

丝素蛋白在组织修复领域的应用进展

王苗苗^{1,2*}, 孙雪^{2*}, 韩倩倩^{2#} (1. 烟台大学, 烟台 264005; 2. 中国食品药品检定研究院, 北京 102629)

摘要: 丝素蛋白作为一种高分子纤维蛋白, 具有良好的力学性能、生物相容性、可生物降解性。随着生物医用材料的不断发展, 丝素蛋白的应用潜力也随之脱颖而出, 成为了近几年逐渐发展的新型生物医用材料。丝素蛋白独特的可加工特性, 使得丝素蛋白可根据用途加工成不同的形态材料, 应用于组织修复领域。本文也将从丝素蛋白近几年来在组织修复领域的应用进展进行综述。

关键词: 丝素蛋白; 生物医用材料; 组织修复; 复合材料

中图分类号: R95 文献标识码: A 文章编号: 1002-7777(2020)08-0897-05
doi:10.16153/j.1002-7777.2020.08.007

Application Progress of Silk Fibroin in the Field of Tissue Repair

Wang Miaomiao^{1,2*}, Sun Xue^{2*}, Han Qianqian^{2#} (1. Yantai University, Yantai 264005, China; 2. China Food and Drug Inspection Institute, Beijing 102629, China)

Abstract: Silk fibroin, as a kind of polymer fibrin, has good mechanical properties, biocompatibility, and biodegradability. With the continuous development of biomedical materials, the application potential of silk fibroin stands out and it has become a new type of biomedical materials in recent years. The unique processability of silk fibroin enables silk fibroin to be processed into different morphological materials according to the application and used in the field of tissue repair. This article also reviewed the application progress of silk fibroin in the field of tissue repair in recent years.

Keywords: silk fibroin; biomedical materials; tissue repair; composite materials

1 概述

丝素蛋白是一种从蚕丝中提取的天然高分子纤维蛋白, 约占蚕丝纤维组分的 80%, 主要由甘氨酸、丙氨酸、丝氨酸、酪氨酸等 18 种氨基酸组成^[1]。丝素本身具有良好的机械性能和理化性质, 如良好的柔韧性和抗拉伸强度、透气透湿性、缓释性等^[2]。由于丝素蛋白的结构与反应特性, 使其具有丰富的可改造空间, 可将其设计加工制备成薄膜、凝胶、多孔材料、纳米纤维、微球等不同形貌的

产品^[3], 丝素蛋白成为了近几年逐渐发展的新型生物医用材料。此外, 丝素蛋白具有良好的生物相容性、可生物降解性、非细胞毒性和最小限度炎症反应等特性^[4]。本文将从丝素蛋白在组织修复领域的应用进展进行综述。

2 丝素蛋白在组织修复领域的应用

2.1 骨及软骨修复

丝素蛋白材料在骨修复方面的应用, 从材料的生物相容性到骨诱导性、骨传导性, 从单纯丝素

基金项目: 科技部十三五重点研发计划 (编号 2016YFC1103202); 中国科学院战略性先导专项 (编号 XDA16040602)

