

论著·基础研究

纳米 HA/PVA 多孔复合水凝胶人工角膜支架材料对兔角膜成纤维细胞生长的影响

熊洁, 邓应平[△], 王语诗

(四川大学华西医院眼科, 成都 610041)

摘要:目的 通过体外细胞培养试验,对新型的纳米羟基磷灰石/聚乙烯醇(HA/PVA)多孔复合水凝胶人工角膜支架材料的细胞毒性和生物相容性进行研究。方法 将试验材料分为4组:大孔径的纳米 HA/PVA 复合水凝胶、小孔径的纳米 HA/PVA 复合水凝胶、大孔径的 PVA 水凝胶及小孔径的 PVA 水凝胶材料,所有大孔径为 200 μm ,小孔径为 100 μm 。分别用4组材料的浸渍液培养兔角膜成纤维细胞,空白对照组不加入材料直接在培养基中培养。通过 MTT 比色法检测各组吸光值(A),并计算各组细胞相对增值率(RGR),对4组材料的细胞毒性进行评价。同时将兔角膜成纤维细胞在4组材料表面直接培养,进行荧光蛋白转染后,72 h 于倒置显微镜下观察各组成纤维细胞在培养板上增殖生长情况,并通过扫描电镜观察成纤维细胞在材料上黏附生长,以及向孔隙内迁移的情况。结果 大孔径的纳米 HA/PVA 复合水凝胶材料和大孔径的 PVA 水凝胶材料毒性评分均为1级无细胞毒性。72 h 倒置显微镜下培养板每视野细胞计数,大孔径组与空白对照组差异无统计学意义($P=0.608$)。72 h 扫描电镜下观察,大孔径及小孔径纳米 HA/PVA 复合材料表面见兔角膜成纤维细胞黏附、生长增殖,同时向材料孔隙内迁徙;每视野细胞计数,组间差异有统计学意义($F=95.245, P=0.000$),大孔径纳米 HA/PVA 复合材料组细胞黏附显著多于其他组。结论 纳米 HA/PVA 多孔复合水凝胶材料无明显细胞毒性,同时具有良好的生物相容性,是一种具有良好临床应用前景的人工角膜支架材料。

关键词:水凝胶;角膜;生物相容性材料;细胞毒性

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.09.027

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2014)09-1098-03

The effect on rabbit corneal fibroblasts cultivated on n-HA/PVA hydrogel composite

Xiong Jie, Deng Yingping[△], Wang Yushi

(Department of Ophthalmology, West-China Hospital of Sichuan University, Chengdu, Sichuan 610041, China)

Abstract: Objective To evaluate the biocompatibility of nano-hydroxyapatite/polyvinyl alcohol (n-HA/PVA) hydrogel composite for keratoprosthesis. **Methods** There were four materials to be evaluated, big-porous and small-porous n-HA/PVA hydrogel composite, big-porous and small-porous PVA hydrogel. Every kind of materials was digested in F12 nutrient culture for 24 h to get the materials impregnant. Corneal fibroblasts were cultivated in materials impregnant and through methyl thiazolyl tetrazolium colorimetry to assay the cytotoxicity. Rabbit corneal fibroblasts were seeded onto the four materials in vitro. Three days later the growth of fibroblasts were observed by inverted microscope and scanning electron microscope (SEM). **Results** The cytotoxicity scores of the materials with big-porous were both grade one. The mean corneal fibroblasts counts on culture were no obvious difference between big-porous materials groups and control group under plate inverted microscope 72 hours later ($P=0.608$). Through scanning electron microscope 72 hours later, corneal fibroblasts grew well on n-HA/PVA hydrogel composite, and migrated into the porous of composite materials. The corneal fibroblasts on big-porous n-HA/PVA hydrogel composite were more obviously found than the other three materials ($F=95.245, P=0.000$). **Conclusion** The porous n-HA/PVA hydrogel composite is a kind of good biocompatible material which has no cytotoxicity. The n-HA/PVA hydrogel composite with big porous would be an ideal peripheral skirt of keratoprosthesis.

