

组织工程研究的进展*

王远亮 潘 君 蔡绍哲

(重庆大学生物工程学院, 教育部生物力学与组织工程重点实验室, 重庆 400044)

摘要 组织工程从提出到现在不过 10 年的历史, 但在世界范围内引起高度重视, 许多国家已将它列为“经济的新增长点”, 投入了相当的人力和财力进行研究, 成果斐然。我国也有相关的研究课题开始运行。第二届组织工程学会于 1998 年在美国召开, 会上发表了组织工程的最新研究成果。作为抛砖引玉, 总结了有关组织工程研究的进展, 并提出保证工程组织的功能化是值得深入研究的问题。

关键词 组织工程, 重建, 组织

学科分类号 Q954.6-33⁺ 1

组织工程是运用工程科学和生命科学的原理和方法, 从基本上了解正常和病理的哺乳动物的组织结构-功能关系, 并研究生物学替代物以恢复、维持或改进组织功能。在组织工程的发展中, 逐渐认识到它的三个组成部分, 并由 Reddi 在 1994 年提出^[1,2]。第一个, 也是最重要的组成部分之一是提供给应答细胞优化的胞外基质支撑体 (ECMs); 第二个组成部分是提供给应答细胞的分子信号; 第三个组成部分是触发组织形成的调节信号。如果组织工程实现了上述三个方面, 就可离体进行三维组织培养, 可望得到目标组织。常见的组织工程方法是从小块活体组织中分离细胞, 接种到细胞外基质上, 或在体外发育或移植入病人体内发育, 形成新的功能组织。

1 基质材料研究的深入

所有用于工程化组织的 ECMs 都有三个主要特征, 第一, 使细胞定位并传递到体内一特定位置; 第二, 形成并维持一定结构新组织的三维空间; 第三, 引导一定结构新组织的形成。研究者们常采用的基质材料有: 藻酸钠、胶原、聚氨基酸、 α -OH 酸聚酯等^[3]。天然材料如胶原、藻酸钠等, 具有潜在特殊的细胞作用优势, 但获得的量和材料性质的可变性有限, 且每批之间差异较大。相反, 合成材料易大规模生产, 易加工成特定微观结构、机械性质和降解时间要求的基质材料, 但合成材料的最大缺陷是缺少细胞识别信号。目前, 对基质材料的研究更注重它的结构、性能等^[3]。

1.1 材料内部结构

除了材料的整体轮廓应与原组织相同以外, 材

料的内部结构往多孔性方面发展, 这一方面有利于提高细胞接种的密度, 另一方面有利于细胞所需营养成分的供给和代谢废物的排放, 更重要的是有利于基质内血管和神经的生成^[3]。研究表明, 组织在不同孔径的基质材料上生长速度不同, 不同组织生长要求的基质最佳孔径也不同^[2], 常采用成型、挤出及溶剂浇注-粒子溶出的方法加工不同孔径的基质; 另外, 材料的表面结构也是研究的热点, 实验表明, 略粗糙的表面有助于细胞和组织的粘附及生长, 特别是均匀的平行槽表面, 采用照相平板术可制造这种平行槽表面^[4]。

1.2 材料的性能

一方面更注重它的降解性能研究, 作者认为基质的降解速度应与组织的生长速度吻合, 目前主要通过调节聚合物的分子质量、共聚改性、表面涂布等方法来调节; 机械性能也是很重要的因素, 基质材料作为组织的临时支撑, 必须足够承受体内的物理作用力并维持形成组织的空间, 常用交联改性方法或采用复合材料来增强基质的机械强度; 另外, 材料的表面基团在很大程度上影响了细胞的粘附、生长及功能的发挥, 掺入其他基质材料或改性表面基团, 如引入亲水基、小肽 (如 Arg-Gly-Asp) 等可促进细胞的粘附, 刺激细胞的特殊功能^[3]。

