



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104473706 A

(43) 申请公布日 2015. 04. 01

(21) 申请号 201410750552. 4

(22) 申请日 2014. 12. 09

(71) 申请人 金华市人民医院

地址 321000 浙江省金华市婺城区新华街
228 号

(72) 发明人 杜小文

(74) 专利代理机构 金华科源专利事务所有限公
司 33103

代理人 胡杰平

(51) Int. Cl.

A61F 2/82(2013. 01)

A61L 31/04(2006. 01)

A61L 31/10(2006. 01)

A61L 31/14(2006. 01)

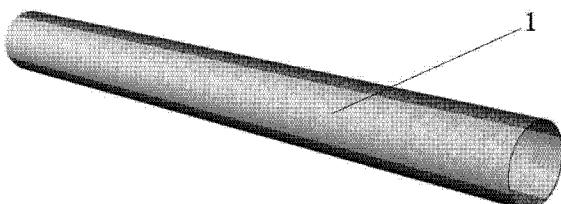
权利要求书1页 说明书4页 附图3页

(54) 发明名称

一种可降解的复合型管状尿道支架及制备方
法

(57) 摘要

本发明是一种可降解的复合型管状尿道支架及制备方法。本发明的目的是针对现有补片材料取量受限、取材部位易引起并发症的不足之处，提供一种可降解的复合型管状尿道支架及制备方法。本发明是一种可降解的组织工程支架，包括内层和外层，内层为管状，外层设在内层的外表面上；所述的内层和外层均采用可降解的高分子材料和脱细胞基质制成，所述的可降解高分子材料采用聚乳酸-羟基乙酸共聚物 PLGA 薄膜，所述的脱细胞基质采用小肠脱细胞基质 SIS 薄膜；聚乳酸-羟基乙酸共聚物 PLGA 薄膜与小肠脱细胞基质 SIS 薄膜之间相互连接在一起。采用本发明进行尿道复合与重建，无需进行自体取材取材，避免了取材部位可能引起的并发症。



1. 一种可降解的复合型管状尿道支架，其特征在于该可降解的复合型管状尿道支架是一种可降解的组织工程支架，包括内层和外层，内层为管状，外层设在内层的外表面上；所述的内层和外层均采用可降解的高分子材料和脱细胞基质制成。

2. 根据权利要求 1 所述的一种可降解的复合型管状尿道支架，其特征在于所述的制成内层和外层的可降解高分子材料采用聚乳酸-羟基乙酸共聚物 PLGA 薄膜，所述的脱细胞基质采用小肠脱细胞基质 SIS 薄膜；聚乳酸-羟基乙酸共聚物 PLGA 薄膜与小肠脱细胞基质 SIS 薄膜之间相互连接在一起。

3. 根据权利要求 1 或 2 所述的一种可降解的复合型管状尿道支架，其特征在于所述的外层 2 通过螺旋方式缠绕在内层的外表面上。

4. 根据权利要求 2 所述的一种可降解的复合型管状尿道支架，其特征在于所述的聚乳酸-羟基乙酸共聚物 PLGA 薄膜与小肠脱细胞基质 SIS 薄膜之间通过线缝合在一起；所述的聚乳酸-羟基乙酸共聚物 PLGA 薄膜与小肠脱细胞基质 SIS 薄膜均呈条形结构。

5. 根据权利要求 4 所述的一种可降解的复合型管状尿道支架，其特征在于所述的内层上的聚乳酸-羟基乙酸共聚物 PLGA 薄膜和小肠脱细胞基质 SIS 薄膜水平放置，纵向间隔排布缝合在一起呈片状，环绕导尿管外侧缝合成管状。

6. 根据权利要求 4 所述的一种可降解的复合型管状尿道支架，其特征在于所述的外层上的聚乳酸-羟基乙酸共聚物 PLGA 薄膜和小肠脱细胞基质 SIS 薄膜水平间隔排布并缝合在一起呈长条状。

7. 根据权利要求 1 至 6 中任一项所述的一种可降解的复合型管状尿道支架的制备方法，其特征在于该制备方法包括以下步骤：

(1) 将高分子材料聚乳酸 PLA 和聚羟基乙酸 PGA 按 50:50 ~ 85:15 的摩尔比混合，采用静电纺丝技术制得聚乳酸-羟基乙酸共聚物 PLGA 纳米级电纺纤维膜，在制得的电纺纤维膜表面接枝 I 型胶原蛋白进行改性，得到改性后的聚乳酸-羟基乙酸共聚物 PLGA 薄膜；

