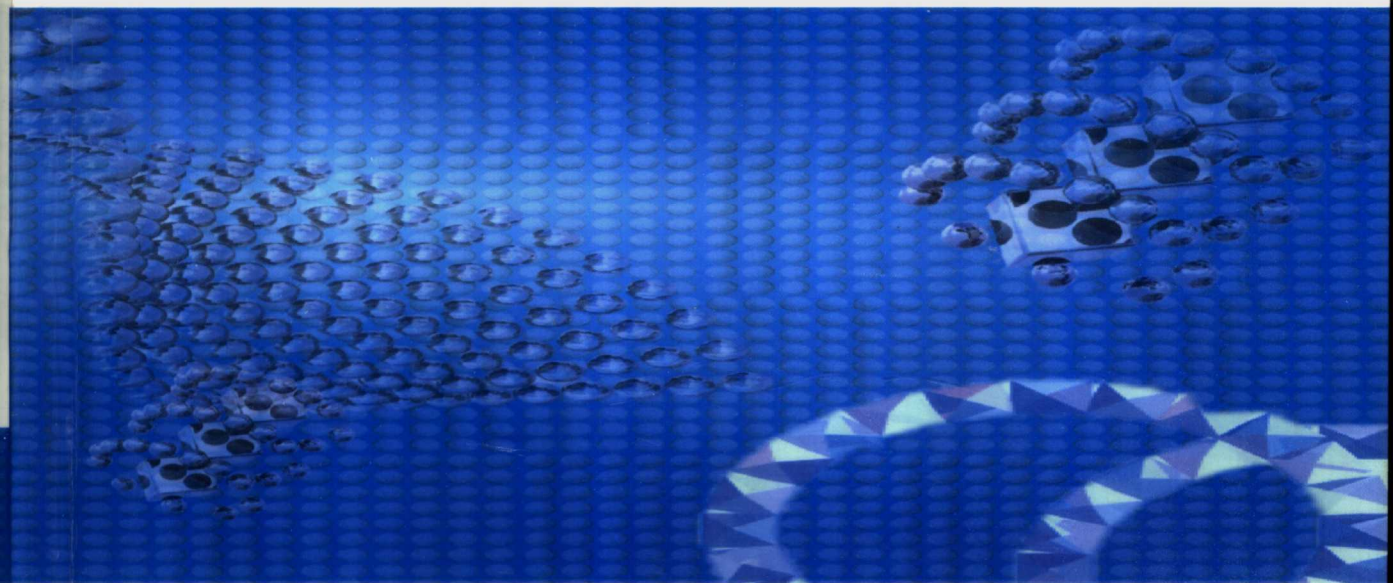
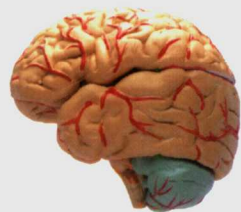


