

组织工程学

曹谊林 主编



科学出版社

www.sciencep.com

组织工程学

曹谊林 主编

科学出版社

北京

内 容 简 介

本书共分 27 章,重点介绍与组织工程联系密切的基础生命科学理论;详细论述组织工程学的核心分支——细胞工程学、组织工程生物材料科学和组织、器官构建工程学的经典学术思想与基本技术;系统介绍各种组织工程化组织与器官构建的原理、特征以及应用组织工程化组织进行缺损修复的基本方法和最新进展;最后还论述了组织工程医疗产品的管理与伦理学、组织工程医疗产品的安全性评价、组织工程医疗产品的标准等内容。

本书理论联系实践,充分注意深度和广度相结合,适合于从事基因工程学研究的相关人员阅读。

图书在版编目(CIP)数据

组织工程学/曹谊林主编. —北京:科学出版社,2007

ISBN 978-7-03-017724-7

I. 组… II. 曹… III. 人体组织学 IV. R329

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2006)第 083993 号

责任编辑:农 芳 康 蕾 王 晖 / 责任校对:赵桂芬

责任印制:刘士平 / 封面设计:黄 超

版权所有,违者必究。未经本社许可,数字图书馆不得使用

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>

中国科学院印刷厂 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2008 年 1 月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2008 年 1 月第一次印刷 印张:52 1/2

印数:1—2000 字数:1 252 000

定价:198.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换〈科印〉)

《组织工程学》编写人员

主 编 曹谊林

副主编 崔 磊 刘 伟 张文杰

编 者 (按姓氏拼音排序)

贝建中

蔡 晴

曹德君

曹谊林

常 江

陈 兵

陈 亮

陈一平

丛笑倩

崔 磊

崔文瑾

丁文龙

范成相

范志刚

傅 强

高长有

葛海良

葛 坚

顾晓松

郭子宽

胡庆夕

胡 文

胡晓洁

华泽钊

金 丹

金 岩

李 宏

刘炳乾

刘广鹏

刘桂玲

刘 伟

吕双红

毛 宁

裴国献

钱关祥

盛慧明

汤京龙

万玉青

王常勇

王春仁

王 健

王连永

王身国

王智崇

奚廷斐

许建中

杨光辉

杨宇民

姚康德

张伯根

张文杰

张彦定

张 毅

章 娜

赵 莉

赵 鹏

周广东

序 一

组织工程已经有差不多 20 岁了。这个词最初是在 1987 年春天美国自然科学基金委员会组理事会的一个小组讨论会上正式记录的。自那时起,我们见证了从重建外科学到生物材料科学多个组织工程学相关学科中的创新性工作成就,所有这些努力都是希望把组织工程中蕴含的科学原理转化到临床应用中去。组织工程采用的方法已经促使我们从传统的组织修复和人工替代的程序性步骤深化到了组织和器官重建的理念。

组织工程学的发展已经波及了全球,需要强调的是,中国在这个领域也作出了不可替代的贡献。中国的科学家和临床医生们在过去的十年里,把先进的方法和创新的想入入了组织工程中的各个学科,在全世界都具有举足轻重的影响力。他们在这个领域的进展是神速的。这部由曹谊林教授和他的同事们主编的专著,是一部全新的合作巨著,内容丰富而翔实,提供了近年来组织工程学在基础学科和应用方面的详细发展情况,同时也展示了中国目前的技术发展水平。

铭记在我心头的是,我们的中国同事和朋友在这个领域中享有越来越重要的地位。我真诚地希望他们在这场推进科学发展和临床应用的奋斗中能有更美好的前景。我想,通过先进的治疗方法来促进人类的健康和卫生事业,提高人类的生活水准,这也是我们共同的奋斗目标。

David Williams 教授

Biomaterials 主编

英国利物浦大学组织工程名誉教授

Preface

The subject of tissue engineering is now some twenty years old. The term itself was first documented in a panel meeting held at the Engineering Directorate of the National Science Foundation of the USA in the spring of 1987. Since then we have witnessed major pioneering efforts in all of the disciplines that contribute to tissue engineering, from reconstructive surgery to biomaterials science, as we strive to translate the underlying scientific principles into clinical reality. The approaches used in tissue engineering have moved us forward from the procedures of tissue repair and replacement by synthetic structures, which have dominated this area in the past, to those of tissue and organ regeneration.

