

·综述·

天然生物材料促进创面修复的研究进展

高仪轩¹ 王凌峰² 巴特¹ 邹晓防³ 曹胜军¹ 李俊亮² 李芳² 周彪¹¹内蒙古包头医院烧伤外科, 包头 014010; ²内蒙古烧伤医学研究所, 包头 014010;³空军军医大学空军特色医学中心烧伤整形外科, 北京 100142

高仪轩现在空军军医大学空军特色医学中心烧伤整形外科, 北京 100142

通信作者: 王凌峰, Email: wlf7413@vip.sina.com; 邹晓防, Email: zoubai185@163.com

【摘要】 急慢性创面严重威胁患者的生命健康和生生活质量, 因此创面修复是近年来国内外学者研究的热点问题。随着材料学与组织工程的发展, 越来越多由天然成分制备的生物材料被用于创面修复的基础研究和临床治疗, 此类材料可作为创面组织再生的模板, 诱导自体细胞黏附、迁移, 促进细胞外基质沉积, 具有广阔的临床应用前景。该文对创面修复领域中目前研究热门的天然生物材料的特点及其应用进展作一综述, 旨在为新型创面敷料及组织工程皮肤研发提供思路。

【关键词】 生物相容性材料; 纤维素; 壳聚糖; 丝素蛋白; 创面修复; 脱细胞真皮基质; 脱细胞羊膜

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(82060348); 内蒙古自治区自然科学基金(2020MS08022); 内蒙古自治区科技计划(2020GG0214); 内蒙古自治区科技创新引导项目(CXYD2020BT03); 包头市卫生健康委科技计划(wsjkwkj048); 空军特色医学中心面上项目(2021LC020)

Research advances of natural biomaterials in promoting wound repair

Gao Yixuan¹, Wang Lingfeng², Ba Te¹, Zou Xiaofang³, Cao Shengjun¹, Li Junliang², Li Fang², Zhou Biao¹¹Department of Burns, Inner Mongolia Baotou Steel Hospital, Baotou 014010, China; ²Burn Medical Institute of Inner Mongolia, Baotou 014010, China; ³Department of Burns and Plastic Surgery, Air Force Specialty Medical Center, Air Force Medical University, Beijing 100142, China

Gao Yixuan is now in the Department of Burn and Plastic Surgery, Air Force Specialty Medical Center, Air Force Medical University, Beijing 100142, China

Corresponding authors: Wang Lingfeng, Email: wlf7413@vip.sina.com; Zou Xiaofang, Email: zoubai185@163.com

【Abstract】 Acute and chronic wounds seriously threaten patients' life health and quality of life, therefore,

wound repair has become a hot topic of research for scholars at home and abroad in recent years. With the development of material science and tissue engineering, more and more biomaterials prepared from natural ingredients were used in basic research and clinical treatment of wound repair. Such biomaterials can be used as templates for wound tissue regeneration to induce autologous cell adhesion and migration, and promote the deposition of extracellular matrix, which have broad clinical application prospects. This paper reviews the characteristics and application advance of natural biomaterials which are popular in the field of wound repair, aiming to provide ideas for the research and development of new wound dressing and tissue engineering skin.

【Key words】 Biocompatible materials; Cellulose; Chitosan; Silk fibroin; Wound repair; Acellular dermal matrix; Acellular amniotic membrane

Fund program: General program of National Natural Science Foundation of China (82060348); Natural Science Foundation of Inner Mongolia Autonomous Region (2020MS08022); Science and Technology Program of Inner Mongolia Autonomous Region (2020GG0214); Science and Technology Innovation Guide Project of Inner Mongolia Autonomous Region (CXYD2020BT03); Science and Technology Plan of Baotou Health Commission (wsjkwkj048); General Program of Air Force Specialty Medical Center (2021LC020)

成人皮肤约占人体体重的7%, 面积约2 m², 皮肤的功能包括抵御病原体、调节体温、产生感觉、合成维生素D等。烧创伤、压力性损伤、放射性损伤等物理化学因素及糖尿病溃疡、皮肤恶性肿瘤等病理因素出现时, 皮肤的完整性和连续性中断, 形成各类创面。由于皮肤是外部环境和体内器官之间的解剖屏障, 形成创面后会导致感染、局部功能障碍

DOI: 10.3760/cma.j.cn501225-20220630-00276

本文引用格式: 高仪轩, 王凌峰, 巴特, 等. 天然生物材料促进创面修复的研究进展[J]. 中华烧伤与创面修复杂志, 2023, 39(5): 481-486. DOI: 10.3760/cma.j.cn501225-20220630-00276.

Gao YX, Wang LF, Ba T, et al. Research advances of natural biomaterials in promoting wound repair[J]. Chin J Burns Wounds, 2023, 39(5): 481-486. DOI: 10.3760/cma.j.cn501225-20220630-00276.