Key words: hydrogel composite; nanostructures; biocompatible materials; cytotoxicity

人工角膜是一种同种异体角膜的人造替代物,由光学柱镜和周边支架组成,国内外人工角膜研究的重点和热点一直在支架材料的研究上,由于人工角膜植入后,周边多孔支架与植床角膜组织接触,促使角膜组织及血管长入支架孔隙中起到支持和稳定人工角膜的作用,支架材料与组织间的生物不相容性是导致人工角膜脱出移植失败的主要原因,因此支架材料是人工角膜在体内稳定性^[1-2]的关键。本课题研究的是一种新型的人工角膜支架材料——纳米羟基磷灰石/聚乙烯醇(HA/PVA)多孔复合水凝胶。通过在材料浸渍液中培养兔角膜成纤维细胞研究该材料的细胞毒性,以及将兔角膜成纤维细胞直接在材料表面培养,观察角膜成纤维细胞在材料表面增殖、迁徙的情况,来评价该支架材料的生物相容性,初步证实其可以作为一种理想的人工角膜支架。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料 4种研究材料:材料1为大孔径的 HA/PVA 多孔复合水凝胶材料,孔径为 200 μm ;材料2为小孔径的纳米 HA/PVA 多孔复合水凝胶材料,孔径为 100 μm ;材料3为单纯的大孔径 PVA 水凝胶材料,孔径为 200 μm ;材料4为单纯的小孔径 PVA 水凝胶材料,孔径为 100 μm 。全部材料孔隙率均为 50%,制备成大小为 1.5 cm \times 1.5 cm 的块状,厚 1.0 mm。所有材料均由四川大学纳米生物材料研究中心制备。

1.2 试验细胞及分组 试验细胞为传到3代的兔角膜前基质成纤维细胞株,由协和医科大学细胞库提供。将细胞随机分为试验 I、II、III、IV、V 组,其中试验 I、II、III、IV 组细胞分别在材料 1、2、3、4 的浸渍液中及材料表面培养。试验 V 组为空白对照组,不加入材料直接在培养基中培养。

作者简介:熊洁(1979—),主治医师,硕士,主要从事眼科屈光手术及角膜病方面的研究。 [△] 通讯作者, Tel: (028) 85422537; E-mail:

dyp558@163.com

1.3 试剂与仪器 培养基:F12 培养基(美国 GIBCO)、青霉素 100 U/mL、链霉素 100 μg/mL、10% 胎牛血清(美国 GIBCO)。试剂:0.2% EDT(美国 GIBCO)、0.25% 胰蛋白酶(美国 GIBCO)、磷酸盐缓冲液、Ad-EGFP(带增强荧光蛋白的腺病毒,由华西医院眼科实验室制备)、二甲基亚砷。仪器:37 ℃、CO₂ 恒温培养箱、超净细胞工作台、Olympus 倒置显微镜及成像系统、日立 S-450 型扫描电镜及成像系统。

1.4 方法

1.4.1 细胞毒性试验 制备材料浸渍液:将 4 种材料制备好后,以 γ 射线辐照消毒,按照 1 cm² 材料表面积比 1 mL 细胞培养液的比例(1 cm²/mL)分别将 4 组材料浸于新鲜培养基中,置 37 ℃ 恒温箱 24 h。制备细胞悬液:取传代到 3 代生长旺盛的兔角膜基质成纤维细胞,制备成浓度为 5 × 10³ 个/mL 的细胞悬液。将细胞悬液滴于 3 块 96 孔培养板中,每孔加入 200 μL 细胞悬液。每块培养板均随机分为 5 组,Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ组每组 10 个孔,Ⅴ组空白对照 5 个孔,继续置于 37 ℃、CO₂ 恒温箱培养 24 h。交换浸渍液:各组培养 24 h 待细胞贴壁后,弃各培养孔内原培养液,各试验组分别加入相应材料 1、2、3、4 的浸渍液进行交换。每试验组中 5 个孔加入材料浸渍液浓度为 100%;另外 5 个孔加入材料浸渍液浓度为 50%,继续培养。于交换浸渍液 24、48、72 h 后分别各取出一块培养板,通过四甲基偶氮唑盐比色法使用 BIO-RAD Model 550 型酶联免疫检测仪,检测在 570 nm 波长处的各组吸光值(A)。

