



重组胶原蛋白在生物医药方面的应用

胡欢¹⁾ 张蕻²⁾ 王建²⁾ 王力文²⁾ 刘倩²⁾ 程宁文¹⁾ 张馨月¹⁾ 李云兰^{3)*}

¹⁾ 山西医科大学现代生物医药产业学院, 太原 030032; ²⁾ 山西锦波生物医药股份有限公司, 太原 030032;

³⁾ 山西医科大学药学院, 晋中 030600

缩略表: 女性盆底功能障碍 (female pelvic floor dysfunction, FPF); 阴道萎缩 (vaginal atrophy, VA); 薄型子宫内膜 (thin endometrium, TE); 慢性子宫内膜炎 (chronic endometritis, CE); 更年期泌尿生殖系统综合征 (genitourinary syndrome of menopause, GSM); 乳腺癌 (breast cancer, BC); 细胞外基质 (extracellular matrix, ECM); 施万细胞 (Schwann cells, SCs); 透明质酸 (hyaluronic acid, HA); 骨形态发生蛋白2 (bone morphogenetic protein-2, BMP-2); 调节性T细胞 (regulatory T cell, Tregs); 辅助性T细胞17 (helper T cells17, Th17); 碱性成纤维细胞生长因子 (basic fibroblast growth factor, bFGF); 骨髓间充质干细胞 (bone marrow mesenchymal stem cells, BMSC); 甘氨酸 (glycine, Gly); 脯氨酸 (proline, Pro); 羟脯氨酸 (hydroxyproline, HYP); 埃勒斯-当洛斯综合征 (Ehlers-Danlos syndrome, EDS); 骨关节炎 (osteoarthritis, OA); 营养不良性大疱性表皮松解症 (dystrophic epidermolysis bullosa, DEB); 真皮-表皮交界处 (dermo-epidermal junction, EDJ); 交界性大疱性表皮松解症 (junctional epidermolysis bullosa, JEB); 大疱性表皮松解症 (epidermolysis bullosa, EB); 隐性营养不良性大疱性表皮松解症 (recessive dystrophic herpetic epidermolysis bullosa, RDEB); 肝内胆管癌 (intrahepatic cholangiocarcinoma, ICC); 淀粉样前体蛋白 (amyloid precursor protein, APP); β 淀粉样蛋白 (β -amyloid protein, A β); 肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α); 间充质干细胞 (mesenchymal stem cells, MSCs); 谷氨酰胺转氨酶 (glutamine transaminase, TG); 细胞外囊泡 (extracellular vesicles, EV); 血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF); 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺 (1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimide, EDC); N-羟基丁二酰亚胺 (N-hydroxybutanediiimide, NHS); 转化生长因子 β /转化生长因子 β 1 (transforming growth factor beta/transforming growth factor beta 1, TGF- β /TGF- β 1); 成纤维细胞生长因子 (fibroblast growth factor, FGF); 血小板源性生长因子 (platelet-derived growth factor, PDGF); 表皮生长因子 (epidermal growth factor, EGF); 2-甲基丙烯酰氧乙基磷酸胆碱 (2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine, MPC); 磷酸盐缓冲液 (phosphate buffer, PBS); 基质金属蛋白酶抑制剂1 (matrix metalloproteinase inhibitor-1, TIMP-1); 局灶性黏附激酶 (focal adhesion kinase, FAK); 黏着斑蛋白 (adhesive plaque protein, vinculin); 纤维肌动蛋白 (fibrillar actin, F-actin); 子宫内膜基质细胞 (endometrial stromal cells, ESCs); 脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS); 盘状蛋白结构域受体1/2 (discoidin structural domain receptor 1/2, DDR1/2); 白介素-6 (interleukin 6, IL-6); 白介素-10 (interleukin 10, IL-10); Toll样受体4 (Toll-like receptor 4, TLR-4); 聚多巴胺 (polydopamine, PDA); 聚乙烯亚胺 (polyethyleneimine, PEI)。

摘要 胶原蛋白是哺乳动物体内分布最广、含量最多的功能性蛋白,按来源可将其大致分为动物胶原蛋白和重组胶原蛋白,动物结缔组织是提取动物胶原蛋白的主要途径,而重组胶原蛋白是利用基因拼接技术将所需人胶原蛋白基因克隆到适宜的载体后转移到表达体系内表达,再提取纯化生产的蛋白质。重组胶原蛋白的组织相容性极好,可直接被人体吸收并参与胶原的构建,对细胞生长及伤口愈合等都显著有效,是现代生物医药材料的开发重点。本文简述了胶原蛋白的结构、类型和生产,重组胶原蛋白表达体系,重点阐述了利用动物疾病模型,探索重组胶原蛋白在创口止血、创面修复、角膜治疗、女性盆底功能障碍 (FPFD)、阴道萎缩 (VA) 和阴道干燥、薄型子宫内膜 (TE)、慢性子宫内膜炎 (CE)、体内骨组织再生、心血管疾病、乳腺癌 (BC) 及抗衰老方面的应用效果,并介绍了重组胶原蛋白治疗FPFD和CE的作用机制,总结了重组胶原蛋白在皮肤烧伤、皮肤创口、皮炎、痤疮及更年期泌尿生殖系统综合征 (GSM) 方面的临床应用及疗效。最后简述了重组胶原蛋白面临的挑战,并对重组胶原蛋白的发展和前景做出展望。

关键词 重组胶原蛋白, 表达体系, 动物模型疾病, 临床治疗

中图分类号 TQ936.2

DOI: 10.16476/j.pibb.2024.0233

CSTR: 32369.14.pibb.20240233

胶原蛋白是动物细胞外基质 (ECM) 中的一种主要结构蛋白,占人体总蛋白质的25%~30%,其广泛存在于皮肤、组织、骨骼、细胞间质、韧

* 通讯联系人。

Tel: 13111066649, E-mail: Liyunlanrr@163.com

收稿日期: 2024-05-29, 接受日期: 2024-09-09

带、关节及头发中，角膜几乎完全由胶原蛋白组成^[1]。胶原蛋白结构稳定，可以协调细胞间相互作用，有止血、低免疫原性、生物相容性及生物可降解性等独特的生物学特性，已被广泛应用于生物医药、化妆品、食品等行业。由胶原蛋白制备的交联管状神经导管用于神经重建及修复；众多护肤品、美容品及护发素等产品中加入胶原蛋白，用以保湿、修复皮肤和改善发质；用胶原蛋白制作人造肠衣、果脯蜜饯等食品内包装膜，改善食品风味和质量^[2]。但动物胶原蛋白供不应求，且存在一定感染风险，因此重组胶原蛋白成为研究者们重点关注的生物材料。利用基因工程技术可以实现重组胶原蛋白的工业化生产，且产率高，稳定性和生物安全性好。Yan等^[3]采用III型胶原Gly300-Asp329片段重复18次制备出一种新型重组胶原(rhCLA)，并在大肠杆菌中成功表达，经碱沉淀和酸沉淀、阳离子交换色谱的抛光纯化，使rhCLA纯度超过98%，总体产率约为120 mg/L。Fan等^[4]利用酵母生产出一种抗肿瘤重组胶原蛋白，该重组胶原分子质量小，生物活性好，可支持细胞黏附，提高皮肤抗氧化损伤能力，显著抑制肿瘤细胞增殖，还可用于食品及保健品等领域。杨霞等^[5]克服现有技术缺陷，利用基因工程技术生物合成了具有细胞黏附作用的人体结构性材料IV型胶原蛋白。

重组胶原蛋白虽在制备和储存过程中易受外界环境如光、热、pH等的影响而发生变性或降解，从而失去活性，但利用基因工程技术制备的重组胶原蛋白具有分子单一性和生物相容性好、质量稳定、无病毒传播风险等优点，亲水性和免疫排异性较动物胶原蛋白也得到改善，同时具有可调控的物理化学性质和生物学性能^[6-7]。因此，重组胶原蛋白在组织工程、再生医学及创伤修复等领域已有广泛研究和应用。Munyemana等^[8]以重组胶原蛋白为生物矿化模板合成有序、多孔碳酸钙纳米球，对模型药物头孢哌酮的负载效果好，具有生物相容性和pH反应性药物载体的潜力，为新型有机-无机纳米结构的生产提供了一条有效途径。有研究以施万细胞(SCs)为体外模型，研究标签序列对重组人源III型胶原蛋白(rhCol III)结构和性能的影响，发现标签序列的引入会影响rhCol III的高级结构和性质，而rhCol III可调节SCs的黏附、扩散、迁移和增殖，增加神经生长因子和脑源性神经营养因子的表达，这为开发基于rhCol III的医疗器械和周围神经损伤的临床治疗提供了理论基础^[9]。Wang

等^[10]利用H₂O₂/HRP催化系统，通过儿茶酚基团的氧化偶联，制备了由多巴胺修饰的透明质酸(HA)和重组人III型胶原组成的水凝胶，研究发现，该水凝胶生物相容性好，可促进糖尿病大鼠创面愈合，是一种很有前景的慢性创面愈合敷料。He等^[11]以氧化羧甲基纤维素、三螺旋重组胶原和N-琥珀酰基壳聚糖为原料合成水凝胶，并装载骨形态发生蛋白2(BMP-2)，在大鼠颅骨缺损模型研究中表明，该水凝胶在骨修复和再生应用中显示出巨大的潜力。Li等^[12]于兔耳瘢痕处局部注射重组人III型胶原蛋白，发现其可被成纤维细胞吸收，促进天然胶原蛋白的合成，III型胶原蛋白的合成最显著，从而降低I/III型比例，改善增生性瘢痕形成。研究证明，重组人源化I型胶原蛋白(rhCOL1)可通过抑制Notch1/Hes1信号通路促进T细胞分化为调节性T细胞(Tregs)，调节辅助性T细胞17(Th17)/Treg失衡，降低胚胎吸收率，并增强Tregs的免疫抑制功能，重塑母胎界面的免疫微环境，并提高复发性自然流产小鼠模型的生育能力^[13]。Xiang团队^[14]利用3D打印技术制备双层胆管支架，内层为聚乙二醇二丙烯酸酯，外层为生物相容性甲基丙烯酸酯化重组胶原蛋白III型(rColMA)，其中负载碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)封装的脂质体(bFGF@Lip)，研究证明，该支架可控释bFGF，为骨髓间充质干细胞(BMSC)生长和分化为胆管细胞样细胞创造环境，同时不引起体内胆汁淤积，为胆管组织置换的研究提供了新的思路。重组胶原蛋白制备的部分产品也已用于临床治疗，Halm-Pozniak等^[15]利用自体条件血浆联合重组人胶原支架注射治疗肩关节撞击综合征患者，发现该方法可改善患者肌力，且无典型副作用，这种无激素疗法有望成为专业运动员的有效治疗选择。重组胶原蛋白特有的结构及生物性能不仅让其本身可以直接用于保湿及修复，还可作为载体和生物支架，用于各种疾病的治疗、缓解和各种组织缺损的修复，它作为优势明显的一种新型生物材料，备受各行业的关注，在生物医药领域的应用也逐渐广泛。本文首先介绍胶原蛋白的结构、分类和生产，重组胶原蛋白表达体系，再对重组胶原蛋白的应用现状进行详细阐述，最后对重组胶原蛋白的应用前景进行展望。

1 胶原蛋白的结构

胶原蛋白的基本组成单位是原胶原，它的特异

结构由3条左手螺旋结构的 α 肽链以平行、右手螺旋形式缠绕, 氢键互相咬合形成(图1), 因此胶原蛋白具有很强的拉伸强度, 其中右手复合螺旋结构区段的氨基酸具有(甘氨酸(Gly)-X-Y)_n周期性序列, X和Y通常为脯氨酸(Pro)和羟脯氨酸(HYP), 肽链中每3个氨基酸残基中就有一个要经

过此三股螺旋中央区, 此处空间狭窄, 只有Gly能进入, 这也是其氨基酸组成中每隔两个氨基酸残基就会出现一个Gly的原因^[16-17]。胶原蛋白特异、稳定的结构是它可以作为生物材料被广泛应用的基础。

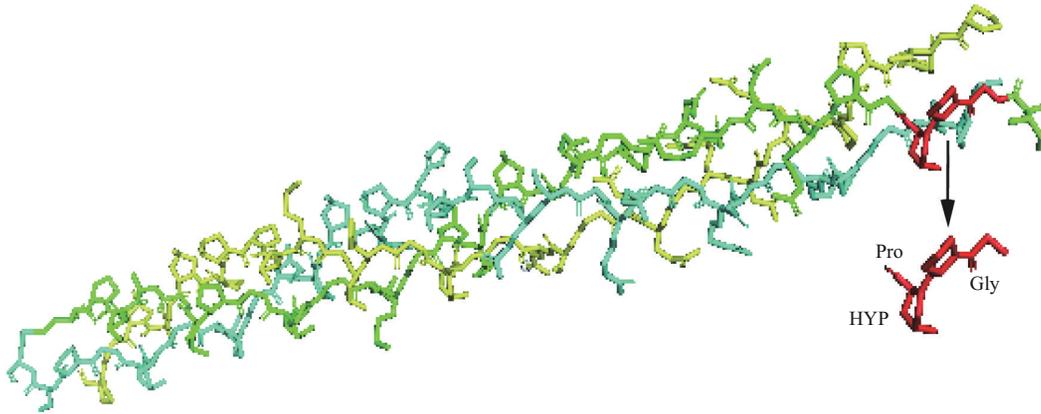


Fig. 1 Rod diagram of the structure of the triple helix region of collagen

图1 胶原蛋白三螺旋区域结构棒状图

2 胶原蛋白分类

已发现49种胶原蛋白编码, 形成的胶原蛋白类型达28种。胶原蛋白可按以下两种方法分类(表1):

a. 按发现的先后顺序, 依次分为I型、II型、III型胶原蛋白等, 分子的每种 α 肽链可分为若干亚

型, 如 α_1 (I)、 α_2 (I)、 α_1 (II)、 α_2 (II)、 α_1 (III)、 α_2 (III)、 α_1 (IV)、 α_2 (IV)、 α_3 (IV)等;

b. 根据结构复杂性, 分为成原纤维胶原和非纤维胶原, 非胶原纤维进一步可分为FACIT族胶原、网络结构胶原、念珠状原纤维胶原、锚定原纤维或纤丝胶原、跨膜区蛋白、内皮抑素前体胶原、具有胶原结构域的其他分子^[18]。

Table 1 Classification, tissue distribution, function, and gene-related variability of collagen^[19]

表1 胶原蛋白的分类、组织分布、功能及相关基因变异性疾病^[19]

胶原结构类型	胶原类型	肽链组成	超分子结构	组织分布	功能	基因变异性疾病
成原纤维胶原	I	$[\alpha_1(I)]_2\alpha_2(I)$ $[\alpha_1(I)]_3$	条纹原纤维	真皮、骨、腱、牙本质; 胎盘、发炎及肿瘤组织	支撑纤维	成骨不全、骨质疏松、埃勒斯-当洛斯综合征(EDS)
	II	$[\alpha_1(II)]_3$		透明软骨、脊椎、玻璃体		软骨发育不良、骨关节炎(OA)
	III	$[\alpha_1(III)]_3$		皮、肌肉、大动脉、胎盘、肺、肝、胃肠道、牙周膜、子宫基底膜	小的支撑纤维	EDS
	V	$[\alpha_1(V)]_3$ $[\alpha_1(V)]_2\alpha_2(V)$ $[\alpha_1(V)\alpha_2(V)\alpha_3(V)]$	条纹原纤维, 保留N端调节结构域	皮、肌腱、肌肉、鞘、腱鞘、肝、肺、肾、胎盘、角膜、雪旺细胞	小的支撑细胞周纤维	EDS

