

邵彬,焦海燕,李前勇,等. 猪脱细胞膀胱基质的研究现状 [J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(9): 133-138.

Shao B, Jiao HY, Li QY, et al. Research status of porcine urinary bladder matrix[J]. Chin J Comp Med, 2019, 29(9): 133-138.  
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2019.09.021

# 猪脱细胞膀胱基质的研究现状

邵彬<sup>1</sup>, 焦海燕<sup>1</sup>, 李前勇<sup>2</sup>, 葛良鹏<sup>3\*</sup>

(1.如东县河口畜牧兽医站,江苏 南通 226463; 2.西南大学,重庆 402460; 3.重庆市畜牧科学院,重庆 402460)

**【摘要】** 猪脱细胞膀胱基质(urinary bladder matrix, UBM)是细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的一种,目前研究发现其是盆底高分子补片的理想替代材料,具有无侵蚀性、组织相容性好、能诱导组织再生、减少瘢痕形成等优点,但也有易被人体吸收等缺点。通过使用一些合理的方法可以有效改善 UBM 的生物性能和力学性能,使其更有利于患者疾病的康复。本文从 UBM 的结构和功能、制作方法、实际应用等方面介绍 UBM 的研究发展现状。

**【关键词】** 猪脱细胞膀胱基质;材料;方法

**【中图分类号】** R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2019) 09-0133-06

## Research status of porcine urinary bladder matrix

SHAO Bin<sup>1</sup>, JIAO Haiyan<sup>1</sup>, LI Qianyong<sup>2</sup>, GE Liangpeng<sup>3\*</sup>

(1. Hekou Animal Husbandry Veterinary Station, Rudong County, Nantong 226463, China. 2. Southwest University, Chongqing 402460. 3. Chongqing Academy of Animal Sciences, Chongqing 402460)

**【Abstract】** Porcine urinary bladder matrix (UBM) is a type of extracellular matrix (ECM). Currently, it is considered an ideal alternative material for pelvic bottom polymer supplements because it exhibits no corrosion, has good histocompatibility, can induce tissue regeneration, and exhibits rare scar formation among other advantages. However, use of UBM also has disadvantages such as easy absorption by the human body. Using reasonable method, the biological and mechanical properties of UBM can be effectively improved, making it more conducive to patient rehabilitation. This article introduces the research and development of UBM through its structure and function, production method, and practical applications.

**【Keywords】** porcine urinary bladder matrix; material; method

动物组织经过剥离获取有用部分,再经过除脂、除细胞、除抗原等后制作成的生物材料,统称为细胞外基质(extracellular matrix, ECM)。猪脱细胞膀胱基质(urinary bladder matrix, UBM)属于细胞外基质中的一种。20世纪90年代开始有学者研究发现<sup>[1]</sup> UBM 具有无侵蚀性、组织相容性好、能诱导组织再生、形成瘢痕少等优点,且还能诱导血液中游

离的多种成体干细胞<sup>[1]</sup>向植入部位富集,并分化为神经、血管、平滑肌<sup>[2]</sup>、心肌、鼓膜、肌腱以及气管等多种有效组织,从而达到组织修复的目的,是盆底高分子补片的理想替代材料。相较于其他脱细胞基质材料,UBM 在器官损伤修复过程中,发挥调节细胞生长、分化和迁移的作用。同时,UBM 在经分层、脱细胞、消毒及冻干等处理后比其他 ECM 材料

**【基金项目】** 国家自然科学基金(81671441)。

**【作者简介】** 邵彬(1989—),男,硕士,研究方向:生物材料。E-mail: 119480106@qq.com

**【通信作者】** 葛良鹏(1982—),男,研究员,博士,研究方向:生物工程。E-mail: geliangpeng1982@163.com

在结构上更易保留完整的基底层<sup>[3]</sup>,对参与组织修复的骨髓间充质干细胞(bone mesenchymal stem cells, BMSCs)有独特的较强亲和力和粘附力<sup>[4]</sup>。

