

Comparative Study on Physical Properties of Different Tissue-Derived Collagen Biomaterials

Leilei Xia¹, Yi Chen¹, Fumin Men¹, Yang Zhang², Wei Chen³, Xiaolong Zheng¹, Hongquan Wang¹, Jinhui Zhang¹, Hairong Liu³, Bo Zhao^{1*}

¹Beijing Bioscience Healing Biological Technology Co., Ltd., Beijing

²School of Life Science and Technology, Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang Henan

³College of Materials Science and Engineering, Hunan University, Changsha Hunan

Email: *zhaobo@biosishealing.com

Received: May 30th, 2017; accepted: Jun. 30th, 2017; published: Jul. 3rd, 2017

Abstract

In this paper, physical properties of different tissue-derived collagen biomaterials were studied, including morphology, roughness, porosity, hydrophilicity, mechanical strength and denaturation temperature. Results demonstrated that physical property of porcine small intestinal submucosa extracellular matrix (VIDASIS) was almost the same with other domestic and foreign products.

Keywords

Collagen, Biomaterial, Mechanical Strength, Physical Property

不同组织来源的胶原蛋白生物材料物理性能对比研究

夏磊磊¹, 陈毅¹, 门福民¹, 张扬², 陈微³, 郑晓龙¹, 王洪权¹, 张晋辉¹, 刘海蓉³, 赵博^{1*}

¹北京博辉瑞进生物科技有限公司, 北京

²河南科技学院生命科技学院, 河南 新乡

³湖南大学材料科学与工程学院, 湖南 长沙

Email: *zhaobo@biosishealing.com

收稿日期: 2017年5月30日; 录用日期: 2017年6月30日; 发布日期: 2017年7月3日

*通讯作者。

文章引用: 夏磊磊, 陈毅, 门福民, 张扬, 陈微, 郑晓龙, 王洪权, 张晋辉, 刘海蓉, 赵博. 不同组织来源的胶原蛋白生物材料物理性能对比研究[J]. 材料科学, 2017, 7(4): 431-439. <https://doi.org/10.12677/ms.2017.74057>

摘要

本文对比考察了四种不同来源的胶原蛋白植入材料的物理性能, 主要包括形貌、粗糙度、孔隙率、亲水性、力学强度以及变性温度等性质。实验结果表明, 脱细胞猪小肠粘膜下层生物材料(VIDASIS)的物理性能与进口同类产品无显著差异。

关键词

胶原蛋白, 生物材料, 力学强度, 物理性能

Copyright © 2017 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

胶原蛋白属于细胞外基质的结构蛋白质, 是细胞外基质的主要成分, 相对分子质量约为 300 kDa, 含有一个或几个由 α 链组成的三螺旋结构的区域, 是哺乳动物体内含量最多(约占总蛋白的 25%~30%), 分布最广的功能性蛋白。胶原作为一种纤维状蛋白, 可作为组织工程支架的优良生物材料[1] [2]。胶原作为生物医学材料, 具有免疫原性低、生物相容性好、可生物降解、可止血等特点[3] [4] [5] [6] [7], 此外, 胶原的三螺旋结构及自身的交联结构使其具有较高的强度, 可满足机体对机械强度的要求, 已成为组织工程中重要的角色。

脱细胞猪小肠粘膜下层基质是以猪小肠粘膜下层(SIS)为原料, 通过脱细胞、成型和灭菌等工艺制备而成的膜状生物材料, 其主要成分为胶原蛋白, 还包含纤维连接蛋白、层粘连蛋白、生长因子等生物活性功能分子。现已广泛应用于肌腱、硬脑膜、腹壁等组织的修复以及重建。此外, 也有报道将牛真皮、牛跟腱、猪皮等制备的胶原蛋白产品应用于临床治疗, 具有良好的治疗效果[8]-[13]。

本文对比考察了猪小肠粘膜下层基质材料(VIDASIS)、进口猪小肠粘膜下层基质材料(BIODESIGN)以及市售脱细胞牛真皮基质(ADM)和胶原海绵(CS)四种胶原蛋白生物材料的物理性能, 包括形貌、粗糙度、孔隙率、亲水性、力学强度以及变性温度, 从而更加全面地掌握不同组织来源胶原蛋白生物材料的力学特性和物理性能, 为产品不断提升品质提供参考价值。

