

研究生教材

人体组织工程学

RENTI ZUZHI GONGCHENGXUE

编著 胡 敏 李劭伟 赵 钢
艾瑞克·赛伯曼



人民军医出版社

PEOPLE'S MILITARY MEDICAL PRESS

人体组织工程学

RENTI ZUZHONGONGCHENGXUE

胡 敏 李劭伟 赵 钢 编 著
艾瑞克·赛伯曼



人民军医出版社
People's Military Medical Press

北 京

图书在版编目(CIP)数据

人体组织工程学/胡敏等编著. —北京:人民军医出版社,2006.3

ISBN 7-80194-771-1

I. 人… II. 胡… III. 人体组织学—生物工程:医学工程 IV. R318.1

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2005)第 055390 号

策划编辑:姚磊 文字编辑:于晓红 责任审读:余满松

出版人:齐学进

出版发行:人民军医出版社 经销:新华书店

通信地址:北京市复兴路 22 号甲 3 号 邮编:100842

电话:(010)66882586(发行部)、51927290(总编室)

传真:(010)68222916(发行部)、66882583(办公室)

网址:www.pmmp.com.cn

印刷:北京京海印刷厂 装订:京兰装订有限公司

开本:787mm×1092mm 1/16

印张:12.25 字数:290 千字

版、印次:2006 年 3 月第 1 版第 1 次印刷

印数:0001~3000

定价:35.00 元

版权所有 侵权必究

购买本社图书,凡有缺、倒、脱页者,本社负责调换

电话:(010)66882585、51927252

内 容 提 要

组织工程学是选用恰当的生物活性物质,在体外设计、构建活组织模块或完整活器官,用以替代和修复损伤的人体组织结构或缺失的组织器官,并恢复其功能。本书以“活”字为组织工程学之魂;以组织工程学中所用生物活性物质的“三要素”——活细胞(种子细胞)、生物活性材料(细胞支架材料)、生物活性因子为主线,探讨活组织及活器官的人工设计、体外构建和植入人体的基本原理和技术。本书内容系统、全面,可供医学及生物相关科学的本科生、研究生及专业人员阅读,也可供有志于开发中国的医药新领域,了解世界生物科技企业新动向的企业家、科技人员阅读参考。

责任编辑 姚 磊 于晓红

作者简介

胡 敏 女,医学博士。1984年毕业于第四军医大学,曾获国家科技进步二等奖和军队科技进步二等奖,荣获全国“新长征突击手”荣誉称号,获两项美国专利。现任美国斯坦福大学资深研究员,中国军事医学科学院客座教授。

李劭伟 1983年毕业于第四军医大学,1995年赴美国斯坦福大学任访问学者。现从事分子生物学技术产品和组织工程技术产品的研究与开发。

赵 钢 教授、主任医师。1983年毕业于第四军医大学,1990—1991年赴比利时根特大学医学院进修,1998—2002年赴加拿大皇后大学金斯顿总医院从事脑损伤与保护的合作研究。现任第四军医大学西京医院神经内科主任。

艾瑞克·赛伯曼 教授。毕业于美国斯坦福大学生物工程系,现任斯坦福大学组织工程学系教授。

序 一

“生物再生”在古代是神话。古时术士的求神炼丹与现代学者的人造组织似乎风马牛不相及。但在人类的潜意识中,两者都在共筑一个美梦——“长生不老”。

20 世纪后期,生命科学中一个全新且引人注目的前沿学科——组织工程学悄然问世,并迅速崛起,其发展速度之快令人惊叹。组织工程学以人体组织结构缺损的完全再生修复及相应功能不同程度的恢复为终极目标,以生命科学对生物再生过程及其规律的认识为基础,应用工程学的技术方法,在体外设计和构建具有生物活性的组织模块甚至完整器官,用以替代或修复因疾病或创伤所致的组织或器官的缺损,达到治疗的目的。