## 1 UBM 的结构与功能

有形态学的证据表明,来源于不同器官的生物支架材料都有自己特有的三维结构,如 UBM,其显微和超微结构有特征性的矩阵,在调节细胞的行为、控制细胞迁移到支架的能力和影响组织特定的细胞表型上扮演了重要作用<sup>[5]</sup>。一个完整的基底膜可以很大程度防止体外细胞渗透到基础矩阵,不规则的纤维表面结构可以在不同细胞类型的选择和细胞渗透到支架材料方面发挥促进作用。UBM 还可以显著影响人类胚胎干细胞的分化途径和祖细胞数量的选择<sup>[6]</sup>。

UBM 支架的胶原纤维结构在其生物力学上扮演着关键的角色。胶原纤维拉直后有典型的褶模式,并且可以向旋转的方向延伸。组织胶原纤维随力的旋转是可逆的,直到达到 UBM 所能承受的最大应变,胶原纤维的空间排列变化可以使用简单的仿射模型进行预测<sup>[7]</sup>。但随着外力的不断增大,空间结构的旋转变化就是永久性的,不能再仿射模型进行预测,这样就会导致 UBM 支架整体生物力学行为的变化。

不同的 ECM 是由不同器官内的组织所分泌,它们具有不同的结构、功能和组成分子。因此,不同 ECM 的物质组成和分布取决于它的组织来源。UBM 具有生物支架材料的广泛特性,目前被用作典型的生物支架材料。UBM 的干重有超过 90% 的是胶原蛋白,有少量的 III、IV、V 和 VI 胶原蛋白,绝大多数是 I 型胶原蛋白;此外,它还含各种各样的葡糖氨基和葡聚糖等有机物,包括肝素、硫酸乙酰肝素、硫酸软骨素、透明质酸等。目前的研究证明 UBM 也含有各种生长因子,例如转化生长因子- $\beta$ (TGF- $\beta$ )、基本成纤维细胞生长因子(bFGF)和血管内皮生长因子(VEGF)<sup>[8]</sup>。其中,一些生长因子在体内可以保持其生物活性,即使终端灭菌后其生物活性也会长期存在。总之,细胞外基质和多种多样的复杂分子组成的生物支架材料植入组织和器官后,可以给修复和重建所需的细胞以更好的支持并发挥功能。

## 2 UBM 的制备方法

猪膀胱需要经过几个处理步骤才能制备成

UBM 支架材料,这几个处理步骤可以显著影响材料的结构、对宿主的反应类型和修复重建组织的能力。UBM 支架材料需要通过使用物理的机械方法去除多余的组织结构如粘膜层、浆膜层和肌层,再经过脱细胞等步骤,放入冷冻真空干燥机冻干和终末消毒,最后制成 UBM。每一个处理步骤都可以改变 UBM 生物支架材料的结构完整性和架构,这些改变都会影响 UBM 的机械和材料性能。

### 2.1 去细胞

来源于同种异体或异种动物组织的 ECM 支架材料都含有细胞,其细胞膜和细胞内的组件具有抗原表位,有效的清除这些抗原表位可以减少或避免植入组织或器官的不良免疫反应。异种或同种异体的细胞抗原是导致植入组织或器官不良炎症反应和明显免疫介导排斥的主要原因<sup>[9-11]</sup>。但某些抗原因含量少和分布不集中很少发生不良免疫反应,如猪 UBM 上的 3-半乳糖,并不能激活补体或绑定 IgM 抗体<sup>[12]</sup>。使用适合的方法去细胞,最终目标是清除 UBM 生物支架材料上所有的细胞成分,且不能破坏 UBM 的机械完整性和一系列的生物活性。去细胞的常用方法包括物理法、化学法及物理化学相结合法几种。声波降解、搅拌和冻融可用来破坏细胞膜,释放细胞内容物和促进清除 UBM 上的细胞残余。常用的去细胞的方法并不足以实现完整去除 UBM 上的细胞,这样,UBM 支架材料上会保留一些 DNA<sup>[13]</sup>。虽然从理论上讲这些方法去细胞会影响到 UBM 的结构和组成,但也能保护 UBM 本身所具有的优秀机械性能和良好的生物性能。研究发现,一些促进去细胞的化学试剂能破坏某些组织的胶原蛋白,从而降低组织的机械强度,但对其他组织的胶原蛋白无影响<sup>[14]</sup>。因此,UBM 的去细胞方法需要不断研究与优化,探索和发展出更多的 UBM 机械和生物性能影响最小的方法。

