

·论著·
Original Articles

壳聚糖-藻酸钙-锂皂石纳米片止血复合膜的制备 及其对口腔内创面的治疗作用

吴靖, 邹多宏, 张志愿

(上海交通大学医学院附属第九人民医院 口腔外科, 上海交通大学口腔医学院, 国家口腔医学中心,
国家口腔疾病临床医学研究中心, 上海市口腔医学重点实验室, 口腔颌面再生医学创新单元,
上海市口腔医学研究所, 上海 200011)

[摘要] 目的: 利用自蒸发与冷冻干燥相结合技术, 构建壳聚糖-藻酸钙-锂皂石纳米片止血复合膜 (止血复合膜), 体外检测促凝血效果及细胞毒性, 体内验证止血效果与黏膜黏附效果, 探讨其作为新型口腔止血膜的可行性。方法: 分层构建双层结构止血复合膜, 利用自蒸发法制备下层壳聚糖部分, 结合冷冻干燥技术制备上层藻酸钙-锂皂石纳米片海绵部分。采用扫描电镜与透射电镜观察复合膜的微观结构, X 射线衍射分析其成分。使用凝血板法分析止血复合膜组、医用纱布组、海壳生®复合膜组以及空白对照组的体外凝血时间。培养 NIH/3T3 细胞, 与止血复合膜浸提液 (实验组)、壳聚糖-藻酸钙浸提液 (阴性对照组) 及细胞培养基 (空白对照组) 共培养 24、48 h, 以 CCK-8 法检测细胞增殖情况。构建比格犬口腔颊黏膜创面与下颌前磨牙拔牙创模型, 体内验证凝血复合膜的止血性能及口腔黏膜黏附效果。采用 SPSS 18.0 软件包对数据进行统计学分析。结果: 止血复合膜呈双层结构, 上层为包含锂皂石纳米片的海绵样结构, 下层为均质壳聚糖膜, X 射线衍射分析证实锂皂石纳米片的存在。体外凝血实验中, 止血复合膜组的体外凝血时间显著低于医用纱布组、海壳生®及空白对照组 ($P < 0.001$)。CCK-8 检测显示, 实验组、阴性对照组及空白对照组之间的细胞增殖差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。动物实验证实, 止血复合膜具有良好的黏膜黏附性及止血效果。结论: 制备的止血复合膜具有较好的止血作用, 无明显细胞毒性, 具有作为口腔止血膜的潜能。

[关键词] 壳聚糖; 藻酸钙; 锂皂石纳米片; 口腔止血膜; 凝血

[中图分类号] R783.1

[文献标志码] A

DOI: 10.19439/j.sjos.2022.06.002

The hemostasis effect and cell compatibility of a chitosan-calcium alginate-laponite nanosheet composite membrane: *in vitro* and *in vivo* evaluation WU Jing, ZOU Duo-hong, ZHANG Zhi-yuan. (Department of Oral Surgery, Shanghai Ninth People's Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine; College of Stomatology, Shanghai Jiao Tong University; National Center for Stomatology; National Clinical Research Center for Oral Diseases; Shanghai Key Laboratory of Stomatology; Research Unit of Oral and Maxillofacial Regenerative Medicine, Chinese Academy of Medical Sciences; Shanghai Research Institute of Stomatology, Shanghai 200011, China)

[Abstract] PURPOSE: To explore the feasibility of a chitosan-calcium alginate-laponite nanosheet composite membrane being used as a new hemostatic membrane for wounds in oral cavity. **METHODS:** The composite membrane was prepared in a layered fashion: the lower layer of chitosan membrane was made through self-evaporation and the upper layer of calcium alginate-laponite nanosheet sponge was made *via* freeze-drying. The microstructure of the composite membrane was observed under scanning electron microscopy (SEM) and transmission electron microscopy (TEM). X-ray diffraction was used as a means of identifying the compounds. Clotting time of composite membrane, medical gauze and Chitin dressing *in vitro* was measured by the plate method for blood coagulation. Cytotoxicity tests were quantified through co-culturing NIH/3T3 cells with chitosan-calcium alginate extract, composite hemostatic membrane extract and DMEM. Superficial buccal

[收稿日期] 2021-01-23; **[修回日期]** 2021-09-01

[基金项目] 国家自然科学基金(31870969);

中国医学科学院医学与健康科技创新工程项目(2019-I2M-5-037);

上海交通大学医学院“双百人”人才计划(20191816)

[作者简介] 吴靖(1994-), 男, 硕士, E-mail: wujingsjtu2021@163.com

[通信作者] 张志愿, E-mail: zhzy@sztu.edu.cn.

