

天然高分子材料及其衍生物制备组织工程 真皮支架的研究进展

李冉 汪虹 冷崇燕 王宽 解英

Advances in the research of natural polymeric materials and their derivatives in the manufacture of scaffolds for dermal tissue engineering Li Ran, Wang Hong, Leng Chongyan, Wang Kuan, Xie Ying. Department of Burns, the Second Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Burn Institute of Yunnan Province, Kunming 650101, China
Corresponding author: Wang Hong, Email: 1953602234@qq.com

【Abstract】 Natural polymeric materials and their derivatives are organic macromolecular compounds which exist in plants, animals, and micro-organisms. They have been widely used in the preparation of scaffolds for skin tissue engineering recently because of their good histocompatibility and degradability, and low immunogenicity. With the improvement of the preparation technics, composite materials are more commonly used to make scaffolds for dermal tissue engineering. This article summarizes the classification and research status of the commonly used natural polymer materials, their derivatives, and composite scaffold materials, as well as makes a prospect of the research trends of dermal scaffold in the future.

【Key words】 Skin; Tissue engineering; Natural polymeric materials; Derivative; Dermal scaffold

Fund program: Health Science and Technology Project of Yunnan Province of China (2014NS065)

【关键词】 皮肤; 组织工程; 天然高分子材料; 衍生物; 真皮支架

基金项目: 云南省卫生科技计划(2014NS065)

理想的皮肤替代物一直是医学界研究的热点和需要解决的难题,组织工程技术的兴起和快速发展为皮肤缺损的修复提供了新思路。体外构建组织工程化皮肤的关键是种子细胞赖以生存的支架,其中天然高分子材料及其衍生物近年来被广泛用于制备支架。天然高分子材料及其衍生物是从生物体内提取或从自然环境中直接得到的一类生物大分子,抗原性较弱,不易引起免疫排斥反应,且可诱导、调节细胞的生长和分化,同时应用其制作的支架具备利于种子细胞增殖、迁移的三维立体结构及适合种子细胞大小的孔隙;另其来源丰富、造价低廉,在理化性能及生物降解性等方面也显著优于人工合成材料。因此,应用天然高分子材料及其衍生物制作组织工程真皮支架,具有深远的研究价值和广阔的

应用前景。



1 天然多糖类高分子材料及其衍生物

1.1 羧甲基纤维素钠

羧甲基纤维素钠作为天然多糖纤维素的衍生物,为线型水溶性聚阴离子化合物。羧甲基纤维素钠对皮肤无刺激性,在体内不会产生免疫抗原反应,无致突变性,可降解,是一种组织相容性良好的生物材料。作为含有多羟基及羧基的高分子多糖,其除具有很强的吸水吸湿能力外,还具有成膜性,对溶液的增稠作用,黏结、乳化、分散、稳定等多种胶体特性,以及在各种环境中的完全生物降解能力。组织工程化皮肤因其难以替代正常皮肤的分泌、代谢等作用而限制了其临床应用,羧甲基纤维素钠支架材料强吸水吸湿能力以及良好的组织相容性,则在很大程度上解决了上述问题。研究显示,采用羧甲基纤维素钠制成的膜材料,用于覆盖家兔磨削术后皮肤创面,可防止创面感染、控制创面组织液渗出、促进创面快速愈合、减轻术后水肿和创面刺激^[1]。采用羧甲基纤维素钠制备的膜材料可以将创面渗液吸收进纤维内部,纤维吸湿后转化为一种水凝胶体,在创面形成适宜其愈合的潮湿环境,这在创面护理中有很高的应用价值。

