

# 电纺制备 PLGA/可溶性蛋壳膜蛋白纤维膜及其性能研究

刘 更<sup>1</sup>, 段嫒嫒<sup>1</sup>, 靳海立<sup>1</sup>, 延 卫<sup>2</sup>, 贾 骏<sup>1</sup>

**[摘要]** 目的 评价静电纺丝法制备的 PLGA/可溶性蛋壳膜蛋白(soluble eggshell membrane protein, SEP) 纤维膜的理化性能和生物相容性。方法 利用静电纺丝技术制备 PLGA:SEP = 90:10、70:30、50:50 的 PLGA/SEP 纳米纤维膜(实验组)及 PLGA 纤维膜(对照组)。扫描电镜观察其表面形貌,测量纤维直径。检测接触角、拉伸强度。傅里叶红外光谱分析混合物构象,扫描电镜和 MTT 法研究成纤维细胞在纤维膜表面生长、增殖情况,评价 PLGA/SEP 纤维膜的细胞相容性。结果 两组纤维膜直径均一,呈相互连通的多孔网状结构。随着 PLGA 含量的增加,纤维直径、接触角、拉伸强度增大;红外光谱分析表明 PLGA 与 SEP 的特征峰均出现在复合膜的红外谱图中;SEM 观察 PLGA/SEP 纤维膜组细胞粘附数目较 PLGA 纤维膜组多,生长旺盛,并且已有细胞向纤维内部生长;MTT 结果也证明成纤维细胞在 PLGA/SEP 纤维膜上增殖情况优于 PLGA 纤维膜。结论 电纺制备的 PLGA/SEP 纤维膜既有良好生物相容性又具备一定力学强度,可作为一种具有发展潜力的引导组织再生(guided tissue regeneration, GTR)膜。

**[关键词]** 静电纺丝; PLGA; 可溶性蛋壳膜蛋白; 生物相容性; 引导组织再生

**[中图分类号]** R780.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1003-9872(2012)02-0069-05

## Preparation and evaluation of electrospun PLGA/SEP fiber membrane

LIU Geng, DUAN Yuan-yuan, JIN Hai-li, YAN Wei, JIA Jun. (Department of Prosthodontics, School of Stomatology, Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China)

**Abstract:** **Objective** To evaluate the physicochemical properties and biocompatibility of PLGA/SEP (soluble eggshell membrane protein) nanofiber membrane prepared by electrospinning. **Methods** Different ratios of electrospun PLGA/SEP nanofiber membrane (experimental group) and pure PLGA membrane (control group) were prepared. The ratios of PLGA/SEP were 90:10, 70:30, 50:50. The blend membrane and its fiber diameter were observed with scanning electron microscope (SEM). The contact angle and tensile strength were tested. The constitution of the blend membrane were analyzed with Fourier infrared spectroscopy. The growth and proliferation of fibrous in fibrous membrane were examined by MTT to determine the biocompatibility of PLGA/SEP nanofiber membrane. **Results** Uniform diameter and interconnected porous network structure showed in nanofiber membrane (including in experimental and control group). Fiber diameter, contact angle and tensile strength were increased with PLGA added. There were characteristic peaks of PLGA and SEP in the infrared spectra of blend membrane. Fibroblast growth in the PLGA/SEP fiber membrane was better than that in pure PLGA fiber membrane. **Conclusions** There is good biocompatibility and adapt tensile strength in the electrospun PLGA/SEP mat. It is a potential material for guided tissue regeneration membrane.

**Key words:** electrospinning; PLGA; soluble eggshell membrane protein; biocompatibility; guided tissue regeneration

Stomatology 2012, 32(2): 69-72, 114

蛋壳膜(eggshell membrane, ESM)为蛋壳与蛋白之间的纤维网状双层半透膜,来源广泛,具有良好的微生物阻隔性,生物相容性,以及高度交联、相互通透的多孔网状结构,并且一侧致密一侧疏松;与理想的引导组织再生(Guided Tissue Regeneration, GTR)膜的要求极其相似<sup>[1-2]</sup>。研究表明,由于天然 ESM 在外形尺寸、强度、空间维持能力上的限制,直

