

入骨镶丝——丝素蛋白在骨组织工程中的应用

冯雅茹, 冯晓颖*

首都师范大学教师教育学院, 北京 100037

摘要: 丝素蛋白是蚕丝的主要成分, 具有良好的生物相容性、优异的力学性能和生物可降解性, 作为生物矿化的模板在骨组织工程材料领域有巨大的应用潜力。本文以拟人的手法, 生动地向读者介绍了丝素蛋白的特点及其通过生物矿化在骨组织工程领域的应用。

关键词: 蚕丝; 丝素蛋白; 骨组织工程; 生物矿化

中图分类号: G64; O6

Silk Inlaid in Bone: Exploring Silk Fibroin in Bone Tissue Engineering

Yaru Feng, Xiaoying Feng*

College of Teacher Education, Capital Normal University, Beijing 100037, China.

Abstract: Silk fibroin is the main component of silk. It has excellent biocompatibility, appropriate mechanical properties and biodegradability. Therefore, Silk fibroin can be used as templates for biomineralization and has great potential in the field of bone tissue engineering. Properties of silk fibroin and its application in the field of bone tissue engineering through biomineralization are introduced vividly through personification writing.

Key Words: Silk; Silk fibroin; Bone tissue engineering; Biomineralization

1 “骨”立无援

“近年来人类世界中意外事故导致的骨损伤频发; 同时社会人口老龄化、寿命延长、人类器官功能的退化, 导致骨质疏松等病症的发病率日益增加, 骨损伤问题一直困扰着人类。骨损伤一般包括以下几类: 骨折、骨组织感染、癌症切除以及骨组织遗传疾病^[1], 这些骨损伤问题在一定程度上可以通过人类骨组织自身的增殖分化自愈, 但是当骨损伤的尺寸大于3 cm时^[2], 则需要临床手段干预进行修复。目前常用的骨修复技术有: 自体骨移植、异体骨移植、牵张成骨和骨水泥填充。

但在修复骨损伤时, 上述这些方法存在炎症、感染、慢性疼痛、异体骨移植材料生物活性低或材料短缺等问题^[3], 为应对上述问题, 于是骨组织工程应运而生。骨组织工程是一种修复骨损伤的创新技术, 是指将分离的自体高浓度的各种骨细胞经体外培养扩增后种植于生物材料, 然后将这种细胞——载体材料复合物植入骨缺损部位, 在生物材料逐步降解的同时, 骨诱导因子诱导靶细胞向软骨细胞、骨细胞的方向分化, 骨生长因子刺激成骨细胞形成大量新骨, 由此达到修复骨损伤的目的^[4]。

为了找到修复骨组织损伤的最佳生物材料, 骨组织工程协会每隔两年都会举办骨组织工程材料大赛。第十二届骨组织工程材料大赛将于今年九月一日举办, 丝素蛋白——小丝兴致勃勃地准备代

表家族去参赛，这项大赛含金量很高，获奖者不仅可以获得高额奖金，而且能够加入明年的“骨肉团圆”计划。如果能在大赛中胜出，这将是桑蚕家族从传统纺织领域向骨组织工程领域转型的关键一步。

但是家族的长辈并不看好小丝——此次大赛高手如云，不锈钢316L、钛及其合金、镁及其合金等传统金属材料以优异的机械性能，长期以来在骨组织工程材料领域占据主导地位；聚己内酯、聚乳酸、氧化石墨烯等人工合成生物材料也当仁不让，以其优良的化学稳定性和易于生产加工的特性也在骨组织工程材料领域崭露头角；胶原蛋白、明胶、壳聚糖等天然高分子材料也是炙手可热的夺奖选手。丝素蛋白家族刚踏入这个领域，缺乏经验也没有独一无二的优势，最重要的是人们很难把柔软的蚕丝和坚硬的骨组织工程材料联系在一起，贸然去参加比赛无疑会以失败告终。

结果可能会不尽如人意，但是“初生桑蚕不怕虎”，小丝还是决定去尝试一番。

2 入骨镶“丝”