1.2 壳聚糖

壳聚糖由从虾、蟹等甲壳类动物的壳中提取的甲壳素脱乙酰化而得。它是由 β -(1,4)-2-乙酰氨基-D-葡萄糖单元和 β -(1,4)-2-氨基-D-葡萄糖单元共聚形成的天然多糖,也是唯一的碱性多糖,能够为细胞黏附和迁移提供很多结合位点^[2]。壳聚糖具有较好的成膜性和生物相容性,还具有抗菌、止血、增强炎症细胞(中性粒细胞、巨噬细胞和Fb)功能的作用,在加速肉芽形成和组织再生方面也有一定作用。壳聚糖水凝胶可以让真皮和表皮重新建立连接、促进全层皮肤缺损再上皮化,由其制成的多孔材料具有一定的弹性和柔韧度,与自体皮同时移植修复烧伤创面时,创面愈合后关节活动受限情况明显减轻。壳聚糖中含有可衍生的活性羟基、氨基,有利于细胞黏附,同时无毒性、刺激性,因此可作为良好的支架材料应用于组织工程领域^[3]。然而壳聚糖的机械性能差,且和其他天然高分子材料相比其降解能力一般,限制了其应用。

1.3 透明质酸

透明质酸广泛分布于结缔组织、皮肤、关节滑膜液及眼玻璃体中。其以独特的分子结构和理化性质在机体内显示出多种重要的生理功能,如润滑关节,调节血管壁的通透性,调节蛋白质、水、电解质扩散及运转,促进创伤愈合等,同时其也是皮肤中吸附和维持水分的主要结构。目前广泛应用于医药方面的透明质酸产品主要是透明质酸钠,其可被用作眼科人工晶体植入手术的粘弹剂,骨性关节炎、风湿性关节

DOI:10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2016.05.014

作者单位:650101 昆明医科大学第二附属医院烧伤科,云南省烧伤研究所(李冉、汪虹、王宽、解英);昆明理工大学材料科学与工程学院(冷崇燕)

通信作者:汪虹,Email:1953602234@qq.com

炎等关节手术的填充剂,还可用于预防手术后组织粘连和促进皮肤伤口的愈合^[4]。但是大量研究显示,透明质酸钠存在力学性能和抗水性差的不足,在体内吸收较快,因而直接植入时用量不宜过多,用于制备组织工程真皮支架时需要与其他高分子材料复合。

2 天然蛋白类高分子材料及其衍生物

2.1 胶原蛋白

胶原蛋白因具有良好的生物相容性、可生物降解性及低免疫原性,已作为一种重要的天然组织支架材料应用于组织工程领域。如由美国 Integra Life Science 公司研发的以牛胶原蛋白和氨基葡聚糖为材料制备的人工皮肤产品 Integra™,已用于深度烧伤患者的临床治疗。由于用纯胶原蛋白制备而成的支架存在力学性能差、含水时难以塑形、降解速度过快导致支架崩解等不足,部分学者提出通过交联的方法改善支架的性能。Powell 和 Boyce^[5]采用冷冻干燥法,分别用不同物质的量浓度的 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳化二亚胺盐酸盐与胶原蛋白类支架进行交联,结果显示不同物质的量浓度的 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳化二亚胺盐酸盐对胶原蛋白类支架的生物降解性有着不同的影响。近年来对胶原蛋白类支架的研究,主要集中在通过表面改性的方法促进其在皮肤再生中的良好作用。Gautam 等^[6]通过将表面改性的 I 型胶原蛋白与 Fb 组合成支架,观察到改性后的 I 型胶原蛋白可以帮助支架中的 Fb 维持良好的形态。因 bFGF 能促进 Fb 生长,而 Fb 在创面的愈合过程中起着极其重要的作用,Morimoto 等^[7]将缓释 bFGF 加入胶原蛋白类支架,该支架可以更有效地促进创面愈合。

