[文章编号] 1671-587X(2024)04-1164-09 DOI:10.13481/j.1671-587X.202404033

壳寡糖的生物学功能及其在生物医学领域中应用的研究进展

王少如[1]，罗云纲[2]
（1. 吉林大学口腔医院修复科，吉林 长春 130021；2. 吉林大学第一医院净月院区口腔医学中心，吉林 长春 130118）

[摘 要] 壳寡糖（COS）作为天然多糖壳聚糖（CS）的降解产物，既保留了CS的良好生物相容性、无毒和可生物降解等特点，同时由于糖链缩短使相对分子质量降低，其水溶性和生物活性均得到提高且更容易被生物体吸收利用，近年来受到越来越多的关注。目前国内外学者对CS生物学功能的研究及其在生物医学领域中应用的报道较多，但对COS功能及其应用的研究报道较少。现结合国内外最新研究成果，对COS的主要生物学功能（抗炎、抗肿瘤、抗菌和促组织再生等）及其可能的作用机制进行总结和分析，并阐述其在生物医学领域中应用的研究进展，以期为COS的深入研究及其在生物医学领域中更广泛的应用提供理论依据和参考。

[关键词] 壳寡糖；壳聚糖；生物学功能；生物医学应用；组织再生
[中图分类号] R318.05 [文献标志码] A

Research progress in biological function of chitooligosaccharide and its application in biomedical field

WANG Shaoru[1], LUO Yungang[2]
（1. Department of Prosthodontics, Stomatology Hospital, Jilin University, Changchun 130021, China; 2. Stomatology Center, Jingyue Campus, First Hospital, Jilin University, Changchun 130118, China）

ABSTRACT Chitooligosaccharides (COS), as the degradation products of the natural polysaccharide chitosan (CS), retain the good biocompatibility, non-toxicity, and biodegradability of CS. Additionally, due to the shortened sugar chains and reduced molecular weight, their water solubility and bioactivity are improved, making them more easily absorbed and utilized by organisms. In recent years, COS has received increasing attention. While there are numerous studies on the biological functions of CS and its applications in the biomedical field, the research on the functions and applications of COS is relatively limited. This study summarizes and analyzes the main biological functions of COS (anti-inflammatory, anti-tumor, antibacterial, and tissue regeneration promotion) and their possible mechanisms. It also discusses the research progress in the applications of COS in the biomedical field, in order to provide the theoretical basis and reference for the further research and broader application of COS in biomedicine.

KEYWORDS Chitooligosaccharide; Chitosan; Biological function; Biomedical application; Tissue regeneration

[收稿日期] 2023-03-18
[基金项目] 吉林省科技厅科技发展计划项目（20220204124YY）；中国工程院战略研究与咨询项目（JL2023-18）
[作者简介] 王少如（1992－），女，山东省菏泽市人，在读博士研究生，主要从事牙周组织再生方面的研究。
[通信作者] 罗云纲，教授，博士研究生导师（E-mail：luoygjlu@sina.com）

壳寡糖（chitooligosaccharide，COS）是由N-乙酰-D-氨基葡萄糖和D-氨基葡萄糖的共聚物组成的线性多糖，其聚合度（degree of polymerization，DP）＜20，平均相对分子质量＜3 900。COS由壳聚糖（chitosan，CS）进一步水解获得，两者具有相同的结构式，含有多种活性官能团，包括分别位于C-2、C-3和C-6位点的氨基/乙酰氨基、仲羟基和伯羟基及连接N-氨基葡萄糖基的β（1-4）糖苷键，赋予其具有更多的生物活性及其应用的灵活性[1-2]。研究[3-5]显示：CS及其衍生物在生物医药各个领域得到广泛应用，如伤口愈合、止血、组织工程和药物递送等。在pH＞5.5时，CS黏度高且水溶性差，在许多方面的应用也受到一定程度的限制[6]。低相对分子质量的COS可完全溶于水，且黏度低，具备更高的生物活性，更易被生物体吸收利用，近年来受到越来越多的关注[7-9]。研究[10-12]表明：COS具有广泛的生物活性，包括抗炎、抗肿瘤、抗菌、抗氧化、抗糖尿病、免疫调控、止血和促成骨等，且因其优异的理化特性，可通过化学或酶修饰成各种衍生物和形式，如凝胶、微/纳米颗粒、纤维、海绵和薄膜等，逐渐在生物医学领域得到广泛的应用。现就COS的生物学功能及其在生物医药领域中的应用进行综述，旨在为COS的进一步研究提供理论依据。