These developments have taken place globally, but it is very important to note that China is now playing a very significant role. Chinese scientists and clinicians moved quickly into this field and have been very influential in the last decade with the introduction of innovative methods and ideas within many of the contributing sciences. This book, edited by Dr Yilin Cao and his colleagues, is a new collaborative work that provides a very important resource that provides details of these latest developments in both fundamental principles and applications, and which also documents the state-of-the-art in China.

I am very impressed with the increasingly important role played by our collaborators and friends in China and wish them every good fortune as they move the science and the clinical applications forward. It is our shared ambition to promote healthcare through innovative therapies and to improve the quality of life for people throughout the world.

Professor David Williams D. Sc.

Editor-in-Chief, Biomaterials

Emeritus Professor of Tissue Engineering, University of Liverpool, UK

序 二

组织工程的概念大概始于 20 年前。最近 15 年,在这个领域中已经开展了大量的研究。文献证明,组织工程在这个阶段取得了不同凡响的成就和突破。让我高兴的是,中国的科研工作者也积极地活跃在这个领域中,并对它的发展作出了很大的贡献。组织工程发展到今天,离不开多个学科领域的科研小组的精诚合作,包括了临床医学专家、材料和机械科学的工程师、分子生物学家、生物数字和计算的专家。

然而,组织工程目前还处于初级发展阶段,距离其最终目标——临床成功应用的普及还有差距。事实上,这个领域的科学家们面临的最大挑战是如何从实验研究走向实际应用。临床预实验的标准还在起步阶段,但为了建立组织工程化产品临床研究的审批准则,非常有必要制定标准。本书的出版可以说是应时之邀,具有时代赋予的价值。它不仅概括了组织工程的建立和发展过程,阐述了它的学科交叉特性和内涵原理,包括发育生物学、基因疗法、移植免疫、组织和细胞生物学、成体和胚胎干细胞、支架材料和生物反应器;而且,此书还略述了一些先进的临床经验和建立组织工程产品标准方面的开创性工作,以及产品保存方面的研究。毫无疑问,这本书是曹谊林教授和中国其他主要合作课题组精诚合作、辛苦工作的结晶,它展示了目前中国组织工程科研工作的重要成果,更对组织工程学的原理和应用作了详尽的介绍。

在此送上我的祝贺和最好祝福,给我中国的同事和朋友们!

Antonios G. Mikos 博士

Tissue Engineering 主编

生物工程和化学与生物分子工程

Rice 大学,休斯顿,德克萨斯

Preface

The concept of tissue engineering emerged around 20 years ago, with intensive, focused research activities in the field being conducted for the past 15 years. As demonstrated in the literature, great achievements and breakthroughs have been taking place throughout this period. I am pleased that China has been actively involved with and made great contributions to the development of this field. These advances have been the result of interdisciplinary collaborative efforts amongst diverse scientific groups, including clinician scientists, engineers of material and mechanical sciences, cellular and molecular biologists, and experts in digital and computational biology.

However, tissue engineering is still at an early stage in terms of realizing its ultimate goal of successful, widespread clinical application. Indeed, the greatest challenge currently faced by scientists involved in the field is to bridge the gap between the bench and the bedside. Moreover, the development of standards for preclinical trials is still in its infancy, but is necessary to provide justification for establishing approved clinical investigations of tissue-engineered products. The publication of this book is thus an invaluable contribution, as it not only summarizes the establishment and development of tissue engineering, the principles involved in this interdisciplinary field, including developmental biology, gene therapy, transplantation immunology, tissue and cell biology, adult and embryonic stem cells, scaffold materials and bioreactors, but most distinguishably, it outlines experiences from advanced clinical trials and pioneering works toward establishing standards for tissue engineering products and investigation of storage issues. This book as a collaborative work, devoted by Dr Yilin Cao and his co-workers with main research groups in China, provides a very important resource for both the state-of-the art in China, but also the detailed principles and applications of tissue engineering.

