

·综述·生物材料在创面修复中的应用·

天然与重组胶原蛋白在创面修复中的应用研究进展

刘小刚¹ 陈蕾¹ 李海航² 胡妍珂¹ 熊雅慧¹ 黄薇¹ 苏沙沙³ 祁少海¹¹中山大学附属第一医院烧伤与创面修复科,广州 510062;²四川大学生物医学工程学院,成都 610065;³中山大学-逸仙集团皮肤健康精准研究联合实验室悦可丽皮肤再生实验室,广州 510275

通信作者:祁少海,Email:qishh@mail.sysu.edu.cn

【摘要】 胶原蛋白是一种构成动物结缔组织细胞外基质的高分子蛋白质,在生物医学、组织工程、食品以及化妆品等领域均有着广泛的应用和发展。胶原蛋白由于来源丰富且具有良好的生物相容性、低免疫原性与可降解性等优点,可被用作敷料或组织工程支架用于创面修复。根据材料来源,胶原蛋白可被分为天然胶原蛋白和重组胶原蛋白,天然胶原蛋白主要是从哺乳动物和鱼类中直接提取的;而重组胶原蛋白是基于基因工程技术得到的,来源包括微生物、动物或植物重组表达体系。该文总结了胶原蛋白的来源及不同来源的胶原蛋白在创面修复中的作用及其优点、不足等,胶原蛋白结合三维打印技术用于创面修复的特殊性与优越性,以及中国胶原蛋白产业的市场规范对创面修复领域的影响,并对研发胶原蛋白相关产品的注意事项等做了进一步说明,旨在为选择合适来源的胶原蛋白进行创面修复提供新思路。

【关键词】 生物相容性材料; 打印,三维; 创面修复; 天然胶原蛋白; 重组胶原蛋白; 市场规范

基金项目:广东省自然科学基金(2020B1515020049); 中山大学附属第一医院“三个三”工程团队(Y70214)

Research advances on the application of natural and recombinant collagen in wound repair

Liu Xiaogang¹, Chen Lei¹, Li Haihang², Hu Yanke¹, Xiong Yahui¹, Huang Wei¹, Su Shasha³, Qi Shaohai¹¹Department of Burn and Wound Repair, the First Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510062, China;²School of Biomedical Engineering, Sichuan University, Chengdu 610065, China;³Sun Yat-sen University-Yixian Group Skin Health Precision Research Joint Laboratory, Yue Keli Skin Regeneration Laboratory, Guangzhou 510275, China

Corresponding author: Qi Shaohai, Email: qishh@mail.sysu.edu.cn

【Abstract】 Collagen is a macromolecular protein constituting the extracellular matrix of animal connective tissue, which has been widely used and developed in fields of

biomedicine, tissue engineering, food, and cosmetics. Due to its advantages such as abundant sources and good biocompatibility, low immunogenicity, and degradability, collagen can be used as a dressing or tissue engineering scaffold for wound repair. According to the source of materials, collagen can be divided into natural collagen and recombinant collagen. Natural collagen is mainly extracted directly from mammals and fish; recombinant collagen is obtained based on genetic engineering technology, and its sources include recombinant expression systems of microorganisms, animals, and plants. This paper summarizes the sources of collagen, and the roles, advantages, and disadvantages of different sources of collagen in wound repair, the particularity and superiority of collagen combined with three-dimensional printing technology in wound repair, the impact of market norms of China's collagen industry on the field of wound repair, and explains the precautions for the development of collagen-related products, aiming to provide new ideas for selecting a suitable source of collagen for wound repair.