1 COS的生物学功能

COS是人体细胞膜表面糖链中最具活力的功能糖，易溶于水和天然带正电荷的特性使COS可直接作用于细胞，调控多种生物学功能，包括抗炎、抗菌、抗肿瘤和促组织再生等。

1.1 抗 炎 COS可抑制多种细胞的炎症反应，包括内皮细胞、上皮细胞、成纤维细胞和巨噬细胞，下调诱导炎症反应介质的表达，如肿瘤坏死因子α（tumor necrosis factor-α，TNF-α）、白细胞介素（interleukin，IL）-6、诱导型一氧化氮合酶（inducible nitric oxide synthase，iNOS）和环氧合酶2（cyclooxygenase-2，COX-2）等[13]。在肥大细胞中，相对分子质量1 000～3 000的COS可通过抑制丝裂原活化的细胞外信号调节激酶/细胞外信号调节激酶（mitogen-activated extracellular signal-regulated kinase/extracellular signal-regulated kinase，MEK/ERK）和p38激酶的磷酸化水平，进而下调TNF-α、IL-1β和IL-4 mRNA表达水平，抑制由其介导的过敏性炎症反应[13]。细菌脂多糖（lipopolysaccharide，LPS）能激发多种类型细胞中促炎细胞因子的产生，是最常见的炎症诱导介质[14]。COS可有效阻断LPS诱导的血管内皮炎症反应。LIU等[15-16]证实：COS可通过阻断p38丝裂原活化蛋白激酶（mitogen-activated protein kinase，MAPK）和ERK1/2、磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B（phosphatidylinositol-3-kinase/protein kinase B，PI3K/Akt）信号通路抑制LPS诱导的人脐静脉内皮细胞（human umbilical vein endothelial cells，HUVECs）中IL-6和IL-8的基因转录和翻译。LI等[17]进一步研究发现：COS通过影响O-GlcNAc转移酶（O-GlcNAc transferase，OGT）介导的O-乙酰葡糖胺糖基化修饰（O-GlcNAcylation）激发核因子κB（nuclear factor kappa-B，NF-κB）活性，进而抑制LPS诱导的血管内皮炎症反应。研究[18]显示：COS还可通过优化肠道菌群的多样性和组成比例，预防和治疗结肠炎，并可通过激活过氧化物酶体增殖物激活受体γ（peroxisome proliferator-activated receptor γ，PPARγ）和沉默交配型信息调节因子2同源物1（silent mating type information regulation 2 homolog-1，SIRT1）抑制NF-κB信号通路激活进而缓解结肠炎。COS对LPS诱导的肠上皮细胞炎症反应及伴随的过氧化损伤也具有一定的保护作用，主要通过下调含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶3（cysteinyl aspartate specific proteinase-3，caspase-3）及上调B细胞淋巴瘤2（B-cell lymphoma-2，Bcl-2）表达，降低LPS刺激引起的细胞凋亡[19]。研究者[20]将COS包装在大鼠脂肪间充质干细胞（adipose mesenchymal stemcell，AMSCs）衍生的细胞外囊泡（extracellular vesicles，EVs）中，结果显示：负载COS的EVs（EVs-COS）可逆转IL-1β对软骨细胞活力和迁移的抑制及促凋亡作用，促进软骨细胞活力和迁移，抑制细胞凋亡，调节Ⅰ型胶原α1（collagen type Ⅰ alpha 1，COL1A1）、Ⅱ型胶原α1（collagen type Ⅱ alpha 1，COL2A1）、骨钙素（osteocalcin，OCN）、骨桥蛋白（osteopontin，OPN）、Runt相关转录因子2（Runt-related transcription factor 2，RUNX2）、肿瘤抑制蛋白p53、Bcl-2和PI3K/Akt通路，促进软骨损伤修复，对骨关节炎具有更好的保护作用。

巨噬细胞是调节炎症反应的重要免疫细胞之一，具有高度可塑性，可随局部环境产生不同功能表型，在各种疾病的研究领域越来越受到关注。在

干扰素γ（interferon-γ，IFN-γ）和LPS的诱导下巨噬细胞极化为促炎型M1表型巨噬细胞，通过分泌大量炎性细胞因子，如TNF-α、IL-1β和趋化因子参与炎症反应[21]。而在抗炎细胞因子IL-4的诱导下，转化为抗炎型M2表型巨噬细胞，通过分泌抗炎因子、生长因子和血小板源性生长因子（platelet-derived growth factor，PDGF）等发挥抗炎作用，并通过调节细胞外基质沉积和血管生成等参与组织修复过程[22]。研究[10]显示：COS诱导的炎症反应类似于IL-4激发的细胞生物学行为。4 mg·L^{-1} COS即可促进RAW264.7巨噬细胞抗炎因子IL-10的分泌，降低促炎因子TNF-α的分泌，同时上调巨噬细胞表面标志物CD206的表达，下调CD80表达。COS可选择性地促使巨噬细胞向抗炎型M2表型极化。当组织损伤后，在早期的炎症反应阶段，巨噬细胞通过分泌一系列趋化因子和细胞因子等募集多种细胞，刺激创面的愈合，但持续的炎症反应不利于组织修复。研究[10]显示：在LPS刺激下，经COS预处理后的巨噬细胞中IL-6和TNF-α基因转录和翻译水平并未上调。p38 MAPK、ERK1/2、JNK、PI3K和Akt的磷酸化水平也得到一定程度的恢复。COS通过下调MAPK和PI3K/Akt信号通路中主要相关因子的磷酸化水平，阻断NF-κB的核内移位，进而抑制LPS诱导的巨噬细胞的促炎行为。

1.2 抗 菌 COS是一种水溶性低分子量CS，含有丰富的氨基基团，也具有良好的广谱抗菌活性。其作用机制与CS的抑菌机制相似，自身带正电荷的氨基官能团，可以与细菌细胞壁上带负电荷的成分（如革兰阴性菌表面的LPS分子富含带负电荷的脂质A，革兰阳性菌表面的肽聚糖）结合，促进细菌细胞膜的渗透性，破坏细胞膜的完整性，细菌内物质流失，从而导致其死亡。其次，COS还可以离子键的形式影响营养物质向革兰阴性菌胞内的运输[23]。另外，COS作为短链线性氨基多糖，可通过其渗透到细胞内，吸附到细菌DNA中，阻止基因转录，从而达到抗菌作用[24]。

1.3 抗肿瘤 癌症发展快和致死率高等特点是全球面临的有待快速解决的难题。目前，除手术切除外，常用的抗癌药物包括化疗药物、分子靶向药物和免疫制剂[25]。COS是一种具备多种官能团和生物活性的天然产物，许多研究者通过体内外的抗肿瘤研究探讨其抗肿瘤活性，并探讨其抑制肿瘤细胞增殖、侵袭和转移等细胞行为的机制。

