

doi: 10.3969/j.issn.2095-0411.2024.04.009

## 天然高分子基角膜修复材料力学性能研究进展

刘 杨<sup>1,2</sup>, 张传蕾<sup>1,2</sup>, 孔彦惠<sup>1,2</sup>, 刘慧玉<sup>1,2</sup>, 任 天<sup>1</sup>, 刘 潇<sup>1</sup>, 丁硕秋<sup>1</sup>

(1. 常州大学 医学与健康工程学院, 江苏 常州 213164; 2. 常州大学 药学院, 江苏 常州 213164)

**摘要:** 由于盲人数量庞大、可供移植的捐赠角膜供不应求, 人工角膜逐渐成为研究热点, 但人工角膜常因力学性能不足而发生植片撕裂, 为克服这一问题, 国内外研究者开展了一系列研究工作尝试改善人工角膜的力学性能。文章针对胶原蛋白、明胶、丝素蛋白以及壳聚糖这 4 类常见的天然高分子基角膜修复材料的力学性能相关进展进行了总结。结果发现, 通过光交联、热交联等物理方法, 1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基) 碳二亚胺(EDC)/N-羟基琥珀酰亚胺(NHS) 交联、京尼平或戊二醛交联等化学方法以及其他复合方法都可以显著提升角膜材料的力学性能, 但这些方法仍存在一些不足之处。因此, 进一步开发高质量人工角膜至关重要, 文章通过归纳总结希望能够为角膜修复材料的力学性能提升研究提供一些参考和思路。

**关键词:** 角膜修复; 天然高分子材料; 组织工程; 人工角膜; 力学性能

中图分类号: R 318.08

文献标志码: A

文章编号: 2095-0411(2024)04-0071-11

## Research progress on mechanical properties of natural polymer based corneal repair materials

LIU Yang<sup>1,2</sup>, ZHANG Chuanlei<sup>1,2</sup>, KONG Yanhui<sup>1,2</sup>, LIU Huiyu<sup>1,2</sup>,  
REN Tian<sup>1</sup>, LIU Xiao<sup>1</sup>, DING Shuoqiu<sup>1</sup>

(1. School of Medical and Health Engineering, Changzhou University, Changzhou 213164, China;  
2. School of Pharmacy, Changzhou University, Changzhou 213164, China)

**Abstract:** Due to the large number of blind individuals and the shortage of donor corneas available for transplantation, artificial corneas have gradually become a research hotspot. However, artificial corneas often experience implant tearing due to insufficient mechanical properties. In order to solve this problem, researchers at home and abroad have tried to improve the mechanical properties of corneal

收稿日期: 2024-04-16。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81900814); 江苏省科技厅自然科学基金面上资助项目(BK20171196); 浙江省重点研发计划资助项目(2020C03003)。

作者简介: 刘杨(1985—), 男, 湖北仙桃人, 博士, 副研究员。E-mail: liuyang@cczu.edu.cn

引用本文: 刘杨, 张传蕾, 孔彦惠, 等. 天然高分子基角膜修复材料力学性能研究进展[J]. 常州大学学报(自然科学版), 2024, 36(4): 71-81.

repair materials by a series of research work. This paper summarizes the progress relating to the mechanical properties of four common natural polymer-based corneal repair materials, namely collagen, gelatin, silk fibroin, and chitosan. The results show that physical methods such as photo-crosslinking and thermal crosslinking, chemical methods such as 1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimide (EDC)/N-hydroxysuccinimide (NHS) crosslinking, genipine or glutaraldehyde crosslinking and other composite methods can significantly improve the mechanical properties of corneal materials, but these methods still have some shortcomings. Therefore, further development of high-quality artificial corneas is crucial. It is hoped that the article can provide some reference and ideas for the study of improving the mechanical properties of corneal repair materials through summarization.

**Key words:** corneal repair; natural polymer material; tissue engineering; artificial cornea; mechanical properties

据统计,角膜损伤或角膜疾病是导致全面性失明的第二大因素<sup>[1-3]</sup>。在治疗永久性角膜损伤的诸多方法中,角膜移植是标准疗法,但是全球供体角膜组织和眼库基础设施严重不足,无法满足角膜移植的巨大需求<sup>[4]</sup>,这就引起了人们对开发角膜替代品的关注,尤其是对人工角膜开发的关注日益增加。人工角膜是一种特殊的屈光装置,通过异质成型材料替代人体自然角膜,植入受损的眼睛,以获得一定的视力<sup>[5]</sup>。

为了构建可用于角膜修复的组织工程支架,研究人员运用了各种天然合成材料,如胶原蛋白、丝素蛋白、聚己内酯(PCL)和碳纳米管等<sup>[6]</sup>,如图1所示。并且尝试了多种交联方法,如京尼平交联等化学交联<sup>[7]</sup>,还有光交联<sup>[8]</sup>、热交联<sup>[9]</sup>等物理交联。由此产生的组织工程支架具有多种理想特性,如生物相容性高、多孔结构、细胞外基质(ECM)结构、机械强度和电导率可调节等,这些特性使其适用于角膜组织<sup>[10]</sup>。然而,这些角膜修复材料力学性能不足,使得很多组织工程设计方案失效,而且在临床试验中也常常由于角膜修复材料无法提供足够的机械稳定性,使得植入物发生撕裂,导致实验失败<sup>[11]</sup>,不但损害角膜的完整性,甚至还会损害患者的视力。因此,良好的力学性能对于角膜基质极其重要,改善组织工程人工角膜的力学性能具有非常重要的研究意义。

文章针对常见的几种基于角膜修复的高分子材料(胶原蛋白、明胶、丝素蛋白、壳聚糖等)的力学性能优化做了总结,希望通过整理和归纳为改善角膜修复材料的力学性能提供一些参考。

