

丝素蛋白支架修复颊黏膜缺损

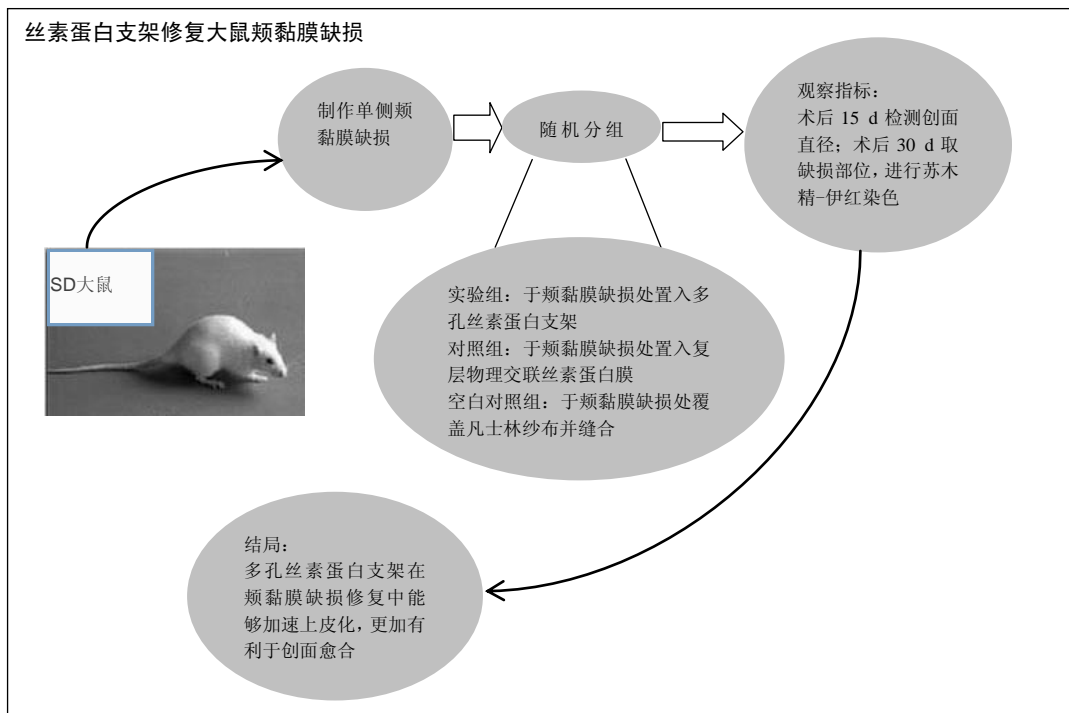
王忠朝^{1,2}, 范丽苑^{1,3}, 蔡炜^{1,3}, 蒋俊强^{1,2} (西南医科大学口腔颌面修复重建和再生实验室, 四川省泸州市 646000; 西南医科大学附属口腔医院, ²牙周粘膜科, ³修复科, 四川省泸州市 646000)

引用本文: 王忠朝, 范丽苑, 蔡炜, 蒋俊强. 丝素蛋白支架修复颊黏膜缺损[J]. 中国组织工程研究, 2016, 20(12):1738-1744.

DOI: 10.3969/j.issn.2095-4344.2016.12.010

ORCID: 0000-0002-9460-0255(王忠朝)

文章快速阅读:



王忠朝, 男, 1980年生, 四川省峨眉山市人, 汉族, 2008年四川大学华西口腔医学院毕业, 硕士, 主治医师, 主要从事牙周病的病因及防治研究。

通讯作者: 范丽苑, 讲师, 西南医科大学附属口腔医院修复科, 四川省泸州市 646000

中图分类号: R318

文献标识码: A

文章编号: 2095-4344

(2016)12-01738-07

稿件接受: 2016-02-03

http://www.crter.org

文题释义:

丝素蛋白: 是从蚕丝中提取的天然高分子纤维蛋白, 含量占蚕丝的 70%-80%, 含有 18 种氨基酸, 其中甘氨酸(Gly)、丙氨酸(Ala)和丝氨酸(Ser)约占总组成的 80%以上。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, 而且经过不同处理可以得到不同的形态, 如纤维、溶液、粉、膜及凝胶等。

丝素蛋白支架修复损伤创面: 丝素蛋白材料支架抗原性相对较低, 并不会产生排异反应, 同时该材料具有天然的三维立体结构, 能够有效诱导细胞按照一定的规律生长; 丝素蛋白材料支架具有良好的通气性, 能够为大鼠创面愈合创造良好的生物条件, 从而更加有利于创面基底部位组织液渗透到创面; 丝素蛋白材料支架在运用时具有一定的可吸收性, 能够避免了置入支架后二次手术。