2. 实验部分

2.1. 主要原料

脱细胞猪小肠粘膜下层基质材料(VIDASIS), 北京博辉瑞进生物科技有限公司产品; 脱细胞猪小肠粘膜下层基质材料(BIODESIGN), 美国 COOK 生物公司产品; 脱细胞真皮基质为采用牛真皮组织经脱细胞工艺处理后制备样品(AMD), 烟台正海生物科技股份有限公司产品; 胶原蛋白海绵为牛跟腱提取胶原蛋白经冷冻干燥制备样品(CS), 天新福(北京)医疗器材股份有限公司产品。

2.2. 主要仪器

本研究所采用的主要仪器见表 1。

Table 1. Mainly used instruments in this study**表 1.** 本研究所使用的主要仪器

仪器	型号	生产厂家
扫描电子显微镜	S4800	日本日立 Hitachi 公司
原子力显微镜	FastScan Bio	德国布鲁克分析仪器公司
真密度仪	JW-M100A	北京精微高博科学技术有限公司
视频光学接触角测量仪	DSA100	德国克吕士公司
医药包装性能测试仪	MED-1	济南兰光机电技术有限公司
差热热重同步分析仪	STA449C	德国耐驰仪器制造有限公司

2.3. 形貌分析

通过扫描电镜观察四种样品的孔径和纤维结构。样品 40℃ 条件下干燥 24 h，离子溅射仪喷金，扫描电镜观察。

2.4. 表面粗糙度分析

利用德国布鲁克分析仪器公司的 FastScan Bio 原子力显微镜检测四组材料的粗糙度。扫描针尖采用 $\Phi 0.5$ mm 的高纯度钨，针尖与样品间的偏压为 80 mV，扫描范围为 1750 nm \times 1750 nm，图像由 Nano-Scope Analysis 软件处理。

2.5. 孔隙率测定

用万分之一天平称量样品质量 M ，再用游标卡尺测量样品的尺寸并计算其视体积 V ，然后将样品放入样品杯中，利用真密度仪测量样品的真密度 $\rho_{真}$ 与样品的真实体积 $V_{真}$ ，再利用如下公式计算样品的孔隙率 ε 。

$$\varepsilon = \left[\left(\frac{1}{\rho_{视}} \right) - \left(\frac{1}{\rho_{真}} \right) \right] / \left(\frac{1}{\rho_{真}} \right)$$

其中， $\rho_{视}$ 为视密度， $\rho_{视} = M/V$ ；

$\rho_{真}$ 为真密度，即仪器的测量值。

2.6. 亲水性分析

将烘干的四种样品置于盖玻片上，将一滴水(约 2 μ L)滴在材料表面，用视频光学接触角测量仪测量水滴与材料的接触角，衡量材料的表面能。

2.7. 力学性能检测

将四种材料裁剪成宽度 20 mm，长度 30 mm 的样品，夹具间的距离为 15 mm，再将样品夹到夹具上，利用医药包装性能测试仪测量样品的力值、应力、应变及弹性模量。

