

天然可降解性生物医用材料丛书

胶原蛋白与临床医学

Collagen-based Biomaterials in Clinical Medicine

顾其胜 蒋丽霞 主编



第二军医大学出版社

天然可降解性生物医用材料丛书之一

主编 顾其胜
蒋丽霞

胶原蛋白与临床医学

Collagen-based Biomaterials
in Clinical Medicine

第二军医大学出版社

内 容 提 要

胶原蛋白作为一种生物医用材料和以胶原蛋白为基质构建的医用装置,在生物材料学、临床医学和组织工程学中是一个不断引人入胜的研究课题。

本书从胶原蛋白的结构与功能、制备方法、检测与产品标准,临床止血的应
用、软组织修复的应用以及在组织工程方面的应用等方面作了较为全面的
阐述,是一本实用性很强的书。不仅对大专院校、科研机构的学生及研究人
员是一本很好的教材,而且对人体临床医学应用也是一本有价值的参考书。

图书在版编目(CIP)数据

胶原蛋白与临床医学/顾其胜,蒋丽霞主编. —上海:第二军医大学出版社,2003.3

ISBN 7-81060-299-3

(天然可降解性生物医用材料丛书)

I. 胶… II. ①顾… ②蒋… III. 胶原蛋白-应用-生物工程:医学工程
IV. R318.08

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2003)第 008441 号

胶原蛋白与临床医学

主 编:顾其胜 蒋丽霞

责任编辑:赵绪韬

第二军医大学出版社出版发行

(上海翔殷路 818 号 邮政编码:200433)

全国各地新华书店经销

上海市崇明裕安印刷厂印刷

开本:850×1168 1/32 印张:9.875 字数:252千字

2003年3月第1版 2003年3月第1次印刷

印数:1~4000

ISBN 7-81060-299-3/R·220

定价:20.00元

天然可降解性生物医用材料丛书之一

《胶原蛋白与临床医学》参编人员

主 编	顾其胜	蒋丽霞	
编著人员	顾其胜	蒋丽霞	黄治本
	严 凯	王文斌	王朝静
	张雪雁		

序

胶原蛋白是动物体内含量最多、分布最广的蛋白质。胶原蛋白与免疫球蛋白一样,富有多样性及组织分布的特异性,是与各组织和器官功能有关的功能性蛋白。胶原蛋白不但在个体的发生、分化、形态形成过程中与其他结缔组织成分一样起着重要作用,而且在诸多病理变化时,随着胶原蛋白型别的变异而产生相应组织和器官功能的低下。因此,胶原蛋白与机体的生长、衰老及疾病有极其密切的关系,是医学研究的一个重要课题。

与此同时,生物医用材料(biomedical materials)是一门材料学与医学交叉的新学科,近年来发展很快。其中,胶原蛋白在可降解生物医用材料中占有很重要的位置。由于胶原蛋白独特的理化性能和优异的生物相容性,目前在止血敷料、人工皮肤、骨科修复材料、药物缓释材料方面发挥着重要作用。特别是近年来胶原蛋白在应用于组织工程支架方面取得了可喜的成果,推动了组织工程医疗产品的发展。本书作者在胶原蛋白方面进行了深入的研究,将胶原蛋白的基础研究及临床应用进行总结并编纂成书,这必将推动我国胶原蛋白生物材

料的研究和发展。本书为关注胶原蛋白研究的有关大专院校、科研院所、检验和临床单位的技术人员提供了一本很有价值的参考书。*

奚延斐

* 奚延斐研究员,博士生导师。现为国家药品监督管理局中检所医疗器械质量监督检测中心主任;中国生物医学工程学会生物材料分会主任委员。

前 言

胶原蛋白(collagen)是脊柱动物体内含量最多,分布较广的蛋白质。也是许多组织,尤其是结缔组织的主要构成成分。它所特有的三重螺旋结构赋予它许多十分有用的特性。据此,其本身作为一种生物医用材料和以胶原蛋白为基质而构建的医疗装置(medical devices),显示了在人体临床医学应用中的巨大潜力。

生物医用材料是当今材料科学中一个重要的发展学科,藉材料科学和人体临床医学及组织工程学等学科的交叉,在临床医学各学科中发挥着许多重要的功能和作用。在天然可降解性生物医用材料中,首推胶原蛋白。它以独特的理化性质和优良的生物相容性以及材料之间的兼容,可以单独应用,如止血敷料,充填材料以及支架;也可复合使用,如与羟磷灰石复合作骨修补,与透明质酸、壳聚糖或者海藻酸等复合作组织工程的支架和药物控释系统。

