

人工皮肤替代物的材料种类及其特征

赵广建¹, 赵耀²

Material types and characteristics of artificial skin substitutes

Zhao Guang-jian¹, Zhao Yao²

Abstract

OBJECTIVE: To evaluate the properties and application of various biological materials for tissue engineered artificial skin substitutes, and to search an alternative to the human body.

METHODS: Using "tissue engineering, artificial skin, scaffold" as the Chinese key words, "tissue engineering, artificial skin, intravascular stent" as the English key words, a computer search was performed for articles published between January 1993 and October 2009. Articles related with the biological materials and artificial skin repair were included; repeat study or Meta analysis articles were excluded. The involving 26 articles mainly discussed tissue engineered artificial skin substitutes and their performance.

RESULTS: Tissue engineered artificial skin is to inoculate the epithelial cells and fibroblasts, which are *in vitro* cultured amplified using tissue engineering technology, into materials with good biocompatibility, and to form skin substitutes of similar epidermis and dermis structures with normal skin following *in vitro* culture. Then skin substitutes are transplanted into the skin wound to achieve wound repair and reconstruction. The currently research focus of tissue engineering biomaterials is how to compound two or more materials, or various kinds of modifications on the surface of biological materials, how to promote adhesion between cells and materials, how to enhance the biological activity of cells, and how to maintain biological functions.

CONCLUSION: There is no one kind of artificial materials that fully comply with the requirements of tissue engineering. Further research should focus on the improvement of the micro-scaffold permeability and biological activity, and promoting the capillary growth; preparing biomaterial scaffold of bionic structure and highly active compound scaffolds.

Zhao GJ, Zhao Y. Material types and characteristics of artificial skin substitutes. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2010;14(29):5467-5470. [http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

摘要

目的: 评价组织工程人工皮肤替代物各种生物材料的性能和应用, 寻找适合人体的替代物。

方法: 以“组织工程, 人工皮肤, 支架材料”为中文关键词, “tissue engineering, Artificial skin, intravascular stent”为英文关键词, 采用计算机检索 1993-01/2009-10 相关文章。纳入与有关生物材料与人工皮肤修复相关的文章; 排除重复研究或 Meta 分析类文章。以 26 篇文献为主重点进行了讨论组织工程人工皮肤替代物及其性能。

结果: 组织工程人工皮肤是应用组织工程技术将体外培养的上皮细胞和成纤维细胞扩增后, 接种于具有良好生物相容性的材料上, 经体外培养, 形成含有与正常皮肤相似的表皮和真皮结构的皮肤替代物。然后将其移植于皮肤创面处, 以实现创伤的修复和重建。将两种或两种以上的材料复合在一起, 或对生物材料表面进行各种各样的修饰, 促进细胞与材料之间的黏附、提高细胞的生物活性、维持生物功能成为目前组织工程生物材料研究的热点。

结论: 目前还没有一种人工材料能完全符合组织工程的要求。进一步提高支架材料的微观渗透性和生物活性, 促进毛细血管的长入; 制备结构仿生支架材料及高活性复合支架材料是今后的研究方向。

关键词: 组织工程皮肤材料; 人工皮肤; 支架材料; 皮肤替代物; 生物相容性

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2010.29.037

赵广建, 赵耀. 人工皮肤替代物的材料种类及其特征[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(29):5467-5470.

[http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

0 引言

皮肤覆盖整个人体外表面, 是个面积广大的器官。皮肤出现严重且大面积缺损或难于愈合的情况下, 在其表面覆盖敷料极其重要。此时敷料起到保护创面、防止体液和蛋白质流失、防止细菌侵入引起炎症的作用, 并对增殖细胞提供支撑。

随着材料科学及生物医学工程科学的进展, 不但促进了人工皮肤修复的发展, 同时对

材料的质量提出了更高的要求^[1]。人工皮肤代用品虽然应用较为广泛, 但仍然存在异物反应和感染等风险。理想的组织工程皮肤应具有能快速并持久地黏附在创面上、促进皮下血管生长、组织相容性良好、创面感染率低、无疾病传播风险等优点, 且在移植后可达到恢复、保留或改进入体受损皮肤组织结构和功能的目的。文章通过分析人工皮肤、皮肤支架材料等问题, 探讨它们的应用前景。本文希望解决以下2个问题: ①人工皮肤替代物的分类及特点? ②人工皮肤组织工程支架材料的性能特点。