## 1 胶原基角膜修复材料相关的力学性能研究

胶原蛋白(COL)是天然角膜细胞外基质的主要成分,具有高生物相容性和低免疫原性,是最广泛应用于人工角膜修复的材料之一<sup>[12]</sup>。然而,从动物身上提取的胶原蛋白透光率和机械性能较差,且重组的胶原蛋白可能缺乏足够的强度,在处理时会崩解或在压力下塌陷<sup>[13]</sup>,因此,需要进一步修饰以满足角膜再生的需要。基于此,近年来科研人员研究出了许多制备胶原基角膜修复材料的方法,

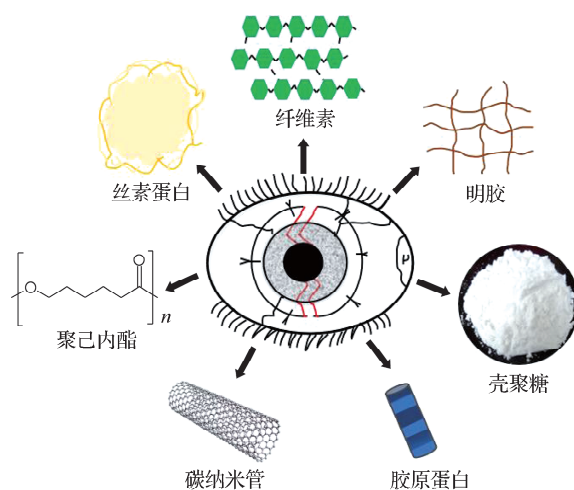


图1 常见的可用于角膜修复的天然高分子材料

Fig.1 Common natural polymer materials for corneal repair

包括物理化学交联以及其他多种复合方法<sup>[14]</sup>。

### 1.1 化学方法制备胶原基角膜修复材料

首先,通过化学交联的方式改善胶原蛋白的力学性能,胶原蛋白化学交联的基本原理是使用化学或天然交联剂与胶原分子上游离的氨基或羧基结合形成共价键<sup>[15]</sup>,最常用的化学交联剂是醛类(如戊二醛(GTA)<sup>[16]</sup>),异氰酸酯和碳二亚胺(如1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺(EDC)<sup>[17]</sup>),植物提取物(如京尼平<sup>[18]</sup>)和碳水化合物(如核糖、葡萄糖<sup>[19]</sup>)等。LEI等<sup>[20]</sup>制备了一类以聚轮烷多醛(PRA)为交联剂,基于 $\alpha$ -环糊精和聚(乙二醇)的宿主-客体超分子,与胶原蛋白交联制备得到角膜修复材料。与传统的EDC/N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)交联的对应物相比,得到的COL-PRA材料具有更好的理化性能,尤其是抗缝合性和光学性能,在角膜再生应用中拥有巨大的潜力。ZHAO等<sup>[21]</sup>将胶原蛋白作为支架材料,选择柠檬酸(CA)作为与其交联的分子,以此来解决胶原蛋白力学性能差的问题,最终得到柠檬酸交联的胶原膜,其机械性能和光学性能都优于纯胶原膜,细胞实验也表明COL-CA薄膜没有细胞毒性,并且人角膜上皮细胞在膜上增殖良好,这些体内外结果表明COL-CA薄膜在角膜修复方面非常有前景。另外KISHORE等<sup>[22]</sup>合成了电化学压缩胶原(ECC)基质,并分析了经EDC/NHS交联和未经交联的ECC基质,研究结果表明两种ECC基质高度透明,透光率测量值可与天然角膜相媲美,而且机械测试结果表明经EDC/NHS交联,ECC基体的力学性能得到了显著提高。

### 1.2 物理方法制备胶原基角膜修复材料

除了上述的化学交联方法,也有很多研究人员开发了热交联、光交联(常用的光引发剂有玫瑰红、核黄素<sup>[23]</sup>)等物理交联方法用于改善材料的力学性能<sup>[24]</sup>。其中,MA等<sup>[25]</sup>开发了一种热交联的方式,该方法是在干燥条件下通过脱水进行酯化,交联的最佳条件是在130~140℃下加热40 h,通过该交联方法,胶原蛋白的机械特性显著增加。而SUN等<sup>[26]</sup>在胶原蛋白中引入了聚己内酯(PCL),采用了化学交联和热交联的方法制备COL-PCL膜,之后对其进行一系列的物理化学表征,结果显示与纯胶原膜和单纯的聚己内酯膜相比,COL-PCL膜在破裂前具有更大的抗拉强度,而且COL-PCL膜可以促进细胞黏附、增殖和迁移。光活化角膜胶原交联(CXL)是通过基质蛋白之间共价键的形成来增加角膜刚度的,GERMANN等<sup>[27]</sup>将兔角膜在体内用核黄素/紫外线辐射(UVX)或玫瑰红/绿光(RGX)进行处理,最后不但发现了胶原组织的变化,同时还发现角膜刚度的时间变化。

### 1.3 其他方法制备胶原基角膜修复材料

两种或多种生物材料的复合也被广泛应用于角膜修复,且研究结果显示这是非常有潜力的角膜修复方法<sup>[28]</sup>。QIN等<sup>[29]</sup>将不同比例的纤维素纳米晶体(CNCs)掺入到胶原蛋白中,获得具有高强度的角膜修复材料,对这些复合薄膜的物理特性进行了表征,并进行基于细胞的体外分析,研究发现COL/CNC薄膜具有更好的力学性能且有良好的生物相容性。LI等<sup>[30]</sup>介绍了一种壳聚糖-胶原复合膜作为角膜组织工程生物材料,通过将壳聚糖以0%,15%,30%,45%,60%和100%的质量分数溶解在胶原蛋白中,然后与EDC交联制备成膜,结果表明壳聚糖-胶原膜的光学透明度和机械强度明显优于壳聚糖膜,而且体外细胞研究证明了交联复合膜具有良好的生物相容性。

