



(12)发明专利



(10)授权公告号 CN 106913908 B

(45)授权公告日 2020.05.26

(21)申请号 201510986268.1

(22)申请日 2015.12.25

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 106913908 A

(43)申请公布日 2017.07.04

(73)专利权人 北京瑞健高科生物科技有限公司

地址 102206 北京市昌平区科技园区生命
园路29号1幢316-3室

(72)发明人 孙文全

(74)专利代理机构 北京安信方达知识产权代理
有限公司 11262

代理人 苏蕾 张奎燕

(51)Int.Cl.

A61L 27/36(2006.01)

A61L 27/58(2006.01)

A61L 27/50(2006.01)

(56)对比文件

CN 103432627 A,2013.12.11,
CN 104107456 A,2014.10.22,
WO 2012/006390 A1,2012.01.12,
US 2010/0129463 A1,2010.05.27,
US 2013/0158658 A1,2013.06.20,
CN 103108661 A,2013.05.15,
US 2015/0037436 A1,2015.02.05,
US 2007/0031470 A1,2007.02.08,
US 2010/0040687 A1,2010.02.18,
WO 01/10355 A1,2001.02.15,
CN 105169483 A,2015.12.23,
CN 103520773 A,2014.01.22,
CN 101507831 A,2009.08.19,
EP 1087756 B1,2009.05.08,

审查员 王田

权利要求书1页 说明书4页 附图2页

(54)发明名称

一种具有结构记忆特性的细胞生长支架

(57)摘要

本发明涉及一种有结构记忆特性的细胞生长支架。本细胞生长支架是一种无化学交联、有生物活性、有稳定三维结构和有结构记忆特征的多孔细胞生长支架,它是通过将纤维或絮状的组织材料和酸化的水凝胶材料按一定比例混合在一起并通过冻/融挤压和辐射工序制成的有特殊性能的多孔材料。该支架不仅具有优良的生物兼容性和完全的生物可降解性,也支持细胞生长,同时支持体内和体外的组织和器官的生长,更适用于体软组织创伤和缺损的修复。

1. 一种具有记忆特性结构的细胞生长支架,包括细胞生长的基质材料,其特征是,所述支架由纤维直径为2-250微米、长度为100-3000微米的微纤维状或絮状的脱细胞组织基质材料和颗粒直径为2-150微米酸化处理水凝胶状的脱细胞组织基质材料按各自干重质量比例混合后再经注模、冰冻挤压、重新交织、辐射工序所构成;其中,细胞生长的基质材料是所述细胞生长支架的基质材料,其基质材料中总的脱细胞组织基质材料含量为每立方厘米10~100毫克、总孔隙度90~99%,并且,基质材料的颗粒大于25微米的孔隙度为80~98%。

2. 根据权利要求1所述的具有记忆特性结构的细胞生长支架,其特征是,所述支架中的微纤维状或絮状的脱细胞组织基质材料按干重质量比为60%~90%,所述的酸化处理水凝胶状的脱细胞组织基质材料按干重质量比为40%~10%。

3. 根据权利要求1所述的具有记忆特性结构的细胞生长支架,其特征是,所述的注模工序是将微纤维状或絮状的脱细胞组织基质材料和酸化处理水凝胶状的脱细胞组织基质材料均匀混合成悬浮液后注入模具。

4. 根据权利要求1所述的具有记忆特性结构的细胞生长支架,其特征是,所述的冰冻挤压、重新交织、辐射工序是在-20℃条件下使模具内的混合悬浮液结冰晶,冰晶挤压重新交织并经伽马射线辐射处理。

5. 根据权利要求1所述的具有记忆特性结构的细胞生长支架,其特征是,所述的挤压、重新交织工序是将冰晶挤压使悬浮液中微纤维状或絮状的脱细胞组织基质材料和酸化处理的水凝胶状的脱细胞组织基质颗粒材料重新交织在一起制成具有稳定三维结构和有结构记忆特征的多孔细胞生长支架材料。

6. 根据权利要求1所述的具有记忆特性结构的细胞生长支架,其特征是,支架造型工序是将具有稳定三维结构和有结构记忆特征的多孔细胞生长支架材料制成形态各异的支架产品。