组织工程学的发展大致有两个方面:一个是“半生物”层面的,即本书中以主要篇幅所叙述的以种子细胞、细胞支架材料和各类生物活性因子为原料,构建组织模块,替代缺损的组织。另一个是全生物层面的,即本书中以展望的方式所叙述的应用基因工程技术或胚胎干细胞定向培养技术,在体外培育出全生物性的组织模块甚至完整的器官,用作替代治疗。两者各有特点,相辅相成,共同推进组织工程学的发展。

组织工程学技术,尤其是对胚胎干细胞的研究和器官克隆技术的应用,在国际社会还存在伦理或宗教上的争议。一方面,我们要尊重社会伦理和宗教信仰;另一方面,我们又要有有效地提高生命质量,这就需要社会学家与自然学家相互理解,密切配合,达成共识。

在本书的四位作者中,有三位是经我校培养后又出国深造、学有所成的高级人才。本书是我校学者与美国斯坦福大学学者共同合作,通过对组织工程学这一前沿领域进行大范围系统的文献收集,并结合自己已有的研究成果写成的一部专著。我有幸先读,收获甚多,愿推荐给相关人员,并乐于作序。

中国工程院院士 樊代明
第四军医大学副校长
2006 年 1 月

序二(译文)

组织工程学从一个寄托着人类征服组织和器官病损、重建健康的神话般期望,正在疾速地成为现代医学的临床现实。组织工程学不仅极大地影响着现代医学的发展,实践上正在克服病理组织和器官的再生、修复等医学难题,并且亦因此而影响着国民经济的发展,成为历史上最具影响力的科学技术之一。

组织工程学的新进展体现在应用其技术方法构建的具有生物活性的人造组织,及其对病损的组织或器官进行修复治疗上。组织工程学需要诸多学科、技术的发展与合作,如分子生物学、发育生物学、细胞生物学、胚胎生物学、干细胞生物学、化学、生物化学、免疫学、机械工程和材料科学等。由于组织工程学的领域宽广,因此,撰写一部包罗万象的专著,全面介绍组织工程学即成为挑战。到目前为止,大多数组织工程学著作是以论文汇编的方式或由多领域、多作者综合编撰而成。本书旨在完整、系统、全面地介绍组织工程学的历史和一般概念、新进展及相关技术和方法的发展。可以领略到作者们努力尝试使本书成为一部既有较宽的覆盖面、又有一定深度,既回顾历史、又介绍最新进展,化繁为简、深入浅出的专著。

组织工程学作为现代经济生产力的重要组分,已经逐渐体现在包括对制药、生物材料、医疗保健、医疗仪器制造等诸多产业的技术观念的更新和技术产品领域的拓展之中。相信她必将为人类的生命质量和生活质量的提高做出特殊贡献。

迈克尔·朗艾科
医学博士、教授
斯坦福大学医学院

FOREWORD

Tissue engineering (TE), long a matter of myth and dream throughout the history of medicine, is rapidly becoming a clinical reality. TE does not only modify the practice of medicine and helps elucidate mechanisms of developmental biology, but also has the potential to influence economic development in the industry of biotechnology perhaps more than any single advancement in science or medicine during the last several decades.

Novel advances in tissue engineering are redefining approaches to tissue repair and transplantation through the creation of bioengineered replacement tissues that remain bio-inter active after implantation, imparting physiologic functions as well as structure to the tissue or organ damaged by disease or trauma.

What is clear in 2005, is that generating replacement tissues requires a multidisciplinary approach that combines developmental cellular and molecular biology, stem cell biology, embryology, biochemistry, immunology, chemical, mechanical and material engineering, and medicine.

The vast breadth of the TE field (cellular biology, materials science, surgery, etc.) makes it a challenge to promote a systematic overview in a single field. Most tissue engineering books are compilations of chapters each written by an individual author discussing and often promoting their own research. In contrast, having a small number of authors attempting to write an entire TE book has its benefits for comprehensiveness, cohesivity and entirety.

