



中文版

干细胞组织工程技术

——基础理论与临床应用

王佃亮 主编



科学出版社



干细胞组织工程技术

——基础研究与临床应用

王树强 主编

中国铁道出版社

干细胞组织工程技术

——基础理论与临床应用

王佃亮 主编

科学出版社

北 京

内 容 简 介

本书较为系统地介绍了现代组织工程的基本理论、实验方法及临床应用情况,突出了本领域的最新进展与发展趋势,理论讲解深入浅出,方法叙述简洁实用,临床应用具体全面。主要内容包括现代组织工程的发展历程、研究领域、基本概念及理论基础、组织工程相关性干细胞理论及实验方法、组织工程支架材料及其制备方法、干细胞三维培养技术、组织工程生物反应器及其应用、组织工程化组织的种类及研究实验方法、组织工程化组织的动物及临床实验、组织工程化组织的应用现状与发展趋势、组织工程面临的伦理及技术挑战等。

本书可作为临床医生、高等院校生物医学领域师生、生命科学研究机构职员,以及从事干细胞、组织工程、生物材料、生物反应器等领域研究人员的参考用书。

图书在版编目(CIP)数据

干细胞组织工程技术:基础理论与临床应用/王佃亮主编. —北京:科学出版社, 2011

ISBN 978-7-03-030060-7

I. ①干… II. ①王… III. ①干细胞-组织(生物学)-生物医学工程
IV. ①Q24

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2011) 第 010289 号

责任编辑:田慎鹏 贾明月 刘 晶/责任校对:邹慧卿

责任印制:钱玉芬/封面设计:耕者设计工作室

科学出版社 出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

双青印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2011 年 3 月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2011 年 3 月第一次印刷 印张:38 1/2 插页:2

印数:1—2 500 字数:870 000

定价:96.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

序

组织器官缺失及机能障碍是导致人类疾病和死亡的最主要原因。目前在临床上用于组织器官缺失或机能障碍治疗的方法主要是利用外科手术进行器官移植。供体组织器官来源主要包括自体、同种异体、异种及人工替代物等。自体移植虽然不存在免疫原性，但是“以损伤修复损伤”的代价较大。同种异体移植存在免疫原性，且器官来源有限。异种移植的免疫反应较为强烈，而且异种来源的组织器官有携带致命病毒或其他致病微生物的风险。用机械、电子及物理材料制成的人工替代物也存在生物相容性差及寿命短等重大缺陷。利用组织工程技术再生的与天然组织器官结构功能类似的人工组织器官可在很大程度上解决这些难题。因而，组织工程的兴起将促进器官移植技术的变革，对外科手术具有里程碑式的意义。

组织工程是20世纪80年代后期诞生的，仅有30年左右的历史。它是利用支架材料、种子细胞、细胞因子在体外的生物反应器内（体外组织工程）或生物体内（体内组织工程）进行组织器官再生。因而它是一门边缘交叉学科，融合了众多学科发展的最新成果，涉及细胞生物学、发育生物学、生物化学、遗传学、生物信息学、工程学、计算机科学、材料学、生物力学及临床医学等领域。由于组织工程吸取了不同学科中的先进技术，是相关高技术交叉、渗透和融合发展的产物，可以认为它是衡量一个国家医学发展水平的重要标志之一。

组织工程诞生的历史虽不长，但取得的成绩和展示的美好前景令世人瞩目。迄今为止，某些组织工程皮肤、软骨产品已被FDA批准用于临床，为相关企业带来了丰厚利润。然而更多的组织工程产品还在实验室里研究或正在进行临床试验，如组织工程化骨、肌腱、神经、角膜、肌肉、血液、心脏瓣膜、椎间盘、尿道、生殖道、气管、血管、膀胱、乳房、手、生物人工肝、生物人工肾等。

组织工程一诞生就受到了许多国家政府和科学家的高度重视，尤其是近年来随着国际上再生医学的兴起，组织工程已成为当今世界再生医学研究应用的热门领域，也是我国重点发展的高技术领域。1994年，上海市科学技术委员会将组织工程研究作为重点资助方向，组织工程重大研究项目正式立项，标志着我国组织工程研究正式起步。一批组织工程项目受到了国家自然科学基金、国家“863”计划和“973”计划的资助。经过多年研究积累，目前在组织工程的某些方面，我国已处国际先进水平。

