

海洋生物医用材料的临床应用和安全性评价

史建峰, 柯林楠, 王春仁*, 李静莉* (中国食品药品检定研究院, 北京102629)

摘要 目的: 对海洋生物医用材料在医疗领域的应用情况和海洋生物材料来源医疗器械的安全性评价趋势进行分析, 为推进该材料的临床转化提供参考。方法: 归纳海洋生物医用材料的分类和应用, 介绍该材料的安全性评价的程序要点, 探讨其安全性评价中面临的挑战。结果与结论: 常用的海洋生物医用材料主要为多糖和蛋白质, 在创伤修复和组织工程领域应用广泛。海洋生物医用材料具有生物活性和良好的生物相容性, 对此类材料的安全性评价应根据材料特性和预期用途, 科学制定评价程序和选择检验方法。

关键词: 海洋生物医用材料; 医用材料; 物理化学表征; 生物学评价

中图分类号: R318.08 文献标识码: A 文章编号: 1002-7777(2020)06-0680-07

doi:10.16153/j.1002-7777.2020.06.010

Clinical Application and Safety Evaluation of Marine Biomedical Materials

Shi Jianfeng, Ke Linnan, Wang Chunren*, Li Jingli* (National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 102629, China)

Abstract Objective: To analyze the medical application status of marine biomedical materials and the safety evaluation trends of medical devices sourced from marine biomedical materials, so as to provide references for their clinical transformation. **Methods:** The classifications and application of marine biomedical materials were summarised, and the key procedures and challenges encountered in their safety evaluation were discussed. **Result and Conclusion:** The commonly used marine biomedical materials mainly consist of polysaccharides and proteins, which are widely used in the fields of wound healing and tissue engineering. The marine biomedical materials possess the characteristics of bioactivity and biocompatibility. It was necessary to establish scientific evaluation procedures and test methods according to the properties and intended uses of materials.

Keywords: marine biomedical materials; medical materials; physical and chemical characteristics; biocompatibility evaluation

基金项目: 中国食品检定研究院中青年发展研究基金(编号 2019C4); 国家重点研发计划(编号 2016YFC1101202)

作者简介: 史建峰, 硕士, 主要从事医疗器械生物学检验; Tel: (010) 53852590; E-mail: shengwushi@163.com

通信作者: 李静莉, 研究员, 研究方向: 医疗器械评价; Tel: (010) 53852615; E-mail: lijli@nifdc.org.cn

王春仁, 研究员; 研究方向: 医用生物材料和组织工程方面的安全性评价; Tel: (010) 53852580; E-mail: chunrenwang@263.net

海洋生物种类丰富, 蕴含巨大的原料资源。海洋生物医用材料具有抗氧化、抗肿瘤和抗微生物等优点, 而且该材料容易提取, 水溶性好, 可降解, 动物源性疾病风险、宗教伦理风险低, 近年来得到越来越多的关注。来自海洋生物的皮、骨和外壳等组织是海洋生物医用材料的重要来源。目前, 市场上应用的海洋生物医用材料多为具有生物活性的大分子并具有可降解性, 部分材料可以制成组织工程支架、生物敷料等高风险医疗器械。因此, 应对海洋生物医用材料和海洋生物材料来源的医疗器械的风险管理予以关注。本文主要对海洋生物医用材料的应用及其安全性评价需要考虑的问题进行分析, 为此类材料的临床转化提供参考。

1 海洋生物医用材料的种类及临床应用

海洋面积占地球总表面积的70.8%, 海洋生物的数量占地球生物总数量的80%以上^[1], 海洋生物资源丰富, 但是资源浪费情况严重, 大量鱼类、虾的废物包括皮、骨、鳃、头和鳞等部位被废弃, 仅在我国每年处理的鱼类废弃物就高达200万吨^[2]。如果将这些废弃物加以利用, 将会取得重大收益。海洋生物医用材料是近十几年来被人类重视开发的新天然材料资源, 主要为生物大分子。海洋来源的生物材料, 如甲壳质、褐藻胶、胶原蛋白等, 没有携带哺乳动物的疾病和传染病的风险, 具有良好的生物相容性、可降解性、生物活性和加工性能, 可作为组织工程产品支架材料、伤口敷料及药物载体材料使用。随着科技的发展与进步, 海洋生物医用材料的开发与应用市场前景日益广阔, 也越来越受到世界各国政府和研究开发机构的重视。目前, 常用的海洋生物医用材料主要为多糖和蛋白质, 多糖包括甲壳素、壳聚糖、海藻酸盐和透明质酸钠, 蛋白质主要为胶原蛋白。

