

高性能猪脱细胞真皮基质敷料的制备方法与表征

杨波¹, 王凯¹, 杨光¹, 莫天录¹, 梁赋¹, 陈小红²

(1. 上海理工大学 健康科学与工程学院, 上海 200093; 2. 上海理工大学 材料与化学学院, 上海 200093)

摘要: 脱细胞真皮基质由于其促进伤口愈合的能力, 已被用作临床伤口敷料。然而, 市场上同类产品机械强度比较差, 且不具备抗菌能力。优化猪皮制备猪脱细胞真皮基质(porcine acellular dermal matrix, PADM)工艺, 并添加槲皮素(quercetin, QCT)和聚赖氨酸(poly-L-lysine, PLL), 制备出了性能良好的槲皮素-聚赖氨酸-猪脱细胞真皮基质(QCT-PLL-PADM)敷料样品。傅里叶变换红外光谱分析表明, PADM 样品添加 QCT 和 PLL 后, 仍然保持胶原蛋白的天然三螺旋结构。差示扫描量热法和机械性能分析结果表明, 与 PADM 相比, QCT-PLL-PADM 的热稳定性提高了 50%、机械性能提高了 90%。而且 QCT-PLL-PADM 具有优异的抗菌活性, 抗菌率超过 92%。此外, 在细胞相容性分析中, QCT-PLL-PADM 促进了细胞的黏附生长, 细胞相对增长速率超过 75%。与市面上的产品相比, 机械强度提升了 90%~110%, 其他性能提升了 20%~40%。以上结果表明, QCT-PLL-PADM 可以作为良好的伤口敷料, 在皮肤及口腔修复方面进行应用。

关键词: 猪皮; 脱细胞真皮基质; 敷料; 聚赖氨酸

中图分类号: TB 34 文献标志码: A

Preparation and characterization of high performance antibacterial porcine acellular dermal matrix dressings

YANG Bo¹, WANG Kai¹, YANG Guang¹, MO Tianlu¹, LIANG Fu¹, CHEN Xiaohong²

(1. School of Medical Instrument and Food Engineering, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093, China; 2. School of Materials and Chemistry, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093, China)

Abstract: Acellular dermal matrix has been used as a clinical wound dressing due to its ability to promote wound healing. However, similar products on the market have poor mechanical strength and lack antimicrobial properties. In this study, we improved the preparation process of porcine acellular dermal matrix(PADM) and incorporated quercetin (QCT) and poly-L-lysine (PLL) to fabricate an antimicrobial quercetin-poly-L-lysine-porcine acellular dermal matrix(QCT-PLL-PADM) dressing with

收稿日期: 2024-01-25

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (32370092)

通信作者: 杨波 (1968—), 女, 副教授。研究方向: 食品生物技术。E-mail: yangbo6899@126.com

引文格式: 杨波, 王凯, 杨光, 等. 高性能猪脱细胞真皮基质敷料的制备方法与表征[J]. 上海理工大学学报, 2025, 47(2): 185-193.

Citation: YANG Bo, WANG Kai, YANG Guang, et al. Preparation and characterization of high performance antibacterial porcine acellular dermal matrix dressings[J]. Journal of University of Shanghai for Science and Technology, 2025, 47(2): 185-193.

enhanced performance. Fourier transform infrared spectrum analysis show that the samples retain the natural triple-helical structure of collagen after the addition of QCT and PLL. Differential scanning calorimetry and mechanical property analysis show that the QCT-PLL-PADM samples exhibit a 50% increase in thermal stability and a 90% improvement in mechanical properties compared to pure PADM. Moreover, QCT-PLL-PADM demonstrates excellent antimicrobial activity, with an antimicrobial rate exceeding 92%. Additionally, cellular compatibility analysis reveals that QCT-PLL-PADM promot cell adhesion and growth, with a relative growth rate of cells over 75%. Compared to commercial products, the mechanical strength of QCT-PLL-PADM is enhanced by 90%~110%, and other properties are enhanced by 20%~40%. These results indicate that QCT-PLL-PADM can serve as an effective wound dressing and has potential applications in skin and oral tissue repair.

Keywords: *porcine; acellular dermal matrix; dressing quercetin; poly-L-lysine*

伤口敷料是一类用于创伤、烧伤、溃疡等伤口覆盖的医用材料，主要作用是伤口提供理想的恢复环境，加快伤口愈合^[1]。脱细胞真皮基质敷料具有良好的生物相容性、结构稳定性和丰富的生物活性成分，在促进皮肤修复和伤口愈合等领域有重要的应用价值^[2]。但脱细胞真皮基质并不具备抗菌性能，这限制了其进一步的应用。因此，对脱细胞真皮基质进行抗菌改性成为研究热点。常用于脱细胞真皮基质的抗菌剂包括季铵盐、金属纳米材料和天然抗菌材料等^[3-5]。季铵盐和金属纳米材料均具有抗菌谱广和抑菌活性强等优点，常用作伤口敷料抗菌剂，但它们的生物相容性较差，需要对使用浓度进行严格控制。

本文使用猪皮制备猪脱细胞真皮基质 (porcine acellular dermal matrix, PADM)。PADM 的主要成分为 I 型胶原蛋白，这使其具有良好的生物活性、低抗原性和生物相容性。Pabst 等^[6]对 PADM 的分析结果表明，PADM 具有良好的生物相容性，并且 PADM 允许周围细胞攀附生长的同时自身慢慢降解吸收，最终由新生结缔组织完全取代^[7]。但是，纯脱细胞真皮基质容易被机械应力破坏或被体内胶原酶降解，并且不具备抗感染能力，这会导致愈合过程中出现问题^[8-9]。因此，开发一种可以防止感染，同时促进伤口愈合的高性能脱细胞真皮基质十分必要。

