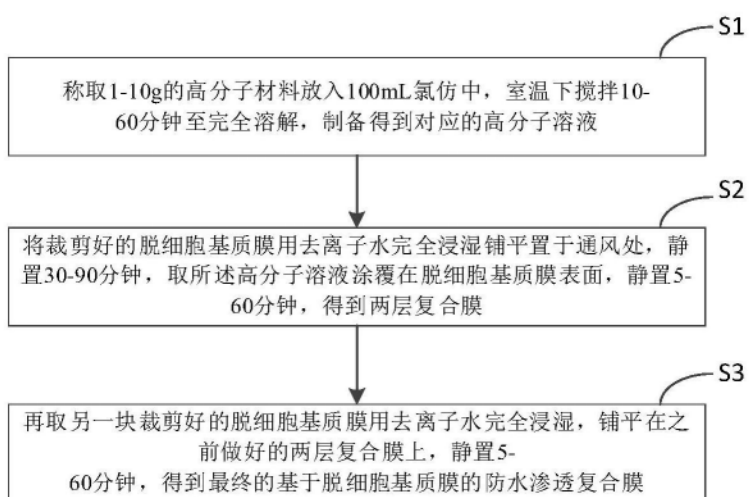


图3

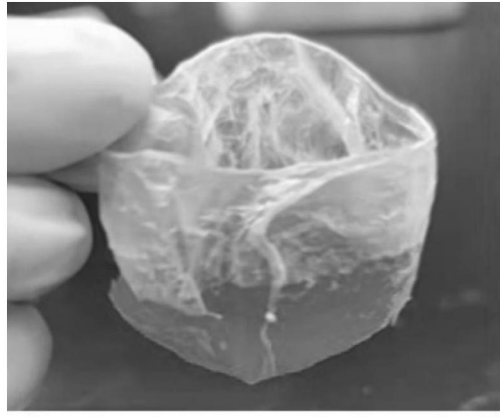


图4



图5



图6

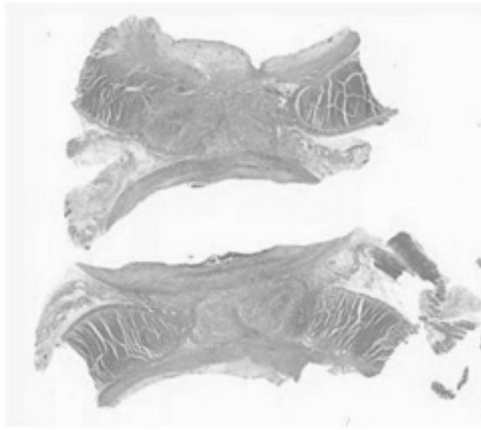


图7

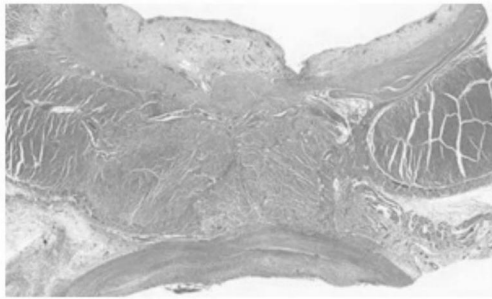


图8



图9

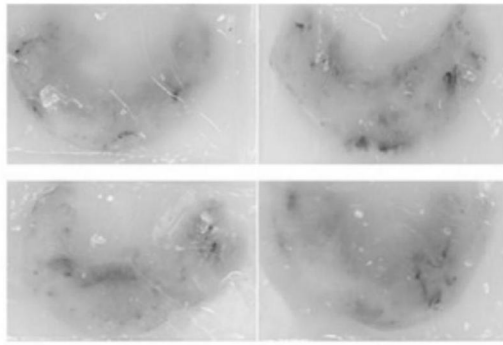


图10

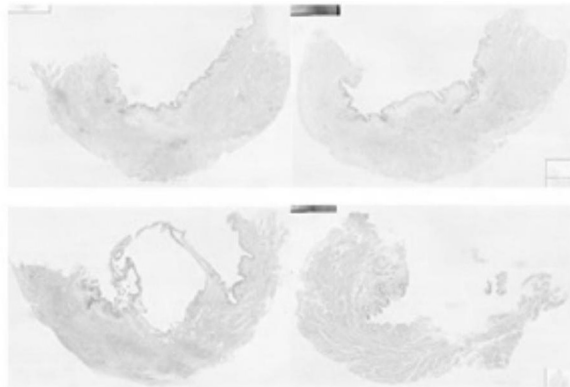


图11



