一种消化外科生物补片及其制备方法

技术领域

本发明涉及一种消化外科生物补片及其制备方法。

背景技术

消化道肿瘤是指原发于消化道部位的一大类良性和恶性肿瘤的总称，随着人口老龄化趋势的加剧，消化外科肿瘤患者的比例逐渐上升，这类患者往往因为放化疗后组织质量差，在手术过程中吻合口（胃或食道和小肠缝合的地方称为“吻合口”）容易发生切缘出血、渗血、渗液、吻合口狭窄等并发症，这些并发症严重增加患者的精神、身体、经济负担。在消化外科领域，由于手术涉及到的血管非常多，所以最常见的并发症就是在术中和术后阶段出现出血或渗血。术中处理出血或渗血，会让手术时间更长，患者损伤更大，使用的医疗耗材和器械更多。而术后的出血则需要患者更长时间的住院治疗，甚至二次手术。

为了应对这些并发症，微创手术逐渐普及，其中吻合器是常用的手术工具。微创手术尽管在一定程度上减少了手术创伤，但吻合口并发症的问题仍然存在。由生物材料得到的生物补片弹性佳，可绷紧吻合口，降低吻合口出血或吻合口狭窄等并发症的发生率，所以临床上开始探索通过在吻合口加固生物补片的方法来降低手术操作难度、术中并发症和术后并发症，提高治疗效果。

发明内容

本发明通过研究发现，通过控制生物补片的最大拉伸伸长率、弹性变形率、单线缝合牵拉力，以及弹性变形率占最大拉伸伸长率的值这四个关键参数范围，得到的生物补片能够有效降低消化外科手术的术中或术后出现吻合口渗血和胃、肠液渗液等相关并发症。

本发明中，最大拉伸伸长率和单线缝合牵拉力的测定参考现有文献（李崇崇, 刘丽, 王硕, 等. 同种异体与动物源性补片的力学性能比较[J]. 北京生物医学工程, 2021.）。弹性变形率的测定是使用本领域的常规测定方法。将所制备的生物补片剪裁成长 4cm，宽 1cm，沿其长度方向将生物补片夹持在拉力试验机

上，以 100mm/min 速度施加拉伸载荷使生物补片拉伸，直至拉断，绘制拉伸曲线，基于拉伸曲线的弹性变形段，计算生物补片的弹性变形率。

作为本发明的一个方面，涉及一种消化外科生物补片，所述生物补片的最大拉伸伸长率不小于 14.8%，弹性变形率范围不小于 13.7%，单线缝合牵拉力大于 15.6N。

在具体实施例中，所述生物补片的最大拉伸伸长率在 14.8-44.6%，弹性变形率范围 13.7-39.1%，单线缝合牵拉力范围 15.6-54.1N，弹性变形率占最大拉伸伸长率的 39-89%。适用于消化道结肠、回肠的外科手术。

在具体实施例中，所述生物补片的最大拉伸伸长率在 14.8-44.6%，弹性变形率范围 14.6-39.1%，单线缝合牵拉力范围 15.6-54.1N，弹性变形率占最大拉伸伸长率的 50-89%。适用于消化道直肠的外科手术。

在具体实施例中，所述生物补片的最大拉伸伸长率在 14.8-44.6%，弹性变形率范围 13.7-39.1%，单线缝合牵拉力范围 15.6-54.1N，弹性变形率占最大拉伸伸长率的 50-89%。适用于消化道十二指肠的外科手术。

在具体实施例中，所述生物补片的最大拉伸伸长率在 14.8-44.6%，弹性变形率范围 14.6-39.1%，单线缝合牵拉力 19.7-54.1N，弹性变形率占最大拉伸伸长率的 56-89%。适用于消化道胃的外科手术，也可广泛适用于消化道各部位的外科手术。

所述消化外科生物补片优选为牛心包来源的生物补片。

所述消化外科生物补片设有两个穿孔，所述两个穿孔位于所述生物补片的相对两端部。

作为本发明的另一个方面，涉及包括上述消化外科生物补片的吻合器套装。由于目前消化外科手术切割大都采用切割吻合器的方式，补片的应用需要结合吻合器钉夹的预安装，即在手术前将补片拉伸固定于钉夹两端。

作为本发明的再一个方面，涉及制备上述消化外科生物补片的方法，包括以下步骤：

（1）将健康的牛心包片状组织浸于低渗 Hank's 液中，经多次漂洗反复更换低渗 Hank's 液，以充分溶胀和破碎存在组织内的各种细胞；

（2）用生理盐水反复漂洗经上述处理后的组织片，每次漂洗 60min-

120min，每次更换生理盐水，总漂洗次数依据组织片镜下看不到有形细胞或细胞成分及细胞碎片，并且进行蛋白与核酸定量测定直至检不出可溶性蛋白与核酸为止；

（3）用表面活性剂溶液吐温 80 去除组织片内的磷酯和非结构蛋白以及部分组织基质如通明质酸、各种硫酸软骨素和粘多糖等免疫原性分子；

（4）浸泡在浓度为 0.5-1.5%的戊二醛溶液中 3-3.5h；

（5）将预处理后的组织材料置于 Cr^{3+}离子浓度为 0.0625mol/dm^3，OH/Cr 为 0.5 的羟基铬溶液中，35-42℃水浴振荡 3.5-5h；检测材料处理液的 pH 并用 10％$NaHCO_3$ 提高 0.3-0.5pH 单位，然后再在 40-46℃水浴振荡 60min。

本发明提供的生物补片作为胃、肠消化道组织切缘的衬垫，手术前，可简便且稳定地预置于吻合器的夹合片的内侧，在术中夹合组织时，吻合器钛钉穿过生物补片后形成的钉孔及缝线处会因生物补片的弹性回缩变形迅速收缩以防止渗漏，同时生物补片的回弹变形也使得组织夹合更加稳固牢靠，起到密封，促进切缘组织的愈合与修复的作用，能够有效防止术后渗血、渗液所产生的各种食管漏、胃漏和肠漏等并发症。

本发明提供的生物补片以牛心包为原材料，具有优异的组织相容性，可促进组织修复愈合，并能使钛钉挤压的应力均匀分布于整个吻合口缝合钉上，降低局部组织切割力，可有效降低吻合口出血、渗液等并发症的发生率，简化手术操作。

附图说明

图 1 为将生物补片预置到吻合器上的示意图；其中，A 为不同穿孔距离的生物补片；B 为未预置生物补片的吻合器；C 为预置吻合器的生物补片；D 为图 C 中 E 处的局部放大图。

图 2 为采用实施例 1 得到的生物补片的白猪心脏、肝脏、脾脏和肺脏的 HE 染色结果。

图 3 为采用实施例 1 得到的生物补片的白猪左肾、右肾和脑的 HE 染色结果。

图 4 为采用实施例 1 得到的生物补片的白猪胃、胃周围组织和肠的 HE 染色

结果。

图 5 为采用实施例 1 得到的生物补片的白猪肠周围组织的 HE 染色结果。

附图标记：生物补片 1、穿孔 2、吻合器 3、夹合片 4、钉仓或钛钉砧 5。

具体实施方式

发明人在完成本发明的过程中，首先针对消化外科手术容易出现吻合口出血、渗液等并发症的问题，参考现有文献（李崇崇, 刘丽, 王硕, 等. 同种异体与动物源性补片的力学性能比较[J]. 北京生物医学工程, 2021.），将生物补片的拉伸强度、最大拉伸伸长率和单线缝合牵拉力作为筛选生物补片的参数，各参数的测定方法参考该文献。但是，测定后发现，得到的生物补片的拉伸强度波动较大，数值不稳定，并且经过动物实验发现，通过生物补片的拉伸强度与吻合口出血、渗液进行关联是不稳定的，生物补片的拉伸强度不能作为筛选生物补片的参数。于是，发明人将生物补片的筛选评价参数确定为最大拉伸伸长率、弹性变形率和单线缝合牵拉力，并经过临床试验确定了这三个参数的优选范围如下：

（1）进行结肠、回肠手术的生物补片：最大拉伸伸长率范围 14.8-44.6%、弹性变形率范围 13.7-39.1%、单线缝合牵拉力 15.6-54.1N。

（2）进行直肠手术的生物补片：最大拉伸伸长率范围 14.8-44.6%、弹性变形率范围 14.6-39.1%和单线缝合牵拉力 15.6-54.1N。

（3）进行十二指肠手术的生物补片：最大拉伸伸长率范围 14.8-44.6%、弹性变形率范围 13.7-39.1%和单线缝合牵拉力 15.6-54.1N。

（4）进行胃部手术的生物补片及通用消化外科的生物补片：最大拉伸伸长率范围 14.8-44.6%、弹性变形率范围 14.6-39.1%和单线缝合牵拉力 19.7-54.1N。

但是，在此过程中，意外的发现，弹性变形率占最大拉伸伸长率的值也会对吻合口出血、渗液产生影响。

发明人又经过临床试验对此发现进行了验证，确认当最大拉伸伸长率、弹性变形率和单线缝合牵拉力在特定范围内时，再控制弹性变形率占最大拉伸伸长率的值，会有利于减少消化外科手术吻合口出血、渗液等并发症的发生。不同手术部位的所需弹性变形率占最大拉伸伸长率的值如下：

