

# 组织工程学——现代生物生命科学的前沿

张涤生

(上海第二医科大学, 上海整复外科研究所, 上海 200011)

**[摘要]** 组织工程学是应用细胞生物学和工程学的原理研究和开发, 以达到修复和重建损伤的组织或器官的外形和功能的生物替代物的一门新学科, 是继细胞生物学和分子生物学后, 人类生命科学发展史上又一新的里程碑, 标志着医学将超越组织和器官移植的旧模式, 进入制造组织和器官的新时代, 将在 21 世纪中崭露头角。

文章简略介绍世界组织工程发展历史及各类组织和器官组织工程的研究现状, 并介绍我国组织工程科研工作开展的最新情况。目前组织工程已有了迅猛发展, 在不少方面已取得重大突破。由于其孕育的巨大科学价值及广阔的研究和应用前景, 因此加快我国组织工程的研究, 尽早地投入临床应用, 对我国医学科学事业和国民经济的发展具有重大意义。

**[关键词]** 组织工程; 可降解材料; 组织器官重建; 种子细胞

20 世纪生命科学领域中的二大飞跃, 是细胞生物学和分子生物学的出现和进展, 它们使人类对生命本质的认识达到一个前所未有的深度, 也使人类对健康、长寿和生命质量有了更高的追求。组织工程学作为生命工程的一项新进展, 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, 它标志着医学将走出目前组织移植和器官移植的范畴, 步入制造组织和器官的崭新时代。

现在临床上通用的组织移植途径有三种, 即自体组织移植、异体组织移植和人工合成代用品。

自体组织移植虽然不存在免疫排斥反应, 但必须牺牲部分自身正常组织为代价来修复病理或缺损组织, 是一种以创伤来修复创伤的治疗模式。

异体组织移植有二个致命缺点, 一是组织相容性, 所移植的组织或器官会受到受体免疫排斥反应而被排斥, 难以作永久性的替代; 二是供体组织和器官严重不足, 特别是肾脏肝脏等。

人工合成代用品近年来应用颇广泛, 但仍存在异物反应, 感染等风险, 或最终被排出。

因此, 如何从根本上解决组织、器官缺失和功能障碍问题, 一直是生命科学界积极探索的重大课题<sup>[1]</sup>。

随着生命科学以及物理、化学、材料学科的发展, 人们提出了一个新的生物医学概念, 即组织工程学。其基本原理和方法是将体外培养和扩增的高浓度组织细胞, 吸附于一种生物相容性好, 并可被人体逐步降解和吸收、排出的生物材料上形成复合物, 然后再将此细胞-生物材料复合物植入人体组织或器官的病损部位。它在体内细胞扩增繁殖, 而支架逐步降解吸收, 最终形成新的具有原来特殊形态和功能的相应组织或器官, 最终达到修复创伤和重建功能的目的<sup>[2]</sup> (图 1)。

组织工程学是一门多学科交叉的边缘学科, 除了具有细胞生物学、生物材料学、生物力学三大学科的支撑外, 还融汇了生物信息、生物化学工程、遗传学、生物电子以及计算机的原理和方法。因此, 组织工程学的深入研究必将促进这些相关学科交叉、渗透和发展, 同时还可能演化或衍生出新

