



组织工程

相关生物材料

姚康德 尹玉姬 编著



化学工业出版社

现代生物技术与医药科技出版中心

组织工程相关生物材料

姚康德 尹玉姬 编著

化学工业出版社

现代生物技术与医药科技出版中心

·北京·

(京) 新登字 039 号

图书在版编目 (CIP) 数据

组织工程相关生物材料/姚康德,尹玉姬编著. 北
京: 化学工业出版社, 2003.8
ISBN 7 5025-4107-1

I. 组… II. ①姚…②尹… III. 生物材料 应用-细
胞培养: 组织培养 IV. Q343

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2003) 第 059366 号

组织工程相关生物材料

姚康德 尹玉姬 编著

责任编辑: 侯奎荣 叶 露

责任校对: 李 林

封面设计: 潘 峰

*

化 学 工 业 出 版 社 出版发行
现代生物技术与医药科技出版中心

(北京市朝阳区惠新里 3 号 邮政编码 100029)

发行电话: (010) 64982530

<http://www.cip.com.cn>

*

新华书店北京发行所经销

北京云浩印刷有限责任公司印刷

三河市宇新装订厂装订

开本 850 毫米×1168 毫米 1/32 印张 12½ 字数 334 千字

2003 年 9 月第 1 版 2003 年 9 月北京第 1 次印刷

ISBN 7-5025-4107-1/Q·38

定 价: 30.00 元

版权所有 违者必究

该书如有缺页、倒页、脱页者, 本社发行部负责退换

前 言

生物体是非常复杂的开放体系，其内部和环境之间进行着复杂的物质、能量和信息的传输和交换。随着生物的形成与进化，生物体成为奥秘的各个个体。生物体是由不同层次的各个组元极其复杂和系列化地相互作用发展而成。从材料科学的角度看，可以将蛋白质、糖类和脱氧核糖核酸（DNA）视作自组装构成生物体的基石，而将组织视作细胞复合材料，它由细胞及其合成、分泌的细胞外基质组成。细胞是生物体的基本单元。细胞由细胞膜界定，其内部有许多区室，呈现出空间不均一性。细胞的各种小胞保持其内部特异的环境，并高效地发生各种反应，综合维持生命活动。细胞膜及细胞内的各种结构不断地发生着动态变化。细胞膜表面是含有许多脂质、蛋白质和糖单元的高度复杂的非均相结构。细胞膜的“传感单元”和特异区域结构反映了细胞的功能及细胞-细胞相互作用、细胞信号和细胞-表面相互作用。构筑细胞膜的组分分离成为各个结构域，它们能响应外部和内部刺激，处于动态变化中，而这种分离由许多因素（如脂质组分、细胞骨架或细胞外基质及扩散）的物理或结构垒调控。尽管此类结构垒常限制与信号和识别相关的受体的无规运动，从而将它们限制在特定的环境，但蛋白质和糖类物质常再定位、征集于细胞表面的指定区域，以增强细胞的功能。实际上细胞是复杂的、多层次的材料，因此细胞能发挥多种功能，包括自迁移、黏附和停滞、进化与分化、复制和分裂、营养物的传输、功能物质的分泌等。细胞外基质是基质蛋白（如胶原、纤连蛋白、层黏连蛋白、玻连蛋白和透明质酸、肝素、硫酸肝素、硫酸软骨素、硫酸皮肤素和硫酸角质素等）糖胺聚糖构成的化学与物理交联网络。

人们曾一直幻想有一天可分别用种子细胞和/或生物降解材料在体内构建新组织，即进行结构组织、代谢组织和细胞系统的重建。这一幻想现在已不再是科幻小说，而是已成为组织工程发展的可以预见的前景。

