

铜掺杂硼硅酸盐生物活性玻璃复合水凝胶的构建及其促口腔黏膜血管化修复的体外研究

许新怡¹, 李筱文¹, 潘可², 盛涵星³, 孙睿³, 陈裕华², 薛淼³, 孙磊^{1,3*}

¹安徽医科大学第二附属医院口腔科, 安徽 合肥

²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, 安徽 合肥

³合肥市口腔医院, 安徽医科大学合肥口腔临床学院, 安徽 合肥

收稿日期: 2026年3月21日; 录用日期: 2026年4月16日; 发布日期: 2026年4月22日

摘要

【目的】: 针对口腔黏膜创面血管化重建不足的临床瓶颈, 本研究构建铜掺杂硼硅酸盐生物活性玻璃/海藻酸钠复合水凝胶(Cu-BBG/SA), 并系统评价其体外生物学性能。【方法】: 采用溶胶-凝胶法制备Cu-BBG纳米颗粒, 与海藻酸钠经CaCl₂离子交联复合成型, 得到Cu-BBG/SA水凝胶。通过扫描电子显微镜(SEM)、能量色散X射线光谱(EDS)及傅里叶变换红外光谱(FTIR)对材料进行结构、元素与化学键合表征; 以人脐静脉内皮细胞(HUVECs)为体外模型, 通过CCK-8法、活/死细胞染色、溶血实验、划痕实验及成管实验系统评价材料的生物相容性及促血管化功能。【结果】: 表征结果显示, Cu-BBG颗粒均匀嵌布于SA三维多孔网络中, B、Si、Cu、Ca等元素空间分布均一; FTIR证实复合体系中COO⁻特征峰的规律性红移与O-H峰宽化, 提示两相间存在金属离子-羧基配位相互作用与界面氢键的化学层面结合。细胞毒性筛选确定SA适宜浸提浓度为0.1 g/mL、Cu-BBG为50 μg/mL, 各组HUVECs细胞活力均≥95%, 溶血率低于2%, 符合ISO 10993标准。体外功能评价中, Cu-BBG/SA组24 h划痕愈合率(约60%)、成管节点数(约190个)、分支数(约140个)及管腔总长度均显著优于各单组分(P < 0.05), 呈现明确的有机-无机协同促血管生成效应。【结论】: Cu-BBG/SA复合水凝胶兼具优良生物安全性与体外促血管化功能, 为新型口腔黏膜创面修复材料的研发提供了实验依据。

关键词

铜掺杂, 硼硅酸盐生物玻璃, 海藻酸钠, 水凝胶, 口腔黏膜愈合

Construction of Copper-Doped Borosilicate Bioactive Glass Composite Hydrogel and Its *in Vitro* Study on Promoting Vascularized Repair of Oral Mucosa

*通讯作者。

文章引用: 许新怡, 李筱文, 潘可, 盛涵星, 孙睿, 陈裕华, 薛淼, 孙磊. 铜掺杂硼硅酸盐生物活性玻璃复合水凝胶的构建及其促口腔黏膜血管化修复的体外研究[J]. 临床医学进展, 2026, 16(4): 4211-4222.

DOI: 10.12677/acm.2026.1641690

Xinyi Xu¹, Xiaowen Li¹, Ke Pan², Hanxing Sheng³, Rui Sun³, Yuhua Chen², Miao Xue³, Lei Sun^{1,3*}

¹Department of Stomatology, The Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei Anhui

²College & Hospital of Stomatology, Anhui Medical University, Anhui Provincial Key Laboratory of Oral Diseases Research, Hefei Anhui

³Hefei Stomatological Hospital, Hefei Stomatology Clinical College of Anhui Medical University, Hefei Anhui

Received: March 21, 2026; accepted: April 16, 2026; published: April 22, 2026

Abstract

[Objective]: To address the clinical challenge of insufficient vascular reconstruction in oral mucosal wounds, this study constructed a copper-doped borosilicate bioactive glass/sodium alginate composite hydrogel (Cu-BBG/SA) and systematically evaluated its *in vitro* biological performance. **[Methods]:** Cu-BBG nanoparticles were synthesized via the sol-gel method and composited with sodium alginate through CaCl₂ ionic crosslinking to obtain the Cu-BBG/SA hydrogel. Structural, elemental, and chemical bonding characterization was performed using scanning electron microscopy (SEM), energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDS), and Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR). Human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) were employed as an *in vitro* model, and the biocompatibility and pro-angiogenic function of the materials were evaluated via CCK-8 assay, live/dead cell staining, hemolysis test, scratch assay, and tube formation assay. **[Results]:** Characterization results demonstrated that Cu-BBG particles were uniformly embedded within the three-dimensional porous SA network, with homogeneous spatial distribution of B, Si, Cu, and Ca elements. FTIR analysis confirmed a systematic red shift of the COO⁻ characteristic peaks and broadening of the O-H peak in the composite system, suggesting chemical-level interactions between the two phases in the form of metal ion-carboxylate coordination and interfacial hydrogen bonding. Cytotoxicity screening established optimal extract concentrations of 0.1 g/mL for SA and 50 µg/mL for Cu-BBG, under which HUVECs viability remained ≥ 95% across all groups, with hemolysis rates below 2%, meeting ISO 10993 standards. *In vitro* functional evaluation showed that the Cu-BBG/SA group significantly outperformed individual component groups in 24 h scratch healing rate (approximately 60%), tube formation junction count (approximately 190), branch count (approximately 140), and total tube length ($P < 0.05$), demonstrating a distinct organic-inorganic synergistic pro-angiogenic effect. **[Conclusion]:** The Cu-BBG/SA composite hydrogel exhibits excellent biosafety and *in vitro* pro-angiogenic function, providing experimental evidence for the development of novel oral mucosal wound repair materials.

Keywords

Copper Doping, Borosilicate Bioactive Glass, Sodium Alginate, Hydrogel, Oral Mucosal Healing

Copyright © 2026 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

口腔黏膜作为口腔腔道的动态生物屏障，在机械防御、黏膜免疫及营养转运等方面发挥重要生理作用[1]。临床上，外伤、手术切除及慢性感染等多种因素均可诱发黏膜缺损[2]。黏膜创面修复涵盖止血、

炎症、细胞增殖迁移、血管化重建及 ECM 沉积等多阶段级联过程[3], 其中血管新生贯穿修复核心环节, 直接决定愈合速率与再生质量[4]。然而, 现有口腔黏膜修复材料多依赖被动物理覆盖, 普遍存在生物活性欠缺、促血管化效能薄弱及降解速率与愈合周期失匹配等不足, 研发兼具生物安全性与主动促愈功能的新型修复材料已成为口腔组织工程领域的重要方向。

硼硅基生物玻璃具有可调控降解性及活跃的离子释放特性: 硼元素可通过干预 HIF-1 α 等通路激活内皮细胞增殖与迁移[5]; 硅元素有助于维持玻璃网络稳定性并改善材料界面生物学响应[6] [7]。Cu²⁺作为 VEGF 表达调控的关键辅因子, 可显著上调 VEGF 分泌水平, 为创面血管化提供持续分子驱动力[8]-[10]。溶胶-凝胶法可在分子水平精准调控材料微观结构, 所得产物比表面积大, 有利于功能性离子的缓释输出[11], 其纳米多孔网络亦可模拟口腔黏膜创面湿润的 ECM 微环境, 为细胞黏附与营养转运提供三维支撑[12] [13]。海藻酸钠(SA)是来源于褐藻的天然阴离子多糖, 可与二价阳离子物理交联形成三维水凝胶网络[14], 其高含水量基质可为创面提供持久润湿保护, 并赋予材料良好的形态适应性[15]-[17]。将 Cu-BBG 与 SA 复合构建有机-无机杂化水凝胶, 可弥补单一生物玻璃韧性不足、贴合性差及纯 SA 水凝胶缺乏主动生物活性的各自局限, 充分发挥两者协同效应[18]。

