一种胸外科生物补片及其制备方法

技术领域

本发明涉及一种胸外科生物补片及其制备方法。

背景技术

肺减容术（Lung volume reduction surgery）是治疗肺内或支气管疾病的有效手段，包括肺楔形及局部切除术，食管下段癌切除术，肺脏胸膜切除术，全肺切除、肺叶及肺段切除术等。术后肺漏气是肺减容手术成败的关键，也是影响肺功能和导致其他并发症的主要原因。《胸部手术围术期持续性肺漏气管理策略全国专家共识（2023）》建议采用适宜的外科技术，尽量减少或避免脏层胸膜破裂。合并慢阻肺或肺气肿等高危因素患者行肺部手术时，经术前评估可规范化应用具有相关适应证的胸外科生物补片预防肺漏气。（推荐级别：1B 级；专家同意率：97%）

目前，市面上的胸外科生物补片尽管在一定程度上减少了肺漏气，但肺漏气的问题仍然存在。所以临床对于胸外科生物补片的性能提出了更高的要求，需要生物补片具有更好的顺应性，不易从组织滑脱，贴合度佳等，以降低手术操作难度和术后并发症，用更好的技术和产品减少术中、术后漏气的发生。

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，得到的生物补片的回弹性佳，顺应性佳，能够有效预防胸外科手术的肺漏气。

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，涉及一种胸外科生物补片，所述生物补片的最大拉伸伸长率大于 17.2%，弹性变形率大于 18.3%，单线缝合牵拉力大于 15.5N。

作为优选，所述生物补片的最大拉伸伸长率为 17.2-51.9%。

作为优选，所述生物补片的弹性变形率的范围为 18.3-39.4%。

作为优选，所述生物补片的单线缝合牵拉力 15.5-33.4N。

作为优选，所述生物补片的弹性变形率占最大拉伸伸长率的值 49-93%。

作为优选，所述生物补片的最大拉伸伸长率 25.6-51.9%、单线缝合牵拉力范围为 17.2-33.4N、弹性变形率范围为 18.3-39.4%，弹性变形率占最大拉伸伸长率的值 49-93%。

作为优选，所述胸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，涉及包括上述胸外科生物补片的吻合器套装。由于目前消肺减容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。

作为本发明的另一个方面，涉及包括上述胸外科生物补片的制备方法，包括：

（1）预处理：

①将健康的牛心包片状组织组织浸于低渗 Hank's 液中，经多次漂洗反复更换低渗 Hank's 液，以清除经脱细胞处理后被溶胀破碎细胞碎片、细胞核和细胞器；

②用生理盐水反复漂洗经上述处理后的组织片，每次漂洗 90-150min，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用表面活性剂溶液去除组织片内的磷酯和非结构蛋白以及部分组织基质；表面活性剂溶液可以是吐温 80、十二烷基硫酸钠或曲拉通 X-100；

④浸泡在浓度为 2.5-4%的戊二醛溶液中 3-3.5h；

（2）化学改性：

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：20-28℃水浴振荡 2-4h，检测材料处理液的 pH 并用 10% $NaHCO_3$ 提高 0.3-0.6pH 单位，然后再进行第二次水浴振荡，条件为：32-40℃水浴振荡 3-5h，得到呈单层片状的生物补片。

本发明通过对牛心包组织脱细胞、去除免疫原性、化学改性处理，获得能与患者肺组织融合、生物相容性佳、可满足治疗效果所必须的抗钙化和生物力学特性的胸外科生物补片。

在夹合组织时，吻合器的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漏气，同时补片的回弹变形也使得组织夹合更加稳固牢靠。

在肺减容手术中，胸外科生物补片可用于肺及气管组织切缘的衬垫和密封，不仅能够保证与肺组织贴合稳定，不滑脱，不出现术后漏气，还能够促进切缘组织的愈合与修复，减少术后粘连、疼痛，大大提高了患者的使用舒适度，降低了异物感，大大提高了患者术后的生活质量，有效预防肺减容术后漏气引起的大面积皮下气肿、呼吸困难、肺部感染、切口感染、脓胸等并发症的发生。

