

• 综述 •

角蛋白生物医学应用研究进展

王丽娟, 杜劲松, 胡海萍, 韩晓, 商钰爽, 袁江*, 沈健*

(江苏省生物功能材料重点实验室, 南京师范大学化学与材料科学学院, 南京 210023)

摘要:角蛋白是一种结构稳定, 生物相容性良好的可再生资源, 由于其良好的生物相容性、自然丰度和独特的分子结构而被广泛应用于生物医学领域。本文首先介绍了角蛋白的结构特点和提取方法, 重点阐述人发角蛋白材料在药物缓释、伤口修复、组织工程等领域的应用。最后, 对角蛋白生物材料的未来发展趋势进行了展望。

关键词:角蛋白; 伤口修复; 药物缓释; 组织工程

Research Progress of Keratin in Biomedical Applications

WANG Li-juan, DU Jin-song, HU Hai-ping, HAN Xiao, SHANG Yu-shuang, YUAN Jiang*, SHEN Jian*

(Jiangsu Key Laboratory of Biofunctional Materials, College of Chemistry and Materials Science,
Nanjing Normal University, Nanjing 210023, China)

Abstract: Keratin is a kind of renewable resources with stable structure and great biocompatibility, which has been widely used in biomedical field due to its good biocompatibility, natural abundance, and unique molecular structure. In this review, the structure property and extraction of keratin are introduced. Especially, the biomedical applications of keratin materials in the fields of drug release, wound repair, and tissue engineering are emphasized. Finally, the future development trend is forecasted.

Keywords: Keratin; Wound repair; Drug release; Tissue engineering

天然高分子材料具有良好的生物相容性、生物降解性和低毒性等特性, 被广泛应用于组织工程、药物缓释以及植入性医用材料等生物医学领域^[1]。在众多天然高分子材料中, 角蛋白材料凭借着优异的细胞功能和独特的分子结构而被广泛研究^[2]。角蛋白来源众多, 可以从人发、羊毛、指甲等材料中进行提取^[3]。我国每年有大量的毛发废弃物没有得到有效利用, 这不仅浪费了资源, 还会造成环境污染。使用人发作为原料来提取制备角蛋白不仅符合循环经济理念, 且人源生物材料在进入人体后只会引起较低的免疫反应, 这些优点使得人们逐渐意识到人发角蛋白材料巨大的发展潜力。十年来, 随着科技的发展, 角

蛋白研究和开发取得了重要的进展^[4]。为了让更多的科研人员快速了解角蛋白, 共同探索角蛋白材料的潜力, 本文从角蛋白的结构功能、提取以及在生物医学领域的近期生物医学应用等进行综述。

1 角蛋白的结构与提取

1.1 角蛋白的结构及特性

人们最初将动物的皮肤或皮肤附属物(如头发、指甲、壳等)中一些不溶性蛋白统称为角蛋白。根据硫的含量不同, 角蛋白可以分为硬角蛋白与软角蛋白两大类。硬角蛋白中的硫含量约为 5%, 而软角蛋白中的硫含量约为 1%^[5]。硬角蛋白较

收稿: 2022-03-22; 修回: 2022-05-04

基金项目: 生物医药功能材料国家地方联合创新服务平台建设(2014103SB90102), 江苏省教育厅基金(19KJA310001)

作者简介: 王丽娟(1997-), 女, 山东菏泽人, 博士研究生, 从事高分子生物功能材料研究

* 通讯联系人: 袁江, E-mail: jyuan@njnu.edu.cn; 沈健, E-mail: jshen@njnu.edu.cn

doi:10.14028/j.cnki.1003-3726.2023.01.004

软角蛋白有更高的硫含量,结构牢固,因而有着更好的物理和化学稳定性^[6]。人发角蛋白中含有丰富的半胱氨酸,硫含量较高,属于硬角蛋白。此外,由于半胱氨酸含量丰富,人发角蛋白一级结构中肽链内部以及相邻肽链之间可以通过二硫键交联形成稳定而坚韧的结构^[7](图 1a)。由于氨基酸侧链上活性基团的各种相互作用,角蛋白肽链并不是一条直链,它具有不同的二级结构。根据蛋白二级结构中不同的螺旋和折叠方式,人发角蛋白又可分为 α 角蛋白、 β 角蛋白及 γ 角蛋白。 α 角蛋白,二级结构为 α 螺旋,在人发中的含量约为50%~60%,硫含量相对较低,平均摩尔质量在60~80 kDa之间。 β 角蛋白的二级结构为 β 折叠结构,溶解性较差。 γ 角蛋白硫含量高,分子量低(约15 kDa),在人发中约占20%~30%。 α 角蛋白具有良好的伸缩性能,而 β 角蛋白的抗张性能

较好。两种角蛋白在一定条件下可以相互转化, α 角蛋白经湿热处理后拉伸可变为 β 角蛋白, β 角蛋白经加热处理后可转变为 α 角蛋白^[8]。人发纤维主要包含角质层、皮层和髓质三个部分,其中角质层分布在头发纤维的外表面起保护内层免受物理和化学损伤、保持水分的作用,主要由5~12层的 β 角蛋白构成。皮层的组成部分为 α 角蛋白、 γ 角蛋白及一些黑色素颗粒。不同结构的角蛋白在人发中发挥着不同的功能。 α 角蛋白中有大量的 α 螺旋并列,它们依靠彼此之间的半胱氨酸残基形成二硫键聚集在一起,其聚集而成的微原纤维结构被称为角蛋白中间丝(KIFs),具有良好的伸缩性,是皮质的主体。 γ 角蛋白的硫含量高,主要功能是作为二硫化物交联剂将皮质上层结构连接在一起,也被称作角蛋白连接蛋白(KAPs)。髓质是位于角蛋白纤维中间的轴向细胞流^[9~11]。

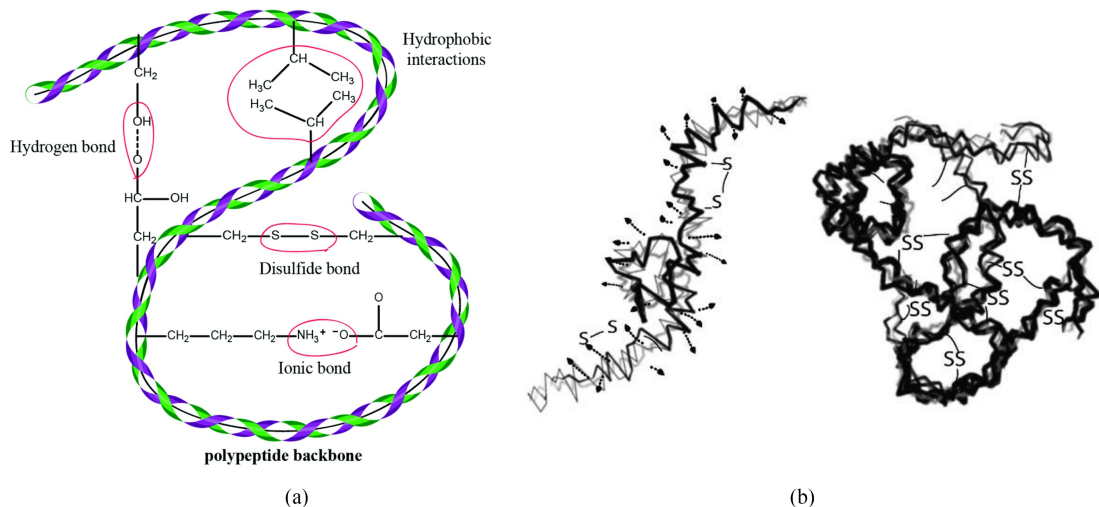


图 1 (a)角蛋白分子间和分子内键;(b)SDS阻止蛋白质链聚集^[7](2017 The Royal Society of Chemistry 版权许可)

Figure 1 (a) Intermolecular and intramolecular bonds of keratin; (b) Protein chain aggregation prevent from SDS (Reprinted with permission from Ref. [7]; Copyright 2017 The Royal Society of Chemistry)

与常见的胶原、丝素、明胶蛋白相比,角蛋白在来源、结构和特点等方面有所不同,因而用途不同(表 1)。胶原、明胶蛋白作为人体内丰富的蛋白质,具有抗氧化和无抗原性,可被用于伤口愈合及组织填充等领域,但降解快,机械性能较差^[12]。丝素蛋白具有较强的自组装性能,无须化学交联即可加工制成薄膜、水凝胶、多孔海绵、三维多孔支架等多种形式的生物材料,但存在着耐热性差,降解速率过慢等缺点^[13]。角蛋白来源丰富,成本低廉,且容易提取制备。角蛋白生物相容性好,自身具有一定的抗菌性能。同时,角蛋白中大量的二