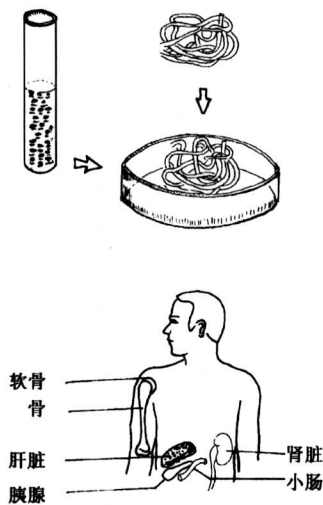


图 1 组织工程学示意图

Fig.1 Schematic diagram of the tissue engineering

的高技术学科。从这点来看，组织工程学将是 21 世纪具有巨大潜力的高科技产业之一，并将产生巨大的社会效益和经济效益，在人类医学发展史上树立新的里程碑。

## 1 历史回顾

组织工程的创建和发展不过是最近 20 余年的事。Green (1977 年) 曾试图将分离的软骨细胞移植于脱钙的骨支架中，以复制软骨，但以失败告终<sup>[3]</sup>。但这启示了必须要创制一种细胞传送装置 (Cell delivery device) 才能使移植细胞得以成活和繁殖。不少学者曾研究应用自然物质进行传送，但成功率不高。Wakitain (1989 年) 将软骨细胞移植于胶质支架中进行移植，可获得一定数量的细胞繁殖，并维持它在培养基中的显形 (Phenotype)，同时避免了细胞间变<sup>[4]</sup>。Itay 报告应用血浆粘胶作为赋形剂以修复软骨损伤，但仅得到有限成功<sup>[5]</sup>。胶原海绵亦被试用过，但结果仅显示新生的透明软骨和周围软骨间仅有脆弱的结合。

直到 20 世纪 80 年代，组织工程开始有了新进展。先是美国在 1987 年由国家科学基金会 (The National Science Foundation) 资助建立了一系列实验室；随后，日本、英国亦相继展开研究。目前美国已有相当数量的研究机构、大学以及企业都参与组织工程课题的研究，并取得了不少重大进展。创始人之一的 C. A. Vacanti 首先于 1988 年创用了

细胞分离和组织培养技术，并应用生物相容性好，有生物降解性能的合成材料，以求获得新生的软骨组织。1991 年他们在小白鼠皮下层，应用小牛软骨细胞移植于未经编织的缝合线材料聚羟基乙酸 (PGA, Vicryl) 制成的支架上，形成新的软骨组织<sup>[6]</sup>。1997 年我国留美学学者曹谊林在 Vacanti 的实验室中，首先在世界上应用生物材料塑型，细胞-生物材料复合体的体外培养，以及植入方法和技术改进，在裸鼠体内制成具有皮肤覆盖的人耳廓形态的软骨<sup>[7]</sup> (封面彩图)。这个成就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，展示了组织工程研究的广阔前景，被誉为组织工程学研究的一个新的里程碑。

## 2 各种组织和器官的组织工程研究概况

### 2.1 软骨的组织工程

软骨细胞的培养成功，作为组织工程第一种获得成功组织给未来组织和器官的培养移植和重建带来无限发展前景。Paige 等对可注射性生物材料作为细胞载体支架进行研究，将含钙藻酸盐水、凝胶与软骨细胞混合后，注入裸鼠背部皮下，可形成新的软骨组织<sup>[8]</sup>。这种材料和 PGA 相比，有操作较方便，可不经体外培养而直接将复合物注射体内的优点，但很难塑型是其缺点。此外，Puelacher 等在裸鼠体内进行鼻中隔和颞颌关节软骨盘的研究成功<sup>[9]</sup>。

### 2.2 骨骼的组织工程

目前骨骼的组织工程研究，主要集中在两个方面，一是组织诱导，二是细胞传输。组织诱导是应用一种多孔和可降解的支架来充填骨缺损部位。这种材料具有诱导和骨传导能力，能引发成骨细胞及该区域其他细胞长入，并吸附于支架上。随着基质堆积，骨组织逐渐形成，并重新塑型，这类物质主要有生物陶瓷和聚延胡索酰丙烯 (PPF)。细胞传输是将自体成骨或成骨细胞移植于一种具有传输细胞功能的物质支架上，可释放广谱生长因子以促进骨诱导和骨再生。其中以多聚  $\alpha$ -羟化酯为最有前途的细胞传输物。

Vacanti (1993 年) 等将小牛骨膜细胞种植于多层编织的 PGA 支架上，然后植入裸鼠体内，而形成新骨组织。但在观察成骨过程中，在最初几周中，先出现软骨形成最后才成熟而形成骨骼。这是

一个软骨化成骨过程。Kim 等采用软骨细胞 - PGA 复合物和成骨细胞复合物修复裸鼠颅骨 2 cm × 2 cm 缺损, 证明前者为软骨组织修复, 后者则为骨组织修复<sup>[10]</sup>。而单纯聚合物充填和未作任何充填的缺损, 均未见修复迹象。曹谊林等首次采用组织工程技术, 在裸鼠体内再生了带血管的骨组织, 并应用于修复骨缺损获得成功<sup>[11]</sup>。