7. 根据权利要求4所述的具有记忆特性结构的细胞生长支架,其特征是,所述的冰冻工序是对模具内的混合悬浮液进行至少两次以上的冻融过程。

一种具有结构记忆特性的细胞生长支架

技术领域

[0001] 本发明涉及一种应用于材料科学、组织工程学和再生医学领域的细胞生长支架，具体的说是一种具有结构记忆特性的细胞生长支架。

背景技术

[0002] 因病变、创伤或外科手术常致使人体软组织的缺损，使人体自身机体重新生长所需要的软组织是现代医学需要解决的一个难题。国内外已经研发出多种用于软组织缺损修复的填充材料和敷料，包括基于人工合成高分子材料和天然生物材料制备而成的水凝胶及多孔海绵类填充材料。以动物组织为原料，经过酸处理或酶处理后提纯的胶原蛋白，可以制备成胶原蛋白水凝胶，适当的化学交联处理可提高水凝胶制剂中胶原蛋白的稳定性，在体内较不易于被降解。胶原蛋白悬浮液或水凝胶可以经过冻干制备成多孔的胶原海绵材料，经过进一步的化学交联固定处理，不仅可以增进海绵材料中胶原蛋白的稳定性，同时也以保留胶原海绵材料的多孔结构特性。多孔胶原海绵材料在临床医学上已经广泛地应用于创口的止血、组织缺损部位的填充，以及药物载体等。

[0003] 中国专利文献CN1235947C、CN101549171B分别提供了制备此类胶原海绵材料的具体方法。其中，CN1235947C专利文献提供的技术方案是在常温下用盐酸或醋酸溶液浸泡含有丰富胶原蛋白的动物组织（皮肤、软骨、板筋、肌腱等），酶解后获得动物组织细胞外胶原框架，研磨和匀浆处理获得胶原悬浮液，将胶原悬浮液置入模具，加压成型和冻干制备胶原海绵填充剂，在冻干前或冻干后用化学交联剂处理。专利文献CN101549171B提出了在提取出的高纯度II型胶原溶液后，用聚乙二醇对II型胶原溶液进行浓缩，然后用含碳化二亚胺和N-羟基琥珀酰亚胺作交联剂对浓缩后的II型胶原进行交联，冷冻干燥制备得到的胶原海绵。

[0004] 以上技术方案均采用化学交联的方式获得胶原海绵，但缺陷也是显而易见的：经酸化和酶解制备的胶原海绵稳定性差，缺少生物活性及有降解过快等缺点。

[0005] 除此之外，在技术领域中也有在胶原海绵制备过程中添加透明质酸钠、壳聚糖、甲壳素、硫酸软骨素等其他生物大分子材料来制备成复合海绵材料并改善了胶原海绵的生物性能。例如，中国专利文献CN101862475B披露的技术方案是在胶原溶液中添加透明质酸钠，经过化学交联制备得到复合的胶原材料。中国专利文献CN103007336A是在鱼皮胶原中添加壳聚糖，冷冻干燥后经交联再进行二次冷冻干燥制备鱼皮胶原基复合海绵。尽管化学交联处理提高了胶原海绵的稳定性，含有透明质酸和壳聚糖等其他生物大分子的胶原海绵复合材料有较好的生物活性，辐射灭菌后这些海绵材料的稳定性还是明显下降，在大面积软组织填充或伤口修复时容易出现较为严重的炎症。

[0006] 以上技术方案尽管仍以化学交联处理的方式提高了胶原海绵的稳定性，且含有透明质酸和壳聚糖等其他生物大分子的胶原海绵复合材料有较好的生物活性。但实践中还是存在辐射灭菌后这些海绵材料的稳定性明显下降的问题，尤其是在大面积软组织填充或伤口修复时容易出现较为严重的炎症。

[0007] 美国专利文献US2012/0263763A1描述了一种基于纤维化后的脱细胞的组织基质海绵材料。制备该材料的方法是以猪皮为原料,经过去脂肪、冷冻超薄切片、脱细胞和去抗原、清洗、纤维化匀浆、病毒灭活、灭菌、以及将脱细胞基质悬浮液冻干制备成组织基质海绵材料,冻干的海绵材料可以用环氧乙烷或辐射灭菌。该方法产生的积极效果是不采用化学交联的方式,使该细胞外组织基质材料较好的保留了原来组织基质的基本结构特征;除胶原蛋白成分外,还包含其他重要的细胞外组织基质成分,如弹性蛋白、纤维蛋白,蛋白聚糖等;制备工艺中没有酸处理、酶解处理的过程,该海绵材料具有良好的生物相容性,支持宿主细胞快速生长,胶原蛋白稳定性较好,降低了炎症反应。但存在的问题是由此方法获得的该海绵材料结构强度差、弹性差,受压后容易碎和变形,且不能保持原有材料结构和不能恢复原有的形状。

