

仿珍珠层结构增强的丝蛋白 GBR 膜的构建 及其性能的体外实验研究

杨飞宇, 徐文华

(安徽医科大学口腔医学院, 安徽医科大学附属口腔医院, 安徽省口腔疾病研究重点实验室, 合肥 230032)

摘要 目的 制备文石片(AP)增强的丝蛋白(SF)膜,通过测试其拉伸性能、生物相容性及其对成骨分化的影响,研究其作为新型骨组织再生屏障膜的可能性。方法 采用氧化法从天然鲍鱼壳(AS)中提取AP,通过溶液浇筑和蒸发自组装技术制备不同组分比例的AP-SF复合膜和纯SF膜,在湿态条件下使用万能力学试验机测试其拉伸性能。取拉伸强度最大的AP-SF膜利用扫描电镜(SEM)观察其微观结构,使用傅里叶红外光谱仪(FTIR)和X-射线衍射(XRD)来进行表征。通过扫描电镜观察大鼠骨髓间充质干细胞(rBMSCs)在表面的黏附情况,CCK-8及活死细胞染色探究AP-SF膜的生物相容性。使用碱性磷酸酶染色(ALP)和茜素红染色(ARS)检测各组rBMSCs的成骨向分化情况。结果 成功从AS中提取出AP,且由SF和AP固含量为10:9的混合溶液制备出的膜的湿态拉伸性能最强,达8.46 MPa,AP-SF膜的CCK-8和活死细胞染色试验结果与空白组及SF组无明显差异,表明两种膜均具有良好的生物相容性。ALP试验和ARS结果表明AP-SF膜相比SF膜具有更明显的促进rBMSCs成骨分化的能力。结论 制备的AP-SF膜兼具良好的机械性能和生物学性能,具有一定的临床应用潜力。

关键词 文石片;丝素蛋白;珍珠层;引导性骨再生膜;骨缺损修复;成骨分化;

中图分类号 R 782

文献标志码 A

目前,种植义齿被认为是治疗牙列缺损或牙列缺失最理想的修复方式,种植体与周围骨组织形成骨结合是其成功的关键因素,然而,种植位点周围骨量不足,往往会导致种植体与骨结合不良^[1]。引导性骨再生(guided bone regeneration, GBR)技术在临床上最常用于骨缺损修复技术,是通过将膜作为屏障置于骨缺损区,防止生长较快的非成骨细胞(如成纤维细胞和上皮细胞)进入骨缺损区,从而影响新骨的形成^[2]。现有的GBR膜往往存在一些机械性能不足,降解过快或不降解的问题。本研究受天然珍珠层启发使用丝素蛋白(silk fibroin, SF)和文石片(aragonite sheets, AP)制备丝素蛋白基膜,使该膜兼具较好的抗拉强度、生物相容性、生物可降解性、以及一定程度促进成骨向分化的能力,探讨其作为新型GBR膜使用的可行性。

1 材料与方法

1.1 材料 蚕茧(江苏富安茧丝绸股份有限公司);碳酸钠(货号:10019260,上海国药集团化学试剂有限公司)、1%次氯酸钠及溴化锂(货号:S291945、L108931,上海阿拉丁生化科技股份有限公司);MWCO 3500透析袋(河南赛多利斯生物科技有限公司);鲍鱼壳(义乌市谦豫电子商务商行)。

1.2 主要试剂与仪器 缺 part1

胎牛血清(货号:35-079-CV,苏州康宁生命科学有限公司)、胰酶消化液(货号:C100C1,苏州新赛美生物科技有限公司);青-链霉素溶液、BCIP/BNT碱性磷酸酯酶显色试剂盒和Calcein/PI细胞活性与细胞毒性检测试剂盒(货号:C0222、C2015M)均购置于上海碧云天生物技术有限公司;CCK-8细胞增殖毒性检测试剂盒(货号:CK04,日本同仁化学研究所);酶标仪(型号:Infinite 200Pro M nano,美国Thermo Fisher公司);扫描电子显微镜(型号:SEM3200,合肥国仪量子技术有限公司);二氧化碳孵育箱(型号:Forma3111)和傅里叶红外光谱仪(型号:Nicolet8700,美国热电尼高力仪器公司)。

1.3 方法

1.3.1 AP的提取 将鲍鱼壳珍珠层,加入至含有

2025-01-28 接收

基金项目:安徽省卫生健康科研项目(编号:AHWJ2022b001);安徽省转化医学研究院科研基金重点项目(编号:2022zhyx-B03)

作者简介:杨飞宇,男,硕士研究生;