胶原基角膜修复材料制备方法的优缺点见表1。

## 2 明胶基角膜修复材料相关的力学性能研究

明胶（Gel）作为胶原的水解产物，是一种天然的生物材料，其具有良好的生物相容性和生物可降解性<sup>[31-32]</sup>，在组织工程中广泛应用，如用于软骨组织支架<sup>[33]</sup>、药物缓释系统<sup>[34]</sup>、制造人工皮肤<sup>[35]</sup>等。虽然明胶没有固定的分子量，但是可以通过化学修饰，接枝细胞黏附肽（RGD）黏附位点<sup>[36]</sup>和线粒体膜电位（MMP）敏感位点等生物活性基团<sup>[37]</sup>，以获得更优良的机械性能、生物相容性。此外，明胶还具有良好的透光性，有利于应用于眼科领域。近年来关于明胶应用于角膜修复的研究越来越多，但是因其机械性能低于天然人工角膜，限制了其在角膜修复方面的应用。为了克服这个问题，众多研究者尝试了许多方法改善明胶的力学性能，主要包括 3 大类方法，分别是化学方法、物理方法及其他方法。

表 1 胶原基角膜修复材料制备方法的优缺点

Table 1 Advantages and disadvantages of methods for preparing collagen-based materials for corneal regeneration

方法	优点	缺点
化学方法	透明度良好；良好的机械性能；可以引入其他化合物	潜在的细胞毒性 <sup>[14]</sup>
物理方法 <sup>[24]</sup>	透明度良好；良好的机械性能	制作时间长；不易引入其他化合物
其他方法 <sup>[28]</sup>	良好的机械性能；可将细胞播种到材料中	透明度低；不易引入其他化合物

### 2.1 化学方法制备明胶基角膜修复材料

GOODARZI 等<sup>[38]</sup>通过添加 I 型胶原蛋白（COL-I）制备了两种 EDC/NHS 交联的明胶基水凝胶，研究了它们的物理特性，并进行细胞黏附生长实验，研究结果显示加入 COL-I 可以提高明胶的力学性能，与 Gel 水凝胶相比，Gel/COL 水凝胶显示出更强的抗拉能力。ROSE 等<sup>[39]</sup>评估了电纺明胶和 PCL 支架是否可以作为角膜基质组织再生的潜在生物材料，比较了戊二醛（GA）交联的电纺明胶支架与不同比例的明胶和 PCL 电纺混合支架，结果表明与单独由 GA 交联的明胶制成的支架相比，由明胶和 PCL 混合物制成的支架显示出了更高的机械强度和可塑性，这说明 PCL 的加入可以改善明胶的力学性能。

### 2.2 物理方法制备明胶基角膜修复材料

与化学交联方法相比，物理方法的优势在于不会引入有毒残留物，可以使材料的应用更加安全。DA SILVA 等<sup>[40]</sup>尝试使用物理交联的方法来提高明胶基角膜修复材料的机械性能，使其与天然人角膜的水平相似，并且保证不存在有毒代谢物，这增加了其应用范围。LI 等<sup>[41]</sup>将一种可光固化的明胶，作为修复局灶性角膜伤口的潜在细胞支持支架，通过改变硫醇与丙烯酸酯基团的比例、光强度等，可以很容易地改变水凝胶的机械性能，以此来找到可用于角膜修复的适宜强度，生成的水凝胶在细胞实验中表现出了良好的生物相容性，因此，其有望作为角膜替代物或基质来构建新的角膜组织。ZHAO 等<sup>[42]</sup>开发了一种由甲基丙烯酸酯化明胶和氧化葡聚糖组成的可光固化水凝胶，用于无缝线角膜移植手术，研究结果表明，该水凝胶具有高透明度、优异的生物相容性以及比商业黏合剂（纤维蛋白胶）更高的黏合强度，是角膜手术缝合线的一种有吸引力的替代品。

### 2.3 其他方法制备明胶基角膜修复材料

改善明胶基角膜修复材料力学性能的其他方法也有许多，文章主要介绍两种方法。第一种，FARASATKIA 等<sup>[43]</sup>制备了丝纳米纤维（SNF）/甲基丙烯酸明胶（GelMA）的透明杂交膜用于角膜组

织工程,通过调节 SNF 与 GelMA 的体积比,来调节杂化膜的力学性能、透明度、溶胀率和降解率,研究表明  $V(\text{SNF}):V(\text{GelMA})=30:70$  的薄膜具有良好的光学、力学和生物学特性,是角膜再生的理想选择。第二种, XU 等<sup>[44]</sup>用羧甲基壳聚糖 (CMCTS)、透明质酸和明胶制备了一种混合膜,研究表明混合膜透明度良好、可生物降解,适合细胞的黏附和增殖,而且力学性能也显著提高,是一种理想的角膜修复材料。

### 3 丝素蛋白基角膜修复材料相关的力学性能研究

丝素蛋白 (SF) 具有良好的生物相容性以及优良的机械强度,因此,是一种很有前途的生物聚合物,可用于多种医学场景<sup>[45-47]</sup>。此外, SF 对可见光几乎是完全透明的,所以也可以用于制造眼部构造物<sup>[48-50]</sup>,这些特性的结合使丝素蛋白成为制造角膜支架的一种有吸引力的材料。然而丝素蛋白用于角膜修复时的力学性能并不理想<sup>[51]</sup>,为了解决这个问题国内外专家尝试了很多方法。

