技术方法 DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.000738

大鼠原代背根神经元在聚甲基丙烯酸甲酯电纺纳米纤维支架上培养的微观形态研究

夏海坚[1]，孙晓川[1]，王伯初[2]，刘　丹[3]，王亚洲[2]，郝石磊[2]，钟　东[1]，夏永智[1]
（1. 重庆医科大学附属第一医院神经外科，重庆　400016；2. 重庆大学生物工程学院生物流变科学与技术教育部重点实验室，重庆　400044；3.重庆市中山医院药剂科，重庆　400013）

【摘　要】目的：探讨原代大鼠背根神经元（dorsal root ganglion neurons，DRGn）在随机或轴向有序排列聚甲基丙烯酸甲酯（polymethylmethacrylate，PMMA）电纺纳米纤维材料上的生长特点及其微观形态。**方法**：利用静电纺丝技术构建具随机或轴向有序拓扑结构的 PMMA 纳米纤维、及作为对照的 PMMA 薄膜，研究分为 PMMA 薄膜组、随机及有序 PMMA 电纺纤维组共 3 组；纯化大鼠 DRGn，利用所转染的绿色荧光蛋白作为显色手段，分析 DRGn 在各型 PMMA 电纺纳米纤维上，其神经突的生长能力及生长形式；并通过扫描电镜探索 DRGn 在电纺纤维上的微观形态特点；本研究采用不同批次构建的 PMMA 材料重复 5 次。**结果**：随机及有序 PMMA 电纺纤维的直径分别为（0.49 ± 0.04）μm 和（0.47 ± 0.03）μm，两者无统计学差异（t=1.079，P=0.474）；DRGn 能够在 PMMA 各型材料上贴壁及生长，培养第 2 天，DRGn 在 PMMA 薄膜、随机或有序电纺纳米纤维上平均分别生成（3.3 ± 1.6）、（2.9 ± 1.2）、（3.1 ± 1.3）个神经突，神经突平均长度分别为（143.7 ± 45.2）μm、（134.2 ± 38.7）μm、（138.4 ± 40.6）μm，和薄膜环境相比，在检查时间点无平均神经突数量（F=8.230，P=0.138）及神经突长度（F=5.470，P=0.195）的差异，有序纳米纤维上的 DRGn 其神经突能够和基质纤维的延伸方向保持一致；电镜检查证实电纺纤维对于 DRGn 神经突的生长具有明显的接触引导作用，而 DRGn 能够敏感感知培养局部的拓扑环境特点并作出相应反应，其具有较强的把握周围纤维信号的能力。**结论**：PMMA 电纺纳米纤维具有作为神经损伤后植入性支架材料的潜力。

【关键词】静电纺丝；纳米纤维；背根神经元；细胞支架；接触引导
【中图分类号】R318.08　　**【文献标志码】**A　　**【收稿日期】**2015-04-07

Growth pattern of rat dorsal root ganglion neurons cultured on random or aligned electrospun polymethylmethacrylate nanofibers plus its microstructure research

Xia Haijian[1], Sun Xiaochuan[1], Wang Bochu[2], Liu Dan[3], Wang Yazhou[2], Hao Shilei[2], Zhong Dong[1], Xia Yongzhi[1]
(1. Department of Neurosurgery, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University;
2. Key Laboratory of Biorheological Science and Technology Chongqing University;
3. Department of Pharmacy, Chongqing Zhongshan Hospital)