（1）进行结肠、回肠手术的生物补片：弹性变形率占最大拉伸伸长率的39-89%。

（2）进行直肠、十二指肠手术的生物补片：弹性变形率占最大拉伸伸长率的 50-89%。

（3）进行胃部手术的生物补片及通用消化外科的生物补片：弹性变形率占最大拉伸伸长率的 56-89%。

一、生物补片的制备方法

（1）预处理

本发明中，所述预处理特指对生物组织进行脱细胞、去除免疫原性的操作步骤，为本领域的常规技术手段，以脱除细胞组织成分和去除免疫原性为目的，本发明不限定具体操作过程。其具体操作过程可以参考如下：

①将健康的牛心包片状组织浸于低渗 Hank's 液中，经多次漂洗反复更换低渗 Hank's 液，以充分溶胀和破碎存在组织内的各种细胞。本发明选取牛心包组织。

②用生理盐水反复漂洗经上述处理后的组织片，每次生理盐水漂洗 60min-120min（比如，本发明一具体实施例优选生理盐水漂洗时间为 60min），每次更换生理盐水，总漂洗次数依据组织片镜下看不到有形细胞或细胞成分及细胞碎片，并且进行蛋白与核酸定量测定直至检不出可溶性蛋白与核酸为止。

③用表面活性剂溶液吐温 80（Tween 80）去除组织片内的磷酯和非结构蛋白以及部分组织基质如通明质酸、各种硫酸软骨素和粘多糖等免疫原性分子。

④浸泡在浓度为 0.5-1.5%的戊二醛溶液中 3-3.5h。本发明一具体实施例优选戊二醛浸泡条件是：0.5%的戊二醛溶液中 3.5h。

（2）化学改性

在组织骨架胶原分子内和/或分子间以及骨架胶原与组织基质之间游离羧基实施复合交联改性，使改性后的组织片获得相应的力学性能和抗钙化性能的过程，本发明用的交联剂为羟基铬的配位化合物的多聚体。具体操作可参考：将预处理后的组织材料置于 Cr^{3+}离子浓度为 0.0625mol/dm^3，OH/Cr 为 0.5 的羟基铬溶液中，进行第一次水浴振荡，条件为：35-42℃3.5-5h（比如，本发明一具体实施例采用的第一次水浴振荡条件为 35℃水浴振荡 3.5h）。检测材料处理液的

pH 并用 10%$NaHCO_3$ 提高 0.3-0.5pH 单位（比如，本发明一具体实施例优选采用 10%$NaHCO_3$ 提高 0.3pH 单位），然后再进行第二次水浴振荡，条件为：40-46℃ 60-120min（比如，本发明一具体实施例优选采用的第一次水浴振荡条件为40℃水浴振荡 60min），最后得到呈单层片状的生物补片。

得到的生物补片的一面为粗糙面，另一面为光滑面。如图 1 所示，在得到的生物补片 1 上开有两个以上且走向一致，大小略小于夹合片 4 宽度的穿孔 2，使夹合片 4 的自由端依次穿过其中两个穿孔 2（根据手术需要选择两个穿孔 2 的距离），手动操作进一步调整生物补片 1 位置，使生物补片 1 平铺贴合在夹合片 4 的内侧，粗糙面与吻合器的钉仓或钉砧 5 接触，接触后有较大的摩擦力，让生物补片 1 在吻合器 3 切割和吻合时不容易滑脱；光滑面与消化组织贴合，保证与消化组织的贴合度。穿孔 2 大小略小于夹合片 4 宽度可以保证生物补片 1 挂在夹合片 4 上时保持拉伸状态，不发生滑动或者从夹合片 4 上滑脱。

实施例 1-17

表 1：实施例 1-17 制备方法的主要区别

条件 / 组别	第一水浴振荡条件	10% $NaHCO_3$ 浓度及提高 pH 单位	第二次水浴振荡条件	生理盐水漂洗时间	戊二醛溶液浓度和浸泡时间
实施例 1	35℃, 3.5h	0.3pH	40℃, 60min	60min	0.5%，3h
实施例 2	39℃, 3.5h	0.5pH	44℃, 60min	80min	0.6%，3h
实施例 3	40℃, 3.5h	0.3pH	46℃, 60min	90min	0.6%，3.5h
实施例 4	42℃, 3.5h	0.4pH	42℃, 80min	100min	0.7%，3h
实施例 5	35℃, 4h	0.5pH	44℃, 80min	110min	0.7%，3.5h
实施例 6	36℃, 4h	0.3pH	46℃, 80min	120min	0.8%，3h
实施例 7	37℃, 4h	0.4pH	42℃, 100min	60min	0.8%，3.5h
实施例 8	39℃, 4h	0.5pH	44℃, 100min	70min	0.9%，3h
实施例 9	42℃, 4h	0.3pH	46℃, 100min	80min	0.9%，3.5h
实施例 10	35℃, 4.5h	0.4pH	40℃, 120min	90min	1.0%，3h
实施例 11	38℃, 4.5h	0.5pH	41℃, 120min	100min	1.0%，3.5h
实施例 12	40℃, 4.5h	0.3pH	42℃, 120min	110min	1.1%，3h
实施例 13	42℃, 4.5h	0.4pH	43℃, 120min	120min	1.1%，3.5h
实施例 14	35℃, 5h	0.5pH	44℃, 120min	60min	1.2%，3h
实施例 15	37℃, 5h	0.4pH	45℃, 120min	70min	1.4%，3.5h
实施例 16	37℃, 3.5h	0.4pH	42℃, 60min	70min	0.5%，3.5h
实施例 17	42℃, 5h	0.5pH	46℃, 120min	80min	1.5%，3h

二、测定拉伸强度、最大拉伸伸长率和单线缝合牵拉力

良好的力学性能能够降低吻合口出血、渗液等并发症的发生率，提高生物补片的顺应性，提高患者的使用舒适度。为了探索力学参数与消化科生物补片出血、渗液、顺应性、舒适度的关系，发明人首先查阅文献，并基于现有文献（李崇崇, 刘丽, 王硕, 等. 同种异体与动物源性补片的力学性能比较[J]. 北京生物医学工程, 2021.）测定实施例 1-17 得到的生物补片。

本发明通过实施例 1-17，共制备 17 个批次的生物补片，每个批次（实施例）得到 10 个生物补片，参照上述文献分别测定各参数，取平均值，得到的生物补片的拉伸强度、最大拉伸伸长率和单线缝合牵拉力，测定结果如下表 2 所示：

表 2：实施例 1-17 的最大拉伸伸长率、拉伸强度和单线缝合牵拉力

组别	最大拉伸伸长率	拉伸强度	单线缝合牵拉力
实施例 1	44.6±0.3%	32.3±1.8MPa	15.8±0.3N
实施例 2	14.8±0.5%	27.4±2.1MPa	25.5±0.1N
实施例 3	21.7±0.1%	31.8±2.5MPa	54.1±0.1N
实施例 4	18.2±1.1%	30.7±4.4MPa	19.2±0.3N
实施例 5	15.4±0.2%	23.3±2.6MPa	19.7±0.1N
实施例 6	29.8±1.5%	29.6±1.3MPa	20.3±0.2N
实施例 7	27.2±0.3%	33.5±0.9MPa	33.6±0.1N
实施例 8	35.5±1.6%	21.1±2.8MPa	26.4±0.3N
实施例 9	42.4±1.5%	29.3±1.1MPa	15.6±0.1N
实施例 10	40.1±0.2%	20.7±3.3MPa	31.8±0.1N
实施例 11	25.9±2.4%	31.1±1.7MPa	29.1±0.1N
实施例 12	33.2±3.1%	28.2±1.8MPa	35.4±0.1N
实施例 13	41.5±1.3%	22.9±0.4MPa	36.2±0.2N
实施例 14	39.4±1.2%	20.3±1.1MPa	28.7±0.1N
实施例 15	30.7±0.2%	26.1±3.2MPa	36.1±0.1N
实施例 16	26.3±0.3%	37.5±1.8MPa	37.2±0.1N
实施例 17	11.1±0.4%	25.5±1.3MPa	22.8±0.2N

由表 2 可以看出，实施例 1-17，每个实施例同批次得到的 10 个生物补片的拉伸强度波动较大，数值不稳定，可能是因为补片的拉伸强度还存在其他影响因素是发明人未能发现的，使得无法对生物补片的拉伸强度进行准确控制，这对于作为手术材料使用是不合适的。

总结上述制备方法得到的力学参数可知，采用本发明得到的生物补片的最大拉伸伸长率范围为 11.1-44.6%、拉伸强度 20.3-37.5MPa、单线缝合牵拉力范围为 15.6-54.1N。

每个实施例得到的 10 个生物补片，分别剪裁成长 4cm，宽 1cm，测试是否能够预置到吻合器上。

生物补片预置到吻合器需要适当拉伸，这与最大拉伸伸长率有关，理论上最大拉伸伸长率越大越好，如果最大拉伸伸长率过小，生物补片拉伸较小的距离就会断裂，比如分别取实施例 17（最大拉伸伸长率 11.1±0.4%）得到的 10 个生物补片装配吻合器，发现有 9 个扯断，1 个出现明显裂痕，这体现出生物补片的强韧性，极不易变形，且变形后很快进入永久变形并迅速发生断裂破坏。

由此发现，最大拉伸伸长率为 11.1%的生物补片不能满足安装到吻合器上的要求。又基于其他实施例得到的生物补片满足拉伸要求，可以预置到吻合器上，所以取实施例 2 得到的补片的最大拉伸伸长率 14.8±0.5%，即是满足将生物补片安装到吻合器上的最大拉伸伸长率的最小值。

