

· 综述 ·

开放获取

同种异体肌腱处理技术的进展[△]

张净宇¹, 马荣星¹, 王丽敏², 胡永成^{1*}

(1. 天津市天津医院, 天津 300211; 2. 北京威达峰医学生物材料有限责任公司, 北京 101102)

摘要: 本综述全面总结了同种异体肌腱处理工艺的研究现状和前沿技术。同种异体肌腱处理流程为核心, 系统总结了该领域的研究现状和前沿技术。肌腱移植成为肌腱损伤重建的主要手段之一。首先介绍了同种异体肌腱的应用背景和发展趋势, 深入探讨了免疫原性与排斥反应相关的物理冷冻法和化学法, 以及脱脂技术、脱细胞技术等处理方法。强调了同种异体肌腱处理工艺优化对于提高临床手术效果的重要性, 为其运用于临床提供了科学依据和技术支持。

关键词: 同种异体肌腱, 免疫原性, 处理技术

中图分类号: R687 **文献标志码:** A **文章编号:** 1005-8478 (2024) 15-1398-05

Progression in processing technique of tendon allograft // ZHANG Jing-yu¹, MA Rong-xing¹, WANG Li-min², HU Yong-cheng¹. 1. Department of Bone Tumor and Soft Tissue Oncology, Tianjin Hospital, Tianjin 300211, China; 2. Beijing Wonderful Medical Biomaterials Company, Beijing 101102, China

Abstract: This review comprehensively summarizes the current status and cutting-edge techniques of tendon allograft processing. The core of tendon allograft processing procedures is outlined, systematically summarizing the research status and advanced technologies in this field. Tendon allografting has become one of the main methods for tendon injury reconstruction. Initially, the application background and developmental trends of tendons allograft are introduced, followed by an in-depth discussion on physical cryopreservation and chemical methods related to immunogenicity and rejection reactions, as well as processing techniques such as defatting and decellularization. Emphasis is placed on the importance of optimizing tendon allograft processing techniques to enhance clinical surgical outcomes, providing scientific evidence and technological support for its clinical application.

Key words: tendon allograft, immunogenicity, processing technology

韧带、肌腱损伤临床常见, 相关研究显示澳大利亚 2000—2015 年前交叉韧带 (anterior cruciate ligament, ACL) 重建每年每万人增加 23.4 例, 丹麦 1994—2013 年急性跟腱断裂每年每万人增加 4.22 例^[1, 2]。肌腱移植是韧带、肌腱损伤重建主要手段, 常选用的移植材料包括自体肌腱、同种异体肌腱、人工肌腱等^[3]。自体肌腱是移植选择的“金标准”, 但存在供区并发症、增加手术时间等问题^[4, 5]。

为此, 同种异体肌腱凭借其无供区并发症、可供选择尺寸多等优势, 使用率逐年增加。Maletis^[6]报道 16 192 例 ACL 重建中采用同种异体肌腱移植占初次手术的 42.4%, 翻修的 78.8%。然而同种异体肌腱移植也面临着免疫排斥和愈合不良等问题^[7], 为确保其安全性和有效性, 需对降低免疫原性、脂肪和细胞

去除等技术进行深入研究以获得与自体肌腱相当的效果。笔者总结了同种异体肌腱预处理、脱脂、脱细胞技术的相关进展, 以期为今后转化研究提供参考。

1 肌腱移植免疫原性与排斥反应

肌腱移植物的免疫原性及排斥反应至关重要, 患者的免疫系统会将移植肌腱识别为异物, 发生免疫排斥反应, 影响临床效果。杜永军等^[8]发现未处理异体肌腱植入后局部反应为大量淋巴细胞浸润和细胞毒反应, 急性排斥反应持续 2~3 个月, 而处理后异体肌腱抗原性降低, 无急性排斥反应, 慢性排斥反应发生在数月至数年后。目前常采用物理和化学方法降低肌腱的免疫原性。

DOI:10.20184/j.cnki.Issn1005-8478.110410

[△]基金项目: 京津冀基础研究合作专项项目 (编号: 22JCZXC00130)

