

DOI: 10.3969/j.issn.1671-9638.2018.06.018

· 综述 ·

丝素蛋白生物材料在抗菌领域中的研究进展

Research progress of silk fibroin biomaterials in the field of antibacterial materials

王杨阳(WANG Yang-yang), 王岩松(WANG Yan-song)

(哈尔滨医科大学附属第一医学院, 黑龙江 哈尔滨 150001)

(First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, China)

[关键词] 丝素蛋白; 生物材料; 抗菌药物; 伤口愈合; 组织工程

[中图分类号] R318.08 [文献标识码] A [文章编号] 1671-9638(2018)06-0547-06

伤口感染一直是严重影响人们生命健康的全球性卫生保健问题,在创伤、烧伤和手术等伤口中发病率较高,是不容忽视的问题^[1-2]。促进伤口愈合,降低伤口的感染率,已成为医学研究中重点关注的方向^[3]。伤口感染为伤口中存在的微生物持续增殖对宿主造成损害,是创伤手术后发生的主要并发症,严重时不仅导致手术失败,甚至造成患者截肢^[4]。在引起伤口感染的微生物中,细菌占绝大多数。细菌广泛存在于人体和周围环境中,可以通过吸入带细菌的空气、伤口接触带菌的物体等方式引起伤口感染,尤以接触感染较为多见^[5]。目前,无菌术和清创术是外科治疗伤口感染的主要手段,此两种方法主要是通过减少伤口部位的细菌数量,清除伤口部位微生物分泌的毒素及其他污染物来预防和治疗伤口感染^[6-7]。与此同时,抗菌药物也广泛应用于伤口感染的治疗。在抗菌药物使用过程中存在一些不容忽视的问题,如药物使用方法不规范、给药时机不合理、用药时间过长等^[8-9]。抗菌药物的不合理应用可以延长伤口感染的时间,导致耐药菌的产生,甚至在医院中出现感染的暴发,增加患者的病死率和经济负担^[7]。此外,在全身使用抗菌药物治疗伤口感染时,伤口感染部位的抗菌药物浓度无法达到抑制或杀死病原体的水平,或者无法渗透进入细菌生物膜(bacterial biofilm, BF)抑制或杀死细菌^[10-11]。研究^[12-13]表明,伤口局部应用抗菌药物时可以使伤口

部位药物浓度达到治疗水平,但是全身浓度较低,副作用少(如肾毒性和耳毒性),并减少病原体耐药性的产生。近年来,随着生物材料和生物医学领域的飞速发展,许多新型的医用抗菌材料已经被研究出来,研究者将抗菌材料添加到生物医用材料上,使其在原有的功能特性基础上增加了抗菌功能,从而起到局部防治感染的作用。在生物医用材料中由于其优良的生物特性被广泛应用,制造出很多丝素蛋白抗菌材料^[14-15]。本文重点从新型丝素蛋白抗菌材料分类的角度,对丝素蛋白生物材料的研究情况和其在抗菌领域的最新进展进行综述。

1 细菌感染与伤口愈合

伤口愈合是一个非常复杂的过程,主要包括以下 3 个阶段^[16]:(1)炎症期:伤口部位血管收缩,清除周围受损的坏死组织;(2)修复期:炎症细胞增殖迁移,形成肉芽组织,基质合成沉积上皮化;(3)成熟期:毛细血管再生并新生组织重塑。伤口愈合过程受到多种细胞、细胞因子和细胞外基质相互作用的影响。同时,伤口愈合过程中有多种推迟伤口愈合的潜在因素,如伤口部位细菌感染、有缺陷的再上皮化和受损的基质重塑等^[17]。伤口部位细菌感染能够对伤口愈合的各个阶段造成影响,从而延迟伤口愈合。影响主要包括:增加补体蛋白的消耗、损伤白

[收稿日期] 2017-10-09

[作者简介] 王杨阳(1992-),男(汉族),浙江省桐乡市人,住院医师,主要从事外科学(骨科)研究。

[通信作者] 王岩松 E-mail:wys1975@163.com

细胞的功能、增加游离氧自由基的生成、减少成纤维细胞增殖、抑制细胞迁移、增加局部血栓形成和加速血管收缩代谢产物的释放等^[18-20],加重组织破坏,从而导致伤口部位水肿、出血、形成易碎肉芽床及过度瘢痕等。