©2022 年版权归《上海口腔医学》编辑部所有

mucosal wound models and tooth extraction models were created on beagles dogs, the hemostatic effect and adhesion to oral mucosa were evaluated on these models. Statistical analysis was performed using SPSS 18.0 software package. **RESULTS:** The composite hemostatic membrane consisted of double-layer in microstructure, the upper layer was a foam layer consisting of calcium alginate and laponite nanosheet, the substratum was formed by uniform chitosan film. X-ray diffraction results showed that laponite nanosheet can be found in the composite membrane. Coagulation test showed that the composite hemostatic membrane group significantly shortened clotting time *in vitro* compared to pure calcium alginate group, commercial hemostatic membrane and blank control group ($P<0.001$). CCK-8 test of NIH/3T3 cell showed that there was no significant difference in absorbance between the experimental group, negative control group and blank control group ($P>0.05$). In addition, composite hemostatic membrane displayed a good hemostatic effect and strong adhesion to oral mucosa in animal models. **CONCLUSIONS:** The composite hemostatic membrane showed great hemostatic effects and had no significant cytotoxicity, which has the potential for clinical application as hemostatic membrane for wounds in oral cavity.

[Key words] Chitosan; Calcium alginate; Laponite nanosheet; Hemostatic membrane for oral mucosal wounds; Coagulation
Shanghai J Stomatol, 2022, 31(6):569-575.

目前口腔临床治疗中常用的术式,例如牙拔除术、牙周翻瓣术、种植手术以及口腔浅表肿物切除术等均可对口腔软、硬组织造成一定程度的损伤,在口腔内形成不同类型的创面^[1]。口腔颌面部血液循环丰富,创伤后出血量更大^[2]。同时,口腔内丰富的细菌环境以及口腔功能运动(如进食、言语等)、唾液分泌也为创面止血与愈合带来不利影响^[3-4]。因此,积极处理口腔内出血创面非常重要。

创面愈合是一个动态且复杂的过程,敷料的使用有助于保护创面并营造促进愈合的局部微环境^[5]。已有多种敷料用于口腔内创面护理,然而目前国内外商用口内敷料功能较为单一,无法兼顾止血、伤口保护以及敷料固定等多种要求。因此,急需一种适用于口腔环境,可满足多种功能需求的新型止血敷料。

合成锂皂石(laponite, lap)是一种合成的层状硅酸盐,被认为是下一代生物活性材料,已有大量研究^[6-8]聚焦于 lap 在伤口敷料领域的应用。多层纳米复合材料可通过不同物质组成,不同相结构以及不同含量与不同方式的复合,以满足不同应用需求^[9]。本研究以壳聚糖、海藻酸钠及锂皂石纳米片为基本原料,利用自蒸发与冻干技术相结合的方法,构建无机/有机纳米复合双层膜,通过测试该止血膜的止血性能以及细胞毒性,评价其作为新型口腔止血敷料的可行性。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 止血复合膜的合成材料 高黏度壳聚糖(黏度 $>400\text{ mPa}\cdot\text{s}$, 脱乙酰度 $\geq 95\%$, 上海阿拉丁生化

科技股份有限公司)、海藻酸钠(生化级, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司); lap 纳米片(Hectgel RDS, 浙江华特新材料有限公司); 无水氯化钙 (Sigma-Aldrich, 美国)。

1.1.2 主要试剂与仪器 冰乙酸、氨水以及乙醇(国药集团北京医疗科技有限公司); 纯水仪 (Integral-5 Millipore, 美国); 扫描电镜 (Supra40, 蔡司, 德国); X射线衍射仪 (X'Pert3 Powder, 荷兰帕纳科公司); 达尔伯克改良伊格培养基 (Dulbecco's modified Eagle's medium, DMEM) (Gibco, 美国); 磷酸盐缓冲液 (PBS); 胎牛血清 (Gibco, 美国); 胰酶消化液 (Hyclone, 美国); 高温高压灭菌锅 (HVE-50, Hirayama, 日本); 酶标仪 (Bio-tek, 美国); 海壳生®止血贴膜(上海海纯生物科技有限公司, 实验仅使用最上层可吸收的甲壳素止血部分)。

1.2 实验方法

1.2.1 止血复合膜的合成 首先配置质量分数为2%的壳聚糖溶液, 将2 g 高黏度壳聚糖粉末溶于98 mL 去离子水中, 搅拌均匀并同时缓慢滴加2 mL 冰乙酸, 继续搅拌直至得到澄清均匀溶液。将20 g 2%壳聚糖溶液离心, 消除气泡后倒入模具中, 室温下通过自蒸发方式干燥成膜。将获得的壳聚糖膜加入质量分数为5%氨水溶液中浸泡24 h, 以除去多余乙酸成分。取出, 室温晾干, 壳聚糖膜中氨水成分会随蒸发过程以氨气形式消除。