(2) 将小肠粘膜下层细胞组织浸泡于由体积浓度为 0.2% 的聚乙二醇辛基苯基醚 -100 (Triton X-100) 和体积浓度为 0.03% 的氨水混合制成的脱细胞液中，振荡脱细胞后在 -40℃ ~ -50℃ 温度下进行低温冷冻并真空干燥处理，得到小肠脱细胞基质 SIS 薄膜；

(3) 根据尿道管径要求，将由步骤 (1) 得到的聚乳酸-羟基乙酸共聚物 PLGA 薄膜和步骤 (2) 得到的小肠脱细胞基质 SIS 薄膜制成规则的矩形，用线缝合得到内层和外层。

8. 根据权利要求 7 所述的一种可降解的复合型管状尿道支架的制备方法，其特征在于所述的线采用尼龙线。

9. 根据权利要求 7 或 8 所述的一种可降解的复合型管状尿道支架的制备方法，其特征在于所述的聚乳酸 PLA 和聚羟基乙酸 PGA 的摩尔比为 75:25。

10. 根据权利要求 7 或 8 所述的一种可降解的复合型管状尿道支架的制备方法，其特征在于采用气液相培养方法在内层上接种血管内皮生长因子 (VEGF) 165 基因转染的脂肪间充质干细胞，在外层上接种由脂肪间充质干细胞转化的平滑肌细胞。

一种可降解的复合型管状尿道支架及制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及医学技术领域,特别是一种可降解的复合型管状尿道支架及制备方法。

背景技术

[0002] 外伤性或医源性尿道损伤,淋菌性或非特异性尿道炎及先天性尿道病变等各种因素引起的尿道狭窄,是泌尿外科医师面临的难题之一。常规治疗方法包括尿道扩张、尿道内切开、尿道端端吻合术等仅适用于距离较短的尿道狭窄患者,针对长段尿道狭窄的患者主要采用替代手术治疗,生殖器皮肤、膀胱黏膜、阴茎白膜、口腔黏膜以及舌黏膜都被用于作为尿道修复手术的补片材料;但取材通常会引起取材部位的并发症,且取材量受到限制。

发明内容

[0003] 本发明的目的是针对现有长段尿道狭窄治疗方法中存在取材时造成创伤、材料取量受限、取材部位易引起并发症的不足之处,提供一种可降解的复合型管状尿道支架及制备方法。

[0004] 本发明是通过如下方式完成的:一种可降解的复合型管状尿道支架,该可降解的复合型管状尿道支架是一种可降解的组织工程支架,包括内层和外层,内层为管状,外层设在内层的外表面上;所述的内层和外层均采用可降解的高分子材料和脱细胞基质制成。

[0005] 在所述的一种可降解的复合型管状尿道支架中,所述的制成内层和外层的可降解高分子材料采用聚乳酸-羟基乙酸共聚物PLGA薄膜,所述的脱细胞基质采用小肠脱细胞基质SIS薄膜;聚乳酸-羟基乙酸共聚物PLGA薄膜与小肠脱细胞基质SIS薄膜之间相互连接在一起。

[0006] 在所述的一种可降解的复合型管状尿道支架中,所述的聚乳酸-羟基乙酸共聚物PLGA薄膜与小肠脱细胞基质SIS薄膜之间通过线缝合在一起;所述的聚乳酸-羟基乙酸共聚物PLGA薄膜与小肠脱细胞基质SIS薄膜均呈条形结构;所述的线是采用9/0尼龙线。

[0007] 在所述的一种可降解的复合型管状尿道支架中,所述的外层通过螺旋方式缠绕在内层的外表面上。

[0008] 在所述的一种可降解的复合型管状尿道支架中,所述的内层上的聚乳酸-羟基乙酸共聚物PLGA薄膜和小肠脱细胞基质SIS薄膜水平放置,纵向间隔排布缝合在一起呈片状,环绕导尿管外侧缝合成管状。

[0009] 在所述的一种可降解的复合型管状尿道支架中,所述的外层上的聚乳酸-羟基乙酸共聚物PLGA薄膜和小肠脱细胞基质SIS薄膜水平间隔排布并缝合在一起呈长条状。