2 分子信号的应用——生长因子

肝组织的工程化时常加入一些趋肝性物质, 如胰岛, 它促进肝细胞的增殖和铺展, 而且浓度不同

* 国家自然科学基金重点资助项目 (19732003)。

Tel: (023) 65102508, E-mail: bio@edu.cqu.cn

收稿日期: 1999-06-29, 修回日期: 1999-11-08

作用不同, 在 500 个时达最佳. 骨组织工程时常加入骨形成蛋白 (BMP)^[5], 研究者分别采用骨形成蛋白和成骨细胞, 与羟基磷灰石形成共沉淀的金属板在体再生骨组织, 结果骨形成蛋白的骨再生能力更强. 研究表明, 组织再生过程加入不同生长因子的作用不同, 因此有必要优化^[6]. 通过在基质材料上偶联或通过药物缓释材料可将生长因子携带到组织^[7,8]. 另外, 为了使工程组织完全与身体整合, 引导它的血管化和神经化是必要的, 通过控制合成 ECMs 的孔率和孔径, 并掺入血管生长因子或移植内皮细胞可工程化血管网, 通过移植、管道引导及加入各种神经生长因子可再生末梢神经, 因此生长因子在组织再生过程是重要而必要的^[3].

3 调节信号的多样化

3.1 力学的介入

力学主要在两方面介入组织工程.

3.1.1 基质材料的力学顺应性: 基质材料作为再生组织的临时支撑, 在力学上必须顺应要求. 一般在生理承载条件下测试基质材料的力学性能, 判断材料的力学响应, 从而推断它的力学顺应性^[7], 这可作为基质材料筛选的一个标准.

3.1.2 力学介入细胞接种和培养过程: 采用动态接种的方式可提高细胞的粘附, 从而影响其生理状态, 研究者对多种动态接种方法进行了探讨^[9~11]; 另外在细胞培养时引入力学刺激信号 (如流动培养), 可有效地提高细胞的粘附、活性及分泌行为, 并启动特异基因的表达, 增强再生组织的机械强度, 有报道指出, 组织发育过程加入了机械刺激的工程腱的机械强度比无机械刺激的高^[12]. 作者在流动培养方面作了大量的工作, 研究的结果与报道一致^[3].

3.2 细胞-细胞之间的相互作用

研究表明细胞-细胞之间的作用可调节基因表达. 肝细胞之间界面的改变很大程度上改变了工程化肝组织的特异功能, 它只有在聚集时才表现出分化和生物学功能. 肝细胞与间充质细胞的相互作用也控制了细胞的生长、迁移及分化, 而且只有当肝细胞与间充质细胞的比例接近在体状态时, 肝的功能才接近生理水平^[13]. 由此看出, 了解细胞之间的作用很有必要. 本院已开始了这方面的研究, 并取得了一些有建设性的结果.

3.3 接种细胞的密度

在软骨组织工程中, 研究者们分别接种 5×10^6

$\sim 100 \times 10^6/\text{ml}$ 的软骨细胞, 然后将细胞-聚合物结合体移植入动物体内, 12 周后观察, 接种少于 $20 \times 10^6/\text{ml}$ 时, 仅形成了纤维组织, 接种量在 $20 \times 10^6 \sim 100 \times 10^6/\text{ml}$ 时, 产生了透明质软骨而没有纤维组织, 对组织的形态分析表明, 早期细胞-聚合物结合体中软骨细胞的密度与新生成的软骨成正比. 另有对主动脉平滑肌细胞接种的报道指出, 低细胞密度接种, 长时间培养可增加接种细胞的成活量^[2]. 因此对不同细胞还需作进一步考察^[14].