作者简介: 张净宇, 副主任医师, 硕士研究生导师, 研究方向: 骨外科, (电子信箱) zhangjingyu2010@163.com

* 通信作者: 胡永成, (电子信箱) yongchenghu@126.com

1.1 物理冷冻法

物理冷冻是降低同种异体移植免疫原性的基础方法,包括冷冻干燥法、深低温冷冻法。Kreuz^[9]首次将冷冻干燥法应用于异体组织的处理,为在无菌条件下对新鲜肌腱进行多次冷冻干燥,将肌腱中的含水量减少至<5%。特点为:(1)适用范围有限;(2)处理过程复杂且耗时较长;(3)使用前需至少 30 min 的复水^[10]。缺点为可能导致肌腱力学和结构特性受到不同程度的损伤。Bechtold^[11]比较了冷冻干燥和冻干处理的尸体髌腱力学特性,发现冷冻干燥组具有更佳的最大应力和最大应变。赵彦涛等^[12]研究了冷冻法和 γ 射线终末辐照灭菌对同种异体肌腱免疫原性和生物力学性能的影响,发现该方法有效去除免疫原性和杀灭病毒同时,冷冻前后肌腱的极限拉伸载荷和组织结构差异无统计学意义,该方法不影响肌腱的生物力学性能。

深低温冷冻法是将肌腱经过生理盐水漂洗后,置于-80℃环境中保存的方法。分为快速冷冻法和慢速冷冻法,特点为保存时间长达 3~5 年,使用前随时解冻,无需复水,能使细胞破碎并利于清除,减少免疫排斥反应。然而关于深低温冷冻是否对异体肌腱的力学和组织特性造成影响,报道存在差异,大部分研究表明深低温冷冻对肌腱的力学和组织特性无显著影响。Giannini^[13]观察经-80℃深冻 30 d 和未处理的新鲜胫后肌腱的结构和生物力学特性,发现两组肌腱的最大载荷、最大应力、最大位移和最大应变无明显差异。

1.2 化学法

化学处理是通过化学试剂清除肌腱中的细胞成分以降低免疫原性,包括去垢剂清洗法、有机溶剂和脱氧鸟苷培养液等^[14],且各方法可联合使用。

去垢剂主要包括十二烷基磺酸钠(SDS),Triton X-100,其中 SDS 是离子型去垢剂,可使细胞膜崩溃,与膜蛋白的疏水部分结合使其分离,还可破坏膜蛋白内部的非共价键,使蛋白变性,不宜用于分离有功能的膜蛋白。Triton X-100 是温和性去垢剂,可使膜脂溶解,不使蛋白变性,可分离有生物功能的膜蛋白^[15]。SDS 的脱细胞效率高于 Triton X-100,同时能更好地保留肌腱的结构完整性。Hřebíková^[16]对小鼠骨骼肌进行脱细胞处理发现 SDS 较 Triton X-100 的脱细胞效果更强。Tischer^[17]将经 1%SDS 脱细胞处理和自体成纤维细胞种植培养的异体半腱肌腱及自体半腱肌用于兔 ACL 重建,发现术后 8 周异体肌腱组最大载荷明显低于自体肌腱组。

有机溶剂法是用有机溶剂对肌腱中的细胞成分进行萃取或溶解,保留肌腱的细胞外基质,从而实现脱细胞的方法。磷酸三丁酯(TBP)属于阴离子表面活性剂,能彻底脱除肌腱中的细胞成分,但对肌腱组织形态学无明显影响。Cartmell 等^[18]使用 1%的 SDS 及 TBP 对兔髌腱进行处理并与新鲜髌腱对比,发现处理 48 h SDS 与 TBP 的细胞下降率为 91% vs 84%,虽无统计学差异,但 TBP 处理更好地保留了肌腱的组织形态。三氯甲烷/甲醇及 95%纯度酒精属于醇类有机溶剂,能溶解细胞中的脂质成分,同时使细胞水分脱失而裂解细胞。Tauro 等^[19]报道将异体兔髌腱进行氯仿/甲醇、磷酸缓冲液和冻干处理,与未处理和自体肌腱相比,术后 90 d 时未处理肌腱抗体效价高于自体肌腱,而脱细胞处理组与自体肌腱组相近。有机溶剂和去垢剂在脱细胞法中的作用和机制不同,有机溶剂通常用于溶解和去除组织中的脂类和其他非极性化合物,通过脱水和细胞溶解促进细胞去除。去垢剂主要是通过其两亲性质来溶解和提取细胞膜中的蛋白质,特别是膜蛋白,使脂膜解体释放膜蛋白,并维持去膜状态下膜蛋白结构和功能的稳定性。总的来说,有机溶剂主要通过溶解和脱水作用去除细胞,而去垢剂则通过其两亲性质溶解细胞膜中的蛋白质。

