

组织工程面临的技术挑战与发展趋势

杜娟 王佃亮* 张艳梅 孙晋伟

(中国人民解放军第二炮兵总医院 北京 100088)

摘要 当前组织工程研究仍处于初级阶段,还仅仅是初步应用组织工程技术修复临床简单组织缺损,还有许多制约组织工程应用与发展的基本科学问题没有阐明。随着组织工程各个层面技术难题的逐个攻破,组织工程的内涵和外延将不断拓展,并有助于加快组织工程的产业化进程,促进临床应用。针对组织工程核心要素研究的不足,结合最新的组织工程研究进展,阐述了现代组织工程发展的趋势与前景。

关键词 组织工程 种子细胞 支架材料 组织工程生物反应器 工程器官

中图分类号 Q819

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 较为系统地提出了组织工程(tissue engineering)的概念,其含义为联合使用细胞、支架材料和生物活性因子以促进组织修复和再生方面的研究。迄今组织工程学虽然仅有二十多年历史,但由于其重大的科学意义、诱人的临床应用前景、巨大的商业价值,使世界各国科学家、企业家、政府官员都非常重视,成为再生医学的热门研究领域。目前利用组织工程技术构建的皮肤、软骨、骨、肌腱、角膜等组织已应用于临床,但组织工程化器官的构建仍然相对落后,组织工程的一些关键理论和技术亟待突破。

1 组织工程面临的挑战

1.1 种子细胞

种子细胞的来源、数量和质量目前依然是困扰组织工程发展的重要因素。组织工程的种子细胞可以来自自体、同种异体、或异种组织,也可以来自胚胎干细胞、成体干细胞、细胞系或转基因细胞系。自体来源的细胞由于具有体内移植后不引起免疫排斥反应的优势而受到研究人员广泛青睐,是目前研究最多的组织工

程种子细胞。然而,自体细胞作为种子细胞来源存在明显的局限性,如:自体组织因取材小而难以达到应有的细胞数量;在体外难以大量培养扩增并存在去分化现象;甚至,当自体细胞经过长时间体外培养再移植到体内后,仍有可能发生免疫排斥现象等。在自体细胞数量不足的情况下,同种异体的体细胞也是种子细胞来源的选择之一。但仍面临着来源不足以及配型问题。另一种种子细胞是来源于动物的异种细胞。由于人体许多组织都缺乏自身细胞供应,在这种情况下异种细胞也可能作为种子细胞来源。美国马萨诸塞州 Diacrin 公司开展了相关研究,希望获得异种“万能供体”细胞系,即通过去除或掩盖细胞表面识别“异体”细胞的蛋白质,以克服免疫排斥反应问题。但异种细胞进行体内移植也存在明显的限制,如容易引起动物源病原体向人体的传播、免疫排斥等。所以自体细胞和同种异体、异种细胞作为种子细胞来源都存在许多难以克服的限制性因素。近年来,科研人员开始将注意力集中到干细胞研究领域。

干细胞作为种子细胞的主要来源已经得到普遍认可。目前组织工程的干细胞来源主要有骨髓、各种成体组织(如脂肪、肌肉、皮肤)、妊娠组织(如脐带、卵黄囊、羊水)、着床前早期囊胚内细胞团(胚胎干细胞)、胎儿性腺(相当于胚胎干细胞功能的胚胎生殖细胞)、能

逆转已分化细胞成为具有干细胞特征的多能细胞提取物(如受精卵、未受精的卵母细胞或其他干细胞)、将经过重新编码的基因转入人皮肤细胞使其具有类似胚胎干细胞功能等。但干细胞作为种子细胞也不是没有缺陷,如胚胎干细胞体外培养时存在致瘤倾向以及伦理争议等^[1]。