[0010] 在所述的一种可降解的复合型管状尿道支架中,所述的内层由二条矩形的聚乳酸-羟基乙酸共聚物PLGA薄膜与二条矩形的小肠脱细胞基质SIS薄膜纵向间隔排布组成;所述的外层由二条矩形状的聚乳酸-羟基乙酸共聚物PLGA薄膜与二条矩形状的小肠脱细胞基质SIS薄膜水平间隔排布并缝合在一起。

- [0011] 本发明的一种可降解的复合型管状尿道支架的制备方法包括以下步骤：
- [0012] (1) 将高分子材料聚乳酸 PLA 和聚羟基乙酸 PGA 按 50:50 ~ 85:15 的摩尔比混合，采用静电纺丝技术制得聚乳酸 - 羟基乙酸共聚物 PLGA 纳米级电纺纤维膜，在制得的电纺纤维膜表面接枝 I 型胶原蛋白进行改性，得到改性后的聚乳酸 - 羟基乙酸共聚物 PLGA 薄膜；
- [0013] (2) 将小肠黏膜下层细胞组织浸泡于脱细胞液中，脱细胞液由体积浓度为 0.2% 的聚乙二醇辛基苯基醚 -100 (Triton X-100) 和体积浓度为 0.03% 的氨水混合制成，振荡脱细胞后在 -40℃ ~ -50℃ 温度下进行低温冷冻并真空干燥得到小肠脱细胞基质 SIS 薄膜；
- [0014] (3) 根据尿道管径要求，将由步骤 (1) 得到的聚乳酸 - 羟基乙酸共聚物 PLGA 薄膜和步骤 (2) 得到的小肠脱细胞基质 SIS 薄膜制成规则的矩形，用线缝合得到内层和外层。
- [0015] 在所述的一种可降解的复合型管状尿道支架的制备方法中，所述的线采用尼龙线。
- [0016] 在所述的一种可降解的复合型管状尿道支架的制备方法中，所述的聚乳酸 PLA 和聚羟基乙酸 PGA 的摩尔比为 75:25。
- [0017] 在所述的一种可降解的复合型管状尿道支架的制备方法中，所述的步骤 (1) 制得的聚乳酸 - 羟基乙酸共聚物 PLGA 的纳米级电纺纤维膜厚度为 0.35 ~ 0.45mm，孔隙率为 85% ~ 95%，电纺丝直径为 300 ~ 450nm，孔径为 60 ~ 100 μm。
- [0018] 在所述的一种可降解的复合型管状尿道支架的制备方法中，所述的一种可降解的复合型管状尿道支架的制备方法采用气液相培养方法在内层上接种血管内皮生长因子 (VEGF) 165 基因转染的脂肪间充质干细胞，在外层上接种由脂肪间充质干细胞转化的平滑肌细胞。
- [0019] 本发明一种可降解的复合型管状尿道支架的支架微观结构为三维多孔状，具有良好的生物相容性及力学性质，兼备弹性与柔韧性，能在体内保持稳定的管状形态；本发明采用的是高分子生物材料和脱细胞基质，有利于种子细胞黏附、增殖和分化，促进周围组织的生长；两种材料在体内可按各自的方式逐步分解为小分子物质而自然吸收，无需取出。
- [0020] 采用本发明进行尿道修复与重建，无需进行自体取材，避免了取材部位可能引起的并发症；尿道粘膜上皮细胞、干细胞、平滑肌细胞等能在支架上粘附和增殖，可直接用于尿道修复与重建，适合临床应用。

附图说明

- [0021] 图 1 为本发明一种可降解的复合型管状尿道支架内层的结构示意图。
- [0022] 图 2 为本发明一种可降解的复合型管状尿道支架外层的结构示意图。
- [0023] 图 3 为图 1 的展开示意图。
- [0024] 图 4 为图 2 的展开示意图。
- [0025] 图 5 为聚乳酸 - 羟基乙酸共聚物 PLGA 薄膜的电镜图。
- [0026] 图 6 为小肠脱细胞基质 SIS 薄膜的电镜图。
- [0027] 在附图 1 ~ 6 中，1 表示内层；2 表示外层；3 表示聚乳酸 - 羟基乙酸共聚物 PLGA 薄膜；4 表示小肠脱细胞基质 SIS 薄膜。