徐文华,男,副教授,硕士生导师,通信作者,E-mail: xuwenhua@ahmu.edu.cn

1%次氯酸钠溶液的烧杯中,持续剧烈搅拌,以去除天然珍珠层中的生物聚合物。将获得的沉淀物离心(3500 r/min, 5 min)洗涤5次,将获得的AP置于60℃烘箱中干燥24 h备用。

1.3.2 SF溶液的制备 将蚕茧剪成小片状,置于煮沸的0.02 mol/L的碳酸钠溶液中,煮沸30 min后取出,去离子水洗涤5次以去除丝胶蛋白和多余的碳酸钠。将脱胶后的蚕丝置于60℃烘箱中干燥12 h。配置9.3 mol/L的溴化锂溶液,将脱胶后的蚕丝在60℃水浴加热下溶解3~4 h,所得的溶液装入MWCO 3500透析袋内在去离子水中透析4 d。最后将透析袋内的溶液移入离心管,8 000 r/min离心2次,每次15 min,取上清液^[3]。标定获得4%浓度的SF溶液,置于4℃冰箱冷藏备用。

1.3.3 制备AP-SF双层膜 首先制备SF和AP质量分数比为10:10的复合膜,称取1 g AP和25 ml SF溶液,冰水浴低速搅拌混合均匀,倒入培养皿中,40℃加热台蒸发干燥,将蒸发干燥获得的膜置于50%乙醇溶液中交联4 h,去离子水冲洗干净,保湿待用。同理分别制备SF:AP质量比为10:1、10:3、10:5、10:7、10:9的复合膜和纯SF膜。

1.3.4 力学测试 将不同比例的薄膜裁剪为一定长度和宽度的测试样品,浸泡于PBS内,室温过夜,并通过力学万能实验机以5 mm/min的拉伸速度匀速拉伸直至样品断裂,测量其室温条件下的湿态抗拉强度,每组样品重复测试5次。

1.3.5 结构表征 取抗拉强度最大的薄膜所对应的AP-SF溶液重新制备膜样品。低真空下喷金后使用扫描电镜在7.0 kV的加速电压下拍摄AP粉末、AP-SF膜样品的表面以及截面,取鲍鱼壳粉末、AP粉末、SF膜和AP-SF膜采用傅里叶变换红外光谱(fourier transform infrared spectroscopy, FTIR)和X射线衍射(X-ray diffraction, XRD)分析各成分。

1.3.6 rBMSC的提取 SPF级SD雄性大鼠1只,3周龄,体质量50±5 g,脱颈处死后浸入75%乙醇中10 min,取大鼠后腿股骨,除去股骨表面的筋膜肌肉,浸入含2%双抗的PBS中冲洗,用眼科剪剪去股骨两端,使用注射器抽取无血清培养基对骨髓腔冲洗至髓腔变白,离心去除上清液,加入含20%血清培养基重悬,置于培养皿中培养,4 d后首次换液,定期换液,取第2~3代用于实验。本研究已通过伦理委员会审查批准,伦理编号为:SH9H-2021-T117-2。

1.3.7 细胞生物相容性实验 根据国际标准组织

(ISO/EN10993-12)规定提取SF膜与AP-SF膜的浸提液,将高温高压消毒后的各组样品浸泡于含10%血清和1%青-链霉素溶液的 α -MEM培养基中24 h,样品与培养基的比例为1 g/10 ml。CCK-8细胞毒性检测:在96孔板内接种细胞,每组每个时间点5个副孔,每孔接种3 000个rBMSCs。接种24 h后更换培养基, SF组与AP-SF组分别使用对应的浸提液培养,对照组使用普通培养基培养,之后每3 d换1次液。在1、4、7 d时分别弃去原培养基, PBS清洗,每孔加入配置好的CCK-8溶液100 μ l, 37℃孵育1 h后使用酶标仪读取每孔在450 nm处的吸光度值。

1.3.8 细胞活力及细胞黏附实验 细胞活力实验:将SF膜、AP-SF膜制备成直径10 mm的圆形样品。在24孔板每孔接种5 000个rBMSCs,每组3个复孔,培养7 d后按照活死细胞染色试剂盒使用说明进行染色操作,使用荧光显微镜进行观察。细胞黏附实验:将AP-SF膜制备成直径6 mm的圆形样品。在每个样品的表面上接种 1×10^4 个BMSCs细胞,3 d后, PBS清洗2~3次,用4%多聚甲醛固定样品30 min后 PBS清洗3遍,使用扫描电镜拍摄样品。

1.3.9 细胞成骨分化的检测 将消毒后的各组样品分别浸泡于成骨诱导培养基内,样品与培养基的比例为1 g/10 ml,获得浸提液。将rBMSCs接种于12孔板内,每孔 2×10^5 个,24 h后更换成骨诱导培养基或相应浸提液,每3 d换1次液,7 d后采用ALP染色的方法检测ALP活性,14 d后采用茜素红染色方法检测钙盐沉积。

