



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102488926 A

(43) 申请公布日 2012. 06. 13

(21) 申请号 201110425306. 8

A61L 27/22(2006. 01)

(22) 申请日 2011. 12. 16

A61L 27/54(2006. 01)

(71) 申请人 东华大学

地址 201620 上海市松江区新城区人民北路  
2999 号

(72) 发明人 张耀鹏 范苏娜 邵惠丽 杭怡春  
潘辉 徐月敏 冯超 谢敏凯

(74) 专利代理机构 上海天翔知识产权代理有限  
公司 31224

代理人 吕伴

(51) Int. Cl.

A61L 27/40(2006. 01)

A61L 27/36(2006. 01)

A61L 27/34(2006. 01)

权利要求书 1 页 说明书 7 页

(54) 发明名称

一种用于尿道重建的组织工程支架及其制备  
方法

(57) 摘要

本发明涉及一种用于尿道重建的组织工程支架及其制备方法，包括：(1) 制备再生丝素蛋白水溶液；(2) 配制血管内皮生长因子和牛血清蛋白水溶液；(3) 将(1)和(2)所制得的溶液混合，制备含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白溶液；(4) 以(3)制备的溶液为纺丝液，脱细胞基质为基层，采用静电纺丝技术制备组织工程支架。所述的组织工程支架是由脱细胞基质基层和功能层组成的双层结构工程支架，功能层为混合有血管内皮生长因子和牛血清蛋白的再生丝素蛋白纤维构成的具有三维交错网络结构特征的纤维毡。该方法制备的组织工程支架不仅具有优异的力学性能，而且能在体内早期快速血管化。本发明制备的组织工程支架用于长段尿道狭窄的修复。

1. 一种用于尿道重建的组织工程支架,其特征是:所述的用于尿道重建的组织工程支架是由基层和功能层组成的双层结构工程支架,其中基层为脱细胞基质,功能层为再生丝素蛋白纤维毡;所述的再生丝素蛋白纤维毡为混合有血管内皮生长因子和牛血清蛋白的再生丝素蛋白纤维构成的具有三维交错网络结构特征的纤维毡;所述的血管内皮生长因子的质量占纤维毡总质量的 $3.5 \times 10^{-5} \sim 9.5 \times 10^{-5}\%$ ,所述的牛血清蛋白的质量占纤维毡总质量的 $1.5 \times 10^{-3} \sim 4 \times 10^{-3}\%$ 。

2. 根据权利要求1所述的一种用于尿道重建的组织工程支架,其特征在于,所述的脱细胞基质为小肠黏膜下脱细胞基质或膀胱黏膜下脱细胞基质中的一种。

3. 根据权利要求1所述的一种用于尿道重建的组织工程支架,其特征在于,所述的脱细胞基质为半透明多孔状薄膜。

4. 根据权利要求1所述的一种用于尿道重建的组织工程支架,其特征在于,所述的构成纤维毡的再生丝素蛋白纤维的直径范围为 $200\text{nm} \sim 5\mu\text{m}$ 。

5. 根据权利要求1所述的一种用于尿道重建的组织工程支架,其特征在于,所述的纤维毡的孔隙率为 $50 \sim 90\%$ 。

6. 根据权利要求1所述的一种用于尿道重建的组织工程支架的制备方法,其特征是包括以下步骤:

(1) 以蚕茧为原料,经脱胶、溶解、透析、浓缩后,制备质量百分比为 $30 \sim 40\%$ 的再生丝素蛋白水溶液;

所述再生丝素蛋白水溶液的制备步骤如下:将蚕茧用质量百分比为 $0.3 \sim 0.7\%$ 的碳酸钠水溶液脱胶后,溶解于摩尔浓度为 $9.0 \sim 9.5\text{mol/L}$ 的溴化锂水溶液中,得到再生丝素蛋白-溴化锂水溶液;将此溶液离心、过滤、透析和浓缩,得到质量百分比为 $30 \sim 40\%$ 的再生丝素蛋白水溶液;

(2) 以水为溶剂,配制血管内皮生长因子和牛血清蛋白水溶液,其中血管内皮生长因子的质量浓度为 $15 \sim 25\mu\text{g/ml}$ ,牛血清蛋白的质量浓度为 $0.6 \sim 1\text{mg/ml}$ ;