和瘢痕形成,最终影响患者生活质量。随着慢性病的患病率升高和人口老龄化加剧,糖尿病溃疡、压力性损伤等慢性创面逐年增多,加之烧创伤所形成创面,使得创面修复迅速成为医工交叉领域关注的热点问题^[1]。10 余年来,组织工程学、材料科学、纳米科学迅速发展,多种天然生物材料已被用于创面修复的基础研究和临床治疗。不同种类天然生物材料在机械性能、化学性质和生物学特性等方面存在较大差异,如何发挥不同生物材料的优点来研制出符合临床要求的支架材料或生物敷料成了研究的关键。因此,本文对近年来创面修复领域研究热门的天然生物材料的特点与当前应用情况作一综述,并对天然生物材料的发展进行展望。

1 天然生物材料的要求

不同用途的天然生物材料具有不同的物理、化学、生物学特性。其中,生物相容性、力学性能、可降解性或耐老化性、功能性等对于评价生物材料的优劣至关重要。生物相容性要求材料不引起溶血、炎症、免疫排斥等不良反应,并且材料本身不携带有毒有害物质、无病原菌,植入后不引起宿主细胞坏死、凋亡或生物功能紊乱^[2];用于创面的生物材料应具有较好的延展性、耐磨性、柔韧性等力学性能;不同于骨科材料对耐腐蚀、耐老化的极致追求,创面修复材料应具有较好的可降解性来充当 ECM 合成的模板、细胞增殖迁移的“脚手架”,逐步被自体组织所替代,因过长的降解时间会形成占位,影响创面愈合;同时,创面修复材料应具有抗感染、促愈合等功能,并且应易于生产和加工,价格适中。

2 常见创面修复天然生物材料概述

2.1 脱细胞材料

脱细胞材料是通过物理、化学、生物等方法将同种或异种组织内细胞和部分抗原成分去除,仅保留原组织的形态和结构的天然材料,极大降低了免疫原性,是目前天然生物材料研究的热点。脱细胞材料保留了 ECM 中的胶原蛋白、多种生长因子、弹性蛋白、糖胺聚糖等复杂生物活性成分,并具有良好的孔隙率,这是其他生物材料无法比拟的。目前制备脱细胞材料的方法有很多,其中物理方法主要为冻融循环,即将待处理组织置于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱内冷冻,再将其放入到 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的环境中解冻,反复此过程,使细胞内部形成冰晶,从而破坏细胞膜,达到脱细胞的目的^[3]。冻融循环的优点为制备过程中不引入细胞毒性物质;同时,相较于别的方法,冻融循环对 ECM 中的蛋白质破坏较小,可以最大程度保留原有组织的结构和组分。然而,冻融循环制备脱细胞材料的效率较低,且细胞成分不能完全从 ECM 内部去除,导致制成的脱细胞材料存在一定的免疫原性,不利于实际临床应用^[4]。化学方法包括使用适宜浓度的离子洗涤剂(如十二烷基硫酸钠)、非离子洗涤剂(如聚乙二醇辛基苯基醚)浸泡真皮皮片,高效去除组织内的细胞成分,该方法对 ECM 的完整性破坏较小。化学方法制备脱细胞材料的不足

在于洗涤剂会残留在材料内部而难以洗脱,从而产生了一定的细胞毒性、降低了生物相容性^[5]。生物方法主要为胰酶、核酸酶消化法,胰酶可选择性裂解精氨酸或赖氨酸的羧基侧的细胞黏附蛋白,使细胞与 ECM 分离;核酸酶可去除 ADM 中残留的核酸物质,此方法的优势在于特异性高、脱细胞效率高,不足在于消化时间($>24\text{ h}$)过长,破坏了 ECM 成分^[6]。通常会选择几种方法联合脱细胞,以期尽量将组织内细胞去除干净,同时保留尽可能完整的 ECM,并且不残留新的杂质^[7]。目前尚无完美的脱细胞材料制备方案,因此如何实现无毒、高效地制备 ADM 是该领域未来研究的目标之一。

一般情况下,脱细胞材料制备好之后要对其进行灭菌,以去除材料表面及内部残留的病原微生物,通常可使用环氧乙烷、过氧乙酸,以及 γ 射线辐照、电子束辐照、超临界二氧化碳萃取等方法进行灭菌^[8]。环氧乙烷可与病原体内蛋白、DNA、RNA 等成分发生烷基化反应,导致上述分子变性,具有低温灭菌、穿透性高和与灭菌效果好等优点。然而,环氧乙烷易燃易爆,且是一类致癌物,具有较强的毒性,这限制了其应用^[9]。 γ 射线辐照灭菌同样具有低温灭菌、穿透性高和灭菌效果好等优点,其不足在于高能 γ 射线辐照会导致生物材料发生交联或降解等多种变化。一项研究显示,高剂量的 γ 射线辐照($>50\text{ kGy}$)可导致脱细胞羊膜(AAM)内生长因子含量下降^[10]。另一项研究对比了环氧乙烷和 γ 射线辐照对猪心包脱细胞材料的灭菌效果,结果显示经 2 种方法灭菌的材料在细胞毒性、克隆存活率、致突变性方面无显著差别,而环氧乙烷灭菌后的材料出现了潜在的遗传毒性,故该团队认为 γ 射线辐照是更优的灭菌方法^[9]。超临界二氧化碳萃取也是一种低温灭菌技术,具有无毒、对生物材料成分和结构损伤少、免疫原性低的特点,然而该方法的应用仅有 10 余年历史,今后仍需验证其具体原理、用法、安全性和有效性。以下重点介绍 ADM 和 AAM 在创面修复中的研究和应用。