在这一大背景下，第二炮兵总医院组织军内外相关领域专家编写了《干细胞组织工程技术——基础理论与临床应用》一书，主要目的是较为系统地总结近年来国内外组织工程发展的最新成就，在学术层面上促进组织工程的交流与合作，以期繁荣我国的组织工程事业。

有鉴于此，本书较为系统地介绍了现代组织工程的基础理论及临床应用情况、某些关键方面的研究进展及发展趋势，同时还精心选编了一些成熟的操作实例，具有一定的

实用性。

希望本书的出版能对从事干细胞与组织工程研究应用的医院医护人员、科研院所研究人员及高校师生有所帮助，同时对于书中的不足之处，也请广大读者不吝指正。



姜合作

2011年1月8日

前 言

目前组织工程已成为生物医学及其临床应用的热门前沿学科，它的诞生和发展标志着临床器官移植步入了制造组织和器官的新时代。组织工程是我国国家高技术研究发展计划（“863”计划）、国家重点基础研究发展规划（“973”计划）的重点支持领域，具有广阔的发展前景。

本书是由国内一些相关领域的专家学者编写的，他们都有从事相关研究或教学工作的丰富经验。医院管理及外科专家姜合作任编委会主任并作序。第一章由王佃亮编写；第二章由江其生、董书魁、马威、龙宪连编写；第三章由曾虹燕、王佃亮、张艳梅编写；第四章由陈昭烈、何文俊编写；第五章由曾虹燕、张海智、孙晋伟编写；第六章由傅捷编写；第七章由刘咏梅、蔡春梅编写；第八章由刘咏梅、周丁华、吉王明编写，同时，刘咏梅还编写了本书附录部分；第九章由刘丽宏、陈慧编写；第十章由王佃亮、姜合作、王烈明编著。内容简介、目录、前言、组织工程大事年表、后记由王佃亮编写。

王佃亮起草了本书写作大纲，多次组织专家对大纲及各位编著者的稿件进行讨论修改，并对全书最后统稿。王烈明参与了部分编辑组织工作。科学出版社田慎鹏编辑参与讨论书稿，他作为责任编辑，对本书提出了一些良好建议。

本书在编写过程中还得到了国内外一些相关领域院士及权威学者的热情帮助。第二炮兵总医院的领导们给予了大力支持。

在本书付梓之际，对于以上参编人员的辛勤劳动及领导们的大力支持帮助，编委会深表感谢。



王佃亮

目 录

序

前言

第一章 绪论	1
第一节 组织工程的诞生与发展	1
第二节 组织工程与再生医学	4
第三节 组织工程的主要内容及研究方法	7
第四节 组织工程的临床研究及应用	30
参考文献	47
第二章 组织工程干细胞技术	53
第一节 干细胞分离培养	53
第二节 干细胞特性和鉴定	67
第三节 干细胞库及其应用	75
参考文献	85
第三章 组织工程支架材料	87
第一节 概述	87
第二节 组织工程支架设计与制备技术	107
第三节 组织工程支架材料的表面改性	116
第四节 结构组织工程支架材料	133
参考文献	175
第四章 干细胞三维培养	184
第一节 概述	184
第二节 干细胞三维培养基础	187
第三节 干细胞三维培养实例	200
第四节 三维培养与血管神经再生	209
第五节 存在问题及前景展望	224
参考文献	228
第五章 组织工程生物反应器及其设计应用	232
第一节 组织工程生物反应器	232
第二节 组织工程反应器设计应用实例	243
参考文献	258
第六章 组织工程化组织器官种类及制造方法	263
第一节 软骨组织工程	263
第二节 骨组织工程	277
第三节 肌腱韧带组织工程	282
第四节 皮肤组织工程	284