### 2.3 肌腱的组织工程

在 20 世纪 70~80 年代, 各种人工代用品已早被试用, 如应用碳纤维材料作为支架, 它可以在体内被纤维组织替代, 但碳分子最后并不消失。近年来, 由 Dacron 诱导生成的纤维组织和疤痕组织或肉芽组织十分相似, 但可引致炎性异物反应。曹谊林等\* (1995 年) 将项牛肩、膝部的肌腱切下后, 经处理获得游离的肌腱细胞, 然后植入 0.4 cm × 0.4 cm 索条状、未编织的 PGA 网状支架上, 并植入小鼠皮下。结果在 6 周标本中, 支架四周显示排列着拉长的肌腱细胞, 中心部分显示较多的任意排列的肌腱细胞和细胞支架结构。在 12 周标本中, 从四周到中心, 已完全和正常肌腱细胞相同。生物力学测定, 存在有直线方向的牵引应力, 它随时间推移而增强, 8 周时达到相同口径的新鲜小牛肌腱拉力的 30%, 12 周时可达 57%。

### 2.4 肌肉的组织工程

应用组织工程技术进行肌肉组织的再生和重建, 将在治疗肌损伤、肢体瘫痪等症的治疗方面带来极大临床价值。对心脏、肠胃、泌尿系统的肌力修复亦有重要意义。

骨骼肌肉具有较强的再生能力, 但对心肌来说, 一旦受损就难以再生。这可能由于前者具有星状细胞 (Satelite cell) 之故。最近有人试验采用自体骨骼肌的星状细胞移植于心肌损害部分, 8 周后可形成新生心肌, 但 12 周后又趋消失, 故尚待继续研究<sup>[13]</sup>。

### 2.5 皮肤的组织工程

严重烧伤是一种多发性创伤, 我国的发病率颇高。大面积三度烧伤需要大量自体皮片覆盖, 但来源有限, 亟需开发人工代用品。“人工真皮”是应用组织工程技术制成的商品化真皮代用品, 它可诱导正常皮肤创面的愈合过程, 已成功地应用于大面积烧伤病人的暂时性创面覆盖和慢性皮肤溃疡的治疗。

Green 等将表皮细胞先在体外培养, 可将 1

cm<sup>2</sup> 表皮组织扩增到 10 000 倍 (相当于一个成年人的体表面积), 方法是将角质层细胞在一层可供营养物质, 经放射处理的 NIH/3T<sub>3</sub> 成纤维细胞上进行培养, 可快速增殖细胞。

另一种颇有希望的发展是应用新生儿的真皮 (包皮) 成纤维细胞, 在 PGA 织网上进行培养, 由于纤维母细胞易于冷冻保存和生长, 故可望得到均匀的细胞群落。在治疗大面积三度烧伤时, 可把这种细胞移植于创面上, 再在上面移植上皮细胞, 可望最终形成一层极似真皮层的机化组织。临床试用证明具有极好耐受性, 未见排异反应。目前市上出售的人工真皮 (Dermagraft-TC) 是用来治疗移植烧伤病人; Dermagraft-ulcer 则用以治疗慢性溃疡, 该产品可冷冻保存, 随时备用, 但价格昂贵, 不易推广<sup>[14,15]</sup>。

### 2.6 内脏器官的组织工程

内脏器官的组织工程是单纯组织工程外的另一个较复杂领域, 但其临床应用前景宽阔, 对医学未来发展具有划时代意义。目前已对肝脏、胰腺等器官进行实验性研究。肝脏组织工程是在 90 年代才开始的。肝细胞系统的研究目前集中在二个方面进行, 即体外系统和植入性应用系统。体外系统适用于肝功能正在恢复的病人, 或作为移植前的一个桥梁。它的优点是: 可以更好地控制细胞周围系统物质, 例如获得改善氧和营养物质及废物的交换运输功能; 更好地控制使用时间和应用阶段; 降低排异反应。