临床采用的组织工程修复常用三个途径：(1) 自体移植，它是以牺牲人体部分正常组织为代价修复病理或缺损组织；(2) 异体移植，但是存在组织兼容性问题，且供体严重不足；(3) 人工器官，目前还存在异体反应和感染等问题。因此 20 世纪 80 年代美国科学家提出了组织工程的新途径，它是利用生命科学和工程科学的原理和方法，研究和构建修复或改善人体组织功能的新一代临床应用结构物。组织工程的发展，提高了组织缺损和功能衰竭的治疗水平，改善了患者的生活质量，有效地降低了医疗费用。组织工程的研究与开发受到了先进国家和大公司的关注，加大了投入。预计 2020 年美国组织工程产品市场可达到 180 亿美元。

组织工程的发展与生物材料密切相关。这里的生物材料又称生物医用材料，它是对生物体进行诊断、治疗和置换损坏的组织器官或增进其功能的材料。其发展初期不是针对医用材料而设计，未考虑材料与人体之间相互作用产生的各种复杂的生物、物理和化学反应，即存在生物相容性问题。植入人体的生物材料、器械必须对人体无毒性、无致敏性、无遗传毒性和无致癌性，对人体组织、血液和免疫等系统不产生不良反应。为此研究与开发了生物相容性材料，随着组织工程的发展，对生物材料提出了新的挑战，生物材料不仅要具有生物安全性和生物相容性，更希望植入体内能诱发所期望的反应，使目标细胞黏附、增殖、分化，且防止肿瘤化倾向。这就意味着细胞或/和基因活化的第三代生物材料的发展。

如何从材料科学与生命科学交叉与融合角度考虑组织工程相关生物材料便成为我们编写本书的初衷。这也是我们结合国家重点基础研究发展规划项目“组织工程的基本科学问题”(G19990543) 05 课题“生物材料的表面修饰及材料与细胞间亲和性改进的研究”

及国家自然科学基金相关项目开展研究中对生物材料的认知，试图围绕生物材料仿生化、智能化展开。参加本书编写的还有刘文广副教授和毛津淑博士。

学海无涯，编者才疏学浅，编写内容难免有谬误之处，望读者斧正。

编者

2003 年 4 月于天津

内 容 提 要

组织工程是工程科学(材料科学、生物力学、生物技术与工程)与生命科学的交叉与融合的新学科,其发展孕育着组织工程高新技术产业。组织工程利用工程科学原理与方法,制备用于修复重建以及置换组织和器官的缺损及增进其功能的结构物,它的发展有赖于生物材料的仿生化和智能化。组织工程要求相关的生物材料具有组织相容性、生物降解性、力学性能和与目标组织相匹配等性能,它经历了沿用商品化工业材料、生物医用材料、组织工程相关生物材料三个发展阶段。

本书是组织工程相关生物材料的系统专著,以学科交叉与融合的宽视角全面、系统地介绍组织工程相关生物材料及其相关技术。组织工程将组织视同细胞与其分泌的细胞外基质构成的复合材料,组织工程材料的性能取决于细胞与生物材料的相互作用。本书从组织-细胞复合材料、结构类组织工程相关生物材料、代谢类组织工程相关生物材料、细胞类组织工程相关生物材料、组织工程相关生物活性物质控制释放技术、生物材料的表面工程、支架设计与制备技术等方面阐述相关生物材料的科学与工程问题,提供历史沿革、发展现状及展望信息,希望能对组织工程学科的发展和相关产品的研究与开发有所裨益。

本书可供生物材料合成、医疗修复等相关专业高等院校师生,医疗机构、科研单位以及企业的研究、开发人员参考。

目 录

第 1 章 绪 论	1
1.1 组织工程与生物材料	1
1.1.1 生物材料	1
1.1.2 组织工程	2
1.2 组织工程对生物材料的挑战	3
1.2.1 第三代生物材料	3
1.2.2 细胞和基因激活材料	4
1.2.3 生物材料仿生化	5
1.2.4 生长因子及相关基因材料的控制释放	6
1.2.5 力学适应性	8
1.2.6 支架构造	9
1.3 组织工程产业	10
1.3.1 生长因子	11
1.3.2 植入组织或器官	12
1.3.3 原组织复原	13
1.4 组织工程相关的法规和标准	16
参考文献	17
第 2 章 组织-细胞复合材料	19
2.1 生命体系结构	19
2.1.1 细胞	19
2.1.2 生命结构自组装原理	22
2.2 种子细胞	24
2.2.1 胚胎干细胞	25
2.2.2 骨髓间充质干细胞	27
2.2.3 分化细胞	29
2.3 细胞外基质	30
2.3.1 细胞外基质的主要成分	30