【Key words】 Biocompatible materials; Printing, three-dimensional; Wound repair; Natural collagen; Recombinant collagen; Market norm

Fund program: Natural Science Foundation of Guangdong Province of China (2020B1515020049); "Three Threes" Engineering Team of the First Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University (Y70214)

胶原蛋白作为 ECM 的重要组成部分,为细胞生长提供支持结构,并维持结缔组织的弹性与机械强度。胶原蛋白是动物体内含量最丰富的蛋白,约占蛋白总量的 30%^[1-2],主要分布于皮肤、软骨、韧带与肌腱组织中^[3]。皮肤中的胶原蛋白主要是分布在真皮层的 I、III、V 型胶原蛋白及位于基底膜的 IV、VII 和 X VII 型胶原蛋白^[4-5],其中 I、III 型胶原蛋白最常见。从应用范围来看,胶原蛋白在生物医学、组织工程、食品以及化妆品等领域均有着广泛的发展。

DOI: 10.3760/cma.j.cn501120-20211123-00394

本文引用格式:刘小刚,陈蕾,李海航,等.天然与重组胶原蛋白在创面修复中的应用研究进展[J].中华烧伤与创面修复杂志,2022,38(10):978-982. DOI: 10.3760/cma.j.cn501120-20211123-00394.

Liu XG, Chen L, Li HH, et al. Research advances on the application of natural and recombinant collagen in wound repair[J].

Chin J Burns Wounds, 2022, 38(10): 978-982. DOI: 10.3760/cma.j.cn501120-20211123-00394.



胶原蛋白具有良好的生物相容性、低免疫原性与可降解性等优点,使其作为敷料或组织工程支架为创面治疗提供了良好的生物材料选择,其应用形式包括胶原蛋白海绵、胶原蛋白膜、胶原凝胶等^[6]。根据材料来源,胶原蛋白可被分为天然和重组胶原蛋白。天然胶原蛋白主要是从哺乳动物和鱼类中直接提取的;而重组胶原蛋白是基于基因工程技术,将胶原蛋白基因序列拼接至质粒载体上,转移到微生物、动物或植物重组表达体系,经过发酵与分离纯化后获得的。本文总结了胶原蛋白的来源及不同来源的胶原蛋白在创面修复中的作用及其优点、不足等,胶原蛋白结合三维打印技术用于创面修复的特殊性与优越性,以及中国胶原蛋白产业的市场规范对创面修复领域的影响,并对研发胶原蛋白相关产品的注意事项等做了进一步说明,旨在为选择合适来源的胶原蛋白进行创面修复提供新思路。

1 天然胶原蛋白在创面修复中的应用

1.1 哺乳动物来源胶原蛋白

天然胶原蛋白是传统意义上的、应用十分广泛的胶原蛋白,其来源为以牛、猪、鼠为代表的哺乳动物以及鱼、水母等非哺乳动物。胶原蛋白多是从这些动物的肌腱、皮肤及尾巴中提取的^[7],虽然也有从人胎盘或皮肤提取的胶原蛋白,但其价格十分昂贵且无法大量生产^[8]。胶原蛋白的提取工艺有酸法、碱法、中性盐法、酶法等。由于胶原蛋白大多交联程度高,通过酸法或酶法才能将其溶解,而碱法容易使胶原变性,盐法适合交联程度低的胶原。牛和猪胶原蛋白的三螺旋结构域与人胶原蛋白高度同源。早在 20 世纪 80 年代,Sagi 等^[9]就将牛来源的纯天然 I 型胶原蛋白作为覆盖材料用于 10 例患者的创面修复,结果显示胶原蛋白能够很好地黏附在创面表面,并促进创面愈合。Yang^[10]将获取的猪来源胶原蛋白用于 50 例患者烧伤创面后,创面愈合效果良好。Gao 等^[11]将猪胶原膜用于大鼠深层烧伤创面,观察到胶原膜在覆盖创面后平均 10.3 d 再上皮化。朱堂友等^[12]在由壳聚糖、透明质酸及从鼠尾提取的 I 型胶原蛋白构成的复合水凝胶中加入 KC,证实该复合水凝胶不仅可促进 KC 生长,且具有一定抗菌性。但是,胶原蛋白在应用过程中会发生免疫反应,这主要是由端肽区域引发的^[13]。张自强等^[14]通过酶解、透析、冻干等手段成功制备去端肽 I 型胶原蛋白,该胶原蛋白抗原质量分数降低,说明酶法可以去除胶原蛋白 C、N 端的端肽,减少免疫反应的发生^[15]。此外,酶法也具有胶原蛋白提取比例高、反应迅速的特点,因此酶法是目前最为常用的胶原蛋白提取方法。