对满足预置吻合器要求的实施例（实施例 1-16）进行动物实验。

三、动物实验

由于白猪的胃肠道在解剖结构和生理功能上与人类存在许多相似之处，这使得白猪成为研究人类胃肠道疾病和损伤的理想动物模型，且白猪的体型适中，便于实验操作和管理。与小鼠和大鼠等小型动物相比，白猪提供了更大的操作空间，使得研究人员能够更容易地进行手术操作。同时，白猪在实验室条件下易于饲养和管理，术后不易发生感染，长期饲养较容易控制，长期存活率高。

根据 SOP-5 实验动物及接收操作规程购买健康实验动物，实验动物由江西银蛇生物科技有限公司（许可证号为 SCXK（赣）2023-0002）提供，所有动物在试验开始时均是初次用于动物实验。所有受试动物在手术前经过隔离检疫，通过隔离检疫合格的受试动物才被归入到本研究中。

1. 入选标准

符合国家《动物检疫管理办法》要求；体重在 50-60kg；生理各项指标正常；无明显严重动物疾病（如：活动性消化性疾病、血液系统及代谢系统疾

病、感染性疾病及人畜共患病等）。

2. 饲养

依据 SMP-5 实验动物照料管理规章制度跟踪管理实验动物，每天分两次给实验动物适量的饲料，动物可经自动供水系统自由饮水，饲料和饮水均为洁净安全。

3. 分组和数量

1 个月组：共 48 头（16 个实施例，每个实施例使用 3 头进行实验）；3 个月组：48 头（16 个实施例，每个实施例使用 3 头进行实验）。性别不限，随机分组。

实验过程中记录动物信息：体重、手术时间、存活天数、生物补片信息等。

术前测量血常规、血生化、凝血功能、血气。

术后 1 个月、术后 3 个月测量、血常规、血生化、凝血功能、血气。

4. 实验步骤

①术前准备；

②按常规检查要求进行术前血液检查并记录术前数据；

③手术时，将试验用猪全麻，气管插管，呼吸机辅助通气，消毒备皮。

④仰卧位，开腹暴露腹部，游离出胃部组织，选取一个合适位置；剪开小于生物补片尺寸的切口；如图 2 所示，在吻合器上装上 1cm×4cm 的生物补片，将预置生物补片的吻合器放置在预定位置，并调整其角度和深度，确保与周围组织贴合紧密。对胃吻合口和补片进行仔细检查，观察生物补片和消化组织是否吻合良好，生物补片的回弹性是否满足要求，生物补片是否固定稳定，钉孔及缝线处是否出血、渗液的情况。

⑦在腹腔游离出小肠的位置，选取合适的位置，剪开小于补片尺寸的切口，在吻合器上装上 1cm×4cm 的生物补片，将预置生物补片的吻合器放置在预定位置，并调整其角度和深度，确保与周围组织贴合紧密。⑧对肠吻合口和补片进行仔细检查，观察生物补片和消化组织是否吻合良好，生物补片的回弹性是否满足要求，生物补片是否固定稳定，钉孔及缝线针眼处是否出血等情况。⑨手术完成后，再次检查吻合口有无渗血，渗出液等情况，确认无误后，关腹。

受试动物术后送至观察室进行观察，呼吸机支持至动物苏醒，可站立行动

后送至动物房饲养。每日 12h/12h 交替照明，每日上下午给适量动物饲料 1 次，自由饮水。每日观察精神状态、食欲、呼吸、伤口并发症及其他不良症状等。

术后护理 1 周持续肌肉注射头孢曲松钠 2g，进行抗感染。每天观察精神状态、食欲、呼吸、切口愈合状态、动物有无呕心，呕吐及其它胃肠道症状等。碘伏消毒手术伤口，直至伤口愈合。兽医定期体检，采血化验，根据结果采取抗感染预防和治疗措施。记录术后用药情况，24h 的不良事件（包括死亡、感染等）。

到达终点的试验动物取大体组组织（心、肝、脾、肺、肾、脑），胃补片及周围组织，肠补片及周围组织进行肉眼观察和拍照，再取组织用以 10%福尔马林液固定 48h，常规切片，HE 染色。

肉眼大体观察补片是否完整、有无缺陷及补片漏，表面是否有血栓，周围组织有无出血、坏死等改变，术后 1、3 个月时分别将受试动物处死，记录到达终点的试验动物的病理结果。

表 4：病理评分原则

四级定级系统		
级别（数字）	种类	说明
0	在正常范围内	在研究状况下，考虑到动物的年龄、性别和品系等因素，认为组织正常。而在其他条件下出现的变化可认为是异常
1	很轻微	出现的变化刚超过正常范围
2	轻微	可以观察到病变，但尚不严重
3	中等	病变明显，而且很可能更加严重
4	严重	病变非常严重（病变已占据整个组织器官）

5. 实验结果

（1）共有采用 11 个实施例得到的生物补片的猪未出现胃、肠吻合口出血和渗液情况，分别是实施例 1、实施例 5、实施例 7-9、实施例 11-16。

以上实验组的实验动物猪均顺利完消化外科胃，肠吻合口手术，生物补片与吻合口紧密贴合，吻合口处及周围组织的出血也可以得到及时有效控制，且术中未发生吻合器及组件的器械故障。术中麻醉、胃、肠吻合过程顺利且术中吻合口无出血、无渗液；生命体征正常；无不良事件发生。

动物存活饲养期间一般情况良好，体温、饮食、排泄均正常，自主活动良好，未出现明显体重下降、发烧、厌食、狂躁等异常表现，顺利活到终点，未

出现手术动物出血、感染、吻合口狭窄、排斥反应、器官衰竭等并发症。

解剖后，胸腔完整，未见胸腔积液，胸壁及胸腔内容物未见明显病理改变；腹腔完整，未见腹腔积液，腹壁、腹膜、腹腔内容物、肠管等未见明显异常病理改变；心、肝、脾、肺、肾、脑、胃、肠标本肉眼未见与生物补片手术的相关性改变。

检查在心外射频消融手术后各随访期电解质，肝肾功能数值几乎在正常范围内，凝血 INR 值术前及随访期间都在 1.0 左右。全血细胞数量、形态、质量均未见异常；白细胞、红细胞、血红蛋白、血小板等检测结果表明，总体结果稳定，未发现重要的血常规指标异常。未见肝、肾功能异常，部分值略高于或低于参考值范围，但不具有临床意义。在术前和试验终点前，无异常的实验室检查结果被认为具有临床意义。

胃肠吻合口术中解剖对比分析结果：术中胃、肠的吻合口平整良好，无出血及渗出液，在随访终点 1 个月和 3 个月时，胃部吻合口的表面，生物补片为防止渗漏和促进愈合，而形成了疤痕组织，未被分解。在小肠中，由于食物和消化液的流动，生物补片更容易受到物理和化学作用的影响，从而加速了降解过程，当生物补片植入小肠吻合口后，它能够作为支架，降解的材料可以被新生的细胞所吸收或替换，从而促进吻合口的完全愈合，这说明生物补片在受试白猪小肠的吻合口处能实现慢慢分解再生，主要是因为其材料性质和组织的生理环境相互作用的结果。而在胃表面的吻合口处，由于其与小肠不同的生理环境以及生物补片在胃酸、胃蛋白酶的相互作用影响下，生物补片可能不会分解或分解速度较慢，体现了消化外科生物补片良好的生物相容性，能够与周围组织形成良好的结合。

图 2 为采用实施例 1 得到的生物补片的白猪心脏、肝脏、脾脏和肺脏的 HE 染色结果。如图 2A-图 2B 所示，心脏组织中可见少量心肌细胞水样变性（蓝色箭头），胞体肿胀，胞质疏松淡染，间质未见明显增生，未见明显的坏死及炎性细胞浸润。如图 2C-图 2D 所示，肝脏组织肝小叶分界清楚，排列规则，肝小叶中央为中央静脉，周围是大致呈放射状排列的肝细胞和肝血窦，可见少量肝细胞轻度脂肪变性（黄色箭头），胞质可见圆形的微泡，可见少量肝细胞水肿（蓝色箭头），细胞肿胀，胞质疏松淡染；汇管区周围可见少量淋巴细胞浸润（红色

箭头）。如图 2E-图 2F 所示，脾脏组织白髓数量丰富，大小不一，形状不规则；红髓分布于被膜下、小梁周围及白髓边缘区外侧的广大区域，由脾索和脾血窦组成，边缘区及红髓内可见少量粒细胞（红色箭头）。如图 2G-图 2H 所示，肺脏组织少量细支气管内可见少量上皮细胞胞核固缩（黑色箭头），上皮细胞排列不规则；肺泡壁可见少量粒细胞浸润（红色箭头），较多肺泡代偿性扩张。