具体实施方式

- [0028] 下面对照附图 1 ~ 6,通过实施例对本发明作进一步说明。
- [0029] 实施例 1
- [0030] 一种可降解的复合型管状尿道支架的制备方法,该制备方法包括以下步骤:
- [0031] (1) 将高分子材料聚乳酸 PLA 和聚羟基乙酸 PGA 按摩尔比 50:50 的比例混合,采用静电纺丝技术制得聚乳酸 - 羟基乙酸共聚物 PLGA 纳米级电纺纤维膜,在制得的电纺纤维膜表面接枝 I 型胶原蛋白进行改性,得到改性后的聚乳酸 - 羟基乙酸共聚物 PLGA 薄膜;
- [0032] (2) 将小肠粘膜下层细胞组织浸泡于由体积浓度为 0.2% 的聚乙二醇辛基苯基醚 -100 (Triton X-100) 和体积浓度为 0.03% 的氨水混合制成的脱细胞液中,振荡脱细胞后在 -40℃ 温度下进行低温冷冻并真空干燥处理,得到小肠脱细胞基质 SIS 薄膜;
- [0033] (3) 根据尿道管径要求,将由步骤 (1) 得到的聚乳酸 - 羟基乙酸共聚物 PLGA 薄膜和步骤 (2) 得到的小肠脱细胞基质 SIS 薄膜制成规则的矩形,用 9/0 尼龙线缝合得到内层 1 和外层 2。
- [0034] 无菌取出新西兰大白兔的腹股沟脂肪,胶原酶法分离出兔脂肪间充质干细胞 (ADMSCs),并进行贴壁培养法体外培养;对培养后的脂肪间充质干细胞 (ADMSCs) 采用慢病毒转染的方法构建过表达血管内皮生长因子 (VEGF) 165,获得血管内皮生长因子 (VEGF) 165 基因转染的脂肪间充质干细胞;培养后的脂肪间充质干细胞 (ADMSCs) 在 20ng/ml 的血小板衍生生长因子 (PDGF-BB) 常规培养条件下诱导 2 周,分化成平滑肌细胞;采用气液相培养方法在由上述制备方法得到的内层 1 上接种血管内皮生长因子 (VEGF) 165 基因转染的脂肪间充质干细胞,在外层 2 上接种由脂肪间充质干细胞转化的平滑肌细胞;外层 2 设在内层 1 的外侧面上;所述的内层 1 为管状结构,由二条长度为 30mm、宽度为 3mm 的长方形形状的聚乳酸 - 羟基乙酸共聚物 PLGA 薄膜与二条长度为 30mm、宽度为 3mm 长方形形状的小肠脱细胞基质 SIS 薄膜纵向间隔排布缝合在一起呈片状,环绕导尿管外侧缝合成管状;外层 2 由二条长度为 30mm、宽度为 3mm 长方形形状的聚乳酸 - 羟基乙酸共聚物 PLGA 与二条长度为 30mm、宽度为 3mm 长方形形状的小肠脱细胞基质 SIS 水平间隔排布并缝合制成长条状,外层 2 螺旋缠绕在内层 1 的外表面上。
- [0035] 图 5 为获得的聚乳酸 - 羟基乙酸共聚物 PLGA 薄膜的电镜图;图 6 为获得的小肠脱细胞基质 SIS 薄膜的电镜图。
- [0036] 实施例 2
- [0037] 一种可降解的复合型管状尿道支架的制备方法,该制备方法包括以下步骤:
- [0038] (1) 将高分子材料聚乳酸 PLA 和聚羟基乙酸 PGA 按摩尔比 75:25 的比例混合,采用静电纺丝技术制得聚乳酸 - 羟基乙酸共聚物 PLGA 纳米级电纺纤维膜,厚度为 0.4mm,孔隙率为 90%,电纺丝直径为 300~450nm,孔径为 60~100 μm;在制得的电纺纤维膜表面接枝 I 型胶原蛋白进行改性,得到改性后的聚乳酸 - 羟基乙酸共聚物 PLGA 薄膜;
- [0039] (2) 将小肠粘膜下层细胞组织浸泡于由体积浓度为 0.2% 的聚乙二醇辛基苯基醚 -100 (Triton X-100) 和体积浓度为 0.03% 的氨水混合制成的脱细胞液中,振荡脱细胞后在 -42℃ 温度下进行低温冷冻处理并真空干燥处理,得到小肠脱细胞基质 SIS 薄膜;
- [0040] (3) 根据尿道管径要求,将由步骤 (1) 得到的聚乳酸 - 羟基乙酸共聚物 PLGA 薄膜和步骤 (2) 得到的小肠脱细胞基质 SIS 薄膜裁剪成规则的矩形,用 9/0 尼龙线缝合得到内