接用作 GTR 材料的实际效果并不理想,此外大量二硫键所组成的高度交联结构,也对 ESM 的降解存在不利影响<sup>[3]</sup>。从 ESM 中提取的可溶性蛋壳膜蛋白(soluble eggshell membrane protein, SEP),能够支持 NIH3T3 细胞的粘附、生长,具有与 I 型胶原几乎相同的生物相容性<sup>[4]</sup>。因此,可以利用 SEP 通过适当的加工技术模拟和重建天然蛋壳膜的结构与性能,制备 GTR 膜。静电纺丝技术就是这样一种理想的组织工程支架制备技术。SEP 分子中存在氢键相互作用,可纺性差,难以通过单纯电纺来制备,并且机械强度差,无法满足 GTR 膜的基本要求<sup>[5-6]</sup>。聚乳酸-乙醇酸[PLGA, Poly(lactide-co-glycolide)]可

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30800222)

作者单位:1 第四军医大学口腔医学院修复科,西安(710032);2 西安交通大学环境与化学工程学院化工教研室,西安(710049)

通信作者:贾骏 E-mail: jiajun@fmmu.edu.cn

纺性强,易加工成型、机械强度高、可降解,但生物相容性较天然高分子差<sup>[7]</sup>。本研究采用静电纺丝技术将 SEP 与加工性能、机械性能良好的 PLGA 混纺,制备既有良好生物相容性又具有一定力学强度的 PLGA/SEP 纤维膜,并对其形貌、亲水性、拉伸强度及细胞的粘附、增殖情况进行检测,为其作为 GTR 膜材料的后续应用研究提供依据。

## 1 资料与方法

### 1.1 实验主要试剂、仪器

PLGA(LA:GA=80:20,相对分子量  $1 \times 10^5$ ,济南岱罡生物材料有限公司);六氟异丙醇(HFIP,Sigma 公司,美国);DMEM 培养基(Gibco 公司,美国);胎牛血清(FBS,四季青公司,中国);胰蛋白酶(Sigma 公司,美国);四氮唑盐(MTT,Sigma 公司,美国);BGG40/2 高压直流电源(北京机电研究所 0-30 kV);傅里叶红外光谱测量仪(FTIR-8400S,岛津公司,日本);扫描电镜(S-4800,日立公司,日本);接触角测定仪(DSA 10,Kruss 公司,德国);酶联免疫检测仪(LEICA 公司,德国)。

### 1.2 PLGA/SEP 电纺纤维膜的制备

SEP 参照文献[4]从蛋壳膜中提取,将质量比依次为 90:10、70:30、50:50 的 PLGA 和 SEP 混溶于六氟异丙醇(HFIP)中,配制成浓度为 10%(w/v)的混合溶液作为纺丝液,在电压为 17 kV,接收距离 14 cm,流速 0.6 ml/h 的参数下制备 PLGA/SEP 纤维膜。同样的条件下制备 PLGA 纤维膜。所得纤维膜均在室温下真空干燥 24 h。

### 1.3 PLGA/SEP 电纺纤维膜形貌分析

取纤维膜样品,表面喷金、固定,扫描电镜(scanning electron microscope,SEM)观察纤维表面形貌,图像分件软件 ImageJ 测量电镜照片,随机选取 20 根纤维计算其直径。

### 1.4 PLGA/SEP 电纺纤维膜接触角测量

将纤维膜剪成条状,用双面胶固定于载玻片上,使用座滴法测量纤维膜接触角,液滴为甘油,液滴体积为 3  $\mu$ l,每种纤维膜测量 5 次。

### 1.5 PLGA/SEP 电纺纤维膜的力学性能

将纤维膜裁成 50 mm  $\times$  5 mm 的矩形试样,千分尺确定样品的厚度,将试样置于 EZ Test 桌上型试验机上进行拉伸强度测试,试样夹距 30 mm,拉伸速度 5 mm/min,每种膜做 3 个平行实验。

### 1.6 PLGA/SEP 电纺纤维膜红外光谱分析

将各组纤维膜研磨成细粉与溴化钾混合均匀后压片,同时制备 SEP 粉末压片,通过傅里叶红外光

谱仪测量纤维膜的红外光谱。

### 1.7 PLGA/SEP 电纺纤维膜的细胞相容性

纤维膜 Co<sup>60</sup>消毒、裁剪后,置于 12 孔板中,75%乙醇浸泡 0.5 h,紫外线光照 24 h,然后 PBS 浸泡 24 h 置换出其中的酒精,DMEM 培养基浸泡 24 h,以备细胞接种。