翌日，和家族的长辈们拜别后，小丝踏上了比赛的征程，经过一个小时的车程小丝到达了比赛地点。金属、胶原蛋白、聚乳酸等热门选手纷纷出现在比赛现场。第一场是预选赛，赛制为：每位参赛选手进行2-3 min的自我陈述和问答，由评委决定选手晋级与否，评委是三位来自骨组织工程领域的专家，只要有一位评委亮灯就可以进入下一轮比赛。

“我拥有优良的机械性能，密度和杨氏模量($1.74 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$, 45 GPa)与人体骨骼($1.8 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$, 3-20 GPa)接近^[5]，同时易于制备成各类形状复杂的医用器件应用于骨组织工程。”镁及其合金还没陈述完，就有评委亮了灯。

接着不锈钢316L、钛(Ti)及其合金等金属材料凭借他们优异的机械性能得到了评委的青睐，成功晋级。

“我是哺乳动物中最常见的蛋白质，广泛分布于各种组织中，也是骨骼中有机相的主要组成成分，良好的生物相容性、低免疫原性和成骨诱导性使我成为骨组织工程领域的热门材料。”胶原蛋白第二个进行陈述，一直到结束也没有评委亮灯。台下的选手热烈地讨论起来，对这样结果表示不解。

“胶原蛋白的生物相容性确实很好，但是用作骨组织工程材料时，纯胶原蛋白往往缺乏足够的机械性能，成骨效应欠佳，所以很抱歉。”一位评委出声解释了原因。

热门选手都被淘汰了，“我这样一个名不见经传的小透明还有晋级的机会吗？”小丝怀着忐忑的心情走上台，其余参赛选手看到小丝之后都露出了惊讶的表情。

“开始你的陈述吧。”评委的提醒将小丝的视线拉回了评委席。

“各位评委老师大家好，先来简单介绍一下我自己，我是丝素蛋白，是蚕丝的主要成分。大家一定有疑问，蚕丝那么纤细，制成的丝绸和衣物也以富有光泽、手感柔软而闻名，常见的骨组织工程材料却是坚硬的，我为什么可以胜任骨损伤修复这一重任呢？”小丝的问题引起了大家的兴趣。

“首先要从蚕丝的成分和结构说起，蚕丝是由桑蚕纺出的一类蛋白质纤维，蛋白质以液体形式储存在桑蚕的绢丝腺中，包含70%-80%的丝素蛋白和20%-30%的丝胶蛋白。”

一位评委打断小丝：“能具体讲一讲你(丝素蛋白)能作为骨组织工程材料的理由吗？”

“我之所以能够胜任骨组织工程材料，是由我的折叠结构决定的。我主要由甘氨酸、丙氨酸、丝氨酸、天门冬氨酸、谷氨酸等20种氨基酸组成；含有三个结构蛋白亚基(图1)，包括6条重链(约390 ku)、6条轻链(约26 ku)和1条P25糖蛋白链(约30 ku)，重链和轻链之间通过二硫键连接，非共价键将P25糖蛋白链连接到丝素蛋白纤维上^[6]。我的二级结构主要以两种形式存在：Silk I和Silk II。其中，Silk I具有一定的水溶性，含有 α -螺旋、 β -折叠、无规卷曲三种结构；Silk II主要是反向平行的 β -折叠结构，相邻的肽链之间由氢键和分子间作用力连接，在抵抗外力拉伸时表现出极强的稳定性，也正是因为这种结构的存在使丝素蛋白材料可以具备一定的力学性能。Silk I对机械或剪切应力表现出不稳定

性，容易转化成更稳定的反向平行的 β -折叠结构即Silk II^[7]。

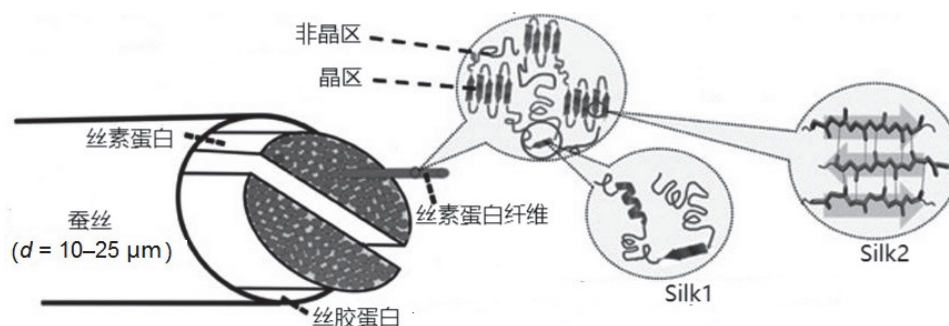


图1 丝素蛋白的二级结构示意图^[7]

