

基于丝素蛋白止血抗菌有机高分子材料的研究进展

葛雨暄¹, 杨皓辰¹, 包俊泽¹, 刘乐涵¹, 凌 珏^{2*}, 李嘉莹^{2*}

¹南通大学医学院, 江苏 南通

²南通大学教育部神经再生重点实验室/神经再生协同创新中心, 江苏 南通

收稿日期: 2023年11月3日; 录用日期: 2023年12月5日; 发布日期: 2023年12月15日

摘 要

伤口止血在外科手术及医疗救护过程中起着至关重要的作用。目前, 商业的止血材料, 如纱布、明胶海绵和绷带等, 可以通过封闭出血伤口表面, 实现浅表伤口的止血, 然而, 内脏器官或中枢神经组织损伤后的快速有效止血与组织修复仍是临床难题。丝素蛋白(Silk fibroin)作为一种天然有机高分子, 由于其良好的机械强度、低免疫原性以及良好的相容性等优势, 已被广泛关注并应用于生物医学工程领域。基于层层自组装、静电纺丝以及冷冻干燥等材料合成技术, 形式多样的丝素蛋白止血材料已被成功研制, 并具备出色的凝血性能。虽然丝素蛋白材料已广泛应用于止血, 但其止血的分子机制仍不十分清楚。同时, 缺乏抗菌能力也是限制其在生物医学应用的主要原因之一。因此, 本综述讨论了当前研究中基于丝素蛋白的多功能止血材料的合成制备以及改性后的丝素蛋白抗菌生物材料, 为今后设计和合成新型止血材料提供思路。

关键词

抗菌, 生物材料, 组织工程, 止血材料, 丝素蛋白

Recent Development of Antibacterial Hemostatic Organic Polymer Materials Based on Silk Fibroin for Tissue Repair

Yuxuan Ge¹, Haochen Yang¹, Junze Bao¹, Lehan Liu¹, Jue Ling^{2*}, Jiaying Li^{2*}

¹Medical School, Nantong University, Nantong Jiangsu

²Key Laboratory of Neuroregeneration of Jiangsu and Ministry of Education/Co-Innovation Center of Neuroregeneration, Nantong University, Nantong Jiangsu

*通讯作者。

文章引用: 葛雨暄, 杨皓辰, 包俊泽, 刘乐涵, 凌珏, 李嘉莹. 基于丝素蛋白止血抗菌有机高分子材料的研究进展[J]. 有机化学研究, 2023, 11(4): 193-202. DOI: 10.12677/jocr.2023.114019

Abstract

Wound haemostasis plays a crucial role in surgery and medical care. Currently, commercial hemostatic materials, such as gauze, gelatin sponges and bandages, can achieve hemostasis of wounds by sealing the surface of bleeding wounds. However, rapid hemostasis and effective repair of injured internal organs and central nervous systems still remain great clinical challenges. Silk fibroin is a kind of natural protein, which possesses excellent mechanical strength, low immunogenicity and good compatibility. It has been widely used in the field of biomedical engineering. Through material synthesis techniques such as layer-by-layer self-assembly, electrospinning, and freeze-drying, a myriad of silk fibrin based hemostatic materials have been successfully developed, exhibiting excellent coagulation properties. Although silk fibroin based biomaterials have been widely used for haemostasis, their molecular mechanisms of haemostasis are still poorly understood. Meanwhile, the lack of antibacterial capacity is one of the main reasons limiting their biomedical applications. Therefore, this review discusses the silk fibroin based hemostatic materials and modified silk protein antibacterial biomaterials in the current research and provides ideas for the design of new antibacterial hemostatic materials in the future.

Keywords

Antibacterial, Biomaterial, Tissue Engineering, Hemostatic Materials, Silk Fibroin

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

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



Open Access

1. 引言

临床中, 约有 40% 的致命性创伤是由于无法控制损伤部位出血而导致的[1]。如脊柱、肝脏、心血管和骨科手术等在内的外科手术意外也会导致严重出血, 危及患者生命[2]。如果处理不当, 手术出血可能会引起多种副作用, 包括失血性休克、凝血功能障碍、多器官衰竭、败血症和酸中毒[3]。因此, 伤口止血在战场、交通事故、自然灾害、手术意外等紧急治疗情况下或长时间的外科手术过程中显得尤为重要。然而, 目前绝大部分商业止血材料, 如止血带、纱布、绷带和海绵等, 止血效果有限。同时, 许多深层组织创面包括肝脏、脆弱神经组织或血管组织等也不便人工按压止血, 传统止血材料往往无法达到理想止血效果[4]。

由于止血过程常常伴随着创面愈合, 亟需开发既能快速止血又能促进创面愈合的生物医用止血材料。同时, 损伤部位通常伴随较高的细菌感染风险, 若细菌感染得不到及时有效地处理, 可能引起患者肢体溃疡及全身性败血症, 从而导致其截肢和死亡[5]。

再生医学、纳米技术和生物工程的研究进展为开发具有良好止血和抗菌性能的组织工程修复材料创造了有利条件, 如周祺惠等人通过研究多糖类生物支架材料、种子细胞以及生物信号分子的配比组合, 根据不同类型的伤口修复, 开发出了一系列修复材料[6]。同时, 基于生物学机制和药理学毒理药效的研究, 生物活性大分子(如丝素蛋白、壳聚糖、透明质酸等)促进伤口止血与愈合过程中的新机制也逐渐被揭示; 尤其是基于丝素蛋白的止血与伤口修复材料, 由于其可变的机械性能以及促进组织修复的能力, 在伤口止血愈合方面展现出巨大的应用前景[7]。因此, 本综述将重点讨论丝素蛋白在止血生物材料开发中的研究进展,