¹Department of Medical Education,
²Department of Nephrology, Affiliated Hospital, Medical College of Chinese People's Armed Police Force, Tianjin 300162, China

Zhao Guang-jian, Associate professor, Associate chief physician, Department of Medical Education, Affiliated Hospital, Medical College of Chinese People's Armed Police Force, Tianjin 300162, China
guangjianzhao@yahoo.cn

Correspondence to: Zhao Yao, Physician, Department of Nephrology, Affiliated Hospital, Medical College of Chinese People's Armed Police Force, Tianjin 300162, China

Received: 2010-05-11
Accepted: 2010-06-07

武警医学院附属医院, ¹医教部, ²肾内科, 天津市 300162

赵广建, 男, 1958年生, 河北省魏县人, 汉族, 1980年解放军第四军医大学毕业, 副教授, 副主任医师, 主要从事预防医学与皮肤病学研究。
guangjianzhao@yahoo.cn

通讯作者: 赵耀, 医师, 武警医学院附属医院肾内科, 天津市 300162

中图分类号: R318
文献标识码: B
文章编号: 1673-8225 (2010)29-05467-04

收稿日期: 2010-05-11
修回日期: 2010-06-07
(20100514030W·Y)

1 资料和方法

1.1 资料的纳入与排除标准

纳入标准: ①人工皮肤与组织工程材料治疗皮肤损伤相关的文章。②与组织工程支架材料性能相关的文献。

排除标准: 重复研究或Meta分析类文章。

1.2 资料提取策略

检索人相关内容: 第一作者。

检索时间范围: 2002-03/2010-02。

关键词: 中文关键词: “组织工程, 人工皮肤, 支架材料”; 英文关键词: “tissue engineering, Artificial skin, intravascular stent”。

检索数据库: Pubmed 数据库, 网址 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed>; 维普数据库, 网址 <http://www.cqvip.com/>。

1.3 对纳入文献的评价 文献的类型主要包括动物实验和在体、离体、细胞学实验等417篇, 综述、述评、讲座类文献30篇, 临床研究33篇, 保留26篇进行分析。

2 文献证据综合提炼

2.1 研究对象 在检索到的相关文章中, 其中实验动物学方面的研究比较多, 主要集中在猪^[2], 兔^[3-4], 鼠等实验动物上^[5], 另外也有利用牛等动物的实验研究^[6-7]。

2.2 结果分析 在检索到的文章中, 涉及到人工皮肤性能体外和动物实验研究的文章比较多, 但是在人工皮肤性能研究的文章中主要是人工皮肤的材料、性能及组织工程支架等的研究。

2.3 样本量 在检索到的文章中, 在以鼠和兔为研究对象的文章中, 样本量通常较大, 而利用大型哺乳动物的研究中, 通常样本量较小, 在417篇关于实验动物的文章中, 其样本量的平均值比较见图1。

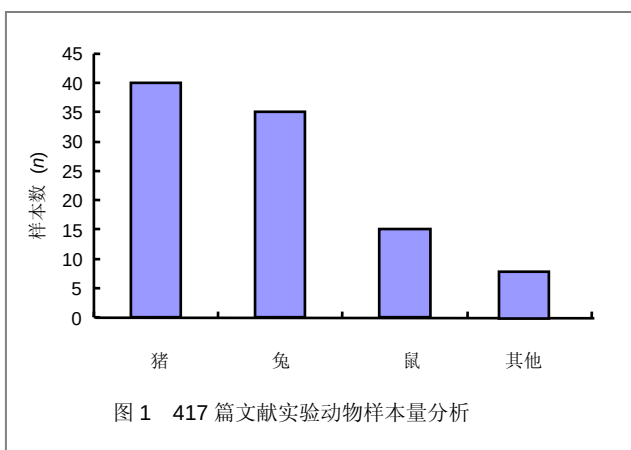


图1 417篇文献实验动物样本量分析

2.4 统计学差异 在统计学设计上, 小型动物的实验研究大多采用完全随机分组的设计方案。由于有多因素参

与, 对实验数据采用多因素方差分析的方法不失为最好的选择。而大型动物的实验研究, 相关的因素大多与时间作用相关联, 采取不同的时间点进行观察比较, 利用重复测量的方差分析较合适。

