

全国高等医学院校新学科教材

供组织工程学、生物医学工程学、生物科学与生物技术专业类用

# 组织工程学教程

## **Course of Tissue Engineering**

主编/柏树令 顾晓松 张传森



人民军医出版社

PEOPLE'S MILITARY MEDICAL PRESS

1. **THESE**      2. **THESE**      3. **THESE**

## COURSE OF TISSUE ENGINEERING

1. *Journal of the American Medical Association*, 2000; 284: 2689-2695.



全国高等医学院校新学科教材

供组织工程学、生物医学工程学、生物科学与生物技术类专业用

# 组织工程学教程

ZUZHI GONGCHENGXUE JIAOCHENG

主 编 柏树令 顾晓松 张传森

副主编 佟晓杰 王占友 王 军

编 者 (以姓氏汉语拼音字母为序)

柏树令 邱 菁 范 军 顾晓松

刘元健 潘 锋 潘亚萍 田晓红

佟 浩 佟晓杰 王 军 王占友

温 昱 夏茂盛 姚登斌 俞 宁

张 磊 张传森 赵永康 朱 悦

秘 书 田晓红 佟 浩



人民军医出版社

PEOPLE'S MILITARY MEDICAL PRESS

北京

---

## 图书在版编目(CIP)数据

组织工程学教程/柏树令,顾晓松,张传森主编. —北京:人民军医出版社,2009.10

全国高等医学院校新学科教材. 供组织工程学、生物医学工程学、生物科学与生物技术类专业用

ISBN 978-7-5091-3061-2

I. 组… II. ①柏…②顾…③张… III. 人体组织学—医学院校—教材 IV. R329

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2009)第 180129 号

---

策划编辑:徐卓立 文字编辑:张丽君 责任审读:黄栩兵

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 100036 信箱 188 分箱

邮编:100036

质量反馈电话:(010)51927290;(010)51927283

邮购电话:(010)51927252

策划编辑电话:(010)51927300-8743

网址:[www. pmmp. com. cn](http://www.pmmp.com.cn)

---

印刷:北京天宇星印刷厂 装订:恒兴印装有限公司

开本:787mm×1092mm 1/16

印张:15 彩页 6 面 字数:370 千字

版、印次:2009 年 10 月第 1 版第 1 次印刷

印数:0001~3000

定价:46.00 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

# 内 容 提 要

编者分9章详细介绍了组织工程学的基础知识和相关技术,包括基本概念,组织工程学的种子细胞、生物支架材料、生长因子、种子细胞与支架材料的联合培养,组织工程化组织和器官的构建、应用组织工程学方法修复组织和器官损伤、基因治疗在组织工程中的应用以及组织工程医疗产品的立法及管理。本书配有高清晰精美图片,可供组织工程学、生物医学工程学、生物科学与生物技术类专业的本科生及其他生命科学与工程学相关专业的研究生使用。

# 前言

组织工程学是一门边缘学科,是目前国际前沿科学技术发展的一个新领域,是生命科学与工程学相结合的产物,主要研究如何制造人体器官的替代物、修复人体器官的缺损,使器官恢复正常的形态与功能,最终达到帮助患者恢复劳动能力,提高生活质量的目的。组织工程学是能够给人类带来新的希望和福祉、为患者带来健康和光明的科学。

我国组织工程学一直紧跟国际先进水平,发展十分迅速。由于研究力量雄厚,加上我国人口众多,病种复杂,一些方面已经占领了国际组织工程学的制高点,受到了国人的好评和国际同行的认可。今天,组织工程学在我国已经成为推动社会发展和大众健康的热点学科。

人才是科学发展的第一要素,掌握了先进科学技术的人是一种无价的资源。培养质量更高、数量更多、知识更新、具有“生命科学与工程学”复合知识的全面人才是组织工程发展的关键要素。

本书即在上述形势下酝酿,由中国医科大学、南通大学和第二军医大学的专家学者在多年组织工程学研究 and 教学经验的基础上凝练、萃取精华而成。书中许多图表、照片均为作者自己的原创性工作,为使图片效果更好,书末增加了3页彩色插图,重要名词后均有英文标注,新增了知识框,阐述科学技术的新进展、新发现、发展史及必要复习思考题等。希望该书的出版起到抛砖引玉、锦上添花的作用,为培养更多的专门人才、为我国组织工程学的发展做出贡献。由于组织工程学中许多知识尚在探索阶段,不足之处在所难免,恳请读者和相关专家不吝赐教,以便再版时更臻完善。

本教材除了供组织工程学、生物医学工程学、生物科学与生物技术类专业的本科生使用外,还可作为其他医学相关专业的研究生教材,以及学生提高边缘知识水平和科学研究能力的参考资料。

