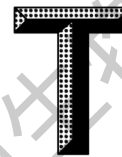


ICS 11.040.40
CCS C 35



团 体 标 准

T/CSBM 0066—2026

组织工程半月板支架的特性表征和 评价技术通用指南

General guidelines for the characterization and evaluation technologies of
tissue engineered meniscus scaffold

2026-01-30 发布

2026-06-01 实施

中国生物材料学会 发 布
中国标准出版社 出 版

前 言

本文件按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第 1 部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由中国生物材料学会提出。

本文件由中国生物材料学会标准工作委员会归口。

本文件起草单位：四川大学、中国人民解放军总医院、北京大学第三医院、中国食品药品检定研究院、重庆大学、清华大学深圳国际研究生院、西安交通大学、四川医疗器械生物材料和制品检验中心有限公司、北京万洁天元医疗器械股份有限公司、中南大学。

本文件主要起草人：樊渝江、陈亚芳、郭全义、王志刚、江东、魏利娜、崔海涛、弥胜利、郭保林、梁洁、张梅、帅词俊。

引 言

膝关节半月板具有耐受和协调关节垂直压缩、剪切、旋转、滑动的特殊功能。半月板损伤作为最常见的骨科疾病之一,临床治疗通常采用缝合或部分切除术。然而,半月板组织的缺失会显著削弱其对关节软骨的保护作用,导致关节软骨磨损加速,进而大幅增加早期膝关节骨关节炎的发生风险。因此,膝关节半月板的功能重建已成为骨科领域的研究热点与临床需求重点。目前,国内外多家研究机构与企业致力于组织工程半月板支架的研发,以推动半月板损伤的再生修复取得突破。本文件的制定,旨在为组织工程半月板支架的研发提供一个标准化的通用评估框架,涵盖材料特性表征与功能评价技术,为产品研发提供清晰导向,助力产品研发的规范性和稳定性,从而为保障组织工程半月板支架临床应用的安全性、功能性和有效性奠定技术基础。

通过统一的标准,规范产品特性表征和评价技术的一致性,降低因产品设计缺陷或评估标准不统一导致的研发风险与临床应用隐患,同时为组织工程半月板支架的转化应用、临床审批及产品监管提供科学、可靠的技术依据,推动行业规范化和高质量发展。

组织工程半月板支架的特性表征和 评价技术通用指南

1 范围

1.1 本文件规定了组织工程半月板支架的生物安全性评价、力学性能及测试、降解特性及测试、体外生物有效性评价、动物模型测试。

1.2 本文件适用于以再生修复受损半月板为目标的组织工程支架产品。其他类型的用于膝关节半月板手术修复、替换、增强和/或重建的组织或器械,若其原理和组成与本文件所述组织工程产品类似,可参照本文件中适用的内容。

注:组织工程半月板支架通常由生物材料(如合成可降解高分子聚己内酯、聚氨酯等,及天然高分子如脱细胞基质或胶原、重组蛋白、透明质酸等)构成,可包含生物因子(如转化生长因子 β -1、成纤维细胞生长因子等生长因子或其他生物活性分子)等。

1.3 本文件不适用于以下产品类型:

- 传统的医疗器械,包括但不限于单纯由非生物可降解材料(如金属、聚乙烯等)制成的半月板假体、半月板缝合装置、锚钉等;
- 单纯的药物或生物制品,即主要通过药理、免疫或代谢作用发挥效能,而非通过提供三维支架结构引导半月板组织再生的产品。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中,注日期的引用文件,仅该日期对应的版本适用于本文件;不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

YY/T 1810—2022 组织工程医疗产品 用以评价软骨形成的硫酸糖胺聚糖(sGAG)的定量检测
ASTM F3223-17 膝关节半月板手术修复和/或重建用组织工程医疗产品(TEMPs)的特性和评估标准指南[Standard Guide for Characterization and Assessment of Tissue Engineered Medical Products (TEMPs) for Knee Meniscus Surgical Repair and/or Reconstruction]

3 术语和定义

ASTM F3223-17、YY/T 1810—2022 界定的以及下列术语和定义适用于本文件。

3.1

组织工程半月板支架 tissue engineered meniscus scaffold

一种基于天然半月板空间异质性(含形态、力学、生化分区等特征)设计的具有特定三维结构和生物活性的植入性医疗器械。

注:它通常由生物材料(可包含生物因子等)构成,设计用于替代、修复或再生受损的半月板组织。其核心功能是促进细胞黏附、增殖和分化,最终实现半月板组织的功能重建。

3.2

硫酸化糖胺聚糖 sulfated glycosaminoglycan; sGAG

以重复二糖为单元的硫酸化位置可变的无支链长链聚合物。

4 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

DNA:脱氧核糖核酸(Deoxyribonucleic Acid)