10%胎牛血清的 DMEM 培养液在 25 cm<sup>2</sup> 的细胞培养瓶中播种 L-929 细胞(小鼠成纤维细胞株)维持 37  $^{\circ}$ C、5% CO<sub>2</sub> 条件下培养,每 2 d 换一次液,待细胞长满瓶底时用 0.25% 的胰蛋白酶消化传代。本实验选用第三代细胞,将 L-929 细胞按照  $2 \times 10^4$  个/孔的密度接种于消毒后的纤维膜上,培养 3 d 后取出纤维膜,4  $^{\circ}$ C 下 3% 戊二醛固定 24 h, PBS 冲洗,梯度乙醇脱水,CO<sub>2</sub> 临界点干燥、喷金,SEM 观察。培养 1、3、5、7 d 后分别向每孔中加入 MTT 溶液(5 mg/ml) 200  $\mu$ l,继续孵育 4 h。终止培养后,小心吸弃孔内培养的上清液,每孔加入 2000  $\mu$ l 的 DMSO,于微型振荡器上振荡 10 min,使甲臞充分溶解,酶联免疫检测仪上测定 490 nm 处的吸光度值。

### 1.8 统计学方法

采用 SPSS 12.0 统计软件进行分析。数据以均值  $\pm$  标准差表示,组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$  为有统计学意义。

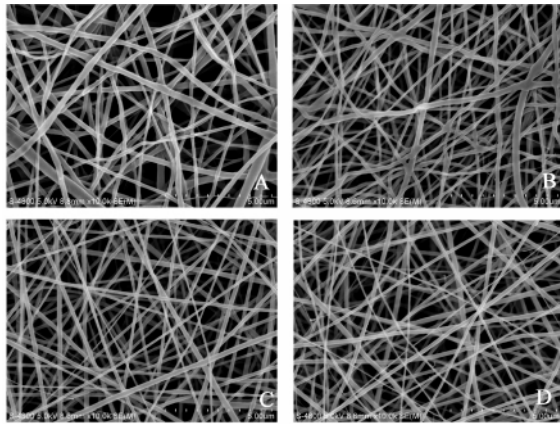
## 2 结果

### 2.1 PLGA/SEP 电纺纤维膜的表面形貌

5000 倍扫描电镜下可见 PLGA 与不同比例的 PLGA/SEP 纤维膜中纤维交错相叠、光滑均一,没有明显的珠状膨大结构或纤维粘连现象,呈现出相互连通的三维网络状结构(见图 1)。电纺膜中纤维直径如表 1 所示:不同比例的 PLGA/SEP 纤维膜直径均小于 PLGA 纤维膜直径,且随着 PLGA 含量的增加,PLGA/SEP 纤维膜的直径明显增加。其中 PLGA 纤维膜与 PLGA/SEP = 90:10 间无显著性差异( $P > 0.05$ ),而与 70:30、50:50 两组比较有显著性差异( $P < 0.05$ ); PLGA/SEP = (90:10、70:30、50:50) 各组之间两两比较均有显著性差异( $P < 0.05$ )。

### 2.2 PLGA/SEP 电纺纤维膜的亲水性

用接触角测定仪测量纤维膜的接触角,所得结果见表 1。随着 SEP 含量的增加,纤维膜表面接触角相应降低,亲水性提高。PLGA 纤维膜接触角与含有不同比例 SEP 的 PLGA/SEP 纤维膜之间均有显著性差异( $P < 0.05$ ),不同比例的 SEP 纤维膜之间无显著性差异( $P > 0.05$ )。



A: PLGA; B: PLGA/SEP = 90:10; C: PLGA/SEP = 70:30; D: PLGA/SEP = 50:50

图 1 SEM 观察 PLGA/SEP 电纺纤维膜形貌(×5 000)

Fig 1 SEM images of electrospun PLGA, PLGA/SEP membranes(×5 000)

表 1 PLGA/SEP 电纺纤维膜的直径及接触角

Tab 1 The fiber membranes diameter and contact angle of electrospun PLGA/SEP

试样	直径( nm)	接触角( °)
PLGA	370.93 ± 91.41	104.6 ± 3.01
10% PLGA/SEP = 90:10	335.39 ± 87.39	103.7 ± 2.20
10% PLGA/SEP = 70:30	231.62 ± 54.88	102.6 ± 1.41
10% PLGA/SEP = 50:50	266.06 ± 76.67	100.2 ± 2.57

