

讲 座

种子细胞
——组织工程 连载之三

王佃亮*

(中国人民解放军第二炮兵总医院药学部组织工程与再生医学实验室 北京 100088)

摘要 种子细胞也是组织工程的核心研究内容,获得足够数量和质量的种子细胞是开展体外组织工程的必要基础。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、同种异体或异种,在具体应用时各有利弊。一些成体干细胞由于不存在伦理争议以及发育分化条件相对简单等优势是重要的种子细胞,包括造血干细胞、骨髓干细胞、神经干细胞、脂肪干细胞、皮肤干细胞。人胚胎干细胞及其组织工程要真正在临床医学中得到应用,还有很长的一段路要走。其他一些细胞也可以作为组织工程种子细胞,包括内皮细胞、上皮细胞、成纤维细胞、骨细胞、成骨细胞、角质细胞、前脂肪细胞、脂肪细胞、肌腱细胞等。这些细胞已分化,分裂能力有限,但仍应用于组织工程。理想的种子细胞具有一定标准。

关键词 组织工程 种子细胞 体细胞 干细胞 自体细胞

中图分类号 Q819

种子细胞是组织工程三大核心内容之一^[1-3]。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。

1 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 (xenogeneous),在具体应用时各有利弊 (表 1)。

异体或异种细胞来源广泛,由于存在免疫排斥反应等问题,限制了临床应用。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以及长期传代后细胞功能老化的问题,并且,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 mesenchymal 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,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^[4-6]。

2 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有:(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)遗传背景稳定,具备特定生物学功能;(4)纯度高,具备特定功能的细胞占主导;(5)免疫排斥反应极小或无免疫排斥反应;(6)分子结构和功能与再生组织的正常细胞相似;(7)临床上易取得,供体损伤小,具有实用性。

满足这些条件,是种子细胞能够再生特定组织或

收稿日期:2014-06-19 修回日期:2014-06-25

* 通讯作者,电子信箱:wangdianliang@sina.com

表 1 组织工程种子细胞比较
Table 1 Compare of Tissue Engineering Seed Cells

来源	细胞类型	优点	缺点
自体	自体细胞	病人自己的细胞	需要临时采集
		不会发生免疫排斥	会给病人造成创伤和痛苦
			不适合自身干细胞或基因有缺陷的病人
同种异体	同种异基因细胞	细胞来自别人	不适合传染病患者
		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

修复特定组织缺损的重要保证。

3 种子细胞的种类

3.1 干细胞

用于组织工程的细胞包括干细胞以及其他一些细胞,但干细胞是最重要的组织工程种子细胞。按照发育阶段,干细胞分为胚胎干细胞和成体干细胞。相对于胚胎干细胞,成体干细胞由于不存在伦理争议以及发育分化条件相对简单等优势,是最具有临床应用价值的组织工程种子细胞。

3.1.1 成体干细胞 成体干细胞是人和动物成熟组织中存在的具有高度更新和多向分化能力并尚未分化的一些干细胞。体内研究结果显示,即使干细胞已经专门化,在某些条件下,它们的分化潜能可能比人们想象的还要大,例如:骨髓间充质干细胞可以在体外被诱导分化为 8 种以上类型的成熟细胞;将小鼠神经干细胞置入骨髓时可产生多种类型的血细胞;造血干细胞移植到脑内可转变为神经细胞等。从发生机制来看,干细胞所处微环境对干细胞分化的影响极为重要,干细胞分化依赖于—组相邻细胞相互作用的组合,细胞处于一种三维空间结构中,接受的分化信号也是三维的——干细胞分化受细胞-细胞、细胞-细胞外基质间相互作用以及机械作用力等多重因素的影响。组织中的干细胞可能并不直接分化成终末细胞,而是先分化成定向祖细胞,然后再经过多次的分裂后定向分化,进一步可准确无误地分化为有丝分裂后细胞及终末分化细胞。细胞因子在传递细胞与胞外基质之间、细胞与细胞之间的信息中起重要作用,这些细胞因子包括白细胞介素、各类生长因子、分化调控因子等。