有学者报道脱氧鸟苷培养液培养肌腱降低免疫原性的方法,其可选择性去除肌腱中的抗原呈递细胞,阻断移植后经直接识别途径激发的免疫排斥反应,且保留肌腱结构的完整性。唐林俊等^[20]用脱氧尿苷处理结合二甲基亚砜保护下的超深低温冷冻鸡趾屈腿活体异体移植,结果显示处理后肌腱达到了与自体肌腱移植相同的效果,表明肌腱免疫原性已完全消除。有临床研究针对 12 例患者应用 30 根同种异体肌腱,并检测复苏肌腱的腱细胞活力、组织学,发现肌腱复苏后仍保存 70.5%的活力,且临床效果满意,粘连发生较少,根据中华手外科学会手功能评价标准,优 12 例,良 6 例,优良率 75%,术后 10 年随访仅 1 例 4 条移植肌腱有 6°~10°屈曲功能丢失^[21]。

2 脱脂技术

肌腱脱脂是采用化学和生物方法除去肌腱上存在的脂肪成分。脱脂方法包括:超声脱脂、化学有机试剂法、超临界二氧化碳法、碱性试剂法。

超声脱脂技术作为一种机械作用的能量形式,通过声波振荡引发空化现象,产生高温高压的局部条件,能够有效破坏细胞膜,使脂肪成分发生破裂和溶

解^[22]。超声能促进脂肪细胞内部脂质的乳化和分解,加速脂肪代谢,有利于脂肪成分的降解和清除。脂肪成分的去除了可以减少潜在的免疫原性,在临床上具有更好的生物相容性和机械性能。朱加亮^[23]研究脱脂对免疫原性的影响时利用超声“内爆效应”,波的膨胀与压缩使液体内部形成众多微空隙,在压缩周期内对液体分子产生正压效应,而在膨胀周期内则产生负压效应,细胞内外微空隙的内爆将引起分子运动增强,并达到一个高能水平,导致细胞破裂,从而对同种异体肌腱进行脱脂处理。同时超声波的空化作用不会破坏胶原蛋白的三股螺旋结构,仅使溶液中胶原的聚集变得松散^[24],利用超声脱脂既保持了肌腱基质结构的完整性,又避免了对肌腱组织造成不可逆的损伤。

化学有机试剂法是同种异体肌腱脱脂过程中广泛采用的方法,能溶解细胞中的脂质成分,同时能使得细胞水分脱失而裂解细胞,本质是利用有机溶剂与油脂间的“相似相溶”特性,以实现油脂与皮层的有效分离^[25]。常用的有机溶剂包括无水乙醇、异丙醇、乙二醇等。醇类比脂肪酶更有效地从组织中去除了脂质,经95%乙醇浸泡处理的异体肌腱移植后,保持了胶原纤维的正常结构,效果明显优于同种异体肌腱直接移植重建^[26]。同时,脱脂过程还包括去除脱脂废液后的二次浸泡,常采用异丙醇以进一步提高脱脂效果,然而该方法有可能引入有机溶剂的有毒物质,且试剂残留情况可能会影响材料的生物相容性。

超临界二氧化碳脱脂是一种新兴的工艺,当流体受到高于临界条件的温度和压力时,形成的流体被称为超临界流体^[27]。这种流体具有密度大、溶解能力强、传质速率高、相对惰性、无毒、可回收和易于获得等特性。超临界二氧化碳萃取法的脱脂效果与传统化学法相似,但其生物相容性优于化学法,因此被认为是一种较优的脱脂方法。鲜海^[28]通过研究使用超临界二氧化碳萃取的复合技术处理同种异体组织,发现处理后的组织结构完整,并且无毒性试剂残留。

3 脱细胞技术

同种异体肌腱脱细胞过程是肌腱预处理至关重要的一步,目的在于降低移植物的免疫原性反应,提高移植物与宿主组织的相容性,从而促进术后愈合。

酶作为一种脱细胞工具发挥着关键作用, Gilbert等^[29]综述表明胰蛋白酶是最常用的酶之一,在同种异体肌腱脱细胞过程中得到了广泛应用,通过其蛋白水解酶的特性,胰蛋白酶能够有效降解肌腱中的细胞

膜和细胞器结构,将细胞与基质分离,实现脱细胞的目的,该过程不仅可有效降低移植物的免疫原性,还能保留移植物结构的完整性和生物力学特性。Koo等^[30]为探究新的脱细胞方案,采用胰蛋白酶-EDTA联合超声波等方法对人体组织进行脱细胞处理,取得了令人满意的效果。这种联合处理不仅能完全去除细胞,还能在脂质双层中形成微孔,为移植后的细胞迁移和再生提供有利条件。Sánchez等^[31]为证实胰蛋白酶在同种异体肌腱脱细胞中的有效性,使用胰蛋白酶、Triton X-100和DNA酶联合处理猪腹壁筋膜组织,结果表明细胞外基质实现了完全脱细胞,同时保持移植物良好的拉伸力学特性。