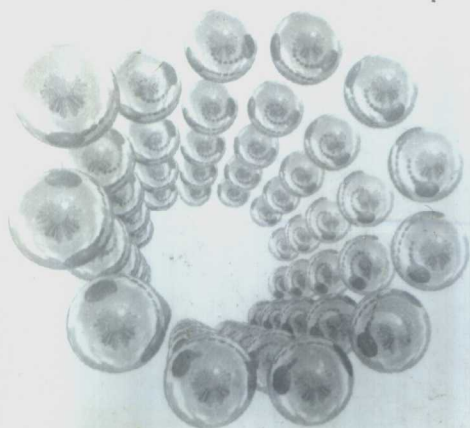
医学组织工程

YIXUEZUZHIGONGCHENGJISHU
YULINCHUANGYINGYONG

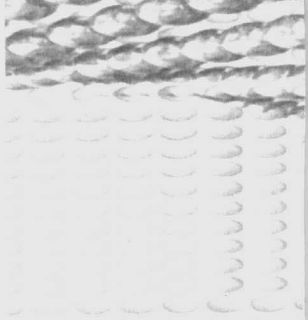
技术与临床应用



鄂征 刘流 / 主编



北京出版社



医学组织工程

YIXUEZUZHIGONGCHENGJISHU
YULINCHUANGYINGYONG

技术与临床应用

鄂征 刘流 / 主编



北京出版社

图书在版编目(CIP)数据

医学组织工程技术与临床应用/鄂征,刘流主编.北京:北京出版社,2002

ISBN 7-200-02828-2

I. 医… II. ①鄂…②刘… III. ①人体组织学—基础理论②人体组织学—技术—临床应用 IV. R329-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2002)第 022555 号

医学组织工程技术与临床应用

YIXUE ZUZHI GONGCHENG JISHU YU

LINCHUANG YINGYONG

鄂征 刘流 主编

*

北 京 出 版 社 出 版

(北京北三环中路 6 号)

邮政编码:100011

网 址: www.bph.com.cn

北京出版社出版集团总发行

新 华 书 店 经 销

北京市頤园印刷厂印刷

*

787×1092 16 开本 39 印张 747 千字

2003 年 5 月第 1 版 2003 年 5 月第 1 次印刷

印数 1—5 000

ISBN 7-200-02828-2

R·194 定价:69.00 元

本书编写人员

主 编：鄂 征 刘 流

编 者：（按文中先后顺序）

基础部分

鄂 征	北京大学临床医学院肿瘤防治研究所	肿瘤遗传学教授
杨连甲	第四军医大学口腔医学院	口腔病理学教授
陈希哲	四川大学华西口腔医学院颌面外科	博士后
刘 华	北京大学临床医学院肿瘤防治研究所	免疫学教授

临床部分

于东宁	北京大学第四临床医学院、北京积水潭医院	硕士
李 迟	北京大学第四临床医学院、北京积水潭医院	副教授
孙永华	北京大学第四临床医学院、北京积水潭医院	教授
孙明学	中国人民解放军总医院	博士
马贵骥	北京市创伤骨科研究所、北京积水潭医院	研究员
黄广林	北京大学第四临床医学院、北京积水潭医院	硕士
唐瞻贵	中国人民解放军总医院	博士
田 文	北京大学第四临床医学院、北京积水潭医院	副主任医师
胡 琪	北京大学第四临床医学院、北京积水潭医院	硕士
郝二平	中南大学湘雅医院	博士
陈胜喜	中南大学湘雅医院	教授
孟 忻	北京大学第四临床医学院、北京积水潭医院	副教授
刘 流	北京大学第四临床医学院、北京积水潭医院	副教授
吕新生	中南大学湘雅医院	教授
王宪伟	中南大学湘雅医院	博士
李宜雄	中南大学湘雅医院	博士
王心见	中南大学湘雅医院	博士
皮执民	中南大学湘雅医院	博士
陈山林	北京大学第四临床医学院、北京积水潭医院	硕士

序 言

在人类生命的历史长河中,由于战争、创伤、肿瘤、感染及其他各种原因可造成人体组织器官的损伤和功能丧失。纵观世界医学的发展,人体组织缺失的治疗经历了切除(resection)、修复(repair)、置换(replacement)及再生(regeneration)四个阶段。组织工程(tissue engineering)起源于20世纪末,是医学科学发展的必然,是21世纪组织再生和修复的热点。

自从20世纪末在美国提出组织工程的概念后,组织工程的发展在某种程度上代表了一个国家、一个地区的医学科研水平。我国的许多科研机构 and 不同专业的专家也迅速将科研重点进行调整,使组织工程学的研究形成了较大的规模,并在种子细胞的培养扩增、支架材料的研制及细胞生物学调控方面取得了明显的进展,迅速缩短了与西方发达国家的差距,推动了中国医学科学的发展。从1999年至今在我国已举行三届全国组织工程及一届国际组织工程学术研讨会,国家高技术研究发展计划(863计划)生命科学部在2002年将11项组织工程专题列为研究规划,进一步推动了我国组织工程学的研究。