2.1.1 ADM 早在 1995 年,同种异体 ADM(AlloDerm[®])便已应用于烧伤创面治疗中,后来通过组织学和电子显微镜观察证实了 AlloDerm 可诱导宿主细胞迁入和血管新生,并且不引起特异性免疫反应^[11]。AlloDerm 中的表皮层和真皮层细胞被去除,仅保留真皮中胶原蛋白等关键的 ECM 成分,以保持原有的 ECM 三维空间结构支持 Fb、肌 Fb、淋巴细胞、巨噬细胞、粒细胞、肥大细胞等宿主细胞迁入,机体的炎症细胞浸润后 ECM 发生重塑,合成胶原蛋白和弹性蛋白并开始重建血运。然而,由于同种异体 ADM 来自人类皮肤,因此不可避免地存在伦理学问题,大多数欧洲国家都对此类 ADM 施加了严格的限制。我国异体皮源较为紧缺,同种异体 ADM 价格高昂,因此异种 ADM 应用更为普及。异种 ADM 取自猪、羊、牛等常见畜牧类动物,成本低廉,易于获得,且与同种 ADM 的空间结构、化学成分近似,具有更为广阔的临床应用前景。ADM 既可以作为生物敷料用于大面积烧伤早期切削痂、自体微粒皮移植等手术后的暂时表面

覆盖,也可作为真皮替代物修复深度创面。ADM可促进创面愈合,减轻远期瘢痕形成,改善愈后外观和功能,但存在创面感染的风险,且费用较高。Guo等^[12]的研究显示,早期磨痂清创联合猪ADM治疗患者烧伤创面,相较于早期磨痂清创联合纳米银敷料可促进创面愈合(愈合时间约6d)、缩短住院时间(约8d),并且在伤后3个月的随访中,皮肤韧性、血管化程度、瘢痕厚度都更好。在慢性创面治疗方面,由于下肢(尤其是足部和脚踝)皮肤和组织非常薄,一旦形成创面便较难愈合。一项研究显示,联合使用逆行腓肠肌筋膜瓣、VSD和ADM治疗下肢创面,待血管化后再移植自体刃厚皮封闭,创面的平均愈合时间为104.5d,远短于仅使用逆行腓肠肌筋膜瓣联合自体刃厚皮移植修复创面的141.2d^[13]。

2.1.2 AAM 羊膜是包裹胎儿的一层厚0.02~0.50mm的无色透明薄膜,其结构可分为5层:上层、基底膜、致密层、纤维母细胞层和海绵层。羊膜基底膜层含有大量的胶原蛋白、层粘连蛋白、生长因子等成分,因此具有潜在的临床应用价值^[14]。羊膜首次被用作创面敷料可追溯到20世纪初,研究者率先将其应用于皮肤移植中,随后羊膜被应用于结膜/角膜移植、硬脑膜重建、慢性创面等疾病的治疗^[15]。虽然羊膜组织较少引起免疫反应,但是脱细胞化可去除羊膜上的细胞和细胞碎片,同时保持ECM的完整性,有助于消除羊膜潜在的免疫原性。

目前,AAM已被用于创面愈合的基础研究和临床治疗中。一项研究将同种异体Fb与AAM混合培养并移植到大鼠全层皮肤缺损创面(AAM+F组)上,相比仅移植Fb或AAM,以及不作任何处理的空白对照,AAM+F组的创面愈合率更高、愈合表皮更厚、新生肉芽组织胶原排列更有条理^[16]。Xue等^[17]使用人AAM(HAAM)对180例患者进行了人鼻下1/3全层皮肤缺损的修复,其中92例患者接受了HAAM和凡士林纱布治疗,其余88例患者仅接受凡士林纱布治疗。结果显示,HAAM植入创面后,患者止血、疼痛时间均较单纯使用凡士林纱布缩短,术后结痂的形成和脱落明显加快。也有研究显示,将AAM与透明质酸水凝胶、壳聚糖水凝胶等结合可共同促进兔创面组织再生^[18]。然而,AAM的制备和应用也存在诸多困难和挑战,如部分AAM仍存在免疫原性,可能诱发炎症和免疫排斥反应,因此也需进一步改良脱细胞方案。