称取2 g 海藻酸钠粉末与2 g 锂皂石纳米片粉末, 加入96 mL 去离子水中, 搅拌均匀获得预混液。将适合大小的模具置于壳聚糖膜上, 向模具中灌注预混液。壳聚糖分子链带正电荷, 海藻酸钠分子链带

负电荷,因此可以较快而紧密地结合在一起^[10]。随后配置 2%氯化钙溶液,均匀喷撒于预混液表面,使其中的海藻酸钠交联,形成藻酸钙水凝胶。将该产物置于-40℃冰箱中冷冻 24 h,放入冻干机冷冻干燥 48 h,即可获得最终具备双层结构的止血复合膜,制备流程见图 1。另准备 2%海藻酸钠溶液,按上述步骤制备不含锂皂石纳米片、具备双层结构的复合膜(以下简称壳聚糖-藻酸钙膜),作为止血复合膜 XRD 检测的对照组以及细胞毒性实验的阴性对照组。

1.2.2 凝血板法测定体外凝血时间 以枸橼酸钠采血管取志愿者血液 10 mL,保存于冰水浴以便储存运输。到达实验室后,将血液水浴复温至 37℃,配置 0.025 mol/L 氯化钙溶液并水浴加热至 37℃。实验分为 4 组,即空白对照组(不添加促凝物质)、阳性对照组(直径 6 mm、高 5 mm 纱布圆片,直径 6 mm、高 5 mm 海壳生®止血材料圆片)以及实验组(直径 6 mm、高 5 mm 止血复合膜圆片)。将凝血板放置在 37℃加热台上,向孔内分别加入材料与 0.1 mL 0.025 mol/L 氯化钙溶液及 0.5 mL 抗凝血液,立刻计时。每隔 30 s 挑起 1 次,记录血液完全凝固时间。从抗凝血液加入至血液完全凝固时间即为体外凝血时间,每个样品重复 5 次。

1.2.3 微观表征 将样品块截面以导电胶固定于样品台上,低真空度下蒸金后,以扫描电镜在 5 kV 加速电压下拍摄目标样品,观察其微观结构。取少量锂皂石纳米片粉末,平铺于试件台上,以无水乙醇分散,干燥后利用透射电镜分析锂皂石纳米片形态。将壳聚糖-藻酸钙膜与止血复合膜(首先在热压机下压平)平铺于试件台上,利用 X 射线多晶体衍射仪以 50 kV、100 mA 的 Cu 辐射($\lambda=0.154$ nm)进行扫描,扫描角为 10~40°。

1.2.4 细胞毒性测试 材料的细胞毒性利用 CCK-8 法评价,细胞系选用鼠胚胎成纤维细胞(NIH/3T3 细胞,由中国科学院细胞库提供)。将止血复合膜与壳聚糖-藻酸钙膜高温高压灭菌后,以 DMEM 作为浸提介质,于 37℃细胞培养箱中浸提 48 h。材料的质

量浓度为 0.1 g/mL,5 个组分别置于 2 个 96 孔板中。取细胞,以 10^4 个细胞/孔密度接种,每个时间点设 5 个复孔,空白对照组接种鼠胚胎成纤维细胞与 DMEM 100 μ L,阴性实验组接种细胞与壳聚糖-藻酸钙膜浸提物 100 μ L,实验组接种细胞与止血复合膜浸提物 100 μ L。37℃分别培养 24 h、48 h。将 CCK-8 试剂与 DMEM 以 1:10 比例混合,每孔加入 100 μ L 混合试剂,放入培养箱中继续培养 2 h,随后取出,以酶标仪测量其在 450 nm 处的吸光度(A)值。

1.2.5 实验动物及实验方案 构建口腔创面模型:取 2 周岁比格犬 2 只,体重为 12.5 kg,由上海甲干生物科技有限公司提供。比格犬经静脉注射 1%戊巴比妥钠溶液麻醉。犬只麻醉后,分为 2 组,1 组为颊黏膜浅表创面模型,利用手术刀片划开比格犬口腔黏膜(手术位置位于比格犬左侧颊黏膜正中,做近远中向切口,长 1 cm、深 5 mm,创面止于黏膜下层);1 组为下颌前磨牙拔牙创面模型,在牙科涡轮机辅助下,微创拔除犬左侧下颌第二前磨牙,注意减少对犬牙槽骨造成的创伤。

体内止血效果观察:取合适大小的止血复合膜,贴敷于创面上,按压 1 min 后,观察创面出血情况。注意在浅表黏膜创面模型中,海绵层尽可能覆盖黏膜的手术创面;而在拔牙创面模型中,将合适大小的膜修剪为“工”字形,以减少周围牙列干扰,同时将海绵层按压入拔牙窝内,保证止血材料与血液充分接触。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 18.0 软件包进行统计学分析。定量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组定量数据比较采用单因素方差分析,然后在 95%CI 进行 Tukey 检验,进行多组之间两两比较。 $P<0.05$ 为差异具有显著性。