图 3 为采用实施例 1 得到的生物补片的白猪左肾、右肾和脑的 HE 染色结果。如图 3A-图 3B 所示，肾脏组织皮质中肾小球分布均匀，肾小球中细胞数量以及基质均匀，肾小囊内少见嗜酸性物（黑色箭头）；可见少量肾小管上皮细胞水样变性（蓝色箭头），细胞肿胀，胞质疏松淡染；可见少量肾小管上皮细胞空泡变性（黄色箭头），胞质中出现小的圆形空泡；间质无明显增生，未见明显的坏死及炎性细胞浸润等异常。如图 3C 和图 3D 所示，肾脏组织皮质中肾小球分布均匀，肾小球中细胞数量以及基质均匀，肾小囊内少见嗜酸性物（黑色箭头）；可见较多肾小管上皮细胞水样变性（蓝色箭头），细胞肿胀，胞质疏松淡染；间质偶见淋巴细胞浸润（红色箭头）；间质无明显增生。如图 3E 和图 3F 所示，脑组织神经元数量丰富，可见较多神经元胞核皱缩深染（黑色箭头），胞体缩小变形，形状不规则，胞核胞质分界不清晰，未见明显的坏死及炎性细胞浸润。

图 4 为采用实施例 1 得到的生物补片的白猪胃、胃周围组织和肠的 HE 染色结果。如图 4A-图 4B 所示，胃组织结构紊乱，可见大面积面积补片（黑色箭头），补片周围可见大量结缔组织增生包裹（棕色箭头），可见少量新生血管（绿色箭头），可见大量淋巴细胞浸润（红色箭头）；偶见内皮细胞增生（橙色箭头）。如图 4C-图 4D 所示，胃组织未见明显的黏膜层，肌层发达，可见较多肌细胞水样变性（蓝色箭头），胞质疏松淡染，未见明显的炎性细胞浸润。如图 4E-图 4F 所示，肠组织表面分布有肠绒毛，可见大量肠绒毛上皮缺失（棕色箭头），固有层裸露；固有层中肠腺排列疏松、不规则，杯状细胞散在分布，间质可见较多淋巴细胞散在分布（红色箭头），可见多量血管淤血（绿色箭头）；肌层周围可见较多结缔组织增生（橙色箭头），成纤维细胞、成纤维细胞及胶原纤维排列疏松、不规则，可见少量新生血管、并可见血管淤血，周围伴有少量淋巴细胞散在浸润（黄色箭头）。

图 5 为采用实施例 1 得到的生物补片的白猪肠周围组织的 HE 染色结果。如图 5A-图 5B 所示，肠组织表面主要由柱状上皮与杯状细胞组成，杯状细胞散在分布；较多黏膜上皮细胞脱落（黑色箭头），固有层裸露；肠腺排列疏松、不规则；间质较多淋巴细胞散在分布（红色箭头）。

（2）采用实施例 1-16 得到的生物补片的钉孔及缝线处均未出现明显撕裂，所以，单线缝合牵拉力范围为 15.6-54.1N 的生物补片可以初步满足消化外科的使用要求。

（3）采用实施例 2-4、实施例 6 和实施例 10 得到生物补片的吻合口出现了出血和渗液现象，有的实验组甚至出现了变性、增生和非常严重的组织坏死问题。其中，实施例 3 得到的生物补片在术后出现吻合口出血和渗液情况，在手术 1 个月之后有 2 头猪的心脏出现变性、增生和非常严重的组织坏死问题，脾脏出现了较为严重的组织坏死，胃补片和肠补片出现了严重的结缔组织增生。具体病理评分结果如下：

表 5：1 个月的实施例 3 的病理结果

病变编号	**T41-1(实施例3)-心**	**T41-2(实施例3)-心**	**T41-3(实施例3)-心**	**病变编号**	**T41-1(实施例3)-肝脏**	**T41-2(实施例3)-肝脏**	**T41-3(实施例3)-肝脏**	**病变编号**	**T41-1(实施例3)-脾脏**	**T41-2(实施例3)-脾脏**	**T41-3(实施例3)-脾脏**
变性	1	3	2	水样变性	1	0	0	被膜增厚	1	2	1
坏死	4	4	3	脂肪变性	1	1	1	淋巴细胞数量减少	1	1	1
炎性细胞浸润	1	1	1	炎性细胞浸润	1	3	2	炎性细胞浸润	1	1	1
增生	1	2	1	纤维化	0	0	0	坏死	2	3	3
病变编号	**T41-1(实施例3)-肺**	**T41-2(实施例3)-肺**	**T41-3(实施例3)-肺**	**病变编号**	**T41-1(实施例3)-左**	**T41-2(实施例3)-左**	**T41-3(实施例3)-左**	**病变编号**	**T41-1(实施例3)-右**	**T41-2(实施例3)-右**	**T41-3(实施例3)-右**

	部	部	部		肾	肾	肾		肾	肾	肾
肺泡壁增厚	0	2	1	变性	1	3	2	变性	2	3	2
炎性细胞浸润	1	1	1	炎性细胞浸润	1	1	0	炎性细胞浸润	1	1	0
肺泡扩张	2	3	2	嗜酸性物质	1	1	1	嗜酸性物质	1	2	1
嗜酸性物质	0	0	0	肾小囊扩张	0	1	0	肾小囊扩张	0	0	0
病变编号	**T41-1(实施例3)-脑**	**T41-2(实施例3)-脑**	**T41-3(实施例3)-脑**	**病变编号**	**T41-1(实施例3)-胃补片**	**T41-2(实施例3)-胃补片**	**T41-3(实施例3)-胃补片**	**病变编号**	**T41-1(实施例3)-胃补片周围组织**	**T41-2(实施例3)-胃补片周围组织**	**T41-3(实施例3)-胃补片周围组织**
神经元皱缩	2	3	2	内皮细胞增生	0	1	1	炎性细胞数量(除去淋巴小结)	0	1	0
炎性细胞浸润	0	0	1	炎性细胞数量(除去淋巴小结)	4	4	1	结缔组织增生	0	0	0
嗜神经现象	0	0	0	结缔组织增生	4	3	0	肌细胞变性	2	2	2

病变编号	T41-1(实施例3)-肠补片	T41-2(实施例3)-肠补片	T41-3(实施例3)-肠补片	病变编号	T41-1(实施例3)-肠补片周围组织	T41-2(实施例3)-肠补片周围组织	T41-3(实施例3)-肠补片周围组织				
黏膜上皮缺失或脱落	4	1	1	黏膜上皮缺失或脱落	2	4	1				
炎性细胞数量(除去淋巴小结)	2	2	2	炎性细胞数量(除去淋巴小结)	2	2	2				
结缔组织增生	3	4	2	结缔组织增生	0	1	0				

（4）理论上，生物补片预置到吻合器需要具有一定的拉伸强度，有助于保证生物补片的顺应性，防止吻合口出血、渗液。但是在动物实验中发现：

具体的，实施例 10（拉伸强度 20.7±3.3MPa）得到的 10 个生物补片中，有 1 个生物补片对应的实验组出现了吻合口出血、渗液。但是与该实施例具有相似拉伸强度的实施例却没有出现吻合口出血、渗液，例如实施例 8（拉伸强度 21.1±2.8MPa）和实施例 13（拉伸强度 22.9±0.4MPa）。

实施例 6（拉伸强度 29.6±1.3MPa）得到的 10 个生物补片中，有 4 个生物补片对应的实验组出现了吻合口出血、渗液。但是与该实施例具有相似拉伸强度的实施例却没有出现吻合口出血、渗液，例如实施例 9（拉伸强度 29.3±1.1MPa）和实施例 11（拉伸强度 31.1±1.7MPa）。

实施例 2（拉伸强度 27.4±2.1MPa）、实施例 3（拉伸强度 31.8±2.5MPa）和实施例 4（拉伸强度 30.7±4.4MPa）得到的 10 个生物补片中，均有 7 个生物补

片对应的实验组出现了吻合口出血、渗液，但是与几个实施例具有相似拉伸强度的实施例却没有出现吻合口出血、渗液，例如实施例 12（拉伸强度 28.2±1.8MPa）和实施例 15（拉伸强度 26.1±3.2MPa），比如实施例 1（拉伸强度 32.3±1.8MPa）、实施例 7（拉伸强度 33.5±0.9MPa）、实施例 16（拉伸强度 37.5±1.8MPa）。

以上实验发现，最大拉伸伸长率范围为 14.8-44.6%可以满足安装到吻合器上的要求。

由于生物补片的拉伸强度的数值波动较大，并动物实验发现，通过生物补片的拉伸强度与吻合口出血、渗液进行关联是不稳定的，所以，发明人推测生物补片的拉伸强度不能作为筛选生物补片的参数，需要重新考虑可以指征吻合口出血、渗液的力学参数。

基于本申请的发明人将动物源生物材料应用于消化外科手术植入的多年研究，发明人发现由于吻合钉成钉高度与组织厚度不能完美契合会导致吻合口出血、渗液。吻合钉成钉高度是固定的，但是不同患者、不同部位的组织厚度是存在差异的，当相对于吻合钉高度组织太厚或太薄时，都有可能导致吻合口出血、渗液的发生。所以，生物补片需要具有很好的回弹性，发明人想要将“弹性”引入生物源性的生物补片中，并将“拉伸强度”替换为“弹性变形率”，综合弹性变形率、最大拉伸伸长率和单线缝合牵拉力这三个力学参数继续探索防止吻合口出血、渗液的消化外科生物补片。

四、测定弹性变形率

1、测定方法

沿长度方向将长 4cm，宽 1cm 生物补片夹持在拉力试验机上，以 100mm/min 速度施加拉伸载荷使生物补片拉伸，直至拉断。绘制拉伸曲线，基于测试过程中的拉伸曲线的弹性变形段，计算生物补片的弹性变形率。

