

[DOI] 10.12016/j.issn.2096-1456.2018.11.010

· 综述 ·

静电纺纳米纤维支架在牙髓再生中的应用

张倩莉, 袁重阳 综述; 王晓燕 审校

北京大学口腔医院牙体牙髓科, 北京(100081)

【摘要】 静电纺丝技术是目前唯一能够直接连续制备聚合物纳米纤维的技术。它利用高压静电场能够制备多种不同特性的纳米纤维, 这些纳米纤维孔隙率高、比表面积大、力学性能好, 能够在一定程度上模拟细胞外基质结构, 有利于细胞黏附、迁移、增殖、分化及功能的表达, 已作为支架材料广泛应用于骨、软骨、神经、血管、皮肤等组织工程领域。而静电纺纳米纤维在牙髓再生领域的研究方兴未艾。本文简要阐述了静电纺纳米纤维的制备过程及生物学特性, 并从材料成分和支架结构两方面重点介绍了静电纺纳米纤维支架应用于牙髓再生的研究进展。

【关键词】 静电纺丝; 纳米纤维; 支架; 牙髓; 组织再生

【中图分类号】 R781 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 2096-1456(2018)11-0738-04

【引用著录格式】 张倩莉, 袁重阳, 王晓燕. 静电纺纳米纤维支架在牙髓再生中的应用[J]. 口腔疾病防治, 2018, 26(11): 738-742.

Application of electrospun nanofibrous scaffolds in pulp regeneration ZHANG Qianli, YUAN Chongyang, WANG Xiaoyan. Department of Cariology, Endodontology and Operative Dentistry, Peking University School and Hospital of Stomatology, Beijing 100081, China

Corresponding author: WANG Xiaoyan, Email: wangxiaoyan@pkuss.bjmu.edu.cn, Tel: 0086-10-82195525

【Abstract】 Electrospinning technology is currently the only technology capable of directly and continuously preparing polymer nanofibers. It can prepare a variety of nanofibers with different characteristics by using high voltage electrostatic field. These electrospun nanofibers have an inherently high porosity, high surface-to-volume ratio and good mechanical properties, allowing the engineering of scaffolds with a nanoscale topography and high porosity similar to that of the natural extracellular matrix (ECM) to facilitate cell attachment, migration, proliferation, differentiation and functional expression. Thus, electrospun nanofibers have been widely applied in tissue engineering for different purposes such as bone, cartilage, neural, vascular, and skin regeneration and are being developed for pulp regeneration. This review briefly describes the preparation process and biological characteristics of electrospun nanofibers; furthermore, the most recent and state-of-the-art work on electrospun nanofibrous scaffolds, primarily their composition and structure in pulp tissue engineering, is introduced.

【Key words】 Electrospinning; Nanofibers; Scaffold; Dental pulp; Tissue regeneration

近年来,随着组织工程与再生医学研究的不断深入,牙髓再生已成为牙髓病治疗领域新的突破口及研究趋势。类似于组织再生,牙髓再生的基本策略是将体外分离培养出的种子细胞植入适

宜的支架材料,或募集机体内细胞归巢,并辅以一定的生物活性分子,促使其增殖分化形成相应的组织。其中,适宜支架材料的设计与应用对牙髓再生起着关键作用。大量研究表明,纳米纤维形式的支架,由于具有极高的比表面积,不仅可促进细胞黏附^[1],进而影响细胞迁移、增殖、分化及功能的表达,而且当负载生物活性分子时,还能控制药物的缓释作用,因此,纳米纤维已成为支架材料的研究热点。目前,常见的纳米纤维制备方法包括自组装法、热致相分离法及静电纺丝技术。自组

【收稿日期】 2018-05-18; **【修回日期】** 2018-06-12

【基金项目】 国家自然科学基金项目(51503004)

