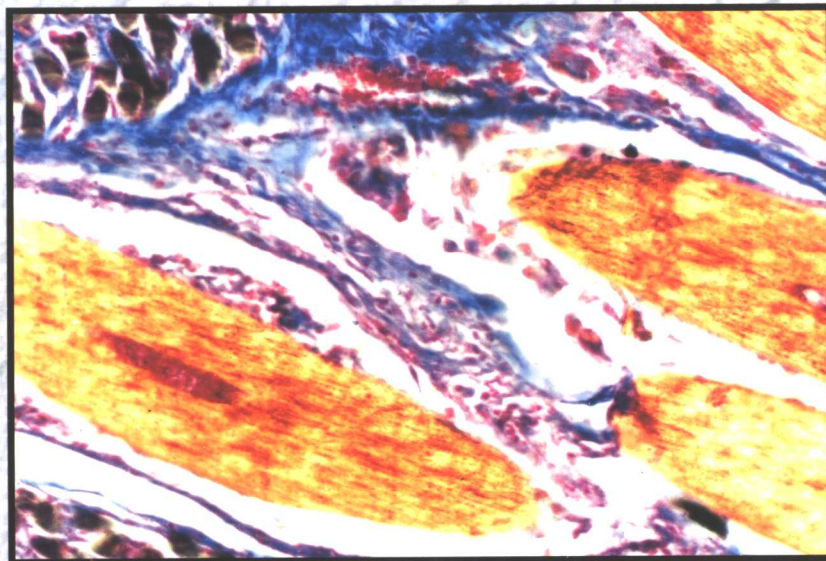




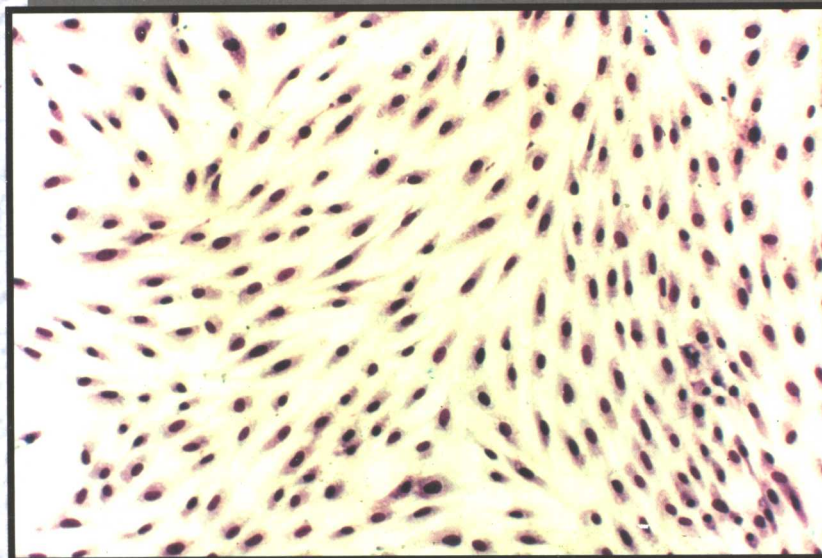
主编 杨志明 四川科学技术出版社

组织工程 基础与临床

*Basic and Clinical Research
on Tissue Engineering*



处理人发+PGA 支架材料复合转化人胚
细胞体内植入后2周, 活性腱人发间有组
织长入, 血管增生。(Masson染色 X400)



第54代转化人胚细胞 (Giemsa染色 X40)