作者简介: 王苗苗, 在读硕士研究生; E-mail: Wangmiaomiao@163.com

并列第一作者: 孙雪, 硕士, 副主任药师, 主要从事医疗器械的安全性、有效性评价和实验室质量管理工作

通信作者: 韩倩倩, 博士, 研究员, 从事医疗器械安全有效性检测、生物学评价和医疗器械行业标准制定工作

蛋白材料到与磷酸钙的复合材料,从骨缺损到椎体融合,人们开展了大量系统而广泛的研究^[5]。

丁希丽等^[6]人设计了加入石墨烯的3D丝素蛋白复合支架以研究该支架对大鼠骨髓来源的间充质干细胞的黏附、增殖和成骨分化的影响。利用扫描电镜观察不同复合支架的表面形貌和微结构,在不同的石墨烯/丝素蛋白(G/SF)复合支架上接种大鼠的骨髓间充质干细胞,利用扫描电镜观察细胞的黏附、增殖情况以及细胞形态。同时,利用免疫荧光染色检测不同支架的成骨相关蛋白的表达情况。数据表明,研究中制备的0.5% G/SF 支架具有促进干细胞成骨的巨大潜力,其在骨组织工程中具有较好的应用前景。Bhardwaj等^[7]研究比较了用牛软骨细胞接种并在体外培养2周的丝素蛋白/壳聚糖混合支架中软骨组织的形成。分析该构建体的细胞存活力、组织学、细胞外基质组分糖胺聚糖和I型和II型胶原蛋白以及生物力学特性。研究结果表明丝素蛋白/壳聚糖支架可能是合成细胞支架用于软骨组织工程的有用替代品。Jiang等^[8]制备了新型羟基磷灰石/再生丝素蛋白支架,并研究了其在体外增强骨髓来源的间充质基质细胞的骨诱导性和骨传导性的潜力。与羟基磷灰石支架相比,新型支架的碱性磷酸酶活性在14天后增加了 $41 \pm 2.5\%$ 。研究数据表明这种新型的羟基磷灰石/再生丝素蛋白支架对骨诱导性和骨传导性具有积极作用,并且可用于骨组织工程。

丝素蛋白可作为骨及软骨修复的材料,且其具有全降解能力,所以在骨及软骨修复领域具有潜力。

2.2 血管修复

丝素蛋白中特殊的氨基酸排列结构使其具有抗凝血功能,而且与合成材料相比,具有更好的生物相容性,用于人造血管更有利于内皮化^[9]。

陶思洁等^[10]人将蚕丝素蛋白通过化学接枝反应制备具有抗凝血功效的硫酸化丝素蛋白医用材料,随后对硫酸化丝素蛋白进行生物相容性评价。各项试验结果表明硫酸化丝素蛋白材料有良好的生物相容性,并且具有在生物医学材料领域应用的前景。曹传宝等^[11]人发明了一种具有良好畅通率的丝素小口径人工血管的制备方法。可以根据需要来制备不同性能和外型的丝素血管,通过调节模具旋转速度和干燥温度来控制血管的力学性能,通过涂覆层数

来控制血管的厚度,通过调节模具直径来控制血管的直径。本发明得到的丝素血管具有良好的生物相容性、血液相容性和力学性能等优点,而且在动物体内6个月内均保持畅通,为小口径血管的临床应用打下一定基础。冯伊琳等^[12]人发明了一种可吸收人工血管,是一种由丝素蛋白膜和生物纤维包埋成一体形成的中空管状结构,管壁是由包埋为一体的丝素蛋白膜和可吸收生物纤维组成,其中纤维被包埋或被镶嵌在膜的内部。其中丝素蛋白膜含有抗凝血成分,生物纤维是海藻酸纤维、醋酸纤维素纤维、氧化纤维素纤维或酰基化甲壳素纤维。Yagi等^[13]用含聚乙二醇二缩水甘油醚的丝素蛋白水溶液涂覆的双经编制的丝素纤维,制备了内直径为1.5 mm、长度为10 mm的小直径血管移植物,这种丝素人造血管具有足够的物理强度,而且该涂层能够阻止血液的渗漏,避免了早期血栓的形成。