此外, 在工程组织的发育过程中, 常采用多种分析手段对组织的生长形态、细胞活性、分泌、粘附状况, 细胞骨架、细胞周期及基因表达水平等指标进行评价. 如肝组织生长过程主要采用 SEM (电镜) 及组织切片进行组织生长形态分析; 采用 DNA 定量可分析粘附在基质上的细胞量; 采用 MTT 染色可判断细胞的新陈代谢活性; 采用免疫组化和 RNA 原位杂交测试细胞的蛋白分泌量^[5,12]. 本院采用微管吸允技术对多种细胞的变形和粘附进行了大量的研究^[15,16].

4 发展与展望

从组织工程的进展可看出, 组织工程所采用的技术、条件正朝着使再生组织的发育条件与在体组织接近的方向发展, 试图提供给组织与在体接近的外部环境, 创造出与在体功能、形状接近的组织. 从现有文献的报道来看, 只注意到如何创造接近于在体的环境, 促使细胞的生长、分泌及组织的形态更好, 但组织工程的最终目的是形成可替代的组织, 也就是形成能行使正常功能的组织. 因此如何保证工程组织的功能化是值得深入研究的问题.

参 考 文 献

- 1 王远亮, 吴云鹏, 蔡绍哲, 等. 组织工程学及其进展. 高技术通讯, 1997, 7 (5): 59~62
Wang Y L, Wu Y P, Cai S X, et al. High Technology Letters, 1997, 7 (5): 59~62
- 2 Vacanti C A, Upton J. Tissue-engineered morphogenesis of cartilage and bone by means of cell transplantaton using synthetic biodegradable polymer matrices. Bone Repair and Regeneration, 1994, 12 (3): 445~462
- 3 Kim D S, Mooney D. Development of biocompatible synthetic extracellular matrices for tissue engineering. Tibtech, 1998, 16 (5): 224~230
- 4 Singhvi R, Stephanopoulos G, Wang D I C. Review: effects of substratum morphology on cell physiology. Biotechnology and Bioengineering, 1994, 43 (8): 764~771
- 5 Bruijn J D, Dekker R, Mendes S, et al. Bone tissue engineering on biomimetic apatite coated surface. In: Vacanti C A, Mikos A G, eds. The Second Br Annual Meeting of the Tissue Engineering