【Abstract】*Objective*: To evaluate the growth pattern of rat dorsal root ganglion neurons (DRGn) cultured on random or aligned polymethylmethacrylate (PMMA) electrospun nanofibers and to exhibit the microstructure between neurites and fibers. ***Methods***: Random and aligned electrospun nanofibers were fabricated to culture DRGn on them. The growth manner of DRGn on different substrates were showed, with transfected GFP as the reporting gene and PMMA film as the control. The microstructure between neurites and fibers were analyzed by scanning electron microscope (SEM). ***Results***: The diameters of the random and aligned PMMA electrospun nanofibers were (0.49 ± 0.04) μm and (0.47 ± 0.03) μm, without statistical differences (t=1.079, P=0.474). DRGn could adhere to and grow on the nanofibers; on 2nd day of culture, no difference in average neurite number (F=8.23, P=0.138) and neurite length (F=5.47, P=0.195) was found. On aligned nanofibers DRGn could form aligned neurites along the orientation of substrate nanofibers. Through analysis of SEM, it was revealed that PMMA electrospun nanofibers had strong contact guidance on the neurite growth of DRGn, and DRGn could also perceive and response to local topographic surrounding sensitively. ***Conclusion***: PMMA electrospun nanofibers is potential scaffold after neural injury.

【Key words】electrospining; nanofiber; dorsal root ganglion neurons; cell scaffold; contact guidance

作者介绍：夏海坚，Email：xiahaijian1@hotmail.com，
研究方向：神经再生研究。

基金项目：国家自然科学基金青年基金资助项目（编号：81100906）；重庆市科委前沿与应用基础研究计划资助项目（编号：cstc2014jcyjA 10061）；国家临床重点专科建设经费资助项目（编号：财社【2011】170）；重庆大学“生物流变科学与技术”教育部重点实验室访问学者基金资助项目（编号：CQKLBST-2014-004）。
优先出版：http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20150805.1548.014.html（2015-08-05）

周围或中枢神经系统损伤后的神经修复是神经科学的一个研究热点。在伤后神经再生的诸多策略中，构建具有良相容性的植入性组织工程支架是其中的一个重要方向[1-3]。构建得当的静电纺丝纳米纤维是一种有潜力的组织工程材料，关于电纺纳米纤维在神经再生中的应用，是国际组织工程学界的一个热点。本课题前期研究成功构建聚甲基丙烯酸甲酯（polymethylmethacrylate，PMMA）电纺纳米纤维，结果显示较之常规体外培养环境，所构建的纤维材料无细胞毒性残留，对神经细胞系及多种原代神经细胞具有优良的生物相容性及细胞贴附能力，且其拓扑环境对于神经细胞的生长形态具有重要影响[4-7]，提示 PMMA 电纺纤维具有作为神经损伤后植入性支架的潜力。

详细了解神经细胞，尤其是原代神经元在不同拓扑结构电纺纤维上生长的形态特点对于理解神经元的生物学行为具有重要意义，其结果有助于为最终设计符合临床需求的支架系统提供基础。在前期实验基础上，本研究拟利用静电纺丝技术生产具有随机或有序拓扑结构的 PMMA 纳米纤维支架系统，分离纯化背根神经元（dorsal root ganglion neurons，DRGn）并在电纺纤维上进行体外培养，观察具不同拓扑结构的 PMMA 纳米纤维对于 DRGn 神经突生长的影响，并进而利用扫描电镜分析 DRGn 在不同基质上培养的微观形态特点，该研究旨在为电纺纳米纤维组织支架的后续在体实验提供实验基础。

1 材料与方法

1.1 随机或有序电纺纳米纤维的构建

利用二甲基甲酰胺（Sigma 公司）溶解 PMMA（Sigma 公司）获得 6.5%（重量体积百分比）的 PMMA 溶液，通过配有 30 G 针尖的微量泵以 0.3 ml/h 的速度释出。电纺电压为 10 kV。为获得具有随机或轴向有序拓扑结构的电纺纤维，微量泵针尖和收集系统的距离分别设置为 12 cm 或 20 cm。电纺纤维的收集系统为长方体形，可沿长轴在电机驱动下转动，在 4 个收集面的边缘设有卡槽，15 mm × 15 mm 盖玻片通过卡槽固定其上，电纺纤维最终收集在盖玻片上供后续实验使用。根据构建随机或有序纳米纤维的不同目的，收集系统的转速分别为 400 r/min 或 1 200 r/min。对照用的 PMMA 薄膜，为将 6.5%的 PMMA 溶液覆于 15 mm × 15 mm 盖玻片上而成。