槲皮素 (quercetin, QCT) 是一种类黄酮，以糖苷的形式存在于蔬菜和其他植物中，分子结构独特，在 4 个位点只有一个额外的氧原子^[10]，这种特殊结构使其具有一定的生物活性、抗菌作用和抗氧化性^[11-12]。聚赖氨酸 (poly-L-lysine, PLL) 是

一种多肽类抗菌剂，该聚合物是通过赖氨酸残基的 α -羧基和 ε -氨基发生缩合反应而形成的酰胺键，可以与带负电的物质产生静电吸附作用^[13]。PLL 具有热稳定性高、安全无毒、抗菌能力强、可生物降解和生物相容性好等优点^[14]，对革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌等具有显著的抑制效果。

目前，市面上的脱细胞真皮基质产品的机械强度与抗菌能力已无法满足越来越高医用需求。因此，本文使用了丙三醇缩水甘油醚 (GPE) 和 QCT 作为 PADM 的交联剂，选择 QCT 和 PLL 为 PADM 提供优异的机械性能和抗菌能力。对材料的热稳定性、力学性能和抗菌性能等进行了评价，并比较了 QCT-PLL-PADM 与 PADM 的生物相容性。

1 材料与方法

1.1 材料

猪皮购自北京瑞健高科生物科技有限公司；GPE 购自上海争锐化工有限公司；氯化钠、十二烷基苯磺酸钠、胰蛋白酶、甘氨酸、三乙醇胺、氢氧化钠、碳酸氢钠、氯化铵、乙醇、溴化钾、QCT 和 PLL 等均购自国药集团化学试剂有限公司；海奥口腔修复膜和盖氏口腔修复膜购自上海口腔医院。

1.2 仪器

恒温培养摇床 (THZ-100, 上海一恒科学仪器有限公司)、离心机 (TDL-80-2B, 上海安亭科学仪器厂)、超声机 (XM-400ULF, 小美超声仪器 (昆山) 有限公司)、真空冷冻干燥机 (SCIENTZ-25T,

宁波新芝冻干设备股份有限公司)、烘箱(DFZ-6030A,上海一恒科学仪器有限公司)、傅里叶红外光谱仪(Nicolet is10, Thermo Fisher, 美国)、差式扫描量热仪(DSC-8000, PerkinElmer, 美国)、扫描电子显微镜(JSM-IT500HR, JEOL, 日本)、微电脑式拉力试验机(TM2101-T5, 济南泰钦电气有限公司)、紫外分光光度计(UV-VIS UV5, METTLER TOLEDO, 瑞士)、酶标仪(Infinite 200 PRO, TECAN, 美国)。

1.3 方法

1.3.1 PADM 样品制备

a. 将厚度为 0.4 mm 的猪皮裁剪成 1.5 mm×2 mm (长×宽) 的样品, 放置于离心管中, 加入 10 mL 质量分数为 0.5% 的 NaCl 溶液, 设置离心机转速为 4000 r/min, 离心 60 min, 重复 3 次。

b. 设置摇床温度为 38 ℃, 转速为 200 r/min, 样品放置于 50 mL 质量分数为 0.4% 的十二烷基苯磺酸钠溶液中, 加入 0.8 g NaOH 和 5 μL 脂肪醇聚乙醚, 匀速转动 60 min 后, 用去离子水冲洗, 重复 3 次。

c. 分别取 25 mL 10 U/mL 的胰蛋白酶缓冲溶液和 20 U/mL 的中性蛋白酶缓冲溶液混合, 将样品置入其中。设置摇床温度为 28 ℃, 转速为 200 r/min, 匀速转动 12 h 后, 用去离子水冲洗, 再在质量分数为 2% 的 NaOH 和质量分数为 2.5% 的 NaS 溶液中匀速转动 60 min 后, 用去离子水冲洗。冲洗完成后, 在质量分数为 2% 的 NH₄Cl 溶液中转动 60 min, 然后使用去离子水冲洗。

d. 将样品置于 5 U/mL 的胰蛋白酶缓冲溶液中, 设置摇床温度为 32 ℃, 转速为 200 r/min, 匀速转动 60 min 后, 用去离子水冲洗, 重复 2 次。

e. 配置 pH 为 10.5 的 NaHCO₃-NaOH 缓冲液, 摇床设置同步骤 d, 将样品置于缓冲液中转动 30 min 后取出, 设置摇床温度为 35 ℃, 转速为 200 r/min, 将样品置于 50 mL 缓冲液中, 加入 3 mL GPE、0.5 mL 三乙醇胺, 匀速转动 36 h。

f. 在交联液中添加 1.5 g 甘氨酸, 匀速转动 60 min 后使用去离子水冲洗, 设置摇床温度为 32 ℃, 转速为 200 r/min, 将样品置于质量分数为 1% 的 NH₄Cl 溶液中转动 60 min, 然后用去离子水冲洗至废液 pH 为 7.5。设置摇床温度为 35 ℃, 将样品置于质量分数为 1% 的甘氨酸溶液中匀速转动 60 min 后, 用去离子水冲洗, 初步制得 PADM

样品。

1.3.2 QCT-PLL-PADM 样品制备

将 400 mg QCT 溶解到 20 mL 乙醇中, 超声处理 15 min 得到均匀的溶液。将 PADM 加入到 QCT 溶液中, 再分别加入质量分数为 0.1%、0.3%、0.5%、0.7% 的 PLL, 在 37 ℃ 恒温摇床中交联 24 h。每个样品用超纯水洗涤 5 次, 送至冷冻干燥机中冻干 12 h 后, 在 35 ℃、湿度 85% 的干燥箱中回软 6 h^[15]。

