



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103976805 A

(43) 申请公布日 2014. 08. 13

(21) 申请号 201410235459. X

(22) 申请日 2014. 05. 29

(71) 申请人 西安交通大学

地址 710049 陕西省西安市咸宁西路 28 号

(72) 发明人 连芩 陈成 李涤尘 秦霆  
贺健康 李志朝 刘亚雄 靳忠民

(74) 专利代理机构 西安通大专利代理有限责任  
公司 61200

代理人 陆万寿

(51) Int. Cl.

A61F 2/08(2006. 01)

A61L 27/34(2006. 01)

A61L 27/52(2006. 01)

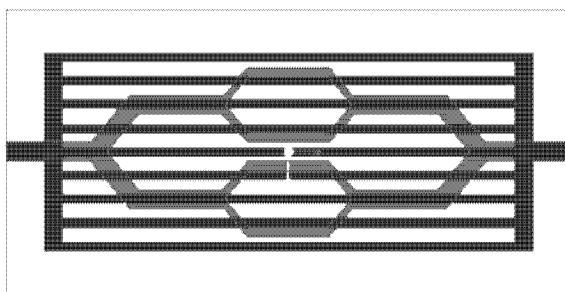
权利要求书2页 说明书4页 附图1页

(54) 发明名称

水凝胶 / 高分子聚合物薄膜肌肉组织支架的  
制造方法

(57) 摘要

本发明公开了一种水凝胶 / 高分子聚合物薄  
膜肌肉组织支架制造方法，通过层层叠加的方  
式获得三维支架结构。首先根据肌肉的结构特征设  
计制造出血管网络结构和定向流道两种模具，在  
使用静电纺丝技术制造出聚合物定向薄膜，将先  
制备支架单层平面结构，然后在将其他各层支架  
层层叠加到所述支架三维结构，再用最外层粘附  
的高分子聚合物薄膜将支架包裹起来获得，水凝  
胶 / 高分子聚合物薄膜支架。在水凝胶上制造血  
管网络和定向流道，通过定向流道可以实现细胞  
的定向生长，血管网络管道可以实现营养和氧气  
的供给，外围包裹的聚合物薄膜具有定向结构，也  
可实现周围细胞的定向生长，延伸出的薄膜，通过  
捆绑、缝合等实现支架的固定。



1. 一种水凝胶 / 高分子聚合物薄膜肌肉组织支架的制造方法, 其特征在于, 包括以下步骤 :

1) 绘制水凝胶 / 高分子聚合物薄膜肌肉组织支架的内部管道结构模型, 然后根据所述内部管道结构模型通过光固化快速成型机制备 N 个树脂件 ;

2) 配制硅胶溶液, 然后将步骤 1) 得到的 N 个树脂件分别固定在硅胶模上, 再将配制好的硅胶溶液注入硅胶模中, 然后再通过抽真空去除硅胶溶液中的气泡, 静置固化后脱模, 得 N 层硅胶模具 ;

3) 配制高分子聚合物 PLGA 溶液, 然后对配制好的高分子聚合物 PLGA 溶液进行静电纺丝, 得聚合物薄膜 ;

4) 对步骤 2) 得 N 层硅胶模具进行亲水处理 ;

5) 配制明胶溶液, 然后将配制好的明胶溶液通过抽真空去泡 ;

6) 配制谷氨酰胺转氨酶溶液, 然后将谷氨酰胺转氨酶溶液分成 N 份, 同时将步骤 5) 得到的经去泡后的明胶溶液分成 N 份, 将第一份谷氨酰胺转氨酶溶液及第一份经去泡后的明胶溶液混合均匀, 得第一份混合溶液 A, 然后将第一份混合溶液 A 注入到第一层硅胶模具中, 并将步骤 3) 得到的聚合物薄膜粘接在第一层硅胶模具的底面, 使聚合物薄膜与第一份混合溶液 A 形成的凝胶相粘合, 然后再经固化及脱模, 得支架单层平面结构 ;

7) 将第二份谷氨酰胺转氨酶溶液及第二份经去泡后的明胶溶液混合均匀, 得第二份混合溶液 A, 然后将第二份混合溶液 A 注入到第二层硅胶模具中, 并将支架单层平面结构的上部与第二份混合溶液 A 形成的凝胶的底部相粘结, 然后再进行脱模 ;