【作者简介】 张倩莉,住院医师,博士, Email: zhangqianli1994@yeah.net

【通信作者】 王晓燕,主任医师,博士, Email: wangxiaoyan@pkuss.bjmu.edu.cn, Tel: 0086-10-82195525

装法是分子间通过非共价作用,自发地组织或聚集形成具有特异结构和形态的整体^[2]。这种方法制备得到的纳米纤维支架具有生物相容性好、纤维直径细、多可注射等优点,但其难以调控微观结构、机械性能差、所用原料受限等不足制约了其进一步发展。热致相分离法是通过控制聚合物溶液的温度,来介导聚合物-溶剂发生相分离,随后去除溶剂,聚合物结晶形成多孔网状的纳米纤维支架^[3]。通过改变制备过程的各项参数,可以一定程度调控支架的孔隙结构及纤维直径。该制备方法常需要使用大量的有机溶剂,存在潜在的生物毒性。此外,上述两种方法产量较低,均难以大规模制备纳米纤维支架。静电纺丝技术仅需利用高压静电场即可获得超细纤维,其方便、简单和高效,是目前唯一能够直接连续制备聚合物纳米纤维的技术,具有批量生产的可能。更重要的是,利用静电纺丝技术能精细的调控纳米纤维支架的微观形貌,包括纤维直径、纤维取向、孔隙结构等,从而在纳米尺度充分模拟天然细胞外基质的结构,促进组织再生,目前已被广泛应用于组织工程领域,被认为是有望在组织再生领域取得重大成果的技术之一。因此,本文将对静电纺纳米纤维在牙髓再生中的应用进行综述及展望。

1 静电纺丝技术概述

静电纺丝技术是一项利用高压静电场,使聚合物熔体或溶液形成超细纤维的技术,其典型的装置主要由三部分组成:喷丝头,内含聚合物熔体或溶液;高压电源,用于提供数千伏到十几万伏的高压静电场;接收装置,用于接收喷射出的纤维^[4]。在静电纺丝的过程中,带有电荷的聚合物溶液离开喷丝口,在电场力作用下,高分子溶液表面带上电荷并产生了电场力,溶液的表面张力与电场力相反。当外加电压较小时,悬挂在喷丝口的液滴被拉长为带电锥体,即“泰勒锥”,随着电压增加,当电场力足以克服表面张力时,喷射流从带电锥体顶部发出,沿着电场方向加速喷出,经过一段稳定的直线运动后,纤维开始出现不规则的运动,弯曲震荡并最终拉伸成为很细的单根纤维到达接收板。喷射流在空气中运动的过程中,经历溶剂挥发、纤维固化等过程,最后在接收板上获得高分子超细纤维膜。

迄今为止,利用静电纺丝技术已经实现多种聚合物纳米纤维的制备,包括合成高分子、天然高

分子、无机物材料及各种复合材料。理论上来说,对于各类高分子材料,只要找到合适的溶剂体系,均可利用静电纺丝技术获得纳米纤维。同时,静电纺丝技术还能通过调整纺丝液参数、生产条件及环境参数等,实现对纳米纤维的尺寸及形貌的调控,从而最大限度地模拟细胞外基质的结构。目前,利用静电纺丝技术制备的纳米纤维支架已广泛应用于骨、软骨、肌腱、神经、血管、皮肤、肌肉等的组织工程领域^[5],而电纺纳米纤维支架在牙髓再生中的研究方兴未艾。

2 静电纺纳米纤维支架应用于牙髓组织工程

众所周知,组织工程中最关键的三个要素为细胞、支架和生物活性分子。其中,支架作为种子细胞的载体,为细胞的定植、黏附、增殖、迁移和分化等生物学行为提供机械支撑,同时,支架还可负载生物活性分子,共同构成细胞赖以生长的微环境,进而调控细胞功能,对牙髓再生起着关键作用。支架的作用可以从其材料成分及结构两方面来进行考量。