带正电荷的COS与正常细胞内的正电荷相似，而肿瘤细胞表面较正常细胞具有更多的负电荷，故COS易选择性地靶向肿瘤细胞而不是正常细胞。通过改变细胞膜的离子通道，使细胞通透性增加，发挥抑制肿瘤细胞活性的功能[26]。体外研究[27]表明：在肿瘤发生发展的不同阶段，COS通过调节NF-κB活性和COX-2表达进而增强腺苷酸活化蛋白激酶（AMP-activated protein kinase，AMPK）活性和抗氧化酶表达，发挥抗癌作用。在结直肠癌小鼠模型中，口服COS（500 mg·kg^{-1}·d^{-1}）可抑制肿瘤的生长和形成。COS可通过激活AMPK抑制哺乳动物雷帕霉素靶蛋白（mammalian target of rapamycin，mTOR）信号通路和NF-κB介导的炎症信号通路，影响肿瘤细胞的增殖。基质金属蛋白酶9（matrix metalloproteinase-9，MMP-9）参与结直肠癌的晚期发展，COS通过抑制MMP-9的表达延缓癌症的进展，抑制肿瘤细胞的侵袭和迁移行为。体内外研究[11]证实：COS可明显抑制骨肉瘤细胞的增殖和迁移，通过p53/mTOR信号通路诱导肿瘤细胞的自噬及凋亡，可有效抑制体内骨肉瘤模型的生长和转移。COS还具有提高肿瘤细胞对化疗药物顺铂敏感性的作用，故COS有望成为治疗骨肉瘤新的潜在药物制剂或载药体系。

肿瘤的发生发展与免疫系统之间的相互作用受复杂的生物学网络调控。继手术、放疗、化疗和靶向治疗之后，免疫治疗逐渐成为抗肿瘤最具希望的治疗策略之一。免疫检查点疗法是一类通过调节T细胞活性提高抗肿瘤免疫反应的治疗方法，近年来成为肿瘤免疫治疗研究的热点。程序性死亡受体1（programmed death receptor-1，PD-1）是继细胞毒性T淋巴细胞相关蛋白4（cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4，CTLA-4）之后发现的新的免疫检查点分子，在恶性肿瘤的治疗中取得很好的效果。但常规化疗后，几乎所有类型的肿瘤中程序性死亡配体1（programmed death ligand 1，PD-L1）表达均明显增加，导致T淋巴细胞介导的免疫杀伤效果降低。研究[28]显示：COS可通过激活AMPK抑制IFN-γ诱导的PD-L1表达上调，也可通过抑制NF-κB和信号传导及转录激活因子1（signal transducers and activators of transcription，STAT1）信号通路，下调肿瘤细胞表面PD-L1的表达水平，从而使肿瘤中浸润的T淋巴细胞发挥有效的抗肿瘤

免疫反应。

COS具有良好的抗肿瘤作用，同时也可协同肿瘤的化疗或免疫治疗，达到更好的抗肿瘤效果，作为天然抗肿瘤药物或者合成载药体系，可应用于抗肿瘤治疗中。

1.4 促组织再生 COS含有多种反应官能团，使其具有促组织再生修复的活性，尤其是在促伤口愈合和促成骨方面。COS对骨组织缺损的修复作用主要与其促成骨前体细胞增殖、分化和促进细胞活性因子分泌等有关。通过溶液浇铸法制备COS、CS和胶原膜，结果证实：COS薄膜较CS薄膜更亲水，更易于大鼠脂肪间充质干细胞（adipose-derived stem cells，ADSCs）和骨髓间充质干细胞（mesenchymal stem cells，MSCs）的增殖和铺展，且具有更好的骨传导性能。另外，COS中的酯基、羰基和氨基可作为羟基磷灰石晶体的成核位点，有利于钙沉积[29]。在伤口愈合方面，因COS的完全水溶性和抗菌作用，使其具有保护损伤组织不受感染、增强通透性、利于细胞黏附和促进细胞增殖等生物活性，在组织损伤和伤口愈合方面显示出潜在的治疗作用[30]。COS能够通过激活TGF-β/Smad信号转导通路，提高TGF-β的表达水平，促进胶原蛋白的合成及成纤维细胞、角质形成细胞的增殖和迁移，进而加快伤口的愈合速度[9]。研究[30]证实：相对分子质量为1 000～3 000的COS在皮肤组织工程中具有很好的应用前景。

COS作为CS的重要降解产物，对多种疾病具有潜在的治疗作用，尤其在炎症和免疫调节方面。经典活化的M1表型巨噬细胞渗透到创面部位可促进炎症反应，刺激创面愈合过程，而选择性活化的M2表型巨噬细胞可促进免疫调控进而影响组织修复和重塑。研究[31]显示：巨噬细胞通过分泌细胞因子对骨修复部位的微环境产生影响，细胞因子既可控制炎症，又可控制细胞分化，M1和M2表型巨噬细胞通过细胞因子的分泌影响骨修复区微环境。在感染初期诱导巨噬细胞向促炎M1型转化可抑制细菌生长和避免感染[32-33]，但长期M1巨噬细胞的主导作用可能会引起慢性炎症反应，破坏宿主组织[34]。在正常的组织修复过程中，巨噬细胞经过早期短暂的炎症期后向M2表型极化，分泌IL-4、IL-10、血管内皮生长因子（vascular endothelial growth factor，VEGF）、骨形成蛋白2（bone morphogenetic protein-2，BMP-2）和转化生长因子β（transforming growth factor-β，TGF-β），促进血管生成和骨再生。COS可为骨再生提供一个免疫调节微环境，通过促进BMSCs的成骨分化和HUVECs的成血管作用，促进骨组织的再生和重塑[10]。HUANG等[35]将锶、锌和钙3种离子和COS加载到介孔二氧化硅纳米颗粒（mesoporous silica nanoparticles，MSN）中，通过微量元素和COS的协同作用实现逐级调控的成骨免疫微环境，促进骨再生修复。成骨早期，MSN-COS纳米颗粒通过离子释放激活炎症细胞，表现出促炎作用；成骨晚期，COS可促进巨噬细胞抗炎细胞因子的分泌，由促炎向抗炎转变，进一步激活BMSCs的成骨分化。