2.8. 差热分析

将四种样品破碎成粉末，使用差热热重同步分析仪对样品进行差热和热重分析。最高温度 600℃，升温速率 10℃/min，气氛为空气。

3. 结果与讨论

3.1. 形貌分析

四种材料的表面及横截面形貌如图 1 所示，从图中可以看出两种 SIS 材料表面均可以看到胶原纤维

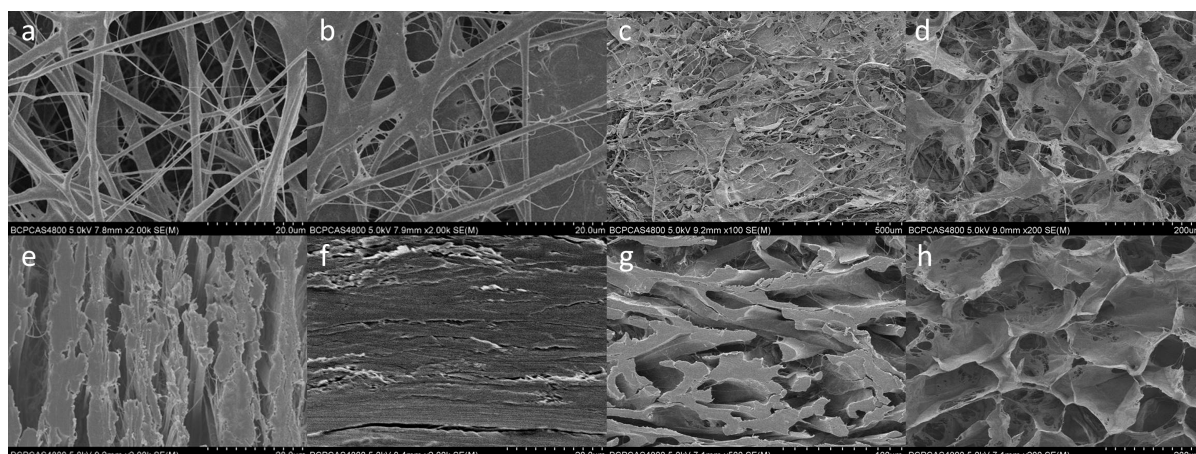


Figure 1. Images of scanning electron microscope of four biomaterial samples

图 1. 四种生物材料样品的扫描电镜图(a: VIDASIS 表面; b: BIODESIGN 表面; c: ADM 表面; d: CS 表面; e: VIDASIS 侧面; f: BIODESIGN 侧面; g: ADM 侧面; h: CS 侧面)

纵横交错排列，材料表面纤维明显，纤维直径约为 $1\ \mu\text{m}$ ，胶原纤维保留完好，长度在 $50\ \mu\text{m}$ 以上，未发现明显断裂纤维，都有连通孔通入材料内部。SIS 纤维直径在从横截面形貌图可以看出两种 SIS 材料均为层状结构，分布均匀，但 VIDASIS 层间隙更大，更有利于新生细胞的进入生长。ADM 表面较为平整，且致密，表面极少见连通孔，横截面存在许多孤立的块状物，为细胞外基质纤维的横切面，内部连通孔较多，此材料应为不同向的纤维堆叠而成。CS 表面呈纤维细丝网状结构，从横截面形貌图可以看出材料孔径大小不一，孔连通性较好。总体而言，四种材料都有连通孔，但 ADM 表面致密平整，为微米级片状结构(长度在 $100\ \mu\text{m}$ 以上)，限制了细胞的长入，BIODESIGN 样品内部连通孔相对其他样品较差，VIDASIS 和 CS 样品连通效果最好。而 CS 由于采用胶原蛋白溶液冷冻干燥工艺制备，因此孔隙连通结构最好，孔径范围 $50\sim 200\ \mu\text{m}$ 。

3.2. 粗糙度分析

原子力显微镜分析样品的粗糙度，结果如表 2 所示。VIDASIS 和 BIODESIGN 的粗糙度较小，ADM 的粗糙度明显大于 SIS 材料的， R_q 、 R_a 值分别为 $224\ \text{nm}$ 、 $185\ \text{nm}$ ，而 SIS 材料粗糙度在 $100\ \text{nm}$ 以下。SIS 表面相对平整，更易于细胞迁移修复，从而减少粘连发生的风险。CS 由于粗糙度太大，超出了原子力探针的测试范围，无法测出其粗糙度。

3.3. 孔隙率测定

孔隙率是表征组织工程支架材料的标准之一。一方面，支架的孔隙是细胞进入支架内部的通道；另一方面，支架的孔隙也是营养物质、气体以及植入细胞的代谢产物进出支架内部的重要通道。两种 SIS 材料都具有一定的孔隙率，有利于细胞和血管的长入，有利于组织的修复，减少修复材料在体内的降解时间，加快组织的修复和伤口的愈合，满足组织工程支架材料的基本要求。

如表 3 所示，VIDASIS、BIODESIGN、ADM 和 CS 的孔隙率分别为 45.82% 、 44.07% 、 74.99% 和 98.84% ，两种 SIS 材料孔隙率相近，都为 45% 左右。CS 孔隙率最高，由于生产工艺等原因，其产品为多孔海绵状三维结构。ADM 的孔隙率介于 SIS 材料和 CS 材料之间。

3.4. 亲水性测试

如图 2 所示，VIDASIS 材料的水接触角为 $45^\circ \pm 1.7^\circ$ ，BIODESIGN 材料为 $46^\circ \pm 2.1^\circ$ ，ADM 材料为

Table 2. Results of roughness analysis by atomic force microscope
表 2. 原子力显微镜分析样品粗糙度的结果

