

组织工程化皮肤：从形态和功能安全替代的前景

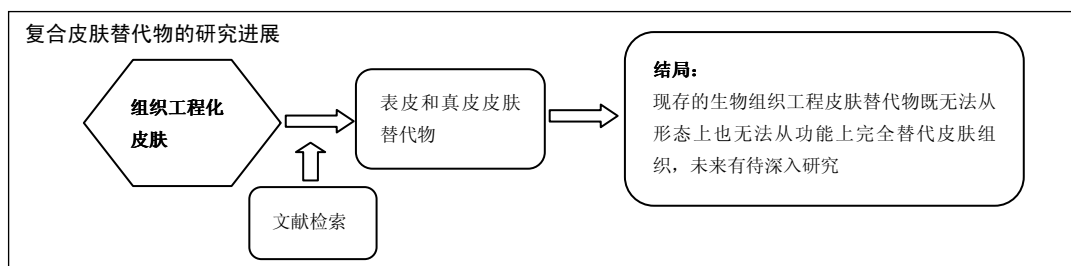
王晓静¹, 王国伟², 惠光艳¹, 赵钦民³ (¹解放军海军青岛第一疗养院口腔科, 山东省青岛市 266071; ²解放军海军第401医院崂山分院口腔科, 山东省青岛市 266061; ³解放军第四军医大学口腔医院, 陕西省西安市 710032)

引用本文: 王晓静, 王国伟, 惠光艳, 赵钦民. 组织工程化皮肤: 从形态和功能安全替代的前景[J]. 中国组织工程研究, 2017, 21(16): 2600-2605.

DOI:10.3969/j.issn.2095-4344.2017.16.024

ORCID: 0000-0001-8771-1099(王晓静)

文章快速阅读:



王晓静, 女, 河南省洛阳市人, 黎族, 2012年第四军医大学毕业, 博士, 主治医师, 目前主要从事组织工程再生医学领域及种植体技术的研究。

通讯作者: 王晓静, 解放军海军青岛第一疗养院口腔科, 山东省青岛市 266071

中图分类号: R318

文献标识码: A

文章编号: 2095-4344

(2017)16-02600-06

稿件接受: 2017-05-08

文题释义:

真皮组织作用: 决定了机体皮肤的外观特征, 并为皮肤提供了牢固的机械保护作用, 真皮在愈合、生长、抗菌和防御外伤等方面起着重要作用。

Integra 人造皮肤: 是目前最为广泛应用的一种人工真皮替代物, 可用于急性重度半厚和全厚皮肤烧伤以及烧伤后皮肤重建。

摘要

背景: 组织工程学是近年来迅速发展起来的一门新学科, 涉及皮肤、角膜、骨、软骨、肌腱等多个领域, 组织工程化皮肤为近年来的研究热点, 组织工程化皮肤为临床解决皮肤缺损的修复提供了良好的前景。

目的: 综述近年来组织工程化皮肤研究新进展。

方法: 由第一作者用计算机检索 Medline 数据库(1996年至2017年), 检索词为“Epidermis; dermis; tissue engineered skin”, 语言设定英文, 从表皮和真皮皮肤替代物对该领域的最新研究现状进行综述, 探讨皮肤组织工程目前存在的问题及未来发展方向。

结果与结论: 纳入文献 65 篇。复合皮肤替代物虽然包括了表皮与真皮两层结构, 但缺乏毛囊、汗腺和皮脂腺等皮肤附属器。如何解决组织工程化皮肤缺少附属器的问题, 仍是目前皮肤组织工程研究的热点和重要方向。组织工程化皮肤的构建要在短时间内, 生产出能够永久覆盖的皮肤替代物, 并可将黑色素细胞和朗格罕氏细胞构建入组织工程皮肤替代物结构中去。现存的生物组织工程皮肤替代物既无法从形态上也无法从功能上完全替代皮肤组织, 还需未来进行深入研究。

关键词:

组织构建; 组织工程; 皮肤黏膜组织构建; 皮肤; 表皮替代物; 真皮替代物; 组织工程; 黑色素细胞; 朗格罕氏细胞; 国家自然科学基金

主题词:

组织工程; 生物相容性材料; 皮肤

基金资助:

国家自然科学基金(81271104)

Tissue-engineered skin substitutes: a prospect evaluation from the aspects of morphology and function

Wang Xiao-jing¹, Wang Guo-wei², Hui Guang-yan¹, Zhao Yi-min³ (¹Department of Stomatology, Qingdao First Sanatorium of PLA Navy, Qingdao 266071, Shandong Province, China; ²Department of Stomatology, Laoshan Branch of No. 401 Hospital of PLA Navy, Qingdao 266061, Shandong Province, China; ³Stomatological Hospital of the Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, Shaanxi Province, China)

Wang Xiao-jing, M.D.,
Attending physician,
Department of Stomatology,
Qingdao First Sanatorium of
PLA Navy, Qingdao 266071,
Shandong Province, China

Abstract

BACKGROUND: Tissue engineering is a booming subject in recent years, involving skin, cornea, bone, cartilage, tendon and etc. Noticeably, tissue-engineered skin is an issue of concern, which provides an alluring prospect for the repair of skin defects.