### 2.3 PLGA/SEP 电纺纤维膜的力学性能

对 PLGA/SEP 纤维膜进行拉伸测试,结果见表 2。随着 PLGA/SEP 纤维膜中 PLGA 比例的增加,纤维膜的拉伸强度和断裂伸长率都相应增大。PLGA/SEP(90:10、70:30、50:50) 各组间两两比较均有显著性差异( $P < 0.05$ )。当 PLGA/SEP 的比例增加到 90:10 时,其平均拉伸强度和断裂伸长率小于单纯 PLGA 组,但两者间未见显著性差异( $P > 0.05$ )。

表 2 不同比例的 PLGA/SEP 纤维膜力学强度

Tab 2 The mechanical strengths of electrospun PLGA/SEP fiber membranes (n = 3)

试样	拉伸强度( MPa)	断裂伸长率( %)
PLGA	4.64 ± 0.09	47.06 ± 3.59
10% PLGA/SEP = 90:10	4.21 ± 0.28	41.75 ± 2.82
10% PLGA/SEP = 70:30	2.08 ± 0.51	22.45 ± 2.48
10% PLGA/SEP = 50:50	1.16 ± 0.14	15.91 ± 1.81

### 2.4 PLGA/SEP 电纺纤维膜光谱分析

采用傅里叶红外光谱仪对 SEP、PLGA、PLGA/SEP 进行红外光谱分析,如图 2 所示: PLGA 纤维膜在 1764.30/cm 处有一明显的吸收峰,为羰基 C=O 的伸缩振动引起的;而在 SEP 中 1652.21/cm 和 1545.38/cm 出现的两个特征吸收峰分别代表酰胺 I 和酰胺 II; PLGA/SEP(90:10、70:30、50:50) 的纤

维膜中同时存在 PLGA 的羰基 C=O 吸收峰及 SEP 的酰胺 I 和酰胺 II 的特征吸收峰,并且随着 SEP 含量的增加,PLGA/SEP 纤维膜中酰胺 I 和酰胺 II 的峰值逐渐增加。

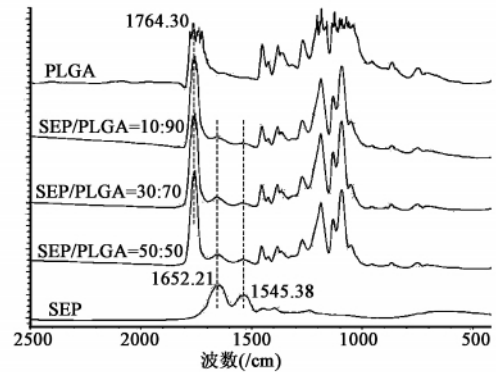
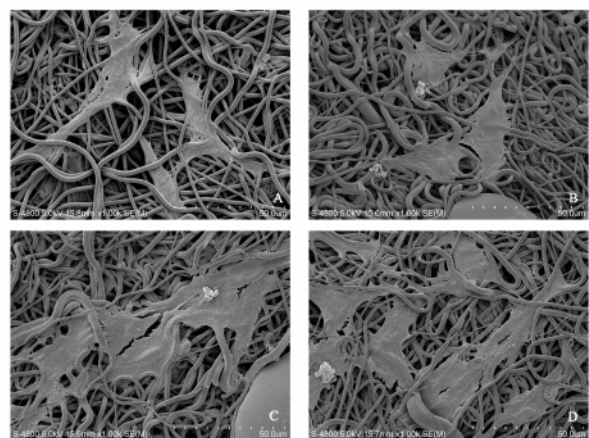


图 2 PLGA/SEP 电纺纤维膜红外光谱图

Fig 2 The infrared spectrum image of electrospun PLGA/SEP fiber membranes

### 2.5 L-929 细胞与电纺纤维膜复合培养观察

图 3 显示接种 3 d 后 L-929 细胞在纤维膜表面的生长情况。L-929 细胞在 PLGA 纤维膜表面贴附牢固,细胞为梭形或多边形,细胞与纤维之间有树枝状突起,细胞沿纤维表面生长;而 PLGA/SEP(90:10、70:30、50:50) 纤维膜上细胞粘附数目较多,铺展充分,细胞与细胞之间通过伪足相互连接,并且已有细胞向纤维内部生长。