1.3.10 统计学处理 采用SPSS 26.0进行统计学分析,所有实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析方法比较多组间均数的差异,并采用LSD-*t*检验进行两两比较,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 AP和AP-SF膜的样品表征和成分分析 通过氧化法获得了白色的AP粉末(图1A),扫描电镜可见其呈不规则片状结构,AP-SF膜表面可见自然排列的AP片(图1B),同时膜截面可见SF和AP混合结构堆叠到一起,呈类珍珠层状结构(图1C、1D);通过比较AS、AP以及AP-SF膜的XRD图像,发现在反应过程中未破坏AP结构且膜中确实存在AP片(图1E)。FTIR光谱显示,与SF膜相比,AP-SF膜C-N伸缩振动和N-H弯曲振动由 $1 513 \text{ cm}^{-1}$ 移动至 $1 470 \text{ cm}^{-1}$,C=O键从原先 $1 649 \text{ cm}^{-1}$ 振荡

移动到 $1\ 654\ \text{cm}^{-1}$, 且峰值增强。N-H 伸缩振动由 $3\ 385\ \text{cm}^{-1}$ 移动至 $3\ 349\ \text{cm}^{-1}$, 表明 AP 通过氢键和疏水作用等作用力和 SF 发生相互作用, 同样证实 AP-SF 膜中 AP 的存在 (图 1F)。

2.2 不同比例 AP-SF 膜的拉伸性能及溶胀性能

图 2A、2B 为在湿态条件下, 不同比例 SF 和 AP 所浇筑膜的拉伸性能比较, 当 SF 和 AP 质量比达到 10:9 时, 膜的拉伸强度可达到 8.46 MPa; 溶胀结果 (图 2C) 显示, 膜的溶胀在最初的 0.5 h 增长最快, 在 1 h 左右达到溶胀平衡。且 AP-SF 膜的溶胀率小

于 SF 膜。

2.3 AP-SF 膜生物相容性及细胞黏附能力实验

CCK-8 结果显示, 使用浸提液培养 1、4、7 天后, 空白组、SF 组和 AP-SF 组之间的吸光度值无明显差异 (图 3A) 且细胞不断增殖; 将 rBMSCs 接种在 AP-SF 膜的粗糙面 3d 后, 扫描电镜结果表明细胞可以较好地黏附在 AP-SF 膜的粗糙面上 (图 3B)。活死细胞染色结果如图 3C 所示, 活细胞呈绿色荧光, 死细胞呈红色荧光, 空白、SF 及 AP-SF 组表面上活死细胞比例无明显差异。

