

知识介绍

新型胶原基人工皮肤模型的建立

曹成波¹, 宋国栋², 刘宗林¹, 吴克安¹, 王振芳¹, 邹玉萍¹

(1. 山东大学化学与化工学院, 山东 济南 250100; 2. 济南市中心医院, 山东 济南 250013)

摘要: 根据皮肤的组织结构与生理功能, 研制了复合天然三维网络结构胶原组织工程支架材料, 并以此为支架材料建立了3层结构的人工皮肤模型: 上层是具有良好生物相容性且可降解的聚合物涂层, 可以屏蔽细菌并保持人工皮肤良好的透气性; 中间是复合型天然三维网络结构胶原纤维支架材料层, 为细胞的增殖提供三维空间和良好的生长环境, 起到真皮基质的作用; 下层是药物层, 具有营养、抗菌消炎、刺激细胞生长的作用。

关键词: 人工皮肤; 三维网络结构胶原纤维; 复合材料; 模型

中图分类号: Q81

文献标识码: A

文章编号: 0253-4320(2005)01-0064-03

Model of novel composite natural collagen matrix artificial skin

CAO Cheng-bo¹, SONG Guo-dong², LIU Zong-lin¹, WU Ke-an¹, WANG Zhen-fang¹, ZOU Yu-ping¹

(1. School of Chemistry and Chemical Engineering, Shandong University, Jinan 250100, China;

2. Jinan Central Hospital, Jinan 250013, China)

Abstract: According to the structure and the function of nature skin, a composite natural collagen matrix with three-dimensional structure was prepared, which was used as the bracket material, a novel model of tri-layer artificial skin was thus constituted: the upper layer is a coat of polymer that is biocompatible and biodegradable, which protects against exogenous microorganisms, allows water vapor permeation and keeps the scaffold moisture; the middle layer is the composite natural matrix collagen fibre with three-dimensional meshwork structure, which functions as the dermis matrix; the under layer is a sheet of paste providing nourishment, diminishing inflammation and stimulating the growth of cells.

Key words: artificial skin; matrix collagen fibre; composite materials; model

人工皮肤起到覆盖创面、阻止细菌侵入、防止水分过度挥发、为细胞提供良好的代谢环境、促进创面愈合、减少创面收缩与抑制疤痕增生等作用^[1-3], 其应用解决了在治疗大面积深度烧伤中供体严重不足的问题, 挽救了无数患者的生命, 所以人工皮肤一直是组织工程产品中研究与开发的热点, 而且也是最成功的组织工程产品^[4-6]。目前, 人工皮肤在发达国家已经商品化, 主要产品有 Dermagraft、IntergaTM、Alloderm 和 Apligraf 等, 这些人工皮肤具有不同的支架材料及结构模型设计。高长有等人根据上述人工皮肤产品的特点, 提出了一种双层结构的胶原基人工真皮替代物的材料与结构设计: 上层是具有表皮作用的有机硅膜, 下层是具有多孔结构的胶原/氨基葡聚糖海绵^[7], 这种人工真皮替代物模型只是对现有人工皮肤产品的总结。笔者根据皮肤的组织结构与生理功能, 并模拟细胞天然生存环境, 建立了以天然三维网络结构胶原纤维(natural matrix collagen fi-

bre, 简称 NMCF) 为支架材料的新型 3 层结构的人工皮肤模型。

1 复合型 NMCF 组织工程支架材料

人工皮肤应具有良好的渗透性和抗张强度、良好的细胞亲合性和生物相容性、低抗原性和适当的降解速率, 将其移植到创面后, 随着支架材料的降解, 受损皮肤不断得到修复最终实现皮肤的再生, 同时人工皮肤还应具有引导细胞生长与分化、促进创面愈合及抑制疤痕增生的功能。现有的皮肤组织工程支架材料主要分为合成类和生物类, 前者具有较好的力学性能和微观结构, 且降解性易控制, 但表面生物活性、亲水性、细胞亲合性较差, 降解后的小分子易造成局部非菌性炎症; 后者生物相容性和表面生物活性好, 易于细胞附着和生长, 而且降解产物多为细胞生长所需的营养, 但力学性能差、降解速率快、微观结构不易控制。根据现有支架材料的特点

收稿日期: 2004-09-14

基金项目: 山东省自然科学基金重点项目(Z2003C01)、山东省科技攻关重点项目(031090155)、山东大学高层次人才引进科技专项资助

作者简介: 曹成波(1965-), 男, 教授, 博士生导师, 主要从事仿生天然生物材料与组织工程的研究, 0531-8393631, cbcao@sdu.edu.cn。