第五节 角膜组织工程	289
第六节 周围神经组织工程	296
第七节 脊髓组织工程	304
第八节 血管组织工程	310
第九节 心肌组织工程	315
第十节 心瓣膜组织工程	321
第十一节 泌尿系统组织工程	324
第十二节 肝脏组织工程	329
第十三节 胆管组织工程	334
第十四节 口腔组织工程	337
第十五节 脂肪组织工程	345
参考文献	348
第七章 组织工程化组织器官的动物及临床试验	358
第一节 组织工程化组织器官的动物试验	358
第二节 组织工程化组织器官的临床试验	391
参考文献	405
第八章 组织工程化组织器官的临床应用	416
第一节 组织工程化组织器官的质量标准	416
第二节 组织工程化组织器官的保存与运输	476
第三节 组织工程化组织器官的国内外临床应用情况	483
第四节 组织工程化组织器官临床应用中存在的问题、解决策略及发展前景	495
参考文献	501
第九章 组织工程面临的社会伦理问题及解决对策	505
第一节 概述	505
第二节 种子细胞的伦理问题	511
第三节 组织工程化组织器官分配的伦理问题	516
第四节 其他伦理问题	518
第五节 组织工程化组织器官问题的伦理对策	519
参考文献	530
第十章 组织工程面临的技术挑战与发展前景	533
第一节 组织工程医疗产品管理问题	533
第二节 组织工程面临的技术挑战	555
第三节 组织工程发展趋势与未来前景	568
参考文献	580
附录	582
组织工程大事年表	602
后记	605

第一章 绪 论

缺失或功能障碍组织器官的修复重建依然是生物医学面临的重大难题。全世界每年约有上千万人遭受各种形式的创伤，有数百万人因疾病康复过程中重要器官发生纤维化而导致功能丧失，有数十万人迫切希望进行各种器官移植。然而无论是体表还是内脏，目前的组织器官修复还主要是纤维化修复（瘢痕愈合），离理想的“再生出一个完整的受损器官”差距甚远。器官移植作为一种不可或缺的临床治疗手段，主要还是采取“拆东墙补西墙”的损伤治疗模式，并且由于受到器官来源、伦理及机体免疫排斥等方面的限制而难以满足临床救治的需要。在这种情况下，组织工程得以诞生和发展。

第一节 组织工程的诞生与发展

组织工程是 20 世纪 80 年代后期兴起的，最初以各种体细胞为种子细胞，如成纤维细胞、内皮细胞、成骨细胞等。但随着干细胞研究的深入，各种类型的干细胞已成为组织工程主要的种子细胞，并且其他学科的高新技术也被陆续应用到组织工程中来，使现代组织工程获得了快速发展。

一、组织工程概念的提出

1980 年，Yannas 及其同事以胶原和黏多糖为原料设计制造出了人造皮肤类似物，这可能是最早的组织工程实践（Yannas et al., 1980）。1984 年，Wolter 和 Meyer (1984) 在眼科聚甲基丙烯酸甲酯（PMMA）假体上培养出内皮样结构物质，他将该项研究称为“tissue engineering”（组织工程）。之后，组织工程的含义逐渐发展为联合使用细胞、支架材料和生物活性因子以促进组织的修复和再生。

1987 年，美国麻省理工学院的化学工程师 Langer 和美国马萨诸塞州立大学医院临床医师 Vacanti 等（1988）较为系统地提出了“tissue engineering”的概念，其核心是建立由细胞和生物材料构成的三维空间复合体，这与传统的二维结构（如细胞培养）有着本质区别。组织工程的最大优点是：①可形成具有生命力的活体组织，对病损组织进行形态、结构和功能的重建并达到永久性替代；②用最少的组织细胞通过在体外培养扩增后，进行大块组织缺损的修复；③可按组织器官缺损情况任意塑形，达到完美的形态修复。组织工程的研究包括种子细胞、支架材料和调节因子等（Langer and Vacanti, 1993）。组织工程概念提出后，很快获得了美国国家科学基金会认可，组织工程学作为一门学科得以确立和发展。

Langer 和 Vacanti (1993) 发表在美国 *Science* 上的对组织工程的定义为：组织工程学是一门利用工程学和生命科学的原理，研究和开发具有生物活性的人工替代物，以