1.4.2 组织相容性试验 制备细胞悬液:取传代到 3 代生长旺盛的兔角膜基质成纤维细胞,制备成浓度为 9.5 × 10⁴ 个/mL 的细胞悬液。将各组材料置于 12 孔板中,每孔放置材料 1 块,每组 12 个样,各孔中滴入细胞悬液 1 mL。另选 12 孔仅加入细胞悬液作为空白对照,加入适量的新鲜培养液后置 37 ℃、CO₂ 恒温培养箱培养。荧光蛋白转染:培养 24 h 待细胞贴壁后,去除上清液,加入 1 mL 新鲜培养液后再加入 Ad-EGFP 每孔 5 μL,摇匀后将培养板置于恒温培养箱内继续培养。

1.5 观察指标

1.5.1 细胞相对增殖率(RGR) 各组 RGR = $\frac{\text{实验组 A}}{\text{对照组 A}} \times 100\%$

1.5.2 细胞毒性评价标准 通过计算得出的 RGR 来评定材料浸渍液的细胞毒性,按照国家技术监督局 1997 年发布的医疗器械生物学评价标准 GB/T 16886-1997^[4],细胞毒性结果判断:评分 0 级和 1 级判为合格,认为材料没有细胞毒性;2 级为轻度细胞毒性,应结合细胞形态综合分析评价;3 级和 4 级为中度细胞毒性;5 级为明显的细胞毒性。

1.5.3 倒置显微镜观察 培养 72 h 后取各组培养板于倒置显微镜下观察:在正常背景下观察各组材料周边培养板上成纤维细胞生长增殖的情况,并做放大 200 倍下每视野细胞计数;

在荧光背景下观察各组成纤维细胞的形态。

1.5.4 扫描电镜观察 各组细胞培养 72 h 后取各试验组材料做扫描电镜观察,观察内容包括:放大 500 倍下每视野细胞计数,成纤维细胞在各组材料表面黏附、生长及向支架孔隙内迁徙的情况。

1.6 统计学处理 采用 SPSS16.0 软件进行统计学分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用方差分析,进一步两两比较采用 SNK-*q* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

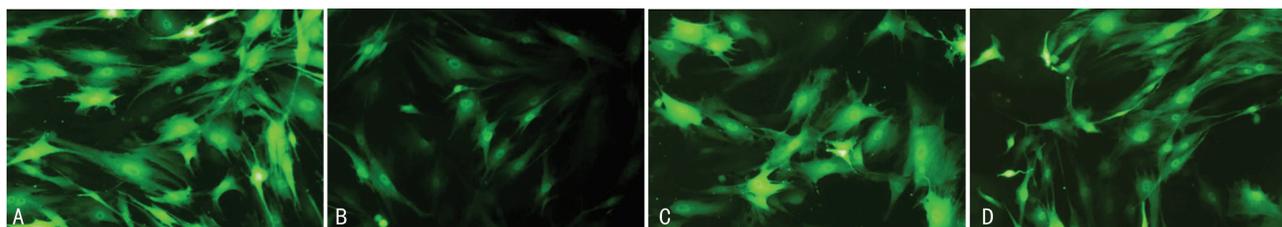
2 结果

2.1 各组 RGR 值及毒性评价 Ⅰ组及Ⅲ组在不同浸渍液浓度、不同时间,毒性评分均为 1 级,证实大孔径 HA/PVA 复合水凝胶材料和大孔径 PVA 水凝胶材料无细胞毒性。Ⅱ组除 100% 浓度、24 h 评分为 2 级,其余各浓度、各时间毒性评分均为 1 级,可认为小孔径的 HA/PVA 复合水凝胶材料无明显细胞毒性。Ⅳ组除 72 h,两种浓度下毒性评分均为 1 级,其余各时间毒性评分均为 2 级,说明该材料具有轻度细胞毒性。各试验组 RGR 值及细胞毒性评价见表 1。