2.2 明胶

明胶是由胶原蛋白部分水解而得到的一类蛋白质,与胶原蛋白具有同源性及类似的生物学性状,除了良好的生物相容性、可降解性及成膜性以外,还具备独特的溶胶-凝胶可逆转换性和高化学反应活性。明胶类支架在人工皮肤的体外构建及移植实验中效果较好,显示出一定的应用前景^[8,9]。例如,在大鼠皮肤缺损修复实验中,明胶类支架具有很好的促进伤口愈合的能力^[10]。此外,有学者研究得出明胶可改善其他天然高分子材料的特性,如秦颖哲和林强^[11]在实验中观察到明胶可改善壳聚糖链的结构排列,改善后的壳聚糖材料具有更高的稳定性和机械性,但能否将其制成支架用于构建组织工程化皮肤仍需进一步的研究。

2.3 丝素蛋白

丝素蛋白是从蚕丝中提取的天然高分子纤维蛋白,具有良好的成膜性、柔韧性和生物相容性,且其在成膜条件适当的情况下,可表现出优良的透气性能。采用丝素蛋白制备的支架已广泛应用于骨、软骨及韧带组织工程领域。例如将丝素蛋白制备成三维多孔支架可用于体外构建骨组织,该支架展现出良好的持久性和力学稳定性^[12]。有研究显示,载有胰岛素样生长因子的丝素蛋白支架利于骨髓基质细胞的生长,缓释的胰岛素样生长因子诱导骨髓基质细胞向成软骨方向分化^[13]。有报道称将丝素蛋白加工成线状基质,其上移植自体干细胞,可培养出韧带 Fb 和成熟的组织并进一步形成韧带,证明丝素蛋白作为支架材料具有强大的机械性

能^[14]。近年来研究显示,丝素蛋白对 Fb、表皮细胞具有很好的黏附性^[15-16],结合丝素蛋白制备而成的多孔材料具有一定的拉伸性能,因此可用于研制组织工程皮肤支架。吕国忠等^[17]将自体表皮干细胞联合丝素蛋白类支架移植入大鼠 III 度烧伤创面,结果显示该支架能够修复创面并大大提高创面愈合率。另外,丝素蛋白还可对其他高分子材料进行改性,有报道称采用经化学和物理 2 种方法处理后丝素蛋白对聚乳酸进行改性,改性后的材料均具有更好的生物相容性和细胞黏附能力^[18]。

3 复合支架材料

近年来有学者提出用多种高分子材料及其衍生物,以聚合物共混或交联技术制备新型的复合支架,用于体外构建组织工程化皮肤,相关产物很大程度上弥补了单一高分子及其衍生物支架的不足。目前已有学者将结合了 2 种天然高分子材料或其衍生物优势的复合类支架运用于家兔的全层皮肤缺损及烫伤模型^[19],取得了良好的修复效果。另外,将人工合成材料与天然高分子材料及其衍生物相互混合制备的复合支架如海藻酸盐-壳聚糖、胶原-壳聚糖、胶原-琼脂糖、壳聚糖-聚己内酯支架等也成为研究热点,这些复合支架在动物实验中均表现出较单一人工合成或天然高分子支架更好的性能。Jeong 等^[20]运用静电纺丝的方法制备了海藻酸钠-壳聚糖纳米纤维支架,与单纯的海藻酸钠支架相比,复合支架表现出更好的细胞黏附性及促进细胞增殖的能力。Wang 等^[21]制备了胶原-壳聚糖复合多孔支架,并将由聚乙丙交酯编织成的网格纳入到支架当中,增加了支架的机械性能,在小鼠烫伤模型中观察到该复合支架可以抵抗创面的收缩、促进细胞的渗透及血管的生成。将琼脂糖引入胶原蛋白支架的研究结果显示,在特定比例下,该复合支架的结构稳定性相对纯胶原蛋白支架有所提高,且不影响细胞的存活率和形态^[22]。

4 结论与展望

尽管目前天然高分子材料及其衍生物常被用作制备皮肤组织工程学支架,然而其种类繁多、性能不一,很难选择一种材料完全替代真皮支架。复合支架具备更好的力学性能、与正常皮肤相近的透气性和透水性、适应临床需要的生物降解性和组织相容性等多方面优点,因此有望成为一种新型的皮肤组织工程支架。但是选择何种材料进行复合以及复合后支架的稳定性、安全性及性能提高的临床价值仍值得进一步探索。