续表1

胶原结构类型	胶原类型	肽链组成	超分子结构	组织分布	功能	基因变异性疾病	
FACIT族胶原	XI	$[\alpha_1(\text{XI})\alpha_2(\text{XI})\alpha_3(\text{XI})]$		透明软骨、玻璃体	可能是II型胶原控制纤维直径核心	OA、软骨发育不良	
	XXIV	$[\alpha_1(\text{XXIV})]_3$	/	骨、角膜	/	/	
	XXVII	$[\alpha_1(\text{XXVII})]_3$	/	软骨	/	/	
	IX	$[\alpha_1(\text{IX})\alpha_2(\text{IX})\alpha_3(\text{IX})]$	与胶原原纤维及其他相互作用之间密切联系	透明软体、玻璃体	软骨、角膜、玻璃体（与II型结合分布）	腰椎间盘突出、多发性骨骺发育不良、关节炎	
	XII	$[\alpha_1(\text{XII})]_3$		皮肤、胚胎腱、牙周韧带	与I型胶原结合	/	
	XIV	$[\alpha_1(\text{XIV})]_3$		肌腱、软骨、胎儿皮肤	可能与XII型胶原相似	/	
	XX	$[\alpha_1(\text{XX})]_3$	界面区域，基底	角膜	/	/	
	XVI	$[\alpha_1(\text{XVII})]_3$	膜区域	心脏、肾、肺、胰腺、胎盘、皮肤	在成纤维细胞和角质化细胞中表达	/	
	XIX	$[\alpha_1(\text{XIX})]_3$		基底膜	/	/	
	XXI	$[\alpha_1(\text{XXI})]_3$		胃、肾	/	/	
网络结构胶原	XXII	$[\alpha_1(\text{XXII})]_3$		组织链接	/	/	
	IV	$[\alpha_1(\text{IV})]_2\alpha_2(\text{IV})$ $[\alpha_1(\text{IV})]_2\alpha_3(\text{IV})$ $[\alpha_1(\text{IV})]_2\alpha_4(\text{IV})$ $[\alpha_1(\text{IV})]_2\alpha_5(\text{IV})$ $[\alpha_5(\text{IV})]_2\alpha_6(\text{IV})$	横向鸡丝网，六角晶格	基膜基板、卵黄囊壁、EHS肿瘤、晶状体囊，血管球基膜、角膜后弹性膜	网状支架控制多功能细胞结合部位	肺出血、肾炎综合征、Alport综合征	
	VIII	$[\alpha_1(\text{VIII})]_2\alpha_2(\text{VIII})$ $\alpha_1(\text{VIII})[\alpha_2(\text{VIII})]_2$ $[\alpha_1(\text{VIII})]_3$ $[\alpha_2(\text{VIII})]_3$		皮肤、脑、心、肾、角膜	培养内皮细胞、巩膜、软骨膜	角膜内皮营养不良	
	X	$[\alpha_1(\text{X})]_3$		肥大软骨、软骨内成骨的软骨	软骨	软骨发育不良	
	念珠状原纤维胶原	VI	$\alpha_1(\text{VI})\alpha_2(\text{VI})\alpha_3(\text{VI})$	串珠长丝，网格	人胎盘组织、基底膜外所有结缔组织	可能是主要的胶原纤维和细胞界面	Bethlem肌病
		VII	$[\alpha_1(\text{VII})]_3$	横向关联的反向平行二聚体	皮肤、膀胱、人胚胎绒毛膜、羊膜、复层扁平上层基膜、锚原纤维	固定表皮细胞在基质下	表皮松懈症
跨膜蛋白	XIII	$[\alpha_1(\text{XIII})]_3$	跨膜和脱落的可溶性胞外结构域	内皮细胞、真皮、心脏、眼睛	/	/	
	XVII	$[\alpha_1(\text{XVII})]_3$		皮肤表皮和内皮连接处、上皮细胞	基底细胞与基质结合	表皮松懈症	
	XXIII	$[\alpha_1(\text{XXIII})]_3$		心、视网膜	/	/	
	XXV	$[\alpha_1(\text{XXV})]_3$		脑、心	/	淀粉样蛋白	
内皮抑素前体胶原	XV	$[\alpha_1(\text{XXVIII})]_3$	基底膜，切割的C端结构域会影响血管生成	在成纤维细胞、子宫内膜、毛细管、睾丸、肾	在成纤维细胞和平滑肌细胞中表达	/	

续表1

胶原结构类型	胶原类型	肽链组成	超分子结构	组织分布	功能	基因变异性疾病
	XVIII	$[\alpha_1(\text{XXVI})]_3$		皮、心、脑、肝、肺、肾、基底膜、多种胶原区	在高度血管化的组织中表达	Knobloch综合征
具有胶原结构域的其他分子	XXVI	$[\alpha_1(\text{XXVI})]_3$	主要在非胶原分子中的胶原结构域	睾丸、卵巢	/	/
	XXVIII	$[\alpha_1(\text{XXVIII})]_3$	构域	坐骨神经	/	神经退化性疾病

不同类型的胶原蛋白以对应的结构和功能存在于体内各处, 确保机体的正常运行, 胶原基因发生缺失或变异会导致基因变异性疾病, 胶原的表达量或结构发生改变, 也会造成各种疾病。埃勒斯-当洛斯综合征 (EDS) 就是一组遗传性结缔组织疾病, 可分为 13 种变体, 6 种类型 (经典型、血管型、过度活动型、关节松弛症、脊柱后凸型和皮肤痤疮), EDS 与编码 I、III、V 和 XII 型胶原链基因的突变有关, 其中血管型最严重, 通常由 III 型胶原基因的缺陷/突变引起^[20-23]。II 型胶原是软骨基质的主要成分, *COL2A1* 基因的致病性变异可导致软骨发育不全、骨关节炎 (OA)、多发性骨骺发育不良、先天性脊柱骨骺发育不良和 Stickler 综合征等, II 和 XI 型胶原病之间还存在表型重叠^[24-26], 其中 Stickler 综合征就是由编码 II、IX 和 XI 型胶原链基因和非胶原基因 *LRP2*、*LOXL3* 和 *GZFI* 突变引起的遗传异质性和临床多态性疾病, 临床表现为眼部、听觉、骨骼和口面部异常^[27-28]。IV 型胶原的编码基因 *COL4A3-COL4A5* 中近一半的致病变异致使 Gly 替换, 引发遗传性疾病, 主要影响肾脏, 如 Alport 综合征, 也会导致听力和视力问题^[29-30]。编码 VI 型胶原 α 链的基因 *COL6A1-COL6A3* 发生变异会导致 Bethlem 肌病, 同时骨骼肌分化和骨骼系统发育也受到干扰^[31-32]; López-Márquez 等^[33] 已证明 CRISPR/Cas9 基因编辑可以特异性地逆转 *COL6A1* 显性阴性变体的致病作用, 这为临床治疗提供了重要理论依据。编码 VII 型胶原的基因 *COL7A1* 发生致病变异, 致使锚原纤维被破坏、真皮上层发生分裂, 形成营养不良性大疱性表皮松解症 (DEB), 而在真皮-表皮交界处 (DEJ) 维持真皮和表皮之间稳定黏附的 XVII 型胶原蛋白, 其基因 *COL17A1* 的致病变异会导致交界性大疱性表皮松解症 (JEB)^[34-36]; 郑屿萍等^[37] 研究还发现, 缺失 XVII 型胶原蛋白会通过 DNA 损伤效应累积、表皮细胞极性失衡以及抑制干细胞竞争导致脱发。编码 VIII 型胶原的基因 *COL8A2* 中的 p.(Leu450Trp)

突变后, 发生内皮细胞衰竭、内皮膜增厚, 形成周围微囊性水肿和小泡, 导致早发性富氏角膜内皮营养不良^[38-39]。OA 中软骨变性性与肥厚标志物 X 型胶原的过表达有关^[40]; 编码 X 型胶原的基因 *COL10A1* 与肿瘤有关, 在胃肿瘤组织中过表达, 还可通过促进脯氨酸 4-羟化酶 β 亚基在乳腺癌 (BC) 中起致癌基因的作用^[41]。XII 型胶原 $\alpha 1$ 链 (*COL12A1*) 在肝内胆管癌 (ICC) 中过表达, 敲除 *COL12A1* 可抑制 ICC 细胞的增殖、侵袭和生长^[42]。研究表明, 特发性肺纤维化患者的肺组织中的低比例 XIV 型胶原蛋白可能对 ECM 纤维的组装有影响^[43]。编码 XVIII 型胶原 (ColXVIII) 的基因 *COL18A1* 突变可导致临床特征为高度近视、视网膜脱离和枕骨缺损的 Knobloch 综合征^[44]; 在 BC 中, ColXVIII 还可通过 ErbB 信号通路维持人类乳腺癌细胞的干性特性以及肿瘤的进展和转移, 这也为在肿瘤环境中靶向 ColXVIII 提供了治疗潜力^[45]。Weng 等^[46] 研究发现, 胶原 XXIV $\alpha 1$ (ColXXIV $\alpha 1$) mRNA 在肥胖和糖尿病受试者的内脏脂肪组织中表达增加, 而在皮下脂肪组织中没有表达, 表明 ColXXIV $\alpha 1$ 在肥胖和 2 型糖尿病中可能起致病作用。研究发现, XXV 型 $\alpha 1$ (*COL25A1*) 的缺乏可能会干扰参与动眼肌神经元发育的分子通路, 导致先天性颅神经支配障碍^[47]; 还有研究表明, *COL25A1* 在阿尔茨海默病的淀粉样蛋白发病机制中发挥双重功能: 一方面, *COL25A1* 过表达增加 p35/p25 水平, 导致 β 位点淀粉样前体蛋白 (APP) 切割酶 1 水平升高, 从而促进 APP 加工, 加速 β 淀粉样蛋白 ($A\beta$) 生成, 最终导致 $A\beta$ 在细胞内和细胞外积累, 另一方面, *COL25A1* 可能直接与 $A\beta$ 聚集体结合, 减缓 $A\beta$ 原纤维伸长, 导致 $A\beta$ 以毒性原纤维中间形态聚集^[48]。新的发现还揭示了胶原蛋白在肿瘤休眠和免疫逃避中的作用, 以及它们与肿瘤细胞代谢的相互作用, 胶原蛋白可作为肿瘤患者的预后标志物, 针对胶原蛋白 ECM 的治疗策略具有阻止肿瘤进展和转移的潜力^[49]。

胶原蛋白作为ECM的重要组成部分，在细胞中发挥作用或协调细胞间相互作用，维持并调控机体的正常运行，体内胶原蛋白的表达一旦出现异常，机体平衡将会失控，发生各种疾病和机体损伤现象。胶原蛋白的异常表达给人们带来了疾病与痛苦，也给研究者们带来了新的思考，既然胶原蛋白是机体运行必要成分，那胶原蛋白或可成为一种新的治疗疾病的生物材料。

3 胶原蛋白的生产

3.1 动物胶原蛋白生产

动物胶原蛋白的提取方法有酸法、碱法、酶法及热水法等，超声波技术也已引入，但碱法会使胶原蛋白变性成有毒物质，热水法容易导致胶原蛋白变性，所以酸法和酶法更为常用^[50]，超声波辅助酸法、酶法提取胶原蛋白也成为一种新的有效方法（图2）。

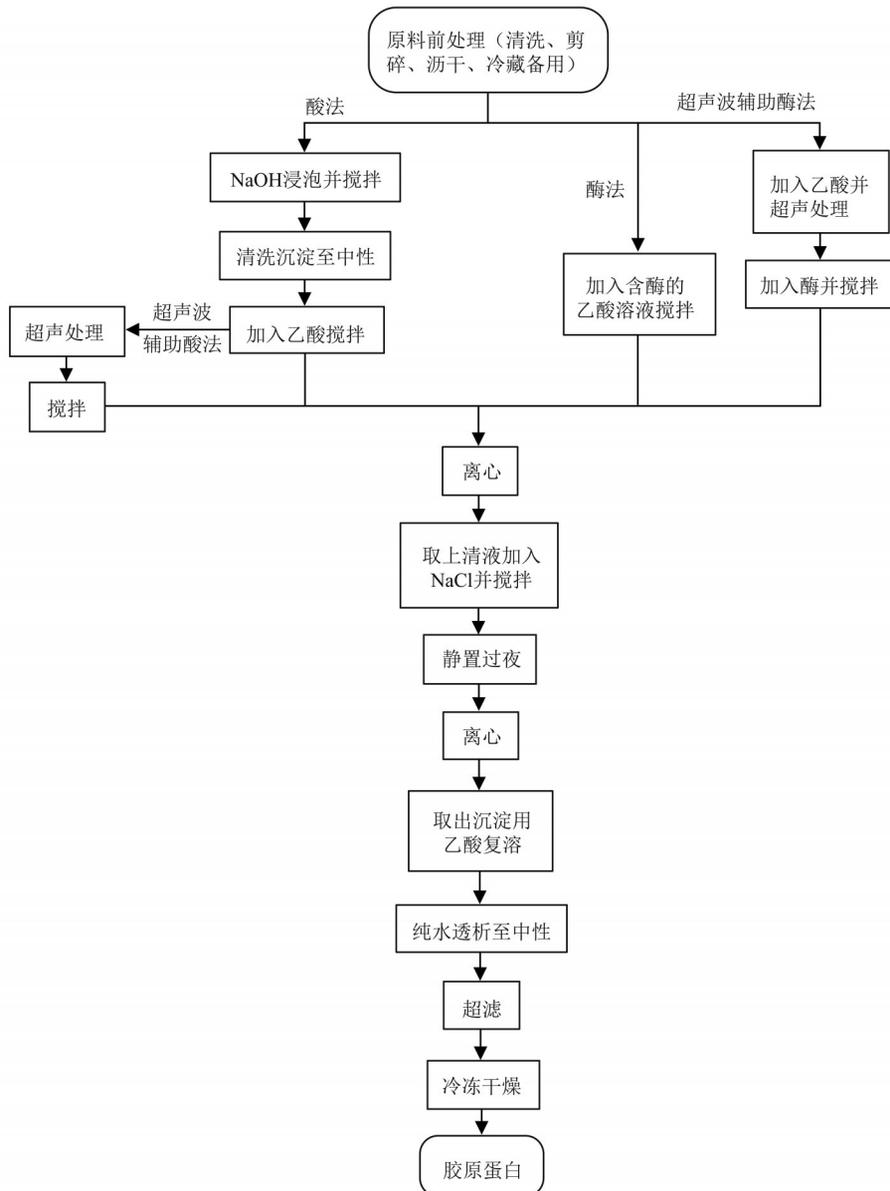


Fig. 2 Traditional collagen extraction process^[51-53]