OBJECTIVE: To overview the latest research progress of tissue-engineered skin.

METHODS: A computer-based research of Medline database from 1996 to 2017 was performed, with the English keywords of “epidermis, dermis, tissue engineered skin”. The latest research status of

Corresponding author:
Wang Xiao-jing, Department
of Stomatology, Qingdao
First Sanatorium of PLA
Navy, Qingdao 266071,
Shandong Province, China

tissue-engineered skin was summarized in views of epidermal and dermal substitutes, followed by exploring the problems and prospects of tissue-engineered skin.

RESULTS AND CONCLUSION: A total of 65 literatures were included. Complex skin substitutes include epidermis and dermis, in which hair follicles, sweat glands, sebaceous glands and other cutaneous appendages are absent. Therefore, how to solve above problems is a hotspot issue and major trend in tissue-engineered skin. Tissue-engineered skin aims to construct permanent skin substitutes containing melanocytes and Langerhans cells rapidly. Since the current tissue-engineered skin substitutes can completely replace skin tissues neither in morphology nor in function, in-depth studies are expected in the near future.

Subject headings: Tissue Engineering; Biocompatible Materials; Skin

Funding: the National Natural Science Foundation of China, No. 81271104

Cite this article: Wang XJ, Wang GW, Hui GY, Zhao YM. Tissue-engineered skin substitutes: a prospect evaluation from the aspects of morphology and function. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2017;21(16):2600-2605.

0 引言 Introduction

组织工程学是近年来飞速发展起来的一门新兴学科, 涉及皮肤、黏膜、骨、软骨及肌腱等多个领域, 其中, 由以组织工程化皮肤发展最快。早在1951年, 就有学者建议用实验室培养生成的皮肤来治疗烧伤患者^[1]。但由于表皮细胞培养困难, 此方法未能实施。直到1975年由研究者攻克了体外大规模培养表皮细胞的难题, 皮肤替代物的研究和制作才日渐广泛^[2]。组织工程皮肤是将组织工程这一新兴技术应用于皮肤创面的修复重建领域而研制成功的皮肤代用品^[3-4]。组织工程化皮肤是世界上第一种获得FDA批准的组织工程产品, 在治疗顽固性溃疡患者和严重烧伤患者方面具有良好的疗效^[5]。

皮肤替代物是在应用前进行过加工和培养的移植物。可包括自体移植物, 异体移植物或是异种移植物、表皮真皮移植物、复合皮肤移植物、临时或永久皮肤移植物以及生物或是合成的移植物^[6-7]。此外, 尽管表皮和真皮替代物在修复受损皮肤上取得了一定的临床成功率, 然而仍然需要达到一些里程碑式的成功, 比如缩短较长的愈合时间和降低瘢痕挛缩率^[8-10]。

文章就现有的组织工程皮肤表皮替代物和真皮替代物进行简要的综述和讨论。

1 资料和方法 Data and methods

1.1 资料来源 由第一作者用计算机检索Medline数据库(1996至2017年), 检索词为“Epidermis; dermis; tissue engineered skin”, 语言设定英文。

1.2 纳入和排除标准

纳入标准: ①组织工程皮肤表皮替代物的研究; ②组织工程真皮替代物的研究。

排除标准: ①与本文内容无关的文章; ②重复性研究。

1.3 文献质量评估 从表皮和真皮皮肤替代物对该领域的最新研究现状进行综述, 探讨皮肤组织工程目前存在的问题及未来发展方向。

2 结果 Results

2.1 表皮替代物 主要分为: 自体表皮细胞移植膜片、

同种异体细胞移植膜片以及其他表皮细胞移植膜片。培养的自体表皮移植物首先从供者获取皮肤, 培养角化细胞, 而后在实验室操作来生成大片的可移植表皮, 此过程约需3周来获取大片可用于永久覆盖受区的移植皮片。然而, 这种表皮移植物十分脆弱, 由于缺乏真皮部分而容易起泡。培养异体表皮移植物对于即刻使用很有帮助。由于是来源为同种异体的, 不存在延迟稳定性, 也不存在移植排斥反应。供者细胞会逐渐被患者自身的细胞所替代。因此, 这些移植物作为临时的覆盖和刺激因素作用在急慢性伤口区。应当注意这些移植物较薄且受限于其内在的脆弱性。