(3) 将所述再生丝素蛋白水溶液与所述血管内皮生长因子和牛血清蛋白水溶液以 $60 : 1 \sim 130 : 1$ 的体积比混合,制备含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白溶液;

(4) 以步骤(3)制备的含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白溶液为纺丝液,采用静电纺丝技术将其喷涂在脱细胞基质上,制备得到用于尿道重建的组织工程支架。

7. 根据权利要求6所述的一种用于尿道重建的组织工程支架的制备方法,其特征在于,所述的蚕茧为桑蚕茧、柞蚕茧或蓖麻蚕茧中的一种;所述的脱细胞基质为小肠黏膜下脱细胞基质或膀胱黏膜下脱细胞基质。

8. 根据权利要求6所述的一种用于尿道重建的组织工程支架的制备方法,其特征在于,所述的静电纺丝技术制备用于尿道重建的组织工程支架时的纺丝环境温度为 $2 \sim 6^\circ\text{C}$ 。

9. 根据权利要求6所述的一种用于尿道重建的组织工程支架的制备方法,其特征在于,更进一步地,将所述的用于尿道重建的组织工程支架进行后处理;所述的后处理是指将用于尿道重建的组织工程支架在乙醇-水混合溶液中浸泡 $30 \sim 90\text{min}$ 。

10. 根据权利要求9所述的一种用于尿道重建的组织工程支架的制备方法,其特征在于,所述的乙醇-水混合溶液中乙醇占乙醇-水混合溶液总体积的 $75 \sim 95\%$ 。

## 一种用于尿道重建的组织工程支架及其制备方法

### 技术领域

[0001] 本发明属于纺织工业、材料科学的技术领域,特别涉及一种用于尿道重建的组织工程支架及其制备方法,以含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白溶液为纺丝液,通过静电纺丝工艺将其喷涂在脱细胞基质上,制备了用于尿道重建的组织工程支架。

### 背景技术

[0002] 长段复杂性尿道狭窄不仅会引起尿外渗、尿痿、假道等局部并发症,严重者甚至波及泌尿系统其它脏器引起全身性病变,严重影响患者的生活质量。既往以多种自体组织为重建材料的替代疗法在复杂性尿道狭窄的治疗中显示了良好的应用前景,但该疗法存在以“牺牲正常组织为代价,以手术创伤修复组织缺损”的缺憾,不可避免的引起取材部位的并发症。组织工程的兴起和迅猛发展为尿道病变的修复开辟了新的治疗途径。由于小肠黏膜下脱细胞基质(SIS)和膀胱黏膜下脱细胞基质(BAMG)具有无免疫原性、抗微生物活性等,在体内能通过生物降解得到代谢,因而得到广泛研究且在临幊上得到应用,但术后患者易发生尿道再狭窄、尿道憩室和尿痿等并发症。究其原因,是因为单纯的小肠黏膜下脱细胞基质或膀胱黏膜下脱细胞基质无法在体内快速血管化。因此促进小肠黏膜下脱细胞基质或膀胱黏膜下脱细胞基质在体内早期快速血管化是改善其临床应用效果的关键要素。

[0003] 血管内皮生长因子(VEGF)是一种有效的促血管生长因子,能直接作用于血管内皮细胞促进血管内皮细胞增殖,抑制内皮细胞凋亡,增加血管通透性,诱导新生血管形成,但其半衰期短,仅将外源性 VEGF 加入小肠黏膜下脱细胞基质或膀胱黏膜下脱细胞基质中并不能有效而持久地促其血管化。

[0004] 解决上述问题的方法:一是采用基因工程技术,使种子细胞携带 VEGF 基因,但该方法可控性差;二是采用支架材料将 VEGF 包裹,使其缓释 VEGF。第二种方法的关键是选择合适的包覆材料。目前文献报道的可降解包覆材料主要有两种:一是由动物胶原蛋白或胶原纤维制成,另一种是由聚乳酸和医用增塑剂或胶原纤维制成。但这些可降解材料植人体内后,在降解过程中易产生酸从而可导致植人区发生炎症反应,同时存在着体内排斥反应的风险。

