

丝素蛋白水凝胶在骨关节炎中的应用研究

陈 微, 孙倩雯, 韩艳琪, 叶 军, 王洪亮, 刘玉玲, 杨艳芳

中国医学科学院北京协和医学院药物研究所 (北京 100050)

【摘要】随着人口老龄化程度的加剧, 骨关节炎患者逐年增多, 对人类健康形成了严重威胁。然而, 到目前为止, 对骨关节炎还缺乏令人满意的临床治疗方法。丝素蛋白是一种天然高分子材料, 具有良好的生物相容性、生物可降解性和优良的机械性能等特点, 被广泛应用于骨组织工程领域。近年来, 随着对丝素蛋白研究的不断深入, 越来越多的学者开始尝试以丝素蛋白水凝胶为载体治疗骨关节炎, 结果表明, 其在骨关节炎的治疗中具有巨大的应用潜能。本文总结了迄今为止关于骨关节炎发病机制、常用药物以及丝素蛋白水凝胶治疗骨关节炎的研究进展, 为进一步探索应用丝素蛋白水凝胶治疗骨关节炎奠定了基础。

【关键词】骨关节炎; 丝素蛋白; 水凝胶; 天然药用材料

Application of silk fibroin hydrogel in osteoarthritis

Wei CHEN, Qian-Wen SUN, Yan-Qi HAN, Jun YE, Hong-Liang WANG, Yu-Ling LIU, Yan-Fang YANG

Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China

Corresponding author: Yan-Fang YANG, Email: yangyf@imm.ac.cn

【Abstract】With the increasing aging of the population, the number of patients with osteoarthritis is increasing year by year, posing a serious threat to human health. However, up to now, there is a lack of satisfactory clinical treatment for osteoarthritis. Silk protein is a natural polymer material with good biocompatibility, biodegradability and excellent mechanical properties, which is widely used in the field of bone tissue engineering. In recent years, with the continuous research on silk fibroin, more and more scholars have started to try to use silk fibroin hydrogel as a carrier for the treatment of osteoarthritis, and the results show that it has great potential for application in the treatment of osteoarthritis. This paper summarizes the research progress so far on the pathogenesis of osteoarthritis, commonly used drugs and the treatment of osteoarthritis with silk fibroin hydrogels, and lays the foundation for further exploration of the application of silk protein hydrogel in the treatment of osteoarthritis.

【Keywords】Osteoarthritis; Silk fibroin protein; Hydrogel; Natural medicinal materials

DOI: 10.19960/j.issn.1005-0698.202305013

基金项目: 中国医学科学院医学与健康科技创新工程 (2021-1-12M-026); 北京市自然科学基金项目 (7212155); 国家“重大新药创制”科技重大专项“儿童用中药制剂关键技术及其产业化研究”子课题 (2018ZX09721003-009)
通信作者: 杨艳芳, 博士, 教授, 硕士研究生导师, Email: yangyf@imm.ac.cn

骨关节炎 (osteoarthritis, OA) 是世界上最常见的退行性关节疾病, 以软骨乃至整个关节的进行性损伤为特征, 影响全球数百万人尤其是中老年人的健康^[1]。OA 的发病是一个多因素共同作用的结果, 包括年龄、超重、关节损伤和感染等^[2]。临床症状包括关节疼痛、肿胀、压痛和僵硬, 有时还会发生闭锁, 可导致残疾, 严重影响患者的生活质量。作为一种专门用于传输高负荷的组织, 关节软骨由于无血管、神经和淋巴管等特点使其受损时缺乏足够的自愈能力, 必须借助医学手段进行治疗^[3]。目前临床上依据 OA 的病情严重程度, 治疗策略为金字塔型的阶梯化分级治疗, 包括基础治疗、药物治疗、修复性治疗和重建治疗^[4]。早期的 OA 患者, 关节软骨有轻微退化, 症状较轻, 治疗大多采用口服和局部注射抗炎药物进行缓解。末期 OA 患者, 关节软骨磨损非常严重, 甚至可达到骨磨骨的程度, 故治疗必须采用骨关节移植手术。骨关节移植包括自体骨移植和异体骨移植, 但存在移植后出现炎症反应、患者强烈的不适感和异体排异反应等不足。