ECM:细胞外基质(Extracellular Matrix)

ELISA:酶联免疫吸附测定(Enzyme Linked Immunosorbent Assay)

WB:蛋白质印迹(Western Blot)

5 生物安全性评价

生物安全性是组织工程半月板支架产品的基本要求。生物安全性评价包括体外和体内评价实验。生物安全性评价参照 GB/T 16886(所有部分),按照风险管理的原则,根据产品与人体接触的性质和持续时间,选择适当的测试组合。对于含生物活性成分的产品,需增加免疫原性评价;对于含细胞产品,应进行细胞存活率和功能稳定性检测。实验结果应详细记录样品制备、实验条件、观察指标和结果分析,特别关注材料浸提液对重要器官(肝、肾、心、肺)的潜在毒性作用。

注 1: 动物模型实验结果可能无法完全预测人体应用效果,需审慎评估其临床适用性。

注 2: 所有评价活动需符合《中华人民共和国医疗器械监督管理条例》及《医疗器械注册与备案管理办法》对安全性和有效性的要求。

6 力学性能及测试

6.1 通用要求

力学性能测试应在终末产品上开展,并可以通过在体内植入后或人工老化后对样品进行测试来评价力学性能随时间的变化。力学性能测试应包含拉伸性能、压缩性能和黏弹性等关键指标,且测试要求和接受标准需根据产品的预期植入部位(如内侧或外侧半月板)的解剖特征与生物力学需求制定。采用标准化的测试设备和条件以确保测试结果的可比性和可重复性。

6.2 拉伸性能

在进行测试时,应确定以下内容:试样几何形状(如哑铃型、条形)、横截面积、夹持方法、位移率、环境条件,以及在各向异性产品试样的情况下的取向(环向、径向或轴向),其中试样的取向选择应能代表其在该植入部位(如内侧或外侧半月板)的主要受力方向。测试结果应包括以下内容:应力-应变曲线、拉伸模量、屈服应力和屈服应变、破坏应力和破坏应变,并记录试样断裂位置与断裂形态,分析支架的力学失效模式。

6.3 压缩性能

在进行测试时,应确定以下内容:试样几何形状、边界条件(限制或不限制)、位移率以及环境条件。边界条件的设置应能模拟产品在特定植入部位(如内侧或外侧半月板)的生理环境。可使用压痕测试技术、受限压缩技术或无限制压缩技术等方法测试样品的压缩性能。测试结果应包括以下内容:应力-应变曲线、压缩模量、最大应力和最大应变,对比分析不同边界条件下的压缩性能差异,验证支架对生理压缩载荷的耐受能力。

6.4 黏弹性

对组织工程半月板支架可进行黏弹性测试,通常是通过对支架或植入物的动态响应的分析来报告。常用的测试方法是用动态力学分析仪(DMA)在压缩模式下进行一定频率范围(常用 1 Hz~10 Hz)内的扫描。在进行测试时,应确定以下内容:试样取向(环向、径向或轴向)(需考虑植入部位的生物力学特性)、几何形状、生物振幅、扫描频率范围,以及环境条件等。测试结果应包括储能模量(G')和损耗模量(G'')-扫描频率图,损耗因子($\tan\delta$)-扫描频率图,分析支架在不同频率下的能量储存与耗散能力,评估其与天然半月板的黏弹性匹配度。

6.5 有限元分析(FE)辅助评价

利用有限元分析来评估组织工程半月板支架的力学状态,应建立具有解剖特异性的几何模型(如区分内侧和外侧),输入支架材料的力学参数(如弹性模量、泊松比)及膝关节生理载荷条件(如步行、蹲起等状态时的载荷大小与方向),可以模拟支架产品生理载荷下的应力状态(环向、径向或轴向应力-应变分布),计算关节接触应力,评估产品承受生理载荷的能力,预测力学失效风险;通过对有限元模型分析结果与文献或物理实验天然半月板数据进行比较,验证模型数据的有效性 with 准确性。