柏树令

2009年7月9日

# 目 录

|                        |      |
|------------------------|------|
| <b>第1章 概论</b>          | (1)  |
| 第一节 组织工程学定义与内涵         | (1)  |
| 一、组织工程学的发展现状           | (1)  |
| 二、组织工程学的研究策略和方法        | (2)  |
| 三、组织工程学研究的基本问题         | (3)  |
| 四、生物因子与组织工程学替代物        | (5)  |
| 第二节 组织工程学研究面临的问题和挑战    | (7)  |
| 一、医学伦理问题               | (7)  |
| 二、工程技术问题               | (7)  |
| 第三节 组织工程学常用术语          | (8)  |
| 一、细胞类术语                | (8)  |
| 二、因子类术语                | (11) |
| 三、支架材料类术语              | (12) |
| 四、其他类名词术语              | (12) |
| <b>第2章 组织工程的种子细胞</b>   | (18) |
| 第一节 种子细胞的基本要求与种类       | (18) |
| 一、种子细胞的基本要求            | (18) |
| 二、种子细胞的主要种类            | (18) |
| 第二节 干细胞                | (19) |
| 一、胚胎干细胞                | (20) |
| 二、骨髓间充质干细胞             | (23) |
| 三、神经干细胞                | (24) |
| 四、脂肪干细胞                | (27) |
| 五、其他干细胞                | (29) |
| 六、干细胞研究存在的问题           | (31) |
| 第三节 常用种子细胞的获取技术和培养技术   | (31) |
| 一、分化细胞的获取培养            | (31) |
| 二、未分化细胞的获取培养           | (37) |
| <b>第3章 组织工程的生物支架材料</b> | (40) |

|                          |      |
|--------------------------|------|
| 第一节 支架材料构建的基本原则和策略 ..... | (40) |
| 一、支架材料构建的基本原则 .....      | (40) |
| 二、支架材料应用的策略 .....        | (42) |
| 第二节 常用支架材料的种类和来源 .....   | (42) |
| 一、天然可降解的生物材料 .....       | (43) |
| 二、人工合成的可降解生物材料 .....     | (47) |
| 三、新型生物材料 .....           | (48) |
| 第三节 常用天然支架材料及其制备 .....   | (51) |
| 一、胶原的制备 .....            | (51) |
| 二、脱细胞真皮及其制备 .....        | (51) |
| 三、脱细胞周围神经组织及其制备 .....    | (52) |
| 四、脱细胞骨组织及其制备 .....       | (53) |
| 第4章 组织工程的生长因子 .....      | (57) |
| 第一节 组织工程中常用的生长因子 .....   | (57) |
| 一、概述 .....               | (57) |
| 二、转化生长因子- $\beta$ .....  | (58) |
| 三、骨形态发生蛋白 .....          | (61) |
| 四、碱性成纤维细胞生长因子 .....      | (67) |
| 五、表皮生长因子 .....           | (70) |
| 六、胰岛素样生长因子 .....         | (72) |
| 七、血管内皮细胞生长因子 .....       | (73) |
| 八、神经胶质生长因子 .....         | (74) |
| 九、软骨调节素-I .....          | (74) |
| 十、血小板衍化生长因子 .....        | (74) |
| 十一、角朊细胞生长因子 .....        | (75) |
| 第二节 生长因子的控制释放技术 .....    | (75) |
| 一、概述 .....               | (75) |
| 二、生长因子的控释材料 .....        | (77) |
| 三、生长因子的控制释放体系 .....      | (78) |
| 四、生长因子控制释放体系存在的问题 .....  | (84) |
| 第5章 种子细胞与支架材料的联合培养 ..... | (86) |
| 第一节 联合培养的方法与技术 .....     | (86) |
| 一、细胞接种前的准备 .....         | (86) |
| 二、细胞与支架的接种技术 .....       | (87) |
| 第二节 细胞示踪技术 .....         | (88) |
| 一、病理学示踪 .....            | (88) |
| 二、非病理学示踪 .....           | (90) |
| 第三节 生物反应器的原理与技术 .....    | (93) |
| 一、生物反应器的基本原理 .....       | (93) |
| 二、生物反应器的种类 .....         | (94) |