和理想的人工皮肤支架材料的要求,笔者研制出兼有天然生物材料与有机合成材料优点的复合 NMCF 组织工程支架材料^[8]。

1.1 制备及特点

根据猪真皮的天然结构与性能特点,笔者用生物酶、碱及物理作用处理猪皮,充分除去真皮基质中的纤维间质,而且使胶原纤维得到适当松散,研制出具有良好渗透性、组织相容性、抗张强度的新型 NMCF 组织工程支架材料。与胶原凝胶或胶原海绵不同, NMCF 保持了胶原纤维的天然三维网络结构。这种 NMCF 组织工程支架材料维持了胶原纤维的天然三维网络结构和蛋白质分子的三级结构,保留猪真皮组织的天然多孔结构和胶原纤维的表面生物活性,且未明显破坏材料的良好力学性能,这对于细胞支架材料来说是至关重要的,这样其孔径和孔隙率更有利于细胞的自然生长和排列,具有良好表面生物活性,而且在吸收大量创面渗出液的情况下仍具有较高的抗张强度。

针对无细胞真皮基质孔状结构不明显、渗透性能差、移植后表皮细胞难以获得充分的营养供应、表皮细胞生长和增殖较慢的缺点,唐洪泰等^[9]用机械或 CO₂ 激光打孔制备微孔异体(种)无细胞真皮基质,但这种方法只是解决了其宏观透水气性,并不能从微观结构上提高其渗透性。新型 NMCF 充分除去了纤维间质,并使胶原纤维得到控制性的松散,这样从微观结构上使支架材料具有良好的渗透性,并使其孔径和孔隙率得到很好的控制。同时在其中添加复合活性生物材料,可以增加 NMCF 皮肤组织工程支架材料的生物活性及降解速率的可控性,并能促进创面愈合,所以天然三维网络结构胶原纤维是更理想的人工皮肤支架材料。

1.2 复合改性

在支架材料中复合壳多糖、透明质酸、生长因子等活性生物物质,可提高细胞对胶原支架材料的亲合性,促进细胞增殖和分化,减少创面的氧自由基。壳多糖具有良好的细胞粘附性、生物相容性和降解性,还具有止血杀菌作用。其分子结构中含有活性羟基、氨基,可以负载生物活性因子,能提高胶原对创面的粘附力^[10]。透明质酸可通过调节细胞与基质的相互作用促进创面愈合,抑制瘢痕增生,还能为胶原蛋白和弹性纤维的合成提供良好的外部环境和营养物质,阻止细胞中一些酶的产生,减少氧自由基的形成^[11]。生长因子在体内起到募集种子细胞、促进细胞增殖、诱导细胞分化的作用,如表皮生长因子

能促进表皮细胞生长繁殖,加速受伤表皮细胞的修复;成纤维细胞生长因子具有促进细胞再生、肉芽组织形成和诱导修复等生理调控作用。藻酸钙具有很好的吸收性,能有效控制渗液,延长使用时间。在与伤口接触时,藻酸钙盐中的钙离子能置换伤口渗液中的钠离子,从而在伤口表面形成一层稳定的网状凝胶,有助于血液的凝固^[12]。烧伤后体内具有的抗自由基物质(如自由基清除酶、生育酚、谷胱甘肽等)减少^[13],创面焦痂、血浆、脏器组织匀浆中脂质过氧化物含量均有增加,可在人工皮肤中添加自由基清除剂来消除自由基对细胞生长的不利影响。

2 新型胶原基人工皮肤模型的建立

皮肤由表皮和真皮构成,表皮是皮肤的最外层,平均厚度约为 0.1 mm,起到抵御细菌等保护作用。真皮厚度为表皮的 15~40 倍,含有丰富的纤维、基质和各种组织细胞,还有毛囊、汗腺、皮脂腺等附属器官,使皮肤既坚韧又柔软,具有一定的抗拉性和弹性。皮肤的结构决定了其基本功能是保护和代谢生理功能,笔者根据皮肤的组织和生理功能,建立了新型 3 层胶原基人工皮肤模型:上层是具有良好生物相容性的可降解聚合物涂层,中间是复合 NMCF 层,下层是药物层。

2.1 上层

在支架材料表面喷涂一层亲水性可降解的聚合物膜,它能阻止细菌入侵、控制支架材料水气蒸发。促进表皮细胞与成纤维细胞生长的最佳孔径不同,前者最佳孔径为 20 μm ,后者最佳孔径为 80 μm ^[7],通过控制喷涂量和渗透深度来控制支架材料表面的孔径和孔隙率大小,使其适合表皮细胞的生长。

2.2 中层

支架材料决定了人工皮肤的抗张强度、生物活性、渗透性和吸水性等性质。复合 NMCF 组织工程支架材料具有良好的抗张强度和多孔结构,有很好的渗透性,容易与创面建立血运联系,提高表皮细胞或自体表皮皮片的成活率。复合生物活性材料使人工皮肤多功能化,能有效促进创面的愈合。

2.3 下层

创面形成后人体的自身修复功能有一个启动过程,人工皮肤的移植也要选择一定的时机^[14]。Innes 首先提出了延期植皮的概念并应用于临床,Smahel 等对延期植皮的血运重建规律进行了比较规范的基础研究^[15]。如在支架材料的下面设计一层药物层,主要组分是多肽、多糖等生物材料和其他具有趋化