COS的链短分子间和分子内的氢键作用力较弱，因此更多羟基的存在和游离的氨基使其较CS具有更高的抗氧化活性[9]。COS的抗氧化作用可以保护细胞DNA免受氧化损伤；有效清除创口炎症环境下产生的过量活性氧，利于伤口愈合[36]。COS的氨基基团可与带负电荷的红细胞表面结合，促使红细胞在伤口周围密集，也可激活血小板在伤口部位黏附和聚集，发挥止血功能[37-38]。综上所述，天然产物COS在皮肤愈合、骨再生和重塑等组织修复方面具有潜在作用。

2 COS在生物医学领域中的应用

COS的水溶性、先天的生物相容性和多样的理化性能使其在生物医药功能性材料领域得到广泛应用，包括药物载体（微/纳米颗粒）、水凝胶、纳米纤维膜和海绵等多种形式。

2.1 COS在载药微/纳米颗粒制备中的应用 含有丰富氨基、羧基和羟基的COS可被疏水性小分子化合物修饰，形成两亲性聚合物，在水中通过自组装的形式合成聚合物纳米颗粒。通过超声自组装合成的两亲性油酸接枝的COS纳米颗粒无细胞毒性，易被细胞摄取；随后，通过自组装合成两亲性全反式维甲酸（all-trans retinoic acid，ATRA）-COS纳米颗粒，改善ATRA临床应用中面临的水溶性差、理化不稳定、血药浓度低和潜在副作用的局限性，并通过透析法将紫杉醇（paclitaxel，PTX）包封在ATRA-COS纳米颗粒中，成功解决ATRA与疏水性药物合用时易发生聚集和沉淀的问题，避免对各自的药物活性和安全性的影响。COS纳米颗粒可通过内吞作用被HepG2细胞快速连续吸收，并转运到细胞核中。ATRA-COS纳米

颗粒作为药物载体用于ATRA和PTX或其他疏水性治疗剂的共同递送具有一定的潜力，为多药物的联合化疗提供新的策略[38]。

聚乳酸-羟基乙酸共聚物［poly（lactic-co-glycolic acid），PLGA］纳米颗粒可用于包装小分子药物和生物大分子，以提高其效果和防止降解。但未经修饰的PLGA纳米颗粒通常带负电荷，与机体细胞缺乏特异性结合[39]。为克服上述限制，有研究者[40]采用COS修饰PLGA纳米颗粒负载奥希替尼（osimertinib，AZD9291）用于肺癌的治疗，通过COS的氨基使纳米颗粒带正电荷。因此，表面带正电荷的纳米颗粒可通过静电相互作用与带负电荷的肿瘤细胞膜具有较高的亲和性，促进细胞摄取。低相对分子质量COS作为一种免疫调节剂，可激活免疫细胞，减少免疫逃逸，提高免疫细胞对肿瘤细胞的识别能力，抑制免疫检查点PD-L1的表达。因此，COS特有的理化特性及自身抗肿瘤和免疫调控等多种生物学功能优势，也使得多功能化载药纳米粒的构建成为可能。

基于小干扰RNA（small interfering RNA，siRNA）的疗法为肿瘤的治疗提供了新的策略，但siRNA的大小、电荷和亲水性导致组织穿透、细胞摄取、内体逃逸及体循环面临重大挑战，其在药物应用中仍然存在局限性[41]。为使siRNA更精准地靶向肿瘤细胞，保留其生物活性。有研究者[42]用COS修饰的PLGA纳米颗粒封装siRNA，证实其能被4种宫颈癌细胞（SiHa、CaSki、HeLa和c33a细胞）体外摄取，有效发挥基因沉默活性。LIU等[43]首次合成了苯硼酸（phenylboronic acid，PBA）修饰的COS纳米颗粒，负载靶向存活素（survivin）基因的siRNA用于小鼠抗黑色素瘤的治疗。PBA修饰的COS通过阳离子COS与阴离子siRNA之间的静电络合以及PBA基团与siRNA 3′端的游离核糖之间发生化学偶联，实现应用更小的颗粒尺寸和更稳定的纳米颗粒高效递送siRNA。此外，所形成的化学键是可逆的，其在中性或碱性环境下稳定，但对酸性敏感，共价键在酸性条件下会发生断裂。因此，siRNA的快速释放可以响应酸性核内体、溶酶体和肿瘤细胞。

COS的亲水性、无毒性、带正电荷和易吸收等特性，可自身或联合其他聚合物构建稳定的载药纳米体系，负载多种类型的药物、生物分子或基因等，维持其活性，实现药物的靶向治疗，为药物的高效安全利用提供新的策略。

2.2 COS在伤口敷料制备中的应用 COS具有抗菌、抗氧化和促进伤口愈合等生物学功能，负载COS或由COS合成的伤口敷料具有保护损伤组织不受感染、支持细胞黏附和促进细胞增殖等生物活性，在组织损伤和伤口愈合方面显示出潜在的治疗作用。除生物活性外，COS的亲水性和天然带正电荷等含丰富官能团的理化特性，使伤口敷料具有良好的吸水率、柔韧性和机械强度，利于促进伤口愈合[44-45]。目前，已有研究[44]报道：由COS参与合成的多种形式的敷料，如纤维、海绵、水凝胶和薄膜等已在伤口愈合中应用。