|                                       |              |
|---------------------------------------|--------------|
| 三、生物反应器的应用技术.....                     | (95)         |
| <b>第6章 组织工程化组织和器官的构建 .....</b>        | <b>(98)</b>  |
| <b>第一节 组织工程化肝、肾、心血管和周围神经的构建 .....</b> | <b>(98)</b>  |
| 一、组织工程化肝的构建.....                      | (98)         |
| 二、组织工作化肾的构建 .....                     | (100)        |
| 三、组织工程化血管和心脏瓣膜的构建 .....               | (101)        |
| 四、组织工程化周围神经的构建 .....                  | (108)        |
| <b>第二节 组织工程化骨、软骨、牙齿和皮肤的构建.....</b>    | <b>(111)</b> |
| 一、组织工程化骨与软骨的构建 .....                  | (111)        |
| 二、组织工程化牙齿的构建 .....                    | (114)        |
| 三、组织工程化椎间盘的构建 .....                   | (115)        |
| 四、组织工程化皮肤的构建 .....                    | (116)        |
| <b>第三节 其他组织工程化器官的构建.....</b>          | <b>(119)</b> |
| 一、组织工程化角膜构建 .....                     | (119)        |
| 二、组织工程化乳腺的构建 .....                    | (121)        |
| 三、组织工程化气管的构建 .....                    | (122)        |
| 四、组织工程化食管的构建 .....                    | (125)        |
| 五、组织工程化膀胱的构建 .....                    | (126)        |
| 六、组织工程化阴茎的构建 .....                    | (128)        |
| 七、组织工程化尿道的构建 .....                    | (128)        |
| <b>第7章 应用组织工程学方法修复组织和器官损伤.....</b>    | <b>(130)</b> |
| <b>第一节 皮肤损伤的修复和临床应用.....</b>          | <b>(130)</b> |
| 一、组织工程化皮肤的分类 .....                    | (130)        |
| 二、人工皮肤的应用 .....                       | (132)        |
| <b>第二节 骨和软骨损伤的修复和临床应用.....</b>        | <b>(133)</b> |
| 一、种子细胞的要求和种类 .....                    | (133)        |
| 二、支架材料的种类和选择 .....                    | (134)        |
| 三、组织工程骨和软骨在损伤中的临床应用 .....             | (136)        |
| 四、制约骨和软骨组织工程发展的关键 .....               | (136)        |
| <b>第三节 周围神经的损伤与修复.....</b>            | <b>(137)</b> |
| 一、种子细胞的种类和获取 .....                    | (137)        |
| 二、支架材料的种类和选择 .....                    | (144)        |
| 三、诱导和促进神经生长的因子 .....                  | (152)        |
| 四、细胞外基质的使用 .....                      | (154)        |
| 五、组织工程化神经及其材料有效性的评价方法 .....           | (155)        |
| 六、组织工程化神经相关产品研发 .....                 | (156)        |
| <b>第四节 心肌组织工程修复与临床应用.....</b>         | <b>(156)</b> |
| 一、心肌祖细胞的概念 .....                      | (157)        |
| 二、心肌细胞成形术 .....                       | (157)        |
| 三、心肌组织工程修复 .....                      | (159)        |

|                           |       |
|---------------------------|-------|
| 四、心脏瓣膜组织工程修复与临床应用 .....   | (165) |
| 五、窦房结组织工程修复 .....         | (169) |
| 第五节 血管损伤的修复 .....         | (170) |
| 一、血管修复的策略 .....           | (171) |
| 二、组织工程血管替代物 .....         | (171) |
| 第六节 肌腱损伤的修复与临床应用 .....    | (174) |
| 一、正常肌腱的组织学和生物力学 .....     | (175) |
| 二、种子细胞的种类和特点 .....        | (175) |
| 三、组织工程肌腱构建支架材料的研究 .....   | (179) |
| 四、生长因子对肌腱愈合的促进作用 .....    | (182) |
| 五、临床应用情况及存在问题 .....       | (182) |
| 第七节 口腔组织工程修复与临床应用 .....   | (182) |
| 一、颌面部骨组织工程化的应用 .....      | (183) |
| 二、牙体组织工程化的应用 .....        | (184) |
| 三、牙周组织工程化的应用 .....        | (185) |
| 四、口腔黏膜组织工程化的应用 .....      | (187) |
| 第8章 基因治疗在组织工程中的应用 .....   | (189) |
| 第一节 基因治疗概述 .....          | (189) |
| 一、基因治疗的概念 .....           | (189) |
| 二、基因治疗的策略 .....           | (189) |
| 三、基因治疗的基本程序 .....         | (190) |
| 第二节 基因强化组织工程 .....        | (192) |
| 一、基因强化组织工程的概念和基本原理 .....  | (192) |
| 二、基因强化组织工程的应用 .....       | (193) |
| 三、基因强化组织工程的优缺点及展望 .....   | (195) |
| 第9章 组织工程医疗产品的立法及管理 .....  | (197) |
| 第一节 组织工程医疗产品立法及管理现状 ..... | (198) |
| 一、各国对组织工程医疗产品的管理 .....    | (198) |
| 二、组织工程医疗产品研究及申报相关要求 ..... | (200) |
| 第二节 组织工程医疗产品的评估 .....     | (202) |
| 一、组织工程医疗产品形成的技术路线 .....   | (202) |
| 二、组织工程医疗产品的安全性研究 .....    | (203) |
| 第三节 组织工程医疗产品的前景展望 .....   | (207) |
| 一、当前亟待解决的关键技术问题 .....     | (207) |
| 二、组织工程研发与产业化 .....        | (210) |
| 三、组织工程学研究与经济的关系 .....     | (211) |
| 参考文献 .....                | (213) |
| 中英文索引 .....               | (219) |