2.5 临床意义 在检索到的文章, 以基础研究的内容比较多且丰富, 这对今后的临床实验研究有较高的指导意义。尤其在材料的人工复合皮肤及支架材料的实研究中起到良好的基础研究作用。

3 讨论

3.1 人工替代皮肤物的分类及特点 所谓组织工程人工皮肤就是应用组织工程技术将体外培养的上皮细胞和成纤维细胞扩增后, 接种于具有良好生物相容性的材料上, 经体外培养, 形成皮肤。然后将其移植于皮肤创面处, 以实现创伤的修复和重建。人工皮肤的作用主要有3个: 一是防止水分与体液从创面的蒸发与流失; 二是防止感染; 三是使肉芽或上皮能逐渐成长, 促进治愈^[8]。

人工皮肤基本上可分为3个大的类型: 表皮替代物、真皮替代物和全皮替代物。

3.1.1 表皮替代物 由生长在可降解基质或聚合物膜片上的表皮细胞组成; 培养自体表皮移植物的优点是能用少许自体皮肤提供大量可供移植的表皮膜片或细胞, 能迅速恢复皮肤的屏障作用, 并获得良好的功能和美学效果。谢晓繁等^[9]应用差速黏附法、克隆筛选法等分离表皮的干细胞, 并加以诱导、调控, 结果表明: ESCS具有无限增殖和多向分化潜能, 为进一步构建组织工程皮肤提供了重大的使用价值。

也有研究也阐明: 在表皮细胞一生物材料复合物的培养过程中涉及到以下几个问题^[10]: ①角质形成细胞供皮区。②生物材料的选择。③细胞因子。④培养环境。⑤培养方法等问题。但是耗时长, 细胞膜片菲薄易碎, 难以操作, 易感染和发生水泡, 易于破溃, 愈后创面收缩严重等缺点限制了表皮细胞膜片的临床应用^[11]。

3.1.2 真皮替代物 是含有活细菌或不含细胞成分的基质结构, 用来诱导成纤维细胞的迁移、增殖和分泌细胞外基质。真皮替代物在皮肤重建过程中具有重要作用, 可增加创面愈合后的皮肤弹性、柔软性及机械耐磨性, 减少瘢痕增生, 控制痉挛, 而且有些真皮替代物中存在的活性成纤维细胞可促进表皮生长分化, 诱导基底膜形成。因此, 皮肤组织工程学中的热点是再造真皮基质。

理想人工皮肤的真皮基质应有利于新生血管的长入。基底膜是表皮与真皮的交界, 不仅维持皮肤结构的稳定, 而且在表皮细胞的黏附、迁移、增生、分化和形态发生中发挥重要作用。朱堂友等^[12]在真皮替代物中加入有抗菌作用的壳多糖, 既可提高真皮替代物的抗菌能力, 壳多糖的纤维刚性结构又可增强真皮基质的机械耐受力, 延缓创面

细菌胶原酶对真皮基质的降解。成功解决了壳多糖在碱性条件下沉淀的难题, 使制成的凝胶结构均一, 融为一体。李静等^[13]将复合壳多糖人工皮肤移植家兔的研究表明: 移植后真皮内新生血管明显, 真皮基质骨架构建良好, 有利于成纤维细胞和血管内皮细胞的迁移、长入; 再构建良好。真皮基质中的成纤维细胞可影响血管内皮细胞的生长。成纤维细胞可直接促进血管内皮细胞合成 I 型胶原, 后者形成新生血管的基底膜后血管结构才能完整。成纤维细胞还可分泌血管内皮细胞生长因子等, 这些生长因子都是血管内皮细胞生长、分化的激动剂, 可促进血管内皮细胞增生、分化形成新血管。亦有报道血管内皮生长因子 165 基因修饰的人骨髓间充质干细胞接种于脱细胞真皮后可见细胞生长良好^[3], 对培养的骨髓间充质干细胞无明显的毒性作用, 显示血管内皮生长因子修饰骨髓间充质干细胞复合脱细胞真皮基质的成功构建。