1.1 甲壳素和壳聚糖

甲壳素是一种由(1,4)-2-乙酰氨基-2-脱氧- β -D-葡萄糖构成的线性多糖, 通过 β -1,4糖苷键形式连接而成, 是自然界中唯一存在的碱性多糖。其广泛分布于虾、蟹等甲壳类动物外壳和海藻类动物中, 是世界上仅次于植物纤维素存量第二多的生物资源。甲壳素的结构与纤维素非常相似, 其降解产物生物相容性良好^[3]。甲壳素可通过脱去乙酰基转化为壳聚糖^[4], 提高其应用潜力。壳聚糖是目前应用比较广泛的海洋生物医用材料, 具有促

凝血、抑菌、抗肿瘤活性和增强免疫性能, 生物相容性良好且具有可降解性, 其降解产物主要为壳寡糖和葡萄糖胺, 可以被人体吸收^[5-7]。壳聚糖可应用于止血材料和创伤敷料, 主要有纤维、水凝胶、薄膜和海绵4种形式; 还可以通过静电纺丝技术制成纳米纤维^[8]。壳聚糖分子中含有羟基和氨基官能团, 很容易进行化学修饰形成壳聚糖衍生物, 改变其性能, 如水溶性、降解性、抗菌性及免疫原性, 广泛应用于组织工程支架、生物3D打印生物墨水 and 外科植入物中。

1.2 海藻酸盐

海藻酸是一种长链多聚糖, 由 β -D-甘露糖醛酸(M)和 α -L-古罗糖醛酸(G)结构单元通过1,4-糖苷键聚合而成的具有不同G/M比的线性嵌段共聚物, 主要从褐海藻中提取^[9]。海藻酸可以与不同的金属离子结合后形成各种海藻酸盐。海藻酸盐具有良好的生物相容性, 成胶能力较强, 而且可以通过物理、化学手段对材料特性进行优化, 增强材料的细胞相容性^[10-12]; 其在创伤凝胶中应用较多, 该材料可以保持湿润的物理微环境和降低微生物感染风险^[13]; 也可以与壳聚糖、纳米银等材料复合使用, 增加其抗微生物性能^[14-15]; 还可以制成膜应用于创伤修复, 相较于凝胶, 膜可以提高水、氧和二氧化碳的通透性, 同时也可以起到物理防护作用, 例如海藻酸盐可以与精油复合制成创伤修复膜^[16]; 可以制成纳米纤维材料, 用于损伤修复^[17-18]。

1.3 透明质酸

透明质酸是天然细胞外基质的重要成分, 其基本组成单位是 β -1,4-D-葡萄糖醛酸和 β -1,3-N-乙酰葡萄糖胺。透明质酸的细胞相容性优良, 可以促进细胞黏附、迁移、分化和增殖, 可用于填充和损伤修复。目前, 从海洋生物中获取透明质酸还处于起步阶段, 但是海洋生物来源的透明质酸和目前常用的透明质酸在材料结构和性能方面非常相似^[19], 有很大的开发空间。

除此之外, 利用海洋来源的无机材料也受到业内的广泛关注, 如海胆、贝壳、珊瑚和墨鱼骨可以作为骨骼修复的天然材料来源。这些海洋生物材料的钙磷比与人体骨骼相近, 其多孔状结构有利于生物活性分子聚集和传递, 从而促进骨组织修复^[20]。

1.4 胶原蛋白

胶原蛋白是细胞外基质的主要组成成分, 用

以维持细胞外基质的生物结构及完整性,同时为组织提供物理支撑^[21]。它是哺乳动物体内含量最丰富的蛋白质,约占机体总蛋白含量的30%^[22];同时,在海洋生物体内,如鱼皮、鱼鳞、鱼骨和鱼肌肉等部位也广泛存在。海洋生物来源的胶原蛋白与陆地动物来源的结构相似,都是由3条 α 肽链组成,呈典型的三维螺旋结构,甘氨酸(Gly)约占氨基酸总量的1/3,其氨基酸组成中脯氨酸和羟脯氨酸含量的总和明显低于陆地哺乳动物源性胶原蛋白。相较于陆地动物来源的胶原蛋白,海洋生物来源的胶原蛋白在提取工艺、安全性方面具有更大优势,但热稳定性较低,因此需要对其进行改性,以提高材料的稳定性和机械强度等。