摘要

背景: 丝素蛋白属于天然的大分子材料, 含有一种与细胞黏附关系密切的特殊三肽结构, 即精-甘-天冬氨酸肽结构, 能促进细胞在纤维材料表面迁移、黏附和增殖, 影响细胞的形态和功能。

目的: 比较不同丝素蛋白支架修复大鼠颊黏膜缺损的效果。

方法: 取 90 只 SD 大鼠, 制作单侧颊黏膜缺损模型, 随机分为 3 组, 每组 30 只, 实验组于颊黏膜缺损处置入多孔丝素蛋白支架, 对照组于颊黏膜缺损处置入复层物理交联丝素蛋白膜, 空白对照组于颊黏膜缺损处覆盖凡士林纱布并缝合。术后 15 d 检测创面直径; 术后 30 d 取缺损部位, 进行苏木精-伊红染色。

结果与结论: ①颊黏膜创面直径检测结果: 术后 15 d, 实验组颊黏膜创面直径显著小于对照组、空白对照组($P < 0.05$), 对照组小于空白对照组($P < 0.05$)。②苏木精-伊红染色结果: 术后 30 d, 实验组上

Wang Zhong-chao, Master, Attending physician, Orofacial Reconstruction and Regeneration Laboratory, Southwest Medical University, Luzhou 646000, Sichuan Province, China; Department of Periodontics & Oral Medicine, Hospital of Stomatology, Southwest Medical University, Luzhou 646000, Sichuan Province, China

Corresponding author: Fan Li-yuan, Lecturer, Orofacial Reconstruction and Regeneration Laboratory, Southwest Medical University, Luzhou 646000, Sichuan Province, China; Department of Prosthodontics, Hospital of Stomatology, Southwest Medical University, Luzhou 646000, Sichuan Province, China

皮细胞钉突相对较多, 丝素蛋白纤维部分吸收降解, 成纤维细胞数明显多于对照组、空白对照组 ($P < 0.05$), 炎性细胞数少于对照组、空白对照组 ($P < 0.05$)。③结果证明, 多孔丝素蛋白支架在颊黏膜缺损修复中能够加速上皮化, 更加有利于创面愈合。

关键词:

生物材料; 口腔生物材料; 丝素蛋白材料支架; 复层物理交联丝素蛋白膜; 颊黏膜缺损; 修复; 应用效果; 物理性状; 创面愈合

主题词:

丝素蛋白; 口腔粘膜; 细胞粘附; 组织工程

基金资助:

四川医科大学口腔医学院省级大学生创新训练计划项目(201510632020): 下颌第一前磨牙单根管显微CT研究; 四川医科大学口腔医学院校级大学生创新训练计划项目(2015131): 下颌第一前磨牙单根管显微CT研究; 四川医科大学附属口腔医院院级课题: 舌侧与唇侧固定矫治器戴入前后牙周可疑病原菌和牙周临床指数变化的比较研究; 四川医科大学 2015 年国家级大学生创新创业训练计划项目(201510632020): 下颌第一前磨牙单根管显微CT研究

Silk fibroin scaffold for repair of buccal mucosa defects

Wang Zhong-chao^{1,2}, Fan Li-yuan^{1,3}, Cai Wei^{1,3}, Jiang Jun-qiang^{1,2} (¹Orofacial Reconstruction and Regeneration Laboratory, Southwest Medical University, Luzhou 646000, Sichuan Province, China; ²Department of Periodontics & Oral Medicine, ³Department of Prosthodontics, Hospital of Stomatology, Southwest Medical University, Luzhou 646000, Sichuan Province, China)

Abstract

BACKGROUND: Fibroin is a natural macromolecular material with Arg-Gly-Asp peptide structure that is a special tripeptide structure closely related to cell adhesion, and it can promote cell migration, adhesion, and proliferation and influence cell morphology and function.

OBJECTIVE: To compare the effects of different silk fibroin scaffolds to repair buccal mucosa defects in rats.

METHODS: Ninety Sprague-Dawley rats were selected to make unilateral buccal mucosa defect models, and randomly divided into three groups, 30 rats in each group: porous silk fibroin scaffold was implanted into the buccal mucosa defect in experimental group, multi-layered crosslinked silk fibroin film was implanted into the buccal mucosa defect in control group, and vaseline gauze was used to cover the buccal mucosa defect followed by suturing in blank control group. After 15 days, wound diameter was detected; after 30 days, bone defect tissues were taken for hematoxylin-eosin staining.

RESULTS AND CONCLUSION: At postoperative 15 days, the wound diameter was significantly smaller in the experimental group than the control and blank control groups ($P < 0.05$), as well as smaller in the control group than the blank control group ($P < 0.05$). Hematoxylin-eosin staining showed that at 30 days after operation, there were more epithelial spikes and fibroblasts, but less inflammatory cells in the experimental group than the other two groups ($P < 0.05$), and fibroin fibers were partially absorbed and degraded in the experimental group. These findings indicate that porous silk fibroin scaffold for buccal mucosa defect repair can accelerate epithelialization and wound healing.

