· 原 著 ·

一种可吸收止血纤维丝的有效性和安全性评价

王玲爽¹, 童健星¹, 赵哲哲¹, 杨晓春²

1. 杭州协合医疗用品有限公司, 浙江 杭州 310018

2. 浙江大学药学院, 浙江 杭州 310058

[摘要] 目的: 评估可吸收止血纤维丝的有效性和安全性。方法: 采用自主研发专利技术制备得到一种可吸收止血纤维丝, 与已上市产品速即纱进行比较, 通过大体观察和傅里叶红外光谱法表征其物理形态及分子结构; 电位滴定法测定纤维丝的羧基含量, 酸碱度计测定酸碱度值, 铜乙二胺法测定相对分子质量; 倒置显微镜观察纤维丝与血液接触后的表现; 琼脂扩散法评价纤维丝的细胞毒性。建立大鼠髂外动脉出血模型和背部肌肉渗血模型, 通过止血时间和血液质量考察纤维丝的止血有效性, 通过观察拍照、免疫器官称重、血液学和凝血功能检测及组织病理学检查分析纤维丝的降解吸收情况和安全性。结果: 纤维丝和速即纱具有相似的分子结构。与原料再生纤维素相比, 纤维丝和速即纱在 1727 cm^{-1} 附近均出现了典型的羧基-COOH 伸缩振动吸收峰。两种材料羧基含量约为 20%, 酸碱度值约为 3, 与氧化前相比表现出明显的酸性。纤维丝经氧化后的相对分子质量为 4466 ± 79 , 与速即纱接近 ($P > 0.05$)。纤维丝与速即纱接触血液后体积膨胀, 可吸收自身质量数十倍的血液。琼脂扩散实验表明纤维丝无细胞毒性。动物实验结果显示, 纤维丝可在 2 min 内完成止血, 止血时间和吸收血液质量与速即纱差异无统计学意义 (均 $P > 0.05$)。纤维丝植入肌肉渗血部位后 1 周即可降解, 植入纤维丝对动物的外观体征、体重、摄食、胸腺、脾脏、淋巴结及血液学、凝血功能等均无明显影响, 组织病理学检查未见明显异常。结论: 本研究自主研发的可吸收止血纤维丝具有较好的生物安全性和有效性。

[关键词] 纤维素; 止血材料; 纤维丝; 可吸收; 安全性评价

[中图分类号] R318.08 **[文献标志码]** A

Evaluation of self-prepared absorbable hemostatic cellulose fibrils

WANG Lingshuang¹, TONG Jianxing¹, ZHAO Zhezhe¹, YANG Xiaochun² (1. Hangzhou Singclean Medical Products Co., Ltd, Hangzhou 310018, China; 2. College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

Corresponding author: WANG Lingshuang, E-mail: wangls@hcxhe.com, <https://orcid.org/0000-0001-9360-5735>

[Abstract] **Objective:** To evaluate the effectiveness and safety of self-prepared

收稿日期: 2021-03-12 接受日期: 2021-07-27

作者简介: 王玲爽, 中级工程师, 主要从事医疗器械和材料研发工作; E-mail: wangls@hcxhe.com; <https://orcid.org/0000-0001-9360-5735>

absorbable hemostatic fibrils. **Methods:** A kind of absorbable hemostatic fibrils were prepared by self-developed patent technique. The physical form and molecular structure of the fibrils and a marketed product Surgicel[®] were characterized by general observation and infrared spectroscopy; the carboxyl content, pH value and relative molecular mass of fibrils were determined by potentiometric titration method, pH meter and copper ethylenediamine method, respectively. The behavior of the fibrils and Surgicel[®] in contact with blood was observed by inverted microscope, the cytotoxicity was evaluated by agarose diffusion cell assay *in vitro*. The external iliac artery hemorrhage model and the back muscle infiltration model in rats were established. The hemostatic effectiveness of the fibrils was investigated by hemostasis time and blood weight, and the degradation and biosafety of fibrils were investigated by observation photography, immune organ weighing, hematology and coagulation index measuring, and histopathological examination. **Results:** The fibrils and Surgicel[®] had similar molecular structures. Compared with the raw material regenerated cellulose, the typical carboxyl stretching vibration absorption peak of -COOH appeared near 1727 cm^{-1} in both fibrils and Surgicel[®]. The carboxyl content of the two materials was about 20%, and the pH value was about 3. The relative molecular mass of the fibers after oxidation was 4466 ± 79 , which was close to that of Surgicel[®] ($P>0.05$). After contacting with blood, the volume of fibrils and Surgicel[®] expanded, and absorbed blood of dozens of times as their own weight. The results of agar diffusion test showed that the fibrils had no cytotoxicity. The results of animal experiments showed that the hemostasis completed within 2 min, and there was no significant difference in blood weight and speed of hemostasis between two products (both $P>0.05$). The fibrils could be degraded 1 week after being implanted to the bleeding sites of the muscle. There were no pathological effects on the appearance, body weight, food intake, immunological tissue thymus, spleen, lymph nodes, hematology and coagulation indexes of the rats, and no obvious abnormality found in the histopathological examination. **Conclusion:** The prepared absorbable hemostatic fibrils have excellent biological safety and effectiveness.