参考文献

- [1] 牛生洋,郝峰鸽. 羧甲基纤维素钠的应用进展[J]. 安徽农业科学, 2006, 34(15): 3574-3575. DOI: 10. 3969/j. issn. 0517-6611. 2006. 15. 005.
- [2] 张永强,任志鹏,杨自权,等. I 型胶原-壳聚糖复合材料的生物相容性研究[J]. 生物骨科材料与临床研究, 2011, 8(2): 3-7. DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-5972. 2011. 02. 002.
- [3] 车小琼,孙庆申,赵凯. 甲壳素和壳聚糖作为天然生物高分子材料的研究进展[J]. 高分子通报, 2008, 2: 45-49.
- [4] 刘国辉,于金海,王玉梅,等. 羧甲基纤维素透明质酸钠预防术后腹膜粘连的实验研究[J]. 中华胃肠外科杂志, 2010, 13

- (11); 855-856. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1671-0274. 2010. 11. 021.
- [5] Powell HM, Boyce ST. EDC cross-linking improves skin substitute strength and stability [J]. *Biomaterials*, 2006, 27 (34): 5821-5827. DOI:10. 1016/j. biomaterials. 2006. 07. 030.
- [6] Gautam S, Chou CF, Dinda AK, et al. Surface modification of nanofibrous polycaprolactone/gelatin composite scaffold by collagen type I grafting for skin tissue engineering[J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2014, 34:402-409. DOI: 10. 1016/j. msec. 2013. 09. 043.
- [7] Morimoto N, Yoshimura K, Niimi M, et al. Novel collagen/gelatin scaffold with sustained release of basic fibroblast growth factor: clinical trial for chronic skin ulcers[J]. *Tissue Eng Part A*, 2013, 19 (17/18): 1931-1940. DOI: 10. 1089/ten. tea. 2012. 0634.
- [8] 张杨, 李秀兰, 师宜健. 含有生肌液的明胶-壳聚糖皮肤支架的生物学特性研究[J]. *生物医学工程与临床*, 2007, 11(2): 97-101. DOI: 10. 3969/j. issn. 1009-7090. 2007. 02. 005.
- [9] Lee SB, Kim YH, Chong MS, et al. Study of gelatin-containing artificial skin V: fabrication of gelatin scaffolds using a salt-leaching method [J]. *Biomaterials*, 2005, 26 (14): 1961-1968. DOI: 10. 1016/j. biomaterials. 2004. 06. 032.
- [10] 王康建, 曾睿, 但卫华, 等. 基于天然高分子材料的组织工程化皮肤支架材料[J]. *生物医学工程与临床*, 2009, 13(2): 161-166. DOI: 10. 3969/j. issn. 1009-7090. 2009. 03. 022.
- [11] 秦颖哲, 林强. 壳聚糖水凝胶在生物医学材料方面的研究进展[J]. *中国组织工程研究*, 2012, 16(34): 6389-6392. DOI: 10. 3969/j. issn. 2095-4344. 2012. 34. 024.
- [12] 佟爽, 王绪凯. 骨组织工程中丝素蛋白-壳聚糖支架材料研究进展[J]. *中国实用口腔杂志*, 2014, 7(12): 757-761. DOI: 10. 7504/kq. 2014. 12. 015. 002.
- [13] Uebersax L, Merkle HP, Meinel L. Insulin-like growth factor I releasing silk fibroin scaffolds induce chondrogenic differentiation of human mesenchymal stem cells [J]. *J Controlled Release*, 2008, 127(1): 12-21. DOI:10. 1016/j. jconrel. 2007. 11. 006.
- [14] 袁凯. 丝素蛋白在组织工程中的应用和降解性研究[J]. *医学研究杂志*, 2011, 40(10): 153-155. DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-548X. 2011. 10. 050.
- [15] Gupta MK, Khokhar SK, Phillips DM, et al. Patterned silk films cast from ionic liquid solubilized fibroin as scaffolds for cell growth [J]. *Langmuir*, 2007, 23(3): 1315-1319. DOI: 10. 1021/la062047p.
- [16] Hu K, Lv Q, Cui FZ, et al. Biocompatible fibroin blended films with recombinant human-like collagen for hepatic tissue engineering[J]. *J Bioact Compat Polym*, 2006, 21(1): 23-37. DOI: 10. 1177/0883911506060455.
- [17] 吕国忠, 周红梅, 赵朋, 等. 体外培养表皮干细胞复合高分子支架原位修复深度烧伤创面的研究[J/CD]. *中华损伤与修复杂志: 电子版*, 2011, 6(1): 20-32. DOI: 10. 3877/cma. j. issn. 1673-9450. 2011. 01. 006.
- [18] 陈艳雄, 陈敏, 朱谱新, 等. 丝素蛋白的研究和应用进展[J]. *纺织科技进展*, 2007(2): 13-18. DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-0356. 2007. 02. 005.
- [19] Lee OJ, Ju HW, Kim JH, et al. Development of artificial dermis using 3D electrospun silk fibroin nanofiber matrix [J]. *J Biomed Nanotechnol*, 2014, 10(7): 1294-1303. DOI: 10. 1166/jbn. 2014. 1818.
- [20] Jeong SI, Krebs MD, Bonino CA, et al. Electrospun chitosan-alginate nanofibers with in situ polyelectrolyte complexation for use as tissue engineering scaffolds [J]. *Tissue Eng Part A*, 2011, 17(1/2): 59-70. DOI: 10. 1089/ten. tea. 2010. 0086.
- [21] Wang XG, Li QY, Hu XL, et al. Fabrication and characterization of poly(L-lactide-co-glycolide) knitted mesh-reinforced collagen-chitosan hybrid scaffolds for dermal tissue engineering [J]. *J Mech Behav Biomed Mater*, 2012, 8: 204-215. DOI: 10. 1016/j. jmbbm. 2012. 01. 001.
- [22] Gaspar A, Moldovan L, Constantin D, et al. Collagen-based scaffolds for skin tissue engineering [J]. *J Med Life*, 2011, 4(2): 172-177.