# 第 1 章 概 论

## 第一节 组织工程学定义与内涵

组织工程学是应用生命科学和工程学的原理与方法,在正确认识哺乳动物正常和病理状态下组织结构与功能特点的基础上,研究、生产用于受损伤后的人体各种组织或器官修复和重建的生物替代物,从而达到恢复人体器官正常的功能和形态结构的一门新兴科学。

组织工程最简单的工作框架可以用下面的形式概括:

组织工程器官=种子细胞+组织支架+促细胞生长、调控和分化的生物因子(图 1-1)。



图 1-1 曹谊林教授首次在裸鼠体内成功再生人耳廓形态软骨,引起国际医学界高度重视,引发世人对组织工程再生人体器官的无限遐想

### 一、组织工程学的发展现状

远在 19 世纪就有人对易发生损伤的组织和器官,诸如牙齿、骨、软骨、角膜、皮肤等进行修复,但均未找到永恒的替代物。近年来,在细胞生物学、分子生物学、生物化学技术、细胞培养技术、免疫学技术、外科手术学技术、材料合成及基因工程技术等多学科的协同攻关中,已制备出具有生物活性、活的生物器官,并种植、移植于人体内,产生有效的生物效应,这为组织工程学的快速发展点燃了助推器,使组织工程学形成了较为独立的学科,也为未来该学科的发展带来希望。

目前,日益巨大的患者需求进一步促进了组织工程学科的发展。据统计,在美国等国家,需求组织器官的患者平均达 6.5 万人(Vacanti,2000),单在我国可能就有几百万之众,我国每年烧伤患者多达百万余人,加上交通伤亡人数的增多,需要修补的器官损伤会越来越多,器官供求之间的不平衡矛盾越发突出,致使一些人在等待器官移植的过程中就已经死亡了。同时组织工程在治疗人体因疾病、先天异常、器官功能障碍及缺陷中显示了强大的生命力,组织工程器官也对维护人体健康提供了巨大的社会与经济效益,因此,它极大地促进了现代医学科学水平的发展。

正因为组织工程学的迅速发展和巨大需求,它所面临的问题也是多方面的。除科学技术、法律伦理等方面的问题外,尽快培养更多的专业化人才以满足学科发展的需要也是当务之急。本教材定位于培养 5 年制组织工程学、生物科学与生物技术专业和生物医学工程学本科生这种特定对象,并为以后与组织工程学相关的本科或长学制学生的人才培养探索经验,达到创新型人才培养的目的。我们认为,无论是生物科学与生物技术专业学生,还是组织工程学本科与长学制学生,均可学习这门新兴学科。使用该教材时应严格遵循“三基”,即基础理论、基本知识和基本技能,及“五性”,即先进性、科学性、思想性、启发性和适用性的基本要求,并注意掌握本学科的特色。

## 二、组织工程学的研究策略和方法

组织工程学是生物学科、材料学科和医学学科的综合产物,其产品来自不同的水平。构建于基因水平的产品属于基因工程的研究范围,构建于细胞水平的产品属于细胞工程的研究范围,而构建于组织器官水平的产品则属于组织工程的研究范围。经过多年的积累,组织工程已形成了自己初步成熟的工作模式。

### (一)组织工程的研究策略

组织工程的目标是在实验室中构建出器官缺损患者所需要进行移植的器官。用组织工程产品治疗患者或受伤组织有 3 种基本策略:

1. 将患者或捐献人体上新分离或培养的细胞及细胞群体注入受伤组织或可降解支架中,形成组织复合物后再植入体内,进行器官重塑。
2. 首先将细胞与支架在体外联合培养产生活的器官,构建成人体需要的活器官,然后再植入动物或人体内,修复欠缺或代替缺损组织。
3. 组织的原位再生。直接将支架植入到损伤部位,依靠体内自身细胞的迁移进行重建局部组织,实现活体内器官或组织的自身修复。