硫键赋予角蛋白还原性敏感、氧化性敏感等特性。

1.2 角蛋白的提取

角蛋白分子内不同肽链之间主要由氢键、盐式键和二硫键形成稳定的空间结构。二硫键是维持人发角蛋白稳定的主要因素,二硫键含量越多其结构越稳定,抗拉伸性能越强。大量的二硫键赋予人发稳定的物理和化学性质,不溶于普通溶剂或温和的酸碱,使得从人发中提取角蛋白尤为困难^[14,15]。用较强的酸碱溶解角蛋白后获得的是分子量较小的角蛋白。打破角蛋白分子内的二硫键、氢键和盐式键,保护蛋白质的一级结构,获得

表 1 角蛋白与其他常见蛋白的来源、结构及其特点比较

Table 1 Comparison of source, structure, and characteristics of keratin with other proteins

蛋白种类	来源	结构	氨基酸组成	特点
角蛋白	毛发、羽毛、角、蹄、指甲	α -螺旋(α 角蛋白)和 β -折叠(β 角蛋白)	由 19 种氨基酸构成	抗氧化、生物相容性好、无免疫原性、提取方法多样并且可缓解毛发造成的资源浪费问题
胶原蛋白	皮肤、骨骼、肌腱、角膜、软骨	三螺旋结构, 2 条 α_1 链和 1 条 α_2 多肽链组成	由小于等于 18 种氨基酸组成	抗氧化、易降解、生物安全性高
丝素蛋白	蚕丝	由重链(H 链)和轻链(L 链), 通过 P25 蛋白的二硫键连接而成	由 18 种氨基酸构成	力学性能优异、高强度、高韧性、提取工艺简单

相对分子质量较高、溶解性较好的角蛋白提取方法一直在探索中。提取角蛋白的方法主要有化学法、物理法和生物法，其中化学还原法最常用(表 2)。变性剂(尿素)和表面活化剂(十二烷基硫酸钠 SDS)的加入有助于增大角蛋白在水中的溶解度和稳定性，并且 SDS 可阻止多肽链聚集防止角蛋白上的半胱氨酸进一步被氧化(图 1b)。化学还原法提取得到的角蛋白中肽键未被破坏而二硫键被打断还原为巯基，具有一定的抗氧化性，并且角蛋白的相对分子量较大，可与其他高分子材料混合并进一步加工制作成生物医用材料以及食品外包装材料。酸碱法处理得到的角蛋白水解物在一定程度上可提高铬鞣革的强度，常被用作皮革填充剂。氧化法是将角蛋白二硫键变为磺酸基，得到的蛋白水溶性较好且分子量小，生物安全性高，因此常用于化妆品以及护发产品的研发制备。离子液体法的成本较高，提取得到的角蛋白溶液具有可纺性，可通过干喷湿纺纺丝工艺制备一系列功能化的角蛋白膜。单一的金属盐提取角蛋白的产率较低，往往结合还原剂使用来提高角蛋白的溶解率。金属盐法制备得到的角蛋白有类似羊毛纤维的结构，不仅可作为纺织原料，而且与一些功能高分子混合纺丝可制备新型功能纤维。物理法提取角蛋白的工艺较为粗糙，并且蛋白变性严重，但由于角蛋白富含多种氨基酸，营养价值高，可用作饲料喂养家禽，可以减少毛发对环境的污染，具有一定的社会效益和显著的经济效益。角蛋白酶能特异地水解角蛋白，将角蛋白废弃物转变成有价值的产物，如饲料以及土壤修复剂，但此方法耗费时间较长以及受环境条件等因素的限制。角蛋白的提取方法多样且各有利弊，研究者可根据不同应用需求结合多种方法来提取制备角蛋白。

2 角蛋白材料的生物医学应用

2.1 伤口愈合

皮肤是人体最大的器官，具有保护人体、调节体温和感受外界刺激等诸多功能^[33]。但是，皮肤极易因物理刺激、热损伤或者疾病等因素而缺损或破裂^[34]。伤口愈合是一个复杂的过程，大体可分为四个阶段：(1)炎症阶段；(2)细胞迁移阶段；(3)细胞增殖阶段；(4)组织重塑阶段。此外，造成伤口的原因(物理创伤、烧伤、疾病)、伤口周围是否是潮湿环境等都是影响皮肤组织再生的因素^[35,36]。

为了促进伤口愈合、避免伤口处感染和其他二次伤害，伤口敷料被广泛应用于愈合过程^[37]。传统的伤口敷料，如纱布等，主要是为伤口处提供物理屏障，保护伤口处免受细菌感染，并吸收伤口渗出物而保持伤口处干燥。然而，当有大量渗出物时，纱布敷料在剥落时很容易造成二次损伤。理想的伤口敷料不仅要提供湿润环境来促进伤口愈合，还要具有良好的透气性以及能够防止细菌感染。虽然壳聚糖、海藻酸钠等多种生物材料已被报道用于制备伤口敷料^[38~40]。然而，这些产品除了能够提供物理屏障外，基本没有促进伤口愈合的能力。

角蛋白具有良好的生物相容性和生物可降解性，因此使用角蛋白材料作为伤口敷料具有天然优势。角蛋白中含有的亮氨酸-天冬氨酸-缬氨酸(LDV)、谷氨酸-天冬氨酸-丝氨酸(EDS)和精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸(RGD)等细胞结合基序有利于细胞的结合和附着，进而加速伤口的愈合^[41~43]。除此之外，研究表明角蛋白具有快速凝血和聚集红细胞的作用^[44,45]。Wan 等^[46]通过还原法提取得到富含巯基的可溶性角蛋白，并合成了 S-亚硝基化角蛋白一氧化氮供体。该生物大分

表 2 角蛋白提取的方法、原理、特点及简要描述

Table 2 The principles, properties, and description for keratin extraction

方法分类		原理	特点	简要描述
化学法	化学还原法	将角蛋白中的二硫键还原成巯基,从而得到可溶性角蛋白	该法为常用的提取角蛋白的方法,还原剂只打破了分子间的二硫键而不会破坏肽键,使得提取的角蛋白相对分子质量较高,且最大程度的保护了巯基	采用的还原剂包括 β -巯基乙醇 ^[16,17] 、硫化钠 ^[18] 、焦亚硫酸钠 ^[19] 、半胱氨酸 ^[20,21] 、巯基乙酸 ^[22]
	酸碱处理法	利用酸碱处理,使毛发纤维溶胀,然后在一定的温度下使角蛋白溶解,得到可溶性角蛋白	在酸碱处理过程中角蛋白大分子的肽键容易断裂,使得提取的角蛋白相对分子质量较低,溶解度小且酸碱会对环境造成污染	采用氢氧化钠等强碱,盐酸、三氯乙酸等强酸 ^[23]
	化学氧化法	通过氧化剂将人发角蛋白中的二硫键氧化成磺酸基团,从而得到具有水溶性基团的角蛋白	该法氧化过程中在一定程度上破坏了肽键,使得提取的角蛋白相对分子质量较低	采用的氧化剂包括过氧乙酸 ^[24] 、过氧化氢、过氧甲酸、次氯酸钠 ^[25,26]
	金属盐法	利用能破坏氢键的金属盐溶剂来溶解人发纤维,常与还原剂共同配合使用	该反应不易控制,提取的角蛋白相对分子质量分布较广,且溶解度较低	采用的金属盐包括氯化锌、氯化锂 ^[27] 等,金属盐在角蛋白的提取中起辅助作用
	铜氨溶液法	利用铜氨溶液破坏分子间的氢键,一般与还原剂共同配合使用	铜氨溶液对肽键破坏的程度较大,提取的角蛋白相对分子质量较低	铜氨溶液在角蛋白的提取中起辅助作用
	离子液体法	利用离子液体破坏分子间的氢键、二硫键及其他分子间作用力,来使得蛋白质溶解	该法有较好的发展前景但成本较高,提取的角蛋白相对分子质量较高	采用的离子液体有 1-烯丙基-3-甲基咪唑氯盐离子液体、1- 羟基乙基 -3- 甲基咪唑双(三氟甲基磺酰基)酰胺疏水性离子液体 ^[28,29] 等,离子液体在角蛋白的提取中起辅助作用
物理法	高温高压水解法	利用高温高压破坏胱氨酸及其部分二硫键,打破蛋白质分子稳定的空间结构,得到可溶性角蛋白	该法工艺条件不易控制、设备落后,提取的角蛋白相对分子质量较低,且蛋白变性严重	原料→除杂、除尘→清洗、甩干→装罐→密封→蒸气加压、高温、搅拌→排气、排污→干燥→粉碎→过筛→包装 ^[30]
	膨化法	利用膨化机内高温高压的条件以及剪切作用,破坏蛋白质稳定的空间结构,打破二硫键,使蛋白质溶解	该法工艺条件简单、设备少且加工成本较低,但单一的膨化法会使得二硫键崩解,会对半胱氨酸的可利用性产生不利影响,一般先用酶处理水解后再结合膨化法,可解决单一膨化法的弊端	原料→粉碎→进料仓→配料→筛分→微粉碎→混合→调质→膨化→干燥→冷却→喷涂→成品(温度达 210 ℃ 以上压力在 1.0~1.5 MPa 之间) ^[31]
生物法	酶解法	利用角蛋白酶对角蛋白进行降解,将难溶性角蛋白溶解为可溶性角蛋白	该法耗时较长且成本相对较高,但却减少了化学法对于环境造成的污染,提取的角蛋白溶解率较高,但相对分子质量较低	碱性蛋白酶、角蛋白酶 ^[32]