目前,研究^[21]发现有许多因素可导致伤口部位细菌定植发展至感染,包括细菌的数量、种类,机体的免疫作用,病原体的毒性和不同种细菌之间的协同作用。相关研究^[22]表明,当每克组织中的细菌数量 $<10^5$ CFU 时,由于宿主正常的抵抗力,细菌产生的致病作用在机体正常耐受能力范围之内,一般不会形成组织感染影响伤口愈合;而当每克组织中存在的细菌数量 $\geq 10^5$ CFU 时,则容易形成相关的感染。因此,减少伤口部位细菌数量,对预防伤口感染、促进伤口愈合至关重要。所以,在伤口局部使用抗菌药物,减少伤口部位细菌数量可以促进伤口愈合。此外,外用抗菌剂包括银、碘和洗必泰等的使用,还可能对伤口愈合有特定的作用。研究^[23-24]显示,磺胺嘧啶银已被证实能够加速伤口愈合,而金属锌可能是杆菌肽锌中促创面愈合的活性成分。

迄今为止,已经有多种生物材料广泛应用于医疗领域,应用生物材料时出现的相关细菌感染是主要的不良影响。研究^[25]表明,细菌可以生存在伤口的生物膜环境中,从而免受机体免疫系统和抗菌药物的破坏。细菌生物膜是一种细菌为适应生存而黏附于生物材料表面的微菌落聚集物,主要包括细菌和由其分泌的细胞外基质^[26]。生物膜内的细菌对抗菌药物的耐受能力远大于普通的游离细菌,因此,容易并发以生物材料为中心的感染。研制出自身具有抗感染功能的生物医学材料,使其发挥长期抗菌作用,从而减少材料自身或其他原因导致的感染,减少全身抗菌药物的使用,促进伤口愈合,将对生物材料的长远发展和临床应用产生重大的意义。

2 以丝素蛋白为基础的生物材料

2.1 丝素蛋白的优良特性

丝素蛋白是从天然蚕丝中提取出来的高分子纤维蛋白^[27]。丝素蛋白超微结构为稳定的反平行 β 折叠构象,由 Silk I 和 Silk II 两种构象组成,并且两种构象可通过不同的理化条件进行转换,使得丝素蛋白在长轴方向上有良好的力学强度和延展性能^[28]。

近年来,丝素蛋白由于其优良的生物材料特性,被作为常用的生物医学材料进行相关研究。丝素蛋

白主要有以下优良特性^[15,29-31]:(1)机械性能:与其他天然纤维相比,其机械特性较好;(2)可加工性:可加工成膜支架或其他形式;(3)可修饰性:通过化学修饰等不同处理方法可在其表面黏附位点或细胞因子;(4)生物相容性:对其他生物有良好的安全性,对机体细胞无毒性,且不会引起炎症反应;(5)生物降解性:可缓慢稳定进行生物降解,降解产物不仅对机体组织无毒副作用,还对周围组织有营养与修复作用;(6)促进愈合性:可以增强表皮细胞和成纤维细胞的黏附力、伸展力和增殖力,从而促进伤口愈合。Sugihara 等^[32]研究出丝素蛋白薄膜并将其应用于全层皮肤缺损的鼠模型,观察其对创面修复的疗效,结果显示丝素蛋白薄膜可以加快创口皮肤的再生。

目前,丝素蛋白在其他方面的应用也较多,首先,对丝素蛋白进行不同的处理(如超声、盐析、电纺、冷冻干燥等)后可得到凝胶、薄膜、微孔支架等生物材料产品^[33]。其次,丝素蛋白中加入其他生物材料后可以形成复合材料^[34]。另外,通过基因工程方法提升材料现有的性能或增加新的特性是目前比较热门的研究方向^[35]。

2.2 丝素蛋白复合抗菌生物材料

丝素蛋白本身并不具有明显的抗菌效果,不能控制伤口感染,单纯的丝素蛋白生物材料无法满足临床抗菌需要。因此,大量的研究通过利用金属元素及相关物质、抗菌药物类药物、天然抗菌物质、人工合成抗菌聚合物等抗菌材料与丝素蛋白复合形成新型生物材料,起到抑制或杀灭微生物的作用。