2.1 支架材料

理想的支架材料首先应具备良好的生物相容性和无毒性,可支持细胞的黏附、增殖、分化;其次,支架材料应具备良好的生物活性,这对于精确调控细胞的生物学行为也是非常必要的;此外,支架材料还应具备可降解性,不仅可避免植入材料的再次取出,同时还应与组织新生的速度相匹配,促进组织再生。

2.1.1 支架基础成分 在牙髓再生中常用的支架材料可分为两大类:一类是天然高分子,如:明胶、丝素蛋白、壳聚糖等,其最大的优势在于含有可促进细胞黏附、增殖、分化的活性基团,具有较好的生物相容性和生物活性。但是由于纯天然高分子可纺性相对较低,机械性能欠佳,材料后处理难度大等原因,限制了纯天然高分子电纺支架材料的生物应用。目前,在牙髓再生领域,尚未见纯天然高分子电纺支架材料的应用报道。

另一类是人工合成高分子材料,如聚己内酯(poly-caprolactone, PCL)^[6]、聚左旋乳酸(poly L lactic acid, PLLA)^[7]、聚乳酸-羟基乙酸共聚物(poly lactic-co-glycolic acid, PLGA)^[6]、聚二氧六环酮(polydioxanone, PDS)^[8]等,其具备良好的可加工性、机械性能及生物相容性。其中,根据材料的可降解程度,可将人工合成高分子材料进一步细分

为不可降解材料和可降解材料。可降解支架材料能被周围组织逐渐吸收,避免了植入支架的再取出,因而受到了广泛关注。研究发现,通过调节静电纺丝过程中的各项参数,可有效控制可降解纳米纤维支架的降解速率^[9],使其与组织新生速率相匹配,从而促进组织的再生。因此,目前可降解人工合成高分子材料得到了相对广泛的应用。Deng等^[7]将人牙髓干细胞(human dental pulp stem cells, hDPSCs)接种到电纺 PLLA 支架上,体外培养 1 d 后观察到 hDPSCs 在支架上黏附良好,细胞形态由圆形向纺锤形过渡。Cai 等^[6]将猪牙源性上皮细胞和人牙源性间充质细胞混合后,与 PLGA/PCL 电纺支架复合,体外共培养 28 d 后,可见细胞在支架上生长良好,实时荧光定量核酸扩增检测结果显示成釉、成牙本质、成骨分化相关基因表达良好。

由于合成高分子材料缺乏协助调控细胞行为的活性基团,而支架表面亲疏水性、表面电荷、表面化学官能团等均会影响细胞在支架上的黏附生长行为。目前研究者们倾向于利用共纺、同轴电纺、表面涂层修饰^[10]等方式复合使用天然高分子及人工合成高分子材料,如:PCL/明胶^[11]、丝素蛋白/PCL^[12],即通过结合两类材料的自身优势,获得综合性能更佳的电纺纳米纤维支架材料,这已成为目前的研究趋势。为了克服单纯 PCL 电纺支架疏水性对细胞黏附的不利影响,有学者将亲水的壳聚糖/海藻酸钠复合体自组装于疏水性的 PCL 电纺支架表面,在体外增殖实验中通过扫描电镜观察发现,与单纯 PCL 支架相比,经壳聚糖/海藻酸钠自组装处理后的 PCL 电纺支架,黏附的牙髓干细胞数量更多,细胞铺展的面积更大,并可见细胞有明显向支架内部迁移生长的趋势^[10]。

2.1.2 支架材料改性 牙髓干细胞在体内增殖和分化为牙髓-牙本质复合体的过程,受多种生物信号分子的多级调控和相互影响。为尽可能模拟体内细胞微环境,研究者常通过加入生物活性分子,如无机粒子、生长因子等,对支架材料进行修饰改性,以期促进牙髓干细胞的黏附、增殖、分化和矿物形成。