上述材料的制备环境，湿度小于 60%，温度 22 ℃~24 ℃。材料构建完毕后，真空烘箱内室温烘干以除去残留二甲基甲酰胺，另用 250 nm 波长的紫外线照射 1 min，以改善材料亲水性。

电纺纤维制作完毕后，以之为基底构建细胞培养系统，将细胞培养用硅胶隔离片（Grace 公司）通过生物实验用润滑油（Dow Corning 公司）贴附在制备有电纺纤维或薄膜的盖玻片上，从而获得 13 mm 内径、0.5 ml 容积的细胞培养系统，该系统在紫外消毒后，放置于细胞培养皿中候用。

1.2 电纺纳米纤维的表观鉴定

1.2.1 纤维形态观察 利用倒置显微镜（TE2000-S，Nikon 公司）进行纤维形态及排列方向的观察。

1.2.2 纤维直径测定 对于随机或有序 PMMA 电纺纤维，分别随机选取并测量 150 根纤维的直径（ImageJ 软件），计算得到各自的平均直径。

1.3 绿色荧光蛋白慢病毒载体（lentivirus，LV）的组建

绿色荧光蛋白（green fluorescence protein，GFP）（LV-GFP）的组建参照经典文献进行[8]，GFP 的 cDNA 经亚克隆而进入 pRRL 转移载体（英国伦敦大学馈赠），该载体转染 HEK293细胞系，由转染的 HEK293 细胞分泌得到 LV-GFP 病毒颗粒，培养上清液中的病毒颗粒最后通过超速离心浓聚。所得 LV-GFP 再通过梯度浓度法转染新鲜 HEK293 细胞，根据 GFP 的荧光表达量计算得到病毒滴度，本实验所获 LV-GFP 的病毒滴度为 7×10^{10} TU/ml。

1.4 DRGn 的纯化和鉴定

大鼠 DRGn 分离纯化的主要步骤：（1）选取 P2-3 的 Wistar 大鼠，麻醉后通过断头处死；（2）咬除椎板，游离各节段的背根神经节，置于 0 ℃的 F-12 培养基（Gibco 公司）中；（3）解剖显微镜（Leica 公司）下去除神经节外膜及神经根；（4）37 ℃、5% CO_2 孵箱消化 2 h（含 0.125%胶原蛋白酶的 F-12 培养基）；（5）转入 500 μl DRGn 培养基中（BSF2 培养基：500 ml F-12，5 ml N-2 补充剂（Invitrogen 公司），5 ml 牛血白蛋白（30%，BSA，Invitrogen 公司），和 5 ml 100 mg/ml 的青/链霉素），吹打后静置 1 min，将除底部组织沉淀外的其余液体小心转移至 15% BSA 溶液中（即 1 ml BSF2 +1 ml 30% BSA），700 r/min下离心 5 min；（6）去掉上清液，用 DRGn 培养基 BSF2 吹打均匀；（7）细胞计数后候用。

分离纯化后的鉴定采用抗 βⅢ Tubulin 及 DAPI 的双重免疫染色。DRGn 经多聚甲醛固定后，选取 1:500 的兔抗 βⅢ Tubulin（Abcam 公司）为一抗，1:1 000 的羊抗兔 Alexa Fluor 488（Molecular Probes 公司）为二抗，最后用含有 1 μg/ml DAPI（Sigma 公司）的甘油溶液封片，荧光显微镜（莱卡公司）立即观察。

1.5 DRGn 在 PMMA 材料上的培养

1.5.1 方法 前述的以 PMMA 电纺纳米纤维为基底的细胞培养体系构建后，先后用多聚赖氨酸（Sigma 公司）及层粘连

蛋白溶液(10 μg/ml,Sigma 公司)包被。PMMA 薄膜组设为对照。分别将 3×10^3 个 DRGn 置于各型 PMMA 材料上,植入同时利用 LV-GFP 同时转染 GFP 荧光报道基因(感染复数:500)。下文用 GFP/DRGn 指代转染 GFP 的 DRGn。培养基使用 BSF2。倒置荧光显微镜动态观察。