[**Key words**] Cellulose; Hemostatic material; Fibril; Absorbable; Safety evaluation

[J Zhejiang Univ (Med Sci), 2021, 50(5): 633-641.]

可吸收止血材料在各种外科手术中已得到广泛应用,理想的止血材料应具备止血迅速、无细胞毒性、无免疫原性、不增加感染率、不影响组织愈合等特点^[1]。可吸收止血材料的种类较多,如纤维素类、淀粉类、胶原蛋白及明胶类、壳聚糖类、纤维蛋白原类等^[2],其中可吸收纤维素类止血材料因其来源丰富、生物相容性较好,且在体内可被快速吸收,在临床上占据一席之地。目前国内外已上市的可吸收纤维素类止血材料主要有美国强生公司的速即纱、北京泰科斯曼科技发展有限公司的泰绫、贵州金玖生物技术有限公司的速绫等。

纤维素类材料主要以物理止血为主,其接触血液后能吸附血液中的水分,血液黏稠度增大,流速变慢,同时其自身膨胀形成胶状块封堵出血点,压迫毛细血管末端达到止血目的。此外,因其表面上羧基带有电荷,可吸附和激活血小板,触发内源性凝血,羧基还可能与血红素中的亚铁离子集合,导致非特异性血小板聚集,形成血凝块,从而达到止血目的^[3]。

纤维密度、织物组织和编织方式是影响材料止血效率的重要因素。目前,我国已上市的纤维素止血材料以纱布状最为常见,但其单层结构限

制其应用。进口产品如速即纱有纱布状、纤维状(FibrillarTM)等多种型号,纤维状止血材料因其具有一定厚度,材料更蓬松柔软、纤维间空隙较多,从而吸水性更强、血液黏附性好,尤其适用于肿瘤切除术、神经外科手术等。但由于其价格较昂贵,因此市场尚需开发新的产品来丰富产品线,降低患者使用成本。

本研究采用二氧化氮氧化体系制备了一种具有多层结构的可吸收止血纤维丝(以下简称纤维丝),并对其分子结构和氧化度进行表征,观察其与血液接触时的表现,通过体外细胞实验和体内动物实验评价其止血性能和生物安全性,为其应用于临床提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

小鼠成纤维细胞L929购自中国科学院上海细胞生物研究所;无特定病原体大鼠由北京科奥协力饲料有限公司提供。MEM培养基为美国Thermo Fisher Scientific公司产品;胎牛血清为浙江天杭生物科技股份有限公司产品;青-链霉素为北京索莱宝科技有限公司产品;含1%肝素的猪新鲜血液由浙江中医药大学安全评价中心提供;速即纱(Surgicel[®])为美国强生公司产品;再生纤维素为恒天海龙股份有限公司产品;二氧化氮为中昊光明化工研究院产品;环己烷、乙醇、氢氧化钠等试剂为浙江常青化工有限公司产品;酮乙二胺溶液为山东西亚化学工业有限公司产品;丙三醇为国药集团化学试剂有限公司产品;纯化水为公司自制。

傅里叶红外光谱仪(Nicolet iS5)为美国Thermo Fisher Scientific公司产品;电位滴定仪(ET18)为美国Mettler Toledo公司产品;全自动血凝分析仪(CA-550)为日本Sysmex株式会社产品;全自动血液生化仪(C311)为瑞士Roche Cobas公司产品;离心机(Eppendorf)为德国Eppendorf公司产品;电子天平(PL2001-L)为美国Mettler Toledo公司产品;病理图像分析系统(DM4000)为德国Leica公司产品;酸碱度计(FE-28)为美国Mettler Toledo公司产品;低温反应槽(76-1A)为常州澳华仪器有限公司产品;毛细管粘度计(校准用内径0.57 mm,测定用内径0.80 mm)为武汉市常青化工有限责任公司产品;倒置生物显微镜(CKX53)为日本Olympus公司