子供体具有生物毒性低,负载量大,稳定性好等特点,后与聚己内酯和明胶共混纺丝得到了一种有效促进细胞粘附生长以及伤口愈合的纳米纤维敷料(图 2)。角蛋白材料的优良特性使其广泛应用于各种急性(如机械、烧伤)或慢性(如糖尿病、溃疡、持续感染)伤口的治疗当中。Trevor 等^[47]分别使用还原法和氧化法从人发中提取了还原性角蛋白和角质物质,这两种物质按不同比例混合所

制备的水凝胶能够有效地调控所负载的人胰岛素生长因子的释放速率。创伤出现后受外界环境的影响往往会伴随着细菌感染^[48]。Saul 等^[49]制备了负载环丙沙星的角蛋白水凝胶敷料,在促进伤口愈合的同时还能够持续释放抗生素,降低伤口细菌感染的风险。虽然角蛋白具有很多的优点,但是其硬度低,力学性能差。Zhai 等^[50]制备了角蛋白-壳聚糖-ZnO 水凝胶,这种复合材料除了能够

促进伤口愈合、防止细菌感染外,还具有良好的机械性能。Han 等^[51]采用共价和离子双交联策略制备了聚(*N*-异丙基丙烯酰胺)/角蛋白双网络自剥离水凝胶,降低了给病人造成二次伤害的可能性。郝石磊课题组^[52]基于角蛋白良好的创面愈合和止血作用以及胰岛素调节胶原沉积的能力,制备了一种角蛋白-胰岛素共轭水凝胶伤口敷料,此敷料可有效吸收创面渗出液并促进大鼠创口愈合。杨光课题组^[53]基于二硫键重组策略制备了一

种由葡萄糖触发的原位氧化生成角蛋白水凝胶,该角蛋白凝胶可有效促进糖尿病伤口的血管新生(图 3)。除了凝胶形式的伤口敷料,Luo 等^[54]以人发角蛋白为材料使用乳液扩散法制备了一种用于止血的纳米颗粒。这种材料与水凝胶相比不需要事先混合配置,更易于储存携带且具有良好的止血功能。综上,角蛋白由于其良好的生物相容性和止血性,在伤口修复方面具有重要应用,且形式多样。

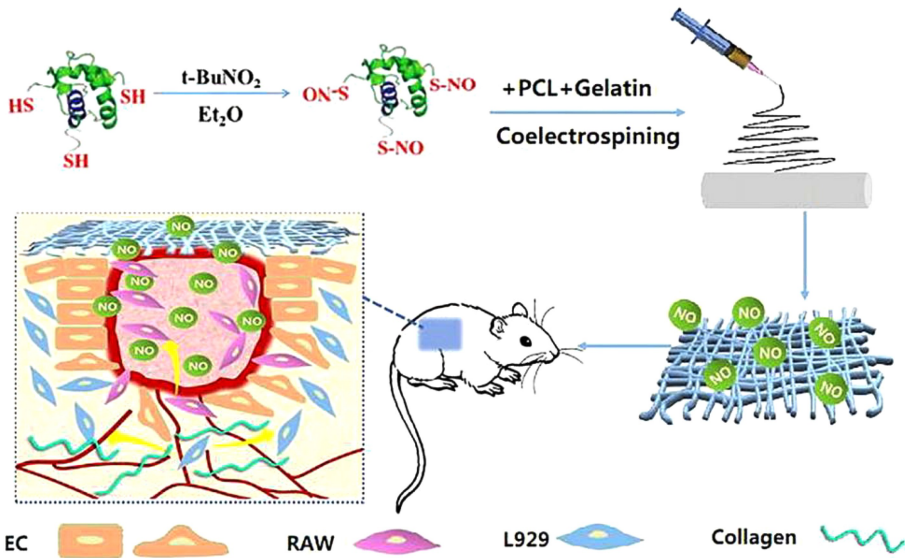


图 2 聚氨酯/明胶/S-亚硝基化角蛋白纳米纤维膜促进伤口愈合^[46] (2020 Elsevier 版权许可)

Figure 2 Polyurethane/Gelatin/S-nitrosated keratin mats for wound healing promotion (Reprinted with permission from Ref. [46]; Copyright 2020 Elsevier)

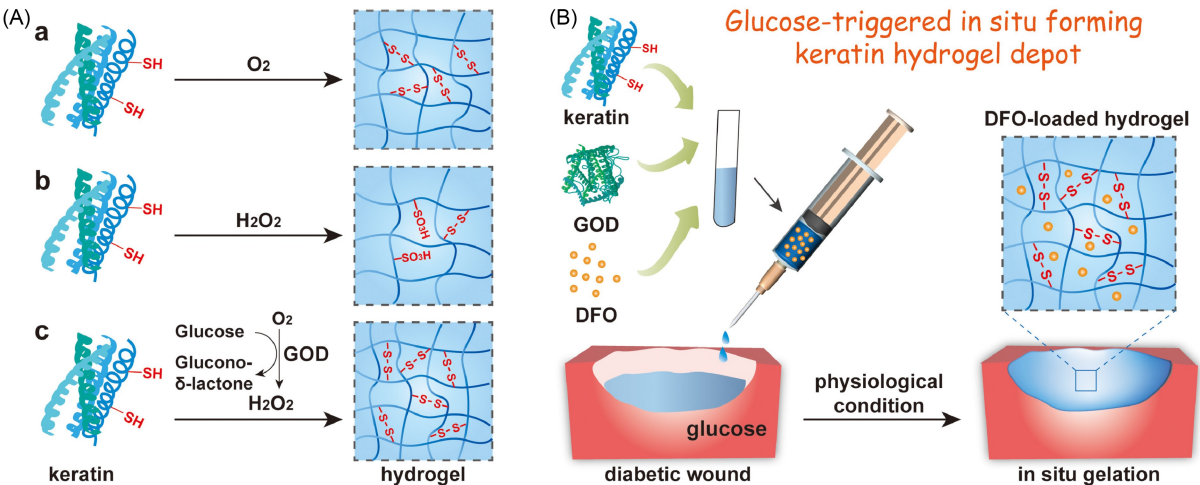


图 3 角蛋白水凝胶用于糖尿病伤口的治疗^[53]:(A)通过 O₂ 氧化、直接加入 H₂O₂ 溶液和通过 GOD 催化葡萄糖氧化间接补充 H₂O₂ 的方法形成凝胶机制示意图;(B)葡萄糖原位触发水凝胶作为治疗糖尿病伤口的药库 (2021 Elsevier 版权许可)

Figure 3 Keratin hydrogel for diabetic wound treatment:(A) schematic illustrations of gelation mechanisms by O₂ oxidation, direct addition of H₂O₂ solution, and indirect, H₂O₂ supplement method *via* GOD-catalyzed glucose oxidation; (B) glucose-triggered *in situ* forming keratin hydrogel as a drug depot for the treatment of diabetic wounds (Reprinted with permission from Ref. [53]; Copyright 2021 Elsevier)