2.2.1 金属元素相关复合丝素蛋白抗菌材料

金属元素复合丝素蛋白抗菌材料主要是由丝素蛋白与金属相关的抗菌剂复合而成,金属相关抗菌剂主要包括金属元素、金属离子或其盐类(Ag、Ti、Zn、Cu 等)、金属氧化物及纳米颗粒(TiO_2 , ZnO 等)^[36-37]。金属元素及其相关物质由于具有较广的抗菌谱、抗菌效率高、持续时间长、不易产生耐药性等优势,已受到研究人员的重视。一般认为,金属材料主要通过损伤细菌菌体中的蛋白质、DNA 等生物必需大分子,破坏细菌细胞结构,使其无法正常进行生命活动而达到抗菌的目的^[38]。

目前,研究最多的是银(Ag)离子抗菌材料及二氧化钛(TiO_2)粒子材料。Ag 在金属元素中抗菌性最佳,其对常见致病菌的有效作用浓度最低为 $10 \mu\text{g}/\text{mL}$ ^[39]。相关机制研究认为,Ag 进入细菌后与氧化代谢酶结合,导致细菌无法正常进行呼吸运动而死亡;此外,Ag 还可以通过与细菌的 DNA 结合,

使其结构发生变异,抑制 DNA 的正常复制,导致细菌无法正常活动^[40]。通过将 Ag 相关原料与丝素蛋白结合生产的复合生物材料主要应用其高效抗菌性^[41]。

Jeong 等^[42]利用静电纺技术将不同浓度磺胺嘧啶银盐(SSD)加入丝素蛋白中,得到丝素纳米纤维,结果显示银盐的浓度提升,纳米材料的抗菌效果也随之增强,但是复合材料对细胞的毒性也会增强,所以在最大限度提高抗菌活性的同时,尽量减少 Ag 的细胞毒性是最为关键的问题。Pei 等^[43]将纳米银混入丝素蛋白和羧甲基壳聚糖中,制得载银 SF/CMC 复合海绵材料,复合海绵对金黄色葡萄球菌和铜绿假单胞菌具有良好的抗菌作用,并且有良好的吸水性和透气性,是一种可以预防伤口感染和促进伤口愈合的伤口敷料。李珍珠等^[44]将生物相容性较好的丝素蛋白与力学性能优异的聚氨酯结合,再加入抗菌性能优异的 Ag⁺使其具备抗菌性能,从而制造出一种新型抗菌复合膜材料。研究结果显示,纳米银均匀地分散于基质内外,复合膜材料对大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌和铜绿假单胞菌有良好的抗菌性能,并且无细胞毒性,血液相容性检测显示该材料有一定抗凝效果。因此,该复合材料具有应用于医疗器械表面涂层材料或医用导管材料的潜力。王圣杰等^[45]通过静电纺丝技术制备再生丝素蛋白纳米纤维,再将制得的纤维放入乙醇蒸汽中处理使其交联,最后负载银粒子制成抗菌水凝胶材料。该水凝胶材料结合了银的抗菌性,同时,丝素蛋白具有良好的生物相容性,体内降解无毒,可以较好地黏附在成纤维细胞、皮肤表皮细胞表面,防止体液流失。另有研究^[46-47]表明,含纳米银的丝素蛋白纳米材料,具备安全、高效和持久的抗菌特征,有作为抗菌材料应用的前景。

另外,有一些金属氧化物(TiO₂、ZnO 等)也具有较好的抗菌性能,金属氧化物的抗菌机制为光催化抗菌机制^[37]。由于氧化物颗粒小、表面积大,存在“表面效应”,在阳光下特别是紫外线的照射下,表面能产生大量的·OH 自由基和·O 自由基,当这些自由基接触到微生物时,可以将微生物体内的有机物氧化成 CO₂,从而在短时间内杀死微生物。Jao 等^[48]将丝素蛋白纳米纤维与二氧化钛纳米颗粒混合后制备出纳米纤维膜,与普通丝素蛋白纳米纤维相比,它具有更好的高平衡含水量和水蒸气透过率。该材料在紫外线下表现出强效的抗大肠埃希菌作用,可应用于伤口敷料研究。

2.2.2 抗生素丝素蛋白复合抗菌材料 抗生素是目前应用较为广泛的抗菌药物,而丝素蛋白是药物释放载体材料研究的热点。丝素蛋白通过加载抗生素或再复合其他材料制备复合生物材料,使药物缓慢并持续地释放,从而达到延长药物作用,提高药物疗效或减轻药物的毒副作用的目的。作为缓释药物系统的丝素蛋白生物材料主要有以下几种:丝素水凝胶缓释系统、丝素微球颗粒缓释系统和丝素薄膜缓释系统。