Subject headings: Silk; Mouth Mucosa; Cell Adhesion; Tissue Engineering

Funding: the Provincial-Level Innovation Training Plan for Undergraduates in the Stomatological School of Southwest Medical University, No. 201510632020; the University-Level Innovation Training Plan for Undergraduates in the Stomatological School of Southwest Medical University, No. 2015131; the Hospital-Level Project of the Hospital of Stomatology, Southwest Medical University; the National-Level Innovation Training Plan for Undergraduates in Southwest Medical University in 2015, No. 201510632020

Cite this article: Wang ZC, Fan LY, Cai W, Jiang JQ. Silk fibroin scaffold for repair of buccal mucosa defects. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2016;20(12):1738-1744.

0 引言 Introduction

口腔黏膜位置相对特殊, 它覆盖口腔表面, 前方与唇部皮肤相连, 后方与咽喉黏膜相连, 通过抵抗机械性刺激、限制毒性物质、微生物入侵及唾液的分泌等发挥口腔保护作用。口腔颌面部肿瘤、癌前病变及癌症均会造成外貌缺陷和功能障碍。传统修复材料主要以颊黏膜瓣、筋膜瓣或自体皮片移植、游离肌皮瓣等方法完成^[1-2]。传统的治疗方法具有组织易成活、机体无排斥反应、无感染等优点, 但由于机体口腔黏膜缺损和重建相对重要, 导致这些治疗方法受到一定的限制。对于自体皮片或皮瓣移植患者需要开辟第二手术区, 增加手术创伤, 影响患者术后恢复; 同时, 手术过程相对复杂, 如果组织且取范围过大, 将会引起供区畸形; 移植的组织难以转化为正常的口腔黏膜, 不能发挥口腔黏膜分泌、吞咽等正常生理功能, 影响治疗效果。

颊黏膜缺损在选择修复材料时应该注意以下事项: 应选择构建组织工程化口腔黏膜, 且修复时应选择性能优良的“种子细胞”, 巧妙地避免发生排斥反应, 将足够数量的细胞接种在三维支架上进行修复, 促进缺损部位细胞的黏附、分化、生长等, 形成更有活力的口腔黏膜^[3]; 修复材料还必须能够促进上皮细胞增殖、分化, 以及血管内皮细胞发生迁移^[4-5]。传统的修复材料主要有胶原、脱细胞真皮基质等, 这种修复材料均存在缺陷, 不利于缺损部位的修复^[6-7]。丝素蛋白作为一种天然大分子材料, 能够促进细胞在纤维材料表面的迁移、黏附等功能^[8-9]。因此, 临床上将丝素蛋白作为新型支架材料具有广泛的应用前景。相关学者进行了一次实验, 实验中采用丝素纳米无纺布材料培养出纤维原细胞、上皮细胞等, 结果显示培育出现的细胞生长良好, 性能优越, 能够为临床上颊黏膜缺损修复奠定基础^[10-11]。实验比较不同丝素蛋白支架修复大鼠颊黏膜缺损的效果。

1 材料和方法 Materials and methods

1.1 设计 随机对照动物实验。

1.2 时间及地点 于2015年1至8月在西南医科大学口腔颌面修复重建和再生实验室完成。

1.3 材料 多孔丝素蛋白支架、复层物理交联丝素蛋白膜均由苏州大学纺织与服装工程学院提供, 该支架属于是一种外用支架, 能够培养出内皮细胞、角化细胞、成骨细胞等多种生物细胞, 且细胞生长良好, 具有较高的细胞相容性, 不会产生机体排斥反应。

实验动物: 90只清洁级SD大鼠, 体质量0.18~0.32 kg,

平均(0.21±0.02) kg, 雌雄随机, 由南京中医药大学动物实验中心提供, 饲养严格遵守相关标准进行饲养, 合格证号为SCXK(粤)2007-0010。对大鼠进行等条件喂养, 对大鼠的处理符合《关于善待实验动物的指导下意见》中相关规则。将90只大鼠采用随机对照方法分为实验组、对照组及空白对照组, 每组30只。

丝素蛋白支架修复颊黏膜缺损实验用仪器和试剂:

丝素蛋白支架修复颊黏膜缺损仪器和试剂	厂家
广谱细胞角蛋白抗体、SABC 通用型免疫组化试剂盒、DAB 显色试剂盒	武汉博士德有限公司
倒置相差电子显微镜	日本 Olympus 公司
石蜡切片机	德国 SIGMA 公司