1975年, Rheinwald等将人表皮角质形成细胞体外培养在经放射处理的鼠成纤维细胞滋养层上获得成功。1979年, Green等首次培养出自体表皮膜片(cultured epithelial autograft, CEA)并将此项技术应用于大面积烧伤患者的创面治疗。自此, 美国Genzyme Tissue Repair公司于1981年成功生产出自体表皮膜片(Epicel)。

表1中将自体表皮细胞移植膜片和同种异体细胞移植膜片的优缺点进行了比较。其他表皮细胞移植膜片的研究工作中包含自体与异体表皮细胞混合移植, 表皮干细胞移植及骨髓间充质干细胞移植等。

目前, 自体表皮细胞移植临床上多用于治疗大面积烧伤患者, 国外有学者报道还可用于白癜风, 慢性乳突炎及巨大型痣切除的皮肤创面。同种异体表皮细胞移植膜片临床多用于大面积烧伤, 大疱性表皮松解症以及慢性静脉溃疡等的治疗^[11-12]。

表1 自体表皮细胞移植膜片和同种异体细胞移植膜片的优缺点

	自体表皮细胞移植膜片	同种异体细胞移植膜片
优点	①少量自体表皮即可覆盖大面积永久性创面 ②迅速恢复皮肤屏障作用 ③细胞可冻存	①分泌多种生长因子, 有效促进自体表皮细胞的生长与扩增 ②细胞可冻存
缺点	①获取周期长 ②永久存活率低 ③膜片脆弱不易操作 ④愈合后上皮组织弹性不好、耐磨性差	①真皮缺乏创面收缩严重 ②具一定抗原性 ③易出现溃破

为了克服表皮替代物移植所带来的诸多问题, 有学者探索了新的途径来深入研究, 由体外转到体内培养构建表皮, 如利用细胞投递系统将增殖前体细胞直接植入创面; 结合真皮以形成复合皮肤替代物等。

2.2 真皮替代物 真皮组织决定了人体皮肤的外观特征, 并为皮肤提供了牢固的机械保护作用, 真皮在愈合、生长、抗菌和防御外伤等方面起着重要作用, 使用合适的真皮替代物能提高皮肤长期的耐受力^[13]。通常情况下, 真皮替代物分为2种: 天然真皮替代物和合成真皮替代物。尽管真皮替代物的经典分类对于天然和合成材料有着明确的界定, 现有文献就真皮替代物的分类是基于真皮替代物的来源而言的, 分为合成和生物材料真皮替代物。后者又进一步分为天然材料和构建或人工材料。在经典文献中, “天然”材料仅是指“天然生物”材料。

2.2.1 生物材料

天然生物材料: 包括人类或猪组织, 经过处理来获得无细胞支架^[14]。去除细胞来降低免疫反应的风险。此外, 天然真皮替代物就孔隙率, 微形态和基底膜的存在而言, 具有最好的质量。然而, 很难完全去除所有的细胞残留物, 此缺陷再加上疾病传播的风险, 致使这种材料的使用通常只能作为临时辅料, 而不能作为永久性的真皮替代物。这类真皮替代物的主要优点在于: ①与原真皮具有较高的相似性; ②部分保留了基底膜, 有利于角化组织的黏附。

人源性天然生物材料: Alloderm材料(LifeCell Corporation, Woodlands, TX)是采用人类尸体皮肤经过化学处理的去细胞真皮, 是最为古老和最常用的基体。采用高盐来处理新鲜的尸体皮肤以去除表皮, 并提取出细胞成分。经过冻干步骤后, 就获得了具有完整基底膜的免疫惰性的无细胞真皮基质复合体。总之, Alloderm优势很多, 具有无细胞和免疫惰性; 为完整基底膜的再生提供了天然真皮孔隙, 可实现薄的自体移植。缺点包括具有传播传染性疾病的风险, 需要外科两步骤, 成本高和需要供区等。

猪源性天然生物材料: 尽管异种移植物有各种不同的缺点, 但猪源性真皮基质与人源性真皮基质非常相似, 它们代表了非人源性天然生物真皮替代物的第一替代, 许多研究者将猪源性基质看作远期市场上无细胞人源性真皮基质的替代物。

Glyaderm材料: 是一种新型的真皮替代物, 由荷兰的欧洲皮肤库生产和分销。它是一种来自人类供体皮肤的无细胞真皮胶原弹性基质, 通常保存于85%的丙三醇中。厚度约为0.3 mm, 最好采用两步法。建议将Glyaderm用于清创和异体移植物覆盖后5-7 d的情况下, 来确保适宜的创面。当Glyaderm采用两步法进行时, 在半厚皮瓣应用前, 真皮替代物就可以实现很好的血管