1.5.2 GFP/DRGn 的光镜观察 用 LV-GFP 行病毒转染后约 36 h,GFP 表达强度满意。故本研究将培养第 2 天作为检查时间点,分析 DRGn 神经突的数量及长度,并利用扫描电镜进行 DRGn 微观形态的分析。在培养第 2 天,在每个样本,随机选取 5 个视野进行 GFP 荧光图像的取图(20 ×物镜)。只有长度超过神经元直径的细胞突起才被认定为神经突(用 Image J 软件测量神经突尖端至胞体外缘的距离),而其中最长的一个神经突被视为该 GFP/DRGn 神经突的长度。

1.6 DRGn 的电镜观察

DRGn 在 PMMA 电纺纤维及薄膜上的培养方法同前(无需转染 LV-GFP)。在培养第 2 天,固定后行 SEM 检查。步骤如下:(1)用预热的 3%戊二醛(溶解于 pH 7.2 的 PB 溶液)固定;(2)PBS 液(0.1 mmol/L,pH 7.3)清洗 5 min×3 次;(3)梯度酒精脱水(从 30%开始,逐渐转至 50%,70%和 90%,最后为 3 次 100%酒精),每次持续时间在 30 min 以上,最后纯酒精中过夜;(4)用临界点干燥器(SPI 13200E-AB,西班牙)干燥;(5)用离子溅射仪(Emitech K550x,美国)行表面喷金(厚度约 1~2 nm);(6)扫描电镜(JEOL 820,日本)观察。

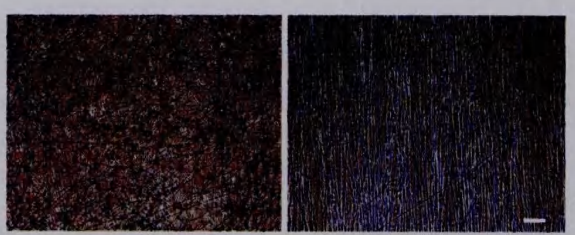
1.7 统计学分析

本实验共重复 5 次。用 SPSS 13.0 软件行统计分析。计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示。两组间均数比较采用两独立样本 t 检验;多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 Student-Newman-Keuls 法。检验水准 α=0.05。

2 结 果

2.1 所得电纺纤维的形态观察

本研究所得 PMMA 电纺纤维如图 1 所示。在随机及轴向有序电纺纤维上,纤维形态均良好,随机电纺纤维上的纤维排列是随机无序的,而有序纤维上的纤维排列具有明显的方向性。



A. 随机 B. 轴向有序

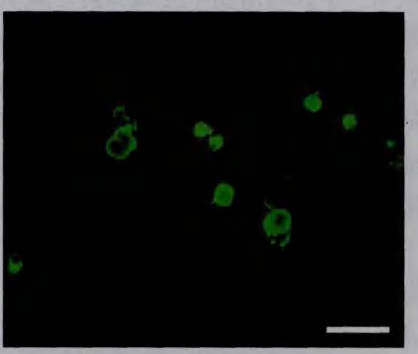
图 1 具有拓扑结构的PMMA 电纺纳米纤维

Fig.1 PMMA electrospun nanofibers with topographic features

本研究随机及有序 PMMA 电纺纳米纤维的直径分别是(0.49±0.04) μm 和(0.47±0.03) μm,两者无统计学差异(t=1.079,P=0.474)。

2.2 大鼠纯化 DRGn 的鉴定

大鼠纯化 DRGn 的免疫荧光染色结果如图 2 所示。DRGn 抗 βⅢ Tubulin 染色为阳性。可见在盖玻片平面环境上,DRGn 的神经突在空间上是随机无序的。