本发明提供的胸外科生物补片的一面为粗糙面，另一面为光滑面，粗糙面与吻合器的钉仓或钉砧接触后有较大的摩擦力，让胸外科生物补片在吻合器切割和吻合时不容易滑脱，安装后，光滑面与肺组织贴合，与肺组织的贴合度佳，提高了患者的使用舒适度，降低了异物感。通过手术植入本发明提供的胸外科生物补片，经组织融合与重构使患者获得一个被整体加固的肺组织切缘，整体重构的肺组织具备正常的血液运输。

本发明提供的胸外科生物补片具有优异的力学性能，能够有效预防患者（尤其是对于慢阻肺、长期抽烟、放化疗等肺质量差的患者）术中和术后漏气。由于吻合钉成钉高度与组织厚度不能完美契合而导致的肺漏气。吻合钉成钉高度是固定的，但是不同患者、不同部位的肺组织厚度是存在差异的，当相对于吻合钉高度肺组织太厚或太薄时，都有可能导致肺组织切割缝合后漏气。本发明提供的胸外科生物补片具有很好的回弹性和韧性，可满足不同年龄段，不同病情的患者治疗所需的生物力学特性。夹合组织后，钉穿过生物补片后形成的钉孔及缝线处会因补片的弹性回缩变形迅速收缩以防止渗漏，同时补片的回弹变形也使得组织夹合更加稳固牢靠，防止术后出现漏气。

与采用高分子合成材料聚乙醇酸得到的生物补片相比，植入本发明得到的胸外科生物补片后，患者自身组织细胞不断地长入胸外科生物补片内，长入的组织细胞开始分裂、分化，其中成熟的成纤维细胞开始分泌胶原，胶原组织的增生加厚了薄弱的肺组织，同时胸外科生物补片内会有小血管的生成，随着胸外科生物补片与自身肺组织的融合与重构，切割缝合部位的肺组织可以更快速、更持久的得到加强。

通过本实施例工艺得到的胸外科生物补片，去除组织片本身的免疫原性，保留了天然生物组织的骨架以及部分组织基质，与患者肺组织融合与重构的生物相容性佳，易于宿主细胞的长入，以及组织重构，适用于多种软组织的修复。

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。

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

下面通过具体实施方式进一步详细说明：

发明人在完成本发明的过程中，首先针对胸外科手术容易出现肺漏气的问题，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。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肺漏气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为最大拉伸伸长率范围为 17.2-51.9%，弹性变形率的范围为 18.3-39.4%，单线缝合牵拉力 15.5-33.4N。但是，在此过程中，发明人又意外的发现，弹性变形率占最大拉伸伸长率的值也会对肺漏气产生影响。

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不小于 49%，会有利于预防胸外科手术肺漏气。

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，以充分溶胀和破碎组织内的各种细胞，以清除经脱细胞处理后被溶胀破碎细胞碎片、细胞核和细胞器。

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 90-150min，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；比如，本发明一具体实施例优选生理盐水漂洗时间为 90min。

③用表面活性剂溶液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；表面活性剂溶液可以是吐温 80（Tween 80）、十二烷

基硫酸钠（Sodium dodecyl sulfate, SDS）或曲拉通 X-100（TritonX100），比如，本发明一具体实施例优选采用 Tween 80。

④浸泡在浓度为 2.5-4%的戊二醛溶液中 3-3.5h。比如，本发明一具体实施例优选所采用的浸泡条件是：2.5%的戊二醛溶液中 3h。

（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，交联剂为羟基铬的配位化合物的多聚体，使改性后的组织片获得相应的力学性能和抗钙化性能。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：20-28℃水浴振荡 2-4h，比如，本发明一具体实施例优选所采用的第一次水浴振荡条件是：20℃水浴振荡 2h。

检测材料处理液的 pH 并用 10%$NaHCO_3$ 提高 0.3-0.6pH 单位，然后再进行第二次水浴振荡，条件为：在 32-40℃水浴振荡 3-5h，得到呈单层片状的生物补片。比如，本发明一具体实施例优选所采用的第二次水浴振荡条件是：10%$NaHCO_3$ 提高 0.3pH 单位，然后再在 32℃水浴振荡 3h，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；光滑面与肺组织贴合，保证与肺组织的贴合度。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 1-24