《医学组织工程技术与临床应用》一书由北京地区各有关学科知名专家参与编写。该书分为2篇20个章节,在第一篇中重点介绍了组织工程的基本理论及技术,第二篇中具体翔实地介绍了各系统组织工程的技术及方法。该书从组织培养的基本理论及技术到各系统组织工程技术的运用,注重组织工程基础理论与研究应用的结合,知识面丰富,涵盖范围广,所述实验方法均为各著者的精华之作,同时客观地反映了当今组织工程学发展的方向。《医学组织工程技术与临床应用》是一部优秀图书,该书的出版必将为我国医学科学的发展做出巨大的贡献。

中国人民解放军总医院骨研所 教授
中国工程院 院士



2002年11月20日

序 言

当前医学科学的进步,使许多疾病都可得到治愈,难克绝症日渐减少。而随人类生活质量的提高,人们对健康的期望也愈来愈大。损伤组织的修复、遗传缺陷器官的重塑以及衰老器官的更新等,是否也能实现呢?面临人类健康需求的挑战,在日新月异的科技条件下,一项新兴科学——组织工程学应运而生。

组织工程于20世纪80年代最先在美国出现,我国90年代也发展起来,而且进步很快。2001年春天在北京“863”科技展览会上,已显示出我国组织工程发展和进步的趋势。全国性组织工程学术会已开过三次,国内已有不少省市建立起组织工程实验室进行研究,这是可喜的事。组织工程具有理论密切结合实际的优势,为人类展示着美好的前景,从而受到了普遍的重视。眼下,国内这方面的专著仍然较少,人们迫切需要内容丰富、技术新颖的参考书。《医学组织工程技术与临床应用》的问世是适应当前形势的、及时的产物。

组织工程属高科技,是医学实践和生命科学发展的结果。读者可从本书内容看出,这是一种由组织培养技术、细胞生物学、分子生物学、免疫学、材料科学、临床外科学等众多科学参与形成的综合性技术科学。

我知鄂征教授在1951年到苏联留学时即曾学过组织培养,回国后,成为我国组织培养创建者鲍鉴清教授的传人。他毕生应用组织培养技术从事研究,20世纪80年代以来,又涉足分子生物学领域的科研工作,积累了丰富的实践经验,有深厚的基础医学理论造诣,在工作中很有建树。他虽已年逾古稀,却仍孜孜不倦,与青年同仁们不辞辛苦,参考大量科学新文献,历时一年完成了编写的艰巨任务。

本书第一篇对与组织工程技术相关的基础知识和技术,如三维细胞培养、细胞分化、细胞外基质和支架材料、免疫排斥等问题,做了广泛介绍;第二篇是由青年临床工作者编写的个别器官的组织工程学技术内容。上下两篇相依托,理论密切结合临床实际,内容新颖丰富,图文并茂,文字可读性很强,实为具有很大实用价值的技术参考书。

我相信,本书的问世,无疑又为我国组织工程工作者提供了宝贵的资料,也必为我国组织工程的发展起促进作用。我衷心祝贺此书的出版。

中华人民共和国卫生部(前)部长



2002年11月

编者的话

组织工程自 20 世纪 80 年代形成以来，其发展的速度是惊人的。在组织工程产生地美国，对人体的皮肤、软骨、骨、韧带、肌肉、心、肝、血管等各组织器官，都进行着体外培养分化工作，有的已获得不同效应的修复产物，并在不断完善中；有的并已成为商品。组织工程在美国，不仅是一门科学，也已形成一个新的市场。经营组织工程相关产品的公司也如雨后春笋，这更加促进着组织工程的发展。