2.1.3 其他组织来源的脱细胞材料 小肠黏膜下层结构是一种天然ECM材料,具备良好的机械特性、生物相容性和低免疫原性,呈淡白色,其主要成分为I、III、IV、VII型胶原蛋白以及多种纤维粘连蛋白和生长因子^[19]。通常使用猪和羊的小肠制备脱细胞小肠黏膜下层(DSIS),DSIS经脱细胞处理后保留了纤维粘连蛋白、糖胺聚糖、生长因子等生物活性成分,这些成分在细胞黏附、信号传递和血管新生中可发挥重要作用。DSIS还具有一定的抗菌性,其降解产生的抗菌肽能抑制细菌生长,且DSIS植入人体内后引起的感染和并发症更少^[20]。DSIS在体内的降解速率与植入部位有

关,随着植入时间延长,材料血管化水平提高,自体细胞逐渐迁入,DSIS降解速率也逐渐增快。而通过碳二亚胺、原花青素等交联剂进一步处理后,DSIS的物理化学性质和生物相容性可以得到进一步改善^[21]。目前,猪DSIS已被应用于创面修复的临床治疗,臧成五等^[22]使用DSIS修复了36例患者的手部软组织缺损创面,结果显示创面均完全愈合,且外观、质地及感觉均恢复良好,无明显瘢痕增生。该研究证实,DSIS是一种手部小面积浅表软组织缺损的理想修复材料。烧伤及整形外科手术中常产生大量废弃脂肪组织,将其进行脱细胞可制得脱细胞脂肪组织(DAT)。DAT可诱导脂肪间充质干细胞(ADSC)增殖、分化、黏附,维持ADSC干性,促进其分泌VEGF、碱性FGF、EGF、血小板衍生生长因子BB等生长因子;并且在大鼠全层皮肤缺损模型中,可促进肉芽组织形成和血管化,加速创面愈合^[23]。目前DAT有水凝胶、粉末、微载体等多种剂型,其中DAT水凝胶具有良好的生物相容性,但单纯DAT水凝胶力学性能欠佳,因而需要与其他生物材料复合来增强其机械强度以满足创面修复需要^[24]。膀胱脱细胞基质(UBM)不但可用于膀胱修补,也可用于体表皮肤缺损的修复。相比于ADM,UBM具有抗炎、促愈合、增强创面血管化等功能,并且降解速率更快,与创面愈合过程更匹配。一项前瞻性临床研究显示,经UBM移植治疗的7例患者无法直接缝合的皮瓣供区创面以及1例患者因肌腱外露导致植皮失败的创面,在治疗3~4周时发生了肉芽化,在5~8周时发生了肉芽的上皮化,最终,8例患者的创面全部封闭且外观良好^[25]。脱细胞腹膜是脱细胞材料研究的另一个新方向。哈萨克斯坦学者选取牛的壁层腹膜作为原料制备了一款牛脱细胞腹膜材料,并开展了牛脱细胞腹膜治疗大面积浅II度烧伤的多中心随机对照试验。与碘伏纱布换药(37例患者)相比,使用牛脱细胞腹膜换药(31例患者)可降低患者的疼痛程度、减少换药次数以及体液丢失,并且成本低廉,有望在发展中国家进一步推广。但该研究还显示,牛脱细胞腹膜没有缩短创面愈合时间,且覆盖创面2~3d后便干燥变硬,这限制了其在面部和生理褶皱处的应用,未来还需进一步深入研究其改性方案和临床应用范围^[26]。

2.2 天然多糖类生物材料

多糖类物质是一类易于获得、储量丰富的天然高分子生物材料。多糖类生物材料具有良好的生物相容性和可降解性,其降解产物对人体无害,因此被广泛用于制备创面敷料和皮肤组织工程支架。目前基于海藻酸盐、壳聚糖、透明质酸等的生物敷料已经被应用于临床治疗中。

2.2.1 细菌纤维素 纤维素是一种自然界分布最广泛、含量最丰富的线性大分子多糖,地球上的纤维素年产量约为1.5亿吨,广泛存在于大多数植物的细胞壁中,可从树木、竹子、棉花、麦秸等中大量提取。纤维素的分子式为 $(C_6H_{10}O_5)_n$,由 β -D-吡喃葡萄糖单元通过 β -1,4糖苷键连接组成^[27]。此外,多种细菌,如葡糖醋杆菌属、八叠球菌属、固氮菌属、无色杆菌属、产气杆菌属、沙门菌属、根瘤菌属、假