1.2 支架材料

支架材料作为人工细胞外基质是组织工程研究的重要内容,它在体内组织再生过程中发挥的作用包括:在结构上加强缺损部位的强度;阻碍周围组织长入;作为体外接种的细胞在体内扩增和增殖的支架;利用与细胞整合素以及受体的相互作用,作为一种可能的细胞功能调节因子;作为细胞、生长因子和基因的生物载体。由于人体结构的复杂性,目前尚不能确定那一种材料是构建组织工程产品的最佳材料。随着组织工程研究的深入,支架材料的选择已由过去的就易取材转变为现在的选择取材,即根据特定应用所需要的性能来选择支架材料。早期组织工程使用的合成聚合物材料虽具有生物相容性、生物降解性,具有适宜的强度、弹性、韧性和多孔性,但这些材料对细胞无益处。例如很多研究者都采用 PLA、PGA、聚己内酯及其衍生物作为支架材料,主要是因为这些材料已被证明是安全的,它们的降解产物是普遍的代谢产物(乙醇酸或乳酸),并且已得到美国 FDA 的批准可用于体内植入,但这些材料与细胞不相容,仍需大力开发具有更好力学、化学、生物学性能及本体和表面性能的新材料。在二十多年中,已对合成高分子材料、钙磷类无机材料、高分子与无机材料的复合材料、生物源材料以及生物源材料与其他材料的复合材料等进行了大量研究,大多数在实验研究中都证明有良好生物相容性、适宜组织构建的理化性质和降解速率,但均未达到体内降解速率与新组织形成速率一致。有学者提出了一个具有参考价值的公式:即 $t_b/t_h = 0$, t_b 代表材料降解速率, t_h 代表新组织形成速率,其比值如果等于 1,则是理想的组织工程支架材料,若小于 1,表明材料降解太快,新组织尚未形成,达不到修复目的;若大于 1,表明材料降解太慢,阻碍新组织形成。虽已对组织工程支架材料进行了广泛研究,但均未发现一种材料能完全做到在材料降解的同时,发生同步化组织再生,这将是组织工程研究中需要突破的重要技术瓶颈之一。

1.3 组织工程生物反应器

组织工程生物反应器是安装了将营养物质、气体(如

O_2 、 CO_2)和代谢废物控制在适当水平的搅拌器和传感器的培养室,可在体外大量培养细胞,生产细胞产品或用于细胞本身扩增。现有组织工程生物反应器培养产生的细胞数量往往太少,或者产生的组织片常常比需要的薄。即使能够培育出足够厚的软骨片,一旦软骨生长超过了一定厚度,中心的软骨细胞就会离生长载体过远而吸收不到营养物质和气体,无法对生长调节的化学和物理信号做出反应,或者不能排去废物。

因此,现有的极少量组织工程反应器还不成熟,处于初级阶段,需要模拟人体组织器官的形态、结构和生理功能及组织器官再生机制,设计制作专门的组织工程反应器。当然,由于人体组织器官的结构较复杂、形态差别较大,组织工程生物反应器远比普通生物反应器难设计,也很难用一种组织工程生物反应器培养所有类型的组织或器官。

1.4 复杂器官的构建

从组织器官构建方式讲,组织工程可分为组织替代工程和组织再生工程。组织替代工程是由异体或异种细胞与免疫隔离膜一起来构建一种功能性组织器官,用以替代患者受损或缺失的组织器官。这种组织器官的构建体是由“生物体”和“非生物体”结合而成,称为杂合性人工器官(hybrid artificial organ)或称为生物性人工器官(biological artificial organ)。目前杂合性的肺脏和肝脏已经接近开发成功,有望不久实现产业化^[2-3]。虽然组织替代是具有现实意义的人体组织工程,但它与纯天然的人体器官还是有差距,无法完美地实现真正人体器官的生理功能。组织再生工程多由自体细胞借助可降解性生物材料支架及生长因子经分裂、增殖、分化以重新构建患者自己的组织。这一技术领域是当今人体组织工程发展的主流,发展也很快,例如组织工程皮肤、组织工程软骨等已在临床上应用。但是,这些产品绝大部分是比较简单的人体组织,复杂的人体组织或器官(如气管、胃肠等,具有不止一种组织类型)重建成功的报道还非常少。利用组织工程技术再生的组织或器官则安全有效得多,它将最终逐渐取代机械电子的人工器官。借鉴组织替代工程方法,运用组织再生工程的原理和技术使结构和功能极其复杂的胰脏、肝脏、脑组织得以再生和重建,还需要相当长的时间,然而这是今后组织工程发展的方向。