Sharma 等^[49]将庆大霉素加载到丝素蛋白制备成纳米颗粒,沉积于钛金属内置物表面实现药物的持续释放。纳米粒子的有效表面积较大,可以使庆大霉素通过物理吸附作用实现负载;药物释放曲线显示庆大霉素与纳米颗粒结合可以缓慢有效释放;同时,与裸金属种植体相比,纳米颗粒在实现抗菌作用的同时,还具有促进细胞的黏附、增殖以及分化的作用。Hassani 等^[50]将万古霉素负载到丝素蛋白纳米颗粒上形成丝素蛋白支架,应用于严重骨感染的小鼠胫骨骨髓炎模型中,研究结果显示,通过万古霉素的缓释,丝素蛋白纳米颗粒降低了骨缺损部位骨感染的发生。Lan 等^[51]制备出抗生素明胶微球/丝素支架治疗感染性全层烧伤创面,首先通过乳化法制备明胶微球,然后负载选定的盐酸万古霉素和硫酸庆大霉素抗生素形成明胶微球复合物,复合物与丝素蛋白溶液共混冷冻干燥后,制得抗生素/明胶/丝素蛋白复合支架。主要是利用明胶微球的特性,负载抗生素后实现了对抗菌药物的控释,结果显示,复合支架具有良好的抗菌能力,能够有效抑制烧伤后皮肤全层缺损的大鼠模型创面的感染,促进皮肤再生,加速创面愈合。卢敏等^[52]选用异佛尔酮二异氰酸酯(IPDI)、聚乙二醇(PEG)、聚氧化丙烯二醇(PPG)等为原料,合成阴离子型聚氨酯(PU)预聚体,经过三乙胺(TEA)中和成盐后,将丝素蛋白溶液与之共混,得到具备交联结构的丝素蛋白/聚氨酯(SF/PU)水凝胶,并在水凝胶上负载氯霉素和环丙沙星,通过该水凝胶对大肠埃希菌生长的抑制效果表明,载有抗生素的水凝胶周围都出现了明显的抑菌圈,因此,证明了该水凝胶对通过释放抗菌药物起到抗菌作用。刘琼等^[53]使用盐溶透析法制备微米级丝素蛋白,然后再应用中性蛋白酶酶解制备出拥有纳米级颗粒大小的丝素蛋白(Nano-SFP);通过化学反应将活化后的聚乙二醇(PEG)酰化物接枝到 Nano-SFP 分子上,得到 Nano-SFP/PEG 复合材料,再使用氯霉素与复合材料共混,结果显示,复合材料

具有明显的氯霉素缓释性能,并且释放出的氯霉素比单纯氯霉素药物有更好的抗菌性能,且体外细胞毒性实验显示复合物无毒性。

2.2.3 天然抗菌物质与丝素蛋白复合抗菌材料

天然抗菌物质是最早用来抵抗细菌感染的材料,天然抗菌物质主要来源于动植物提取的多糖与多肽,具有良好的生物相容性、副作用低等特点。目前,大量研究通过将天然抗菌物质与其他生物材料合成复合抗菌材料,使天然抗菌物质获得了更广阔的应用空间。天然抗菌物质与丝素蛋白复合抗菌材料的研究也取得了一些成果。

