

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200910034583.9

[51] Int. Cl.

A61F 2/02 (2006.01)
A61B 17/00 (2006.01)
A61L 27/26 (2006.01)
A61L 27/24 (2006.01)
A61L 31/06 (2006.01)

[43] 公开日 2010 年 3 月 10 日

[11] 公开号 CN 101664346A

[22] 申请日 2009.9.2

[21] 申请号 200910034583.9

[71] 申请人 南通大学

地址 226019 江苏省南通市啬园路 9 号

[72] 发明人 杨宇民 顾晓松 丁 斐 徐山青
严晓莉

[74] 专利代理机构 南通市永通专利事务所
代理人 葛 雷

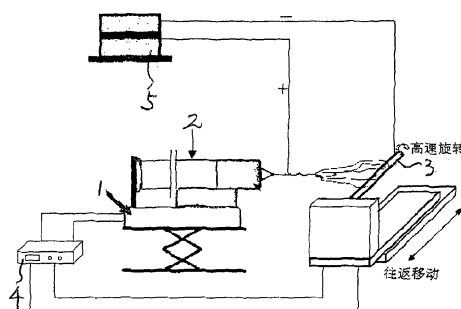
权利要求书 2 页 说明书 6 页 附图 1 页

[54] 发明名称

静电纺丝制备的人工神经移植物及其制备方法和专用装置

[57] 摘要

本发明公开了一种静电纺丝制备的人工神经移植物及其制备方法和专用装置，产品是由聚合物经静电纺丝方法制备的纳米纤维组成的导管状神经移植物。本发明的产品所用材料均为可降解性材料，与人体有着良好的生物相容性。制得的产品不含有由于制备工艺带入的外源性毒、副作用物质。导管管壁具有丰富微孔的三维结构，为神经细胞生长过程所需的营养物质的输送提供了必须的途径，使用效果好。为神经细胞的生长提供了必要的诱导作用和必须的生长空间。



1、一种静电纺丝制备的人工神经移植物，其特征是：由聚合物经静电纺丝方法制备的纳米纤维组成的导管状神经移植物。

2、根据权利要求 1 所述的静电纺丝制备的人工神经移植物，其特征是：聚合物是丝素蛋白、壳聚糖、聚乙醇酸、聚己内酯、胶原、聚乳酸和明胶等中的一种或几种。

3、一种静电纺丝制备的人工神经移植物的制备方法，其特征是：将聚合物溶解在溶剂中，制成纺丝原液，然后采用静电纺丝工艺，经静电纺丝溶液喷射器将纺丝溶液喷射在作旋转和往返移动的收集辊上，形成纳米纤维，并在收集辊上形成管子，将管子取下进行后处理，得导管状人工神经移植物。

4、根据权利要求 3 所述的静电纺丝制备的人工神经移植物的制备方法，其特征是：将蚕丝在 0.1~10%碳酸钠或 0.1~10%碳酸钾中 50~100℃加热处理，然后将处理后的纤维用蒸馏水清洗得到丝素蛋白纤维，将蚕丝丝素蛋白纤维于 25-80℃下，溶解在氯化钙、乙醇和水的三元体系中，该三元体系的摩尔比是氯化钙：乙醇：水=1：2：8，溶解时间为 0.5~6 小时，将溶解的混合溶液装入纤维素膜袋，用蒸馏水透析，然后将透析后的丝素溶液注入平板模具，经干燥后得丝素蛋白膜，将得到的丝素膜用甲酸进行溶解成纺丝液，然后用静电纺丝工艺进行成型加工，溶液浓度 13%，电压 20 KV，溶液流速 0.3 ml/h，针尖与收集屏之间的距离 7-11 cm，收集辊平移速度 1.5m/小时，转速为 150 转/分钟。再将初步成型的丝素蛋白导管放入乙醇溶液进行后处理，然后用蒸馏水