维持、恢复或提高人体受损组织的功能的交叉学科。中国学者商讨并以标准形式形成的组织工程定义是：利用生命科学和工程学的原理与技术，在正确认识哺乳动物正常及病理状态下组织结构与功能关系的基础上，研究、开发用于修复、维护和促进人体各种组织或器官损伤后功能和形态生物替代物的学科。

目前，组织工程发展迅速，各种概念也在不断发展。随着组织工程研究的深入，组织工程的定义也将不断完善。

二、组织工程的简要发展历程

（一）国外组织工程的发展

组织工程概念提出后，受到了各国学者的广泛关注。美国在 1988 年以基金和资助形式建立了一系列实验室，有相当数量的研究机构和大学参与了组织工程研究。美国国家卫生研究所建立了 4 个组织工程研究中心，大力推动这一学科发展，取得一系列成果。

Cima 等 (1991) 将培养的软骨细胞同 PGA 相结合进行软骨组织的培养工作，从此拉开了软骨组织工程研究的序幕，并很快扩展到其他组织，如骨、韧带和肌腱等。Freed 等 (1997) 将新生鼠心肌细胞接种到可降解聚合物支架——PGA 支架上，形成两者的复合体，并将复合体在旋转生物反应器内进行培育，体外培育数周后，在生物反应器内形成了具有收缩能力的心肌组织。1997 年，中国学者曹谊林博士在 Vacanti 的实验室中，第一次成功地在裸鼠背部培养出带有皮肤的组织工程化人耳 (图 1.1)，引起了各国对组织工程研究的关注 (Haisch, 2010; Cao et al., 1997)。

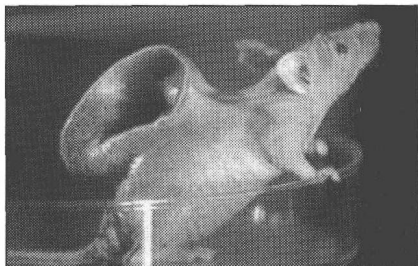


图 1.1 曹谊林博士培养出的组织工程化人耳 (Cao et al., 1997)

对组织工程研究的关注 (Haisch, 2010; Cao et al., 1997)。1997 年，美国食品与药品管理局 (Food and Drug Administration, FDA) 批准自体软骨细胞移植修复关节软骨缺损，后形成了产业。

1997 年 3 月，美国加利福尼亚州 Advanced Tissue Sciences 公司开发的世界上第一个组织工程产品——含有成纤维细胞的组织工程真皮 Dermagraft，由 FDA 批准上市，用于治疗 II 级和 III 级烧伤。1998 年，FDA 批准美国 Organogenesis 公司生产的 Apligraf 组织工程皮肤应用于临床，这是迄今最成熟的组织工程复合皮。

2006 年，美国科学家在北卡罗来纳州再生医学研究所的实验室里，用患者自身干细胞在可降解生物材料支架上培育出了膀胱 (图 1.2) 并成功移入患者体内 (Atala et al., 2006)。7 名接受了新膀胱移植的患者恢复了器官功能，预计这种被修复的膀胱可使用 7 年之久。这一研究证明了再生医学的巨大潜力——用干细胞再生自己的组织、器官并用于相应疾病治疗。同时，该研究所的科学家们正致力于 20 多种人体组织、器官的培养，包括血管和心脏。2007 年，国际组织工程学会与再生医学学会合并后的“组

织工程再生医学学会”，创办了 *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*（《组织工程与再生医学杂志》），极大地拓展了组织工程的内涵、研究内容 and 应用领域。

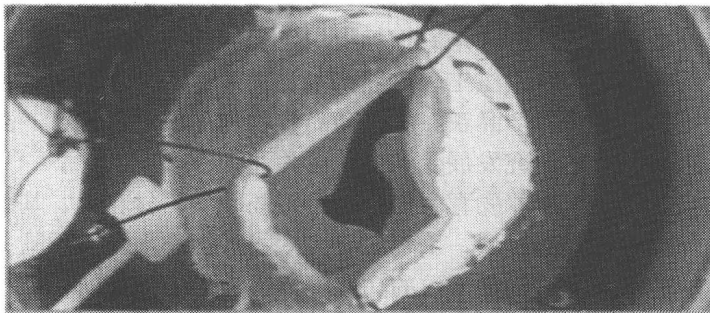


图 1.2 美国科学家将实验室里培育的新膀胱植入患者体内 (Atala et al., 2006)