单胞菌属和产碱杆菌属的革兰阴性菌等也可合成纤维素^[28]。好氧革兰阴性菌木醋杆菌的纤维素产量高,被认为是商业发酵生产细菌纤维素的模式生物,这种细菌发酵的反应条件为pH值3~7,温度25~30℃,以葡萄糖、果糖、麦芽糖醇、三氯蔗糖、乳糖等糖类为碳源,在静态、摇晃或搅拌条件下可分别形成不同形态的细菌纤维素,大多数商用的纤维素都是通过搅拌发酵产生的^[29]。而细菌纤维素相比植物纤维素纯度更高,具有良好的生物相容性、机械性能、保水能力,且易于生产,被认为是更优的纤维素来源,在食品工业、生物医学、纳米复合材料学等领域都有广泛的应用^[30]。细菌纤维素的结构与胶原蛋白相似,直径为10~50 nm,长度为100~1 000 nm,美国食品药品监督管理局(FDA)已批准将细菌纤维素用作创面敷料。Biofill®是市面上第1款用作临时皮肤替代品的细菌纤维素敷料,其含水量约为8.5%,可紧密黏附在创面床上,且易于去除,减轻了患者的疼痛;不足是弹性较差。该敷料现已被用于治疗皮肤癌、重度烧伤、慢性创面等疾病中^[31]。与其他生物材料类似,细菌纤维素材料上同样可以负载环丙沙星、头孢曲松、盐酸四环素、阿莫西林等抗生素,或银、氧化锌、氧化铜和二氧化钛等无机抗菌物,或溶菌酶、乳链菌肽、大蒜素、姜黄素等有机抗菌物,以增强材料的抗菌性能。同样,可将间充质干细胞(MSC)接种至细菌纤维素支架上治疗创面。Silva等^[32]将兔骨髓MSC(BM-MSC)接种至细菌纤维素上,于扫描电子显微镜下观察到BM-MSC可完全整合到细菌纤维素中,并且该细菌纤维素支架对BM-MSC无细胞毒性。除干细胞外,也有研究者将人KC和Fb接种到细菌纤维素/丙烯酸水凝胶上用以治疗小鼠全层皮肤缺损创面,结果显示该支架促进了创面愈合进程^[33]。综上所述,细菌纤维素是极富前景的生物材料,现在面临的难题在于改良工艺、寻找新的碳源以降低生产成本。

2.2.2 壳聚糖 壳聚糖是另一种自然界广泛存在的高分子多糖聚合物,其在自然界的含量仅次于纤维素。壳聚糖是几丁质(甲壳素)经过脱乙酰化后形成的葡萄糖胺和N-乙酰葡萄糖胺通过 β -1,4糖苷键相连接而成的线性多糖,与软骨基质糖胺多糖的分子结构类似,降解后形成氨基葡萄糖单体,对人体无毒性且不会造成不良反应^[34]。壳聚糖还具有以下优点:(1)抗菌活性;(2)止血和止痛功能;(3)抑制瘢痕功能;(4)良好的亲水性和吸水性;(5)加速创面愈合;(6)诱导凋亡,阻断肿瘤细胞增殖;(7)免疫调节;(8)抗氧化作用^[35]。壳聚糖可参与创面愈合的多个过程,包括中性粒细胞活化、巨噬细胞迁移、某些细胞因子分泌、Fb活化、胶原合成等,如,壳聚糖可激活血小板加速创面凝血,还可上调愈合过程中IL-8的分泌,进而促进血管内皮细胞和Fb的迁移和增殖,也可促进再上皮化和Ⅲ型胶原蛋白沉积等^[36]。多种负载生长因子的壳聚糖支架被用于皮肤创面愈合研究。Jin等^[37]设计了一种明胶/透明质酸/羧甲基壳聚糖复合材料,并负载了FGF-7,研究结果表明该复合材料48 h内可持续释放FGF-7,且释放的FGF-7可促进大鼠全层皮

肤缺损创面愈合。此外,壳聚糖及其衍生物也可制成止血材料。一项基于2003—2014年在伊拉克和阿富汗战争中的回顾性研究显示,在3 792例战伤患者中有317例使用了基于壳聚糖开发的止血敷料Celox®、Hemcon®或Quickclot®中的1种,且观察到Celox®的是唯一一种使用后显著改善生存率的止血敷料^[38]。

2.2.3 丝素蛋白 我国具有悠久的种桑养蚕历史,因此如何利用丝素蛋白制备创面敷料和组织工程支架备受国内学者关注。蚕丝由丝胶蛋白及其内部的2根丝素蛋白组成,虽然丝胶蛋白也有较好的生物相容性,但丝胶蛋白和丝素蛋白同时存在时会诱发炎症,故需使用碱或酶从蚕丝中脱胶分离得到丝素蛋白^[39]。研究显示,丝素蛋白引起的宿主免疫反应水平与胶原蛋白相似,完全脱胶的丝素蛋白植入大鼠皮下1年后仅表现出轻微的炎症反应^[40]。丝素蛋白已获得美国FDA批准并被用于生物医学中,且一些基于丝素蛋白的产品已经在市场上使用。丝素蛋白在体外和体内均可降解,降解速率取决于丝素蛋白来源、材料结构、提取方法、环境等条件, β -折叠含量高、孔隙率高、用水作为溶剂制备的丝素蛋白在体内的降解时间均较短。Zhang等^[41]通过冷冻干燥技术制备了孔径范围50~300 μm 的丝素蛋白纤维,结果显示当该材料的孔径为100~300 μm 时可增强种子细胞的生长、分化和ECM产生。