产品。

1.2 纤维丝的制备

纤维丝采用杭州协合医疗用品有限公司自主研发的技术制备(专利授权号201410848483.0),具体步骤如下:首先将再生纤维素原料经开棉和弹织制备具有多层结构的块状织物,然后将织物置于反应罐中,预先在储罐中加入环己烷,再将二氧化氮通入储罐中调整至合适浓度后转移至反应罐内进行氧化反应。反应结束后排出反应液,95%乙醇超声清洗4~6次,再加入无水乙醇脱水。随后对其进行真空干燥12 h以上,结束后裁切成适当大小置于内包装纸中,并放入铝箔袋进行封口,得到纤维丝材料,将材料辐照灭菌后备用。

1.3 纤维理化特性表征

1.3.1 大体观察及傅里叶红外光谱仪表征材料物理形态、分子结构及氧化度 取适量纤维丝、再生纤维素和速即纱,观察材料的物理形态,然后利用傅里叶红外光谱仪对三种材料的分子结构进行表征,观察和对比其吸收特征峰。材料的氧化程度以羧基含量来表征,采用电位滴定法确定纤维丝和速即纱的羧基含量。

1.3.2 酸碱度计及铜乙二胺法测定材料酸碱度和相对分子质量 纤维丝、再生纤维素和速即纱三种材料分别按每0.1 g加水10 mL,室温放置1 h后过滤,取滤液用酸碱度计检测酸碱度值。根据GB/T 1548-2016《纸浆铜乙二胺(CED)溶液中特性粘度值的测定》中铜乙二胺法检测三种材料的相对分子质量,具体如下:分别称取三种材料各0.5 g加入顶空瓶中,先加入10 mL水使其充分解离后加入等量的铜乙二胺溶液,加盖摇匀使其充分溶解,放入25℃恒温水浴槽中。吸取3 mL溶液加入25℃恒温的毛细管粘度计中,平行测定两次,记录流出时间,计算材料聚合度并换算相对分子质量。

1.3.3 倒置显微镜观察材料吸血量和膨胀程度 将称量好的纤维丝和速即纱分别置于培养皿中,倒入小型猪新鲜血液,等待材料吸收血液至饱和,用镊子夹起材料称重,计算吸血量和吸血倍数(吸血量/材料吸血前质量),采用倒置显微镜观察并测量材料单根纤维素短纤维吸血前后的直径。

1.4 琼脂扩散试验测定纤维细胞毒性

根据GB/T 16886.5-2017《医疗器械生物学评价第5部分:体外细胞毒性试验》^[4]中的方法,

采用小鼠成纤维细胞L929来评价纤维的细胞毒性。选择生长旺盛的五代细胞,消化后配置成 $1 \times 10^5/\text{mL}$ 的细胞悬液。取六孔板,每孔加入3 mL细胞悬液,于5%二氧化碳、37℃下培养24 h。弃去培养液,加入3 mL琼脂培养基,待凝固后,加入3 mL中性红染料,培养30 min,吸除多余染料。将材料制备成直径约5 mm的圆片,小心放置在琼脂中心,于5%二氧化碳、37℃下培养24 h,同法制备阴性对照(无钙离子和镁离子的磷酸盐缓冲液)和阳性对照(5 g/L苯酚溶液)。继续培养24 h后,用倒置显微镜观察试验材料正下方和周围细胞的生长状况及染色情况,根据细胞毒性反应级别进行评价^[4]。

1.5 动物实验评价材料的止血效果、吸收情况及安全性

动物实验委托浙江大学药物安全评价研究中心进行,实验过程均遵循单位和国家有关实验动物管理和使用的规定。实验选用无特定病原体健康成年大鼠120只,体重200~240 g,随机分为无菌纱布组、纤维组和速即纱组,每组40只。选择髂外动脉出血模型评价纤维材料的止血效果,具体步骤如下:动物麻醉后,开腹,用无菌针头刺破右侧髂外动脉出血后,分别用无菌纱布、纤维和速即纱贴于出血位置,吸取流出的血液,直到不能吸收血液为止。记录各组总出血量和止血时间。

通过大鼠背部肌肉渗血模型来评价材料的吸收性能和安全性,具体步骤如下:在各组大鼠左侧背部肌肉切开约1 cm伤口,造成渗血,无菌纱布组直接关腹缝合,纤维组和速即纱组分别覆盖相应止血材料(使用剂量同无菌纱布组)后关腹缝合,术后均给予抗菌药物预防感染。材料吸收情况的评价方法:大鼠术后第1、2、3、4周分别麻醉取血,处死后行解剖、拍照、肉眼观察材料降解及脏器异常情况。材料的安全性评价方法:大鼠术后连续四周每周观察活动能力等健康状况,并测体重和摄食量。各组动物每周麻醉后腹主动脉取血3 mL,检测血液学一般指标和凝血功能;各组每周剖杀10只,取大鼠肠系膜淋巴结、脾脏、胸腺称重,计算脾脏系数和胸腺系数,脾脏或胸腺指数=(脾脏或胸腺质量/大鼠体重) $\times 10$,正常值范围参照文献^[5]。然后用10%甲醛溶液固定,采用苏木精-伊红染色法进行染色,随后进行切片观察和组织病理学检查。