将来,随着复杂器官构建的成功,会诞生一门新兴学科——器官工程学。它以现有组织工程学为基础,并是更高级的学科。

1.5 工程化组织器官的植入

工程化组织器官植入患者体内后,早期只能从组织液中获取营养。有学者提出如下公式: $S = RL^2/DCo$ (R 为细胞代谢率, Co 为营养物浓度, D 为营养液扩散速率, L 为营养物质扩散到达细胞的距离)。如果渗出液中营养物质浓度、扩散速率及细胞代谢率不变,营养物质扩散的距离就成为细胞的生命线(S)。为使细胞获得更好的营养,必须使植入体紧密接触受体部位,理论上其距离应在 $100\ \mu\text{m}$ 之内。这就提示:大块的组织工程植入物有一部分细胞可能会死亡。任何促血管生长的方法都需要 $5\sim 7\ \text{d}$ 以上时间才能使植入细胞获得血液供应,在这段时间内,如果细胞能从组织液或添加外源性营养物质中获得足够营养,再加上支架材料的适时降解,依靠细胞的增殖、分化,仍能获得良好的组织修复与再生。为了解决这一问题,今后需要改进组织器官再生的工艺条件。比如,开发新型的三维立体细胞培养技术,或在体外培养时降低细胞的营养条件(如氧耗量等),使其植入后能够耐受相对长时间的低营养状态而继续保持正常的增殖、分化能力。

2 组织工程发展趋势

2.1 种子细胞

鉴于目前组织工程种子细胞存在的不足,今后发展应包括以下几个方面:第一,利用微创外科技术获取自体干细胞作为种子细胞。可由穿刺法获取骨髓间充质干细胞,通过定向诱导分化为所需要的功能细胞,用于构建组织工程产品,或直接用骨髓间充质干细胞治疗疾病。微创技术切取自体组织,分离培养细胞,再回植入受体修复组织缺损也是一个发展方向。这方面最成功的例子是美国 FDA 批准的通过关节镜技术切取少量非负重部位的关节软骨,由细胞公司培养扩增到需要的数量,再通过关节镜回植于有病变的关节软骨缺损区取得较好的临床治疗效果。用类似的技术可以分离培养成骨细胞、成肌细胞等用于治疗骨折不愈合及防止肌萎缩,达到个体化治疗的目的。

第二,建立免疫原性小并具有多种分化潜能的不同种异体组织工程种子细胞库。适合临床应用的种子细胞需要达到产业化要求,有必要建立标准化的种子细胞系,使研究工作有更好的可比性和科学性。自体细胞具有很多优点,但不能用于急症患者,也不能适应群体化治疗的需要。同种异体的间充质干细胞(如人骨髓间充质干细胞、人羊膜间充质干细胞、人脐血间充质

干细胞等)由于免疫原性小、不易被宿主免疫系统识别而具有自体细胞移植的优点,并且,间充质干细胞也具有多种分化潜能。为便于临床应用,可建立标准化的间充质干细胞库,作为种子细胞的稳定来源。目前,采用同种异体来源种子细胞的组织工程,已有少数组织细胞有望获得成功,如:软骨组织的组织工程培养等。

第三,安全有效的种子细胞培养扩增技术。模拟体内细胞生长环境,利用微载体、灌流培养等技术^[4],在生物反应器内大量培养扩增种子细胞,建立种子细胞高效高质量扩增的有效方法。利用各种高科技手段,增加细胞的增殖能力,延长细胞的生命期,提高细胞的分泌能力,并建立确保细胞质量的有效检测技术。