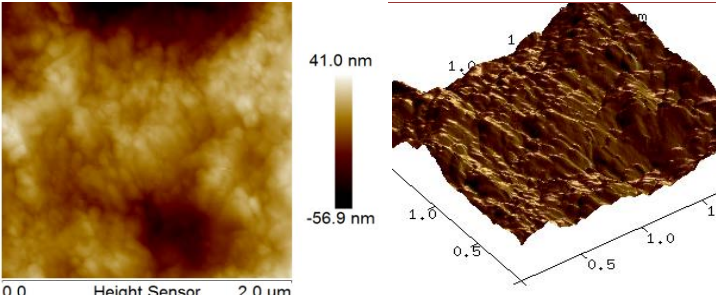
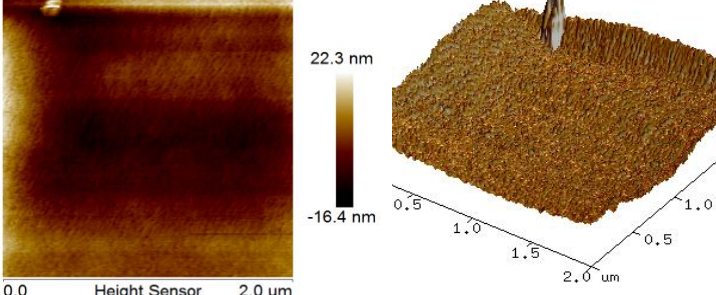
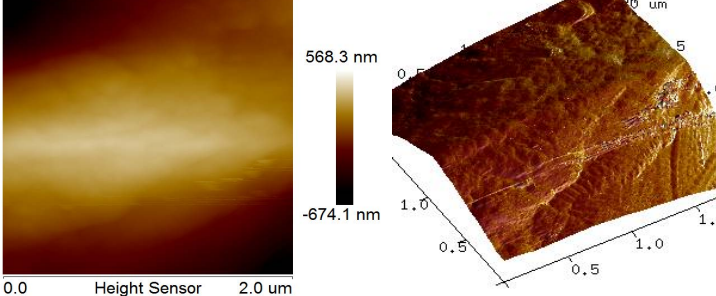
样品	原子力显微镜图像	粗糙度	
		Rq	Ra
VIDASIS		14.3	11.0
COOK		5.72	4.63
ADM		224	185
CS	海绵粗糙度太大, 超出了 AFM 的测试范围	-	-

Table 3. Results of porosity test of four biomaterial samples
表 3. 四种生物材料样品的孔隙率测定结果

样品	V/cm^3	$\rho_{真}/g \cdot cm^{-3}$	$V_{真}/cm^3$	$\rho_{真}/g \cdot cm^{-3}$	$\varepsilon/\%$
VIDASIS	1.2133	0.6110	0.6556	1.1304	45.82
BIODESIGN	1.5068	0.6404	0.8446	1.1426	44.07
ADM	0.3377	0.2810	0.0845	1.1292	74.99
CS	11.0864	0.0101	0.1281	0.8793	98.84

$102^\circ \pm 0^\circ$, CS 为 $96.5^\circ \pm 4.95^\circ$ 。水接触角是反应物质与液体润湿性关系的重要尺度, 水接触角越小表明材料亲水性越好。两种 SIS 产品的水接触角没有明显差异且均小于 90° , 说明两个公司生产的 SIS 材料都具有很好的亲水性。ADM 和 CS 的水接触角均大于 90° , 材料呈疏水性。亲水效果好, 利于体液浸润材料及血管化, 有利于将细胞长入材料内部, 并逐步在材料内部填满新生细胞, 促进组织修复过程, 加快病患处的修复和愈合。