### 2.2 水合作用

UBM 生物支架材料在整个去细胞和灭菌过程中保持水合状态,材料内的离子和水分子发生静电作用,这种静电作用使离子与水分子以离子对的形式存在,可以防止组织架构的变化,如胶原纤维与各种分子之间形成的物理联系。然而,UBM 在水合状态下处理的主要缺点是会有可溶性的生长因子如 VEGF 和 bFGF 等的连续浸出,导致材料的寿命和生物性能降低。所以在目前的技术手段下还难以防止这些生长因子的丢失,希望以后通过技术的

革新进步解决这一问题,更大限度的保留其性能。

### 2.3 脱水

UBM 生物支架材料通常使用冷冻真空干燥的方法脱水,脱水后使得支架更容易处理并能限制生长因子的向外流失。冻干过程中,水在低温和低压状态下从 UBM 上升华出去。冷冻真空干燥法可以保护 UBM 的机械和生物性能,并且可以使 UBM 长期储存。但冷冻真空干燥法虽可以延长 UBM 保质期,却对材料的强度值无影响,也会改变胶原纤维形态<sup>[15]</sup>。冷冻真空干燥法可以显著减少 UBM 的厚度,使纤维形态更为致密。脱水还可以使 UBM 的超微结构发生变化,继而影响其在植入体内后的细胞附着、降解速率和细胞生长繁殖的能力<sup>[16]</sup>。

### 2.4 终端灭菌

研究表明,终端灭菌可以对 UBM 支架的机械性造成不利的影 响<sup>[17]</sup>。UBM 暴露于环氧乙烷、 $\gamma$  辐照 (20 kGy) 和电子束辐照 (22 kGy) 时会降低单轴和双轴的机械性能<sup>[17]</sup>。但在低剂量的  $\gamma$  辐照 (< 15 kGy) 后,UBM 的机械强度会有所增加<sup>[18-19]</sup>。这些变化与胶原蛋白链的断开有关,随着辐照剂量增加,胶原蛋白链断开增加,继而其机械强度会下降。一般对 UBM 采用  $\gamma$  辐照 (25 kGy) 进行终端灭菌。

## 3 UBM 的应用

### 3.1 粉状 UBM 支架

冻干的 UBM 可以粉碎成粉末或颗粒形式<sup>[20]</sup>。粉末形式的 UBM 支架可以通过微创技术 (如针注射) 注入患部制造成三维支架。UBM 在粉碎后仍保留原本的超微结构和三维表面特征表。冻干 UBM 粉末制成的悬浮液已经成功地用作注射支架在临床治疗尿失禁<sup>[21]</sup>。粉末形式的 UBM 生物支架材料也可以用于局部组织损伤或与其他物质制成混合支架用于临床治疗。由于粉末形式的 UBM 提供承载能力很有限,所以使用时需考虑粉末颗粒的大小、患部面积等,这样才能更有效的治疗和修复受损的组织。

### 3.2 凝胶状的 UBM 支架

凝胶状的 UBM 生物支架材料可以在适当时候充当细胞运载工具,进而扩大其临床应用的范围和增加治疗效果。根据凝胶的流变特性可以设计成类似的组织进行治疗。凝胶形式的 UBM 可以保持生长因子的活性进而使其具有与普通 UBM 相同的生物活性。早期的研究已经表明,凝胶形式的 UBM