超声技术作为一种非侵入性脱细胞方法,近年来在同种异体肌腱脱细胞中的应用备受关注。超声波的机械作用可以产生局部的高压和低压区域,从而导致细胞膜的破裂和细胞器的破碎,实现细胞的脱落和细胞内成分的释放。同时,超声波还能够引起组织中的热效应,提高细胞膜的通透性,加速脱细胞过程。超声波辅助的同种异体肌腱脱细胞方法具有高效、快速、无需化学试剂等优点,既能够保留肌腱的结构和力学特性,又降低了免疫原性,为移植手术的成功提供了可靠保障^[22]。

冷冻技术也具有脱细胞作用,通过冷冻-解冻过程中的温度变化,使细胞膜和细胞器受到损伤,最终达到脱细胞的目的。与化学试剂相比,冷冻法不会引入外源性化学物质,避免了化学残留物对移植物的影响,被认为是一种更加安全的脱细胞方法。研究表明,冷冻处理可以有效去除肌腱中的细胞成分,同时保持肌腱的结构完整性和生物学活性。然而,冷冻过程中的温度变化和冰晶形成也可能对肌腱组织造成损伤,因此需要对冷冻条件进行精确控制,以确保脱细胞的有效性和肌腱的质量^[32]。

4 现状与展望

近年来,同种异体肌腱的处理方法不断更新,面对同种异体肌腱固有的疾病传播及免疫排斥风险,研究者们不断尝试各种处理流程的开发和验证。目前,超临界二氧化碳灭活脱脂、微生物脱脂及组织工程等新方法尚处于起步阶段。最优处理工艺并非每一步处理方法的随机组合,而应是终产品表现出的整体性质,符合工业界“质量源于设计”的理念,从而产生质量可控的产品。随着分子生物学技术与理论的进步,相信未来将有更优的同种异体肌腱处理工艺,使