我国的组织工程是除美国外，包括欧洲和日本在内的国家中，发展较快的后起之秀。从 20 世纪末，我国组织工程就已开展起来，对细胞培养技术、支架材料的研制、组织代替物的制备等，都有所创新和进展。1987 年以海曹谊林等裸鼠人耳组织工程模型为代表，显示了我国组织工程进展的水平。全国其他各地，也都有人进行着类似工作，对个别组织器官的修复，有的已进入临床试用阶段。今年又召开了第三次组织工程学术会，显示我国组织工程发展的蓬勃形势。我国人口众多，对创伤修复、器官或组织切除（癌症或其他），以及老化组织器官代替的需求十分巨大，组织工程在我国必将有非常广阔的前景。

但组织工程作为一种新科学，从总体上说，仍处于发展阶段。国内外文献资料虽日益增多，但与其他领域的科学相比较，也仍然较少。国内的专著性参考书，仅见有《组织工程基础与临床》一书（杨世明，2000）。这对具有丰富内涵的新型科学组织工程来说，显然不足，加之读者需求也各不相同，还需要有更多的、不同侧面和深度的参考读物。

为适应我国组织工程发展的需要，我们编辑了《医学组织工程技术与临床应用》一书。现阶段的组织工程技术，主要仍以常规单层细胞培养技术为基础，再结合应用各种形式的支架进行三维培养（3D），然后制备成可用于临床的组织器官的替代物。单层细胞培养从 20 世纪 50 年代以来，早已广为人们所熟知和应用。但何以经过近 50 年，才成为能植入人体的主要手段？除技术水平外，也与理论上人们对细胞的生存条件、增殖和分化的认识深入程度相关。所以说，组织工程的实施，仍然是在先进理论上产生的生物高科技工程之一，而不单是技术问题。

因此，本书不仅为读者提供了组织工程各种相关具体技术，同时也对众多相关的基本理论有所探讨；全书始终是在上述两者相结合中进行介绍的。实用性、可读性、理论与技术相结合的可操作性，是本书特点，希望能对研究者有实际帮助。此外，本书也注意了叙述上尽量深入浅出、通俗易懂，并附有为数不少的插图，以增加可读性。全书分上下两篇，首篇主要介绍组织工程相关的基本技术和理论，第二篇以临床应用为主，其中仍然涉及一些技术问题，角度不同，与第一篇有着互补性，使本书内容更加充实。

组织工程是一种新的高科技工程，不论理论和技术所涉及的内容都非常广泛、繁多，一本书也难以面面俱到。由于时间较短、内容涉及面广，加之参加编者较多，每人所掌握和熟悉的理论、资料有所不同，在个别内容介绍上，难免有交叉和重复之处。但毕竟组织工程是仍在发展中的科学，不同编者论据来源不同，各有实验依据，角度有所不同，也是正常的。总之，为编好本书，我们虽已付出最大努力，恐也难达到尽善尽美的程度。有不尽如人意或差错之处，希望读者不吝指正，以待再版时改正。

鄂 征

谨识于 2002 年初夏

目 录

导论 组织工程概述	(1)
一、组织工程的产生	(2)
二、组织工程的发展和在各领域的应用	(5)
三、组织工程的展望	(13)

第 一 篇 组织工程基本理论及技术

第一章 组织培养	(19)
第一节 组织培养基本知识	(19)
一、概述	(19)
二、体外培养细胞的生物性状	(21)
三、培养用液	(33)
四、培养用基本设备	(36)
五、体外培养细胞成功率分析	(38)
第二节 单层细胞培养	(40)
一、培养前准备和要求	(40)
二、基本操作	(41)
第三节 常规细胞培养方法	(53)
一、初代培养法	(53)
二、传代培养法	(56)
第四节 特殊培养法	(57)
一、二倍体细胞培养法	(57)
二、加一般支持物培养法	(59)
三、单细胞分离(克隆)培养	(62)
第五节 污染和排除	(68)
一、概述	(68)
二、微生物污染的排除	(72)