#### 3.1 化学方法制备丝素蛋白基角膜修复材料

虽然 SF 与许多天然生物聚合物相比具有优越的机械性能,但是此性能还可以通过交联等方法进一步增强<sup>[52]</sup>。SHEIK 等<sup>[53]</sup>使用酸酐对蚕丝纤维的表面进行了化学改性,利用酰基将壳聚糖接枝到蚕丝纤维上,使用流延法成功制备了机械性能增强的聚乙烯醇 (PVA) 复合膜,结果发现引入壳聚糖接枝的蚕丝之后,不仅提高了材料的力学性能,还使材料具有良好的抗菌性能以及生物相容性。LI 等<sup>[54]</sup>将 SF 膜经聚乙二醇 (PEG) 制备和改性,并通过流式细胞术和免疫荧光染色实验,进一步检查了角膜缘上皮干细胞 (LESCs) 的特征和正常角膜分化过程,研究结果显示,PEG 的加入改善了 SF 的力学性能,使得 PEG 修饰的 SF 膜非常适合作为 LESCs 移植的载体。

#### 3.2 物理方法制备丝素蛋白基角膜修复材料

除了化学交联方法可以改善丝素蛋白材料的力学性能之外,物理交联方法也为制备丝素蛋白基角膜修复材料提供了一种安全且直接的方法。BHATTACHARJEE 等<sup>[52]</sup>将核黄素 (RF) 和全反式维甲酸 (RA) 偶联到 SF 基质上,以改善细胞对 SF 的反应,将不同浓度的 RF 和 RA 分别通过光交联和碳二亚胺偶联共价结合到 SF 基体上,研究结果表明 RF 作为光引发剂增加了材料的力学性能。而 BAI 等<sup>[55]</sup>是通过丝素蛋白纳米纤维,构建了具有纳米结构和可调刚度的丝素蛋白多孔 3D 支架,将具有高  $\beta$ -折叠含量的丝素蛋白纳米纤维添加到丝素蛋白溶液中以调节自组装,并在冻干后直接诱导水不溶性支架形成,研究结果表明该支架具有良好的力学性能和生物相容性,是一种潜在的角膜修复材料。

#### 3.3 其他方法制备丝素蛋白基角膜修复材料

除了通过化学方法和物理方法改善丝素蛋白的力学性能外,还可以通过 3D 打印技术、流延法等来改善丝素蛋白的力学性能。MU 等<sup>[56]</sup>介绍了一种用丝素蛋白进行 3D 打印的技术,合理地设计了一个能够指导蛋白质分子分层组装的盐水浴,该技术是在水合环境条件下进行的,得到了具有高生物降解性、高生物相容性和优异机械特性的三维蛋白质结构,研究发现 3D 打印的丝素蛋白力学性能大大提高,此项工作提出了一个有前景的、可以替代合成聚合物的制造新技术。HUANG 等<sup>[57]</sup>将壳聚糖和丝素蛋白纤维共溶在含有甲酸的溶液中,并用流延法制备了具有纳米纤维结构的壳聚糖-丝素蛋白生物复合膜,结果显示所制备的壳聚糖-丝素蛋白质量比为 3:1 时,生物复合膜具有优异的机械性能,这归因于丝素蛋白纳米纤维和壳聚糖的自组装,以及丝素蛋白纳米纤维和壳聚糖纳米纤维之间的

强氢键相互作用。

## 4 壳聚糖基角膜修复材料相关的力学性能研究

壳聚糖,是一种天然聚阳离子线性多糖,其来源于甲壳素的部分脱乙酰基<sup>[58]</sup>,由 $\beta$ -(1-4)-糖苷键连接,且由D-葡萄糖胺和N-乙酰基-D-葡萄糖胺随机分布在聚合物中组成<sup>[59]</sup>。壳聚糖有很多优良特性,如无毒、良好的生物相容性、低过敏性和生物降解性等,因此在很多领域中都有应用<sup>[60]</sup>。此外,壳聚糖还具有其他生物学特性,如抗肿瘤、抗菌和抗氧化活性等<sup>[61]</sup>,由于其独特的性质,壳聚糖被广泛用于生物医学领域。然而,壳聚糖机械稳定性较弱,阻碍了其应用发展<sup>[62]</sup>,因此,文章将讨论3种不同的提高壳聚糖机械性能的方法。

### 4.1 化学方法制备壳聚糖基角膜修复材料

壳聚糖可以与各种试剂(如戊二醛、环氧氯丙烷、香草醛以及京尼平等)化学交联,此方法经常被用来改变壳聚糖的机械稳定性和生物降解性<sup>[63]</sup>。郑化等<sup>[64]</sup>以环氧氯丙烷为交联剂制备了交联的壳聚糖薄膜,并对其进行了一系列理化性能表征,研究结果表明交联膜的拉伸强度显著提高,而溶菌酶对交联膜的降解率逐渐降低,因此新型交联壳聚糖薄膜有望用作可控降解生物材料。OH等<sup>[65]</sup>将壳聚糖与交联剂L-3,4-二羟基苯丙氨酸(DOPA)、氧化剂高碘酸钠混合,制备得到了仿生壳聚糖复合膜,发现与纯壳聚糖薄膜相比,此交联膜在潮湿条件下的刚度提高了7倍,而且降低了壳聚糖薄膜的溶胀行为,该策略扩展了壳聚糖复合材料在承重生物材料方面的应用。