目前,常用的生物活性分子主要集中于无机粒子和小分子药物,且均是通过共纺来达到支架材料改性的目的,即将生物活性分子与高分子聚合物溶解于相同的溶剂中进行静电纺丝。陶瓷类材料是最常纺入的无机粒子类生物活性分子,如羟磷灰石^[6]、磷灰石^[13]、氟磷灰石^[14]、磷酸钙^[12]、生

物活性玻璃^[15]等,其具有与牙本质相似的矿物成分,能模拟牙本质矿物晶体,提供丰富的钙离子及磷酸根离子,从而促进牙髓干细胞的黏附、增殖、成牙本质向分化及矿物基质形成^[16]。此外,Bottino 小组近年来成功将 TAP(环丙沙星 Ciprofloxacin, CIP、甲硝唑 Metronidazole, MET、米诺环素 Minocycline, MINO)三联抗生素糊剂中的一种或多种小分子药物成分纺入纳米纤维,实现了长达 14 d 的持续性药物释放,表现出对牙龈卟啉单胞菌、具核梭杆菌、粪肠球菌、内氏放线菌等细菌及其生物膜的良好抑菌效果^[17-24],同时其局部药物浓度远低于临床常用浓度(1 g/mL),表现出对人类牙髓干细胞更小的毒性^[19,22,25],有望为后续的牙髓再生过程提供生物相容性良好的抑菌环境。

但是,由于纺丝过程中有机溶剂和高电压的影响,共纺这种改性方式可能会损失蛋白质、多肽等生物大分子的活性,限制了其应用。一种可行方法是将这类药物进行物理或化学的表面固定化处理,即可避免由溶剂及高电压所带来的药物变性,这种方法已在其他领域得到了广泛应用^[26]。与此同时,Bottino 小组^[8]将具有管腔结构的埃洛石纳米管与 PDS 共纺进行表面改性,体外实验表明这种埃洛石纳米管本身对细胞的增殖无明显影响,而它的纺入增强了支架本身的机械性能;同时其管腔内可容纳生物活性分子,减少纺丝过程对药物活性的影响。尽管目前载入生物活性分子这部分还未见跟进的研究报道,但这不失为一种可行的研究思路。

2.2 支架结构

理想的支架结构首先应具备三维多孔性,便于供给营养物质和排出代谢废物,从而促进细胞的生长和长入;其次,支架还应具备一定的物理机械性能,以承担三维模板作用,引导组织新生。通过调控静电纺丝过程中的各项参数,可控制支架的纤维直径、纤维取向、孔径/孔隙率等以最大限度地适应牙髓组织工程。

2.2.1 纳米纤维结构 通过改变纺丝液的种类、浓度,控制生产参数,可获得直径从纳米到微米不等的超细纤维。研究表明,这种纳米纤维性结构对细胞的黏附、增殖、分化及其他功能的表达起着非常重要的作用。Woo 等^[27]比较了 PLLA 纳米纤维三维多孔支架与光滑孔壁的多孔支架,发现在相同孔隙率条件下,纳米纤维支架对细胞外基质蛋白的吸附量大幅提高,如纤连蛋白、玻连蛋白、层

粘连蛋白等,有效地促进细胞的初期黏附。此外,大量的蛋白吸附可能上调整合素的表达,进一步促进细胞与细胞外基质的相互作用,促进细胞的增殖、分化及功能表达。Wang等^[28]制备了具有相似孔径及孔隙率的PLLA纳米纤维支架与光滑孔壁支架,体外实验发现人牙髓干细胞种植于纳米纤维支架上表现出更高的增殖活性,成牙分化标识基因(如碱性磷酸酶、骨钙素、牙本质涎磷蛋白等)表达更活跃,且矿化物沉积更丰富。在体内试验中,纳米纤维支架组也形成了更为致密的血管化的纤维结缔组织。