8) 将第 X 份谷氨酰胺转氨酶溶液及第 X 份经去泡后的明胶溶液混合均匀, 得第 X 份混合溶液 A, 然后将第 X 份混合溶液 A 注入到第 X 层硅胶模具中, 并将第 X-1 份混合溶液 A 形成的凝胶的上部与第 X 份混合溶液 A 形成的凝胶的底部相粘结, 然后再进行脱模, 其中,  $3 \leq X \leq N$  ;

9) 重复步骤 8), 得三维立体结构, 然后将步骤 3) 得到的聚合物薄膜包裹到三维立体结构的表面, 保温后, 得水凝胶 / 高分子聚合物薄膜肌肉组织支架。

2. 根据权利要求 1 所述水凝胶 / 高分子聚合物薄膜肌肉组织支架的制造方法, 其特征在于,

步骤 2) 中配制硅胶溶液的具体步骤为 : 取一定体积的硅胶及固化剂, 然后将固化剂溶入到硅胶中, 得硅胶溶液, 其中, 硅胶与固化剂的体积比为 100 : 1.5~2 ;

步骤 2) 中树脂件通过双面胶固定在硅胶模上, 放置 24~28h 固化。

3. 根据权利要求 1 所述水凝胶 / 高分子聚合物薄膜肌肉组织支架的制造方法, 其特征在于, 步骤 3) 中 PLGA 高分子聚合物溶液中的溶剂为去离子水, PLGA 高分子聚合物溶液的质量浓度为 15 ~ 20 % ;

步骤 3) 中对配制好的高分子聚合物 PLGA 溶液进行静电纺丝的过程中电压为 10~15kV, 流速为 0.1 ~ 0.3ml/min, 滚轮转速为 2800 ~ 3600r/min。

4. 根据权利要求 1 所述水凝胶 / 高分子聚合物薄膜肌肉组织支架的制造方法, 其特征在于,

步骤 4) 中对所述 N 层硅胶模具进行亲水处理的具体操作为 : 将所述 N 层硅胶模具放置到等离子清洗机中等离子清洗 2 ~ 5min。

5. 根据权利要求 1 所述水凝胶 / 高分子聚合物薄膜肌肉组织支架的制造方法, 其特征在于, 步骤 5) 中配制明胶溶液的具体过程为 : 称取一定量的明胶, 将明胶倒入一定体积的磷酸盐缓冲液中, 在温度为 60~70℃ 的条件下融化 30~40min, 搅拌均匀, 得明胶溶液, 明胶溶液中明胶的质量浓度为 10%~20%。

6. 根据权利要求 5 所述水凝胶 / 高分子聚合物薄膜肌肉组织支架的制造方法, 其特征在于,

混合溶液 A 中谷氨酰胺转氨酶的质量浓度为 1~1.2% ;

步骤 6) 中固化的固化时间为 4~6min ;

步骤 6) 中步骤 3) 得到的聚合物薄膜的定向方向与血管进出方向相一致。

7. 根据权利要求 1 所述水凝胶 / 高分子聚合物薄膜肌肉组织支架的制造方法, 其特征在于, 各份混合溶液 A 形成凝胶的时间均为 4~6min。

8. 根据权利要求 1 所述水凝胶 / 高分子聚合物薄膜肌肉组织支架的制造方法, 其特征在于, 步骤 9) 中保温的具体操作为 : 将三维立体结构放置到 37℃ 恒温箱中保温 4~5h。

## 水凝胶 / 高分子聚合物薄膜肌肉组织支架的制造方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一种肌肉组织支架的制备方法, 具体涉及一种水凝胶 / 高分子聚合物薄膜肌肉组织支架的制造方法。

### 背景技术

[0002] 肌肉包括心肌、平滑肌、骨骼肌, 三者的相同点是具有肌原纤维、血管和神经, 且肌细胞成定向排列。不同点是三中组织的分布、形态, 肌原纤维数量形态、功能等有所差异。骨骼肌是人体内相对较大的软组织, 占人体体重的 40%~45%, 它通过肌腱与骨相连接, 当接收到刺激, 通过骨骼肌的收缩和舒张, 实现机体运动的功能。正常肌肉再生主要是由肌卫星细胞 (satellite cell, SC) 完成, 但是 SC 数量少, 且随年龄增长而下降。对于严重或面积较大的肌损伤, SC 不足以达到修复的目的, 创面最终被纤维组织代替而形成瘢痕, 导致创伤难愈, 机体失去运动功能。目前针对大面积的肌肉损伤, 临幊上最普遍的治疗手段是肌皮瓣移植, 该方法对供区损伤较大, 且来源有限, 肌肉组织支架为克服这些缺点提供可能, 但现有的肌肉组织支架的制备过程比较困难, 带有血管结构的肌肉组织支架三维构建困难, 并且肌肉组织支架固定不方便。