COS相对分子质量低，不具有成膜性，难以直接制备成生物材料，但其理化性能可使其与其他聚合物结合，制备成所需的生物材料形式，同时发挥其生物学功能，赋予材料更多的功能性。有研究者[46]通过多巴胺的自聚合，将COS有效地固定在聚氨酯（polyurethane，PU）膜表面，改善聚氨酯的亲水性、抗菌活性和细胞相容性。COS改性后PU膜的抗菌活性明显提高，聚多巴胺（polydopamine，PDA）和COS形成的较粗糙的表面使PU膜具有更高的表面能和更好的亲水性，更有利于NIH-3T3细胞的附着和增殖，加速伤口愈合。ZHOU等[45]通过将COS加入到甲酸/乙酸溶剂溶解的聚己内酯（polycaprolactone，PCL）电纺液中，利用电纺技术制备成纳米纤维膜。COS中氨基的存在提高了样品溶液的电导率，易得到表面光滑、无串珠的纳米纤维。COS的亲水性能够明显增加电纺膜的表面润湿性，有利于伤口愈合。LI等[47]用COS修饰银纳米颗粒（silver nanoparticles，AgNP），与聚乙烯醇［poly（vinyl alcohol），PVA］混合制备PVA/COS-AgNP复合电纺纳米纤维膜，体内研究证实：其在加速伤口闭合与重建中表现出强力诱导作用，能够明显促进胶原合成，其作用机制是COS激活TGFβ1/Smad通路相关基因mRNA表达水平及上调TGF-β1、Ⅰ型胶原蛋白（collagen type Ⅰ，COL-Ⅰ）、Ⅲ型胶原蛋白（collagen type Ⅲ，COL-Ⅲ）、p-Smad2和p-Smad3等关键蛋白表达水平，明显提高创面的前期愈合效果。因COS具有游离氨基，表现出聚阳离子行为，因此具有与聚阴离子络合剂（如DNA、海藻酸钙及透明质酸）、带负电荷的细胞和组织膜结合的能力。YIN等[48]证明：将带正电荷的COS渗入到带负电

荷的细菌纤维素（bacterial cellulose，BC）基质中可通过依靠静电相互作用附着在BC支架内部，以提高膜的吸水能力并赋予其良好的抗氧化活性，尤其是清除2，2′-联氮-双-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸[2，2′-azinobis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonate)，ABTS]自由基的活性，表明BC-COS复合膜是一种很有前途的伤口敷料。PCL为疏水性聚合物且无官能团，而COS为亲水性多糖，两者不能混溶。为实现两者的结合，HO等[38]通过对PCL电纺膜进行等离子体处理，使其表面携带羟基，从而能够与COS的官能团之间形成氢键。PCL/COS复合电纺膜在保持PCL机械强度的条件下，通过COS增强膜的抑菌性和止血性能，促进伤口愈合。也有学者[44]研究表明：通过使用1-乙基-3-（3-二甲基氨基丙基）碳酰二亚胺盐酸盐/N-羟基丁二酰亚胺[1-ethyl-3-（3-dimethylaminopropyl）carbodiimide hydrochloride/N-hydroxysuccinimid，EDC/NHS]共价交联可将COS添加在鱼胶原蛋白（fish collagen，FC）/PCL电纺多孔双层纳米纤维膜上用于全层伤口愈合，进一步改善其润湿性等理化性能和细胞黏附及增殖等生物学活性。

水凝胶的高度互联多孔框架结构使其具有良好的吸收液体和较强的保水能力，对湿性伤口具有良好的愈合性能[49]。与CS比较，COS可在生理pH值范围内溶解，故更适合作为水凝胶的前体[8]。细胞外基质（extracellular matrix，ECM）由多糖与多种纤维蛋白（包括胶原蛋白、弹性蛋白、层黏连蛋白和纤连蛋白）结合在一起的复杂网络，其中糖胺聚糖是主要成分，其可在水性介质中溶胀，从而充当各种生物分子（主要是生长因子、激素和其他蛋白质）的储存库，调节其在ECM中的转运并根据需要激发其释放。COS类似于糖胺聚糖[50]，可模拟ECM的环境，允许细胞附着和保留生长因子，使得其在组织工程应用中获得成功。用过氧化氢介导的方法将不同相对分子质量的COS与没食子酸（gallic acid，GA）缀合，利用冻融法与PVA合成复合水凝胶。体外实验[51]证实：含有相对分子质量5 000～10 000 COS的GA-COS/PVA水凝胶具有良好的抗氧化和抗菌作用，是治疗痤疮的理想材料。将醛化的阴离子线性多糖海藻酸钠（sodium alginate，SA）与COS的氨基通过自发交联形成水凝胶，通过添加氧化锌纳米颗粒（ZnO_2 nanoparticles，ZnO NPs），可提高复合水凝胶的抑菌效果及机械强度，该水凝胶在大鼠烫伤模型中显示出促进伤口愈合的作用。