以及基于丝素蛋白的抗菌生物材料的研究与应用,为今后设计和开发新型止血愈伤医用材料提供思路。

2. 丝素蛋白

丝素蛋白(Silk fibroin, SF)是一种从蚕丝中提取的天然聚合物,由 26 kDa 轻链和 390 kDa 重链组成,两条链通过二硫键相互连接[8]。丝素蛋白的氨基酸序列包括 Gly-Ala-Gly-Ala-Gly-Ser 重复序列,这些重复序列可以通过自组装形成 β 折叠[9] [10]。丝素蛋白具有优异的生物相容性和可控的生物降解性,是一种功能性的生物大分子。基于上述优势,丝素蛋白已被制成包括薄膜、海绵、电纺垫、纳米粒子和水凝胶等各种形式的支架,并广泛应用于组织工程与再生医学等领域[11] [12]。此外,丝素蛋白可以增强多种细胞如上皮细胞、内皮细胞、成纤维细胞、角化细胞等细胞的粘附、增殖、分化和迁移功能[13] [14] [15]。不仅如此,丝素蛋白已被报道具有良好的凝血活性,能够有效减少出血时间和出血量,在伤口止血方面具有重要应用前景[16]。

3. 丝素蛋白止血材料

由于其良好的血小板和纤维蛋白结合能力以及促进凝血级联反应作用,基于不同的处理方式和材料加工成型技术的丝素蛋白止血材料已经被广泛研究,包括粉末、纤维、薄膜、海绵、水凝胶等形式,并被应用于不同组织伤口的止血应用中[9] [14]。表 1 总结了丝素蛋白止血材料的支架结构形态、相关研究及止血特性等。

Table 1. Composition and hemostatic effect of silk fibroin based hemostatic materials

表 1. 基于丝素蛋白的止血材料的组成与止血评价

材料	凝血机制	形式	动物模型	止血效率	文献
纤维素/丝素蛋白	物理封闭	水凝胶	兔肝脏止血	止血时间为 105.25 ± 21.55 s, 动物失血量约为 810 ± 100 mg	[19]
单宁酸/丝素蛋白	席夫碱反应	水凝胶	大鼠肝脏止血	止血时间为 0.8 ± 0.3 min, 动物失血量约为 35.2 ± 8.6 mg	[21]
淀粉/丝素蛋白	物理封闭	海绵	小鼠肝脏止血	止血时间为 2.5 ± 0.5 min, 动物失血量约为 49 ± 15 mg	[25]
聚乙烯/丝素蛋白	物理封闭	海绵	兔肝脏止血	止血时间为 136.17 ± 62.27 s, 动物失血量约为 2.16 ± 1.27 g	[24]
甲基丙烯丝素蛋白	光化学反应	薄膜	小鼠肝脏止血	止血时间小于 2 min, 动物失血量约为 3.7 mg	[14]

3.1. 丝素蛋白水凝胶

近年来,由于其良好的生物相容性、可调节的生物降解性和优异的机械性能,基于丝素蛋白的水凝胶作为一种新型止血材料,具有止血速度快与促进创面修复等优势[17]。丝素蛋白水凝胶,不仅有助于控制出血,还有助于保持伤口部位湿润,促进伤口愈合,同时,经过改性后的止血丝素蛋白水凝胶,通过水凝胶中的活性基团与天然组织中蛋白质的氨基之间产生化学反应形成共价键,加速止血过程[18]。Wang 等人通过 CO_2 介导的化学交联策略制备了一种高强度的双网络纤维素与丝素蛋白复合水凝胶。在含有的纤维素和丝素蛋白水凝胶体系中进一步引入 CO_2 气体降低体系的 pH 值,促进纤维素链之间产生氢键连接与有序聚集,从而增强水凝胶的力学性能。该丝素蛋白水凝胶具有良好的溶血相容性,体内止血时间仅为 105.25 ± 21.55 s,显著快于临床使用的纱布与商用胶原制品,充分证明了绿色气体介导的交联策略能有效制备性能优异的丝素蛋白止血水凝胶[19]。

止血材料粘附伤口组织的能力决定了其止血的效果,而多酚化合物(如儿茶酚和单宁酸等)对硫醇,胺和酰胺键等基团具强亲和作用,经多酚化合物改性的丝素蛋白水凝胶,具有优越的组织粘附性、抗菌性能、抗氧化作用,同时,多酚化合物也能通过酚羟基与血液的相互作用促进血液凝固[20]。Bai 等人将单宁酸引入丝素蛋白水凝胶网络中,开发了一种具有分层组装纳米结构的丝素蛋白密封胶,该密封胶对潮

湿动态的表面具有极强的粘附能力，可以粘附在不同湿润组织表面，包括肝脏、心脏、肺和肠道等，并展现出了优异的止血性能，止血时间仅为 0.8 ± 0.3 min，显著降低了肝损伤后的失血量，并能加速伤口修复，在止血与组织修复领域具有良好应用前景[21]。

3.2. 丝素蛋白海绵

基于冷冻干燥技术制备出的止血海绵已被广泛用于组织工程领域中[22] [23]。可溶性丝素蛋白海绵能够在体外激活血小板，促进血小板粘附、聚集以及维持血小板活性，迅速诱导血液凝固，从而减少血液流失。Wei 等人将丝素蛋白与分子量为 1500 Da 的聚乙二醇混合并冷冻干燥，制备了一种可被血液溶解并转化为凝胶形式的丝素蛋白止血海绵(SF-PEG)。该止血海绵在血液中的溶胶向凝胶的转变能促进血小板粘附、聚集以及增强血小板-纤维蛋白原的相互作用。与目前临床采用的明胶海绵相比，SF-PEG 海绵在兔肝脏创伤模型的止血时间为 136.17 ± 62.27 s，出血量仅为 2.16 ± 1.27 g，结果显著优于明胶海绵(止血时间： 249.83 ± 29.18 s，出血量： 4.97 ± 1.44 g) [24]。另外，Lee 等人将具有高吸水能力的多糖淀粉与丝素蛋白相结合，将二者的混合物加热形成物理凝胶后冻干制成止血海绵，在止血时间和出血量等指标上，也显著优于临床上广泛应用的 Surgicel 止血剂，具有良好的临床应用前景[25]。