2、测定结果

表 3：实施例 1-17 的弹性变形率

组别	弹性变形率	组别	弹性变形率
实施例 1	39.1±0.4%	实施例 10	10.2±1.3%
实施例 2	6.5±0.1%	实施例 11	18.7±0.4%
实施例 3	4.4±0.7%	实施例 12	27.4±0.5%

实施例 4	5.2±0.1%	实施例 13	16.1±1.2%
实施例 5	13.7±0.3%	实施例 14	19.8±0.9%
实施例 6	7.6±0.2%	实施例 15	23.5±0.3%
实施例 7	15.2±1.7%	实施例 16	14.6±1.6%
实施例 8	21.5±0.4%	实施例 17	8.2±0.4%
实施例 9	13.9±1.1%		

通过表 3 可以发现，实施例 1-17 得到的生物补片的弹性变形率较为稳定，并且弹性变形率范围是：4.4-39.1%。

基于动物实验的实验结果，发明人意外发现，采用实施例 3（弹性变形率 4.4±0.7%）、实施例 4（弹性变形率 5.2±0.1%）和实施例 2（弹性变形率 6.5±0.1%）得到的生物补片，均有 7 头猪出现了出血和渗液；采用实施例 6（弹性变形率 7.6±0.2%）得到的生物补片，均有 4 头猪出现了出血和渗液；采用实施例 10（弹性变形率 10.2±1.3%）得到的生物补片，仅有 1 头猪出现了出血和渗液。即随着弹性变形率的增加，出现吻合口出血和渗液的猪的头数不断降低，且这些实施例得到的生物补片的弹性变形率均比未出现吻合口出血和渗液的实施例低。

由此，发明人推测，弹性变形率越大，越不容易出现吻合口出血和渗液。基于动物实验的实验结果，可以初步证明发明人引入“弹性变形率”是正确的，推测出现吻合口出血和渗液的原因是由于生物补片的回弹性差，与猪的组织贴合度稍差，且钉孔及缝线处的收缩弹力不足，从而出现吻合口出血和渗液。并且，基于采用实施例 1、实施例 5、实施例 7-9、实施例 11-16 得到的生物补片动物实验情况，弹性变形率的范围应该控制在 13.7-39.1%。

五、临床试验一

1. 入组标准、排除标准及总入组病例

（1）入组标准

①年龄：18~75 周岁，性别不限；②符合临床外科手术指征，各类消化道疾病需要外科实施食管、胃、肠切割、闭合、吻合的手术（手术入路不做要求，传统开放、腹腔镜、机器人均可）；③能够理解试验的目的，自愿参加并签署知情同意书，愿意接受相关检查和临床随访。

（2）排除标准

①美国东部肿瘤协作组（Eastern Cooperative Oncology Group, ECOG）体力

状态评分大于等于 2 分，ECOG 体力状态评分是一个用于评估癌症患者日常活动能力和自理能力的评分系统,；②美国麻醉医师协会（ASA）分级 III 级以上（不包含 III 级）；③有自身免疫性疾病或血液系统疾病；④诊断有明确的腹腔感染；⑤谷丙转氨酶或谷草转氨酶/天门冬氨酸氨基转移酶大于正常值上限 2.5 倍或总胆红素大于 1.5 倍正常值上限或小于血肌酐大于正常值上限 1.5 倍；⑥血红蛋白水平＜60g/L 或血小板水平＜100×10^9/L 或血清白蛋白小于 30g/L；⑦凝血功能指标任一项超出正常值参考范围±10%，凝血功能指标包括活化部分凝血酶时间（APTT）、凝血酶原时间（PT）、凝血酶时间（TT）、国际标准化比值（INR）；⑧存在严重肝病、严重肾病、严重呼吸道疾病或不能控制的糖尿病、高血压、心律失常等慢性系统疾病；⑨6 个月内发生过心肌梗死；⑩4 周内接受过术前化疗或放化疗；⑪孕妇、哺乳期女性或者试验期间有妊娠计划者；⑫正在参加其他药物或者医疗器械临床试验，且尚未达到主要研究终点；⑬经研究者评估不适合参加本临床试验的其他情形。

2. 试验分组

试验组：分为 11 组，分别采用实施例 1、实施例 5、实施例 7-9、实施例 11-16 得到的生物补片进行手术，手术前，先将生物补片预置在吻合器上实施手术。

对照组：仅使用吻合器闭/吻合实施手术。

3. 试验流程

（1）签署知情同意书；（2）病例筛选，确认临床入排标准，并同步完成基线期数据采集；（3）确定手术时间；（4）根据随机分组情况入组试验组或对照组；（5）进行手术；（6）观察出血点并记录至手术报告中；（7）评估受试者即刻术后情况；（8）按照方案中相关检查要求完成受试者出院前、术后 1 个月，术后 3 个月随访。具体流程参见下表。

表 6：主要试验流程

访视时间	术前	术中	出院前	术后 30 天	术后 90 天
试验阶段	访视 0	访视 1	访视 2	访视 3	访视 4
窗口期	-14-0 天	0 天		±10 天	±14 天
记录出血点		▲			
不良事件/严		▲	▲	▲	▲

重不良事件					

4. 疗效指标

（1）吻合器击发完成切割、闭合、吻合 10min 内（完成切割、闭合、吻合后研究者观察至吻合口不再新增方案中定义的出血点为止）需要临床止血、缝合加固处置的单位长度吻/闭合口出血点数目（观察部位：胃切除断端、十二指肠闭合断端、肠闭合断端、胃肠吻合口、食管吻合口、食管胃吻合口、食管空肠吻合口、肠肠吻合口等）。

单位长度吻/闭合口出血点数目=总出血点（个）/切缘长度（cm）。

判断标准：①访视时间点：访视 1（手术当天）；②需要临床处理的出血点：完成切割、闭合、吻合 10min 内（完成切割、闭合、吻合后研究者观察至吻合口不再新增方案中定义的出血点为止），缝钉组织切缘发生的需要临床止血、缝合加固处置的额外操作（如：手工加压缝扎、止血夹或电凝等方式）的部位。

（2）切割、闭合、吻合完成 10min 内（完成切割、闭合、吻合后研究者观察至吻合口不再新增方案中定义的搏动性出血点为止），需要临床止血处置的单位长度吻/闭合口动脉搏动性出血点数目（观察部位：胃切除断端、十二指肠闭合断端、肠闭合断端、胃肠吻合口、食管吻合口、食管胃吻合口、食管空肠吻合口、肠肠吻合口等）；吻/缝合口出血点处理时间（s）；手术全程时间（min）（从手术开始至关腹完毕）。

判断标准：访视时间点：访视 1（手术当天）；博动性出血点：小动脉出血，记录出血点（留取照片）。出血点处理时间（s）：自干预措施开始时记录时间，至止血操作完成一共所需要的时间，若同一出血点进行多种止血处理，出血点处理时间是为多种止血处置时间相加。

（3）安全性评价指标

①术后 90 天内吻合口相关术后并发症（吻合口出血、吻合口漏、吻合口狭窄）的发生情况。具体的，包括以下并发症：

A、吻合口出血：指发生在消化道重建术后患者持续或间断性血便，大量的出血引起血流动力学紊乱时，可出现心动过速、血压降低、血红蛋白水平下降甚至尿量减少等表现，若腹腔内大量出血还会引起腹部膨隆。

B、吻合口漏：指发生在消化道重建的食管—胃、食管—空肠、胃—十二指肠、胃—空肠或空肠—空肠等吻合口，因愈合不佳或吻合不严，导致食物残渣或消化液漏入腹腔。

C、吻合口狭窄：吻合口狭窄：在上消化道是指吻合口不能通过直径 7.9mm 的细径内镜，并伴有吞咽困难；在下消化道是指不能通过直径 13mm 的纤维结肠镜，并伴有排便困难。

②测定方法：按临床常规方法，判断并记录以上并发症的发生。

③访视时间点：访视 1（手术当天）、访视 2（出院前）、访视 3（术后 30 天±10 天）、访视 4（术后 3 月±14 天）。

6. 试验方法

前瞻性、多中心、随机对照、开放性、优效性。

7. 试验结果

（1）安全性

所有患者在术后 90 天内均未出现吻合口出血、吻合口漏和吻合口狭窄的并发症。

（2）手术出血点记录

表 7：结肠手术出血点记录

序号	组别	涉及手术	需临床止血处置出血点(个)	搏动性出血点数(个)	单位长度吻/闭合口出血点数目(个/cm)
1	试验组 1(实施例 1-1)	SILS+1 腹腔镜乙状结肠癌根治术	0	0	0
2	试验组 2(实施例 1-2)	腹腔镜乙状结肠切除术	0	1	0
3	试验组 3(实施例 5-1)	腹腔镜左半结肠切除术+横结肠-乙状结肠吻合术	1	0	0
4	试验组 4(实施例 5-2)	左半结肠切除术	2	0	0.11
5	试验组 5(实施例 7-1)	SILS+1 腹腔镜乙状结肠癌根治术	0	0	0
6	试验组 6(实施例 7-2)	腹腔镜乙状结肠切除术	0	0	0