表 1 各组 RGR 值及细胞毒性评价

| 组别 | 浓度(%) | RGR(%) | | | 分数 | | |
|----|-------|--------|-------|-------|------|------|------|
| | | 24 h | 48 h | 72 h | 24 h | 48 h | 72 h |
| Ⅰ组 | 100 | 92.95 | 81.97 | 87.07 | 1 | 1 | 1 |
| | 50 | 98.37 | 89.86 | 90.13 | 1 | 1 | 1 |
| Ⅱ组 | 100 | 74.20 | 77.38 | 78.80 | 2 | 1 | 1 |
| | 50 | 76.68 | 78.53 | 85.82 | 1 | 1 | 1 |
| Ⅲ组 | 100 | 77.94 | 75.80 | 90.74 | 1 | 1 | 1 |
| | 50 | 81.91 | 76.22 | 89.66 | 1 | 1 | 1 |
| Ⅳ组 | 100 | 71.50 | 68.09 | 75.13 | 2 | 2 | 1 |
| | 50 | 70.81 | 70.37 | 82.13 | 2 | 2 | 1 |

2.2 倒置显微镜观察各试验组成纤维细胞数量及形态 细胞培养 72 h 后倒置显微镜正常背景放大 200 倍下,对培养板进行每视野细胞计数,Ⅰ组(72.00 ± 3.64)个、Ⅱ组(50.67 ± 2.77)个、Ⅲ组(67.75 ± 2.56)个、Ⅳ组(36.83 ± 3.57)个、Ⅴ组(72.67 ± 3.10)个。对细胞数均值进行单因素方差分析,各组间差异有统计学意义($F = 295.821, P = 0.000$)。各组进行两两比较,除第Ⅰ组与第Ⅴ组细胞均值差异无统计学意义($P = 0.608$),其余各组两两比较差异均具有统计学意义($P < 0.01$)。细胞培养 72 h 后荧光背景下倒置显微镜观察细胞形态,与第Ⅴ组相比较,Ⅰ组大孔径 HA/PVA 水凝胶材料周围培养板上,细胞增殖活跃,生长密集,细胞周围未见杂质及分泌物。成纤维细胞形态与正常培养成纤维细胞无明显差别,呈长梭形,核椭圆清晰,细胞质丰富。其余各组与第Ⅴ组相比,细胞分布稍稀疏,周边可见分泌物及少量杂质,细胞形态欠规则,相对瘦小、扁平。见图 1。



A: Ⅰ组; B: Ⅱ组; C: Ⅲ组; D: Ⅳ组。

图 1 各组荧光背景倒置显微镜图(×400)

2.3 扫描电镜观察结果 细胞培养 72 h 后取各试验组材料做扫描电镜观察, I 组材料表面可见成纤维细胞黏附, 椭圆形, 部分细胞正在进行分裂(黄箭头), 材料孔隙内可见成纤维细胞黏附生长(红箭头), 见图 2。II 组材料表面可见较多长梭形成纤维细胞粘附(红箭头), 见图 3。I 组及 II 组复合材料上细胞增殖分裂旺盛, 并可见细胞向材料孔隙内生长, III 组及 IV 组材料上角膜成纤维细胞黏附较少。放大 500 倍下进行每视野细胞计数, I 组(16.00 ± 2.70)个、II 组(10.42 ± 1.68)个、III 组(6.00 ± 1.28)个、IV 组(4.50 ± 1.31)个。对各组细胞均值进行方差分析, 组间差异有统计学意义($F=95.245, P=0.000$)。各组之间两两比较, 除了 III 组和 IV 组间差异无统计学意义($P=0.058$), 其余各组之间比较差异均有统计学意义($P < 0.01$)。

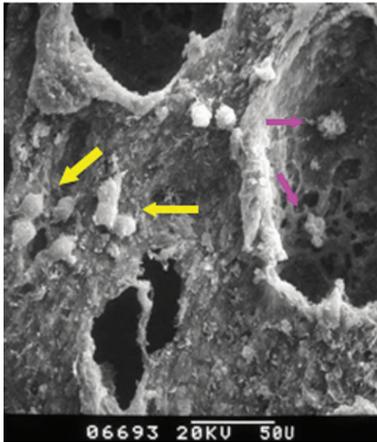


图 2 I 组扫描电镜观察结果(SEM×500)