除了利用丝素蛋白海绵本身的止血特性外，基于丝素蛋白的促凝剂药物负载递送体系，由于其良好的止血功效和易于临床应用等优势，近年来也逐渐被开发并受到关注。Shefa 等人将氧化纳米纤维素与丝素蛋白水溶液混合成型后经冷冻干燥制备出了丝素蛋白复合支架，再利用 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳酰二亚胺/N-羟基丁二酰亚胺介导的酶偶联反应将凝血酶负载到支架上，建立了负载凝血酶的复合海绵，显著提高了出血处局部的凝血酶浓度，活化血小板，促进红细胞黏附和纤维蛋白凝块形成，加速止血，是极具临床应用前景的丝素蛋白止血材料[26]。

3.3. 丝素蛋白膜

与上述制备止血海绵所需的复杂工艺相比，基于丝素蛋白的止血膜的开发工艺与表征手段更加简单。利用铸模风干、静电纺丝以及层层自组装技术，形式多样且均一性良好的止血膜已被成功研制，并被应用于伤口止血。雷彩虹等人将丝素蛋白的六氟异丙醇溶液通过静电纺丝技术，开发出了具有致密网状结构的高吸水性复合纤维止血膜，并与植物成分茜草素联用增强了丝单纯丝素蛋白膜的止血效果[27]。大多数丝素蛋白止血膜或者纱布在使用时，都需要通过人工按压的方式进行伤口止血，然而内脏组织出血不便于按压，因此需要开发适用于内脏止血的免按压丝素蛋白止血材料。Huang 等人报道了一种光触发组织粘附的免按压丝素蛋白止血薄膜，该薄膜在紫外光照射 2 分钟内，实现了良好的组织粘附和肝脏穿刺伤口止血作用，不仅如此，在近红外光照射下，该薄膜能有效杀灭了金黄色葡萄球菌，防止伤口感染[14]。

3.4. 丝素蛋白止血粉

止血粉是一类具有纳米至微米级的颗粒，能有效粘附在出血位置并吸收组织渗出液和血液，通过自身体积的溶胀封闭伤口，起到止血效果。由于丝素蛋白自身具有良好的血小板富集和激活能力[16]，基于丝素蛋白的止血粉在吸收伤口渗出液和血液的同时能进一步提升局部的血小板浓度，并激活凝血级联反应，加速止血过程。Huang 等人通过乳液交联的方法成功开发了一种丝素蛋白与海藻酸钠复合的止血微球，该复合微球具有相对粗糙的表面形态，能够有效增强了微球粘附红细胞和血小板的性能，促进了止血微球表面红细胞和血小板富集，加速了微球止血效果[28]。不同的丝素蛋白提取方式会显著影响丝素蛋白分子量，Lei 等人利用氯化钙/水/乙醇的三元溶剂体系得到低分子量的丝素蛋白并干燥制成止血粉末，研究结果表明低分子量的丝素蛋白止血粉末，具有更强的血小板吸附效果和更优越的体内止血效果[29]。虽然现有的丝素蛋白止血粉具有制备工艺简单易行、稳定性好以及使用便捷等优势，但是由于止血粉与

组织之间较强的粘附力, 在止血后, 止血粉往往无法被快速清除, 同时, 止血粉在体内的溶胀也可能会导致组织二次损伤, 因此, 设计和开发便于清除的止血产品也是未来研究的主要方向之一。

4. 丝素蛋白抗菌材料

细菌感染是创面止血修复和生物材料植入时所面临的重要问题之一。尽管有标准的消毒方法, 比如采用干/湿热或电离辐射等标准灭菌处理, 但由于手术室环境、患者自身皮肤或体内其他远端感染, 生物医用材料的表面仍可能被细菌污染[30] [31]。已有报道, 与生物材料使用相关的感染每年会造成高达 330 亿美元的损失, 也成为了严重的社会经济问题之一[32]。因此, 亟需开发具有抗菌活性的止血材料预防患者感染。虽然丝素蛋白自身并不具备抗菌活性, 但将其与抗菌材料, 如天然多糖抗菌聚合物, 银纳米颗粒以及抗生素等进行复合[33], 不仅能使丝素蛋白生物材料具有出色抗菌性能, 还能有效提升支架材料的其他性能, 包括力学性能、亲水性以及自修复性能等; 同时, 降低部分抗菌材料本身的细胞毒性, 使开发兼具生物活性与抗菌活性的止血材料成为可能。表 2 总结了近期基于丝素蛋白的复合抗菌生物材料的开发研究, 包括材料组成及、抗菌机制以及抑菌效果等。

Table 2. Composition and antibacterial effect of silk fibroin based biomaterials

表 2. 基于丝素蛋白的复合抗菌生物材料的组成与抑菌效果评价

组成	形式	抗菌机制	格兰仕阴性菌/格兰仕阳性菌/真菌	抗菌效率	文献
丝素蛋白/透明质酸	薄膜	激活巨噬细胞/单核细胞的细菌吞噬能力; 干扰细菌配体与表面受体位点相互作用	大肠杆菌	对大肠杆菌抗菌率达 95%	[50]
丝素蛋白/壳聚糖	纤维垫	质子化的氨基与带负电荷的细菌膜的静电相互作用	大肠杆菌/金黄色葡萄球菌	对大肠杆菌的抑菌率为 64%; 对金黄色葡萄球菌的抑菌率为 67%	[54]
丝素蛋白/银纳米颗粒/几丁质	水凝胶	释放银离子与细菌内带负电荷的分子结合; 与细菌细胞膜结合并产生活性氧自由基	大肠杆菌/金黄色葡萄球菌/白色念珠菌	对大肠杆菌/金黄色葡萄球菌/白色念珠菌抗菌率均大于 80%	[44]
丝素蛋白/茜草素	纤维膜	抑制细菌的呼吸代谢; 破坏细菌细胞膜、细胞壁	大肠杆菌/金黄色葡萄球菌	对大肠杆菌的抑菌率为 $92.02\% \pm 1.03\%$; 对金黄色葡萄球菌的抑菌率为 $98.03\% \pm 0.28\%$ 。	[27]
丝素蛋白/庆大霉素	补片	与细菌核糖体 30s 亚基结合, 阻断细菌蛋白质合成	大肠杆菌/金黄色葡萄球菌	对大肠杆菌/金黄色葡萄球菌抗菌率均达 100%	[35]