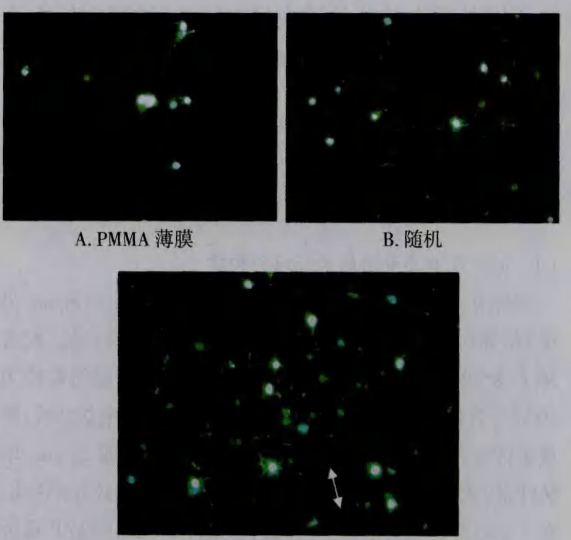
绿色:抗 βⅢ-Tubulin,蓝色:DAPI 染色,标尺:100 μm

图 2 本研究纯化 DRGn 的鉴定

Fig.2 Immunocytochemistry staining of rat DRGn

2.3 GFP/DRGn 的光镜观察

实验显示 GFP/DRGn 可在 PMMA 材料上贴壁并顺利生长(图 3)。培养第 2 天,GFP/DRGn 在 PMMA 薄膜、随机或有序电纺纳米纤维上,分别平均生成(3.3±1.6)、(2.9±1.2),及(3.1±1.3)个神经突,三者无统计学差异存在(F=8.230,P=0.138)。



A. PMMA 薄膜 B. 随机

C. 转向有序

双向箭头表示有序纤维的纤维延伸方向,标尺:100 μm

图 3 培养在不同材料上的 GFP/DRGn

Fig.3 Neurite growth pattern of DRGn cultured on different materials on 2nd day of culture

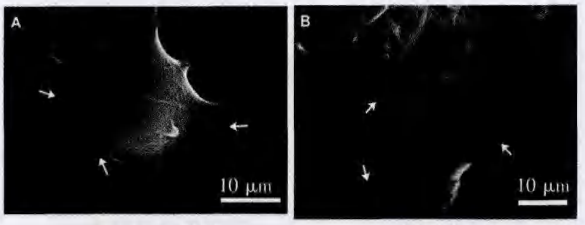
在培养第 2 天，在 PMMA 薄膜、随机或有序电纺纤维上的 GFP/DRGn，神经突平均长度分别为(143.7 ± 45.2)，(134.2 ± 38.7)，及(138.4 ± 40.6) μm，三者亦无统计学差异(F=5.470，P=0.195)。

此外，发现在薄膜和随机纳米纤维上，GFP/DRGn 的神经突是随机无序分布的，和培养在盖玻片上相仿，在有序PMMA 电纺纳米纤维上，GFP/DRGn 神经突的生长方向则能够和基质纤维的延伸方向保持一致。

2.4 DRGn 在 PMMA 电纺纤维上生长的 SEM 观察

SEM 的结果能够揭示 DRGn 和所依附的 PMMA 电纺纤维的相互关系(图 4)。

在 PMMA 薄膜的平面环境上，可见 DRGn 的胞体较扁平，在胞体周围可见较多的板状伪足生成，神经突的生成方向呈随机无序的状态。在随机电纺纤维上，可见 DRGn 的神经突循纤维延伸，神经突和纤维的相互关系非常密切，在SEM 上难以分开，DRGn 的神经突展现出一个复杂的网络结构。而在有序排列 PMMA 电纺纤维上，可见 DRGn 突起生成的最初阶段，胞体放射状的生成神经突，在神经突接触到周围有序排列的纤维后，则接受其接触引导而向远处延伸，从而最终形成和纤维延伸方向一致的排列形态；另外，在有序电纺纤维上，DRGn 在纤维之间形成了一些网状的丝状伪足样结构，这种情况在随机电纺纤维上难以看到，提示 DRGn 能够感知培养局部拓扑环境的特点并作出不同反应。