1.3.3 傅里叶变换红外光谱测定

取 2 mg 样品与 100 mg 溴化钾研磨均匀, 压制成薄片。傅里叶红外光谱采集过程中, 保持室温为 25 ℃, 设置光谱仪扫描范围为 400~4000 cm⁻¹、扫描速率为每光谱 32 次扫描。

1.3.4 扫描电子显微镜观察

将一定量的样品喷金处理, 置于扫描电子显微镜下, 在 20 kV 加速电压条件下进行放大观察。

1.3.5 差示扫描量热法测定

用差示扫描量热仪测定样品的热变性温度。将 5 mg 样品密封在铝坩锅中, 以空坩锅作为对照。参数设置: 温度范围 10~120 ℃, 加热速率 10 ℃/min, 氮气吹扫速率 20 mL/min。

1.3.6 抗张强度及断裂拉伸率测定

用拉力试验机以 100 mm/min 的速率测量矩形样品的抗张强度和断裂拉伸率。

1.3.7 孔隙率测定

称取样品 1 g (准确到 0.0001 g), 记为 m_1 。将样品割为小碎片, 面积 1 cm² 左右, 投入 50 mL 容量瓶中, 往瓶中加入去离子水至刻度标线。用循环水真空泵将容量瓶内抽真空至样品不会有气泡冒出。对含有去离子水和样品的容量瓶进行称重, 记质量为 m_2 。再将样品碎片取出, 对剩余的含有去离子水的容量瓶称重, 质量记为 m_3 。样品的孔隙率 P 计算公式为

$$P = [(m_2 - m_3 - m_1) / (m_2 - m_3)] \times 100\%$$

每组进行 3 个平行实验, 最终结果为其平均值。

1.3.8 水蒸气透过率测定

将样品放入生理盐水中浸泡 30 min, 量取 10 mL 的生理盐水加入试管中, 对装有生理盐水的试管称重, 质量记为 m_0 。将试管口用样品密封住, 然后用线绳扎紧固定。将密封住的试管在 (36±1) ℃ 恒温干燥箱中干燥, 24 h 后称重, 质量记为 m_4 。样品的水蒸气透过率 W_t 计算公式为^[16]

$$Wr = (m_0 - m_4) / S$$

式中, S 为试管口的面积。每组进行 3 个平行实验, 最终结果为其平均值。

1.3.9 抗菌性测定

将活化后的大肠杆菌和金黄色葡萄球菌分别接种于 LB(Luria-Bertani) 液体培养基中培养, 在转速 200 r/min、温度 37℃ 的摇床中培养 12 h, 在 600 nm 处测定菌液的光密度(optical density, OD) 值, 之后与 LB 液体培养基进行混合, 稀释至 OD 值约为 0.6, 然后按 1 : 1000 比例继续稀释, 稀释至菌落计数约为 105 cfu/mL。将经高温灭菌处理后的样品加入到 3 mL 稀释后的菌液中, 其中, 不添加样品的为空白对照组, 在转速 200 r/min、温度 37℃、光照条件下的摇床中培养 24 h, 测定 600 nm 处的 OD 值。大肠杆菌和金黄色葡萄球菌来源于上海理工大学, 由实验室自行分离保存。抗菌率 F 计算公式为^[17]

$$F = [(D_0 - D_1) / D_0] \times 100\%$$

式中, D_0 、 D_1 分别为对照组、实验组在 600 nm 处的 OD 值。

1.3.10 细胞相容性测定

使用人肾皮质近曲小管上皮细胞(HK-2)作为模型细胞, 通过 CCK-8 法测定并体外评估样品的细胞毒性。将样品切成 10 mm×70 mm 的矩形, 置于 50 mL 离心管中紫外灭菌 12 h, 然后浸泡在 9.3 mL 细胞培养基中 24 h, 得到提取物。根据样品的厚度(根据《ISO 10993-12: 2012》)计算浸提比例为 6 cm²/mL。细胞培养基是补充有体积分数为 10% 的胎牛血清和体积分数为 1% 的 DMEM(Dulbecco's modified Eagle medium)培养基。消化细胞培养瓶中的 HK-2 细胞, 用完全培养基调整细胞至 1×10⁴ 个/mL 后, 吸取 100 μL 细胞悬液铺入 96 孔板中, 置于 37℃、CO₂ 体积分数为 5% 的恒温培养箱中 24 h 后, 去除完全培养基, 在每个孔中加入 100 μL 浸泡提取液, 同时做完全培养基空白对照组, 置于 37℃、CO₂ 体积分数为 5% 的恒温培养箱中孵育 1、3、5 d。在每个时间点, 于 96 孔板中每孔加入 10 μL 的 CCK-8 试剂, 孵育 2 h。在酶标仪检测 492 nm 波长下, 测量样品的 OD 值。人肾皮质/近曲小管上皮细胞来自上海市农业科学院保存。细胞相对增长率 R 计算公式为^[18]

$$R = (D_2 / D_3) \times 100\%$$

式中, D_2 、 D_3 分别为样品组、对照组在 492 nm 处的 OD 值。

2 结果与分析

以猪皮为原料, 对制备的 PADM 和 QCT-PLL-PADM 样品进行一系列分析, 部分结果与市面常用产品进行对比。

2.1 傅里叶变换红外光谱分析

傅里叶变换红外光谱可以表征样品的微观结构, 不同质量分数的 PLL 对 QCT-PLL-PADM 样品的基团和微观结构造成的影响如图 1 所示。QCT-PLL-PADM 样品的光谱中并不存在 QCT 与 PLL 的特征峰, 这表明 QCT 和 PLL 与 PADM 结合^[19-20]。对于 PADM 样品, 3410 cm⁻¹ 附近的峰为酰胺 A, 由 N-H 的拉伸振动和氢键产生^[21]; 1650 cm⁻¹ 的峰为酰胺 I, 由 C=O 拉伸振动产生; 1545 cm⁻¹ 的峰为酰胺 II, 由 N-H 的弯曲振动与 C-N 的拉伸振动产生。酰胺 I 和酰胺 II 主要表征胶原蛋白的二级结构^[22-23], 酰胺 A 存在说明胶原蛋白三螺旋结构保持稳定。由图 1 可知, 随着 PLL 含量的增加, QCT-PLL-PADM 样品酰胺条带特征峰并无削弱迹象, 这表明 QCT 和 PLL 对胶原蛋白的特征性三螺旋结构并无影响^[24-25], 胶原蛋白生物学特性结构保持完整, 这与细胞相容性结果一致。