植入性肝细胞则有成为肝脏替代体的可能。如能将肝细胞正规地种植于人体, 则可以避免体外系统所诱发的血栓性并发症。目前试验方法是肝细胞植入一种附着于微孔支架、有包囊、可降解的聚合物载体上, 以制成人工肝脏。在这种设计下, 研究人员已在动物体上成功地生产可用来移植的肝细胞。此种新生肝细胞可以生产蛋白质及其他肝功能标记物, 及时清除胆红素和尿素代谢产物。所应用载体是一种多孔碳水化合物衍生基质聚苯乙烯 (Polystyreue) 海绵。此种多孔海绵载体可望培养出大量肝细胞<sup>[16~18]</sup>。

肝细胞组织工程的水平尚不能替代肝脏所有复杂的结构、形态和功能, 例如不能再造肝胆系统以蓄积胆汁, 以及复制胆管系统等。

\* 此项课题成果论文即将公开发表

胰腺功能消退或丧失迄今尚无重建和再生方法。应用组织工程技术给胰腺的康复带来希望。实验工作已经开始,初步结论是胰细胞必须放置于一层聚合物的膜囊中进行培养,以防止产生排异反应。目前各种实验方法正在进行中<sup>[19]</sup>。

除肝、胰等脏器外,目前肾脏、输尿管、尿道、食管、小肠、气管、血管、血液细胞等组织及器官的组织工程化研究亦已在世界各国取得一定的进展。

### 3 可降解生物处理的研究和开发

可降解高分子生物材料在组织工程研究中起着非常重要的地位,它也是未来实现组织工程产业化的关键,是组织工程研究过程中一个不可缺少的组成部分。这些细胞外基质合成材料(Extracellular Matrix, ECM)为种植细胞提供可控制的环境和生长条件,它应符合下述诸条件:表面能供细胞粘附生长;植入体内后,其降解产物不会引起炎症和毒性作用;能加工成三维结构;为了保证细胞-高分子反应能大面积进行,并提供细胞外再生的足够空间,并在体外人工培养时有最小的扩散;在完成组织再生后,高分子材料能很快地吸收,排泄;材料的降解速率应控制在与不同组织细胞再生速度相匹配。

目前应用最多的可降解材料有聚乳酸(Polylactic acid, PLA)和聚羟基乙酸(polyglucolic acid, PGA), PLA的异构体——L型聚乳酸(PLLA), D型聚乳酸(PDLA、PDLLA)等。这些材料可形成多种品种,如未经编织的单纤维合成材料,经编织的网状合成材料,均匀包裹的多孔海绵状材料等。但到目前为止,这些材料在生物相容性、理化性能,降解速率和缓释性等方面,尚存在许多问题,未能到满意解决,犹待继续研究和开发。

### 4 种子细胞的来源研究

种子细胞是组织工程的基本要素,大部分种子细胞在体外培养过程中,经过一段繁殖扩增后易趋于老化,从而丧失其分泌基质的功能,因而难以用少量的组织,经体外分离培养而获得大量组织细胞。故此,如何防止细胞老化和寻求广泛的细胞来源,是组织工程研究中首先要解决的一个问题。近年来种子细胞来源问题的研究进展较快,目前除自体组织细胞,异体组织细胞,以及异种组织细胞

(特别是猪)来源外,以人胚胎干细胞(Stem cell)作为组织工程研究中的种子细胞来源正日益受到重视。胚胎干细胞具有四大特点:能大量繁殖并保持未分化状态;在一定条件下,具有三个胚层(内、外、中胚层)组织和细胞分化的全能性;易于进行基因改造操作;能够形成嵌合体动物从而成为联系细胞和个体间的桥梁。故被称为可以发育成人体任何组织和器官的全能细胞。1988年,美国已成功的建立了人胚胎干细胞系,并能在体外培养将胚胎干细胞诱导分化为造血干细胞,神经干细胞和心肌干细胞。目前研究重点放在胚胎干细胞的定向诱导分化,组织特异干细胞的分离、分选和扩增,种子细胞的老化规律、控制和延缓及防止功能老化,以及同种异体细胞系的建立等研究方面<sup>[20]</sup>。