成体干细胞主要包括造血干细胞、骨髓干细胞、神

经干细胞、脂肪干细胞、皮肤干细胞等。

造血干细胞(hemopoietic stem cell)是发现较早、研究最多、应用最广的成体干细胞之一,也是生成各种血细胞的原始细胞,又称多能干细胞(multipotential stem cell)。造血干细胞是造血细胞的“种子”,体内所有血细胞都由它分化发育而来,主要存在于骨髓、外周血、脐带血中。造血干细胞在一定的微环境和某些因素的调节下,增殖分化为定向干细胞(committed stem cell),即红细胞系、粒细胞系、单核细胞系和巨核细胞血小板系。造血干细胞最早是在胚胎卵黄囊壁的血岛生成,胚胎第 6 周,从卵黄囊迁入人肝的造血干细胞开始造血,第 4~5 月,脾内造血干细胞增殖分化产生各种血细胞。从胚胎后期至生后终身,骨髓为主要的造血器官。造血干细胞分化的各系、各级子代细胞,即造血干细胞分化的“时”、“空”上,均有特异的细胞表面标志,可以方便地进行细胞的分离和鉴定。造血干细胞的体外扩增和定向诱导分化在临床上用于重建长期造血免疫功能,除用于恶性血液病移植治疗外,还用于各种实体肿瘤,如乳腺癌、肺癌、肝癌、脑肿瘤等的辅助治疗,可能成为某些感染性疾病(如艾滋病等)患者免疫重建的主要措施。造血干细胞在合适条件下可以转变为肝细胞、神经细胞等血液系统以外的细胞,可能成为肝硬化、脑神经细胞退行性变等难治性疾病的移植治疗的种子细胞,为这些疾病的治疗开辟一条全新的治疗途径。由于来源广泛(从骨髓、外周血、胎肝等均可获取),造血干细胞(尤其是外周血干细胞、脐血干细胞)移植安全性好,在临床上倍受关注,有望取代骨髓移植。

间充质干细胞(mesenchymal stem cell)最初是由Friedenstein 等^[7]发现的一类成纤维细胞样细胞,易于贴附于塑料培养板表面,具有向骨、软骨、脂肪、肌肉及

肌腱等组织分化的潜能。在机体内间充质干细胞存在于胎盘、脐带、羊膜、骨髓、脂肪等许多组织中,尤以骨髓、脂肪中较多。

骨髓间充质干细胞具有向多种中胚层和神经外胚层来源的组织细胞分化的能力,这些细胞包括成肌细胞、肝细胞、成骨细胞、软骨细胞、成纤维细胞、神经胶质细胞、神经元、造血干细胞、基质细胞等,在两性霉素B和5-氮胞苷作用下,还可形成肌小管和肌腱。由于骨髓间充质干细胞移植具有不发生免疫排斥反应(或程度较低)的优点,用于中胚层和神经外胚层来源的组织损伤及退行性疾病的治疗前景很大。动物实验已证实,骨髓间充质干细胞单独应用可以较好地促进骨折愈合和软骨损伤的修复,通过体外培养使其覆盖于陶瓷支架或碳纤维网等再植人患处效果更明显。骨髓间充质干细胞体外培养,具有粘附于塑料培养皿壁的能力而易于分离,体外经过长期连续培养和冷冻保存后不会改变其分化潜能,植入体内后可在多种造血以外的组织如肺、骨软骨、皮肤等处定位和分化,并表现出相应组织细胞的表型。将骨髓间充质干细胞植入小鼠体内,发现其可向受损肌肉组织处迁移并参与新肌的再生。而将人的骨髓间充质干细胞植入大鼠的脑内,发现其分化为星形胶质细胞并较好的与受体组织整合。将流产胎儿体内的骨髓干细胞植入人为诱发病变的实验鼠肝脏内,发现干细胞在实验鼠体内渐渐长为肝细胞,病鼠肝脏恢复正常功能。骨髓间充质干细胞易于外源基因的导入和表达,可作为基因载体,从而将组织工程治疗和基因治疗有机的结合在一起。

脂肪干细胞(adipose-derived stem cell)是存在于人或动物(鼠、猪、犬、兔等)不同部位脂肪组织中的一种间充质干细胞,具有多向分化潜能^[8]。该细胞首次由Zuk等^[9]从人抽脂术抽取的脂肪组织悬液中分离获得,在相应诱导剂作用下,能分化成具有中胚层组织特殊标志的功能性细胞(脂肪细胞、软骨细胞、骨细胞、肌肉细胞、心肌细胞和血管内皮细胞),也能分化成内胚层细胞(肝细胞和胰腺细胞)以及外胚层细胞(神经元)。脂肪组织可能是机体最大的成体干细胞库,有可能彻底解决干细胞来源困难问题,所以脂肪干细胞研究很受重视。脂肪干细胞研究起步相对较晚,但在组织工程研究应用中具有很多宝贵优势,主要包括:(1)来源广泛,获取容易;(2)衰老、死亡细胞所占比率低;(3)扩增迅速,多次传代后遗传稳定;(4)可连续传代培养130代之多,有非常优越的体外增殖能力,完全可以满足临