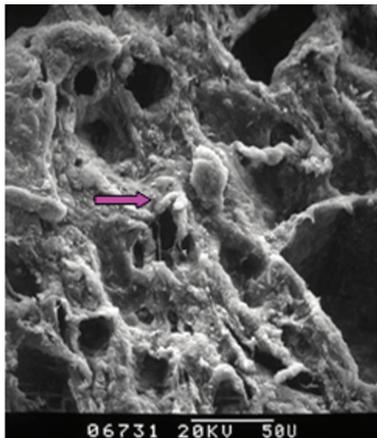


图 3 II 组扫描电镜观察结果(SEM×500)

3 讨 论

生物医学材料要求具备良好的生物相容性, 对于人工角膜来说, 要求光学区域材料既能保持其光学透明性同时还要对宿主细胞无毒性作用; 而对于周边支架材料则要求不影响细胞的正常生长代谢, 并促使宿主细胞和组织向支架的孔隙内迁徙并渗透生长, 最终使异体材料能持久地固定在宿主角膜中^[3-5]。本课题研究的是一种新型的复合人工角膜支架材料, 通过溶液法使 PVA 水凝胶溶液与纳米 HA 晶体浆料复合, 经冷冻-熔融成型后制成多孔的纳米 HA/PVA 水凝胶复合材料^[6], 使支架材料既具有 PVA 水凝胶的柔韧性、高弹性和高亲水性, 又具有纳米 HA 的高生物学活性^[7-8], 比普通的单一材料其力学性能和生物学性能均得到了提升。同时制备中通过加入一定大小的氯化钠颗粒致孔剂, 使得材料具有相互贯通的、呈均匀分

布的三维立体孔道, 以促使组织细胞向其内渗透增殖。

通过细胞毒性实验证实, 纳米 HA/PVA 多孔复合水凝胶材料及单纯的大孔径 PVA 水凝胶材料无细胞毒性, 不影响细胞的正常生长代谢。但是小孔径的 PVA 水凝胶材料却具有轻度的细胞毒性。相同的多孔材料, 其小孔径材料组均比大孔径材料组细胞相对增殖率低, 作者认为可能是在材料制备过程中使用了二甲基亚砜作为溶剂, 具有微弱的细胞毒性, 而小孔径材料的孔隙中更容易残存二甲基亚砜。

在倒置显微镜下观察各组材料周边培养板上成纤维细胞生长增殖的情况, 与单纯的 PVA 水凝胶组相比, 大孔径复合材料组和小孔径复合材料组, 材料周边培养板上成纤维细胞生长旺盛, 排列密集, 形态正常。其中大孔径复合材料组与空白对照组成纤维细胞形态最为接近。说明宿主细胞能在纳米 HA/PVA 复合材料周围正常生长, 其营养代谢不受影响。培养 72 h 后进一步通过扫描电镜观察, 发现在两组纳米 HA/PVA 复合材料表面均有成纤维细胞黏附, 部分细胞处于增殖分裂期, 同时在材料孔隙内可见成纤维细胞向其内迁徙生长, 这与 Kobayashi 等^[9]的实验结果一致。通过每视野细胞计数, 大孔径的纳米 HA/PVA 复合材料表面细胞黏附及增殖数量显著多于小孔径组, 说明 200 μm 的孔径比 100 μm 的孔径更有利于成纤维细胞黏附并向孔隙内迁徙。有研究表明带正电荷、中度亲水性的有孔材料更有利于细胞黏附长入^[10-12], 其中最重要的是孔径的大小。有研究表明, 当支架孔径为 20 μm 时, 成纤维细胞无法穿入, 当支架孔径为 50 μm , 成纤维细胞才能够长入^[13], 进一步说明要有足够大的孔径空间角膜成纤维细胞才能顺利长入, 同时保证其正常的营养代谢不受影响。

最后扫描电镜观察发现, 不管是在大孔径的单纯 PVA 水凝胶材料上还是小孔的单纯 PVA 水凝胶材料上, 成纤维细胞黏附得均较少, 可能是由于 PVA 材料比重较小, 漂浮在培养基上, 不利于成纤维细胞黏附。目前已有许多学者通过实验证实 PVA 水凝胶具有良好的力学性能、光学透明性以及营养渗透性^[14-15]。本研究结果显示, 大孔径的 PVA 水凝胶材料无明显细胞毒性, 周围培养板上成纤维细胞生长良好, 增殖旺盛, 形态接近对照组细胞, 说明 PVA 水凝胶材料不影响角膜细胞的正常代谢及生长, 可以作为一种理想的人工角膜光学区域材料。