化, 因此可以达到较好的成活率, 相比较对照创面组单纯的采用半厚皮瓣移植物, 可降低创面的挛缩, 这点与Alloderm相似^[14]。与Alloderm相比, Glyderm提供了更为低廉的方法来消除真皮抗原结构。

2.2.2 构建或人造的生物材料 这些材料包括设计的, 对照的和纯化的生物分子, 通常且主要为胶原成分, 通过冻干法, 可以补充黏多糖以及交联来达到调整其特性的目的, 降低免疫排斥反应并促进具有特殊生长因子的基质合成。缺点包括还未完善有关哪些成分应该整合进去哪些成分应该避免来设计最好的材料, 以及这些材料不能完全的模拟完整的真皮(例如, 通常情况下会缺失基底膜和不同的结构)。

生物材料的构建在设计特点上有所不同, 交联的优点为稳定性好, 增加创面基质的寿命。缺点在于异物反应, 易于发生组织挛缩, 造成增生性的瘢痕。增加基质的硬度, 降低了细胞的活力。黏多糖可增加胶原对胶原酶的对抗, 避免过度的交联, 缺点在于大量的黏多糖会对抗血管的生成。

Integra人造皮肤是目前最为广泛应用的一种人工真皮替代物, 可用于急性重度半厚和全厚皮肤烧伤以及烧伤后皮肤重建。此外, Integra也常被用于慢性不愈合创面以及皮肤病变的重建, 甚至是出现骨组织暴露的情况。在重建和美学外科手术中, 可作为皮瓣移植后的二次治疗方案来充填软组织缺损^[15]。

Integra有双层膜系统(原始和经典模式)和单层膜系统(Integra SL, 更新且更贵的模式)。Integra由交联的牛肌腱胶原真皮替代层或含有黏多糖特别是来自鲨鱼软骨的6-硫酸软骨素的基质构成。双层膜系统外层为薄硅胶膜(合成的聚硅氧烷基聚合物或硅橡胶), 厚度为0.1 mm, 起临时“表皮”作用, 并用来防止创面的水分丧失。移植后内层膜会发生逐渐降解, 患者自体的成纤维细胞以及内皮细胞可长入从而形成新生的真皮结构, 两三周后去掉上层的硅胶膜外壳, 可在新生的真皮组织上移植入薄层网状自体皮片, 完成组织缺损的修复。

采用Integra的主要优点在于它促成了新生真皮的发生, 比较单纯的SSG, Integra改善了瘢痕的形态和弹性, 能够获得良好的美学和功能效果。此外, Integra允许使用较薄的移植物, 由此实现了更为快速的供区愈合, 并缩短了住院时间。主要的并发症在于Integra下方的液体积存, 这增加了感染的概率, 预防可通过谨慎小心的外科技术^[16]。由于Integra不具备内在的抗菌性能, 小心的创面预备, 聚乙烯酮碘的抗菌冲洗, 以及认真细致的止血都非常重要。

Matriderm材料(皮肤及医疗保健公司, 德国)是一种牛源性的多孔膜, 由胶原(I, III和V型)和经过γ射线处理的弹性蛋白α的水解产物构成。它的功能在于改善皮肤的弹性和创面瘢痕挛缩的情况, 尤其是烧伤下的瘢

痕^[17]。与Integra一样, Matriderm是用于真皮再生的, 它们的适应证相似。

Matriderm材料也有两种代表性的结构, 2 mm和1 mm厚度, 分别需要两步法和一步法完成。与现存的最常用的Integra相比, Matriderm通常用在一步法中。经典或双层的Integra含有6硫酸软骨素, 与弹性蛋白相比, 会产生抗血管生成的特点。这就解释了为什么Integra需要将近3周的时间来实现完全的血管化。Matriderm用于治疗软组织缺损, 全厚或深层真皮烧伤, 以及慢性创面, 尤其是那些位于美学和功能的解剖相关区域, 比如手和关节部位^[18], 尤其用于儿科患儿, 来改善瘢痕的愈合。

Matriderm等^[8]的基质作为支持结构用于细胞和血管的向内生长, 它的弹性蛋白复合物可用来改善再生组织的稳定性和弹性。实际上, 弹性蛋白真皮替代物具有减少创面挛缩的潜质, 并可改善瘢痕的形态和功能。

Hyalomatrix/Hyalograft 3D材料(Anika Therapeutics公司, 意大利)为双层的, 消毒的透明质酸基质或支架结构伴外层硅胶膜^[19]。支架结构将透明质酸释放至创面, 诱导细胞进入支架结构并促进毛细血管的长入, 快速的聚集成纤维细胞和细胞外基质组分, 且该支架为生物降解性的。Hyalograft-3D是Hyalomatrix的变体, 它整合了自体的成纤维细胞。