基于此, 本研究开展前期探索, 采用溶胶-凝胶法制备 Cu-BBG 并与 SA 复合制备 Cu-BBG/SA 复合水凝胶, 系统表征其微观形貌、元素组成及化学结构, 以 HUVECs 为体外模型评价材料对细胞增殖、迁移及体外成管等血管新生相关行为的调控效应, 并综合评估细胞相容性与血液相容性, 为开发主动诱导血管再生的新型口腔黏膜修复材料提供实验依据。

2. 实验方法

2.1. 实验材料与仪器

实验所用化学试剂均为分析纯: 硼酸(H₃BO₃, ≥99.5%)、正硅酸乙酯(TEOS, ≥98%)、硝酸钙(Ca(NO₃)₂·4H₂O, ≥99%)、硝酸钠(NaNO₃, ≥99%)、硝酸铜(Cu(NO₃)₂·3H₂O, ≥99%)及氯化钙(CaCl₂, ≥99%)均购自国药集团化学试剂有限公司; 海藻酸钠(SA, 分子量 100,000~150,000 Da, ≥98%)购自 Sigma-Aldrich 公司。HUVECs 购自 ATCC 细胞库(传代 3~5 代, 纯度 ≥95%); CCK-8 试剂盒、Calcein-AM/PI 双染试剂盒购自碧云天生物技术有限公司; 胎牛血清(FBS, 灭活)及 DMEM/F12 培养基购自 Gibco 公司; Matrigel 基质胶购自 Corning 公司。主要仪器包括: 场发射扫描电子显微镜(FESEM, FEI Inspect F50, 附 EDS 能谱仪)、傅里叶变换红外光谱仪(FTIR, Bruker TENSOR II)、酶标仪(Thermo Multiskan FC)、荧光显微镜(Olympus IX73)及马弗炉(最高温度 1000℃)。

2.2. 铜掺杂硼硅酸盐生物玻璃的合成

采用溶胶-凝胶法合成 Cu-BBG, 目标组成为 B₂O₃-Na₂O-CaO-SiO₂-CuO 体系, 前驱体分别为硼酸、硝酸钠、硝酸钙、TEOS 及硝酸铜。首先将 TEOS 溶于无水乙醇, 以 0.1 mol/L 硝酸为催化剂室温搅拌水解 30 min; 另将硼酸、硝酸钙、硝酸钠及硝酸铜依次溶于去离子水制备金属离子混合液, 随后逐滴加入 TEOS 水解液中, 室温持续搅拌 2 h 得到均匀溶胶, 倒入聚四氟乙烯模具中密封静置 48 h 完成凝胶化。所得凝胶经 60℃老化、120℃干燥后, 以 2℃/min 升温速率于 600℃煅烧 2 h, 自然冷却后研磨过 200 目筛, 即得 Cu-BBG 粉末。

2.3. Cu-BBG/SA 复合水凝胶的合成

将 Cu-BBG 粉末加入 PBS 中超声分散 10 min 并磁力搅拌均匀, 得到 Cu-BBG 悬浮液; 另将 SA 粉末加入 PBS 中于 60℃水浴持续搅拌至完全溶解, 冷却至室温。将两种溶液按比例混合后室温搅拌均匀, 随

后逐滴加入适量 CaCl_2 溶液, Ca^{2+} 与 SA 分子链羧基发生离子交联, 室温静置 30 min 成型, 即得 Cu-BBG/SA 复合水凝胶。

2.4. 材料表征

2.4.1. SEM 与 EDS 分析

取适量 Cu-BBG 粉末及冷冻干燥后的 SA、Cu-BBG/SA 水凝胶样品, 均匀分散于导电胶上, 经离子溅射喷金处理后置于 FESEM 下(加速电压 5 kV)观察颗粒形态、粒径分布及水凝胶多孔结构特征。同步启动 EDS 能谱仪对 C、B、Si、Ca、Na、Cu、O 等目标元素进行面扫描分析, 评估各元素的相对含量与空间分布均匀性。

2.4.2. FTIR 分析

取少量 Cu-BBG 粉末及冷冻干燥后的 SA、Cu-BBG/SA 水凝胶样品, 研磨后与干燥 KBr 按 1:100 比例混合压片, 置于 FTIR 仪中在 $400\sim 4000\text{ cm}^{-1}$ 范围内全谱扫描, 分辨率 4 cm^{-1} , 累积扫描 32 次以提高信噪比。通过对比各组 CO_3^{2-} 、 PO_4^{3-} 、Cu-O、O-H 及 COO^- 等官能团特征峰的归属与偏移规律, 验证 Cu-BBG 玻璃网络结构完整性及两相间化学相互作用。

2.5. 体外生物性能评价

2.5.1. 浸提液制备

于超净工作台以无菌操作制备各组浸提液。Cu-BBG、SA 及 Cu-BBG/SA 组样品均按 0.1 g/mL (参照 ISO 10993-12 标准)加入含 10% FBS 的 DMEM/F12 培养基中, 于 37°C 、5% CO_2 条件下孵育 24 h, 期间定时轻摇以促进离子充分释放; 孵育结束后离心, 取上清液经 $0.22\ \mu\text{m}$ 无菌滤膜过滤, 4°C 保存备用。Control 组直接以完全培养基培养细胞。

2.5.2. 细胞增殖与活/死细胞染色检测

将对数期 HUVECs 以 5×10^3 个/孔接种于 96 孔板, 贴壁 12 h 后换加各组浸提液或完全培养基(Control 组), 每组 3 个复孔, 分别于 24 h、48 h 加入 CCK-8 试剂, 37°C 孵育 2 h, 酶标仪 450 nm 处检测 OD 值, 细胞增殖率 = (实验组 OD - 空白孔 OD)/(Control 组 OD - 空白孔 OD) $\times 100\%$ 。另将 HUVECs 接种于 24 孔板, 贴壁后换加各组浸提液继续培养 3 d, PBS 洗涤后加入 Calcein-AM/PI 混合染液, 37°C 避光孵育 15 min, 荧光显微镜下观察活细胞(绿色荧光)与死细胞(红色荧光)分布。

2.5.3. 溶血实验

采用 SD 大鼠腹主动脉血, 离心分离红细胞, 生理盐水洗涤至上清澄清后制备 2% (v/v) 红细胞悬液。各组材料与红细胞悬液混合, 以生理盐水(阴性对照)和 1% Triton X-100 (阳性对照)分别设组, 37°C 孵育 1 h 后离心取上清, 于 540 nm 检测 OD 值, 计算溶血率。溶血率 = (实验组 OD - 阴性对照 OD)/(阳性对照 OD - 阴性对照 OD) $\times 100\%$, 以 $<5\%$ 为合格标准。