丝素蛋白复合材料的制备方法有干法纺丝法、冷冻干燥法、电纺丝法、三维打印等。其中,干法纺丝法简单高效,制备的丝素蛋白力学性能优良;冷冻干燥法操作简单,无须昂贵设备便可得到高孔隙率的材料;电纺丝法可制备高孔隙率、均质的纳米级丝素蛋白纤维,是一种成熟廉价的技术手段;而三维打印可精确制备复杂形状的支架,并可控制内部微结构,是一种新兴的制备工艺。丝素蛋白可被制成水凝胶、海绵、薄膜、粉末、纳米纤维等多种形态,以满足皮肤组织工程的不同需求。同样,有大量的功能性丝素蛋白材料被开发出来,例如负载EGF、神经降压素、维生素、姜黄素、环丙沙星等药物的丝素蛋白赋予了其更多功能性;也有将丝素蛋白与ADM、AAM、细菌纤维素、胶原蛋白、透明质酸等材料混合,制备出生物相容性、机械性能更好的材料。Bhar等^[42]将芦荟提取物与丝素蛋白结合,并将聚乙烯吡咯烷作为稳定剂,制成复合材料,该材料可促进细胞增殖和迁移、ECM沉积和重塑,并可在创面愈合早期下调炎症介质IL-1 β 、TNF- α 的表达,上调抗炎介质IL-10、TGF- β 的表达。Wang等^[43]制备了一种外层为丝素蛋白薄膜、内层为丝素蛋白/海藻酸钠的复合材料,以模仿正常皮肤的层次结构。扫描电子显微镜分析显示,该材料外层厚度约为25 μm ,内层厚度约为150 μm ,二者黏附紧密。该材料具有适度的吸水能力,在体外稳定性也较好,抗拉强度为(59.81 \pm 5.98)kPa,远高于单层结构。该材料的内层丝素蛋白/海藻酸钠复合材料有利于人血管内皮细胞的生长和增殖。SD大鼠创面实验结果表明,该双层材料可加速创面闭合、减轻炎症反应,并促进ECM合成和血管新生。