组织工程基础与临床

Zuzhi Gongcheng Jichu yu Linchuang

主 编 杨志明

审 阅 张涤生



四川科学技术出版社

图书在版编目(CIP)数据

组织工程基础与临床/杨志明著. - 成都:四川科学技术出版社,2004.4

ISBN 7-5364-4419-2

I.组… II.杨… III.骨科学-人体组织学-研究
IV.R329.47

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2000)第 02452 号

组织工程基础与临床

主 编	杨志明
责任编辑	任维丽
封面设计	韩健通
版面设计	俞 军 张元芬
责任校对	喻瑞卿 俞 军
责任出版	周红君
出版发行	四川科学技术出版社
	成都盐道街 3 号 邮政编码 610012
开 本	787mm×1092mm 1/16
	印张 21.5 字数 510 千 插页 4
印 刷	四川新华印刷厂
版 次	2004 年 4 月成都第一版
印 次	2004 年 4 月成都第一次印刷
印 数	1-3 000 册
定 价	138.00 元

ISBN 7-5364-4419-2/R·982

■ 版权所有·翻印必究 ■

■ 本书如有缺页、破损、装订错误,请寄回印刷厂调换。

■ 如需购本书,请与本社邮购组联系。

地址/成都盐道街 3 号

邮政编码/610012

内容简介

本书是中国第一部关于组织工程学研究的专著。全书共分 21 章 100 节。第 1 章~第 7 章重点介绍有关组织工程学的基本知识及基本理论,第 8 章~第 21 章重点介绍人体各种组织(器官)的组织工程研究方法、技术路线和成果。除了综述在组织工程研究中的国内外最新进展外,还结合各作者亲自参加的部分组织工程研究工作,介绍了作者自己的研究成果,有不少内容尚未公开发表。全书不仅介绍了有关组织工程研究的基本理论、基本技术和方法,还对临床应用现状和前景进行了介绍,是一部理论联系实际,可供科学研究人员、临床医师、研究生、理工类和医学本科生阅读的高级读物。

组织工程基础与临床

主 编 杨志明

审 阅 张涤生

编写人员 (以姓氏笔画为序)

王 跃 方 跃 王光林

朱建辛 邹 力 岑石强

余希杰 李彦林 李 涛

宋跃明 沈 彬 杨志明

项 舟 秦廷武 龚 全

解慧琪 樊征夫 魏人前

特邀编辑 俞 军 张元芬

序 言

现代外科医学的历史发展是从破坏性、创伤性的切除手术,趋向于修复重建外科新领域。20 世纪下半叶在修复和治疗人体各种组织、器官畸形和疾病方面有着很大发展,其中一个重要手段就是组织和器官的移植。皮肤组织的移植开创于 19 世纪后叶,盛行于 20 世纪。从最早的自体皮肤移植到异体或异种皮肤移植以治疗抢救大面积烧伤病人,得到广泛的应用,且至今仍然得到重视。从皮肤移植开始,后来又扩展到人体各种组织的移植,如软骨、骨骼、筋膜、肌腱、血管、神经和肌肉等。这些自体或异体组织移植,一直是各国外科医师修残补缺,恢复功能和形态的主要方法之一。

但随着异体组织可以被宿主排斥现象的认识,科学家相继对此进行了深入的实验研究。Medawar(1948)首先证实异体组织细胞内存在着抗原,可在宿主体内产生免疫排斥反应。这一发现标志着现代移植外科学的诞生,并进而发明了有效的免疫抑制药物的临床应用。Murray 等(1955)在同卵双胞胎的个体间进行肾移植获得成功,为临床器官移植的发展开辟了道路,并因此在 1964 年获得了诺贝尔医学奖。如今异体肾移植已在长期服用免疫抑制药物的帮助下,可以长期存活,并得到普遍推广。但异体肝、心、肺和胰腺等器官移植尚在初期试用阶段。

虽然自体组织和异体器官移植在临床应用上已获得较大或很大的进展,但毕竟还存在一些缺陷,就是自体组织必须以牺牲个人的正常组织为代价,异体组织或器官则又存在免疫排斥反应和供体器官严重不足的问题。本世纪 80 年代,随着生命科学和物理、化学、免疫学、细胞生物学及材料学的兴起和发展,人们提出了一个新的生物医学概念,即组织工程学。它是应用细胞生物学和工程学原理,以生物替代为目的研究和开发关于修复和改善人体组织(包括一些器官)功能和形态的一门新的医学新学科。它具有多学科结合,相互连接与融合,而形成较高学术水平的边缘学科的特点。