第二章 正常细胞培养	(74)
第一节 实验用动物和人源细胞培养	(75)
一、大鼠骨细胞的分离和培养	(75)
二、小鼠胚胎干细胞培养	(79)
三、创建永生性人软骨细胞系	(82)
第二节 人细胞培养	(90)
一、人脐带血管内皮细胞培养	(91)
二、人真皮微血管内皮细胞分离和培养	(95)
三、移植用人自体关节软骨细胞培养和鉴定	(100)
四、软骨细胞、肌腱细胞和韧带细胞的分离和培养	(106)
五、人骨成骨细胞的分离和培养	(112)
六、人真皮成纤维细胞培养	(120)
七、人脂肪细胞的培养、生长和分化	(124)
八、人骨骼肌细胞培养	(131)
九、人乳腺上皮细胞培养	(133)
十、人肝细胞灌流培养	(135)
十一、人毛发外根鞘细胞培养	(142)
十二、皮肤角质上皮细胞的培养	(149)
第三章 干细胞与组织工程	(155)
第一节 干细胞生物学	(155)
一、干细胞的概念	(155)
二、干细胞的发生	(156)
三、干细胞类型和标志	(157)
四、干细胞的分化性	(160)
五、干细胞与分裂	(161)
第二节 细胞分化问题	(162)
一、细胞分化基本概念	(162)
二、分化诱导	(169)
第三节 间充质干细胞	(175)
一、间充质干细胞起源	(175)
二、间充质细胞生物学特性	(176)
三、间充质细胞的分离	(176)
四、间充质细胞的生物学标志	(179)

五、间充质细胞的诱导与分化	(180)
六、间充质与细胞工程骨的再生	(181)
第四章 细胞外基质	(188)
第一节 ECM 的组成成员	(189)
一、胶原家族	(189)
二、非胶原性基质蛋白	(193)
三、弹力组织、弹性硬蛋白和弹性硬蛋白相关的微丝	(198)
四、透明质素	(199)
五、蛋白聚糖	(204)
六、肝素	(207)
第二节 ECM 的功能	(209)
一、ECM 和其介导的信号受体	(209)
二、维持组织特异性基因表达	(209)
三、ECM 与细胞分化和细胞分裂的关系	(211)
四、ECM 调控生长因子、细胞因子和转录因子	(211)
五、ECM 与异分化	(212)
六、ECM 是形态调节子	(212)
七、凋亡	(213)
八、ECM 和 DNA	(214)
第五章 组织工程支架材料	(215)
第一节 概述	(215)
一、人体器官和组织的完整性	(215)
二、细胞移植和组织工程的三个阶段	(216)
三、支架材料要求	(216)
第二节 天然材料	(217)
一、胶原	(218)
二、糖胺聚糖	(219)
三、脱壳多糖	(220)
第三节 人工合成材料	(221)
一、几种常用材料	(221)
二、注入材料	(223)
第四节 生物支架材料制备方法	(224)
一、可降解性聚合泡沫的制备	(224)

二、应用泡沫聚 α -羟基酯	(229)
三、可控性释放的高孔性聚合泡沫	(233)
第五节 生物陶瓷与骨材料	(238)
一、生物陶瓷的分类及组成	(238)
二、生物陶瓷的性状与骨形成——自身的骨诱导性	(243)
三、生物陶瓷支架与种子细胞的相互作用——材料的表面修饰	(244)
四、成骨细胞、血管内皮细胞和血管生成与骨形成 及陶瓷支架间的关系	(248)
第六章 组织工程生物学调控	(253)
第一节 细胞黏合分子种类和黏合机制	(254)
一、细胞黏合分子	(254)
二、黏附与离子	(259)
三、细胞黏合结构	(259)
第二节 生长因子	(260)
一、概述	(260)
二、血小板生长因子	(262)
三、血管生长因子	(268)
第三节 细胞分化	(273)
一、细胞分化概述	(273)
二、肌细胞的分化	(274)
第七章 移植排斥	(286)
第一节 移植抗原	(286)
一、红细胞抗原	(287)
二、组织相容性抗原	(287)
第二节 排斥反应类型与临床表现	(288)
一、排斥反应的类型	(288)
二、排斥反应的临床表现	(289)
第三节 排斥反应机制	(291)
第四节 延长移植物存活措施	(294)
一、组织配型	(294)
二、器官移植的免疫监护	(295)
第五节 免疫抑制	(296)
一、抗原非特异性免疫抑制	(296)