3.1.3 全皮替代物 人工复合皮肤是指体外制备的含有与正常皮肤相似的表皮和真皮结构的皮肤替代物。目前, 世界上主要有两种类型的人工复合皮肤。一种是应用材料学和生物工程学原理构建的真皮替代物。该类人工皮肤易于工业化生产, 但易感染, 移植成功率低, 没有表皮层, 不利于细胞生长; 另一类是应用组织培养方法, 以胶原等天然材料为支架构建的人工皮肤替代物。不具备抗感染能力, 培养面积小, 产量低, 移植成功率低^[4]。

理想的人工皮肤应具备以下特点: ①能覆盖并封闭皮肤缺损创面, 被受体永久接受和成活。②由于正常皮肤相近的组织结构, 具有人体皮肤的全部功能。③移植成活率高, 接近正常皮肤生理的愈合质量。④经济易得, 皮肤体外构建所需时间能满足临床实用性需要。⑤安全、不携带病毒^[14]。

I 型胶原蛋白是一种具备生物活性的大分子物质, 具有极好的生物相容性的细胞外基质, 对细胞的黏附、生长、增殖、分化和迁徙起着重要的作用。目前, 中国 I 型胶原基人工皮肤材料的研究和开发尚处于起步阶段, 用于人工皮肤材料的 I 型胶原几乎都是来源于动物, 无法彻底消除免疫原性, 且研制成功的人工皮肤尚未实现血管化, 移植存活率较自体断层皮片低^[15]。

有研究认为: 壳聚糖和甲壳素是制造人造皮肤的理想材料, 以壳聚糖为主要原料制备的人造皮肤质地柔软、舒适, 与创面的贴合性能好, 既透气、又吸水, 不仅有抑菌消炎作用, 而且具有抑制疼痛、止血和促进伤口愈合的功能。随着患者创伤的愈合与自身皮肤的生长, 壳聚糖人造皮肤能自行溶解并被机体吸收, 不但不会留下碎屑而延缓伤口的愈合, 相反还会促进皮肤再生。壳聚糖人造皮肤的使用免除了常规揭除时流血多及减轻了患者的痛苦, 对治疗高热创伤特别有效^[16]。王坤余等^[17]报道, 以生态猪皮为原料的 3D-SC 人工皮肤, 具有较好的降解性。经系列处理除去表皮及皮内可诱发宿主排斥反应的细胞成分, 保留了

完整的纤维组织, 这种无细胞真皮既无免疫成分, 又提供了具有天然结构的真皮支架, 可望作为人工皮肤和组织工程支架材料。

3.2 人工皮肤组织工程支架材料有那些特点 组织工程支架材料最基本的特征是与活体细胞直接结合和与生物系统结合。目前皮肤组织工程支架材料种类繁多, 性能各异, 但还没有一种材料能完全符合组织工程的要求。因此, 许多学者将两种或两种以上的材料复合在一起, 或对生物材料表面进行各种各样的修饰, 促进细胞与材料之间的黏附、提高细胞的生物活性、维持生物功能成为目前组织工程生物材料研究的热点。为种子细胞提供生长和代谢的环境, 是人工皮肤研究中的重要内容。

目前, 用于制备真皮支架的材料种类较多, 难以明确分类, 一般多根据材料的来源大体分为, 按来源分为合成支架材料和天然支架材料。

3.2.1 合成支架材料 通过表面仿生技术增强其对细胞的黏附性。合成生物材料主要由聚乳酸、羟基乙酸、 β 2 羟基丁酸等聚合而成, 由于来源广泛、可塑性强、可生物降解、适合于规模化生产。

作为组织工程真皮支架的生物材料, 一般必须具有以下性能: 生物可降解性; 良好的生物相容性和细胞亲和性; 呈特定的三维多孔结构; 一定的力学性能; 可加工性及可消毒性。合成生物材料在这些方面均具有相当的优势^[18]。