4.1. 负载抗生素丝素蛋白抗菌材料

服用或注射头孢菌素类、氨基糖苷类和喹诺酮类抗菌药物是临床上治疗全身细菌感染的主要手段之一。其中, 氨基糖苷类药物, 如庆大霉素、阿米卡星和卡那霉素等, 能够通过 30 S 核糖体亚单位的 16S rRNA 解码区的 A 部位结合, 从而抑制细菌蛋白质的合成, 促进细菌死亡, 并对铜绿假单胞菌和大肠埃希菌等常见格兰仕阴性杆菌具有优异的杀菌作用, 其可与 β -内酰胺类等抗菌药物联合使用, 用于治疗由格兰仕阴性菌/格兰仕阳性菌感染导致的严重疾病, 在临床上有着重要地位[34]。然而, 如何获得长效的抗菌效果以及减小氨基糖苷类药物导致的耳毒性和肾毒性等副作用仍是临床难题。为了开发兼具长效抗菌作用和良好生物相容性的抗菌药物缓释支架, 徐昌奎等人将庆大霉素与丝素蛋白溶液混合后干燥成型, 制备了负载庆大霉素的丝素蛋白生物补片。该生物补片具有良好的细胞相容性和血液相容性, 并对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌均具有良好的杀灭效果[35]。由于抗生素的滥用导致细菌耐药以及现有抗菌药物的毒副作用, 开发细菌耐药性小、副作用少的抗菌药物已成为近期领域内的研究热点。蒽醌类化合物能够有效

抑制细菌的呼吸代谢，破坏细菌细胞膜结构，并抑制细菌蛋白合成，已被证实具有良好的抗菌作用[36]。其中，茜草素是从植物茜草根中提取的蒽醌类天然药物，具有出色的抗菌、止血等作用，并且对人体副作用小。因此，为了进一步提高丝素蛋白材料的止血性能和抗菌性能，雷彩虹等人将茜草素和丝素蛋白溶解于六氟异丙醇中，基于静电纺丝技术，开发出了致密网状结构的茜草素与丝素蛋白复合纤维止血膜，通过抑制细菌的细胞壁合成和细菌内蛋白质合成，有效抑制大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的生长[27]。不仅如此，该复合纤维止血膜能够提高凝血酶原转化为凝血酶的效率，促进血液凝固，其止血性能显著优于市售的止血纱布。这些研究也为今后开发新型负载抗菌药物的丝素蛋白止血材料奠定了基础。

4.2. 光动力丝素蛋白抗菌材料

抗生素的滥用导致了耐药菌的出现，严重威胁患者的生命安全，如何有效治疗耐药菌逐渐成为生物医学领域的一大难题。除了合成新型抗菌药物和从中药中提取有效抗菌成分外，光动力抗菌疗法不仅具有广谱高效的抗耐药菌作用，而且不会导致细菌耐药，作为精准治疗耐药细菌的一种新策略，已被广泛关注并与生物材料相结合应用于组织工程领域。张小宁等人基于姜黄素在 400~450 纳米可见光照条件下产生活性氧的性能，将姜黄素引入丝素蛋白支架中，开发出了具有良好光动力抗菌的丝素蛋白复合膜，用于皮肤创伤修复与细菌感染治疗[37]。而如何提高光敏治疗剂的负载量和控制释放效果也是光动力抗菌治疗领域的难题，为此，Heydari 等人利用静电纺丝技术制备了含有姜黄素及银的壳聚糖纤维与丝素蛋白纤维的复合纺丝材料，该复合纺丝材料具有 pH 响应性释放姜黄素的性能，有效提高了药物释放时长与作用效果，从而大幅提升了材料的抗菌性能[38]。虽然光动力抗菌在治疗耐药菌感染中具有诸多优势，但是光敏治疗剂的生物相容性及其在体内容易被快速代谢等弊端严重限制了其应用。因此，如何减小其生物毒性和提高其体内稳定性是未来研究的重点，与生物相容性好天然大分子药物载体相结合可能是解决的途径之一。

4.3. 负载银纳米颗粒丝素蛋白抗菌材料

银纳米颗粒作为一种广谱抗菌的纳米材料，不仅能在质子化后进入细菌内并释放银离子，杀灭细菌；也能在氧气中被氧化为氧化银，与细菌内带负电荷的分子结合，干扰细菌的正常生理过程[39] [40] [41] [42]。同时，银纳米颗粒还能与细菌细胞膜结合并产生活性氧自由基，破坏细菌膜结构，改变膜电位和通透性，促使细菌的死亡[43]。Mehraban 等人将银纳米颗粒、几丁质水凝胶与丝素蛋白溶液混合并用戊二醛进行交联，开发出了含有不同银纳米颗粒含量(0.001%~0.1%)的止血抗菌丝素蛋白纳米复合支架，具有良好的生物相容性和优异的抗菌活性，能有效抑制大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和白色念珠菌的生长[44]。此外，基于丝素蛋白还原银离子的能力，Babu 等人通过在 AgNO_3 溶液加入丝素蛋白纤维，制备出了含有氧化银纳米粒子的丝素蛋白纺丝，该丝素蛋白纺丝具有良好的细胞相容性，并对金黄色葡萄球菌、结核分枝杆菌和大肠杆菌均具有良好的抗菌活性[45]。贾兰等人以硝酸银、硼氢化钠和丝素蛋白为原料研制出了丝素蛋白包覆的银纳米粒子，具有良好稳定性和抗菌活性[46]。此外，Shao 等人也开发了单侧载银的丝素蛋白抗菌伤口敷料，用于感染伤口的修复[47]。虽然与抗生素相比银纳米颗粒对耐药菌具有更好的杀伤作用，但较高的细胞毒性限制了其在止血与组织修复领域的应用[48]，而将纳米颗粒负载于生物相容性好的蛋白质药物载体中能够有效降低其生物毒性，延长其抗菌作用效果。