层 1 和外层 2。

[0041] 无菌取出新西兰大白兔的腹股沟脂肪，胶原酶法分离出兔脂肪间充质干细胞 (ADMSCs)，并进行贴壁培养法体外培养；对培养后的脂肪间充质干细胞 (ADMSCs) 采用慢病毒转染的方法构建过表达血管内皮生长因子 (VEGF) 165，获得血管内皮生长因子 (VEGF) 165 基因转染的脂肪间充质干细胞；培养后的脂肪间充质干细胞 (ADMSCs) 在 20ng/ml 的血小板衍生生长因子 (PDGF-BB) 常规培养条件下诱导 2 周，分化成平滑肌细胞；采用气液相培养方法在由上述制备方法得到的内层 1 上接种血管内皮生长因子 (VEGF) 165 基因转染的脂肪间充质干细胞，在外层 2 上接种由脂肪间充质干细胞转化的平滑肌细胞；外层 2 设在内层 1 的外侧面上；所述的内层 1 为管状结构，由二条长度为 30mm、宽度为 3mm 的长方形形状的聚乳酸 - 羟基乙酸共聚物 PLGA 薄膜与二条长度为 30mm、宽度为 3mm 长方形形状的小肠脱细胞基质 SIS 薄膜纵向间隔排布缝合在一起呈片状，环绕导尿管外侧缝合成管状；外层 2 由二条长度为 30mm、宽度为 3mm 长方形形状的聚乳酸 - 羟基乙酸共聚物 PLGA 与二条长度为 30mm、宽度为 3mm 长方形形状的小肠脱细胞基质 SIS 水平间隔排布并缝合制成长条状，外层 2 螺旋缠绕在内层 1 的外表面上。

[0042] 实施例 3

[0043] 一种可降解的复合型管状尿道支架的制备方法，该制备方法包括以下步骤：

[0044] (1) 将高分子材料聚乳酸 PLA 和聚羟基乙酸 PGA 按摩尔比 85:15 的比例混合，采用静电纺丝技术制得聚乳酸 - 羟基乙酸共聚物 PLGA 纳米级电纺纤维膜，在制得的电纺纤维膜表面接枝 I 型胶原蛋白进行改性，得到改性后的聚乳酸 - 羟基乙酸共聚物 PLGA 薄膜；

[0045] (2) 将小肠粘膜下层细胞组织浸泡于由体积浓度为 0.2% 的聚乙二醇辛基苯基醚 -100 (Triton X-100) 和体积浓度为 0.03% 的氨水混合制成的脱细胞液中，振荡脱细胞后在 -50℃ 温度下进行低温冷冻并真空干燥处理，得到小肠脱细胞基质 SIS 薄膜；

[0046] (3) 根据尿道管径要求，将由步骤 (1) 得到的聚乳酸 - 羟基乙酸共聚物 PLGA 薄膜和步骤 (2) 得到的小肠脱细胞基质 SIS 薄膜裁剪成规则的矩形，用 9/0 尼龙线缝合得到内层 1 和外层 2。

[0047] 无菌取出新西兰大白兔的腹股沟脂肪，胶原酶法分离出兔脂肪间充质干细胞 (ADMSCs)，并进行贴壁培养法体外培养；对培养后的脂肪间充质干细胞 (ADMSCs) 采用慢病毒转染的方法构建过表达血管内皮生长因子 (VEGF) 165，获得血管内皮生长因子 (VEGF) 165 基因转染的脂肪间充质干细胞；培养后的脂肪间充质干细胞 (ADMSCs) 在 20ng/ml 的血小板衍生生长因子 (PDGF-BB) 常规培养条件下诱导 2 周，分化成平滑肌细胞；采用气液相培养方法在由上述制备方法得到的内层 1 上接种血管内皮生长因子 (VEGF) 165 基因转染的脂肪间充质干细胞，在外层 2 上接种由脂肪间充质干细胞转化的平滑肌细胞；外层 2 设在内层 1 的外侧面上；所述的内层 1 为管状结构，由二条长度为 30mm、宽度为 3mm 的长方形形状的聚乳酸 - 羟基乙酸共聚物 PLGA 薄膜与二条长度为 30mm、宽度为 3mm 长方形形状的小肠脱细胞基质 SIS 薄膜纵向间隔排布缝合在一起呈片状，环绕导尿管外侧缝合成管状；外层 2 由二条长度为 30mm、宽度为 3mm 长方形形状的聚乳酸 - 羟基乙酸共聚物 PLGA 与二条长度为 30mm、宽度为 3mm 长方形形状的小肠脱细胞基质 SIS 水平间隔排布并缝合制成长条状，外层 2 螺旋缠绕在内层 1 的外表面上。