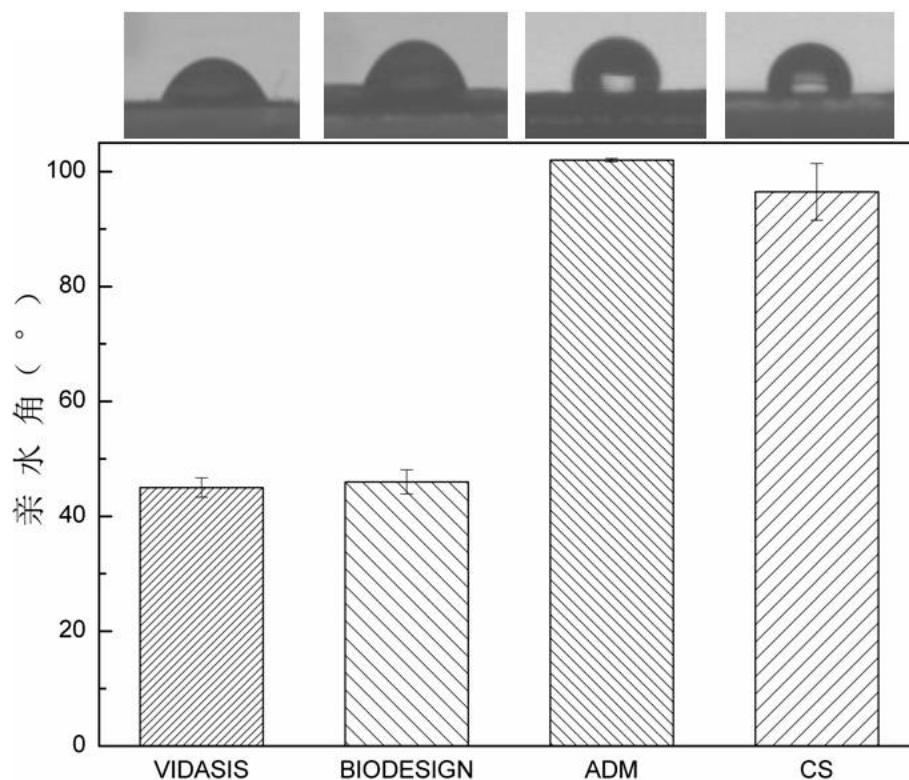


Figure 2. Images of hydrophilicity test of four biomaterial samples