纳米 HA/PVA 多孔复合水凝胶材料具有良好的组织相容性, 无细胞毒性, 不影响角膜成纤维细胞的正常营养代谢, 同时角膜成纤维细胞能够在材料表面黏附生长, 并向支架孔隙内增殖迁徙。其中孔径为 200 μm 的复合材料比孔径为 100 μm 的复合材料更有利于成纤维细胞向孔隙内迁徙生长。大孔径的纳米 HA/PVA 多孔复合水凝胶可作为一种理想的人工角膜支架材料, 具有良好的临床应用前景。

参考文献:

- [1] Ciolino JB, Dohlman CH. Biologic keratoprosthesis materials[J]. *Int Ophthalmol Clin*, 2009, 49(1): 1-9.
- [2] Liu C, Hille K, Tan D, et al. Keratoprosthesis surgery[J]. *Dev Ophthalmol*, 2008, 41: 171-86.
- [3] Hicks CR, Fitton JH, Chirila TV, et al. Keratoprosthesis: Advancing toward a ture artificial cornea[J]. *Surv Ophthalmol*, 1997, 42(2): 175-189.
- [4] Sandeman SR, Lloyd AW, Tighe BJ, et al. A model for the preliminary biological screening of potential(下转第 1103 页)

须强化卫生应急队伍的物资装备建设,通过制定建设规划,设立专项经费,逐年逐步装备到位。

本次评估也发现,所有事件均得到及时处置,但工作的规范性仍需提高,有 61.54% 的区县未及时组织专家对事件进行评估,46.15% 的区县未制定处置技术方案,82.05% 的区县未对现场调查工作进行评估,反映出事件处置模式仍然是“经验式”和“粗放式”,这不利于卫生应急处置工作的规范化和科学化。因此,必须通过制定完善各类突发事件卫生应急处置规范和技术指南,完善专家会商、辅助指挥决策、措施效果评估等工作机制,并加大培训和演练力度,提高卫生应急处置的科学性和规范性。

社会动员是卫生应急工作的重要内容,对提高群众应急能力以及对政府采取卫生应急措施的依从性具有重要意义。而本次评估结果反映出群众的卫生应急知识知晓率较低(79.46%),学生的平均知晓率也仅为 78.71%。究其原因主要就是卫生应急宣传教育重视程度不够,有近 30.00% 的区县未制定公众宣传资料,近 50.00% 的区县没有与新闻媒体建立卫生应急宣传协作机制。志愿者的建立和培训是卫生应急社会动员的重要抓手,然而仅有 48.72% 的区县开展了志愿者的卫生应急知识宣传。政府应将卫生应急社会动员纳入重要的议程,制定完善的制度和方案,通过“进社区、进农村、进企业、进学校”等形式,广泛开展卫生应急科普宣传,提高公众自救能力。加强与社会团体和非政府组织的联系,进一步完善卫生应急志愿者队伍建设,努力使其成为卫生应急的重要补充力量。

本次评估还发现,经济发展水平对卫生应急能力有影响,相关分析发现,各区县卫生应急能力评分和 2012 年各个区县的 GDP 进行呈正相关($r=0.35, P=0.029$),经济较发达的区县在应急能力方面评分普遍优于经济欠发达地区,这与广东省调查结果一致^[10]。这是因为卫生应急属于公共产品范畴,主要依靠政府供给,不同财政状况决定了其投入的差异,必然导致能力差异,所以上级政府应加大对经济欠发达地区的卫生应

急财政转移支付力度,建立稳定、适宜的投入机制,进行资源优化调整,保证各地区应急能力均衡发展。

参考文献:

- [1] 邓文峰,郑双忠,刘功智,等.城市应急能力评估体系研究[J].中国安全生产科学技术,2005,1(6):33-36.
- [2] Goldberg J, Bryant M. Country ownership and capacity building: the next buzzwords in health systems strengthening or a truly new approach to development[J]. BMC Public Health, 2012, 12: 531.
- [3] Levine H, Balicer RD, Laor D, et al. Challenges and opportunities in the Israeli 2009 pandemic influenza vaccination program[J]. Hum Vaccin, 2011, 7(10): 1077-1082.
- [4] 许斌,张晋昕,王金平.广东省突发公共卫生事件应急体系的初步评价[J].医学信息:下旬刊,2009,1(9):19.
- [5] 高力军,郝艳华,宁宁,等.黑龙江省疾病预防控制中心人员应急能力测评开展现状及影响因素分析[J].中国卫生资源,2013,16(1):20-22.
- [6] 迟娜娜.城市灾害应急能力评价指标体系研究[D].北京:首都经济贸易大学,2006.
- [7] 王陇德.突发公共卫生事件应急管理——理论与实践[M].北京:人民卫生出版社,2008:36-40.
- [8] 贾群林,陈莉.汶川地震现场救援行动存在问题分析[J].上海医学,2012,35(7):619-620.
- [9] 黄田海,王国威,朱艳.对市级卫生应急队伍装备建设的思考[J].重庆医学,2012,41(24):2566-2567.
- [10] 代吉亚.广东省各级疾控中心突发公共卫生事件应急能力现况调查[D].广州:中山大学,2006.

(收稿日期:2013-12-08 修回日期:2014-01-09)

(上接第 1100 页)

- keratoprosthetic biomaterials[J]. Biomaterials, 2003, 24(26):4729-4739.
- [5] Laattala K1, Huhtinen R, Puska M, et al. Bioactive composite for keratoprosthesis skirt [J]. J Mech Behav Biomed Mater, 2011, 4(8): 1700-1708.
 - [6] 许凤兰,李玉宝,李吉东,等.多孔纳米经基磷灰石康乙烯醇复合水凝胶的表征[J].生物材料,2005,17(5):599-602.
 - [7] Campoccia D1, Montanaro L, Arciola CR. A review of the biomaterials technologies for infection-resistant surfaces [J]. Biomaterials, 2013, 34(34): 8533-8554.
 - [8] Arvind Sinha, Gautam Das, Binay Kumar Sharma, et al. Poly(vinyl alcohol)-hydroxyapatite biomimetic scaffold for tissue regeneration[J]. Mater Sci Eng, 27(1): 70-74.
 - [9] Kobayashi H, Kato M, Tetsushi M, et al. Collagen immobilized PVA hydrogel-hydroxyapatite composites prepared by kneading methods as a material for peripheral cuff of artificial cornea[J]. Mater Sci Eng, 2004, 24(8): 729-735.
 - [10] Smetana K Jr1, Lukás J, Palecková V, et al. Effects of chemical structure of hydrogels on the adhesion and phenotypic characteristics of human monocytes such as ex-

pressions of flectins and other carbohydrate-binding sites[J]. Biomaterials, 1997, 18(14): 1009-1014.

- [11] Elbert DL, Hubbel JA. Surface treatments of polymers for biocompatibility[J]. Science, 1996, 26: 365-394.
- [12] Sandeman SR1, Jeffery H, Howell CA, et al. The in vitro corneal biocompatibility of hydroxyapatite-coated carbon mesh[J]. Biomaterials, 2009, 30(18): 3143-3149.
- [13] Legeais JM1, Renard G, Parel JM, et al. Expanded fluorocarbon for keratoprosthesis cell ingrowth and transparency Exp [J]. Exp Eye Res, 1994, 58(1): 41-51.
- [14] Uchino Y, Shimmura S, Miyashita H, et al. Amniotic membrane immobilized poly(vinyl alcohol) hybrid polymer as an artificial cornea scaffold that supports a stratified and differentiated corneal epithelium[J]. J Biomed Mater Res B Appl Biomater, 2007, 81(1): 201-216.
- [15] Miyashita H, Shimmura S, Kobayashi H, et al. Collagen-immobilized poly(vinyl alcohol) as an artificial cornea scaffold that supports a stratified corneal epithelium[J]. J Biomed Mater Res B Appl Biomater, 2006, 76(1): 56-63.

(收稿日期:2013-10-28 修回日期:2014-01-12)