2.5.4. 细胞划痕与成管实验检测

HUVECs 培养至汇合度 $\geq 90\%$ 后, 用 $200\ \mu\text{L}$ 枪头均匀划痕, PBS 冲洗去除脱落细胞后换加各组浸提液, 于划痕后 0 h 及 24 h 在倒置显微镜下拍照, 采用 Image-Pro Plus 软件测量划痕宽度, 计算迁移率 = (0 h 宽度 - t h 宽度)/0 h 宽度 $\times 100\%$ 。

成管实验取 Matrigel 基质胶铺于 24 孔板, 37°C 孵育 30 min 待凝固后, 将 HUVECs 接种于基质胶表面并加入各组浸提液, 37°C 培养 6 h 后倒置显微镜下拍照, 以 Image-Pro Plus 软件统计管腔交叉节点数、分支数及总长度。

2.6. 数据统计分析

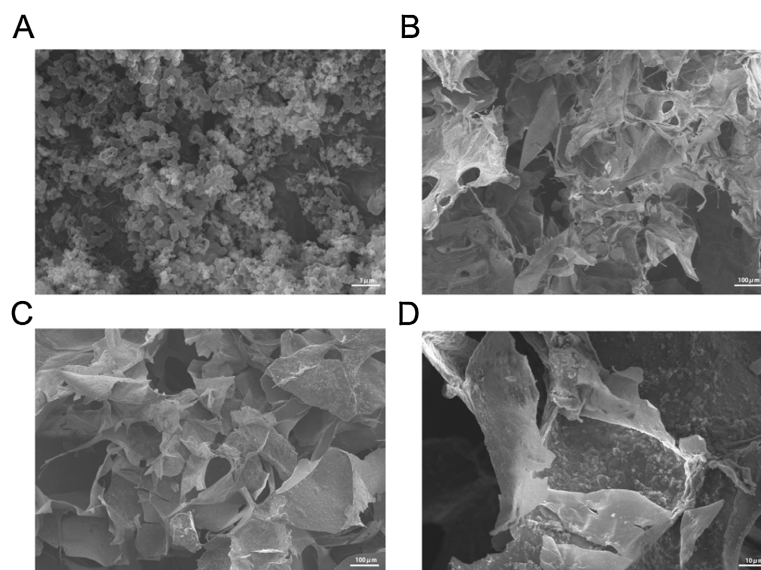
所有实验均独立重复 3 次, 数据以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。采用 GraphPad Prism 9.0 进行统计分析, 多组间比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA)结合 Tukey 事后检验, $P < 0.05$ 认为差异具有统计学意义。

3. 结果与讨论

3.1. 材料表征

3.1.1. SEM 分析

图 1 展示了 Cu-BBG 纳米颗粒、纯 SA 水凝胶及 Cu-BBG/SA 复合水凝胶的微观形貌特征。Cu-BBG 纳米颗粒(图 1(A))呈不规则球形, 粒径分布均匀, 表面粗糙并具有纳米级孔隙结构, 较高的比表面积有利于 Cu^{2+} 的持续可控释放[19][20]。纯 SA 水凝胶(图 1(B))冻干后呈片层叠加多孔网络, 孔隙高度互联, 可为炎症细胞迁移及物质双向交换提供通道, 同时片层结构赋予的溶胀性能有助于维持创面水化微环境, 促进角质形成细胞迁移与上皮再覆盖[21][22]。复合水凝胶(图 1(C)、图 1(D))整体保留了 SA 片层骨架, Cu-BBG 颗粒均匀嵌附于片层表面及交联节点处, 界面结合紧密, 无明显相分离, 表明两组分具有良好的界面相容性[23]。此外, 纳米颗粒均匀分布对于维持创面微环境稳定、避免局部离子浓度过高导致的细胞损伤具有重要意义[24]。纳米颗粒的引入使片层表面粗糙度增加, 形成微纳复合拓扑结构, 推测有助于促进角质形成细胞铺展与迁移[20][25]。



(A) Cu-BBG 纳米颗粒微观形貌(Scale bar: 1 μm); (B) 纯 SA 水凝胶网络结构(Scale bar: 100 μm); (C) Cu-BBG/SA 复合水凝胶整体微观结构(Scale bar: 100 μm); (D) Cu-BBG/SA 复合水凝胶局部放大图, 示纳米颗粒在基质中的分布状态(Scale bar: 10 μm)。

Figure 1. SEM characterization of Cu-BBG, SA hydrogel and Cu-BBG/SA composite hydrogel

图 1. Cu-BBG、SA 水凝胶及 Cu-BBG/SA 复合水凝胶的 SEM 表征

3.1.2. EDS 分析

图 2 为 Cu-BBG/SA 复合水凝胶的 EDS 元素面扫描结果。Na 与 O 元素信号最强, 与 SEM 形貌中片层轮廓高度重合, 与 SA 分子链中 $-\text{COONa}$ 基团及糖苷键氧原子的化学组成相吻合, 确认 SA 基质构成水

凝胶主体骨架；C 元素弥散分布，佐证有机高分子网络的连续性。B、Si、Ca 及 Cu 元素均匀散布于视野内，无局部聚集或相偏析；B 与 Si 的同步分布证实硼硅酸盐玻璃颗粒已有效复合于 SA 基质中；Ca 的均一分布反映 CaCl_2 交联后 Ca^{2+} 的稳定锚定状态；Cu 元素虽信号相对稀疏，仍呈均匀分散，说明 Cu^{2+} 以掺杂形式包裹于玻璃网络而非游离聚集，有利于后续 Cu^{2+} 的持续可控释放并规避局部浓度骤升的细胞毒性风险[26]。EDS 结果整体表明各元素分布均一，有机 - 无机两相界面相容性良好[27]，为多种生物活性离子的协同稳定释放奠定了结构基础。

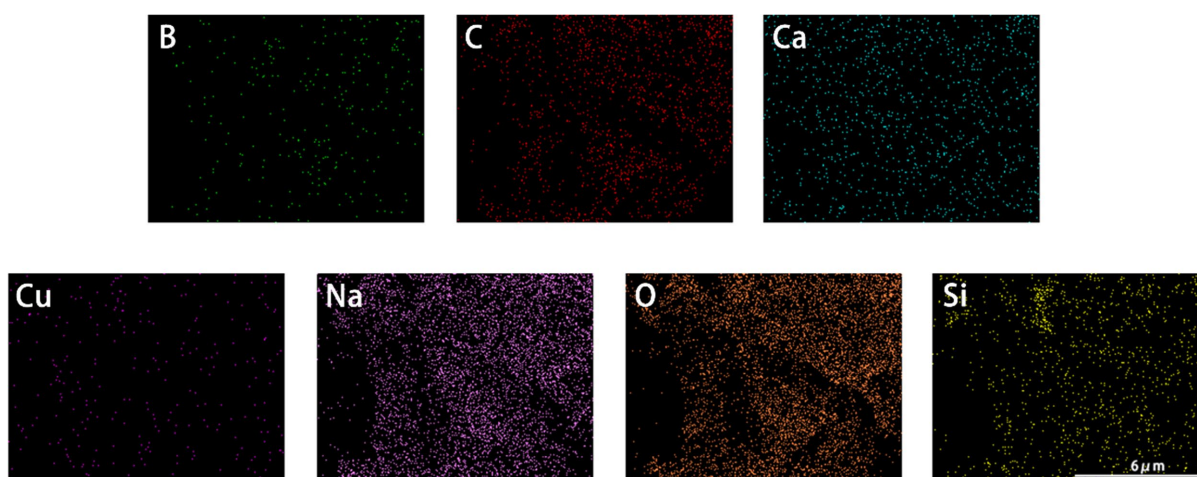


Figure 2. EDS elemental mapping images of the Cu-BBG/SA composite hydrogel, showing the spatial distribution characteristics of B, C, Ca, Cu, Na, O, and Si elements in sequence (Scale bar: 6 μm)