1.2 非哺乳动物来源胶原蛋白

随着提取工艺的改进,胶原蛋白的提取效率与稳定性均有所提高,免疫原性有所降低,但哺乳动物来源的胶原蛋白所引发的疯牛病、鼠疫、朊病毒病等疾病的传播问题仍然存在^[16]。鱼等海洋动物来源的胶原蛋白则更具优势,不仅容易获取,而且降低了疾病传播的风险。Feng 等^[17]证实,采用鱼胶原蛋白和海藻酸钠制备的复合水凝胶能够很好地促进大

鼠创面愈合;Widdowson 等^[18]证实,水母来源的 I 型胶原蛋白具有与牛来源胶原蛋白类似的创面修复潜能。但是有研究者认为,海洋动物来源的胶原蛋白变性温度低于人体核心体温 37.5 °C,如从太平洋鲑鱼中分离提取的胶原蛋白变性温度为 14.5 °C,草鱼胶原蛋白的变性温度为 33 °C^[19],如果要将该类胶原蛋白作为生物材料用于创面修复,则需要寻找合适的交联方式。天然胶原蛋白作为异源蛋白,除了疾病传播与不可消除的免疫原性问题,还面临着胶原成分复杂、可控性差等问题^[20]。

2 重组胶原蛋白在创面修复中的应用

2.1 大肠埃希菌重组胶原蛋白体系

大肠埃希菌与酵母菌成本低、生长周期短,是获取重组胶原蛋白的 2 个主要的微生物表达体系。大肠埃希菌表达体系可将需要的胶原蛋白基因序列与载体重组,并在其中进行扩增培养,诱导目的蛋白表达。Cao 等^[21]将大肠埃希菌高密度发酵后分离纯化的重组人 II 型胶原蛋白与羧甲基壳聚糖构建组织工程皮肤支架,并证实该支架具有良好的力学性能、生物相容性与高孔隙率,可以较好地修复兔全层皮肤缺损创面。与天然胶原蛋白相比,利用大肠埃希菌重组胶原蛋白体系制备的重组人胶原蛋白还具有成分单一、生产时间短、材料可控、无疾病传播风险等优点,除可被用于皮肤创面修复外,还可被用于止血。然而,大肠埃希菌所表达的重组人胶原蛋白缺乏人胶原蛋白所特有的脯氨酸羟化过程,使其在人体的应用价值显著降低^[22]。

2.2 酵母菌重组胶原蛋白体系

大肠埃希菌缺乏翻译后修饰作用,而酵母菌具有翻译后修饰功能且容易高密度发酵、不产生 LPS 等,使得酵母菌成为一种更具有研究前景的微生物体系^[23]。Vuorela 等^[24]于 1999 年利用毕赤酵母成功制备了重组人 I、II、III 型胶原蛋白。刘斌^[25]将毕赤酵母菌高密度发酵后获得的重组人胶原蛋白质量浓度达 3.81 g/L。李伟娜等^[26]通过优化培养基,将 22 L 发酵罐中的毕赤酵母菌高密度发酵后,使重组人 III 型胶原蛋白质量浓度达到 4.71 g/L。为了验证重组人 III 型胶原蛋白治疗创面的效果,刘彤等^[27]将利用酵母菌构建的重组人 III 型胶原蛋白与海藻酸钠以质量比 10:1 混合后用氯化钙溶液交联成水凝胶,将水凝胶用于猪全层皮肤缺损创面后,创面不仅有大量血管再生,而且胶原纤维有序排列。此外,该团队又将利用酵母菌构建的重组人 III 型胶原蛋白水凝胶作为微粒皮覆盖物,修复大鼠全层皮肤缺损创面,明显提高了创面愈合质量^[28]。Ben 等^[29]通过自身对照临床试验证实,利用酵母菌构建的重组胶原蛋白水凝胶同样可以促进 II 度烧伤创面愈合。