图 2. 四种生物材料样品的亲水性测试图

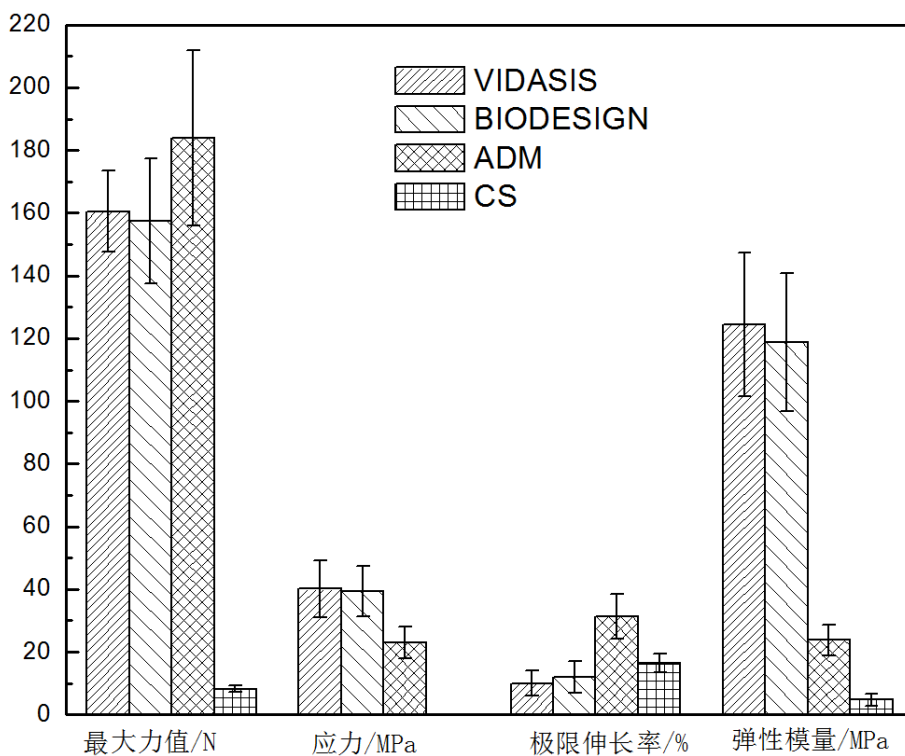
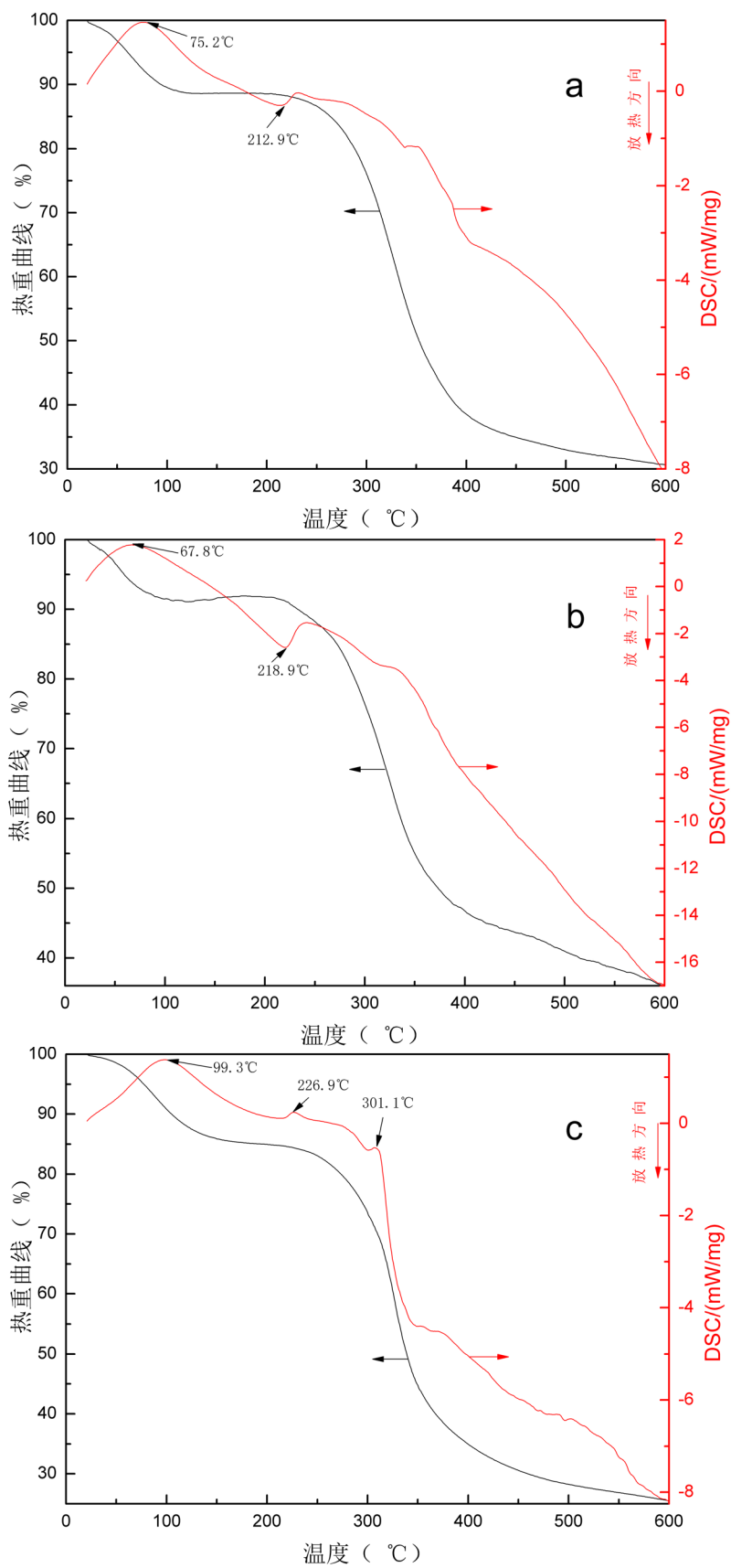