第四,通过延长细胞端粒长度等手段解决种子细胞长期体外培养时的老化问题。每一种组织细胞都有其特定的生命期,随着有丝分裂进行,细胞会出现老化,并逐渐凋亡。从组织工程产业化考虑,需要用同一个来源的细胞构建大批量组织工程产品,达到产业化。这就需要研究延长细胞生命期及连续传代的技术。正常细胞的生命期是由细胞的端粒长度决定的,如果能延长细胞端粒长度,就有可能逆转细胞老化及凋亡。端粒酶被认为是一种能延长端粒长度的核酸蛋白酶,由蛋白质和 RNA 组成。可以其自身的内源性 RNA 为模板,发挥 RNA 指导 DNA 合成的作用。向端粒末端添加(TTAGGG) n 序列,使端粒延长,就能延长细胞寿命^[5]。这一技术已经在成纤维细胞、成骨细胞、软骨细胞、成肌细胞中获得成功。这可能是同种异体细胞移植或进行组织工程化构建的一条可行途径。但细胞端粒长度也不能无限延长,应研究一种安全有效的调控机制,防止肿瘤化倾向,才能保证临床应用的安全性。另外,添加生长因子也可以调节和延缓细胞衰老,这也是在组织重建时要应用生长因子的一个原因。

第五,利用各种组学技术检测评价种子细胞及工程化组织质量。细胞对各种化学信号、细胞与基质黏附产生的物理应力的综合应答,以及细胞对内外环境空间/时间改变的综合应答决定细胞表型和功能,因此要在分子水平上研究物理、化学和生物学环境如何调控细胞组装成三维组织,并维持复杂群体发挥功能。确定能对工程化组织的细胞进行定性评价的生物标记物,用于评估细胞的生理状态(包括分化状态)、干细胞定性和研究细胞发展成功能组织的细胞内指导机制。利用基因组学、蛋白质组学、代谢组学的方法测定细胞或组织的功能状态,确定分子标签和组织功能之间的

相关性。

第六,干细胞工程技术的应用。干细胞工程是通过对间充质干细胞、胚胎干细胞、血管-造血干细胞、神经干细胞和皮肤、肌肉等前体细胞,进行体外分离纯化、定向诱导分化、转基因及核移植、大量扩增和整合构建,在体外制造人骨、软骨、肌肉、肌腱、瓣膜、脂肪、真皮、基质、神经、血管、皮肤、角膜以及造血和免疫等组织。它作为现代组织工程的“上游”技术,对未来的组织器官修复和替代具有极其重要的作用和深远的影响。基于干细胞技术的现代组织工程,在组织器官的细胞来源、细胞扩增与定向诱导分化、重构组织器官的种类、重构效率、重构组织器官的植入等方面,与传统的组织工程相比均有着明显的不同和优势。

此外,其他一些方面,包括优选不同组织来源的同一功能的最佳种子细胞、同种异体与异种移植的免疫学、细胞与人工细胞外基质的相互作用及影响因素等,也是今后组织工程种子细胞的研究方向。

2.2 支架材料

今后,组织工程支架材料的发展趋势是:第一,支架材料的降解吸收速率与组织或器官的再生速率相适应,降解吸收速率既不能太快也不能太慢。如果降解吸收速率太快,会起不到支架的作用,降解吸收速率太慢,组织或器官成熟后仍残留在体内,会诱发机体炎症反应。所以,需要通过专门的材料配比与设计来控制材料的降解吸收速率,使之与组织或器官的再生速率相适应。