实施例 1-24 中，生物补片的制备过程的主要区别如下表 1 所示：

表 1：实施例 1-24 制备方法的主要区别

条件 / 组别	第一次水浴振荡条件	第二次水浴振荡条件	$NaHCO_3$ 提高 pH 单位	每次生理盐水漂洗时间	表面活性剂类型	戊二醛溶液浓度和浸泡时间
实施例 1	20℃，2h	32℃，3h	0.3	90min	Tween 80	2.5%，3h
实施例 2	21℃，2h	34℃，3h	0.3	90min	Tween 80	2.5%，3h
实施例 3	22℃，2h	36℃，3h	0.3	90min	Tween 80	2.5%，3h

实施例 4	23℃，2h	38℃，3h	0.3	90min	Tween 80	2.5%，3h
实施例 5	24℃，2h	40℃，3h	0.3	90min	Tween 80	2.5%，3h
实施例 6	25℃，2h	32℃，3.5h	0.3	90min	Tween 80	2.5%，3h
实施例 7	26℃，2h	34℃，3.5h	0.3	90-min	Tween 80	2.5%，3h
实施例 8	27℃，2h	36℃，3.5h	0.3	90min	Tween 80	2.5%，3h
实施例 9	21℃，2.5h	38℃，3.5h	0.3	90min	Tween 80	2.5%，3h
实施例 10	22℃，2.5h	40℃，3.5h	0.3	90min	Tween 80	2.5%，3h
实施例 11	23℃，2.5h	32℃，4h	0.3	90min	Tween 80	2.5%，3h
实施例 12	24℃，2.5h	34℃，4h	0.3	90min	Tween 80	2.5%，3h
实施例 13	25℃，2.5h	36℃，4h	0.3	90min	Tween 80	2.5%，3h
实施例 14	26℃，2.5h	38℃，4h	0.4	90min	Tween 80	2.5%，3h
实施例 15	27℃，2.5h	40℃，4.5h	0.5	90min	Tween 80	2.5%，3h
实施例 16	28℃，2.5h	32℃，4.5h	0.6	90min	Tween 80	2.5%，3h
实施例 17	22℃，3h	34℃，4.5h	0.6	100min	Tween 80	2.5%，3h
实施例 18	24℃，3h	36℃，4.5h	0.6	120min	Tween 80	2.5%，3h
实施例 19	25℃，3h	38℃，4.5h	0.6	150min	Tween 80	2.5%，3h
实施例 20	28℃，3h	40℃，4.5h	0.6	150min	SDS	2.5%，3h
实施例 21	22℃，4h	32℃，5h	0.6	150min	TritonX100	2.5%，3h
实施例 22	24℃，4h	34℃，5h	0.6	150min	Tween 80	3%，3h
实施例 23	26℃，4h	36℃，5h	0.6	150min	Tween 80	3.5%，3h
实施例 24	28℃，4h	38℃，5h	0.6	150min	Tween 80	4%，3.5h

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甚至避免肺漏气，减少术后并发症，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胸外科生物补片漏气、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 1-24（每个实施例得到 10 个生物补片，参照该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 1-24 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	37.7±1.3%	24.7±3.2MPa	17.2±0.5N
实施例 2	38.1±0.3%	16.3±2.2MPa	12.5±0.1N
实施例 3	17.2±0.2%	20.2±2.5MPa	5.1±0.3N

实施例 4	25.6±0.6%	24.3±3.1MPa	20.3±0.9N
实施例 5	33.2±0.1%	23.2±1.6MPa	21.5±0.2N
实施例 6	49.1±0.6%	31.8±2.1MPa	25.7±0.4N
实施例 7	32.1±0.2%	**39.5±3.1MPa**	21.2±0.7N
实施例 8	35.7±0.3%	26.2±4.7MPa	27.5±0.1N
实施例 9	47.2±0.3%	27.8±1.5MPa	27.1±1.1N
实施例 10	42.5±0.2%	27.3±6.1MPa	28.6±0.3N
实施例 11	31.4±0.1%	30.7±2.6MPa	30.7±0.1N
实施例 12	51.9±0.2%	19.1±4.9MPa	27.2±0.8N
实施例 13	37.3±0.1%	32.9±5.2MPa	33.4±0.3N
实施例 14	16.3±0.5%	21.3±4.1MPa	15.3±0.9N
实施例 15	18.8±0.3%	25.4±1.9MPa	21.8±0.6N
实施例 16	33.4±0.9%	25.5±3.3MPa	14.9±0.3N
实施例 17	20.3±0.2%	20.4±5.3MPa	17.7±0.1N
实施例 18	26.1±1.1%	21.6±3.4MPa	25.2±1.0N
实施例 19	35.6±0.4%	19.5±2.3MPa	15.5±0.5N
实施例 20	37.8±0.3%	22.9±1.4MPa	21.4±0.2N
实施例 21	15.6±0.1%	24.6±3.3MPa	25.2±1.7N
实施例 22	39.7±1.2%	29.5±1.6MPa	32.7±0.1N
实施例 23	33.1±0.2%	33.2±4.1MPa	25.6±1.3N
实施例 24	37.5±0.2%	33.7±4.2MPa	29.1±1.3N