2.2.3 合成材料 Dermagraft 材料 (Advanced BioHealing, 美国)是采用Cooper法在聚乳酸网上植入冷藏保存的新生儿异源性的包皮成纤维原细胞。这种成纤维细胞胶原基质可单独使用, 或作为基底的网状分层皮肤自体移植或表皮培养。

Dermagraft的适应证为烧伤创面, 慢性创面和糖尿病溃疡, 建议Dermagraft应该用于具有充分血供的患者。在糖尿病溃疡患者中, 文献报道有不同的观点。事实上, Dermagraft市场上主要用于刺激慢性病灶的愈合, 而不是烧伤创面。这类皮肤替代物的优点在于其具备良好的抗撕裂性, 易于操作以及没有排斥反应。

TransCyte材料(Dermagraft-TC)是一种临时性的, 合成的覆盖物。由半渗透的硅胶膜和在猪胶原尼龙网上培养的新生儿真皮成纤维细胞基质组成(与植入成纤维细胞的Biobrane类似)。TransCyte是在实验室培养出来的临时性的皮肤替代物, 最早由加拿大的Advanced Tissue Sciences公司生产, 通过了美国FDA批准的创面治疗产品(它是由美国FDA批准的最早用于治疗全厚和半厚烧伤的人源性临时的生物工程皮肤替代物)。TransCyte的优点包括即刻可用, 存储简便, 且由于该产品是透明的, 可直视创面。

TransCyte可用于烧伤的临时性覆盖物, 用在自体移植之前或是半厚皮肤烧伤不需要自体移植的情况。TransCyte用于烧伤, 在烧伤创面愈合后去除, 或是在全厚创面进行移植前移除。

以上这些复合皮肤替代物虽然包括了表皮与真皮两层结构, 但存在一个共同的问题: 即缺乏毛囊、汗腺和皮脂腺等皮肤附属器。如何解决组织工程化皮肤缺少附属器的问题, 也是目前皮肤组织工程研究的热点和重要方向。

3 小结 Conclusion

至今为止, 现存的生物组织工程皮肤替代物既无法从形态上也无法从功能上完全替代皮肤组织。此外, 尽管表皮和真皮替代物在修复受损皮肤上取得了一定的临床成功率, 然而仍然需要达到一些里程碑式的成功。

皮肤组织工程的近期目标在于: 能够在尽可能短的时间内, 生产出能够永久覆盖的皮肤替代物, 并可将黑色素细胞和朗格罕氏细胞构建入组织工程皮肤替代物结构中去。此外, 如果能够通过完善的组织工程技术成功的合成含有真皮和表皮的皮肤组织结构, 甚至是含有各种皮肤附件(汗腺、毛囊及皮脂腺等)的皮肤, 对患者而言将是一个最为满意的结果。现已证明, 表皮干细胞具有产生皮肤附属器的能力。

在环境刺激下, 如严重烧伤致皮肤缺损时, 这些干细胞又能保留像胚胎细胞的多能性。此外, 有研究表明, 表皮干细胞是潜在的多能干细胞, 在特定环境的刺激下具有很强的可塑性^[20]。一般观点认为毛囊隆突部(皮脂腺开口处与立毛肌毛囊附着处之间的毛囊外根鞘)含有丰富的表皮干细胞。

据文献报道, 在毛囊的外根鞘有黑色素干细胞定居, 这些黑色素干细胞逐渐分化成为母质黑色素细胞和表皮黑色素细胞, 分泌黑色素, 构成了表皮和毛发的颜色^[21-23]。另外, SCF(Stem Cell Factor, SCF)等细胞因子对毛囊和黑色素细胞的生长发育有明显的调控作用^[24]。

伴随着生命科学、材料科学以及诸多相关科学的飞速发展, 构建出一种理想化的组织工程化皮肤, 实现功能与外形接近正常的人工皮肤替代物将指日可待^[25-65]。

作者贡献: 文章设计及资料收集均为全部作者。第一作者为文章内容负责。

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: 文章的撰写与编辑修改后文章遵守了《系统综述和荟萃分析报告规范》(PRISMA 指南)。

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: 文章经国内小同行外审专家双盲外审, 符合本刊发稿宗旨。

作者声明: 第一作者对研究和撰写的论文中出现的不端行为承担责任。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。

开放获取声明: 这是一篇开放获取文章, 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。根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享3.0”条款, 在合理引用的情况下, 允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展, 同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献, 并为之建立索引, 用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