4.4. 天然多糖抗菌聚合物

无论是抗生素、光敏治疗剂还是银纳米颗粒，均具有毒副作用，生物相容性也欠佳。而天然多糖抗菌聚合物，如透明质酸和壳聚糖等，不仅具有良好的杀菌性能，而且具有良好的生物相容性和生物可降解性，被广泛应用于组织工程领域。将天然多糖抗菌聚合物与丝素蛋白相结合，不仅能赋予丝素蛋白类材料良好的抗菌性能，还能大幅提升复合材料的力学性能和生物活性。

透明质酸(Hyaluronic acid, HA)是一种天然多糖类聚合物,由 D-葡萄糖醛酸和 N 乙酰葡萄糖胺组成,广泛分布于人体结缔组织中,具有优异的生物相容性、非免疫原性良好生物降解性,同时,透明质酸能够通过干扰细菌配体与表面受体之间的相互作用,阻碍细菌黏附,并与巨噬细胞/单核细胞的 CD44 分子结合,激活他们对细菌的吞噬能力[49]。Xuan 等人利用主客体反应和层层自组装技术,将环糊精修饰后的丝素蛋白与金刚烷修饰后的透明质酸共混,制备出了抗菌活性出色的丝素蛋白生物膜材料,同时,该材料还具有良好的自修复与自支撑性能,能有效促进细胞增殖和分化[50]。

壳聚糖作为另一种抗菌天然大分子,是从甲壳类动物和昆虫的壳中提取并经去乙酰化处理而产生的阳离子多糖。在较低的 pH 值($\text{pKa} \approx 6.5$)下,壳聚糖的抗菌活性主要依靠质子化的氨基与带负电荷的细菌膜的静电相互作用,从而破坏细菌细胞壁导致细菌细胞死亡;而在较高的 pH 值下,壳聚糖则具有较低的电荷密度,此时其抗菌作用主要依赖疏水相互作用和螯合作用实现[51][52]。由于其良好生物相容性和优异的抗菌性能,壳聚糖常与包括丝素蛋白在内的其他天然聚合物相结合用于制备抗菌生物材料,并广泛应用于止血、伤口愈合和细菌感染治疗等领域[53]。Tu 等人采用静电纺丝技术和静电逐层自组装相结合的方法,制备了羧甲基壳聚糖包覆的丝素蛋白纳米纤维垫。该丝素蛋白纳米纤维垫不仅保持了良好的生物相容性,抑菌效果还会随着羧甲基壳聚糖层数的增加而增强;同时,两性羧甲基壳聚糖使纳米纤维垫具有更好的亲水性和更强的力学性能,可作为组织再生敷料,适用于感染创面修复[54]。此外,李刚等人基于乳液聚合法,开发出了表面形貌规整圆滑的丝素蛋白与壳聚糖复合的抗菌微球,粒径均匀分布在 0.4 到 1.4 微米之间,并对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌均具有良好杀伤效果[55]。虽然天然多糖抗菌聚合物具有无毒、可降解等诸多优势,但细菌可以产生裂解酶促进透明质酸降解,显著降低其抗菌作用,同时,低分子量的透明质酸对金黄色葡萄球菌几乎没有抑制效果。

5. 结论与展望

在组织工程应用中,理想的伤口止血和修复仍然是临床上一个巨大的挑战,也是一大商机。由于愈合过程中涉及多种因素,会对伤口愈合的不同阶段产生重要影响,因此需要不断开发新的治疗策略与技术方法来改善临床效果并提供更有效的治疗选择。对于内脏器官创面,理想的止血敷料应达到快速免按压止血的效果,去除过量渗出物的同时保持潮湿的环境,并保护伤口免受感染和二次创伤,同时具备良好的生物活性能进一步促进伤口修复。

丝素蛋白作为天然可降解高分子,包含亲水和疏水结构域,在其肽链中具有大量反应性氨基和羧基,这些结构域和活性基团赋予了丝素蛋白优异的机械强度、生物功能和生物降解性。通过层层自组装、静电纺丝、冷冻干燥和光固化等材料成型与加工技术,形式繁多的丝素蛋白生物医用材料已被研究开发,如纳米颗粒、薄膜、海绵、水凝胶、纤维等,并被广泛应用于生物医学工程领域。尤其是丝素蛋白水凝胶,丝素蛋白静电纺丝,丝素蛋白海绵等材料,由于其出色的凝血性能,已在止血和组织修复领域被广泛关注与研究。

虽然丝素蛋白生物材料已广泛应用于伤口止血,但很少有研究探讨丝素蛋白的止血机制。目前针对丝素蛋白止血机制的研究中,仅关注了凝血级联的一个或几个参数,如部分凝血活酶和血小板的激活、聚集和粘附来促进血液凝固[56]。然而,基于丝素蛋白的止血机制的研究仍处于早期阶段,未来需要进一步更深入的研究,来阐明丝素蛋白止血的更加全面的生物分子机制。此外,丝素蛋白具有易碎和材料厚度不均匀的缺点[57],需要进一步的研究来构建一系列力学性能和生物活性更优良的丝素蛋白止血支架,并提高丝素蛋白在不同类型止血应用中的潜在效果。同时,缺乏有效的抗菌性能仍是限制丝素蛋白生物材料在伤口止血方面应用的重要因素。为此,研究者们也开始着眼于将丝素蛋白与其他抗菌材料(如透明质酸,壳聚糖和纳米银等)复合,赋予其良好的抗菌效果。这些研究也将扩大丝素蛋白生物材料在生物医

学的应用范围, 将有望解决内脏出血、伤口感染、组织修复等临床实际问题。

基金项目

国家级大学生创新创业训练计划资助项目(202210304045Z)。“三类”学科建设研究教育改革暨江苏省学位与研究生教育学会项目子课题项目(项目编号: JSYXHXM2023-ZYB17)。江苏省研学会重大 2023-1 (项目编号: JSSYXHZD2023-1)。