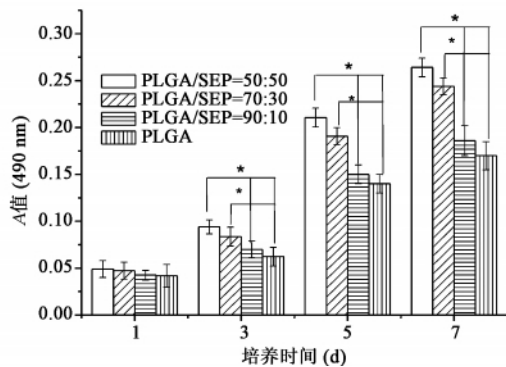
A: PLGA; B: PLGA/SEP = 90:10; C: PLGA/SEP = 70:30; D: PLGA/SEP = 50:50

图 3 SEM 观察 L-929 细胞在 PLGA、PLGA/SEP 纤维膜表面的生长情况(×1 000)

Fig 3 The SEM images of L-929 growth on electrospun PLGA, PLGA/SEP

图 4 显示 L-929 细胞增殖的 MTT 检测情况。复合培养 1、3、5、7 d 后,PLGA 纤维膜与 PLGA/SEP 纤维膜组的吸光度值均随着培养时间的延长而增

大,各检测时间点间 7 d > 5 d > 3 d > 1 d,有显著性差异 ( $P < 0.05$ ); 在 3、5、7 d 检测时间点,PLGA/SEP(70:30) 与 PLGA/SEP(50:50) 纤维膜的吸光度值均大于 PLGA 纤维和 PLGA/SEP(90:10) 纤维膜组,并且具有显著性差异 ( $P < 0.05$ )。



\* 表示  $P < 0.05$

图 4 PLGA/SEP 电纺纤维膜上 L-929 细胞增殖情况

Fig 4 The L-929 proliferation on PLGA/SEP nanofiber membrane

### 3 讨论

GTR 技术的原理是利用膜的物理屏障功能将病损区与周围组织隔离,创造一个相对封闭的组织环境,从而使特定组织的再生功能得到最大程度的发挥。GTR 技术关键是屏障膜材料。可吸收性膜材料由于能够自行降解,不需二次手术去除,是目前 GTR 屏障膜材料开发、研究的方向。理想的可吸收性膜材料应当满足以下要求:良好的生物相容性及组织、细胞亲和性;选择性细胞阻隔功能;良好的物理性能及可操作性;降解速度与组织愈合时间相平衡,其降解产物在机体内无不良反应<sup>[8]</sup>。天然 ESMT 具有双层不对称纤维网状结构,且生物相容性良好,具备优异的阻隔性,但由于其外形尺寸、结构强度、空间维持能力限制,不能直接用作 GTR 膜。从天然 ESMT 中成功提取 SEP 为通过静电纺丝技术构建仿生化、符合 GTR 膜材料要求的生物活性纤维膜带来了契机。然而,由于 SEP 可纺性差,难于单独电纺,并且其纤维强度低,生物降解速度较快,许多学者纷纷采用等离子体表面改性、同轴电纺、共混电纺等方法来引入力学性能较好的材料来制备含有 SEP 成分的电纺纤维<sup>[9-11]</sup>。

PLGA 是聚酯类合成高分子材料,具有良好的生物相容性、机械强度,已被广泛应用于组织工程支架材料、手术缝合线、药物缓释载体、医疗缝合补强材料等,然而作为 GTR 材料,PLGA 在生物相容性及

生物活性方面同天然高分子还有一定差距,亲水性较差,细胞吸附能力较弱,缺乏主动的诱导分化和加速生长作用,容易在降解过程中引起局部 pH 值下降导致无菌性炎症<sup>[12]</sup>。