图12

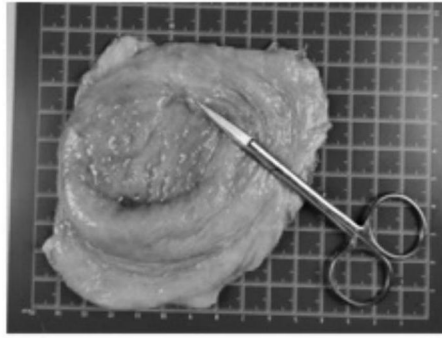


图13



图14



图15

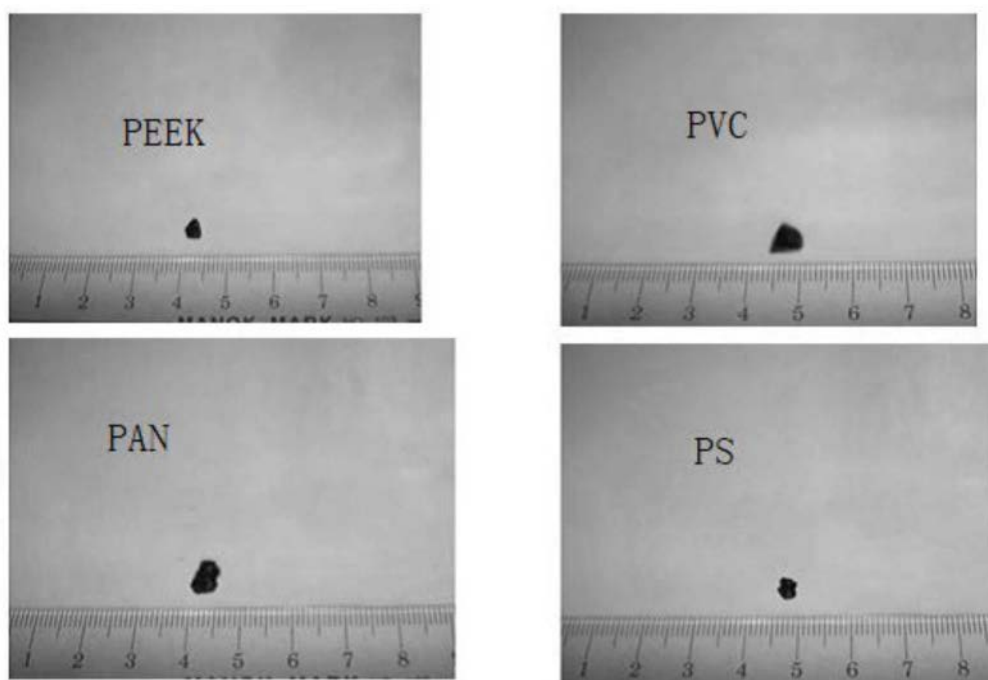


图16

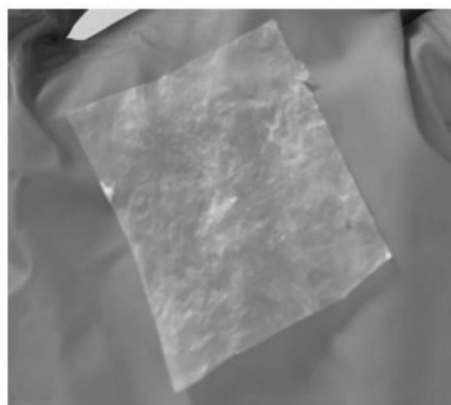


图17

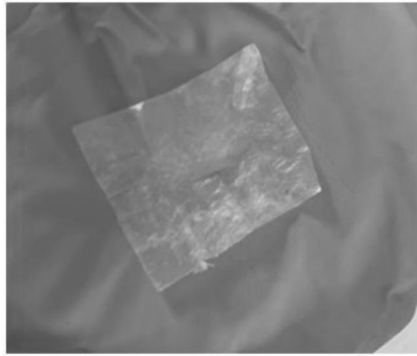


图18

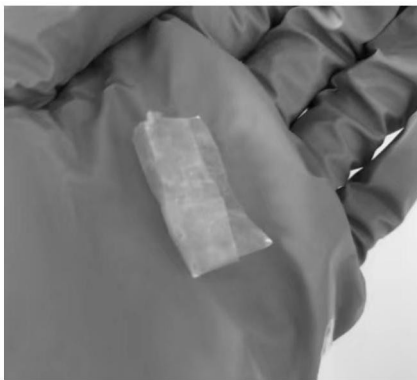


图19

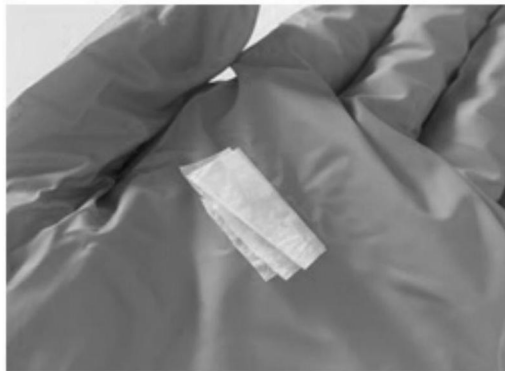


图20