更多的患者从中获益。

参考文献

- [1] Zbrojkiewicz D, Vertullo C, Grayson JE. Increasing rates of anterior cruciate ligament reconstruction in young Australians, 2000–2015 [J]. *Med J Aust*, 2018, 208 (8) : 354–358. DOI: 10.5694/mja17.00974.
- [2] Ganestam A, Kallelose T, Troelsen A, et al. Increasing incidence of acute Achilles tendon rupture and a noticeable decline in surgical treatment from 1994 to 2013. A nationwide registry study of 33, 160 patients [J]. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*, 2016, 24 (12) : 3730–3737. DOI: 10.1007/s00167-015-3544-5.
- [3] Fan DY, Ma J, Zhang L. Patellar tendon versus artificial grafts in anterior cruciate ligament reconstruction: a systematic review and meta-analysis [J]. *J Orthop Surg Res*, 2021, 16 (1) : 478. DOI: 10.1186/s13018-021-02624-x.
- [4] 向德剑, 王耀斌, 耿彬, 等. 自体肌腱移植修复陈旧性跟腱损伤 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2024, 32 (10) : 950–953. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2024.10.17.
Xiang DJ, Wang YB, Geng Bin, et al. Repair of old Achilles tendon rupture by tendon autografts [J]. *Orthopedic Journal of China*, 2024, 32 (10) : 950–953. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2024.10.17.
- [5] 刘玉强, 李明, 刘宁. 两种镜下胫骨隧道定位后交叉韧带重建比较 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2022, 30 (24) : 2229–2234. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2022.24.05.
Liu YQ, Li M, Liu N. Comparison of two arthroscopic tibial tunnel position techniques in posterior cruciate ligament reconstruction [J]. *Orthopedic Journal of China*, 2022, 30 (24) : 2229–2234. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2022.24.05.
- [6] Maletis GB, Inacio MC, Funahashi TT. Analysis of 16,192 anterior cruciate ligament reconstructions from a community-based registry [J]. *Am J Sports Med*, 2013, 41 (9) : 2090–2098. DOI: 10.1177/0363546513493589.
- [7] 万彦林, 高冰, 王丽敏, 等. 同种异体肌腱羟脯氨酸测定的正交试验 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2024, 32 (4) : 356–361. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2024.04.12.
Wan YL, Gao B, Wang LM, et al. An orthogonal test for spectrophotometry of hydroxyproline in allogeneic tendon [J]. *Orthopedic Journal of China*, 2024, 32 (4) : 356–361. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2024.04.12.
- [8] 杜永军, 赵胡瑞. 同种异体肌腱移植进展 [J]. *医学综述*, 2009, 15 (13) : 2003–2006. DOI: 10.3969/j.issn.1006-2084.2009.13.030.
Du YJ, Zhao HR. The progress in allogeneic tendon transplantation [J]. *Medical Recapitulate*, 2009, 15 (13) : 2003–2006. DOI: 10.3969/j.issn.1006-2084.2009.13.030.
- [9] Kreuz FP, Hyatt GW, Turner TC, et al. The preservation and clinical use of freeze-dried bone [J]. *J Bone Joint Surg Am*, 1951, 33-A (4) : 863–872.
- [10] Mahirogullari M, Ferguson CM, Whitlock PW, et al. Freeze-dried allografts for anterior cruciate ligament reconstruction [J]. *Clin Sports Med*, 2007, 26 (4) : 625–637. DOI: 10.1016/j.csm.2007.06.011.
- [11] Bechtold JE, Eastlund DT, Butts MK, et al. The effects of freeze-drying and ethylene oxide sterilization on the mechanical properties of human patellar tendon [J]. *Am J Sports Med*, 1994, 22 (4) : 562–566. DOI: 10.1177/036354659402200421.
- [12] 赵彦涛, 刘思扬, 尹惠琼, 等. γ 射线终末辐照对同种异体肌腱病毒灭活效果及生物力学性能影响的研究 [J]. *中国骨与关节杂志*, 2018, 7 (5) : 389–393. DOI: 10.3969/j.issn.2095-252X.2018.05.015.
Zhao YT, Liu SY, Yin HQ, et al. Effects of terminal γ -ray irradiation sterilization on the viral inactivation and biomechanical property of the tendon allograft [J]. *Chinese Journal of Bone and Joint*, 2018, 7 (5) : 389–393. DOI: 10.3969/j.issn.2095-252X.2018.05.015.
- [13] Giannini S, Buda R, Di Caprio F, et al. Effects of freezing on the biomechanical and structural properties of human posterior tibial tendons [J]. *Int Orthop*, 2008, 32 (2) : 145–151. DOI: 10.1007/s00264-006-0297-2.
- [14] 唐林俊, 陈浩贤, 崔太安, 等. 同种异体肌腱修复肌腱缺损的远期疗效观察 [J]. *中国修复重建外科杂志*, 2011, 25 (3) : 341–343.
Tang LJ, Chen HX, Cui TA, et al. Long-term effectiveness of tendon allograft for repairing tendon defect [J]. *Chinese Journal of Reparative and Reconstructive Surgery*, 2011, 25 (3) : 341–343.
- [15] Shahraki S, Bideskan AE, Aslzare M, et al. Decellularization with triton X-100 provides a suitable model for human kidney bioengineering using human mesenchymal stem cells [J]. *Life Sci*, 2022, 295: 120167. DOI: 10.1016/j.lfs.2021.120167.
- [16] Hřebíková H, Voborníková M, Hetešová M, et al. Histological evaluation of decellularized skeletal muscle tissue using two different decellularization agents [J]. *Acta Medica (Hradec Kralove)*, 2016, 59 (4) : 107–112. DOI: 10.14712/18059694.2017.36.
- [17] Tischer T, Aryee S, Wexel G, et al. Tissue engineering of the anterior cruciate ligament—sodium dodecyl sulfate—acellularized and revitalized tendons are inferior to native tendons [J]. *Tissue Eng Part A*, 2010, 16 (3) : 1031–1040. DOI: 10.1089/ten.TEA.2009.0043.
- [18] Cartmell JS, Dunn MG. Development of cell-seeded patellar tendon allografts for anterior cruciate ligament reconstruction [J]. *Tissue Eng*, 2004, 10 (7–8) : 1065–1075. DOI: 10.1089/ten.2004.10.1065.
- [19] Tauro JC, Parsons JR, Ricci J, et al. Comparison of bovine collagen xenografts to autografts in the rabbit [J]. *Clin Orthop Relat Res*, 1991, 266 (266) : 271–284.
- [20] 唐林俊, 陈秉礼, 丁钦蓉, 等. 脱氧鸟苷培养处理的同种异体肌腱移植的实验研究 [J]. *中华骨科杂志*, 1996, 16 (3) : 175–178, C2. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2352.1996.03.117.
Tang LJ, Chen BL, Ding QR, et al. Experimental study of deoxyguanosine treated tendon homograft [J]. *Chinese Journal of Orthopaedics*, 1996, 16 (3) : 175–178, C2. DOI: 10.3760/cma.j.issn.