二、特异性免疫抑制研究	(297)
第六节 免疫耐受	(300)
一、基本概念	(300)
二、诱导对移植抗原特异性耐受	(301)
第七节 免疫隔离与胰脏细胞移植	(302)
第八章 组织工程三维培养系统	(305)
第一节 概述	(305)
一、单层细胞培养	(305)
二、三维培养	(309)
第二节 三维培养组织工程实施范例	(315)
一、用 HEMA - MMA 纤维包被	(315)
二、三维细胞培养乳房再建组织工程	(322)
三、在无细胞基质上的复合表皮角质细胞移植物的制备和移植	(327)
四、肝细胞三维培养器的发展	(337)
 第二篇 组织工程临床实践及前景 	
第九章 皮肤组织工程	(345)
第一节 皮肤的再生	(345)
一、生理性再生	(345)
二、受损伤后再生(补偿性再生)	(346)
三、真皮和表皮再生的关系	(346)
四、影响表皮细胞分裂活动的因素	(347)
第二节 创伤愈合及细胞因子	(347)
第三节 皮肤的组织工程学	(348)
一、皮肤细胞培养	(348)
二、主要的基质三维支架	(350)
三、目前主要的组织工程化皮肤产品	(353)
四、基因治疗	(358)
五、存在的问题和展望	(360)
第十章 软骨组织工程	(367)
第一节 软骨生长因子	(369)
一、胰岛素样生长因子	(369)
二、转化生长因子 - β	(370)

三、碱性成纤维细胞生长因子	(371)
四、骨形态形成蛋白	(372)
五、肝细胞生长因子	(373)
六、血小板源性生长因子	(374)
七、软骨调节素	(374)
八、软骨生长因子间的相互作用	(376)
九、生长因子在软骨基质代谢中的作用	(377)
第二节 软骨组织工程的支架材料	(377)
第三节 软骨细胞的分离与培养	(380)
第四节 关节软骨的组织工程	(384)
一、组织工程修复	(384)
二、软骨缺损的充填	(388)
三、合适的内固定	(389)
第十一章 骨组织工程	(390)
第一节 概述	(390)
一、骨生长因子	(391)
二、骨生长因子在骨组织工程中的应用	(406)
三、骨组织工程的支架材料	(408)
第二节 骨组织工程	(423)
一、骨组织工程相关的细胞	(423)
二、骨组织工程的种子细胞	(428)
第十二章 口腔组织工程	(442)
第一节 口腔组织工程材料	(442)
第二节 牙及牙周组织工程	(443)
一、解剖结构	(443)
二、牙及牙周组织工程研究	(443)
第三节 颌骨组织工程	(446)
一、颌骨组织工程研究中的几个问题	(446)
二、颌骨组织诱导再生塑形后再植入	(447)
三、颌骨引导与颌骨诱导结合修复骨缺损	(447)
第四节 口腔黏膜组织工程	(448)
一、口腔黏膜上皮培养方法	(448)
二、临床应用	(449)