2.2 药物释放载体

药物释放系统(DDS)是一种将药物运送到人体内进行治疗的方法。负载的药物可以在人体内的靶点区域以可控的方式进行选择性释放,具有较好的治疗效果和较低的毒副作用,因此 DDS 引起了人们的广泛关注^[55,56]。由于聚合物材料容易加工以及天然衍生材料具有优越的生物相容性等特点,人们使用许多聚合物材料如 PCL、PLGA、PLLA 和天然高分子材料如壳聚糖、血清蛋白、胶原、明胶等来构建 DDS^[57]。角蛋白作为天然生物材料,富含大量羟基、羧基和氨基等反应性化学基团,能够与生物活性分子相互作用。角蛋白中还含有众多巯基或二硫键,这为负载药物进行可控释放提供了粘性基质。人发角蛋白作为一种人源材料,在进入人体后只会产生非常低的免疫反应,与透明质酸、明胶等高分子材料相比具有明显优势^[58]。此外,由于肿瘤微环境与正常血液环境相比具有独特的 pH 值、谷胱甘肽(GSH)浓度以及胰蛋白酶浓度,角蛋白作为药物载体材料在肿瘤治疗领域展现出了巨大的发展潜力^[59]。建立安全有效的药物释放系统,将抗癌药物准确递送到目标细胞和器官,可显著提高治疗效果以及克服化疗带来的副作用。肿瘤组织快速增殖以及无氧代谢增加导致乳酸堆积从而使肿瘤部位有着较正常组织器官更低的 pH 值,而人发角蛋白的等电点(pI)为 4.5~5.3^[60]。当 pH 值高于 pI 时,角蛋白去质子化,带负电荷;当 pH 值低于 pI 时,角蛋白质子化,带正电荷。角蛋白的这一物理化学性质为在肿瘤微环境低 pH 中引发的药物释放提供了依据。人体正常血液中 GSH 的浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$,而肿瘤微环境中 GSH 的浓度为 10 mmol/L 。角蛋白药物载体在进入肿瘤区域后,较高浓度的 GSH 会打断角蛋白的二硫键,破坏药物载体结构从而释放药物。除此之外,肿瘤组织内含有大量的炎症细胞,造成了胰蛋白酶的过量表达,角蛋白中赖氨酸和精氨酸组成的肽键可被胰蛋白酶裂解,产生无毒的多肽和氨基酸^[61,62]。一般而言,药物载体的载药机理可分为物理包埋、化学偶联、静电作用和络合作用。角蛋白药物载体的药物释放速率主要取决于载体上药物的扩散、药物载体降解或两者相加的速率。一般而言,低分子量药物通过自由扩散实现药物的快速释放,大分子量药物则更多地依赖于载体的降解来释放所负载的

物。Li 等^[63]以角蛋白为材料在不使用交联剂和有机溶剂的情况下,采用离子凝胶技术制备了负载小分子量抗癌药物阿霉素(DOX)的纳米级别药物载体。这种药物载体的制备过程绿色无毒,具有良好的负载能力且在水溶液中表现出了优秀的稳定性。纳米粒子进入人体后能够通过被动的高通透性和滞留效应(EPR)在肿瘤组织中积累。在模拟肿瘤环境中,药物载体能够在低 pH、高 GSH 和胰蛋白酶的刺激下进行药物释放。通过激光扫描共聚焦显微镜(CLSM)可以观察到药物载体在与癌细胞 A549 共培养后对抗癌药 DOX 的摄取过程。除此之外,这种药物载体能够促进内源性供体 S-亚硝基谷胱甘肽(GSNO)在谷胱甘肽(GSH)存在的情况下释放 NO,一定浓度的 NO 能够使肿瘤细胞致敏,增强化疗药物的抗癌作用。李琴梅等^[64]将 PHPMA 接枝到角蛋白上,并通过巯基自交联形成纳米载药胶束。此胶束可被癌细胞摄取并且肿瘤微环境中高浓度的 GSH 和胰蛋白酶可以有效地触发被封装的 DOX 的释放。Du 等^[65]使用聚乙二醇(PEG)和碘乙酸对还原性角蛋白偶联改性,制备载药胶束。此胶束在生理环境中稳定性强且具有多重刺激响应性。将载药胶束注射到小鼠体内培养两周后,小鼠的体重变化不明显,肿瘤体积和重量均降至最低,这说明载药胶束的细胞毒性较低且具有良好的抗肿瘤作用。Dou 等^[66]通过巯基链转移反应(thiol CTP)将聚磷铵两性离子(PMPC)接枝到角蛋白上。由于两性离子的引入,胶束获得了“隐身性能”,可以获得更长的体内循环时间,有利于药物载体在肿瘤组织的聚集(图 4)。李旭东等^[67]通过一种简单的交联方法制备了 CD44 靶向且双刺激响应的角蛋白和透明质酸载药复合纳米凝胶。该纳米凝胶药物载体在正常生理条件下(10 $\mu\text{mol/L}$ GSH)稳定存在,在胰蛋白酶和肿瘤细胞微环境下(10 mmol/L GSH)可快速释放药物,且角蛋白还可以促进 4T1 肿瘤细胞中 NO 的产生来实现协同抗癌作用。

2.3 组织工程支架

自体移植是组织修复的一种重要方法,并在组织再生方面取得了巨大成功。然而,供体的不足和移植区的高发病率都限制了自体移植的应用。除此之外,与自体移植类似的同种或异种移植也有一定的疾病传播和免疫排斥风险。组织工程技术从再生医学的角度出发,为解决以上治疗

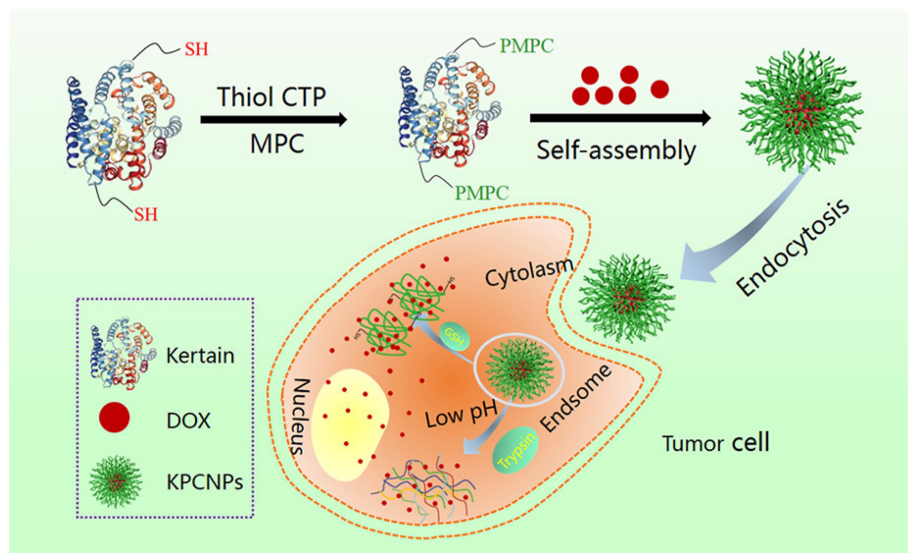


图4 角蛋白-阿霉素(DOX)胶束的形成及在肿瘤微环境下药物的释放^[66](2020 American Chemical Society 版权许可)

Figure 4 Preparation of doxorubicin (DOX) loaded keratin-poly(2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine) (PMPC) micelles and drug release under tumor microenvironments (Reprinted with permission from Ref. [66]; Copyright 2020 American Chemical Society)

方案存在的诸多问题提供了全新的方案。近几十年来,组织工程材料一直被应用于组织和器官的再生、替换或血管、皮肤的修复。组织工程的基本目的是利用单独的生物材料或将其与细胞和生长因子结合后制备出合适的支架系统,其中细胞和生长因子的作用是模拟天然细胞外基质(ECM)的微观和纳米结构,以加强组织的修复和发育^[68]。组织工程支架除了要具有良好的生物相容性和生物降解性外,还应当具有与天然组织一致的机械性能和可重复制备的大小与形貌。此外,材料的微米级别以及纳米级别的表面形貌对细胞粘附、迁移、增殖和分化都有一定影响^[69]。因此,选择一种合适的材料和方法制备组织工程支架极为重要。

淀粉、壳聚糖、胶原蛋白等天然高分子材料具有良好的生物相容性和生物降解性,常被用于制备组织工程支架。但是,淀粉的脆性、壳聚糖的快速生物降解以及胶原蛋白转化为明胶失去三螺旋构象等限制了其在组织工程中的应用^[70,71]。因此,具有较高热稳定性和较低降解率的角蛋白是一种优异的组织工程支架材料^[72~74]。角蛋白纳米纤维结构是一种理想的ECM模拟材料,但由于角蛋白溶液粘度较低,难以获得具有良好形态和性能的纯角蛋白电纺纳米纤维。因此,角蛋白往往与PVA、PCL等聚合物共混来提高材料的力学性能和加工性能。Li等^[75]使用磷铵两性离子改