I extend my congratulations and keen enthusiasm, as well as sincere best wishes to our collaborators and friends in China.

Antonios G. Mikos, PhD
Editor-in-Chief, Tissue Engineering
Professor of Bioengineering and Chemical and Biomolecular Engineering,
Rice University, Houston, Texas

前 言

组织工程的提出、建立和发展,为最终实现无损伤修复组织缺损和真正意义上的结构、形态与功能重建开辟了新途径。组织工程技术是继细胞生物学和分子生物学之后,生命科学发展史上又一新的里程碑,是对外科领域中组织、器官缺损和功能障碍传统治疗方法和模式的一次革命,它最终给人类带来的深刻影响远远超出我们现在的想像力。

国内的组织工程学研究正式起步于1994年,先后由国家自然科学基金、国家教委、卫生部以及国家“863”重大基础研究基金资助,进行了组织工程相关的基础性研究。1997年,组织工程课题在国家自然科学基金正式立项。1998年,国家“973”重点基础研究计划正式将“组织工程的基本科学问题”研究课题立项,标志着国家已将组织工程的研究列为高新技术领域的重点发展项目。短短的几年十年间,国内组织工程研究如雨后春笋,在部分领域的研究水平已处于世界组织工程研究领域的前沿。在这个飞速发展的时代,回顾过去的成果和认清我们所处的位置是十分重要的。只有这样,我们才能现实地展望未来,去想像可能实现的目标。这也正是本书诞生的初衷。

组织工程研究的核心是种子细胞、生物材料及组织工程化组织构建,组织工程研究的主要方向也因此集中于这三个方面。围绕组织工程研究的主要方向,本书的基本内容包括以下几个方面:①组织工程学相关的基础生命学科:介绍与组织工程学的发展、演化密切相关的基础生命科学的基本知识与学术思想,包括与组织构建、形态发生与分化密切相关的发育生物学和免疫学原理,以及支持现代生命科学飞速发展的分子生物学。②组织工程学的三大要素:种子细胞研究的目的在于获取足够数量的接种细胞,同时保持细胞增殖、合成基质等生物功能并防止细胞老化;生物材料为种子细胞的生长分化提供必要的微环境,其制备原料、方法、强度、降解速率、诱导性等方面都直接关系着组织构建的成败;生物反应器的研究开发提供了新型的扩增、接种方法,模拟了组织发育过程中的外环境,为构建组织的成熟提供了有力的支持。通过对三大要素集中、详尽地介绍,本书力求给读者一个全面的认识。③组织工程化组织、器官构建基本原则:联系组织工程三要素,系统介绍在组织工程化组织与器官构建的基本原理与方法。④组织工程化组织、器官构建分论:分别系统介绍各种组织工程化组织与器官构建的基本原理、特征,以及应用组织工程化组织进行缺损修复的基本方法和最新进展,此为本书的重点内容。⑤组织工程化产品的标准化:如何评价组织工程产品的安全性与产品的标准型制定,是规范组织工程良性发展、适应国际竞争的必要准备,因此,本书最后一部分内容将主要论述组织工程医疗产品的伦理学与立法、组织工程产品的安全性评价、组织工程产品的标准化研究等前瞻性的内容。

在本书的编修过程中,科学出版社给予了很大的帮助,在此表示感谢。同时,由于组织工程学涉及多个学科,虽然我们尽了最大努力来编写此书,难免不会顾此失彼,挂一漏万,不足之处在所难免,希望广大读者能够提出好的建议和意见,以便在未来再版时加以修订和完善。