[0008] 总结以上文献披露的技术方法,突显的问题是:无论是使用酸解或酶解后纯化的胶原蛋白水凝胶,还是脱细胞后匀浆的组织基质材料悬浮液,在制备多孔的胶原海绵材料时,现有的技术是先将水凝胶或悬浮液冻干,再经过进一步的化学交联处理来提高材料的力学强度和增进海绵材料中胶原蛋白的稳定性,化学交联处理使组织基质材料损失了作为孔细胞生长支架原本拥有的许多优良的自然特性。

发明内容

[0009] 本发明所要解决的技术问题是提供一种具有结构记忆特性的细胞生长支架,支架不仅具有优良的生物兼容性和完全的生物可降解性,同时具有支持细胞生长、支持体内和体外的组织和器官生长。

[0010] 为此,本发明解决所述问题的技术方案是:一种具有记忆特性结构的细胞生长支架,包括细胞生长的基质材料,其特征是,所述支架由纤维直径为2-250微米、长度为100-3000微米的微纤维状或絮状的脱细胞组织基质材料和颗粒直径为2-150微米酸化处理水凝胶状的脱细胞组织基质材料按各自干重质量比例混合后再经注模、冰冻挤压、重新交织、辐射工序所构成;其中,细胞生长的基质材料是所述细胞生长支架的基质材料,其基质材料中总的脱细胞组织基质材料含量为每立方厘米10~100毫克、总孔隙度90~99%,并且,基质材料的颗粒大于25微米的孔隙度为80~98%。

[0011] 优选的,所述支架中的微纤维状或絮状的脱细胞组织基质材料按干重质量比为60%~90%,所述的酸化处理水凝胶状的脱细胞组织基质材料按干重质量比为40%~10%。

[0012] 优选的,所述的注模工序是将微纤维状或絮状的脱细胞组织基质材料和酸化处理水凝胶状的脱细胞组织基质材料均匀混合成悬浮液后注入模具。

[0013] 优选的,所述的冰冻工序是在-20℃条件下使模具内的混合悬浮液结冰晶,冰晶挤压重新交织并经伽马射线辐射处理。

[0014] 优选的,所述的挤压、重新交织工序是将冰晶挤压使悬浮液中微纤维状或絮状的脱细胞组织基质材料和酸化处理的水凝胶状的脱细胞组织基质颗粒材料重新交织在一起制成具有稳定三维结构和有结构记忆特征的多孔细胞生长支架材料。

[0015] 优选的,所述的支架造型工序是将具有稳定三维结构和有结构记忆特征的多孔细胞生长支架材料制成形态各异的支架产品。

[0016] 优选的,所述的冰冻工序可以是对模具内的混合悬浮液至少两次以上的冻融过程。

[0017] 相比现有技术,本发明具有的积极效果是显而易见的:本细胞生长支架是一种无化学交联、有生物活性、有稳定三维结构和有结构记忆特征的多孔细胞生长支架,它是通过将纤维或絮状的组织材料和酸化的水凝胶材料按一定比例混合在一起并通过冻/融挤压和辐射工序制成的有特殊性能的多孔材料。该支架不仅具有优良的生物兼容性和完全的生物可降解性,也支持细胞生长,同时支持体内和体外的组织和器官的生长,是适合于体软组织创伤和缺损的修复。

附图说明

[0018] 图1是本发明的一个实施例结构示意图;

[0019] 图2是关于图1的支架产品差示扫描量热仪(DSC)曲线示意图;

[0020] 图3是关于构成支架产品的两种材料的稳定性与颗粒直径的关系曲线示意图;