能够支持多种细胞的生长和在体外的分化,如肌母细胞、心肌细胞、平滑肌细胞和内皮细胞等<sup>[22]</sup>。

### 3.3 UBM 组成的混合支架

UBM 生物支架材料受组织本身特性的影响,包括形状、机械性能等。UBM 生物支架材料性能也受制造过程 (即机械去细胞和化学去细胞) 和动物的年龄与健康状况的影响。但可以通过一些物理的方法对 UBM 进行操纵来改变它的机械性能。例如,可以通过增加 UBM 的层数来增加薄板形 UBM 的最大承受力<sup>[23-24]</sup>。

人工合成支架材料具有稳定和可重复再生产的优势,然而,人工合成材料缺乏生物活性不能快速帮助受损组织重建,也不能在体内根据需要降解。结合 UBM 与人工合成材料的优点,即机械性能和生物性能,制作成混合材料,例如结合 UBM 与聚尿素可创建弹性混合支架材料刚度、强度都有所增加,且当入体内时,混合支架材料的降解速度比天然的 UBM 慢<sup>[25]</sup>。

### 3.4 UBM 的修饰

在实际应用中发现,天然的 ECM 植入人体后降解过快,易吸水膨胀,受热会变形,承受器官挤压和牵拉的能力有限,使用一段时间后就不能继续承受牵拉器官的重力,从而导致器官再次回到错误的部位,使得疾病复发。经研究发现天然 UBM 通过与交联剂交联后再使用,很多性质得到了优化,如可以使热稳定性提高,水洗后形态基本会保持稳定,抗酶解的能力提升,抗拉力和冲击力的能力也大幅提高,机械性能增强。对细胞的识别能力也有所提升,能够使细胞更加牢固的附着和适应生物材料,能改善植入部位组织的炎症反应和异物反应<sup>[26-27]</sup>。

在 UBM 修饰过程中所使用的交联剂,应是低免疫原性、低毒、低抗原性,对人体有较好的生物相容性,并且能够引导细胞的生长、繁殖和分化。目前使用的交联剂有多巴胺、碳化二亚胺、1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)-碳化二亚胺 (EDC) 和 N-羟基琥珀酰亚胺 (NHS)、戊二醛、京尼平等。研究发现 EDC/NHS 交联的材料有较高的交联度,几乎对细胞没有毒性,有良好的生物相容性和良好的细胞相容性<sup>[26, 28]</sup>。经京尼平交联的材料抗酶解能力最强,具有较好的吸水能力,可有效的促进新生血管的生长,诱导真皮的生成并且可有效控制<sup>[29]</sup>。经戊二醛交联的材料对细胞具有一定的毒性,但抵抗伤口收缩的能力较强,能够诱导伤口附近的新生组织向着



伤口内部生长<sup>[30]</sup>。

交联可以减少 UBM 支架在体内降解的速率,早期的研究发现海洋贻贝分泌的黏附蛋白在水的参与下可以使贻贝紧密附着在海洋固体物质上,这种黏附蛋白含有 3,4-二羟基苯丙胺序列,多巴胺有类似的结构序列,这就为科学家们提供一个新的平台用以改造生物材料的性能<sup>[31]</sup>。有研究报道称多巴胺(dopamine)可以在水溶液里发生氧化-交联反应,使生物材料的表面形成一层强力黏附性的聚多巴胺复合膜。在水溶液里多巴胺的邻苯二酚基团可以发生氧化反应,形成多巴胺醌化合物,此化合物含有邻苯二醌结构。多巴胺醌化合物与多巴胺可以发生反歧化反应,生成半醌自由基,之后继续反应生成交联键,同时可以在固体材料的表面生成一层强力黏附性的复合膜<sup>[32-33]</sup>。有研究报道表明,多巴胺强力粘附在固体材料表面上的机理是源于多巴胺的氨基官能团和邻苯二酚,这种结构可以和材料表面发生非共价和共价的相互作用,继而可以使聚多巴胺复合膜紧密粘附在固体材料的表面上<sup>[34-36]</sup>。已有研究结果表明,聚多巴胺复合膜表面含有非常多的官能团,它们可以与有些生物分子和含有氨基、氢硫基等官能基团的聚合物发生反应,对固体材料进行进一步的修饰,提高固体材料的性能<sup>[34-36]</sup>。