2.3 神经修复

神经系统是人的主导系统,它支配和协调着体内所有器官与系统的活动。各种机械外伤或病变都可引起神经损伤,严重时会导致功能丧失和其它神经性疾病^[14]。

Xia等^[15]将聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA)纳米纤维直接固定在辊筒上的载玻片上,通过转速来获得有序和无序的纳米纤维。与无序的纳米纤维相比,培养在有序PMMA纤维上的背根神经节神经元(DRGn)会根据基质纳米纤维的取向形成更长的平行神经突。在PMMA纳米纤维上共培养DRGn和Schwann细胞。研究结果发现有序纳米纤维有利于神经轴突和Schwann细胞共定位,在随后的髓鞘形成过程中,这种共定位可能是有益的作用。杨宇民等^[16]人公开了一种双丝素蛋白神经移植物。结合桑蚕丝与柞蚕丝的性质特点,提高了丝素蛋白神经移植物的力学性能。制得的移植物既具有高机械强度又具有良好柔韧性,可以承受缝合线的拉伸,导管形变50%时,抗压强度可达1.8N,对快速促进神经再生并实现长距离缺损神经修复具有非常重要的临床意义。吴坚等^[17]人将丝素蛋白导管植入兔子皮下,术后4周、8周、12周、24周取材,切片,HE染色,观察局部组织反应。纤维包裹逐渐变薄,丝素蛋白导管在术后24周完全降解。研究结果发现丝素蛋白导管有良好的生物相容性和可降解性,是理想的人工神经移植物。Wei等^[18]评估了壳聚糖/丝素

蛋白支架作为脂肪干细胞的传递载体和受损神经再生的结构框架的潜力。将装有细胞的支架被用于在10 mm手术诱导的坐骨神经损伤中再生大鼠坐骨神经。结果表明,在装有细胞的支架组中,随着神经连续性的恢复和功能的恢复,坐骨神经损伤的重建得到了显著增强,并且其靶骨骼肌得到了广泛的神经支配。

2.4 肌腱及韧带修复

肌腱和韧带组织是高密度的结缔组织,强大的物理负荷往往会导致这些组织受到损伤,然而组织内部的低细胞和血管含量又延长了其自身修复的过程,这就要求支架材料具有优越的抗拉性能、弹性与韧性,以及结构完整性。丝素蛋白的力学性能与肌腱相似,具有治疗肌腱韧带损伤的可能性^[19]。

程志等^[20]人设计并编织了一种丝素纤维人工韧带材料,并采用多巴胺溶液对材料表面进行涂层改性。并对该人工韧带材料的力学性能、体外矿化性能及细胞相容性进行了一系列表征。研究结果表明编织法可以快速成型人工韧带材料,通过调节编织角可调控人工韧带材料不同部位的结构。多巴胺涂层可显著提高丝素纤维人工韧带材料的体外矿化性能。细胞试验结果表明多巴胺涂层人工韧带材料细胞相容性良好。吴惠英等^[21]人结合天然丝素和再生丝素仿真构建人工韧带,在立式锭子编织机上,以再生丝素长丝为轴纱、外包天然丝素纤维编织管状结构的织物复合构建人工韧带。其体外降解实验结果表明,韧带材料中再生丝素长丝较天然丝素纤维有更快的降解速度。蒋玉东等^[22]人探讨了丝素蛋白布洛芬复合凝胶对肌腱粘连的预防作用及愈合后肌腱功能的影响。通过一系列的动物试验,结果发现丝素蛋白布洛芬复合凝胶可以有效防止肌腱粘连,且不影响术后肌腱的功能。

2.5 创面修复

丝素蛋白对创面愈合的修复,不仅仅是由于丝素蛋白的保湿、透气、无毒等特点,更是因为丝素蛋白具有良好的生物相容性、可降解性,且降解物能滋养细胞生长,为创面愈合提供理想条件,有利于修复皮肤损伤^[23]。

李青等^[24]人对负载纳米氧化锌丝素胶原蛋白支架的抗感染与抗炎作用潜能和其对创面修复再生作用进行了研究;通过大鼠全层皮肤缺损模型建立了试验体系,结果发现负载纳米氧化锌颗粒的丝素胶

原蛋白支架可有效的预防和抵抗修复过程中引起的感染和炎症反应,加速完成皮肤创面修复。芳菲等^[25]人通过异种脱细胞真皮基质联合丝蛋白敷料对幼儿Ⅱ度烫伤进行恢复治疗,并观察其治疗效果。研究结果表明通过此方法对患者的创面修复,可减少术后感染,缩短痊愈时间,降低疼痛程度,疗效优势明显。有传刚等^[26]人为了研究含纳米银的胶原蛋白-丝素蛋白复合支架对大鼠全层皮肤缺损创面真皮再生的影响,采用冷冻干燥法制得含纳米银的复合支架,并将其移植到大鼠缺损处,进行HE染色并观察创面等,研究结果表明含纳米银的复合支架不仅具有良好的生物相容性,而且还具有明显的炎症调节作用,可以加快复合支架诱导真皮再生,促进创面修复。