7	试验组 7(实施例 8-1)	腹腔镜左半结肠切除术+横结肠-降结肠吻合术	0	0	0
8	试验组 8(实施例 8-2)	SILS+1 腹腔镜乙状结肠癌根治术	0	0	0
9	**试验组 9(实施例 9-1)**	**SILS+1 腹腔镜左半结肠切除术**	**15**	**3**	**1.38**
10	**试验组 10(实施例 9-2)**	**腹腔镜中转剖腹探查术+乙状结肠部分切除术+结肠造口还纳术**	**26**	**21**	**3.12**
11	试验组 11(实施例 11-1)	腹腔镜右半结肠癌根治术	2	0	0.33
12	试验组 12(实施例 11-2)	SILS+1 腹腔镜乙状结肠癌根治术	0	0	0
13	试验组 13(实施例 12-1)	腹腔镜扩大右半结肠癌根治术	0	0	0
14	试验组 14(实施例 12-2)	腹腔镜扩大右半结肠癌根治术	0	0	0
15	试验组 15(实施例 13-1)	腹腔镜横结肠癌根治术	0	1	0
16	试验组 16(实施例 13-2)	腹腔镜横结肠癌根治术	0	1	0
17	试验组 17(实施例 14-1)	腹腔镜右半结肠癌根治术	0	0	0
18	试验组 18(实施例 14-2)	腹腔镜右半结肠癌根治术	0	0	0
19	试验组 19(实施例 15-1)	腹腔镜扩大右半结肠癌根治术	0	1	0
20	试验组 20(实施例 15-2)	SILS+1 腹腔镜乙状结肠癌根治术	1	0	0
21	试验组 21(实施例 16-1)	腹腔镜扩大右半结肠癌根治术	0	0	0
22	试验组 22(实施例 16-2)	腹腔镜扩大右半结肠癌根治术	1	0	0
23	对照组 1	腹腔镜左半结肠切除术	39	41	0.19
24	对照组 2	腹腔镜右半肠切	21	10	0.33

		除术			
25	对照组 3	腹腔镜下右半结肠癌根治术	26	12	0.25
26	对照组 4	单孔腹腔镜辅助下乙状结肠癌根治术	15	21	2.48
27	对照组 5	腹腔镜右半结肠癌扩大根治术	35	14	0.17

注：对每个实施例得到的生物补片分别编号 1-10 号；“试验组 1（实施例 1-1）”表示试验组 1 采用的是实施例 1 得到的 1 号补片；“试验组 2（实施例 1-2）”表示试验组 2 采用的是实施例 1 得到的 2 号补片。

表 7 的实验结果显示，对比试验组 9（实施例 9-1）、试验组 10（实施例 9-2）、试验组 3（实施例 5-1）和试验组 4（实施例 5-2），发现：实施例 5（弹性变形率 13.7±0.3%）得到的生物补片与实施例 9（弹性变形率 13.9±1.1%）得到的生物补片的弹性变形率相近，但是试验组 9（实施例 9-1）和试验组 10（实施例 9-2）出现了较多需临床止血处置出血点和/或搏动性出血点数，所以发明人推测，出现出血点的原因并不仅仅是由于弹性变形率小。

进一步对比，发明人意外发现，实施例 5 得到的生物补片的弹性变形率占最大拉伸伸长率的值比实施例 9 得到的生物补片的弹性变形率占最大拉伸伸长率的值大。发明人推测，弹性变形率占最大拉伸伸长率的值与临床结果之间存在某种关联性，并在临床实验中进一步验证。并根据实施例 13（弹性变形率占最大拉伸伸长率的 39%）大胆将结肠手术的弹性变形率占最大拉伸伸长率的值先定为不小于 39%。

表 8：实施例 1-17 得到的生物补片弹性变形率占最大拉伸伸长率的值

序号	组别	弹性变形率占最大拉伸伸长率的值	最大拉伸伸长率	弹性变形率
1	实施例 1	88%	44.6±0.3%	39.1±0.4%
2	实施例 2	44%	14.8±0.5%	6.5±0.1%
3	实施例 3	20%	21.7±0.1%	4.4±0.7%
5	实施例 4	29%	18.2±1.1%	5.2±0.1%
5	实施例 5	89%	15.4±0.2%	13.7±0.1%
6	实施例 6	26%	29.8±1.5%	7.6±0.2%
7	实施例 7	56%	27.2±0.3%	15.2±1.7%

8	实施例 8	61%	35.5±1.6%	21.5±2.4%
9	实施例 9	33%	42.4±1.5%	13.9±2.5%
10	实施例 10	25%	40.1±0.2%	10.2±1.3%
11	实施例 11	72%	25.9±2.4%	18.7±0.4%
12	实施例 12	83%	33.2±3.1%	27.4±2.5%
13	实施例 13	39%	41.5±1.3%	16.1±1.2%
14	实施例 14	50%	39.4±1.2%	19.8±0.9%
15	实施例 15	77%	30.7±0.2%	23.5±0.3%
16	实施例 16	56%	26.3±0.3%	14.6±1.6%
17	实施例 17	74%	11.1±0.4%	8.2±0.4%

实施例 1-17 得到的生物补片弹性变形率占最大拉伸伸长率的值范围是：20-89%

表 9：直肠手术出血点记录

序号	组别	涉及手术	需临床止血处置出血点(个)	搏动性出血点数(个)	单位长度吻/闭合口出血点数目(个/cm)
1	试验组 1(实施例 1-3)	SILS+1 腹腔镜直肠癌根治术	0	0	0
2	试验组 2(实施例 1-4)	腹腔镜下直肠癌根治术	1	0	0
3	**试验组 3(实施例 5-3)**	**腹腔镜下直肠癌根治术**	**22**	**16**	**0.15**
4	**试验组 4(实施例 5-4)**	**腹腔镜下直肠癌前切除术**	**13**	**7**	**0.19**
5	试验组 5(实施例 7-3)	直肠盲端切除术	0	1	0
6	试验组 6(实施例 7-4)	直肠肿物切除术	1	0	0
7	试验组 7(实施例 8-3)	腹腔镜下直肠癌根治术	0	0	0
8	试验组 8(实施例 8-4)	直肠盲端切除术	1	0	0
9	**试验组 9(实施例 9-3)**	**腹腔镜下直肠癌根治术**	**18**	**1**	**0**
10	**试验组 10(实施例 9-4)**	**直肠肿物切除术**	**21**	**2**	**0.11**

11	试验组 11(实施例 11-3)	直肠肿物切除术	0	0	0
12	试验组 12(实施例 11-4)	腹腔镜下直肠癌根治术	0	1	0
13	试验组 13(实施例 12-3)	腹腔镜直肠癌根治术	2	0	0.04
14	试验组 14(实施例 12-4)	腹腔镜下直肠癌根治术	0	0	0
15	**试验组 15(实施例 13-3)**	**直肠盲端切除术**	**27**	**18**	**0.56**
16	**试验组 16(实施例 13-4)**	**腹腔镜下直肠癌根治术**	**10**	**13**	**0.21**
17	试验组 17(实施例 14-3)	腹腔镜直肠癌根治术	0	0	0
18	试验组 18(实施例 14-4)	直肠盲端切除术	0	0	0
19	试验组 19(实施例 15-3)	腹腔镜直肠癌根治术	1	0	0
20	试验组 20(实施例 15-4)	直肠盲端切除术	0	0	0
21	试验组 21(实施例 16-3)	腹腔镜直肠癌根治术	2	1	0.12
22	试验组 22(实施例 16-4)	直肠盲端切除术	0	0	0
23	对照组 6	腹腔镜下直肠癌根治术	38	0	0.12
24	对照组 7	直肠盲端切除术	15	3	0.25
25	对照组 8	腹腔镜下直肠癌根治术	24	27	0.71

通过表 9 的实验结果显示，试验组 3（实施例 5-3）、试验组 4（实施例 5-4）、试验组 9（实施例 9-3）、试验组 10（实施例 9-4）、试验组 15（实施例 13-3）和试验组 16（实施例 13-4）出现了较多需临床止血处置出血点和/或搏动性出血点数。

基于结肠手术结论，发明人推测，试验组 3（实施例 5-3）、试验组 4（实施例 5-4）、出现较多需临床止血处置出血点和/或搏动性出血点数的原因是由

于得到的生物补片弹性变形率较低，而试验组 15（实施例 13-3）和试验组 16（实施例 13-4）出现较多需临床止血处置出血点和/或搏动性出血点数的原因是由于得到的生物补片的弹性变形率占最大拉伸伸长率的值较小。

试验组 9（实施例 9-3）和试验组 10（实施例 9-4）出现较多需临床止血处置出血点和/或搏动性出血点数的原因可能是由于得到的生物补片弹性变形率较低，也可能是由于得到的生物补片的弹性变形率占最大拉伸伸长率的值较小。

直肠手术临床试验又进一步验证了弹性变形率占最大拉伸伸长率的值与生物补片出血、渗液之间存在关联性。

由于采用实施例 14 得到的生物补片弹性变形率占最大拉伸伸长率的 50%，所以在直肠手术时，应该将生物补片的弹性变形率的范围控制在 14.6-39.1%，且弹性变形率占最大拉伸伸长率的值不小于 50%。