图2 传统胶原蛋白提取工艺流程^[51-53]

酸法处理是用酸浸泡原料使其切割胶原交联, 在酸性条件下, 胶原蛋白分子产生的静电排斥力利于分子之间分离, 有机酸更能有效切割胶原交联, 改善提取率, 但酸法提取一般在极端的温度和pH条件下进行, 不易控制, 水解产物被切割肽键成肽, 功能性降低^[54-55]。相比酸法提取胶原蛋白, 酶水解可提供更好的反应选择性, 反应条件温和, 对胶原蛋白的损害小, 同时对加工设备腐蚀性小, 能源消耗和废物产生少, 可有效控制水解程度, 最终水解产物含盐量低, 但胶原的酶解作用可能会降低产物的理化性质, 酶残留和失活也可能造成产物污染^[55-56]。超声波的引入也为胶原的提取开辟了新途径, 酸或酶提取蛋白质过程中使用超声波辅助可提高产量并减少提取时间, 酶提取过程中使用超声波还可能提高胶原蛋白纯度, 但胶原蛋白的产量也受到超声波振幅和持续时间的影响, 不适宜的超声频率和时间会造成胶原蛋白结构的损害^[55, 57-58], 这也为动物胶原蛋白的提取带来了新挑战。

3.2 重组胶原蛋白生产

动物来源的胶原蛋白提取量低, 存在人传染病或动物源疾病的感染风险、异物排斥反应, 治疗效果需要依靠持续注射或植入来维持, 水溶性胶原蛋白加工过程中分子链易断裂, 非水溶性胶原蛋白加工过程中溶剂难以完全清除而极可能导致细胞毒性等问题, 严重限制了胶原蛋白的生产应用^[59-60]。所以越来越多的研究者利用基因工程技术, 以转基因动植物、昆虫细胞、微生物等为载体生产重组胶原蛋白^[61] (图3)。

基因工程技术生产的重组胶原蛋白安全性高、质量稳定, 无病毒隐患, 活性、亲水性及免疫排异性等问题均得到改善^[62]。许多表达体系也已被用于表达重组胶原蛋白 (表2), 但工业化生产中应用最多的是微生物表达体系。

3.2.1 利用动植物表达重组胶原蛋白

重组胶原蛋白在蚕、仓鼠、番茄和玉米等系统中已成功表达。Adachi等^[63]在蚕的中部丝腺中表达人I型胶原蛋白 α_1 , 表达量达4.24 g/蚕茧。Hou等^[64]在中国仓鼠卵巢内成功表达人VII型胶原蛋白。Qi等^[65]利用重组病毒BmNPV-ColIII-IM注射5龄起家蚕幼虫, 得到的重组人II型胶原蛋白可高达

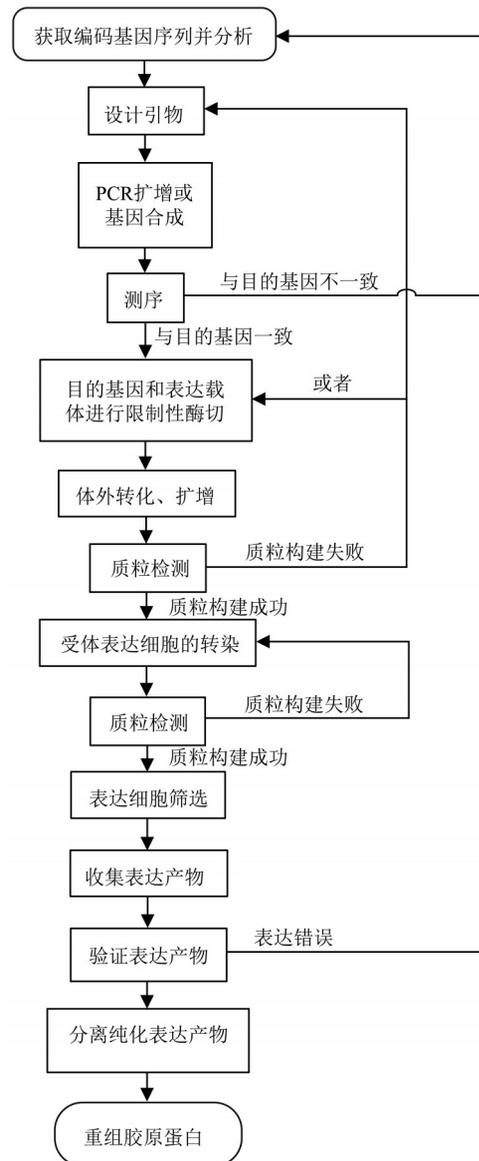


Fig. 3 Process of genetic engineering technology to produce recombinant collagen^[6]

图3 基因工程技术生产重组胶原蛋白流程^[6]

约1 mg/条。Stein等^[66]在番茄中进行I型人胶原蛋白、人源脯氨酸羟化酶和赖氨酸羟化酶基因的共表达, 产量达到20 g/L。随后, Eskelin等^[67]以大麦种子作为宿主, 成功表达了人I型胶原蛋白的 α_1 链。还有研究将人I型胶原蛋白 α_1 链在玉米中表达, 得到羟基化的人I型胶原蛋白 α_1 , 产量为12 mg/kg^[68]。目前利用动植物系统表达蛋白质尚未实现产业化, 但为探索更多动植物表达体系提供了理论基础。

Table 2 Advantages, disadvantages, types and levels of recombinant collagen expressed by each expression system

表2 各表达体系表达重组胶原蛋白的优缺点、种类及表达量

表达体系	优点	缺点	表达载体: 胶原蛋白类型	表达量	有无羟化	研究者
动物	动物胶原蛋白活性高, 与天然蛋白更接近; 高级结(如糖基化)正确; 适合表达大分子胶原蛋白	培养基成本非常高, 培养周期较长; 培养较困难, 胶原蛋白表达量低; 操作技术要求高, 产率低, 不适合大规模生产	蚕(中部丝腺): 人I型胶原蛋白 α_1	4.24 g/茧	无	Adachi等 ^[63]
			仓鼠(卵巢): 人VII型胶原蛋白	/	/	Hou等 ^[64]
			蚕(幼虫): 人II型胶原蛋白	1 mg/条	无	Qi等 ^[65]
植物	植物来源广, 方便经济; 安全性高	发酵纯化的成本高; 产率低, 不易产业化生产	蕃茄: 人I型胶原蛋白	20 g/L	有	Stein等 ^[66]
			大麦: 人I型胶原蛋白	/	/	Escklin等 ^[67]
			玉米: 人I型胶原蛋白 α_1	12 mg/kg	有	Xu等 ^[68]
微生物	成本低, 遗传信息清晰; 生长繁殖速度快; 培养周期短; 可操作性强, 易于产业化	毕赤酵母体系, 甲醇存在潜在风险; 大肠杆菌体系, 纯化困难, 产物活性低	毕赤酵母: 人I型胶原蛋白 α_1	40.26 mg/L	无	冯梦茹等 ^[69]
			毕赤酵母: 重组人源III型胶原蛋白 α_1 链	/	/	钱永常等 ^[70]
			毕赤酵母: 人III型胶原蛋白 α_1	0.45 g/L	有	蔡思泽等 ^[71]
			大肠杆菌: 类人胶原蛋白	260 mg/L	有	Tang等 ^[72]
			大肠杆菌: 类人III型胶原蛋白	3.02 g/L	有	李瑛琦等 ^[73]
			大肠杆菌: 重组人III型胶原蛋白	3 g/L	有	刘鑫等 ^[74]

3.2.2 利用微生物表达重组胶原蛋白

利用微生物表达重组胶原蛋白的研究较多, 其中最常用的表达载体是毕赤酵母和大肠杆菌。冯梦茹等^[69]通过稀释重组毕赤酵母GS115-Collagen的培养基BSM, 使其中无机盐浓度减少至原浓度的1/3, 并添加20 g/L的蛋白胨、1 g/L的L-脯氨酸、1.5%的甲醇, 类人胶原蛋白表达量可提高到40.26 mg/L。钱永常等^[70]构建了重组毕赤酵母菌株GS-COL3-H3表达重组人源III型胶原蛋白 α_1 链, 菌体湿重可达400 g/L, 构建后的新菌株不仅表达效率提高, 产物降解也得到减少。蔡思泽等^[71]将重组人源III型胶原蛋白在毕赤酵母中多拷贝重组表达, 四拷贝重组菌株的蛋白质产量约0.45 g/L, 这为开发多拷贝基因的表达产物提高了依据。Tang等^[72]以大肠杆菌为表达体系, 得到羟化的类人胶原蛋白产量达260 mg/L。李瑛琦等^[73]构建大肠杆菌表达菌株表达类人III型胶原蛋白, 并发酵扩大培养提升类人III型胶原蛋白的产量可以达到3.02 g/L。刘鑫等^[74]构建可稳定共表达rhCol III和脯氨酰羟化酶的重组基因工程菌pET30a(+)-1880/pACYCDuet-hy726/BL21 (DE3), 羟化的重组人III型胶原蛋白表达量达3 g/L。通过基因工程技术构建菌株的方法为生产羟基化的不同类型的重组蛋白提供了重要途径。

动物胶原蛋白和重组胶原蛋白在生产中都存在一定优势和缺陷, 但后者的生产更能适应现代生物材料的要求。动物胶原蛋白生产原料来源种类丰富, 但丰富的原料来源也导致它的复杂性和供应不稳定性, 原料的运输和储存也是问题之一, 前处理和提取工序繁琐, 提取过程中各种化学试剂的使用不仅可能影响胶原蛋白的质量, 还增加了对生产废物处理的成本, 原料中各类型胶原蛋白的存在也让纯化过程遇到重大挑战, 致使蛋白质纯度有限^[6-7, 75]。重组胶原蛋白生产过程中编码基因的分析 and 获取相对费时, 但现代计算机技术给基因编码分析提供了便利, 利用基因工程技术构建的表达系统稳定, 可自主选择重组胶原蛋白的表达种类, 同时有效控制其分子质量大小和表达水平, 成功构建的表达系统虽产物单一, 但也减少了提纯工序和工作量, 产物纯度也得到提高, 表达产物的质量和产量也十分稳定^[76-77]。经过技术的革新和研究者们多年的努力, 越来越多的重组胶原蛋白种类和类型已利用基因工程技术被工业化生产, 产量大幅提升, 质量稳定、安全性高, 已成为生物医药领域最具前景的新型生物材料之一。

4 重组胶原蛋白的应用

动物胶原蛋白如今亦是非常重要的生物材料之

一。Valentino等^[78]开发了一种由胶原蛋白和壳聚糖组成的可生物降解的交联多孔支架,用于大鼠慢性溃疡模型后,发现支架在不触发免疫反应的情况下提供愈合伤口的能力。Xeroudaki等^[79]制备了猪胶原蛋白-纳米纤维素双交联载地塞米松水凝胶,植入兔角膜后,发现厚度增加较术前保持不变,内皮细胞密度术前术后无差异,血管主要局限于缝合线外围区域,肿瘤坏死因子 α (TNF- α)浓度下降,植入物无降解,这为替代人类供体角膜提供了可能。Briquez等^[80]将牛I型胶原海绵与BMP-2和桥蛋白相结合,制成骨移植物用于小鼠骨再生模型,研究发现BMP-2的安全性得到提高,并对脊柱融合的骨再生有影响。Žmitek等^[81]设计了一项随机安慰剂对照试验,结果显示,6周后,治疗组的皮

肤水合作用比安慰剂组高出7.23倍,皱纹形成减少,证明从鲑鱼皮肤中提取的低分子质量胶原蛋白水解物存在保湿和抗衰老潜力。对动物胶原蛋白的研究和应用还会继续,但由于原料五花八门、合成工艺不同、批次间不一致,胶原本身存在动物疾病相关风险、免疫排斥性、水溶性差等缺点,以及提取阶段的环境问题和消除杂蛋白的复杂性,动物胶原蛋白的应用受到了严重的限制^[6]。

因此,重组胶原蛋白受到了研究者的瞩目,正在被不断地开发利用。本文总结了近年来众多研究者对重组胶原蛋白在生物医学方面的探索研究(表3)和临床应用(表4),其中少部分作用机制已被发现,为重组胶原蛋白的进一步研究开发提供了更多可能性。

Table 3 Exploratory applications of recombinant collagen in animal disease models

表3 重组胶原蛋白在动物疾病模型中的探索应用

应用领域	胶原蛋白类型	产品类型	动物模型	研究者
创口止血	重组人III型胶原蛋白	凝胶敷料	大鼠肝脏出血模型	王师亮等 ^[82]
	重组人I型胶原蛋白	止血海绵	兔肝损伤模型	He等 ^[83]
皮肤烧烫伤	重组人源化胶原蛋白	/	大鼠深II度烫伤模型	赵健烽等 ^[84]
慢性伤口	重组人源化III型胶原蛋白	复合水凝胶	糖尿病小鼠模型	Hu等 ^[85]
	重组人III型胶原蛋白	缓释水凝胶	糖尿病大鼠模型	Xu等 ^[86]
急性创面	重组人源III型胶原蛋白	纳米纤维膜敷料	小鼠全层创面模型	Dong等 ^[87]
	重组人III型胶原蛋白	水凝胶	大鼠全层切除伤口模型	Yang等 ^[88]
	重组I型胶原蛋白	水凝胶	大鼠全层皮肤缺损模型	Kang等 ^[89]
口腔溃疡	重组人源化III型胶原蛋白	喷雾剂	大鼠口腔溃疡模型	Hao等 ^[90]
	重组人源化III型胶原蛋白	/	小鼠口腔溃疡模型	Shuai等 ^[91]
表皮松解症 (EB)	重组人VII型胶原蛋白	/	RDEB皮肤移植模型	Wang等 ^[92]
过敏性皮炎	重组人源化胶原蛋白	冻干粉溶解剂	湿疹大鼠模型	杨霞等 ^[93]
角膜治疗	重组人III型胶原蛋白	水凝胶植入物	兔角膜损伤模型	Simpson等 ^[94]
女性盆底功能障碍 (PDGF)	重组人I、III型胶原蛋白	注射剂	大鼠PPFD模型	Li等 ^[95]
	重组人I型胶原蛋白	注射剂	大鼠PPFD模型	杨霞等 ^[96]
阴道萎缩 (VA)	重组人III型胶原蛋白	注射剂	卵巢切除大鼠模型	You等 ^[97]
宫颈炎	重组胶原蛋白	凝胶	宫颈炎大鼠模型	刘鑫等 ^[98]
薄型子宫内膜 (TE)	重组III型胶原蛋白	水凝胶	薄型子宫内膜小鼠模型	Shuai等 ^[99]
慢性子宫内膜炎 (CE)	重组人III型胶原蛋白	注射剂	子宫内膜炎大鼠模型	You等 ^[100]
	重组人III型胶原蛋白	注射剂	慢性子宫内膜炎大鼠模型	杨霞等 ^[101]
骨缺损	重组人胶原蛋白	水凝胶	大鼠颅骨缺损模型	Guo等 ^[102]
心血管	重组人III型胶原蛋白	注射水凝胶	/	Hu等 ^[103]
	重组人III型胶原蛋白	模拟ecm涂层	兔血栓模型	Yang等 ^[104]
	重组人源化III型胶原蛋白	无药物涂层	兔/猪模型	Wu等 ^[105]
癌症	重组人III型胶原蛋白	胶原溶液	裸鼠乳腺癌模型	Liu等 ^[106]
抗衰老	重组人胶原蛋白	口服溶液	小鼠衰老模型	李佳等 ^[107]
	重组胶原蛋白	水凝胶植入物	小鼠光老化皮肤模型	Wang等 ^[108]