根据三维结构,胶原蛋白目前可分为28种不同类型^[23]。从海洋生物中获取最多的是I型胶原蛋白,主要应用于组织工程领域^[24];II型胶原蛋白主要从鱼软骨和水母中获取^[25];海绵是IV型胶原蛋白的主要来源^[26]。胶原蛋白具有精氨酸-甘氨酸-赖氨酸组成的功能域,可以促进细胞募集和增殖,具有良好的生物相容性^[27]。目前,海洋来源的胶原蛋白在伤口愈合和组织再生中的应用潜力巨大。例如,有研究者利用罗非鱼皮制成胶原海绵应用于组织损伤修复^[28];从鳕鱼皮获取的高纯度I型胶原蛋白的分子结构和氨基酸组成与哺乳动物相近,而且具有良好的细胞相容性,可以应用于组织工程领域^[29];海洋胶原蛋白也可以应用于硬组织损伤的修复,如骨修复等^[30]。

2 海洋生物医用材料的安全性评价

2.1 海洋生物医用材料的物理和化学性能表征

海洋生物医用材料是新兴领域,很多新材料处于产品研发初期。在医疗器械研制初期,对材料的选择主要基于材料的物理、化学性能和生物相容性。在开发备选材料应用价值的同时也要关注可能引起的生物反应,主要表现为细胞、组织与材料、材料溶出物的反应。材料与机体接触后,会产生相互作用:一方面,材料会通过物理和化学方式作用于机体,进而引起接触局部和全体的生物反应;另一方面,机体会对材料进行反作用,导致材料物理和化学特性改变,材料的稳定性也随之受到影响。材料生物相容性主要用于表征材料引起机体的生物反应程度,材料的生物稳定性主要反映材料对机体反作用的反应程度。在进行材料生物学评价之

前,应充分考虑材料物理性能和化学性能的影响。只有当材料组成和结构的信息足够清晰明确,并能得到良好控制的前提下,产品的生物学评价才有意义。国际化标准组织(International Organization for Standardization, ISO)发布的有关医疗器械生物学评价中风险管理的新版标准ISO 10993-1:2018重点强调在开展生物学评价前应对材料的物理、化学性能进行充分研究。

2.1.1 物理性能

材料的物理性能决定了产品的安全性和有效性。材料表面特性会对材料的生物相容性产生影响,如亲疏水性、润滑性、粗糙性、表面张力、膨胀系数、静电和蛋白吸附等作用。细胞对环境刺激信号非常敏感,这些物理特性可能会引起细胞对环境的应答作用,掌握材料的表面特性有助于研究细胞与材料在分子层面的相互作用。例如海洋生物医用材料很大一部分被应用于创伤敷料,当材料与伤口接触后,血小板在材料表面的黏附和激活是止血过程中的重要阶段,而材料的表面张力和表面润湿性能在其中发挥重要作用^[31]。在关注材料表面特性获得收益的同时也应考虑其带来的风险,例如材料的表面粗糙度与成骨细胞的黏附呈正相关,可以诱导成骨作用^[32],然而表面粗糙的材料会增加材料与细胞的接触面积,同时会促进巨噬细胞的募集^[33]。海洋生物医用材料多为生物大分子,它们的高级构象与生物活性密切相关,比如胶原蛋白三螺旋结构是其免疫原性的主要结构部位。作为组织工程支架用的海洋生物医用材料,还需要考虑其材料形貌,包括孔隙大小、孔隙率、孔连通性等,它们会直接影响目标细胞和组织的功能。除了以上特性外,材料的其他物理性能,如渗透性、机械性能、热学性能等,也应根据器械的预期用途加以考虑和选择。

2.1.2 化学性能

材料的化学性能是影响器械安全性和有效性的关键因素。材料的力学稳定性、可溶性、可降解性及其他性能都会受到化学组成的影响。海洋来源的生物大分子上存在着许多羟基、羧基和氨基等活性基团,通过化学改性,可以改变原有材料的性能,同时也会产生不同的生物活性。材料的化学结构(如取代基位置及取代度、脱乙酰度、氨基酸序列等)的准确表征有助于保证产品临床使用的安全性和有效性。生物大分子的分子量及分子量分布不