表 10：回肠手术出血点记录

序号	组别	涉及手术	需临床止血处置出血点(个)	搏动性出血点数(个)	单位长度吻/闭合口出血点数目(个/cm)
1	试验组 1(实施例 1-5)	回肠部分切除术	0	0	0
2	试验组 2(实施例 1-6)	腹腔镜腹腔造口还纳术+回肠部分切除术	0	1	0
3	试验组 3(实施例 5-5)	回肠部分切除术	0	0	0
4	试验组 4(实施例 5-6)	腹腔镜腹腔造口还纳术+回肠部分切除术	0	0	0
5	试验组 5(实施例 7-5)	腹腔镜腹腔造口还纳术+回肠部分切除术	0	1	0
6	试验组 6(实施例 7-6)	腹腔镜下回肠造口还纳术+回肠部分切除术	1	0	0
7	试验组 7(实施例 8-5)	腹腔镜下回肠造口还纳术+回肠部	0	0	0.1

		分切除术			
8	试验组 8(实施例 8-6)	腹腔镜下回肠造口还纳术	0	0	0
9	**试验组 9(实施例 9-5)**	**腹腔镜下回肠造口还纳术**	**13**	**7**	**0.32**
10	**试验组 10(实施例 9-6)**	**回肠部分切除术**	**18**	**0**	**0.19**
11	试验组 11(实施例 11-5)	腹腔镜下回肠造口还纳术	0	0	0.13
12	试验组 12(实施例 11-6)	回肠部分切除术	4	1	0.53
13	试验组 13(实施例 12-5)	腹腔镜腹腔造口还纳术+回肠部分切除术	0	0	0
14	试验组 14(实施例 12-6)	腹腔镜下回肠造口还纳术	0	0	0
15	试验组 15(实施例 13-5)	腹腔镜下回肠造口还纳术	0	0	0
16	试验组 16(实施例 13-6)	回肠部分切除术	1	0	0
17	试验组 17(实施例 14-5)	腹腔镜腹腔造口还纳术+回肠部分切除术	0	2	0
18	试验组 18(实施例 14-6)	回肠部分切除术	0	0	0
19	试验组 19(实施例 15-5)	腹腔镜腹腔造口还纳术+回肠部分切除术	1	1	0
20	试验组 20(实施例 15-6)	回肠部分切除术	0	0	0
21	试验组 21(实施例 16-5)	腹腔镜下回肠造口还纳术	0	0	0
22	试验组 22(实施例 16-6)	回肠部分切除术	0	0	0
23	对照组 9	腹腔镜下回肠造口还纳术	14	1	0.06
24	对照组 10	回肠部分切除术	21	1	0.1
25	对照组 11	腹腔镜下回肠造	7	16	0.25

		口还纳术			

通过表 10 可以看出，回肠手术时，试验组 9（实施例 9-5）和试验组 10（实施例 9-6）出现了较多需临床止血处置出血点，推测原因：实施例 9 得到的生物补片的弹性变形率占最大拉伸伸长率的值较小。所以在回肠手术时，应该将生物补片的弹性变形率的范围控制在 13.7-39.1%，弹性变形率占最大拉伸伸长率的值不小于 39%。

表 11：十二指肠手术出血点记录

序号	组别	涉及手术	需临床止血处置出血点(个)	搏动性出血点数(个)	单位长度吻/闭合口出血点数目(个/cm)
1	试验组 1(实施例 1-7)	腹腔镜下胰十二指肠切除术	0	0	0
2	试验组 2(实施例 1-8)	腹腔镜下胰十二指肠切除术	0	0	0
3	试验组 3(实施例 5-7)	腹腔镜下胰十二指肠切除术	1	0	0
4	试验组 4(实施例 5-8)	十二指肠肿物切除术	0	0	0
5	试验组 5(实施例 7-7)	腹腔镜下胰十二指肠切除术	0	1	0
6	试验组 6(实施例 7-8)	腹腔镜下胰十二指肠切除术	1	0	0.08
7	试验组 7(实施例 8-7)	十二指肠肿物切除术	0	0	0
8	试验组 8(实施例 8-8)	十二指肠肿物切除术	0	0	0
9	**试验组 9(实施例 9-7)**	**十二指肠肿物切除术**	**29**	**8**	**2.75**
10	**试验组 10(实施例 9-8)**	**腹腔镜下胰十二指肠切除术**	**31**	**1**	**0.36**
11	试验组 11(实施例 11-7)	腹腔镜下胰十二指肠切除术	5	0	0.31
12	试验组 12(实施例 11-8)	腹腔镜下胰十二指肠切除术	0	0	0

13	试验组 13(实施例 12-7)	腹腔镜下胰十二指肠切除术	0	0	0
14	试验组 14(实施例 12-8)	十二指肠肿物切除术	0	0	0
15	**试验组 15(实施例 13-7)**	**腹腔镜下胰十二指肠切除术**	**22**	**0**	**0**
16	**试验组 16(实施例 13-8)**	**腹腔镜下胰十二指肠切除术**	**17**	**10**	**0.39**
17	试验组 17(实施例 14-7)	腹腔镜下胰十二指肠切除术	0	0	0
18	试验组 18(实施例 14-8)	十二指肠肿物切除术	0	0	0
19	试验组 19(实施例 15-7)	腹腔镜下胰十二指肠切除术	0	0	0
20	试验组 20(实施例 15-8)	十二指肠肿物切除术	0	0	0
21	试验组 21(实施例 16-7)	腹腔镜下胰十二指肠切除术	0	0	0
22	试验组 22(实施例 16-8)	腹腔镜下胰十二指肠切除术	0	0	0
23	对照组 12	十二指肠肿物切除术	15	8	0.38
24	对照组 13	腹腔镜下胰十二指肠切除术	24	4	3.21
25	对照组 14	腹腔镜下胰十二指肠切除术	31	1	0.38

表 11 的实验结果显示，试验组 9（实施例 9-5）、试验组 10（实施例 9-6）、试验组 15（实施例 13-7）、试验组 16（实施例 13-8）出现了较多需临床止血处置出血点和/或搏动性出血点数。所以得出初步结论，在进行十二指肠手术时，应该将生物补片的弹性变形率的范围控制在 13.7-39.1%，弹性变形率占最大拉伸伸长率的值不小于 50%。

表 12：胃部手术出血点记录

序号	组别	涉及手术	需临床止血处置出血点(个)	搏动性出血点数(个)	单位长度吻/闭合口出血点数目(个/cm)
1	**试验组 1(实施**	**腹腔镜垂直(袖状)**	**12**	**3**	**0.11**

	例 1-9)	**胃切除术**			
2	**试验组 2(实施例 1-10)**	**腹腔镜胃癌根治术+胃空肠 Roux-en-Y 吻合术**	**10**	**0**	**1.16**
3	**试验组 3(实施例 5-9)**	**腹腔镜远端胃切除+R-Y 残胃空肠吻合术**	**14**	**19**	**0.59**
4	**试验组 4(实施例 5-10)**	**远端胃切除+胃空肠 Roux-en-Y 顺蠕动吻合**	**13**	**6**	**3.23**
5	试验组 5(实施例 7-9)	腹腔镜远端胃切除+胃空肠毕 II 式顺蠕动吻合术	0	3	0
6	试验组 6(实施例 7-10)	腹腔镜胃癌根治术+胃空肠 Roux-en-Y 吻合术	0	0	0
7	试验组 7(实施例 8-9)	远端胃切除+胃空肠 Roux-en-Y 逆蠕动吻合	1	0	0
8	试验组 8(实施例 8-10)	腹腔镜远端胃切除	0	0	0
9	**试验组 9(实施例 9-9)**	**腹腔镜胃大部分切除+胃空肠吻合术**	**9**	**16**	**0.73**
10	**试验组 10(实施例 9-10)**	**腹腔镜远端胃切除**	**26**	**4**	**1.08**
11	试验组 11(实施例 11-9)	裸眼 3D 远端胃切除+全腔胃空肠 Roux-en-Y 顺蠕动合术	3	0	0.06
12	试验组 12(实施例 11-10)	腹腔镜远端胃切除	0	0	0
13	试验组 13(实施例 12-9)	腹腔镜远端胃切除+全腹镜胃空肠 Roux-en-Y 逆蠕动吻合术	2	0	0
14	试验组 14(实施例 12-10)	腹腔镜远端胃切除	0	0	0

15	**试验组 15(实施例 13-9)**	**腹腔镜胃癌切除+Roux-en-Y 胃空肠吻合术**	**27**	**0**	**0.22**
16	**试验组 16(实施例 13-10)**	**腹腔镜远端胃切除**	**31**	**0**	**1.85**
17	**试验组 17(实施例 14-9)**	**4K3D 裸眼腹腔镜下远端胃大部切除+胃空肠 R-Y 吻合术**	**17**	**2**	**0.34**
18	**试验组 18(实施例 14-10)**	**腹腔镜远端胃切除**	**22**	**0**	**0.26**
19	试验组 19(实施例 15-9)	腹腔镜远端胃切除	1	0	0
20	试验组 20(实施例 15-10)	腹腔镜胃癌切除+Roux-en-Y 胃空肠吻合术	0	0	0
21	试验组 21(实施例 16-9)	腹腔镜远端胃切除	1	0	0
22	试验组 22(实施例 16-10)	腹腔镜胃癌切除+Roux-en-Y 胃空肠吻合术	0	0	0
23	对照组 15	腹腔镜胃癌切除+Roux-en-Y 胃空肠吻合术	18	3	0.14
24	对照组 16	腹腔镜远端胃切除+Roux-en-Y 胃空肠吻合术	13	0	0.68
25	对照组 17	腹腔镜远端胃切除+胃空肠 Roux-en-Y 逆蠕动吻合	21	4	0.09
26	对照组 18	腹腔镜远端胃切除+毕 II 胃空肠吻合术	20	7	1.49
27	对照组 19	腹腔镜远端胃切除+R-Y 残胃空肠吻合术	43	21	0.22