[0005] 而本发明的目的在于克服上述缺点,选择丝素蛋白作为包覆材料。丝素蛋白不仅具有优异的力学性能,而且具有良好的生物相容性、可降解性、良好的透气透湿性、良好的促血管化能力等。公开号为 CN 13720203A 的中国发明专利“一种组织工程支架用纤维及其制备方法”公开了一种以天然蚕丝为原料,经脱胶、溶解等工序后,采用湿法纺丝工艺制备组织工程支架材料的方法。公开号 CN 1887362A 的中国发明专利“一种细胞培养支架材料及其制备方法”公布了一种以蚕丝和胶原蛋白为原料,采用静电纺技术制备三维网状丝素蛋白复合纳米纤维无纺毡的方法。但至目前为止,国内外还未见将小肠黏膜下脱细胞基质或膀胱黏膜下脱细胞基质与再生丝素蛋白复合制备组织工程支架的相关研究和生产的文献报道或专利。

## 发明内容

[0006] 本发明所要解决的技术问题是提供一种用于尿道重建的组织工程支架的制备方法，是将含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白溶液通过静电纺丝技术喷涂在脱细胞基质上的方法。通过该方法制得的用于尿道重建的组织工程支架是由基层和功能层组成的双层结构工程支架，其中基层为脱细胞基质，功能层为再生丝素蛋白纤维毡，该纤维毡为混合有血管内皮生长因子和牛血清蛋白的再生丝素蛋白纤维构成的具有三维交错网络结构特征的纤维毡，血管内皮生长因子在再生丝素蛋白纤维中分散均匀，保证了其可以逐渐释放并产生促血管生成作用，脱细胞基质则赋予支架优异的力学性能，同时，该制备过程简单，易于操作，对环境无污染。

[0007] 本发明的目的在于提供一种生物相容性好、生物降解性优异、力学性能优异，同时能在体内快速血管化的组织工程支架及其制备方法。

[0008] 本发明的一种用于尿道重建的组织工程支架是由基层和功能层组成的双层结构工程支架；其中所述的血管内皮生长因子的质量占纤维毡总质量的 $3.5 \times 10^{-5} \sim 9.5 \times 10^{-5}\%$ ，所述的牛血清蛋白的质量占纤维毡总质量的 $1.5 \times 10^{-3} \sim 4 \times 10^{-3}\%$ 。

[0009] 作为优选的技术方案：

[0010] 如上所述的一种用于尿道重建的组织工程支架，所述的脱细胞基质为小肠黏膜下脱细胞基质或膀胱黏膜下脱细胞基质中的一种。

[0011] 如上所述的一种用于尿道重建的组织工程支架，所述的脱细胞基质为半透明多孔状薄膜。

[0012] 如上所述的一种用于尿道重建的组织工程支架，所述的再生丝素蛋白纤维的直径范围为 $200\text{nm} \sim 5\mu\text{m}$ 。

[0013] 如上所述的一种用于尿道重建的组织工程支架，所述的纤维毡的孔隙率为 $50 \sim 90\%$ 。

[0014] 本发明还提供了一种用于尿道重建的组织工程支架的制备方法，其步骤为：

[0015] (1) 以蚕茧为原料，经脱胶、溶解、透析、浓缩后，制备质量百分比为 $30 \sim 40\%$ 的再生丝素蛋白水溶液；

[0016] 所述再生丝素蛋白水溶液的制备步骤如下：将蚕茧用质量百分比为 $0.3 \sim 0.7\%$ 的碳酸钠水溶液脱胶后，溶解于摩尔浓度为 $9.0 \sim 9.5\text{mol/L}$ 的溴化锂水溶液中，得到再生丝素蛋白-溴化锂水溶液；将此溶液离心、过滤、透析和浓缩，得到质量百分比为 $30 \sim 40\%$ 的再生丝素蛋白水溶液；

[0017] (2) 以水为溶剂，配制血管内皮生长因子和牛血清蛋白水溶液，其中血管内皮生长因子的质量浓度为 $15 \sim 25\mu\text{g/ml}$ ，牛血清蛋白的质量浓度为 $0.6 \sim 1\text{mg/ml}$ ；

[0018] (3) 将所述再生丝素蛋白水溶液与所述血管内皮生长因子和牛血清蛋白水溶液以 $60 : 1 \sim 130 : 1$ 的体积比混合，制备含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白溶液；