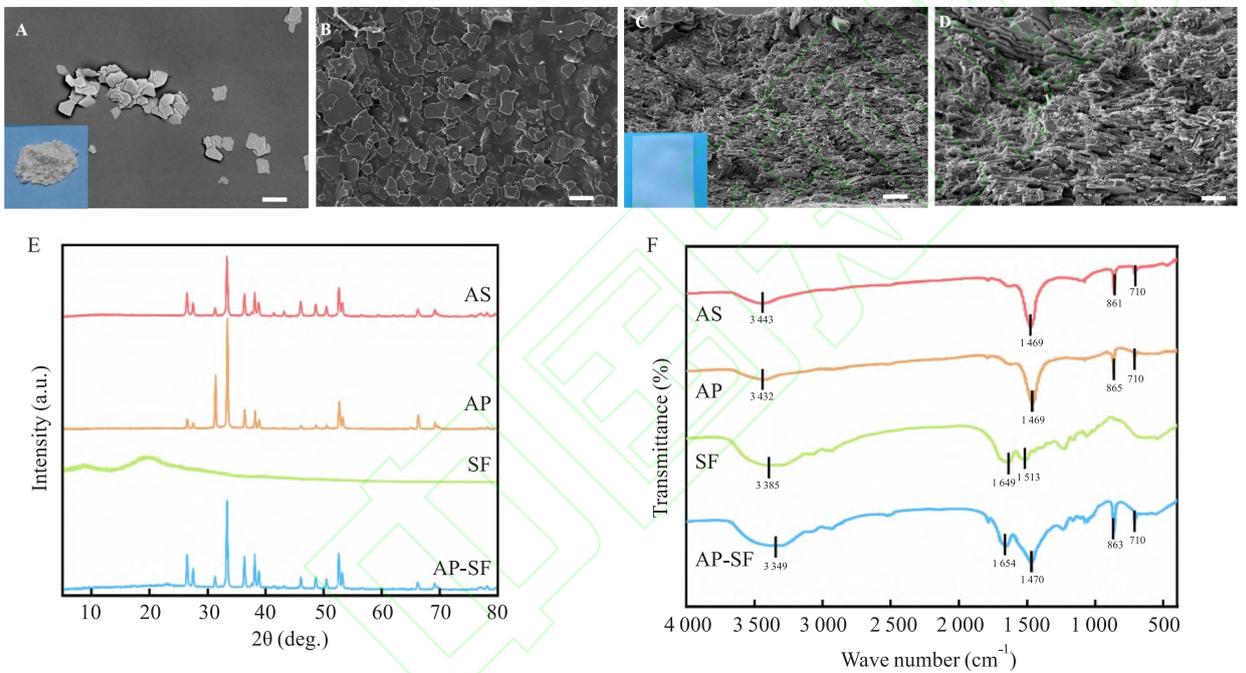


图 1 扫描电镜下 AP 及 AP-SF 膜的微观表征

Fig. 1 Microscopic Characterization of AP and AP-SF Membranes under Scanning Electron Microscopy

A: AP power $\times 1\ 000$; B: SEM of surface $\times 1\ 000$; C: SEM of cross-section $\times 1\ 000$; D: Cross-section $\times 2\ 000$; E: XRD of AS, AP, SF and AP-SF; F: FTIR of AS, AP, SF and AP-SF.

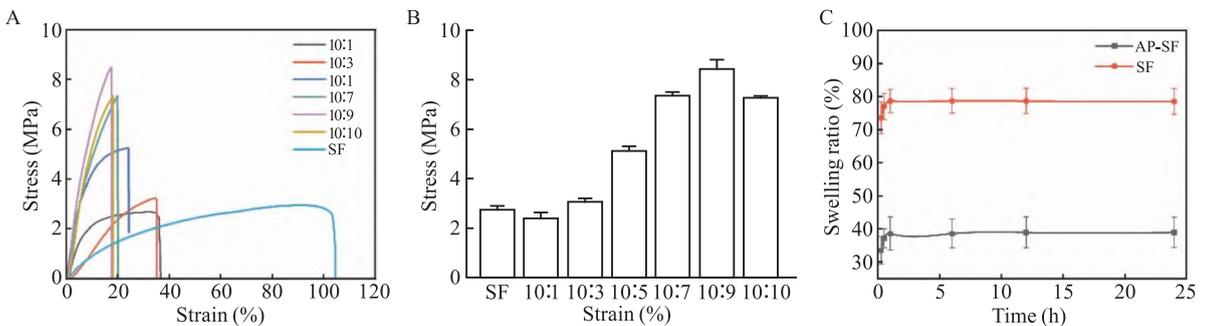


图 2 膜的拉伸性能和溶胀性能测试

Fig. 2 Testing of the Tensile Properties and Swelling Properties of the Membrane

A: Tensile Curves of SF and AP-SF; B: Statistical Chart of Tensile Strength; C: Results of swelling test.