试验组 1（实施例 1-9）、试验组 2（实施例 1-10）、试验组 9（实施例 9-

9）、试验组 10（实施例 9-10）的生物补片的钉孔及缝线处出现撕裂，吻合口出现出血渗液，且随时间，撕裂加剧。而试验组 3（实施例 5-9）和试验组 4（实施例 5-10）的生物补片未出现明显撕裂，所以发明人推测，胃部手术时，应该控制生物补片的单线缝合牵拉力不小于 19.7N。

表 12 可以看出，试验组 3（实施例 5-9）、试验组 4（实施例 5-10）、试验组 9（实施例 9-9）、试验组 10（实施例 9-10）、试验组 15（实施例 13-9）、试验组 16（实施例 13-10）、试验组 17（实施例 14-9）、试验组 18（实施例 14-10）出现了较多需临床止血处置出血点和/或搏动性出血点数。推测原因是由于实施例 5 得到的生物补片的弹性变形率较小。实施例 13 和实施例 14 得到的生物补片弹性变形率占最大拉伸伸长率的值较小。实施例 9 得到的生物补片的弹性变形率较小或弹性变形率占最大拉伸伸长率的值较小。

由此可以得出初步结论，在进行胃部手术时，应该控制生物补片的单线缝合牵拉力不小于 19.7N，弹性变形率的范围 14.6-39.1%，弹性变形率占最大拉伸伸长率的值不小于 56%。

（3）不同消化外科手术部位所需的生物补片的力学参数

表 13：不同部位手术的生物补片的力学参数

手术部位	最大拉伸伸长率范围	弹性变形率范围	弹性变形率占最大拉伸伸长率的值	单线缝合牵拉力
结肠、回肠	14.8-44.6%	13.7-39.1%	39-89%	15.6-54.1N
直肠	14.8-44.6%	14.6-39.1%	50-89%	15.6-54.1N
十二指肠	14.8-44.6%	13.7-39.1%	50-89%	15.6-54.1N
胃部	14.8-44.6%	14.6-39.1%	56-89%	19.7-54.1N
通用所有部位	14.8-44.6%	14.6-39.1%	56-89%	19.7-54.1N

基于上述临床试验结果，制备最大拉伸伸长率范围 14.8-44.6%、弹性变形率范围 14.6-39.1%、弹性变形率占最大拉伸伸长率的 56-89%、单线缝合牵拉力 19.7-54.1N 的生物补片将同时适用于包括结肠、直肠、回肠、十二指肠和胃部部位的消化外科手术。

六、临床试验二

（1）通过调整制备方法获得如下参数的生物补片：

表 14：实施例 18-20 的生物力学参数

组别	最大拉伸伸长率	弹性变形率	弹性变形率占最大拉伸伸长率的值	单线缝合牵拉力
实施例 18	43.4±0.3%	16.5±0.1%	38%	26.3±0.1N
实施例 19	43.6±0.1%	15.9±0.4%	36%	21.8±0.3N
实施例 20	35.1±0.5%	16.7±0.1%	48%	34.5±0.1N

表 15：实施例 18-20 制备方法的主要区别

条件 / 组别	第一水浴振荡条件	10% $NaHCO_3$ 浓度及提高 pH 单位	第二次水浴振荡条件	生理盐水漂洗时间	戊二醛溶液浓度和浸泡时间
实施例 18	42℃, 4h	0.5pH	46℃, 110min	120min	0.5%，3.5h
实施例 19	41℃, 4h	0.3pH	45℃, 100min	90min	0.9%，3.5h
实施例 20	42℃, 4h	0.4pH	44℃, 110min	80min	0.9%，3.5h

在临床试验一的基础上，进一步入组 88 例患者，进一步验证弹性变形率占最大拉伸伸长率的值对于临床应用效果的影响。

表 16：临床试验二的试验结果

组别	结肠手术情况	直肠手术情况	回肠手术情况	十二指肠手术情况	胃部手术情况	例数汇总
实施例 18	1/2	2/2	1/1	4/5	7/10	15/20
实施例 19	6/7	3/4	3/5	2/3	8/10	22/29
实施例 20	0/10	3/5	0/8	4/6	7/10	14/39

注：“/”前为需临床止血处置出血点或搏动性出血点数大于 5 的例数，如果同一例患者需临床止血处置出血点和搏动性出血点数均大于 5，记为 1 例；“/”后为总患者例数。

实施例 18 和实施例 19 得到的生物补片的弹性变形率占最大拉伸伸长率的值小于临床试验一得出的要求，可以看出，不同部位的消化外科手术出现需临床止血处置出血点或搏动性出血点数大于 5 的例数较多。实施例 20 得到的生物补片的弹性变形率占最大拉伸伸长率的值仅满足结肠、回肠手术要求，可以看出进行结肠、回肠手术患者出现需临床止血处置出血点或搏动性出血点数大于 5 的例数明显减少，而进行直肠、十二指肠和胃部外科手术患者出现需临床止血

处置出血点或搏动性出血点数大于 5 的例数较多。

通过表 16 可以再次证明，弹性变形率占最大拉伸伸长率的值确实与生物补片的出血或渗液有关，弹性变形率和最大拉伸伸长率过小，会增加吻合口出血、渗液等并发症的发生率。

以上详细描述了本发明的较佳具体实施例。应当理解，本领域的普通技术人员无需创造性劳动就可以根据本发明的构思作出诸多修改和变化。因此，凡本技术领域中技术人员依本发明的构思在现有技术的基础上通过逻辑分析、推理或者有限的实验可以得到的技术方案，皆应在由权利要求书所确定的保护范围内。

权 利 要 求 书

1. 一种消化外科生物补片，其特征在于，所述生物补片的最大拉伸伸长率不小于 14.8%，弹性变形率范围不小于 13.7%，单线缝合牵拉力大于 15.6N。

2. 根据权利要求 1 所述消化外科生物补片，其特征在于，所述生物补片的最大拉伸伸长率在 14.8-44.6%，弹性变形率范围 13.7-39.1%，单线缝合牵拉力范围 15.6-54.1N，弹性变形率占最大拉伸伸长率的 39-89%。

3. 根据权利要求 1 所述消化外科生物补片，其特征在于，所述生物补片的最大拉伸伸长率在 14.8-44.6%，弹性变形率范围 14.6-39.1%，单线缝合牵拉力范围 15.6-54.1N，弹性变形率占最大拉伸伸长率的 50-89%。

4. 根据权利要求 1 所述消化外科生物补片，其特征在于，所述生物补片的最大拉伸伸长率在 14.8-44.6%，弹性变形率范围 13.7-39.1%，单线缝合牵拉力范围 15.6-54.1N，弹性变形率占最大拉伸伸长率的 50-89%。

5. 根据权利要求 1 所述消化外科生物补片，其特征在于，所述生物补片的最大拉伸伸长率在 14.8-44.6%，弹性变形率范围 14.6-39.1%，单线缝合牵拉力 19.7-54.1N，弹性变形率占最大拉伸伸长率的 56-89%。

6. 根据权利要求 2 所述消化外科生物补片，其特征在于，所述消化外科生物补片为结肠或回肠外科手术生物补片。

7. 根据权利要求 3 所述消化外科生物补片，其特征在于，所述消化外科生物补片为直肠外科手术生物补片。

8. 根据权利要求 4 所述消化外科生物补片，其特征在于，所述消化外科生物补片为十二指肠外科手术生物补片。

9. 根据权利要求 5 所述消化外科生物补片，其特征在于，所述消化外科生物补片为胃部外科手术生物补片。

10. 权利要求 1-9 任一所述消化外科生物补片，其特征在于，所述消化外科生物补片为牛心包来源的生物补片。

11. 权利要求 1-9 任一所述消化外科生物补片，其特征在于，所述消化外科生物补片设有两个穿孔，所述两个穿孔位于所述生物补片的相对两端部。

12. 包括权利要求 1-9 任一所述消化外科生物补片的吻合器套装。

13. 制备权利要求 1-9 任一所述消化外科生物补片的方法，其特征在于，包括以下步骤：

（1）将健康的牛心包片状组织浸于低渗 Hank's 液中，经多次漂洗反复更换低渗 Hank's 液，以充分溶胀和破碎存在组织内的各种细胞；

（2）用生理盐水反复漂洗经上述处理后的组织片，每次漂洗 60min-120min，每次更换生理盐水，总漂洗次数依据组织片镜下看不到有形细胞或细胞成分及细胞碎片，并且进行蛋白与核酸定量测定直至检不出可溶性蛋白与核酸为止；

（3）用表面活性剂溶液吐温 80 去除组织片内的磷酯和非结构蛋白以及部分组织基质如通明质酸、各种硫酸软骨素和粘多糖等免疫原性分子；

（4）浸泡在浓度为 0.5-1.5%的戊二醛溶液中 3-3.5h；

（5）将预处理后的组织材料置于 Cr^{3+}离子浓度为 0.0625mol/dm^3，OH/Cr 为 0.5 的羟基铬溶液中，35-42℃水浴振荡 3.5-5h；检测材料处理液的 pH 并用 10％$NaHCO_3$ 提高 0.3-0.5pH 单位，然后再在 40-46℃水浴振荡 60min。