2.3 动物重组胶原蛋白体系

动物重组胶原蛋白体系的纤维肉瘤细胞、胚胎肾细胞等人类细胞系以及蚕与小鼠,均能成功表达重组人胶原蛋白^[30-31]。Hou 等^[32]观察到,将从仓鼠卵巢细胞中提取的重组人 VII 型胶原蛋白静脉注射至小鼠体内可治疗其隐性营养不

良大疱性表皮松解症。然而将动物来源的重组胶原蛋白用于修复创面的研究较少,并且动物来源胶原蛋白含量低。Tomita 等^[33]通过向幼蚕中转入人胶原蛋白互补 DNA,成功诱导了重组人Ⅲ型胶原蛋白的表达;Qi 等^[34]从平均每个幼蚕的皮肤中提取了 1 mg 重组人Ⅱ型胶原蛋白。

2.4 植物重组胶原蛋白体系

植物重组胶原蛋白体系不存在动物重组胶原蛋白体系的病原体传播风险,植物重组胶原蛋白的来源主要是烟草和玉米。有研究者利用烟草和玉米,成功获取了羟基化重组人Ⅰ型胶原蛋白^[35-36]。据报道,转基因烟草表达的重组人Ⅰ型胶原蛋白与人类Ⅰ型胶原蛋白的氨基酸序列几乎相同,该重组人胶原蛋白也有促进血管内皮细胞黏附、增殖的能力,由于血管生成是皮肤再生的关键,研究者推测该重组人胶原蛋白具有促进创面修复的作用^[37]。也有体内研究表明,与动物表达体系的重组胶原蛋白相比,利用烟草合成的重组人Ⅰ型胶原蛋白可显著加快创面愈合^[38]。但动物与植物胶原蛋白表达体系均面临着生产成本高、产量低、不能展开大规模生产的难题。

3 胶原蛋白结合三维打印技术在创面修复中的应用

三维打印是一种以增材制作为主的工业技术,材料打印具有良好的精准度和可操作性,而选择胶原蛋白作为修复创面的生物墨水,可更真实、更准确地模拟人体皮肤,这使得三维打印胶原蛋白支架逐渐成为创面修复的热门材料。常用于生物三维打印的方法有喷墨式打印、微挤出式打印、立体光刻式打印以及激光辅助式打印^[39]。喷墨式打印类似于普通打印,将微滴状生物墨水喷射出来,但黏稠性材料容易堵塞。挤压式打印是利用物理或气动方法挤出生物墨水,打印精度高,可打印高黏度材料。光固化打印基于数字设备,将紫外线或可见光投射至光敏聚合物上,从而使材料发生光交联,该打印方法不需要喷嘴,可通过改变光源的功率、打印速度以及光引发剂来调节固化效果。激光辅助打印需要脉冲式激光探头、承载板及基板,通过发射激光使生物墨水从承载板转移至基板成型。其中喷墨式打印的喷头精度较高,每滴生物墨水体积通常为 1~300 pL;而挤压式打印机喷头直径通常为 50~1 000 μm,更适合于细胞打印。

有研究者将鼠尾Ⅰ型胶原蛋白作为 ECM,表皮细胞与 Fb 作为细胞成分进行皮肤的三维打印,观察到三维立体与二维平面结构的细胞存活率无明显差异,而且 14 d 后三维打印的皮肤细胞有 80% 存活,且细胞增殖能力良好^[40]。Michael 等^[41]观察到,将三维打印的皮肤移植到小鼠创面后,创面有微血管生成,但打印后的皮肤相对较薄且不含皮肤附属器。Chauhan 等^[42]建立起一套皮肤数据库以期使打印皮肤的外观一致,但效果有待进一步验证。尽管研究者对胶原蛋白结合三维打印技术进行了许多尝试,但基于胶原蛋白的生物墨水的应用仍具有挑战性,胶原蛋白的物理化学性质需要根据不同三维打印技术和应用方向进行调整。