(收稿日期: 2015-11-24)

(本文编辑: 贾津津)

本文引用格式

李冉, 汪虹, 冷崇燕, 等. 天然高分子材料及其衍生物制备组织工程真皮支架的研究进展 [J]. *中华烧伤杂志*, 2016, 32(5): 316-318. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1009-2587. 2016. 05. 014.

Li R, Wang H, Leng CY, et al. Advances in the research of natural polymeric materials and their derivatives in the manufacture of scaffolds for dermal tissue engineering [J]. *Chin J Burns*, 2016, 32(5): 316-318. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1009-2587. 2016. 05. 014.

· 消息 ·**本刊网站“指南与共识”板块内容征集**

众所周知, 烧伤医学与相关学科联系紧密, 许多时候需要借鉴相关学科的诊疗理念、规范和抢救技术。本刊网站“指南与共识”板块即秉承这一理念, 将烧伤以及相关学科的指南集中展示, 为大家提供多方面的参考。希望各位学者特别是经常进行跨学科交流和研究的学者, 在平时工作中看到可供烧伤界同仁参考的指南时, 能够及时发送给编辑部 (邮箱 fuym2007@vip. 163. com), 通过杂志网站平台推广, 惠及更多学者。在此基础上, 也希望中华医学会烧伤外科学分会与《中华烧伤杂志》编辑委员会的各位专家能够牵头发起烧伤专业的相关共识讨论, 早日制订出更多烧伤专业相关指南与共识, 指导烧伤临床救治工作。欢迎广大读者朋友到本刊网站 [www. zhsszz. org](http://www.zhsszz.org) 查阅“指南与共识”板块。

本刊编辑部