2.2.2 纤维取向 在静电纺丝的过程中,通过控制接收装置及高压电场,可得到无定向或定向的纳米纤维支架,而纳米纤维的取向程度会影响支架的机械性能以及细胞的生长行为。已有大量研究发现,定向纤维支架可促进人体内高度取向组织的再生,如血管、骨骼肌、神经等。在牙髓组织中,成牙本质细胞、成纤维细胞等都呈规律性排列,即具有一定的取向性,因此,取向纤维在牙髓再生领域具有良好的前景。vanManen等^[29]用静电纺丝技术分别制得PLLA的无定向及取向性的纳米纤维支架,通过观察并比较猪牙蕾细胞在不同支架上的细胞行为,分析纤维取向性对细胞排列及矿化基质沉积分布的影响。研究发现,在培养初期,细胞在取向纤维膜呈现纺锤形,且沿着纤维长轴充分伸展延伸,而在无取向纤维支架上,细胞形态更为紧缩,在大量无序的纤维中随意生长。但随着培养时间的延长,由于细胞生长逐渐融合成片,纤维的取向则对细胞排列、矿化基质沉积分布无显著影响。取向纤维在细胞远期培养中无明显作用,可能与上述研究难以精细模拟牙髓发育过程中的细胞微环境有关,并不能因此否定取向纤维对牙髓再生的研究价值。因此,如何充分利用取向纤维在细胞培养早期的引导作用,从而获得规律性排列的牙髓组织,值得进一步研究。

2.2.3 孔径/孔隙率 在组织再生中,具备合适孔径及孔隙率的支架,可促进胞外基质的形成、氧气和营养物质的传输、代谢物的排泄以及血管和神经的内生长,从而利于细胞的黏附、迁移、增殖和分化过程。然而,电纺纳米纤维直接用于组织再生支架最大的缺陷在于其排列较为紧密,纤维之间空隙较小,其孔径大小仅为3 nm~6 μm,限制了细胞的长入。有文献报道^[30],只有小的纳米粒子(直径小于300 nm)可以穿过静电纺无纺布的膜,而大的粒子

(直径大于1 μm,如牙髓细胞)则被截留。根据Eichhorn和Sampson构建的理论模型^[31],当纳米纤维支架直径小于100 nm时,类似二维平面片状物,细胞仅在支架的表面迁移、生长,而无法形成具备一定厚度的三维组织。对于牙髓再生所用的种子细胞,其细胞直径多为数十微米,所需的支架最适孔径虽然尚无明确的定论,但适当的增大孔径以促进细胞的迁移和长入通常来说是有效的^[32]。

目前,大量相关研究基本仍是采用二维无纺布形式的电纺纳米纤维支架用于牙髓组织工程,细胞的黏附、增殖及后期骨样硬组织及矿化物的沉积均局限于支架表面,而未能深入支架内部。为了解决这一问题,近年来研究者们采用了多种方法来扩大电纺纳米纤维支架的孔径,从而促进细胞长入,主要包括:沥滤法、低温电纺、湿法纺丝、激光刻蚀法,微/纳米纤维复合法、超声法等。Cai等^[6]利用湿法纺丝结合超声法,获得了厚度约1 mm的大孔径PLGA/PCL三维纤维支架,不仅促进了猪牙源性上皮细胞、人牙源性间充质细胞的分化及相互作用,在体外实验中还可见这两种细胞均有效地长入三维PLGA/PCL支架内部,并贯通支架全层。但是由于纤维支架直径过粗,平均直径达2 μm,因而未能充分体现静电纺纤维纳米尺度的优势。此外利用湿法纺丝可扩大孔径的程度有限,在当支架厚度进一步增加时,细胞的长入深度、后期血管化、细胞功能表达及体内实验的效果均有待进一步研究。