2008 年 6 月，由西班牙、英国、意大利等国科研人员组成的团队在巴塞罗那完成了全球首例“人造气管”（组织工程气管）移植手术。“人造气管”由自身干细胞培养而成，术后 5 个月这名有两个孩子的 30 岁女患者克劳迪娅·卡斯蒂略 (Claud Castillo) 彻底康复 (Macchiarini et al., 2008)。这次手术的成功实施是组织工程领域的重大突破，具有里程碑意义，有可能因此改变外科手术的未來。英国布里斯托尔大学 (University of Bristol) 的 Birchall 教授表示，干细胞再生器官移植技术大约需要 20 年的时间就可以发展成为常规手术。

2009 年 1 月 23 日，美国总统奥巴马撤销布什发布的限制胚胎干细胞研究的行政命令，随后 FDA 批准了全球首宗人类胚胎干细胞治疗临床实验。

(二) 国内组织工程的发展

中国组织工程研究起步稍晚，但发展很快，在某些领域的研究已居于国际领先水平。1994 年，上海市科学技术委员会将组织工程研究作为重点资助方向，组织工程重大研究项目正式立项，标志着中国组织工程研究正式起步。

1997 年，组织工程课题在中国国家自然科学基金正式立项，标志着组织工程研究受到了国家层面的重视；同年，上海成立中国第一个组织工程实验室——上海组织工程研究重点实验室 [后发展为“组织工程 (上海) 国家工程研究中心”]。1998 年，中国国家“973”重点基础研究计划正式立项研究“组织工程的基本科学问题”，标志着国家已将组织工程研究列为高新技术领域的重点发展项目。2001 年、2002 年，中国国家“863”高技术研究发展计划对组织工程的应用研究与产品开发进行了持续资助，标志着国家已将组织工程作为生物领域的国家性产业发展方向。借助于国家“973”计划和“863”计划的资助，中国学者以敏锐的科研意识与思维，不约而同地掀起了一股组织工程热，在软骨、骨、肌腱、血管、皮肤、角膜等领域取得了可喜进展，初步形成了以组织构建和临床应用为特色的中国组织工程学研究道路。

虽然国内组织工程研究的总体水平与美国有一定差距,但与欧洲、日本的研究水平相当。2007年11月13日,中国国家食品药品监督管理局(SFDA)下发注册证书,批准中国第一个组织工程产品上市,商品名为“安体肤”,由第四军医大学口腔医学院组织工程中心金岩教授主持研制,陕西艾尔肤公司参与。继美国后,中国成为第二个拥有组织工程皮肤产品的国家。此外,已有3种组织工程神经产品和1种组织工程角膜产品进入临床研究,同时还有3种组织工程皮肤产品、3种组织工程软骨产品、2种组织工程骨产品及2种组织工程肌腱产品正在中国药品生物制品检定所进行产品注册检验或已完成检验。中国组织工程的研究发展受到了国际关注。

组织工程的兴起说明,随着发育生物学、组织胚胎学、材料学、基因组学、蛋白质组学、信息学、计算机科学的发展,工程学将为生物医学作出新的贡献。组织工程的发展,将从根本上解决组织器官缺损所致的功能障碍或丧失的治疗问题。

(三) 组织工程的发展阶段

组织工程诞生20多年来,它的发展大致经历了三个阶段。第一阶段,结构组织的组织工程化构建与应用,其标志是1997年FDA批准组织工程皮肤上市,同时,在美国、意大利、德国、中国等国家都有组织工程骨、软骨、肌腱等临床应用的初步报道。第二阶段,具有复杂功能的器官的组织工程构建与应用,其标志是2006年Atala在*Lancet*上发表的有关组织工程膀胱临床应用的学术论文。同时,也有接种细胞的生物人工肝、生物人工肾、心脏瓣膜、内分泌器官的组织工程化构建研究,证明多细胞结构的组织工程化器官有可能通过组织工程技术获得成功。第三阶段,组织工程概念融入到再生医学的新概念中,其标志是国际组织工程学会与再生医学学会合并、融合成为统一的“组织工程再生医学学会”,并于2007年1月创办了*Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*杂志,从此组织工程的内涵更加丰富,研究范围更加广阔,应用领域更加广泛。