1.4 实验方法 将入选90只大鼠采用3.6%水合氯醛腹腔注射全身麻醉, 待麻醉生效后进行消毒、铺巾^[12-13]。显微镜下采用手术刀取直径为10 mm的圆形全层口腔颊黏膜, 深度达到肌层, 彻底止血后即为大鼠颊黏膜缺损模型, 见图1; 采用棉球充分止血后, 实验组将修剪成相同直径的经紫外线辐射消毒的圆形丝素蛋白支架, 对照组将修剪成相同直径的经紫外线辐射消毒的脱细胞基质材料, 反铺在凡士林纱布上, 采用7-0尼龙线将纱布缝合在创面口腔黏膜上, 然后再取两块油纱步覆盖在上方, 使用2块凡士林纱布进行覆盖, 缝合^[14-16]; 空白对照对照组大鼠缺损模型建立待彻底止血后, 仅使用凡士林纱布进行覆盖, 缝合^[17-18]。

1.5 主要观察指标

颊黏膜创面直径变化: 术后进行常规饲养, 观察大鼠恢复情况。术后5, 10, 15 d, 从3组大鼠中各挑选出5只, 观察缺损创面修复情况, 记录颊黏膜创面直径变化^[19-20]。

缺损修复部位细胞数及形态观察: 术后10, 20, 30 d, 从3组大鼠中各挑选出5只处死, 取缺损部位新生黏膜组织, 将标本组织修剪成3 mm×3 mm×3 mm大小, 进行苏木精-伊红染色, 观察缺损修复部位的形态变化, 随机选取5个视野, 在计数400倍镜下观察炎性细胞及成纤维细胞数目^[21-22]。

1.6 统计学分析 采集数据采用SPSS 18.0进行统计学处理, 计数资料行 χ^2 检验, 采用n/%表示; 计量资料行t检验, 采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, $P < 0.05$ 差异有显著性意义。

2 结果 Results

2.1 实验动物数量分析 90只SD大鼠全部进行结果

分析, 中途无脱落。

2.2 各组颊黏膜创面直径变化 术后5 d, 实验组、对照组颊黏膜创面直径显著大于空白对照组($P < 0.05$), 实验组与对照组颊黏膜创面直径比较差异无显著性意义($P > 0.05$); 术后10 d, 实验组、对照组颊黏膜创面直径显著大于空白对照组($P < 0.05$), 实验组颊黏膜创面直径显著小于对照组($P < 0.05$); 术后15 d, 实验组颊黏膜创面直径显著小于对照组、空白对照组($P < 0.05$), 对照组颊黏膜创面直径显著小于空白对照组($P < 0.05$), 见表1。

表1 各组术后不同时间点颊黏膜创面直径的变化
($\bar{x} \pm s$, $n=5$, mm)

Table 1 Changes in buccal wound diameters in different groups at different postoperative time

组别	术后 5 d	术后 10 d	术后 15 d
实验组	6.31±0.15 ^a	3.16±0.45 ^{ab}	1.19±0.21 ^{ab}
对照组	7.43±0.13 ^a	4.34±1.15 ^a	1.25±0.12 ^a
空白对照组	4.45±0.31	2.88±0.41	1.92±0.52

表注: 与空白对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与对照组比较, ^b $P < 0.05$ 。

2.3 各组大鼠缺损修复部位炎性细胞数及成纤维细胞数比较

炎性细胞数: 术后10 d, 实验组炎性细胞数低于空白对照组($P < 0.05$), 但高于对照组($P < 0.05$); 对照组炎性细胞数低于空白对照组($P < 0.05$)。术后 20 d, 实验组炎性细胞数低于对照组、空白对照组($P < 0.05$),



图1 大鼠全层口腔颊黏膜缺损模型的建立
Figure 1 Preparation of a unilateral buccal mucosa defect model in a rat