Table 4 Recombinant collagen in clinical applications

表4 重组胶原蛋白在临床中的应用

应用领域	胶原蛋白类型	产品类型	临床使用者	研究者
皮肤烧伤	重组人胶原蛋白	凝胶	深II度烧伤患者	张斌杰等 ^[109]
皮肤创口	重组人胶原蛋白	功能敷料	切除术后创口患者	蒋立新等 ^[110]
	重组人III型胶原蛋白	功能凝胶	切除术后创口患者	羊剑秋等 ^[111]
皮炎	重组人III型胶原蛋白	软膏剂	面部激素依赖性皮炎患者	谭莎燕 ^[112]
	重组人胶原蛋白	凝胶	接触性皮炎患者	李娅等 ^[113]
痤疮	重组人胶原蛋白	功能敷料	面部痤疮患者	周李燕等 ^[114]
	重组人III型胶原蛋白	敷料	玫瑰痤疮患者	王森等 ^[115]
更年期泌尿生殖系统综合症 (GSM)	重组人胶原蛋白	凝胶	GSM患者	王艺等 ^[116]
	重组人胶原蛋白	/	绝经后盆腔脏器脱垂患者	吕广伟等 ^[117]

4.1 重组胶原蛋白在创口止血及皮肤损伤修复中的应用

4.1.1 创口止血

胶原特殊的四级结构可以活化血小板，并释放颗粒成分，完成凝血，因此胶原已成为一种优良的凝血止血材料^[118]。王师亮等^[82]制备出一种无毒无刺激、可控释放胶原和药物的重组III型人源化胶原蛋白凝胶敷料，应用于大鼠肝损伤研究中发现，该敷料可显著减少出血时间、出血量及肝脏病理损伤。He等^[83]将重组I型胶原止血海绵用于治疗兔肝出血，发现其在体内可完全生物降解，无不良反应，止血效果良好。

4.1.2 皮肤烧烫伤

生活中时常发生烧烫伤，轻则伤及表皮及部分乳头层，严重时真皮乳头层和皮肤附件也会受到损伤，恢复过程缓慢，同时伴有炎症反应及细菌感染风险^[119-120]，迫切需要治疗烧烫伤的新型材料。赵健烽等^[84]利用重组人源化胶原蛋白制备促烧烫伤愈合材料，并涂抹于深II度烫伤大鼠创面，发现其可强化微血管强度和弹性，同时直接与血管母细胞结合促进新血管形成，改善创面微循环，减轻炎症反应，促进创面愈合。张斌杰等^[109]对深II度烧伤患者进行创面磨痂术治疗后，实验组涂抹重组人源胶原蛋白凝胶研究表明组伤口闭合速度更快，创面分泌物少，瘢痕率低。临床应用后的良好反馈为重组胶原蛋白广泛治疗皮肤烧烫伤提供了重要支撑。

4.1.3 慢性伤口

慢性伤口，特别是糖尿病性溃疡，以隧道或破坏伤口的形式存在，伤口愈合缓慢，难以自愈，治疗过程漫长且费用高昂^[121-122]。Hu等^[85]制备了一种由海藻酸钠、二氧化锰纳米颗粒、重组人源化III型胶原蛋白和间充质干细胞(MSCs)组成的复

合水凝胶，体内研究证明，该水凝胶可促进糖尿病创面愈合、快速再上皮化、加快胶原沉积和创面血管生成。还有研究将rhCol III与莫巴拉链霉菌的谷氨酰胺转氨酶(TG)交联，并装载细胞外囊泡(EV)，形成rhCol III-ev水凝胶，用于治疗糖尿病大鼠，证明其可局部缓释EV，促进创细胞的抗炎、增殖、迁移和成管能力，加速组织再生^[86]。

4.1.4 急性创面

意外受伤和术后创口等都需尽快修复伤口，减少炎症反应和细菌感染风险^[123]，传统创口愈合材料的脚步有待加快。Dong团队^[87]以1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺(EDC)/N-羟基丁二酰亚胺(NHS)交联的重组人III型胶原为基础，制备含整合素受体的纳米纤维膜创面敷料，用于小鼠全层创面后发现，该敷料可加速创面愈合，改善胶原沉积，恢复真皮、表皮结构及皮肤附属物。Yang等^[88]引入明胶甲基丙烯酸酯(GelMA)，与重组人III型胶原蛋白(rhCoIII)制成GelMA-rhCoIII水凝胶，植入大鼠全层切除伤口，发现其可模拟皮肤组织微环境，加速皮肤的修复和再生。最新研究中，Kang团队^[89]开发了一种由甲基丙烯酸缩水甘油酯重组I型胶原蛋白、甲基丙烯酸壳聚糖和氯化铜等制成的水凝胶，用于大鼠全层皮肤缺损模型，证明其可持续释放Cu²⁺，提供抗菌和血管化特性，短时间内促进肉芽组织形成和胶原沉积，加快急性伤口愈合。临床上，蒋立新等^[110]给行乳腺良性肿块切除术患者涂抹重组人源胶原蛋白功能敷料，研究表明，术后创口色素沉着、皮肤瘙痒发生率及瘢痕评分显著降低。羊剑秋等^[111]研究证明，皮肤创口患者使用重组人源III型胶原蛋白功能凝胶后，创面局部III型胶原水平提高，组织增生及瘢痕生成减

少, 色素沉淀降低。重组胶原蛋白修复创伤过程如图4所示。

4.1.5 口腔溃疡

口腔溃疡是指由创伤、假牙、脱水、病毒或自

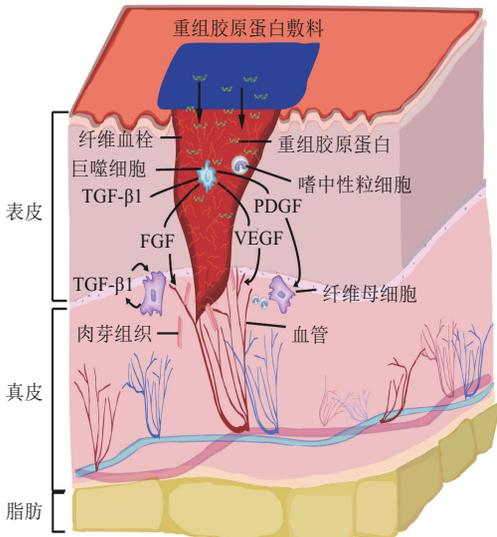


Fig. 4 Recombinant collagen to repair wounds

图4 重组胶原蛋白修复创伤

创伤形成后, 修复机制启动, 局部使用重组胶原蛋白可增加创伤处胶原蛋白的含量, 改善胶原沉积, 同时巨噬细胞释放转化生长因子β1 (TGF-β1)、成纤维细胞生长因子 (FGF)、血小板源性生长因子 (PDGF)、VEGF等因子, 促进肉芽组织生长, 其中TGF-β1促进纤维母细胞增生, PDGF刺激纤维母细胞生长, VEGF调节血管生成, 加快创面修复。

身免疫性疾病等引起的口腔黏膜的破坏, 它会严重损害患者的营养摄入、沟通、日常活动和生活质量, 对癌症患者来说更为严重^[124]。研究表明, 在大鼠口腔溃疡模型中使用重组人源化XVII型胶原蛋白 (rhCol XVII) 制成的喷雾剂, 可显著降低炎症水平, 增加转化生长因子β (TGF-β)、表皮生长因子 (EGF) 和VEGF表达, 促进新生血管形成和胶原沉积, 加快黏膜上皮恢复, 促进溃疡愈合, 因此rhCol XVII有望成为治疗口腔溃疡愈合的新材料^[90]。Shuai等^[91]研究发现, rhCol III在体外促进人口腔角质形成细胞的增殖、迁移和黏附, 在小鼠口腔溃疡模型中, rhCol III能加速口腔溃疡的愈合, 减少炎症因子释放, 减轻疼痛, 机制上, 与Notch信号通路相关的基因在rhCol III处理后富集上调, 但rhCol III对口腔溃疡的具体治疗机制还有待更进一步的研究。

4.1.6 大疱性表皮松解症 (EB)

EB分为两种: 遗传性EB由基因突变导致; 获得性EB与体内异常抗原抗体反应有关。发病后, 患者肢端及四肢关节伸侧会形成无法自愈的皮肤脆弱、起泡和皮肤伤口^[125], 给患者生活带来痛苦和不便。Wang等^[92]将重组VII型胶原蛋白用于隐性营养不良性EB小鼠, 发现其可融入DEJ并恢复VII型胶原蛋白和锚定原纤维, 同时纠正真皮-表皮分离, 从而缓解EB的起泡症状 (图5)。

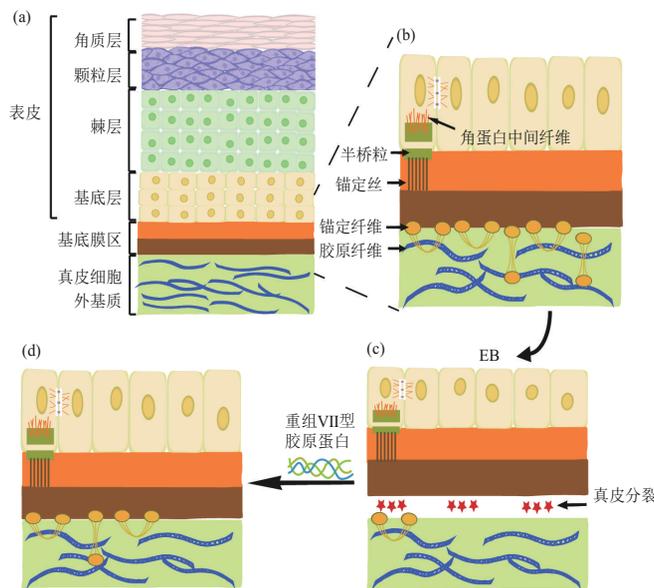


Fig. 5 Treatment of EB with recombinant type VII collagen^[92]

图5 重组VII型胶原蛋白治疗EB^[92]

(a) 正常皮肤; (b) 正常皮肤局部结构; (c) EB, 基底膜区与真皮处发生分裂, 锚定纤维数量减少; (d) 重组VII型胶原蛋白使基底膜区与真皮处分裂缩小至消失, 锚定纤维数量增多。

4.1.7 皮炎

皮炎是一种感染或非感染因素造成的皮肤炎症性疾病，易反复，治疗困难，成为现代很多人的困扰^[126-127]。杨霞等^[93]用含有重组人源化胶原蛋白的组合物滴注给药于湿疹大鼠，研究表明，该组合物可降低白介素-4的表达，有效缓解皮肤症状并恢复皮肤光泽。临床上，谭莎燕^[112]给面部激素依赖性皮炎患者涂以绽妍医用重组III型人源化胶原蛋白修复软膏，发现治疗总有效率高，皮肤屏障功能得到改善。李娅等^[113]对皮炎患者使用医用重组人胶原蛋白功能敷料(MRHC)和医用愈肤生物膜膏剂活性敷料(MSHB)联合治疗，与单独使用MSHB相比，联合治疗后患者面部修复效果更显著，表明MRHC有抑菌、抗炎和修复皮肤屏障作用。

4.1.8 痤疮

痤疮是一种极为常见的皮肤病，由雄激素诱导的皮脂分泌增加、角质化异常、细菌定植和炎症引起^[128]，部分患者会出现一定程度的疤痕，给痤疮患者带来严重的痛苦^[129]。在强脉冲光治疗面部痤疮术后的临床疗效研究中，证明医用重组人源胶原蛋白功能敷料贴比传统冰敷和动物胶原蛋白敷料贴效果更好^[114]。王森等^[115]利用精准脉冲光联合重组人源III型胶原蛋白敷料治疗玫瑰痤疮，与仅使用精准脉冲光治疗比较发现，联合治疗后患者面部修复效果更显著，证明重组人源III型胶原蛋白敷料可保护并修复痤疮患者的皮肤屏障。

4.2 重组胶原蛋白在角膜治疗中的应用

角膜是眼的重要组成部分之一，角膜的损伤或病变会导致视力变差或失明，角膜治疗主要依靠合适的捐献者捐献，但全球每年角膜的捐献量并不能满足其需求量，很多人无法恢复视力或重见光明，新型角膜替代材料亟待解决^[130]。Simpson团队^[94]将重组人胶原III型(RHCIII)水溶液、2-吗啉乙磺酸和2-甲基丙烯酰氧乙基磷酸胆碱(MPC)等原料依次加入注射器混合系统中，0°C下制备RHCIII-MPC水凝胶，交联完成后脱模清洗，装瓶于磷酸盐缓冲液(PBS)或含1%氯仿的PBS(C-PBS)中，PBS瓶用17 kGy电子束辐照，将C-PBS和17 kGy辐照的植入物用于兔体内，研究表明，植入物成功实现了再上皮化，提高了角膜上皮、基质和神经的再生能力，在角膜治疗上展现出巨大潜力。

4.3 重组胶原蛋白在妇科疾病中的应用

4.3.1 女性盆底功能障碍(FPDF)

FPDF由盆腔的各种支持结构变薄，盆腔脏器移位引起，常表现为压力性尿失禁、盆底器官脱垂及肛门失禁等，严重影响女性的身心健康，尽管目前治疗FPDF的方法有效，但短期复发率仍很高^[131]。Li等^[95]将重组人I、III胶原蛋白(rhCOL)衍生材料注射给FPDF大鼠，研究表明，rhCOL可促进I、III型胶原及基质金属蛋白酶抑制剂1(TIMP-1)的表达，并激活FAK/RhoA/ROCK信号通路，增强阴道拉伸能力，具有很大的临床应用潜力(图6)。杨霞团队^[96]研究也证明，在FPDF大鼠阴道注射重组I型人源化胶原蛋白，可促进FPDF大鼠尿道动力学的恢复，改善阴道生物学抗性。

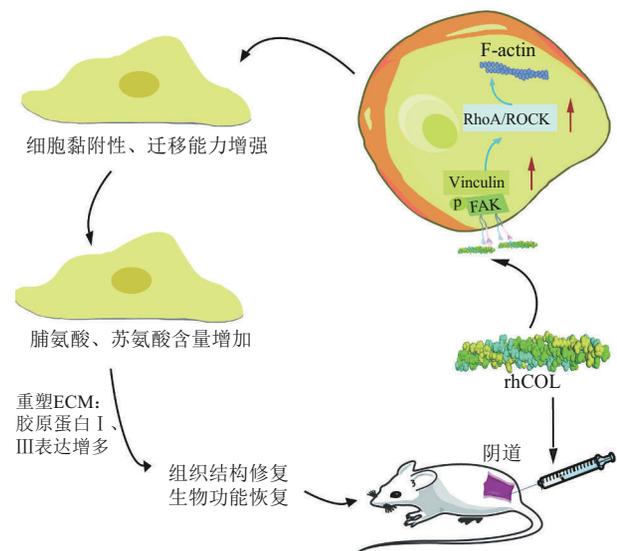


Fig. 6 rhCOL treatment of FPDF^[95]