本书第一章着重阐述了胶原蛋白的结构与功能,尤其是其分子结构,基因编码以及生物学性质与功能之间的关系。第二章,结合我们自己的实

践,介绍了胶原蛋白的制备方法,该方法切实可行且可操作性很强。第三章,就胶原蛋白的检测方法作了详尽的解说,从我们自己对产品所建立的标准,结合国内及国外相关情况,分析并介绍了所建立的标准。第四章,从我们的大量人体外及动物实验开始,全面阐述了胶原蛋白与临床止血应用的关系。第五章,胶原蛋白与软组织修复,介绍胶原蛋白在组织充填及软组织修复、整形等方面的使用现状。第六章,结合国内外大量文献资料,联系我们所做的初步工作,展望其发展的趋势,重点介绍了胶原蛋白在组织工程中的应用。总之,本书从上述6个方面对胶原蛋白在临床医学中的地位、作用及实际应用进行了比较全面的叙述,为各大专院校、科研院所,尤其是人体临床医学的广泛应用提供了一本很有价值的参考书。

本书是利用业余时间编写而成,因时间仓促,加之水平有限,不足和错误之处,恳请广大读者批评指教。

顾其胜 蒋丽霞

2003年1月

目 录

第一章 胶原蛋白的结构与功能	1
第一节 胶原蛋白的类型	1
一、各种类型的胶原蛋白组合方式	1
二、经典的纤维形成胶原蛋白	8
第二节 胶原蛋白的结构	9
一、一级结构.....	10
二、二级结构.....	13
三、三级结构.....	13
四、四级结构.....	15
五、三螺旋结构.....	15
六、纤维形成胶原的结构.....	17
第三节 胶原蛋白的编码基因	20
一、I、II、III型胶原蛋白中的亚基.....	20
二、IV~VII型胶原蛋白中的亚基.....	29
三、VIII~X型胶原蛋白中的亚基.....	35
四、XI~XVI型胶原蛋白中的亚基	39
五、胶原蛋白分子的基因突变.....	43
第四节 胶原蛋白的性质和功能	44
一、胶原蛋白的生物合成.....	45
二、胶原蛋白的生物降解.....	47
三、富含胶原蛋白的组织性能.....	48
四、胶原蛋白与组织、器官的关系	52
第二章 胶原蛋白的制备方法	59
第一节 胶原蛋白的提取	59
一、前胶原蛋白的制备.....	60

二、胶原蛋白的提取·····	61
三、各型胶原蛋白的制备方法·····	65
第二节 胶原蛋白的交联·····	68
一、化学交联方法·····	69
二、物理交联方法·····	83
第三节 胶原蛋白复合材料·····	86
一、胶原蛋白-透明质酸复合材料·····	87
二、胶原蛋白-壳聚糖复合材料·····	90
三、胶原蛋白-硫酸软骨素复合材料·····	92
四、胶原蛋白-羟磷灰石复合材料·····	93
五、胶原蛋白-羟磷灰石-透明质酸复合材料·····	96
六、胶原蛋白-壳聚糖-糖胺聚糖复合材料·····	97
第三章 胶原蛋白的检测与标准·····	101
第一节 物理特性检测·····	101
一、胶原蛋白海绵·····	101
二、注射型胶原蛋白·····	104
三、作为药物缓释载体和细胞接种基质·····	107
第二节 生物化学特性检测·····	109
一、蛋白含量测定·····	109
二、氨基酸分析·····	113
三、胶原蛋白相对分子质量测定·····	115
四、羟脯氨酸含量·····	118
五、pH值·····	120
六、重金属含量·····	122
七、消化性·····	122
第三节 生物相容性及安全性检测·····	122
一、生物评价项目(生物相容性试验项目)·····	123
二、检测方法·····	124

三、安全性测试	135
第四节 其他检测方法和标准	138
一、其他检测方法	138
二、标准要求	144
三、对可降解性材料的特殊要求	147
第四章 胶原蛋白与临床止血	153
第一节 生理性止血与凝血机制	153
一、止血机制	153
二、凝血机制	155
三、凝血过程	156
第二节 胶原蛋白在止血和凝血过程中的生物学作用	158
一、作用机制	158
二、体外实验	160
三、动物实验	165
第三节 胶原蛋白在临床止血中的应用	178
一、临床常用的止血方式和止血材料	178
二、胶原蛋白类制品的特点	182
三、临床应用实例	183
四、发展与前景	196
第五章 胶原蛋白与软组织修复	201
第一节 组织的再生与修复	202
一、再生的分类及组织细胞的再生能力	202
二、不同组织的再生	204
三、肉芽组织及瘢痕组织	205
四、创伤愈合	207
第二节 皮肤结构与功能	209
一、皮肤的结构	209
二、皮肤的功能	213