Li 等^[54]将丝素蛋白、壳聚糖和聚乙烯醇混合后制作出复合海绵,用于慢性创面的敷料。壳聚糖又称壳多糖、甲壳胺等,主要来源于植物、微生物及真菌细胞壁等。壳聚糖的分子是带强阳性电荷的氨基糖类分子,对带负电荷的分子存在很强的吸引力,通过静电作用,可以吸附带有负电荷的细菌细胞壁,从而破坏细菌细胞壁^[55-56]。因此,壳聚糖具有抗菌功能,其抗菌活性取决于其分子质量、脱乙酰度、取代基类型及细菌类型^[57]。复合丝素海绵敷料可以改善血管的形成,促进伤口皮肤组织的再生,可以应用于慢性创面的愈合。Steinstraesser 等^[58]将粘菌素负载到丝素蛋白膜上,用于治疗铜绿假单胞菌感染导致的伤口感染。研究^[59]显示,粘菌素对多重耐药的铜绿假单胞菌、肺炎克雷伯菌、鲍曼不动杆菌引起的感染有治疗作用。粘菌素可以与革兰阴性菌细胞壁的主要成分脂多糖(LPS)特异性结合,导致整个LPS结构紊乱,增加细胞膜的通透性,使细胞膜裂解导致菌体死亡^[60],提高丝素蛋白膜中粘菌素的浓度后,可有效的预防革兰阴性菌的感染。研究者根据以上原理制作出生物相容性和降解性良好的糊精、有抗炎作用的仙人掌汁和重组人表皮生长因子(rhEGF)的载体的复合支架^[61-63],这些复合支架具有良好的稳定性、力学性能,对大肠埃希菌和表皮葡萄球菌有强大的抗菌性,可以避免伤口感染及进一步蔓延,还可以促进创面上皮细胞的生长。白利强等^[64]以 60%体积分数的乙醇处理制备出丝素蛋白膜,再通过碳二亚胺法将 Cecropin B 抗菌肽共价接枝到丝素膜表面,结合后的蛋白膜不易溶于水,并具有高效、持久的抗菌能力。抗菌肽是生物体内诱导产生的一种具有强效且广泛抗菌作用的多肽类物质。抗菌肽通过作用于细菌质膜而发挥作用,不易产生耐药性,具有良好应用前景^[65]。

2.2.4 人工合成抗菌聚合物与丝素蛋白复合抗菌

材料 人工合成抗菌聚合物具有稳定性强、抗菌持久和改良性好等优良特性。人工合成抗菌聚合物材料的抗菌机制复杂不一,最多见的是由于其相对分子量较大、表面正电荷密度大和吸附结合细菌容易、微生物细胞膜内带负电的磷脂等起到抗菌作用^[66]。

Calamak 等^[67]通过将抗菌聚乙炔亚胺(PEI)与丝素蛋白共混后经静电纺丝制备出生物纳米材料,该材料不仅具有优异的生物相容性,还对金黄色葡萄球菌和铜绿假单胞菌具有较强的抗菌作用。聚乙烯亚胺(PEI)是一种阳离子高分子聚合物,可结合带负电的细胞,促进细胞生长和增殖,并且有高效的抗菌性能^[68]。

3 展望

丝素蛋白在目前的生物医学领域扮演了重要的角色。由于其具备良好生物相容性、可加工性等性能,能够结合其他材料或药物制备出各种新型生物材料。随着新的材料制备手段的应用,丝素蛋白复合材料将会更快地发展^[33]。

减少细菌感染是医疗领域始终追求的目标,优良抗菌材料的开发将是研究者不断努力的一个方向。利用丝素蛋白的优势,结合其他抗菌材料的研究已取得一定的成果,但仍处于起步阶段,尚缺乏临床研究。目前的丝素蛋白抗菌材料均存在一些问题,主要有功能单一、抗菌性能不足或不可控、复合材料稳定性差、副作用大等。因此,未来丝素蛋白抗菌材料的研究重点应该向着丝素蛋白与其他多种材料复合,多种优势集中协调的方向发展。使得丝素蛋白抗菌材料除了优良的抗菌性能以外,能够促进伤口、创面或者缺损的部位更快、更好地生长愈合,使丝素蛋白抗菌材料可以取代一些现有的生物医学材料或抗感染手段,在临床上得到广泛应用。

[参考文献]

- [1] Hull PD, Johnson SC, Stephen DJ, et al. Delayed debridement of severe open fractures is associated with a higher rate of deep infection[J]. Bone Joint J, 2014, 96-B(3): 379-384.
- [2] Zilberman M, Elsner JJ. Antibiotic-eluting medical devices for various applications[J]. J Control Release, 2008, 130(3): 202-215.
- [3] Weiser TG, Regenbogen SE, Thompson KD, et al. An estimation of the global volume of surgery: a modelling strategy based on available data[J]. Lancet, 2008, 372(9633): 139-