第二,表面修饰与多孔性。当前有些支架材料与细胞间的亲和力及抗凝血能力差,其最大不足是聚合物基质表面没有细胞识别位点,需要对生物材料进行表面修饰,如用胎牛血清白蛋白修饰^[6]。为了进一步促进组织生长,用生物材料做成的支架应具有足够的表面积以供一定量的细胞贴附,解决这一问题的途径一般是应用多孔的支架材料,例如:在泡沫材料中,其孔径尺寸应适度,以利于细胞向孔内部生长,并且应保证孔之间的相互联合,以利于深层细胞与结构间的营养供应及废物排泄。在细胞外基质研究中,由于细胞是直接与生物支架接触,生物材料支架表面因其理化性质不同将影响细胞吸附、增殖、分化等一系列功能。对材料表面进行修饰分子生物学设计,制成携带生物信息的材料,将与细胞功能有关的物质,如酶、细胞因子、粘附蛋白等,固定在材料表面,促进细胞的定向分化、增殖和细胞间的信号传递以及细胞外基质的合成

与组装,从而启动机体的再生系统。多孔材料支架的好处是,有利于细胞渗透生长、细胞外基质分泌、血管生成和组织再生^[7-8]。

第三,支架材料的生物活性化和智能化。通过分子设计,制备合乎人体细胞外基质需要的、能对生理环境变化产生响应的、可在分子水平上激活基因诱导细胞组织分化从而实现器官修复和组织重建的新一代支架材料^[9-10]。

第四,支架材料内部的几何特性。为了出现理想的细胞分化,就必须存在具有促进细胞-基质和细胞-细胞间几何结构形成的物理特性的基质。从基质传导来的机械力的几何分布影响细胞的形状,甚至决定细胞是死还是活。所以,今后生物材料内部的几何特性将会受到越来越多的重视。

第五,制备精细结构的多孔支架。结构精细的多孔支架材料可以保证细胞在大支架内部能够正常迁移、生长和增殖,最终获得功能正常的组织^[11]。

第六,仿生纳米材料支架。利用纳米技术构建与人类天然组织相类似微环境的仿生纳米材料,研制适合细胞生长的纳米级三维聚合体支架,并对其表面进行修饰,使其具有黏附、识别、引导、诱导等作用,再生与人体组织器官相似的组织工程化替代组织^[12-14]。纳米技术是指在1~100 nm尺度范围内对物质材料进行研究和应用原子、分子结构特征及其相互作用的高新技术。纳米材料最大的特点就是比表面积大,导致其表面能和活性的增大,具有独特的小尺寸效应和表面或界面效应等,表现出许多优异性能和全新功能。它可以制成组织工程支架以及伤口包覆材料、功能性隔膜、人造导管等生物医用制品。纳米支架材料具有较高的表面与体积比,它可以大大增加细胞的黏附和生物相容性,从而可以增加细胞的迁移、增殖及分化功能利用纳米材料的生物医学特性,促进干细胞分化和组织器官的三维再生。

第七,具有生物电传导能力的聚合物支架材料。研制具有生物电传导能力的聚合物支架材料,这将有益于神经组织的生物工程化,包被生长因子、血管生成趋化因子将有利于组织的增殖、分化。这些快速成形的聚合物在可注射生物人工产品中是有用的,这些产品包括可用来填充断骨的产品。

第八,制造可生物降解且不会诱导瘢痕组织形成的新支架材料。这种新支架材料是组织工程的一个新兴领域,提出了许多挑战。目前用于组织工程支架的

材料主要包括合成材料和天然材料。合成材料的主要优点是强度、降解速率、微结构和渗透性均可在生产过程中进行控制,天然材料的主要优点是生物相容性好、更易于细胞附着。可以综合两类材料的主要优点来设计具有特别需要特性的新一代材料。例如,制造具有模拟特定组织天然细胞外基质生物活性区域的可生物降解聚合物,其中包含 RGD,即细胞外基质蛋白质纤维连接素的一部分。RGD 是用构成它的三种氨基酸即精氨酸(R)、甘氨酸(G)和天冬酰胺(D)的单字母缩写命名的。许多类型的细胞通常都通过附着到 RGD 而附着到纤维连接素上,包含 RGD 的聚合物能够为生长细胞提供更自然的环境,有助于减少疤痕形成。