### 发明内容

[0003] 本发明的目的在于克服上述现有技术的缺点, 提提供了一种水凝胶 / 高分子聚合物薄膜肌肉组织支架的制造方法, 该方法便于血管结构的肌肉组织支架三维构建及固定。

[0004] 为达到上述目的, 本发明所述的水凝胶 / 高分子聚合物薄膜肌肉组织支架的制造方法包括以下步骤:

[0005] 1) 绘制水凝胶 / 高分子聚合物薄膜肌肉组织支架的内部管道结构模型, 然后根据所述内部管道结构模型通过光固化快速成型机制备 N 个树脂件;

[0006] 2) 配制硅胶溶液, 然后将步骤 1) 得到的 N 个树脂件分别固定在硅胶模上, 再将配制好的硅胶溶液注入硅胶模中, 然后再通过抽真空去除硅胶溶液中的气泡, 静置固化后脱模, 得 N 层硅胶模具;

[0007] 3) 配制高分子聚合物 PLGA 溶液, 然后对配制好的高分子聚合物 PLGA 溶液进行静电纺丝, 得聚合物薄膜;

[0008] 4) 对步骤 2) 得 N 层硅胶模具进行亲水处理;

[0009] 5) 配制明胶溶液, 然后将配制好的明胶溶液通过抽真空去泡;

[0010] 6) 配制谷氨酰胺转氨酶溶液, 然后谷氨酰胺转氨酶溶液分成 N 份, 同时将步骤 5) 得到的经去泡后的明胶溶液分成 N 份, 将第一份谷氨酰胺转氨酶溶液及第一份经去泡后的明胶溶液混合均匀, 得第一份混合溶液 A, 然后将第一份混合溶液 A 注入到第一层硅胶模具中, 并将步骤 3) 得到的聚合物薄膜粘接在第一层硅胶模具的底面, 使聚合物薄膜与第一份混合溶液 A 形成的凝胶相粘合, 然后再经固化及脱模, 得支架单层平面结构;

[0011] 7) 将第二份谷氨酰胺转氨酶溶液及第二份经去泡后的明胶溶液混合均匀, 得第二

份混合溶液 A, 然后将第二份混合溶液 A 注入到第二层硅胶模具中, 并将支架单层平面结构的上部与第二份混合溶液 A 形成的凝胶的底部相粘结, 然后再进行脱模;

[0012] 8) 将第 X 份谷氨酰胺转氨酶溶液及第 X 份经去泡后的明胶溶液混合均匀, 得第 X 份混合溶液 A, 然后将第 X 份混合溶液 A 注入到第 X 层硅胶模具中, 并将第 X-1 份混合溶液 A 形成的凝胶的上部与第 X 份混合溶液 A 形成的凝胶的底部相粘结, 然后再进行脱模, 其中,  $3 \leq X \leq N$ ;

[0013] 9) 重复步骤 8), 得三维立体结构, 然后将步骤 3) 得到的聚合物薄膜包裹到三维立体结构的表面, 保温后, 得水凝胶 / 高分子聚合物薄膜肌肉组织支架。

[0014] 步骤 2) 中配制硅胶溶液的具体步骤为: 取一定体积的硅胶及固化剂, 然后将固化剂溶入到硅胶中, 得硅胶溶液, 其中, 硅胶与固化剂的体积比为 100 : 1.5-2;

[0015] 步骤 2) 中树脂件通过双面胶固定在硅胶模上, 放置 24-28h 固化。

[0016] 步骤 3) 中 PLGA 高分子聚合物溶液中的溶剂为去离子水, PLGA 高分子聚合物溶液的质量浓度为 15 ~ 20% ;

[0017] 步骤 3) 中对配制好的高分子聚合物 PLGA 溶液进行静电纺丝的过程中电压为 10-15kV, 流速为 0.1 ~ 0.3ml/min, 滚轮转速为 2800 ~ 3600r/min。

