



生物医药材料类实验趋势刍议

曾佳欣^{1*}, 谭勇²

(1. 浙江理工大学, 浙江 杭州 310018; 2. 西南林业大学, 云南 昆明 650224)

摘要: 细胞实验是生物医学材料中生物相容性评价的核心环节, 也是连接材料合成与动物实验的关键桥梁。本文系统梳理了生物医学材料细胞实验的方法学体系与研究前沿, 从细胞实验的核心地位与理论基础出发, 详细阐述了经典细胞实验方法的技术要点与操作经验, 简要分析了三维细胞培养模型(脱细胞外基质支架、3D生物打印、类器官、微流控芯片)的构建策略与应用进展。

关键词: 生物医药材料; 生物相容性; 细胞实验

收稿日期: 2026年1月16日

中图分类号: R-331

通讯作者: *曾佳欣, 浙江理工大学

Discussion on the Experimental Trend of Biomedical Materials

Zeng Jiaxin¹, Tan Yong²

(1 Zhejiang Sci-Tech University, Hangzhou, Zhejiang, 310018; 2 Southwest Forestry University, Kunming, Yunnan, 650224)

Abstract: Cell experiment is the core link of biocompatibility evaluation in biomedical materials, and it is also the key bridge between material synthesis and animal experiment. In this paper, the methodology system and research frontier of cell experiment of biomedical materials are systematically combed. Starting from the core position and theoretical basis of cell experiment, the technical points and operational experience of classical cell experiment methods are expounded in detail, and the construction strategy and application progress of three-dimensional cell culture models (extracellular matrix scaffold, 3D bioprinting, organ-like and microfluidic chip) are briefly analyzed.

Key words: biomedical materials; biocompatibility; Cell experiment

生物医学材料是指与人体组织细胞直接接触, 用于人工器官构建、外科修复重建以及疾病诊断治疗的一类功能材料, 主要包括合成或天然高分子、金属合金、陶瓷碳素及其复合材料。此类材料在进入临床应用前, 须通过严格的实验验证体系, 以满足生物安全性、组织相容性、血液相容性、化学稳定性及功能适配性等五大核心要求^[1]。新型材料的合成与制备仅是研发起点, 其后的系统性实验评价是验证上述核心要素的关键环节。

在生物医学材料的评价体系中, 细胞实验占

据着不可替代的核心地位。根据国际标准化组织(ISO) 10993系列标准, 体外细胞毒性评价是生物材料安全性评估的重要且首要步骤, 其目的在于通过哺乳动物细胞培养, 评估材料对细胞形态、生长、代谢的潜在影响^[2]。与动物实验相比, 细胞实验具有周期短、成本低、条件可控、重复性好、并且符合3R原则(替代、减少、优化)等显著优势。细胞实验能够在分子和细胞水平揭示材料与生物系统相互作用的机制, 为材料的理性设计与优化提供科学依据。



近年来,随着细胞生物学、材料科学、工程技术和组学分析的交叉融合,生物医学材料的细胞实验方法正经历着深刻的范式转变。本研究通过系统梳理演进脉络,为研究生开展生物医学材料细胞实验提供方法参考和经验指导。

1 细胞实验的核心地位与理论基础

1.1 细胞实验在生物相容性评价体系中的定位

生物相容性是指材料在与宿主接触时,能够发挥预期功能而不引起局部或全身性不良反应的能力^[3]。这一概念不仅要求材料具备安全性(无毒性、不致突变、不引起过度炎症),还要求其具备功能性(支持细胞黏附、增殖、分化,并促进组织再生)。生物相容性评价是一个多层次、递进式的验证体系,通常遵循“体外细胞实验—离体组织实验—小动物实验—大动物实验”的路径。

在这一路径中,细胞实验处在关键的第一步。其核心任务包括:

(1) 筛查材料的细胞毒性,排除存在明显安全风险的首选材料;

(2) 评价材料对细胞行为的调控作用,包括黏附、铺展、增殖、迁移、分化等;

(3) 探索材料与细胞相互作用的分子机制,为后续动物实验提供科学假设;