近几年来,在器官发育领域的多项研究报道初步揭示了层粘连蛋白(laminin)的干细胞富集机制:层粘连蛋白通过其 LG 功能域与干细胞特有受体亚型——integrin $\alpha 6\beta 1$ 结合,能使胚胎干细胞及神经干细胞等多种成体干细胞<sup>[37-40]</sup>向其趋化并粘附。巢蛋白(nidogen)结合于层粘连蛋白的 $\gamma 1$ -LEb3域,对层粘连蛋白的功能存在重要的调控机制。以神经干细胞为研究对象的报道,发现当上调巢蛋白的表达后,会通过激活 Notch1 通路促进干细胞向层粘连蛋白趋化和粘附,并抑制干细胞的分化,这种功能可被通过干扰层粘连蛋白的 $\gamma$ 链与巢蛋白的结合而阻断<sup>[41]</sup>;并且巢蛋白对于层粘连蛋白分子彼此间的连接具有重要作用。所以可以在 UBM 上添加层粘连蛋白/巢蛋白,这两种蛋白相互作用增强它们的自身功能,这样就有助于提高 UBM 材料的生物性能,也有助于提高材料的力学性能,使 UBM 材料植入组织后能够吸引更多的干细胞聚集和分化,在器官位置变动时可以有效的限位保证器官正常的工作,利用这两种蛋白的生物功能加速修复受损的组

织和器官,受损组织和器官能够很快的恢复正常的状态,保障人体的健康,所以选择这两种蛋白修饰 UBM 是明智的。

### 3.5 UBM 的细胞种植

应用组织工程方法修复人体受损组织或器官时所用的各类功能细胞统称为种子细胞。种子细胞有不同的类型,依据种子细胞是否来源自患者本身,可分为自体种子细胞和异体种子细胞;根据种子细胞的分化状态又可分为分化成熟的成体细胞和具有分化潜能的干细胞,其中的干细胞又包括胚胎干细胞和成体干细胞。种子细胞在植入人体后可以分化成纤维细胞、神经元、上皮细胞和脂肪细胞等,可以弥补人体受损部位干细胞的不足,极大的促进受损组织或器官的恢复。现代医学可以把种子细胞接种到 UBM 上,种子细胞可以很好的附着在 UBM 上,当把 UBM 植入人体受损的部位后,种子细胞可以以材料为平台生长繁殖分化,进而修复受损的组织或器官。因生物材料本身携带很多种生长因子,所以生物材料也促进种子细胞的生长繁殖和分化,进一步促进受损组织或器官的修复。目前已应用于皮肤更换和伤口修复、多种类型的疝修补术<sup>[42]</sup>、腹壁移植、结肠和直肠手术、食道修复、尿失禁治疗、膀胱扩张与骨盆器官脱垂修复、硬脑膜的修复与软组织修复等。

## 4 UBM 的实验应用

Gilbert 等人<sup>[43]</sup>使用 UBM 制成生物材料补片用于修复气管病损,研究表明 UBM 只适用于小范围气管损伤,不能用于长形大范围损伤修复。袁铭<sup>[44]</sup>实验发现 UBM 可以大面积替代犬的损伤膀胱,并且有利于犬膀胱的重建。魏桂枝等<sup>[45]</sup>在 UBM 上添加层粘连蛋白有利于 BMSCs 的增殖和向平滑肌的分化,使大鼠的尿失禁症状得以改善也增加了在体内的降解时间。杨铎琦等<sup>[46]</sup>制作骨髓间充质干细胞-猪脱细胞膀胱基质-聚丙烯复合网片,植入大鼠体内后生物相容性好,只有轻微的炎症反应,张力提升,是治疗骨盆腹腔脱垂的良好候选材料。目前 UBM 材料的使用仅限于试验阶段,离临床应用还有一段距离,还有待广大学者的进一步研究。