[0019] (4) 以步骤(3)制备的含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白溶液为纺丝液，采用静电纺丝技术将其喷涂在脱细胞基质上，制备用于尿道重建的组织工程支架；

[0020] 如上所述的一种用于尿道重建的组织工程支架的制备方法，所述的蚕茧为桑蚕茧、柞蚕茧或蓖麻蚕茧中的一种。

[0021] 如上所述的一种用于尿道重建的组织工程支架的制备方法，所述的静电纺丝技术

制备用于尿道重建的组织工程支架时的纺丝环境温度为 2 ~ 6℃。

[0022] 如上所述的一种用于尿道重建的组织工程支架的制备方法,所述的脱细胞基质为小肠黏膜下脱细胞基质或膀胱黏膜下脱细胞基质。

[0023] 更进一步地,将所述的用于尿道重建的组织工程支架进行后处理;所述的后处理是指将用于尿道重建的组织工程支架在乙醇 - 水混合溶液中浸泡 30 ~ 90min。

[0024] 如上所述的一种用于尿道重建的组织工程支架的制备方法,所述的乙醇 - 水混合溶液中乙醇占乙醇 - 水混合溶液总体积的 75 ~ 95%。

[0025] 有益效果:

[0026] 本发明创造性地提出了用于尿道重建的组织工程支架的制备方法。在保证再生丝素蛋白较高浓度的前提下,避免了有机溶剂(如甲酸、六氟异丙醇等)的使用,不仅降低了生产成本,而且避免了对人体的伤害。按照本发明的方法制得的用于尿道重建的组织工程支架不仅具有优异的力学性能,而且能在体内快速血管化,满足长段尿道狭窄修复的使用要求。

## 具体实施方式

[0027] 下面结合具体实施方式,进一步阐述本发明。应理解,这些实施例仅用于说明本发明而不同于限制本发明的范围。此外应理解,在阅读了本发明讲授的内容之后,本领域技术人员可以对本发明作各种改动或修改,这些等价形式同样落于本申请所附权利要求书所限定的范围。

[0028] 本发明的一种用于尿道重建的组织工程支架是由基层和功能层组成的双层结构工程支架,其中基层为脱细胞基质,功能层为再生丝素蛋白纤维毡,其中再生丝素蛋白纤维毡为混合有血管内皮生长因子和牛血清蛋白的再生丝素蛋白纤维构成的具有三维交错网络结构特征的纤维毡,血管内皮生长因子和牛血清蛋白在再生丝素蛋白纤维中均匀分散;所述的血管内皮生长因子的质量占所述再生丝素蛋白纤维总质量的  $3.5 \times 10^{-5} \sim 9.5 \times 10^{-5}\%$ ,所述的牛血清蛋白的质量占所述再生丝素蛋白纤维总质量的  $1.5 \times 10^{-3} \sim 4 \times 10^{-3}\%$ 。

[0029] 所述的脱细胞基质为小肠黏膜下脱细胞基质或膀胱黏膜下脱细胞基质中的一种。

[0030] 所述的脱细胞基质为半透明多孔状薄膜。

[0031] 所述的构成纤维毡的再生丝素蛋白纤维的直径范围为 200nm ~ 5 μ m。

[0032] 所述的纤维毡的孔隙率为 50 ~ 90%。

[0033] 本发明的组织工程支架,用于长段尿道狭窄的修复。

[0034] 实施例 1

[0035] 一种用于尿道重建的组织工程支架的制备方法,其步骤为:

[0036] (1) 以桑蚕茧为原料,经脱胶、溶解、透析、浓缩后,制备质量百分比为 30% 的再生丝素蛋白水溶液;

[0037] 所述再生纯丝素蛋白水溶液的制备步骤如下:将桑蚕茧用质量百分比为 0.3% 的碳酸钠水溶液脱胶后,溶解于摩尔浓度为 9.0mol/L 的溴化锂水溶液中,得到再生丝素蛋白 - 溴化锂水溶液;将此溶液离心、过滤、透析和浓缩,得到质量百分比为 30% 的再生丝素蛋白水溶液;