COS的氨基和羟基中孤对电子的氧原子和氮原子，可通过配位键的形式与金属离子结合，形成稳定的螯合物。ZHAO等[52]研究显示：COS与金属离子结合形成络合物，COS的-NH_3^+基与SA的-COO^-基静电作用形成COS/SA网，络合金属离子又与SA螯合形成SA/络合金属离子网络等作用形式，最终原位形成二价金属离子（nIon^{2+}）-COS/SA物理交联的双网络凝胶膜，其中添加Zn^{2+}和Sr^{2+}的凝胶膜创面愈合效果最佳。CHANDIKA等[30]将不同相对分子质量（1 000～3 000、3 000～5 000和5 000～10 000）COS通过EDC与FC和SA交联，形成能够更好地模拟皮肤组织物理特性、机械强度、生物特性的FCA/COS海绵支架，相对分子质量为1 000～3 000的COS支架（FCA/COS1）细胞相容性最好。

2.3 COS在骨组织工程和再生医学领域的应用

COS的促骨再生及血管新生功能使其逐渐被应用到骨组织工程支架中。有研究者[53]利用冻干技术制备单纯CS、明胶（gelatin，G）、COS及G/CS和G/COS复合海绵支架，体外实验显示：与纯明胶和COS支架比较，G/COS支架可更有效地促进和加速大鼠MSCs的附着、增殖和成骨分化，而细胞在单纯CS支架上形态为圆形，不利于细胞的黏附和增殖。进一步研究[29]证明：G/COS支架在70/30的混合比例下更有利于促进BMSCs的成骨分化。THITISET等[54]构建了含有G、COS和脱钙骨基质（demineralized bone matrix，DBM）的复合支架，其具有更强的骨诱导能力，并实现了体内大鼠模型的异位新骨的形成。

因COS富含氨基及自身带正电荷的特点，可与多价阴离子和羧基等结合，在水中通过自组装的形式合成聚合物纳米颗粒，反应条件温和，将其与肝素在水中自组装成COS/肝素纳米颗粒，通过肝素与基质细胞衍生因子1α（stromal cell-derived factor-1α，SDF-1α）和VEGF中保守的氨基酸序列结合，成功负载生物活性因子[55]。该制备方法简单，具有低成本、可生物降解、可吸收、非细胞毒性和非免疫原性等特点，且其加工过程温和，在具有生理pH值的环境中能够保持稳定，使细胞因子在较长时间内保持生物活性，是一种很有前途的组织再生细胞因子传递系统。但纳米颗粒在体内应用

时易被体液冲散，局部利用率低。WANG等[56]研究表明：利用静电作用将带正电荷的COS/肝素纳米颗粒与带负电荷的G交联来修饰壳聚糖-琼脂糖-G（chitosan-agarose-G，CAG）支架，CAG支架作为COS/肝素纳米颗粒的载体，可保护纳米颗粒不被体液冲散，实现COS/肝素纳米颗粒负载的SDF-1和BMP-2局部持续释放，通过释放SDF-1募集MSCs，BMP-2促进其成骨，实现良好的成骨效果。随着3D打印个体化支架，生物、化学和物理等响应性支架体系的开展，COS在骨组织工程领域的应用还有待进一步开发利用。

3 总结与展望

COS因其良好的理化性能及多种生物学功能的特性，使其逐渐成为生物医药领域研究的新热点。COS具有抗炎、组织再生和抗菌等作用，作为一种完全水溶性的带正电荷的天然碱性氨基多糖，在多种疾病的治疗和组织工程领域具有广阔的应用前景。

利益冲突声明：

所有作者声明不存在利益冲突。

作者贡献声明：

王少如参与文献查阅、论文撰写和论文修改，罗云纲参与论文审校和论文修改。

[参考文献]

[1] XIA W S, LIU P, ZHANG J L, et al. Biological activities of chitosan and chitooligosaccharides[J]. Food Hydrocoll, 2011, 25(2): 170-179.

[2] LI Z H, YANG F, YANG R D. Synthesis and characterization of chitosan derivatives with dual-antibacterial functional groups[J]. Int J Biol Macromol, 2015, 75: 378-387.

[3] 章中华，王 毅，李永贵，等. 壳聚糖在生物医学应用中的研究进展[J]. 生物医学工程研究，2022，41(3)：347-352.

[4] BANO I, ARSHAD M, YASIN T, et al. Chitosan: a potential biopolymer for wound management[J]. Int J Biol Macromol, 2017, 102: 380-383.

[5] 丁鑫鑫，周延民，相星辰，等. 壳聚糖复合材料在骨组织工程中的研究进展[J]. 华西口腔医学杂志，2018，36(4)：441-446.

[6] AUGUSTINE R, REHMAN S R U, AHMED R, et al. Electrospun chitosan membranes containing bioactive and therapeutic agents for enhanced wound healing[J]. Int J Biol Macromol, 2020, 156: 153-170.

[7] LEE J Y, TERMSARASAB U, LEE M Y, et al. Chemosensitizing indomethacin-conjugated chitosan oligosaccharide nanoparticles for tumor-targeted drug delivery[J]. Acta Biomater, 2017, 57: 262-273.

[8] TABASSUM N, AHMED S, ALI M A. Chitooligosaccharides and their structural-functional effect on hydrogels: a review[J]. Carbohydr Polym, 2021, 261: 117882.

[9] JAFARI H, BERNAERTS K V, DODI G, et al. Chitooligosaccharides for wound healing biomaterials engineering[J]. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl, 2020, 117: 111266.

[10] HUANG X H, CHEN M, WU H M, et al. Macrophage polarization mediated by chitooligosaccharide (COS) and associated osteogenic and angiogenic activities[J]. ACS Biomater Sci Eng, 2020, 6(3): 1614-1629.

[11] PAN Z, CHENG D D, WEI X J, et al. Chitooligosaccharides inhibit tumor progression and induce autophagy through the activation of the p53/mTOR pathway in osteosarcoma[J]. Carbohydr Polym, 2021, 258: 117596.