仅会影响产品预期用途,而且还与产品的免疫原性有很大关系,在其质量控制中有必要予以关注。经提取、纯化的海洋生物医用材料还应关注其纯度,如壳聚糖、海藻酸等多糖类材料中会残留蛋白,蛋白质含量一旦超过一定量可能导致人体出现超敏反应,因此,需严格控制以免产生不良反应^[34]。很多海洋生物医用材料作为可降解材料应用于器械产品,应对其降解性能和降解产物进行评价,一方面要考虑材料的降解速率,应与预期使用的组织修复速度相匹配;另一方面要评价材料的降解产物是否会对人体存在风险。结合海洋生物医用材料来源和工艺控制,还应考虑到的杂质有重金属及有害元素和加工助剂。海洋生物医用材料制备的医疗器械在病毒灭活、有效成分提取等工艺过程中常用到酸、碱等试剂;在去除原材料脂肪成分工艺中会使用有机溶剂;脱细胞工艺需要添加脱细胞剂,也会加入表面活性剂、醇类、酸、碱、酶制剂等试剂;为提高海洋生物医用材料的力学强度,会加入交联剂,如戊二醛、碳二亚胺等。这些添加成分很多物质具有潜在毒性,如果不进行合理处置,在器械产品临床使用中,这些可沥滤物可能会从器械中溶出与人体接触,进而引起生物学反应。

2.2 海洋生物医用材料的生物学评价

医疗器械的生物学评价通过模拟产品的临床使用,用于评价产品对患者可能产生的潜在风险。预期与人体接触的医疗器械产品必须进行生物相容性评价。医疗器械生物相容性评价主要根据GB/T 16886系列标准,该标准是对现有方法、知识的回顾和总结,而且对选择和开展相关附加生物学试验进行说明和阐述。该系列标准主要内容不仅包括医疗器械生物学评价的风险管理,动物保护要求,环氧乙烷灭菌残留量,潜在降解产物的定性和定量框架,样品制备与参照样品的,聚合物医疗器械的降解产物的定性与定量,陶瓷降解产物的定性与定量,金属与合金降解产物的定性与定量,降解产物和可溶出物的毒代动力学研究设计和可沥滤物允许限量的建立等指导标准,还包括遗传毒性、致癌性和生殖毒性试验,与血液相互作用试验选择、体外细胞毒性试验、植入后局部反应试验,刺激与迟发型超敏反应试验、全身毒性试验等生物学试验标准。其中GB/T 16886.1将生物学试验进行了归纳,根据医疗器械产品与人体的接触方式和接触时间选择附加

生物学试验。

对医疗器械产品进行生物学评价主要目的是将生物材料和器械的风险进行评价使其达到临床可接受。海洋生物医用材料的潜在生物学风险主要有两个方面,一方面是短期风险,如细胞毒性、刺激、血栓形成、溶血和急性全身毒性;另一方面是长期风险,如免疫原性、遗传毒性、致癌性和亚慢、慢性全身毒性等。生物学相容性不能仅限于材料的既有特性,还应考虑产品使用时具体的生物环境和使用方式。同一种材料在不同使用环境中生物相容性评价的侧重也不尽相同,例如壳聚糖分别应用于止血敷料和组织工程材料支架时,选择的生物学试验会有很大差异。

免疫原性是海洋生物医用材料生物学评价中需要重点关注的风险点。海洋生物医用材料属于异种来源,而且用于临床的多为蛋白质、多糖和脂肪酸等具有活性的生物大分子,具有一定的生物活性和免疫原性。材料的免疫原性受分子的大小、化学组成和分子构象等因素影响,例如胶原蛋白的端肽和三螺旋结构可以影响其免疫原性^[35-36]。材料在加工过程中掺入的杂质也会对终产品的免疫原性产生影响,例如海藻酸盐纯度对终产品的免疫原性具有显著作用,在材料中掺入的化学成分和促有丝分裂的污染物是产生免疫原性的重要因素。目前,常见的污染物主要有蛋白、脂类、糖类、内毒素和多酚等。在材料与人体接触后,这些杂质会导致植入局部炎症反应和纤维组织过度增生,进而引起过敏、发热等不良反应^[37]。