第二节 组织工程与再生医学

组织工程的深入研究促进了再生医学发展,使外科学进入了再生医学的新时代。现代组织工程已成为再生医学研究的核心内容和主要发展方向,它体现了再生医学的优越性,是完美的组织或器官再生。

一、再生医学的概念

再生医学是20世纪90年代后诞生的,它的概念有广义和狭义之分。

广义上讲,再生医学是一门研究如何进行功能障碍或缺失的组织器官修复,以及如何进行组织器官再生与功能重建的新兴学科,可以理解为通过研究机体的正常组织特征与生理功能、创伤修复与再生的机制及干细胞分化的机制,寻找有效的生物治疗方法,

进行机体自我修复与再生,或构建新的组织与器官以维持、修复、再生或改善损伤组织器官的功能。

狭义上讲,再生医学是指利用生命科学、材料科学、生物力学、信息学、计算机科学和工程学等学科的原理与方法,研究和开发用于替代、修复、改善或再生人体各种组织器官的信息技术,其技术和产品可用于因疾病、创伤、衰老或遗传因素所造成的组织器官缺失或功能障碍的再生治疗。

事实上,人体的再生潜能是巨大的,如创伤皮肤平均每天再生 0.45 mm^2 、周围神经每天再生 $1\sim 2\text{ mm}$ 等。但这种再生能力又是有限的,如关节软骨不能再生、骨缺损大于 1 cm 不能愈合等。在临床工作中发现有再生过度现象,如皮肤再生愈合后的瘢痕形成,慢性骨髓炎过度再生形成的永久性骨硬化,脊柱、关节过度增生形成的骨刺、骨桥等,均可导致一系列病理生理改变。

如何使缺失或功能障碍的组织器官获得完全再生,或在体外复制出所需要的组织器官进行替代性治疗,这是再生医学的研究范畴。

与传统医学“以损伤修复损伤”相比,再生医学具有巨大的优越性和临床应用潜力,是医学技术的一次革命。

二、再生医学的不同发展阶段

从易到难,再生医学的发展需经过三个阶段。

1) 从细胞到细胞。细胞是组成人体器官的最基本要素,利用种子细胞生成各种不同类型、功能的细胞,如神经细胞、心肌细胞等,这是再生医学的第一步。

2) 从细胞到组织。许多同类细胞集合在一起可以构成某类组织,如肌组织、腺体组织等。目前的组织工程研究还主要是不同组织的再生,如组织工程皮肤、软骨等都是由单一细胞构成的组织。当然,人体皮肤是一种器官,包括表皮层、真皮层,以及皮脂腺、汗腺、毛囊等附属器,但现有组织工程皮肤还无法再生附属器,不具有真正人体皮肤的全部生理功能。

3) 从细胞到器官。不同组织融合构成某种器官,如心脏、前列腺、肾脏、肝脏等,这是组织工程真正吸引人的地方。但是,由于器官结构复杂,完全再生的难度很大,目前这方面的进展较慢。

在再生医学不同发展阶段上,均可研发相应的组织工程产品,应用于临床诊断或治疗。

三、组织工程与再生医学的关系

从再生医学的概念看,它涵盖了干细胞治疗、基因治疗、组织工程治疗、组织器官移植、组织器官缺损的再生与生理性修复及活体组织器官的再造与功能重建,并涉及克隆技术及体细胞重编程技术等高新技术领域,其中干细胞和组织工程是再生医学研究的热点。

从外科学的发展历程看,先后经历了3个“R”阶段,即切除(resection)、修补

(repair) 和替代 (replacement)。组织工程学的出现, 意味着外科学已进入“再生医学”(regenerative medicine) 的新阶段, 是第 4 个“R”。因此, 组织工程学是再生医学的外延和分支, 它拓宽了再生医学的广度和深度。组织工程已成为再生医学研究发展的主要方向, 含有再生医学研究的核心内容(种子细胞、生物材料及组织构建技术), 体现了再生医学的优越性, 是完美的组织再生。