图 2. Cu-BBG/SA 复合水凝胶的 EDS 元素面分布图，依次展示 B、C、Ca、Cu、Na、O 及 Si 元素的空间分布特征 (Scale bar: 6 μm)

3.1.3. FTIR 分析

图 3 为 SA、Cu-BBG 及 Cu-BBG/SA 复合水凝胶的 FTIR 叠加谱图。SA 谱图中， 1623 cm^{-1} 与 1425 cm^{-1} 处 COO^- 非对称与对称伸缩振动双峰 ($\Delta\nu \approx 198\text{ cm}^{-1}$) 为羧酸盐的标志性特征； 1097 cm^{-1} 与 1031 cm^{-1} 处双峰归属于环骨架 C-O 伸缩振动。Cu-BBG 谱图中， 474 cm^{-1} 处 Cu-O 键弯曲振动特征峰表明 Cu^{2+} 以化学键合形式嵌入玻璃网络，为其后续受控释放提供结构依据； 1068 cm^{-1} 处磷氧四面体伸缩振动峰证实了 P-O 结构单元的存在。

复合水凝胶谱图呈现两组分特征峰的叠加，Cu-O (474 cm^{-1}) 等无机特征峰得以保留，表明复合后玻璃网络结构完整。 3450 cm^{-1} 处 O-H 峰宽化增强，提示界面氢键的形成； COO^- 非对称与对称伸缩振动峰分别红移至 1619 cm^{-1} 与 1413 cm^{-1} ， $\Delta\nu$ 减小，为金属离子与羧基发生配位作用的典型光谱响应。上述峰位偏移可能源于双重配位机制的叠加： Ca^{2+} 与 SA 羧基形成经典“蛋盒”离子交联结构，Cu-BBG 释放的 Cu^{2+} 亦参与 $-\text{COO}^-$ 配位[28] [29]。两种二价阳离子对 COO^- 振动频率的影响在谱图上高度重叠，二者的协同配位效应与界面氢键共同赋予复合水凝胶良好的结构稳定性，并对活性离子的释放动力学起到一定调控作用。

3.2. 体外生物性能评价

3.2.1. 细胞相容性评价

图 4 系统评估了各组材料浸提液对 HUVECs 的细胞相容性。图 4(A) 显示，0~0.2 g/mL 浓度范围内 SA 浸提液组细胞活力均维持在 100% 以上，各组间无显著差异；结合 ISO 10993-12 浸提标准(推荐 0.1 g/mL)，

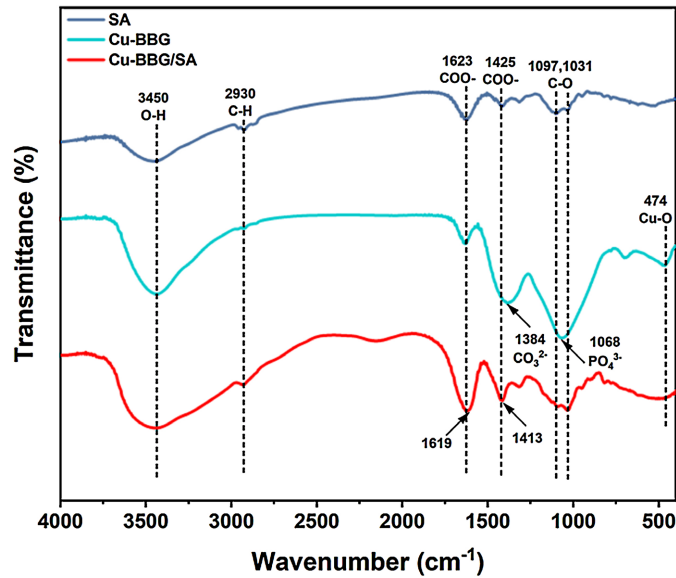
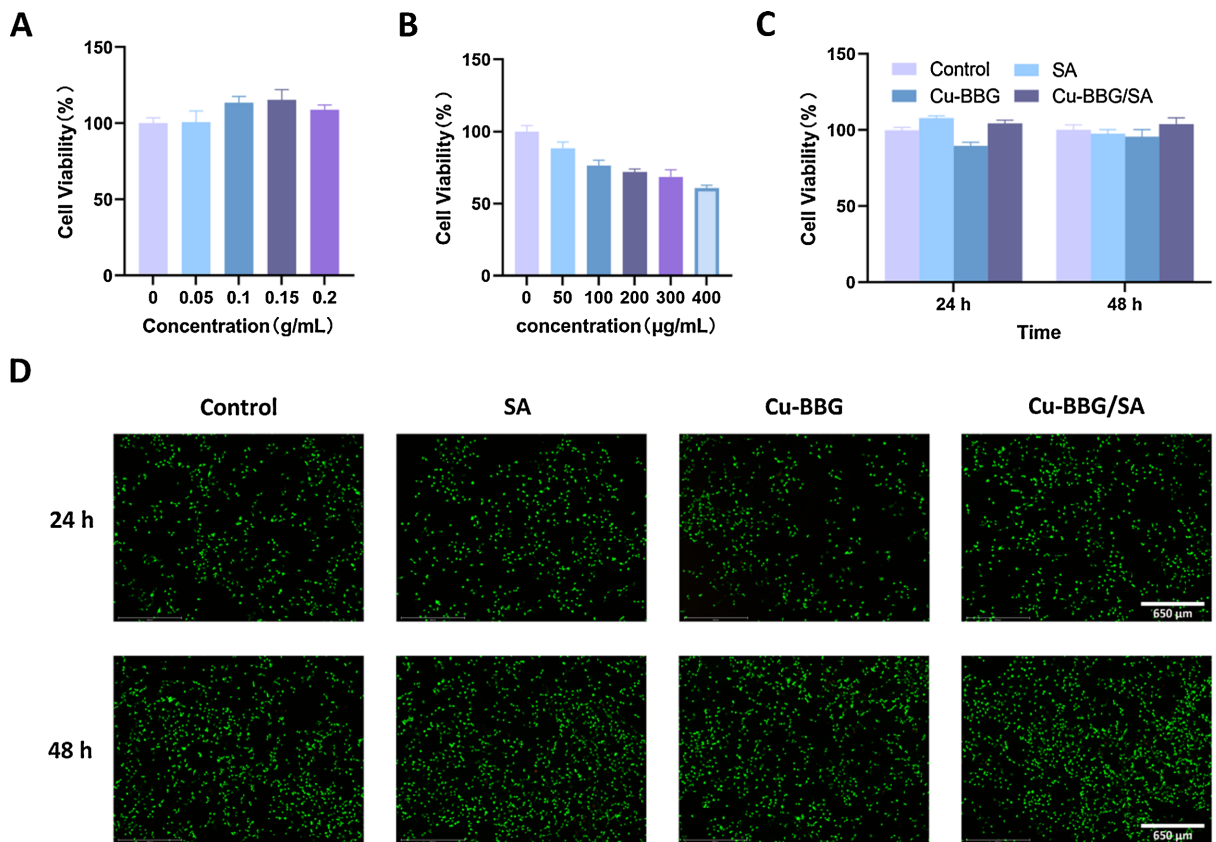