1.6 统计学方法

采用SPSS 25.0软件进行统计分析。计量数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用Dunnett's 双侧 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 纤维物理形态、分子结构及羧基含量

纤维为白色的块状固体,具有一定厚度,由若干层再生纤维素短纤维层交错复合而成,材料柔软蓬松(图1),吸水性强、使用量可控,操作方便。

图1 纤维的外观

Figure 1 Appearance of fibrils

与再生纤维素相比,纤维的红外图谱除在 1727 cm^{-1} 处(羧基 $-\text{COOH}$ 的伸缩振动吸收峰)有一明显的特征峰以外,其余基本相同。可见再生纤维素经氧化后分子结构发生变化,分子中产生羧基。纤维与速即纱的红外图谱相似,其中 $3000 \sim 3600 \text{ cm}^{-1}$ 处出现了一个大宽峰,为羟基 $\text{O}-\text{H}$ 伸缩振动吸收峰, (1155 ± 10) 、 $(1017 \pm 10) \text{ cm}^{-1}$ 处出现的吸收峰为 $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ 的伸缩振动吸收峰^[6],见图2。经检测,速即纱和纤维的羧基含量分别为 $(20.2 \pm 1.2)\%$ 和 $(21.2 \pm 0.6)\%$,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.2 纤维酸碱度及相对分子质量

与再生纤维素比较,速即纱和纤维的酸碱度值和相对分子质量均减小(均 $P < 0.05$),而速即纱与纤维差异无统计学意义($P > 0.05$),见表1。结果提示,再生纤维素经氧化后纤维素分子键发生断裂,导致相对分子质量显著降低,产生的羧基导致材料酸碱度值减小。

2.3 纤维吸血倍数及膨胀程度

速即纱的吸血倍数为24.5倍和28.3倍,纤维

图2 再生纤维素、速即纱和纤维丝的红外光谱图

Figure 2 Infrared spectra of regenerated cellulose, Surgicel® and fibrils

表1 再生纤维素、速即纱和纤维丝的酸碱度及相对分子质量
Table 1 The pH value and molecular weight of regenerated cellulose, Surgicel® and fibrils

(x̄ ± s)			
材 料	n	酸碱度	相对分子质量
再生纤维素	3	5.35 ± 0.11	34 699 ± 188
速即纱	3	2.94 ± 0.01*	4203 ± 142*
纤维丝	3	2.99 ± 0.03*	4466 ± 79*

与再生纤维素比较, *P<0.05.

的吸血倍数为24.0倍和30.5倍,两者相近(表2)。倒置显微镜下观察,速即纱单根纤维素短纤维膨胀后由近100 μm增加到200 μm以上,纤维丝单根纤维素短纤维膨胀后由70~90 μm增加到近200 μm,两种材料单根纤维膨胀倍数均在2倍以上(图3)。结果提示,纤维丝与速即纱在接触血液后表现相似,均可吸收自身质量数十倍的血液,体积明显膨胀。

2.4 纤维丝细胞毒性

通过倒置显微镜观察发现,阴性对照磷酸盐

表2 速即纱和纤维丝的吸血量及吸血倍数

Table 2 Blood absorption capacity of Surgicel® and fibrils

材 料	吸血前质量 (g)	吸血后质量 (g)	吸血量 (g)	吸血倍数
纤维丝	0.11	2.75	2.64	24.0
	0.14	4.41	4.27	30.5
速即纱	0.10	2.55	2.45	24.5
	0.10	2.93	2.83	28.3

缓冲液正下方及其周围无反应区域,细胞毒性反应分级为0;阳性对照苯酚溶液反应区域超出试样尺寸1.0 cm以上,毒性反应分级为4,为重度细胞毒性;纤维丝周围及其下方也无反应区域,毒性反应分级为0。结果提示,纤维丝无细胞毒性。

2.5 纤维丝止血效果

无菌纱布组、速即纱组和纤维丝组止血时间分别为(90 ± 18)、(84 ± 14)和(75 ± 14)s,速即纱组和纤维丝组止血时间较无菌纱布组均缩短(均P<0.05);无菌纱布组、速即纱组和纤维丝组出血量分别为(3.6 ± 1.0)、(2.6 ± 0.9)和(2.5 ± 1.0)g,速即纱组和纤维丝组出血量较无菌纱布组均减小(均P<0.05)。结果提示,纤维丝和速即纱能够快速止血,减少伤口出血量。