(4) 依据 ISO 10993-5 等标准,为材料进入临床前研究提供法规要求的合规数据。

1.2 细胞选择的策略与依据

细胞实验的可靠性在很大程度上取决于细胞类型的选择。根据研究目的的不同,细胞选择策略可分为细胞系(如 L929 成纤维细胞、HeLa 细胞、MG-63 骨肉瘤细胞等,具有增殖能力强、培养条件成熟、结果可重复性高的优点,适用于材料细胞毒性的初筛和标准化检测)和原代细胞(从新鲜组织中分离获得,如人牙龈成纤维细胞、大鼠骨髓间充质干细胞等,优点是其生物学特性更接近体内真实状态,非常适用于功能性评价和机制研究)两大类^[4]。但原代细胞增殖能力有限、批次间差异大,对培养条件和实验操作要求较高。

1.3 实验设计的核心要素

高质量的细胞实验设计需考虑以下核心要素:

(1) 材料处理方法:根据 ISO 10993-12 标准,

可采用直接接触法、间接接触法或浸提液法。浸提液制备需考虑浸提介质(完全培养基或生理盐水)、浸提条件(37℃、24~72 小时)和浸提比例(如 3 cm²/mL、0.2 g/mL)等参数。一般会将细胞放在专业的培养箱中培养,温度在 37℃ ± 1℃,湿度,可以通过在培养箱中放置无菌水来维持饱和湿度环境。通 CO₂ 气体,通常浓度控制在 5% ± 1% 来维持培养基 pH 稳定。

(2) 实验分组:需要包括阴性对照组(细胞正常培养)、阳性对照组(含有已知细胞毒性物质处理)、空白对照组(不含材料的浸提介质)和实验组(不同浓度或不同形式的材料处理)^[5]。

(3) 实验时间设置:根据研究目的,可设置短期(一般为 24~72 小时)观察急性细胞毒性,或长期(一般为 7~21 天)观察细胞增殖、分化和基质形成。

结果评价与分级评价需结合定量数据或形态学观察:

(1) 定量法:计算浸提液组相对于阴性对照组细胞的相对增殖率(RGR)或细胞活力百分比(%):相对增殖率(RGR%) = (试验组吸光度值/阴性对照组吸光度值) × 100%,或者细胞活力(%) = [(试验组吸光度值 - 空白组吸光度值) / (阴性对照组吸光度值 - 空白组吸光度值)] × 100%^[6]。

(2) 定性法:根据显微镜下观察到的细胞形态学变化程度(如圆缩、溶解、空泡化、脱离、颗粒性)和/或细胞溶解区的大小进行评分(通常 0~4 级)。

2 经典细胞实验方法:技术要点与操作经验

2.1 细胞活力与毒性检测

细胞活力检测是评价材料细胞毒性的最基本方法,主要包括代谢活性检测技术:MTT、MTS、CCK-8 等四唑盐还原法是应用最广泛的细胞活力检测方法。其原理是从活细胞线粒体脱氢酶中将黄色四唑盐还原为紫色甲臜,通过酶标仪检测吸光度,吸光度值与活细胞数量成正比^[7]。操作经验表明:

(1) MTT 甲臜产物不溶于水,需用 DMSO 或异丙醇溶解,溶解过程需充分震荡;

(2) CCK-8 为水溶性,操作更简便,适用于



高通量筛选；

(3) 需设置不含细胞的空白孔以扣除背景吸收；

(4) 浸提液本身可能干扰吸光度测定，建议设置材料浸提液 + 培养基无细胞的对照组^[8]。

2.2 检测关键考虑因素与局限性

在检测过程中首先需要考虑浸提充分性。浸提条件（如介质、温度、时间、比例等）必须能充分反映相关条件下的物质释放潜力。选择不当可能因为未充分提取或者过度提取导致假阴性或假阳性。

其次要注意细胞类型相关性。标准细胞系（如L929）可能无法完全模拟器械接触的特定人体靶细胞（如神经细胞、肝细胞）的反应。需要时可考虑更具特异性的细胞模型，但标准方法（L929）仍是基础要求。其存在的干扰因素有：