主 编
2007年9月

目 录

绪论 组织工程学概述	(1)
第一节 组织工程学建立与发展	(1)
第二节 组织工程的基本原理与主要研究方向	(2)
第三节 中国组织工程的研究与发展	(6)
第一章 发育生物学——组织、器官形成(生长)原则	(10)
第一节 发育的基本规律	(10)
第二节 发育中的基因表达和调控	(12)
第三节 胚胎细胞的决定与分化	(17)
第四节 组织诱导与器官发生	(25)
第二章 基因治疗	(48)
第一节 基因转移与载体	(48)
第二节 基因持续表达	(57)
第三节 基因治疗及转基因技术与组织工程	(59)
第三章 移植免疫与组织工程学	(68)
第一节 同种异体免疫基本概念	(68)
第二节 同种异体移植免疫生物学	(71)
第三节 间充质干细胞负性免疫调节机制研究进展	(86)
第四章 细胞的一般结构与生物学功能	(92)
第一节 细胞的基本结构	(92)
第二节 细胞外基质与细胞的相互作用	(96)
第三节 细胞与生长因子调控	(101)
第五章 胚胎干细胞	(105)
第一节 概述	(105)
第二节 胚胎干细胞的建系及其特性	(109)
第三节 ES/EG 细胞体外诱导分化	(117)
第四节 ES/EG 细胞技术在组织工程学和医学中的应用	(124)
第六章 成年组织干细胞——间充质干细胞	(133)
第一节 间充质干细胞的概念性问题——基质细胞、成纤维细胞集落形成单位和 间充质干细胞	(134)
第二节 MSC 的体外培养及多向分化诱导	(141)
第三节 间充质干细胞的应用前景	(149)
第七章 细胞模式形成与环境	(158)
第一节 细胞外基质	(158)
第二节 仿生人工细胞外基质	(168)
第三节 智能化人工细胞外基质	(179)
第八章 材料与宿主的相互作用	(187)

第一节	生物材料对蛋白质吸附	(187)
第二节	免疫细胞与生物材料相互作用	(193)
第三节	目标细胞粘连、迁移、增殖和分化	(199)
第四节	细胞相容性生物材料的构建方法与技术	(212)
第九章	组织工程材料的合成	(238)
第一节	无机生物材料	(238)
第二节	组织工程用生物可降解合成高分子材料	(249)
第三节	天然衍生生物材料	(294)
第四节	复合型生物材料	(319)
第十章	组织工程细胞支架的构建制备技术	(335)
第一节	无机生物材料支架的制备	(335)
第二节	天然衍生高分子生物材料支架的制备	(341)
第三节	可降解合成高分子材料支架的制备	(345)
第四节	水凝胶支架制备方法	(350)
第五节	复合型生物材料支架的制备	(353)
第六节	基于医学图像的快速成型技术	(357)
第十一章	生物材料的评价方法	(378)
第一节	生物安全性	(378)
第二节	生物相容性	(381)
第三节	生物降解和吸收	(387)
第四节	组织工程支架材料的三维结构	(391)
第五节	力学性能适应性	(403)
第十二章	种子细胞的分离、培养及检测技术	(411)
第一节	概述	(411)
第二节	种子细胞的分离、培养技术	(413)
第三节	常用的细胞检测技术	(418)
第四节	种子细胞纯化与大规模扩增技术	(421)
第五节	组织工程软骨种子细胞的分离与培养	(423)
第十三章	组织工程化组织构建的基本原则	(430)
第一节	组织构建的基本原则	(430)
第二节	组织工程化组织构建原则在软骨构建中的应用	(434)
第十四章	生物反应器的设计与应用	(444)
第一节	生物反应器的类型及设计	(444)
第二节	生物力学环境与生物反应器	(449)
第三节	生物反应器在组织工程血管中的应用	(451)
第四节	生物反应器在组织工程肌腱中的应用	(455)
第五节	生物反应器在组织工程皮肤中的应用	(462)
第六节	生物反应器在组织工程软骨中的应用	(465)
第七节	生物反应器在组织工程骨中的应用	(467)
第十五章	软骨组织工程	(471)
第一节	软骨的结构、分类和组织发生	(471)