2 结果

2.1 止血复合膜的设计思路与宏观、微观表征

止血复合膜设计为壳聚糖膜和藻酸钙-锂皂石纳米片海绵两部分(图 2A)。直视下壳聚糖膜呈无色透明光滑的塑料质感膜,藻酸钙-锂皂石纳米片海

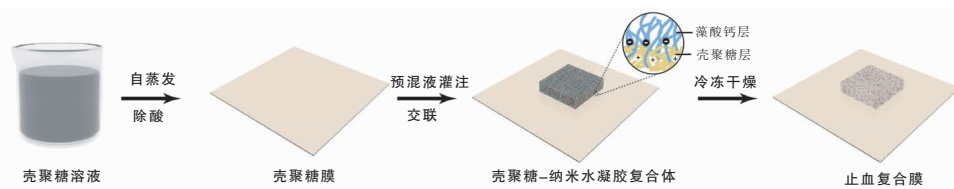


图 1 止血复合膜的制备流程

Figure 1 Preparation of chitosan-calcium alginate-laponite nanosheet composite membrane

绵呈白色粗糙柔软疏松状,两者紧密结合(图2B)。由扫描电镜可见,止血复合膜的藻酸钙-锂皂石纳米片区域呈海绵状,其间有大小不一的孔隙(图2C)。止血复合膜的壳聚糖侧呈均质膜结构(图2D),截面由明显的两相构成,上为藻酸钙-锂皂石纳米片海绵层,下为壳聚糖膜层,结合紧密(图2E)。透射电镜显示锂皂石纳米片呈薄片状,透光分散性均好(图2F)。

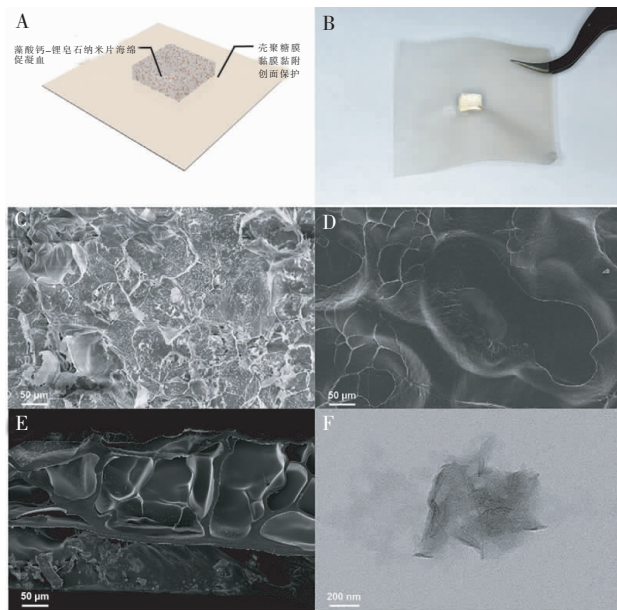


图2 止血复合膜的宏观与微观表征。A、B. 止血复合膜的结构示意图与宏观照片;C、D、E. 止血复合膜正面、反面与截面的SEM特征;F. lap 纳米片的TEM特征

Figure 2 Macroscopic and microscopic characterization of chitosan-calcium alginate-laponite nanosheet composite membrane. A,B. Schematic diagram and photograph of chitosan-calcium alginate-laponite nanosheet composite membrane; C,D,E. SEM characteristic of face, back and section of chitosan-calcium alginate-laponite nanosheet composite membrane; F. TEM characteristic of laponite nanosheet

2.2 止血复合膜的XRD分析结果

通过比较壳聚糖-藻酸钙膜与壳聚糖-藻酸钙-锂皂石纳米片止血复合膜的XRD相对强度可发现,止血复合膜在 20° 区域的相对强度显著增强,在 35° 区域也有一定增强,而 $23\sim 24^\circ$ 区域的相对强度显著减小,与文献^[11]中锂皂石纳米片的XRD相对强度的峰谷区域有对应关系,证实止血复合膜中存在锂皂石纳米片(图3)。

2.3 止血复合膜的体外凝血实验

结果见图4。4组体外凝血时间之间差异有统计学意义($P<0.001$)。其中,空白组的体外凝血时间为 (296.8 ± 20.6) s,医用纱布组为 (220.6 ± 16.8) s,海壳生®组为 (203.8 ± 5.1) s,止血复合膜组为 (177.8 ± 6.3) s。止