Figure 3. Results of mechanical properties of four biomaterial samples

图 3. 四种生物材料样品的力学性能测试结果



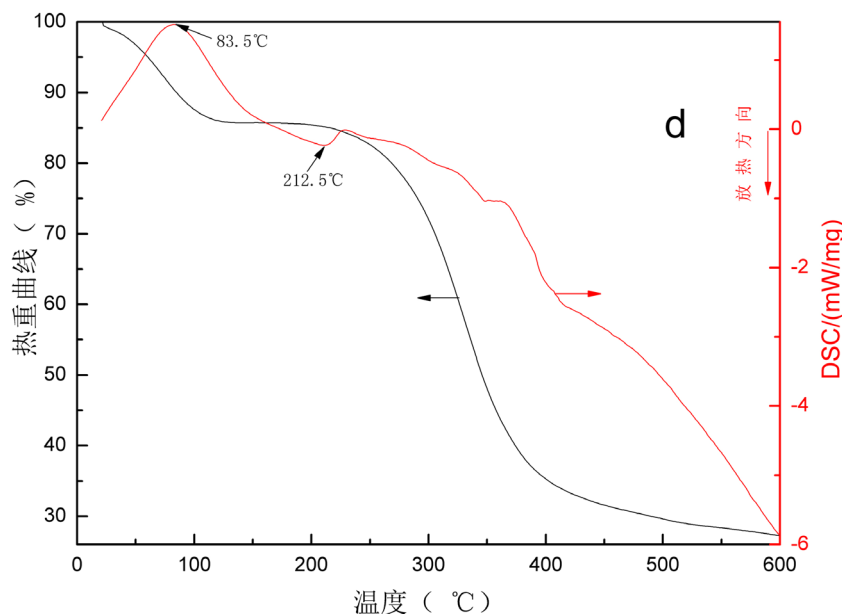


Figure 4. Results of differential scanning calorimetric test of four biomaterial samples

图 4. 四种生物材料样品的差热分析结果(a: VIDASIS; b: BIODESIGN; c: ADM; d: CS)

3.5. 力学性能测试

力学性能测试结果如图 3 所示。VIDASIS 最大力值为 160.5 N, 最大应力为 40.1 MPa, 最大应变为 10%, 弹性模量为 124.43 MPa; BIODESIGN 最大力值为 157.5 N, 最大应力为 39.4 MPa, 最大应变为 12%, 弹性模量为 118.69 MPa; ADM 的最大力值为 184 N, 最大应力为 23.0 MPa, 最大应变为 31.3%, 弹性模量为 23.74 MPa; CS 的最大力值为 8.2 N, 最大应力为 0.072 MPa, 最大应变为 16.3%, 弹性模量为 4.78 MPa。综合比较, 两种 SIS 材料的力学性能基本一致, 且弹性模量明显优于其它两种材料, CS 的力学性能较差。文献报道腹壁组织水平力学强度为 10 ± 3.4 MPa, 垂直力学强度为 4.5 ± 2.0 MPa [14], 因此两种 SIS 材料的力学强度可以满足腹壁修复要求, 而 CS 材料由于力学性能较差, 基本不可能用于腹壁缺损的修复。另外从材料极限伸长率进行对比, ADM 材料弹性较大, 其应变量为 SIS 材料的三倍以上, 植入体内后随着胶原蛋白的降解与重塑, 易发生收缩变形。

3.6. 差热分析

差热曲线可以反应材料物质相变、分解、化合、凝固、脱水、蒸发等物理或化学反应, 因此可用于分析胶原蛋白的变性温度。如图 4 所示, 四种材料的差热曲线表明在 $60^{\circ}\text{C} \sim 100^{\circ}\text{C}$ 附近存在一个热吸收峰, 该峰为材料的变性温度, 即胶原蛋白的三螺旋结构发生破坏的温度, VIDASIS、BIODESIGN、ADM 和 CS 四种材料的变性温度分别为 75.2°C 、 67.8°C 、 99.3°C 和 83.5°C , ADM、CS 两种材料的变性温度明显高于 SIS 材料, ADM 可能与含有弹性蛋白的约束有关, 而 CS 材料的真空脱水工艺提高了胶原分子的变性温度。第二个吸热峰在 220°C 左右, 四种材料差异不同, 代表着胶原蛋白结构完全破坏。

四种材料的热重曲线均呈现出两个失重过程。第一阶段为室温至 200°C , VIDASIS 和 BIODESIGN 失重率皆约为 10% 左右, ADM 和 CS 的失重率偏高些, 约为 15%, 此过程是胶原样品中物理吸附水的解吸附过程; 第二阶段为 200°C 至 400°C , 此过程是以胶原的热降解过程为主, 也伴随着其它失重过程, 如碳化和干馏等; 而 450°C 以后的失重则更为复杂, 主要是其热解产物发生碳化所引起的[15]。

4. 结论

本文考察了 VIDASIS、BIODESIGN、ADM 和 CS 四种胶原蛋白生物材料的物理性能。通过对比分析,不同组织来源与形式的胶原蛋白生物材料在特定的物理性能方面表现出差异性。