This novel book introduces the history and concepts of tissue engineering to China. The purpose of this book is to explain the general idea, approaches, practical applications and methodology in a concise and easy-to-understand manner based on the broad review of current knowledge and achievements.

When writing this book, the authors were imagining a style similar to General Chemistry or Biochemistry books, where the one or two authors write the document in its entirety. They expected that the book, however, must have some depth so it is of value to the developing tissue engineer, but should also be comprehensive of the TE field.

The authors have worked hard to create an all-encompassing book that, on the one hand, strikes a balance among the diversity of subjects that are related to tissue engineering, including biology, chemistry, material engineering, immunology, and transplantation among others, while, on the other hand, emphasizing those research areas that are likely to be of

most value to medicine in the future.

TE will ultimately have a more profound impact than we can now imagine. The potential impact of this field is far broader. It offers novel solutions to the medical field for drug screening and development, genetic engineering, and total tissue and organ replacement. The authors hope that this book will contribute to this new scientific field of TE to benefit more people in learning and enjoying the new knowledge, tools and the potential products.



Michael T. Longaker, MD, MBA, FACS

Deane P. and Louise Mitchell Professor

Director, Children's Surgical Research

Deputy Director, Institute of Stem Cell Biology and Regenerative Medicine

Lucile Packard Children's Hospital

Stanford University School of Medicine

目 录

绪 论	(1)
-----------	-------

上 篇

第一章 组织损伤	(7)
第一节 机体对损伤的反应	(8)
一、细胞对损伤的反应	(8)
二、非细胞成分对损伤的反应	(9)
三、生物体对损伤的自然反应过程	(10)
第二节 损伤修复	(13)
一、新组织形成	(14)
二、创面收缩和细胞外介质重建	(17)
第三节 组织损伤修复的结局	(19)
第二章 种子细胞	(24)
第一节 细胞生长及其调节	(24)
一、细胞生长周期	(24)
二、细胞生长周期的调节	(25)
第二节 作为种子细胞的干细胞	(26)
第三章 细胞支架材料	(33)
第一节 细胞外介质	(33)
一、胶原	(34)
二、弹性蛋白	(38)
三、黏多糖	(38)
四、透明质酸	(39)
五、硫酸软骨素	(40)
六、硫酸肝素	(40)
七、蛋白多糖	(41)
第二节 细胞外介质对细胞的作用	(41)
一、细胞外介质对细胞生存外环境的影响	(42)
二、细胞外介质对细胞生命活动的影响	(43)



第三节 细胞外介质与细胞的相互作用途径	(45)
一、细胞膜表面受体	(46)
二、细胞-细胞外介质的信号传导通路	(47)
第四节 医用高分子材料	(48)
一、高分子材料介绍	(48)
二、高分子材料的应用	(49)
第四章 生物活性因子及其受体	(54)
一、血小板源性生长因子	(54)
二、转化生长因子	(55)
三、血管生成素	(56)
四、脂质体和前列腺素	(56)
五、肝素	(56)
六、肿瘤坏死因子	(56)
七、上皮生长因子	(57)
八、细胞因子	(58)

中 篇

第五章 人造生物器官	(65)
第一节 人造生物肝脏	(65)
一、肝辅助治疗的生物学组分	(66)
二、肝细胞的培养	(66)
三、部分转化(永生化)的肝细胞	(67)
四、全转化(恶性)的肝细胞	(67)
五、肝治疗辅助设备	(67)
第二节 人造生物胰腺	(72)
一、胰腺的移植概况	(72)
二、胰岛细胞微包裹技术	(73)
三、胶囊的发展	(73)
第三节 消化道	(74)
第四节 人造生物肾	(75)
第五节 人造生物乳房	(77)
一、组织工程构建乳房	(77)
二、乳房重建所用材料	(79)
第六节 人造生物子宫	(81)
第七节 人造生物角膜	(82)
第八节 人造生物甲状旁腺	(85)
第六章 人造生物组织	(96)
第一节 人造生物骨组织	(96)