2.6 其它应用

除以上所提到的几种用途之外,丝素蛋白在载药系统、止血材料等方面也均有涉及。譬如,丝素蛋白作为药物缓释材料具有明显的优势,其生物相容性好,且不会影响药物的活性^[9]。叶鹏等^[27]人探讨了缓释左氧氟沙星的三维丝素蛋白/壳聚糖/纳米羟基磷灰石复合骨组织工程支架材料的机械性能、物理特性和化学构成及抗生素缓释能力。研究结果表明其具有良好的缓释性能、抗压缩能力、吸水率及热水溶失率。徐清栋等^[28]人通过研究制备不同比例的丝素/明胶复合止血材料,进行各项指标测定,结果发现丝素/明胶质量比为7:3时,复合材料的各项止血指标都较好,能够快速止血。

3 结论

丝素蛋白因其良好的生物相容性、可降解性,使其具备了作为生物医用材料的基础。综上所述,以丝素蛋白为原料可制备的支架材料及凝胶材料,可用于骨及软骨修复材料、血管修复材料、神经修复材料、肌腱及韧带修复材料等领域。产品的创新基础是材料的创新,新材料会带来新的机遇。所以,加大材料的创新才能使更多的组织修复产品涌现。

参考文献:

- [1] 王琳,王平,余圆圆,等.紫外辐照对丝素蛋白结构的影响及真丝抗紫外整理[J].丝绸,2019,56(5):8-13.
- [2] 孙自玲.多孔丝素蛋白膜材料的血管化进程研究[D].苏