组织工程的基本原理和方法是将在体外培养的高密度组织细胞在体外培养扩增后,吸附于一种生物相容性好,并可在植入人体后逐渐降解和吸收的高分子材料支架,为细胞提供生存的三维空间,有利于细胞获得营养物质,进行气体交换,排出废料,使细胞可以按预制形态的三维支架生长,然后将此支架植入体内病损部位。种植的细胞在生物支架逐渐降解吸收过程中,继续增生繁殖,形成了新的具有原先特殊功能和形态的

相应组织和器官,达到修复创伤和重建功能的治疗目的,这些组织可以是皮肤、软骨、骨骼、……等,直到制备成各种内脏器官,如肾脏、肝脏、胰腺、心瓣膜以及肺等各种重要器官。而这些组织和器官细胞来自患者个体自身,故此排除了产生免疫反应的可能。从这点来看,组织工程学的研究一旦从实验室进入临床应用,将标志着人类移植医学的一个新的飞跃,将是“一场意义深远的医学革命”,生命科学在 21 世纪的一次大跃进。

在 80 年代,美国首先由国家科学基金组织资助建立了一系列组织工程实验室。在波士顿麻省大学医院,由 Joseph. P. Vacanti 首先创制了应用组织工程技术生产的软骨细胞系。中国青年学者曹谊林博士在 Vacanti 的实验室中,于 1996 年在世界上第一个成功地在裸鼠身上培养制成了人形耳廓软骨支架,因而获得美国整形外科学会最高荣誉巴莱脱勃朗奖,目前曹谊林已回国在上海第二医科大学附属第九人民医院建立了上海市组织工程研究中心,正在进行各种组织工程的深入研究,并已获得了进一步的科研成果。

中国学者不甘落后,急起直追,从 90 年代初开始,组织工程学的研究亦在不少单位先后开展,迄今不少领域获得接近或达到国际水平的成果,某些项目处于领先地位。杨志明教授所领导的华西医科大学组织工程实验室就是其中之一。为了将组织工程学的有关新知识、新技术和新信息及早介绍给中国关心和愿意为之献身的学者,他特组织了他们的“一班人”,综合目前国外最新有关组织工程的研究现状,并结合他们自己的科研成果,编写了中国第一部组织工程学参考书,以期达到将此前沿学科介绍给广大读者,起到启蒙、普及和推动作用。纵阅全书,资料来源广博,信息量大,涉及面较广,内容详尽。预见本书出版问世,将对中国组织工程学技术的进一步发展、深入研究并早日投入临床应用,为生命科学和医学的发展,在新世纪来到之际做出具有革命性意义和为人类造福的新贡献。谨致以热烈祝贺。

中国工程院院士
上海第二医科大学教授

张涤生

1999 年 7 月 7 日

前 言

人体组织损伤、缺损会导致功能障碍。传统的修复方法是自体组织移植术,虽然可以取得满意疗效,但它是以牺牲自体健康组织为代价的“以伤治伤”的办法,会导致很多并发症及附加损伤;器官功能衰竭,采用药物治疗、暂时性替代疗法可挽救部分病人生命,对终末期病人采用同种异体器官移植可有较好疗效,但供器官来源极为有限,因免疫排斥反应需长期使用免疫抑制剂,由此而带来的并发症有时是致命的。自 80 年代 Robert Langer 和 Joseph P Vacanti 首次提出“组织工程学”概念以后,为众多的组织缺损、器官功能衰竭病人的治疗带来了曙光。

组织工程学是一个崭新的概念,它融合了工程学和生命科学的基本原理、基本理论、基本技术和基本方法,在体外构建一个有生物活性的种植体,植入体内修复组织缺损,重建组织或器官功能;或作为一种体外装置,暂时替代器官功能,达到提高生存质量,延长生命活动的目的。它的科学意义不仅在于为解除病人痛苦提供了一种新的治疗方法,更主要的是提出了复制“组织”、“器官”的新思想,它标志着“生物科技人体时代”的到来,是“再生医学的新时代”,是“一场意义深远的医学革命”。因此,组织工程学一经提出即受到各国科学家、政府、企业界的极大重视。