[0018] 步骤 4) 中对所述 N 层硅胶模具进行亲水处理的具体操作为: 将所述 N 层硅胶模具放置到等离子清洗机中等离子清洗 2 ~ 5min。

[0019] 步骤 5) 中配制明胶溶液的具体过程为: 称取一定量的明胶, 将明胶倒入一定体积的磷酸盐缓冲液中, 在温度为 60-70℃ 的条件下融化 30-40min, 搅拌均匀, 得明胶溶液, 明胶溶液中明胶的质量浓度为 10% ~ 20% ;

[0020] 混合溶液 A 中谷氨酰胺转氨酶的质量浓度为 1 ~ 1.2% ;

[0021] 步骤 6) 中固化的固化时间为 4 ~ 6min;

[0022] 步骤 6) 中步骤 3) 得到的聚合物薄膜的定向方向与血管进出方向相一致。

[0023] 各份混合溶液 A 形成凝胶的时间均为 4 ~ 6min。

[0024] 步骤 9) 中保温的具体操作为: 将三维立体结构放置到 37℃ 恒温箱中保温 4 ~ 5h。

[0025] 本发明具有以下有益效果:

[0026] 本发明所述的水凝胶 / 高分子聚合物薄膜肌肉组织支架的制造方法在制备过程中, 先制备 N 层硅胶模具, 再将所述 N 层硅胶模具通过层层叠加的方法得到三维立体结构, 然后将聚合物薄膜包裹在所述三维立体结构上, 从而得到水凝胶 / 高分子聚合物薄膜肌肉组织支架, 制备过程简单, 易于操作。本发明采用层层叠加的方法实现水凝胶 / 高分子聚合物薄膜支架的三维构建, 制备的水凝胶 / 高分子聚合物薄膜肌肉组织支架具有血管网络结构及定向结构, 血管网络能够为水凝胶 / 高分子聚合物薄膜支架内的细胞提供营养及氧气, 定向结构能够实现细胞的定向生长, 将聚合物薄膜包裹所述三维立体结构, 一方面聚合物薄膜自身具有定向结构, 为细胞定向生长提供了拓扑结构, 另一方面聚合物薄膜外围包裹可以增加水凝胶的强度, 同时能够实现水凝胶 / 高分子聚合物薄膜支架固定功能, 从而解决了肌肉组织支架的三维血管网络构建、细胞定向生长及支架固定的问题。

## 附图说明

[0027] 图 1 为本发明制备的水凝胶 / 高分子聚合物薄膜肌肉组织支架的结构示意图。

## 具体实施方式

[0028] 下面结合附图对本发明做进一步详细描述：

[0029] 参考图 1, 本发明所述的水凝胶 / 高分子聚合物薄膜肌肉组织支架的制造方法包括以下步骤：

[0030] 1) 绘制水凝胶 / 高分子聚合物薄膜肌肉组织支架的内部管道结构模型, 然后根据所述内部管道结构模型通过光固化快速成型机制备 N 个树脂件；

[0031] 2) 配制硅胶溶液, 然后将步骤 1) 得到的 N 个树脂件分别固定在硅胶模上, 再将配制好的硅胶溶液注入硅胶模中, 然后再通过抽真空去除硅胶溶液中的气泡, 静置固化后脱模, 得 N 层硅胶模具；

[0032] 3) 配制高分子聚合物 PLGA 溶液, 然后对配制好的高分子聚合物 PLGA 溶液进行静电纺丝, 得聚合物薄膜；

[0033] 4) 对步骤 2) 得 N 层硅胶模具进行亲水处理；

[0034] 5) 配制明胶溶液, 然后将配制好的明胶溶液通过抽真空去泡；

[0035] 6) 配制谷氨酰胺转氨酶溶液, 然后谷氨酰胺转氨酶溶液分成 N 份, 同时将步骤 5) 得到的经去泡后的明胶溶液分成 N 份, 将第一份谷氨酰胺转氨酶溶液及第一份经去泡后的明胶溶液混合均匀, 得第一份混合溶液 A, 然后将第一份混合溶液 A 注入到第一层硅胶模具中, 并将步骤 3) 得到的聚合物薄膜粘接在第一层硅胶模具的底面, 使聚合物薄膜与第一份混合溶液 A 形成的凝胶相粘合, 然后再经固化及脱模, 得支架单层平面结构；