- 0253-2352.1996.03.117.
- [21] 唐林俊, 程国良, 方光荣, 等. 培养处理与冷冻保存同种异体肌腱的临床研究 [J]. 中华手外科杂志, 1999, 15 (2) : 87-89. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1005-054X.1999.02.113.
Tang LJ, Cheng GL, Fang GR, et al. Clinical study of cultured and cryopreserved human tendon allograft [J]. Chinese Journal of Hand Surgery, 1999, 15 (2) : 87-89. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1005-054X.1999.02.113.
- [22] Verhaagen B, Fernández Rivas D. Measuring cavitation and its cleaning effect [J]. Ultrason Sonochem, 2016, 29: 619-628. DOI: 10.1016/j.ultrsonch.2015.03.009.
- [23] 朱加亮. 脱脂对异体松质骨免疫原性和成骨能力的影响 [D]. 北京: 中国人民解放军军医进修学院, 2008.
Zhu JL. The influence of defatting on immunogenicity and osteogenicity of cancellous bone allograft [D]. Beijing: Chinese People's Liberation Army (PLA) Medical School, 2008.
- [24] 李德富, 周玉玲, 穆畅道, 等. 超声波对溶液中胶原蛋白聚集体和三股螺旋结构的影响 [J]. 皮革科学与工程, 2009, 19 (5) : 14-17, 22.
Li DF, Zhou YL, Mu CD, et al. Effect of ultrasonic irradiation on aggregate and triple-helix structure of collagen in acetic acid solution [J]. Leather Science and Engineering, 2009, 19 (5) : 14-17, 22.
- [25] Levy RJ, Vyavahare N, Ogle M, et al. Inhibition of cusp and aortic wall calcification in ethanol- and aluminum-treated bioprosthetic heart valves in sheep: background, mechanisms, and synergism [J]. J Heart Valve Dis, 2003, 12 (2) : 209-216.
- [26] Flynn LE. The use of decellularized adipose tissue to provide an inductive microenvironment for the adipogenic differentiation of human adipose-derived stem cells [J]. Biomaterials, 2010, 31 (17) : 4715-4724. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2010.02.046.
- [27] Irani M, Lovric V, Walsh WR. Effects of supercritical fluid CO₂ and 25 kGy gamma irradiation on the initial mechanical properties and histological appearance of tendon allograft [J]. Cell Tissue Bank, 2018, 19 (4) : 603-612. DOI: 10.1007/s10561-018-9709-y.
- [28] 鲜海, 刘舒云, 眭翔, 等. 基于超临界二氧化碳萃取的复合技术在同种异体骨体外处理的应用 [J]. 西南医科大学学报, 2018, 41 (3) : 205-209. DOI: 10.3969/j.issn.2096-3351.2018.03.004.
Xian H, Liu SY, Sui X, et al. Application of composite technology based on supercritical carbon dioxide extraction in vitro processing of allograft bones [J]. Journal of Southwest Medical University, 2018, 41 (3) : 205-209. DOI: 10.3969/j.issn.2096-3351.2018.03.004.
- [29] Gilbert TW, Sellaro TL, Badylak SF. Decellularization of tissues and organs [J]. Biomaterials, 2006, 27 (19) : 3675-3683. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2006.02.014.
- [30] Koo MA, Jeong H, Hong SH, et al. Preconditioning process for dermal tissue decellularization using electroporation with sonication [J]. Regen Biomater, 2021, 9 (1) : rbab071. DOI: 10.1093/rb/rbab071.
- [31] Sánchez JC, Diaz DM, Sanchez LV, et al. Decellularization and in vivo recellularization of abdominal porcine fascial tissue [J]. Tissue Eng Regen Med, 2021, 18 (3) : 369-376. DOI: 10.1007/s13770-020-00314-z.
- [32] Whaley D, Danyar K, Witek RP, et al. Cryopreservation: an overview of principles and cell-specific considerations [J]. Cell Transplant, 2021, 30: 963689721999617. DOI: 10.1177/0963689721999617.

(收稿:2024-03-21 修回:2024-06-01)

(同行评议专家: 李建鹏, 韩青, 虞舜志)

(本文编辑: 宁桦)