清洗，得到导管状纳米纤维蚕丝丝素蛋白人工神经移植植物。

5、根据权利要求 3 所述的静电纺丝制备的人工神经移植物的制备方法，其特征是：将壳聚糖用弱酸溶解，弱酸是醋酸、磷酸、柠檬酸、或乳酸，浓度为 2~15%，加入浓度为 5~25%的胶原溶液制备成纺丝液，然后用静电纺丝工艺进行成型加工，溶液浓度 10%，电压 25 KV，溶液流速 0.2 ml/h，针尖与收集屏之间的距离 8-11 cm，收集辊平移速度 2m/小时，转速为 90 转/分钟。再将初步成型的导管先后用 1 mol/L 氢氧化钠溶液、50mmol/L 磷酸盐缓冲液及蒸馏水清洗，得到导管状纳米纤维壳聚糖/胶原复合人工神经移植植物。

6、根据权利要求 3 所述的静电纺丝制备的人工神经移植物的制备方法，其特征是：将聚乙醇酸、聚乳酸或乙醇酸乳酸共聚物用氯仿溶解成纺丝溶液，然后用静电纺丝工艺进行成型加工，溶液浓度 10-20%，电压 20-30 KV，溶液流速 0.2 ml/h，针尖与收集屏之间的距离 7-11 cm，收集辊平移速度 2m/小时，转速为 70-130 转/分钟。再将初步成型的导管放入的乙醇溶液进行后处理后，然后先后用蒸馏水清洗，分别得到导管状纳米纤维聚乙醇酸、聚乳酸或乙醇酸乳酸共聚物的人工神经移植植物。

7、一种制备权利要求 1 所述的静电纺丝制备的人工神经移植物的专用装置，其特征是：包括微量计量泵，微量计量泵与纺丝溶液喷射器连接，纺丝溶液喷射器的喷丝方向上设置同时作旋转和往返移动的收集辊，一个计算机控制装置控制微量计量泵、纺丝溶液喷射器及收集辊的工作，高压静电发生器为装置提供高压静电。

静电纺丝制备的人工神经移植物及其制备方法和专用装置

技术领域:

本发明涉及一种用于桥接损伤周围神经并促进其再生修复的人工神经移植物及其制备方法。

背景技术:

随着社会主义现代化进程和人们生活节奏的加快,不可避免的会出现更多的交通事故、工伤事故、运动意外等事件,同时频繁的局部战争和暴力事件及地震等自然灾害,均会造成周围神经损伤,临床上但当中长距离的神经缺损不能依靠端对端的缝合来弥补神经缺失时,就不得不依靠移植物来桥接修复。寻找和研制较为合适的移植物问题虽然已有一百多年的历史了,但除了自体神经成为首选的神经缺损桥接移植物外,至今在人类仍在寻找理想的,能够在临床上广泛应用的神​​经移植替代物。就自体神经移植中,因为供移植用的神经来源有限、组织结构和尺寸难以匹配、移植供区长期失神经支配等原因,也未能在临床上广泛使用。

随着组织工程学的出现和发展,为构建自体神经移植替代品提供了一条新的出路。已有的人工神经移植物的制备主要有两条途径,一是利用原有的管道,如化学去细胞同种异体神经,就是利用原来神经的管道,将异体细胞去掉。二是利用适当的模具,采用溶液浇注法来制备,如我们先前制备的壳聚糖和丝素蛋白医用人工神经移植物。

静电纺丝 (electrostatic spinning) 是目前制备纳米纤维最重要的方法之一。这一技术的核心是聚合物溶液在几千到几万伏高压静电作用下, 电场力克服聚合物溶液的表面张力, 在电场力作用下喷射形成一股稳定的喷射流体, 最后溶剂挥发, 带电流体在电场力作用下被收集装置收集, 产物是由纳米级纤维组成的类似无纺布状的纤维网、膜。

静电纺丝产物拥有很大的比表面积; 且拥有很多尺度不等的孔间隙, 其纳米级的纤维构成的网状结构与细胞外基质结构比较相似, 利于细胞的黏附, 因而能够促进组织的再生。

发明内容:

本发明的目的在于提供一种利于细胞的黏附, 能够促进组织的再生的静电纺丝制备的人工神经移植体及其制备方法和专用装置。

本发明的技术解决方案是:

一种静电纺丝制备的人工神经移植体, 其特征是: 由聚合物经静电纺丝方法制备的纳米纤维组成的导管状神经移植体。

聚合物是丝素蛋白、壳聚糖、聚乙醇酸、聚己内酯、胶原、聚乳酸和明胶等中的一种或几种。

一种静电纺丝制备的人工神经移植体的制备方法, 其特征是: 将聚合物溶解在溶剂中, 制成纺丝原液, 然后采用静电纺丝工艺, 经静电纺丝溶液喷射器将纺丝溶液喷射在作旋转和往返移动的收集辊上, 形成纳米纤维, 并在收集辊上形成管子, 将管子取下进行后处理, 得导管状人工神经移植体。