参考文献

- [1] Shah, A., Palmer, A.J.R. and Klein, A.A. (2020) Strategies to Minimize Intraoperative Blood Loss during Major Surgery. *British Journal of Surgery*, **107**, E26-E38. <https://doi.org/10.1002/bjs.11393>
- [2] Sultan, M.T., Hong, H., Lee, O.J., Ajiteru, O., Lee, Y.J., Lee, J.S., Lee, H., Kim, S.H. and Park, C.H. (2022) Silk Fibroin-Based Biomaterials for Hemostatic Applications. *Biomolecules*, **12**, Article No. 660. <https://doi.org/10.3390/biom12050660>
- [3] Moore, E.E., Moore, H.B., Kornblith, L.Z., Neal, M.D., Hoffman, M., Mutch, N.J., Schochl, H., Hunt, B.J. and Sauaia, A. (2021) Trauma-Induced Coagulopathy. *Nature Reviews Disease Primers*, **7**, Article No. 30. <https://doi.org/10.1038/s41572-021-00264-3>
- [4] Luo, Y., Tao, F., Wang, J., Chai, Y., Ren, C., Wang, Y., Wu, T. and Chen, Z. (2023) Development and Evaluation of Tilapia Skin-Derived Gelatin, Collagen, and Acellular Dermal Matrix for Potential Use as Hemostatic Sponges. *International Journal of Biological Macromolecules*, **2023**, Article ID: 127014. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.127014>
- [5] Zheng, W.P., Hao, Y.P., Wang, D.Y., Huang, H.L., Guo, F.Z., Sun, Z.Y., Shen, P.L., Sui, K.Y., Yuan, C.Q. and Zhou, Q.H. (2021) Preparation of Triamcinolone Acetonide-Loaded Chitosan/Fucoidan Hydrogel and Its Potential Application as an Oral Mucosa Patch. *Carbohydrate Polymers*, **272**, Article ID: 118493. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118493>
- [6] Zhu, Y.L., Liu, L.B., Sun, Z.Y., Ji, Y.J., Wang, D.Y., Mei, L., Shen, P.L., Li, Z.X., Tang, S., Zhang, H., Zhou, Q.H. and Deng, J. (2021) Fucoidan as a Marine-Origin Prebiotic Modulates the Growth and Antibacterial Ability of *Lactobacillus rhamnosus*. *International Journal of Biological Macromolecules*, **180**, 599-607. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.03.065>
- [7] Xing, X.J., Han, Y. and Cheng, H. (2023) Biomedical Applications of Chitosan/Silk Fibroin Composites: A Review. *International Journal of Biological Macromolecules*, **240**, Article ID: 124407. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.124407>
- [8] Tomeh, M.A., Hadianamrei, R. and Zhao, X.B. (2019) Silk Fibroin as a Functional Biomaterial for Drug and Gene Delivery. *Pharmaceutics*, **11**, Article No. 494. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics11100494>
- [9] Holland, C., Numata, K., Rnjak-Kovacina, J. and Seib, F.P. (2019) The Biomedical Use of Silk: Past, Present, Future. *Advanced Healthcare Materials*, **8**, e1800465. <https://doi.org/10.1002/adhm.201800465>
- [10] Sun, W.Z., Gregory, D.A., Tomeh, M.A. and Zhao, X.B. (2021) Silk Fibroin as a Functional Biomaterial for Tissue Engineering. *International Journal of Molecular Sciences*, **22**, Article No. 1499. <https://doi.org/10.3390/ijms22031499>
- [11] 吴建兵, 夏娟. 创伤修复用丝素蛋白敷料的研究进展[J]. *丝绸*, 2020, 57(10): 29-33.
- [12] Li, G.F. and Sun, S. (2022) Silk Fibroin-Based Biomaterials for Tissue Engineering Applications. *Molecules*, **27**, Article No. 2757. <https://doi.org/10.3390/molecules27092757>
- [13] Park, Y.R., Sultan, M.T., Park, H.J., Lee, J.M., Ju, H.W., Lee, O.J., Lee, D.J., Kaplan, D.L. and Park, C.H. (2018) NF- κ B Signaling Is Key in the Wound Healing Processes of Silk Fibroin. *Acta Biomaterialia*, **67**, 183-195. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2017.12.006>
- [14] Huang, T.T., Zhou, Z.H., Li, Q.Y., Tang, X.X., Chen, X.L., Ge, Y.F. and Ling, J. (2022) Light-Triggered Adhesive Silk-Based Film for Effective Photodynamic Antibacterial Therapy and Rapid Hemostasis. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, **9**, Article ID: 820434. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.820434>
- [15] Baba, A., Matsushita, S., Kitayama, K., Asakura, T., Sezutsu, H., Tanimoto, A. and Kanekura, T. (2019) Silk Fibroin Produced by Transgenic Silkworms Overexpressing the Arg-Gly-Asp Motif Accelerates Cutaneous Wound Healing in Mice. *Journal of Biomedical Materials Research Part B-Applied Biomaterials*, **107**, 97-103. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.34098>
- [16] Shen, Y., Wang, X.Y., Li, B.B., Guo, Y.J. and Dong, K. (2022) Development of Silk Fibroin-Sodium Alginate Scaffold Loaded Silk Fibroin Nanoparticles for Hemostasis and Cell Adhesion. *International Journal of Biological Ma-*