血复合膜组的体外凝血时间显著少于其他3组。

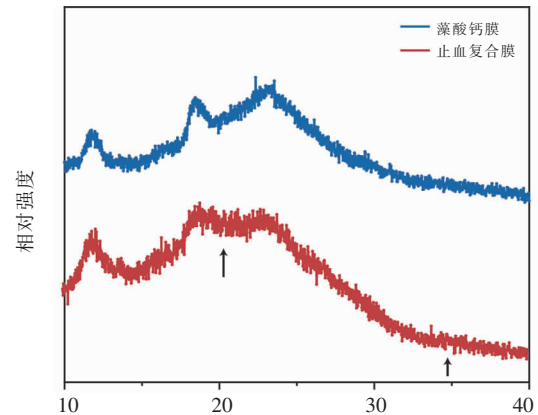


图3 壳聚糖-藻酸钙膜与止血复合膜的XRD表征

Figure 3 X-ray diffraction patterns of chitosan-calcium alginate composite membrane and chitosan-calcium alginate-laponite nanosheet composite membrane

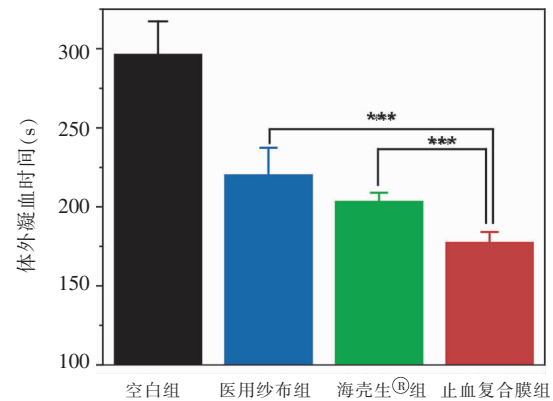


图4 体外凝血实验 (** $P<0.001$)

Figure 4 *In vitro* blood coagulation test (** $P<0.001$)

2.4 细胞相容性实验结果

NIH/3T3细胞系与空白对照组,壳聚糖-藻酸钙组及止血复合膜组共培养24 h和48 h内,相同时间点各组吸光度值差异无统计学意义($P>0.05$,图5,表1)。

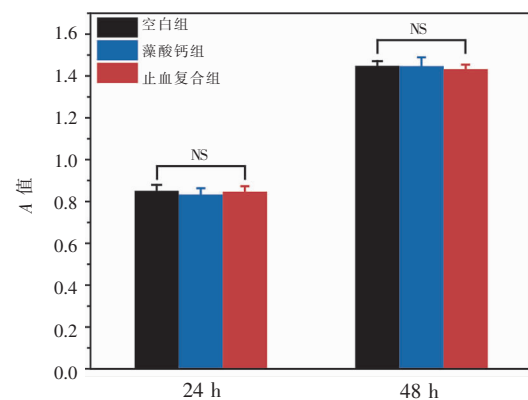


图5 细胞毒性实验结果(NS;无统计学差异)

Figure 5 Cell compatibility experiments (NS: no significant difference)

表 1 各组材料与 NIH/3T3 细胞共培养不同时间后的细胞计数比较 (A_{450} 值)

Table 1 Comparison of cell counting (measured by absorbance) of NIH/3T3 cells after co-culture with different materials (A_{450} 值)

组别	24 h	48 h
空白组	0.851±0.028	1.448 6±0.022 5
壳聚糖-藻酸钙组	0.833±0.030	1.446 4±0.042 5
止血复合膜组	0.847±0.026	1.432 6±0.021 1
<i>P</i> 值	0.592	0.673
<i>F</i> 值	0.548	0.409

2.5 止血复合膜对比格犬口腔内创面的止血效果

对于浅表黏膜创面模型,止血复合膜的壳聚糖膜部分紧密贴附于创面周围的口腔黏膜,其止血海绵部分迅速吸收已流出血液,并实现快速止血。对于拔牙创面模型,止血海绵部分在吸收流出血液后软化,随按压变形后进入拔牙窝中,迅速止血,两侧壳聚糖膜部分紧密贴附于牙龈表面。对于浅表口腔黏膜创面以及拔牙创面,止血复合膜均可很好实现快速止血,并保留于创面上,起到良好的创面保护作用(图 6)。

3 讨论

口腔内流血创面的处理一直是临床面临的重要挑战之一。首先,由于颌面部血运丰富,口腔内创面出血量大,难以实现快速止血;其次,部分口腔黏膜(如硬腭黏膜与附着龈)与其下的骨组织结合紧密,口腔内创面往往难以实现一期缝合,创面在愈合过程中易受细菌食物残渣等影响^[12];最后,目前临床上缺乏合适的口腔内止血敷料,以最常用的明胶海绵为例,尽管其能促进血小板吸附凝集并激活自身凝血反