床对种子细胞数量上的要求,甚至可不经体外扩增过程直接用于临床细胞治疗。Zuk^[9]从300 ml人脂肪抽吸物分离纯化出 $(2 \sim 6) \times 10^8$ 个成纤维细胞,经鉴定绝大多数细胞 $(85 \pm 12.8)\%$ 为间充质干细胞;(5)脂肪组织比骨髓中所含的间充质干细胞比率大,成纤维细胞集落形成单位试验表明,脂肪组织中干细胞数目至少是骨髓的500多倍;(6)脂肪干细胞作为基因治疗载体方面,能够对外源基因进行表达,转染后的脂肪干细胞诱导分化成脂肪细胞和成骨细胞,仍有外源基因表达,与载体结合后可作为基因治疗的有力工具;(7)脂肪干细胞体外培养条件要求较低,在不同厂家和批次的血清培养基中都能稳定的生长。人脂肪干细胞能够很容易地从外科切除术、肿大脂肪抽吸术和超声辅助的脂肪抽吸术中获得,用作各种骨、软骨、脂肪以及肌肉等组织的重建。脂肪干细胞是继骨髓间充质干细胞后组织工程种子细胞研究的又一热点。

利用间充质干细胞进行组织工程研究有以下优势:(1)取材方便,且对机体无害,间充质干细胞可取自自体骨髓,简单的骨髓穿刺即可获得;(2)间充质干细胞取自自体,由它诱导而来的组织在进行移植时不存在组织配型及免疫排斥问题;(3)间充质干细胞分化的组织类型广泛,理论上讲它能分化为所有的间充质组织类型,如:软骨、脂肪、肌肉及肌腱等。目前用于分离间充质干细胞的方法主要有:密度梯度离心法、贴壁筛选法和流式细胞仪分离法三种。

神经干细胞(neural stem cell)存在于胚胎和成人脑组织以及外周神经系统中,分别称为中枢神经干细胞和外周神经干细胞,其特征性生物学标志为神经巢蛋白。这类干细胞具有向神经元、星形胶质细胞和少突胶质细胞分化并表现相应形态学和电生理学特征的能力。大多数神经生物学家以前都坚定不移地确信:成人的脑有时能够通过制造存活的新神经元之间的新连接物来补偿损伤,但是它不能够修复自己。

1998年11月,瑞典Sahlgranska大学医学院的Eriksson和美国加州霍亚索尔克生物研究所的Gage发表了令人吃惊的报道:成熟的人脑确实定期地至少在脑的一个部位——海马产生神经元,海马是对学习和记忆都很重要的区域^[10]。这一发现表明人脑的确在成年期由神经干细胞分化产生新的神经元;这些神经干细胞分布在脑的一些部位,如海马、纹状体、齿状脑回、侧脑室脑腔壁(在嗅觉系统中产生新神经元)等处。从成年哺乳动物脑中分离出的干细胞,能在体外长期培

养并保持多向分化潜能。将体外培养、扩增后的神经干细胞注入成年大鼠的海马、小脑等处,可在海马、嗅球等处分化成与环境相对应的神经元细胞。从成年人嗅球部位分离到的神经干细胞,在体外诱导扩增后建立了持续性的干细胞系,表明成人的嗅球有再生的潜能,可作为移植神经干细胞的来源。在体外培养条件下,胶质细胞的前体在特定情况时可发生逆分化而形成多能神经干细胞,后者则可分化成为神经元细胞,这一发现为获得神经干细胞提供了又一新途径。从成年小鼠前脑分离出的干细胞输入丧失了造血功能的小鼠体内可以产生造血细胞,表明对神经干细胞并非只能产生神经细胞,有可能成为移植重建造血功能和临床输血治疗材料的新来源。成人脑组织中神经干细胞的发现,为治疗神经系统疾病,特别是一些退行性疾病如帕金森病、Huntington 病及脑萎缩等,提供了新的来源。