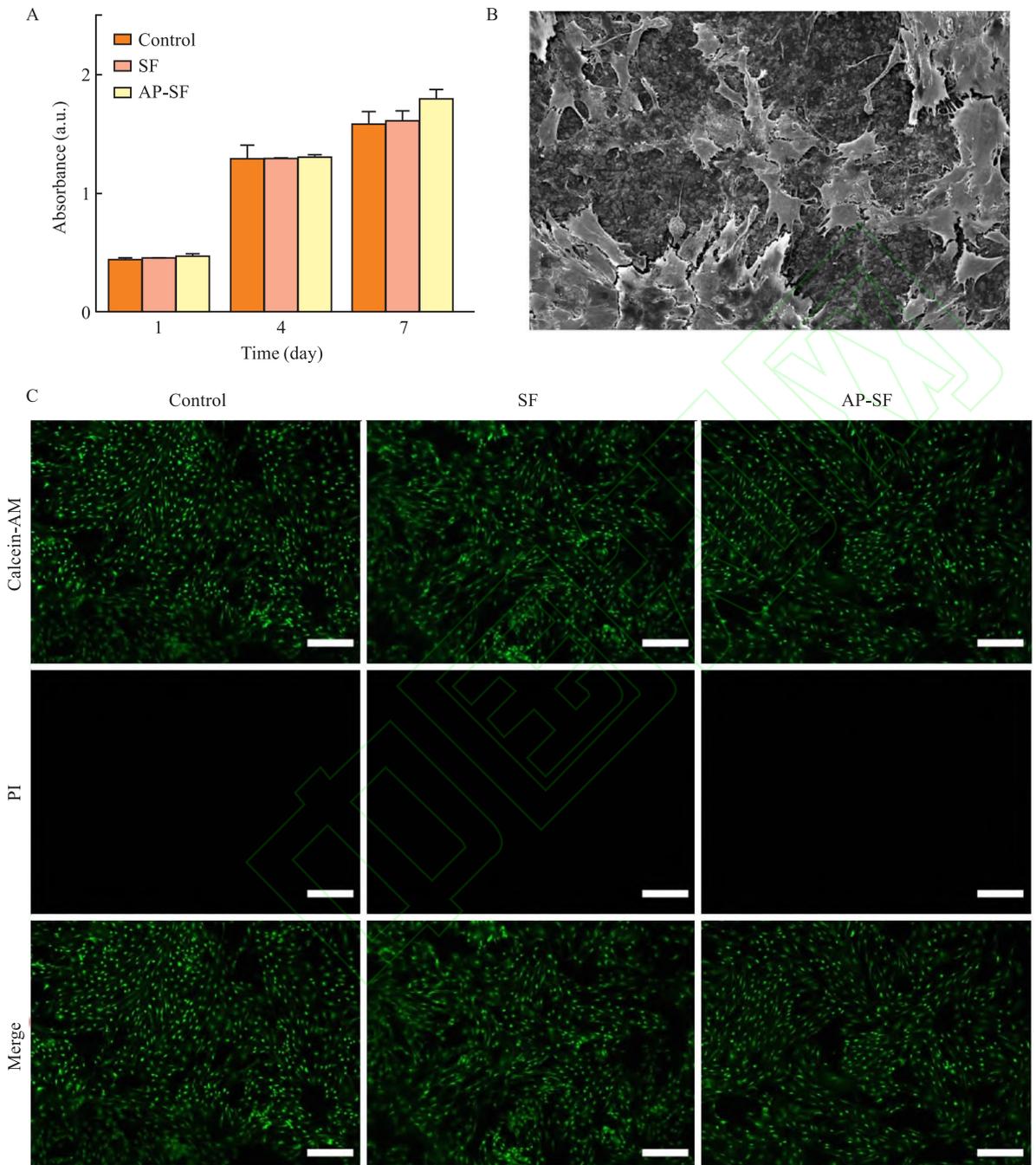


图3 AP-SF膜的生物相容性

Fig. 3 Biocompatibility of AP-SF Membrane

A: Results of CCK-8 assay; B: SEM image after cell inoculation $\times 200$; C: Results of live/dead staining 7 days after cell inoculation $\times 50$.

2.4 促成骨分化能力 成骨诱导分化第7天ALP染色结果显示:相对于空白组及SF组,AP-SF组显色更深(图4A),且第14天茜素红染色结果显示:AP-SF组细胞内钙盐沉积更明显(图4B)。以上结果表明,得益于AP的加入,AP-SF膜能够促进rBM-SCs细胞成骨分化。

3 讨论

引导性骨再生技术是目前临床上修复骨缺损不可或缺的技术之一,目前市面上存在许多GBR膜^[4],例如,不可降解的钛网、聚四氟乙烯(polytetrafluoroethylene, PTFE)、钛增强的ePTFE、高密度PTFE等临床常用材料需要进行二次手术取出,往往