第三节 医用敷料的发展与应用	214
一、医用敷料的分类	214
二、医用敷料的发展及概况	215
第四节 组织充填和褥疮溃疡	220
一、胶原蛋白制品的特点和作用机制	220
二、注射型胶原的软组织充填	222
三、胶原蛋白海绵对于血管性溃疡的治疗作用	227
四、胶原蛋白海绵对于褥疮溃疡的治疗作用	234
第五节 烧伤与胶原蛋白	239
一、胶原蛋白制剂用作烧伤敷料	239
二、胶原蛋白作为上皮的培养载体	241
第六章 胶原蛋白在组织工程中应用	246
第一节 组织工程概述	246
一、组织工程的起源	246
二、组织工程的要素	247
三、组织工程的实施方法	249
四、组织工程的医学应用	249
第二节 组织工程支架材料	251
一、细胞支架的基本特征	251
二、支架材料的要求	252
三、支架材料的表面性能	254
四、生物材料的改性	255
五、目前研究的支架材料	256
第三节 胶原蛋白支架材料	259
一、单纯胶原蛋白支架材料	259
二、胶原蛋白复合物支架材料	262
第四节 人工皮肤	264
一、第 1 代人工皮肤	266

二、第2代人工皮肤	268
三、第3代人工皮肤	270
第五节 周围神经缺损修复	272
一、胶原-壳聚糖复合生物材料研制	273
二、胶原-壳聚糖复合材料生物相容性的检测	275
三、胶原-壳聚糖神经导管修复周围神经 缺损的实验研究.....	277
第六节 骨和软骨组织的修复重建	286
一、骨组织的修复重建	286
二、软骨组织的修复重建	289

第一章 胶原蛋白的结构和功能

第一节 胶原蛋白的类型

胶原蛋白是一组由多种糖蛋白分子组成的大家族,是结缔组织的主要蛋白质成分,约占机体总蛋白的 25%,很多场合也可简称为胶原。到目前为止,至少发现了 30 余种胶原蛋白链的编码基因,这些不同的胶原蛋白链,以不同的方式组合,可以至少形成 16 种以上的胶原蛋白分子。16 种不同类型的胶原蛋白分子大多是由 3 条 α 链绞合而成,形似棒状。其中有的由 3 条相同的 α 链如 $[\alpha_1]_3$ 组成均相三聚体,也有的由 3 条不同的 α 链如 $[\alpha_1]_2\alpha_2$ 或 $\alpha_1\alpha_2\alpha_3$ 组成异相三聚体。 α 链的大小一般在 600~1 000 个氨基酸间变化。新的胶原蛋白链以及胶原蛋白类型正在不断地被发现。最近,在皮肤中又发现了 XVII 型胶原蛋白,在肺、肝脏、肾脏中发现了 XVIII 型胶原蛋白,在胎儿性肌肉肿细胞中发现了 XIX 型胶原蛋白。

为分别阐述各种类型胶原蛋白的组合方式及其基本结构,首先应分析胶原蛋白原始的基本结构,即前胶原蛋白的结构。前胶原蛋白的分子结构如图 1-1 所示,由 N-末端区域、螺旋区域和 C-末端区域组成,借助于前胶原蛋白氨基蛋白酶和羧基蛋白酶分别将前胶原的 N-末端和 C-末端区断裂而形成胶原蛋白。

表 1-1 列出了 18 种胶原蛋白的亚基组成、超分子结构、组织分布和功能。

一、各种类型的胶原蛋白组合方式

I 型胶原蛋白的组合方式有两种:①由 2 个 α_1 链和 1 个 α_2 链组成的异相聚合物 I 型胶原蛋白分子;②由 3 个完全相同的 α_1 链组成的均相 I 型三聚体胶原蛋白;两种组合方式都是构成直径为 67 nm

的原纤维的主要成分,但分布不同,前者主要分布于骨、角膜、皮肤和肌腱中,后者则主要位于肿瘤和皮肤中。

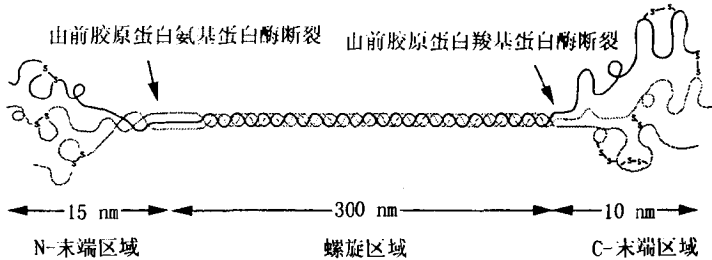


图 1-1 前胶原蛋白分子图

Ⅱ型胶原蛋白的基本结构为 3 个 α_1 链形成的均相三聚体。Ⅱ型胶原蛋白是软骨的主要胶原蛋白成分,在椎间盘以及玻璃体中也含有一定量的Ⅱ型胶原蛋白。在发育过程中的其他类型的组织中也发现有Ⅱ型胶原蛋白。Ⅱ型胶原蛋白的主要功能就是为软骨组织提供张力和承受力,以防止软骨组织在受到外力时被撕碎。Ⅱ型胶原蛋白还为软骨细胞的黏附提供基础,并参与软骨细胞表型分化的调节。