综上表 2 可以得出，实施例 1-24 中每个实施例分别得到的 10 个生物补片的拉伸强度波动较大，数值不稳定，可能是因为生物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。

实施例 1-24 得到的生物补片的最大拉伸伸长率范围为 15.6-51.9%、拉伸强度 16.3-39.5MPa、单线缝合牵拉力范围为 5.1-33.4N。

每个实施例得到 10 个生物补片，分别将其剪裁成长 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，具体分别取实施例21（最大拉伸伸长率15.6±0.1%）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。分别取实施例14（最大拉伸伸长率为16.3±0.5%）得到的10个生物补片装配吻合器，发现其中有7个扯断，3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15.6%、16.3%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3得到的生物补片的最大拉伸伸长率17.2±0.2%，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1-13、实施例15-20和实施例22-24）进行动物实验。

三、动物实验

由于白猪的肺在解剖结构和生理功能上与人类存在许多相似之处，使得白猪成为研究人类肺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。

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 个月实验组：共 110 头；3 个月实验组：110 头；性别不限，随机分组。实施例 1-13、实施例 15-20 和实施例 22-24（共 22 个实施例），每个实施例共使用 10 头（5 头为 1 个月实验组，5 头为 3 个月实验组）猪进行实验，每个实施例得到的 10 个生物补片分别对应一头猪。

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，游离出肺部组织，选取一个合适位置；剪开切口；⑤在一次性吻合器上装上长 4cm，宽 1cm 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。⑥对吻合口和生物补片进行仔细检查，观察生物补片是否固定稳定，补片和肺组织是否吻合良好，生物补片的回弹性是否满足要求，向胸腔中倒入温生理盐水，观察钉孔及缝线处是否漏气情况，确认无漏气后，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、皮下气肿、呼吸困难、肺部感染、切口感染、脓胸等。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）。

到达试验终点，肉眼大体观察补片是否完整、有无缺陷及漏气，表面是否有血栓，周围组织有无出血、坏死等改变。

5. 动物实验评价标准

①术中，术后吻合口及周围组织的是否漏气。②生物补片能否在吻合口出紧密贴合。③饲养期间术后并发症的发生率，如感染，排斥反应等并发症。④生物补片大体标本观察：术后 1、3 个月时分别将受试动物处死，观察吻合口是否恢复良好，生物补片有无促进组织的再生和修

复。⑤组织学检查：术后 1、3 个月时留取外科生物补片及组织标本行组织学检查，观察有无血栓栓塞、炎症、坏死等表现。

6. 动物实验结果

（1）最大拉伸伸长率范围为 17.2-51.9%可以满足安装到吻合器上的要求。

共有采用 13 个实施例的生物补片的猪均未出现肺漏气，分别是实施例 1、实施例 4-6、实施例 8-13、实施例 18、实施例 23-24。

未出现肺漏气的猪顺利完成手术，生物补片与肺组织紧密贴合，切除边缘无漏气，且术中未发生吻合器及组件的器械故障。术中肺切除缘平整良好，无漏气及渗出液，在随访终点 1 个月和 3 个月时，肺部切除边缘形成了疤痕组织，未被分解，这说明生物补片能够作为支架，促进肺切除缘的修复和愈合，体现了胸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，并促进肺切除缘的修复和愈合。

术中，麻醉动物生命体征正常，无不良事件发生。

术后，检查动物的全血细胞数量、形态、质量均未见异常；白细胞、红细胞、血红蛋白、血小板等检测结果稳定，未发现重要的血常规指标异常。肝肾功能数值几乎在正常范围内，未见肝、肾功能异常。