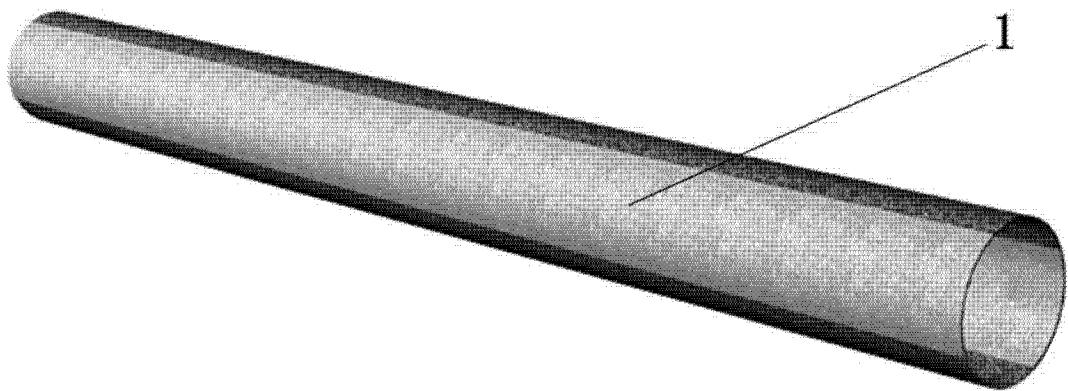


图 1

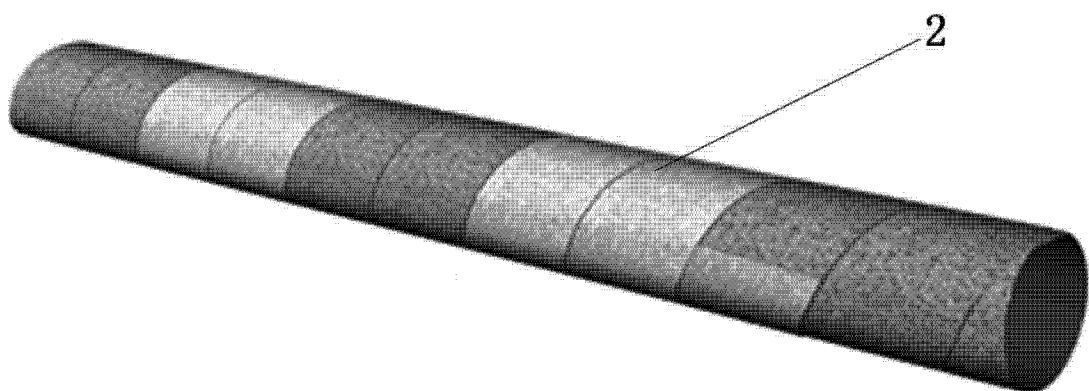


图 2