第二节	软骨的损伤和修复机制	(477)
第三节	关节软骨的生物力学	(479)
第四节	软骨细胞的培养与移植	(483)
第五节	软骨缺损的组织工程修复	(497)
第六节	软骨组织工程研究展望	(512)
第七节	气管组织工程	(514)
第十六章	骨组织工程	(526)
第一节	骨组织的基本结构分类	(526)
第二节	骨的组织发生和生长发育	(537)
第三节	骨组织工程	(545)
第十七章	肌腱组织工程	(557)
第十八章	心肌组织工程	(567)
第十九章	皮肤组织工程	(575)
第一节	皮肤的组织结构与发生	(575)
第二节	创伤愈合	(587)
第三节	组织工程化皮肤	(592)
第二十章	血管组织工程	(601)
第一节	血管的基本结构和发生	(601)
第二节	血管替代物	(615)
第三节	血管组织工程	(625)
第二十一章	角膜组织工程	(636)
第一节	角膜的解剖与组织结构	(636)
第二节	角膜的胚胎发生	(643)
第三节	角膜的视光学生理特性	(649)
第四节	角膜的创伤与修复机制	(654)
第五节	组织工程化人工生物角膜的研究历史和现状	(666)
第二十二章	周围神经系统组织工程	(674)
第一节	周围神经系统的组织结构	(674)
第二节	周围神经的发育	(679)
第三节	周围神经的损伤和再生	(683)
第四节	神经营养因子	(688)
第五节	组织工程在周围神经损伤与修复中的应用研究进展	(697)
第二十三章	泌尿系统组织工程	(715)
第二十四章	组织工程化组织的储存与复苏	(727)
第一节	低温保存与低温损伤	(727)
第二节	细胞及组织低温保存的物理化学基础	(728)
第三节	低温保护剂和保存液	(731)
第四节	玻璃化溶液	(733)
第五节	细胞及组织低温保存的基本方法	(736)
第六节	低温工程技术基础	(739)
第七节	细胞及组织低温保存质量控制概论	(746)

第八节 细胞及组织低温保存中污染和微断裂的防止	(749)
第九节 组织工程化组织低温保存的主要问题及发展概况	(752)
第十节 组织工程化真皮低温保存的实验研究	(756)
第二十五章 组织工程医疗产品的管理与伦理学	(761)
第一节 组织工程医疗产品的管理	(761)
第二节 组织工程医疗产品的伦理学	(766)
第二十六章 组织工程医疗产品的安全性评价	(770)
第二十七章 组织工程医疗产品标准	(775)

绪论 组织工程学概述

第一节 组织工程学建立与发展

组织、器官的丧失或功能障碍是人类健康所面临的主要危害之一,也是人类疾病和死亡的最直接原因。据美国权威资料显示,每年有数以百万计的美国人患有各种组织、器官的丧失或功能障碍,每年需进行 800 万次手术进行修复,年住院日在 4000 万~9000 万,年耗资超过 400 亿美元。针对因疾病、创伤、遗传等因素所造成的组织或器官损伤,现代医学主要通过组织移植与生物材料替代等治疗手段,恢复组织结构完整性,重建组织功能。

在组织移植的治疗方法中,自体组织移植如皮瓣移植、骨移植等应用最为普遍,但存在着牺牲自体正常组织、造成机体新的创伤等缺点,是一种以创伤治疗创伤的传统治疗模式。同种异体组织或器官移植,组织或器官来源有限,病人需长期甚至终身应用免疫抑制剂。异种组织或器官移植虽然解决了器官来源问题,但病人仍需终身应用免疫抑制剂,而且存在物种之间致病原传播的风险。生物材料组织替代品虽可在结构上替代损伤组织的完整性,但这种结构性替代是以完全或大部分牺牲被替代组织功能为代价,而且存在继发感染、异物反应、植入后因材料老化而引起的断裂与移位等诸多问题。因此,如何在修复组织结构的同时重建其功能,并且克服上述治疗方法的缺陷,成为现代组织工程技术建立的最直接起源。