一、诱导性信号——骨形成蛋白	(96)
二、骨生成相关的反应性干细胞	(99)
三、骨组织支架——生物材料	(99)
第二节 人造生物软骨组织	(100)
第三节 人造生物肌肉、肌腱、韧带和软组织	(102)
一、肌组织	(102)
二、韧带和肌腱	(103)
三、软组织	(104)
第四节 人造生物心脏瓣膜	(104)
第五节 人造生物血液	(105)
一、全氟化合物液	(106)
二、血红蛋白修饰	(106)
三、血红蛋白微包囊技术	(108)
四、修饰或改良血红蛋白的评价	(108)
五、造血干细胞	(109)
第七章 几种组织、器官损伤的组织工程学修复	(119)
第一节 皮肤损伤的组织工程学修复	(119)
一、皮肤的自体移植物和同种异体移植物	(120)
二、真皮替代品	(121)
三、真皮和表皮复合替代品	(122)
第二节 神经组织损伤的组织工程学修复	(123)
一、脑组织损伤修复	(123)
二、脊髓损伤修复	(125)
三、周围神经损伤修复	(128)
第三节 血管损伤的组织工程学修复	(131)

下 篇

第八章 种子细胞的获取和培养	(147)
第一节 角化上皮细胞的分离和培养	(147)
第二节 施万细胞的培养和神经再生引导管道的构建	(147)
一、原代施万细胞的培养	(148)
二、神经引导管道的构建	(148)
第三节 关节软骨细胞的培养和组织模块构建方法	(149)
一、关节软骨细胞的培养	(149)
二、组织模块构建方法	(150)
第四节 体外三维培养的肝细胞	(150)
第五节 干细胞的获取、培养和鉴定	(152)
一、骨髓造血干细胞的获取	(152)

二、组织干细胞的培养和鉴定	(152)
三、干细胞鉴别方法	(153)
第六节 小肠上皮细胞的提取、培养、组织工程学制备和移植	(155)
一、小肠上皮细胞的提取和培养	(155)
二、小肠上皮细胞-PGA 构建	(155)
三、移植方法	(155)
第七节 生物活性因子的获取方法和前景	(156)
一、激素类	(156)
二、细胞因子类	(156)
第九章 细胞生物支架材料的制备和构建	(159)
第一节 一般规则和策略	(159)
一、一般规则	(159)
二、组织工程学技术实施策略	(160)
三、细胞支架的构建种类和方法	(160)
第二节 天然可生物降解性支架材料的制备	(161)
一、天然高分子材料的提取	(161)
二、胶原支架材料的制备技术	(162)
第三节 人工可生物降解性支架材料的制备	(165)
一、人工可生物降解性高分子材料的种类和一般作用	(165)
二、生物高分子泡沫材料的制备技术	(165)
三、高分子合成水凝胶	(167)
第四节 细胞、支架材料、生物活性因子的组合应用	(168)
一、神经组织膜块的制备	(168)
二、骨修复组织模块的制备	(168)
三、牙齿修复与细胞种植	(169)
四、微包裹技术	(169)
五、其他相关技术	(170)
第十章 基因治疗	(172)
第一节 概述	(172)
第二节 基因治疗的应用	(173)
一、遗传性疾病	(173)
二、整形外科	(173)
三、肌损伤	(173)
四、骨关节炎	(173)
五、风湿性关节炎	(174)
六、韧带修复	(174)
七、软骨修复	(174)
八、骨折修复	(174)
九、脊椎损伤	(174)

第三节 关于基因治疗技术的应用策略.....	(175)
一、选用适宜载体	(175)
二、选取靶组织	(176)
第四节 基因治疗的免疫反应.....	(176)
一、抗病毒外壳作用	(176)
二、抗病毒载体蛋白	(177)
三、抗目的基因产物	(177)
四、抗选择性基因	(177)
五、抗标记基因	(177)
第五节 免疫问题的解决方法.....	(177)