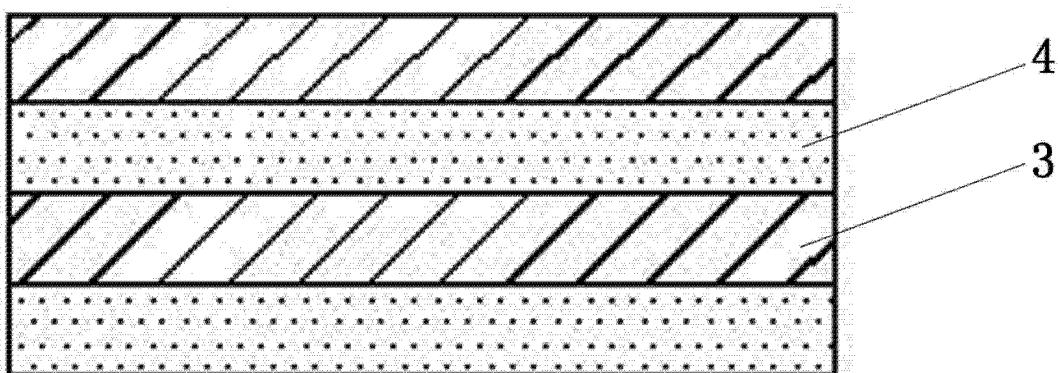


图 3

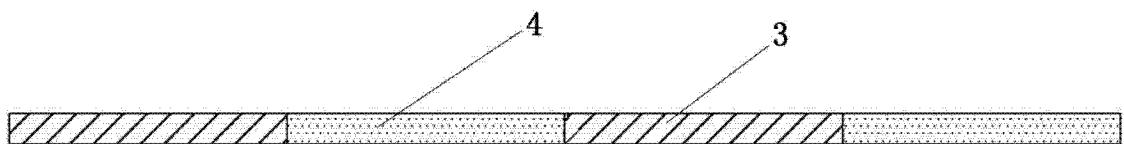


图 4