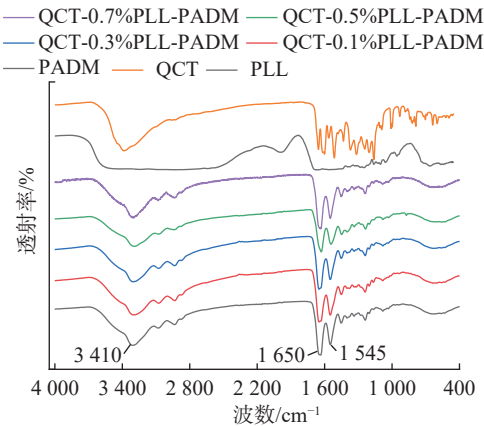


图 1 样品的傅里叶变换红外光谱
Fig.1 Fourier transform infrared spectra of samples

2.2 扫描电子显微镜分析

脱细胞真皮基质是由胶原分子、原纤维、纤维和纤维束组成的多层聚集体, 胶原分子与纤维之间的化学键可以将胶原与纤维拉紧, 使样品结构略微收缩, 变得更加致密。从图 2(a) 的箭头处可观察到, PADM 样品中的胶原纤维束逐层堆叠

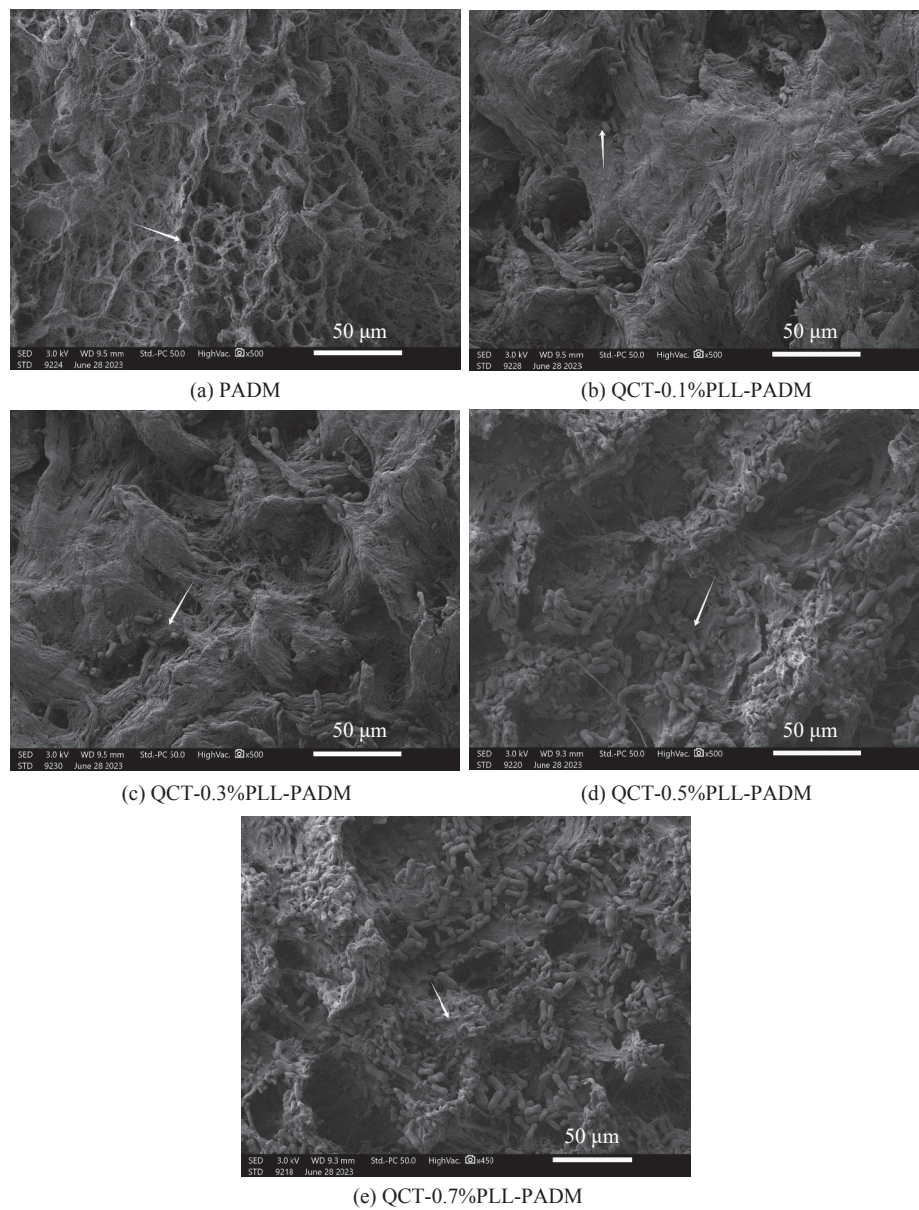


图 2 样品的扫描电子显微镜图像

Fig.2 Scanning electron microscope micrographs of samples

并交织在一起形成网状结构, 这种结构可以提高样品的抗拉伸能力, 在伤口愈合过程中提供良好的支撑和结构支持, 更好地促进组织重建。从图 2(b)~(c) 的箭头处可观察到, PLL 交联后以颗粒状形式附着在 QCT-PLL-PADM 样品纤维间隙上, 随着 PLL 质量分数的增加, 其附着量也随之增加, 这会对样品的孔隙率造成一定影响。图 2(d) 箭头处表明, PLL 在质量分数为 0.5% 时开始附着在样品表面, 这使得 PLL 更容易接触并杀死细菌。图 2(e) 箭头处表明, 当 PLL 的质量分数升至 0.7% 时, 样品表面的 PLL 显著增加, 这可能会覆盖胶原蛋白表面的生物活性位点, 导致样品对细胞黏附能力下降, 使得细胞增殖和迁移能力变弱^[26-27]。