一种制备静电纺丝制备的人工神经移植体的专用装置, 其特征是:

包括微量计量泵，微量计量泵与纺丝溶液喷射器连接，纺丝溶液喷射器的喷丝方向上设置同时作旋转和往返移动的收集辊，一个计算机控制装置控制微量计量泵、纺丝溶液喷射器及收集辊的工作，高压静电发生器为装置提供高压静电。

在制备上述人工神经移植物中或者制备后，还可加入有治疗作用的细胞因子，如神经生长因子（NGF）、神经营养因子-3（NT-3）、脑源性神经营养因子（BDNF）、胶质细胞源性神经营养因子（GDNF），它们可单独种类使用，也可联合使用。

制备好的人工神经移植物内还可添加含有治疗作用的种子细胞，种子细胞的类型可以是骨髓基质干细胞、神经干细胞、雪旺氏细胞、嗅鞘细胞、胚胎干细胞等，它们可单独细胞种类使用，也可几种细胞联合使用。

本发明的产品所用材料均为可降解性材料，与人体有着良好的生物相容性。制得的产品不含有由于制备工艺带入的外源性毒、副作用物质。导管管壁具有丰富微孔的三维结构，为神经细胞生长过程所需的营养物质的输送提供了必须的途径，使用效果好。为神经细胞的生长提供了必要的诱导作用和必须的生长空间。

我们将以上制得的产品在体外与神经组织细胞联合培养，经形态观察、酶代谢活力测定、神经生长因子的表达测定，显示该产品具有良好的组织相容性。大鼠动物体内使用该产品修复坐骨神经1厘米距离缺损，标明该产品能有利于神经再生，导致恢复损伤神经功能的恢复，同时该

产品具有很好的生物相容性。

由于静电纺丝产物拥有很大的比表面积；且拥有很多尺度不等的孔间隙，其纳米级的纤维构成的网状结构与细胞外基质结构比较相似，利于细胞的黏附，因而能够促进组织的再生，因此构成的人工神经移植植物不仅具有良好生物相容性和生物可降解性，还具有良好的力学性能。同时该人工神经移植植物可结合治疗用的细胞因子、药物或者种子细胞。

下面结合附图和实施例对本发明作进一步说明。

图1是本发明制备人工神经移植物的专用装置结构示意图。

具体实施方式：

一种制备静电纺丝制备的人工神经移植物的专用装置，包括微量计量泵1，微量计量泵与纺丝溶液喷射器2连接，纺丝溶液喷射器的喷丝方向上设置同时作旋转和往返移动的收集辊3，一个计算机控制装置4控制微量计量泵、纺丝溶液喷射器及收集辊的工作，高压静电发生器5为装置提供高压静电。

实施例1：

将蚕丝在弱碱溶液（0.1~10%碳酸钠或0.1~10%碳酸钾）中50~100℃加热处理，然后将处理后的纤维用蒸馏水清洗得到丝素蛋白纤维，将上述制备的部分蚕丝丝素蛋白纤维于25-80℃（例25℃、50℃、80℃）下，溶解在氯化钙、乙醇和水的三元体系中（摩尔比是氯化钙：乙醇：水=1：2：8），溶解时间为0.5~6小时（例0.5、3、6小时）将溶解的混合溶液装入纤维素膜袋，用蒸馏水透析。然后将透析后的丝素溶液注入平板模具，经干燥后得丝素蛋白膜，将得到的丝素膜用甲酸进行溶

解成纺丝原液，溶液浓度 13%（质量浓度），然后采用静电纺丝工艺用上述制备静电纺丝制备的人工神经移植物的专用装置进行成型加工，由微量计量泵计量后纺丝原液进入溶液喷射器，将纺丝溶液喷射在作旋转和往返移动的收集辊上，形成纳米纤维，并在收集辊上形成管子，上述成型加工时高压静电发生器电压 20 KV，溶液喷射速度 0.3 ml/h，溶液喷射器端部与收集辊之间的距离 7-11 cm，收集辊平移速度 1.5m/小时，转速为 150 转/分钟。再将初步成型的丝素蛋白导管放入的乙醇溶液进行后处理后，然后先后用蒸馏水清洗，得到纳米纤维蚕丝丝素蛋白人工神经移植物。