2.3.2 细胞外基质的作用	34
2.4 细胞-细胞外基质多重相互作用	36
2.4.1 整合蛋白	36
2.4.2 细胞和其细胞外基质的多重相互作用	39
2.5 人工细胞外基质	41
2.5.1 创伤愈合的细胞级联	41
2.5.2 工程化组织用生物相容性人工细胞外基质	45
参考文献	47
第3章 结构类组织工程相关生物材料	49
3.1 生物降解高分子材料	49
3.1.1 组织工程用水凝胶	49
3.1.2 合成生物降解材料	69
3.2 生物活性玻璃和生物陶瓷	83
3.2.1 生物活性玻璃	83
3.2.2 生物陶瓷	85
3.3 生物复合材料	91
3.3.1 磷灰石-胶原复合材料	92
3.3.2 羟基磷灰石-胶原-透明质酸复合材料	93
3.3.3 磷灰石-壳聚糖复合材料	95
3.3.4 多孔羟基磷灰石/壳聚糖-明胶复合材料	95
3.3.5 羟基磷灰石-聚 α -羟基酸复合材料	96
3.3.6 羟基磷灰石多孔体复合材料	98
3.3.7 β -磷酸三钙-壳聚糖-明胶复合材料	99
3.3.8 β -磷酸三钙-聚反丁烯二酸丙二醇酯复合材料	99
3.3.9 β -磷酸三钙-聚乳酸共聚物复合材料	100
3.4 细胞/支架结构物的生物反应器培养	100
3.4.1 体外细胞培养	101
3.4.2 生物反应器	102
3.4.3 微载体	109
3.4.4 力学环境与组织培育	113
3.5 软组织工程	116
3.5.1 人工皮肤	117
3.5.2 软骨再生	120

3.5.3	组织工程化韧带	125
3.5.4	人工血管	128
3.5.5	人工角膜	129
3.5.6	周围神经再生用导管	131
3.6	硬组织工程	133
3.6.1	骨组织	133
3.6.2	骨修复材料	134
3.6.3	骨组织工程支架	135
	参考文献	139
第4章	代谢类组织工程相关生物材料	148
4.1	免疫隔离与微包囊	148
4.1.1	免疫隔离	148
4.1.2	微包囊和包囊	149
4.1.3	免疫隔离膜材	151
4.2	生物反应器	152
4.2.1	微制造阵列生物反应器	153
4.2.2	多重同心空心纤维生物反应器	155
4.3	人工肝及其辅助装置	157
4.3.1	生物人工肝	157
4.3.2	BAL 生物反应器	159
4.3.3	生物材料	160
4.3.4	肝细胞生存率和功能性	161
4.4	人工肾	161
4.4.1	血液透析	162
4.4.2	血液滤过	163
4.4.3	血浆置换	163
4.5	人工胰脏	165
4.5.1	生物人工胰脏	165
4.5.2	空心纤维生物人工胰的传质模型	166
4.6	人工心脏	167
	参考文献	168
第5章	细胞类组织工程相关生物材料	170
5.1	细胞治疗	170