Figure 3. FTIR spectra of Cu-BBG, SA and Cu-BBG/SA composite hydrogel (400~4000 cm^{-1})
图 3. Cu-BBG、SA 及 Cu-BBG/SA 复合水凝胶的 FTIR 叠加谱图(400~4000 cm^{-1})



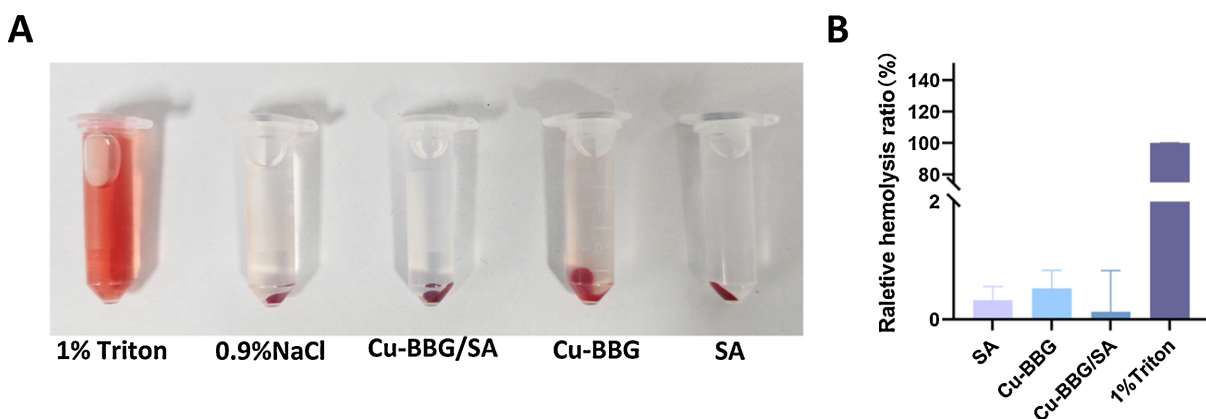
(A) 不同浓度 SA 浸提液(0~0.2 g/mL)对 HUVECs 细胞活力的影响; (B) 不同浓度 Cu-BBG 浸提液(0~400 $\mu\text{g/mL}$)对 HUVECs 细胞活力的影响; (C) 适宜浓度各组浸提液作用 24 h 与 48 h 后 HUVECs 细胞活力比较; (D) 各组 24 h 与 48 h 活/死染色代表性图像(绿色示活细胞, Scale bar: 650 μm)。

Figure 4. *In vitro* cytocompatibility of the Cu-BBG/SA composite hydrogel
图 4. Cu-BBG/SA 复合水凝胶体外细胞相容性评估

确定 0.1 g/mL 为 SA 后续实验浓度。图 4(B)显示, HUVECs 活力随 Cu-BBG 浸提液浓度升高呈浓度依赖性下降, 超过 100 $\mu\text{g/mL}$ 时降至 80% 以下, 提示高浓度 Cu^{2+} 可能通过诱导 ROS 蓄积干扰线粒体功能而触发凋亡[30]; 0 $\mu\text{g/mL}$ 及以下浓度时细胞活力高于 ISO 10993-5 可接受阈值(>75%), 结合文献报道铜离子促血管生成有效浓度范围(0.01~100 $\mu\text{g/mL}$), 最终确定 50 $\mu\text{g/mL}$ 为 Cu-BBG 适宜实验浓度。在上述筛选浓度下, 图 4(C)定量结果与图 4(D)活/死染色共同证实, 三组材料浸提液作用 24 h 及 48 h 后 HUVECs 活力均 \geq 95%, 染色视野内绿色活细胞占绝对优势, 红色死亡信号极少。值得关注的是, Cu-BBG/SA 组随培养时间延长呈现一定增殖促进趋势, 推测与低剂量 Cu^{2+} 激活铜伴侣蛋白途径、上调 SOD1 抗氧化防御有关[31]。

3.2.2. 血液相容性评价

图 5 从宏观表型与定量层面评价了 Cu-BBG/SA 复合水凝胶的体外溶血特性。图 5(A)显示, 阳性对照组(1% Triton X-100)上清呈鲜红色, 阴性对照组(0.9% NaCl)上清澄清; Cu-BBG/SA、Cu-BBG 及 SA 三组上清外观均与阴性对照一致, 未见溶血迹象。图 5(B)定量结果显示, 三组溶血率均低于 2%, 远低于 ISO 10993-4 及 ASTM F756 规定的 5% 阈值。其中 Cu-BBG/SA 组溶血率在三组中最低, 推测 SA 基质的空间包裹效应对 Cu-BBG 颗粒表面潜在膜干扰活性起到一定屏蔽作用[32], 进一步优化了复合材料的血液安全性。



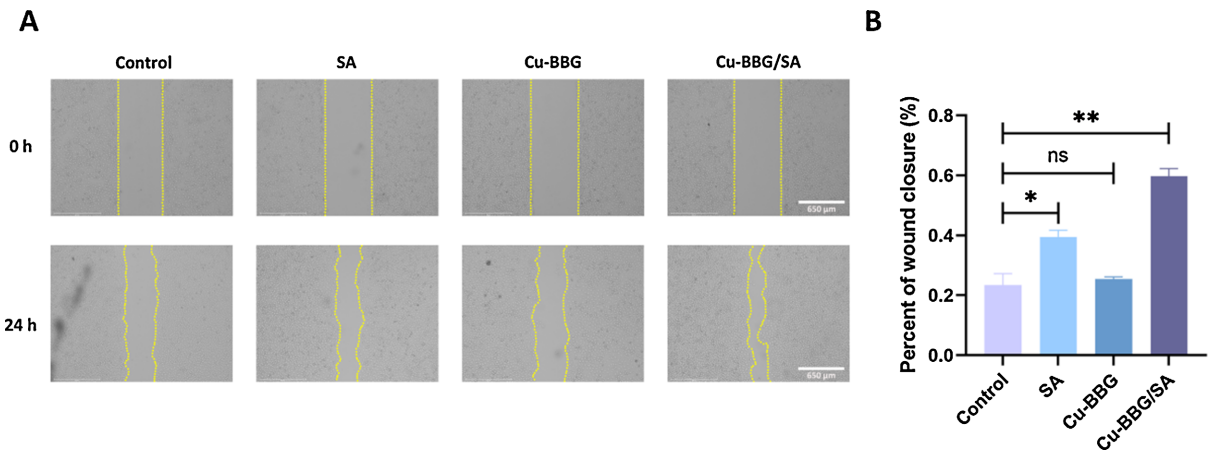
(A) 各组离心后上清液外观(左至右: 1% Triton X-100 阳性对照、0.9% NaCl 阴性对照、Cu-BBG/SA、Cu-BBG、SA); (B) 各组相对溶血率定量比较。