- 144.
- [4] Dow G, Browne A, Sibbald RG. Infection in chronic wounds: controversies in diagnosis and treatment[J]. *Ostomy Wound Manage*, 1999, 45(8): 23–27, 29–40.
- [5] Leaper D, Assadian O, Edmiston CE. Approach to chronic wound infections[J]. *Br J Dermatol*, 2015, 173(2): 351–358.
- [6] Aziz AM. Variations in aseptic technique and implications for infection control[J]. *Br J Nurs*, 2009, 18(1): 26–31.
- [7] Hancock RE. Peptide antibiotic[J]. *Lancet*, 1997, 349(9049): 418–422.
- [8] Taccone FS, Bond O, Cavicchi FZ, et al. Individualized antibiotic strategies[J]. *Curr Opin Anaesthesiol*, 2016, 29(2): 166–171.
- [9] Oberoi SS, Dhingra C, Sharma G, et al. Antibiotics in dental practice: how justified are we[J]. *Int Dent J*, 2015, 65(1): 4–10.
- [10] Seabrook GR, Edmiston CE, Schmitt DD, et al. Comparison of serum and tissue antibiotic levels in diabetes-related foot infections[J]. *Surgery*, 1991, 110(4): 671–677.
- [11] Edmiston CE Jr, Goheen MP, Seabrook GR, et al. Impact of selective antimicrobial agents on staphylococcal adherence to biomedical devices[J]. *Am J Surg*, 2006, 192(3): 344–354.
- [12] Humphrey JS, Mehta S, Seaber AV, et al. Pharmacokinetics of a degradable drug delivery system in bone[J]. *Clin Orthop Relat Res*, 1998, (349): 218–224.
- [13] Pastorino D, Canal C, Ginebra MP. Drug delivery from injectable calcium phosphate foams by tailoring the macroporosity-drug interaction[J]. *Acta Biomater*, 2015, 12(1): 250–259.
- [14] Zhong W. Efficacy and toxicity of antibacterial agents used in wound dressings[J]. *Cutan Ocul Toxicol*, 2015, 34(1): 61–67.
- [15] Omenetto FG, Kaplan DL. New opportunities for an ancient material[J]. *Science*, 2010, 329(5991): 528–531.
- [16] Broughton G 2nd, Janis JE, Attinger CE. The basic science of wound healing[J]. *Plast Reconstr Surg*, 2006, 117(7 Suppl): 12S–34S.
- [17] Edwards R, Harding KG. Bacteria and wound healing[J]. *Curr Opin Infect Dis*, 2004, 17(2): 91–96.
- [18] Robson MC, Stenberg BD, Hegggers JP. Wound healing alterations caused by infection[J]. *Clin Plast Surg*, 1990, 17(3): 485–492.
- [19] Wall IB, Davies CE, Hill KE, et al. Potential role of anaerobic cocci in impaired human wound healing[J]. *Wound Repair Regen*, 2002, 10(6): 346–353.
- [20] Power C, Wang JH, Sookhai S, et al. Bacterial wall products induce downregulation of vascular endothelial growth factor receptors on endothelial cells via a CD14-dependent mechanism: implications for surgical wound healing[J]. *J Surg Res*, 2001, 101(2): 138–145.
- [21] Wysocki AB. Evaluating and managing open skin wounds: colonization versus infection[J]. *AACN Clin Issues*, 2002, 13(3): 382–397.
- [22] Robson MC, Mannari RJ, Smith PD, et al. Maintenance of wound bacterial balance[J]. *Am J Surg*, 1999, 178(5): 399–402.
- [23] Heyneman A, Hoeksema H, Vandekerckhove D, et al. The role of silver sulphadiazine in the conservative treatment of partial thickness burn wounds: A systematic review [J]. *Burns*, 2016, 42(7): 1377–1386.
- [24] Lansdown AB, Mirastschijski U, Stubbs N, et al. Zinc in wound healing: theoretical, experimental, and clinical aspects [J]. *Wound Repair Regen*, 2007, 15(1): 2–16.
- [25] Percival SL, Hill KE, Williams DW, et al. A review of the scientific evidence for biofilms in wounds[J]. *Wound Repair Regen*, 2012, 20(5): 647–657.
- [26] Hall-Stoodley L, Costerton JW, Stoodley P. Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases[J]. *Nat Rev Microbiol*, 2004, 2(2): 95–108.
- [27] Kundu B, Kurland NE, Yadavalli VK, et al. Isolation and processing of silk proteins for biomedical applications[J]. *Int J Biol Macromol*, 2014, 70: 70–77.
- [28] Sanzana ES, Navarro M, Ginebra MP, et al. Role of porosity and pore architecture in the in vivo bone regeneration capacity of biodegradable glass scaffolds[J]. *J Biomed Mater Res A*, 2014, 102(6): 1767–1773.
- [29] Kundu J, Poole-Warren LA, Martens P, et al. Silk fibroin/poly(vinyl alcohol) photocrosslinked hydrogels for delivery of macromolecular drugs[J]. *Acta Biomater*, 2012, 8(5): 1720–1729.
- [30] Altman GH, Diaz F, Jakuba C, et al. Silk-based biomaterials [J]. *Biomaterials*, 2003, 24(3): 401–416.
- [31] Li S, Li L, Guo C, et al. A promising wound dressing material with excellent cytocompatibility and proangiogenesis action for wound healing: strontium loaded silk fibroin/sodium alginate (SF/SA) blend films[J]. *Int J Biol Macromol*, 2017, 104 (Pt A): 969–978.
- [32] Sugihara A, Sugiura K, Morita H, et al. Promotive effects of a silk film on epidermal recovery from full-thickness skin wounds[J]. *Proc Soc Exp Biol Med*, 2000, 225(1): 58–64.
- [33] Elliott WH, Bonani W, Maniglio D, et al. Silk hydrogels of tunable structure and viscoelastic properties using different chronological orders of genipin and physical cross-linking[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2015, 7(22): 12099–12108.
- [34] Krishna OD, Kiick KL. Protein- and peptide-modified synthetic polymeric biomaterials[J]. *Biopolymers*, 2010, 94(1): 32–48.
- [35] Gomes S, Leonor IB, Mano JF, et al. Natural and genetically engineered proteins for tissue engineering[J]. *Prog Polym Sci*, 2012, 37(1): 1–17.
- [36] Juby KA, Dwivedi C, Kumar M, et al. Silver nanoparticle-loaded PVA/gum acacia hydrogel: synthesis, characterization and antibacterial study[J]. *Carbohydr Polym*, 2012, 89(3): 906–913.
- [37] Jones N, Ray B, Ranjit KT, et al. Antibacterial activity of ZnO nanoparticle suspensions on a broad spectrum of microor-