4 参考文献 References

- [1] Pickerill HP. On the possibility of establishing skin banks. *Br J Phst Surg.* 1951;(4):157-165.
- [2] Reinwald JG, Green H. Serial cultivation of strains of human epidermal keratinocytes: the formation of keratinizing colonies from single cells. *Cell.* 1975;6(3):331-343.
- [3] Vig K, Chaudhari A, Tripathi S, et al. Advances in Skin Regeneration Using Tissue Engineering. *Int J Mol Sci.* 2017. doi: 10.3390/ijms18040789.
- [4] Marino D, Reichmann E, Meuli M. Skingeneering. *Eur J Pediatr Surg.* 2014;24(3):205-213.
- [5] Chua AW, Khoo YC, Tan BK, et al. Skin tissue engineering advances in severe burns: review and therapeutic applications. *Burns Trauma.* 2016; 4:3.
- [6] Bello YM, Falabella AF. Use of skin substitutes in dermatology. *Dermatol Clin.* 2001;19:555-561.
- [7] Nyame TT, Chiang HA, Leavitt T, et al. Tissue-Engineered Skin Substitutes. *Plast Reconstr Surg.* 2015;136(6): 1379-1388.
- [8] Varkey M, Ding J, Tredget EE. Advances in Skin Substitutes-Potential of Tissue Engineered Skin for Facilitating Anti-Fibrotic Healing. *J Funct Biomater.* 2015; 6(3):547-563.
- [9] Markeson D, Pleat JM, Sharpe JR, et al. Scarring, stem cells, scaffolds and skin repair. *J Tissue Eng Regen Med.* 2015; 9(6):649-668.
- [10] Catalano E, Cochis A, Varoni E, et al. Tissue-engineered skin substitutes: an overview. *J Artif Organs.* 2013;16(4):397-403.
- [11] Kitala D, Kaweck M, Klama-Baryla A, et al. Autologous skin grafts in the therapy of patients with burn injuries: a retrospective, open-label clinical study with pair matching. *Adv Clin Exp Med.* 2016;25(5):923-929.
- [12] Nyame TT, Chiang HA, Orgill DP. Clinical applications of skin substitutes. *Surg Clin North Am.* 2014;94(4):839-850.
- [13] Limová M. Active wound coverings: bioengineered skin and dermal substitutes. *Surg Clin North Am.* 2010;90(6): 1237-1255.
- [14] Van Der Veen VC, van der Wal MBA, van Leuwen MCE, et al. Biological background of dermal substitutes. *Burns.* 2010;36: 305-321.
- [15] Murray RC, Gordin EA, Saigal K, et al. Reconstruction of the radial forearm free flap donor site using Integra artificial dermis. *Microsurgery.* 2011;31:104-108.
- [16] Nguyen DQ, Potokar TS, Price P. An objective long-term evaluation of Integra (a dermal skin substitute) and split thickness skin grafts, in acute burns and reconstructive surgery. *Burns.* 2010;36:23-28.
- [17] Rnjak J, Wise SG, Mithieux SM, et al. Severe burn injuries and the role of elastin in the design of dermal substitutes. *Tissue Eng.* 2010;17(2):81-93.
- [18] Haslik W, Kamolz LP, Manna F et al. Management of full-thickness skin defects in the hand and wrist region: first long-term experiences with the dermal matrix matrigel. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2010;63:360-364.
- [19] Halim AS, Khoo TL, Mohd Yussof SJ. Biologic and synthetic skin substitutes: an overview. *Indian J Plast Surg.* 2010;43: S23-S28.
- [20] Varkey M, Ding J, Tredget EE. Advances in Skin Substitutes-Potential of Tissue Engineered Skin for Facilitating Anti-Fibrotic Healing. *J Funct Biomater.* 2015;6(3): 547-563.