### (二)常用的组织器官修复方法

在实现组织工程目标中,目前一些组织工程常用修复方法在临床越来越广泛的应用。它们归纳起来有 3 类:

1. 同种异体器官移植 包括心、肺、肝、肾、肠、胰腺、皮肤、骨、软骨、角膜、神经、血管等器官。关键是组织相容性问题,如何解决和遏制免疫排斥反应,使其永久性替代受损器官功能。缺点是供体来源不足。
2. 自体组织移植 通俗地讲就是“拆东墙补西墙”,自体皮肤移植用得最多。虽然移植物无排斥现象,但仍能导致组织移位后供区功能紊乱,如皮肤代替食管,30 年后有引起癌症的报道;排尿通道引入大肠,20~30 年后可发生大肠癌等。
3. 人工合成组织代用品 诸如人工晶体、人工关节、人造皮肤等器官,其优点是恢复功能

用活的人造组织对损伤组织进行形态、结构和功能重建;或用少量的细胞进行扩增,达到满足细胞需求量大或疾病缺损范围大的修复需求。而缺点是免疫排斥、异物反应、继发感染、组织萎缩、产生金属磨屑最终引起器官功能障碍、移植物性能不良、癌变与致畸。

### 三、组织工程学研究的基本问题

组织工程中需解决的科学问题基本有两类:一是人造器官的制备,包括将它们置入人体后对受者损伤部位形态和机能重建的作用,以及其在近期及中远期对人体功能的影响;二是是否涉及医学伦理学问题,当然用自体细胞组织进行移植是不会涉及医学伦理学问题。把器官以组织工程血管制备为例论述组织工程器官制备的过程。

#### (一)种子细胞的研究

1. 种子细胞来源及调控 种子细胞是生产组织缺损修复物质的工具,任何细胞的活动都在人体神经信息的统一调控下进行。神经系统接受外环境刺激信息,转化为神经信号,经感觉神经传入中枢再经整合后将指令信号由传出神经发送到效应细胞,效应细胞将接受的信号传到细胞核,触发或抑制基因的表达,生成基因产物,调节细胞周期使细胞产生分裂、迁移、分化、凋亡等一系列变化。信号包括:三维空间信号、四维时间信号、五维力学信号等。

#### 2. 种子细胞的类型

(1)自体细胞。包括自体组织干细胞和骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)。它们的优点是无抗原性、穿刺损伤小、没有伦理问题、个性化治疗、临床效果好;缺点是老年人的细胞老化问题。

(2)同种异体细胞。来源于胚胎、新生儿、成年个体组织、可通过基因改造、建立无瘤标准细胞系获得足够量种子细胞。其优点是抗原性低(胚胎),不足之处是存在涉及医学伦理问题。

(3)胚胎干细胞(embryonic stem cells, ES 细胞)。优点是高度分化细胞、具有发育的全能性与多向性的潜能,不足之处是寄养个体细胞核卵细胞对 ES 细胞遗传物质的影响、ES 细胞形成组织的微环境及条件、定向分化的条件及调控、ES 细胞形成组织后的功能状态及最终结局。

(4)异种细胞。猪是解剖学上较接近人类的大动物。近些年来人们一直在设想用转基因猪的器官为人的器官替代物。但用猪的细胞、组织或器官需克服超急排斥反应、急性慢性排斥反应及长期免疫抑制剂的应用所引起的一系列新的并发症。

#### (二)支架的研究

细胞培养是组织工程学中最常用的技术。细胞培养技术的发展,可能使最少量的细胞通过扩增产生最大量的细胞这一梦想成为现实。有人证明  $1\text{cm}^2$  大小的皮肤在较短时间内可扩增成一个足球场面积的细胞量。

1. 支架的重要性 细胞培养的过程就是种子细胞与支架的融合并获得生长的过程。

支架——细胞停泊——细胞生长——获得营养——形成保证新陈代谢的三维空间

生物因子介入,导致分子生物学或遗传性状改变

因此,组织工程里的细胞培养中支架的应用至关重要。其中支架是细胞停泊和生长的支撑和环境,获得好的支架材料是细胞培养能否成功的关键之一。

#### 2. 支架的要求

(1)生物相容性好、无致毒性,无致炎症反应和无致畸致癌的作用。

(2)体内降解速度与组织构建同步、产物无害、能完全被吸收或排出体外、不在体内残留;降解物质对宿主及再生组织无不良影响;新组织生成速度与原组织的更新及置入部位组织重塑时间同步,通过替代物与损伤周围组织形成交联;使移植材料的降解与新生组织再生的速度相匹配,老年患者降解速度可从宽考虑。