应,从而实现口腔内创面止血,但在吸收大量血液后易软化膨胀,无法起到隔绝并保护伤口的作用^[13]。因此理想的口腔止血材料应兼备以下特点:①具有较好的促凝血效果;②可较好贴敷于口腔黏膜表面,起到保护口腔黏膜创面的效果;③具有良好的生物相容性以及可降解性。④易于加工成型。

本研究利用自蒸发与冷冻干燥相结合方法,成功研制一种新型口腔止血材料。通过扫描电镜观察,可见止血复合膜分为疏松多孔的藻酸钙-锂皂石纳米片海绵层和均质的壳聚糖膜层两相,两者结合紧密。此外,自蒸发与冷冻干燥技术所需的实验条件较为温和,能够最大限度地保证所用生物材料的活性,防止其在制备过程中发生变性^[14]。

壳聚糖-藻酸钙-锂皂石纳米片止血复合膜的优势在于,通过设计双层结构,在同一止血复合膜上实现了口腔止血材料的不同需求。藻酸钙-锂皂石纳米片海绵层内存在大量微孔,可通过浓缩血液,使局部血小板、凝血酶和红细胞等浓度迅速升高,有利于凝血过程的进行。除酸处理后的壳聚糖膜层可保持良好的弹性与韧性^[15],且具有良好的黏膜黏附能力^[16-17],可较好贴敷在口腔黏膜表面,实现对止血复合膜下创面组织良好的保护作用。

本研究分别测定壳聚糖-藻酸钙-锂皂石纳米片止血复合膜、医用纱布以及海壳生®(一种商用甲壳素可吸收止血敷料)的体外凝血时间,发现止血复合膜的体外凝血时间显著少于空白组,医用纱布组及海壳生®组,具有良好的体外促凝血效果。体外凝血时间缩短,不仅受益于止血复合膜的海绵层结构设计,藻酸钙成分中 Ca^{2+} 以及锂皂石成分也起到关

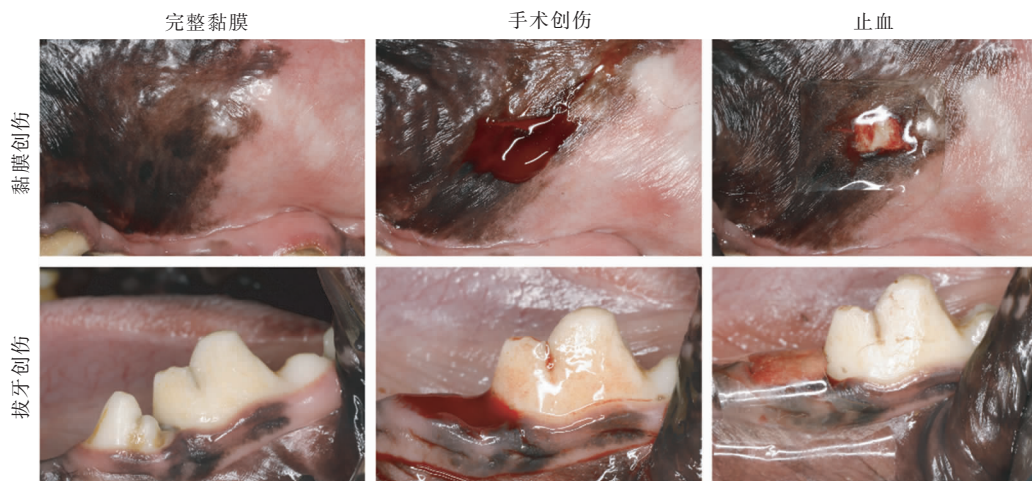


图 6 止血复合膜对比格犬口腔内创面的止血效果

Figure 6 In vivo hemostatic effect of the composite membrane on oral mucosa of beagles dogs

键作用。由于藻酸钙中 Ca^{2+} 容易被血液中的 Na^{+} 置换,过程中释放大量的 Ca^{2+} (凝血因子IV),可协助内、外源凝血过程的级联反应^[18-19]。锂皂石纳米片引发血液凝固的机制目前尚不完全清楚,但已有研究^[19]证明,向聚合物中添加锂皂石纳米片,可以减少32%~77%的凝血时间;并且凝血时间的减少与锂皂石纳米片的剂量呈正相关,表明锂皂石纳米片在凝血过程中起着重要作用。目前认为,锂皂石纳米片与血浆蛋白、红细胞以及血小板的相互作用,可有效激发凝血级联反应^[7]。早期研究^[20-21]也证明,锂皂石纳米片表面带有大量的电荷,也可引发凝血因子XII的优先活化,通过内源性凝血途径触发凝血过程。