## 5 展望

现在已经认识到,猪脱细胞膀胱基质是一个优秀的生物支架材料可适用于许多疾病的治疗。成

功使用 UBM 作为治疗材料在很大程度上取决于我们理解原生 UBM 结构与生物功能关系的能力。但植入人体后降解速度过快是其缺点。未来的研究方向是使用创新的思维和方法,使 UBM 的生物性能和力学性能都有所提高更有利于治疗疾病。

随着科学技术的发展,生物材料也在不断地进步,目前已经不只是医学而是依靠多学科的共同合作发展。加之道德伦理上的问题没有就解决所以克隆器官的应用还不能开展,目前生物材料依然是重要的人体组织替换或修补材料。随着经济的发展,人们对高精尖生物材料的需求也在不断的增加,生物材料的发展具有非常光明的前景。

#### 参考文献:

- [ 1 ] Beattie AJ, Gilbert TW. Chemoattraction of progenitor cells by remodeling extracellular matrix scaffolds [J]. *Tissue Eng Part A*, 2009, 15(5): 1119-1125.
- [ 2 ] Boruch AV, Nieponice A, Qureshi IR, et al. Constructive remodeling of biologic scaffolds is dependent on early exposure to physiologic bladder filling in a canine partial cystectomy model [J]. *J Surg Res*, 2010, 161(2): 217-225.
- [ 3 ] Brown B, Lindberg K, Reing J, et al. The basement membrane component of biologic scaffolds derived from extracellular matrix [J]. *Tissue Eng*, 2006, 12(3): 519-526.
- [ 4 ] Liu L, Li D, Wang Y, et al. Evaluation of the biocompatibility and mechanical properties of xenogeneic (porcine) extracellular matrix (ECM) scaffold for pelvic reconstruction [J]. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct*, 2010, 22(2): 221-227.
- [ 5 ] Sacks MS, Gloeckner DC. Quantification of the fiber architecture and biaxial mechanical behavior of porcine intestinal submucosa [J]. *J Biomed Mater Res*, 1999, 46(1): 1-10.
- [ 6 ] Hosokawa T, Betsuyaku T, Odajima N, et al. Role of basement membrane in EMMPRIN/CD147 induction in rat tracheal epithelial cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 368(2): 426-432.
- [ 7 ] Gilbert TW, Sacks MS, Grashow JS, et al. Fiber kinematics of small intestinal submucosa under biaxial and uniaxial stretch [J]. *J Biomech Eng*, 2006, 128(6): 890-898.
- [ 8 ] Hodde JP, Record RD, Liang HA, et al. Vascular endothelial growth factor in porcine-derived extracellular matrix [J]. *Endothelium*, 2001, 8(1): 11-24.
- [ 9 ] Erdag G, Morgan JR. Allogeneic vs xenogeneic immune reaction to bioengineered skin grafts [J]. *Cell Transplant*, 2004, 13(6): 701-712.
- [ 10 ] Gock H, Murray-Segal L, Salvaris E, et al. Allogeneic sensitization is more effective than xenogeneic sensitization in eliciting Gal-mediated skin graft rejection [J]. *Transplantation*, 2004, 77(5): 751-753.
- [ 11 ] Ross JR, Kirk AD, Ibrahim SE, et al. Characterization of human anti-porcine "natural antibodies" recovered from ex vivo perfused hearts-predominance of IgM and IgG2 [J]. *Transplantation*, 1993, 55(5): 1144-1150.
- [ 12 ] Raeder RH, Badylak SF, Sheehan C, et al. Natural anti-galactose  $\alpha$ 1,3 galactose antibodies delay, but do not prevent the acceptance of extracellular matrix xenografts [J]. *Transplant Immunol*, 2002, 10(1): 15-24.