4 中国胶原蛋白产业的市场规范

胶原蛋白的来源多种多样,而市场上胶原蛋白的分子量不一,应用领域也不同,并且存在命名混淆、型号不规范等问题,这不利于胶原蛋白产业的高质量发展,因此需要一系列的行业标准对胶原蛋白的产品名称与管理类别等进行界定,以规范市场,促进产业链向更有秩序、更稳定的方向不断转化,这对于将胶原蛋白用于修复创面的研究与应用也是十分有利的。

国家药品监督管理局高度重视新型生物材料领域的产品研发与转化等相关工作,积极开展相关标准制订、产品命名与分类等基础性工作,不断完善以重组胶原蛋白为代表的新型生物材料领域标准体系。2021 年 3 月 18 日,国家药品监督管理局发布了关于重组胶原蛋白等医疗器械行业标准立项的通知指出,需要对重组胶原蛋白等系列材料开展安全性、有效性及性能评估的研究。为了指导重组胶原蛋白作为生物材料的正确命名,《国家药监局关于发布重组胶原蛋白生物材料命名指导原则》规定,重组胶原蛋白名称应当由核心词和特征词共同构成,例如重组Ⅲ型人胶原蛋白凝胶这一名称中,Ⅲ型是特征词,重组人胶原蛋白与凝胶分别为 2 个核心词。既往动物源性的天然胶原蛋白类材料,因存在免疫原性、疾病传播等风险,被按第三类医疗器械管理。为了进一步规范重组胶原蛋白类医疗产品的管理,《国家药监局关于发布重组胶原蛋白类医疗产品分类界定原则的通告》指出,在管理属性上,如产品可以发挥药理学作用,同时具有医疗器械用途,应按照主要作用机制,以药品作用为主或者以医疗器械作用为主的药械组合产品进行申报注册。此外,在管理类别上,重组胶原蛋白类材料不应低于第二类医疗器械管理要求,并根据产品应用目的和特性不同进行管理分类,例如当作为医用敷料、无免疫原性植入物或用作体内止血和防粘连材料时,如果部分被人体吸收,或者用于慢性创面,可以按照第三类医疗器械管理;如果不能被人体吸收且仅用于体表或非慢性创面,则按照第二类医疗器械管理。

2021 年 6 月 29 日,国家药品监督管理局批准了“重组Ⅲ型人源化胶原蛋白冻干纤维”第三类医疗器械注册证,这是我国自主研发的首个采用新型生物材料——重组人源化胶原蛋白制备的医疗器械。国家药品监督管理局表示,重组Ⅲ型人源化胶原蛋白应当具有以下 3 个特点:重组Ⅲ型人源化胶原蛋白氨基酸序列的重复单元与人胶原蛋白氨基酸序列特定功能区相同;具有 164.88° 柔性三螺旋结构(相关结构数据已被国际蛋白质结构数据库收录);同时具有高于人体Ⅰ型和Ⅲ型胶原蛋白的细胞黏附性与良好的修复特性,在创面修复等领域有着广阔的临床应用前景。目前我国已有多家机构获得重组胶原蛋白医疗器械注册证,多种不同类型重组胶原蛋白相关的医疗产品已完成注册,这些产品主要被用于修复皮肤创面。国内的质量评价标准主要包括《组织工程医疗器械产品Ⅰ型胶原蛋白表征方法》《组织工程医疗器械产品胶原蛋白》系列标准以及正在立项中的《重组胶原蛋白》和《胶原蛋白》2 项原材料标准,这些对于胶原蛋白产业的研发

与转化工作具有指导意义。随着国家药品监督管理局等部门逐步制订出重组胶原蛋白生物材料的相关法规或指导意见,相关部门势必会加大对重组胶原蛋白市场的监管力度,企业则需在遵守规则的前提下进行技术创新与产品研发,如此才能可持续发展。