### 4.2 物理方法制备壳聚糖基角膜修复材料

相比于化学交联方法,物理交联方法更易于改善壳聚糖基角膜修复材料,并且避免了化学交联剂产生的潜在毒性,从而影响材料的生物功能性。物理水凝胶的形成涉及多种物理相互作用,如氢键作用、离子相互作用和疏水相互作用等<sup>[66]</sup>。LEE等<sup>[67]</sup>制备了由 $\beta$ -壳聚糖和聚(乙二醇)二丙烯酸酯大单体(PEGM)组成的半互穿聚合物网络(Semi-IPN)水凝胶,将PEGM和 $\beta$ -壳聚糖的混合物溶解在含有少量乙酸的水中,加入无毒光引发剂后,通过紫外光照射制备得到水凝胶薄膜,各项研究结果表明,光交联得到的水凝胶力学性能显著增加。而LIU等<sup>[68]</sup>介绍了一种具有优异机械性能的有机-无机交联自修复水凝胶,通过将丙烯酸改性膨润土(AABT)引入到其交联网络中,使聚丙烯酸(PAA)链中的羧基与壳聚糖反应形成具有氢键结构的物理交联网络,研究结果显示AABT-PAA/CS水凝胶的拉伸强度、断裂伸长率和压缩模量都显著增加。

### 4.3 其他方法制备壳聚糖基角膜修复材料

当然,还有其他的复合方法也可以用于提升壳聚糖的力学性能。BETTINI等<sup>[69]</sup>旨在研究从壳聚糖、壳聚糖-磷酸盐、壳聚糖-磷酸盐-D-(+)-棉子糖或壳聚糖-磷酸-D-(+)-蔗糖溶液中获得的一系列壳聚糖薄膜,以初步选择适合细胞黏附与增殖的生物材料,结果表明壳聚糖成膜溶液中高浓度蔗糖或棉子糖以及磷酸盐的存在为材料提供了优良的细胞相容性、弹性模量和机械性能,因此这些新型壳聚糖薄膜被认为是组织再生和修复的潜在生物材料。TAYEBI等<sup>[70]</sup>将壳聚糖纳米粒子(CSNPs)加入到壳聚糖/聚己内酯(PCL)膜中,构建用于培养角膜内皮细胞的可生物降解的透明支架,在恒定浓度的壳聚糖存在下,制备不同比例的CSNPs/PCL,并通过溶剂浇铸法构建薄膜,研究结果显示该支架具有与天然角膜相似的物理化学特性,力学性能优良,且没有细胞毒性,非常适用于角膜内皮再生。改善材料力学性能常见方法和制造技术如图2所示。

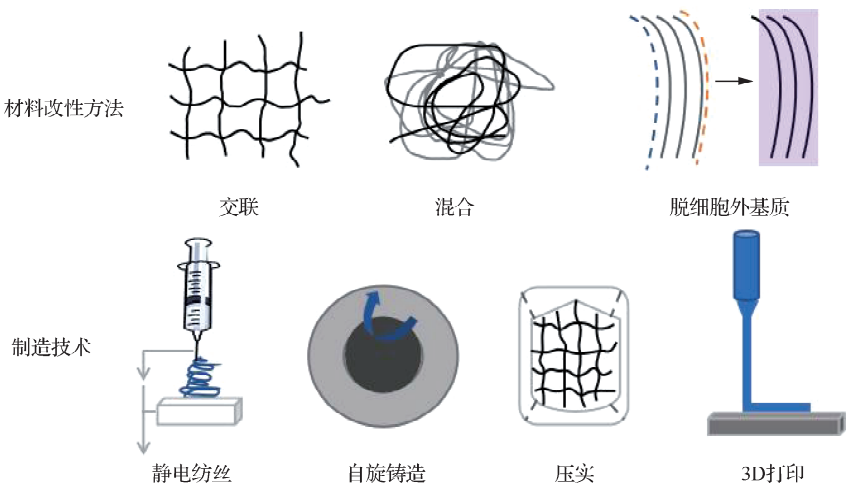


图 2 改善材料力学性能常见方法和制造技术

Fig.2 Common methods and manufacturing techniques for improving mechanical properties of materials

5 其他角膜修复材料相关的力学性能研究

除了这 4 种基本天然高分子材料外,还有许多材料也被广泛应用于角膜修复,例如:羊膜<sup>[71]</sup>、角蛋白以及基于多糖的生物材料等。多糖基材料在角膜组织工程中的应用十分广泛,多糖结构中含有各种官能团,这为其进行化学修饰提供了多种机会。研究人员探索了众多修饰和交联方法,以发现具有改善物理化学和生物学特性的多糖<sup>[72]</sup>。在角膜组织工程中应用最广泛的多糖为纤维素、海藻酸盐、壳聚糖、透明质酸和琼脂糖,表 2 总结了这几种多糖材料的主要组成以及在角膜组织工程中的应用。

表 2 其他材料在角膜组织工程中的应用

Table 2 Application of other materials in corneal tissue engineering

材料组成	所用交联剂	机械性能	结论
羟乙基纤维素和聚乙烯醇 <sup>[73]</sup>	戊二醛、乙醇和盐酸混合物	>7 MPa	支架无毒,可促进细胞黏附
细菌纤维素和聚乙烯醇 <sup>[74]</sup>		不同质量比的支架具有 3.9~7.2 MPa 的抗拉强度	支架具有出色的机械性能
壳聚糖和聚(乙二醇) <sup>[34]</sup>	脲胺	交联支架模量约为 28.2 MPa	薄膜具有高透明度和高机械强度
海藻酸盐和明胶 <sup>[75]</sup>	离子交联	复合水凝胶抗拉强度为 (77.88±18.67) kPa	明胶纳米纤维的掺入提高了水凝胶的机械强度,而不会影响其透明度

6 结 论

主要分析了常见的 4 种天然高分子基角膜修复材料力学性能的提升方法,发现这些方法虽然可以改善生物材料的力学性能,但仍存在一些不足之处有待改进。例如,通过光交联、热交联等物理方法制备的天然高分子生物材料,可以起到交联的作用,但这往往也会对它们的分子结构造成影响;通过京尼平交联、戊二醛交联等化学方法可以实现天然高分子的聚合,但它们本身的颜色和毒性会对材料产生一定影响;通过其他方法也可以达到力学性能提升的要求,但是在材料的均一性等方面还存在不足。因此,构建理想的人工角膜修复材料还具有较大的发展空间,如何提高天然高分子材料的力学性能还需要更深入地研究,组织工程人工角膜的研究工作依然不可懈怠。