- [ 13 ] Derwin KA, Baker AR, Spragg RK, et al. Commercial extracellular matrix scaffolds for rotator cuff tendon repair. Biomechanical, biochemical and cellular properties [J]. *J Bone Joint Surg Am*, 2006, 88(12): 2665-2672.
- [ 14 ] Cartmell JS, Dunn MG. Development of cell-seeded patellar tendon allografts for anterior cruciate ligament reconstruction [J]. *Tissue Eng*, 2004, 10(7-8): 1065-1075.
- [ 15 ] Freytes DO, Tullius RS, Valentin JE, et al. Hydrated versus lyophilized forms of porcine extracellular matrix derived from the urinary bladder [J]. *J Biomed Mater Res A*, 2008, 10(2): 318-321.
- [ 16 ] Hafeez YM, Zuki AB, Yusof N, et al. Effect of freeze-drying and gamma irradiation on biomechanical properties of bovine pericardium [J]. *Cell Tissue Bank*, 2005, 6(2): 85-89.
- [ 17 ] Freytes DO, Stoner RM, Badylak SF. Uniaxial and biaxial properties of terminally sterilized porcine urinary bladder matrix scaffolds [J]. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 2008, 84(2): 408-414.
- [ 18 ] Gouk SS, Lim TM, Teoh SH, et al. Alterations of human acellular tissue matrix by gamma irradiation: histology, biomechanical property, stability, *in vitro* cell repopulation, and remodeling [J]. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 2008, 84(1): 205-217.
- [ 19 ] Sun WQ, Leung P. Calorimetric study of extracellular tissue matrix degradation and instability after gamma irradiation [J]. *Acta Biomater*, 2008, 4(4): 817-826.
- [ 20 ] Gilbert TW, Stolz DB, Biancaniello F, et al. Production and characterization of ECM powder: implications for tissue engineering applications [J]. *Biomaterials*, 2005, 26(12): 1431-1435.
- [ 21 ] Wood JD, Simmons-Byrd A, Spievack AR, et al. Use of a particulate extracellular matrix bioscaffold for treatment of acquired urinary incontinence in dogs [J]. *J Am Vet Med Assoc*, 2005, 226(7): 1095-1097.
- [ 22 ] Freytes DO, Martin J, Velankar SS, et al. Preparation and rheological characterization of a gel form of the porcine urinary bladder matrix [J]. *Biomaterials*, 2008, 29(11): 1630-1637.
- [ 23 ] Cartmell JS, Dunn MG. Effect of chemical treatment on tendon cellularity and mechanical properties [J]. *J Biomed Mater Res*, 2000, 49(1): 134-140.
- [ 24 ] Woods T, Gratzner PF. Effectiveness of three extraction techniques in the development of a decellularized bone-anterior cruciate ligament-bone graft [J]. *Biomaterials*, 2005, 26(35): 7339-7349.
- [ 25 ] Stankus JJ, Freytes DO, Badylak SF, et al. Hybrid nanofibrous