性角蛋白(PK),再与PCL混合制备了PCL/PK膜。由于两性离子的引入,此膜表现出了良好的抗凝血特性,可以防止血栓的形成。除此之外,角蛋白能够在血液环境中催化内源性NO供体释放NO,从而抑制平滑肌细胞(SMCs)的过度增殖,促进人脐静脉内皮细胞(HUVEC)的黏附、迁移和增殖,加速组织工程支架的内皮化。Wan等^[76]将制备的聚己内酯/角蛋白纳米纤维膜置于氯金酸(HAuCl_4)中,角蛋白丰富的氨基和羧基通过螯合作用和静电作用将金离子束缚并原位还原成金纳米粒子。金纳米粒子除了能够催化内源性NO供体GSNO释放NO外,还具有显著的抗菌活性,可有效避免组织工程支架移植后期的感染问题。Li等^[77]将富含巯基的角蛋白改成一氧化氮供体KSNO并与PCL进行混纺得到一种小口径血管支架。PCL/KSNO小口径血管支架可以长期缓慢释放一氧化氮从而可以快速促进血管内皮化,并且可以抑制平滑肌细胞的过度增殖,体内植入实验显示血管可以保持长期的通畅率且无明显血栓的生成(图5)。角蛋白中二硫键的存在使得其具有比其他生物大分子材料更加优异的力学特性。Singaravelu等^[78]将角蛋白与纤维蛋白和明胶混合并用单宁酸作为交联剂通过冷冻干燥法制备得到了一种具有多孔结构的三维海绵支架。角蛋白中细胞结合基序的存在模拟了细胞外基质的结构,提高了海绵支架材料的生物相容性。并且

支架中的纤维蛋白与角蛋白之间具有良好的相互作用,使支架具有优异的溶胀,降解以及缓慢释放药物的效果。因此,该支架是一种有效的药物治疗皮肤组织再生的生物材料。材料和制备方法的选择对于组织工程支架的性能和应用具有重要影响。Salehi 等^[79] 使用静电纺丝技术将角蛋白与 PHB 混合制备了新型仿生支架用于骨组织工程。角蛋白的加入增大了电纺支架的孔隙率、热稳定性、亲水性、生物降解性以及细胞相容性。同时,

角蛋白与 PHB 之间氢键的形成有效地改善了支架的脆性,提高了支架的拉伸强度。神经支架为神经损伤修复和再生提供了新的策略。研究表明角蛋白与其他材料混纺制备得到的复合纤维支架为细胞生长提供了适宜的微环境,显著促进神经细胞的迁移分化和生长,可有效被机体降解吸收,减少二次手术的伤害^[80]。角蛋白作为功能型神经支架材料对神经组织的缺损修复具有重大研究价值。

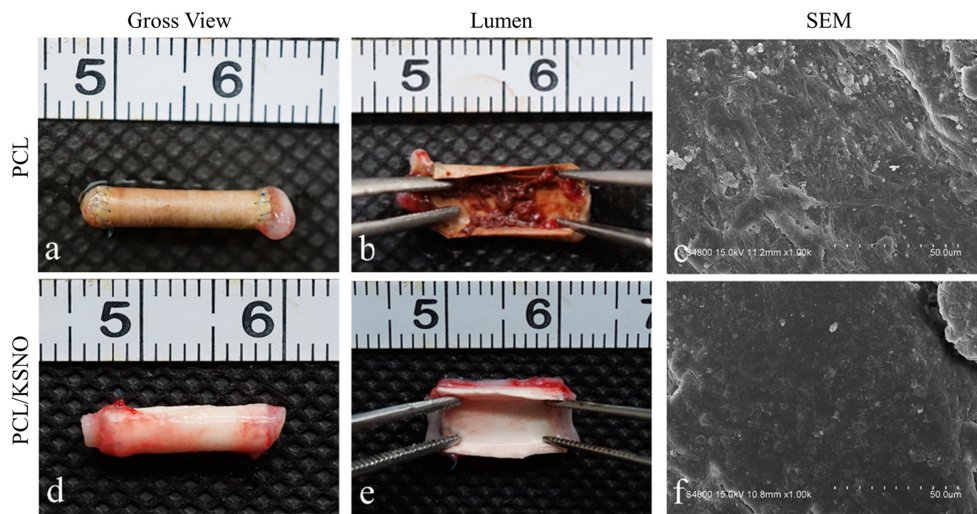


图5 聚己内酯/S-亚硝基化角蛋白复合血管支架动物体内植入一个月后的情况^[77];

(a~c) PCL 移植体和(d~f) PCL/KSNO 移植体大体视野、管腔和内表面扫描电镜示意图(2021 Elsevier 版权许可)

Figure 5 The harvested poly(ϵ -caprolactone)/S-nitrosated keratin biocomposite vascular scaffolds

after surgery for 1 month; the gross view, lumen, and inner surface SEM images of (a—c) PCL graft and

(d—f) PCL/KSNO graft (Reprinted with permission from Ref. [77]; Copyright 2021 Elsevier)

2.4 角蛋白材料的其它应用

角蛋白具有自发自组装和聚合的物理和化学特性,这使得其被开发为各种类型的生物材料。人发角蛋白薄膜就是其中之一,它已被研究多年并被用于大量生物医学应用。Reichl 等^[81] 以人发角蛋白为材料制备了一种基质涂层,通过与标准聚苯乙烯基板的比较来评估系统中细胞的生长行为。除此之外,还评估了胰蛋白酶消化过程中的细胞分离行为。实验结果表明角蛋白涂层的培养皿具有支持细胞粘附和促进细胞生长的效果,是一种新的、有前景的细胞培养基质。羊膜(AM)是一种常用的角膜重建材料,然而羊膜材料透明度和生物力学强度较低。Borrelli 等^[82] 制备了一种角蛋白膜作为羊膜材料的替代产品,与 AM 相比,该膜具有更好的透光性和生物力学强度。3D 打印技术的发展为实现 3D 支架的可复制制作提供

了工具,这项技术可以将计算机辅助设计软件(CAD)设计的微米尺度甚至纳米尺度的 3D 结构模型加载到 3D 打印机上^[83]。一般来说,3D 打印的结构是通过新形成的层附着到前一层,也就是自下而上的方式使用“墨水”进行逐层处理制作^[84]。生物墨水包涵制造生物医学应用的活性结构时所使用的活细胞和其他生物分子^[85]。在实际应用中,生物墨水在打印成支架后既要有一定的形状稳定性又要具有良好的生物学性能,开发合适的生物墨水对 3D 打印的发展及其在组织工程和再生医学中的应用至关重要。与胶原蛋白、明胶和壳聚糖相比,人发角蛋白具有制备成本低、来源广泛的优点。此外,角蛋白通过半胱氨酸残基之间的二硫键自组装形成凝胶的能力在 3D 打印等生物制造领域也是一大优势。Placone 等^[86] 在 3D 打印机中,使用核糖黄素-SPS-对苯二酚(引发

剂-催化剂-抑制剂)光敏溶液通过紫外线交联制备了3D角蛋白打印支架。这种角蛋白支架具有蜂窝状的微观结构特征并且无细胞毒性。

3 角蛋白生物材料的发展趋势

本文主要从角蛋白的结构、提取方法以及其在生物医学领域的应用等方面展开阐述,旨在引起广大科研人员对角蛋白材料的研究兴趣,挖掘其在生物医学领域的更多应用。近年来,生物医学领域中关于角蛋白材料的研究越来越多。角蛋白制备成本低、来源广泛,具有良好的生物相容性和生物可降解性,常被制备为组织工程支架、药物载体等生物医用材料。如今,自然界中的角蛋白资源绝大部分并没有得到充分利用,而回收利用废弃毛发角蛋白资源不仅可以变废为宝,还可以保护生态环境,达到经济效益最大化。角蛋白虽然来源丰富,但是在不同机体组织、不同物种中角蛋白的含量都会有所不同。以人发作为原料提取角蛋白时,烫发、染发会对提取的蛋白质量有所影响,另外还牵涉到相关医学伦理等问题。不同应用领域对角蛋白的性能要求不同,而角蛋白的性能又取决于其提取的方式。李正军等^[87]从应用需求角度给出了相应提取方法的建议。应用于生物医药材料领域,对角蛋白材料的安全性能要求高。提取过程中使用的化学品残留,会对安全性产生负面影响,所以从源头开始就要进行控制,选用无毒、无污染的提取方法为宜。因此,找寻高效、绿色环保的提取方法仍需要继续深入研究。可喜的是,郝石磊等^[88]通过基因重组的方法制备了重组角蛋白。另外,利用角蛋白其独特的分子结构可设计的改性材料不断增多,可研发出具有独特功能的角蛋白基生物医用材料,例如3D墨水^[89]和微针^[90]等。随着角蛋白材料的功能化的研发,角蛋白研究的重视程度也逐渐得到提高^[91,92]。相信随着研究的深入,角蛋白材料的潜力将会被进一步挖掘,从而造福于人类。