Figure 5. *In vitro* hemocompatibility of the Cu-BBG/SA composite hydrogel

图 5. Cu-BBG/SA 复合水凝胶体外血液相容性评估

3.2.3. HUVECs 迁移能力评价

图 6 评估了各组浸提液对 HUVECs 迁移能力的影响。图 6(A)显示, 24 h 培养后 Cu-BBG/SA 组划痕缩窄最为显著, 细胞前沿推进距离明显优于其余各组。图 6(B)定量结果显示, Cu-BBG/SA 组愈合率约 60%, 显著高于空白对照组(约 23%, $P < 0.01$); SA 组约 38%, 与对照组差异显著($P < 0.05$); Cu-BBG 组(约 25%)与对照组无统计学差异, 提示该浓度下单纯 Cu^{2+} 对内皮细胞迁移的直接促进效应有限。Cu-BBG/SA 组迁移能力的显著提升可能源于双重机制的协同: SA 降解产物上调 MMPs 分泌, 促进 ECM 局部降解为细胞迁移开辟通道[33] [34]; 低剂量 Cu^{2+} 持续释放则可能激活 HIF-1 α /VEGF 通路并上调整合素 $\alpha\text{v}\beta 3$ 表达[35] [36], 增强内皮细胞黏附-去黏附动态循环, 驱动板状伪足定向延伸。两者的组分叠加效应赋予复合水凝胶显著的促内皮迁移特性。



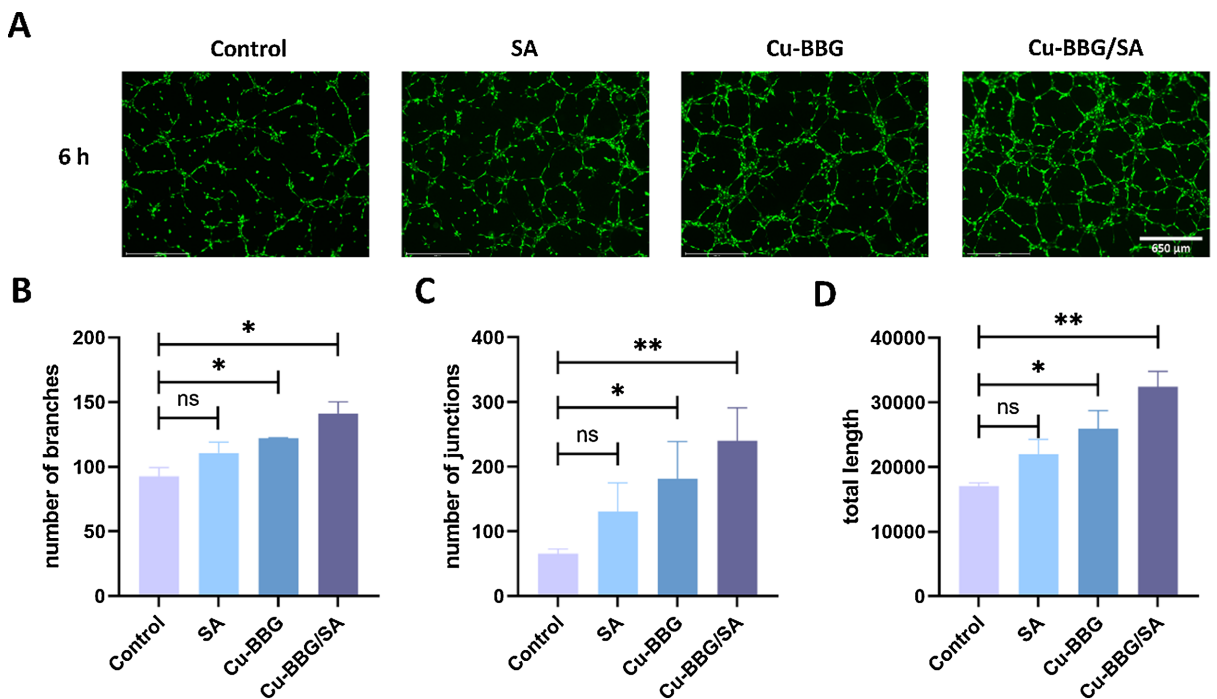
(A) 划痕后 0 h 与 24 h 代表性图像, 黄色虚线示划痕边界(Scale bar: 650 μm); (B) 各组 24 h 划痕愈合率统计(* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, ns 无统计学差异)。

Figure 6. Effects of group extracts on the *in vitro* migration of HUVECs

图 6. 各组浸提液对 HUVECs 体外迁移能力的影响

3.2.4. HUVECs 成管能力评价

图 7 从节点数、分支数及管腔总长度三个维度定量评价了各组浸提液对 HUVECs 成管能力的影响。图 7A 显示, 培养 6 h 后 Cu-BBG/SA 组管腔结构最为致密, 分支交织程度最高, 接近体内毛细血管网络形态。定量结果与形态学观察一致: Cu-BBG/SA 组管腔节点数约 190 个, 显著高于空白对照(约 70 个, $P < 0.001$)、SA 组(约 105 个, $P < 0.01$)及 Cu-BBG 组(约 150 个, $P < 0.05$); 分支数约 140 个, 与对照组



(A) 培养 6 h 代表性管腔图像(Scale bar: 650 μm); (B) 管腔交叉节点数; (C) 管腔分支数; (D) 管腔总长度(* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, ns 无统计学差异)。

Figure 7. Effects of group extracts on the *in vitro* tube formation of HUVECs

图 7. 各组浸提液对 HUVECs 体外成管能力的影响

($P < 0.01$)及 SA 组($P < 0.05$)差异显著, 而 Cu-BBG 组与对照组无统计学差异, 提示单纯 Cu^{2+} 在分支诱导方面存在局限: 管腔总长度约 28,000 单位, 较对照组(约 17,000 单位)提升约 65%, 与 SA 组及 Cu-BBG 组相比均具有极显著差异($P < 0.001$)。上述结果表明 Cu-BBG 与 SA 组分在促血管生成方面具有明确协同增效效应, 其潜在机制推测为: SA 降解产物可能通过调控尖端细胞与干细胞分化命运引导管腔出芽[37]; Cu^{2+} 持续释放则可能通过稳定 HIF-1 α 、上调 VEGFR2 磷酸化及激活 PI3K/Akt/eNOS 轴促进 NO 生成[38]-[40], 协同驱动管腔形态发生, 相关通路机制有待后续实验进一步证实。

4. 结论

口腔黏膜的功能性修复高度依赖创面血管网络的及时重建, 而当前临床常用敷料大多缺乏主动诱导血管生成的核心功能。本研究初步构建的 Cu-BBG/SA 复合水凝胶, 通过生物活性无机玻璃与天然多糖水凝胶的有机复合, 在细胞相容性、血液相容性及促内皮细胞迁移、成管等体外关键性能上均表现优良, 初步证实了有机-无机协同设计用于口腔黏膜修复材料的可行性, 也体现出多组分复合体系在组织修复中相较于单一组分的显著优势。

本研究揭示的有机-无机界面作用规律, 为多功能复合水凝胶的设计开发提供了重要方法学参考, 也为口腔创面修复材料从被动物理覆盖向主动生物调控的升级转型提供了实验支撑。未来可围绕理化性能优化、协同作用分子机制解析及体内促愈效果验证三大方向深入探索, 实现活性离子释放动力学与创面愈合周期的精准适配, 助力该类复合水凝胶材料逐步向临床应用转化。但尚存在一定局限: 尚未系统测定水凝胶的溶胀特性、降解行为及力学性能等关键理化指标, 亦未阐明 Cu-BBG 与 SA 协同促血管化的化学调控机制与生物学响应通路; 同时, 本研究仅基于体外细胞模型开展评价, 与口腔创面真实生理微环境存在差异, 材料在体内免疫应答、唾液酶解及口腔机械应力作用下的实际促愈效能与降解安全性, 仍需通过动物实验进一步验证。