## 参考文献:

- [1] LONG Y Y, ZHAO X, LIU S, et al. Collagen-hydroxypropyl methylcellulose membranes for corneal regeneration[J]. ACS Omega, 2018, 3(1): 1269-1275.
- [2] LIU C, SAEED H N. Disparities in access to corneal tissue in the developing world[J]. Seminars in Ophthalmology, 2023, 38(2): 183-189.
- [3] IORIO E, BARBARO V, ALVISI G, et al. New frontiers of corneal gene therapy[J]. Human Gene Therapy, 2019, 30(8): 923-945.
- [4] 纪佳月, 韦柳晴, ZACHARIA A, 等. 纤维蛋白粘合剂粘贴双层基质透镜行兔板层角膜移植术[J]. 国际眼科杂志, 2022, 22(5): 775-779.
- [5] WANG H Y, WEI R H, ZHAO S Z. Evaluation of corneal cell growth on tissue engineering materials as artificial cornea scaffolds[J]. International Journal of Ophthalmology, 2013, 6(6): 873-878.
- [6] KONG B, SUN L Y, LIU R, et al. Recombinant human collagen hydrogels with hierarchically ordered microstructures for corneal stroma regeneration[J]. Chemical Engineering Journal, 2022, 428: 131012.
- [7] EVERAERTS F, TORRIANNI M, HENDRIKS M, et al. Biomechanical properties of carbodiimide crosslinked collagen: influence of the formation of ester crosslinks[J]. Journal of Biomedical Materials Research Part A, 2008, 85A(2): 547-555.
- [8] WENG L H, GOULDSTONE A, WU Y H, et al. Mechanically strong double network photocrosslinked hydrogels from N, N-dimethylacrylamide and glycidyl methacrylated hyaluronan[J]. Biomaterials, 2008, 29(14): 2153-2163.
- [9] GU L S, SHAN T T, MA Y X, et al. Novel biomedical applications of crosslinked collagen[J]. Trends in Biotechnology, 2019, 37(5): 464-491.
- [10] EBHODAGHE S O. Natural polymeric scaffolds for tissue engineering applications[J]. Journal of Biomaterials Science, 2021, 32(16): 2144-2194.
- [11] 魏俊超, 李晓娜. 圆锥角膜生物力学研究进展[J]. 太原理工大学学报, 2022, 53(3): 443-449.
- [12] LIU Y, ZHANG C L, KONG Y H, et al. Modification of collagen film via surface grafting of taurine molecular to promote corneal nerve repair and epithelization process[J]. Journal of Functional Biomaterials, 2022, 13(3): 98-103.
- [13] ZEUGOLIS D I, PAUL G R, ATTENBURROW G. Cross-linking of extruded collagen fibers: a biomimetic three-dimensional scaffold for tissue engineering applications[J]. Journal of Biomedical Materials Research, 2009, 89(4): 895-908.
- [14] ZHAO X, SONG W J, LIU S, et al. Corneal regeneration by utilizing collagen based materials[J]. Science China Chemistry, 2016, 59(12): 1548-1553.
- [15] DELGADO L M, BAYON Y, PANDIT A, et al. To cross-link or not to cross-link associated foreign body response of collagen-based devices[J]. Tissue Engineering, 2015, 21(3): 298-313.
- [16] MCDADE J K, BRENNAN-PIERCE E P, ARIGANELLO M B, et al. Interactions of U937 macrophage-like cells with decellularized pericardial matrix materials: influence of crosslinking treatment[J]. Acta Biomaterialia, 2013, 9(7): 7191-7199.
- [17] OLDE DAMINK L H H, DIJKSTRA P J, VAN LUYN M J A, et al. Cross-linking of dermal sheep collagen using a water-soluble carbodiimide[J]. Biomaterials, 1996, 17(8): 765-773.
- [18] HUANG L L, SUNG H W, TSAI C C, et al. Biocompatibility study of a biological tissue fixed with a naturally occurring crosslinking reagent[J]. Journal of Biomedical Materials Research, 1998, 42(4): 568-576.
- [19] MENTINK C J A L, HENDRIKS M, LEVELS A A G, et al. Glucose-mediated cross-linking of collagen in rat ten-