参考文献:

- [1] Kalia, S.; Kaith, B. S.; Kaur, I. Pretreatments of natural fibers and their application as reinforcing material in polymer composites—a review. *Polym. Eng. Sci.*, **2009**, 49(7), 1253-1272.
- [2] Varesano, A.; Vineis, C.; Tonetti, C.; Ramírez, D. O. S.; Mazzuchetti, G. Chemical and physical modifications of electrospun keratin nanofibers induced by heating treatments. *J. Appl. Polym. Sci.*, **2014**, 131(15), 40532.
- [3] Ghosh, A.; Collie, S. Keratinous materials as novel absorbent systems for toxic pollutants. *Def. Sci. J.*, **2014**, 64(3), 209-221.
- [4] 李鹏飞, 洪颖, 陈双春, 沈健, 袁江. 角蛋白的提取及其生物医学应用. *高分子通报*, **2013**, (6), 7-11.
- [5] Lee, H. N.; Noh, K.; Lee, S. C.; Kwon, I. K.; Han, D. W.; Lee, I. S.; Hwang, Y. S. Human hair keratin and its-based biomaterials for biomedical applications. *Tissue Eng. Regen. Med.*, **2014**, 11(4), 255-265.
- [6] Strnad, P.; Usachov, V.; Debes, C.; Gräter, F.; Parry, D. A. D.; Omary, M. B. Unique amino acid signatures that are evolutionarily conserved distinguish simple-type, epidermal and hair keratins. *J. Cell Sci.*, **2011**, 124(24), 4221-4232.
- [7] Shavandi, A.; Silva, T. H.; Bekhit, A. A.; Bekhit, A. E. Keratin: dissolution, extraction and biomedical application. *Biomater. Sci.*, **2017**, 5(9), 1699-1735.
- [8] Cao, J. N. Is the alpha-beta transition of keratin a transition of alpha-helices to beta-pleated sheets? Part I. *In situ* XRD studies. *J. Mol. Struct.*, **2000**, 553, 101-107.
- [9] Sierpinski, P.; Garrett, J.; Ma, J.; Apel, P.; Klorig, D.; Smith, T.; Koman, L. A.; Atala, A.; van Dyke, M. The use of keratin biomaterials derived from human hair for the promotion of rapid regeneration of peripheral nerves. *Biomaterials*, **2008**, 29, 118-128.
- [10] Rouse, J. G.; van Dyke, M. E. A review of keratin-based biomaterials for biomedical applications. *Materials*, **2010**, 3, 999-1014.
- [11] Schweizer, J.; Bowden, P. E.; Coulombe, P. A.; Langbein, L.; Lane, E. B.; Magin, T. M.; Maltais, L.; Omary, M. B.; Parry, D. A. D.; Rogers, M. A.; Wright, M. W. New consensus nomenclature for mammalian keratins. *J. Cell. Biol.*, **2006**, 174, 169-174.
- [12] 李芳霞, 孙志丹, 李涛, 陈晓浪, 周先礼, 王晓敏, 王萃娟, 张志斌. 生物医用天然高分子材料研究进展. *化工新型材料*, **2013**, 41(5), 5-6.
- [13] 施心雨, 李艾元, 李诚, 宣智宏, 岳万福. 丝素蛋白在组织工程修复的研究进展. *现代畜牧兽医*,

- 2022**, (3), 78-83.
- [14] Bragulla, H. H.; Homberger, D. G. Structure and functions of keratin proteins in simple, stratified, keratinized and cornified epithelia. *J. Anat.*, **2009**, 214(4), 516-559.
- [15] 徐江涛. 人发角蛋白的提取及其复合材料的制备. 青岛: 青岛大学, **2016**.
- [16] Yamauchi, K.; Yamauchi, A.; Kusunoki, T.; Kohda, A.; Konishi, Y. Preparation of stable aqueous solution of keratins, and physiochemical and biodegradational properties of films. *J. Biomed. Mater. Res.*, **1996**, 31(4), 439-444.
- [17] Nakamura, A.; Arimoto, M.; Takeuchi, K.; Fujii, T. A rapid extraction procedure of human hair proteins and identification of phosphorylated species. *Biol. Pharm. Bull.*, **2002**, 25, 569-572.
- [18] Poole, A. J.; Lyons, R. E.; Church, J. S. Dissolving Feather Keratin Using Sodium Sulfide for Bio-Polymer Applications. *J. Polym. Environ.*, **2011**, 19, 995-1004.
- [19] Vasconcelos, A.; Freddi, G.; Cavaco-Paulo, A. Biodegradable materials based on silk fibroin and keratin. *Biomacromolecules*, **2008**, 9(4), 1299-1305.
- [20] Wang, K.; Li, R.; Ma, J. H.; Jian, Y. K.; Che, J. N. Extracting keratin from wool by using L-cysteine. *Green Chem.*, **2016**, 18, 476-481.
- [21] Chen, M. H.; Ren, X. R.; Dong, L. M.; Li, X. H.; Cheng, H. M.; Preparation of dynamic covalently crosslinking keratin hydrogels based on thiol/disulfide bonds exchange strategy. *Int. J. Biol. Macromol.*, **2021**, 182, 1259-1267.
- [22] Burnett, L. R.; Rahmany, M. B.; Richter, J. R.; Aboushwareb, T. A.; Eberli, D.; Ward, C. L.; Orlando, G.; Hantgan, R. R.; van Dyke, M. E. Hemostatic properties and the role of cell receptor recognition in human hair keratin protein hydrogels. *Biomaterials*, **2013**, 34, 2632-2640.
- [23] Richardin, P.; Gandolfo, N.; Carminati, P.; Walter, P. A new protocol for radiocarbon dating of hair and keratin type samples-application to an andean mummy from the national museum of natural history in Paris. *Archaeol. Anthropol. Sci.*, **2011**, 3(4), 379-384.
- [24] de Guzman, R. C.; Merrill, M. R.; Richter, J. R.; Hamzi, R. I.; Greengauz-Roberts, O. K.; van Dyke, M. E. Mechanical and biological properties of keratose biomaterials. *Biomaterials*, **2011**, 32, 8205-8217.
- [25] Shavandi, A.; Carne A.; Bekhit, A. A.; Bekhit, A'. E. A. An improved method for solubilisation of wool keratin using peracetic acid. *J. Environ. Chem. Eng.*, **2017**, 5, 1977-1984.
- [26] 杨波. 一种新型鸡羽毛角蛋白提取方法的研究. 郑州: 河南农业大学, **2006**.
- [27] 曾春慧, 齐鲁. 还原法与金属盐法结合溶解废旧羊毛. *纺织学报*, **2011**, 32(11), 12-16.
- [28] 张恒, 李戎, 王魁, 菅应凯, 马吉宏. 还原法与离子液体溶解法制备羊毛角蛋白膜. *纺织学报*, **2015**, 36(6), 55-59.
- [29] 孙艳丽, 姚金波, 李博, 贾书刚. 羊毛角蛋白溶液的离子液体法制备. *纺织学报*, **2015**, 36(5), 59-62.
- [30] 周兴华, 姜蕾, 敖波, 李林. 羽毛蛋白开发应用进展. *中国饲料*, **2003**, (20), 28-29.
- [31] 张晓辉, 王志民, 冯有善. 处理废弃羽毛的新工艺——膨化法. *饲料研究*, **2000**, 11, 33-35.
- [32] Sadeghi, S.; Dadashian, F.; Eslahi, N. Recycling chicken feathers to produce adsorbent porous keratin-based sponge. *Int. J. Environ. Sci. Technol.*, **2019**, 16(2), 1119-1128.
- [33] Zhong, S. P.; Zhang, Y. Z.; Lim, C. T. Tissue scaffolds for skin wound healing and dermal reconstruction. *Wires Nanomed. Nanobi.*, **2010**, 2(5), 510-525.
- [34] Bellu, E.; Medici, S.; Coradduzza, D.; Cruciani, S.; Amler, E.; Maioli, M. Nanomaterials in skin regeneration and rejuvenation. *Int. J. Mol. Sci.*, **2021**, 22(13), 7095.
- [35] Chaudhari, A. A.; Vig, K.; Baganizi, D. R.; Sahu, R.; Dixit, S.; Dennis, V.; Singh, S. R.; Pillai, S. R. Future prospects for scaffolding methods and biomaterials in skin tissue engineering: a review. *Int. J. Mol. Sci.*, **2016**, 17(12), 1974.
- [36] Havran, W. L.; Jameson, J. M. Epidermal T cells and wound healing. *J. Immunol.*, **2010**, 184(10), 5423-5428.
- [37] Mogosanu, G. D.; Grumezescu, A. M. Natural and synthetic polymers for wounds and burns dressing. *Int. J. Pharm.*, **2014**, 463(2), 127-136.
- [38] Liang, D. H.; Lu, Z.; Yang, H.; Gao, J. T.; Chen, R. Novel asymmetric wetttable AgNPs/chitosan wound dressing; *in vitro* and *in vivo* evaluation. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2016**, 8(6), 3958-3968.
- [39] Straccia, M. C.; d'Ayala, G. G.; Romano, I.;