2.3 组织工程反应器

根据组织工程实践,今后组织工程反应器的设计发展趋势是:第一,模拟组织器官在人体内的生物力学微环境。反应器的培养室需要模拟组织器官所处生理条件下的生物力学微环境^[15],培养细胞在三维立体空间中生长、分化,以使再生的组织器官具有较好的生理功能。麻省理工学院 Freed 等^[16]在生物反应器中利用三维聚合物载体培养软骨细胞。该载体相对疏松的结构和生物反应器的搅拌作用确保所有细胞均匀地附着于载体材料并得到营养物质的滋润。随着组织在生物反应器中生长,使其机械特性达到最佳将是极为关键的问题,因为许多组织在受到扩展、拉动或压缩作用时会做出反应,进行重构或改变它们的总体结构。例如,当组织工程软骨正在发育的组织暴露在流体作用力不断变动的转动器皿中进行培养时,它就会变得更大,从而包含更多的形成细胞外基质的胶原和其他蛋白质基质。基质是类似蜘蛛网的网状结构,作用是支撑细胞生长和构成组织。以这种方式培育的软骨,包含了细胞外基质蛋白质,从而使其更稳固,更持久,对外力更易做出生理反应。同样,加州大学圣迭戈分校的 Frangos 也揭示,在生物反应器中受到搅拌作用的珠状胶原载体上培育的成骨细胞比在平坦静止的盘中培育的成骨细胞形成更多的骨无机物。杜克大学的 Niklason 等^[17]证实,如果让组织工程小动脉的培养基产生脉动(类似于搏动心脏所产生的血压),那么这些由血管内皮细胞和平滑骨细胞构成的管状组织工程小动脉就能展现更接近于自然管的机械特性。

第二,应有检测控制各种关键培养参数的相应配套设施。反应器应有相应的各种配套设备,如支架材

料、精确控制的灌流培养装置和检测控制再生组织器官中某些关键性理化环境条件(温度、pH 等)、营养物质(如葡萄糖、谷氨酰胺、O₂ 等)浓度及代谢废物(如乳酸、NH₄⁺ 等)含量等的传感器^[18]。支架材料是细胞载体,可提供组织器官再生的细胞外基质环境。灌流培养装置可以保证培养的组织器官及时获得需要的营养物质及排除代谢废物,使组织细胞始终处于良好的增殖分化状态。各种传感器可以保证细胞始终处于适宜的生长发育条件。

第三,工程化组织器官的实时功能评价。开发高清晰度的非侵入成像技术,用来实时检测三维培养的工程化组织器官体内和体外的生理功能。

第四,预留血管神经发育的空间。反应器及其中接种了细胞的支架材料,应预留有血管、神经自然发育的空间,以利于形成有功能的复杂的组织或器官。

第五,健康动物机体反应器的开发。对于某些组织器官的再生,也可以借助于健康大型动物的身体作为反应器,也就是利用原位组织工程技术,其优势是无需对培养环境进行精细的控制,可以降低成本。

2.4 多学科交叉融合发展

组织工程产品的构建涉及种子细胞、生物材料支架、生长因子、产品的工程化设计、生物反应器及其控制,体内植入又涉及到免疫、新陈代谢、血液供应、神经支配、功能调节、生长发育及老化等问题,这些问题很难由一个学科、一个研究单位完成,需要材料学、细胞生物学、分子生物学、免疫学、组织胚胎学、发育生物学、临床医学(外科学)、生物力学、工程学、信息科学、计算机科学等学科的有机结合,共同攻关才能解决。在这一过程中,必然有知识的交融,极易容易产生新思想,这就为学科发展提供了一种新的机会。组织工程学就是在这种背景下诞生的一门新兴边缘学科,它是众多学科交叉融合发展的产物。组织工程学的研究可以带动一个国家多种相关交叉学科甚至生命科学的整体进步,并促进相关高技术领域的交叉、渗透和发展,演化或派生出新的高技术产业,与此同时组织工程学的研究与发展又需要吸收相关学科的最新设备及研究成果,需要不同领域的科学家共同合作。实际上,多学科的交叉与融合已成为组织工程发展的重要趋势。