纳米材料的潜在安全性受到广泛关注。一些研究^[22]表明,某些纳米颗粒对细胞正常功能产生干扰,引起严重的细胞毒性反应。锂皂石纳米片的 IC_{50} (4 mg/mL) 较其他常见的纳米材料高2~10倍,且在低浓度下未诱发细胞内活性氮与活性氧的产生,体现出较好的生物相容性^[23]。在体外共培养实验中,止血复合膜与NIH/3T3细胞共培养过程中未发现显著的细胞毒性,可能与藻酸钙与锂皂石纳米片之间形成的强氢键以及离子键作用力相关^[24]。锂皂石纳米片被限制于藻酸钙分子网络中,难以在局部形成高浓度,从而避免对细胞活性的影响。此外,藻酸钙海绵外少部分游离的锂皂石纳米颗粒可通过电荷与蛋白质相互作用,形成“蛋白质冠”,进而被细胞内吞,进入溶酶体代谢^[25]。因此,局部使用含锂皂石纳米片的纳米复合物进行止血,理论上较为安全。

体内建立2种比格犬模型,用以评价止血复合膜对口腔内创面的止血效能,一种为颊黏膜浅表创面模型,一种为临床常见的拔牙创面模型。口腔浅表创面一般创伤范围较为局限,仅涉及黏膜上皮层与黏膜下层组织,出血量一般较小,止血要求较低。本研究发现,在将止血复合膜按压于伤口1 min后,即可达到良好的止血效果;且止血复合膜紧密黏附于口腔黏膜表面,起到良好的创面保护作用。拔牙创面是牙周组织的复合创伤^[26],其创伤面积大,出血量大,很难实现一期缝合,对敷料的止血要求更为严格。由于拔牙区两侧牙列的存在,可将止血复合膜修剪为“工”字形,扩大两侧壳聚糖膜的黏附面积;同时由于海绵层遇水软化,海绵部分可随按压操作进入牙槽窝,进一步扩大其与血液的接触面积,实现快速止血。在按压进入牙槽窝1 min后,由于“工”字形止

血复合膜与牙列、牙槽窝产生机械互锁,使其更稳定地停留于拔牙创之上,起到良好的创面保护作用。

综上所述,本研究构建壳聚糖-藻酸钙-锂皂石纳米片双层止血复合膜,分析其微观结构,评价其细胞毒性及止血性能。结果显示,该止血复合膜在微观条件下分为膜层与海绵层两相,无明显细胞毒性,且可显著缩短凝血时间,动物模型上可达到良好的止血效果,具有作为口腔止血敷料的潜力。

利益冲突声明:无。

作者贡献声明:吴靖负责样品制备、表征、测试,细胞培养及论文撰写;邹多宏负责课题设计及论文修改;张志愿负责课题设计。

[参考文献]

- [1] 邵小钧, 庞恋苏, 袁仕廷, 等. 异种脱细胞真皮基质在口腔颌面部创面修复中的应用[J]. 解放军医学院学报, 2015, 36(9): 900-903, 907.
- [2] 李晓彬, 刘禄斌, 刘丹彦. 口腔颌面部创伤的急救和麻醉处理[J]. 创伤外科杂志, 2003, 5(2): 89-90.
- [3] 张智杰, 王瑜, 陈晓凤, 等. 口腔可溶性羟乙基止血纱布的止血性能及生物相容性研究[J]. 口腔医学, 2014, 34(1): 31-34.
- [4] Nooh N, Graves DT. Healing is delayed in oral compared to dermal excisional wounds [J]. J Periodontol, 2003, 74(2): 242-246.
- [5] Dhivya S, Padma VV, Santhini E. Wound dressings - a review [J]. Biomedicine (Taipei), 2015, 5(4): 22-22.
- [6] Becher TB, Braga CB, Bertuzzi DL, et al. The structure-property relationship in LAPONITE® materials: from Wigner glasses to strong self-healing hydrogels formed by non-covalent interactions [J]. Soft Matter, 2019, 15(6): 1278-1289.
- [7] Gaharwar AK, Cross LM, Peak CW, et al. 2D nanoclay for biomedical applications: regenerative medicine, therapeutic delivery, and additive manufacturing [J]. Adv Mater, 2019, 31(23): e1900332.
- [8] Dawson JJ, Kanczler JM, Yang XB, et al. Clay gels for the delivery of regenerative microenvironments [J]. Adv Mater, 2011, 23(29): 3304-3308.
- [9] Velu R, Calais T, Jayakumar A, et al. A comprehensive review on bio-nanomaterials for medical implants and feasibility studies on fabrication of such implants by additive manufacturing technique [J]. Materials (Basel), 2019, 13(1): 92-92.
- [10] Taketa T, Beppu M. Layer-by-layer thin films of alginate/chitosan and hyaluronic acid/chitosan with tunable thickness and surface roughness[J]. Mater Sci Forum, 2014, 783: 1226-1231.
- [11] Cunha VRR, Lima FCDA, Sakai VY, et al. LAPONITE®-pilocarpine hybrid material: experimental and theoretical evaluation of pilocarpine conformation [J]. RSC Advances, 2017, 7(44): 27290-27298.
- [12] Freedman M, Stassen LF. Commonly used topical oral wound dressing materials in dental and surgical practice—a literature re-