图6 rhCOL治疗FPDF^[95]

rhCOL通过激活局灶性黏附激酶(FAK)并使其磷酸化，磷酸化的FAK与黏着斑蛋白(vinculin)结合后参与细胞下游的信号转导，激活RhoA/ROCK信号通路，增加纤维肌动蛋白(F-actin)表达，促进细胞的黏附和迁移，增加ECM中I、III胶原蛋白含量，重塑FPDF大鼠阴道ECM，并修复其组织结构，恢复阴道生物学抗性。

4.3.2 阴道萎缩(VA)

绝经后妇女雌激素水平降低会引起VA，阴道壁变薄并干燥，外阴瘙痒，分泌物增多，给女性生活带来极大困扰，传统的激素疗法效果不显著，且易复发并产生依赖^[132-133]，迫切需要安全有效治疗VA的方法。You等^[97]用T16胶原阴道治疗卵巢切除大鼠，研究表明，其可上调阴道TIMP-1及

VEGF 等因子的水平, 增厚阴道上皮, 增加 ECM 成分, 是一种治疗 VA 非常有前景的方法。

4.3.3 宫颈炎

宫颈炎临床表现为外阴瘙痒、接触性出血、阴道分泌物增多, 严重者会导致重度宫颈柱状上皮异位、宫颈肥大等^[134], 病原体的持续感染也会造成慢性炎症^[135]。刘鑫等^[98]用重组胶原蛋白妇科凝胶治疗宫颈炎大鼠, 研究表明, 重组胶原蛋白组可缓解阴道口红肿, 减少分泌物, 降低炎症反应, 且高浓度组治疗效果更显著。

4.3.4 薄型子宫内膜 (TE)

TE 是指黄体中期子宫内膜厚度 ≤ 7 mm, 特征是腺体上皮生长不良、子宫血流阻抗高、VEGF 表达降低以及血管形成不良, TE 可影响子宫内膜耐受性, 降低胚胎植入率和妊娠率, 增加流产风险^[136]。Shuai 团队^[99]开发了含有重组 III 型胶原和 MSCs 的复合海藻酸盐水凝胶, 在薄型子宫内膜小鼠模型中, 该水凝胶可增强小鼠子宫内膜基质细胞 (ESCs) 的活力和迁移能力, 增厚子宫内膜, 促进

腺体和血管生成, 在诱导体内子宫内膜再生和增强生育能力, 促进子宫内膜功能的恢复中表现出巨大潜力。

4.3.5 慢性子宫内膜炎 (CE)

持续的免疫细胞浸润刺激会导致子宫内膜免疫微环境紊乱, 形成 CE, 且 CE 已成为不孕和辅助生殖技术失败的重要因素, 这引起了生殖界的广泛关注^[137-138]。You 团队^[100]在体外建立 M1 巨噬细胞和 M1 巨噬细胞培养基和脂多糖 (LPS) 共同刺激的炎性 ESCs, 以模拟 CE 条件, 加入 rhCol III 后发现, M1 巨噬细胞向 M2 表型迁移, 炎症性 ESCs 的迁移、活力得到改善和胶原成分发生变化, 此外, 炎症性胚胎干细胞的炎症反应在 rhCol III 治疗后也降低, 用 rhCol III 体内灌注 CE 大鼠的子宫内膜发现, rhCol III 可与盘状蛋白结构域受体 (DDR1/2) 相互作用, 同时抑制 NF- κ B/YAP 信号通路, 降低炎症反应, 重塑 ECM, 恢复其生育能力 (图 7), 但研究并未证明 NF- κ B 和 YAP 之间的信号联系, NF- κ B 和 YAP 在信号传递过程中是否互相影响还

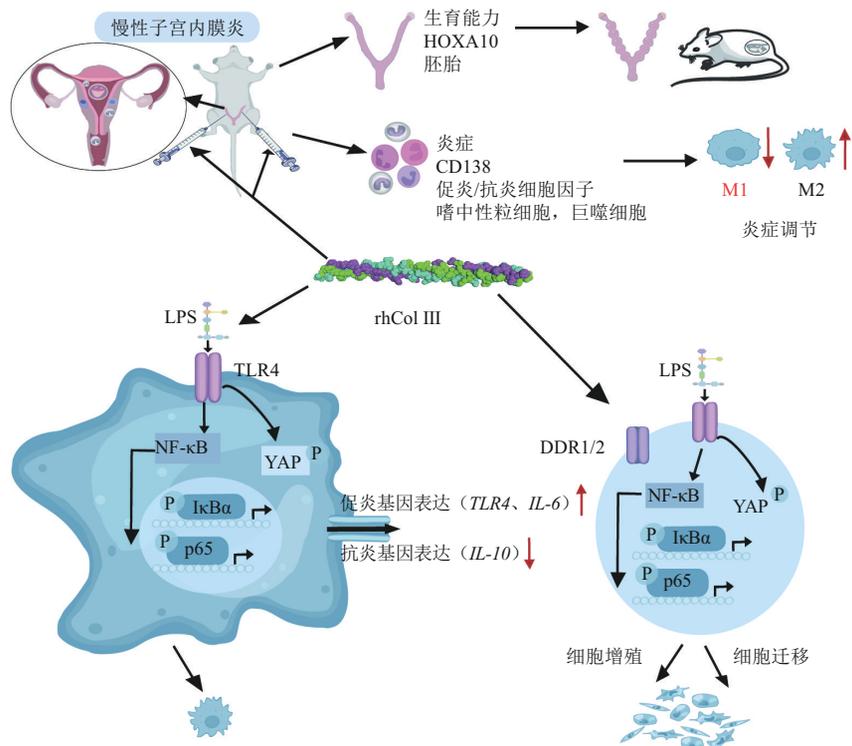


Fig. 7 rhCol III treatment of CE^[100]

图7 rhCol III治疗CE^[100]

体外实验中, LPS刺激M1巨噬细胞后, 激活NF- κ B的表达, I κ B α 和p65被磷酸化, 炎症反应发生, 促炎因子Toll样受体4 (TLR-4) 和白介素-6 (IL-6) 表达增多, 抗炎因子白介素-10 (IL-10) 表达降低, rhCol III通过免疫调节M1巨噬细胞极化到M2表型, 从而表现出对NF- κ B激活的抑制作用, I κ B α 和p65表达减少, 炎症反应降低, 诱导YAP磷酸化, YAP水平降低, 同时, LPS刺激后的炎性胚胎干细胞在rhCol III作用下, NF- κ B/YAP信号通路被抑制, rhCol III还与DDR1/2受体相互作用, 增强细胞的增殖和迁移能力, 并调节细胞代谢。rhCol III体内灌注CE大鼠的子宫内膜后, rhCol III通过抑制大鼠的NF- κ B/YAP信号通路, 调节巨噬细胞由M1表型转化为M2, 减少炎症浸润, 子宫内膜容受性标志物HOXA10表达增多, 重塑子宫ECM, 恢复其生育能力。

需更多的实验证明。杨霞等^[101]的研究也表明,在CE大鼠子宫内注射重组III型人源化胶原蛋白,可抑制炎症反应,同时重塑ECM,增加子宫内腔容受性,改善子宫内腔微环境。

4.3.6 更年期泌尿生殖系统综合征(GSM)

GSM是由于低雌激素状态影响围绝经期和绝经期妇女而导致的一种进行性疾病,可引起泌尿生殖组织发生变化^[139]。临床上,王艺等^[116]为GSM患者阴道给予重组人源胶原蛋白阴道凝胶后,发现阴道湿润度增加,瘙痒及灼热感降低,阴道弹性提高。还有研究表明,患者于术前在阴道内均匀涂抹重组人源胶原蛋白,疗程结束后发现,阴道上皮厚度大,I、III型胶原蛋白表达率高,阴道壁平滑肌组织排列更整齐^[117]。

4.4 重组胶原蛋白在骨缺损中的应用

骨缺损治疗是骨科临床的难题之一。目前有自体骨和异体骨移植、组织工程技术及基因治疗等方法。移植法效果良好,但存在新伤恢复问题和异体移植免疫排斥反应;基因治疗效果好,但过程复杂且价格昂贵^[140]。Guo等^[102]将新型重组人胶原蛋白(rhCol)与TG交联,并负载bFGF制备了rhCol/bFGF水凝胶,用其治疗大鼠颅骨缺损后证实,rhCol/bFGF水凝胶可促进细胞增殖、迁移和黏附,并可控性释放和降解bFGF,具有促进骨缺损修复作用,这给骨缺损导致残疾或缺陷的患者带来了福音。

4.5 重组胶原蛋白在心血管疾病中的应用

心血管疾病是一类涉及心脏或血管的疾病,中国心血管疾病死亡人数占居民疾病死亡构成的40%以上,迫切需要开发新型材料来治疗心血管疾病^[141]。Hu等^[103]利用姜黄素(Cur)和重组人源型胶原III(rhCol III)合成可注射水凝胶,发现它能控释Cur,提高 α 肌动蛋白和间隙连接蛋白的表达,使心肌梗死后心功能迅速恢复。Yang等^[104]将重组人III型胶原与HA通过逐层组装沉积在衬底上,形成模拟ECM的多层涂层,将该涂层的聚乳酸支架植入兔腹主动脉血栓模型中,研究证明其无明显组织炎症反应,并可促进内皮细胞增殖,同时抑制新内膜过度增生。最新研究中,Wu团队^[105]将重组人源化III型胶原(rhCol III)连接在由聚多巴胺(PDA)和聚乙烯亚胺(PEI)共聚制备的富胺表面上,制成(rhCol III/PDA-PEI)_n涂层,在兔模型中,(rhCol III/PDA-PEI)₂涂层可通过促进M2巨噬细胞极化、加速内皮化过程和抑制平滑肌细胞从

合成表型向分泌表型的转变来减少炎症反应,从而减少再狭窄并促进支架的长期通畅,在猪模型中,新内膜覆盖于支架,从支架动脉的整个段来看,比市售RAPA支架上形成的支架更薄,这些结果表明,(rhCol III/PDA-PEI)_n涂层有利于体内内皮化的正常发育,并显示出实现血管理想重塑的潜力。

4.6 重组胶原蛋白在癌症治疗中的应用

癌症由细胞恶性增生引发,具有侵袭性和转移性,癌症的频发给人类的生命安全带来了巨大的威胁。BC在全球女性癌症中的发病率高达24.2%,发病机制是乳腺上皮细胞在多种致癌因子的作用下发生增殖失控,临床上BC的治疗主要集中在内分泌治疗、化疗、靶向治疗、手术和放疗,但复发率都较高^[142-143],寻求新的方法治疗BC已刻不容缓。Liu等^[106]用rhCOL III处理人正常乳腺上皮细胞MCF-10A、人乳腺癌细胞MCF-7、人乳腺癌细胞SK-BR-3和人乳腺癌细胞MDA-MB-231,发现rhCol III可将肿瘤细胞保留在休眠期,同时保证正常乳腺上皮细胞的生长;将表达或不表达rhCol III的三阴性乳腺癌细胞MDA-MB-231接种到裸鼠的乳腺脂肪垫中,比较发现,rhCol III组的解剖肿瘤更小,DDR1、p62蛋白表达水平更高,自噬相关蛋白LCII/I比值低,为BC的治疗提供了理论依据。

4.7 重组胶原蛋白在抗衰老中的应用

机体对环境的生理和心理适应能力进行性降低,逐渐趋向死亡的现象被称为衰老^[144]。生理上的皮肤衰老是一种明显的外在衰老特征,给广大爱美人士带来困扰^[145]。李佳等^[107]采用重组人源胶原蛋白(RHC)对衰老小鼠进行干预,研究证明,RHC具有抗皮肤衰老功效,高浓度RHC的效果更显著。Wang团队^[108]开发了一种高生物活性的四(羟甲基)氯化磷交联重组胶原蛋白水凝胶植入物,在光老化小鼠皮肤模型中,发现该水凝胶植入物可改善真皮密度、皮肤弹性,减少经表皮水分流失,为成纤维细胞活性和胶原蛋白再生创造了有利环境,同时它还可提高超氧化物歧化酶活性,并显示出显著的抗钙化特性。这些研究表明,重组胶原蛋白可促进皮肤中胶原蛋白的分泌,从而重塑ECM,这也为美容和再生医学提供理论依据。

对重组胶原蛋白的应用进行总结后发现,重组胶原蛋白在各类创伤和疾病的治疗中,都能减轻炎症反应,增加胶原沉积,重塑ECM,促进细胞的增殖、迁移和黏附,改善局部组织微环境,但重组胶原蛋白在应用中的一些生物机制还不准确和完

善。在对CE的治疗中,虽然重组人源化III型胶原蛋白的应用抑制了NF- κ B/YAP信号通路,但研究中并未表明NF- κ B和YAP之间的信号联系,因此NF- κ B和YAP之间的联系还需实验证明。实验证明重组人I、III胶原蛋白衍生材料通过激活FAK/RhoA/ROCK信号通路治疗PFDF,但激活信号通路的是I型胶原蛋白,还是III胶原蛋白,或是两者共同作用,仍需更多实验确认。这也为研究者们带来新的思考:不同类型的重组胶原蛋白在同一疾病中的作用机制是否相同或存在联系;同一种重组胶原蛋白在不同疾病中的生物机制是否一致或存在联系;几种不同类型的重组胶原蛋白联合治疗同一疾病的效果与单一重组胶原蛋白相比,是否存在差异。在未来的研究中,相信这些问题将会成为研究人员的探索方向之一。

5 结语与展望

胶原蛋白作为ECM不可或缺的组成成分,在机体的稳定与平衡调节中发挥着重要作用,其基因的突变、结构或含量变化都会成为疾病的触发点,但在某些疾病中,胶原蛋白也是疾病治疗的切入点,且胶原蛋白本身的生物学特性也决定了其可以作为生物医学材料,这也为生物医药市场开拓了一种新型材料。

最初胶原蛋白的制备依赖于动物胶原蛋白,但提取材料来源复杂、产率低、单一类型的胶原蛋白少、产品质量和安全性跟不上现代需求,因此利用基因工程技术制备重组胶原蛋白成为新潮,该方法生产的重组胶原蛋白种类多,纯度高,质量稳定,安全性好,且可根据需求定制所需基因导入表达载体后生产对应产品,也给优化重组胶原蛋白质量提供了可能。

重组胶原蛋白因其特有的结构和功能特性,已被广泛用于生物医药领域。本文总结了重组胶原蛋白被制成凝胶、海绵、敷料、冻干粉、注射剂、植入物及口服剂等,探索性用于止血、创口修复、角膜损伤、妇科疾病、骨缺损、心血管疾病、癌症及抗衰老,研究证明重组胶原蛋白在对应动物疾病模型中都展现出良好的修复和治疗作用(图8),这些研究为重组胶原蛋白用于临床应用提供了更多理论依据。目前已有重组胶原蛋白制成的凝胶、敷料及软膏等成熟产品用于皮肤烧伤、皮肤创口、皮炎、痤疮及GSM的临床治疗,效果相对于以往治疗方法更显著。