[0021] 图4是关于图1的支架产品差示扫描量热仪曲线示意图。

具体实施方式

[0022] 本发明涉及一种具有结构记忆特性的细胞生长支架,在以下实施例中,所述的细胞生长支架的结构特点。

[0023] 例如图1所示,是指本发明涉及的部分产品的形态结构及说明,其中,图中的(A)是圆片形和圆柱形细胞生长支架;图中的(B)是直径1.8厘米、高3.0厘米的柱形细胞生长支架在(手指捏的)压力作用下收缩形态;图中的(C)是(指捏)压力释放后支架完全恢复了原有稳定三维结构和形状。

[0024] 例如图2所示,是经0.5%脱氧胆酸钠溶液脱细胞后组织基质材料的差示扫描量热仪(DSC)曲线示意图;其中,图中的(A)是微纤维状或絮状的脱细胞组织基质材料;图中的(B)是经50mM醋酸溶液处理后的脱细胞组织基质水凝胶状颗粒;图中的(C)是按70%微纤维状的脱细胞组织基质材料和30%酸化处理的水凝胶状颗粒制备而成的细胞生长支架。

[0025] 例如图3所示,是经0.5%脱氧胆酸钠溶液脱细胞处理和50mM醋酸处理后的脱细胞组织基质水凝胶状颗粒的稳定性与颗粒直径的关系曲线示意图。

[0026] 例如图4所示,是经0.5%十二烷基硫酸钠溶液脱细胞后的组织基质材料的差示扫描量热仪(DSC)曲线示意图;其中,图中的(A)是微纤维状或絮状的脱细胞组织基质材料;图中的(B)是经50mM醋酸溶液处理后的脱细胞组织基质水凝胶状颗粒;图中的(C)按80%微纤维状的脱细胞组织基质材料和20%酸化处理的水凝胶状颗粒制备而成的细胞生长支架。

[0027] 以上附图在释义一种可广泛应用普外科、骨科、整形外科、组织工程和再生医学等领域的具有结构记忆特性的细胞生长支架。

[0028] 所谓细胞生长的基质材料是由两种性质不同的脱细胞组织基质材料按一定比例组成的材料,具体的说,脱细胞组织基质材料是从但不局限于人体或动物的皮肤,软骨,血管、半月板,胃,小肠,大肠,隔膜,肌腱,韧带,神经组织,膀胱,和尿道等。将富含胶原蛋白的组织切割分离出来,切成1-20毫米的小块或小片中获取。

[0029] 在获取两种性质不同的脱细胞组织基质材料后就可以制作具有结构记忆特性的

细胞生长支架了。例如,首先解决的生物细胞生长支架的组织构架问题,本例中所说的支架是由纤维直径为2-250微米、长度为100-3000微米的微纤维状或絮状的脱细胞组织基质材料和颗粒直径为2-150微米酸化处理水凝胶状的脱细胞组织基质材料按各自干重质量比例混合后再经注模、冰冻,挤压、辐射、重新交织工序所构成;在这当中,细胞生长的基质材料是细胞生长支架的基质材料,其基质材料中总的脱细胞组织基质材料含量应限定在每立方厘米10~100毫克、总孔隙度90~99%的范围内;并且,将基质材料的颗粒大于25微米的孔隙度为80~98%。在制作细胞生长支架的过程中优选的方案是支架中的微纤维状或絮状的脱细胞组织基质材料应按干重质量比为60%~90%、酸化处理水凝胶状的脱细胞组织基质材料应按干重质量比为40%~10%调比;在注模工序中应将微纤维状或絮状的脱细胞组织基质材料和酸化处理水凝胶状的脱细胞组织基质材料均匀混合成悬浮液后再注入模具;在冰冻工序中应在-20℃条件下并经伽马射线辐射处理才可将模具内的混合悬浮液制成冰晶或者将模具内的混合悬浮液通过至少两次以上的冻融过程完成冰冻程序;在挤压、重新交织工序中应将冰晶挤压使悬浮液中微纤维状或絮状的脱细胞组织基质材料和酸化处理的水凝胶状的脱细胞组织基质颗粒材料重新交织在一起后再制成具有稳定三维结构和有结构记忆特征的多孔细胞生长支架材料。经过上述工序后才能将具有稳定三维结构和有结构记忆特征的多孔细胞生长支架材料制成形态各异的支架产品。