- [21] Watt FM, Hogan BL. Out of Eden: Stem cells and their niches. *Science.* 2000;287(5457):1427-1430.
- [22] Nishimura E, Siobhan A, Oshima JH, et al. Dominant role of the niche in melanocyte stem-cell fate determination. *Nature.* 2002;25;416(6883):854-860.
- [23] Xie T, Spradling AC. A niche maintaining germ line stem cells in the drosophila ovary. *Science.* 2000;13;290(5490): 328-330.
- [24] Ideta R, Soma T, Tsunenaga M, et al. Cultured human dermal papilla cells secrete a chemotactic factor for melanocytes. *J Dermatol Sci.* 2002;28(1):48-59.
- [25] Gragnani A, Morgan JR, Ferreira LM. Differentiation and barrier formation of a cultured composite skin graft. *J Burn Care Rehabil.* 2002;23(2):126-131.
- [26] Wencel A, Zakrzewska KE, Samluk A, et al. Dried human skin fibroblasts as a new substratum for functional culture of hepatic cells. *Acta Biochim Pol.* 2017;64(2):357-363.
- [27] Koch M, Ehrenreich T, Koehl G, et al. Do cell based Tissue Engineering products for meniscus regeneration influence vascularization? *Clin Hemorheol Microcirc.* 2017. doi: 10.3233/CH-17085.
- [28] Wang JP, Zhou XL, Yan JP, et al. Nanobubbles as ultrasound contrast agent for facilitating small cell lung cancer imaging. *Oncotarget.* 2017. doi: 10.18632/oncotarget.18155.
- [29] Abaci HE, Guo Z, Doucet Y, et al. Next generation human skin constructs as advanced tools for drug development. *Exp Biol Med (Maywood).* 2017. doi: 10.1177/1535370217712690.
- [30] Pielesz A, Biniasz D, Bobiński R, et al. The role of topically applied l-ascorbic acid in ex-vivo examination of burn-injured human skin. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.* 2017. doi: 10.1016/j.saa.2017.05.055.
- [31] Modena DAO, da Silva CN Pt, Grecco C, et al. Extracorporeal shockwave: mechanisms of action and physiological aspects for cellulite, body shaping and localized fat - systematic review. *J Cosmet Laser Ther.* 2017. doi: 10.1080/14764172.2017. 1334928.
- [32] Kühbacher A, Burger-Kentischer A, Rupp S. Interaction of Candida Species with the Skin. *Microorganisms.* 2017. doi: 10.3390/microorganisms5020032.
- [33] Khan TK, Wender PA, Alkon DL. Bryostatins and its synthetic analog, picolog rescue dermal fibroblasts from prolonged stress and contribute to survival and rejuvenation of human skin equivalents. *J Cell Physiol.* 2017. doi: 10.1002/jcp.26043.
- [34] Szlavicz E, Szabo K, Groma G, et al. Splicing factors differentially expressed in psoriasis alter mRNA maturation of disease-associated EDA+ fibronectin. *Mol Cell Biochem.* 2017. doi: 10.1007/s11010-017-3090-1.
- [35] Kim BS, Lee JS, Gao G, et al. Direct 3D cell-printing of human skin with functional transwell system. *Biofabrication.* 2017; 9(2):025034.
- [36] Desmet E, Ramadhas A, Lambert J, et al. In vitro psoriasis models with focus on reconstructed skin models as promising tools in psoriasis research. *Exp Biol Med (Maywood).* 2017. doi: 10.1177/1535370217710637.

