

类 级 号: D622.1  
研究生学号: 2010721009

学位代码: 10133  
密 级: 公 开

吉林大学  
博士学位论文

崔巍巍

2013年5月



皮肤组织工程新型材料的合成及表面改性  
的生物学基础研究

Biological basic research on synthesis of new materials  
for skin tissue engineering and its surface modification

作者姓名：崔巍巍

专业名称：卫生毒理学

研究方向：食品毒理学

指导教师：刘 娅 教授

章培标 研究员

学位类别：医学博士

培养单位：吉林大学公共卫生学院

论文答辩日期：2013 年 6 月 1 日

授予学位日期：2013 年 月 日

答辩委员会主席：王丽

论文评阅人：  
孟庆华  
孙志伟  
李波  
谭岩  
金宁一

未经本论文作者的书面授权，依法收存和保管本论文学  
面版本、电子版本的任何单位和个人，均不得对本论文的全  
部或部分内容进行任何形式的复制、修改、发行、出租、改  
编等有碍作者著作权的商业性使用（但纯学术性使用不在此  
限）。否则，应承担侵权的法律责任。

### 吉林大学博士学位论文原创性声明

本人郑重声明：所呈交博士学位论文，是本人在指导教师的指导下，独立进行研究工作所取得的成果。除文中已经注明的内容外，本论文不包含任何其他个人或集体已经发表或撰写过的作品成果。对本文的研究做出重要贡献的个人和集体，均以在文中以明确方式表明。  
本人完全意识到本声明的法律结果由本人承担。

学位论文作者签名：崔巍巍

日期：2013 年 6 月 7 日

## 内容提要

PLGA 是一种无毒可降解的高分子有机聚合物，其在机体内代谢首先通过聚酯水解为乳酸和羟基乙酸，随后被完全分解成为二氧化碳和水排出体外，生物相容性好。PVA 水凝作为人工敷料的优点是含水量丰富，不但可以保持创面湿润，还具有吸水性可以吸收组织渗出液，同时其内部大量贯通的孔隙有利于营养物质和代谢废物的运输，且又镇痛作用，因而广泛应用与组织工程领域。本研究综合了两者的优势，并采用物理交联的方式将二者复合，构建一种类似皮肤结构的双层人工支架，使之更适合于临床骨皮肤损伤、修复的需要。

明胶提取自动物的骨头或结缔组织，无毒无害，被广泛用于食品、制药及组织工程领域。在皮肤组织工程领域研究中，明胶除了具有促进细胞粘附和生长的作用，还可以作为一种底物基质与细胞外基质产生竞争作用，防止伤口部位的蛋白酶消化细胞外基质。明胶分子结构上含有大量的羟基及少量的羧基和氨基，具有极强的亲水性。因此，明胶分子中的氨基可以与光活性叠氮基团发生缩合反应，形成酯类。本研究为进一步提高人工皮肤支架材料的生物活性，以组织工程生物材料为基底，探讨光固定表面改性的对其生物相容性的影响。

结果显示：本研究利用光活性叠氮基团与明胶分子的羧基发生了缩合反应，形成具有光活性的新的化合物—Az-G 光活性明胶；通过在材料表面的固定效果和细胞学评价，证明 Az-G 光活性明胶可以稳定的固定在生物材料表面，不会脱落，且细胞相容性好，有利于细胞粘附、生长和增殖；本研究首次将静电纺丝膜和 PVA 水凝胶通过物理冷冻交联的方法结合，其机型性能和保水性远优于单纯的 PLGA 电纺丝膜或 PVA 水凝胶；采用模具法制备的“多孔”PVA 水凝胶有利于细胞的粘附和生长。

# 目 录

第1章 绪 论.....	1
1.1 组织工程学.....	1
1.1.1 组织工程学概念及发展历程.....	1
1.1.2 组织工程学基本原理.....	3
1.1.3 组织工程学必要因素.....	4
1.1.4 组织工程学面临的挑战.....	9
1.2 皮肤创伤与修复.....	10
1.2.1 皮肤结构和功能.....	10
1.2.2 创伤愈合.....	13
1.3 组织工程皮肤.....	15
1.3.1 皮肤替代物及其发展历程.....	15
1.3.2 人工皮肤.....	20
1.3.3 组织工程皮肤存在问题及展望.....	24
1.4 组织工程材料的光固定表面改性.....	25
1.4.1 组织工程材料的表面改性.....	26
1.4.2 光固定表面改性的基本原理和特点.....	30
1.4.3 光固定表面改性在组织工程学中的应用.....	32
1.5 本论文选题内容、目标、意义及创新.....	33
1.5.1 本课题的研究内容.....	33
1.5.2 本课题的研究目标.....	34
1.5.3 本课题的特色与创新之处.....	35
第2章 光活性明胶的制备及表征.....	37
2.1 材料与方法.....	37
2.1.1 主要试剂与仪器.....	37
2.1.2 光活性明胶的合成.....	38
2.1.3 光活性明胶的结构表征.....	39
2.1.4 光活性明胶的交联反应条件.....	39
2.1.5 光活性明胶的固定过程.....	40

2.1.6 光活性明胶在不同材料和支架表面的固定.....	40
2.2 结 果.....	41
2.2.1 Az-G 光活性明胶.....	41
2.2.2 光活性明胶的表征结果.....	42
2.2.3 光活性明胶的最佳交联反应条件.....	44
2.2.4 光活性明胶在不同材料和支架表面的固定效果.....	46
2.3 讨 论.....	47
2.4 小 结.....	50
第3章 皮肤组织工程支架制备及表面改性的细胞学研究.....	51
3.1 材料与方法.....	51
3.1.1 主要试剂与仪器.....	51
3.1.2 组织工程支架材料的制备.....	53
3.1.3 L929 成纤维细胞系培养及传代 .....	55
3.1.4 细胞荧光染色.....	56
3.1.5 光活性明胶对组织工程支架材料表面改性的细胞学研究.....	56
3.1.6 统计学处理.....	57
3.2 结 果.....	58
3.2.1 静电纺丝法制备 PLGA 纤维膜 .....	58
3.2.2 冷冻-解冻法制备 PVA 水凝胶.....	58
3.2.3 PLGA/PVA 双层人工支架的制备及性能评价.....	59
3.2.4 模具法制备“图案化”PVA 水凝胶.....	61
3.2.5 L929 成纤维细胞系培养 .....	62
3.2.6 细胞荧光染色.....	63
3.2.7 光活性明胶对组织工程支架材料表面改性的细胞学研究.....	63
3.3 讨 论.....	73
3.4 小 结.....	79
第4章 结 论.....	81
参考文献.....	83
攻读博士期间获得科研成果.....	107
致 谢.....	109