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。

（2）单线缝合牵拉力反映了生物补片抗剪切力的能力，单线缝合牵拉力过小，钉孔及缝线处容易出现撕裂，实施例 3（单线缝合牵拉力 5.1±0.3N）、实施例 2（单线缝合牵拉力 12.5±0.1N）、实施例 16（单线缝合牵拉力 14.9±0.3N）得到的生物补片的钉孔处出现了明显撕裂，且随时间，撕裂加剧，而实施例 19（单线缝合牵拉力 15.5±0.5N）的生物补片未出现明显撕裂，说明要想使用钛钉固定生物补片，钉孔及缝线处不撕裂，生物补片的单线缝合牵拉力应不小于 15.5N，即生物补片的单线缝合牵拉力范围为 15.5-33.4N。

（3）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，防止肺漏气。但是在动物实验中发现：

采用实施例 2、实施例 3、实施例 7、实施例 15-17、实施例 19、实施例 20、实施例 22 得到的生物补片出现了肺漏气。

具体的，采用实施例 2（拉伸强度 16.3±2.2MPa）、实施例 19（拉伸强度 19.5±2.3MPa）、实施例 3（拉伸强度 20.2±2.5MPa）、实施例 17（拉伸强度 20.4±5.3MPa）、实施例 20（拉伸强

度 22.9±1.4MPa）、实施例 15（拉伸强度 25.4±1.9MPa）、实施例 16（拉伸强度 25.5±3.3MPa）、实施例 22（拉伸强度 29.5±1.6MPa）、实施例 7（拉伸强度 39.5±3.1MPa）得到的生物补片的实验组出现了肺漏气。

但是与这几个实施例具有相似拉伸强度的实施例却没有出现肺漏气，例如与实施例 19 和实施例 3 具有相似拉伸强度的实施例 12（拉伸强度 19.1±4.9MPa）和实施例 18（拉伸强度 21.6±3.4MPa）没有出现肺漏气。与实施例 15、实施例 16 具有相似拉伸强度的实施例 4（拉伸强度 24.3±3.1MPa）和实施例 8（拉伸强度 26.2±4.7MPa）却没有出现肺漏气。与实施例 22、实施例 7 具有相似拉伸强度的实施例 6（拉伸强度 31.8±2.1MPa）、实施例 9（拉伸强度 27.8±1.5MPa）、实施例 11（拉伸强度 30.7±2.6MPa）、实施例 23（拉伸强度 33.2±4.1MPa）、实施例 24（拉伸强度 33.7±4.2MPa）均没有出现肺漏气。

由于基于拉伸强度去探索生物补片的是否会出现肺漏气的情况是不稳定的，所以，需要重新考虑可以指征肺漏气的力学参数。

基于本申请的发明人将动物源生物材料应用于胸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是导致肺漏气的重要原因。吻合钉成钉高度是固定的，但是不同患者、不同部位的肺组织厚度是存在差异的，当相对于吻合钉高度肺组织太厚或太薄时，都有可能导致肺切缘组织漏气的发生。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肺漏气的胸外科生物补片。

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 1-24 的弹性变形率

组别	弹性变形率	组别	弹性变形率
实施例 1	34.9±0.7%	实施例 13	20.5±0.2%
实施例 2	15.6±0.2%	实施例 14	11.8±0.1%

实施例 3	8.9±0.1%	实施例 15	17.2±1.9%
实施例 4	19.1±0.2%	实施例 16	10.3±1.6%
实施例 5	29.2±0.4%	实施例 17	17.5±0.6%
实施例 6	19.9±1.1%	实施例 18	18.8±0.1%
实施例 7	16.2±1.1%	实施例 19	15.4±0.7%
实施例 8	23.2±0.5%	实施例 20	12.7±0.1%
实施例 9	39.4±0.9%	实施例 21	12.6±0.3%
实施例 10	25.1±0.1%	实施例 22	14.9±0.4%
实施例 11	18.3±0.2%	实施例 23	28.1±0.1%
实施例 12	32.6±0.3%	实施例 24	18.4±0.3%

通过表 3 可以发现，实施例 1-24 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：8.9-39.4%。