绪 论

现代科学技术发展的重要特征是,各门科学与技术学科门类的理论、概念、技术方法广泛交叉融合,互相移植渗透,改组整合,形成全新的边缘学科、交叉学科和综合学科。这些学科在解决现实的科学、技术课题中,凸显了学科杂交的优势,产生了大量的学术成就和具有实际应用价值的、市场化的技术成果。组织工程学正是在这种科学技术发展的大背景下,在多学科综合发展的交汇点处产生的医学科学领域中一门新兴的应用性综合学科。

无论是建筑工程学,还是机械工程学,或是电子工程学,作为“工程学”的共同之处在于,加工具有特殊功效的基本组件或材料,并依照一定的自然法则,在精心设计、精巧构思的人为造物过程中,联结组合成为执行特定功能、达成特定目标的复合体。组织工程学结合了组织学、病理学、细胞生物学、免疫学、生物化学、分子生物学、基因工程技术等生命科学学科和物理学、化学、材料科学等生命科学以外的诸多学科的理论和技术,运用工程学的思想和技术方法于生物组织、器官的人工构建、预制。因此,可以这样定义组织工程学:综合运用生命科学和工程学的理论、技术和方法,在充分正确地认识生物组织结构的发生、发育和构成及其所履行功能的基础上;在充分正确地认识生物组织损伤和对损伤进行修复的病理和生理过程的基础上,研究和应用生物活性材料,设计和构建用于人体组织损伤修复的结构-功能替代物的一门应用医学学科。

根据上述组织工程学的学科定义,我们可以认为,组织工程学的实质是关于生物活体组织甚至器官的人工设计和制作的应用技术科学。组织工程学的学科对象是人体的组织损伤和修复。组织工程学所使用的主导材料包括:①种子细胞;②具有生物活性的、天然与非天然细胞支架材料;③能够促进细胞移行、增生、分化和有序排列的各种生物活性因子。我们称之为组织工程学的材料“三要素”。因此,组织工程学的主要技术方法是:①种子细胞的选择、提取、培养和纯化,以及基因工程修饰技术;②活性细胞支架材料的研发技术;③生物活性因子的基因工程制作和局部应用技术;④将以上三种成分在体外设计、构建成为三维有序结构,其理、化和生物学特性与相应组织兼容-整合的活组织模块,或称为活组织“集成块”——这是组织工程学本身所特有的技术方法;⑤将活组织模块移植至组织损伤部位,以修复损伤。这就是组织工程学的临床应用技术,我们称之为组织工程学的五大技术。组织工程学的目标是以最短的时间,使组织损伤得到最佳修复的结局——完全再生性愈合。

组织损伤是与人类并存的现象,组织的修复和重建是人类历史上一个古老的命题。在古代有文字的记载中,有许多零散的、有关人体的创伤处理方法,从中,我们可以寻找到许多类似于人工修复和替代损伤器官的尝试的记录或印迹。

有人说,最早的组织工程学概念甚至体现在圣经中:“上帝让亚当熟睡,然后,从亚当的身上取出一根肋骨,用他身体的肌肉修复了伤口,并用那根肋骨造成了他的女人。”

在中国古代医学记载中,早有“青枝接骨”的描述。在16世纪,意大利的坦葛理报道了使

用前臂的皮瓣再造鼻子的尝试。1908年,莱克使用同种异体新鲜断离的肢体进行关节重建,并且首次描述了组织工程学的概念。此后,自体、异体、异种,乃至人造或合成修补材料替代肢体、牙和其他组织的尝试,都先后有所发展,有的甚至取得了部分预期效果。

回溯历史,从广义的角度评价在外科临床使用的自体移植、同种异体移植、异种组织移植技术;或用非活性材料制作的假(义)肢、义齿,甚至人工肾、体外呼吸器、体外循环机等机械电子功能辅助仪器,虽然应当肯定,都属于修复或替代受损或缺失组织结构或功能的技术,并且有很大进展。但是,我们认为,这些成果仍然处于“前组织工程学阶段”。有人认为,真正意义上的组织工程学的诞生标志是在1987年,Bob Langer和他的同事Joseph Vacanti在实验室成功地培养了人体组织的基础上,提出了组织工程学的思想和概念。但在那时,他们两人居然找不到一家杂志社肯发表他们的研究成果,因为没有哪位编辑认为他们的研究结果有任何实际意义。15年后的今天,这两位科学家被尊为组织工程学的主要开拓者或奠基人,在这个前途无限的领域中备受推崇。