组织工程学是在多学科交叉的基础上,主要通过细胞生物学与生物材料研究的相互融合,逐步建立并发展起来的。20 世纪 80 年代初,随着细胞体外培养技术的逐步完善,人们曾设想通过单纯细胞移植方法治疗组织或器官缺损,并进行了大量的探索,但远期临床观察证明,单纯细胞移植不能形成理想的组织与器官。另一方面,医用生物材料的大量研究与实际应用也证明,再完美的材料也不能够具备组织细胞的复杂生物功能,不能达到理想的组织再生修复效果。组织工程学研究即在这种背景下,联合应用细胞培养技术与生物活性可降解材料,通过将细胞与生物材料相结合的方式成功构建出多种新的组织。Yanas 等进行了应用胶原或胶原与蛋白聚糖的混合物构造人工皮肤替代物的系列研究,从材料学研究的角度认为,只有在细胞的参与下才能达到更好的创面修复效果,提出了细胞与生物材料结合进行组织再造的设想。“组织工程”一词首先由 Wolter 于 1984 年提出,用来描述植入体内的 PMMA 骨替代材料表面形成的内皮样结构。将软骨细胞种植于可降解生物材料聚羟基乙醇(polyglactic acid,PGA)形成软骨组织、肝细胞接种于中空纤维以替代部分肝组织工程的研究,被认为是组织工程研究的最初尝试。“组织工程”这一名称由美国国家科学基金会于 1987 年正式确定,组织工程学也首次以一门新学科的形式得到权威性的确立。

组织工程学是应用生命科学和工程学的原理与方法,研究、开发用于修复、增进或改善人体各种组织或器官损伤后的功能和形态的一门学科。它能以少量种子细胞经体外扩增后与生物材料结合,修复较大的组织或器官缺损,重建生理功能,是符合创伤修复原则的生理性修复技术。组织工程的提出、建立和发展,改变了传统“以创伤修复创伤”的治疗模式,为

最终实现无损伤修复创伤和真正意义上的结构、形态与功能重建开辟了新途径。组织工程修复过程本质上是医学治疗原则在细胞水平的体现,以实现机体健康组织的永久性替代。人类基因组学与基因治疗的研究成果使组织工程技术在分子水平进一步得到发展。各种组织器官结构与功能的复杂性,要求组织工程超越细胞与分子水平,整体把握组织器官结构与功能的系统性。因此,组织工程不仅是在细胞水平和分子水平上构建具有生命力的生物体,同时也遵循系统生物学的原则,从形态、结构和功能上全面地、永久性置换和替代功能丧失或有障碍的组织器官。与传统组织移植或生物材料替代相比,组织工程的优点在于:①通过构建结构完整、功能完全、具有生命力的健康活体组织,对病损组织进行形态、结构和功能的全面重建;②所形成的组织在体内与机体正常组织整合良好,可对体内各种生物学刺激产生应答,并实现永久性替代;③以最少量的组织细胞(甚至可用组织穿刺的方法获得)经体外培养扩增后,修复体积较大的组织缺损,达到无损伤修复创伤和真正意义上的功能重建;④可根据组织器官缺损情况,构建相应形态与结构的组织,达到完美的形态修复。

应用组织工程技术构建组织工程化组织至今主要经历了三个发展阶段,代表了组织工程阶段性的发展历程。在20世纪80年代末至20世纪90年中期的第一阶段,主要进行了组织工程化组织构建的初步探索,证明了应用组织工程技术能够形成具有一定结构与形态的组织。至20世纪90年代中期,主要在免疫功能缺陷的裸鼠体内构建组织工程化组织,在此阶段成功构建了骨、软骨、肌腱等组织。其中,在裸鼠体内构建具有皮肤覆盖的人耳郭形态软骨的成功,标志着组织工程技术可以形成具有复杂表面结构的软骨组织,向人们展示了组织工程研究的广阔前景。但是,在裸鼠体内的组织工程学研究,不能全面反映机体与细胞、生物材料及组织工程化组织之间的相互作用,因此,组织工程的研究成果向临床应用过渡,必须先实现在具有完全免疫功能的哺乳动物体内构建组织工程化组织,修复组织缺损,重建组织功能,此即组织工程学发展的第二阶段。此阶段的大部分研究集中于20世纪90年代末期,几乎进行了所有组织器官组织工程构建的尝试,为临床应用积累了丰富的实际参数并奠定了理论基础。随着近二十年的飞速发展,目前组织工程已经进入了其发展最为重要的第三阶段,即组织工程的临床应用与初步产业化阶段。美国最新统计结果表明,目前专职从事组织工程研究的科学家已超过3000人,组织工程的高科技企业已有70余家,企业运行所需的年度费用已近60亿美元,并以16%的年增长率增加。截止到2001年初,在美国股票市场上市的16家组织工程高技术企业市值总额已达26亿美元。