3 总结与展望

综上所述,随着 10 余年来生物学、材料学、纳米科学的迅速发展,已经有多种天然生物材料被成功用于创面的临床治疗和科学研究中,并取得了令人鼓舞的成果。然而,在这些天然生物材料能够获得广泛商业化应用之前,仍有许多挑战。首先,生物材料需考虑其生物相容性、细胞毒性,这要求制得的产品不引起体内炎症反应和免疫排斥反应,并且制造过程中引入的毒性物质易于去除。未来还需更多研究对某些材料进行改性以提升其性能。其次,生物材料应具有适宜的孔径、降解时间、机械强度等,应符合正常皮肤的生理结构以及创面愈合的病理生理过程,避免生物材料在创面中过早或延期降解,而对创面护理或手术时机造成影响。另外,未来还需更多研究将不同种类的材料混合制成复合材料,或是制成不对称的双层膜结构,以模拟正常皮肤的表皮-真皮功能。最后,在生物材料上负载功能性物质,如各种抗菌物质、生长因子等已成为研究的主流,但如何在制造过程中保持这些功能性物质的活性,以及如何实现功能性物质在创面缓释还需进一步研究。尽管存在上述问题和挑战,相信在医学研究者、材料学家以及医药公司的通力合作下,更为理想的生物材料将在不久的将来被广泛用于临床治疗,助力创面的完美修复。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 高仪轩,王凌峰,巴特,等.胸腺素 $\beta 4$ 促进创面愈合的研究进展[J].中华烧伤与创面修复杂志,2022,38(4):378-384. DOI: 10.3760/cma.j.cn501120-20210221-00059.
- [2] 沈鑫,刘雪,宿烽,等.完全可降解聚乳酸及其共聚物的生物相容性:研究、应用与未来[J].中国组织工程研究,2018,22(14):2259-2264. DOI: 10.3969/j.issn.2095-4344.0734.
- [3] 曹胜军,王凌峰,巴特,等.异体小鼠脂肪源性间充质干细胞-微孔化羊脱细胞真皮基质对小鼠全层皮肤缺损创面愈合的影响及相关机制[J].中华烧伤杂志,2018,34(12):901-906. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2018.12.015.
- [4] 陈晓旭,罗雅馨,毕浩然,等.脱细胞支架制备及其在组织工程和再生医学中的应用[J].中国组织工程研究,2022,26(4):591-596.
- [5] Łabuś W, Kitala D, Klama-Baryła A, et al. A new approach to the production of a biovital skin graft based on human acellular dermal matrix produced in-house, in vitro revitalized internally by human fibroblasts and keratinocytes on the surface[J]. J Biomed Mater Res B Appl Biomater, 2020, 108(4): 1281-1294. DOI: 10.1002/jbm.b.34476.
- [6] 周彪,王凌峰,张军,等.异种羊脱细胞真皮基质与自体微粒皮复合移植后创面愈合及 COX-2、VEGF 的表达研究[J/CD].中华损伤与修复杂志:电子版,2009,4(3):257-269. DOI: 10.3969/j.issn.1673-9450.2009.03.003.
- [7] Grandis RA, Miotto LN, Genaro LE, et al. In vitro evaluation of acellular collagen matrices derived from porcine pericardium: influence of the sterilization method on its biological properties[J]. Materials (Basel), 2021, 14(21): 6255. DOI: 10.3390/ma14216255.
- [8] França R, Mbhe DA, Samani TD, et al. The effect of ethylene oxide sterilization on the surface chemistry and in vitro cytotoxicity of several kinds of chitosan[J]. J Biomed Mater Res B Appl Biomater, 2013, 101(8): 1444-1455. DOI: 10.1002/jbm.b.32964.
- [9] Paolin A, Trojan D, Leonardi A, et al. Cytokine expression and ultrastructural alterations in fresh-frozen, freeze-dried and γ -irradiated human amniotic membranes[J]. Cell Tissue Bank, 2016, 17(3): 399-406. DOI: 10.1007/s10561-016-9553-x.
- [10] Dragúňová J, Kabát P, Babál P, et al. Development of a new method for the preparation of an acellular allodermis, quality control and cytotoxicity testing[J]. Cell Tissue Bank, 2017,18(2):153-166. DOI: 10.1007/s10561-017-9625-6.
- [11] Boháč M, Danišovič L, Koller J, et al. What happens to an acellular dermal matrix after implantation in the human body? A histological and electron microscopic study[J]. Eur J Histochem, 2018, 62(1): 2873. DOI: 10.4081/ejh. 2018. 2873.
- [12] Guo X, Mu D, Gao F. Efficacy and safety of acellular dermal matrix in diabetic foot ulcer treatment: a systematic review and meta-analysis[J]. Int J Surg, 2017, 40: 1-7. DOI: 10.1016/j.ijssu.2017.02.008.
- [13] Pontell ME, Saad N, Winters BS, et al. Reverse sural adipofascial flaps with acellular dermal matrix and negative-pressure wound therapy[J]. Adv Skin Wound Care, 2018,31(1):612-617. DOI: 10.1097/01.ASW.0000527290.81581.af.
- [14] Roy R, Haase T, Ma N, et al. Decellularized amniotic membrane attenuates postinfarct left ventricular remodeling[J]. J Surg Res, 2016, 200(2): 409-419. DOI: 10.1016/j.jss.2015.08.022.
- [15] Marton E, Giordan E, Gallinaro P, et al. Homologous amniotic membrane as a dural substitute in decompressive craniectomies[J]. J Clin Neurosci, 2021, 89: 412-421. DOI: 10.1016/j.jocn.2021.05.030.
- [16] Mahmoudi Rad M, Talebpour Amiri F, Mirhoseini M, et al. Application of allogeneic fibroblast cultured on acellular amniotic membrane for full-thickness wound healing in rats[J]. Wounds, 2016,28(1):14-19.
- [17] Xue SL, Liu K, Parolini O, et al. Human acellular amniotic membrane implantation for lower third nasal reconstruction: a promising therapy to promote wound healing[J/OL]. Burns Trauma, 2018, 6: 34[2022-06-30]. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30574512/. DOI: 10.1186/s41038-018-0136-x.
- [18] Ramakrishnan R, Harikrishnan VS, Anil A, et al. Extracellular matrix-based combination scaffold for guided regeneration of large-area full-thickness rabbit burn wounds upon a single application[J]. J Biomed Mater Res B Appl Biomater, 2022, 110(4): 848-861. DOI: 10.1002/jbm.b.34965.
- [19] 杨凯,张育敏,张乃丽,等.小肠黏膜下层在组织修复重建中的应用研究进展[J].中国修复重建外科杂志,2013,27(9):1138-1143. DOI: 10.7507/1002-1892.20130248.
- [20] Sarikaya A, Record R, Wu CC, et al. Antimicrobial activity associated with extracellular matrices[J]. Tissue Eng, 2002, 8(1):63-71. DOI: 10.1089/107632702753503063.
- [21] 邓艺,张一,李博文,等.不同交联剂处理对脱细胞小肠黏膜下层多孔支架的影响[J].北京大学学报(医学版),2022,54(3):557-564. DOI: 10.19723/j.issn.1671-167X.2022.03.024.
- [22] 臧成五,张凡亮,杨诚,等.猪小肠黏膜下层脱细胞修复补片