- Oliva, A. ; Laurienzo, P. Alginate hydrogels coated with chitosan for wound dressing. *Mar. Drugs*, **2015**, 13(5), 2890-2908.
- [40] Chen, H. N. ; Xing, X. D. ; Tan, H. P. ; Jia, Y. ; Zhou, T. L. ; Chen, Y. ; Ling, Z. H. ; Hu, X. H. Covalently antibacterial alginate-chitosan hydrogel dressing integrated gelatin microspheres containing tetracycline hydrochloride for wound healing. *Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl.*, **2017**, 70(1), 287-295.
- [41] Ye, W. J. ; Qin, M. ; Qiu, R. M. ; Li, J. S. Keratin-based wound dressings: from waste to wealth. *Int. J. Biol. Macromol.*, **2022**, 211, 183-197.
- [42] Wang, Y. F. ; Li, P. F. ; Xiang, P. ; Lu, J. T. ; Yuan, J. ; Shen, J. Electrospun polyurethane/keratin/AgNP biocomposite mats for biocompatible and antibacterial wound dressings. *J. Mater. Chem. B*, **2016**, 4(4), 635-648.
- [43] Yuan, J. ; Geng, J. ; Xing, Z. C. ; Shim, K. J. ; Han, I. ; Kim, J. C. ; Kang, I. K. ; Shen, J. Novel wound dressing based on nanofibrous PHBV-keratin mats. *J. Tissue Eng. Regen. Med.*, **2015**, 9(9), 1027-1035.
- [44] Aboushwareb, T. ; Eberli, D. ; Ward, C. ; Broda, C. ; Holcomb, J. ; Atala, A. ; van Dyke, M. A keratin biomaterial gel hemostat derived from human hair: evaluation in a rabbit model of lethal liver injury. *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.*, **2009**, 90(1), 45-54.
- [45] Rahmany, M. B. ; Hantgan, R. R. ; van Dyke, M. A mechanistic investigation of the effect of keratin-based hemostatic agents on coagulation. *Biomaterials*, **2013**, 34(10), 2492-2500.
- [46] Wan, X. Z. ; Liu, S. ; Xin, X. X. ; Li, P. F. ; Dou, J. ; Han, X. ; Kang, I. K. ; Yuan, J. ; Chi, B. ; Shen, J. S-nitrosated keratin composite mats with NO release capacity for wound healing. *Chem. Eng. J.*, **2020**, 400, 125964.
- [47] Ham, T. R. ; Lee, R. T. ; Han, S. ; Haque, S. ; Vodovotz, Y. ; Gu, J. N. ; Burnett, L. R. ; Tomblyn, S. ; Saul, J. M. Tunable keratin hydrogels for controlled erosion and growth factor delivery. *Biomacromolecules*, **2016**, 17(1), 225-236.
- [48] Prokuski, L. Treatment of acute infection. *J. Am. Acad. Orthop. Surg.*, **2006**, 14(10), S101-S104.
- [49] Saul, J. M. ; Ellenburg, M. D. ; de Guzman, R. C. ; van Dyke, M. Keratin hydrogels support the sustained release of bioactive ciprofloxacin. *J. Biomed. Mater. Res. A*, **2011**, 98(4), 544-553.
- [50] Zhai, M. C. ; Xu, Y. C. ; Zhou, B. ; Jing, W. B. Keratin-chitosan/n-ZnO nanocomposite hydrogel for antimicrobial treatment of burn wound healing: characterization and biomedical application. *J. Photochem. Photobiol. B*, **2018**, 180, 253-258.
- [51] Han, X. ; Yang, R. ; Wan, X. Z. ; Dou, J. ; Yuan, J. ; Chi, B. ; Shen, J. Antioxidant and multi-sensitive PNIPAAm/keratin double network gels for self-stripping wound dressing application. *J. Mater. Chem. B*, **2021**, 9(31), 6212-6225.
- [52] Li, W. F. ; Gao, F. Y. ; Kan, J. L. ; Deng, J. ; Wang, B. C. ; Hao, S. L. Synthesis and fabrication of a keratin-conjugated insulin hydrogel for the enhancement of wound healing. *Colloids Surf. B Biointerfaces*, **2019**, 175, 436-444.
- [53] Chen, Y. S. ; Li, Y. ; Yang, X. X. ; Cao, Z. J. ; Nie, H. L. ; Bian, Y. G. ; Yang, G. Glucose-triggered *in situ* forming keratin hydrogel for the treatment of diabetic wounds. *Acta Biomater.*, **2021**, 125, 208-218.
- [54] Luo, T. T. ; Hao, S. L. ; Chen, X. L. ; Wang, J. ; Yang, Q. ; Wang, Y. Z. ; Weng, Y. L. ; Wei, H. M. ; Zhou, J. ; Wang, B. C. Development and assessment of keratine nanoparticles for use as a hemostatic agent. *Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl.*, **2016**, 63, 352-358.
- [55] Liu, D. ; Yang, F. ; Xiong, F. ; Gu, N. The smart drug delivery system and its clinical potential. *Theranostics*, **2016**, 6(9), 1306-1323.
- [56] Liu, J. ; Huang, Y. R. ; Kumar, A. ; Tan, A. ; Jin, S. B. ; Mozhi, A. B. ; Liang, X. J. pH-Sensitive nano-systems for drug delivery in cancer therapy. *Biotechnol. Adv.*, **2014**, 32(4), 693-710.
- [57] Duggan, S. ; Cummins, W. ; Donovan, O. O. ; Hughes, H. ; Owens, E. Thiolated polymers as mucoadhesive drug delivery systems. *Eur. J. Pharm. Sci.*, **2017**, 100, 64-78.
- [58] Ni, N. ; Dumont, M. J. Protein-based hydrogels derived from industrial byproducts containing collagen, keratin, zein and soy. *Waste Biomass Valor.*, **2017**, 8(2), 285-300.
- [59] Hanahan, D. ; Weinberg, R. A. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, **2011**, 144(5), 646-674.
- [60] Jin, X. X. ; Wang, Y. F. ; Yuan, J. ; Shen, J.