小丝说到这里，刚才提问的评委亮了灯。成功晋级了，小丝长舒一口气。

第二天进行半决赛，主要是关于生物相容性和生物可降解性的竞赛，进入半决赛的10位选手通过抽签进行一对一比拼，由大众评委投票，票数更多的选手晋级。可降解性高的骨组织工程材料植入人体受伤部位后，随着骨组织的愈合在体液的作用下不断降解，通过人类的皮肤、呼吸系统和泌尿系统排出体外，直到完全被新生的骨组织代替。生物相容性好的材料植入人体后不需要进行二次手术将材料取出，也不会引发炎症、感染和慢性疼痛等问题，同时能有效地促进成骨细胞的黏附、生长，抑制破骨细胞活性。

小丝的对手是镁及其合金，它在第一轮就有出色表现，本轮比赛也信心十足。

“首先，我的机械性能没得说，能够有效降低甚至消除应力遮挡效应；其次，拥有优良的生物相容性，镁离子是人体必需的微量元素，可参与蛋白质的合成；再次，我的可降解性好，随着新生骨组织的再生，我也会逐渐降解，不会引起炎症反应，有效地规避了二次手术的风险；最后，作为一种骨组织工程材料，我能促进成骨细胞的生长和黏附，缩短骨愈合周期，骨诱导性良好。基于上述优点，我认为我是最有应用前景的骨组织工程材料。”镁及其合金自信地陈述着。

听完镁及其合金的精彩发言，小丝心里打起了退堂鼓，但最终还是鼓起勇气开始陈述：“首先来说说骨骼，骨骼是一种高度血管化的天然复合材料，在生物体的整个生命周期内发挥着重要的作用，为运动提供足够的承重、保护脆弱的内脏器官、作为内分泌器官在营养过程及其稳态调节过程中起作用。从成分上来看，骨骼包括35%的有机相和65%的矿物相，即胶原蛋白与羟基磷灰石共同形成骨骼的主要结构，还包括非胶原蛋白、脂质和水等成分^[8]。在准备比赛的过程中，我发现成分结构单一的生物材料往往成骨性能有限，强度也一般，比如说纯胶原蛋白支架的机械性能不够，限制了生物材料在骨组织工程领域的应用。考虑到骨骼生长的复杂性和精确性，通过各种技术将生物材料制备成强度等性能更加优异的材料，是未来的发展趋势。”

各位评委频频点头，表示赞同，期待着每次比赛都会出现“黑马”。

“比如说生物矿化这种方法就非常适用于对我们这些生物材料的再加工。生物矿化的过程是通过生物体内有机基质从分子水平到介观水平的调控，无机矿物可以实现在有机-无机界面的成核和生长，最终得到一种具有特定结构和形状的有机-无机复合组织^[8]。人类骨骼的形成本身就是一个典型的生物矿化过程，骨骼内的羟基磷灰石晶体在蛋白质、多糖、酶等有机生物大分子的调控下沉降、聚集、生长，共同赋予骨骼优良的机械性能，为人的日常活动提供支撑和保护。”

一位评委解释道：“比如说软体动物的碳酸钙外壳、脊椎动物的骨骼、牙齿都是通过矿化过程形成的，为生物体提供支撑和保护的作用。”

“没错！”小丝继续阐述道：“为了模仿生物体的矿化过程，科学家们提出了仿生矿化的概念并应用于骨组织工程中，以基体材料为模板，使无机矿物在有机-无机界面上成核生长，自组装成具有