- 修复手部软组织缺损的效果分析[J]. 中华显微外科杂志, 2020,43(2):157-160. DOI: 10.3760/cma.j.cn441206-20191225-00389.
- [23] Xia Z, Guo X, Yu N, et al. The application of decellularized adipose tissue promotes wound healing[J]. *Tissue Eng Regen Med*, 2020,17(6):863-874. DOI: 10.1007/s13770-020-00286-0.
- [24] 郑洋洋, 刘毅, 郭镇. 脱细胞脂肪组织复合水凝胶在脂肪组织工程中的研究进展[J]. 中华整形外科杂志, 2021,37(10):1181-1185. DOI: 10.3760/cma.j.cn114453-20200323-00176.
- [25] Melville JC, Bennetts NA, Tijerina L, et al. The use of acellular urinary bladder matrix as coverage for fasciocutaneous free flap donor sites: an alternative to traditional grafting procedures[J]. *J Oral Maxillofac Surg*, 2017,75(10):2254-2260. DOI: 10.1016/j.joms.2017.03.011.
- [26] Tuleubayev B, Ogay V, Anapiya B, et al. Therapeutic treatment of 2A grade burns with decellularized bovine peritoneum as a Xenograft: multicenter randomized clinical trial[J]. *Medicina (Kaunas)*, 2022,58(6):819. DOI: 10.3390/medicina58060819.
- [27] Portela R, Leal CR, Almeida PL, et al. Bacterial cellulose: a versatile biopolymer for wound dressing applications[J]. *Microb Biotechnol*, 2019, 12(4): 586-610. DOI: 10.1111/1751-7915.13392.
- [28] 张卫佳, 刘盈. 细菌纤维素在创面修复中的研究与应用特性[J]. 中国组织工程研究, 2018,22(34):5565-5570. DOI: 10.3969/j.issn.2095-4344.0687.
- [29] Lahiri D, Nag M, Dutta B, et al. Bacterial cellulose: Production, characterization, and application as antimicrobial agent[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(23): 12984. DOI: 10.3390/ijms222312984.
- [30] Heise K, Kontturi E, Allahverdiyeva Y, et al. Nanocellulose: Recent fundamental advances and emerging biological and biomimicking applications[J]. *Adv Mater*, 2021, 33(3): e2004349. DOI: 10.1002/adma.202004349.
- [31] Gorgieva S, Trček J. Bacterial cellulose: production, modification and perspectives in biomedical applications [J]. *Nanomaterials (Basel)*, 2019,9(10):1352. DOI: 10.3390/nano9101352.
- [32] Silva MA, Leite Y, de Carvalho C, et al. Behavior and biocompatibility of rabbit bone marrow mesenchymal stem cells with bacterial cellulose membrane[J]. *PeerJ*, 2018,6:e4656. DOI: 10.7717/peerj.4656.
- [33] Loh E, Mohamad N, Fauzi MB, et al. Development of a bacterial cellulose-based hydrogel cell carrier containing keratinocytes and fibroblasts for full-thickness wound healing[J]. *Sci Rep*, 2018,8(1):2875. DOI: 10.1038/s41598-018-21174-7.
- [34] 于玛丽, 李丽梅, 郭家智, 等. 壳聚糖在组织工程的应用[J]. 中国高科技, 2019,(3):103-105. DOI: 10.13535/j.cnki.10-1507/n.2019.03.22.
- [35] Rezaei FS, Sharifianjazi F, Esmaeilkhanian A, et al. Chitosan films and scaffolds for regenerative medicine applications: a review[J]. *Carbohydr Polym*, 2021, 273: 118631. DOI: 10.1016/j.carbpol.2021.118631.
- [36] Riaz Rajoka MS, Zhao L, Mehwish HM, et al. Chitosan and its derivatives: synthesis, biotechnological applications, and future challenges[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2019, 103(4):1557-1571. DOI: 10.1007/s00253-018-9550-z.
- [37] Jin L, Yoon SJ, Lee DH, et al. Preparation of foam dressings based on gelatin, hyaluronic acid, and carboxymethyl chitosan containing fibroblast growth factor-7 for dermal regeneration[J]. *Polymers (Basel)*, 2021,13(19):3279. DOI: 10.3390/polym13193279.
- [38] Winstanley M, Smith JE, Wright C. Catastrophic haemorrhage in military major trauma patients: a retrospective database analysis of haemostatic agents used on the battlefield[J]. *J R Army Med Corps*, 2019, 165(6): 405-409. DOI: 10.1136/jramc-2018-001031.
- [39] Gholipourmalekabadi M, Sapru S, Samadikuchaksaraei A, et al. Silk fibroin for skin injury repair: where do things stand? [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2020, 153: 28-53. DOI: 10.1016/j.addr.2019.09.003.
- [40] Gholipourmalekabadi M, Mozafari M, Gholipourmalekabadi M, et al. In vitro and in vivo evaluations of three-dimensional hydroxyapatite/silk fibroin nanocomposite scaffolds[J]. *Biotechnol Appl Biochem*, 2015,62(4):441-450. DOI: 10.1002/bab.1285.
- [41] Zhang Y, Fan W, Ma Z, et al. The effects of pore architecture in silk fibroin scaffolds on the growth and differentiation of mesenchymal stem cells expressing BMP7[J]. *Acta Biomater*, 2010,6(8):3021-3028. DOI: 10.1016/j.actbio.2010.02.030.
- [42] Bhar B, Chakraborty B, Nandi SK, et al. Silk-based phyto-hydrogel formulation expedites key events of wound healing in full-thickness skin defect model[J]. *Int J Biol Macromol*, 2022,203:623-637. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2022.01.142.
- [43] Wang Y, Su L, Hou Y, et al. A biomimetic composite bilayer dressing composed of alginate and fibroin for enhancing full-thickness wound healing[J]. *Macromol Biosci*, 2022, 22(4):e2100352. DOI: 10.1002/mabi.202100352.

(收稿日期: 2022-06-30)