5 小结

胶原蛋白因具有良好的生物相容性、低免疫原性与可降解性等被广泛应用于创面修复领域。不同来源的胶原蛋白各有其优点和不足,从动物中提取的胶原蛋白具有免疫反应与疾病传播的风险,以及存在胶原成分复杂、可控性差等问题。随着基因重组技术的发展,应用重组胶原蛋白修复创面成为研究热点,通过基因重组技术可以获得无法从天然组织提取的更多类型的胶原蛋白,尤其是利用酵母菌合成的重组胶原蛋白,该类蛋白对于创面修复具有重要作用。因此未来可以展开更多的研究,进一步挖掘重组胶原蛋白的临床应用价值,并且将胶原蛋白与三维打印技术结合,构建组织工程皮肤以更有利于创面修复;同时基于科学研究成果促进市场行业标准的建立,进一步推动中国胶原蛋白产业的创新发展与转化,最终造福全人类。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Adamiak K, Sionkowska A. Current methods of collagen cross-linking: review[J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 161:550-560. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2020.06.075.
- [2] Miranda-Nieves D, Chaikof EL. Collagen and elastin biomaterials for the fabrication of engineered living tissues[J]. *ACS Biomater Sci Eng*, 2017, 3(5): 694-711. DOI: 10.1021/acsbmaterials.6b00250.
- [3] Liu X, Zheng C, Luo X, et al. Recent advances of collagen-based biomaterials: multi-hierarchical structure, modification and biomedical applications[J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2019, 99:1509-1522. DOI:10.1016/j.msec.2019.02.070.
- [4] 张丽丽,李贤玉,穆荣,等. 皮肤中基底膜的结构与功能[J]. *中国美容医学*, 2016, 25(10):113-117.
- [5] 盛嘉隽. 重组人胶原纳米纤维支架的制备及其生物相容性检测[D]. 上海:第二军医大学, 2017.
- [6] 厉盈颖,张俊杰,吴志明,等. 胶原蛋白的制备,生物学特性及应用[J]. *食品工业*, 2021, 42(8):192-196.
- [7] Avila Rodríguez MI, Rodríguez Barroso LG, Sánchez ML. Collagen: a review on its sources and potential cosmetic applications[J]. *J Cosmet Dermatol*, 2018, 17(1): 20-26. DOI: 10.1111/jocd.12450.
- [8] Tang J, Saito T. Biocompatibility of novel type I collagen purified from tilapia fish scale: an in vitro comparative study[J]. *Biomed Res Int*, 2015, 2015:139476. DOI:10.1155/2015/139476.
- [9] Sagi A, Walter P, Walter MH, et al. "Dermdress", a new temporary skin substitute: pilot study on donor sites[J]. *Int J Tissue React*, 1986, 8(2):153-156.
- [10] Yang JY. Clinical application of collagen sheet, YCWM, as a burn wound dressing[J]. *Burns*, 1990, 16(6): 457-461. DOI: 10.1016/0305-4179(90)90077-a.
- [11] Gao ZR, Hao ZQ, Li Y, et al. Porcine dermal collagen as a wound dressing for skin donor sites and deep partial skin thickness burns[J]. *Burns*, 1992, 18(6):492-496. DOI:10.1016/0305-4179(92)90183-u.
- [12] 朱堂友,伍津津,胡浪,等. 壳多糖-胶原-糖胺聚糖凝胶人工皮肤的初步研究[J]. *中国修复重建外科杂志*, 2003, 17(2): 113-116.
- [13] Delgado LM, Shologu N, Fuller K, et al. Acetic acid and pepsin result in high yield, high purity and low macrophage response collagen for biomedical applications[J]. *Biomed Mater*, 2017, 12(6): 065009. DOI:10.1088/1748-605X/aa838d.
- [14] 张自强,张以河,安琪,等. 去端肽 I 型胶原蛋白的免疫原性研究[J]. *中国组织工程研究*, 2019, 23(22):3542-3548. DOI:10.3969/j.issn.2095-4344.1738.