6.6 差异化性能指标

鉴于内侧与外侧半月板在解剖形态、活动度和承重力学环境上存在差异,产品开发应针对其目标植入部位,提供相应的力学性能验证数据和研究依据。建议通过对比研究、文献数据或计算机模拟等方式,建立与特定部位(内侧/外侧)生理功能相适应的力学性能指标和接受标准,确保支架的力学性能与植入部位需求精准匹配。

7 降解特性及测试

7.1 当组织工程半月板支架在体内或在体外培养条件下降解时,应对其降解性能进行全面的评价。理想的降解速率应与半月板组织再生速率相匹配,避免过早降解导致力学支撑不足,或过慢降解引发异物反应。降解特性测试应采用体外模拟降解实验与体内植入实验相结合的综合评价体系。

7.2 体外模拟降解实验可在 37℃、pH=7.4 的磷酸盐缓冲液(PBS)或含酶(如胶原酶、溶菌酶,浓度参照体内生理水平,模拟酶解降解过程)的模拟液中开展,测试周期应覆盖产品预期降解时间的 1.5 倍。每组至少设置 5 个平行样本,定期(如每周)取样测试质量损失率和 pH 值变化等关键指标。

7.3 体内降解实验应采用适宜的动物模型,通过组织学分析(HE 染色、Masson 染色)或结合影像学、生化分析等检测,综合评估材料降解与组织再生的动态过程。通常体内降解实验应进行至降解终点或支架在体内达到平衡。测试应详细记录动物基本信息、手术方法、术后管理、样品初始参数(分子量、孔隙率等)、测试条件、测试方法和测试结果并绘制降解动力学曲线。

7.4 试验周期应根据试验样品的预期用途和降解性能而定。体内动物试验前应先评估试验样品的降解时间,降解时间可通过体外降解试验或特定环境下的数学模型来推算。原则上试验周期应至少(但不限于)设置 3 个观察时期,一般应长于试验样品降解和被吸收的时间,或试验周期应能使相应的组织反应达到一个稳定状态。通常应至少(但不限于)设置以下 3 个时间点:

- a) 没有或仅有极少量降解;
- b) 降解过程,推荐包括植入物剩余量约为 50% 时的时间点;
- c) 组织反应处于稳定状态或植入物几乎完全降解。

7.5 植入物的降解率及周围组织结构的变化随时间而变化。例如,对于预期在 12 周内几乎完全降解的材料,建议选择 1 周、4 周、12 周为观察期。

7.6 对于预期超过 12 周完全降解或达到降解稳态的材料,可参考上述原则,依据植入物的降解特性酌情选择试验周期。

7.7 组织工程半月板支架的降解特性可能受到灭菌的影响。因此,对可能受影响的性能应在灭菌/无菌处理后进行评估。

8 体外生物有效性评价

8.1 概述

体外生物有效性评价旨在验证组织工程半月板支架引导细胞黏附、增殖及分泌功能性 ECM 的能力,核心是评估支架与细胞的相互作用效果,为体内组织再生潜力提供体外数据支持。

8.2 细胞的选择

细胞可能是同种异体的或自体的。可用于评价组织工程半月板支架的细胞包括但不限于:

- a) 半月板纤维软骨细胞,
- b) 间充质干细胞(MSCs)/诱导多能干细胞(iPSCs)/胚胎干细胞(ESCs),或
- c) 滑膜干细胞。

8.3 胶原蛋白检测

胶原蛋白是半月板 ECM 的主要成分,其中 I 型胶原(占 90% 以上)主要分布于半月板外周区抵抗环向应力,II 型胶原则集中于内侧区维持组织压缩性能。组织工程半月板支架与细胞作用后的 ECM 在含量和分布上可能与天然组织存在差异,但其功能应该与天然半月板组织相似。参照 ASTM F2212-25 的检测方法,主要包括羟脯氨酸定量法测定总胶原含量,天狼星红染色、WB、ELISA 鉴定胶原类型(I 型和 II 型)。结果应对比组织工程半月板支架-细胞复合体与天然半月板组织(同物种)的胶原含量、类型比例,评估支架诱导功能性胶原合成的能力。

8.4 蛋白聚糖检测

蛋白聚糖是半月板的第二大主要成分,主要存在于半月板内侧的白色区域。蛋白聚糖由核心蛋白与糖胺聚糖(GAG)组成,其中 sGAG 是主要功能组分。在半月板中发现的最常见的 sGAG 包括硫酸软骨素、硫酸皮肤素和硫酸角质素。参照 YY/T 1810—2022 的检测方法,通过在 65 °C 下用木瓜蛋白酶过夜消化组织工程半月板支架与细胞的复合体,采用 1,9-二甲基亚甲基蓝(DMMB)法测定 sGAG 含量,该测定应在 pH=1.5 的条件下进行(以避免羟脯氨酸或 RNA 等多阴离子的干扰),并按组织的湿重或干重进行归一化。结果需检测天然半月板组织的 sGAG 含量作为对照,评估支架诱导蛋白聚糖合成的效果。