除去钉孔及缝线处出现撕裂的实施例 2、实施例 3 和实施例 16 对应的实验组出现肺漏气的原因可能是由于钉孔及缝线处撕裂外，基于动物实验的实验结果，发明人意外发现，采用实施例 20（弹性变形率 12.7±0.1%）、实施例 22（弹性变形率 14.9±0.4%）得到的生物补片，均有 7 头猪出现了肺漏气；采用实施例 19（弹性变形率 15.4±0.7%）、实施例 7（弹性变形率 16.2±1.1%）得到的生物补片，均有 4 头猪出现了肺漏气；采用实施例 15（弹性变形率 17.2±1.9%）得到的生物补片，只有 3 头猪出现了肺漏气；采用实施例 17（弹性变形率 17.5±0.6%）得到的生物补片，只有 1 头猪出现了肺漏气。即随着弹性变形率的增加，出现肺漏气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肺漏气的实施例低。

由此，发明人推测，弹性变形率越大，越不容易出现肺漏气。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，推测出现肺漏气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，从而出现肺漏气。

基于动物实验，可以初步确定，生物补片的弹性变形率的范围应该控制在 18.3-39.4%。

五、临床试验一

1. 入组标准、排除标准及临床资料收集

（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，包括各类肺切除手术的肺减容手术（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术后需转重症监护室呼吸机辅助呼吸的患者；②术中因出血、严重胸腔粘连中转开胸的患者；③术后诊断为支气管胸膜瘘；住院期间死亡或临床资料不全的患者。

（3）临床资料收集

收集符合条件的患者资料：①人口学资料：性别、年龄、体重指数（BMI）、吸烟史；②术前评估数据肺功能（一秒钟用力呼气容积（FEV1%）以及一秒钟用力呼气容积与用力肺活量的比值（FEV1%/FVC%）、外周血淋巴细胞计数、白蛋白、预后营养指数（PNI）；③手术资料：手术部位、手术方式（肺叶切除或肺段切除）、术中是否进行淋巴结清扫、是否存在胸膜粘连、病理结果为两性或者恶性、试水膨肺法是否存在漏气；（4）术后阶段：术后每日漏气情况评估、术后 12h 胸膜腔压力差。

2. 试验分组

试验组：分为 13 组，分别采用符合动物实验的 13 个实施例得到生物补片进行临床试验，每组 10 名患者，分别使用该实施例得到的生物补片进行肺减容手术。手术前，将生物补片预置在吻合器上。

对照组：选取仅使用吻合器闭/吻合实施手术的患者。

3 试验流程

1、试验流程

试验具体流程包括：（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）观察漏气情况并记录至手术报告中；（7）评估受试者术后情况；（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。

所有患者均在全身麻醉下进行手术。在手术时使用吻合器对病肺进行闭合切除，支气管使用吻合器离断，彻底止血后在胸腔中倒入适量的温生理盐水进行胸腔冲洗，同时进行鼓肺通气，观察胸腔中肺组织和支气管残端是否漏气。漏气的肺创面或支气管残端予以可吸收线加固缝合，再次于胸腔中倒入温生理盐水观察漏气情况，确认无漏气后即可关胸。患者术后放置一根或两根直达胸膜顶胸腔闭式引流管，并把引流管接在装有 500ml 生理盐水的胸腔引流瓶上。术

后监测胸腔引流瓶的漏气情况，同时予以对症治疗，如吸氧雾化、化痰平喘、营养支持和抗感染等。

4. 试验方法

前瞻性、多中心、随机对照、开放性、优效性。

5. 试验结果

（1）一般资料比较

先纳入 150 例符合条件的患者进行临床试验的研究，其中出现肺漏气的情况如下表 4 所示。

表 4：临床试验一的试验结果

序号	组别	肺叶切除手术漏气情况	肺楔形切除漏气情况	肺大疱切除术漏气情况	其他肺减容术漏气情况	不漏气例数汇总
1	实施例 1	0/5	0/3	0/2	0/0	0/10
2	实施例 4	0/3	0/4	0/2	0/1	0/10
3	实施例 5	0/4	0/0	0/4	0/2	0/10
4	**实施例 6**	**1/2**	**1/4**	**2/4**	**0/0**	**4/10**
5	实施例 8	0/7	0/1	0/2	0/0	0/10
6	实施例 9	0/3	0/4	0/2	0/1	0/10
7	实施例 10	0/4	0/2	0/4	0/0	0/10
8	实施例 11	0/1	0/2	0/4	0/3	0/10
9	实施例 12	0/3	0/4	0/2	0/1	0/10
10	实施例 13	0/7	0/1	0/2	0/0	0/10
11	实施例 15	0/3	0/4	0/2	0/1	0/10
12	实施例 17	0/3	0/4	0/2	0/1	0/10
13	实施例 18	0/1	0/5	0/2	0/2	0/10
14	实施例 23	0/2	0/4	0/4	0/0	0/10
15	实施例 24	0/4	0/3	0/4	0/2	0/10
对照组（仅使用吻合器闭/吻合实施手术）		1/1	6/8	2/10	1/1	10/20