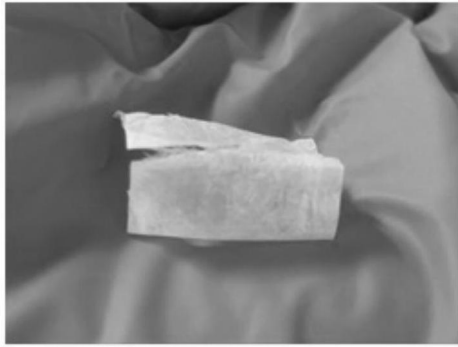


图21

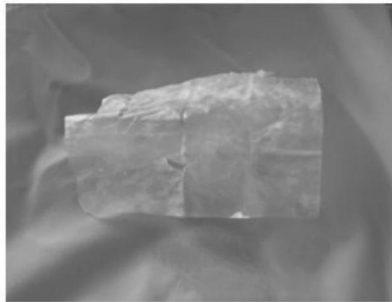


图22

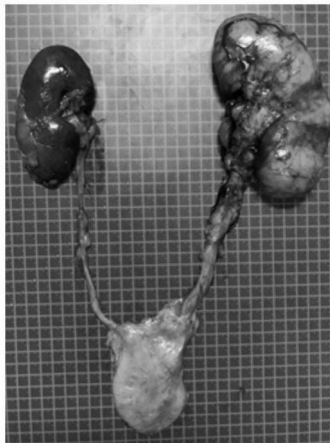


图23

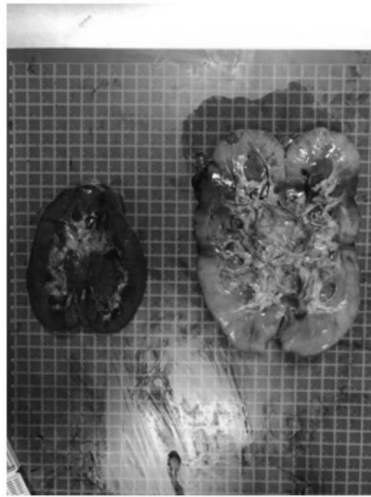


图24



图25



图26

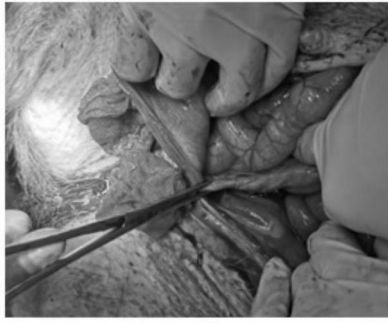


图27

术后1周导尿管膀胱造影。



图28

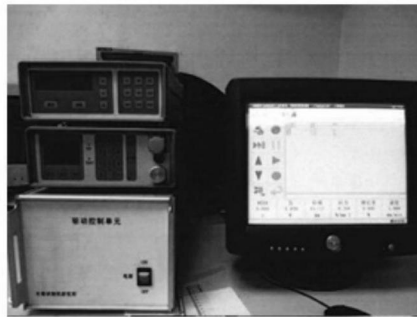