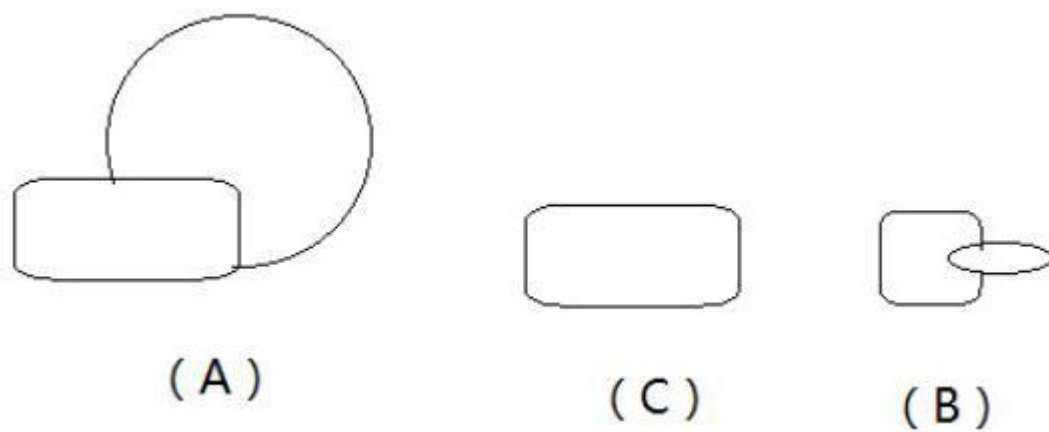


图1

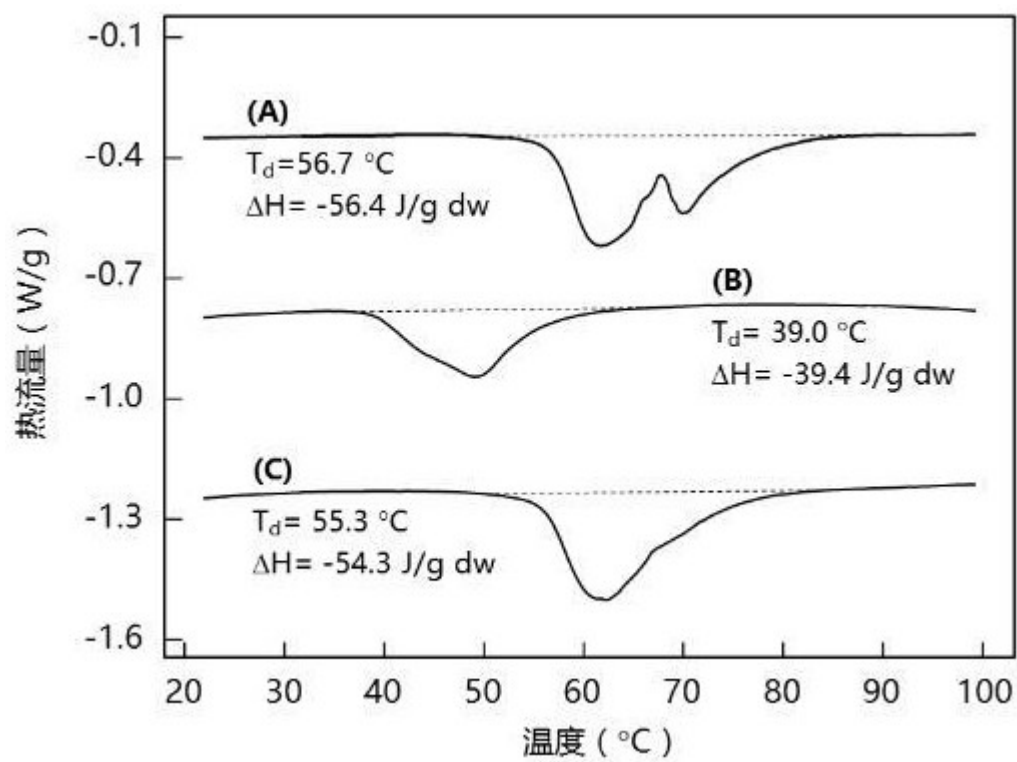


图2