(3)有一定力学强度。结构上能与缺损部位的器官强度相匹配;阻碍周围组织长入;能方便地为接种细胞提供扩增数量与支架及可调控的细胞调节因子;支架材料的立体构筑可为其体内负重提供临时支撑;抵抗材料内接种的细胞在植入前的收缩力及细胞滤过时所产生的收缩力。

(4)可塑性好。人体用的理想的器官支架材料以能塑造成各种形状和大小,便于加工、适应临床要求;具有多孔性。置入体内后,良好适合细胞生长、诱导血管长入、具有通透性和便于代谢产物的排出及促进物质交换的微环境。

(5)材料的孔径和孔隙率适度,微孔分布与走向符合器官力学特点、生长规律并配布均衡。

(6)材料具有适宜及诱导组织再生能力。

(7)细胞与支架无严重的相互作用。组织工程器官的移植过程中,材料与生物体之间可能相互作用,产生一系列反应,因而支架材料的优劣最终要经过动物实验和临床试验加以验证。

材料与生物体的相互作用见图 1-2。

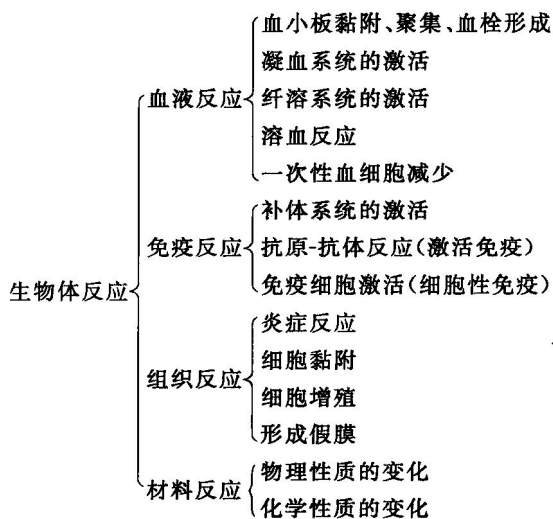


图 1-2 生物体对生物材料的反应

### 3. 目前常用的支架材料

(1)天然材料:胶原(I型、II型)、纤维胶原凝胶、硫酸软骨素(sulphate chondroitin)、脱钙骨、明胶、蚕丝素、人骨、大动物骨等。

(2)合成材料:聚羟基乙酸(polyglycolic, PGA)、聚乳酸(PLA)、聚乳酸/聚羟基乙酸(PLA/PGA)、透明质酸(hyaluronic acid, HA)、藻酸钙凝胶、聚氧乙烯小凝胶、聚氧乙烯/聚氧丙烯共聚物(Pluroni)、聚丙烯延胡索酸盐(PPE)、聚酐、聚磷酸酯(polyphosphate ester)、镁合金、镁锰锌合金等。

(3)陶瓷材料:生物陶瓷(硫酸、磷酸、碳酸)、碳酸盐磷灰石、羟基磷灰石(hydroxyapa

tite)、 $\beta$ -磷酸三钙石、磷酸钙陶瓷、硫酸钙陶瓷、活性玻璃、生物陶瓷固化磷酸钙(CPC)等。

### (三)相关实验的要求

1. 动物实验 要充分考虑组织相容性、形成新组织能力、促进损伤愈合过程、营养物质的来源及代谢物质排出,移植物与受体生长发育之间的关系、移植物在体内生物力学变化及免疫学反映、药物反应及最终结局等。

2. 临床实验 局部组织反应、全身反应、组织愈合与再生能力、组织的修复功能及移植后的远近期效果和结局等。

## 四、生物因子与组织工程学替代物

组织工程移植细胞在人体内的黏附、增殖、分化和生长过程中需要多种生物因子的调控和诱导。外源性生物因子半衰期较短、造价较昂贵,因而限制了大剂量和反复应用的要求。如果能将相关的生物因子基因和特定的表型调控基因整合到同一个细胞内,使其转化成内源性基因,启动相应的一系列基因的表达,所产生的蛋白质产物(生物因子)就能足以调控细胞自身增殖和分化。这将使植入的组织工程人造器官能自己生产调控自我繁殖、快速增生的催化剂和促进剂,其结果是事半功倍,达到器官重建,完全代替缺损部位的形态与功能的预想目标。