一定形状、结构和功能的复合材料，这是一种简单有效的模拟天然骨骼复杂结构的方法，其核心是选择合适的基体材料以最大程度上模仿天然骨的结构^[9]。

“而我——丝素蛋白具有优良的生物相容性、可控的生物降解特性以及其独特的化学结构，是非常合适的矿化模板。由我来控制的矿化涉及四个阶段：成核、生长、自组装和聚集^[10]，丝素蛋白中含有氨基、羧基等基团。这些基团控制的成核阶段在初始矿化过程中起到重要的作用：羧基最初通过静电吸引与溶液中的钙离子结合，氨基可以诱导磷酸根离子与 $-R-Ca^{2+}$ 结合，促进羟基磷灰石的形成^[11]。总的来说，一方面丝素蛋白纤维具有很大的比表面积，能为羟基磷灰石晶体的形成提供充足的空间；另一方面羧基、氨基等活性基团为羟基磷灰石晶体的形成提供了成核位点，加速了生物矿化过程(图2)，经过矿化的丝蛋白材料生物活性好，能够促进细胞的粘附、增殖和成骨分化，具备良好的成骨性能，为解决各种骨损伤问题提供了新的思路。”

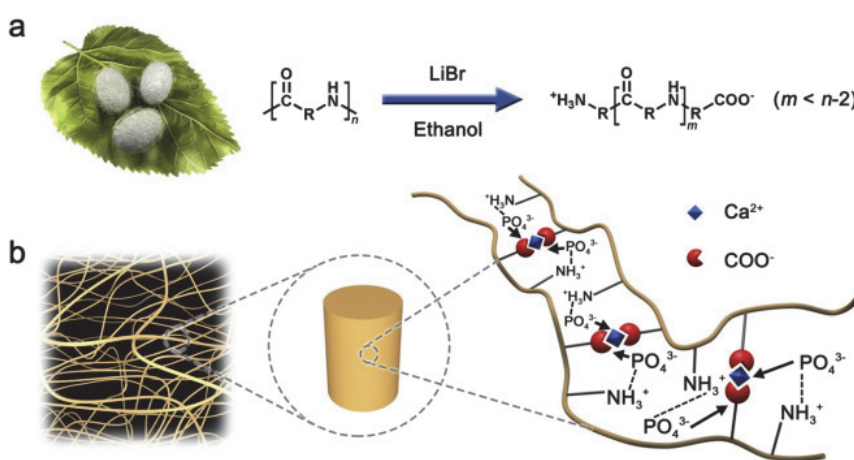


图2 羟基磷灰石在丝素蛋白纳米纤维上的形成机理^[11]

(a) 丝素蛋白在溴化锂溶液中溶解的过程；(b) 在丝素蛋白纳米纤维表面上形成羟基磷灰石

“你说了这么多，我有一个问题，如何将丝素蛋白材料矿化呢？”一位评委问道。

“常用的生物矿化方法有模拟体液矿化法、交替浸渍矿化法、过饱和钙化溶液法、共沉淀法等。比如交替浸渍矿化法就是将丝素蛋白材料交替浸泡于钙离子与磷酸根离子的溶液中，从而使钙离子和磷酸根离子吸附在材料表面形成羟基磷灰石^[12]。我的陈述结束，请各位评委批评指正。”

“那我们胶原蛋白家族是不是也可以利用仿生矿化来提高纯胶原蛋白的机械性能？”第一轮被淘汰的胶原蛋白问道。

“可以尝试一下！”小丝回答说。

评委和台下的参赛选手们向小丝投来肯定的目光。

“恭喜你——小丝，成功进入决赛。”一位评委说道，继而又对镁及其合金说：“你的机械性能虽好，但镁作为一种化学活性较高的金属，会快速降解，导致镁合金的力学性能快速衰减，而这往往发生在骨组织愈合之前。所以很遗憾，可降解性方面你没达到要求。”

小丝激动地向评委表达着感谢，不禁感叹，虽然知道自己的经验和资历尚浅，是一种全新的材料，但是谁不想获奖，成为真正的骨组织工程材料呢？

3 “丝”路生花

最终，有五位选手进入决赛角逐最后的奖项，分别是不锈钢316L、钛及其合金、壳聚糖、聚乳酸和小丝。还是通过抽签决定顺序，每位选手进行5 min的演讲，由专业评审团和三位评委进行投票，决出最后的冠、亚、季军。

小丝自告奋勇首先开始演讲：“半决赛时已经陈述了我——丝素蛋白作为生物矿化模板在骨组织工程中的应用潜力，研究者们在这方面做了很多工作，他们利用各种生物技术将矿化后的丝素蛋白材料修饰加工成各种形态(水凝胶、多孔支架、薄膜)。接下来我来简单介绍，由我——丝素蛋白制成的水凝胶、多孔支架和薄膜在修复人类骨损伤中的神奇应用。