石柱欣等^[19]制备了聚乳酸、聚乳酸-己内酯多孔支架, 并以生物相容性较好的猪的无细胞真皮为参比, 分别把 3 种材料植入大鼠背部肌层, 术后定期取大鼠皮下埋藏组织进行组织学检测。结果说明聚乳酸与聚乳酸-己内酯的生物相容性较 ADM 差, 但并未出现明显的异物排斥反应, 两者的生物相容性基本上可以满足组织工程中对支架的要求, 这为聚乳酸类人工皮肤的进一步研究提供了有意义的实验依据。

3.2.2 天然支架材料 通过物理或化学方法提高其力学性能和渗透性等。包括胶原、葡糖胺聚糖、壳聚糖、明胶等。

胶原: 胶原广泛存在于人和动物的结缔组织中, 具有高度的细胞黏附性, 在细胞的迁移中起到支持和润滑的作用, 还可诱导一些细胞生长因子的释放, 可降解性良好, 其产品被广泛应用于组织工程皮肤支架基材。胶原具有生物相容性好, 引导组织再生, 低抗原性, 植入后炎症反应温和, 无毒无副作用, 加快创口的愈合, 可降解性等优点, 已被普遍接受为制备人工皮肤的主要材料, 其缺点是降解速度受到体内胶原酶的影响, 降解速度快, 机械强度差, 对于细胞的吸附、生长、增殖还不如聚乙烯薄膜。黄汉萍等^[20]从成年牛筋腱中提取的 I 型胶原、甲壳糖、透明质酸为基材, 采用冷冻干燥、戊二醛交联的方法, 制备一种新型的含甲壳糖 8%, 10% 的胶原复合膜, 实验表明是较理

想的活性人工皮肤骨架材料。

胶原海绵作为构建活性人工皮肤的三维支架已得到广泛认可,但其降解受局部因素的影响大,降解速度可控性不如人工多聚物,机械性能差,在液体中很难保持其孔隙结构。因此目前常采取交联以及添加多糖类物质等来弥补这些缺陷。扬运等^[21]表明:添加壳聚糖后胶原海绵的孔隙率和吸水率下降,添加硫酸软骨素后上升,而添加肝素后无明显变化。3种添加剂均可减少基质收缩,增强材料的抗降解性能,但种间差异不明显。与纯胶原海绵相比,复合海绵可进一步促进细胞的吸附和增殖,其中添加壳聚糖和肝素的效果相当,优于硫酸软骨素。此外,曹成波等^[22]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。实验证明: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。

壳聚糖:壳聚糖是甲壳素经脱乙酰基后,精制而成的可溶性甲壳素。据报道,壳聚糖具有良好的成膜性、生物降解性和生物相容性^[23]。壳聚糖在体外溶菌酶、体内体液的作用下有明显的降解,对机体较安全,是一种良好的天然医用高分子材料。近几年的研究集中于化学、复合改性以提高其耐降解性与细胞黏附性。汪皓^[24]经多年的试验表明,壳聚糖医用敷料对烧伤、烫伤、切割伤、皮肤溃疡等有很好的治疗效果,值得进一步推广应用。高珊等^[25]采用冷冻干燥法可以成功制备壳聚糖-明胶支架,其立体结构与支架性能密切相关。支架的孔隙结构取决于预冻过程中形成冰晶的形状和大小,因此通过调节预冻溶液的固含量、壳聚糖与明胶的配比、预冻温度以及明胶的种类可以控制支架的结构和性能。从而得到满足需要的支架材料。

此外,壳聚糖是一种天然多糖,能够为细胞黏附和迁移提供更多的结合位点,其多孔材料具有一定的弹性和柔韧性,与自体皮同时移植修复烧伤创面时,愈合后可明显减小关节活动受限^[26]。