下面列出组织工程学中常用的一些生物因子、替代物及产品的相关资料(表 1-1,表 1-2,表 1-3)。

表 1-1 一些生物因子的来源及主要靶细胞与调控功能

| 生物因子                                                      | 来 源           | 主要靶细胞和效应                             |
|-----------------------------------------------------------|---------------|--------------------------------------|
| EGF                                                       | 血小板           | 角质细胞促动素(motogen)和促分裂素                |
| TGF- $\alpha$                                             | 巨噬细胞;角质细胞     | 角质细胞促动素和促分裂素                         |
| HB-EGF                                                    | 巨噬细胞          | 角质细胞和成纤维细胞促分裂素                       |
| FGF7(KGF)                                                 | 真皮的成纤维细胞      | 角质细胞促动素和促分裂素                         |
| FGF <sub>s1</sub> , FGF <sub>s2</sub> 和 FGF <sub>s4</sub> | 巨噬细胞和受伤的内皮细胞  | 生血管和成纤维细胞促分裂素                        |
| PDGF                                                      | 血小板;巨噬细胞;角质细胞 | 巨嗜细胞和成纤维细胞的趋化性;巨嗜细胞激活;成纤维细胞促分裂素和基质生成 |
| IGF-1                                                     | 血浆;血小板        | 内皮细胞和成纤维细胞促分裂素                       |
| VEGF                                                      | 角质细胞;巨噬细胞     | 血管生成                                 |
| TGF- $\beta_1$ 和 TGF- $\beta_2$                           | 血小板;巨噬细胞      | 角质细胞迁移;巨嗜细胞和成纤维细胞的趋化性;成纤维细胞基质合成和重建   |
| TGF- $\beta_3$                                            | 巨噬细胞          | 防瘢痕形成                                |
| CTGF                                                      | 成纤维细胞;内皮      | 成纤维细胞;下调 TGF- $\beta_1$              |
| IL-1 $\alpha$ 和 IL- $\beta$                               | 嗜中性细胞         | 生长因子早期在巨嗜细胞/角质细胞和成纤维细胞中表达的激活因子       |
| TNF- $\alpha$                                             | 嗜中性细胞         | 类似于 IL-1。                            |

表 1-2 组织工程替代物的形式、特点和适用对象

| 替代物形式                           | 特 点                   | 适 用                       |
|---------------------------------|-----------------------|---------------------------|
| A. 细胞加支架,构成的模拟组织固有形式            | 最为常用,便于制作,形状可变        | 适用软组织肌肉,内脏                |
| B. 细胞加半流体性胶                     | 半流体,无固定形态             | 适用乳房修复                    |
| C. 包被性球囊                        | 有通透性膜,内包有细胞           | 内脏和神经组织功能不良,糖尿病           |
| D. 中空纤维/丙烯酸, 50kDa 细胞(如肾上腺嗜铬细胞) | 外被无管状膜,内包有细胞          | 慢性疼痛,肌性侧索硬化(ALS)等         |
| E. 仿真性组织器官                      | 有细胞和自然成分组成的与组织器官相似的结构 | 皮肤,如 Apligraf 真皮,仿真骨,仿真血管 |

表 1-3 组织工程产品的名称、细胞类型与支架材料成分(结合体内和体外试验)(参考 Doyle,2000)

| 组织/器官 | 细胞类型               | 基质/生物材料                       | 参考作者                                        |
|-------|--------------------|-------------------------------|---------------------------------------------|
| 膀胱    | 犬输尿管和平滑肌细胞         | 膀胱形聚合物                        | Oberpinning 等,1999                          |
| 尿道    | 人尿道上皮和平滑肌          | 聚乙醇酸                          | Review;Atala,1998                           |
| 心血管   | 大鼠心肌细胞             | Cardiogel(成纤维细胞来源)            | Bick 等,1998                                 |
|       | 人成纤维细胞             | 可吸收性聚乙醇酸网                     | Hoerstrup 等,1998                            |
|       | 猪/牛血管内皮细胞          | 胶样质                           | Nugent 等,1999                               |
|       | 牛平滑肌和内皮细胞          | 模仿生物聚乙醇酸网                     | Niklason 等,1999                             |
|       | 人平滑肌细胞             | 没有,维 C 刺激形成膜                  |                                             |
| 小肠    |                    | 生物可降解性管聚乙醇酸和聚乳酸支架             | Choi 等,1999<br>Kaihara 等,1999<br>Kim 等,1999 |
| 骨/软骨  | 牛骨膜细胞              | 生物可吸收性聚合纤维                    | Puelacher 等,1996                            |
|       | 兔软骨                | 胶原胶                           | Wakitani 等,1998                             |
|       | 人关节软骨              | 聚乙醇酸                          | Rodriguez 等,1999                            |
|       | 猪软骨                | 纤黏蛋白和血小板“胶”                   | Silverman,1999                              |
| 肾     | 猪近曲小管细胞            | 血滤过软骨和聚矾纤维                    | Humes 等,1999<br>Colton,1999                 |
|       | 人/猪                | 微载体/包被/生物降解性聚合支架              | Davis 和 Vacanti,1996, Amiel 等,1999          |
| 肝     | 大鼠肝细胞              | 聚 L 乳酸                        | Cusick,1997                                 |
|       | 猪肝                 | 人工肝支持系统纤维包被中空纤维               | Dixit 和 Rutkowski,1998                      |
| 肌肉    | 大鼠平滑肌细胞            | 聚乙醇酸纤维                        | Kim 等,1998                                  |
| 神经    | 大鼠和人施万细胞           | 聚丙烯腈中胶质<br>聚氯乙烯管<br>聚乙醇酸物质    | Heath 和 Rutkowski, 1998                     |
| 角膜    | 人上皮细胞              | 胶原和成纤维细胞                      | Germain 等,1999                              |
| 胰     | 小鼠 B 细胞系加上人胰岛素启动因子 | 伪包囊入 3 层颗粒中;琼脂糖/聚苯乙烯磺酸/羧甲基纤维素 | Kawakami 等,1997                             |
|       | 犬胰岛                | 显微包囊入琼脂糖中空纤维/水凝胶/显微包囊         | Tashiro 等,1997                              |
|       | 猪胰岛<br>大鼠胰岛        |                               | Delaunary 等,1998<br>Zekorn 等,1999           |