- ganisms[J]. FEMS Microbiol Lett, 2008, 279(1): 71 - 76.
- [38] Slavin YN, Asnis J, Häfeli UO, et al. Metal nanoparticles: understanding the mechanisms behind antibacterial activity [J]. J Nanobiotechnology, 2017, 15(1): 65.
- [39] Sondi I, Salopek-Sondi B. Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria[J]. J Colloid Interface Sci, 2004, 275(1): 177 - 182.
- [40] Shahverdi AR, Fakhimi A, Shahverdi HR, et al. Synthesis and effect of silver nanoparticles on the antibacterial activity of different antibiotics against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*[J]. Nanomedicine, 2007, 3(2): 168 - 171.
- [41] Marambio-Jones C, Hoek EMV. A review of the antibacterial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment[J]. J Nanopart Res, 2010, 12(5): 1531 - 1551.
- [42] Jeong L, Kim MH, Jung JY, et al. Effect of silk fibroin nanofibers containing silver sulfadiazine on wound healing[J]. Int J Nanomedicine, 2014, 9: 5277 - 5287.
- [43] Pei Z, Sun Q, Sun X, et al. Preparation and characterization of silver nanoparticles on silk fibroin/carboxymethylchitosan composite sponge as anti-bacterial wound dressing[J]. Biomed Mater Eng, 2015, 26(Suppl 1): 111 - 118.
- [44] 李珍珠, 王富平, 罗琴, 等. 载银丝素/聚氨酯复合材料的合成及抑菌性研究[J]. 材料导报, 2014, 28(22): 54 - 58.
- [45] 王圣杰, 刘江敏, 吴雯. 再生丝素蛋白载银抗菌纳米纤维水凝胶的制备及抗菌性能研究[J]. 嘉兴学院学报, 2015, 27(6): 94 - 97.
- [46] Calamak S, Aksoy EA, Erdogdu C, et al. Silver nanoparticle containing silk fibroin bionanotextiles[J]. J Nanopart Res, 2015, 17: 87.
- [47] Uttayarat P, Jetawattana S, Suwanmala P, et al. Antimicrobial electrospun silk fibroin mats with silver nanoparticles for wound dressing application[J]. Fiber Polym, 2012, 13(8): 999 - 1006.
- [48] Jao WC, Yang MC, Lin CH, et al. Fabrication and characterization of electrospun silk fibroin/TiO₂, nanofibrous mats for wound dressings[J]. Polym Advan Technol, 2012, 23(7): 1066 - 1076.
- [49] Sharma S, Bano S, Ghosh AS, et al. Silk fibroin nanoparticles support in vitro sustained antibiotic release and osteogenesis on titanium surface[J]. Nanomedicine, 2016, 12(5): 1193 - 1204.
- [50] Hassani Besheli N, Mottaghtalab F, Eslami M, et al. Sustainable release of vancomycin from silk fibroin nanoparticles for treating severe bone infection in rat tibia osteomyelitis model[J]. ACS Appl Mater Interfaces, 2017, 9(6): 5128 - 5138.
- [51] Lan Y, Li W, Jiao Y, et al. Therapeutic efficacy of antibiotic-loaded gelatin microsphere/silk fibroin scaffolds in infected full-thickness burns[J]. Acta Biomater, 2014, 10(7): 3167 - 3176.
- [52] 卢敏, 张海龙, 杨伟平, 等. 丝素蛋白/聚氨酯水凝胶的制备及其释药性能[J]. 化工新型材料, 2012, 40(9): 50 - 52.