2.3 热分析

样品的热分解过程可以通过差示扫描量热法 (differential scanning calorimetry, DSC) 检测。对脱细胞真皮基质而言, 温度的升高会导致其结构发生变化, 胶原蛋白中的氢键和一些弱键会发生断裂, 分子间作用力逐渐降低。温度的升高会破坏胶原蛋白三螺旋结构, 使样品理化性质发生变化^[28], 这不利于伤口愈合过程的顺利进行。市面上的产品, 如国内海奥口腔修复膜、国外盖氏口腔生物膜的热变性温度在 45~52 ℃, 不具备较强的耐热性。图 3 和图 4 表明, 胶原蛋白的热变性温度相对较低, 在 45 ℃ 左右, 添加 QCT 与 PLL 后, QCT-PLL-PADM 样品的热变性温度显著上升至

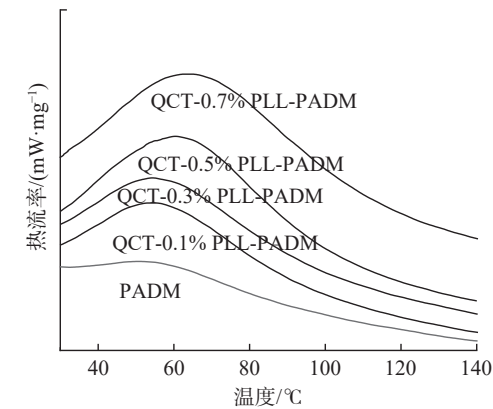


图3 样品的DSC图

Fig.3 DSC images of samples

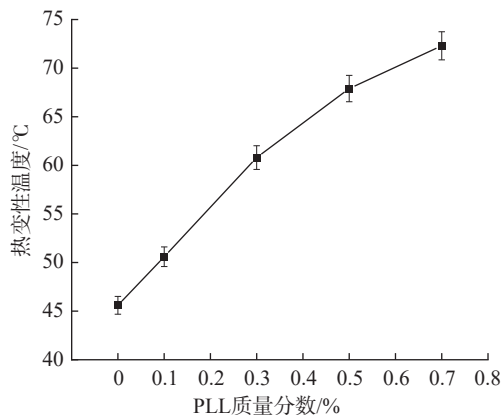


图4 QCT-PLL-PADM的热变性温度图

Fig.4 Thermal denaturation temperature image of QCT-PLL-PADM

67.9℃。这说明交联后，样品的结构更加稳定，样品的耐热性增加。并且，PLL质量分数过高时，会在样品表面形成覆盖物，这种表面改性也会提高样品的耐热性。样品热变性温度的升高有利于保持胶原蛋白的生物相容性和理化性质，同时表明QCT与PLL发生有效交联。

2.4 机械性能分析

抗张强度和断裂拉伸率是材料力学性能的重要测试指标，通常用于表征材料抵抗外力的能力。胶原基生物医用材料在临床应用中应具有一定的柔韧性、抗张强度和抗撕裂性，以免对机体的伤口修复造成影响^[29]。因此，调节胶原蛋白基生物材料的力学性能尤为重要。目前，脱细胞真皮基质的强度已经无法满足一些生物医学应用的临床需求。

PLL质量分数对样品机械性能的影响如图5所示。随着PLL质量分数的增加，样品的抗张强度逐渐提升，在PLL质量分数为0.5%时，达到最大值97.4MPa。相较于市面上产品40~50MPa

的抗张强度，性能提升较大。这说明了QCT、PLL和胶原蛋白分子形成了稳定的化学键，使胶原纤维排列得更加紧密，从而提高了抗张强度。当PLL质量分数为0.7%时，抗张强度下降，这可能是由于样品中反应性基团的消耗以及纤维中PLL填充过多造成的，这可能会破坏胶原纤维的排列，使得部分结构刚性过强，导致应力集中，受到外力更容易发生断裂。

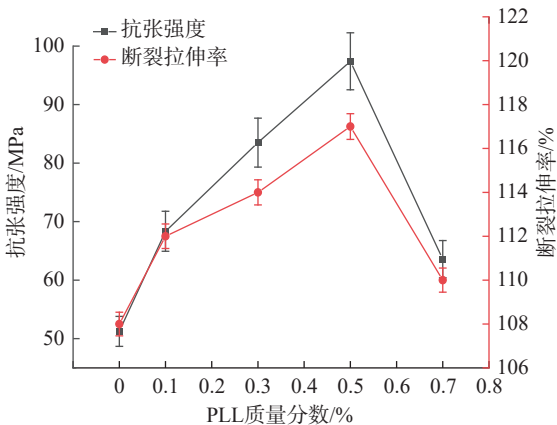


图5 QCT-PLL-PADM的机械性能

Fig.5 Mechanical characterization of QCT-PLL-PADM

对于需要保持张力的身体部位(如皮肤、硬脑膜、肌腱等)，适当的断裂拉伸率可以促进创伤组织恢复^[29]。目前，市面上产品的断裂伸长率通常在112%~118%，QCT-PLL-PADM的最大断裂拉伸率为117%。QCT-PLL-PADM断裂拉伸率表现为先增加后减小，增加说明形成的化学键为氢键。因为氢键可以使胶原纤维之间形成稳定的交织网络，这种优化的组织结构使得胶原纤维能够在受到外部拉伸力时，各个纤维之间相互支撑和配合，减少了断裂的可能性，提高了断裂拉伸率。随着PLL质量分数从0.5%增加至0.7%，QCT-PLL-PADM的胶原纤维网络变得更致密，形成更紧、更强的刚性结构，导致材料的断裂拉伸率下降。纤维被过度拉伸时其以定向方式聚集，这使纤维更难变形，从而降低断裂拉伸率。