“首先谈谈丝素蛋白水凝胶。水凝胶是一种以水为分散介质的聚合物网络体系，性质柔软，能吸收大量水分，且在吸收水分的过程中保持一定的形状，所以丝素蛋白水凝胶能够调整自身的形状来适应骨缺陷的轮廓，还可以负载抗炎药物(如万古霉素)治疗感染性骨损伤问题。为了解决不同骨损伤问题，人们开发出多种性状的丝素蛋白水凝胶，如稳固型、可注射型和3D打印型。3D生物打印技术凭借其‘私人定制’的优势在丝素蛋白水凝胶的设计和生产中大放光彩，其中挤出式3D打印和光固化3D打印是最常用的形式，它们利用三维建模软件生成骨组织工程材料的3D模型，通过切片软件将三模型数据转化为二维片层数据，用3D打印机将生物墨水逐层沉积在基板上最终得到目标材料，从而实现‘个性化骨损伤修复’^[13]。

“第二个是丝素蛋白支架。相比水凝胶，多孔支架的优势在于其高度多孔的结构可以为成骨细胞的黏附、增殖、分化提供更充足的空间，将丝素蛋白进行矿化然后通过冷冻干燥、盐析、3D打印等方法制备具有高孔隙率的三维支架。如何进一步提高支架的抗压强度和弹性模量，增强其骨诱导活性，是此领域备受关注的研究课题。”

“多孔支架就像是一个有很多房间的小房子，这些房间可以支撑起受伤的骨，并且房内空间充裕、环境舒适，为新的成骨细胞提供充足的生长空间，更好地增殖分化形成新的骨组织。”台下有一位专业评审解释道。

“正是如此。最后就是丝素蛋白膜了。在没有骨膜的开放性骨损伤中，成纤维细胞会穿透受伤部位阻碍新骨的形成，导致骨损伤修复过程慢而且效果差。通过静电纺丝技术制造的丝素蛋白纳米纤维膜材料可模拟骨组织外部的骨膜结构，促进成骨细胞和生长和分化，用作开放性骨损伤的移植物^[14]。市面上还出现了一种双层丝素蛋白膜材料，一层由无孔的丝素蛋白薄膜构成，防止成纤维细胞的穿透；一层由丝素蛋白多孔纤维构成，用于骨再生，将两种材料结合，实现了一加一大于二的效果^[15]。”小丝继续说道。

一位评委发出了疑问：“据我们所知，提高单一生物材料性能的常用方式就是复合。是否可以通过一定的技术将各种生物材料相结合，使每种材料‘扬长避短’，从而实现一加一大于二的效果。”

小丝回答道：“您说的很对，我认为仿生矿化本身也包含着复合的思想——将各种有机材料作为矿化模板与羟基磷灰石晶体相结合，为受伤的骨组织提供一个最适宜的生长环境。当然也可以将我(丝素蛋白)与其他材料先复合再进行矿化处理，可以得到性能更加优异的骨组织工程材料，同时通过药物因子负载、干细胞联合的策略也可以改善和提高骨组织修复的效果，这也是目前骨组织工程材料的研究热点。

“虽然多种技术和丝素蛋白材料被用于制备骨组织工程材料，但是与真实的骨组织还存在差异，仿生多级结构的精确构筑仍是难点，3D打印技术的出现和快速发展为精确结构的制造提供了机会。但通常，材料的各项性能表现是相互影响的，比如多孔支架要求有足够的机械性提供支撑，同时还要有适当的降解和成骨诱导能力，但后者需要多孔支架具有高孔隙率和内部连通性，而这势必会降低材料的力学性能。因此实现多种性能的平衡协同迫切需要结合多种制造技术，开发新的制备策略；同时，骨组织的再生是一个动态过程，材料的设计不能一成不变，需要考虑动态响应过程中的结构变化，这也是未来的研究方向和趋势^[16]。