2.6 纤维丝体内降解吸收情况

大鼠术后第1周,肌肉渗血部位的速即纱和纤维丝基本被降解吸收,组织表面未见明显残留,各脏器外观未见明显异常;术后第2、3、4周,植入部位各脏器的外观未见明显异常(图4),表明材料的植入不会对组织器官造成较大影响。

纤维丝单根纤维素短纤维吸收血液前直径约70~90 μm(A),吸收血液后膨胀至近200 μm(B);速即纱单根纤维素短纤维吸收血液前直径约100 μm(C),吸收血液后膨胀至200 μm以上(D). 标尺=200 μm.

图3 速即纱及纤维丝在显微镜下吸血前后纤维直径对比

Figure 3 Diameters of Surgicel® and fibrils before and after blood suction under the microscope

术后第1周,速即纱和纤丝在肌肉渗血部位基本被降解吸收,组织表面未见明显残留,各脏器外观未见明显异常;术后第2、3、4周,植入部位各脏器的外观未见明显异常。黄色框区域为材料植入部位。

图4 大鼠术后肌肉渗血部位材料降解情况

Figure 4 Degradation of materials in the muscle bleeding sites of rats

2.7 纤丝的体内安全性

整个试验过程中大鼠状态良好,摄食饮水正常,体重增长正常,脾脏和胸腺的质量均在正常范围(图5、表3),各组术后胸腺、脾脏和肠系膜淋巴结组织病理学检查均正常(图6),提示植入纤丝未对组织造成不利影响。血液学和凝血功能检测结果各组均在正常范围(表4),各组差异无统计学意义,提示植入纤丝安全性较好。

3 讨论

随着材料学和化学合成技术的进步,医用可吸收止血材料的质量越来越好,性能越来越优异。目前,临床上广泛应用的纤维素止血产品速即纱是由美国强生公司生产的一种氧化再生纤维素速即纱,属于羧基纤维素类止血材料。其被血液完全浸透后会膨胀成浅棕色或黑色的胶状块,该胶状块有助于形成凝块,从而压迫血管达到止

血目的。临床上速即纱应用于多个科室的手术止血,术中操作简便、易贴附于出血创面、可防组织粘连,且止血快、无毒副作用。速即纱贴敷10 s后即于接触处快速溶解,变为胶体,此时黏附力变强,1~3 min后创面渗血逐渐减少至停止,在人体内最终分解成单糖而被吸收,其生物相容性与纤维素的羧基含量有关^[7]。

氧化再生纤维素止血材料在形态上有纱布状和纤丝状,其中纤丝状氧化再生纤维素相比普通纱布状氧化再生纤维素在止血方面优势明显。彭承宏^[8]将氧化再生纤维素用于肝切除手术,提出就组织附着性和顺应性来看,纤丝状速即纱优于纱布状速即纱。纤丝状速即纱以其良好的附着性和可塑性得到临床广泛应用。黄伟等^[9]比较了氧化再生纤维素纱布与纤丝的吸水率、凝胶化速率、溶解速率、降解速率、抗老化性能和止血效果,结果显示,在相同氧化度条件下,纤丝饱和吸水率比纱布高50%~130%,纤丝在5 s内的吸水率达500%,而纱布只有250%左右,纤丝松散网状多孔结构有利于提高吸水率和吸水速率,加快凝胶化速率和溶解速率,止血效果更好。本研究制备的材料是一种止血纤丝,外观上看,为具有一定厚度的多层织物,蓬松柔软,这种结构使其在术中使用更

图5 各组摄食量和体重增长情况

Figure 5 Food intake and weight gain of rats in each group

表 3 各组术后第1周和第4周胸腺、脾脏称重结果比较
Table 3 The weight of thymus and spleen at the first and the fourth weeks after operation in each group

(x̄ ± s)						
组 别	n	胸腺(g)	脾脏(g)	胸腺系数	脾脏系数	
无菌纱布组	第1周	39	0.576 ± 0.159	0.912 ± 0.157	0.220 ± 0.040	0.354 ± 0.052
	第4周	10	0.504 ± 0.060	0.728 ± 0.190	0.154 ± 0.029	0.216 ± 0.032
速即纱组	第1周	39	0.524 ± 0.149	0.807 ± 0.272	0.206 ± 0.054	0.314 ± 0.091
	第4周	8	0.480 ± 0.091	0.728 ± 0.145	0.147 ± 0.034	0.226 ± 0.066
纤维组	第1周	30	0.416 ± 0.147	0.757 ± 0.185	0.168 ± 0.052	0.300 ± 0.048
	第4周	7	0.411 ± 0.066*	0.835 ± 0.178	0.120 ± 0.013*	0.254 ± 0.127

与无菌纱布组比较,*P<0.05.