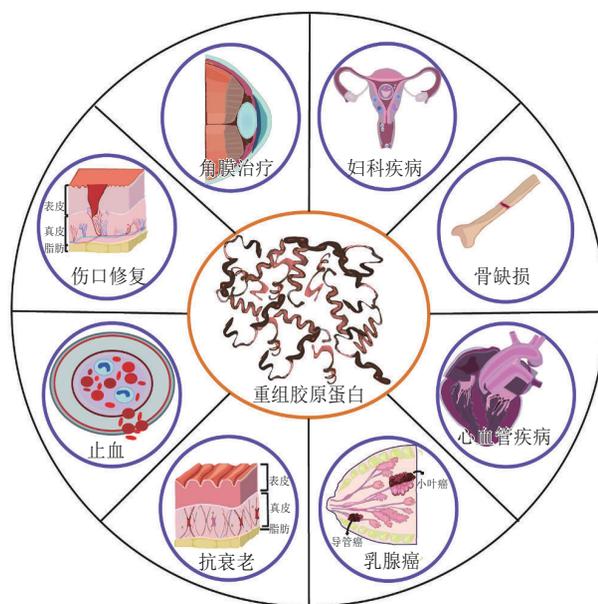


Fig. 8 Application of recombinant collagen

图8 重组胶原蛋白的应用

但对于重组胶原蛋白的开发和应用也出现了许多新的挑战。一是重组胶原蛋白种类的开发出现了平台期,市场上生产的重组胶原蛋白多为I、III型,且功能相似,使重组胶原蛋白在以往未涉及的和新的疾病中的应用受到限制。从与疾病相关的胶原蛋白种类着手,开发对应的重组胶原蛋白,或可更加精准地治疗各种疾病。二是重组胶原蛋白的剂型需进一步探索,以适应更多疾病的治疗需求。利用重组胶原蛋白制成水凝胶或纳米球载体可携带相关治疗药物作为缓控释系统,持续在患处释放药物进行治疗,极有可能成为未来重点发展趋势,如制备包含抗菌和治疗药物的重组胶原蛋白水凝胶敷料,用于组织创面或缺损修复,既可减轻炎症浸润,同时减少给药次数,降低换药带来的二次伤害概率,并且重组胶原蛋白在体内降解后可以补充局部胶原蛋白,重塑ECM。胶原蛋白可作为肿瘤患者的预后标志物,将对应重组胶原蛋白制成纳米球载体,携带抗癌药物,递送至肿瘤发生部位进行治疗,抗癌药物和重组胶原蛋白双管齐下或将成为癌症治疗的新方法。将重组胶原蛋白及治疗药物负载于纳米胶囊,用于皮炎或抗衰老,可减轻药物不良反应的同时提高药物的生物利用度。三是用于生物医药领域的成熟产品相对较少,大多数都停留在动物试验阶段,有望用于临床治疗的很多产品还有待进行长期的临床试验观察及评价。此外,对于重组胶原蛋白在各种疾病中的探索应用较多,少数的机

制虽被探索证明, 却也不够完善, 大多数应用只证明了有效性, 在作用机制和信号通路的研究还处于起步阶段, 这为重组胶原蛋白进一步深入探索留下了更多挑战。综上所述, 重组胶原蛋白在生物医学领域的应用还有一定的局限性和广阔的发展空间, 挖掘重组胶原蛋白的潜力并开发更多优质有效、安全无毒、价廉的重组胶原蛋白产品成为研究者们追求的目标。

参 考 文 献

- [1] 余建军, 赵铎. 重组类人胶原蛋白研究应用进展. 日用化学品科学, 2022, **45**(2): 48-51
Yu JJ, Zhao H. Deterg Cosmet, 2022, **45**(2): 48-51
- [2] 王娟娟, 刘勋, 周学, 等. 胶原蛋白的研究进展及其应用. 中国皮革, 2022, **51**(7): 1-7
Wang JJ, Liu X, Zhou X, *et al.* China Leather, 2022, **51**(7): 1-7
- [3] Yan L, Zhang Y, Zhang Y, *et al.* Preparation and characterization of a novel humanized collagen III with repeated fragments of Gly300-Asp329. Protein Expr Purif, 2024, **219**:106473
- [4] Fan D, Xu R, Duan Z, *et al.* Anti-tumor recombinant collagen, and preparation method and use therefor: China, CN2022135037. 2023-04-06
- [5] 杨霞, 刘增耀, 兰小宾, 等. 生物合成人体结构性材料IV型胶原蛋白的制备方法: 中国, CN117402235A. 2024-01-16
Yang X, Liu Z Y, Lan X B, *et al.* Preparation method of biosynthesized human structural material type IV collagen: China, CN117402235A. 2024-01-16
- [6] Guo X, Ma Y, Wang H, *et al.* Status and developmental trends in recombinant collagen preparation technology. Regen Biomater, 2024, **11**:rbad106
- [7] Liu W, Lin H, Zhao P, *et al.* A regulatory perspective on recombinant collagen-based medical devices. Bioact Mater, 2022, **12**: 198-202
- [8] Munyemana J C, He H, Fu C, *et al.* Recombinant collagen-templated biomineralized synthesis of biocompatible pH-responsive porous calcium carbonate nanospheres. ACS Omega, 2023, **8**(34): 30879-30887
- [9] Bai M, Kang N, Xu Y, *et al.* The influence of tag sequence on recombinant humanized collagen (rhCol) and the evaluation of rhCol on Schwann cell behaviors. Regen Biomater, 2023, **10**:rbad089
- [10] Wang Y, Zhang Y, Yang Y P, *et al.* Versatile dopamine-functionalized hyaluronic acid-recombinant human collagen hydrogel promoting diabetic wound healing *via* inflammation control and vascularization tissue regeneration. Bioact Mater, 2024, **35**: 330-345
- [11] He H, Yang F, Zhang S, *et al.* Bone morphogenetic protein-2 loaded triple helix recombinant collagen-based hydrogels for enhancing bone defect healing. Biomed Mater, 2024, **19**: 035029
- [12] Li L H, Zha Y Y, Liu M Y, *et al.* Recombinant human collagen type III improves hypertrophic scarring by regulating the ratio of type I/III collagen. J Burn Care Res, 2024: irae040
- [13] Wang L, Zeng H, Li H, *et al.* Recombinant humanized type I collagen remodels decidual immune microenvironment at maternal-fetal interface by modulating Th17/Treg imbalance. Int J Biol Macromol, 2024, **276**(Pt2): 133994
- [14] Xiang Y, Gao Y, Cheng Q, *et al.* Recombinant collagen coating 3D printed PEGDA hydrogel tube loading with differentiable BMSCs to repair bile duct injury. Colloids Surf B Biointerfaces, 2024, **241**: 114064
- [15] Halm-Pozniak A, Lohmann C H, Awiszus F, *et al.* Injection of autologous conditioned plasma combined with a collagen scaffold may improve the clinical outcome in shoulder impingement syndrome: a prospective study. Eur J Orthop Surg Traumatol, 2023, **33**(8): 3623-3630
- [16] 潘家豪, 潘炜松, 邱健, 等. 重组胶原蛋白表达体系研究进展. 合成生物学, 2023, **4**(4): 808-823
Pan J H, Pan W S, Qiu J, *et al.* Synthetic Biology Journal, 2023, **4**(4): 808-823
- [17] 叶滔, 项琪, 杨艳, 等. 胶原蛋白的开发与应用研究进展. 生物工程学报, 2023, **39**(3): 942-960
Ye T, Xiang Q, Yang Y, *et al.* Chinese Journal of Biotechnology, 2023, **39**(3): 942-960
- [18] 张华彤. 胶原蛋白水凝胶的制备性质及应用基础[D]. 济南: 齐鲁工业大学, 2023
Zhang H T. Preparation Properties and Application Basis of Collagen Hydrogel[D]. Jinan: Qilu University of Technology, 2023
- [19] Shahrajabian M H, Sun W. Mechanism of action of collagen and epidermal growth factor: a review on theory and research methods. Mini Rev Med Chem, 2024, **24**(4): 453-477
- [20] Miklovic T, Sieg V C. Ehlers-Danlos Syndrome. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2024
- [21] Cancino J, Soto F, Martinez S, *et al.* Temporomandibular manifestation in patients with ehlers-danlos syndrome: a systematic review. Rev Cient Odontol (Lima), 2023, **11**(3): e164
- [22] Ruscitti F, Trevisan L, Rosti G, *et al.* A novel mutation in COL3A1 associates to vascular Ehlers-Danlos syndrome with predominant musculoskeletal involvement. Mol Genet Genomic Med, 2021, **9**(9): e1753
- [23] Kuivaniemi H, Tromp G. Type III collagen (COL3A1): gene and protein structure, tissue distribution, and associated diseases. Gene, 2019, **707**: 151-171
- [24] Handa A, Grigelioniene G, Nishimura G. Radiologic features of type II and type XI collagenopathies. Radiographics, 2021, **41**(1): 192-209
- [25] Dennis E P, Greenhalgh-Maychell P L, Briggs M D. Multiple epiphyseal dysplasia and related disorders: molecular genetics, disease mechanisms, and therapeutic avenues. Dev Dyn, 2021, **250**(3): 345-359
- [26] Nenna R, Turchetti A, Mastrogiorgio G, *et al.* COL2A1 gene mutations: mechanisms of spondyloepiphyseal dysplasia congenita. Appl Clin Genet, 2019, **12**: 235-238
- [27] Markova T, Sparber P, Borovikov A, *et al.* Clinical and genetic characterization of autosomal recessive stickler syndrome caused by novel compound heterozygous mutations in the COL9A3 gene. Mol Genet Genomic Med, 2021, **9**(3): e1620
- [28] Nash B M, Watson C J G, Hughes E, *et al.* Heterozygous COL9A3 variants cause severe peripheral vitreoretinal degeneration and

- retinal detachment. *Eur J Hum Genet*, 2021, **29**(5): 881-886
- [29] Gibson J T, Huang M, Shenelli Croos Dabrera M, *et al.* Genotype-phenotype correlations for COL4A3-COL4A5 variants resulting in Gly substitutions in Alport syndrome. *Sci Rep*, 2022, **12**(1): 2722
- [30] Adone A, Anjankar A. Alport syndrome: a comprehensive review. *Cureus*, 2023, **15**(10): e47129
- [31] Kwong A K, Zhang Y, Ho R S, *et al.* Collagen VI-related myopathies: clinical variability, phenotype-genotype correlation and exploratory transcriptome study. *Neuromuscul Disord*, 2023, **33**(5): 371-381
- [32] Inoue M, Saito Y, Yonekawa T, *et al.* Causative variant profile of collagen VI-related dystrophy in Japan. *Orphanet J Rare Dis*, 2021, **16**(1): 284
- [33] López-Márquez A, Morín M, Fernández-Peñalver S, *et al.* CRISPR/Cas9-mediated allele-specific disruption of a dominant COL6A1 pathogenic variant improves collagen VI network in patient fibroblasts. *Int J Mol Sci*, 2022, **23**(8): 4410
- [34] Kotalevskaya Y Y, Stepanov V A. Molecular genetic basis of epidermolysis bullosa. *Vavilovskii Zhurnal Genet Seleksii*, 2023, **27**(1): 18-27
- [35] Hou P C, Del Agua N, Lwin S M, *et al.* Innovations in the treatment of dystrophic epidermolysis bullosa (DEB): current landscape and prospects. *Ther Clin Risk Manag*, 2023, **19**: 455-473
- [36] Nishie W. Collagen XVII processing and blistering skin diseases. *Acta Derm Venereol*, 2020, **100**(5): adv00054
- [37] 郑屿萍, 黄清瑞, 张彦峰, 等. XVII型胶原蛋白在脱发中的作用机制研究进展. *中国美容医学*, 2024, **33**(3): 175-178
Zheng Y P, Huang Q R, Zhang Y F, *et al.* Chinese Journal of Aesthetic Medicine, 2024, **33**(3): 175-178
- [38] Liu X, Zheng T, Zhao C, *et al.* Genetic mutations and molecular mechanisms of Fuchs endothelial corneal dystrophy. *Eye Vis*, 2021, **8**(1): 24
- [39] Dzhaber D, Fliotsos M J, Abousy M, *et al.* Descemet membrane endothelial keratoplasty in eyes with COL8A2-associated corneal dystrophy. *Am J Ophthalmol Case Rep*, 2022, **26**: 101544
- [40] Chawla S, Mainardi A, Majumder N, *et al.* Chondrocyte hypertrophy in osteoarthritis: mechanistic studies and models for the identification of new therapeutic strategies. *Cells*, 2022, **11**(24): 4034
- [41] Yang W, Wu X, Zhou F. Collagen type X alpha 1 (COL10A1) contributes to cell proliferation, migration, and invasion by targeting prolyl 4-hydroxylase beta polypeptide (P4HB) in breast cancer. *Med Sci Monit*, 2021, **27**: e928919
- [42] Tang Z, Yang Y, Zhang Q, *et al.* Epigenetic dysregulation-mediated COL12A1 upregulation predicts worse outcome in intrahepatic cholangiocarcinoma patients. *Clin Epigenetics*, 2023, **15**(1): 13
- [43] Nizamoglu M, Koloko Ngassie M L, Meuleman R A, *et al.* Collagen type XIV is proportionally lower in the lung tissue of patients with IPF. *Sci Rep*, 2023, **13**(1): 19393
- [44] Jiang Z, Sun W, Zhang Q, *et al.* Generation of an induced pluripotent stem cell line (ZSZOCi001-A) from a patient with Knobloch syndrome caused by biallelic mutations in the gene COL18A1. *Stem Cell Res*, 2023, **70**: 103131
- [45] Devarajan R, Izzi V, Peltoketo H, *et al.* Targeting collagen XVIII improves the efficiency of ErbB inhibitors in breast cancer models. *J Clin Invest*, 2023, **133**(18): e159181
- [46] Weng X, Lin D, Huang J T J, *et al.* Collagen 24 $\alpha 1$ is increased in insulin-resistant skeletal muscle and adipose tissue. *Int J Mol Sci*, 2020, **21**(16): 5738
- [47] Shinwari J M A, Khan A, Awad S, *et al.* Recessive mutations in COL25A1 are a cause of congenital cranial dysinnervation disorder. *Am J Hum Genet*, 2015, **96**(1): 147-152
- [48] Tanaka T, Wakabayashi T, Oizumi H, *et al.* CLAC-P/collagen type XXV is required for the intramuscular innervation of motoneurons during neuromuscular development. *J Neurosci*, 2014, **34**(4): 1370-1379
- [49] De Martino D, Bravo-Cordero J J. Collagens in cancer: structural regulators and guardians of cancer progression. *Cancer Res*, 2023, **83**(9): 1386-1392
- [50] 周婷, 杨恒, 王鑫, 等. 酶解技术提取动物组织中的胶原蛋白及其肽的研究进展. *食品工业科技*, 2020, **41**(15): 332-338
Zhou T, Yang H, Wang X, *et al.* Science and Technology of Food Industry, 2020, **41**(15): 332-338
- [51] 林海生, 冯畅, 王雯, 等. 不同方法提取方格星虫胶原蛋白及其酶解物对HaCaT细胞的影响. *上海海洋大学学报*, 2023, **32**(6): 1165-1175
Lin H S, Feng C, Wang W, *et al.* Journal of Shanghai Ocean University, 2023, **32**(6): 1165-1175
- [52] 窦容容, 赵春青, 颜子恒, 等. 超声波对鲟鱼皮酸性胶原蛋白提取及理化特性的影响. *中国食品学报*, 2023, **23**(10): 125-135
Dou R R, Zhao C Q, Yan Z H, *et al.* Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2023, **23**(10): 125-135
- [53] 郑清瑶, 曹文红, 韩昱梁, 等. 几种提取方法制备的糙刺参体壁胶原蛋白的特性分析. *食品与发酵工业*, 2023, **49**(15): 145-152
Zheng Q Y, Cao W H, Han Y L, *et al.* Food and Fermentation Industry, 2023, **49**(15): 145-152
- [54] He L, Gao Y, Wang X, *et al.* Ultrasonication promotes extraction of antioxidant peptides from oxhide gelatin by modifying collagen molecule structure. *Ultrason Sonochem*, 2021, **78**: 105738
- [55] Matinong A M E, Chisti Y, Pickering K L, *et al.* Collagen extraction from animal skin. *Biology*, 2022, **11**(6): 905
- [56] Ju H, Liu X, Zhang G, *et al.* Comparison of the structural characteristics of native collagen fibrils derived from bovine tendons using two different methods: modified acid-solubilized and pepsin-aided extraction. *Materials (Basel)*, 2020, **13**(2): 358
- [57] Hu G, Li X, Su R, *et al.* Effects of ultrasound on the structural and functional properties of sheep bone collagen. *Ultrason Sonochem*, 2023, **95**: 106366
- [58] Gaikwad S, Kim M J. Fish by-product collagen extraction using different methods and their application. *Mar Drugs*, 2024, **22**(2): 60
- [59] 陈光, 徐珍珍, 吴铭. 胶原蛋白与重组胶原蛋白的研究进展. *明胶科学与技术*, 2011, **31**(1): 1-6
Chen G, Xu Z Z, Wu M. The Science and Technology of Gelatin, 2011, **31**(1): 1-6
- [60] 李阳, 朱晨辉, 范代娣. 重组胶原蛋白的绿色生物制造及其应用. *化工进展*, 2021, **40**(3): 1262-1275
Li Y, Zhu C H, Fan D D. Chemical Industry and Engineering Progress, 2021, **40**(3): 1262-1275
- [61] 黄嘉文. 基因工程技术生产重组胶原蛋白分析. *化工设计通*