图注: 图中 A 为大鼠全层口腔颊黏膜缺损模型(10 mm×10 mm); B 为术后荷包缝合。

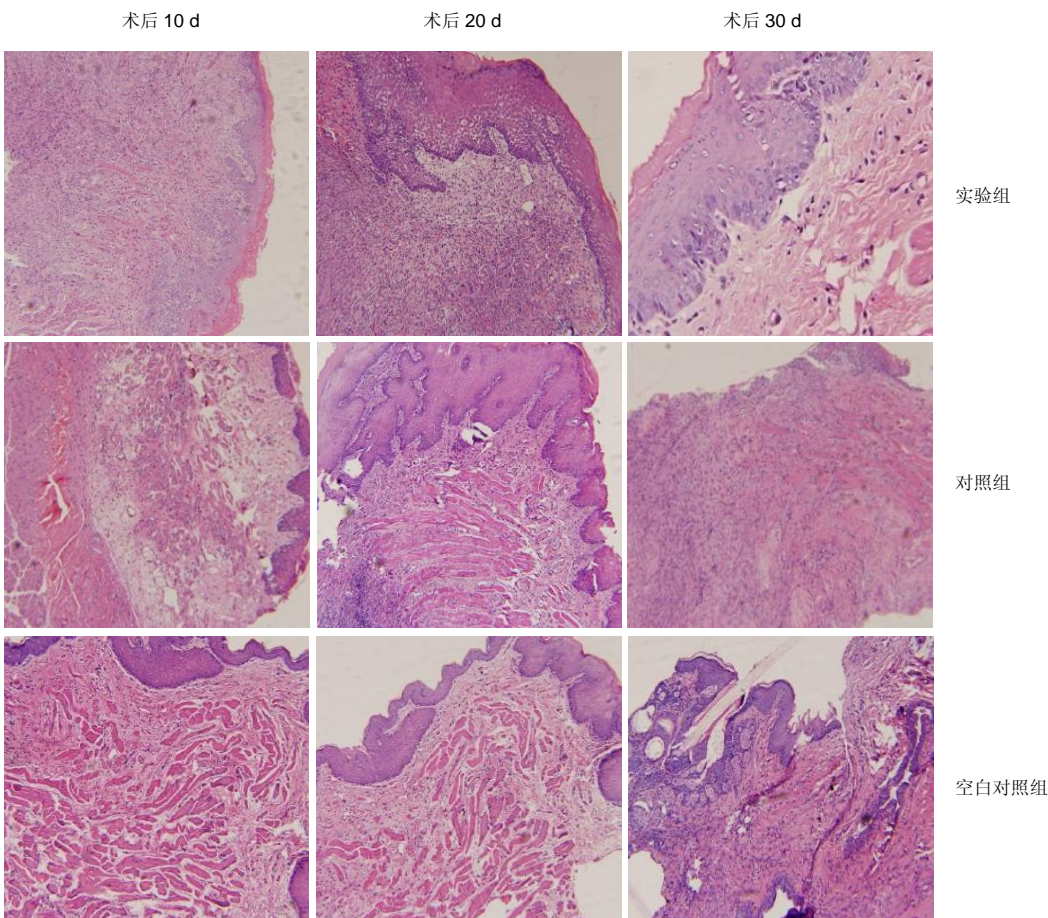


图2 各组术后不同时间点缺损部位苏木精-伊红染色结果(光镜, ×400)
Figure 2 Hematoxylin-eosin staining of buccal mucosa defects at different time after operation (light microscope, ×400)
图注: 术后 20, 30 d, 实验组术区上皮细胞钉突相对较多, 丝素蛋白纤维部分吸收降解; 对照组上皮细胞层数逐渐增加, 排列相对增加, 成纤维细胞、炎性细胞较多; 空白对照组炎性细胞数相对较多。

表 2 各组大鼠缺损修复部位炎性细胞数与成纤维细胞数的比较

($\bar{x} \pm s$, 个/ $\times 400$)

Table 2 Comparison of the number of inflammatory cells and fibroblasts in the defect region among different groups after repair

组别	炎性细胞			成纤维细胞		
	术后 10 d	术后 20 d	术后 30 d	术后 10 d	术后 20 d	术后 30 d
实验组	77.23 \pm 8.21 ^{ab}	64.00 \pm 12.39 ^a	38.39 \pm 5.40 ^{ab}	26.61 \pm 3.38	62.80 \pm 3.42 ^{ab}	99.59 \pm 8.65 ^{ab}
对照组	54.38 \pm 6.89 ^a	186.35 \pm 13.65 ^{ab}	81.39 \pm 5.32 ^a	14.78 \pm 1.30 ^a	54.00 \pm 2.25 ^a	36.19 \pm 4.34
空白对照组	220.79 \pm 22.34	184.34 \pm 22.49	101.19 \pm 9.88	58.46 \pm 7.36	82.45 \pm 3.81	67.52 \pm 4.24

表注: 与空白对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与对照组比较, ^b $P < 0.05$ 。

对照组炎性细胞数高于空白对照组($P < 0.05$); 术后 30 d, 实验组炎性细胞数低于对照组、空白对照组($P < 0.05$), 对照组炎性细胞数低于空白对照组($P < 0.05$), 见表 2。

成纤维细胞数: 术后 10 d, 实验组成纤维细胞数与空白对照组、对照组比较差异均无显著性意义($P < 0.05$), 对照组成纤维细胞数低于空白对照组($P < 0.05$)。术后 20 d, 实验组成纤维细胞数高于对照组($P < 0.05$), 低于空白对照组($P < 0.05$); 对照组成纤维细胞数低于空白对照组($P < 0.05$); 术后 30 d, 实验组成纤维细胞数高于对照组、空白对照组($P < 0.05$), 对照组、空白对照组成纤维细胞数比较差异无显著性意义, 见表 2。