在中国,组织工程学研究虽然起步较晚,但在很多领域的研究已接近或达到国际研究水平,某些项目处于领先地位。为了尽快地将组织工程学的有关知识介绍给广大读者,特组织了我校一批实际从事组织工程学研究的研究人员,综合国内、外研究动态,结合自己的研究成果,编写了这本书,以求“抛砖引玉”。若能在中国的组织工程学研究起到“助一臂之力”的作用,则编写本书的目的已达到。由于组织工程学的问世只有 10 年左右时间,各位作者所从事的研究工作深度又不平衡,对组织工程学的理解可能存在差异,书中的观点、论点难免有不全面、不准确、甚至错误之处,恳请读者指出,以便再版时改正。

在这部书的编写过程中,得到中国工程院院士、上海第二医科大学整复外科张涤生教授的大力支持与热情鼓励,并对书稿进行了审阅,提出了十分中肯的意见。根据张教授的意见,又再次作了修改补充,在此表示衷心感谢。

本书得以出版,除了各位作者的辛勤劳动以外,得到华西医科大学附属第一医院有关领导的关怀和指导,得到《中国修复重建外科杂志》编辑部全体人员的大力支持和热忱参与,特致衷心感谢。

杨志明

1999 年 7 月于华西医科大学

作者及其撰写章节

(以姓氏笔画为序)

王 跃	第九章	软骨组织工程
方 跃	第十二章	韧带组织工程
王光林	第十五章	周围神经组织工程
朱建辛	第十八章	泌尿系统的组织工程
邹 力	第八章	骨组织工程中第三节
岑石强	第十章	肌组织工程
余希杰	第八章	骨组织工程中第四、五、六节
李彦林	第八章	骨组织工程中第一、二、七节
李 涛	第六章	组织工程化植入物的移植免疫
	第十四章	血管组织工程
宋跃明	第十六章	脊髓移植
沈 彬	第十七章	组织工程人工肝装置
杨志明	第一章	组织工程学的基本概念及发展概况
	第十一章	肌腱组织工程
项 舟	第三章	组织工程细胞中第一、二、三、四、五、六节
	第七章	生长因子与组织工程
秦廷武	第二章	组织工程的支架材料
	第三章	组织工程细胞中第七、八、九节
	第五章	细胞与支架材料的复合
龚 全	第二十一章	牙及牙周组织工程
解慧琪	第四章	组织工程的细胞外基质
樊征夫	第十三章	皮肤组织工程
魏人前	第十九章	小肠组织工程
	第二十章	胰腺组织工程

目 录

前 言

第一章 组织工程学的基本概念及发展概况	1
第一节 组织工程学的内涵	1
第二节 组织工程学的发展	2
一、软骨组织工程研究	2
二、骨组织工程研究	3
三、肌腱组织工程研究	4
四、肌组织工程研究	6
五、周围神经组织工程研究	7
六、皮肤组织工程研究	8
七、实质器官的组织工程研究	8
八、其他领域的组织工程研究	10
第三节 组织工程学研究展望	10
一、组织工程研究的科学问题	10
二、组织工程研究与经济发展的关系	11
第二章 组织工程的支架材料	14
第一节 组织工程支架材料的基本要求及检测	14
一、组织工程支架材料的基本要求	14
二、组织工程支架材料的测试	15
第二节 高分子材料	15
一、非生物降解型高分子材料	15
二、生物降解型高分子材料	16
第三节 陶瓷材料	18
一、陶瓷材料的分类	18
二、陶瓷材料在组织工程中的应用	18
第四节 生物衍生材料	19
一、天然生物衍生材料	19
二、提纯生物衍生材料	19
第五节 复合材料	20