本研究将机械强度高的疏水高分子 PLGA 与生物相容性好的 SEP 混纺制备电纺纳米纤维膜。红外光谱分析表明,PLGA 与 SEP 两者成功共混,共混电纺纤维同时具有 PLGA 羰基 C=O 和 SEP 的酰胺 I、酰胺 II 特征吸收峰,说明两种材料内部之间不存在明显的化学键合作用,静电纺 PLGA/SEP 纤维膜中的两组分处于相分离状态。SEM 显示随着共混复合物中 PLGA 所占比例的增加,其可纺性增强,表现为 PLGA/SEP 纤维膜的直径变粗,且拉伸强度和断裂伸长率也相应提高。接触角测试可以间接反应材料的亲水性,接触角越小,润湿性就越好,表明亲水性越高。随着共混复合物中 SEP 所占比例的增加,PLGA/SEP 纤维膜的亲水性逐渐提高,说明 SEP 可以提高 PLGA/SEP 纤维膜的亲水性。L-929 细胞接种到纤维膜上,SEM 观察显示:PLGA 纤维膜上黏附细胞较少,而 PLGA/SEP 电纺纤维膜上细胞贴附数目多,生长旺盛,细胞为多边形,通过伪足相互连接,并向孔内生长。MTT 结果也显示,PLGA/SEP 纤维膜组的细胞增殖情况明显高于 PLGA 纤维膜组,提示 SEP 的加入提高了电纺纤维膜的生物相容性,使得 PLGA/SEP 纤维膜相比 PLGA 纤维膜更利于细胞的黏附、增殖。

理想的 GTR 膜要求良好的生物相容性、适宜的力学强度、临床可操作性及与组织再生匹配的降解性等多方面之间的协调平衡。本研究只是从表面形貌、直径、力学强度、亲水性、生物相容性等方面对不同比例的 PLGA/SEP 电纺纤维膜的性能进行了初步研究,并未涉及纤维膜的孔隙率、选择性细胞阻隔能力以及体内降解性等研究,因此选择何种比例的 PLGA/SEP 纤维膜更适合作为 GTR 膜临床应用,仍需进一步研究。

### [参 考 文 献]

[1] Nakano T, Ikawa NI, Ozimek L. Chemical composition of chicken eggshell and shell membranes [J]. *Poult Sci*, 2003, 82 (3): 510-514.

[2] Tsai WT, Yang JM, Lai CW *et al*. Characterization and adsorption properties of eggshells and eggshell membrane [J]. *Bioresour Technol* 2006 97 (3): 488-493.

(下转第 114 页)

- [J]. Shanghai Kou Qiang Yi Xue, 1995, 4(3): 128-130.
- [9] 林芝, 刘丽, 倪佩琦, 等. 不同垂直距离对咀嚼肌肌电峰值电压的影响[J]. 临床口腔医学杂志, 2005, 21(1): 44-45.
- [10] Paphangkorakit J, Osborn JW. Effect of jaw opening on the direction and magnitude of human incisal bite forces[J]. J Dent Res, 1997, 76(1): 561-567.
- [11] 施生根, 欧阳官, 郭天文. 总义齿咬合平面定位对咀嚼肌肌电活动的影响[J]. 中华口腔医学杂志, 1994, 29(4): 234-237.
- [12] Piancino MG, Farina D, Talpone F, et al. Surface EMG of jaw-elevator muscles and chewing pattern in complete denture wearers[J]. J Oral Rehabil, 2005, 32(12): 863-870.
- [13] 杨丹苓, 郝春华, 耿屹, 等. 戴用全口义齿不同时间的咀嚼肌肌电图表现[J]. 上海口腔医学, 2006, 15(3): 466-468.
- [14] Li J, Jiang T, Feng H, et al. The electromyographic activity of masseter and anterior temporalis during orofacial symptoms induced by experimental occlusal highspot[J]. J Oral Rehabil, 2008, 35(2): 79-87.
- [15] Goiato MC, Garcia AR, dos Santos DM. Electromyographic evaluation of masseter and anterior temporalis muscles in resting position and maximum tooth clenching of edentulous patients before and after new complete dentures[J]. Acta Odontol Latinoam, 2007, 20(2): 67-72.
- [16] 刘洪臣, 周健林, 刘宁, 等. 无牙颌位嚼肌及颞肌的肌电图峰值电压改变的意义[J]. 口腔医学, 1994, 9(3): 122-124.
- [17] Veyrune JL, Mioche L. Complete denture wearers: EMG of mastication and texture perception whilst eating meat[J]. Eur J Oral Sci, 2000, 108(2): 83-92.
- [18] Fontijn-Tekamp FA, Slagter AP, Van Der Bilt A, et al. Biting and chewing in overdentures, full dentures, and natural dentitions[J]. J Dent Res, 2000, 79(7): 1519-1524.
- [19] Alajbeg IZ, Valentic-Peruzovic M, Alajbeg I, et al. The influence of dental status on masticatory muscle activity in elderly patients[J]. Int J Prosthodont, 2005, 18(4): 333-338.
- [20] 陈宇, 李元新, 刘忠汉, 等. 种植义齿修复牙列缺失后嚼肌肌电活动变化及意义[J]. 口腔医学研究, 2003, 19(4): 307-309.
- [21] 谢秋菲, 陈利, 冯海兰, 等. 总义齿和种植覆盖义齿咀嚼功能及咀嚼模式自体比较的初步研究[J]. 实用口腔医学杂志, 2003, 19(3): 205-209.
- [22] 陈利, 谢秋菲, 冯海兰, 等. 覆盖义齿和全口义齿咀嚼功能的比较研究[J]. 现代口腔医学杂志, 2002, 16(2): 152-154.
- [23] van Kampen FM, van der Bilt A, Cune MS, et al. The Influence of various Attachment types in mandibular implant-retained overdentures on maximum bite force and EMG[J]. J Dent Res, 2002, 81(3): 170-173.
- [24] Weijnen FG, van der Bilt A, Wokke JH, et al. Maximal bite force and surface EMG in patients with myasthenia gravis[J]. Muscle Nerve, 2000, 23(11): 1694-1699.
- [25] Karkazis HC. EMG activity of the masseter muscle in implant supported overdenture wearers during chewing of hard and soft food[J]. J Oral Rehabil, 2002, 29(10): 986-991.
- [26] Uçankale M, Akoglu B, Özkan Y, et al. The effect of different attachment systems with implant-retained overdentures on maximum bite force and EMG[J]. Gerodontology, 2010, Jun 30. [Epub ahead of print] PMID: 20604812 [PubMed-as supplied by publisher]
- [27] Bersani E, Regalo SC, Siéssere S, et al. Implant-supported prosthesis following Brånemark protocol on electromyography of masticatory muscles[J]. J Oral Rehabil, 2011, Feb 5. doi: 10.1111/j.1365-2842.2011.02201.x. [Epub ahead of print] PMID: 21294764 [PubMed-as supplied by publisher]