实施例 2:

将壳聚糖用弱酸溶解，弱酸是醋酸（或磷酸、柠檬酸、乳酸），浓度为 2~15%（例 2%、8%、15%），加入一定浓度的胶原溶液（例 5%、25%、50%）制备成浓度（质量浓度）为 10%的纺丝原液，然后采用静电纺丝工艺用上述制备静电纺丝制备的人工神经移植物的专用装置进行成型加工，由微量计量泵计量后纺丝原液进入溶液喷射器，将纺丝溶液喷射在作旋转和往返移动的收集辊上，形成纳米纤维，并在收集辊上形成管子，上述成型加工时高压静电发生器电压 25 KV，溶液喷射速度 0.2 ml/h，溶液喷射器端部与收集辊之间的距离 8-11 cm，收集辊平移速度 2m/小时，转速为 90 转/分钟。再将初步成型的导管先后用氢氧化钠（1 mol/L）溶液、50mmol/L 磷酸盐缓冲液及蒸馏水清洗，得到纳米纤维壳聚糖/胶原复合人工神经移植物。

实施例 3:

将聚乙醇酸(PGA)、聚乳酸 (PLA)、或乙醇酸乳酸共聚物(PLGA, 50/50)用氯仿溶解成纺丝溶液, 溶液浓度 10-20% (质量浓度), 然后采用静电纺丝工艺用上述制备静电纺丝制备的人工神经移植物的专用装置进行成型加工, 由微量计量泵计量后纺丝原液进入溶液喷射器, 将纺丝溶液喷射在作旋转和往返移动的收集辊上, 形成纳米纤维, 并在收集辊上形成管子, 上述成型加工时高压静电发生器电压 20-30 KV, 溶液喷射速度 0.2 ml/h, 溶液喷射器端部与收集辊之间的距离 7-11 cm, 收集辊平移速度 2m/小时, 转速为 70-130 转/分钟。再将初步成型的导管放入的乙醇溶液进行后处理后, 然后先后用蒸馏水清洗, 分别得到纳米纤维聚乙醇酸、聚乳酸, 或乙醇酸乳酸共聚物的人工神经移植植物。

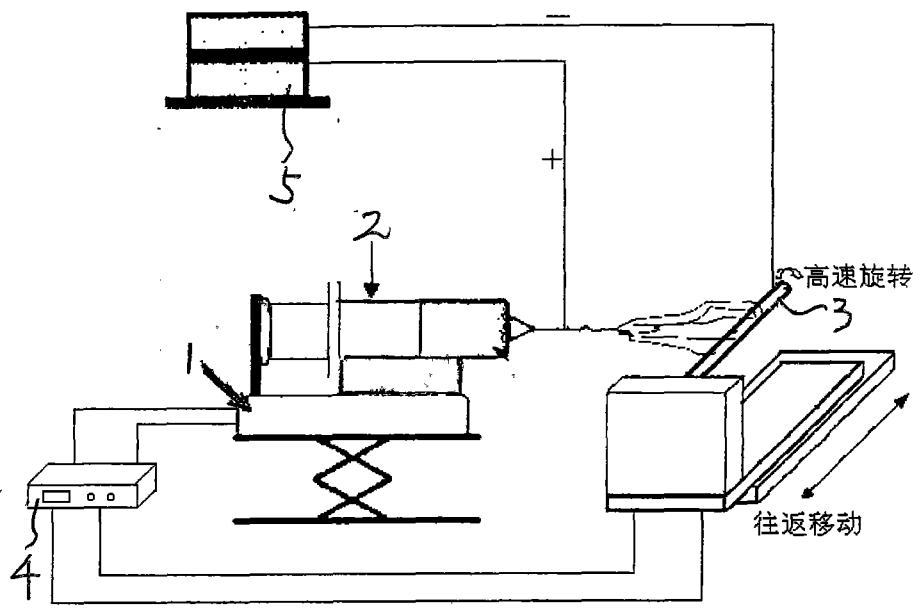


图1