8.5 DNA 检测

DNA 含量可反映组织工程半月板支架-细胞复合体中的细胞数量与增殖情况,是评价支架中细胞相容性的关键指标。通过在 65 °C 下用木瓜蛋白酶过夜消化组织,采用荧光染色法(如 PicoGreen 试剂)在 pH=7.5 的条件下定量分析总 DNA 含量,通过标准曲线计算样品中 DNA 浓度,并按组织湿重或干重归一化,绘制 DNA 含量-培养时间图,分析细胞在支架上的增殖动力学,评估支架促进细胞增殖的能力。

8.6 生长因子检测

生长因子可调控细胞增殖、迁移、基质产生和表型维持或分化,其中最常见包括转化生长因子 β -1 和 β -3(TGF- β 1 和 TGF- β 3)、结缔组织生长因子(CTGF)、成纤维细胞生长因子(FGF)、血小板衍生生长

因子(PDGF)、胰岛素样生长因子(IGF-1)、表皮生长因子(EGF)和肝细胞生长因子(HGF)等。生长因子常见包含于组织工程半月板支架中,而使用的生长因子的浓度可能会对所需的细胞反应和细胞毒性产生显著影响,因此释放剂量/浓度应始终报告,评估生长因子的释放动力学。从组织工程半月板支架中释放的生长因子可以通过 WB 检测,并可对特定的生长因子使用 ELISA 进行定量。

9 动物模型测试

9.1 动物模型测试是组织工程半月板支架临床前评价的关键环节,旨在验证支架在体内环境下的生物安全性、组织再生效果、力学功能恢复及软骨保护作用,为产品进入临床研究提供核心数据支持。

9.2 动物模型测试常用的模型动物包括兔、犬、山羊、绵羊和猪。因为:

- a) 与大型动物相比,兔模型通常更为经济,通常,兔模型适于评价生物相容性、材料配方及植入物基本设计筛选等;
- b) 大型动物(如山羊、绵羊、猪)的半月板尺寸和承重模式更接近人类,更适合评估植入物的生物力学功能和长期耐久性。

9.3 手术操作需在无菌条件下进行,通过膝关节内侧或外侧入路建立半月板缺损模型,试验组植入待测样品,对照组的设置应能充分体现出未接受治疗的和接受治疗的半月板缺损之间的对比,通常对照组的设置应包括空白缺损组和自体移植组,从而准确评估其治疗效果。

9.4 术后评估应包括定期的影像学检查[如 X 线、核磁共振成像(MRI)等],功能与行为学评估(如关节活动度、步态分析等),软骨保护评估(如大体观、组织学和免疫组织化学评价、分级和评分等),修复组织的特征(如生化分析、细胞形态、胶原排列等),材料降解情况,以及生物力学测试(压缩模量和拉伸强度等)。因为半月板血液供应的独特性和关键排布,应特别关注红区血管化。

9.5 必要时,可利用组织学检查等分析对内脏(心、肝、脾、肺、肾等)的毒性作用,进一步评价其安全性。

9.6 实验设计应符合动物伦理要求,获得伦理委员会批准。报告应详细记录动物基本信息(品种、年龄、体重)、手术方法、术后管理、检测方法和结果分析,为产品的临床前安全性和有效性评价提供科学依据。

参 考 文 献

- [1] GB/T 16886(所有部分) 医疗器械生物学评价
 - [2] YY/T 1616—2018 组织工程医疗器械产品 生物材料支架的性能和测试指南
 - [3] T/CSBM 0029—2022 用于关节软骨组织修复或再生植入性医疗器械体内评价
 - [4] T/CSBM 0032—2023 同种异体产品中有机溶剂残留量测定指南
 - [5] ASTM F2212-25 Standard Guide for Characterization of Type I Collagen as Starting Material for Surgical Implants and Substrates for Tissue Engineered Medical Products (TEMPs)
 - [6] ASTM F2150-19 Standard Guide for Characterization and Testing of Biomaterial Scaffolds Used in Regenerative Medicine and Tissue-Engineered Medical Products
-