注：其他肺减容术包括全肺切除、肺脏胸膜切除术等。“/”前为出现肺漏气的例数；“/”后为总患者例数。

综合表 4 的结果发现：

（1）在之前实验确定的最大拉伸伸长率范围（17.2-51.9%）、弹性变形率的范围（18.3-39.4%）、单线缝合牵拉力范围（15.5-33.4N）的基础上，采用实施例 6（弹性变形率 19.9±1.1%）得到的生物补片的试验组出现了肺漏气，理论上，弹性变形率越大越好，发明人推测生物补片的弹性还需要进一步提高，以保证生物补片可以进一步密封钉孔及缝线处，以满足肺部频繁扩张和收缩的要求。

进一步对比，实施例 6（弹性变形率 19.9±1.1%）、实施例 11（弹性变形率 18.3±0.2%）和实施例 24（弹性变形率 18.4±0.3%）得到的生物补片的弹性变形率，发明人意外发现，实施例 6 得到的生物补片的弹性变形率占最大拉伸伸长率的值（41%）较小。由此，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。

表 5：实施例 1-24 的弹性变形率占最大拉伸伸长率的值

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
实施例 1	37.7±1.3%	34.9±0.7%	93%
实施例 2	38.1±0.3%	15.6±0.2%	41%
实施例 3	17.2±0.2%	8.9±0.1%	52%
实施例 4	25.6±0.6%	19.1±0.2%	75%
实施例 5	33.2±0.1%	29.2±0.4%	88%
实施例 6	49.1±0.6%	19.9±1.1%	41%
实施例 7	32.1±0.2%	16.2±1.1%	50%
实施例 8	35.7±0.3%	23.2±0.5%	65%
实施例 9	47.2±0.3%	39.4±0.9%	83%
实施例 10	42.5±0.2%	25.1±0.1%	59%
实施例 11	31.4±0.1%	18.3±0.2%	58%
实施例 12	51.9±0.2%	32.6±0.3%	63%
实施例 13	37.3±0.1%	20.5±0.2%	55%
实施例 14	16.3±0.5%	11.8±0.1%	72%
实施例 15	18.8±0.3%	17.2±1.9%	91%
实施例 16	33.4±0.9%	10.3±1.6%	31%
实施例 17	20.3±0.2%	17.5±0.6%	86%
实施例 18	26.1±1.1%	18.8±0.1%	72%
实施例 19	35.6±0.4%	15.4±0.7%	43%
实施例 20	37.8±0.3%	12.7±0.1%	34%

实施例 21	15.6±0.1%	12.6±0.3%	81%
实施例 22	39.7±1.2%	14.9±0.4%	38%
实施例 23	33.1±0.2%	28.1±0.1%	85%
实施例 24	37.5±0.2%	18.4±0.3%	49%

通过表 5 可以看出，实施例 1-24 得到的生物补片的弹性变形率占最大拉伸伸长率的值范围是 31-93%。

六、临床试验二

1、基于生物补片的制备方法，通过调整制备方法获得如下参数的生物补片。

表 6：实施例 25-26 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 25	47.3±0.4%	18.4±0.3%	39%	18.2±0.1N
实施例 26	45.4±1.1%	19.8±1.3%	44%	22.7±0.9N

表 7：实施例 25-26 制备方法的主要区别

条件 / 组别	第一次水浴振荡条件	第二次水浴振荡条件
实施例 25	22℃，2h	32℃，3.5h
实施例 26	27℃，2.5h	32℃，3h

在临床试验一的基础上，进一步入组肺减容手术患者 20 例，采用实施例 25 和实施例 26（每个实施例 10 例患者，不限定肺部切除部位）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，试验结果如表 8 所示。

表 8：临床试验二的试验结果

序号	组别	肺叶切除手术漏气情况	肺楔形切除漏气情况	肺大疱切除术漏气情况	不漏气例数汇总
1	实施例 25	2/8	0/2	0/0	2/10
2	实施例 26	3/7	1/2	0/1	4/10