免疫细胞、杀菌、促进愈合的药物,可起到一定的缓冲和过渡作用,且对创面具有保护作用。

新型胶原基人工皮肤模型的结构如图 1 所示。

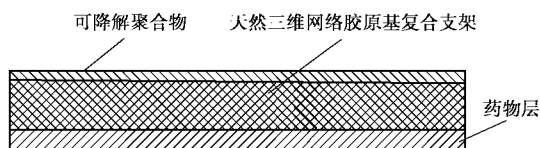


图 1 新型胶原基人工皮肤模型

3 结论及展望

复合 NMCf 人工皮肤主要特点是以天然三维网络结构胶原纤维为支架材料,并在其中复合多种生物活性物质,在结构设计上模拟皮肤的组织结构,使其具有皮肤的部分功能。根据此模型可制备人工真皮,也可以制备培养表皮细胞和成纤维细胞的人工复合皮。这种人工真皮或人工复合皮具有良好生物活性、渗透性和抗张强度,还具有防止创面积液,保持创面湿润,刺激细胞运动、生长、分化和增殖的功能。随着遗传工程改变人胚胎干细胞技术和克隆技术的进步,干细胞应该是这些细胞理想的来源。从理论上讲,用单一的原位细胞可克隆出含多种细胞的复杂的三维立体人体皮肤组织^[6]。相信不久的将来,人们能够培养出一种可被任何人接受的“无排斥细胞”,或者与患者组织遗传构成完全相同的细胞。

这样,真正意义上的人工皮肤将会像活的生物产品一样从车间中培养或在动物身上自然生长出来。

参考文献

- [1] Burke J F. [J]. *The Japanese Journal of Surgery*, 1987, 17: 431 - 438.
- [2] Choi Y S, Hong S R, Lee Y M, *et al.* [J]. *Biomaterials*, 1999, 20 (5): 409 - 417.
- [3] Fitton A R, Drew P, Dickson W A. [J]. *British Journal of Plastic Surgery*, 2001, 54(3): 208 - 212.
- [4] Robert L, Sheridan R G. [J]. *Burns Tompkins*, 1999, 25: 97 - 103.
- [5] 王身国,杨健,蔡晴,等. [J]. *中华整形外科杂志*, 2000, 16(6): 328 - 330.
- [6] 贾赤宇,陈曦. [J]. *中华烧伤杂志*, 2002, 18(1): 8 - 12.
- [7] 高长有,王登勇,袁骏,等. [J]. *生物医学工程学杂志*, 2002, 19(1): 127 - 131.
- [8] Breuer C K, Shinoka T, Tanel R E, *et al.* [J]. *Biotech Bioeng*, 1996, 50(5): 562 - 567.
- [9] 中国人民解放军第二军医大学. 微孔异体(种)无细胞真皮替代物[P]. CN 00125272.0, 2002 - 04 - 10.
- [10] 董群,方积年. [J]. *中国药学杂志*, 2001, 36(10): 650 - 652.
- [11] 李晓娥. [J]. *中国生化药物杂志*, 1998, 19(5): 282.
- [12] Choi Y S, Hong S R, Lee Y M. [J]. *Biomaterials*, 1999, 20(5): 409 - 417.
- [13] 陈意生,史景泉. *烧伤病理学*[M]. 重庆:重庆出版社, 1993. 362.
- [14] 关魁,陈茵. [J]. *中国烧伤创疡杂志*, 2002, 14(2): 89 - 91.
- [15] 贾生贤,廖镇江,黄伯高,等. [J]. *实用美容整形外科杂志*, 2000, 11(3): 136 - 139. ■

2005 年《化学反应工程与工艺》杂志征订启事

《化学反应工程与工艺》是由联合化学反应工程研究所和上海石油化工研究院共同主办,中国石油化工集团公司主管的科学技术类刊物,是全国化学工业类核心期刊之一。在国内外公开发行,国内统一刊号 CN33-1087/TQ,国际标准刊号 ISSN 1001-7631,国际 CODEN 码 HFGGEU。

本刊是以刊登化学反应工程领域的科学研究论文、工程和工艺相结合的应用性论文为主的期刊,并辟有“专论”、“研究论文”、“技术论坛”、“研究简报”等专栏。主要内容包括:化学反应动力学、催化剂及催化反应工程、反应工程技术及其分析、反应装置中的传递过程、流态化及式相流反应工程、聚合反应工程、生化反应工程、反应过程和反应器的数学模型及仿真、工业反应装置结构特性的研究、反应器放大和过程开发以及特约论著等。

订阅办法:本刊为季刊,季末发行。每期定价 5.50 元,全年 22.00 元。订阅者可通过银行或邮局直接汇款。

开户行:工商银行浙大分理处 联合化学反应工程研究所

账号:1202024619914483406

邮汇地址:浙江省杭州浙江大学(玉泉校区)化工系内《化学反应工程与工艺》编辑部

邮编:310027

电话:0571 - 87952503

e-mail:cret1985@zju.edu.cn