## 第二节 组织工程学研究面临的问题和挑战

组织工程细胞、组织与器官产品的问世是科技进步的产物,是社会发展的必然。据统计,在美国器官损害与组织损伤每年花费的资金达4 000亿美元,占其医疗费用的一半。其中,牙手术及牙科填充物和原有填充物的更新需求量占第一位,其他如半月板损伤、尿道损伤等需求量也很大,尤其是对器官的需求更加紧迫、数量巨大。医院里等待器官移植的人数远多于供体数,致使许多人在等待器官移植过程中就已故去。尽管组织工程学家已经作出了巨大努力,仍有许多问题尚未解决。合理应用现有科学技术,生产出有用的组织工程产品,进行市场化运作并取得经济和社会效益,满足人们日益增长的对组织工程细胞、组织和器官的需求是时代的呼唤。

### 一、医学伦理问题

应用克隆细胞、克隆组织乃至克隆器官治疗人体疾病似乎与现在的器官捐献一样是慈善之举,对社会有益,但如何在医学伦理学上就该点取得大众的共识,并以法律、法规的形式予以确立和保证则仍有相当长的路要走。

### 二、工程技术问题

组织工程产品在体内、外构建时所涉及的生物学和理化学的知识远远大于单一工程学所拥有的知识。因此研究这种高科技产品,还有大量的困难和问题摆在专家的面前。主要问题如下:

1. 免疫排斥反应 这一巨大挑战以及应用组织工程产品后导致病人手术失败等风险性问题,都是一些前所未有的问题。
2. 即时反应与长时效应 组织工程产品在人体内植入的即时反应与长时效应,尤其是否具有“三致”,即致畸、致毒、致炎等不良作用必须确定,这些均须经过足够长的时间考验与观察,还需要有相应的法规、制度去保证正常医疗工作的运作。
3. 三大工程要求有机结合 细胞外基质支架、种子细胞及生物调节因子这三大组织工程要素必须有机结合。经联合培养产生生活的器官,在植人体内后,可能因组织自发愈合过程有某种缺陷与不足而产生生长障碍,导致移植器官失败。在预测其后果形成的方法完善之前,组织工程移植术的大规模社会化生产与商品化运作推广也有一定的困难。
4. 支架材料 供种子细胞分化、发育和生活的空间为支架材料,包括天然生物材料和人工合成材料。如何使人工合成材料能为人体所接受,其降解速度与细胞产物的补充完全同步;其降解产物能迅速为人体所清除,又能大规模生产,也是一项需要时间解决的问题。

虽然组织工程学研究面临许多棘手的问题,但这些问题都是发展过程中遇到的问题,是伴随新生事物生长过程中的不可避免的提出的。科学的创新与发展,通过不断的提出问题和解决问题,随着时间的推移和科技攻关的不断深入与拓展,困难能一个一个的克服,工作会一步一步地完善,组织工程新产品将一个成熟的成熟,组织工程学作为新兴的边缘学科,发展的前景是无限光明的。作为人类征服自然的标志,与益寿延年休戚相关的以人造器官代替人体器官的梦想一定会实现。