5.1.1	药物释放体系	170
5.1.2	免疫治疗	172
5.1.3	工程化组织	174
5.2	干细胞生物工程	174
5.2.1	胚胎和成人干细胞群	176
5.2.2	干细胞的可塑性或胚胎潜伏状态	182
5.2.3	干细胞自我更新和谐系定型	183
5.2.4	干细胞培养系统	187
5.3	组织工程中的干细胞	194
5.3.1	工程化皮肤和其他表面组织	195
5.3.2	工程化骨	197
5.3.3	工程化软骨	199
	参考文献	203
第6章	组织工程相关生物活性物质控制释放技术	205
6.1	生长因子	205
6.1.1	成纤维细胞生长因子	206
6.1.2	肝细胞生长因子	206
6.1.3	转化生长因子 β 超家族	208
6.1.4	表皮生长因子	209
6.1.5	神经生长因子	210
6.1.6	血管形成控制因子	211
6.2	生长因子控制释放与组织重建	213
6.2.1	生长因子控释载体	213
6.2.2	软骨修复	218
6.2.3	骨再生因子释放	220
6.2.4	血管生成	226
6.3	基因传染细胞与生长因子表达	231
6.3.1	基因治疗	231
6.3.2	受体介导胞吞运输	233
6.3.3	基因释放载体	234
6.3.4	基因治疗与组织工程	248
	参考文献	252
第7章	生物材料的表面工程	254
7.1	细胞黏附与仿生表面工程	254

7.1.1	细胞的黏附	255
7.1.2	仿生表面工程	267
7.2	生物大分子的表面固定化	270
7.2.1	生物大分子固定化方法	271
7.2.2	引发特异性生物反应的表面	275
7.2.3	抗非特异性吸附的表面	278
7.2.4	分子自组装表面	279
7.3	生物材料表面拓扑结构化	285
7.3.1	早期研究	285
7.3.2	光刻蚀表面拓扑结构	286
7.3.3	生物材料表面图案化	288
	参考文献	295
第8章	支架设计与制备技术	301
8.1	天然高分子材料支架	301
8.1.1	蛋白质支架	301
8.1.2	多糖支架	308
8.1.3	蛋白质-多糖支架	311
8.2	合成降解聚合物支架制备技术	316
8.2.1	溶剂流延/盐沥滤	318
8.2.2	致孔剂致孔	318
8.2.3	热诱发相分离	323
8.2.4	乳液冷冻干燥	324
8.2.5	微球基质	325
8.2.6	超临界流体技术	327
8.2.7	静电纺丝纳米纤维支架	327
8.2.8	管状支架	328
8.3	生物陶瓷及生物复合材料支架	330
8.3.1	多孔磷酸钙陶瓷支架	332
8.3.2	多孔聚磷酸钙支架	332
8.3.3	双相陶瓷	334
8.3.4	羟基磷灰石/聚(α -羟基酸)支架	335
8.4	快速成型	336
8.4.1	激光烧结	336

8.4.2	三维打印	337
8.4.3	熔融沉积模塑	338
8.4.4	间接固态自由成型	339
8.4.5	水凝胶支架快速成型	342
	参考文献	345
第9章	组织工程相关生物材料展望——面临的挑战与机遇	348
9.1	人工细胞外基质	348
9.2	工程化组织表型调控	350
9.2.1	三维黏附	350
9.2.2	细胞能动性 (motility)	353
9.2.3	生长因子相关信号	354
9.2.4	力学刺激	360
9.3	新一代组织工程材料	364
9.3.1	生物材料表面三维化	364
9.3.2	细胞黏附介导生物材料	367
9.4	人工细胞外基质智能化	370
9.4.1	温度敏感性二维细胞片层转载系统	370
9.4.2	温度敏感性可注射水凝胶	376
9.4.3	释放载体智能化	377
	参考文献	382

第 1 章 绪 论

1.1 组织工程与生物材料

1.1.1 生物材料

生物材料又称生物医用材料,它是指对生物体进行诊断、治疗 and 置换损伤组织、器官或增进其功能的材料。起初,一些临床应用的生物材料并不是针对医用而设计的。但随着对免疫系统了解的深入,人们逐渐认识到所选用的许多材料存在着生物相容性问题。20 世纪六七十年代,人们开发出物理性能适宜、对宿主反应最小的组织取代物,它们大多属于惰性生物材料,目的是使免疫排斥反应达到最低。此类惰性生物材料使数千万患者的寿命延长了 5~25 年。