皮肤干细胞与皮肤具有极强的修复和再生能力直接相关。目前对皮肤干细胞的位置、种类和数量报道不一,但研究较多的主要有表皮干细胞(epidermal stem cell)和毛囊干细胞(follicular stem cell)。表皮干细胞存在于皮肤皮脂腺开口处与立毛肌毛囊附着处之间的毛囊外根鞘处。在表皮基底层,表皮干细胞呈片状分布。在没有毛发的部位,如手掌、脚掌,表皮干细胞位于与真皮乳头顶相连的基底层,其它有毛发的皮肤,表皮干细胞位于表皮脚处的基底层。表皮基底层中有的基底细胞为干细胞,目前体外分离、纯化表皮干细胞主要利用其对细胞外基质的黏附性来进行。正常情况下,大部分的表皮干细胞处于静息状态,只有部分干细胞脱离干细胞群落进入分化周期,维持皮肤的更新。毛囊干细胞是一种比基底部表皮干细胞增殖能力更强、分化方向更广的皮肤干细胞,定位于毛囊外根鞘中的隆突部。毛囊干细胞最重要的特点之一也是慢周期性,而且可以有无限多次细胞周期。一个完整的毛囊周期要经过生长期、退化期和休止期。在毛囊生长期时,位于隆突部的细胞可快速增殖,产生基质细胞,并分化出髓质、皮质和毛小皮等,之后毛基质细胞突然停止增殖,进入退化期。最后毛乳头被结缔组织鞘牵拉,定位于毛囊底部,在毛囊处于休止期时,通过毛乳头上移,使毛囊进入下一个循环。皮肤干细胞用于自体 and 异体移植治疗大面积烧伤、严重创伤、整形术后创面覆盖以及慢性溃疡等,已成为利用组织工程技术解决临床治疗中皮源缺乏问题的根本途径。

此外,胰腺干细胞、眼角膜缘干细胞等也可用作组

织工程种子细胞。胰腺干细胞是从胰导管分离获得的,并可在体外诱导分化为胰岛素分泌细胞。将鼠胰腺干细胞经体外诱导分化为成熟胰岛后移植到非肥胖型糖尿病模型鼠体内,可以缓解模型鼠对胰岛素的依赖。眼角膜缘含有丰富的干细胞,有人用自体眼角膜缘干细胞培养后形成的细胞层移植到患眼角膜表面,成功实现了眼表面重建。

成体干细胞是一种介于全能细胞和分化成熟细胞之间的中间体,是目前最具有临床应用优势的组织过程种子细胞,但利用成体干细胞作为种子细胞需要克服一些困难。第一,含量少、特异性标志不清楚是成体干细胞研究及临床应用的一大难点。由于缺乏特异性标志,仅从细胞形态和生长特征来分离干细胞不容易。虽然可以通过细胞周期缓慢、呈克隆性生长等特点识别成体干细胞,但利用这些特性分离培养成体干细胞不实用。成体干细胞分离的最好方法是单克隆抗体免疫分离法,利用单克隆免疫吸附能识别细胞类型或细胞谱系的表面抗原的特点,可以通过免疫磁珠筛选、流式细胞分离等方法将成体干细胞分离出来,而且其分离纯度和细胞活力都很高,这种方法已广泛用于各种成体干细胞的分离和纯化。第二,生长缓慢,扩增困难是成体干细胞研究及临床应用的又一大难点。可利用微载体、生物反应器及灌流技术解决^[11]。微载体配合灌流技术,可使贴壁细胞的培养密度达到 $10^7/\text{ml}$ 以上,是干细胞扩增的有利手段。

3.1.2 胚胎干细胞 胚胎干细胞(embryonic stem cell)是在胚胎发育早期囊胚(受精后约5~7d)内细胞团中未分化的细胞。整个囊胚含有约140个细胞,最外层是“滋养层”,由一层扁平细胞构成,可发育成胚胎的支持组织如胎盘等。囊胚中心的腔称“囊胚腔”,腔内一侧的细胞群是“内细胞团”(inner cell mass)。内细胞团存在着胚胎干细胞。