### 5 我国组织工程研究的现况和前瞻

国内组织工程的研究和国外相比,起步稍晚,但近几年国家对组织工程研究给予了高度重视,并逐步加大研究经费的投入,使国内在组织工程领域的研究工作具有一定的规模,并呈迅速发展趋势。全国目前已有30余所大专院校、科研机构和中国科学院所属有关研究所,已开展了组织工程的研究,研究范围涉及临床医学、细胞生物学、分子生物学、高分子材料学、生物力学及其他相关领域。与国外差距正在逐渐缩小,在某些项目的研究方面已达到或超过国际水平。目前上海第二医科大学组织工程研究中心,在首席科学家曹谊林教授领导下,已在体外培养的软骨细胞,骨细胞如肌腱细胞功能老化规律和组织工程构造软骨、骨、肌腱、神经、角膜等方面开展研究,并取得了较大进展。在国际上首次采用组织工程技术,利用体外装置,制成了耳廓软骨和气管软骨,特别是高等动物自体组织工程化软骨的形成和再造,以及组织工程技术修复关节表面软骨缺损方面已取得重大突破。华西医科大学在杨志明教授领导下,多年来一直在从事组织工程化肌腱、骨和软骨方面的研究,并取得了较大科研成果。由杨志明主编的我国第一本《组织工程基础与临床》一书,已在今年3月出版,为普及和提高我国组织工程研究和早日投入临床应用作出了贡献<sup>[21]</sup>。第一军医大学以人毛发作为生物材料构成肌腱获得成功,并已申请了专利。此外,上海细胞生物学研究所、北京医科大学、中山医科大学

等已成功建立了人胚胎干细胞系, 上海市伤骨科研究所在国际上首先发现并提出了成纤维细胞具有成骨作用, 并在体外成功地建立了(皮肤)成骨型成纤维细胞库, 为间充质细胞原性细胞(成骨细胞, 皮肤成纤维细胞及软骨细胞)间相互转化中, 达到了长期维持细胞特异性表达的目的。在可降解性材料的研究方面, 不少院校生物医学工程技术中亦已取得了一批达到国际先进水平的成果, 建立了具有我国独立知识产权的高科技生物材料产业。

总之, 我国组织工程的研究, 目前已经形成积极进取后来居上的局面, 在研究工作中取得一系列可喜的成就。瞻望未来, 在国家有关机构重点扶持下, 将在 21 世纪初期崭露头角, 形成我国组织工程研究的优势和特色, 为早日投入临床应用奠定了扎实的基础, 为新世纪生命科学和医学革新作出重大贡献。