- Extraction, characterization, and NO release potential of keratin from human hair. *Mater. Lett.*, **2016**, 175, 188-190.
- [61] Yamamoto, H.; Iku, S.; Adachi, Y.; Imsuran, A.; Taniguchi, H.; Noshio, K.; Min, Y. F.; Horiuchi, S.; Yoshida, M.; Itoh, F.; Imai, K. Association of trypsin expression with tumour progression and matrilysin expression in human colorectal cancer. *J. Pathol.*, **2003**, 199(2), 176-184.
- [62] Coussens, L. M.; Werb, Z. Inflammation and cancer. *Nature*, **2002**, 420(6917), 860-867.
- [63] Li, Y. M.; Lin, J. T.; Zhi, X. L.; Li, P. F.; Jiang, X. F.; Yuan, J. Triple stimuli-responsive keratin nanoparticles as carriers for drug and potential nitric oxide release. *Mater. Sci. Eng. C-Mater. Biol. Appl.*, **2018**, 91, 606-614.
- [64] Li, Q. M.; Yang, S. N.; Zhu, L. J.; Kang, H. L.; Qu, X. Z.; Liu, R. G.; Huang, Y. Dual-stimuli sensitive keratin graft PHPMA as physiological trigger responsive drug carriers. *Polym. Chem.*, **2015**, 6(15), 2869-2878.
- [65] Du, J. S.; Wu, Q.; Li, Y. M.; Liu, P. C.; Han, X.; Wang, L. J.; Yuan, J.; Meng, X. W.; Xiao, Y. H. Preparation and characterization of Keratin-PEG conjugate-based micelles as a tumor microenvironment-responsive drug delivery system. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, **2020**, 31(9), 1163-1178.
- [66] Dou, J.; Wu, Q.; Li, Y. M.; Du, J. S.; Wan, X. Z.; Han, X.; Yuan, J.; Meng, X. W.; Shen, J. Keratin-poly(2-methacryloxyethyl phosphatidylcholine) conjugate-based micelles as a tumor micro-environment-responsive drug-delivery system with long blood circulation. *Langmuir*, **2020**, 36(13), 3540-3549.
- [67] Sun, Z.; Yi, Z.; Cui, X. X.; Chen, X. Y.; Su, W.; Ren, X. X.; Li, X. D. Tumor-targeted and nitric oxide-generated nanogels of keratin and hyaluronan for enhanced cancer therapy. *Nanoscale*, **2018**, 10(25), 12109-12122.
- [68] Jiang, T.; Carbone, E. J.; Lo, K. W. H.; Laurencin, C. T. Electrospinning of polymer nanofibers for tissue regeneration. *Prog. Polym. Sci.*, **2015**, 46, 1-24.
- [69] Melke, J.; Midha, S.; Ghosh, S.; Ito, K.; Hofmann, S. Silk fibroin as biomaterial for bone tissue engineering. *Acta Biomater.*, **2016**, 31, 1-16.
- [70] Sow, W. T.; Lui, Y. S.; Ng, K. W. Electrospun human keratin matrices as templates for tissue regeneration. *Nanomedicine (Lond)*, **2013**, 8(4), 531-541.
- [71] Srinivasan, B.; Kumar, R.; Shanmugam, K.; Sivagnam, U. T.; Reddy, N. P.; Sehgal, P. K. Porous keratin scaffold-promising biomaterial for tissue engineering and drug delivery. *J. Biomed. Mater. Res.*, **2010**, 92B(1), 5-12.
- [72] Wang, L. J.; Xin, X. X.; Li, P. F.; Dou, J.; Han, X.; Shen, J.; Yuan, J. Stepwise immobilization of keratin-dopamine conjugates and gold nanoparticles on PET sheets for potential vascular graft with the catalytic generation of nitric oxide. *Colloids Surf. B-Biointerfaces*, **2021**, 205, 111855.
- [73] Li, P. F.; Wang, Y. F.; Jin, X. X.; Dou, J.; Han, X.; Wan, X. Z.; Yuan, J.; Shen, J. Fabrication of PCL/keratin composite scaffolds for vascular tissue engineering with catalytic generation of nitric oxide potential. *J. Mater. Chem. B*, **2020**, 8(28), 6092-6099.
- [74] Dou, J.; Wang, Y. F.; Jin, X. X.; Li, P. F.; Wang, L. J.; Yuan, J.; Shen, J. PCL/sulfonated keratin mats for vascular tissue engineering scaffold with potential of catalytic nitric oxide generation. *Mater. Sci. Eng. C-Mater. Biol. Appl.*, **2020**, 107, 110246.
- [75] Li, P. F.; Wang, Y. F.; Jin, X. X.; Dou, J.; Han, X.; Wan, X. Z.; Yuan, J.; Shen, J. Catalytic generation of nitric oxide from poly(ϵ -caprolactone)/phosphobetainized keratin mats for a vascular tissue engineering scaffold. *Langmuir*, **2020**, 36(16), 4396-4404.
- [76] Wan, X. Z.; Liu, P. C.; Jin, X. X.; Xin, X. X.; Li, P. F.; Yuan, J.; Shen, J. Electrospun PCL/keratin/AuNPs mats with the catalytic generation of nitric oxide for potential of vascular tissue engineering. *J. Biomed. Mater. Res. A*, **2018**, 106(12), 3239-3247.
- [77] Li, P. F.; Jin, D. W.; Dou, J.; Wang, L. J.; Wang, Y. F.; Jin, X. X.; Han, X.; Kang, I. K.; Yuan, J.; Shen, J.; Yin, M. Nitric oxide-releasing poly(ϵ -caprolactone)/S-nitrosylated keratin biocomposite scaffolds for potential small-diameter vascular grafts. *Int. J. Biol. Macromol.*, **2021**, 189, 516-527.
- [78] Singaravelu, S.; Ramanathan, G.; Raja, M. D.;

- Nagiah, N. ; Padmapriya, P. ; Kaveri, K. ; Sivagnanam, U. T. Biomimetic interconnected porous keratin-fibrin-gelatin 3D sponge for tissue engineering application. *Int. J. Biol. Macromol.*, **2016**, 86, 810-819.
- [79] Naderi, P. ; Zarei, M. ; Karbasi, S. ; Salehi, H. Evaluation of the effects of keratin on physical, mechanical and biological properties of poly (3-hydroxybutyrate) electrospun scaffold: potential application in bone tissue engineering. *Eur. Polym. J.*, **2020**, 124, 109502.
- [80] Carvalho, C. R. ; Costa, J. B. ; Costa, L. ; Silva-Correia, J. ; Moay, Z. K. ; Ng, K. W. ; Reis, R. L. ; Oliveira, J. M. Enhanced performance of chitosan/keratin membranes with potential application in peripheral nerve repair. *Biomater. Sci.*, **2020**, 7(12), 5451-5466.
- [81] Reichl, S. Films based on human hair keratin as substrates for cell culture and tissue engineering. *Biomaterials*, **2009**, 30(36), 6854-6866.
- [82] Borrelli, M. ; Joepen, N. ; Reichl, S. ; Finis, D. ; Schoppe, M. ; Geerling, G. ; Schrader, S. Keratin films for ocular surface reconstruction; evaluation of biocompatibility in an *in-vivo* model. *Biomaterials*, **2015**, 42, 112-120.
- [83] Zhu, W. ; Ma, X. Y. ; Gou, M. L. ; Mei, D. Q. ; Zhang, K. ; Chen, S. C. 3D printing of functional biomaterials for tissue engineering. *Curr. Opin. Biotechnol.*, **2016**, 40, 103-112.
- [84] Turnbull, G. ; Clarke, J. ; Picard, F. ; Riches, P. ; Jia, L. L. ; Han, F. X. ; Li, B. ; Shu, W. M. 3D bioactive composite scaffolds for bone tissue engineering. *Bioact. Mater.*, **2017**, 3(3), 278-314.
- [85] Hölzl, K. ; Lin, S. ; Tytgat, L. ; van Vlierberghe, S. ; Gu, L. ; Ovsianikov, A. Bioink properties before, during and after 3D bioprinting. *Biofabrication*, **2016**, 8(3), 032002.
- [86] Placone, J. K. ; Navarro, J. ; Laslo, G. W. ; Lerman, M. J. ; Gabard, A. R. ; Herendeen, G. J. ; Falco, E. E. ; Tombly, S. ; Burnett, L. ; Fisher, J. P. Development and characterization of a 3D printed, keratin-based hydrogel. *Ann. Biomed. Eng.*, **2017**, 45(1), 237-248.
- [87] 孙丽莹, 高文伟, 李珊, 王俊超, 张泽天, 李正军. 角蛋白提取方法进展及提取技术应用选择建议. *皮革科学与工程*, **2020**, 30(3), 20-27.
- [88] Guo, T. W. ; Li, W. F. ; Wang, J. ; Luo, T. T. ; Lou, D. S. ; Wang, B. C. ; Hao, S. L. Recombinant human hair keratin proteins for halting bleeding. *Artif. Cells Nanomed. Biotechnol.*, **2018**, 46(sup2), 456-461.
- [89] Wang, C. S. ; Wang, L. J. ; Wan, X. Z. ; Jiang, X. F. ; Yuan, J. Biocompatible and photocross-linkable poly(ethylene glycol)/keratin biocomposite hydrogels. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, **2021**, 32(15), 1998-2008.
- [90] Yang, G. ; Chen, Q. ; Wen, D. ; Chen, Z. W. ; Wang, J. Q. ; Chen, G. J. ; Wang, Z. J. ; Zhang, X. D. ; Zhang, Y. Q. ; Hu, Q. Y. ; Zhang, L. ; Gu, Z. A therapeutic microneedle patch made from hair-derived keratin for promoting hair regrowth. *ACS Nano*, **2019**, 13(4), 4354-4360.
- [91] 郭菊花, 李涛, 赵婷婷, 王燕, 何玉凤, 王荣民. 角蛋白改性材料及其应用研究进展. *高分子通报*, **2014**, (4), 16-23.
- [92] 王瑞瑞. 角蛋白基生物功能材料的研究现状与发展前景. *材料导报*, **2020**, 34(21), 21199-21204.