[0038] (2) 以水为溶剂,配制血管内皮生长因子和牛血清蛋白水溶液,其中血管内皮生长因子的质量浓度为  $15 \mu\text{g}/\text{ml}$ ,牛血清蛋白的质量浓度为  $0.6\text{mg}/\text{ml}$ ;

[0039] (3) 将所述再生丝素蛋白水溶液与所述血管内皮生长因子和牛血清蛋白水溶液以 130 : 1 的体积比混合,制备含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白溶液;

[0040] (4) 以步骤(3)制备的含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白溶液为纺丝液,在  $2^\circ\text{C}$  下采用静电纺丝技术将其喷涂在小肠黏膜下脱细胞基质上,制备用于尿道重建的组织工程支架;所述的构成组织工程支架功能层的再生丝素蛋白纤维的直径范围为  $200\text{nm} \sim 1\mu\text{m}$ ,所述的纤维毡的孔隙率为 90%。

[0041] 实施例 2

[0042] 一种用于尿道重建的组织工程支架的制备方法,其步骤为:

[0043] (1) 以柞蚕茧为原料,经脱胶、溶解、透析、浓缩后,制备质量百分比为 33% 的再生丝素蛋白水溶液;

[0044] 所述再生丝素蛋白水溶液的制备步骤如下:将柞蚕茧用质量百分比为 0.4% 的碳酸钠水溶液脱胶后,溶解于摩尔浓度为  $9.1\text{mol}/\text{L}$  的溴化锂水溶液中,得到再生丝素蛋白 - 溴化锂水溶液;将此溶液离心、过滤、透析和浓缩,得到质量百分比为 33% 的再生丝素蛋白水溶液;

[0045] (2) 以水为溶剂,配制血管内皮生长因子和牛血清蛋白水溶液,其中血管内皮生长因子的质量浓度为  $17 \mu\text{g}/\text{ml}$ ,牛血清蛋白的质量浓度为  $0.7\text{mg}/\text{ml}$ ;

[0046] (3) 将所述再生丝素蛋白水溶液与所述血管内皮生长因子和牛血清蛋白水溶液以 70 : 1 的体积比混合,制备含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白溶液;

[0047] (4) 以步骤(3)制备的含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白溶液为纺丝液,在  $4^\circ\text{C}$  下采用静电纺丝技术将其喷涂在膀胱黏膜下脱细胞基质上,制备用于尿道重建的组织工程支架;所述的构成组织工程支架功能层的再生丝素蛋白纤维的直径范围为  $500\text{nm} \sim 2\mu\text{m}$ ,所述的纤维毡的孔隙率为 81%。

[0048] 实施例 3

[0049] 一种用于尿道重建的组织工程支架的制备方法,其步骤为:

[0050] (1) 以蓖麻蚕茧为原料,经脱胶、溶解、透析、浓缩后,制备质量百分比为 35% 的再生丝素蛋白水溶液;

[0051] 所述再生丝素蛋白水溶液的制备步骤如下:将蓖麻蚕茧用质量百分比为 0.5% 的碳酸钠水溶液脱胶后,溶解于摩尔浓度为  $9.2\text{mol}/\text{L}$  的溴化锂水溶液中,得到再生丝素蛋白 - 溴化锂水溶液;将此溶液离心、过滤、透析和浓缩,得到质量百分比为 35% 的再生丝素蛋白水溶液;

[0052] (2) 以水为溶剂,配制血管内皮生长因子和牛血清蛋白水溶液,其中血管内皮生长因子的质量浓度为  $20 \mu\text{g}/\text{ml}$ ,牛血清蛋白的质量浓度为  $0.8\text{mg}/\text{ml}$ ;

[0053] (3) 将所述再生丝素蛋白水溶液与所述血管内皮生长因子和牛血清蛋白水溶液以 90 : 1 的体积比混合,制备含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白溶液;

[0054] (4) 以步骤(3)制备的含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白溶液为纺丝液,在  $6^\circ\text{C}$  下采用静电纺丝技术将其喷涂在膀胱黏膜下脱细胞基质上,制备用于尿道重建的组织工程支架;所述的构成组织工程支架功能层的再生丝素蛋白纤维的直径范围为  $800\text{nm} \sim 3\mu\text{m}$ ,

所述的纤维毡的孔隙率为 72%。

[0055] 实施例 4

[0056] 一种用于尿道重建的组织工程支架的制备方法,其步骤为:

[0057] (1) 以蓖麻蚕茧为原料,经脱胶、溶解、透析、浓缩后,制备质量百分比为 37% 的再生丝素蛋白水溶液;

[0058] 所述再生丝素蛋白水溶液的制备步骤如下:将蓖麻蚕茧用质量百分比为 0.6% 的碳酸钠水溶液脱胶后,溶解于摩尔浓度为 9.3mol/L 的溴化锂水溶液中,得到再生丝素蛋白 - 溴化锂水溶液;将此溶液离心、过滤、透析和浓缩,得到质量百分比为 37% 的再生丝素蛋白水溶液;

[0059] (2) 以水为溶剂,配制血管内皮生长因子和牛血清蛋白水溶液,其中血管内皮生长因子的质量浓度为 22 μg/ml,牛血清蛋白的质量浓度为 0.9mg/ml;

[0060] (3) 将所述再生丝素蛋白水溶液与所述血管内皮生长因子和牛血清蛋白水溶液以 110 : 1 的体积比混合,制备含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白溶液;

[0061] (4) 以步骤(3)制备的含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白溶液为纺丝液,在 4℃ 下采用静电纺丝技术将其喷涂在小肠黏膜下脱细胞基质上,制备用于尿道重建的组织工程支架;所述的构成组织工程支架功能层的再生丝素蛋白纤维的直径范围为 1 μm ~ 4 μm,所述的纤维毡的孔隙率为 59%。

[0062] 实施例 5

[0063] 一种用于尿道重建的组织工程支架的制备方法,其步骤为:

[0064] (1) 以桑蚕茧为原料,经脱胶、溶解、透析、浓缩后,制备质量百分比为 40% 的再生丝素蛋白水溶液;

[0065] 所述再生丝素蛋白水溶液的制备步骤如下:将桑蚕茧用质量百分比为 0.7% 的碳酸钠水溶液脱胶后,溶解于摩尔浓度为 9.5mol/L 的溴化锂水溶液中,得到再生丝素蛋白 - 溴化锂水溶液;将此溶液离心、过滤、透析和浓缩,得到质量百分比为 40% 的再生丝素蛋白水溶液;

[0066] (2) 以水为溶剂,配制血管内皮生长因子和牛血清蛋白水溶液,其中血管内皮生长因子的质量浓度为 25 μg/ml,牛血清蛋白的质量浓度为 1.0mg/ml;

[0067] (3) 将所述再生丝素蛋白水溶液与所述血管内皮生长因子和牛血清蛋白水溶液以 60 : 1 的体积比混合,制备含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白溶液;

[0068] (4) 以步骤(3)制备的含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白溶液为纺丝液,在 6℃ 下采用静电纺丝技术将其喷涂在小肠黏膜下脱细胞基质上,制备用于尿道重建的组织工程支架;所述的构成组织工程支架功能层的再生丝素蛋白纤维的直径范围为 1.5 μm ~ 5 μm,所述的纤维毡的孔隙率为 50%。

[0069] 实施例 6

[0070] 一种用于尿道重建的组织工程支架的制备方法,其步骤为:

[0071] (1) 以桑蚕茧为原料,经脱胶、溶解、透析、浓缩后,制备质量百分比为 35% 的再生丝素蛋白水溶液;

[0072] 所述再生丝素蛋白水溶液的制备步骤如下:将桑蚕茧用质量百分比为 0.7% 的碳酸钠水溶液脱胶后,溶解于摩尔浓度为 9.2mol/L 的溴化锂水溶液中,得到再生丝素蛋白水溶液;

白 - 溴化锂水溶液 ; 将此溶液离心、过滤、透析和浓缩, 得到质量百分比为 35% 的再生丝素蛋白水溶液 ;

[0073] (2) 以水为溶剂, 配制血管内皮生长因子和牛血清蛋白水溶液, 其中血管内皮生长因子的质量浓度为 22  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 牛血清蛋白的质量浓度为 0.9mg/ml ;

[0074] (3) 将所述再生丝素蛋白水溶液与所述血管内皮生长因子和牛血清蛋白水溶液以 90 : 1 的体积比混合, 制备含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白溶液 ;