- [53] 刘琼, 陈忠敏, 陈泉, 等. 纳米丝素蛋白/PEG 复合材料的抗菌性与药物缓释效果[J]. 材料导报, 2014, 28(2): 55 - 59.
- [54] Li X, Li B, Ma J, et al. Development of a silk fibroin/HTCC/PVA sponge for chronic wound dressing[J]. J Bioact Compat Pol, 2014, 29(4): 398 - 411.
- [55] Periyah MH, Halim AS, Saad AZ. Chitosan: a promising marine polysaccharide for biomedical research[J]. Pharmacogn Rev, 2016, 10(19): 39 - 42.
- [56] 周英, 许零. 抗菌敷料研究进展[J]. 中华损伤与修复杂志: 电子版, 2012, 7(3): 307 - 311.
- [57] Jarmila V, Vavriková E. Chitosan derivatives with antimicrobial, antitumour and antioxidant activities - a review[J]. Curr Pharm Des, 2011, 17(32): 3596 - 3607.
- [58] Steinstraesser L, Trust G, Rittig A, et al. Colistin-loaded silk membranes against wound infection with *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Plast Reconstr Surg, 2011, 127(5): 1838 - 1846.
- [59] Li J, Nation RL, Milne RW, et al. Evaluation of colistin as an agent against multi-resistant in Gram-negative bacteria[J]. Int J Antimicrob Agents, 2005, 25(1): 11 - 25.
- [60] Loho T, Dharmayanti A. Colistin: an antibiotic and its role in multiresistant Gram-negative infections [J]. Acta Med Indones, 2015, 47(2): 157 - 168.
- [61] Sukumar N, Ramachandran T, Lakshmi Kantha CB. Development and characterization of cactus-dextrin-recombinant human epidermal growth factor based silk scaffold for wound dressing applications[J]. J Ind Text, 2014, 43(4): 565 - 576.
- [62] Slavin JL, Savarino V, Paredes-Diaz A, et al. A review of the role of soluble fiber in health with specific reference to wheat dextrin[J]. J Int Med Res, 2009, 37(1): 1 - 17.
- [63] Chen S, Sun MZ, Wang B, et al. Wound healing effects of cactus extracts on second degree superficial burned mice[J]. J Med Plants Res, 2011, 5(6): 973 - 978.
- [64] 白利强, 马廷方, 姚菊明. Cecropin B 抗菌肽枝丝素蛋白膜的制备和表征[J]. 高等学校化学学报, 2007, 28(8): 1593 - 1597.
- [65] Pandey BK, Srivastava S, Singh M, et al. Inducing toxicity by introducing a leucine-zipper-like motif in frog antimicrobial peptide, magainin 2[J]. Biochem J, 2011, 436(3): 609 - 620.
- [66] Kenawy el-R, Worley SD, Broughton R. The chemistry and applications of antimicrobial polymers: a state-of-the-art review[J]. Biomacromolecules, 2007, 8(5): 1359 - 1384.
- [67] Calamak S, Erdogdu C, Ozalp M, et al. Silk fibroin based antibacterial bionanotextiles as wound dressing materials[J]. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl, 2014, 43: 11 - 20.
- [68] Atar-froyman L, Sharon A, Weiss EI, et al. Anti-biofilm properties of wound dressing incorporating nonrelease polycationic antimicrobials[J]. Biomaterials, 2015, 46: 141 - 148.