加便捷。医生可根据创面大小和形态取用适当大小和层数的纤维丝覆盖创面,材料内部短纤维交错堆叠的蓬松结构使其具备充足的空隙,吸水性更强,血液黏附性好,更易贴合于伤口表面,为实现快速止血奠定了基础。通过红外分析,本研究中纤维丝材料的分子结构与速即纱类似,与未氧化的再生纤维素相比,具有明显的氧化特征峰。

纤维素因其不溶于水,且人体内无分解酶而不能在人体内降解,但经过氧化后的纤维素可以在生物体内降解^[10],其中羧基含量可反映再生纤维素的氧化程度。Ashton等^[11]研究表明,当氧化再生纤维素的羧基含量达到3%时就具有生物可吸收性,且止血性能和吸收性能随着羧基含量的增加而增加,随聚合度的降低而增加,并且随着降

解时间的延长,氧化再生纤维素的降解程度也相应增大。但如果氧化程度过高,则可能会因为纤维素的降解速度过快导致局部组织渗透压过高,引发炎症。因此,可吸收纤维素类材料的羧基含量一般控制在16%~24%^[12]。经测定,本研究制备的纤维丝和速即纱的羧基含量均在20%左右,相对分子质量约为4000,表明其氧化程度接近,氧化度适中。氧化后的纤维丝材料酸碱度值约为3,具有广谱杀菌的作用,能够在一定程度上预防术后感染^[13]。实验证明,纤维丝和速即纱与血液接触后单根纤维膨胀明显,吸血倍数可达20~30倍,表现出了优异的吸血性能。

本文资料显示,纤维丝无细胞毒性,细胞相容性好。本研究从止血性能和生物降解性能两方面对材料进行了动物体内评价。

与普通纱布相比,纤维丝的止血速度较快,出血量较无菌纱布组更少,表明纤维丝在实现快速止血的同时可在一定程度上抑制出血。研究通过构建大鼠背部肌肉渗血模型,进一步探讨了纤维丝的降解性能以及纤维丝对组织的影响。大鼠术后1~4周的解剖结果显示,纤维丝在植入1周后大鼠背部已无明显可见的肉眼残留,表明纤维丝在大鼠体内基本可在一周内完成降解,与文献报道一致^[14-15]。此外,本文资料还显示,纤维丝植入对大鼠摄食和体重增长无明显影响,也未对大鼠的血液和组织器官造成不

各组各脏器组织结构均正常,未见明显差异. 标尺=50 μm.

图 6 术后第4周各组胸腺、脾脏和肠系膜淋巴结组织病理学表现
Figure 6 Histopathological pictures of thymus, spleen and mesenteric lymph nodes in each group at the 4th week after operation

表 4 各组术后第1周和第4周血液学和凝血功能检测结果比较

Table 4 Hematology and coagulation index at the 1st week and 4th weeks after operation in each group

组 别	(x ± s)									
	白细胞数($\times 10^9/L$)		红细胞数($\times 10^{12}/L$)		血红蛋白量(g/L)		红细胞容积(%)		平均红细胞容积(fL)	
	第1周	第4周	第1周	第4周	第1周	第4周	第1周	第4周	第1周	第4周
无菌纱布组	9.0 ± 3.3	10.0 ± 3.3	5.6 ± 0.5	7.3 ± 0.6	115 ± 8	136 ± 10	37.2 ± 2.6	42.8 ± 2.5	66.4 ± 5.3	59.1 ± 3.5
速即纱组	10.0 ± 3.3	9.5 ± 3.6	5.6 ± 0.3	6.6 ± 1.1	112 ± 6	124 ± 21	36.5 ± 2.2	38.9 ± 6.1	65.6 ± 5.2	58.6 ± 2.5
纤丝组	10.2 ± 5.7	10.0 ± 2.5	5.6 ± 0.4	6.4 ± 1.7	111 ± 7	118 ± 31	36.0 ± 2.0	37.3 ± 8.7	64.1 ± 3.1	59.5 ± 4.5
组 别	平均血红蛋白量 (pg)		平均血红蛋白浓度 (g/L)		血小板数 ($\times 10^9/L$)		活化部分凝血活酶 时间(s)		凝血酶原 时间(s)	
	第1周	第4周	第1周	第4周	第1周	第4周	第1周	第4周	第1周	第4周
	第1周	第4周	第1周	第4周	第1周	第4周	第1周	第4周	第1周	第4周
无菌纱布组	20.5 ± 1.5	18.8 ± 0.7	308 ± 5	318 ± 10	1487 ± 165	1221 ± 184	11.7 ± 1.4	11.3 ± 2.5	8.7 ± 0.4	8.9 ± 0.9
速即纱组	20.2 ± 1.3	18.7 ± 0.8	309 ± 11	319 ± 5	1497 ± 260	1249 ± 283	11.8 ± 1.4	10.8 ± 2.0	8.7 ± 0.4	8.5 ± 0.7
纤丝组	19.7 ± 0.6	18.6 ± 1.1	308 ± 7	313 ± 12	1398 ± 410	1233 ± 153	13.0 ± 2.1	12.8 ± 1.6	8.8 ± 0.5	8.8 ± 0.5