一、不同种类的有机材料复合	20
二、有机材料与无机材料复合	20
三、支架材料与生物活性物质复合	21
四、支架材料与生物体高分子复合	21
五、支架材料与细胞复合	21
第六节 支架材料的增韧增强处理	21
一、影响支架材料机械性能的因素	22
二、材料的增韧增强处理	22
第七节 支架材料的细胞相容性及组织相容性检测	23
一、支架材料的细胞相容性及其检测	23
二、支架材料的组织相容性及其检测	24
 第三章 组织工程细胞	26
第一节 人体细胞的结构和功能	26
第二节 培养条件下细胞的形态与功能	28
一、培养细胞与体内细胞产生差异的原因	28
二、培养细胞与体内细胞存在的主要差异	29
三、体内外细胞增殖分化的差异与组织工程的关系	30
第三节 细胞的分离、培养、传代	30
一、细胞培养所需设备和器皿	30
二、培养基的选择	31
三、细胞的分离	31
四、细胞的培养	32
五、细胞的传代	32
六、培养中污染的防止	33
第四节 细胞的分裂增殖与生长调控	34
一、细胞周期	34
二、培养细胞的传代周期	34
三、培养细胞的生存期	35
四、细胞生长的调控	35
第五节 标准细胞系的建立	36
第六节 加快细胞增殖的方法	37
第七节 细胞的三维培养	37
一、细胞的三维培养简述	37
二、细胞三维培养的一般方法	38
三、细胞三维培养在组织工程中的应用	40
第八节 细胞的复合培养	40
一、细胞的复合培养简述	40
二、细胞复合培养的基本方法	40
三、细胞复合培养在组织工程中的应用	41

第九节 应力对细胞生长及功能的影响	42
一、应力和应变对离体细胞生长和功能的影响	42
二、应力和应变对在体细胞生长和功能的影响	43
三、应力-生长曲线	43
四、应力环境下细胞三维培养	44
第四章 组织工程的细胞外基质	46
第一节 正常细胞的细胞外基质	46
一、细胞外基质的成分及其功能	46
二、基质中粘附分子及其功能	48
三、基质金属蛋白酶及其抑制因子	49
四、细胞外基质的调节与细胞因子	50
第二节 细胞与细胞外基质相互作用及对组织工程的影响	52
一、细胞-细胞外基质相互作用	53
二、细胞外基质在细胞生长和分化中的机械化学转化	54
三、细胞外基质的重塑与组织构型	55
四、细胞外基质对组织工程的意义	55
第三节 组织工程的细胞外基质	56
一、天然细胞外基质和人工合成的细胞外基质	56
二、细胞外基质在组织工程中的应用	57
第五章 细胞与支架材料的复合	62
第一节 细胞与材料的粘附力及其影响因素	62
一、细胞与材料的粘附力及其测定方法	62
二、细胞与材料粘附作用的影响因素	63
第二节 支架材料复合细胞外基质对细胞分裂增殖的影响	65
一、支架材料的生物修饰	65
二、支架材料生物修饰对成骨细胞分化的影响	66
三、支架材料复合细胞外基质对成纤维细胞分裂增殖的影响	66
四、支架材料复合细胞外基质对组织细胞分裂增殖的影响	66
第三节 转化人胚胎肌腱细胞在可降解支架材料上的粘附特性	67
第六章 组织工程化植入物的移植免疫	72
第一节 概述	72
第二节 同种异体细胞移植的免疫学	74
一、感应阶段	74
二、增殖分化阶段	74
三、效应阶段	75
四、细胞移植免疫应答过程	75
第三节 异种细胞移植的免疫学	76