应用静电纺丝技术制成的基于壳聚糖、胶原蛋白等材料的纳米材料在损伤修复、抗肿瘤和药物递送等领域应用日益广泛。针对海洋来源的纳米生物材料的安全性评价方法还相对单一,目前主要应用斑马鱼胚胎毒性体内试验来评价该纳米材料的生物相容性^[38]。

2.3 生物材料的安全性评价程序

生物材料的安全性评价程序主要包括以下几个方面:(1)收集完整的产品历史资料,包括但不限于材料文献报道和临床使用史,材料的物理、化学表征资料,预期用途,接触人体部位、接触时间和使用剂量以及适用范围;(2)收集长期使用且安全性被证实的类似器械产品材料组成资料和其他相关资料;(3)生物材料可能暴露成分的评价

估,如组成、残留、降解产物和加工工艺及添加剂等;(4)在相关资料收集完成并分析后,进行物理、化学表征,为以后的生物学评价提供参考信息;(5)根据资料收集和物理、化学表征结果进行生物学风险分析,决定是否开展体外生物相容性试验;(6)根据体外试验结果,决定是否开展实验动物体内试验,一般体外试验中得到阳性结果后不建议开展体内试验,在开展体内试验的同时也应关注实验动物福利,减少动物用量。

3 海洋生物医用材料安全性评价面临的挑战

目前,国内外科研人员在海洋生物医用材料产品研究和改良等领域取得了许多突破性进展,从而推动了海洋生物医用材料来源医疗器械产品的研发、商品化和应用。新型产品的研发、生物材料表面修饰加工工艺的创新、预期临床用途的扩展,将推动越来越多的新型海洋生物医用材料来源的医疗器械应用于临床,给医疗器械和生物材料的安全性评价带来新的挑战。

现有的评价体系滞后于产品的发展,需要进一步改进现有的方法和扩充原有的知识。综合运用体外试验和体内试验评价材料和产品的安全性是一个多学科交叉、非常宽广的学科领域,而且要随着产品的发展不断完善。生物材料和医疗器械技术日新月异,但现有的评价体系还不能完全适应产品的发展。例如,体外细胞相容性所用到的细胞系种类还不够全面,与产品的预期接触组织细胞有较大差异;体外系统毒性试验常用成纤维细胞,其细胞毒性评价结果的指示意义具有一定的局限性;体外评价不能完整地反映材料与机体的相互作用,即使是精密、复杂的体外模型也无法再现体内微环境,如免疫系统和血液循环系统;体内生物相容性评价方法,如迟发型超敏反应试验和全身毒性试验等主要是从整体上评价机体产生的生物学反应,实验动物用量大、周期长而且灵敏度有限;评价方法还需向微观层面延伸,海洋生物医用材料多为具有生物活性的大分子,这些生物大分子与人体接触后,改变首先从分子水平开始,一方面材料分子结构发生变化,另一方面生物体核酸、蛋白质也会相应产生变化,进而引起细胞及组织水平的改变。因此,需要增加亚细胞水平和分子水平的评价体系,研究微观环境改变产生的生物学反应。

海洋生物医用材料具有的性能在被利用的同

时,也会产生新的风险,需要加以识别和管理。该类材料可以制成纳米材料,高体表面积和体积比,材料形状、大小和表面电荷、分散状态,都可能影响材料的生物相容性;该类材料很多为蛋白分子且具有可降解性,很多预期用途会与血液接触,接触后材料蛋白会被吸附,蛋白间会发生置换,蛋白构象会发生变化如被分解为小肽段^[39],而蛋白吸附可能进一步引起机体免疫反应,需要更加灵敏、准确的评价手段。

4 展望

海洋生物医用材料多为具有活性的生物大分子,其组成成分和分子结构会影响其应用性和安全性。根据材料的预期用途、与人体的接触方式和接触时间,建立与材料、产品相适应的理化表征方法,对新产品研发、加工和质控具有重要意义。全面收集,综合、科学地运用已有材料使用信息、理化特性、生物相容性评估资料和临床评价等方法已成为海洋生物医用材料与医疗器械安全性评价的必然趋势。综合运用材料科学、分子生物学、细胞生物学、免疫学、组织工程学等学科知识开展科学、有效的安全性评价,可以指导海洋生物医用材料的选择、开发和改良,促进科学的临床应用,使海洋生物医用材料来源的医疗器械更加安全、有效,保证人民的用械安全。

参考文献:

- [1] 覃骊兰,郝二伟.海洋生物资源药用研究概述[J].辽宁中医药大学学报,2008,10(9):42-45.
- [2] 李杰,闫鸣艳,刘均洪,等.鱼胶原蛋白的研究进展[J].食品安全质量检测学报,2015,6(10):3941-3946.
- [3] Kurita K. Chitin and Chitosan. Functional Biopolymers from Marine Crustaceans[J]. Marine Biotechnology, 2006, 8(3): 203-226.
- [4] Zhao L M, Shi L E, Zhang Z L, et al. Preparation and Application of Chitosan Nanoparticles and Nanofibers[J]. Brazilian Journal of Chemical Engineering, 2011, 28(3): 353-362.
- [5] Muzzarelli, Riccardo A. Chitins and Chitosans as Immunoadjuvants and Non-Allergenic Drug Carriers[J]. Marine Drugs, 2010, 8(2): 292-312.
- [6] Kean T, Thanou M. Biodegradation, Biodistribution and

- Toxicity of Chitosan[J]. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2010, 62 (1) : 3–11.
- [7] Plant K P, Lapatra S E. Advances in Fish Vaccine Delivery [J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2011, 35 (12) : 0–1262.
- [8] Croisier F, Jérôme C. Chitosan-based Biomaterials for Tissue Engineering[J]. *European Polymer Journal*, 2013, 49 (4) : 780–792.
- [9] Fertah M, Belfkira A, Dahmane E M, et al. Extraction and Characterization of Sodium Alginate from Moroccan *Laminaria Digitata* Brown Seaweed[J]. *Arabian Journal of Chemistry*, 2017, 10 (S12) : S3707–S3714.
- [10] Lee K Y, Mooney D J. Alginate: Properties and Biomedical Applications[J]. *Progress in Polymer Science*, 2012, 37 (1) : 106–126.
- [11] Topuz F, Henke A, Richtering W, et al. Magnesium Ions and Alginate do form Hydrogels: a rheological Study[J]. *Soft Matter*, 2012, 8 (18) : 4877–4881.
- [12] Yin M, Xu F, Ding H, et al. Incorporation of Magnesium Ions into Photo-crosslinked Alginate Hydrogel Enhanced Cell Adhesion Ability[J]. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 2015, 9 (9) : 1088–1092.
- [13] Saarai A, Sedlacek T, Kasparkova V, et al. On the Characterization of Sodium Alginate/gelatine-Based Hydrogels for Wound Dressing[J]. *Journal of Applied Polymer Science*, 2012, 126 (S1) : 79–88.
- [14] Maria S, Giovanna D, Ida R, et al. Alginate Hydrogels Coated with Chitosan for Wound Dressing[J]. *Marine Drugs*, 2015, 13 (5) : 2890–2908.
- [15] Singh R, Singh D. Radiation Synthesis of PVP/alginate Hydrogel Containing Nanosilver as Wound Dressing[J]. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 2012, 23 (11) : 2649–2658.
- [16] Liakos I, Rizzello L, Scurr D J, et al. All-natural Composite Wound Dressing Films of Essential Oils Encapsulated in Sodium Alginate with Antimicrobial Properties[J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 2014, 463 (2) : 137–145.
- [17] Shalumon K T, Anulekha K H, Nair S V, et al. Sodium Alginate/poly(vinyl alcohol)/nano ZnO Composite Nanofibers for Antibacterial Wound Dressings[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2011, 49 (3) : 247–254.
- [18] Hu C, Gong R H, Zhou F L. V Electrospun Sodium Alginate/Polyethylene Oxide Fibers and Nanocoated Yarns[J]. *International Journal of Polymer Science*, 2015, 2015 : 1–12.
- [19] Panagos C G, Thomson D, Moss C, et al. Characterisation of Hyaluronic Acid and Chondroitin/dermatan Sulfate from the Lump sucker Fish, *C. Lumpus*[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2014, 106 (1) : 25–33.
- [20] Innocent M, Besim B N. Marine Skeletons: Towards Hard Tissue Repair and Regeneration[J]. *Marine Drugs*, 2018, 16 (7) : 225.
- [21] Tan C C, Karim A A, Latiff A A, et al. Extraction and Characterization of Pepsin-solubilized Collagen from the Body Wall of Crown-of-thorns Starfish (*Acanthaster planci*) [J]. *International Food Research Journal*, 2013, 20 (6) : 3013–3020.
- [22] Felician F F, Xia C, Qi W, et al. Collagen from Marine Biological Sources and Medical[J]. *Chemistry & Biodiversity*, 2018, 15 (5) : e1700557
- [23] Domene C, Jorgensen C, Abbasi S W. A Perspective on Structural and Computational Work on Collagen [J]. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2016, 18 (36) : 24802–24811.
- [24] Felician F F, Xia C, Qi W, et al. Collagen from Marine Biological Sources and Medical[J]. *Chemistry & Biodiversity*, 2018, 15 (5) : e1700557.
- [25] Barzideh Z, Latiff A A, Gan C Y, et al. Isolation and Characterisation of Collagen from the Ribbon Jellyfish (*Chrysaora*, sp.) [J]. *International Journal of Food Science & Technology*, 2014, 49 (6) : 1490–1499.
- [26] Marina P, Federica B, Valentina B, et al. Molecular Characterization of a Nonfibrillar Collagen from the Marine Sponge *Chondrosia Reniformis* Nardo 1847 and Positive Effects of Soluble Silicates on Its Expression[J]. *Marine Biotechnology*, 2012, 14 (3) : 281–293.
- [27] Jae, Ho, Lee, et al. Physically-strengthened Collagen Bioactive Nanocomposite Gels for Bone: A Feasibility Study [J]. *Tissue Engineering & Regenerative Medicine*, 2015, 12 (2) : 90–97.
- [28] Sun L, Li B, Yao D, et al. Effects of Cross-linking on Mechanical, Biological Properties and Biodegradation