- scaffolds from electrospinning of a synthetic biodegradable elastomer and urinary bladder matrix [J]. *J Biomater Sci Polym Ed*, 2008, 19(5): 635-652.
- [26] 王迎军, 杨春蓉, 汪凌云. EDC/NHS 交联对胶原物理化学性能的影响 [J]. *华南理工大学学报(自然科学版)*, 2007, 35(12): 66-70.
- [27] Badylak SF, Gilbert TW. Immune response to biologic scaffold materials [J]. *Semin Immunol*, 2008, 20(2): 109-116.
- [28] Rault I, Freiv V, Herbage D, et al. Evaluation of different chemical methods for cross-linking collagen gel, films and sponges [J]. *J Mater Sci: Mater in Med*, 1996, 7(2): 215-221.
- [29] 王旻, 笪琳萃, 谢艳, 等. 京尼平作为交联剂在天然生物材料改性中的应用 [J]. *中国修复重建外科杂志*, 2013, 27(5): 580-585.
- [30] Valentin JE, Badylak JS, McCabe GP, et al. Extracellular matrix bioscaffolds for orthopaedic applications. A comparative histologic study [J]. *J Bone Joint Surg Am*, 2006, 88(12): 2673-2686.
- [31] 封占增. 京尼平、戊二醛或 EDC/NHS 的交联对构建胶原/壳聚糖真皮支架的作用 [D]. 杭州: 浙江大学, 2014.
- [32] Burzio LA, Waite JH. Cross-linking in adhesive quinoproteins: studies with model decapeptides [J]. *Biochemistry*, 2000, 39(36): 11147-11153.
- [33] van der Leeden MC. Are conformational changes, induced by osmotic pressure variations, the underlying mechanism of controlling the adhesive activity of mussel adhesive proteins? [J]. *Langmuir*, 2005, 21(24): 11373-11379.
- [34] Lee H, Scherer NF, Messersmith PB. Single-molecule mechanics of mussel adhesion [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103(35): 12999-13003.
- [35] Lee H, Dellatore SM, Miller WM, et al. Mussel-inspired surface chemistry for multifunctional coatings [J]. *Science*, 2007, 318(5849): 426-430.
- [36] 徐又一, 蒋金泓, 朱利平, 等. 多巴胺的自聚-附着行为与膜表面功能化 [J]. *膜科学与技术*, 2011, 31(3): 32-38.
- [37] Stabenfeldt SE, Munglani G, García AJ, et al. Biomimetic microenvironment modulates neural stem cell survival, migration, and differentiation [J]. *Tissue Eng Part A*, 2010, 16(12): 3747-3758.
- [38] Wilschut KJ, Haagsman HP, Roelen BA. Extracellular matrix components direct porcine muscle stem cell behavior [J]. *Exp Cell Res*, 2010, 316(3): 341-352.
- [39] Howard C, Murray PE, Namerow KN. Dental pulp stem cell migration [J]. *J Endod*, 2010, 36(12): 1963-1966.
- [40] Suşman S, Sorişau O, Rus-Ciucă D, et al. Placental stem cell differentiation into islets of Langerhans-like glucagon-secreting cells [J]. *Rom J Morphol Embryol*, 2010, 51(4): 733-738.
- [41] Li H, Chang YW, Mohan K, et al. Activated Notch1 maintains the phenotype of radial glial cells and promotes their adhesion to laminin by upregulating nidogen [J]. *Glia*, 2008, 56(6): 646-658.
- [42] Badylak SF, Tullius R, Kokini K, et al. The use of xenogeneic small intestinal submucosa as a biomaterial for Achilles tendon repair in a dog model [J]. *J Biomed Mater Res*, 1995, 29(8): 977-985.
- [43] Gilbert TW, Gilbert S, Madden M, et al. Morphologic assessment of extracellular matrix scaffolds for patch tracheoplasty in a canine model [J]. *Ann Thorac Surg*, 2008, 86(3): 967-974.
- [44] 袁铭. 猪膀胱无细胞基质生物学特性及犬体内膀胱替代修复的实验研究 [D]. 北京: 中国协和医科大学, 2007.
- [45] 魏桂枝, 刘晶霞, 徐萍萍, 等. UBM 材料上的 Laminin 蛋白促进负载骨髓间充质干细胞增殖和平滑肌分化 [J]. *第三军医大学学报*, 2015, 37(8): 723-729.
- [46] 杨铎琦, 孙欣慰, 雷玲, 等. 骨髓间充质干细胞-脱细胞膀胱基质-聚丙烯复合网片的生物相容性和力学性能研究 [J]. *第三军医大学学报*, 2013, 35(24): 2619-2624.

[收稿日期]2019-05-23