2.5 组织器官的个性化设计与制造

随着计算机在现代医学及口腔医学中的不断发

展,三维激光扫描测量技术结合 CAD/CAM(计算机辅助设计/计算机辅助制造)为临床快捷而逼真地制作义耳提供了可能,而这正是真正意义上的个性化组织器官设计与制造。

如何在非接触条件下精确地采集组织器官的三维数据,这一直是人们期待解决的问题。激光三维扫描仪较好地解决了这一问题,它是目前国际上较先进的获取软组织数据技术之一。非接触三维测量技术是研究物体特别是软组织表面形态的基础,其主要根据激光三角测距原理。在三维扫描仪中设计了一个装配有激光二极管和线阵列光电偶合组件 CCD 的旋转框,该旋转框在沿头颅做圆周运动的同时可沿长轴做精细的轴向运动,准确地采集出颜面部各点的三维信息,并通过计算机进行数据转换,三维重建和测量分析。经过运算,计算机可以显示出能任意方向旋转、逼真的颜面立体形体图,颜面等高线图,颜面部横剖面 and 纵剖面图,两侧轮廓的重叠图及颌面表面形态高程图。目前,这种技术已应用于颜面部的测量。在激光扫描用于头面部测量时,使用一种低能量系统($<0.00008\text{ w}$),照射时间少于 0.2 s ,对视力无影响。三维激光测量术是目前国际上最先进的软组织测量技术,它具有精度高,抗干扰能力强,立体重构快捷,逼真,适用范围广,对人体无害等优点,是今后颌面部软组织测量方法的主要发展方向。

这种方法是真正意义上的软组织三维重建,可以把患者面部皮肤质地显示于重建的三维立体模型之中,极为逼真,且模型可以在计算机中旋转和放大,并且可以进行三维测量。

微型模块技术也会成为组织构建中的一种有效方法。近年来体外组织构建领域最重要的进展就是,促进细胞微型化技术方面的发展。这些被用于半导体工业以生产计算机芯片的技术,使我们可以精确地将细胞定位于某表面的特定位置。

3 未来前景

虽然总体而言,组织工程的开发研究还处于初级阶段。因为目前仅仅是走通了应用组织工程技术修复临床简单组织缺损这条路,还有许多制约组织工程应用与发展的基本科学问题没有阐明。除了要拓展种子细胞来源,加快组织特异性材料的开发,研制特定组织生物反应器,以及探索复杂器官的重建以外,还必须开展组织工程基础问题的研究。如:工程化组织在体外

或体内形成过程中的演变规律;这些演变规律与正常组织发育、再生及创伤修复等的异同;影响工程化组织形成与成熟过程的相关因素及作用机制等,这些问题涉及到组织工程技术临床应用的有效性、稳定性和安全性,只有系统地阐明组织工程化组织形成、成熟及体内转归过程中的一系列重要问题的内在机制,才能真正实现组织工程的临床应用与产业化。但是,与传统的自体或异体组织、器官移植相比,组织工程克服了以创伤修复创伤、供体来源不足等缺陷,将从根本上解决组织、器官缺损的修复和功能重建等问题。

目前组织工程已成为生命科学最具挑战性的前沿领域,标志着复制再生组织与器官时代的来临。组织工程为再生医学的崛起开辟了崭新道路。从移植组织器官到制造组织器官,组织工程理论与传统的治疗观念相比,是一个质的飞跃,具有划时代意义。