20 世纪 80 年代开发出的生物活性玻璃标志着第二代生物材料的出现。以 $\text{Na}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2$ 为例,它与组织的结合机理涉及 11 个反应过程,前 5 个反应发生在材料表面。首先 Na^+ 和 H^+ 、 H_3O^+ 迅速交换,而后表面硅醇缩聚,产生表面积非常大的二氧化硅凝胶,提供生物活性羟基碳酸钙磷灰石 (HCA) 层非均相成核和结晶的大量位点,而材料表面形成的 HCA 层能提供理想的成骨环境,诱发相应的成骨细胞黏附、增殖和分化,并最终形成新骨,使生物材料表面与骨组织键性结合。到 80 年代中期,生物活性材料(如生物活性玻璃、生物陶瓷、生物玻璃陶瓷)和相应的复合材料已用于矫形和口腔领域。合成的羟基磷灰石 (HA) 陶瓷多孔植入物、填充材料及表面涂层金属植入物均可提供生物活性固定;而生物活性玻璃陶瓷已经用于修复脊柱。90 年代,HA 颗粒增强聚乙烯已经用于修复中耳骨缺损^[1]。

吸收性生物材料的开发表明了第二代生物材料又上了一个台阶。由于能被生物降解,植入体内后这些材料最终被再生的组织所

取代。如 1984 年临床应用的聚乳酸（又称聚丙交酯，PLA）和聚乙醇酸（又称聚乙交酯，PGA）缝合线，它们的最终水解产物是二氧化碳和水。后来，又用此类材料做了吸收性骨折固定板和骨钉，并可用于药物释放的载体。

1.1.2 组织工程

组织和器官的衰竭、损伤是最主要的临床医学问题，约占美国年医疗费用的一半，其中包括器官移植、外科修复、人工取代物、医疗器械以及某些情况下的药物治疗。人们首选的自体器官移植是以牺牲健康组织为代价的“以伤治伤”的方法，虽然临床效果令人满意，但供区极为有限；同种异体器官移植则存在同种供体器官严重不足的问题；人工取代物存在生物相容性问题；而医疗器械不能替代器官的所有功能，不能很好地修复组织或器官的主要损伤，使患者早日康复。

20 世纪 80 年代美国学者 Langer 和 Vacanti 提出了组织工程（tissue engineering）的再生医学新概念。现正在形成组织工程学这门新学科。组织工程是利用生命科学与工程科学的原理和方法，研究和开发具有修复或改善人体组织或器官功能的新一代临床应用的取代物，用于替代组织或器官的一部分或全部功能^[2]。

组织工程一般采用以下三种策略。

（1）细胞和生物材料杂化体系 如从小块活组织分离组织特异细胞，经体外扩增后种植在生物相容性良好并可生物降解的聚合物构建的多孔支架内，体外培养一定时间后把此细胞/支架结构植入患者体内；随着组织缺损部位的重建，聚合物逐渐降解而消失。

（2）只有生物降解材料的体系 通过生物过程使细胞长入多孔支架内，经过增殖、分化形成组织，同时与周围组织整合。如用珊瑚骨架制备的羟基磷灰石陶瓷，其孔隙结构与人体骨结构极其相似，可作为骨组织工程支架使用。

（3）细胞体系 移植的细胞由生物过程发展成微结构。

工程化组织可归纳为三大类。

（1）结构类 如皮肤取代物、软骨和骨的取代物等，大都采用

生物降解聚合物做为支架。

(2) 代谢类 如生物杂化人工胰和肝、生物人工肾以及用于释放生物活性物质的包裹细胞。此类装置常采用免疫隔离膜材,仅允许营养物质(氧、葡萄糖、胰岛素等)和代谢产物(乳酸、二氧化碳、 H^+ 等)通透,而隔离体液中的免疫反应组分和免疫细胞等。它们可以作为体内植入物或体外装置来使用。