骨组织工程是一种有前途的治疗关节软骨缺损的方式, 借助一些生长因子, 促进软骨再生, 进而恢复关节运动, 减轻疼痛, 延迟骨关节炎的病情进展, 实现对因治疗, 弥补仅对症治疗药物的不足^[5]。丝素蛋白 (silk fibron, SF) 由于生物相容性好、生物降解可控、机械性能良好、易于制造和能够模拟天然软骨的胶原结构等优点, 在骨组织工程中尤其是软骨的修复中得到了广泛的应用^[6]。其中, SF 水凝胶不但具有良好的生物黏附性, 且可通过促进细胞增殖促进伤口愈合。将生长因子等包载于 SF 凝胶中可实现缓控释效果, 更好地促进软骨修复, 在治疗严重 OA 或末期 OA 中具有极大的应用潜能。本文将从 OA 的发病机制、常用药物以及 SF 水凝胶在 OA 的应用研究等方面展开综述。

1 OA的发病机制

OA 是一种常见的慢性关节疾病, 其发病机制与常见的类风湿性关节炎不同, 是由多因子途径控制的, 但这一途径尚未被完全阐明和理解^[7]。目前研究发现, OA 患者滑膜液里的肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 和白细胞介素 -1β (interleukin-1 beta, IL- 1β)

的浓度都远高于健康关节中观察到的浓度。此外, TNF- α 和 IL- 1β 不仅能诱导产生多种炎症蛋白和酶 (如基质金属蛋白酶和聚蛋白多糖酶)^[8], 还可通过诱导软骨细胞和滑膜成纤维细胞的凋亡, 抑制 II 型胶原和软骨主要成分聚集蛋白聚糖的合成。OA 的病理表现如图 1 所示, 主要表现为关节软骨退化、骨赘形成、软骨下骨硬化、滑膜炎和半月板损伤等^[9]。其中, 关节软骨退化的严重程度和 OA 病情的恶化程度呈正相关, 故在 OA 初期就进行关节软骨修复治疗对延缓病情恶化意义重大。

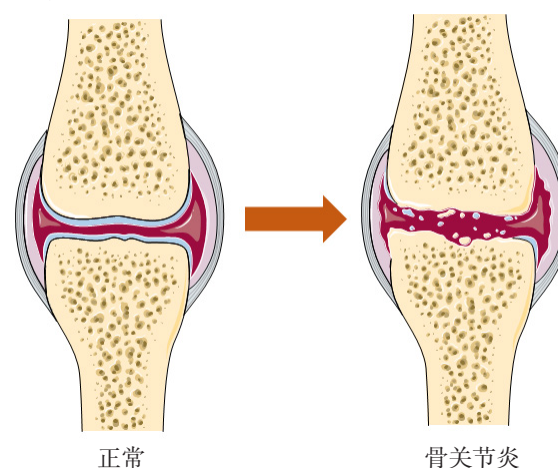


图1 骨关节炎发展过程中骨关节结构的变化^[9]

Figure 1. The changes of articular structure during OA progression^[9]

2 OA的治疗

OA 的治疗重点是减轻疼痛和改善受影响关节的功能。常用药物包括传统治疗药物和生长因子类 (如表 1 所示)。其中, 药物治疗是 OA 临床治疗的一个重要方法, 常用的传统治疗药物按照治疗机制的不同可分为症状缓解和炎症治疗两大类, 症状缓解类药物主要包括阿片类镇痛药、5-羟色胺-去甲肾上腺素再摄取抑制剂、硫酸软骨素补充剂等; 炎症治疗药物主要包括对乙酰氨基酚、非甾体抗炎药、关节内皮质类固醇注射和氨基葡萄糖补充剂等。

患者一旦表现出 OA 的临床症状, 则必须要在治疗中全程贯穿药物治疗, 这也增加了药物治疗中的不良反应。此外, 传统药物治疗最大的不足是无法实现软骨损伤的修复。

在 OA 关节软骨修复中, 生长因子发挥非常重要的作用, 常用的生长因子包括骨形态发生蛋

白 (bone morphogenetic protein, BMP)、转化生长因子 (transforming growth factor, TGF)、神经生长因子 (nerve growth factor, NGF)、胰岛素样生长因子 (insulin-like growth factor, IGF)、

碱性成纤维细胞生长因子 (basic fibroblast growth factor, bFGF) 和白细胞介素 -1 (interleukin-1, IL-1) 抑制剂等^[10]。这些生长因子在治疗 OA 方面具有效果好且不良反应轻微的优势。