- [37] Henderson F, Alho R, Riches P, et al. Assessment of knee alignment with varus and valgus force through the range of flexion with non-invasive navigation. *J Med Eng Technol*. 2017. doi: 10.1080/03091902.2017.1333164.
- [38] Hu B, Leow WR, Amini S, et al. Orientational Coupling Locally Orchestrates a Cell Migration Pattern for Re-Epithelialization. *Adv Mater*. 2017. doi: 10.1002/adma.201700145.
- [39] Cai M, Shen S, Li H. The effect of facial expressions on respirators contact pressures. *Comput Methods Biomech Biomed Engin*. 2017. doi: 10.1080/10255842.2017.1336549.
- [40] Wang XR, Gao SQ, Niu XQ, et al. Capsaicin-loaded nanolipoidal carriers for topical application: design, characterization, and in vitro/in vivo evaluation. *Int J Nanomedicine*. 2017. doi: 10.2147/IJN.S131901.
- [41] Ma J, Chen B, Zhang Y, et al. Multiple laser pulses in conjunction with an optical clearing agent to improve the curative effect of cutaneous vascular lesions. *Lasers Med Sci*. 2017. doi: 10.1007/s10103-017-2244-4.
- [42] Strong AL, Neumeister MW, Levi B. Stem Cells and Tissue Engineering: regeneration of the Skin and Its Contents. *Clin Plast Surg*. 2017. doi: 10.1016/j.cps.2017.02.020.
- [43] Carvalho IC, Mansur HS. Engineered 3D-scaffolds of photocrosslinked chitosan-gelatin hydrogel hybrids for chronic wound dressings and regeneration. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2017. doi: 10.1016/j.msec.2017.04.126.
- [44] Beiki B, Zeynali B, Seyedjafari E. Fabrication of a three dimensional spongy scaffold using human Wharton's jelly derived extra cellular matrix for wound healing. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2017. doi: 10.1016/j.msec.2017.04.074.
- [45] Tan J, Zhao C, Zhou J, et al. Co-culturing epidermal keratinocytes and dermal fibroblasts on nano-structured titanium surfaces. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2017. doi: 10.1016/j.msec.2017.04.036.
- [46] Mostmans Y, Cutolo M, Giddelo C, et al. The role of endothelial cells in the vasculopathy of systemic sclerosis: A systematic review: SSc vasculopathy: The role of endothelial cells. *Autoimmun Rev*. 2017. doi: 10.1016/j.autrev.2017.05.024.
- [47] Chen X, Zhang M, Wang X, et al. Peptide-modified chitosan hydrogels promote skin wound healing by enhancing wound angiogenesis and inhibiting inflammation. *Am J Transl Res*. 2017;9(5):2352-2362.
- [48] Lee MJ, Hung SH, Huang MC, et al. Doxycycline potentiates antitumor effect of 5-aminolevulinic acid-mediated photodynamic therapy in malignant peripheral nerve sheath tumor cells. *PLoS One*. 2017. doi: 10.1371/journal.pone.0178493.
- [49] Cortese FAB, Aguiar S, Santostasi G. Induced Cell Turnover: a novel therapeutic modality for in situ tissue regeneration. *Hum Gene Ther*. 2017. doi: 10.1089/hum.2016.167.
- [50] Lotz C, Schmid FF, Oechsle E, et al. Cross-linked Collagen Hydrogel Matrix Resisting Contraction To Facilitate Full-Thickness Skin Equivalents. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2017. doi: 10.1021/acsami.7b04017.
- [51] Mohafez H, Ahmad SA, Hadizadeh M, et al. Quantitative assessment of wound healing using high-frequency ultrasound image analysis. *Skin Res Technol*. 2017. doi: 10.1111/srt.12388.
- [52] Bhardwaj N, Chouhan D, Mandal BB. Tissue engineered skin and wound healing: current strategies and future directions. *Curr Pharm Des*. 2017. doi: 10.2174/1381612823666170526094606.
- [53] von Byern J, Mebs D, Heiss E, et al. Salamanders on the bench - A biocompatibility study of salamander skin secretions in cell cultures. *Toxicol*. 2017. doi: 10.1016/j.toxicol.2017.05.021.
- [54] Bonnet V, Richard V, Camomilla V, et al. Joint kinematics estimation using a multi-body kinematics optimisation and an extended Kalman filter, and embedding a soft tissue artefact model. *J Biomech*. 2017. doi: 10.1016/j.jbiomech.2017.04.033.
- [55] Aurand AM, Dufour JS, Marras WS. Accuracy map of an optical motion capture system with 42 or 21 cameras in a large measurement volume. *J Biomech*. 2017. doi: 10.1016/j.jbiomech.2017.05.006.
- [56] Fong CJ, Garzon MC, Hoi JW, et al. Assessment of Infantile Hemangiomas Using a Handheld Wireless Diffuse Optical Spectroscopic Device. *Pediatr Dermatol*. 2017. doi: 10.1111/pde.13150.
- [57] van den Broek LJ, Bergers LIJC, Reijnders CMA, et al. Progress and Future Prospectives in Skin-on-Chip Development with Emphasis on the use of Different Cell Types and Technical Challenges. *Stem Cell Rev*. 2017. doi: 10.1007/s12015-017-9737-1.
- [58] Sasaki Y, Sathi GA, Yamamoto O. Wound healing effect of bioactive ion released from Mg-smectite. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2017. doi: 10.1016/j.msec.2017.03.236.
- [59] Levengood SL, Erickson AE, Chang FC, et al. Chitosan-Poly(caprolactone) Nanofibers for Skin Repair. *J Mater Chem B Mater Biol Med*. 2017. doi: 10.1039/C6TB03223K.
- [60] Wang H, Dong XX, Yang JC, et al. Finite element method simulating temperature distribution in skin induced by 980-nm pulsed laser based on pain stimulation. *Lasers Med Sci*. 2017. doi: 10.1007/s10103-017-2223-9.
- [61] Scalise A, Torresetti M, Verdini F, et al. Acellular dermal matrix and heel reconstruction: a new prospective. *J Appl Biomater Funct Mater*. 2017. doi: 10.5301/jabfm.5000357.
- [62] Yu K, Lu F, Li Q, et al. In situ assembly of Ag nanoparticles (AgNPs) on porous silkworm cocoon-based wound film: enhanced antimicrobial and wound healing activity. *Sci Rep*. 2017 May 18;7(1):2107. doi: 10.1038/s41598-017-02270-6.
- [63] Motamed S, Taghiabadi E, Molaei H, et al. Cell-based skin substitutes accelerate regeneration of extensive burn wounds in rats. *Am J Surg*. 2017. doi: 10.1016/j.amjsurg.2017.04.010.
- [64] Chang CJ, Yu DY, Hsiao YC, et al. Noninvasive imaging analysis of biological tissue associated with laser thermal injury. *Biomed J*. 2017. doi: 10.1016/j.bj.2016.10.004.
- [65] Chen S, Liu B, Carlson MA, et al. Recent advances in electrospun nanofibers for wound healing. *Nanomedicine (Lond)*. 2017. doi: 10.2217/nnm-2017-0017.