[0036] 7) 将第二份谷氨酰胺转氨酶溶液及第二份经去泡后的明胶溶液混合均匀, 得第二份混合溶液 A, 然后将第二份混合溶液 A 注入到第二层硅胶模具中, 并将支架单层平面结构的上部与第二份混合溶液 A 形成的凝胶的底部相粘结, 然后再进行脱模；

[0037] 8) 将第 X 份谷氨酰胺转氨酶溶液及第 X 份经去泡后的明胶溶液混合均匀, 得第 X 份混合溶液 A, 然后将第 X 份混合溶液 A 注入到第 X 层硅胶模具中, 并将第 X-1 份混合溶液 A 形成的凝胶的上部与第 X 份混合溶液 A 形成的凝胶的底部相粘结, 然后再进行脱模, 其中,  $3 \leq X \leq N$ ；

[0038] 9) 重复步骤 8), 得三维立体结构, 然后将步骤 3) 得到的聚合物薄膜包裹到三维立体结构的表面, 保温后, 得水凝胶 / 高分子聚合物薄膜肌肉组织支架。

[0039] 步骤 2) 中配制硅胶溶液的具体步骤为 : 取一定体积的硅胶及固化剂, 然后将固化剂溶入到硅胶中, 得硅胶溶液, 其中, 硅胶与固化剂的体积比为 100 : 1.5-2；

[0040] 步骤 2) 中树脂件通过双面胶固定在硅胶模上, 放置 24-28h 固化。

[0041] 步骤 3) 中 PLGA 高分子聚合物溶液中的溶剂为去离子水, PLGA 高分子聚合物溶液的质量浓度为 15 ~ 20%；

[0042] 步骤 3) 中对配制好的高分子聚合物 PLGA 溶液进行静电纺丝的过程中电压为 10-15kV, 流速为 0.1 ~ 0.3ml/min, 滚轮转速为 2800 ~ 3600r/min。

[0043] 步骤 4) 中对所述 N 层硅胶模具进行亲水处理的具体操作为 : 将所述 N 层硅胶模具放置到等离子清洗机中等离子清洗 2 ~ 5min。

[0044] 步骤 5) 中配制明胶溶液的具体过程为 : 称取一定量的明胶, 将明胶倒入一定体积的磷酸盐缓冲液中, 在温度为 60-70℃ 的条件下融化 30-40min, 搅拌均匀, 得明胶溶液, 明

胶溶液中明胶的质量浓度为 10%~20%；

[0045] 混合溶液 A 中谷氨酰胺转氨酶的质量浓度为 1~1.2%；

[0046] 步骤 6) 中固化的固化时间为 4~6min；

[0047] 步骤 6) 中步骤 3) 得到的聚合物薄膜的定向方向与血管进出方向相一致。

[0048] 各份混合溶液 A 形成凝胶的时间均为 4~6min。

[0049] 步骤 9) 中保温的具体操作为：将三维立体结构放置到 37℃恒温箱中保温 4~5h。

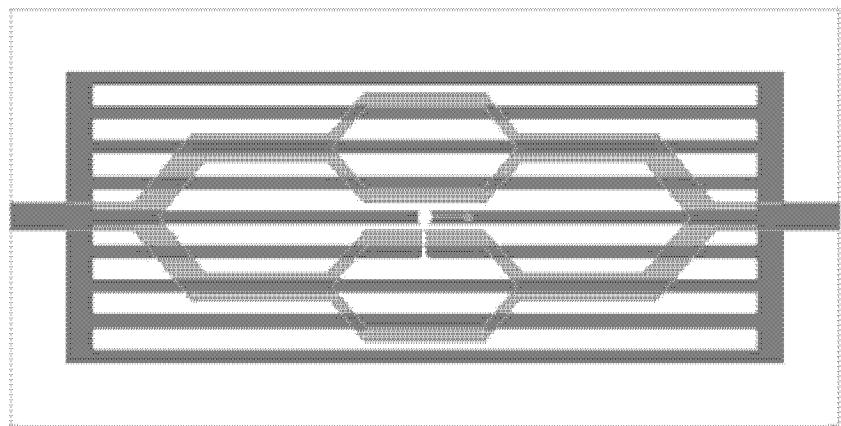


图 1