表1 OA治疗常用的药物种类及特点

Table 1. Types and characteristics of commonly used drugs in OA treatment

药物名称	种类	特点
传统药物	阿片类镇痛药、5-羟色胺-去甲肾上腺素再摄取抑制剂、硫酸软骨素补充剂、对乙酰氨基酚、非甾体抗炎药、关节内皮质类固醇注射和氨基葡萄糖补充剂	仅是对症治疗, 无法改变软骨的缺损状况, 长期服用, 有较大的药物不良反应
生长因子	骨形态发生蛋白、转化生长因子、神经生长因子、胰岛素样生长因子、碱性成纤维细胞生长因子和白细胞介素-1抑制剂	可以对软骨的缺失进行改善, 实现对因治疗, 但临床大规模应用具有挑战性

目前, 各国学者普遍认为关节腔可注射凝胶制剂将会在骨关节炎的治疗中有较大的应用潜力, 截至现在, 得到临床应用的治疗骨关节炎的关节腔可注射凝胶制剂产品主要有医用透明质酸钠凝胶和医用几丁糖凝胶等。但是, 两种凝胶都仅仅是起到了润滑作用来减轻疼痛, 对于已受损的软骨无法修复且机械性能较差。作为一种来源于天然的高分子材料, SF 具有优异的生物相容性。而 SF 凝胶经关节腔注射后不会引发免疫反应, 且可通过在 SF 凝胶中包载骨生长因子实现对关节软骨的修复, 有望用于 OA 的治疗。

3 SF 及SF水凝胶

3.1 结构及理化性质

作为一种性能优异的天然生物大分子材料, SF 具有良好的生物相容性和生物可降解性, 且来源广泛、产量丰富^[11]。SF 的分子链由 3 个亚基组成: 重链 (H 链)、轻链 (L 链) 和 P25 蛋白, 其摩尔比为 6 : 6 : 1。SF 有 3 种不同的结构: SF I、SF II 和 SF III, 3 种结构的理化性能存在差异, 可相互转变, 研究者可根据实验目的进行选择。其中, SF I 主要以水溶性形式存在, 除无规则卷曲外, 还含有大量的 α -螺旋结构域。与之相反, SF II 则主要具有 β -片状结构, 性能更稳定, 且不溶于水。SF III 主要存在于水 / 空气界面, 其稳定性居于其他两种结构之间^[12]。SF I 到 SF II 的转变可通过多种方法如使用有机溶剂、剪切、施加电场等进行调节。根据 SF 中 β -片状结构含量,

SF 可以转换成不同的形式, 包括溶液、水凝胶、支架和薄膜等。SF 中的功能基团羧基或氨基使其可进行特定的功能修饰, 以用于药物的靶向递送。此外, SF 也可通过与其他材料混合获得优良的性能如细胞黏附性、生物稳定性、免疫调节、抗菌活性和超顺磁性等^[13]。

3.2 SF水凝胶的制备及特点

水凝胶是一种富含水的三维聚合物网络, 柔软且具有许多优点, 表现出特定的保水性、形状稳定性和功能可修饰性, 已广泛用于许多领域如药物载体、组织工程支架、自愈材料、组织黏合剂、生物传感器、电子皮肤、软机器人和可穿戴电子设备等^[14]。SF 水凝胶与天然的细胞外基质相似, 可以为软骨细胞的增殖、分化及转移提供较为适宜的生理环境。此外, SF 水凝胶的降解产物为天然氨基酸, 对人体不存在潜在的安全隐患。基于以上优点, SF 水凝胶用于 OA 治疗具有极大的应用潜力。按照 SF 分子之间化学键的不同可将 SF 水凝胶的制备方法大致分为物理交联法和化学交联法两种^[15], 如图 2 所示。

3.2.1 物理交联法

物理交联法的本质就是借由非共价键将多个 SF 分子形成凝胶, 常使用的非共价键包括分子间氢键、疏水作用、静电作用、离子作用和链缠绕等^[16]。其形成核心是将 SF 溶液中的 α -螺旋结构转化为 β -片状结构, 常用的制备方法包括自组装、超声、剪切、电场作用、温度变化、pH 调节、有机溶剂和表面活性剂等^[17]。其中, 自组装难以