组织工程的内涵正在不断扩大, 凡是能引导组织再生的各种方法和技术均被列入到组织工程的范畴内。组织工程的科学意义不仅在于提出了一个新的治疗手段, 更主要的是提出了复制组织、器官的新理念, 使再生医学面临重大机遇与挑战。

目前再生医学的基本概念、研究范畴等仍在不断发展中, 对于某些问题科学界还没有形成统一认识。

2008 年 12 月 18 日, 美国 *Science* 杂志评出了本年度十大科学进展, 细胞重新编程成为十大科学进展之首。之所以把细胞重新编程列为 2008 年十大科学进展之冠, 是因为这一方式开辟了再生医学的新天地, 研究人员可以绕过胚胎干细胞的伦理争论而直接让细胞重新编程, 成为各种类型的干细胞, 并可以生长为各种组织和器官, 为再生医学奠定物质基础。

再生医学作为一门新兴边缘学科, 受到了许多国家重视。中国在再生医学方面取得的成绩受到了世界瞩目。据 McMahon 等 (2010) 在英国 *Regeneration Medicine* 杂志发表的研究报道, 中国再生医学领域的研究进入 21 世纪以来快速发展, 在国际学术期刊上发表的相关论文的数量已跃居世界第五, 中国的一些研究成果夺得世界第一, 其快速发展的经验值得其他发展中国家借鉴。这份由加拿大麦克劳克林-罗特曼全球卫生中心完成的报告说, 该中心检索到的中国研究人员在国际学术期刊上发表的再生医学相关论文在 2000 年为 37 篇, 但到 2008 年已增加到 1116 篇, 超过了法国、加拿大、澳大利亚等国 (图 1.3)。报告还指出, 中国再生医学研究近年来取得了一些世界第一, 比如, 首次成功进行人兔间核转移胚胎干细胞研究, 首次利用患者大脑组织培养出的干细胞治疗该患者自身的大脑创伤等。中国再生医学研究比较活跃的城市是北京、天津、上海、重庆、深圳、广州、长沙。

四、干细胞与组织工程的关系

干细胞存在于胚胎及成体组织中, 是一类具有高度自我更新、增殖和多向分化潜能等优势的未分化细胞, 可能贯穿于从单个受精卵细胞发育到由 250 多种细胞类型、数以亿计细胞组成的成体及整个生命过程中。迄今, 已从成年人骨髓、软骨、血液、神经、肌肉、脂肪、皮肤、角膜缘、肝脏、胰岛等组织器官中发现了干细胞。

根据发育进程, 干细胞可分为胚胎干细胞 (embryonic stem cell) 和成体干细胞 (adult stem cell)。前者来源于胚胎或胎儿组织, 可以分化为 3 个胚层的各种细胞; 后者来源于出生后器官或成年人体组织, 能够产生所在特定组织的各种细胞。目前发现的成体干细胞主要有造血干细胞、骨髓间质干细胞 (bone marrow stromal stem cell)、神经干细胞 (neural stem cell)、肝脏干细胞、皮肤干细胞、肠上皮干细胞、脂肪干细胞、

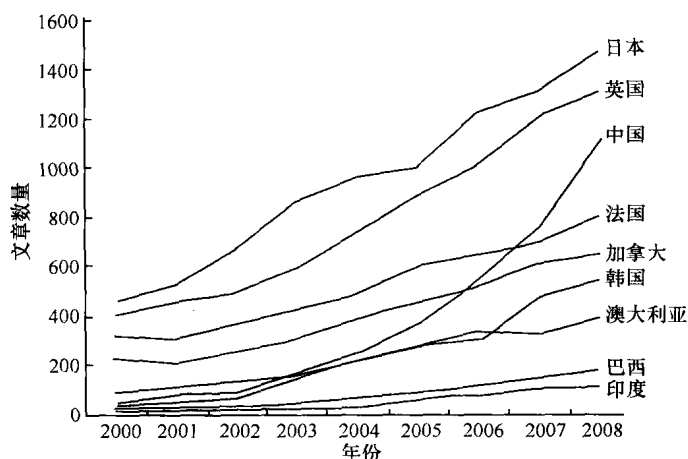


图 1.3 2000~2008 年一些国家发表的与干细胞有关的 SCI 文章数量 (McMahon et al., 2010)