2.5 孔隙率分析

脱细胞真皮基质通常具有较为紧密的结构，但由于缺乏必要的微孔结构，血管内皮细胞可能难以快速长入，不能为细胞的生长增殖提供良好的微环境，也不利于物质的交换，进而影响组织修复和重建^[30]。大量的实验研究也证实，合适的孔径和较高的孔隙率能够有效促进组织再生。理想的胶原材料应为三维纤维状多孔结构，孔与孔

之间相互贯通,孔隙率高于80%^[31]。但过高的孔隙率也会导致材料机械性能下降,因此,需要根据具体的应用要求进行调整和优化。

PLL对样品孔隙率的影响如图6所示。随着PLL质量分数的增加,样品的孔隙率逐渐降低。这是因为更多的PLL会占据样品的孔隙空间,使得孔隙变小。PLL分子较大,结合到样品表面后会产生空间位阻效应,阻碍其他分子进入孔隙,导致孔隙率的降低。同时,交联反应会使基质形成更加紧密的网络结构,从而降低样品的孔隙率。PLL质量分数低于0.7%时,样品孔隙率仍然保持在80%以上,与市面上的产品相接近。

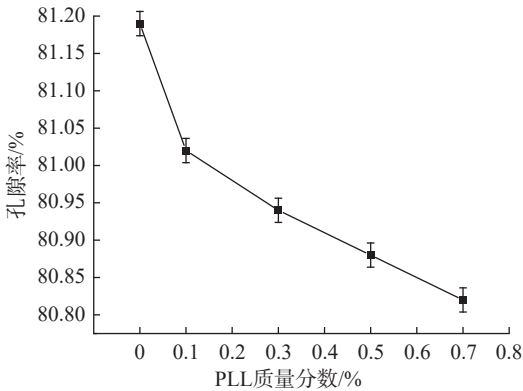


图6 QCT-PLL-PADM的孔隙率
Fig.6 Porosity of QCT-PLL-PADM

2.6 水蒸气透过率分析

水蒸气透过率是医用敷料的一个重要指标。皮肤创面治疗过程中,往往会有大量的伤口渗出液产生,若不能及时除去渗出液,会造成创面积液,从而影响伤口的恢复。但是,创面的恢复需要一个湿润的有利环境,水蒸气透过率不能太大,以免造成创面干燥。临床上普遍认为,敷料的水蒸气透过率应保持在创面蒸发率的50%左右,即2500 g/(m²·24 h)左右^[16]。

由图7可知,随着PLL质量分数的增加,样品的水蒸气透过率逐渐降低,在PLL质量分数为0.5%时,接近临床标准2500 g/(m²·24 h)。降低原因是PLL分子链上的氨基与样品发生静电相互作用,填充了样品的孔隙,形成了更致密的结构,该结构会降低样品的透气性和水分蒸发速率,从而有助于保持基质内部的水分。PLL具有较强的吸湿性,能够起到物理阻隔的作用,减缓水分子的蒸发和流失,提高样品的保湿能力。综上,PLL的加入能有效降低样品的水蒸气透过率,改善其水蒸气阻隔性能。

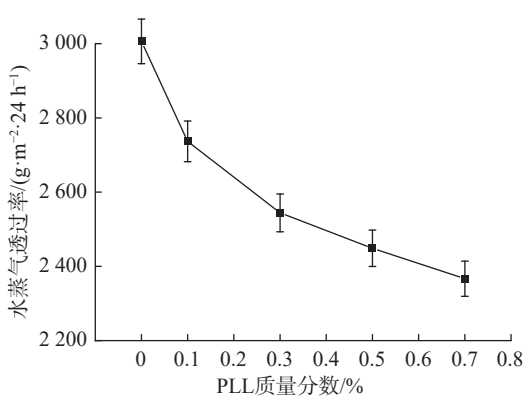


图7 QCT-PLL-PADM的水蒸气透过率
Fig.7 Water vapor permeability of QCT-PLL-PADM

2.7 抗菌性分析

生物医用材料应具有抗菌特性,以防止伤口感染。多肽抗菌剂PLL的抗菌性实验结果如图8所示,随着PLL质量分数的增加,抗菌效果逐步提高,当PLL质量分数为0.5%时,抗菌率达到了最大值92%。PLL是一种阳离子多肽,可以通过静电作用与细菌细胞膜表面的负电荷相互吸引,进而破坏细胞膜的完整性,致使细胞内容物泄露,最终杀死细菌。此外,通过破坏细菌生物膜的结构和功能,聚赖氨酸可以阻止细菌的附着和生长,从而减少细菌的繁殖和感染能力。在PLL质量分数较低时,其主要抗菌成分在PADM的间隙中通过氢键与胶原纤维交联^[32],当质量分数达到0.5%时,抗菌成分开始交联在QCT-PLL-PADM样品表面,更容易与细菌接触并将其杀死,从而提高样品的抗菌能力。