(收稿日期: 2011-03-29)

(本文编辑: 杨 蓉)

~~~~~

(上接第 72 页)

- [3] Dupoirieux L, Pourquier D, Picot M C, et al. Comparative study of three different membranes for guided bone regeneration of rat cranial defects[J]. International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, 2001, 30(1): 58-62.
- [4] Yi F, Yu J, Guo Z X, et al. Natural Bioactive Material: A Preparation of Soluble Eggshell Membrane Protein[J]. Macromolecular Bioscience, 2003, 3(5): 234-241.
- [5] Lu J, Zhu Y, Guo Z, et al. Electrospinning of sodium alginate with poly(ethylene oxide)[J]. Polymer, 2006, 47(23): 8026-8031.
- [6] Zuwei Ma, Masaya Kotaki, Inai R, et al. Potential of Nanofiber Matrix as Tissue-Engineering Scaffolds[J]. Tissue Engineering, 2005, 11(1-2): 101-109.
- [7] 李双燕. PLGA 组织工程支架材料的研究与展望[J]. 国外丝绸, 2009, 24(2): 29-31.
- [8] 万蕾蕾, 钮晓勇, 宋萌. 牙周引导组织再生技术在牙周病治疗中的应用[J]. 口腔医学, 2006, 26(1): 73-74.
- [9] Mine Y, Oberle C, Kassaify Z. Eggshell matrix proteins as defense mechanism of avian eggs[J]. J Agric Food Chem, 2003, 51(1): 249-253.
- [10] Jia J, Duan Y, Yu J, et al. Preparation and immobilization of soluble eggshell membrane protein on the electrospun nanofibers to enhance cell adhesion and growth[J]. Journal of Biomedical Materials Research Part A, 2007, 86(2): 364-373.
- [11] Kim G H, Min T, Park S A, et al. Coaxially electrospun micro/nanofibrous poly(epsilon-caprolactone)/eggshell-protein scaffold[J]. Bioinspir Biomim, 2008, 3(1): 1748-3182.
- [12] Yi F, Guo Z, Hu P, et al. Mimetics of eggshell membrane protein fibers by electrospinning[J]. Macromolecular Rapid Communications, 2004, 25(10): 1038-1043.

(收稿日期: 2011-08-22)

(本文编辑: 徐 晶)