与临床试验一未出现肺漏气实施例相比，实施例 25 和实施例 26 得到的生物补片的最大拉伸伸长率、弹性变形率和单线缝合牵拉力均满足临床试验一提到的应用要求，只是弹性变形率占最大拉伸伸长率的值低于 49%（实施例 24：弹性变形率占最大拉伸伸长率的值 49%）。由表 8 可以再次证明，弹性变形率占最大拉伸伸长率的值确实与肺漏气相关。虽然实施例 25 和实

施例 26 的漏气情况有所改善，但是这在医疗领域仍然是不可接受的。

生物补片的力学性能需要符合特定部位手术的要求，与消化外科生物补片相比，消化外科生物补片用于防止漏液、出血，而胸外科生物补片用于防止漏气，由于液体比气体的粘性大，所以，用于防止肺漏气的生物补片需要具有更好的弹性。综合动物实验、临床试验一和临床试验二可知，生物补片的生物力学参数为：最大拉伸伸长率范围为 17.2-51.9%，弹性变形率的范围为 18.3-39.4%，单线缝合牵拉力 15.5-33.4N，弹性变形率占最大拉伸伸长率的值 49-93%的生物补片的生物力学特性优异，能够保证生物补片与肺组织的贴合，防止肺漏气。

另外，除去无法安装到吻合器上的实施例，以及动物实验、临床试验一出现肺漏气的实施例，实施例 1、实施例 4-5、实施例 8-13、实施例 16、实施例 18 和实施例 23-24 得到的生物补片符合应用到胸外科手术的要求，具体的参数范围为：最大拉伸伸长率 25.6-51.9%、单线缝合牵拉力范围为 17.2-33.4N、弹性变形率范围为 18.3-39.4%，弹性变形率占最大拉伸伸长率的值 49-93%。

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

1. 一种胸外科生物补片，其特征在于：所述生物补片的最大拉伸伸长率大于 17.2%，弹性变形率大于 18.3%，单线缝合牵拉力大于 15.5N。

2. 根据权利要求 1 所述的胸外科生物补片，其特征在于：所述生物补片的最大拉伸伸长率为 17.2-51.9%。

3. 根据权利要求 2 所述的胸外科生物补片，其特征在于：所述生物补片的弹性变形率的范围为 18.3-39.4%。

4. 根据权利要求 3 所述的胸外科生物补片，其特征在于：所述生物补片的单线缝合牵拉力 15.5-33.4N。

5. 根据权利要求 4 所述的胸外科生物补片，其特征在于：所述生物补片的弹性变形率占最大拉伸伸长率的值 49-93%。

6. 根据权利要求 1-5 任一所述的胸外科生物补片，其特征在于：所述生物补片的最大拉伸伸长率 25.6-51.9%、单线缝合牵拉力范围为 17.2-33.4N、弹性变形率范围为 18.3-39.4%，弹性变形率占最大拉伸伸长率的值 49-93%。

7. 根据权利要求 1-6 任一所述的胸外科生物补片，其特征在于：所述胸外科生物补片由牛心包制得。

8. 权利要求 1-7 任一所述胸外科生物补片，其特征在于，所述胸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。

9. 包括权利要求 1-8 任一所述胸外科生物补片的吻合器套装。

10. 制备权利要求 1-7 任一所述胸外科生物补片的方法，其特征在于，包括：

（1）预处理：

①将健康的牛心包片状组织组织浸于低渗 Hank's 液中，经多次漂洗反复更换低渗 Hank's 液，以清除经脱细胞处理后被溶胀破碎细胞碎片、细胞核和细胞器；

②用生理盐水反复漂洗经上述处理后的组织片，每次漂洗 90-150min，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用表面活性剂溶液去除组织片内的磷酯和非结构蛋白以及部分组织基质；表面活性剂溶液可以是吐温 80、十二烷基硫酸钠或曲拉通 X-100；

④浸泡在浓度为 2.5-4%的戊二醛溶液中 3-3.5h；

（2）化学改性：

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：20-28℃水浴振荡 2-4h，检测材料处理液的 pH 并用 10% $NaHCO_3$ 提高 0.3-0.6pH 单位，然后再进行第二次水浴振荡，条件为：32-40℃水浴振荡 3-5h，得到呈单层片状的生物补片。