一、异种移植抗原	76
二、针对天然抗体和 α -Gal 达到克服超急性排斥的措施	82
第四节 细胞移植的免疫隔离	83
一、细胞包裹技术	83
二、包被细胞	84
三、免疫隔离的临床试验	85
四、免疫隔离的展望	87
第五节 非自体细胞移植免疫学研究方法	87
第七章 生长因子与组织工程	93
第一节 生长因子的分类	93
一、根据作用分类	93
二、根据产生生物学效应的范围大小分类	93
三、根据化学结构和氨基酸序列的相似性分类	94
四、根据能产生效应的细胞分类	94
第二节 生长因子的作用方式	94
一、生长因子的直接作用	94
二、生长因子的间接作用	95
三、生长因子的协同作用与拮抗作用	95
四、生长因子与细胞周期	95
第三节 研究生长因子调控生长的方法	96
一、体内实验观察生长因子作用的指标	96
二、体外培养实验观察生长因子作用的指标	97
三、生长因子对细胞作用的综合分析	98
第四节 生长因子与骨的修复	98
一、骨形成蛋白	98
二、转移生长因子 β	99
三、成纤维细胞生长因子	99
四、血小板源性生长因子	99
五、类胰岛素生长因子	100
六、表皮生长因子	100
七、其他生长因子	100
八、生长因子在骨愈合和改建过程中的作用	100
九、骨修复过程中生长因子应用及存在的问题	101
第八章 骨组织工程	105
第一节 人体骨骼的基本结构及功能	105
一、长骨的大体结构	105
二、骨的组织结构	105
三、骨细胞	107

四、骨基质	108
五、骨的血液供应	109
六、骨骼的功能	109
第二节 骨的生长与发育	109
一、骨的发生	110
二、骨的生长和改建	111
三、骨的修复	111
四、骨移植中移植骨的归宿和新骨的生成	111
五、影响骨生长发育的因素	112
第三节 骨骼的生物力学	113
一、生物力学的基本概念	114
二、骨的生物力学特性	116
三、骨的力学测试	122
第四节 骨组织工程的细胞	124
一、成骨细胞的组织来源	124
二、不同来源成骨细胞的培养方法	125
三、成骨细胞的生物学特性	125
第五节 骨形成的生长因子	130
一、与骨形成有关的其他生长因子	130
二、生长因子的作用机制	131
第六节 成骨细胞的细胞社会学特性	132
一、成骨细胞与细胞外基质的关系	132
二、成骨细胞与血管内皮细胞的关系	134
三、成骨细胞与破骨细胞的关系	134
四、成骨细胞与骨细胞的关系	136
第七节 组织工程化人工骨的临床应用	136
一、骨组织工程的研究现状	137
二、骨组织工程研究中有待解决的问题	140
三、组织工程化人工骨的临床应用前景	140
第九章 软骨组织工程	146
第一节 关节软骨的基本结构及功能	146
一、关节软骨的结构	146
二、关节软骨的细胞	147
三、胶原蛋白	147
四、蛋白多糖与组织液	148
第二节 关节软骨的生物力学	149
一、关节软骨的粘弹性	149
二、挤压时关节软骨的蠕变	149
三、挤压时关节软骨的应力松弛	149

四、关节软骨的渗透性	150
五、张力下的关节软骨行为	150
六、关节软骨的润滑	150
第三节 软骨组织工程的细胞	151
一、软骨细胞体外培养	151
二、软骨细胞的三维培养与微载体培养	152
三、负荷对体外软骨细胞的影响	156
四、软骨细胞的离心管培养	156
第四节 软骨细胞与支架材料的三维培养	158
一、软骨组织工程的发展	159
二、组织工程化软骨的细胞行为	160
三、软骨细胞与支架材料的优化组合	163
第五节 软骨组织工程的支架材料	163
第六节 软骨形成的生长因子	166
一、诱导软骨细胞分化的生长因子	166
二、促进软骨细胞增殖的生长因子	167
三、生长因子对软骨基质代谢的调节	168
第七节 组织工程化软骨的临床应用	169
第八节 用于成形支架的软骨组织工程	171
第十章 肌组织工程	179
第一节 肌组织的结构	179
一、骨骼肌的结构	179
二、平滑肌的结构	180
三、心肌的结构	180
第二节 肌组织发生、再生与生长	181
一、骨骼肌组织发生、再生与生长	181
二、平滑肌与心肌的发生与再生	183
第三节 肌组织工程的细胞	184
一、骨骼肌成肌细胞分离、鉴定	184
二、平滑肌细胞分离、鉴定	191
三、心肌细胞体外分离与鉴定	194
第四节 肌组织工程的临床应用与展望	195
一、实体组织有关的肌组织工程	195
二、管状组织的肌组织工程	199
第十一章 肌腱组织工程	201
第一节 肌腱的结构及营养	201
一、肌腱的结构	201
二、肌腱的营养与代谢	201