- 讯, 2022, **48**(8): 195-197
Huang J W. Chemical Engineering Design Communications, 2022, **48**(8): 195-197
- [62] 魏春, 刘春, 刘心雨, 等. 基因工程技术生产重组胶原蛋白的研究进展. 发酵科技通讯, 2021, **50**(1): 1-5
Wei C, Liu C, Liu X Y, *et al.* Bulletin of Fermentation Science and Technology, 2021, **50**(1): 1-5
- [63] Adachi T, Wang X, Murata T, *et al.* Production of a non-triple helical collagen alpha chain in transgenic silkworms and its evaluation as a gelatin substitute for cell culture. Biotechnol Bioeng, 2010, **106**(6): 860-870
- [64] Hou Y, Guey L T, Wu T, *et al.* Intravenously administered recombinant human type VII collagen derived from Chinese hamster ovary cells reverses the disease phenotype in recessive dystrophic epidermolysis bullosa mice. J Invest Dermatol, 2015, **135**(12): 3060-3067
- [65] Qi Q, Yao L, Liang Z, *et al.* Production of human type II collagen using an efficient baculovirus-silkworm multigene expression system. Mol Genet Genomics, 2016, **291**(6): 2189-2198
- [66] Stein H, Wilensky M, Tsafirir Y, *et al.* Production of bioactive, post-translationally modified, heterotrimeric, human recombinant type-I collagen in transgenic tobacco. Biomacromolecules, 2009, **10**(9): 2640-2645
- [67] Eskelin K, Ritala A, Suntio T, *et al.* Production of a recombinant full-length collagen type I alpha-1 and of a 45-kDa collagen type I alpha-1 fragment in barley seeds. Plant Biotechnol J, 2009, **7**(7): 657-672
- [68] Xu X, Gan Q, Clough R C, *et al.* Hydroxylation of recombinant human collagen type I alpha 1 in transgenic maize co-expressed with a recombinant human prolyl 4-hydroxylase. BMC Biotechnol, 2011, **11**: 69
- [69] 冯梦茹, 周化岚, 张建国. 毕赤酵母产人类胶原蛋白发酵条件的优化. 食品与发酵工业, 2022, **48**(3): 9-14
Feng M R, Zhou H L, Zhang J G. Food and Fermentation Industry, 2022, **48**(3): 9-14
- [70] 钱永常, 秦倩茹, 来灿钢, 等. 一种高效分泌表达重组人源III型胶原蛋白 $\alpha 1$ 链的毕赤酵母及其发酵工艺: 中国, CN116769788 A. 2023-06-26
Qian Y C, Qin Q R, Lai C G, *et al.* A novel recombinant Pichia pastoris and its fermentation process: China, CN116769788A. 2023-06-26
- [71] 蔡思泽, 王斌. 人源III型胶原蛋白在毕赤酵母中的多拷贝重组表达、鉴定及抗氧化活性分析. 现代食品科技, 2023, **39**(3): 129-137
Cai S Z, Wang B. Modern Food Science and Technology, 2023, **39**(3): 129-137
- [72] Tang Y, Yang X, Hang B, *et al.* Efficient production of hydroxylated human-like collagen via the co-expression of three key genes in *Escherichia coli* origami (DE3). Appl Biochem Biotechnol, 2016, **178**(7): 1458-1470
- [73] 李瑛琦, 龚劲松, 许正宏, 等. III型人类胶原蛋白在大肠杆菌重组表达及发酵制备. 微生物学通报, 2020, **47**(12): 4164-4171
Li Y Q, Gong J S, Xu Z H, *et al.* Microbiol China, 2020, **47**(12): 4164-4171
- [74] 刘鑫, 李华, 齐磊, 等. 重组人III型胶原蛋白的表达纯化及性能研究. 国际生物医学工程杂志, 2021, **44**(1): 18-22, 33
Liu X, Li H, Qi L, *et al.* International Journal of Biomedical Engineering, 2021, **44**(1): 18-22, 33
- [75] Zhou N, Liu Y D, Zhang Y, *et al.* Pharmacological functions, synthesis, and delivery progress for collagen as biodrug and biomaterial. Pharmaceutics, 2023, **15**(5): 1443
- [76] Xiang Z X, Gong J S, Shi J H, *et al.* High-efficiency secretory expression and characterization of the recombinant type III human-like collagen in Pichia pastoris. Bioresour Bioprocess, 2022, **9**(1): 117
- [77] Fertala A. Three decades of research on recombinant collagens: reinventing the wheel or developing new biomedical products?. Bioengineering (Basel), 2020, **7**(4): 155
- [78] Valentino C, Vigani B, Zucca G, *et al.* Formulation development of collagen/chitosan-based porous scaffolds for skin wounds repair and regeneration. Int J Biol Macromol, 2023, **242**(Pt 3): 125000
- [79] Xeroudaki M, Rafat M, Moustardas P, *et al.* A double-crosslinked nanocellulose-reinforced dexamethasone-loaded collagen hydrogel for corneal application and sustained anti-inflammatory activity. Acta Biomater, 2023, **172**: 234-248
- [80] Briquez P S, Tsai H M, Watkins E A, *et al.* Engineered bridge protein with dual affinity for bone morphogenetic protein-2 and collagen enhances bone regeneration for spinal fusion. Sci Adv, 2021, **7**(24): eabh4302
- [81] Žmitek K, Žmitek J, Rogl Butina M, *et al.* Effects of a combination of water-soluble Coenzyme Q10 and collagen on skin parameters and condition: results of a randomised, placebo-controlled, double-blind study. Nutrients, 2020, **12**(3): 618
- [82] 王师亮, 张彦军, 罗玉娜, 等. 一种重组人源化胶原蛋白凝胶敷料及其制备方法和应用: 中国, CN114470314A. 2022-02-15
Wang S L, Zhang Y J, Luo Y N, *et al.* A recombinant humanized collagen gel dressing and its preparation method and application: China, CN114470314A. 2022-02-15
- [83] He Y, Wang J, Si Y, *et al.* A novel gene recombinant collagen hemostatic sponge with excellent biocompatibility and hemostatic effect. Int J Biol Macromol, 2021, **178**: 296-305
- [84] 赵健烽, 朱逸丽, 范蕾, 等. 重组人源化胶原蛋白在制备促烧烫伤愈合材料中的应用: 中国, CN115212295A. 2021-06-03
Zhao J F, Zhu Y L, Fan L, *et al.* Recombinant humanized in the preparation of collagen to promote the application of burn healing materials: China, CN115212295A. 2021-06-03
- [85] Hu M, Li Z, Liu Y, *et al.* Multifunctional hydrogel of recombinant humanized collagen loaded with MSCs and MnO₂ accelerates chronic diabetic wound healing. ACS Biomater Sci Eng, 2024, **10**(5): 3188-3202
- [86] Xu L, Liu Y, Tang L, *et al.* Preparation of recombinant human collagen III protein hydrogels with sustained release of extracellular vesicles for skin wound healing. Int J Mol Sci, 2022, **23**(11): 6289
- [87] Dong Z, Liu Q, Han X, *et al.* Electrospun nanofibrous membranes of recombinant human collagen type III promote cutaneous wound healing. J Mater Chem B, 2023, **11**(27): 6346-6360
- [88] Yang Y, Xu R, Wang C, *et al.* Recombinant human collagen-based bioinks for the 3D bioprinting of full-thickness human skin equivalent. Int J Bioprint, 2022, **8**(4): 611
- [89] Kang D, Wang W, Li Y, *et al.* Biological macromolecule hydrogel based on recombinant type I collagen/chitosan scaffold to

- accelerate full-thickness healing of skin wounds. *Polymers*, 2023, **15**(19): 3919
- [90] Hao Y, Zhao B, Wu D, *et al.* Recombinant humanized collagen type XVII promotes oral ulcer healing *via* anti-inflammation and accelerate tissue healing. *J Inflamm Res*, 2024, **17**: 4993-5004
- [91] Shuai X, Kang N, Li Y, *et al.* Recombination humanized type III collagen promotes oral ulcer healing. *Oral Dis*, 2024, **30**(3): 1286-1295
- [92] Wang X, Ghasri P, Amir M, *et al.* Topical application of recombinant type VII collagen incorporates into the dermal-epidermal junction and promotes wound closure. *Mol Ther*, 2013, **21**(7): 1335-1344
- [93] 杨霞,何振瑞,陈传秀,等.重组人源化胶原蛋白的用途及其相关组合物和制备方法:中国,CN113476593A.2021-08-25
Yang X, He Z R, Chen C X, *et al.* Application of recombinant humanized collagen and its related compositions and preparation methods: China, CN113476593A. 2021-08-25
- [94] Simpson F C, Islam M M, Buznyk O, *et al.* Electron-beam irradiated recombinant human collagen-phosphorylcholine corneal implants retain pro-regeneration capacity. *Front Bioeng Biotechnol*, 2022, **10**: 883977
- [95] Li H, You S, Yang X, *et al.* Injectable recombinant human collagen-derived material with high cell adhesion activity limits adverse remodelling and improves pelvic floor function in pelvic floor dysfunction rats. *Biomater Adv*, 2022, **134**: 112715
- [96] 杨霞,张玢玢,刘峥,等.重组I型人源化胶原蛋白在盆底修复中的用途:中国,CN113730557A.2021-09-03
Yang X, Zhang B B, Liu Z, *et al.* Application of recombinant type I humanized collagen in pelvic floor repair: China, CN113730557 A. 2021-09-03
- [97] You S, Liu S, Dong X, *et al.* Intravaginal administration of human type III collagen-derived biomaterial with high cell-adhesion activity to treat vaginal atrophy in rats. *ACS Biomater Sci Eng*, 2020, **6**(4): 1977-1988
- [98] 刘鑫,李华,齐磊,等.重组胶原蛋白妇科凝胶对大鼠宫颈炎的治疗作用.生物技术进展,2024,**14**(1): 42-47
Liu X, Li H, Qi L, *et al.* *Current Biotechnology*, 2024, **14**(1): 42-47
- [99] Shuai Q, Liang Y, Xu X, *et al.* Sodium alginate hydrogel integrated with type III collagen and mesenchymal stem cell to promote endometrium regeneration and fertility restoration. *Int J Biol Macromol*, 2023, **253**(Pt 6): 127314
- [100] You S, Zhu Y, Li H, *et al.* Recombinant humanized collagen remodels endometrial immune microenvironment of chronic endometritis through macrophage immunomodulation. *Regen Biomater*, 2023, **10**: rbad033
- [101] 杨霞,兰小宾,何振瑞,等.重组III型人源化胶原蛋白的用途:中国,CN113577248A.2021-07-29
Yang X, Lan X B, He Z R, *et al.* Application of recombinant type III humanized collagen: China, CN113577248A. 2021-07-29
- [102] Guo Y, Hu Z, Chen J, *et al.* Injectable TG-linked recombinant human collagen hydrogel loaded with bFGF for rat cranial defect repair. *Int J Biol Macromol*, 2023, **236**: 123864
- [103] Hu C, Liu W, Long L, *et al.* Regeneration of infarcted hearts by myocardial infarction-responsive injectable hydrogels with combined anti-apoptosis, anti-inflammatory and pro-angiogenesis properties. *Biomaterials*, 2022, **290**: 121849
- [104] Yang L, Wu H, Lu L, *et al.* A tailored extracellular matrix (ECM) -Mimetic coating for cardiovascular stents by stepwise assembly of hyaluronic acid and recombinant human type III collagen. *Biomaterials*, 2021, **276**: 121055
- [105] Wu H, Yang L, Luo R, *et al.* A drug-free cardiovascular stent functionalized with tailored collagen supports *in situ* healing of vascular tissues. *Nat Commun*, 2024, **15**(1): 735
- [106] Liu X, Li H, Wang T, *et al.* Recombinant humanized collagen type III with high antitumor activity inhibits breast cancer cells autophagy, proliferation, and migration through DDR1. *Int J Biol Macromol*, 2023, **243**: 125130
- [107] 李佳,安苗青,吕晨豪,等.重组人源胶原蛋白对D-半乳糖致衰老小鼠的抗衰老作用及机制研究.食品工业科技,2023,**44**(10): 343-352
Li J, An M Q, Lü C H, *et al.* *Science and Technology of Food Industry*, 2023, **44**(10): 343-352
- [108] Wang Q, Yan H, Yao L, *et al.* A highly bioactive THPC-crosslinked recombinant collagen hydrogel implant for aging skin rejuvenation. *Int J Biol Macromol*, 2024, **266**(Pt 2): 131276
- [109] 张斌杰,周丽娜.重组人源胶原蛋白凝胶联合创面磨痂术在深II度烧伤患者中的应用.广西医科大学学报,2018,**35**(3): 323-327
Zhang B J, Zhou L N. *Journal of Guangxi Medical University*, 2018, **35**(3): 323-327
- [110] 蒋立新,张熔.经乳晕切口联合重组人源胶原蛋白功能敷料在乳腺良性肿块切除术中的应用.中国现代手术学杂志,2022,**26**(3): 177-180
Jiang L X, Zhang R. *Chinese Journal of Modern Operation Surgery*, 2022, **26**(3): 177-180
- [111] 羊剑秋,高以红,朱红柳.重组人源III型胶原蛋白功能凝胶对皮肤创口愈合的疗效及其机制.山东医药,2021,**61**(34): 80-83
Yang J Q, Gao Y H, Zhu H L. *Shandong Medical Journal*, 2021, **61**(34): 80-83
- [112] 谭莎燕,绽妍医用重组III型人源化胶原蛋白修复软膏辅助治疗面部激素依赖性皮炎的临床效果.医学美容美容,2023,**32**(3): 46-49
Tan S Y. *Medical Aesthetics and Beauty*, 2023, **32**(3): 46-49
- [113] 李娅,庄淑波,刘静,等.医用重组人胶原蛋白功能敷料联合医用愈肤生物膜膏剂活性敷料治疗长期戴口罩引起的接触性皮炎疗效观察.中国美容医学,2023,**32**(8): 75-80
Li Y, Zhuang S B, Liu J, *et al.* *Chinese Journal of Aesthetic Medicine*, 2023, **32**(8): 75-80
- [114] 周李燕,张超群,毛秋霞.强脉冲光联合医用重组人源胶原蛋白功能敷料贴治疗面部痤疮的临床疗效.黑龙江医药,2021,**34**(6): 1390-1392
Zhou L Y, Zhang C Q, Mao Q X. *Heilongjiang Medical Journal*, 2021, **34**(6): 1390-1392
- [115] 王森,权兴苗.精准脉冲光联合重组人源III型胶原蛋白敷料治疗玫瑰痤疮疗效分析.中国美容医学,2023,**32**(8): 100-103
Wang S, Quan X M. *Chinese Journal of Aesthetic Medicine*, 2023, **32**(8): 100-103
- [116] 王艺,汪美容,程晓晓,等.重组人源胶原蛋白阴道凝胶治疗绝经期泌尿生殖综合症的临床研究.江西医药,2022,**57**(9): 1190-1191, 1211
Wang Y, Wang M R, Cheng X X, *et al.* *Jiangxi Medical Journal*, 2022, **57**(9): 1190-1191, 1211