组织工程概念的提出以及组织工程学的最终确立,顺应了生物医学发展多学科交融、渗透的发展潮流,吸收了生物学、现代医学、材料与工程学等多学科的最新研究成果,克服了传统医学组织器官创伤修复模式,将现代医学推向制造组织与器官的新时代。组织工程学的进一步发展又对细胞生物学、分子生物学、材料学等众多学科提出了更高的要求,乃至成为带动相关学科甚至生命科学整体发展的主要动力之一。

第二节 组织工程的基本原理与主要研究方向

组织工程技术的基本原理是将正常组织细胞吸附于生物相容性良好的生物材料上形成复合物,细胞-生物材料复合物通过植入体内特定部位,或者在体外一定环境条件作用下,

保持特定生理活性的细胞分泌细胞外基质构建组织结构、发挥特定生物学功能,同时生物材料逐渐降解吸收,形成新的具有特定形态、结构和功能的相应组织、器官,达到促进组织再生、修复创伤和重建功能的目的。组织工程的核心是建立由细胞和生物材料构成的三维空间复合体。因此,组织工程研究的方向主要集中于三个方面。

一、种子细胞研究

应用组织工程的方法再造组织与器官所用的各类细胞统称为种子细胞。种子细胞的培养是组织工程的基本要素,种子细胞研究的目的在于获取足够数量的接种细胞,同时保持细胞增殖、合成基质等生物功能并防止细胞老化。组织工程种子细胞主要有三个来源:①与缺损组织细胞同源的自体细胞,如应用自体软骨、皮肤、肝细胞等修复相应组织缺损。②组织特异干细胞,主要包括骨髓基质干细胞等具有多向分化潜能的多能干细胞及皮肤、肌肉前体细胞等具有定向分化潜能的专能干细胞。此类细胞经过体外分离纯化、诱导分化与基因修饰等技术,定向分化为其他组织类型的细胞,同时保持了干细胞可大量扩增、特异性基质合成与不易老化的特征。组织干细胞的应用扩大了组织工程种子细胞来源,对种子细胞的研究将是极大的推动。③由于胚胎干细胞独特的高度未分化特性以及所具有的发育全能性,即在适当条件下可以在体外培养增殖而不改变进一步形成全身各种组织器官的能力,因而在未来的组织工程种子细胞研究中占有重要的地位。胚胎干细胞将作为组织工程的“上游”研究,为组织工程的进一步发展提供技术储备。

二、组织工程用生物材料

回顾组织工程的发展历史,最具革命性的思路就是将生物材料的概念引入组织工程的研究中。生物材料为种子细胞提供了适合其生长和基质合成及发挥其他功能的生物学空间。生物材料支架的应用,克服了以往单一的细胞移植中细胞不易成活、基质合成能力低下等缺点,支架降解前为三维组织形成提供了临时的机械支撑,同时也是未来所构建的组织与器官的三维形态模板。用于组织工程种子细胞载体的生物材料以可降解材料为最佳,主要分为两类:一类是合成的生物高分子可降解材料,如聚乳酸和聚羟基乙酸等,目前的研究主要集中于材料的改性,以提高材料的生物相容性、减少材料降解后代谢产物的负作用等方面;另一类常用的材料主要包括经过特殊工艺处理的天然材料,如具有一定孔径与孔隙率的天然珊瑚、采用脱细胞技术制造的胶原、脱钙骨等,这类材料具有较好的组织相容性,但存在着力学特性较差、性质不稳定等缺点。

三、组织工程化组织构建及构建环境优化

根据所构建组织的结构与功能的不同,组织构建的研究主要可划分为两个领域:①结构复杂并具有不同代谢功能器官的组织构建研究,如肝脏、肾脏、心脏等复杂器官的组织构建;②结构较为简单,不执行或仅执行简单代谢功能的结构性组织的组织工程化构建研究,如