第十三章 肌腱组织工程	(451)
第一节 概述	(451)
第二节 种子细胞——肌腱细胞生物学特性的研究	(453)
第三节 生物支架材料——肌腱细胞外基质替代物	(455)
第四节 肌腱细胞与支架材料——肌腱细胞外基质替代物的复合	(456)
第五节 肌腱细胞与生物活性因子	(457)
第六节 组织工程化肌腱的深入研究	(458)
第十四章 血管组织工程	(461)
第一节 血管移植的发展	(461)
一、静脉移植	(461)
二、异抗原或同种异体抗原血管移植	(461)
三、人工合成血管移植	(462)
第二节 血管植入体与宿主相互作用	(462)
一、血管植入体与血液之间的相互作用	(462)
二、移植失败与通畅率	(464)
三、影响移植血管愈合的移植物特性	(464)
四、血管生成	(465)
第三节 组织工程技术处理人工合成血管	(466)
一、修饰移植体血管表面结构	(466)
二、控制体内血管的愈合过程	(466)
三、生物可吸收材料血管移植物的应用	(467)
四、内皮细胞的接种	(468)
第四节 组织工程血管	(470)
一、体外组织工程血管	(470)
二、体内组织工程血管	(471)
第十五章 心脏瓣膜和血管组织工程	(476)
第一节 心脏瓣膜及大血管组织工程的材料	(477)
一、天然材料	(477)
二、合成多聚体材料	(478)
三、复合材料	(479)
第二节 种子细胞的培养	(479)
一、内皮细胞的获取	(480)
二、内皮细胞的培养	(480)

第三节	瓣膜组织工程的基本方法	(480)
一、	心脏瓣膜支架塑形	(481)
二、	细胞种植	(481)
三、	人工生物心脏瓣膜内皮化	(483)
第四节	血管组织工程的方法	(483)
一、	人工血管的内皮细胞种植	(484)
二、	全生物化组织工程血管	(485)
三、	以可吸收材料为支架的组织工程血管	(486)
第五节	瓣膜与血管壁细胞的生物学特性	(486)
一、	静态内皮细胞与平滑肌细胞的培养	(487)
二、	流体动力学状态下血管壁细胞的功能	(487)
三、	应力培养	(489)
四、	内皮细胞与平滑肌细胞联合培养	(489)
五、	展望	(490)
第十六章	角膜及结膜组织工程	(495)
第一节	角膜组织工程	(495)
一、	角膜的解剖结构	(495)
二、	角膜移植的标准	(496)
三、	人工角膜的前期发展	(497)
四、	多孔材料的发展	(498)
五、	光学材料的发展	(499)
六、	无损伤人工角膜的研究	(500)
第二节	结膜组织工程	(501)
一、	结膜的解剖结构	(502)
二、	结膜或黏膜移植	(502)
三、	羊膜移植	(503)
四、	组织工程学材料作为结膜替代材料的移植	(503)
第十七章	泌尿系组织工程	(507)
第一节	人工肾组织工程	(507)
一、	肾的大体解剖及功能	(507)
二、	血液透析及人工肾简介	(508)
三、	血液净化疗法中组织工程技术的研究及应用	(513)
第二节	组织工程作为膀胱替代材料的研究和应用	(518)

一、膀胱替代材料研究的现状及发展	(519)
二、组织工程材料	(522)
第三节 尿道替代的组织工程材料	(526)
一、膀胱黏膜	(526)
二、颊黏膜	(527)
三、皮肤	(527)
第四节 组织工程材料的发展	(529)
第十八章 小肠组织工程	(535)
第一节 小肠的解剖和功能	(537)
一、小肠的解剖	(537)
二、小肠的功能	(537)
三、小肠的组织学结构	(543)
第二节 小肠替代的研究	(545)
一、短肠综合征	(545)
二、小肠移植	(546)
三、小肠移植后免疫反应	(548)
第三节 小肠的组织工程学	(549)
第十九章 胰腺及肝脏组织工程	(554)
第一节 胰腺的解剖及功能	(554)
一、大体解剖	(554)
二、组织学和功能	(556)
第二节 胰腺移植及胰岛细胞移植	(559)
一、胰腺移植	(560)
二、胰岛移植	(564)
第三节 胰腺组织工程	(570)
一、胰腺组织工程学研究历史及现状	(570)
二、胰腺组织工程学研究的前景	(573)
第四节 肝脏组织工程	(579)
一、生物人工肝支持系统	(580)
二、猪肝细胞的制备	(581)
三、生物人工肝支持系统的适应证与禁忌证	(582)
四、生物人工肝支持系统潜在的问题	(583)
五、结语	(583)