- cromolecules*, **211**, 514-523. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.05.064>
- [17] Haghghattalab, M., Kajbafzadeh, A., Baghani, M., Gharehnozifam, Z., Jobani, B.M. and Baniassadi, M. (2022) Silk Fibroin Hydrogel Reinforced with Magnetic Nanoparticles as an Intelligent Drug Delivery System for Sustained Drug Release. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, **10**, Article ID: 891166. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.891166>
- [18] Guo, B.L., Dong, R.N., Bang, Y.P. and Li, M. (2021) Haemostatic Materials for Wound Healing Applications. *Nature Reviews Chemistry*, **5**, 773-791. <https://doi.org/10.1038/s41570-021-00323-z>
- [19] Wang, Z.J., Hu, W.K., Du, Y.Y., Xiao, Y., Wang, X.H., Zhang, S.M., Wang, J.L. and Mao, C.B. (2020) Green Gas-Mediated Cross-Linking Generates Biomolecular Hydrogels with Enhanced Strength and Excellent Hemostasis for Wound Healing. *ACS Applied Materials & Interfaces*, **12**, 13622-13633. <https://doi.org/10.1021/acsami.9b21325>
- [20] Qiao, Z.W., Lv, X.L., He, S.H., Bai, S.M., Liu, X.C., Hou, L.X., He, J.J., Tong, D.M., Ruan, R.J., Zhang, J., Ding, J.X. and Yang, H.H. (2021) A Mussel-Inspired Supramolecular Hydrogel with Robust Tissue Anchor for Rapid Hemostasis of Arterial and Visceral Bleedings. *Bioactive Materials*, **6**, 2829-2840. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2021.01.039>
- [21] Bai, S.M., Zhang, X.L., Cai, P.Q., Huang, X.W., Huang, Y.Q., Liu, R., Zhang, M.Y., Song, J.B., Chen, X.D. and Yang, H.H. (2019) A Silk-Based Sealant with Tough Adhesion for Instant Hemostasis of Bleeding Tissues. *Nanoscale Horizons*, **4**, 1333-1341. <https://doi.org/10.1039/C9NH00317G>
- [22] Han, J., Lv, X., Hou, Y., Yu, H., Sun, Y., Cui, R., Pan, P. and Chen, J. (2023) Multifunctional Hemostatic Polysaccharide-Based Sponge Enhanced by Tunicate Cellulose: A Promising Approach for Photothermal Antibacterial Activity and Accelerated Wound Healing. *International Journal of Biological Macromolecules*, **251**, Article ID: 126386. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.126386>
- [23] Chen, X., Yan, G.L., Chen, M., Yang, P. and Xu, B.L. (2023) Alkylated Chitosan-Attapulgit Composite Sponge for Rapid Hemostasis. *Biomaterials Advances*, **153**, Article ID: 213569. <https://doi.org/10.1016/j.bioadv.2023.213569>
- [24] Wei, W., Liu, J., Peng, Z.B., Liang, M., Wang, Y.S. and Wang, X.Q. (2020) Gellable Silk Fibroin-Polyethylene Sponge for Hemostasis. *Artificial Cells Nanomedicine and Biotechnology*, **48**, 28-36. <https://doi.org/10.1080/21691401.2019.1699805>
- [25] Lee, J., Choi, H.N., Cha, H.J. and Yang, Y.J. (2023) Microporous Hemostatic Sponge Based on Silk Fibroin and Starch with Increased Structural Retentivity for Contact Activation of the Coagulation Cascade. *Biomacromolecules*, **24**, 1763-1773. <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.2c01512>
- [26] Shefa, A.A., Taz, M., Lee, S.Y. and Lee, B.T. (2019) Enhancement of Hemostatic Property of Plant Derived Oxidized Nanocellulose-Silk Fibroin Based Scaffolds by Thrombin Loading. *Carbohydrate Polymers*, **208**, 168-179. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.12.056>
- [27] 俞林双, 金万慧, 周颖, 等. 丝素蛋白/茜草素复合纤维膜的制备及应用[J]. 现代纺织技术, 2023, 31(5): 58-65.
- [28] Huang, X., Fu, Q., Deng, Y., Wang, F., Xia, B., Chen, Z. and Chen, G. (2021) Surface Roughness of Silk Fibroin/Alginate Microspheres for Rapid Hemostasis *in Vitro* and *in Vivo*. *Carbohydrate Polymers*, **253**, Article ID: 117256. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117256>
- [29] Lei, C., Zhu, H., Li, J., Feng, X. and Chen, J. (2016) Preparation and Hemostatic Property of Low Molecular Weight Silk Fibroin. *Journal of Biomaterials Science-Polymer Edition*, **27**, 403-418. <https://doi.org/10.1080/09205063.2015.1136918>
- [30] 王杨阳, 王岩松. 丝素蛋白生物材料在抗菌领域中的研究进展[J]. 中国感染控制杂志, 2018, 17(6): 547-552.
- [31] Ahmed, W., Zhai, Z. and Gao, C. (2019) Adaptive Antibacterial Biomaterial Surfaces and Their Applications. *Materials Today Bio*, **2**, Article ID: 100017. <https://doi.org/10.1016/j.mtbio.2019.100017>
- [32] Greenhalgh, R., Dempsey-Hibbert, N.C. and Whitehead, K.A. (2019) Antimicrobial Strategies to Reduce Polymer Biomaterial Infections and Their Economic Implications and Considerations. *International Biodeterioration & Biodegradation*, **136**, 1-14. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2018.10.005>
- [33] 管彤, 张锋. 生物活性丝素蛋白敷料在创面修复中的研究进展[J]. 丝绸, 2023, 60(2): 35-41.
- [34] 诸玲玲, 孟现民, 张永信. 氨基糖苷类药物的发展历程[J]. 上海医药, 2011, 32(7): 322-326.
- [35] 徐昌奎, 蒲小兵, 陆遥, 等. 载庆大霉素丝素蛋白作为半月板修复材料的安全性和抗菌性能[J]. 中国组织工程研究, 2021, 25(10): 1545-1549.
- [36] 邓丽红, 谢臻, 麦蓝尹, 等. 蒽醌类化合物抗菌活性及其机制研究进展[J]. 中国新药杂志, 2016, 25(21): 2450-2455.
- [37] 陈珍玉, 张小宁, 罗钰昕, 等. 丝素蛋白/姜黄素复合膜敷料促进皮肤创面愈合的评价[J]. 中国组织工程研究, 2021, 25(16): 2554-2561.