(3) 细胞类 体细胞经离体扩增、增殖和纯化后植入体内^[3]。

1.2 组织工程对生物材料的挑战

1.2.1 第三代生物材料

工程化组织常将种子细胞种植在具有生物活性的可降解生物材料构筑的三维支架内,期望三维支架能提供细胞所需的力学和化学信号,指导细胞的黏连、增殖与分化,并最终组装成三维组织。细胞组装形成组织的过程涵盖了许多内容,要求它们的组合犹如“交响乐”般和谐。它所经历的时间从数秒到数十周,空间尺度跨越纳米、微米到厘米。因此要将组织工程的科技成果转化为能治疗数百万患者疾病的产品,正面临着许多技术上的挑战。首先,大规模生产工程化组织需要适宜、健康并能扩增的种子细胞,这是对生物学的挑战。而对工程学的挑战包括性能优异的三维支架材料的制备、仿生并能规模化培养细胞的生物反应器、细胞/支架结构物的冻存、建立防止组织排异的方法等^[4]。

组织工程的发展对相关生物材料提出了新的挑战。首先,生物材料应符合生物安全性的要求,即对人体无毒性、无致敏性、无刺激性、无遗传毒性和无致癌性。其次,生物材料应具有良好的生物相容性,即对人体组织、血液和免疫等系统无不良反应。此外,更希望植入的生物材料和装置不被免疫系统所排斥,并能产生所期望的宿主反应。生物材料植入体内后,其表面诱发的一系列宿主反应包括蛋白质的优先吸附、补体激活、细胞的征集或粘连等,而这个过程是更广义上的炎症和纤维化反应的一部分。从材料表面所发生的蛋白质吸附、免疫反应、细胞因子和生长因子的释放、目标细

胞的反应着手,诱发期望的愈合途径,使组织重建,是第三代生物材料所要达到的目标^[5]。

1998年11月在美国召开的“当代生物材料相关会议”上,与会各国科学家达成共识:以往生物材料的研究与开发大多从材料的化学、物理与力学性能、加工性能构思,并没有从植入生物材料的细胞水平和分子水平进行设计,这一点必须应予以重视^[6]。相关细胞在很多生物材料中能很好地生长,但组织在体内重建时还涉及引导神经、骨和血管的再生。修复和重建损伤组织时,细胞将受到宿主被损伤的部位及其周围健康组织产生的信号分子的调控。因此,用于组织工程的理想生物材料应和目标细胞表达的特异黏连因子和生长因子受体产生特异相互作用,支架材料要使目标细胞迁移至损伤部位,刺激它们生长和分化,且随着组织的修复能被细胞释放的相关酶完全降解^[4]。人们期望第三代生物材料植入体内后能促进组织的自愈合,而这有待从分子水平设计和制备出刺激特异细胞反应的、具有生物活性的可吸收生物材料。

第三代生物材料如生物活性玻璃和其三维多孔支架能激活基因,刺激组织重建。因此,可对生物降解高分子材料进行相应的分子修饰,诱发与细胞的整联蛋白发生特异相互作用。这里的整联蛋白(integrins)属于细胞表面黏附分子家族,它们是跨膜糖蛋白,能介导细胞和细胞外基质(ECMs)成分的相互作用。因此,这类特异相互作用能指导细胞增殖、分化以及ECM合成和组织化^[7]。

用生物活性玻璃微粒填充缺损的骨时,在修复位点骨迅速再生,再生组织与周围骨组织结构和力学性能相匹配。这与生物活性玻璃表面快速化学反应引起的骨传导性和骨诱导性相关,其表面化学反应释放的可溶性Si、Ca、P、Na等离子达到临界浓度后将能引发活性玻璃和其周围细胞间的特异相互作用。

1.2.2 细胞和基因激活材料

骨的迅速修复有赖于成骨细胞的分化和增殖。这需要激活成骨细胞内的基因同步序列,使细胞分裂并合成可矿化成骨的ECM。研究表明,一些生物活性玻璃的离子溶解产物对成骨细胞的某些基