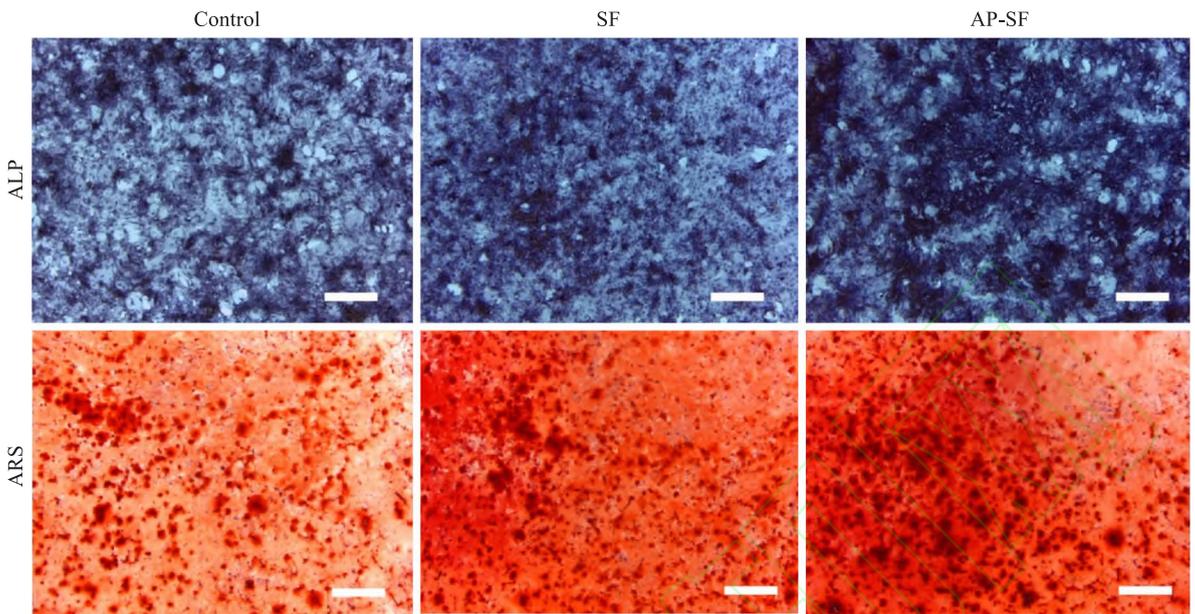


图4 成骨诱导分化各组细胞 ALP 和 ARS 染色镜下图 ×100

Fig. 4 Microscopic images of ALP and ARS staining of cells in each group after osteogenic induction differentiation ×100

会增加患者的手术风险、痛苦和负担^[5]。可生物降解的 GBR 膜,虽然无需进行二次手术,但它们较差的机械性能和相对较差的骨再生能力仍然是一个重大问题。SF 作为一种来源广泛的天然高分子蛋白材料,过往研究^[5]表明其具有优异的生物相容性和力学性能,同时其分子结构与构骨组织的主要有机成分 I 型胶原纤维具有高度的相似性,可通过调节细胞外基质的合成和分泌,激活细胞内信号通路来促进骨细胞的增殖和分化,被公认是在骨组织工程领域颇具潜力的天然材料。Zhou et al^[6] 设计了纳米银颗粒/庆大霉素包埋的 SF 涂层,对促进成骨分化表现具有有益作用。珍珠层是天然矿化的产物,由 95% 的 AP 和 5% 的有机物通过亚微米级的砖泥结构堆叠而成,协同界面相互作用阻碍了裂纹扩展,使珍珠层具有优异的断裂韧性和强度,AP 是珍珠层中天然的“砖”^[7],是一种较理想的构建材料。Huang et al^[8] 和 Matta et al^[9] 的研究表明添加了珍珠层 AP 的材料具有可以促进人成骨细胞诱导的骨样结节的形成,增强成骨能力。

本实验采用天然珍珠层剥离的 AP 作为“砖”和 SF 作为“水泥”,通过溶液浇铸、蒸发自组装技术制备了类珍珠层非对称的 AP-SF 膜。类珍珠层的“砖-泥”结构可为 AP-SF 膜提供良好的拉伸性能,可达到 8.46 MPa,远高于市场上广泛使用的 Bio-Gide 胶原膜的 1.68 MPa。Zhang et al^[10] 研究表明珍珠

层结构的构建,赋予了膜较好的机械变形能力,对于防止膜穿孔和破裂的能力有一定的加强。Wu et al^[11] 发现亲水性基材在水环境中发生溶胀导致机械不稳定性,从而限制了其在引导骨再生中的应用。本研究结果显示 SF 具有较高亲水性,制作成膜后表现出广泛的溶胀,而随着 AP 的加入增强了膜的稳定性,降低溶胀率,对于维持膜的机械稳定起重要作用。众所周知,表面形貌会影响细胞黏附、增殖,De Mori et al^[12] 研究表明 AP 表面表现出均匀的微粗糙度,因此相对突出的 AP 能为细胞提供更好的附着位点,对于骨缺损区域的成骨细胞附着有一定的促进作用。本研究体外细胞实验结果表明 rBMSCS 可以较好地与 AP-SF 膜共存并能随培养时间的延长而不断增殖。以上结果表明 AP-SF 膜具有良好的机械性能以及生物安全性,非对称类珍珠层膜的结构设计兼顾了屏障功能以及促进细胞黏附的功能^[13-14],ALP 和 ARS 实验表明了随着 AP 粉末的加入增强了膜的促成骨分化能力,弥补了纯 SF 膜成骨能力的缺陷^[15]。

综上所述,该研究通过溶液浇铸、蒸发自组装技术构建了非对称类珍珠层 AP-SF 膜。相关力学性能和体外实验结果显示,所制备的 AP-SF 膜有望作为新型的 GBR 膜应用于临床。