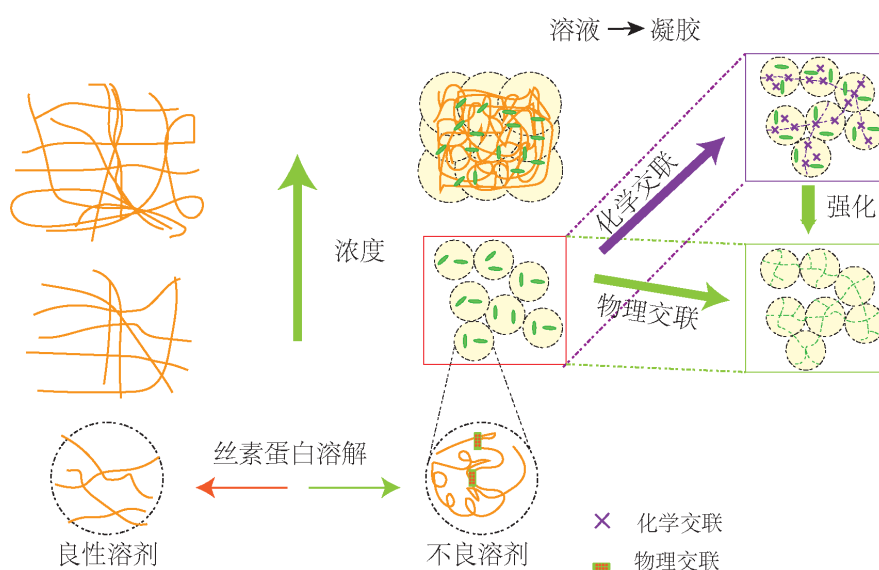


图2 丝素蛋白在溶液中的结构和丝素蛋白通过化学交联和物理交联途径的溶胶-凝胶转变示意图^[15]
 Figure 2. Cartoon demonstrations of the conformational structure of silk fibroin in solution and the sol-gel transition of silk fibroin via chemical crosslinking and physical crosslinking route^[15]

形成β片状结构且耗时较长，而pH调节、温度变化、超声、剪切和电场均可以加速β片状结构的形成，缩短凝胶时间。物理交联法制备SF水凝胶，制备条件温和，无需使用不良溶剂和化学交联剂，仅通过调节物理参数即可控制凝胶形成进度，安全性良好。但由于凝胶制备过程通过非共价键形成，该法制备的SF水凝胶弹性低，力学性能较差^[18]。

3.2.2 化学交联法

化学交联法指SF分子间通过化学键相互连接形成稳定的交联点，进而形成三维空间水凝胶网络结构。常用的制备方法包括光聚合交联、化学交联剂交联和酶诱导交联等。其中，常用的化学交联剂包括戊二醛、辣根过氧化物酶、过氧化氢和京尼平等^[19]。与物理交联法制备的SF水凝胶相比，通过化学交联法制备的SF水凝胶物理稳定性和机械强度更优异。但化学交联法制备凝胶过程中所使用的光引发剂和化学交联剂均存在一定的细胞毒性，限制了其进一步的应用。

4 SF水凝胶用于OA治疗

SF水凝胶或将合适的生长因子载入SF水凝胶可用于治疗OA，常用的生长因子及其作用机制如表2所示。此外，将SF与一些生物相容性良好的高分子材料如明胶、壳聚糖、聚乙二醇和聚乙烯醇共混制备水凝胶，可制备细胞黏附性、

生物相容性和力学性能等更优的凝胶，提高对OA的治疗效果。

4.1 提高骨关节润滑的摩擦学优化的水凝胶

在OA患者中，由于骨关节润滑性能的降低会导致关节摩擦，进而产生较大的不适。对此，Parkes等^[26]报道一种具有摩擦学优化的SF多孔水凝胶用于软骨修复。机械测试结果表明，该SF多孔水凝胶具有与软骨相当的压缩模量，并可以通过减小孔径提高其机械性能。无论是在静态负荷还是动态剪切过程中，该多孔水凝胶可通过间质液的填充显著降低摩擦系数，缓解OA患者的不适。

4.2 SF复合水凝胶

Adali等^[27]基于离子凝胶法成功制备了可以仿细胞外基质结构的壳聚糖/SF/蛋壳膜水凝胶。研究表明，该水凝胶具有优异的机械性能，可支持人软骨细胞的生长、黏附和分化。Shin等^[28]制备了一种SF与结冷胶混合的水凝胶，并包载微小RNA-30a用于评估软骨的形成分化情况。结果表明，SF/结冷胶水凝胶具有适合细胞生长的吸水性和孔隙率，且水凝胶的降解与新组织形成的时间相当，在软骨修复中具备应用潜力。Zhang等^[29]制备了一种酶交联的SF-合成片状硅酸盐Laponite纳米复合水凝胶，并对其用于软骨再生进行了评估。结果表明，加入少量Laponite (1%, w/v) 不仅可加速SF的凝胶化过程，还能