- [38] Foroushani, P.H., Rahmani, E., Alemzadeh, I., Vossoughi, M., Pourmadadi, M., Rahdar, A. and Díez-Pascual, A.M. (2022) Curcumin Sustained Release with a Hybrid Chitosan-Silk Fibroin Nanofiber Containing Silver Nanoparticles as a Novel Highly Efficient Antibacterial Wound Dressing. *Nanomaterials*, **12**, Article No. 3426. <https://doi.org/10.3390/nano12193426>
- [39] Eleraky, N.E., Allam, A., Hassan, S.B. and Omar, M.M. (2020) Nanomedicine Fight against Antibacterial Resistance: An Overview of the Recent Pharmaceutical Innovations. *Pharmaceutics*, **12**, Article No. 142. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12020142>
- [40] Hu, L.H., Yang, X., Yin, J., Rong, X., Huang, X.L., Yu, P.Q., He, Z.Q. and Liu, Y. (2021) Combination of AgNPs and Domiphen Is Antimicrobial against Biofilms of Common Pathogens. *International Journal of Nanomedicine*, **16**, 7181-7194. <https://doi.org/10.2147/IJN.S334133>
- [41] Chandraker, S.K. and Kumar, R. (2022) Biogenic Biocompatible Silver Nanoparticles: A Promising Antibacterial Agent. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, **2**, 1-35. <https://doi.org/10.1080/02648725.2022.2106084>
- [42] Qamer, S., Romli, M.H., Che-Hamzah, F., Misni, N., Joseph, N.M.S., Al-Haj, N.A. and Amin-Nordin, S. (2021) Systematic Review on Biosynthesis of Silver Nanoparticles and Antibacterial Activities: Application and Theoretical Perspectives. *Molecules*, **26**, Article No. 5057. <https://doi.org/10.3390/molecules26165057>
- [43] Xie, W.J., Chen, J.Y., Cheng, X.T., Feng, H., Zhang, X., Zhu, Z., Dong, S.S., Wan, Q.B., Pei, X.B. and Wang, J. (2023) Multi-Mechanism Antibacterial Strategies Enabled by Synergistic Activity of Metal-Organic Framework-Based Nanosystem for Infected Tissue Regeneration. *Small*, **19**, e2205941. <https://doi.org/10.1002/sml.202205941>
- [44] Mehrabani, M.G., Karimian, R., Mehramouz, B., Rahimi, M. and Kafil, H.S. (2018) Preparation of Biocompatible and Biodegradable Silk Fibroin/Chitin/Silver Nanoparticles 3D Scaffolds as a Bandage for Antimicrobial Wound Dressing. *International Journal of Biological Macromolecules*, **114**, 961-971. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.03.128>
- [45] Babu, P.J., Doble, M. and Raichur, A.M. (2018) Silver Oxide Nanoparticles Embedded Silk Fibroin Spuns: Microwave Mediated Preparation, Characterization and Their Synergistic Wound Healing and Anti-Bacterial Activity. *Journal of Colloid and Interface Science*, **513**, 62-71. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2017.11.001>
- [46] 李振, 刘素美, 贾兰, 等. 丝素蛋白包裹的银纳米粒子稳定性及抗菌性研究[J]. 化工新型材料, 2019, 47(5): 264-268.
- [47] Shao, J.L., Cui, Y.T., Liang, Y., Liu, H., Ma, B.J. and Ge, S.H. (2021) Unilateral Silver-Loaded Silk Fibroin Difunctional Membranes as Antibacterial Wound Dressings. *Acs Omega*, **6**, 17555-17565. <https://doi.org/10.1021/acsomega.1c02035>
- [48] 徐双梦, 魏延, 苏慧, 等. 丝素蛋白改性的纳米氧化锌的性能研究[J]. 功能材料, 2019, 50(4): 4121-4125.
- [49] 李兢思, 甘秋云, 朱琳艳, 等. 透明质酸用于伤口敷料的研究进展[J]. 化纤与纺织技术, 2022, 51(7): 18-21.
- [50] Xuan, H., Tang, X., Zhu, Y., Ling, J. and Yang, Y. (2020) Freestanding Hyaluronic Acid/Silk-Based Self-Healing Coating toward Tissue Repair with Antibacterial Surface. *ACS Applied Bio Materials*, **3**, 1628-1635. <https://doi.org/10.1021/acsbm.9b01196>
- [51] Kong, Y., Tang, X.X., Zhao, Y.H., Chen, X.L., Yao, K., Zhang, L.L., Han, Q., Zhang, L.Z., Ling, J., Wang, Y.J. and Yang, Y.M. (2020) Degradable Tough Chitosan Dressing for Skin Wound Recovery. *Nanotechnology Reviews*, **9**, 1576-1585. <https://doi.org/10.1515/ntrev-2020-0105>
- [52] Tang, X.X., Gu, X.Y., Wang, Y.L., Chen, X.L., Ling, J. and Yang, Y.M. (2020) Stable Antibacterial Polysaccharide-Based Hydrogels as Tissue Adhesives for Wound Healing. *RSC Advances*, **10**, 17280-17287. <https://doi.org/10.1039/D0RA02017F>
- [53] Eivazzadeh-Keihan, R., Radinekiyan, F., Aliabadi, H.A.M., Sukhtezari, S., Tahmasebi, B., Maleki, A. and Madanchi, H. (2021) Chitosan Hydrogel/Silk Fibroin/Mg(OH)₂ Nanobiocomposite as a Novel Scaffold with Antimicrobial Activity and Improved Mechanical Properties. *Scientific Reports*, **11**, Article No. 650. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-80133-3>
- [54] Tu, H., Wu, G.M., Yi, Y., Huang, M.T., Liu, R., Shi, X.W. and Deng, H.B. (2019) Layer-by-Layer Immobilization of Amphoteric Carboxymethyl Chitosan onto Biocompatible Silk Fibroin Nanofibrous Mats. *Carbohydrate Polymers*, **210**, 9-16. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.01.047>
- [55] 张治斌, 李刚, 毛森贤, 等. 丝素蛋白/壳聚糖微球制备及其抗菌性能[J]. 纺织学报, 2019, 40(10): 7-12.
- [56] Hashimoto, T., Kojima, K. and Tamada, Y. (2020) Higher Gene Expression Related to Wound Healing by Fibroblasts on Silk Fibroin Biomaterial than on Collagen. *Molecules*, **25**, Article No. 1939. <https://doi.org/10.3390/molecules25081939>
- [57] Brooks, A.K., Ramsey, R.G., Zhang, N. and Yadavalli, V.K. (2023) Tunable Light-Actuated Interpenetrating Networks of Silk Fibroin and Gelatin for Tissue Engineering and Flexible Biodevices. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, **9**, 5793-5803. <https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.3c00741>