2.4 各组大鼠缺损部位形态学观察 术后 10 d, 实验组术区创缘可见新生上皮细胞, 新生肉芽组织富含毛细血管、炎性细胞及成纤维细胞; 对照组可见创面少量新生上皮细胞覆盖, 厚度不均, 细胞出现肿胀; 对照组新生肉芽组织可见大量炎性细胞、成纤维细胞, 新生上皮层数较少。术后 20, 30 d, 实验组术区上皮细胞钉突相对较多, 丝素蛋白纤维部分吸收降解; 对照组上皮细胞层数逐渐增加, 排列相对增加, 成纤维细胞、炎性细胞较多; 空白对照组炎性细胞数相对较多, 见图 2。

3 讨论 Discussion

丝素蛋白属于是天然的分子, 而蚕丝主要是由于丝胶蛋白包绕丝素形成, 其中丝胶蛋白约占 25%, 而丝素蛋白则占 75%。丝胶蛋白虽然亲水性较高, 但置入机体后容易引起过敏反应。丝素蛋白的重要组成部分, 如氨基酸等, 与人体十分类似, 尤其是与人体的皮肤及头发等部位组织十分接近, 能够保持天然的高度亲和性^[23-24]。同时, 丝素蛋白分子以其特殊的分子链使得该材料具有一定的降解性。根据相关研究结果显示, 丝素蛋白体外置入支架, 能够有效培养内皮细胞、成纤维细胞及成骨细胞等^[25-26]。本实验中, 实验组术后 20, 30 d 炎性细胞数显著少于对照组和空白对照组($P < 0.05$); 实验组术

后 30 d 的成纤维细胞数显著多于对照组和空白对照组($P < 0.05$), 由此看出: 丝素蛋白支架具有良好的细胞生物相容性^[27-28]。

传统材料如聚氨基乙酸脂膜等材料在进行体外培养时, 虽然也具备良好的细胞相容性, 但当置入大鼠机体后, 这些材料对中性粒细胞、巨噬细胞等具有明显的趋化作用, 容易造成急性炎性反应和排异反应^[29-30]。丝素蛋白材料支架与其他支架相比, 具有以下优点: 丝素蛋白材料支架抗原性相对较低, 并不会产生排异反应, 同时该材料具有天然的三维立体结构, 能够有效诱导细胞按照一定的规律生长^[31-32]; 丝素蛋白材料支架具有良好的通气性, 能够为大鼠创面愈合创造良好的生物条件, 从而更加有利于创面基底部位组织液渗透到创面^[33-34]; 丝素蛋白材料支架在运用时具有一定的可吸收性, 能够避免了置入支架后二次手术^[35-36]。口腔黏膜的伤口愈合从大的角度来说可以分为 3 个时期, 即炎症期、血管生成期、成纤维细胞增生期, 上皮再生期及伤口收缩期等。丝素蛋白材料支架的置入能促进皮肤创面的愈合, 并且患者创面愈合后并不会出现瘢痕^[37-38]。本实验中, 实验组、对照组术后 5 d 的颊黏膜创面直径显著大于空白对照组($P < 0.05$); 对照组术后 10 d 的颊黏膜创面直径显著大于空白对照组($P < 0.05$); 实验组、对照组术后 15 d 的颊黏膜创面直径显著小于空白对照组($P < 0.05$)。随着时间的不断推移, 实验组口腔缺损部位从炎症期、过度到血管生成期和成纤维细胞增生期, 使得术后 30 d 后口腔缺损部位后续愈合速度相对较快。同时, 丝素蛋白材料支架由于免疫原性较低, 创伤愈合能力较高, 已被广泛运用于深度烧伤后皮肤缺损、口腔黏膜缺损等修补中。此外, 颊黏膜缺损过程中置入丝素蛋白材料支架时, 可结合组织学、免疫组化切片检测, 能够正确指导治疗, 均需要进一步研究和分析^[39-40]。

综上所述, 丝素蛋白具有良好的组织相容性, 能够调节生物降解性、形态可塑性。研究证明, 丝素蛋白材

料支架在颊黏膜缺损修复中能够加速上皮化, 更加有利于创面愈合, 为口腔黏膜修复提供新的修复方法。

作者贡献: 王忠朝进行实验设计, 实施为范丽苑, 实验评估为蔡炜, 资料收集为蒋俊强, 范丽苑成文, 王忠朝审校。

利益冲突: 所有作者共同认可文章无相关利益冲突。

伦理问题: 实验方案经四川大学动物实验伦理委员会批准, 实验动物在水合氯醛麻醉下进行所有的手术, 并尽一切努力最大限度地减少其疼痛、痛苦和死亡。

文章查重: 文章出版前已经过 CNKI 反剽窃文献检测系统进行 3 次查重。

文章外审: 本刊实行双盲外审制度, 文章经国内小同行外审专家审核, 符合本刊发稿宗旨。

作者声明: 第一作者对于研究和撰写的论文中出现的不良行为承担责任。论文中涉及的原始图片、数据(包括计算机数据库)记录及样本已按照有关规定保存、分享和销毁, 可接受核查。