在一定程度上提高该研究所制备出的 SF 复合水凝胶的亲水性和力学性质。体外研究结果表明, SF-Laponite 水凝胶优点明显, 一方面生物相容性和机械性能均表现突出, 另一方面其能够有力地诱导骨髓间充质干细胞 (bone mesenchymal stem cells, BMSCs) 向成骨和软骨分化, 是一种有前

景的软骨缺损修复材料。Ziadlou 等^[30]将不同浓度的透明质酸-酪胺与 SF 溶液相混合并采用酶促交联法研发了一种可注射、且机械性能高度可调的复合水凝胶。该复合水凝胶可以高效地促进软骨基质蛋白的表达, 使软骨细胞产生细胞外基质, 具有显著的软骨形成作用。

表2 OA治疗常用的生长因子及其作用机制

Table 2. Growth factors commonly used in OA treatment and their mechanism of action

生长因子名称	作用机制
骨形态发生蛋白	例如: 骨形态发生蛋白2可以刺激软骨外植体和关节软骨细胞的合成代谢反应, 促进软骨降祖细胞的募集, 并上调细胞外基质成分的合成 ^[20]
转化生长因子	例如: 转化生长因子 β 1可以增强人骨髓间充质干细胞的细胞附着能力和细胞增殖能力 ^[21]
碱性成纤维细胞生长因子	碱性成纤维细胞生长因子是有效的软骨细胞丝裂原并可以刺激或稳定软骨细胞对软骨基质的合成 ^[22]
胰岛素样生长因子	例如: 胰岛素样生长因子1可以通过抑制磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶 B 和 丝裂原活化蛋白激酶特异性通路保护核因子 κ B通路, 促进软骨生成 ^[23]
神经生长因子	例如: β 神经生长因子可以通过钝化感受器减轻疼痛 ^[24]
白细胞介素-1抑制剂	白细胞介素-1抑制剂可以减少蛋白水解酶和炎症因子的表达并通过延缓软骨细胞外基质降解减慢OA进展 ^[25]

4.3 载有生长因子的SF水凝胶

Shao 等^[21]制备了包含 TGF- β 1 的光聚合壳聚糖/SF 水凝胶, 抗压强度较好可用于软骨的修复。该复合水凝胶通过在光交联前, 在混合溶液中加入 TGF- β 1 溶液实现包载, 7 d 的药物累积释放量约 31%。TGF- β 的载入可以增加人骨髓间充质干细胞的细胞黏附能力和增殖能力。Fathi-Achachelouei 等^[31]以 SF 和聚乙二醇二甲基丙烯酸酯 (PEGDMA) 为原料, 成功制备了机械性能、溶胀性能和降解性能均表现优异的水凝胶。将包载 bFGF 和 TGF- β 1 的纳米粒子 (NPs) 分散于该水凝胶中实现对 bFGF 和 TGF- β 1 的同时递送。在第 30 天时, TGF- β 1 的累积释放量约为 18.32%, bFGF 的累积释放量为 51.39%。与载有单一生长因子相比, 两种生长因子的同时递送可以增加糖胺聚糖和 II 型胶原的表达水平, 更有利于关节软骨的修复。Zheng 等^[32]制备了由 SF 和聚赖氨酸改性壳聚糖混合得到的可注射水凝胶。该水凝胶有利于 BMSCs 的细胞增殖, 通过将 TGF- β 1 添加到磷酸盐缓冲液中, 并经过搅拌、超声后获得均匀分布的溶液。最后在恒定搅拌速率下将制备的悬浮液系统地滴入水凝胶混合物, 40 $^{\circ}$ C 下冻干, 实现最终的药物包载, TGF- β 1 1 个

月的累积释放率约 50%, 具有缓释效果, 可有效调节软骨特异性和炎症相关基因的表达, 显示出增强的体内外组织再生特性, 在软骨再生领域潜力巨大。Li 等^[5]研发了包载 TGF- β 1 和 BMP-2 的 SF 水凝胶。首先将 BMP-2 溶解在 SF 水溶液中, 得到混合物 A, 随后将 TGF- β 1 包封于壳聚糖纳米颗粒中, 得到混合物 B, A 和 B 通过超声诱导交联后得到同时包载 TGF- β 1 和 BMP-2 的 SF 水凝胶 (TGF- β 1@CS/BMP-2@SF), 用于 OA 的治疗 (如图 3 所示)。研究结果表明, TGF- β 1@CS/BMP-2@SF 水凝胶的生物相容性良好, 免疫原性低, 15 d 的 TGF- β 1 和 BMP-2 的累积释放量均在 80% 左右, 提高了 BMSCs 在体内/外的软骨生成能力。Cheng 等^[6]制备了一种同时包载去铁胺 (deferoxamine, DFO) 和 BMP-2 的 SF 复合水凝胶用于骨组织工程。首先, SF 溶液通过升温得到 SF 纳米纤维凝胶, 然后将 DFO 与 SF 纳米纤维凝胶通过磁力搅拌混合, 随后添加 BMP-2 并继续搅拌, 最终获得载药水凝胶。研究结果表明, DFO 和 BMP-2 的 40 d 的累积释放量约在 70% 左右, 且两种药物的协调释放能够刺激更多的成骨信号, 可显著改善骨再生。