Ⅲ型胶原蛋白也是由 3 个 α_1 链组成,但它是皮肤和血管组织的主要纤维胶原蛋白。这些组织中还含有Ⅰ型胶原蛋白。Ⅲ型胶原蛋白纤维层一般都很薄,因而是一些顺应性组织的纤维组成成分。

Ⅳ型胶原蛋白是基底膜中主要的胶原蛋白,由 $\alpha_1 \sim \alpha_6$ 等 6 种胶原蛋白单体链中的 3 个组成 1 个胶原蛋白三聚体分子。Ⅳ型胶原蛋白分子结构中含有一段很长的三螺旋位点结构,其中含有大约 20 个较短的序列结构,因此这一段螺旋结构序列是不连续的。不连续的三螺旋结构的短序列,为这种紧密的螺旋结构提供了可塑性。Ⅳ型胶原蛋白通过 4 个亚基之间的反平行作用以及氨基末端广泛的二硫键的形成,构成 7S 位点,同时通过两个分子之间羧基末端非胶原蛋白位点 1(NC1)之间的相互作用,以及随后的装配,形成Ⅳ型胶原

表 1-1 18 种不同类型胶原蛋白的组成、结构及组织分布

胶原	亚基	染色体	亚基组成	分子聚集体组成	组织分布	功能
I	α_1	17	$[\alpha_1]_2\alpha_2$	大直径交叉条状纤维	骨、角膜、皮肤、肌腱	支撑纤维
	α_2	7	$[\alpha_1]_3$		瘤、皮肤	
II	α_1	12	$[\alpha_1]_3$	小直径交叉条状纤维	透明软骨、玻璃体	支撑纤维
III	α_1	2	$[\alpha_1]_3$	小直径交叉条状纤维	皮肤、肺、动脉、肾、子宫	小的支撑纤维
IV	α_1	13	$[\alpha_1]_3$	非纤维网状结构	基底膜	网状支架
	α_2	13	$[\alpha_1]_2\alpha_2$			控制多功能的细胞
	α_3	2	$[\alpha_1]_2\alpha_3$			结合部位
	α_4	2	$[\alpha_1]_2\alpha_4$			
	α_5	X	$[\alpha_1]_2\alpha_5$			
	α_6	X				
V	α_1	9	$[\alpha_1]_2\alpha_2$	或交叉小直径纤维、或	结缔组织、大量存在	小的支撑细胞周纤维
	α_2	2	$\alpha_1\alpha_2\alpha_3$	和 XI 型链形成分子	血管化组织和角膜基质	可能是 I 型胶原分子的核心
	α_3		$[\alpha_1]_3$			
VI	α_1	21	$\alpha_1\alpha_2\alpha_3$	念珠状小纤维	除基底膜外的所有结缔组织	可能是主要的胶原纤维和细胞界面
	α_2	21				
	α_3	2				

(续表)

胶原	亚基	染色体	亚基组成	分子聚集体组成	组织分布	功能
VI	α_1	3	$[\alpha_1]_3$	锚定纤维	皮肤的下基底层	固定表皮细胞在基质下
VII	α_1		$[\alpha_1]_{2\alpha_2}$	非纤维网状结构	培养内皮细胞、巩膜、后弹性层、软骨膜等	
IX	α_1	6	$\alpha_1\alpha_2\alpha_3$	FACIT	透明软骨、玻璃体	和II型胶原结合,并使II型胶原纤维和软骨蛋白聚糖相互作用
X	α_1	6	$[\alpha_1]_3$	非纤维网状结构	肥大软骨	软骨成骨发育
XI	α_1	6	$\alpha_1\alpha_2\alpha_3$	或小直径交叉纤维	透明软骨、玻璃体	可能是II型胶原控制纤维直径的核心
	α_2	12		或和XI型链形成分子		
	α_3					
XII	α_1	6	$[\alpha_1]_3$	FACIT	皮肤、胚胎腱、牙周韧带	和I型胶原结合
XIII	α_1	10	$[\alpha_1]_3$		内皮细胞、表皮	
XIV	α_1		$[\alpha_1]_3$	可能是FACIT	胎儿皮肤和肌腱	可能与X型胶原相似
XV	α_1	9	$[\alpha_1]_3$		成纤维细胞、子宫内膜	
XVI	α_1	1	$[\alpha_1]_3$	FACIT	心脏、肺、胰腺、胎盘	
XVII	α_1				皮肤表皮和内皮连接	基底细胞与基质结合
XVIII	α_1				肺、肝、肾	

注: FACIT为不连续三螺旋结构的纤维相关胶原蛋白