[12] NIU X L, WEI Y, LIU Q H, et al. Silver-loaded microspheres reinforced chitosan scaffolds for skin tissue engineering[J]. Eur Polym J, 2020, 134: 109861.

[13] VO T S, KONG C S, KIM S K. Inhibitory effects of chitooligosaccharides on degranulation and cytokine generation in rat basophilic leukemia RBL-2H3 cells[J]. Carbohydr Polym, 2011, 84(1): 649-655.

[14] TRAN A X, WHITFIELD C. Lipopolysaccharides (endotoxins)[A]. Encyclopedia of Microbiology[M]. Amsterdam: Elsevier, 2009: 513-528.

[15] LIU H T, LI W M, LI X Y, et al. Chitosan oligosaccharides inhibit the expression of interleukin-6 in lipopolysaccharide-induced human umbilical vein endothelial cells through p38 and ERK1/2 protein kinases[J]. Basic Clin Pharmacol Toxicol, 2010, 106(5): 362-371.

[16] LIU H T, HUANG P, MA P, et al. Chitosan oligosaccharides suppress LPS-induced IL-8 expression in human umbilical vein endothelial cells through blockade of p38 and Akt protein kinases[J]. Acta Pharmacol Sin, 2011, 32(4): 478-486.

[17] LI Y, LIU H T, XU Q S, et al. Chitosan oligosaccharides block LPS-induced O-GlcNAcylation of NF-κB and endothelial inflammatory response[J]. Carbohydr Polym, 2014, 99: 568-578.

[18] GUO C C, ZHANG Y, LING T, et al. Chitosan oligosaccharides alleviate colitis by regulating intestinal microbiota and PPARγ/SIRT1-mediated NF-κB pathway[J]. Mar Drugs, 2022, 20(2): 96.
[19] 杨院平. 抗炎天然产物壳寡糖对炎性肠病保护作用的实验研究[D]. 武汉：武汉大学, 2015.
[20] LI S L, LIU J, LIU S Y, et al. Chitosan oligosaccharides packaged into rat adipose mesenchymal stem cells-derived extracellular vesicles facilitating cartilage injury repair and alleviating osteoarthritis[J]. J Nanobiotechnol, 2021, 19(1): 343.
[21] MARTINEZ F O, GORDON S. The M1 and M2 paradigm of macrophage activation: time for reassessment[J]. F1000Prime Rep, 2014, 6: 13.
[22] STEIN M, KESHAV S, HARRIS N, et al. Interleukin 4 potently enhances murine macrophage mannose receptor activity: a marker of alternative immunologic macrophage activation[J]. J Exp Med, 1992, 176(1): 287-292.
[23] SAHARIAH P, MÁSSON M. Antimicrobial chitosan and chitosan derivatives: a review of the structure-activity relationship[J]. Biomacromolecules, 2017, 18(11): 3846-3868.
[24] YU D W, FENG J Y, YOU H M, et al. The microstructure, antibacterial and antitumor activities of chitosan oligosaccharides and derivatives [J]. Mar Drugs, 2022, 20(1): 69.
[25] HARVEY A L, EDRADA-EBEL R, QUINN R J. The re-emergence of natural products for drug discovery in the genomics era[J]. Nat Rev Drug Discov, 2015, 14(2): 111-129.
[26] SALAH R, MICHAUD P, MATI F, et al. Anticancer activity of chemically prepared shrimp low molecular weight chitin evaluation with the human monocyte leukaemia cell line, THP-1[J]. Int J Biol Macromol, 2013, 52: 333-339.
[27] MATTAVEEWONG T, WONGKRASANT P, CHANCHAI S, et al. Chitosan oligosaccharide suppresses tumor progression in a mouse model of colitis-associated colorectal cancer through AMPK activation and suppression of NF-κB and mTOR signaling [J]. Carbohydr Polym, 2016, 145: 30-36.
[28] CHEN J S, ZHOU Z G, ZHENG C J, et al. Chitosan oligosaccharide regulates AMPK and STAT1 pathways synergistically to mediate PD-L1 expression for cancer chemoimmunotherapy [J]. Carbohydr Polym, 2022, 277: 118869.
[29] RATANAVARAPORN J, DAMRONGSAKKUL S, KANOKPANONT S, et al. Osteogenic differentiation of bone-marrow-derived stem cells cultured with mixed gelatin and chitooligosaccharide scaffolds [J]. J Biomater Sci Polym Ed, 2011, 22(8): 1083-1098.
[30] CHANDIKA P, KO S C, OH G W, et al. Fish collagen/alginate/chitooligosaccharides integrated scaffold for skin tissue regeneration application[J]. Int J Biol Macromol, 2015, 81: 504-513.
[31] WU J, XIAO Z C, CHEN A Q, et al. Sulfated zwitterionic poly (sulfobetaine methacrylate) hydrogels promote complete skin regeneration[J]. Acta Biomater, 2018, 71: 293-305.
[32] HUANG Q L, OUYANG Z X, TAN Y N, et al. Activating macrophages for enhanced osteogenic and bactericidal performance by Cu ion release from micro/nano-topographical coating on a titanium substrate [J]. Acta Biomater, 2019, 100: 415-426.
[33] LIU W, LI J H, CHENG M Q, et al. A surface-engineered polyetheretherketone biomaterial implant with direct and immunoregulatory antibacterial activity against methicillin-resistant Staphylococcus aureus [J]. Biomaterials, 2019, 208: 8-20.
[34] SPILLER K L, NASSIRI S, WITHEREL C E, et al. Sequential delivery of immunomodulatory cytokines to facilitate the M1-to-M2 transition of macrophages and enhance vascularization of bone scaffolds [J]. Biomaterials, 2015, 37: 194-207.
[35] HUANG X H, GUO X, QU L T, et al. Gradient regulation of osteo-immune microenvironment by chitooligosaccharide-containing ion-doped mesoporous silica nanoparticles to accelerate osteogenesis [J]. Appl Mater Today, 2021, 23: 101067.
[36] GARCÍA M A, DE LA PAZ N, CASTRO C, et al. Effect of molecular weight reduction by gamma irradiation on the antioxidant capacity of chitosan from lobster shells[J]. J Radiat Res Appl Sci, 2015, 8(2): 190-200.
[37] ZHOU X, ZHANG X S, ZHOU J J, et al. An investigation of chitosan and its derivatives on red blood cell agglutination[J]. RSC Adv, 2017, 7(20): 12247-12254.
[38] HO T T, DOAN V K, TRAN N M, et al. Fabrication of chitosan oligomer-coated electrospun polycaprolactone membrane for wound dressing application[J]. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl, 2021, 120: 111724.
[39] EL-HAMMADI M M, DELGADO Á V, MELGUIZO C, et al. Folic acid-decorated and PEGylated PLGA nanoparticles for improving the

