网络出版时间:2025-05-12 16:06:02 网络出版地址:https://link.cnki.net/urlid/34.1065.R.20250509.1631.038

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)引导性骨再生(GBR)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 文章编号 1000 - 1492(2025)05 - 0906 - 07 doi:10.19405/j.cnki.issn1000 - 1492.2025.05.018

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。

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 材料与方法

材料 蚕茧(江苏富安茧丝绸股份有限公司);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 改良最低必需培养基 (αminimum essential medium, α-MEM, 货号: C12571500BT,美国 Gibco 公司);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); 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);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: Nico-

²⁰²⁵⁻⁰³⁻²⁸ 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)

let8700,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 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 (3 500 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,沸煮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,8000 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 的拉伸速度勾 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 大鼠骨髓间充质千细胞(bone marrow mesenchymal stem cells,rBMSCs)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10min,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 养基对股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。 本研究已通过上海交通大学附属第九人民医院伦理 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 rBMSCs 细胞,每组每 个时间点5 个副孔,每孔接种 3 000 个。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。在第 1、4、7 天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 μl,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 × 10⁴ 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1g/10ml,获得浸提液。将rBMSCs 接种于 12孔板内,每孔2×10⁵个,24h后更换成骨诱导培 养基或相应浸提液,每3d换液1次,7d后采用碱 性磷酸酶染色(alkaline phosphatase, ALP)染色的方 法检测 ALP 活性,14d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 *x* ± *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 cm⁻¹ 移动至 1 470 cm⁻¹, C = O 键从原先 1 649 cm⁻¹振荡 移动到 1 654 cm⁻¹, 且峰值增强。N-H 伸缩振动由 3 385 cm⁻¹移动至 3 349 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 d 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 3 d 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



图1 扫描电镜下 AP 及 AP-SF 膜的微观表征



A: AP power ×1 000; B: SEM of surface ×1 000; C: SEM of cross-section ×1 000; D: Cross-section ×2 000; E: XRD of AS, AP, SF and AP-SF; F: FTIRof 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 × 200; C: Results of live/dead staining 7 days after cell inoculation × 50.

胞比例无明显差异。

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

GBR 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,往往会增加患者的手



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

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,被公认为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 实验结果表明, 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。该研究相关 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 antiinfection and late osteoinduction [J]. Mater Des, 2023, 228: 111857. doi: 10.1016/j.matdes.2023.111857.

- 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.
- 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.
- 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.
- Yan J, Zhou T, Yang X, et al. Strong and tough MXene bridginginduced 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, Szücs-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-hydrophobilized 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, Mühlhölzl A, et al. Slipper limpet (*Crep-idula 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/acsbiomaterials.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) guided bone regeneration (GBR) 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 explora网络出版时间:2025-05-12 16:06:19 网络出版地址:https://link.cnki.net/urlid/34.1065.R.20250509.1631.036

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,邰 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)。过表达 *HK2* 后,前列腺癌细胞增殖速率增快(*P* < 0.01),敲低 *HK*2 后小鼠肿瘤发生率 降低。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

文献标志码 A 文章编号 1000 - 1492(2025)05 - 0912 - 07 doi:10.19405/j.cnki.issn1000 - 1492.2025.05.019

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

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: ayfyxlf@163.com
```

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

tion of the biocompatibility of AP-SF 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 (No. AHWJ2022b001); Research Project of Anhui Provincial Institute of Translational Medicine (No. 2022zhyx-B03)

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