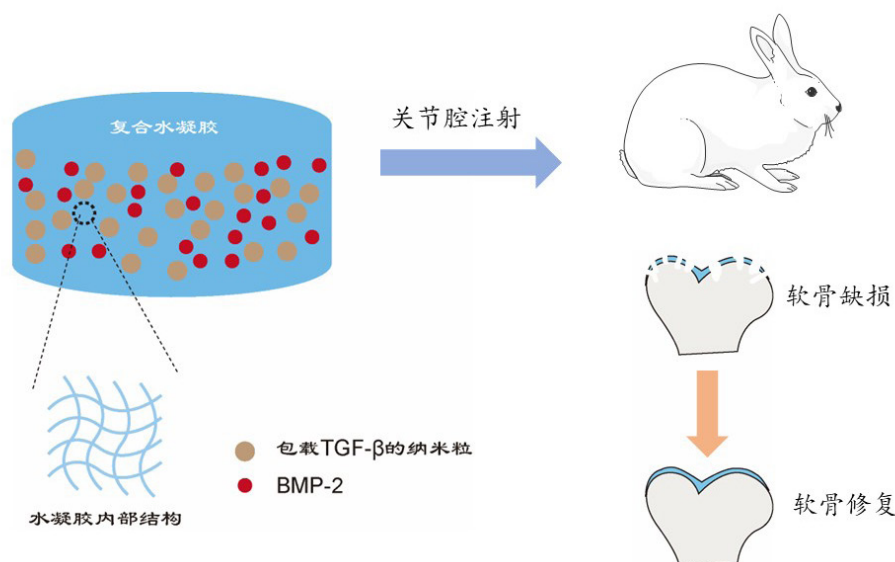


图3 TGF-β1@CS/BMP-2@SF通过控制TGF-β1和BMP-2的体外释放修复关节软骨缺损^[5]

Figure 3. TGF-β1@CS/BMP-2@SF to repair articular cartilage defects through controlling in vitro release of TGF-β1 and BMP-2^[5]

5 结论与展望

SF水凝胶可促进BMSCs向软骨细胞分化，并且可利用其三维网络结构包载活性药物成分用于骨修复或OA治疗，在软骨修复尤其是OA的治疗中具有很好的应用潜力。目前，关于SF用于OA的治疗大多是基础研究，而临床应用未见相关的报道。影响SF水凝胶制剂临床转化的因素主要包括以下几点：一方面，对SF提取原料、方法和提取后质量评价没有统一标准；另一方面，采用何种制备方法获得一个用于OA的机械性能优良的水凝胶仍未有答案。虽然SF水凝胶制剂临床转化面临诸多困难，但随着近年来与SF有关基础研究的增多及论文的发表，国内外学者对SF结构性能认识也有了更深层次的了解。相信随着研究的深入，SF水凝胶制剂会实现由实验室研究向临床转化的创新性突破。目前报道的载药SF水凝胶大多是关于骨生长因子之类的包载，未见对OA治疗药物的包载和应用的相关报道。随着我国老龄化程度的增加，OA人群日趋增多。未来，我们仍应继续探索OA的具体发病机制，并进一步推进载活性药物的SF水凝胶用于OA治疗的临床应用。