骨、软骨、肌腱、神经等组织的构建。根据种子细胞接种途径与组织形成环境的不同,组织工程化组织构建主要有三种方式:①体内构建,指种子细胞与生物材料复合后,组织尚未完全“成熟”时就植入体内,组织形成与生物材料降解在体内完成;②体外构建,即在体外模拟体内环境,应用生物反应器形成组织与器官;③原位组织构建,单纯植入生物材料支架于体内组织缺损部位,依靠周围组织细胞迁移并黏附于生物材料支架形成并再生组织,这种方式并非经典的组织工程概念。体内组织工程化组织构建,植入时因组织尚未完全形成而生物支架存在较多的孔隙,有利于周围组织液与营养物质的渗入,也有利于血管的长入,但因细胞外基质成分较少,细胞直接暴露于周围环境,抗感染能力差,因此,对植入部位创面要求较高。

组织工程的科学目标是在细胞水平和分子水平构建具有生命力的生物体,也即通过组织工程化的组织构建形成组织与器官,这是组织工程研究的最根本目标,也是组织工程研究的核心及具有重大应用价值的意义之所在。因此,组织构建的研究反映了组织工程整体的发展趋势。从组织工程的发展轨迹来看,经过近二十年的逐步调整,国际组织工程研究发展的重点已经由广泛地进行器官组织工程(如肝脏、肾脏等)、微囊化细胞治疗(胰岛细胞微囊)等,逐渐集中于结构性组织的组织工程研究,并在此基础上应用于体内组织创伤的修复。研究方向的集中主要是由组织工程的学科特点所决定的。组织工程在种子细胞、生物材料、组织结构组成等各方面复杂程度均较高,直接进行组织构建的条件尚未成熟。结构性组织的组织工程研究虽然相对简单,但在进行研究过程中遇到组织工程特有的问题,若不能给予很好的研究与科学解释,找寻到隐含其中的组织工程所特有的基本科学规律,不仅会影响结构性组织研究的进一步发展,而且会严重影响未来器官组织工程研究中所遇到的更加复杂的问题的解决。

在种子细胞方面,如何进一步拓展种子细胞来源进行组织构建,已经成为国际组织工程发展的焦点问题。成体干细胞(如骨髓基质干细胞、脂肪干细胞、神经干细胞等)在组织工程领域中的广泛研究与应用,代表了现阶段组织工程种子细胞的主要方向。胚胎干细胞是种子细胞的另一重要来源,具有体外无限增殖的能力和分化全能性,但应用胚胎干细胞尚存在伦理道德上的争议,这一问题的解决将使胚胎干细胞成为未来组织工程重要的种子细胞来源。然而,组织工程技术修复组织缺损不能仅局限于个体化治疗模式,应用诱导分化胚胎干细胞植入体内同样面临免疫排斥问题,进一步走向规模化治疗是组织工程未来的发展方向。探索同种异体干细胞或通用型种子细胞应用的可行性,将是解决组织工程种子细胞来源问题的重要途径。研究发现,骨髓间充质干细胞(BMSC)具有特殊的免疫调节功能。实验证明,同种异体 BMSC 可作为种子细胞构建组织工程化骨,并能修复异体骨缺损。解决胚胎干细胞免疫排斥问题的途径包括:通过体细胞核移植技术建立自体胚胎干细胞系,或通过孤雌生殖的方法建立通用型同源双倍体胚胎干细胞库等。核移植技术仍然是个体化的手段,无法达到通用型的要求。孤雌生殖技术是在没有精子参与的情况下卵母细胞经体外激活(物理或化学)形成孤雌胚,发育到囊胚期后分离内细胞团,建立具有同源双倍体核型的胚胎干细胞。在鼠和猴子中已成功地建立了同源双倍体胚胎干细胞系,并证明具有与正常受精卵胚胎获得的胚胎干细胞相似的分化全能性。

在生物材料方面,已经从单纯研究材料的组成、降解、相容性,发展到制备有机与无机结