活组织,而不仅仅是活细胞培养的成功,意味着体外设计-构建和培养-预制的活组织模块的诞生,因此,也意味着组织工程学的诞生。此后,尤其是近几年来,组织工程学得到了长足的发展。

1988年,Skalak和Fox等出版了确立学科的第一部专著《组织工程学》,然后,Langer和Vacanti(1993)、Hellman(1998)等相继介绍、汇编了许多此方面的进展,标志着组织工程学作为一门科学学科的面世。近5年来,美国的一些著名学府,如哈佛大学、斯坦福大学等先后设立了组织工程学系;许多医院和研究所,甚至有些企业也纷纷设立专门研究机构,为组织工程学学科的加速发展提供了坚实的依托。相信组织工程学会在不远的将来取得突破性进展。Bob和Joseph所梦想的“有那么一天,人们不会再为身体的某一部分的病痛、衰老、损伤而忍受漫漫无期的煎熬,人们可以根据自己的需要预订和购置所需的具有完全功能的器官,替换那些已经失去功能,甚至带来痛苦的‘零件’”终将成为现实。

正因为如此,组织工程学既是一门蓬勃发展的应用科学,又是一个大有可为的新行业,蕴藏着极大的工业生产潜力和商业价值。可以预料,在本世纪,组织工程学将深入医学的各个领域,不仅会产生对现有医疗技术的突破,而且会对医药工业乃至国民经济产生深刻和广泛的影响。

笔者认为,在组织工程学广泛发展的今天,完整、系统地总结和介绍这一崭新学科领域的科学和技术成果的时机已经成熟,并且也是这一领域科学家们义不容辞的历史责任。经过广泛收集资料、跟踪前沿、认真筛选、深入研究和精心组织资料,并结合编著者的实验研究,终成此书。

全书以现代组织工程学的灵魂——“活”字为核心,以活细胞(种子细胞)、生物活性材料(细胞支架材料)、生物活性因子为主线,探讨活组织及活器官的人工设计、体外构建和移植入人体的基本原理和技术。书中首先介绍了现代组织工程学的历史轮廓、学科定义、性质、研究对象、研究目的、应用价值和可能的商业效益;系统介绍了与组织工程学密切相关的细胞生物学、生物活性因子、生物材料的知识,复习了活组织人工模拟物的组织工程学原理;分别介绍了人体各主要器官和组织的组织工程学设计和应用进展;并介绍了组织工程学的主要技术和方法,如细胞培养技术、生物支架材料选择和设计及塑形技术、生物细胞-支架复合体的构建技术,以及对相关技术的评价方法;最后介绍了基因工程(重组)和基因治疗技术在组织工程学中

的应用前景和克隆器官开发的可能性。

本书的读者可以是医学及生物相关科学的本科生、研究生、学者,也可以是有志于开发中国医药新领域、了解世界生物科技企业新动向的企业家、科技人员。众星捧月,月报以华。让我们在这个古老而又新兴;既有学术发展前景,又有巨大工业价值;既有利于科技发展,更有利于提高生命质量的领域,共同努力,创造出生命科学的新世纪。

组织工程学被确立为一门学科,还是近年发生的事。由于它是新兴的和发展着的学科,因此,也是一门全开放的学科。本书编著者真诚地期待那些有兴趣,更有志于组织工程学建设的学界和企业界同仁共创辉煌。

在本书出版之际,谨向为本书的出版付出辛勤劳动的 Nathalie Zhang 小姐、李西岳先生和王超英医师致以最诚挚的谢忱。