内细胞团在形成内、中、外三个胚层时开始分化。每个胚层将分别分化形成人体的各种组织、器官,如:外胚层分化为皮肤、眼睛和神经系统等;中胚层将形成骨骼、血液和肌肉等组织;内胚层将分化为肝、肺和肠等。按分化潜能大小,干细胞可分为三种类型:第一类是全能干细胞,具有形成完整个体的分化潜能。第二类是多能干细胞,具有分化出多种细胞组织的潜能,但失去了发育成完整个体的能力。第三类是专能干细胞,只能向一种类型或密切相关的两种类型的细胞分化。内细胞团中的胚胎干细胞就属于全能干细胞,是

已知分化潜能最广的一类干细胞,具有与早期胚胎细胞相似的形态特征和很强的分化能力,可以无限增殖并分化成为全身 200 多种细胞类型,从而可以进一步形成机体的任何组织或器官。

胚胎干细胞可以从早期胚胎桑椹胚或胚泡内细胞团的原始胚细胞(prodromal germ cell)中分离获得。在体外培养条件下,胚胎干细胞呈“巢状”生长。胚胎干细胞定向分化的尝试在动物中已取得了可喜结果,神经元细胞、造血细胞以及心肌细胞等已在体外获得。胚胎干细胞是“多能性的”,意思是说它们能够形成所有各种组织,在许多方面与内细胞群的细胞(体内所有的细胞之母)有共同之处,但又不是完全相同的。自 1981 年人们成功培养小鼠胚胎干细胞以来,现已相继成功建立了小鼠、金黄地鼠、猪、牛和恒河猴等多种动物的胚胎干细胞系;目前对小鼠胚胎干细胞向造血细胞、内皮细胞及肌细胞甚至神经细胞(神经元)的体外分化研究取得了可喜的结果,初步建立了一些体外诱导分化体系和发现一些特异的诱导分化物质。比如,近年来的研究发现,胚胎干细胞的多种功能是依赖剪切力的。剪切力作为一种调节因子,调节胚胎干细胞的基因表达。Kim 等提出了动态培养的概念,在旋转或震荡中培养,增加了细胞附壁的机会。研究发现,胚胎干细胞在流动培养下生长良好,血管胚胎干细胞被拉长,其长轴方向与流场方向趋于一致。在不同流动培养方式作用下,胚胎干细胞能适应剪切力递增式和阶跃式增加的作用,阶跃式增加剪切力更加方便,在流动培养中切实可行。

人胚胎干细胞及其组织工程要真正在人类医学中得到应用,尚需相当长时间。这是因为:第一,人们还不能有效地诱导胚胎干细胞向特定的细胞类型分化;第二,更困难的是,还不能有效地建立无免疫原性的胚胎干细胞;第三,胚胎干细胞在体外培养时有形成畸胎瘤的倾向,其安全性受到关注;第四,胚胎干细胞应用涉及到伦理道德方面观念的制约。但是,随着 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,美国食品药品监督管理局(FDA)批准了全球首例人类胚胎干细胞治疗临床实验,使胚胎干细胞应用于组织工程有了较为光明的发展前景。

3.2 其他细胞

除干细胞外,其他细胞也可以作为组织工程种子细胞,如:内皮细胞、上皮细胞、成纤维细胞、骨细胞、成骨细胞、角质细胞、前脂肪细胞、脂肪细胞、肌腱细胞

等。这些细胞已分化,分裂能力有限,但仍应用于组织工程,以下以血管内皮细胞为例进行简要介绍。

自 1978 年 Herring 等^[12]首先提出内皮细胞应用于组织工程设想以来,该技术在发展上经历了三个阶段:静脉内皮细胞单期种植;微血管内皮细胞单期种植;自体内皮细胞扩增培养种植。Muneret 等对动脉和毛细血管系统进行了研究,他们分别提取了主动脉、心耳毛细血管、动脉滋养血管内皮细胞在体外培养,发现三种不同来源的内皮细胞在组织形态学和内皮细胞标志物(CD34, VIII, Fc, Vlex, Lectin)表达上基本相似,但在功能表达上存在差异。主动脉内皮细胞具有最好的体外培养动力学表现,同时主动脉内皮细胞所形成的毛细血管结构比其他两种细胞形成的结构更稳定持久。所以主动脉内皮细胞被认为更适合成为组织工程的细胞来源,但是主动脉组织在临床难以获取,最终应用存在一定问题。