无菌纱布组、速即纱组和纤丝组术后第1周统计例数分别为10、9和9只,术后第4周统计例数分别为10、8和7只。

利影响,提示纤丝用于大鼠体内是安全的。

综上,本研究对自主研发的一种氧化再生纤维素纤丝材料的分子结构及性质进行表征,证实其具有明显的氧化纤维素分子结构;与原料相比,氧化后材料的酸碱度值和相对分子质量显著减少;在接触血液后体积膨胀,可吸收自身质量数十倍的血液;细胞实验证实了其具有较好的细胞相容性;动物实验显示,纤丝可实现2 min内快速止血;纤丝在植入体内第1周即可降解,无组织反应,可被机体完全吸收,提示具有较高的生物安全性和止血有效性。因此,该纤丝性能优异,具有较高的临床应用潜力。

利益冲突 作者王玲爽、童健星、赵哲哲系杭州协合医疗用品有限公司员工,其他作者声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 张世庆, 赵 熊, 鲁景艳, 等. 可吸收止血材料研究现状与相关技术要求[J]. 军事医学, 2012, 36(11): 862-866. ZHANG Shiqing, ZHAO Xiong, LU Jingyan, et al. Review on absorbable hemostatic material and its technical requirements[J]. Military Medical Sciences, 2012, 36(11): 862-866. (in Chinese)
- [2] 张 爽, 徐庆华, 童 琳, 等. 可吸收止血材料的研究现状与应用[J]. 中国组织工程研究, 2021, 25(10): 1628-1634. ZHANG Shuang, XU Qinghua, TONG Lin, et al. Current status and application of absorbable hemostatic materials[J]. Chinese Journal of Tissue Engineering Research, 2021, 25(10): 1628-1634. (in Chinese)
- [3] HUTCHINSON R W, GEORGE K, JOHNS D, et al.

Hemostatic efficacy and tissue reaction of oxidized regenerated cellulose hemostats[J]. Cellulose, 2013, 20(1): 537-545.

- [4] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GB/T 16886.5-2017 医疗器械生物学评价第5部分: 体外细胞毒性试验[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017. State General Administration of the People's Republic of China for Quality Supervision and Inspection and Quarantine, Standardization administration of China. GB/T 16886.5-2017 Biological evaluation of medical devices part 5: in vitro cytotoxicity test[S]. Beijing: China Standard Press, 2017. (in Chinese)
- [5] 董延年, 尹纪业, 陈 长. SD大鼠脏器重量及脏器系数正常参考值的确立与应用[J]. 军事医学, 2012, 36(5): 351-353. DONG Yannian, YIN Jiye, CHEN Chang. Establishment and application of the normal reference values of organ masses and organ/body coefficients in SD rats[J]. Military Medical Science, 2012, 36(5): 351-353. (in Chinese)
- [6] MERKEL K, RYDAROWSKI H. FTIR Study and mechanical properties of cellulose fiber-reinforced thermoplastic composites[J]. J Biobased Mater Bio, 2012, 6(4): 399-409.
- [7] SEZER U A, SAHIN S, ARU B, et al. Cytotoxicity, bactericidal and hemostatic evaluation of oxidized cellulose microparticles: structure and oxidation degree approach[J]. Carbohydr Polym, 2019, 219: 87-94.
- [8] 彭承宏. 肝切除术中肝脏创面保护和再生氧化纤维素应用[J]. 中国实用外科杂志, 2014, 34(8): 780-782. PENG Chenghong. Application of liver wound protection and regeneration of oxidized cellulose during liver resection[J]. Chinese Journal of Practical Surgery, 2014, 34(8): 780-782. (in Chinese)