参考文献

[1] Zhu J, Tang H, Wang S, et al. Mussel-inspired self-assembly

- platform for staged implant osseointegration: combining early anti-infection and late osteoinduction [J]. *Mater Des*, 2023, 228: 111857. doi: 10.1016/j.matdes.2023.111857.
- [2] He M, Wang Q, Xie L, et al. Hierarchically multi-functionalized graded membrane with enhanced bone regeneration and self-defensive antibacterial characteristics for guided bone regeneration[J]. *Chem Eng J*, 2020, 398: 125542. doi: 10.1016/j.cej.2020.125542.
- [3] 廖小毓, 方辉, 杨飞宇, 等. 高模量高强度丝素蛋白 GBR 膜的制备及性能评估[J]. *安徽医科大学学报*, 2024, 59(4): 590–5. doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.04.005.
- [3] Liao X Y, Fang H, Yang F Y, et al. Fabrication and performance evaluation of high-modulus and high-strength silk fibroin guided bone regeneration membrane[J]. *Acta Univ Med Anhui*, 2024, 59(4): 590–5. doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.04.005.
- [4] Wang D, Zhou X, Cao H, et al. Barrier membranes for periodontal guided bone regeneration; a potential therapeutic strategy[J]. *Front Mater*, 2023, 10: 1220420. doi: 10.3389/fmats.2023.1220420.
- [5] Zhao C, Liu Y, Lv Z, et al. Silk fibroin nacre[J]. *Adv Fiber Mater*, 2022, 4(5): 1191–208. doi: 10.1007/s42765-022-00171-6.
- [6] Zhou W, Jia Z, Xiong P, et al. Bioinspired and biomimetic Ag-NPs/gentamicin-embedded silk fibroin coatings for robust antibacterial and osteogenetic applications[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2017, 9(31): 25830–46. doi: 10.1021/acsami.7b06757.
- [7] Yan J, Zhou T, Yang X, et al. Strong and tough MXene bridging-induced conductive nacre[J]. *Angew Chem Int Ed*, 2024, 63(30): e202405228. doi: 10.1002/anie.202405228.
- [8] Huang Q, Liu Y, Ouyang Z, et al. Comparing the regeneration potential between PLLA/Aragonite and PLLA/Vaterite pearl composite scaffolds in rabbit radius segmental bone defects[J]. *Bioact Mater*, 2020, 5(4): 980–9. doi: 10.1016/j.bioactmat.2020.06.018.
- [9] Matta C, Szűcs-Somogyi C, Kon E, et al. Osteogenic differentiation of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells is enhanced by an aragonite scaffold[J]. *Differentiation*, 2019, 107: 24–34. doi: 10.1016/j.diff.2019.05.002.
- [10] Zhang K R, Gao H L, Pan X F, et al. Multifunctional bilayer nanocomposite guided bone regeneration membrane[J]. *Matter*, 2019, 1(3): 770–81. doi: 10.1016/j.matt.2019.05.021.
- [11] Wu C, Su H, Karydis A, et al. Mechanically stable surface-hydrophobized chitosan nanofibrous barrier membranes for guided bone regeneration[J]. *Biomed Mater*, 2017, 13(1): 015004. doi: 10.1088/1748-605X/aa853c.
- [12] De Mori A, Alasa U J, Mühlh?lzl A, et al. Slipper limpet (*Crepidula fornicata*) shells support *in vitro* osteogenesis of human adipose-derived stem cells[J]. *Mar Drugs*, 2023, 21(4): 248. doi: 10.3390/md21040248.
- [13] Alakpa E V, Burgess K E V, Chung P, et al. Nacre topography produces higher crystallinity in bone than chemically induced osteogenesis[J]. *ACS Nano*, 2017, 11(7): 6717–27. doi: 10.1021/acsnano.7b01044.
- [14] Raz P, Brosh T, Ronen G, et al. Tensile properties of three selected collagen membranes[J]. *Biomed Res Int*, 2019, 2019: 5163603. doi: 10.1155/2019/5163603.
- [15] Santi S, Mancini I, Dirè S, et al. A bio-inspired multifunctionalized silk fibroin[J]. *ACS Biomater Sci Eng*, 2021, 7(2): 507–16. doi: 10.1021/acsbomaterials.0c01567.

Construction of nacre-like structure-enhanced silk protein GBR membrane and its performance *in vitro* experiments

Yang Feiyu, Xu Wenhua

(College & Hospital of Stomatology, Anhui Medical University,

Key Lab of Oral Diseases Research of Anhui Province, Hefei 230032)