参考文献

1 Cornelis FMF, Monteagudo S, Guns LKA, et al. ANP32A

<https://ywlxhx.whuznhmedj.com/>

- regulates ATM expression and prevents oxidative stress in cartilage, brain, and bone[J]. *Sci Transl Med*, 2018, 10(458): eaar8426. DOI: 10.1126/scitranslmed.aar8426.
- 2 Thakur S, Riyaz B, Patil A, et al. Novel drug delivery systems for NSAIDs in management of rheumatoid arthritis: An overview[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 106: 1011–1023. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.07.027.
- 3 Chen Y, Wu T, Huang S, et al. Sustained release SDF-1α/TGF-β1-loaded silk fibroin-porous gelatin scaffold promotes cartilage repair[J]. *ACS Appl Mater Interface*, 2019, 11(16): 14608–14618. DOI: 10.1021/acsami.9b01532.
- 4 耿宗洁, 冀全博, 王岩. 骨关节炎不同治疗方法的研究进展[J]. *中国骨与关节杂志*, 2021, 10(8): 636–640. [Geng ZJ, Ji QB, Wang Y. Research progress of different treatment methods of osteoarthritis[J]. *Chinese Journal of Bone and Joint*, 2021, 10(8): 636–640.] DOI: 10.3969/j.issn.2095-252X.2021.08.013.
- 5 Li Y, Liu Y, Guo Q. Silk fibroin hydrogel scaffolds incorporated with chitosan nanoparticles repair articular cartilage defects by regulating TGF-β1 and BMP-2[J]. *Arthritis Res Ther*, 2021, 23(1): 50. DOI: 10.1186/s13075-020-02382-x.
- 6 Cheng W, Ding Z, Zheng X, et al. Injectable hydrogel systems with multiple biophysical and biochemical cues for bone regeneration[J]. *Biomater Sci*, 2020, 8(9): 2537–

2548. DOI: 10.1039/d0bm00104j.
- 7 Chen D, Shen J, Zhao W, et al. Osteoarthritis: toward a comprehensive understanding of pathological mechanism[J]. *Bone Res*, 2017, 5: 16044. DOI: 10.1038/boneres.2016.44.
 - 8 范重山, 孙明帅, 韩文朝. 促炎因子及基质金属蛋白酶在骨关节炎发病机制及相关治疗中的地位和作用 [J]. *中国组织工程研究*, 2021, 25(32): 5162–5170. [Fan CS, Sun MS, Han WC. Proinflammatory factors and matrix metalloproteinases: status and roles in the pathogenesis of osteoarthritis[J]. *Chinese Journal of Tissue Engineering Research*, 2021, 25(32): 5162–5170.] DOI: 10.12307/2021.219.
 - 9 Zhang W, Ouyang H, Dass CR, et al. Current research on pharmacologic and regenerative therapies for osteoarthritis[J]. *Bone Res*, 2016, 4: 15040. DOI: 10.1038/boneres.2015.40.
 - 10 李鹏. 一种含硅酸钙淀粉水凝胶的制备及其在修复骨—软骨缺损中的应用 [D]. 江苏苏州: 苏州大学, 2020.
 - 11 李莹莹, 王昉, 刘其春, 等. 丝素蛋白及其复合材料的研究进展 [J]. *材料工程*, 2018, 46(8): 14–26. [Li YY, Wang F, Liu QC, et al. Research progress in silk fibroin and its composite materials[J]. *Journal of Materials Engineering*, 2018, 46(8): 14–26.] DOI: 10.11868/j.issn.1001-4381.2017.001242.
 - 12 Crivelli B, Perteghella S, Bari E, et al. Silk nanoparticles: from inert supports to bioactive natural carriers for drug delivery[J]. *Soft Matter*, 2018, 14(4): 546–557. DOI: 10.1039/c7sm01631j.
 - 13 Ullah S, Chen X. Fabrication, applications and challenges of natural biomaterials in tissue engineering[J]. *Appl Mater Today*, 2020, 20: 100656. DOI: 10.1016/j.apmt.2020.100656.
 - 14 Echeverria C, Fernandes SN, Godinho MH, et al. Functional stimuli-responsive gels: hydrogels and microgels[J]. *Gels*, 2018, 4(2): 54. DOI: 10.3390/gels4020054.
 - 15 Zhao Y, Zhu ZS, Guan J, et al. Processing, mechanical properties and bio-applications of silk fibroin-based high strength hydrogels[J]. *Acta Biomater*, 2021, 125: 57–71. DOI: 10.1016/j.actbio.2021.02.018.
 - 16 Wang W, Zhang Y, Liu W. Bioinspired fabrication of high strength hydrogels from non-covalent interactions[J]. *Prog Polym Sci*, 2017, 71: 1–25. DOI: 10.1016/j.progpolymsci.2017.04.001.
 - 17 Zheng HY, Zuo B. Functional silk fibroin hydrogels: preparation, properties and applications[J]. *J Mater Chem B*, 2021, 9(5): 1238–1258. DOI: 10.1039/d0tb02099k.
 - 18 Wang HY, Zhang YQ. Processing silk hydrogel and its applications in biomedical materials[J]. *Biotechnol Prog*, 2015, 31(3): 630–640. DOI: 10.1002/btpr.2058.
 - 19 McGill M, Coburn JM, Partlow BP, et al. Molecular and macro-scale analysis of enzyme-crosslinked silk hydrogels for rational biomaterial design[J]. *Acta Biomater*, 2017, 63: 76–84. DOI: 10.1016/j.actbio.2017.09.020.
 - 20 Whitty C, Pernstich C, Marris C, et al. Sustained delivery of the bone morphogenetic proteins BMP-2 and BMP-7 for cartilage repair and regeneration in osteoarthritis[J]. *Osteoarthr Cartil Open*, 2022, 4(1): 100240. DOI: 10.1016/j.ocarto.2022.100240.
 - 21 Shao J, Ding Z, Li L, et al. Improved accumulation of TGF- β by photopolymerized chitosan/silk protein bio-hydrogel matrix to improve differentiations of mesenchymal stem cells in articular cartilage tissue regeneration – ScienceDirect[J]. *J Photoch Photobio B*, 2020, 203: 111744. DOI: 10.1016/j.jphotobiol.2019.111744.
 - 22 Fukuda A, Kato K, Hasegawa M, et al. Enhanced repair of large osteochondral defects using a combination of artificial cartilage and basic fibroblast growth factor[J]. *Biomaterials*, 2005, 26(20): 4301–4308. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2004.11.007.
 - 23 Hossain M, Adithan A, Alam M, et al. IGF-1 facilitates cartilage reconstruction by regulating PI3K/AKT, MAPK, and NF- κ B signaling in rabbit osteoarthritis[J]. *J Inflamm Res*, 2021, 14: 3555–3568. DOI: 10.2147/JIR.S316756.
 - 24 Nicol GD, Vasko MR. Unraveling the Story of NGF-mediated Sensitization of Nociceptive Sensory Neurons: ON or OFF the Trks?[J]. *Mol Interv*, 2007, 7(1): 26–41. DOI: 10.1124/mi.7.1.6.
 - 25 Pelletier JP, Caron JP, Svan C, et al. In vivo suppression of early experimental osteoarthritis by interleukin-1 receptor antagonist using gene therapy[J]. *Arthritis Rheum*, 1997, 40(6): 1012–1019. DOI: 10.1002/art.1780400604.
 - 26 Parkes M, Myant C, Dini D, et al. Tribology-optimised silk protein hydrogels for articular cartilage repair[J]. *Tribol*