“除了骨组织工程材料领域，我们丝素蛋白家族也在其他领域发光发热，比如说丝素蛋白可以通过沉淀法制成纳米级的载药颗粒输送那些在人体生理环境下易失活的药物或副作用较大易引起全身性免疫刺激的化疗类药物到相应的病灶部位，实现药物的可控释放^[17]等。有机会我可以为大家细细道来。”

小丝充满自信地说完最后一段话，向大家深深鞠躬。

“传统印象中的丝线摇身一变进入骨组织工程领域，成为修复骨损伤问题的理想材料，并与其他各学科领域技术相互交叉，发挥着巨大的作用，为传统蚕丝业的发展开辟了新的道路。”一位评委宣读了颁奖词。

台下响起了雷鸣般的掌声，小丝获得了第三名，带着来学习的心态到最后获得奖项，这一切都是如此不可思议。最重要的是，丝素蛋白成功进入了大家的视野，而小丝也将加入明年的“骨肉团圆”计划，参与相关性能研究与动物实验，以期在未来进入临床试验，在骨组织工程中崭露头角，发挥重要作用。

参 考 文 献

- [1] Bai, X.; Gao, M.; Syed, S.; Zhuang, J.; Xu, X.; Zhang, X. Q. *Bioact. Mater.* **2018**, 3 (4), 401.
- [2] Sivakumar, P. M.; Yetisgin, A. A.; Sahin, S. B.; Demir, E.; Cetinel, S. *Carbohydr. Polym.* **2022**, 283, 119142.
- [3] Wang, W.; Zhang, B.; Li, M.; Li, J.; Zhang, C.; Han, W. L.; Wang, K.; Zhou, C.; Liu, L.; Fan, Y.; *et al. Compos. Part B-Eng.* **2021**, 224, 109192.
- [4] 牛小连, 刘柯君, 廖子明, 徐慧伦, 陈维毅, 黄棣. *化学进展*, **2022**, 34 (2), 342.
- [5] 姜可新, 李江. *国际老年医学杂志*, **2022**, 43 (2), 241.
- [6] Xu, J.; Wang, Y.; Ding, M.; Song, G.; Wu, M.; Kang, Z.; Wang, J. *Mater. Sci. Eng. C* **2020**, 111, 110831.
- [7] Volkov, V.; Ferreira, A. V.; Cavaco-Paulao, A. *Macromol. Mater. Eng.* **2015**, 300 (12), 1199.
- [8] Zhu, G.; Zhang, T.; Chen, M.; Yao, K.; Huang, X.; Zhang, B.; Zhao, Z. *Bioact. Mater.* **2021**, 6 (11), 4110.
- [9] Chen, Y.; Feng, Y.; Deveaux, J. G.; Masoud, M. A.; Chandra, F. S.; Chen, H.; Zhang, D.; Feng, L. *Minerals* **2019**, 9 (2), 68.
- [10] Zhang, H.; You, R.; Yan, K.; Lu, Z.; Fan, Q.; Li, X.; Wang, D. *Int. J. Biol. Macromol.* **2020**, 164, 2842.
- [11] Cui, W.; Li, X.; Xie, C.; Zhuang, H.; Zhou, S.; Weng, J. *Biomaterials* **2010**, 31 (17), 4620.
- [12] Kawashita, M.; Nakao, M.; Minoda, M.; Kim, H.-M.; Beppu, T.; Miyamoto, T.; Kokubo, T.; Nakamura, T. *Biomaterials* **2003**, 24 (14), 2477.
- [13] Li, M.; You, J.; Qin, Q.; Liu, M.; Yang, Y.; Jia, K.; Zhang, Y.; Zhou, Y. *Inter. J. Mol. Sci.* **2023**, 24 (3), 2660.
- [14] Li, B.; Chen, Y.; He, J.; Shu, Y.; Yang, H.; Liu, J.; Liao, X. *Int. J. Biol. Macromol.* **2024**, 13080.
- [15] Atila, D.; Gurses, S.; Tezcaner, A. *Mater. Today Commun.* **2024**, 39, 109215.
- [16] 邵云菲, 王卉, 朱怡然, 王树春, 姜雨淋, 胡建臣, 王晶, 张克勤. *合成生物学*, **2022**, 3 (4), 795.
- [17] 张子凡, 李鹏飞, 王建南, 许建梅. *纺织学报*, **2023**, 44 (10), 205.