参考文献

- [1] Bongso A, Fong C Y, Gauthaman K. Taking stem cells to the clinic: major challenges. *J Cell Biochem*, 2008, 105: 1352-1360.
- [2] Nichols J E, Niles J A, Cortiella J. Design and development of tissue engineered lung: Progress and challenges. *Organogenesis*, 2009, 5(2): 57-61.
- [3] Sharma R, Greenhough S, Medine C, et al. Three-dimensional culture of human embryonic stem cell derived hepatic endoderm and its role in bioartificial liver construction. *J Biomed Biotechnol*, 2010, 2: 36-47.
- [4] Sailon A M, Allori A C, Davidson E H, et al. A novel flow-perfusion bioreactor supports 3D dynamic cell culture. *J Biomed Biotechnol*, 2009, 873-816.
- [5] Turner S, Wong H P, Rai J, et al. Telomere lengths in human oocytes, cleavage stage embryos and blastocysts. *Mol Hum Reprod*. 2010, 16(9): 685-694.
- [6] Danielsson C, Ruault S, Simonet M, et al. Polyesterurethane foam scaffold for smooth muscle cell tissue engineering. *Biomaterials*, 2006, (27): 1410-1415.
- [7] Gong Y, Zhou Q, Gao C, et al. *In vitro* and *in vivo* degradability and cytocompatibility of poly(L-lactic acid) scaffold fabricated by a gelatin particle leaching method. *Acta Biomaterialia*, 2007, (3): 531-540.
- [8] Rossello R A, Cell communication and tissue engineering. *J Commun Integr Biol*, 2010, 3(1): 53-56.
- [9] Mieszawska A J, Kaplan D L. Smart biomaterials-regulating cell behavior through signaling molecules. *BMC Biol*, 2010, 8: 59-65.
- [10] Hench L L, Polak J M. Third-generation biomedical materials.

- Science,2002, 295:1014-1017.
- [11] van Lenthe G H, Hagenmüller H, Böhner M, et al. Nondestructive micro-computed tomography for biological imaging and quantification of scaffold-bone interaction *in vivo*. *Biomaterials*, 2007, (28):2479-2490.
- [12] Xu Q, Lu H, Zhang J, et al. Tissue engineering scaffold material of porous nanohydroxyapatite/polyamide. *J Nanomedicine*, 2010,5:331-335.
- [13] Beachley V, Wen X. Polymer nanofibrous structures: Fabrication, biofunctionalization, and cell interactions. *Prog Polym Sci*, 2010,35(7):868-892.
- [14] Wei G, Ma P X. Nanostructured biomaterials for regeneration. *Adv Funct Mater*, 2008,18(22):3566-3582.
- [15] Freytes D O, Wan L Q, Vunjak-Novakovic G. Geometry and force control of cell function. *J Cell Biochem*,2009,108(5):1047-1058.
- [16] Freed L E, Guilak F, Guo X E, et al. Advanced tools for tissue engineering: scaffolds, bioreactors, and signaling. *Tissue Eng*, 2006,12(12):3285-3305.
- [17] Niklason L E, Abbott W, Gao J, et al. Morphologic and mechanical characteristics of engineered bovine arteries. *The Journal of the American Medical Association* 2001, 285(5):573-576.
- [18] Wang D L, Liu W S, Han B Q, et al. The bioeactor: A powerful tool for large-scale culture of animal cells. *Curr Pharm Biotechnol*,2005,6(5):35-41.

Challenges and Prospects of Tissue Engineering

DU Juan WANG Dian-liang ZHANG Yan-mei SUN Jin-wei

(The Second Artillery General Hospital, Beijing 100088, China)

Abstract Modern tissue engineering that can only repair simple tissue defects is still in the primary stage of development, in which many basic problems remain currently unknown. With these scientific problems gradually resolved, the definition of the term tissue engineering is also expanding, which can speed up the industrialization process of tissue engineering and promote the application of tissue engineering in clinic. The main problems and research progresses and future prospects involved in modern tissue engineering are reviewed.

Key words Tissue engineering Seed cell Scaffold material Tissue engineering bioreactor Tissue engineered organ