#### 参考文献

- [1] 张涤生. 组织工程学简介 [M]. 上海: 上海第二医科大学, 1997
- [2] Langer R, Vacanti J P. Tissue engineering [J]. Science, 1993, 260: 920
- [3] Green WT Jr. articular cartilage repair: Behavior of rabbit chondrocytes during tissue culture and subsequent allografting [J]. Clin Orthop, 1977, 124: 237
- [4] Wakitani S, Kimura T, Hirooka A, et al. Repair of rabbit articular surfaces with allograft chondrocytes embedded in collagen gel [J]. J Bone Joint Surg Br, 1989, 71 (1): 74
- [5] Itay S, Abramovici A, Nevo Z. Use of cultured embryonal chick epiphyseal chondrocytes as grafts for defects in chick articular cartilage [J]. Clin Orthop, 1987, 220: 284
- [6] Kim W S, Vacanti J P, Cima L G, et al. Cartilage engineered in predetermined shapes employing cell transplantation on systemic biodegradable polymers [J]. Plast Reconstr Surg, 1994, 94: 233
- [7] Cao Y L, Vacanti C A, paige L G, et al. Transplantation of chondrocytes utilizing a polymer-cell construct to produce tissue-engineered cartilage in the shape of a human ear [J]. Plast Reconstr Surg, 1997, 100: 297
- [8] Paige K T, Cima L G, Yaremchuk M J, et al. Injunctable cartilage [J]. Plast Reconstr Surg, 1995, 96: 1390
- [9] Puelacher W C, Wissner J, Vacanti C A, et al. Temporomandibular joint disc replacement made by tissue engineered growth of cartilage [J]. J Oral Maxillofac Surg, 1994, 52: 1172
- [10] Kim W S, Vacanti C A, Upton J, et al. Bone defect repair with tissue-engineering cartilage [J]. Plast Reconstr Surg, 1994, 94 (5): 580
- [11] Cao Y L, Vacanti J P. American Association of Plastic Surgeons (AAPS) 1995 Meeting, La Jolla, CA, 1995
- [12] Marelli D, Desrosiers C, el-Alfy M, et al. Cell transplantation for myocardial repair: An experimental approach [J]. Cell Transplant, 1992, 1: 383
- [13] Mansbridge M. Proceedings of the 2nd Annual Conference on Cellular Engineering, San Diego CA, 1995
- [14] Bid D E, Selby J V, Sinnock P, et al. Lower-extremity amputation in people with diabetics [J]. Diabetics Care, 1989, 12: 24
- [15] Lum Z P, Krestow M, Tai I T, et al. Xenografts of rat islets into diabetic mice [J]. Transplant, 1992, 53: 1180
- [16] Mooney D T, Hansen L, Vacanti J P, et al. Switching from differentiation to growth in hepatocytes: Control by extracellular matrix [J]. J Cell Physiol, 1992, 151: 497
- [17] Yarmush M L, Toner M, Dunn J C, et al. Hepatic tissue engineering: Development of critical technologies [J]. Ann N Y Acad Sci, 1992, 665: 238
- [18] Sullivan S J, Maki T, Borland K M, et al. Biolhybrid artificial pancreas: Long-term implantation studies in diabetic, pancreatectomized dogs [J]. Science, 1991, 252: 718
- [19] Van der kooy D, Weiss S. Why stem cells [J]. Science, 2000, 287: 1439
- [20] 杨志明主编. 组织工程基础与临床 [M]. 成都: 四川科技出版社, 2000

(下转第 32 页)



## Rational Distribution of Water Resources of North China and South-to-North Water Diversion

Pan Jiazhen

(*Chinese Academy of Engineering, Beijing 100038, China*)

[**Abstract**] According to the present status of China's water resources and the needs of sustainable development, it is imperative and possible to carry out the south-to-north water diversion project, that is to divert water from the Yantze River valley, which has plentiful water resources, upward to the north part of China.

The principle of south-to-north water diversion should be as follows: Establish the society of water-saving, do not supply water according to the "exaggerated needs"; distribute water rationally, and pay attention to tapping the potential; the east and west water diversion routes are existing side by side and playing a part together, not irreconcilable to each other; make budget estimate in a practical and realistic way, avoiding endless supplementary budgets; the partial and local interests must be subordinated to the interests of the whole, and the temporary interests, subordinated to the long-term ones; implement unified management, scientific allocation and the charging system for use of water resources; to divert water from the southwest region is not realistic, better to put off.

[**Key words**] water resources; sustainable development; south-to-north water diversion

---

(Cont. from p.25)

## Tissue Engineering: Leading Edge of Modern Bio-life Science

Zhang Disheng

(*Shanghai Institute of plastic & Reconstructive Surgery,  
Shanghai Second Medical University, Shanghai 200011, China*)

[**Abstract**] Tissue engineering, applying the theories of cell biology and engineering, is a new scientific field to study and develop biologic substitutes for repairing tissue defects and restoring organ function. Succeeding cytobiology and molecular biology, it is a new mile stone in life science, marking that in medical science we will step into a new era-*fabricating tissues and organs for transplantation*.

This paper discusses briefly the historical development of tissue engineering, the status of researches in different kinds of tissue and organ, and present development and achievements in tissue engineering in China.

Due to its great scientific value and wide applying prospect, tissue engineering is becoming the central point in life science research in the 21 st century. Accordingly, establishing and developing tissue engineering enterprise as soon as possible is of great significance in accelerating medical science and national economy development.

[**Key words**] tissue engineering; degradable material; reconstruction of tissue and organ; seed cell