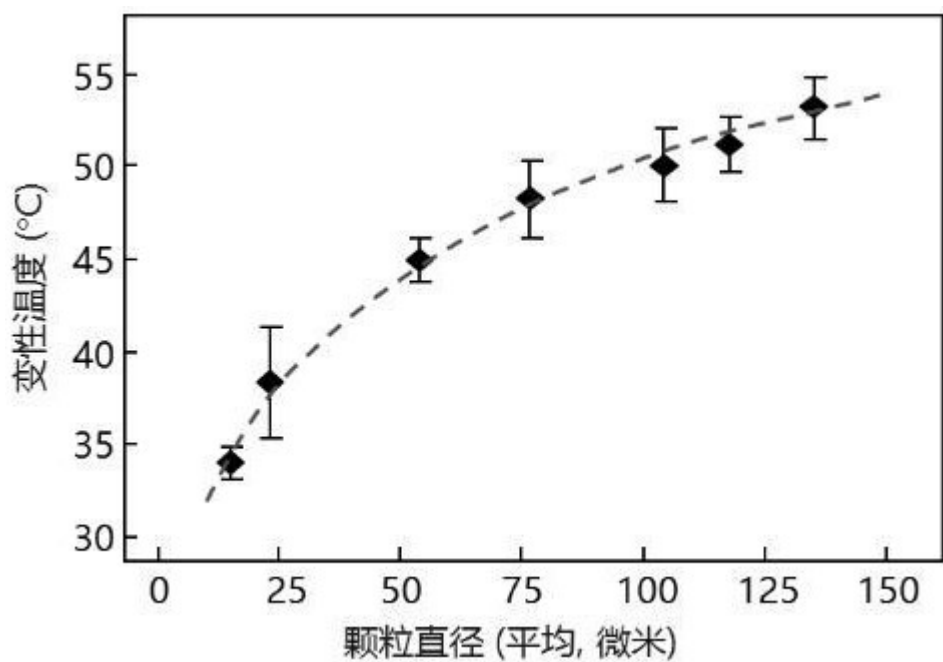


图3

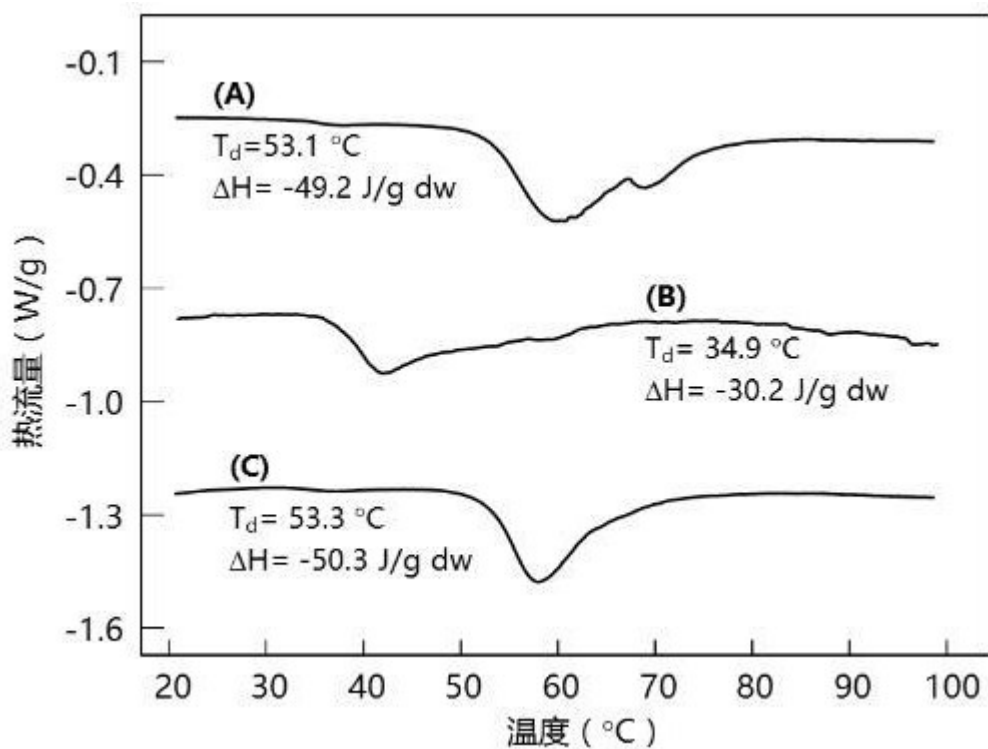


图4