- [15] Ishikawa H, Koshino T, Takeuchi R, et al. Effects of collagen gel mixed with hydroxyapatite powder on interface between newly formed bone and grafted achilles tendon in rabbit femoral bone tunnel[J]. *Biomaterials*, 2001, 22(12): 1689-1694. DOI: 10.1016/s0142-9612(00)00331-8.
- [16] Louz D, Bergmans HE, Loos BP, et al. Reappraisal of biosafety risks posed by PERVs in xenotransplantation[J]. *Rev Med Virol*, 2008, 18(1):53-65. DOI:10.1002/rmv.559.
- [17] Feng X, Zhang X, Li S, et al. Preparation of aminated fish scale collagen and oxidized sodium alginate hybrid hydrogel for enhanced full-thickness wound healing[J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 164:626-637. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2020.07.058.
- [18] Widdowson JP, Picton AJ, Vince V, et al. In vivo comparison of jellyfish and bovine collagen sponges as prototype medical devices[J]. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 2018, 106(4): 1524-1533. DOI:10.1002/jbm.b.33959.
- [19] Yang H, Wang H, Zhao Y, et al. Effect of heat treatment on the enzymatic stability of grass carp skin collagen and its ability to form fibrils in vitro[J]. *J Sci Food Agric*, 2015, 95(2):329-336. DOI: 10.1002/jsfa.6724.
- [20] Lee JM, Suen S, Ng WL, et al. Bioprinting of collagen: considerations, potentials, and applications[J]. *Macromol Biosci*, 2021, 21(1):e2000280. DOI:10.1002/mabi.202000280.
- [21] Cao J, Wang P, Liu Y, et al. Double crosslinked HLC-CCS hydrogel tissue engineering scaffold for skin wound healing[J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 155: 625-635. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2020.03.236.
- [22] Ghosh N, McKillop TJ, Jowitt TA, et al. Collagen-like proteins in pathogenic *E. coli* strains[J]. *PLoS One*, 2012, 7(6): e37872. DOI: 10.1371/journal.pone.0037872.
- [23] Sallach RE, Conticello VP, Chaikof EL. Expression of a recombinant elastin-like protein in *pichia pastoris*[J]. *Biotechnol Prog*, 2009, 25(6):1810-1818. DOI:10.1002/btpr.208.
- [24] Vuorela A, Myllyharju J, Pihlajaniemi T, et al. Coexpression with collagen markedly increases the half-life of the recombinant human prolyl 4-hydroxylase tetramer in the yeast *Pichia pastoris* [J]. *Matrix Biol*, 1999, 18(5): 519-522. DOI: 10.1016/s0945-053x(99)00040-2.
- [25] 刘斌. 巴氏毕赤酵母基因工程菌高密度发酵表达重组人源胶原蛋白[D]. 南京:南京理工大学, 2012.
- [26] 李伟娜,尚子方,段志广,等. 毕赤酵母高密度发酵产 III 型类人胶原蛋白及其胃粘膜修复功能[J]. *生物工程学报*, 2017, 33(4): 672-682. DOI:10.13345/j.cjb.160381.
- [27] 刘彤,郑兴锋,李海航,等. 重组人 III 型胶原蛋白水凝胶对猪全层皮肤缺损创面修复的影响[J/CD]. *中华损伤与修复杂志:电子版*, 2019, 14(2):97-102. DOI:10.3877/cma.j.issn.1673-9450.2019.02.004.
- [28] 刘彤. 重组人胶原蛋白水凝胶和人工真皮分别作为微粒皮移植覆盖物修复全层皮肤缺损的实验研究[D]. 上海:海军军医