Abstract Objective To prepare silk protein (SF) membranes reinforced by aragonite sheets (AP) and to investigate their potential as novel barrier membranes for bone tissue regeneration by testing their tensile properties, biocompatibility, and their effect on osteogenic differentiation. **Methods** AP was extracted from natural abalone shell (AS) by oxidation method, and AP-SF composite and pure SF membranes with different component ratios were prepared by solution casting and evaporative self-assembly techniques, and their tensile properties were tested using a universal mechanical machine under wet state conditions. The tensile properties were tested using a universal mechanical machine under wet conditions. The microstructure of the AP-SF membrane with the highest tensile strength was observed using scanning electron microscopy (SEM) and characterized using Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) and X-ray diffraction (XRD). Observation of the adhesion of rat bone marrow mesenchymal stem cells (rBMSCs) on the surface by scanning electron microscopy, and exploration of the biocompatibility of AP-SF

己糖激酶 2 通过增强糖酵解途径促进前列腺癌的发生

徐凌凡,丁和康,施浩强,杨 诚,邵 胜

(安徽医科大学第一附属医院泌尿外科,合肥 230022)

摘要 目的 探讨己糖激酶 2 (HK2) 在前列腺癌发生、发展过程中的生物学作用及其调控机制。方法 采用免疫组织化学方法对良性前列腺增生组织和前列腺癌组织进行染色,以了解 HK2 的蛋白表达情况,并分析 HK2 与相关临床指标的关系;采用蛋白质免疫印迹法探究 HK2 在各前列腺癌细胞系中的蛋白表达,并通过噻唑蓝 (MTT) 方法检测细胞活力;利用小鼠皮下成瘤模型观察肿瘤在动物体内的生长情况;采用同位素示踪的方法研究葡萄糖在前列腺癌细胞中的代谢流向。结果 前列腺癌组织中 HK2 的表达高于良性前列腺增生组织 ($P < 0.05$)。HK2 的表达强度与肿瘤的恶性程度、前列腺特异性抗原 (PSA) 水平以及有无远处转移呈正相关 ($P < 0.05$)。HK2 促进前列腺肿瘤细胞的增殖 ($P < 0.05$),促使前列腺肿瘤的形成。HK2 增强了前列腺肿瘤细胞中糖酵解通路的活性 ($P < 0.05$)。结论 HK2 通过调节糖酵解代谢通路的活性促进前列腺癌的发生、发展。

关键词 前列腺癌;己糖激酶 2;糖酵解;细胞增殖;免疫组化;同位素示踪

中图分类号 R 739.8

前列腺癌 (prostate cancer, PCa) 是男性泌尿生殖系统中常见的恶性肿瘤,在西方国家呈高发状态^[1-2]。近年来,随着前列腺肿瘤早期筛查技术的普及以及国民健康体检意识的增强,PCa 在我国的

发病率呈现出逐年攀升的趋势,严重危害我国老年男性人群的健康^[3]。尽管前列腺特异性抗原 (prostate-specific antigen, PSA) 作为 PCa 筛查的关键肿瘤指标在临床上得到广泛应用,但由于 PCa 起病较为隐匿,患者就诊时常处于疾病进展期。因此,了解影响 PCa 发生、发展的分子机制,对于疾病的早发现、早干预具有重要意义。肿瘤细胞内的代谢重编被认为是导致肿瘤发生和发展的重要驱动因素。葡萄糖作为“三大能源物质”之一,其代谢活性直接影响肿瘤细胞的生物学功能。糖酵解途径是葡萄糖在肿瘤

2025-02-08 接收

基金项目:国家自然科学基金项目 (编号:82272886);安徽省教育厅
高校科研项目 (编号:2022AH030118);安徽省转化医学研
究院科研基金项目 (编号:2022zhyx-C37)

作者简介:徐凌凡,男,博士,副主任医师,校聘副教授,硕士生导师,
通信作者,E-mail: ayfxlf@163.com

membrane by CCK-8 and live cell staining. Alkaline phosphatase staining (ALP) and alizarin red staining (ARS) were used to detect the osteogenic differentiation of rBMSCs in each group. **Results** AP was successfully extracted from AS, and the membrane prepared from a mixed solution of SF and AP with a solid content of 10 : 9 had the strongest wet tensile performance, reaching 8.46 MPa. The CCK-8 and live dead cell staining test results of the AP-SF membrane showed no significant difference compared to the blank group and SF group, indicating that both membranes had good biocompatibility. The ALP test and ARS results indicated that AP-SF membrane had a more significant ability to promote osteogenic differentiation of rBMSCs compared to SF membrane. **Conclusion** The prepared AP-SF membrane has both good mechanical and biological properties, and has certain clinical application potential.

Key words aragonite platelets; silk fibroin; nacre; guided bone regeneration; bone defect repair; osteogenic differentiation

Fund programs Health Research Project of Anhui Province (Project No. AHWJ2022b001); Research Project of Anhui Provincial Institute of Translational Medicine (No. 2022zhyx-B03)

Corresponding author Xu Wenhua, E-mail: xuwenhua@ahmu.edu.cn