- [117] 吕广伟,吕腾,于新平,等.重组人源胶原蛋白局部应用对绝经后阴道壁组织病理学的影响.山东医药,2022,62(7):61-63
Lv G W, Lv T, Yu X P, *et al.* Shandong Medical Journal, 2022, 62(7):61-63
- [118] 周莲.基于胶原蛋白原纤的定向多孔结构止血海绵及其性能研究[D].上海:东华大学,2023
Zhou L. Study on Directional Porous Hemostatic Sponge Based on Collagen Fibrils and Its Properties[D]. Shanghai: Donghua University, 2023
- [119] 武胡雯,邓晗彬,周涵,等.水凝胶敷料减轻烧伤创面瘢痕的研究进展.海南医学院学报,2024,30(13):1027-1034
Wu H W, Deng H B, Zhou H, *et al.* Journal of Hainan Medical College, 2024, 30(13):1027-1034
- [120] 袁海宁,冯佳英,杨志玲,等.烧烫伤中医治疗及剂型的研究进展.光明中医,2023,38(19):3885-3888
Yuan H N, Feng J Y, Yang Z L, *et al.* Journal of Chinese Medicine, 2023, 38(19):3885-3888
- [121] 蒋琪霞,白育瑄.局部氧疗技术在伤口治疗中的研究进展.中国护理管理,2023,23(8):1268-1271
Jiang Q X, Bai Y X. China Nursing Management, 2023, 23(8):1268-1271
- [122] 陈泓,柳国斌,黄仁燕.上皮-间充质转化在皮肤创面愈合中的作用研究进展.成都医学院学报,2024,19(1):170-176
Chen H, Liu G B, Huang R Y. Journal of Chengdu Medical College, 2024, 19(1):170-176
- [123] 马亚龙,宫玉锁,李金德,等.慢性伤口治疗方法的研究进展.数理医药学杂志,2023,36(12):931-938
Ma Y L, Gong Y S, Li J D, *et al.* Journal of Mathematical Medicine, 2023, 36(12):931-938
- [124] Pan Z, Zhang X, Xie W, *et al.* Revisited and innovative perspectives of oral ulcer: from biological specificity to local treatment. Front Bioeng Biotechnol, 2024, 12: 1335377
- [125] 李杏杏,孔姝敏,曹育春,等.大疱性表皮松解症及其分子治疗研究进展.皮肤病与性病,2022,44(2):121-125,154
Li X X, Kong S M, Cao Y C, *et al.* Dermatology and Venereology, 2022, 44(2):121-125,154
- [126] 吴悠,张菡,王睿,等.小分子药物治疗特应性皮炎的研究进展.临床皮肤科杂志,2024,53(2):118-122
Wu Y, Zhang H, Wang R, *et al.* Journal of Clinical Dermatology, 2024, 53(2):118-122
- [127] 赵文雁,曹亮,李铮,等.特应性皮炎的治疗误区和护理方式.人人健康,2023(35):46
Zhao W Y, Cao L, Li Z, *et al.* Health for Everyone, 2023(35):46
- [128] Bungau A F, Radu A F, Bungau S G, *et al.* Oxidative stress and metabolic syndrome in acne vulgaris: pathogenetic connections and potential role of dietary supplements and phytochemicals. Biomedicine Pharmacother, 2023, 164: 115003
- [129] Santer M, Burden-Teh E, Ravenscroft J. Managing acne vulgaris: an update. Drug Ther Bull, 2023, 62(1):6-10
- [130] 曹嘉祺,张佳明,陈颖欣.人供体角膜移植替代材料的最近进展研究.手术电子杂志,2022(4):52-58
Cao J Q, Zhang J M, Chen Y X. Electronic Journal of Medical Operations, 2022(4):52-58
- [131] 马璐阳,赵玉娇,程悦,等.女性盆底功能障碍性疾病骨盆几何构型特点的研究现状.国际医学放射学杂志,2024,47(1):97-100,2
Ma L Y, Zhao Y J, Cheng Y, *et al.* International Journal of Medical Radiology, 2024, 47(1):97-100,2
- [132] 侯艳春.苦参凝胶联合小剂量雌三醇软膏治疗萎缩性阴道炎的效果评价.临床医学,2024,44(1):123-125
Hou Y C. Clinical Medicine, 2024, 44(1):123-125
- [133] 曾芙蓉.戊酸雌二醇片联合重组人源胶原蛋白阴道凝胶在绝经后萎缩性阴道炎患者中的应用效果.北方药学,2023,20(9):29-31
Zeng F R. Journal of North Pharmacy, 2023, 20(9):29-31
- [134] 舒琴,张朝霞.健康教育对慢性宫颈炎患者的影响.妇儿健康导刊,2023(21):193-195
Shu Q, Zhang Z X. Journal of Women and Children's Health Guide, 2023(21):193-195
- [135] 陆乐,曹维维.妇科射频治疗仪治疗慢性宫颈炎的临床疗效观察.中国医药指南,2024,22(5):37-39
Lu L, Cao W W. Guide of China Medicine, 2024, 22(5):37-39
- [136] Wang Y, Tang Z, Teng X. New advances in the treatment of thin endometrium. Front Endocrinol, 2024, 15: 1269382
- [137] 朱阿强,陈珉.慢性子宫内膜炎患者内膜中CD38、CD138表达的临床意义及对不孕症的影响.中国优生与遗传杂志,2023,31(12):2459-2464
Zhu A Q, Chen M. Chinese Journal of Birth Health & Heredity, 2023, 31(12):2459-2464
- [138] 李青洋,陈静,陶海红.克林霉素磷酸酯联合康妇炎胶囊治疗子宫内膜炎的研究.实用中西医结合临床,2023,23(12):109-112
Li Q Y, Chen J, Tao H H. Practical Clinical Journal of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, 2023, 23(12):109-112
- [139] Wasnik V B, Acharya N, Mohammad S. Genitourinary syndrome of menopause: a narrative review focusing on its effects on the sexual health and quality of life of women. Cureus, 2023, 15(11): e48143
- [140] 申亚杰,程雯,马晓婷,等.胶原/无机物复合支架在骨缺损修复中的研究进展.口腔材料器械杂志,2024,33(1):42-49
Shen Y J, Cheng W, Ma X T, *et al.* Chinese Journal of Dental Materials and Devices, 2024, 33(1):42-49
- [141] 黎方璇,蒋丁胜,方泽民.靶向铁死亡治疗心血管疾病的研究进展.中国心血管病研究,2024,22(2):108-113
Li F Y, Jiang D S, Fang Z M. Chinese Journal of Cardiovascular Review, 2024, 22(2):108-113
- [142] 刘义,张庆顺,王慧.基于功能化金纳米材料应用于乳腺癌的研究.山东医学高等专科学校学报,2024,46(1):17-19
Liu Y, Zhang Q S, Wang H. Journal of Shandong Medical College, 2024, 46(1):17-19
- [143] 耿亚迪,刘含韵,吴颖其,等.基于真实世界数据分析马来酸吡咯替尼治疗HER-2阳性转移性乳腺癌的有效性及其经济性.中国医院药学杂志,2024,44(10):1179-1183
Geng Y D, Liu H Y, Wu Y Q, *et al.* Chinese Journal of Hospital Pharmacy, 2024, 44(10):1179-1183
- [144] 朱珍珠,姚明江,廖柳月,等.植物化学物质抗衰老活性研究进展.食品科学,2024,45(17):265-276
Zhu Z Z, Yao M J, Liao L Y, *et al.* Food Science, 2024, 45(17):265-276
- [145] 涂颖.医学美容与抗衰老.皮肤科学通报,2023,40(5):553-558
Tu Y. Dermatology Bulletin, 2023, 40(5):553-558

Application of Recombinant Collagen in Biomedicine

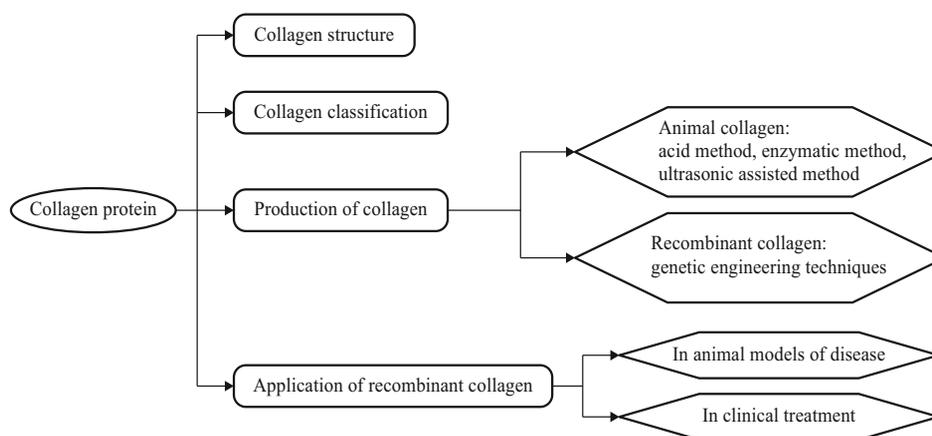
HU Huan¹⁾, ZHANG Hong²⁾, WANG Jian²⁾, WANG Li-Wen²⁾, LIU Qian²⁾,
CHENG Ning-Wen¹⁾, ZHANG Xin-Yue¹⁾ LI Yun-Lan^{3)*}

¹⁾College of Modern Biomedical Industry, Shanxi Medical University, Taiyuan 030032, China;

²⁾Shanxi Jinbo Biomedical Co., Ltd., Taiyuan 030032, China;

³⁾School of Pharmacy, Shanxi Medical University, Jinzhong 030606, China)

Graphical abstract



Abstract Collagen is a major structural protein in the matrix of animal cells and the most widely distributed and abundant functional protein in mammals. Collagen's good biocompatibility, biodegradability and biological activity make it a very valuable biomaterial. According to the source of collagen, it can be broadly categorized into two types: one is animal collagen; the other is recombinant collagen. Animal collagen is mainly extracted and purified from animal connective tissues by chemical methods, such as acid, alkali and enzyme methods, *etc.* Recombinant collagen refers to collagen produced by gene splicing technology, where the amino acid sequence is first designed and improved according to one's own needs, and the gene sequence of improved recombinant collagen is highly consistent with that of human beings, and then the designed gene sequence is cloned into the appropriate vector, and then transferred to the appropriate expression vector. The designed gene sequence is cloned into a suitable vector, and then transferred to a suitable expression system for full expression, and finally the target protein is obtained by extraction and purification technology. Recombinant collagen has excellent histocompatibility and water solubility, can be directly absorbed by the human body and participate in the construction of collagen, remodeling of the extracellular matrix, cell growth, wound healing and site filling, *etc.*, which has demonstrated significant effects, and has become the focus of the development of modern biomedical

* Corresponding author.

Tel: 86-13111066649, E-mail: Liyunlanrr@163.com

Received: May 29, 2024 Accepted: September 9, 2024

materials. This paper firstly elaborates the structure, type, and tissue distribution of human collagen, as well as the associated genetic diseases of different types of collagen, then introduces the specific process of producing animal source collagen and recombinant collagen, explains the advantages of recombinant collagen production method, and then introduces the various systems of expressing recombinant collagen, as well as their advantages and disadvantages, and finally briefly introduces the application of animal collagen, focusing on the use of animal collagen in the development of biopharmaceutical materials. In terms of application, it focuses on the use of animal disease models exploring the application effects of recombinant collagen in wound hemostasis, wound repair, corneal therapy, female pelvic floor dysfunction (FPFD), vaginal atrophy (VA) and vaginal dryness, thin endometritis (TE), chronic endometritis (CE), bone tissue regeneration *in vivo*, cardiovascular diseases, breast cancer (BC) and anti-aging. The mechanism of action of recombinant collagen in the treatment of FPFD and CE was introduced, and the clinical application and curative effect of recombinant collagen in skin burn, skin wound, dermatitis, acne and menopausal urogenital syndrome (GSM) were summarized. From the exploratory studies and clinical applications, it is evident that recombinant collagen has demonstrated surprising effects in the treatment of all types of diseases, such as reducing inflammation, promoting cell proliferation, migration and adhesion, increasing collagen deposition, and remodeling the extracellular matrix. At the end of the review, the challenges faced by recombinant collagen are summarized: to develop new recombinant collagen types and dosage forms, to explore the mechanism of action of recombinant collagen, and to provide an outlook for the future development and application of recombinant collagen.

Key words recombinant collagen, expression system, animal model disease, clinical treatment

DOI: 10.16476/j.pibb.2024.0233 **CSTR:** 32369.14.pibb.20240233