4 参考文献

- [1] 刘世宇,陆伟,张晓军,等. 脂肪干细胞和纤维蛋白胶快速构建人工皮肤修复创面的研究[J]. 实用口腔医学杂志,2009,25(6): 769-773.
- [2] 程树军,焦红,秦瑶. 体外构建新型化妆品检测用皮肤Inspectskin 1的初步研究[J]. 毒理学杂志,2008,22(6):428-430.
- [3] 张向荣,刘德伍,郭光华,等. 血管内皮生长因子165基因修饰人骨髓间充质干细胞复合兔脱细胞真皮基质构建活性组织工程皮肤[J]. 中国组织工程研究与临床康复,2008,12(43):8401.
- [4] 魏刚强,孙少艾,徐刚. 烧伤创面外用人工皮肤的研究与临床应用[J]. 中国组织工程研究与临床康复,2008,12(19): 3725-3728.
- [5] 邹剑,张长青,曾炳芳. 复合角化细胞人工皮肤的实验研究——小香猪角化细胞库的构建[J]. 组织工程与重建外科杂志,2008,4(2): 85.
- [6] 但卫华,廖隆理,林海,等. 3D-SC人工皮肤材料组织相容性的实验研究[J]. 生物医学工程与临床,2007,11(5):333-336.
- [7] 尹桂波. 静电纺纳米纤维支架在组织工程中的应用进展[J]. 南通纺织职业技术学院学报,2007,7(2):15-18.
- [8] 王令允,陈西广,刘成全,等. 医用壳聚糖膜的性能及用途[J]. 中国海洋大学学报: 自然科学版,2006,36(2):215-220.
- [9] 谢晓繁,贾赤宇,付小兵,等. 表皮干细胞分离和鉴定的研究进展[J]. 感染·炎症·修复,2005,6(1): 42-44.
- [10] 张青华,顾汉卿. 人工皮肤的研究进展[J]. 透析与人工器官,2006, 17(4):18-25.
- [11] 《中国组织工程研究与临床康复》杂志社学术部. 组织工程皮肤研究的临床应用:表皮与支架材料及其他[J]. 中国组织工程研究与临床康复,2010,14(2): 306-308.
- [12] 朱堂友,伍津津,胡浪,等. 复方壳多糖皮肤替代物的制备[J]. 中华创伤杂志,2002,18(10): 625-626.
- [13] 李静,伍津津,鲁元刚,等. 复合壳多糖人工皮肤移植真皮再构建的初步研究[J]. 中国临床康复,2003,7(4): 572-573.
- [14] 来国莉,付丽红. 胶原在组织工程人工皮肤中的应用[J]. 陕西科技大学学报,2004,22(3): 113-117.
- [15] 据海燕,王坤余,苏德强,等. I型胶原基生物材料的应用研究[J]. 西部皮革,2007,29(10): 29-34.
- [16] 汪浩. 壳聚糖基生物医用材料研究新进展[J]. 云南中医中药杂志,2006,27(4): 55-57.
- [17] 王坤余,但卫华,李志强,等. 3D-SC人工皮肤材料体外降解性能研究[J]. 中国修复重建外科杂志,2005,19(8): 658-661.
- [18] 田建广,夏照帆. 生物合成支架材料的研究进展[J]. 中华烧伤杂志,2003,19(S1): 75-78.
- [19] 石柱欣,王身国,贝建中,等. 皮肤组织工程—细胞支架的构筑及其生物相容性评价[J]. 北京生物医学工程,2002,21(3):222-225.
- [20] 黄汉萍,牟善松,屠美,等. 活性人工皮肤的骨架——一种新型胶原复合膜的制备及性能研究[J]. 中国医学物理学杂志,2003,20(4): 293.
- [21] 杨运,周燕,华平,等. 添加剂对活性人工皮肤胶原海绵支架材料的影响[J]. 功能高分子学报,2004,(3).
- [22] 曹成波,宋国栋,刘宗林,等. 新型胶原基人工皮肤模型的建立[J]. 现代化工,2005,25(1):64-66.
- [23] 孙坚,李明珠,徐军. 壳聚糖膜的降解性及生物反应性研究[J]. 同济大学学报:医学版,2002,23(3):236-237.
- [24] 汪浩. 壳聚糖基生物医用材料研究新进展[J]. 云南中医中药杂志,2006,27(4): 55-57.
- [25] 高珊,赵莉,崔磊,等. 壳聚糖-明胶支架材料的制备及性能研究[J]. 组织工程与重建外科,2005,1(6): 316-318.
- [26] 房瑞,许零,陈欣,等. 组织工程皮肤支架材料和种子细胞的研究进展[J]. 中国组织工程研究与临床康复,2009,13(47): 9329-9333.