A. PMMA 薄膜　　B. 随机



C. 转向有序

培养第 2 天。A 中的长箭头代表在平面环境中胞体板状伪足的形成；B中的长箭头代表在随机电纺纤维上神经突循纤维而行的现象；C 中的长箭头代表在有序电纺纤维上，神经突从胞体上放射状生成，攀附上周围有序排列的纤维并继而延伸的现象，而 C 中的短箭头代表神经突在不同纤维间形成的丝状伪足样结构，此种情况在随机纤维上未见。

图 4　DRGn 在不同材料上生长的 SEM 观察

Fig.4　Morphologic characteristic of DRG neuron cultured on different materials respectively on 2nd day of culture

3　讨　论

静电纺丝技术源于工业领域，最近发现用多种天然或合成高分子原料所构建的电纺纳米纤维具有重要的生物工程学价值[9-10]。相比于研究较多的凝胶植入系统，电纺纤维具有以下三个优势，其一，电纺纤维能够模仿天然的胞外基质，因其纳米层级的纤维尺寸和天然胞外基质的尺寸非常类似；其二，作为植入支架，电纺纤维能够为靶细胞提供充裕的贴壁空间，因其具有优良的表面面积/体积比；其三，作为植入支架，电纺纤维有利代谢物质的进出，因其具有天然的多孔性特点。因此，电纺纳米纤维作为损伤后植入性支架的研究，是现今国际组织工程学界的一个热点。对于哺乳动物神经元在不同拓扑结构电纺纳米纤维上的生物学行为，值得深入探讨。

本课题旨在体外分析电纺纤维的拓扑结构对于神经元神经突生长的影响，故选取 PMMA 作为电纺原料。PMMA 是经过临床检验的人工高分子材料，其是多种临床植入性材料的原料，且具有稳定理化性质及良好生物相容性，不会对 DRGn 培养环境造成影响。DRGn 是常用的原代神经元类型，从组织来源讲兼具周围神经系统和中枢神经系统的特点，故本研究选择 DRGn 作为实验对象。在实验的方法学上，本课题未选取免疫染色，而是选取转染 GFP 作为显色手段，该技术有利动态观察神经突生长，且能避免免疫染色过程对培养基质电纺纤维造成的破坏(若行免疫染色，试剂的反复添加易对纳米纤维造成损伤)。

本研究显示大鼠 DRGn 能在各型 PMMA 材料上贴壁并生长。在随机电纺纤维上的 DRGn 所生成神经突的形态和在薄膜平面环境上接近，神经突的空间分布是随机无序的，而在有序纤维上，DRGn 神经突的排列方向则能和基质纤维的方向一致，形成高度有序的神经突排列模式，说明纳米纤维能够为原代神经元提供适宜的胞外基质环境，DRGn 能感知生长局部的拓扑环境特点并作出相应反应，存在通过构建生长局部的拓扑环境从而影响神经元生长特性的可能性[11]。神经纤维的有序分布是周围神经和脊髓白质纤维的重要特点，动物实验显示在周围神经系统或中枢神经系统损伤后，损伤局部皆存

在一定程度的神经再生，但再生的神经突呈现随机无序的排列状态，难以到达远端并重新支配效应器，故本研究提示具有有序拓扑结构的 PMMA 电纺纳米纤维具有提高神经突再生效率的潜力[1-3]。本研究未见 DRGn 神经突数量和神经突长度的差异，证实在前期的材料构建过程中无明显生物毒性残留，纤维材料对于原代神经元具有良好生物相容性。