第二节 肌腱的生物力学	202
第三节 肌腱组织工程的支架材料	203
一、天然支架材料	203
二、人工合成的支架材料	204
三、复合支架材料	204
四、支架材料的表面修饰	205
第四节 肌腱组织工程的细胞	205
一、人胚胎肌腱细胞的分离培养及生物学特性	205
二、建立标准肌腱细胞系	206
第五节 肌腱细胞与生长因子	210
第六节 肌腱细胞与支架材料的三维培养	211
一、肌腱细胞与人工材料体外培养方法	211
二、肌腱细胞与人工材料联合培养的形态学表现	212
三、肌腱细胞与材料联合培养的细胞粘附能力	212
第七节 肌腱细胞与人工材料复合后的体内植入研究	213
一、体内植入方法	213
二、体内植入的形态学特征	213
三、体内植入的生物力学改变	217
第八节 肌腱组织工程的临床应用	218
 第十二章 韧带组织工程	221
第一节 韧带的结构、功能及生物力学	221
第二节 韧带组织工程的支架材料	222
一、碳纤维	222
二、人发	223
第三节 成纤维细胞与生长因子	224
第四节 组织工程化韧带的制作	224
第五节 组织工程化韧带的临床应用	225
 第十三章 皮肤组织工程	227
第一节 皮肤的组织结构	227
一、表皮	227
二、真皮	228
三、基底膜	229
四、皮下组织	229
第二节 皮肤组织工程的细胞	229
一、成纤维细胞的形态特点	229
二、成纤维细胞的主要功能	230
第三节 皮肤组织工程的支架材料	231
一、暂时性组织工程化创面覆盖物支架材料	231

二、永久性组织工程化创面覆盖物支架材料	232
第四节 细胞与材料的复合培养	233
第五节 组织工程化人工皮肤	235
第六节 皮肤组织工程的发展与展望	235
 第十四章 血管组织工程	239
第一节 血管的组织结构	239
一、动脉	239
二、静脉	240
第二节 组织工程化血管	241
一、血液与植入材料之间的反应	241
二、移植物的组成和构建	242
三、移植物的丧失和通畅率	243
四、生物杂交移植物	243
五、血管生成	247
 第十五章 周围神经组织工程	250
第一节 周围神经解剖结构特点	250
一、神经纤维	250
二、神经纤维的分类	251
三、结缔组织膜	251
第二节 周围神经损伤的再生机制	252
一、周围神经损伤后的病理生理改变	252
二、神经纤维的再生	252
三、神经元的保护与神经再生	253
第三节 周围神经缺损的修复材料	254
一、自体神经移植	254
二、同种异体神经移植	254
三、自体非神经材料	255
四、人工合成材料	255
第四节 雪旺细胞在神经再生中的作用	256
一、雪旺细胞对神经元的保护作用	256
二、神经损伤后雪旺细胞的变化	256
三、雪旺细胞的营养作用	257
四、雪旺细胞分泌的细胞外基质在神经再生中的作用	258
五、雪旺细胞分泌的细胞粘附分子在神经再生中的作用	259
第五节 周围神经组织工程的种子细胞与移植	259
一、雪旺细胞培养	259
二、雪旺细胞鉴定	260
三、雪旺细胞移植和周围神经再生	262