3 总结与展望

静电纺纳米纤维支架凭借其高孔隙率、高比表面积,能够一定程度模拟细胞外基质微环境,在牙髓再生领域表现出卓越的生物相容性和生物活性,具有极大的应用潜力。目前,大量的体外研究已证实静电纺纳米纤维支架应用于牙髓再生的可行性及优越性,并对支架适宜的成分和结构进行了初步探索,但尚缺乏对牙髓再生作用机制的深入研究,且有待进一步动物实验及体内研究结果的证实。此外,在现有的研究条件下,利用静电纺纳米纤维支架进行牙髓再生仅获得了无规律的类成牙本质细胞及骨样硬组织,距离获得血管化的牙髓样组织仍任重道远。未来研究应着重于选择合适的静电纺丝支架材料、运用恰当的方法扩大支架的孔径、改善支架的三维结构等,并辅以合适的生物活性分子充分模拟体内的微环境,从而更

好地诱导种子细胞迁移、增殖、分化,实现牙髓组织的再生。

参考文献

- [1] Elsdale T, Bard J. Collagen substrata for studies on cell behavior[J]. J Cell Biol, 1972, 54(3): 626-637.
- [2] Decher G. Fuzzy nanoassemblies: toward layered polymeric multicomposites[J]. Science, 1997, 277(5330): 1232-1237.
- [3] Lo H, Ponticciello MS, Leong KW. Fabrication of controlled release biodegradable foams by phase separation[J]. Tissue Eng, 1995, 1(1): 15-28.
- [4] Hu X, Liu S, Zhou G, et al. Electrospinning of polymeric nanofibers for drug delivery applications[J]. J Control Release, 2014, 185(27): 12-21.
- [5] Liu HF, Ding XL, Zhou G, et al. Electrospinning of nanofibers for tissue engineering applications[J]. J Nanomater, 2013, 47(2013): 63-72.
- [6] Cai X, Ten Hoopen S, Zhang W, et al. Influence of highly porous electrospun PLGA/PCL/nHA fibrous scaffolds on the differentiation of tooth bud cells *in vitro*[J]. J Biomed Mater Res A, 2017, 105(9): 2597-2607.
- [7] Deng XL, Xu MM, Li D, et al. Electrospun PLLA/MWNTs/HA hybrid nanofiber scaffolds and their potential in dental tissue engineering[J]. Key Eng Mater, 2007, 330/332: 393-396.
- [8] Bottino MC, Yassen GH, Platt JA, et al. A novel three-dimensional scaffold for regenerative endodontics: materials and biological characterizations[J]. J Tissue Eng Regen Med, 2015, 9(11): E116-E123.
- [9] Kim GM, Le KH, Giannitelli SM, et al. Electrospinning of PCL/PVP blends for tissue engineering scaffolds[J]. J Mater Sci Mater Med, 2013, 24(6): 1425-1442.
- [10] 汤敏, 许多, 琚燕琴, 等. 涂层修饰PCL/辛伐他汀电纺支架对牙髓干细胞增殖的影响[J]. 牙体牙髓牙周病学杂志, 2016, 26(11): 654-658, 671.
- [11] Yang X, Yang F, Walboomers XF, et al. The performance of dental pulp stem cells on nanofibrous PCL/gelatin/nHA scaffolds[J]. J Biomed Mater Res A, 2010, 93(1): 247-257.
- [12] Türkkan S, Pazarçeviren AE, Keskin D, et al. Nanosized CaP-silk fibroin-PCL-PEG-PCL/PCL based bilayer membranes for guided bone regeneration[J]. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl, 2017, 80: 484-493.
- [13] Kim JJ, Bae WJ, Kim JM, et al. Mineralized polycaprolactone nanofibrous matrix for odontogenesis of human dental pulp cells[J]. J Biomater Appl, 2014, 28(7): 1069-1078.
- [14] Guo T, Li Y, Cao G, et al. Fluorapatite-modified scaffold on dental pulp stem cell mineralization[J]. J Dent Res, 2014, 93(12): 1290-1295.
- [15] Kim GH, Park YD, Lee SY, et al. Odontogenic stimulation of human dental pulp cells with bioactive nanocomposite fiber[J]. J Biomater Appl, 2015, 29(6): 854-866.
- [16] Ribeiro N, Sousa SR, Van Blitterswijk CA, et al. A biocomposite of collagen nanofibers and nanohydroxyapatite for bone regeneration[J]. Biofabrication, 2014, 6(3): 035015.