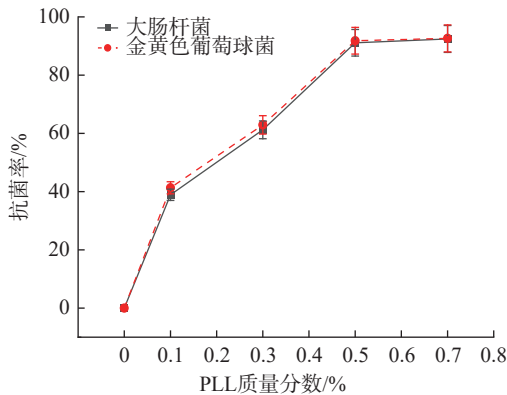


图8 QCT-PLL-PADM的抗菌率
Fig.8 Antibacterial rate of QCT-PLL-PADM

2.8 细胞相容性分析

CCK-8法常用于检测细胞体外存活和增殖,细胞的生长情况如图9所示。细胞的光密度值增加,表明细胞正常增殖,且添加PLL样品的光密

度均高于纯 PADM，这说明 PLL 可以促进细胞的增殖及黏附。而随着 PLL 质量分数的增加，光密度在第 3 天和第 5 天开始下降，这说明 PLL 质量分数过高时会出现相容性问题，导致细胞的生长速率下降。而由图 10 可知，当 PLL 质量分数为 0.5% 时，样品的相对增长速率仍高于 75%，说明细胞增殖速度并不会受到过分抑制。综上可得，QCT 和 PLL 的引入不会对脱细胞真皮基质的生物相容性产生不利影响。因此，综合理化性质和细胞毒性试验结果，样品满足生物材料对细胞相容性的要求。

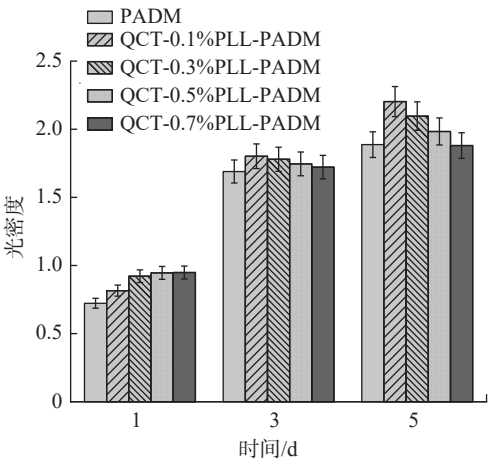


图 9 QCT-PLL-PADM 的细胞相容性

Fig.9 Cellular compatibility of QCT-PLL-PADM

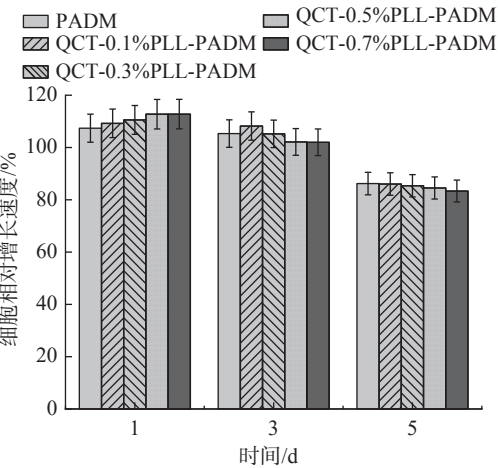


图 10 QCT-PLL-PADM 的细胞相对增长速率

Fig.10 Relative growth rate of cells in QCT-PLL-PADM

3 结 论

本文对脱细胞真皮基质的制备工艺进行优化，并添加生物活性因子 QCT 和可降解抗菌剂 PLL，制得的 QCT-PLL-PADM 样品保持了胶原蛋白

白的天然三螺旋结构，同时具备较强的抗菌能力，且样品的热稳定性、机械强度和亲水性全面提升。在 PLL 质量分数为 0.5% 时，QCT-PLL-PADM 样品的热分解温度上升到 70 ℃，抗张强度达到 97.4 MPa，拉伸断裂率为 109%，相较于市面上常用的产品，热稳定性能提高了 20%，机械强度提高了 90%~110%。此外，样品水蒸气透过率和孔隙率符合临床使用标准，且抑菌率达到了 92%，细胞相对增率在 75% 以上。这说明 QCT-PLL-PADM 具有良好的生物相容性，可在伤口修复和组织再生等方面进行应用。

参考文献:

[1] WANG Z Z, HU J, FABER J, et al. Locally delivered metabolite derivative promotes bone regeneration in aged mice[J]. *ACS Applied Bio Materials*, 2022, 5(7): 3281–3289.

[2] ABTAHI S, CHEN X H, SHAHABI S, et al. Resorbable membranes for guided bone regeneration: critical features, potentials, and limitations[J]. *ACS Materials Au*, 2023, 3(5): 394–417.

[3] ZHANG H, SUN X Y, WANG J, et al. Multifunctional injectable hydrogel dressings for effectively accelerating wound healing: enhancing biomineralization strategy[J]. *Advanced Functional Materials*, 2021, 31(23): 2100093.

[4] DONG R N, GUO B L. Smart wound dressings for wound healing[J]. *Nano Today*, 2021, 41: 101290.

[5] JIA B, LI G W, CAO E T, et al. Recent progress of antibacterial hydrogels in wound dressings[J]. *Materials Today Bio*, 2023, 19: 100582.

[6] PABST A M, LEHMANN K M, WALTER C, et al. Influence of porcine-derived collagen matrix on endothelial progenitor cells: an in vitro study[J]. *Odontology*, 2016, 104(1): 19–26.

[7] ZHENG X, CHEN Y N, DAN N H, et al. Highly stable collagen scaffolds crosslinked with an epoxidized natural polysaccharide for wound healing[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2021, 182: 1994–2002.