- view [J]. J Ir Dent Assoc, 2013, 59(4): 190–195.
- [13] 王静娟, 胡开进, 刘平, 等. 拔牙窝止血类覆盖及充填材料的选择及应用[J]. 中国实用口腔杂志, 2017, 10(10): 586–589.
- [14] Emami F, Vatanara A, Park EJ, et al. Drying technologies for the stability and bioavailability of biopharmaceuticals[J]. Pharmaceutics, 2018, 10(3): 131–131.
- [15] He Q, Ao Q, Gong Y, et al. Preparation of chitosan films using different neutralizing solutions to improve endothelial cell compatibility [J]. J Mater Sci Mater Med, 2011, 22(12): 2791–2802.
- [16] Khutoryanskiy VV. Advances in mucoadhesion and mucoadhesive polymers [J]. Macromol Biosci, 2011, 11(6): 748–764.
- [17] Sogias IA, Williams AC, Khutoryanskiy VV. Why is chitosan mucoadhesive? [J]. Biomacromolecules, 2008, 9(7): 1837–1842.
- [18] Agarwal A, Mcanulty JF, Schurr MJ, et al. Advanced wound repair therapies [M]. Sawston: Woodhead Publishing Limited, 2011: 186–208.
- [19] Gaharwar AK, Avery RK, Assmann A, et al. Shear-thinning nanocomposite hydrogels for the treatment of hemorrhage [J]. ACS Nano, 2014, 8(10): 9833–9842.
- [20] Baker SE, Sawvel AM, Zheng N, et al. Controlling bioprocesses with inorganic surfaces: layered clay hemostatic agents [J]. Chem Mater, 2007, 19(18): 4390–4392.
- [21] Lokhande G, Carrow JK, Thakur T, et al. Nanoengineered injectable hydrogels for wound healing application [J]. Acta Biomater, 2018, 70: 35–47.
- [22] 高广宇, 陈美玲, 李明媛, 等. 纳米技术转化医学发展现状及前景展望[J]. 药科学报, 2015, 50(8): 919–924.
- [23] Gaharwar AK, Mihaila SM, Swami A, et al. Bioactive silicate nanoplatelets for osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells[J]. Adv Mater, 2013, 25(24): 3329–3336.
- [24] Liu B, Li J, Lei X, Miao S, et al. Cell-loaded injectable gelatin/alginate/LAPONITE[®] nanocomposite hydrogel promotes bone healing in a critical-size rat calvarial defect model [J]. RSC Adv, 2020, 10(43): 25652–25661.
- [25] Tomás H, Alves CS, Rodrigues J. Laponite[®]: a key nanoplatform for biomedical applications? [J]. Nanomedicine, 2018, 14 (7): 2407–2420.
- [26] Cho YD, Kim KH, Lee YM, et al. Periodontal wound healing and tissue regeneration: a narrative review [J]. Pharmaceutics(Basel), 2021, 14(5): 456–456.

《口腔医学解剖图谱》出版发行

由郑家伟教授组织国内 19 名专家翻译, 邱蔚六院士作序的《口腔医学解剖图谱》(原著第 3 版, ISBN:978-7-5478-5777-9)一书, 近日由上海科学技术出版社出版发行。

本书是一本不可多得的医学畅销书, 由纽约大学牙医学院基础科学与颅面生物学系 Eric W. Baker 教授主编, 是一本实用性极强的口腔医学解剖图谱。全书共 15 章, 通过简明扼要的文字叙述、大量精美的专业绘图和清晰明了的总结表格, 阐述了口腔医学专业人员需要了解的局部和全身解剖学知识, 包括头部、颈部、断层解剖和身体其他部位解剖, 以及临床口腔相关疾病或手术注意事项。

原著第 3 版在保留上版特色的基础上, 对神经解剖学部分进行了重新组织, 增加了影像学图片、对几种通常被用作标记的结构讨论, 以及一些在美国牙科综合考试(INBDE)中使用的题型。

本书语言精练, 用词准确、规范, 融科学性、知识性、可读性和指导性于一体。本书可作为广大口腔专业医学生、研究生、临床医师和相关学科(耳鼻咽喉-头颈外科、眼科、神经外科、整形外科等)专业人员的案头参考工具书, 也是一部理论联系实际的口腔医学解剖学专著。

本书在全国各大新华书店有售, 定价为 450.00 元。上海科学技术出版社天猫旗舰店、当当网、京东等有售, 上海科学技术出版社客户服务部邮购, 联系电话:021-64085630(孙勇)。