参考文献

- [1] Gelin, A., Masson-Meyers, D., Amini, F., Moharamzadeh, K. and Tayebi, L. (2024) Collagen: The Superior Material for Full-Thickness Oral Mucosa Tissue Engineering. *Journal of Oral Biosciences*, **66**, 511-518. <https://doi.org/10.1016/j.job.2024.06.006>
- [2] Chen, Y., Gao, B., Cai, W., Lai, J., Lai, K. and Wang, Y. (2025) Oral Mucosa: Anti-Inflammatory Function, Mechanisms, and Applications. *Journal of Materials Chemistry B*, **13**, 4059-4072. <https://doi.org/10.1039/d4tb02845g>
- [3] Chuhuaicura, P., Rodriguez-Niklitschek, C., Oporto, G.H. and Salazar, L.A. (2025) Distinct Molecular Mechanisms in Oral Mucosal Wound Healing: Translational Insights and Future Directions. *International Journal of Molecular Sciences*, **26**, Article 10660. <https://doi.org/10.3390/ijms262110660>
- [4] Ngeow, W.C., Tan, C.C., Goh, Y.C., Deliberador, T.M. and Cheah, C.W. (2022) A Narrative Review on Means to Promote Oxygenation and Angiogenesis in Oral Wound Healing. *Bioengineering*, **9**, Article 636. <https://doi.org/10.3390/bioengineering9110636>
- [5] Zhao, S., Li, L., Wang, H., Zhang, Y., Cheng, X., Zhou, N., *et al.* (2015) Wound Dressings Composed of Copper-Doped Borate Bioactive Glass Microfibers Stimulate Angiogenesis and Heal Full-Thickness Skin Defects in a Rodent Model. *Biomaterials*, **53**, 379-391. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2015.02.112>
- [6] Negahi Shirazi, A., Fathi, A., Suarez, F.G., Wang, Y., Maitz, P.K. and Dehghani, F. (2016) A Novel Strategy for Softening Gelatin-Bioactive-Glass Hybrids. *ACS Applied Materials & Interfaces*, **8**, 1676-1686. <https://doi.org/10.1021/acsami.5b09006>
- [7] Li, H. and Chang, J. (2013) Bioactive Silicate Materials Stimulate Angiogenesis in Fibroblast and Endothelial Cell Co-Culture System through Paracrine Effect. *Acta Biomaterialia*, **9**, 6981-6991. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2013.02.014>
- [8] Li, Y., Wong, K.W., Huang, Y., Chien, C. and Shih, C. (2023) Evaluation of *in Vitro* Bioactivity and Angiogenesis-Promoting Effect for Mesoporous Bioactive Glass Codoped with Copper and Silver. *Journal of Non-Crystalline Solids*, **613**, Article ID: 122371. <https://doi.org/10.1016/j.jnoncrysol.2023.122371>
- [9] Stähli, C., James-Bhasin, M., Hoppe, A., Boccaccini, A.R. and Nazhat, S.N. (2015) Effect of Ion Release from Cu-Doped

- 45S5 Bioglass® on 3D Endothelial Cell Morphogenesis. *Acta Biomaterialia*, **19**, 15-22. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2015.03.009>
- [10] Wu, C., Zhou, Y., Xu, M., Han, P., Chen, L., Chang, J., *et al.* (2013) Copper-Containing Mesoporous Bioactive Glass Scaffolds with Multifunctional Properties of Angiogenesis Capacity, Osteostimulation and Antibacterial Activity. *Biomaterials*, **34**, 422-433. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2012.09.066>
- [11] Madival, H. and Rajiv, A. (2026) A Comprehensive Review of Bioactive Glasses: Synthesis, Characterization, and Applications in Regenerative Medicine. *Biomedical Materials & Devices*, **4**, 1380-1400. <https://doi.org/10.1007/s44174-025-00310-8>
- [12] Pajares-Chamorro, N. and Chatzistavrou, X. (2020) Bioactive Glass Nanoparticles for Tissue Regeneration. *ACS Omega*, **5**, 12716-12726. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c00180>
- [13] Tan, R., Chen, R., Sun, L., Xu, S., Ji, Z., Ji, S., *et al.* (2023) From Nanoscale to Microscale Hierarchical Multifunctional Nano Borate Bioactive Glass for Efficient Wound Healing. *Ceramics International*, **49**, 25908-25919. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2023.05.140>
- [14] Tordi, P., Ridi, F., Samorì, P. and Bonini, M. (2025) Cation-Alginate Complexes and Their Hydrogels: A Powerful Toolkit for the Development of Next-Generation Sustainable Functional Materials. *Advanced Functional Materials*, **35**, Article ID: 2416390. <https://doi.org/10.1002/adfm.202416390>
- [15] Varaprasad, K., Jayaramudu, T., Kanikireddy, V., Toro, C. and Sadiku, E.R. (2020) Alginate-Based Composite Materials for Wound Dressing Application: a Mini Review. *Carbohydrate Polymers*, **236**, Article ID: 116025. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116025>
- [16] Zhang, Z., Li, Z., Li, Y., Wang, Y., Yao, M., Zhang, K., *et al.* (2021) Sodium Alginate/Collagen Hydrogel Loaded with Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells Promotes Wound Healing and Skin Remodeling. *Cell and Tissue Research*, **383**, 809-821. <https://doi.org/10.1007/s00441-020-03321-7>
- [17] Hu, T. and Lo, A.C.Y. (2021) Collagen-Alginate Composite Hydrogel: Application in Tissue Engineering and Biomedical Sciences. *Polymers*, **13**, Article 1852. <https://doi.org/10.3390/polym13111852>
- [18] Guo, Z., Han, J., Li, Z., Sun, Y., Chen, R., Rehman, S.u., *et al.* (2024) Borate Bioactive Glass Enhances 3D Bioprinting Precision and Biocompatibility on a Sodium Alginate Platform via Ca²⁺ Controlled Self-Solidification. *International Journal of Biological Macromolecules*, **277**, Article ID: 134338. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.134338>
- [19] Li, Y., Wang, Y., Ding, Y., Fan, X., Ye, L., Pan, Q., *et al.* (2024) A Double Network Composite Hydrogel with Self-Regulating Cu²⁺/Luteolin Release and Mechanical Modulation for Enhanced Wound Healing. *ACS Nano*, **18**, 17251-17266. <https://doi.org/10.1021/acsnano.4c04816>
- [20] Fu, X., Xu, M., Liu, J., Qi, Y., Li, S. and Wang, H. (2014) Regulation of Migratory Activity of Human Keratinocytes by Topography of Multiscale Collagen-Containing Nanofibrous Matrices. *Biomaterials*, **35**, 1496-1506. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2013.11.013>
- [21] Hou, M., Xu, Q., Wang, L., Zhang, X., Zhang, L., Gao, H., *et al.* (2025) Nanocellulose /sodium Alginate Porous Foams for Enhanced Wound Healing and Antibacterial Properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, **320**, Article ID: 146009. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2025.146009>
- [22] Ansari, S., Pouraghaei Sevari, S., Chen, C., Sarrion, P. and Moshaverinia, A. (2021) RGD-Modified Alginate-Gelma Hydrogel Sheet Containing Gingival Mesenchymal Stem Cells: A Unique Platform for Wound Healing and Soft Tissue Regeneration. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, **7**, 3774-3782. <https://doi.org/10.1021/acsbomaterials.0c01571>
- [23] Naga, M.S., Helal, H.M., Kamoun, E.A., Moaty, M.A., Omar, S.S.A.R., Ghareeb, A.Z., *et al.* (2024) A Novel Injectable Boron Doped-Mesoporous Nano Bioactive Glass Loaded-Alginate Composite Hydrogel as a Pulpotomy Filling Biomaterial for Dentin Regeneration. *BMC Oral Health*, **24**, Article No. 1087. <https://doi.org/10.1186/s12903-024-04808-3>
- [24] Chen, X., Wu, T., Bu, Y., Yan, H. and Lin, Q. (2024) Fabrication and Biomedical Application of Alginate Composite Hydrogels in Bone Tissue Engineering: A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, **25**, Article 7810. <https://doi.org/10.3390/ijms25147810>
- [25] Zhao, X., Xu, Z., Wang, D., Li, T., Li, Z., Bai, X., *et al.* (2025) Silicon-based Nanomaterials in Chronic Wound Healing: Mechanisms, Therapeutic Applications, and Clinical Prospects. *International Journal of Nanomedicine*, **20**, 11959-11988. <https://doi.org/10.2147/ijn.s528531>
- [26] Lin, Y., Xiao, W., Bal, B.S. and Rahaman, M.N. (2016) Effect of Copper-Doped Silicate 13-93 Bioactive Glass Scaffolds on the Response of MC3T3-E1 Cells *in Vitro* and on Bone Regeneration and Angiogenesis in Rat Calvarial Defects *in Vivo*. *Materials Science and Engineering: C*, **67**, 440-452. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.05.073>
- [27] Begines, B., Arevalo, C., Romero, C., Hadzhieva, Z., Boccaccini, A.R. and Torres, Y. (2022) Fabrication and Characterization of Bioactive Gelatin-Alginate-Bioactive Glass Composite Coatings on Porous Titanium Substrates. *ACS Applied Materials & Interfaces*, **14**, 15008-15020. <https://doi.org/10.1021/acsmi.2c01241>
- [28] Neves, M.I., Moroni, L. and Barrias, C.C. (2020) Modulating Alginate Hydrogels for Improved Biological Performance