- Society. United States of American: Mary Ann Liebert Inc, 1998. 465
- 6 Kneser U, Kaufmann P M, Feigel H, *et al.* Pancreatic islet cotransplantation for hepatotropic stimulation: morphologic and morphologic evaluation. In: Vacanti C A, Mikos A G, eds. The Second Bi Annual Meeting of the Tissue Engineering Society. United States of American: Mary Ann Liebert Inc, 1998. 483
 - 7 Beitbart A S, Grande D A, Mason J M. Bone repair using cultured periosteal cells retrovirally transduced with BMP-7 gene. In: Vacanti C A, Mikos A G, eds. The Second Bi Annual Meeting of the Tissue Engineering Society. United States of American: Mary Ann Liebert Inc, 1998. 469
 - 8 Sacks M S, Gloeckner D G. A constitutive model for processed intestinal collagen layer. In: Vacanti C A, Mikos A G, eds. The Second Bi Annual Meeting of the Tissue Engineering Society. United States of American: Mary Ann Liebert Inc, 1998. 487
 - 9 Stock U A, Sodian R. Influence of seeding techniques on cell-polymer attachment of biodegradable polymers-polyhydroxyalkanoates. In: Vacanti C A, Mikos A G, eds. The Second Bi Annual Meeting of the Tissue Engineering Society. United States of American: Mary Ann Liebert Inc, 1998. 466
 - 10 Satoshi Kaihara M D, Stephen Kim M D, Mark Benvenuto B S, *et al.* Survival and function of co-cultures hepatocytes with non parenchymal cells or sinusoidal endothelial cell on biodegradable polymers under flow conditions. In: Vacanti C A, Mikos A G, eds. The Second Bi Annual Meeting of the Tissue Engineering Society. United States of American: Mary Ann Liebert Inc, 1998. 494
 - 11 Burg K J L, Holder W D, Culbertson C R. Selection of seeding methods toward enhances vascularization of porous absorbable constructs. In: Vacanti C A, Mikos A G, eds. The Second Bi Annual Meeting of the Tissue Engineering Society. United States of American: Mary Ann Liebert Inc, 1998. 494
 - 12 Kim B S, Mooney D J. Cyclic mechanical strain regulates the structure and function of engineered smooth muscle tissue. In: Vacanti C A, Mikos A G, eds. The Second Bi Annual Meeting of the Tissue Engineering Society. United States of American: Mary Ann Liebert Inc, 1998. 489
 - 13 Bhatia S N, Balis U J, Yarmush M L, *et al.* Microfabricated co-cultures of hepatocytes. In: Vacanti C A, Mikos A G, eds. The Second Bi Annual Meeting of the Tissue Engineering Society. United States of American: Mary Ann Liebert Inc, Tissue Engineering, 1998. 483
 - 14 Roland W D, Holder W D, Culbertson C R, *et al.* Optimizing cell time and seeding density on porous, absorbable constructs. In: Vacanti C A, Mikos A G, eds. The Second Bi Annual Meeting of the Tissue Engineering Society. United States of American: Mary Ann Liebert Inc, 1998. 497
 - 15 吴泽志, 邵开峰, 宋关斌, 等. 肝癌细胞在 IV 型胶原被衬表面的粘附特性. 中华医学杂志, 1999, 79 (5): 369~ 372
Wu Z Z, Shao K F, Song G B, *et al.* Natl Med J China, 1999, 79 (5): 369~ 372
 - 16 俞为群, 宋关斌, 吴泽志, 等. 不同细胞周期大鼠肝实质细胞癌细胞粘附特性研究. 生物物理学报, 1999, 15 (2): 431~ 435
Yu W Q, Song G B, Wu Z Z, *et al.* Acta Biophysica Sinica, 1999, 15 (2): 431~ 435

A Brief Introduction of Study on Tissue Engineering.

WANG Yuan-Liang, PAN Jun, CAI Shao-Xi
(*Biological Engineering College, National Laboratory of Biomechanics & Tissue Engineering of the State Education Ministry of China, Chongqing University, Chongqing 400044, China*).

Abstract Tissue engineering was brought forwards only ten years. It has gotten high recognition all over the world and has been regarded as “a new growth point of economy” by many country. They have invested a lot of money as well as people and have gotten a lot of harvest. In China, many research groups are doing the related studies too. The second biannual meeting of the tissue engineering society was held in Florida, USA and the newest results of tissue engineering research were delivered. Here summarized its research development and put forward that how to ensure the function of engineered tissue is a very important question.

Key words tissue engineering, reconstruction, tissue

三叶因子家族

口如琴 王 蔚 李令媛 茹炳根

(北京大学生命科学学院, 蛋白质工程国家重点实验室, 北京 100871)

摘要 三叶因子家族是一类具有特殊结构——P 结构域的蛋白质家族, P 结构域包含 6 个高度保守的半胱氨酸残基及精氨酸、甘氨酸、色氨酸和苯丙氨酸残基。半胱氨酸残基以 Cys1-Cys5, Cys2-Cys4, Cys3-Cys6 连接形成三个链内二硫桥。已发现多种含有 P 结构域的多肽, 其中最引人注目的是 TFF1/ pS2、TFF2/SP 及 TFF3/ITF, 在正常组织中其主要表达位点分别为胃基底和胃体 (TFF1/ pS2)、胃窦深部的小凹 (TFF2/ SP) 及小肠和大肠杯状细胞 (TFF3/ ITF)。TFF 可能具有维持粘膜屏障和促进溃疡治愈的功能。TFF 含有 α 折叠 (α -helix), β 片层 (β -sheet)。三叶因子家族多肽的作用机理仍处于猜测阶段, 现有与粘蛋白共同作用和与受体作用两种假说。