在不同的拓扑环境中，发现 DRGn 的微观形态是有所区别的。在 PMMA 薄膜平面环境中，DRGn 的胞体更加扁平，神经突的生长呈各向随机无序的状态。而在随机或有序 PMMA 电纺纤维上，发现 DRGn 神经突均能循纤维的拓扑线索向远处延伸，电纺纳米纤维的拓扑结构对于神经突的空间形态具有重要影响。本研究通过 SEM 检查，发现在有序纤维上，DRGn 的神经突最初能够向周围放射状生成，然后依附上胞体周边的有序纤维并进而向远方延伸；虽然对每个 DRGn 而言，较之在有序电纺纤维上，培养在随机纤维上意味着在胞体周围能够有更多的纤维存在，但结果显示并无神经突数量的不同，提示 DRGn 在神经突生成的初始阶段，具有较强的把握周围纤维信号的能力[11-12]。此外，通过 SEM 检查，除了证实神经突和纤维的密切关系外，在有序电纺纤维上尚观察到，DRGn 在临近纤维间，形成一些网状的丝状伪足样结构，此种现象未在随机纤维上观察到，更进一步提示神经元能够感知局部的拓扑环境并作出相应反应[12-13]，这些伪足样结构初步估计和维持胞体的稳定有关[11]。

综上，本课题结果显示 PMMA 电纺纳米纤维可作为大鼠 DRGn 的培养基质，培养第 2 天，相比PMMA 薄膜平面环境，DRGn 在神经突数量及长度上无明显区别；电纺纳米纤维对于 DRGn 神经突的生长具有明显的接触引导作用，DRGn 能感知生长局部的拓扑环境特点并作出不同反应。本课题显示 PMMA 电纺纳米纤维能够作为神经损伤后潜在的植入性支架材料。

参 考 文 献

[1] Scheib J, Höke A. Advances in peripheral nerve regeneration[J]. Nat Rev Neurol, 2013, 9(12): 668-676.

[2] Yoon C, Tuszynski MH. Frontiers of spinal cord and spine repair: experimental approaches for repair of spinal cord injury[J]. Adv Exp Med Biol, 2012, 760: 1-15.

[3] Pêgo AP, Kubinova S, Cizkova D, et al. Regenerative medicine for the treatment of spinal cord injury: more than just promises? [J]. J Cell Mol Med, 2012, 16(11): 2564-2582.

[4] 夏海坚，刘 丹，钟 东，等. 具备不同拓扑结构的聚甲基丙烯酸甲酯静电纺丝纳米纤维细胞支架的构建及鉴定[J]. 重庆医科大学学报，2014，39(4)：515-519.

[5] 夏海坚，刘 丹，钟 东，等. 聚甲基丙烯酸甲酯静电纺丝纳米纤维的拓扑结构对于 PC12 细胞神经突生长能力和方向的影响[J]. 第三军医大学学报，2014，36(4)：351-354.

[6] 夏海坚，刘 丹，钟 东，等. 有序聚甲基丙烯酸甲酯电纺纳米纤维作为大鼠背根神经元负载支架的可行性研究[J]. 第三军医大学学报，2015，37(4)：335-339.

[7] 夏海坚，刘 丹，钟 东，等. 聚甲基丙烯酸甲酯静电纺丝纳米纤维对大鼠原代星形胶质细胞生长的影响[J]. 南方医科大学学报，2014，34(11)：1569-1573.

[8] Dull T, Zufferey R, Kelly M, et al. A third-generation lentivirus vector with a conditional packaging system[J]. J Virol, 1998, 72(11): 8463-8471.

[9] Xie J, Li X, Xia Y. Putting Electrospun Nanofibers to Work for Biomedical Research[J]. Macromol Rapid Commun, 2008, 29(22): 1775-1792.

[10] Xie J, MacEwan MR, Li X, et al. Neurite outgrowth on nanofiber scaffolds with different orders, structures, and surface properties[J]. ACS Nano, 2009, 3(5): 1151-1159.

[11] Hoffman-Kim D, Mitchel JA, Bellamkonda RV. Topography, cell response, and nerve regeneration[J]. Annu Rev Biomed Eng, 2010(12): 203-231.

[12] Fozdar DY, Lee JY, Schmidt CE, et al. Hippocampal neurons respond uniquely to topographies of various sizes and shapes[J]. Biofabrication, 2010, 2(3): 035005.

[13] Liu W, Thomopoulos S, Xia Y. Electrospun nanofibers for regenerative medicine[J]. Adv Healthc Mater, 2012, 1(1): 10-25.

（责任编辑：张辉洁）