- Int, 2015, 89: 9–18. DOI: 10.1016/j.triboint.2014.11.024.
- 27 Adali T, Kalkan R, Karimizarandi L. The chondrocyte cell proliferation of a chitosan/silk fibroin/egg shell membrane hydrogels – ScienceDirect[J]. Int J Biol Macromol, 2019, 124: 541–547. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.11.226.
- 28 Shin EY, Park JH, Shin ME, et al. Evaluation of chondrogenic differentiation ability of bone marrow mesenchymal stem cells in silk fibroin/gellan gum hydrogels using miR-30[J]. Macromol Res, 2019, 27(4): 369–376. DOI: 10.1007/s13233-019-7048-x.
- 29 Zhang W, Zhang Y, Zhang A, et al. Enzymatically crosslinked silk–nanosilicate reinforced hydrogel with dual–lineage bioactivity for osteochondral tissue engineering[J]. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl, 2021, 127: 112215. DOI: 10.1016/j.msec.2021.112215.
- 30 Ziadlou R, Rotman S, Teuschl A, et al. Optimization of hyaluronic acid–tyramine/silk–fibroin composite hydrogels for cartilage tissue engineering and delivery of anti–inflammatory and anabolic drugs[J]. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl, 2021, 120: 111701. DOI: 10.1016/j.msec.2020.111701.
- 31 Fathi–Achachelouei M, Keskin D, Bat E, et al. Dual growth factor delivery using PLGA nanoparticles in silk fibroin/PEGDMA hydrogels for articular cartilage tissue engineering[J]. J Biomed Mater Res B Appl Biomater, 2020, 108(5): 2041–2062. DOI: 10.1002/jbm.b.34544.
- 32 Zheng D, Chen T, Han L, et al. Synergetic integrations of bone marrow stem cells and transforming growth factor–beta1 loaded chitosan nanoparticles blended silk fibroin injectable hydrogel to enhance repair and regeneration potential in articular cartilage tissue[J]. Int Wound J, 2022, 19(5): 1023 – 1038. DOI: 10.1111/iwj.13699.

收稿时间: 2022 年 10 月 14 日 修回时间: 2023 年 01 月 18 日
本文编辑: 钟巧妮 周璐敏