VIDASIS 比 BIODESIGN 表面粗糙,前者孔隙率大于后者,CS 的粗糙度和孔隙率比其他三者高,ADM 介于三者之间。VIDASIS 和 BIODESIGN 的亲水角比 ADM 和 CS 小,亲水性更好,更容易被体液润湿,可以与被修复组织更好地接触。VIDASIS 和 BIODESIGN 力学强度最高,应变量小于 ADM,CS 的力学性能。正常情况下,人体胸部腹部肌肉收缩时胸压和腹压会升高,尤其是在咳嗽、排便以及重体力劳作时,压力上升尤为明显,修复受损的腹壁材料需要有一定的力学强度,CS 的抗拉强度较低,无法满足使用要求,而 SIS 材料和 ADM 材料的抗拉强度远远超出腹壁的极限抗拉强度,满足腹壁损伤修复的使用要求。

基金项目

本研究得到国家 863 计划新材料领域专项(2015AA033602)和科技部中小企业创新基金(Z14010101281)的经费支持。

参考文献 (References)

- [1] 顾其胜, 严凯. 胶原蛋白在组织工程及临床中的应用[J]. 上海生物医学工程, 1999, 20(3): 35-38.
- [2] 丘敏梅, 易石坚, 何大源, 等. 医用胶原蛋白海绵治疗重度肝破裂的临床研究[J]. 中国医药导报, 2006, 3(23): 36-38.
- [3] 方成, 汪海波, 梅智强, 等. 鱼皮胶原蛋白海绵组织相容性的体内实验研究[J]. 中国生物医学工程学报, 2014, 33(2): 212-217.
- [4] 汪海婴, 梁艳萍, 李云雁, 等. 鱼源胶原蛋白海绵材料的构建及其生物学性能[J]. 华中科技大学学报: 医学版, 2012, 41(6): 709-715.
- [5] 唐尚权, 徐新华. 胶原蛋白海绵在腰椎间盘突出手术中的止血作用[J]. 中国医药指南, 2012, 10(9): 31-32.
- [6] 张安美. 凝血酶与胶原蛋白海绵联合用于手术创面止血的临床应用观察[J]. 潍坊医学院学报, 2013, 35(1): 22-25.
- [7] 马忠仁, 冯玉萍, 李明生, 等. 新生牛皮胶原蛋白海绵的制备及其体外细胞相容性[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2007, 11(26): 5147-5150.
- [8] 卫秀洋, 王万明, 陈勇忠, 等. 胶原蛋白海绵复合 bFGF 促进兔胫骨外露创面愈合的实验研究[J]. 中国医药指南, 2012, 10(23): 399-401.
- [9] 田波, 刘慧雯, 于宏伟, 等. 大鼠胎脑神经细胞与几丁质多孔体、胶原蛋白海绵及明胶海绵生物相容性的实验研究[J]. 哈尔滨医科大学学报, 2003, 37(1): 10-12.
- [10] 魏敏, 刘开军, 刘杰, 等. 利用牛胶原构建人工真皮[J]. 中国临床康复, 2003, 7(11): 1634-1635.
- [11] 骆凯, 闫福华, 金岩, 等. 牛肌腱复合胶原与人牙周膜成纤维细胞培养的实验研究[J]. 中国修复重建外科杂志, 2005, 19(3): 234-237.
- [12] Miltyk, W. and Palka, J.A. (2000) Potential Role of Pyrroline 5-Carboxylate Inregulation of Collagen Biosynthesis in Cultured Human Skin Fibroblasts. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, **125**, 265-271. [https://doi.org/10.1016/S1095-6433\(99\)00181-6](https://doi.org/10.1016/S1095-6433(99)00181-6)
- [13] 徐俊华, 王慧明. 牛肌腱胶原蛋白的提取及多孔支架的制作[J]. 中国口腔种植学杂志, 2005, 10(3): 108-110.
- [14] Hollinsky, C. and Sandberg, S. (2007) Measurement of the Tensile Strength of the Ventral Abdominal Wall in Comparison with Scar Tissue. *Clinical Biomechanics*, **22**, 88-92. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiomech.2006.06.002>
- [15] 冯文坡, 祁元明, 汤克勇. 兔皮 I 型胶原的提取、改性与性能研究[J]. 北京理工大学学报, 2010(10): 1231-1234+1239.

期刊投稿者将享受如下服务：

1. 投稿前咨询服务 (QQ、微信、邮箱皆可)
2. 为您匹配最合适的期刊
3. 24 小时以内解答您的所有疑问
4. 友好的在线投稿界面
5. 专业的同行评审
6. 知网检索
7. 全网络覆盖式推广您的研究

投稿请点击：<http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱：ms@hanspub.org