- [9] 黄 伟, 徐小慧, 郭利萍. 三维结构和氧化度对C6位氧化再生纤维素止血材料性能影响[J]. **高分子通报**, 2017, (9): 71-78.
HUANG Wei, XU Xiaohui, GUO Liping. The effect of three-dimensional structure and degree of oxidation on the properties of C6 oxidized regenerated cellulose hemostatic material[J]. **Polymer Bulletin**, 2017, (9): 71-78. (in Chinese)
- [10] 翟美玉, 彭 茜. 生物可降解高分子材料[J]. **化学与粘合**, 2008, 30(5): 66-69.
ZHAI Meiyu, PENG Qian. Biodegradable high polymer material[J]. **Chemistry and Adhesion**, 2008, 30(5): 66-69. (in Chinese)
- [11] ASHTON, WILLIAM H. Oxidized cellulose product and method for preparing the same: United States, 3364200[P]. 1968-01-16.
- [12] 王 晨. 生物功能材料在止血方面的应用[J]. **明胶科学与技术**, 2014, 34(4): 168-174.
WANG Chen. Application of biological functional materials on hemostasis[J]. **The Science and Technology of Gelatin**, 2014, 34(4): 168-174. (in Chinese)
- [13] 童正阳. 可吸收生物止血材料研究进展[J/CD]. **世界最新医学信息文摘(电子版)**, 2017, 17(2): 43-43.
TONG Zhengyang. Research progress of absorbable biological hemostatic materials[J/CD]. **World Latest Medicine Information (Electronic Edition)**, 2017, 17(2): 43-43. (in Chinese)
- [14] 张惠灏, 陈祥锦, 吴坤林, 等. 再生氧化纤维素预防麦默通微创旋切术后血肿的临床研究[J]. **海峡药学**, 2012, 24(10): 143-144.
ZHANG Huihao, CHEN Xiangjin, WU Kunlin, et al. The clinical study of regenerated oxidized cellulose to prevent hematoma after mammotome minimally invasive atherectomy[J]. **Strait Pharmaceutical Journal**, 2012, 24 (10): 143-144. (in Chinese)
- [15] 李 楠, 刘 波, 何 达, 等. 氧化再生纤维素和可吸收明胶海绵在ACDF术中的止血作用对比[J]. **山东医药**, 2014, 54(44): 34-36.
LI Nan, LIU Bo, HE Da, et al. Contrastive analysis of oxidated regenerated cellulose and absorbable gelatin sponge on the hemostasis during ACDF procedure[J]. **Shandong Medicine**, 2014, 54 (44): 34-36. (in Chinese)
- [本文编辑 沈 敏 余 方]

· 学术动态 ·

叶招明教授团队揭示普通型软骨肉瘤的免疫治疗获益人群

近日,浙江大学医学院附属第二医院叶招明教授和林秭主任医师团队在《临床肿瘤研究》(*Clinical Cancer Research*)发表了题为“Fresh tissue multi-omics profiling reveals immune classification and suggests immunotherapy candidates for conventional chondrosarcoma”的研究论文(<https://clincancerres.aacrjournals.org/content/early/2021/10/13/1078-0432.CCR-21-1893.long>),他们发现“免疫衰竭”的普通型软骨肉瘤患者临床可通过程序性死亡蛋白-1(PD-1)抗体治疗而获益。

研究人员应用质谱流式分析绘制了普通型软骨肉瘤的免疫细胞图谱,发现普通型软骨肉瘤是一种富含CD68hi CD11c+树突状细胞的肿瘤,可分为三种免疫亚型,即高度免疫抑制的“G-MDSC优势型”、富含树突状细胞和T细胞的“免疫衰竭型”和免疫细胞浸润极少的“免疫沙漠型”。应用全外显子测序、影像学 and 病理学数据等多组学手段发现,异柠檬酸脱氢酶(IDH)1/2突变、磁共振T2相的瘤周水肿、病理WHO II+III级是普通型软骨肉瘤中存在免疫反应的生物学标志,同时符合以上三个条件的肿瘤为“免疫衰竭”亚型。在临床治疗中发现“免疫衰竭型”普通型软骨肉瘤可能是免疫治疗的获益对象。

在原本缺乏免疫细胞浸润的鼠源肿瘤中敲入突变IDH能增加肿瘤内免疫细胞数量,且使用以PD-1抗体为基础的免疫治疗能控制肿瘤生长、延长荷瘤鼠存活期。IDH突变的肿瘤微环境CXCL12浓度增加,树突状细胞加快向肿瘤组织归巢并接触肿瘤新抗原,开始抗原递呈过程,继而分泌CXCL9、CXCL10等I类趋化因子促进外周T细胞向肿瘤组织归巢,从而发挥杀伤肿瘤作用。

李冰皓主治医师、李国奇博士、严晓波副主任医师为论文第一作者。研究得到国家自然科学基金资助。