antitumour activity of 5-fluorouracil[J]. Int J Pharm, 2017, 516(1/2): 61-70.

[40] HU X C, CHEN S M, YIN H, et al. Chitooligosaccharides-modified PLGA nanoparticles enhance the antitumor efficacy of AZD9291 (Osimertinib) by promoting apoptosis[J]. Int J Biol Macromol, 2020, 162: 262-272.

[41] SETTEN R L, ROSSI J J, HAN S P. The current state and future directions of RNAi-based therapeutics[J]. Nat Rev Drug Discov, 2019, 18(6): 421-446.

[42] ZHENG X L, ZHU Y, FEI W D, et al. Redox-responsive and electrically neutral PLGA nanoparticles for siRNA delivery in human cervical carcinoma cells[J]. J Pharm Innov, 2022, 17(4): 1392-1404.

[43] LIU X, CHEN L Q, ZHANG Y Y, et al. Enhancing anti-melanoma outcomes in mice using novel chitooligosaccharide nanoparticles loaded with therapeutic survivin-targeted siRNA[J]. Eur J Pharm Sci, 2021, 158: 105641.

[44] CHANDIKA P, OH G W, HEO S Y, et al. Electrospun porous bilayer nano-fibrous fish collagen/PCL bio-composite scaffolds with covalently cross-linked chitooligosaccharides for full-thickness wound-healing applications[J]. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl, 2021, 121: 111871.

[45] ZHOU L Z, CAI L, RUAN H J, et al. Electrospun chitosan oligosaccharide/polycaprolactone nanofibers loaded with wound-healing compounds of Rutin and Quercetin as antibacterial dressings[J]. Int J Biol Macromol, 2021, 183: 1145-1154.

[46] LUO C, LIU W J, LUO B H, et al. Antibacterial activity and cytocompatibility of chitooligosaccharide-modified polyurethane membrane via polydopamine adhesive layer[J]. Carbohydr Polym, 2017, 156: 235-243.

[47] LI C W, WANG Q, LI J, et al. Silver nanoparticles/chitosan oligosaccharide/poly (vinyl alcohol) nanofiber promotes wound healing by activating TGFβ1/Smad signaling pathway[J]. Int J Nanomedicine, 2016, 11: 373-386.

[48] YIN N, DU R P, ZHAO F K, et al. Characterization of antibacterial bacterial cellulose composite membranes modified with chitosan or chitooligosaccharide[J]. Carbohydr Polym, 2020, 229: 115520.

[49] CHANDIKA P, KIM M S, KHAN F, et al. Wound healing properties of triple cross-linked poly (vinyl alcohol)/methacrylate kappa-carrageenan/chitooligosaccharide hydrogel[J]. Carbohydr Polym, 2021, 269: 118272.

[50] ALIDADI S, ORYAN A, BIGHAM-SADEGH A, et al. Comparative study on the healing potential of chitosan, polymethylmethacrylate, and demineralized bone matrix in radial bone defects of rat[J]. Carbohydr Polym, 2017, 166: 236-248.

[51] PARK H H, KO S C, OH G W, et al. Characterization and biological activity of PVA hydrogel containing chitooligosaccharides conjugated with Gallic acid[J]. Carbohydr Polym, 2018, 198: 197-205.

[52] ZHAO D, SHI C, GUO T T, et al. Multifunctional gel films of marine polysaccharides cross-linked with poly-metal ions for wound healing[J]. Pharmaceuticals, 2022, 15(6): 750.

[53] RATANAVARAPORN J, KANOKPANONT S, TABATA Y, et al. Modulation of *in vitro* attachment, proliferation and osteogenic differentiation of rat bone-marrow-derived stem cells using different molecular mass chitosans and their blends with gelatin[J]. J Biomater Sci Polym Ed, 2010, 21(8/9): 979-996.

[54] THITISET T, DAMRONGSAKKUL S, YODMUANG S, et al. A novel gelatin/chitooligosaccharide/demineralized bone matrix composite scaffold and periosteum-derived mesenchymal stem cells for bone tissue engineering[J]. Biomater Res, 2021, 25(1): 19.

[55] WANG B, TAN L, DENG D P, et al. Novel stable cytokine delivery system in physiological pH solution: chitosan oligosaccharide/heparin nanoparticles[J]. Int J Nanomed, 2015, 10: 3417-3427.

[56] WANG B, GUO Y W, CHEN X F, et al. Nanoparticle-modified chitosan-agarose-gelatin scaffold for sustained release of SDF-1 and BMP-2[J]. Int J Nanomed, 2018, 13: 7395-7408.