- 州: 苏州大学, 2010.
- [3] 王宗乾, 王邓峰, 周杭, 等. 超声波辅助对乳化交联工艺制备丝素蛋白微球形貌的影响[J]. 纺织学报, 2019, 40(2): 119-124.
- [4] 朱彩红, 石培峰, 吕张飞, 等. 再生丝素蛋白可纺性研究[J]. 现代盐化工, 2019, 46(2): 1-3.
- [5] 曹呈斌. 用于椎体成形骨水泥和骨软骨组织工程支架的磷酸钙/丝素蛋白复合材料[D]. 苏州: 苏州大学, 2014.
- [6] 丁希丽, 黄艳, 刘海峰, 等. 石墨烯/丝素蛋白3D复合支架在骨再生方面的应用研究[J]. 医用生物力学, 2019, 34(S1): 68-69.
- [7] Bhardwaj N, Nguyen Q T, Chen A C, et al. Potential of 3-D Tissue Constructs Engineered from Bovine Chondrocytes/Silk Fibroin-chitosan for in Vitro Cartilage Tissue Engineering[J]. Biomaterials, 2011, 32(25): 5773-5781.
- [8] Jiang J, Hao W, Li Y, et al. Hydroxyapatite/Regenerated Silk Fibroin Scaffold-enhanced Osteoinductivity and Osteoconductivity of Bone Marrow-derived Mesenchymal Stromal Cells[J]. Biotechnology Letters, 2013, 35(4): 657-661.
- [9] 马艳, 李智, 冉瑞龙, 等. 蚕丝在生物医用材料领域的应用研究[J]. 材料导报, 2018, 32(1): 86-90.
- [10] 陶思洁, 李圣春, 夏菊, 等. 抗凝血医用硫酸化丝素蛋白材料的生物相容性评价[J]. 蚕业科学, 2012, 38(2): 311-316.
- [11] 曹传宝, 马西兰, 王旭霞. 一种具有良好畅通率的丝素小口径人工血管的制备方法: 中国, 201510290955.X[P]. 2015-06-01.
- [12] 冯伊琳, 宋福来, 李辉, 等. 一种可吸收人工血管及其制备方法和应用: 中国, 201410442922.8[P]. 2014-12-03.
- [13] T. Yagi, M. Sato, Y. Nakazawa, et al. Preparation of Double-raschel Knitted Silk Vascular Grafts and Evaluation of Short-term Function in a Rat Abdominal Aorta[J]. Journal of Artificial Organs, 2011, 14(2): 89-99.
- [14] 张锋. 静电纺丝构建蚕丝蛋白基支架及其应用于神经修复的研究[D]. 苏州: 苏州大学, 2010.
- [15] Xia H, Chen Q, Fang Y, et al. Directed Neurite Growth of Rat Dorsal Root Ganglion Neurons and Increased Colocalization with Schwann Cells on Aligned Poly(methyl methacrylate) Electrospun Nanofibers[J]. Brain Research, 2014, 1565: 18-27.
- [16] 南通大学. 一种双丝素蛋白神经移植术: 中国, 201810153989.8[P]. 2018-06-05.
- [17] 吴坚, 严小莉, 赵亚红, 等. 人工神经移植丝素蛋白导管的生物相容性的初步研究[J]. 组织工程与重建外科杂志, 2009, 5(2): 86-88.
- [18] Wei Y, Gong K, Zheng Z, et al. Chitosan/Silk Fibroin-based Tissue-engineered Graft Seeded with Adipose-derived Stem Cells Enhances Nerve Regeneration in a Rat Model[J]. Journal of Materials Science, 2011, 22(8): 1947-1964.
- [19] 潘岳林, 杨明英, 邓连霞, 等. 丝素在组织工程领域的研究热点[J]. 蚕桑通报, 2016, 47(2): 15-17.
- [20] 程志, 吴佳蔚, 王一婷, 等. 丝素纤维人工韧带材料表面改性及其体外矿化性能[J]. 生物医学工程进展, 2018, 39(4): 5-9+44.
- [21] 吴惠英, 周燕, 左保齐. 丝素蛋白纤维人工韧带的制备及性能分析[J]. 丝绸, 2016, 53(7): 071101. [doi:10.3969/j.issn.1001-7003.2016.07.001].
- [22] 蒋玉东, 关瑛, 安刚, 等. 丝素蛋白布洛芬复合凝胶预防肌腱粘连的作用研究[J]. 现代生物医学进展, 2017, 17(35): 6809-6812.
- [23] 肖阳, 杨琼, 李庆荣, 等. 丝素蛋白在生物医药工程中的应用[J]. 广东蚕业, 2016, 50(2): 24-29.
- [24] 李青, 全仁夫, 陈利红, 等. 负载纳米氧化锌丝素胶原蛋白支架修复皮肤创面[J]. 中国组织工程研究, 2018, 22(14): 2157-2161.
- [25] 芳菲, 牛迪, 姚宝珍, 等. 异种脱细胞真皮基质联合丝素蛋白辅料对Ⅱ度烫伤的临床疗效研究[J]. 中华细胞与干细胞杂志(电子版), 2019, 9(5): 298-303.
- [26] 有传刚, 张莉萍, 王新刚, 等. 含纳米银的胶原蛋白-丝素蛋白支架对大鼠全层皮肤缺损创面真皮再生的影响[J]. 中华烧伤杂志, 2017, 33(2): 103-110.
- [27] 叶鹏, 骆付丽, 刘安平, 等. 缓释左氧氟沙星三维丝素蛋白/壳聚糖/纳米羟基磷灰石复合骨组织工程支架材料的制备与表征[J]. 中国组织工程研究, 2019, 23(14): 21-29.
- [28] 徐清栋, 雷彩虹, 朱海霖, 等. 丝素/明胶复合材料的比例对小鼠止血性能的影响[J]. 浙江理工大学学报(自然科学版), 2018, 39(1): 45-50.

(收稿日期 2020年2月10日 编辑 范玉明)