文章版权: 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

4 参考文献 References

- [1] 王海燕,周咏梅,吴岚,等.以胶原膜为支架构建组织工程化人口腔黏膜研究[J].临床口腔医学杂志,2009,25(8):494-496.
- [2] Monteiro IP,Shukla A,Marques AP,et al.Spray-assisted layer-by-layer assembly on hyaluronic acid scaffolds for skin tissue engineering.J Biomed Mater Res A.2015;103(1):330-340.
- [3] N Laird D,Mucalo M,Dias G.Vacuum-assisted infiltration of chitosan or polycaprolactone as a structural reinforcement for sintered cancellous bovine bone graft.J Biomed Mater Res A.2012;100A(8):2018-2026.
- [4] Chen LL,Hu GF.Angiogenin-mediated ribosomal RNA transcription as a molecular target for treatment of head and neck squamous cell carcinoma.Oral Oncology. 2010;46(9): 648-653.
- [5] 姜大朋,李昭铸,张玉波.肌成纤维细胞在创伤愈合中的地位和作用[J].中国临床康复,2006,10(13):158-160.
- [6] 王世清,范志海,沈忆新.不同部位取材的雪旺细胞培养与纯化研究[J].中国修复重建外科杂志,2011,25(2):23-31.
- [7] 苗宗宁,潘宇红,祝建中,等.丝素蛋白支架材料复合骨髓间充质干细胞构建组织工程化软骨[J].中国组织工程研究与临床康复,2008,12(27):5243-5247.
- [8] 李慕勤,王健平,赵莉.天然高分子 / 羟基磷灰石支架材料对成骨细胞增殖的影响[J].黑龙江医药科学,2008, 31(5): 1-2.
- [9] 刘春晓,陈伟豪,郑少波,等.丝素蛋白膜对犬不同长度尿道缺损的修复效果[J].中国组织工程研究与临床康复, 2008, 12(19):3613-3616.
- [10] Lee CH,Shah B,Moioli EK,et al.CTGF directs fibroblast differentiation from human mesenchymal stem/stromal cells and defines connective tissue healing in a rodent injury model.J ClinInvest.2010;120(9):3340-3349.
- [11] 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.Mater Sci Eng C Mater Biol Appl. 2014;34:402-409.
- [12] Yang JA,Chung HM,Won CH,et al.Potential application of adipose-derived stem cells and their secretory factors to skin:discussion from both clinical and industrial viewpoints.Expert Opin Biol Ther. 2010; 10(4):495-503.
- [13] Zulkifli FH,Jahir Hussain FS,Abdull Rasad MS,et al.Improved cellular response of chemically crosslinked collagen incorporated hydroxyethyl cellulose/poly (vinyl)alcohol nanofibers scaffold.J Biomater Appl.2015;29(7):1014-1027.
- [14] 田旭,张福江,阚世康,等.蚕丝组织工程肌腱修复肌腱缺损的实验性研究[J].中国矫形外科杂志,2010,18(4):316-318.
- [15] 张亚,周云,贾立山,等.多孔丝素复合脂肪间充质干细胞支架修复兔尿道缺损能促进血管的形成[J].中国组织工程研究与临床康复,2011,15(47):8777-8781.
- [16] 马瑞珏,郭慧玲,杜改萍,等.丝素蛋白作为组织工程材料应用于角膜的研究进展[J].中国组织工程研究,2012,16(43):8100-8104.
- [17] Mi HY,Salick MR,Jing X,et al.Characterization of thermoplastic polyurethane/polylactic acid (TPU/PLA) tissue engineering scaffolds fabricated by microcellular injection molding.Mater Sci Eng C Mater Biol Appl. 2013;33(8):4767-4776.
- [18] Higa K,Takeshima N,Moro F,et al.Porous Silk Fibroin Film as a Transparent Carrier for Cultivated Corneal Epithelial Sheets.J Biomater Sci Polym Ed.2011;22(17):2261-2276.
- [19] 李楠竹,郭氧,尤元璋.骨盆截骨术治疗小儿先天性髋关节发育不良[J].实用骨科杂志,2010,16(8):582-584.
- [20] 段宏,张开伟,闵理,等.纳米羟基磷灰石/聚酰胺66骨填充材料修复肢体良性骨肿瘤术后骨缺损的疗效分析[J].中国骨与关节外科,2009,2(5):341-346.
- [21] Jansen RG,van Kuppevelt TH,Daamen WF,et al. Tissue reactions to collagen scaffolds in the oral mucosa and skin of rats:environmental and mechanical factors.Arch Oral Biol.2008;53(4):376-387.
- [22] 苗宗宁,李芳,张学光,等.丝素蛋白材料复合骨髓间充质干细胞修复皮肤创面[J].中国组织工程研究,2012,16(51):9616-9623.