图29

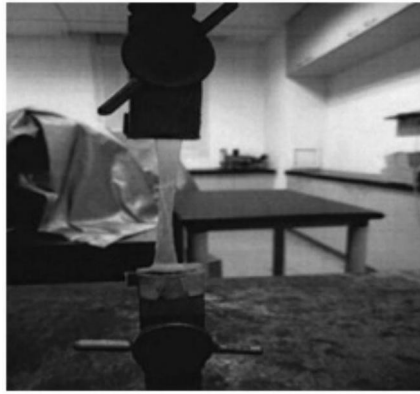


图30

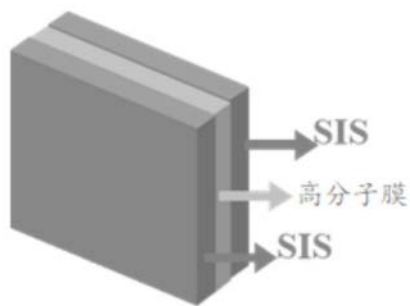


图31

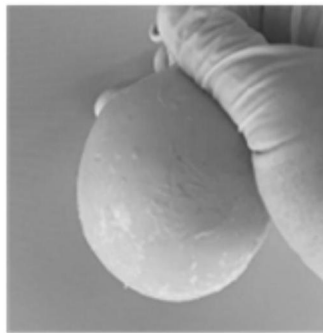


图32

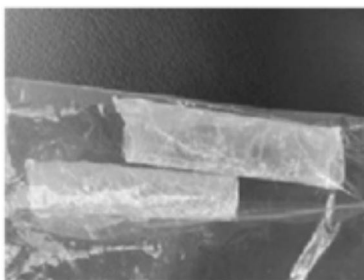


图33

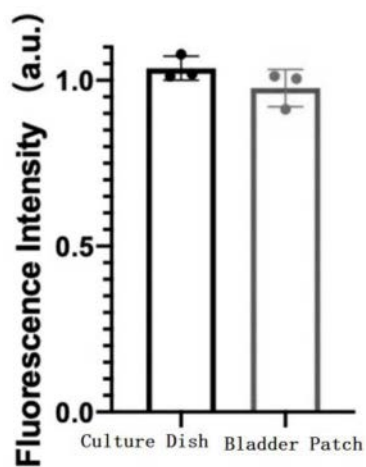


图34

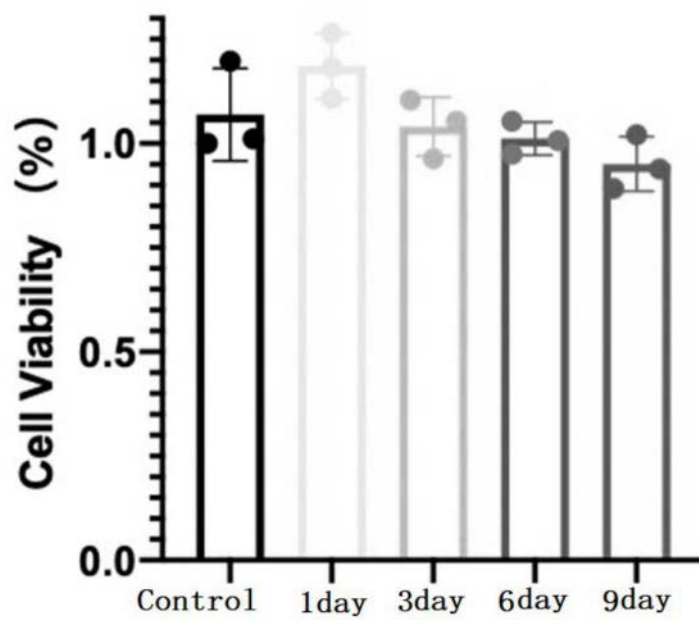


图35