大学,2019.

[29] Ben C, Liu X, Shen T, et al. A recombinant human collagen hydrogel for the treatment of partial-thickness burns: a prospective, self-controlled clinical study[J]. Burns, 2021, 47(3): 634-642. DOI:10.1016/j.burns.2020.01.006.

[30] Woodley DT, Keene DR, Atha T, et al. Injection of recombinant human type VII collagen restores collagen function in dystrophic epidermolysis bullosa[J]. Nat Med, 2004, 10(7): 693-695. DOI: 10.1038/nm1063.

[31] Fichard A, Tillet E, Delacoux F, et al. Human recombinant alpha1(V) collagen chain. Homotrimeric assembly and subsequent processing[J]. J Biol Chem, 1997, 272(48): 30083-30087. DOI: 10.1074/jbc.272.48.30083.

[32] Hou Y, Guey LT, Wu T, et al. Intravenously administered recombinant human type VII collagen derived from Chinese hamster ovary cells reverses the disease phenotype in recessive dystrophic epidermolysis bullosa mice[J]. J Invest Dermatol, 2015, 135(12):3060-3067. DOI:10.1038/jid.2015.291.

[33] Tomita M, Munetsuna H, Sato T, et al. Transgenic silkworms produce recombinant human type III procollagen in cocoons[J]. Nat Biotechnol, 2003, 21(1):52-56. DOI:10.1038/nbt771.

[34] Qi Q, Yao L, Liang Z, et al. Production of human type II collagen using an efficient baculovirus-silkworm multigene expression system[J]. Mol Genet Genomics, 2016, 291(6): 2189-2198. DOI: 10.1007/s00438-016-1251-7.

[35] Merle C, Perret S, Lacour T, et al. Hydroxylated human homotrimeric collagen I in Agrobacterium tumefaciens-mediated transient expression and in transgenic tobacco plant[J]. FEBS Lett, 2002, 515(1/2/3): 114-118. DOI: 10.1016/s0014-5793(02)02452-3.

[36] Xu X, Gan Q, Clough RC, et al. Hydroxylation of recombinant human collagen type I alpha 1 in transgenic maize co-expressed with a recombinant human prolyl 4-hydroxylase[J]. BMC Biotechnol, 2011, 11:69. DOI:10.1186/1472-6750-11-69.

[37] Li J, Zhang YP, Kirsner RS. Angiogenesis in wound repair: angiogenic growth factors and the extracellular matrix[J]. Microsc Res Tech, 2003, 60(1):107-114. DOI:10.1002/jemt.10249.

[38] Shilo S, Roth S, Amzel T, et al. Cutaneous wound healing after treatment with plant-derived human recombinant collagen flowable gel[J]. Tissue Eng Part A, 2013, 19(13/14): 1519-1526. DOI:10.1089/ten.TEA.2012.0345.

[39] 连伟龙,连芬,焦天,等. 皮肤修复生物 3D 打印的研究进展与挑战[J]. 光电工程, 2021, 48(8): 4-21. DOI: 10.12086/oe. 2021. 210105.

[40] Lee V, Singh G, Trasatti JP, et al. Design and fabrication of human skin by three-dimensional bioprinting[J]. Tissue Eng Part C Methods, 2014, 20(6):473-484. DOI:10.1089/ten.TEC.2013.0335.

[41] Michael S, Sorg H, Peck CT, et al. Tissue engineered skin substitutes created by laser-assisted bioprinting form skin-like structures in the dorsal skin fold chamber in mice[J]. PLoS One, 2013, 8(3):e57741. DOI:10.1371/journal.pone.0057741.

[42] Chauhan T, Perales E, Xiao K, et al. The achromatic locus: effect of navigation direction in color space[J]. J Vis, 2014, 14(1):97. DOI: 10.1167/14.1.25.

(收稿日期:2021-11-23)

广告目次

深圳市源兴医药股份有限公司	封二
南海朗肽制药有限公司	对中文目次 1
江西省科星生物工程有限公司	对中文目次 2
上海腾瑞制药股份有限公司	对英文目次 1
保赫曼(上海)贸易有限公司	对英文目次 2
浙江医学科技开发有限公司	插页 1
苏州汇涵医用科技发展有限公司	插页 2
苏州爱得科技发展股份有限公司	对正文
珠海亿胜生物制药有限公司	封三
武汉维斯第医用科技股份有限公司	封底