- as Cellular 3D Microenvironments. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, **8**, Article 665. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00665>
- [29] Braccini, I. and Pérez, S. (2001) Molecular Basis of Ca²⁺-Induced Gelation in Alginates and Pectins: The Egg-Box Model Revisited. *Biomacromolecules*, **2**, 1089-1096. <https://doi.org/10.1021/bm010008g>
- [30] Aschner, M., Skalny, A.V., Lu, R., Martins, A.C., Tizabi, Y., Nekhoroshev, S.V., *et al.* (2024) Mitochondrial Pathways of Copper Neurotoxicity: Focus on Mitochondrial Dynamics and Mitophagy. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, **17**, Article 1504802. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2024.1504802>
- [31] Grasso, M., Bond, G.J., Kim, Y., Boyd, S., Matson Dzebo, M., Valenzuela, S., *et al.* (2021) The Copper Chaperone CCS Facilitates Copper Binding to MEK1/2 to Promote Kinase Activation. *Journal of Biological Chemistry*, **297**, Article ID: 101314. <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2021.101314>
- [32] Bhoopathy, J., Vedakumari Sathiyaraj, W., Yesudhasan, B.V., Rajendran, S., Dharmalingam, S., Seetharaman, J., *et al.* (2024) Haemostatic Potency of Sodium Alginate/Aloe Vera/Sericin Composite Scaffolds—Preparation, Characterisation, and Evaluation. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, **52**, 35-45. <https://doi.org/10.1080/21691401.2023.2293784>
- [33] Kang, H., Kwak, H., Kaunas, R. and Bayless, K.J. (2011) Fluid Shear Stress and Sphingosine 1-Phosphate Activate Calpain to Promote Membrane Type 1 Matrix Metalloproteinase (MT1-MMP) Membrane Translocation and Endothelial Invasion into Three-Dimensional Collagen Matrices. *Journal of Biological Chemistry*, **286**, 42017-42026. <https://doi.org/10.1074/jbc.m111.290841>
- [34] Mazor, R., Alsaigh, T., Shaked, H., Altshuler, A.E., Pocock, E.S., Kistler, E.B., *et al.* (2013) Matrix Metalloproteinase-1-Mediated Up-Regulation of Vascular Endothelial Growth Factor-2 in Endothelial Cells. *Journal of Biological Chemistry*, **288**, 598-607. <https://doi.org/10.1074/jbc.m112.417451>
- [35] Dai, Q., Li, Q., Gao, H., Yao, L., Lin, Z., Li, D., *et al.* (2021) 3D Printing of Cu-Doped Bioactive Glass Composite Scaffolds Promotes Bone Regeneration through Activating the HIF-1 α and TNF- α Pathway of hUVECs. *Biomaterials Science*, **9**, 5519-5532. <https://doi.org/10.1039/d1bm00870f>
- [36] Yang, Y., Chen, C., Lyu, Y., Gololobova, O., Guo, X., Huang, T.Y., *et al.* (2025) HIF-1 Promotes Murine Breast Cancer Brain Metastasis by Increasing Production of Integrin β_3 -Containing Extracellular Vesicles. *Journal of Clinical Investigation*, **135**, e190470. <https://doi.org/10.1172/jci190470>
- [37] Benn, A., Hiepen, C., Osterland, M., Schütte, C., Zwijsen, A. and Knaus, P. (2017) Role of Bone Morphogenetic Proteins in Sprouting Angiogenesis: Differential BMP Receptor-Dependent Signaling Pathways Balance Stalk vs Tip Cell Competence. *The FASEB Journal*, **31**, 4720-4733. <https://doi.org/10.1096/fj.201700193rr>
- [38] Kim, G.D. (2017) Kaempferol Inhibits Angiogenesis by Suppressing HIF-1 α and VEGFR2 Activation via ERK/p38 MAPK and PI3K/Akt/mTOR Signaling Pathways in Endothelial Cells. *Preventive Nutrition and Food Science*, **22**, 320-326. <https://doi.org/10.3746/pnf.2017.22.4.320>
- [39] Li, Y., Xu, T., Tu, Z., Dai, W., Xue, Y., Tang, C., *et al.* (2020) Bioactive Antibacterial Silica-Based Nanocomposites Hydrogel Scaffolds with High Angiogenesis for Promoting Diabetic Wound Healing and Skin Repair. *Theranostics*, **10**, 4929-4943. <https://doi.org/10.7150/thno.41839>
- [40] Hu, H., Tang, Y., Pang, L., Lin, C., Huang, W., Wang, D., *et al.* (2018) Angiogenesis and Full-Thickness Wound Healing Efficiency of a Copper-Doped Borate Bioactive Glass/Poly(Lactic-Co-Glycolic Acid) Dressing Loaded with Vitamin E *in Vivo* and *in Vitro*. *ACS Applied Materials & Interfaces*, **10**, 22939-22950. <https://doi.org/10.1021/acsami.8b04903>