4 种子细胞的分离培养与种植

组织工程细胞技术可分为 3 类:(1)分别提取、分别培养、分层种植;(2)混合提取、分别培养、分层种植;(3)混合提取、联合培养、混合种植。

以构建含有内皮细胞和间质细胞的组织为例说明如下:在第一种方法中,取来新鲜组织,对内皮细胞和间质细胞分别提取,然后各自培养,种植时先种间质细胞再种内皮细胞。在第二种方法中,细胞提取时将内皮细胞和间质细胞一齐取下,体外将细胞分离,分别加以培养扩增,分层种植。在第三种方法中,两种细胞一并提取,不分离,联合培养,并一齐无序地种植到支架材料表面。至于哪种方法较好,目前尚无定论。

参考文献

- [1] Liu X Y, Chen J, Zhou Q, et al. *In vitro* tissue engineering of lamellar cornea using human amniotic epithelial cells and rabbit cornea stroma. *Int J Ophthalmol*, 2013, 6(4): 425-429.
- [2] Mungadi I A. Bioengineering tissue for organ repair, regeneration and renewal. *J Surg Tech Case Rep*, 2012, 4(2): 77-78.
- [3] Tang H, Wu B, Qin X, et al. Tissue engineering rib with the incorporation of biodegradable polymer cage and BMSCs/decalcified bone: an experimental study in a canine model. *J Cardiothorac Surg*, 2013, 8: 133.
- [4] Kang J W, Koo H C, Hwang S Y, et al. Immunomodulatory effects of human amniotic membrane-derived mesenchymal stem cells. *J Vet Sci*, 2012, 13(1): 23-31.

- [5] Sabapathy V, Ravi S, Srivastava V, et al. Long-term cultured human term placenta-derived mesenchymal stem cells of maternal origin displays plasticity. *Stem Cells Int*, 2012, 2012; 174328.
- [6] Chamberlain M D, Gupta R, Sefton M V. Bone marrow-derived mesenchymal stromal cells enhance chimeric vessel development driven by endothelial cell-coated microtissues. *Tissue Eng Part A*, 2012, 18(3-4): 285-294.
- [7] Friedenstein A J, Chailakhyan R K, Gerasimov U V. Bone marrow osteogenic stem cells: *in vitro* cultivation and transplantation in diffusion chambers. *Cell Tissue Kinet*, 1987, 20(3):263-272.
- [8] Estes B T, Diekmann B O, Gimble J M, et al. Isolation of adipose-derived stem cells and their induction to a chondrogenic phenotype. *Nat Protoc*, 2010, 5(7):1294-1311.
- [9] Zuk P A. Stem cell research has only just begun. *Science*, 2001, 293(5528):211-212.
- [10] Eriksson P S, Perfilieva E, Björk-Eriksson T, et al. Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nat Med*, 1998, 4(11):1313-1317.
- [11] Wang D, Liu W, Han B, et al. The bioreactor: a powerful tool for large-scale culture of animal cells. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 2005, 6(5):35-41.
- [12] Herring M, Gardner A, Glover J. A single-staged technique for seeding vascular grafts with autogenous endothelium. *J Surgery*, 1978, 84(4):498-504.

Seed Cells

WANG Dian-liang

(Tissue Engineering and Regenerative Medicine Laboratory, Department of Pharmacy,
The Second Artillery General Hospital, Beijing 100088, China)

Abstract Seed cell is another main research content of tissue engineering. To obtain enough quantity and quality of seed cell is necessary for research and application of tissue engineering. The seed cells for tissue engineering must have an ability of developing new tissue structure, which are mainly autologous, allogeneic and heterogenous and have different advantages and disadvantages when using. Some adult stem cells including hematopoietic stem cell, bone marrow stem cell, neural stem cell, adipose-derived stem cell and skin stem cell are important seed cells for no ethic disputes and relatively simple developing differentiation conditions, etc. Human embryonic stem cell and its tissue engineering still need a long way to go if they are applied in clinical medicine. Other cells can also be used as tissue engineering seed cells, including endothelial cells, epithelial cells, fibroblast cells, bone cells, osteoblast cells, horn cells, preadipose cells, adipose cells, tendon cells, etc. These cells are differentiated and have a limited ability of division but still applied in tissue engineering. Ideal seed cells have certain standards.

Key words Tissue engineering Seed cell Somatic cell Stem cell Autogenous cell