- [17] Albuquerque MT, Evans JD, Gregory RL, et al. Antibacterial TAP-mimic electrospun polymer scaffold: effects on *P. gingivalis*-infected dentin biofilm[J]. Clin Oral Investig, 2016, 20(2): 387-393.
- [18] Albuquerque MT, Ryan SJ, Münchow EA, et al. Antimicrobial effects of novel triple antibiotic paste-mimic scaffolds on actinomyces naeslundii biofilm[J]. J Endod, 2015, 41(8): 1337-1343.
- [19] Palasuk J, Kamocki K, Hippenmeyer L, et al. Bimix antimicrobial scaffolds for regenerative endodontics[J]. J Endod, 2014, 40(11): 1879-1884.
- [20] Bottino MC, Kamocki K, Yassen GH, et al. Bioactive nanofibrous scaffolds for regenerative endodontics[J]. J Dent Res, 2013, 92(11): 963-969.
- [21] Albuquerque MT, Valera MC, Moreira CS, et al. Effects of ciprofloxacin-containing scaffolds on *enterococcus faecalis* biofilms[J]. J Endod, 2015, 41(5): 710-714.
- [22] Kamocki K, Nör JE, Bottino MC. Effects of ciprofloxacin-containing antimicrobial scaffolds on dental pulp stem cell viability-*in vitro* studies[J]. Arch Oral Biol, 2015, 60(8): 1131-1137.
- [23] Albuquerque MTP, Nagata J, Bottino MC. Antimicrobial efficacy of triple antibiotic-eluting polymer nanofibers against multispecies biofilm[J]. J Endod, 2017, 43(9S): S51-S56.
- [24] Pankajakshan D, Albuquerque MT, Evans JD, et al. Triple antibiotic polymer nanofibers for intracanal drug delivery: effects on dual species biofilm and cell function[J]. J Endod, 2016, 42(10): 1490-1495.
- [25] Kamocki K, Nör JE, Bottino MC. Dental pulp stem cell responses to novel antibiotic-containing scaffolds for regenerative endodontics[J]. Int Endod J, 2015, 48(12): 1147-1156.
- [26] Jiang J, Xie J, Ma B, et al. Mussel-inspired protein-mediated surface functionalization of electrospun nanofibers for pH-responsive drug delivery[J]. Acta Biomater, 2014, 10(3): 1324-1332.
- [27] Woo KM, Chen VJ, Ma PX. Nano-fibrous scaffolding architecture selectively enhances protein adsorption contributing to cell attachment[J]. J Biomed Mater Res A, 2003, 67(2): 531-537.
- [28] Wang J, Ma H, Jin X, et al. The effect of scaffold architecture on odontogenic differentiation of human dental pulp stem cells[J]. Biomaterials, 2011, 32(31): 7822-7830.
- [29] vanManen EH, Zhang W, Walboomers XF, et al. The influence of electrospun fiber scaffold orientation and nano-hydroxyapatite content on the development of tooth bud stem cells *in vitro*[J]. Odontol, 2014, 102(1): 14-21.
- [30] Barhate RS, Ramakrishna S. Nanofibrous filtering media: filtration problems and solutions from tiny materials[J]. J Memb Sci, 2007, 296(1/2): 1-8.
- [31] Eichhorn SJ, Sampson WW. Statistical geometry of pores and statistics of porous nanofibrous assemblies[J]. J R Soc Interface, 2005, 2(4): 309-318.
- [32] Oh SH, Park IK, Kim JM, et al. *In vitro* and *in vivo* characteristics of PCL scaffolds with pore size gradient fabricated by a centrifugation method[J]. Biomaterials, 2007, 28(9): 1664-1671.

(编辑 张琳)