- Behavior of Nile Tilapia Skin Collagen Sponge as a Biomedical Material[J]. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 2018, 80: 51–58.
- [29] Carvalho A M, Marques A P, Silva T H, et al. Evaluation of the Potential of Collagen from Codfish Skin as a Biomaterial for Biomedical Applications *Mar Drugs*[J]. *Marine Drugs*, 2018, 16 (12) : 495.
- [30] Heinemann S, Heinemann C, Ehrlich H, et al. A Novel Biomimetic Hybrid Material Made of Silicified Collagen: Perspectives for Bone Replacement[J]. *Advanced Engineering Materials*, 2007, 9 (12) : 1061–1068.
- [31] De Mel A, Cousins B G, Seifalian A M. Surface Modification of Biomaterials: A Quest for Blood Compatibility[J]. *International Journal of Biomaterials*, 2012, 2012 (4–5) : 1–8.
- [32] Pattanaik B, Pawar S, Pattanaik S. Biocompatible Implant Surface Treatments[J]. *Indian Journal of Dental Research*, 2012, 23 (3) : 398–406.
- [33] Angelova N, Hunkeler D. Rationalizing the Design of Polymeric Biomaterials[J]. *Trends in Biotechnology*, 1999, 17 (10) : 409.
- [34] 顾其胜, 周则红, 关心. 医用海藻酸盐产品标准与质量控制[J]. *中国修复重建外科杂志*, 2013, 27 (6) : 760–666.
- [35] Suzuki S, Kawai K, Ashoori F, et al. Long-term follow-up Study of Artificial Dermis Composed of Outer Silicone Layer and Inner Collagen Sponge[J]. *British Journal of Plastic Surgery*, 2000, 53 (8) : 659–666.
- [36] Shoulders, Matthew D, Raines, et al. Collagen Structure and Stability[J]. *Annual Review of Biochemistry*, 2009, 78 (1) : 929–958.
- [37] Marta S, Agata P, Szymańska Emilia, et al. Alginate: Current Use and Future Perspectives in Pharmaceutical and Biomedical Applications[J]. *International Journal of Polymer Science*, 2016, (8) : 1–17.
- [38] Younes N, Pintus G, Al-Asmakh M, et al. “Safe” Chitosan Zinc Oxide Nanocomposite Has Minimal Organ-Specific Toxicity on Early Stages of Zebrafish Development[J]. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 2020, 6 (1) : 38–47.
- [39] Ballet T, Boulange L, Brechet Y, et al. Protein Conformational Changes Induced by Adsorption onto Material Surfaces: an Important Issue for Biomedical Applications of Material Science[J]. *Bulletin of the Polish Academy of Sciences: Technical Sciences*, 2010, 58 (2) : 303–315.

(收稿日期 2020年2月26日 编辑 郑丽娥)