(1) 样品特性：颜色、浑浊度可能干扰比色法（如MTT）读值（需设校正孔）。

(2) 浸提液性质：极端pH、高渗透压、营养物质消耗或缺氧也可能导致非特异性细胞损伤，可以通过对浸提液进行理化性质检测，或在试验设计中设置相应处理对照进行分析。

(3) 血清影响：血清蛋白可能结合某些毒性物质，减弱其作用。

(4) 终点选择：单一终点（如MTT）可能无法全面反映所有类型的细胞损伤（如基因毒性、功能抑制）。形态学观察是重要的补充。

(5) 体外局限性：体外试验无法模拟体内复杂的全身性反应（如代谢、免疫、炎症、长期效应）。体外细胞毒性阴性结果不能完全保证体内安全性，但阳性结果通常表明存在潜在风险，需要进一步研究体内试验或其他特定终点试验。

(6) 试验验证：实验室应建立并遵循标准操作程序（SOP），定期进行人员培训、设备校准，并通过测试阳性/阴性对照以及可能的实验室间比对来验证试验系统的可靠性和重现性^[9]。

3 实验经验与操作指南

3.1 细胞培养常见问题与对策

细胞污染中，细菌、真菌、支原体污染是细胞培养的常见问题^[10]。可采取的预防措施包括：使用无菌耗材、添加抗生素（青霉素-链霉素）、

定期检测支原体、严格执行无菌操作。若发现污染，应立即丢弃污染细胞，消毒培养箱和工作台，更换全部培养基和耗材。

关于细胞老化与分化，原代细胞和部分细胞系随传代次数增加会出现老化或功能减退。建议使用早期传代细胞（P3 ~ P8），定期检测细胞标志物表达，建立细胞库以保证实验连续性。

在浸提液毒性干扰方面，材料浸提液的颜色（如含酚红培养基）或化学成分可能干扰检测信号。建议设置材料浸提液 + 检测试剂的对照组，扣除背景吸收。对于金属离子含量较高的材料，需考虑EDTA螯合处理或稀释浸提液至无毒浓度。

3.2 材料灭菌与预处理

材料灭菌方法的选择需兼顾灭菌效果和材料性能保护。常用方法包括：高温高压灭菌（适用于耐热材料）、环氧乙烷灭菌（适用于热敏材料，需要充分排气残留）、紫外照射（适用于表面灭菌，但需要注意穿透力有限）、70%乙醇浸泡（需要彻底冲洗去除残留）。灭菌后建议进行无菌检测，如通过浸提液接种培养基确认灭菌效果。

4 三维细胞实验

尽管上述经典方法在生物材料细胞实验中发挥着基础性作用，但也存在若干局限：

首先，多数方法为终点法，只能提供单一时间点的信息，无法追踪同一培养体系的动态变化；其次，二维单层培养无法模拟体内细胞的三维微环境，细胞形态、极性和信号传导与体内存在差异；再此，操作过程中（如消化、固定、染色）可能引入人为假象；最后，单一指标难以全面反映细胞-材料相互作用的复杂性。这四类局限推动了三维培养模型和高内涵分析技术的发展^[11]。

传统细胞培养多在二维平面（培养板、培养皿）上进行，细胞贴壁生长形成单层。然而，体内细胞实际上处于三维的细胞外基质微环境中，接受来自四周的物理支撑、化学信号和细胞间通讯。二维培养导致细胞极性的改变、基因表达谱的漂移以及对药物反应的失真。因此，构建能够模拟体内微环境的三维细胞培养模型，成为生物材料细胞实验的重要发展方向^[12]。

三维细胞培养模型的核心优势在于：（1）维持细胞的天然形态和极性；（2）促进细胞-细胞

和细胞-基质相互作用;(3)形成营养和氧气梯度,更接近体内代谢状态;(4)可用于构建病理模型(如肿瘤微环境),研究疾病机制和药物筛选。

5 生物 3D 打印与生物墨水

3D 生物打印技术通过逐层沉积载细胞生物墨水,可精确构建具有复杂结构和异质性的仿生组织支架。生物墨水通常由天然或合成高分子材料(如明胶、海藻酸盐、琼脂糖、纳米纤维素)与细胞混合而成,需具备良好的可打印性、机械支撑能力和生物相容性^[13]。

5.1 类器官与微流控芯片

类器官是由成体干细胞或多能干细胞在三维培养条件下自组织形成的微型器官样结构,包含多种细胞类型并重现部分器官功能。类器官技术为疾病建模、药物筛选和再生医学研究提供了全新的平台^[14]。