[0075] (4) 以步骤 (3) 制备的含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白溶液为纺丝液, 在 2°C 下采用静电纺丝技术将其喷涂在膀胱黏膜下脱细胞基质上, 制备组织工程支架 ; 所述的构成组织工程支架功能层的再生丝素蛋白纤维的直径范围为 800nm ~ 3  $\mu\text{m}$ , 所述的纤维毡的孔隙率为 72% ;

[0076] (5) 将步骤 (4) 制备的组织工程支架在乙醇体积分数为 75% 的乙醇 - 水混合溶液中浸泡 90min, 即得到最终用于尿道重建的组织工程支架。

[0077] 实施例 7

[0078] 一种用于尿道重建的组织工程支架的制备方法, 其步骤为 :

[0079] (1) 以柞蚕茧为原料, 经脱胶、溶解、透析、浓缩后, 制备质量百分比为 37% 的再生丝素蛋白水溶液 ;

[0080] 所述再生丝素蛋白水溶液的制备步骤如下 : 将柞蚕茧用质量百分比为 0.7% 的碳酸钠水溶液脱胶后, 溶解于摩尔浓度为 9.0mol/L 的溴化锂水溶液中, 得到再生丝素蛋白 - 溴化锂水溶液 ; 将此溶液离心、过滤、透析和浓缩, 得到质量百分比为 37% 的再生丝素蛋白水溶液 ;

[0081] (2) 以水为溶剂, 配制血管内皮生长因子和牛血清蛋白水溶液, 其中血管内皮生长因子的质量浓度为 17  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 牛血清蛋白的质量浓度为 0.7mg/ml ;

[0082] (3) 将所述再生丝素蛋白水溶液与所述血管内皮生长因子和牛血清蛋白水溶液以 110 : 1 的体积比混合, 制备含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白溶液 ;

[0083] (4) 以步骤 (3) 制备的含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白溶液为纺丝液, 在 4°C 下采用静电纺丝技术将其喷涂在小肠黏膜下脱细胞基质上, 制备组织工程支架 ; 所述的构成组织工程支架功能层的再生丝素蛋白纤维的直径范围为 1  $\mu\text{m}$  ~ 4  $\mu\text{m}$ , 所述的纤维毡的孔隙率为 61% ;

[0084] (5) 将步骤 (4) 制备的组织工程支架在乙醇体积分数为 85% 的乙醇 - 水混合溶液中浸泡 60min, 即得到最终用于尿道重建的组织工程支架。

[0085] 实施例 8

[0086] 一种用于尿道重建的组织工程支架的制备方法, 其步骤为 :

[0087] (1) 以柞蚕茧为原料, 经脱胶、溶解、透析、浓缩后, 制备质量百分比为 33% 的再生丝素蛋白水溶液 ;

[0088] 所述再生丝素蛋白水溶液的制备步骤如下 : 将柞蚕茧用质量百分比为 0.5% 的碳酸钠水溶液脱胶后, 溶解于摩尔浓度为 9.1mol/L 的溴化锂水溶液中, 得到再生丝素蛋白 - 溴化锂水溶液 ; 将此溶液离心、过滤、透析和浓缩, 得到质量百分比为 33% 的再生丝素蛋白水溶液 ;

[0089] (2) 以水为溶剂, 配制血管内皮生长因子和牛血清蛋白水溶液, 其中血管内皮生长

因子的质量浓度为 19  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 牛血清蛋白的质量浓度为 0.8mg/ml ;

[0090] (3) 将所述再生丝素蛋白水溶液与所述血管内皮生长因子和牛血清蛋白水溶液以 70 : 1 的体积比混合, 制备含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白溶液 ;

[0091] (4) 以步骤 (3) 制备的含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白溶液为纺丝液, 在 6°C 下采用静电纺丝技术将其喷涂在小肠黏膜下脱细胞基质上, 制备组织工程支架 ; 所述的构成组织工程支架功能层的再生丝素蛋白纤维的直径范围为 500nm ~ 2  $\mu\text{m}$ , 所述的纤维毡的孔隙率为 81% ;

[0092] (5) 将步骤 (4) 制备的组织工程支架在乙醇体积分数为 95% 的乙醇 - 水混合溶液中浸泡 30min, 即得到最终用于尿道重建的组织工程支架。