- don and skin[J]. *Clinica Chimica Acta*, 2002, 321(1/2): 69-76.
- [20] LEI X Y, JIA Y G, SONG W J, et al. Mechanical and optical properties of reinforced collagen membranes for corneal regeneration through polyrotaxane cross-linking[J]. *ACS Applied Bio Materials*, 2019, 2(9): 3861-3869.
- [21] ZHAO X, LIU Y, LI W C, et al. Collagen based film with well epithelial and stromal regeneration as corneal repair materials; improving mechanical property by crosslinking with citric acid[J]. *Materials Science and Engineering*, 2015, 55: 201-208.
- [22] KISHORE V, IYER R, FRANDSEN A, et al. In vitro characterization of electrochemically compacted collagen matrices for corneal applications[J]. *Biomedical Materials (Bristol, England)*, 2016, 11(5): 055008.
- [23] IBUSUKI S, HALBESMA G J, RANDOLPH M A, et al. Photochemically cross-linked collagen gels as three-dimensional scaffolds for tissue engineering[J]. *Tissue Engineering*, 2007, 13(8): 199-2001.
- [24] TAKEZAWA T, OZAKI K, NITANI A, et al. Collagen vitrigel: a novel scaffold that can facilitate a three-dimensional culture for reconstructing organoids[J]. *Cell Transplantation*, 2004, 13(4): 463-473.
- [25] MA X H, NOISHIKI Y, YAMANE Y, et al. Thermal cross-linking for biologically degradable materials[J]. *ASAIO Journal*, 1996, 42(5): 866-871.
- [26] SUN X M, YANG X J, SONG W J, et al. Construction and evaluation of collagen-based corneal grafts using polycaprolactone to improve tension stress[J]. *ACS Omega*, 2020, 5(1): 674-682.
- [27] GERMANN J A, MARTÍNEZ-ENRÍQUEZ E, MARTÍNEZ-GARCÍA M C, et al. Corneal collagen ordering after in vivo rose bengal and riboflavin cross-linking[J]. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 2020, 61(3): 28-35.
- [28] LEVIS H J, MENZEL-SEVERING J, DRAKE R A L, et al. Plastic compressed collagen constructs for ocular cell culture and transplantation: a new and improved technique of confined fluid loss[J]. *Current Eye Research*, 2013, 38(1): 41-52.
- [29] QIN L F, GAO H C, XIONG S J, et al. Preparation of collagen/cellulose nanocrystals composite films and their potential applications in corneal repair[J]. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 2020, 31(6): 55-62.
- [30] LI W C, LONG Y Y, LIU Y, et al. Fabrication and characterization of chitosan-collagen crosslinked membranes for corneal tissue engineering[J]. *Journal of Biomaterials Science*, 2014, 25(17): 1962-1972.
- [31] 王学川, 赵文莹, 张慧洁. 明胶的改性及其在胶黏剂中的应用研究进展[J]. *陕西科技大学学报*, 2022, 40(4): 100-108, 120.
- [32] 蒋媛, 张倩, 吴雨丹, 等. 基质金属蛋白酶活性在3种肺疾病中的比较[J]. *常州大学学报(自然科学版)*, 2017, 29(2): 47-51.
- [33] CAO Z, DOU C, DONG S W. Scaffolding biomaterials for cartilage regeneration[J]. *Journal of Nanomaterials*, 2014, 2014: 4-9.
- [34] OZCELIK B, BROWN K D, BLENCOWE A, et al. Ultrathin chitosan-poly(ethylene glycol) hydrogel films for corneal tissue engineering[J]. *Acta Biomaterialia*, 2013, 9(5): 6594-6605.
- [35] LAI J Y. Biocompatibility of genipin and glutaraldehyde cross-linked chitosan materials in the anterior chamber of the eye[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2012, 13(9): 10970-10985.
- [36] WANG Y J, GUO L, REN L, et al. A study on the performance of hyaluronic acid immobilized chitosan film[J]. *Biomedical Materials (Bristol, England)*, 2009, 4(3): 035009.
- [37] VALMIKINATHAN C M, MUKHATYAR V J, JAIN A, et al. Photocrosslinkable chitosan based hydrogels for neural tissue engineering[J]. *Soft Matter*, 2012, 8(6): 1964-1976.
- [38] GOODARZI H, JADIDI K, POURMOTABED S, et al. Preparation and in vitro characterization of cross-linked collagen-gelatin hydrogel using EDC/NHS for corneal tissue engineering applications[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 126: 620-632.
- [39] ROSE J B, SIDNEY L E, PATIENT J, et al. In vitro evaluation of electrospun blends of gelatin and PCL for appli-

- cation as a partial thickness corneal graft[J]. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 2019, 107(4): 828-838.
- [40] DA SILVA R S G, PINTO L A A. Physical cross-linkers: alternatives to improve the mechanical properties of fish gelatin[J]. *Food Engineering Reviews*, 2012, 4(3): 165-170.
- [41] LI L L, LU C L, WANG L, et al. Gelatin-based photocurable hydrogels for corneal wound repair[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2018, 10(16): 13283-13292.
- [42] ZHAO X, LI S Q, DU X Y, et al. Natural polymer-derived photocurable bioadhesive hydrogels for sutureless keratoplasty[J]. *Bioactive Materials*, 2022, 8: 196-209.
- [43] FARASATKIA A, KHARAZIHA M, ASHRAFIZADEH F, et al. Transparent silk/gelatin methacrylate (Gel-MA) fibrillar film for corneal regeneration[J]. *Materials Science & Engineering*, 2021, 120: 111744.
- [44] XU W H, WANG Z Y, LIU Y, et al. Carboxymethyl chitosan/gelatin/hyaluronic acid blended-membranes as epithelia transplanting scaffold for corneal wound healing[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2018, 192: 240-250.
- [45] TAO H, KAPLAN D L, OMENETTO F G. Silk materials: a road to sustainable high technology[J]. *Advanced Materials*, 2012, 24(21): 2824-2837.
- [46] MA D K, WANG Y S, DAI W J. Silk fibroin-based biomaterials for musculoskeletal tissue engineering[J]. *Materials Science & Engineering*, 2018, 89: 456-469.
- [47] KOH L D, YEO J, LEE Y Y, et al. Advancing the frontiers of silk fibroin protein-based materials for futuristic electronics and clinical wound-healing[J]. *Materials Science & Engineering*, 2018, 86: 151-172.
- [48] APPELGATE M B, PARTLOW B P, COBURN J, et al. Photocrosslinking of silk fibroin using riboflavin for ocular prostheses[J]. *Advanced Materials*, 2016, 28(12): 2417-2420.
- [49] WANG S R, GHEZZI C E, GOMES R, et al. In vitro 3D corneal tissue model with epithelium, stroma, and innervation[J]. *Biomaterials*, 2017, 112: 1-9.
- [50] BRAY L J, GEORGE K A, AINSCOUGH S L, et al. Human corneal epithelial equivalents constructed on bombyx mori silk fibroin membranes[J]. *Biomaterials*, 2011, 32(22): 5086-5091.
- [51] 王嘉琪, 张文芳. 角膜组织工程研究的丝素蛋白/壳聚糖支架: 理论进展与应用转化[J]. *中国组织工程研究*, 2018, 22(6): 952-957.
- [52] BHATTACHARJEE P, FERNÁNDEZ-PÉREZ J, AHEARNE M. Potential for combined delivery of riboflavin and all-trans retinoic acid, from silk fibroin for corneal bioengineering[J]. *Materials Science & Engineering*, 2019, 105: 110093.
- [53] SHEIK S, SHEIK S, NAIRY R, et al. Study on the morphological and biocompatible properties of chitosan grafted silk fibre reinforced PVA films for tissue engineering applications[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 116: 45-53.
- [54] LI Y J, YANG Y L, YANG L, et al. Poly(ethylene glycol)-modified silk fibroin membrane as a carrier for limbal epithelial stem cell transplantation in a rabbit LSCD model[J]. *Stem Cell Research & Therapy*, 2017, 8(1): 256-262.
- [55] BAI S M, HAN H Y, HUANG X W, et al. Silk scaffolds with tunable mechanical capability for cell differentiation[J]. *Acta Biomaterialia*, 2015, 20: 22-31.
- [56] MU X, WANG Y, GUO C C, et al. 3D printing of silk protein structures by aqueous solvent-directed molecular assembly[J]. *Macromolecular Bioscience*, 2020, 20(1): 1900191.
- [57] HUANG J W, QIN J Z, ZHANG P, et al. Facile preparation of a strong chitosan-silk biocomposite film[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2020, 229: 115515.
- [58] CHANDY T, SHARMA C P. Chitosan as a biomaterial[J]. *Biomaterials, Artificial Cells and Artificial Organs*, 1990, 18(1): 1-24.
- [59] 郭静, 高文君, 朱小梅, 等. C-端设计定点突变提高 *Streptomyces Avermitilis* 壳聚糖酶稳定性及催化活性[J]. 常