- [23] Park SY, Ki CS, Park YH, et al. Electrospun silk fibroin scaffolds with macropores for bone regeneration: an invitro and in vivo study. *Tissue Eng Part A*. 2010; 16(4): 1271-1279.
- [24] 田旭, 张福江, 阚世康. 蚕丝组织工程肌腱修复肌腱缺损的实验性研究[J]. *中国矫形外科杂志*, 2010, 18(4): 316-318.
- [25] 刘小华, 邱伟, 李舒梅, 等. 低蛋白壳聚糖神经导管组织相容性的实验研究[J]. *实用医学杂志*, 2011, 27(8): 1359-1361.
- [26] 张文元, 杨亚冬, 房国坚. 壳聚糖-丝素复合支架材料与骨髓间充质干细胞相容性的研究[J]. *中国卫生检验杂志*, 2010, 20(12): 3084-3086.
- [27] Uberti MG, Pierpont YN, Ko F, et al. Amnion-derived cellular cytokine solution (ACCS) promotes migration of keratinocytes and fibroblasts. *Ann Plast Surg*. 2010; 64(5): 632-635.
- [28] Budiraharjo R, Neoh KG, Kang ET. Hydroxyapatite-coated carboxymethyl chitosan scaffolds for promoting osteoblast and stem cell differentiation. *J Colloid Interface Sci*. 2012; 366(1): 224-232.
- [29] Moutos FT, Guilak F. Functional properties of cell-seeded three-dimensionally woven poly(epsilon-caprolactone) scaffolds for cartilage tissue engineering. *Tissue Eng Part A*. 2010; 16(4): 1291-1301.
- [30] 朱现玮, 徐卫袁, 张兴祥, 等. 多孔型丝素蛋白/羟基磷灰石复合骨髓间充质干细胞修复兔半月板无血运区软骨损伤[J]. *中国组织工程研究*, 2012, 16(29): 5375-5378.
- [31] Zhao Q, Yin J, Feng X, et al. A biocompatible chitosan composite containing phosphotungstic acid modified single-walled carbon nanotubes. *J Nanosci Nanotechnol*. 2010; 10(11): 7126-7129.
- [32] 余荣峰, 邓江, 黄文良, 等. 丝素蛋白/壳聚糖三维支架材料的制备方法[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2011, 15(47): 8821-8824.
- [33] Shavi GV, Nayak UY, Reddy MS, et al. Sustained release optimized formulation of anastrozole-loaded chitosan microspheres: in vitro and in vivo evaluation. *J Mater Sci Mater Med*. 2011; 22(4): 865-878.
- [34] Li FQ, Ji RR, Chen X, et al. Cetirizine dihydrochloride loaded microparticles design using ionotropic cross-linked chitosan nanoparticles by spray-drying method. *Arch Pharm Res*. 2010; 33(12): 1967-1973.
- [35] Rojbani H, Nyan M, Ohya K, et al. Evaluation of the osteoconductivity of alpha-tricalcium phosphate, beta-tricalcium phosphate, and hydroxyapatite combined with or without simvastatin in rat calvarial defect. *J Biomed Mater Res A*. 2011; 98(4): 488-498.
- [36] Zhang Y, Fan W, Ma Z, et al. The effects of pore architecture in silk fibroin scaffolds on the growth and differentiation of mesenchymal stem cells expressing BMP7. *Acta Biomater*. 2010; 6(8): 3021-3028.
- [37] Sekiya N, Ichioka S, Terada D, et al. Efficacy of a poly glycolic acid (PGA)/ collagen composite nanofibre scaffold on cell migration and neovascularisation in vivo skin defect model. *J Plast Surg Hand Surg*. 2013; 47(6): 498-502.
- [38] 郭正, 张佩华. PGA 与 PLA 纤维性能分析及其支架设计[J]. *河南科技大学学报: 自然科学版*, 2012, 33(6): 11-14.
- [39] Gholipour-Kanani A, Bahrami SH, Joghataie MT, et al. Tissue engineered poly (caprolactone)-chitosan-poly (vinyl alcohol) nanofibrous scaffolds for burn and cutting wound healing. *IET Nanobiotechnol*. 2014; 8(2): 123-131.
- [40] Swetha M, Sahithi K, Moorthi A, et al. Synthesis, characterization, and antimicrobial activity of nano-hydroxyapatite-zinc for bone tissue engineering applications. *J Nanosci Nanotech*. 2012; 12(1): 167-172.