视网膜干细胞及角膜缘干细胞等。成体干细胞是非常有价值的研究对象,其相对胚胎干细胞的优势在于可对临床应用有更实际的表现。近来又提出了亚全能干细胞学说,这种细胞刚脱离胚胎干细胞特征,但又不是成体干细胞。通过实验证明,人体亚全能干细胞能够诱导分化为各种组织细胞,通过移植给受者参与组织的再生与修复,为恶性血液病、心血管疾病、糖尿病、肝功能衰竭等多种严重疾病拓展了新的治疗途径。干细胞可用于许多疾病或损伤的治疗,其在疾病治疗中可能出现的重大突破包括皮肤附件再生、退行性疾病治疗、心血管疾病治疗等,目前临床应用已初步观察到在特定条件下骨髓干细胞有可能发育成汗腺、皮脂腺及毛囊等。

干细胞是目前组织工程最理想的种子细胞,通过组织工程科学技术,理论上可以将干细胞在人为条件下诱导、分化、培养成为任何一种人体细胞、组织或器官。将培养成功的组织器官进行体内移植,可以完美地修复或替代缺损的组织器官。

随着干细胞技术的发展,各种不同来源的干细胞已成为组织工程的主要种子细胞,再生医学也进入了干细胞组织工程时代(图 1.4)。

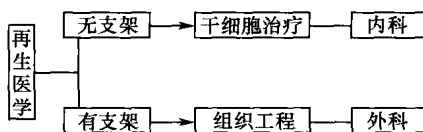


图 1.4 再生医学、干细胞治疗与组织工程的关系

第三节 组织工程的主要内容及研究方法

组织工程的研究内容主要包括种子细胞、生物材料支架(scaffold biomaterial)或细胞外基质微环境、组织器官三维构建及移植应用 4 个方面,并与生物活性因子和生物

反应器密切相关。

一、种子细胞

种子细胞是组织工程三大核心内容之一。获得足够数量、不引起免疫排斥反应并具有再生活力的种子细胞是开展组织工程研究的前提和必要基础。

(一) 种子细胞的来源

用于组织工程的种子细胞必须具有形成新组织结构的能力，主要来源于自体 (autogenous)、同种异体 (allogeneous) 或异种 (xenogeneus)，它们在具体应用时各有利弊 (表 1.1)。

表 1.1 组织工程种子细胞比较

来源	细胞类型	优点	缺点
自体	自体细胞	患者自己的细胞 不会发生免疫排斥	需要临时采集 会给患者造成创伤和痛苦 不适合自身干细胞或基因有缺陷的患者 不适合传染病患者
同种异体	同种异基因细胞	细胞来自别人 可以是事先制备好的	可能发生免疫排斥反应
异种	异种异基因细胞	来自不同的物种	需要抗免疫排斥反应 有动物病毒传染风险

同种异体或异种细胞来源广泛，但由于存在免疫排斥反应等问题，限制了其临床应用。目前真正用于修复组织缺损的细胞主要来源于自体。但是，由于组织工程细胞培养多需要高浓度的细胞接种，自体组织细胞存在数量上的局限性及长期传代后细胞功能老化的问题，尤其对于自体细胞有免疫缺陷或基因缺陷的患者，异体来源的种子细胞就显得特别重要。近年来发现，人羊膜间充质干细胞 (human amnion mesenchyme stem cell)、胎盘间充质干细胞 (placenta-derived mesenchymal stem cell)、骨髓间充质干细胞 (bone marrow mesenchymal stem cell) 等由于免疫原性很小，不易被宿主免疫系统识别，同种异体甚至异种移植都具有较好的治疗效果，是一些很有潜力、值得深入研究的组织工程种子细胞。

(二) 理想种子细胞的标准

作为组织构建或器官再生的种子细胞，必须满足一定条件，理想种子细胞的标准主要包括：①来源广，数量充足；②容易培养，黏附力大，增殖力强，可大量扩增；③遗