- 州大学学报(自然科学版), 2022, 34(5): 82-92.
- [60] KUMAR M N V R, MUZZARELLI R A A, MUZZARELLI C, et al. Chitosan chemistry and pharmaceutical perspectives[J]. ChemInform, 2005, 36(11): 6017-6084.
- [61] MARTINS A F, FACCHI S P, FOLLMANN H D M, et al. Antimicrobial activity of chitosan derivatives containing N-quaternized moieties in its backbone: review[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2014, 15(11): 20800-20832.
- [62] WAHBA M I. Enhancement of the mechanical properties of chitosan[J]. Journal of Biomaterials Science, 2020, 31(3): 350-375.
- [63] ORYAN A, KAMALI A, MOSHIRI A, et al. Chemical crosslinking of biopolymeric scaffolds: current knowledge and future directions of crosslinked engineered bone scaffolds[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 107: 678-688.
- [64] 郑化, 杜予民, 余家会, 等. 交联壳聚糖膜的制备及其性能的研究[J]. 高等学校化学学报, 2000, 21(5): 809-812.
- [65] OH D X, HWANG D S. A biomimetic chitosan composite with improved mechanical properties in wet conditions[J]. Biotechnology Progress, 2013, 29(2): 505-512.
- [66] PITA-LÓPEZ M L, FLETES-VARGAS G, ESPINOSA-ANDREWS H, et al. Physically cross-linked chitosan-based hydrogels for tissue engineering applications: a state-of-the-art review[J]. European Polymer Journal, 2021, 145: 110176.
- [67] LEE Y M, KIM S S, KIM S H. Synthesis and properties of poly(ethylene glycol) macromer/ $\beta$ -chitosan hydrogels[J]. Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 1997, 8(9): 537-541.
- [68] LIU C L, FU L H, JIANG T, et al. High-strength and self-healable poly(acrylic acid)/chitosan hydrogel with organic-inorganic hydrogen bonding networks[J]. Polymer, 2021, 230: 124006.
- [69] BETTINI R, ROMANI A A, MORGANTI M M, et al. Physicochemical and cell adhesion properties of chitosan films prepared from sugar and phosphate-containing solutions[J]. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 2008, 68(1): 74-81.
- [70] TAYEBI T, BARADARAN-RAFII A, HAJIFATHALI A, et al. Biofabrication of chitosan/chitosan nanoparticles/polycaprolactone transparent membrane for corneal endothelial tissue engineering[J]. Scientific Reports, 2021, 11(1): 7060-7067.
- [71] 吴丹, 黎玥, 吴复跃, 等. 改良处理低温甘油保存的羊膜对兔角膜碱化学伤后上皮修复作用的研究[J]. 中国眼耳鼻喉科杂志, 2021, 21(6): 439-444.
- [72] DONG Q W, WU D K, LI M Q, et al. Polysaccharides, as biological macromolecule-based scaffolding biomaterials in cornea tissue engineering: a review[J]. Tissue & Cell, 2022, 76: 101782.
- [73] KHARAGHANI D, DUTTA D, HO K K K, et al. Active loading graphite/hydroxyapatite into the stable hydroxyethyl cellulose scaffold nanofibers for artificial cornea application[J]. Cellulose, 2020, 27(6): 3319-3334.
- [74] WANG J H, ZHANG Y S, WAN Y Z. Preparation and in vitro characterization of BC/PVA hydrogel composite for its potential use as artificial cornea biomaterial[J]. Materials Science and Engineering C, 2010, 30(1): 214-218.
- [75] TONSOMBOON K, OYEN M L. Composite electrospun gelatin fiber-alginate gel scaffolds for mechanically robust tissue engineered cornea[J]. Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials, 2013, 21: 185-194.

(责任编辑:周安迪)