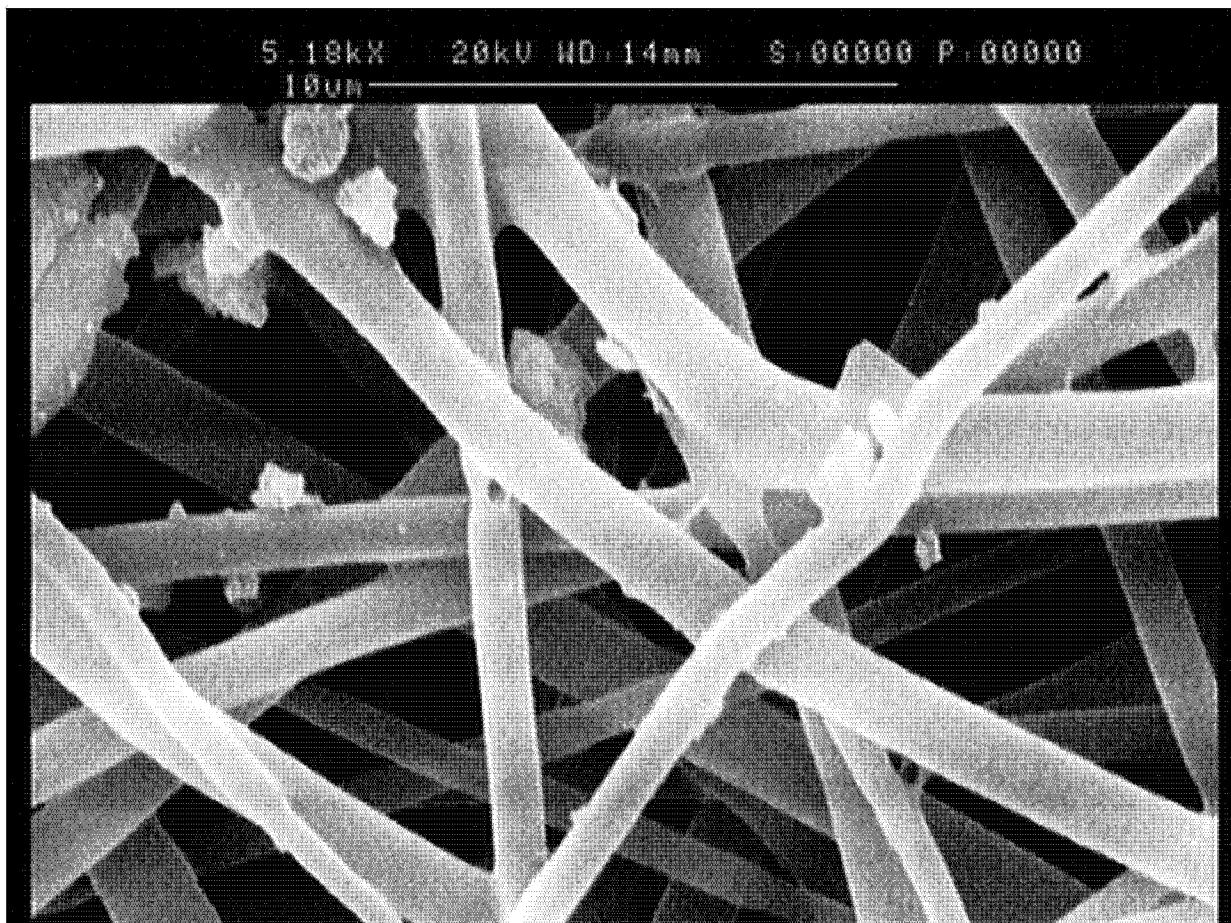


图 5

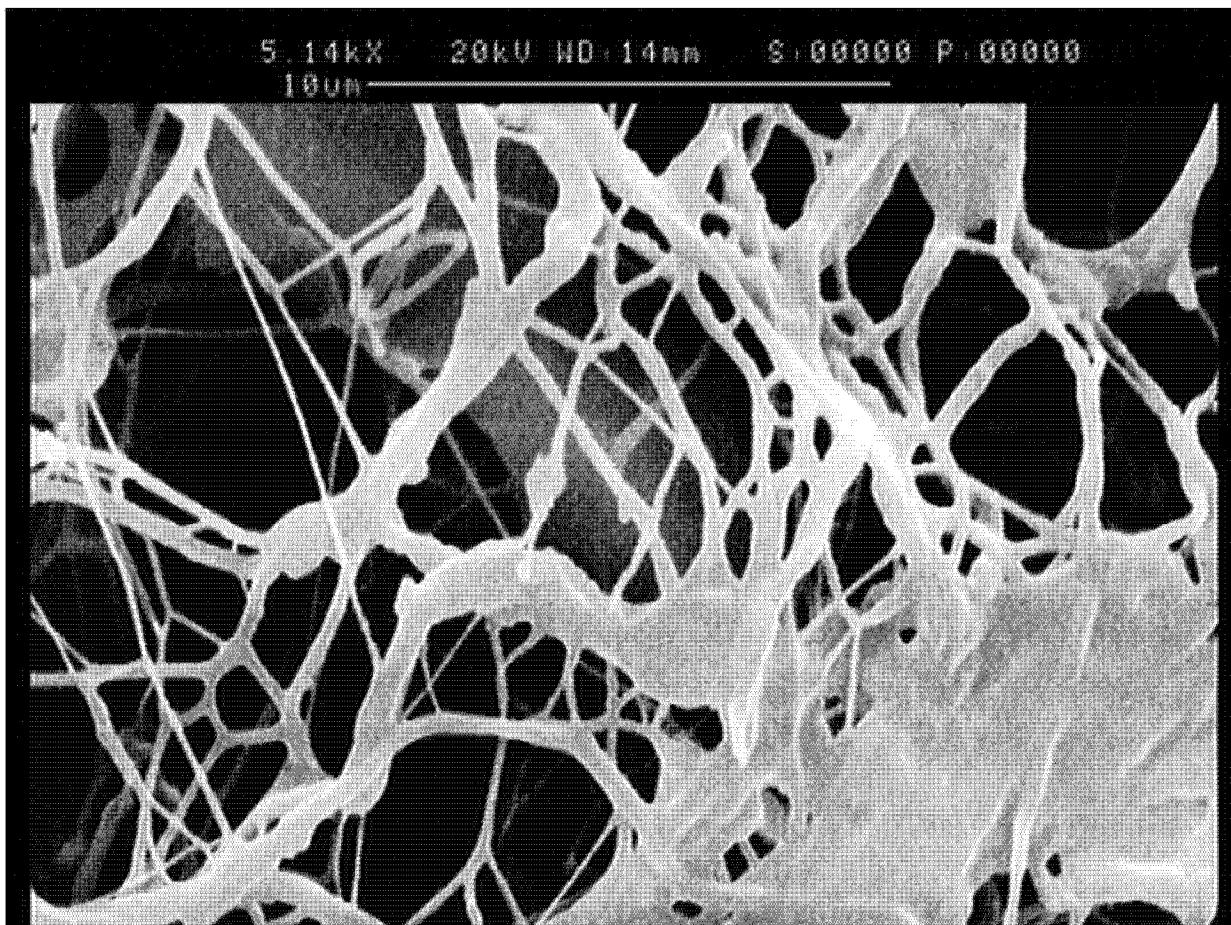


图 6