微流控芯片(器官芯片)通过在微米尺度通道内灌注培养细胞,精确控制流体剪切力、化学梯度和组织界面,模拟器官水平的生理功能^[15]。这类平台对于研究材料降解产物动态释放对细胞的影响、构建血管化组织模型具有独特优势。

5.2 三维培养模型的应用前景

三维培养模型在生物医学材料研究中的应用正不断扩展,主要体现在:(1)评价材料在三维环境中的细胞相容性;(2)研究材料降解产物在三维扩散条件下的细胞效应;(3)构建肿瘤-基质界面模型,评价抗肿瘤材料的有效性;(4)模拟血管生成和神经支配过程;(5)用于药物筛选和毒性测试,减少动物实验。随着多种技术的融合(如 dECM+3D 打印+微流控),三维模型将更加精准地模拟体内微环境,成为连接体外实验与动物实验的关键桥梁。

6 总结与展望

生物医学材料的细胞实验正处于从传统评价向现代整合生物学范式转变的关键时期,而细胞实验则是生物相容性评价的基石。从 ISO 10993 标准框架下的细胞毒性检测,到功能性细胞行为分析,细胞实验为材料安全性筛选和机制研究提供了不可替代的平台。L929 细胞 MTT 检测、HGF 细胞黏附观察、巨噬细胞炎症因子分析等方法已成为材料评价的常规工具。另外,三维培养模型正

在重塑细胞实验的范式。脱细胞外基质支架保留了天然组织的结构和生物活性分子,为研究细胞-基质相互作用提供了仿生平台。3D 生物打印技术可精确构建异质性组织模型。类器官和微流控芯片使体外模型更加接近体内真实状态。全息声镊等创新技术为原代细胞的 3D 构建开辟了新途径。

参考文献:

- [1] 尹光福,张胜民.生物医学材料学 材料生物学[M].人民卫生出版社,2021.
 - [2] 张晟.纳米 Ag/TiO₂ 涂层托槽的研制及其抗菌性能研究[D].南方医科大学博士论文,2012-03-20.
 - [3] 武小童等.基于聚己内酯纤维的组织工程支架研究进展[J].中国生物医学工程学报,2020,39(05)611-620.
 - [4] 崔晓静等.药物安全性评价技术的研究进展[J].药物评价研究,2025,48(08)2075-2090.
 - [5] 张美珍.代谢综合征中医药干预临床观察及相关机制探讨[D].中国中医科学院博士论文,2022-06-12.
 - [6] 邝辉等.不同浸提介质对一次性使用球囊扩张导管体外细胞毒性评价的影响[J].生物医学工程研究,2011,30(02)113-115.
 - [7] 薛雅蓉等.MTT 比色法在细胞生物学实验教学中的实验安排与效果分析[J].高校生物学教学研究,2015,5(03)44-46.
 - [8] 孟瑶.防风多糖的提取分离、结构解析及其抗氧化活性的初步研究[D].苏州大学硕士论文,2019-04-01.
 - [9] 岳庆春等.主要农作物种子转基因检测技术及筛查策略研究进展[J].生物技术进展,2026,16(01)1-9.
 - [10] 王佳霖等.生物制品物料质量标准的动态建立策略[J].流程工业,2025(12)48-52.
 - [11] 刘聪等.同步辐射技术驱动的纳米尺度生物医学分析[J].激光与光电子学进展,2025,62(24)85-97.
 - [12] 卓志远等.三维细胞培养技术的进展及其在肿瘤研究中的应用[J].肿瘤,2018,38(05)502-507.
 - [13] 王玥.天然高分子水凝胶生物墨水的制备及其应用研究[D].吉林大学博士论文,2024-12-01.
 - [14] 苏泽琦等.类器官在中医药研究领域的应用与展望[J].中华中医药学刊,2022.
 - [15] 熊涛.光镊技术在单细胞和单分子特性检测中的研究进展[J].激光杂志,2021,42(12)7-17.
- 作者简介:曾佳欣(2001-),女,汉族,四川达州人,



浙江理工大学材料科学与工程学院材料工程专业硕士研究生，主要研究方向为纳米酶抗菌材料；谭勇（1981-），男，

汉族，博士，四川达州人，西南林业大学讲师，主要研究方向为科技政策与管理。