[8] MARTIN C, LOW W L, AMIN M C I M, et al. Current trends in the development of wound dressings, biomaterials and devices[J]. *Pharmaceutical Patent Analyst*, 2013, 2(3): 341–359.

[9] HEINE J, SCHMIEDL A, CEBOTARI S, et al. Tissue engineering human small-caliber autologous vessels using a xenogenous decellularized connective tissue matrix approach: preclinical comparative biomechanical studies[J]. *Artificial Organs*, 2011, 35(10): 930–940.

[10] LI Y, YAO J Y, HAN C Y, et al. Quercetin, inflammation

- and immunity[J]. *Nutrients*, 2016, 8(3): 167.
- [11] DAVIS J M, MURPHY E A, CARMICHAEL M D. Effects of the dietary flavonoid quercetin upon performance and health[J]. *Current Sports Medicine Reports*, 2009, 8(4): 206–213.
- [12] CHIRUMBOLO S. The role of quercetin, flavonols and flavones in modulating inflammatory cell function[J]. *Inflammation & Allergy Drug Targets*, 2010, 9(4): 263–285.
- [13] PATEL T, SKORUPA M, SKONIECZNA M, et al. Surface grafting of poly-L-lysine via diazonium chemistry to enhance cell adhesion to biomedical electrodes[J]. *Bioelectrochemistry*, 2023, 152: 108465.
- [14] ZHANG S, CHEN H J Y, SHI Z C, et al. Preparation of amino cellulose nanofiber via ϵ -poly-L-lysine grafting with enhanced mechanical, anti-microbial and food preservation performance[J]. *Industrial Crops and Products*, 2023, 194: 116288.
- [15] CHEN Y N, DAN N H, DAN W H, et al. A novel antibacterial acellular porcine dermal matrix cross-linked with oxidized chitosan oligosaccharide and modified by in situ synthesis of silver nanoparticles for wound healing applications[J]. *Materials Science and Engineering: C*, 2019, 94: 1020–1036.
- [16] 夏维. *N, N, N*-三甲基壳聚糖/猪脱细胞真皮基质复合材料的制备与性能研究 [D]. 济南: 山东大学, 2018.
- [17] LIU T, SHI L, GU Z P, et al. A novel combined polyphenol-aldehyde crosslinking of collagen film-Applications in biomedical materials[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2017, 101: 889–895.
- [18] LIU X H, DAN N H, DAN W H. Preparation and characterization of an advanced collagen aggregate from porcine acellular dermal matrix[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2016, 88: 179–188.
- [19] RIAZ T, ZEESHAN R, ZARIF F, et al. FTIR analysis of natural and synthetic collagen[J]. *Applied Spectroscopy Reviews*, 2018, 53(9): 703–746.
- [20] KITTIPHATTANABAWON P, BENJAKUL S, VIESSANGUAN W, et al. Isolation and characterisation of collagen from the skin of brownbanded bamboo shark (*Chiloscyllium punctatum*)[J]. *Food Chemistry*, 2010, 119(4): 1519–1526.
- [21] CHAVOSHPOUR-NATANZI Z, SAHIHI M. Encapsulation of quercetin-loaded β -lactoglobulin for drug delivery using modified anti-solvent method[J]. *Food Hydrocolloids*, 2019, 96: 493–502.
- [22] MOHAMMADIAN M, MOGHADDAM A D, SHARIFAN A, et al. Nanocomplexes of whey protein fibrillar aggregates and quercetin as novel multi-functional biopolymeric ingredients: interaction, chemical structure, and bio-functionality[J]. *Journal of the Iranian Chemical Society*, 2020, 17(10): 2481–2492.
- [23] ZHANG C, YANG X S, HU W Q, et al. Preparation and characterization of carboxymethyl chitosan/collagen peptide/oxidized konjac composite hydrogel[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 149: 31–40.
- [24] RASTIAN Z, PÜTZ S, WANG Y, et al. Type I collagen from jellyfish *Catostylus mosaicus* for biomaterial applications[J]. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 2018, 4(6): 2115–2125.
- [25] HU Y, LIU L, GU Z P, et al. Modification of collagen with a natural derived cross-linker, alginate dialdehyde[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2014, 102: 324–332.
- [26] KACZMAREK B, SIONKOWSKA A, KOZLOWSKA J, et al. New composite materials prepared by calcium phosphate precipitation in chitosan/collagen/hyaluronic acid sponge cross-linked by EDC/NHS[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 107: 247–253.
- [27] ZHANG M, LIN H, WANG Y L, et al. Fabrication and durable antibacterial properties of 3D porous wet electrospun RCSC/PCL nanofibrous scaffold with silver nanoparticles[J]. *Applied Surface Science*, 2017, 414: 52–62.
- [28] LIU X H, ZHENG M H, WANG X C, et al. Biofabrication and characterization of collagens with different hierarchical architectures[J]. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 2020, 6(1): 739–748.
- [29] CHEN Y N, DAN N H, WANG L, et al. Study on the cross-linking effect of a natural derived oxidized chitosan oligosaccharide on the porcine acellular dermal matrix[J]. *RSC Advances*, 2016, 6(44): 38052–38063.
- [30] 陈一宁, 但卫华, 但年华. 脱细胞真皮基质的改性及应用概述 [J]. *材料导报*, 2018, 32(13): 2311–2319.
- [31] RIEDEL S, HIETSCHOLD P, KRÖMMELBEIN C, et al. Design of biomimetic collagen matrices by reagent-free electron beam induced crosslinking: structure-property relationships and cellular response[J]. *Materials & Design*, 2019, 168: 107606.
- [32] LIU X H, YAN Z, WANG X C, et al. Development of a novel collagenous matrix based on tissue-mimicking advanced collagen aggregate synthetically cross-linked with biological cross-linkers, OCS, and β -ODAP for wound healing[J]. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 2018, 6(12): 17142–17151.