

·学科进展与展望·

再生医学——机遇与挑战

王正国*

(第三军医大学野战外科研究所,重庆 400038)

[摘要] 本文对再生医学中的组织工程、细胞和细胞因子治疗、基因治疗和微生态治疗等内容作了介绍,探讨了再生医学领域的一些科学问题,指出再生医学已进入了一个新的时代,充满了希望、机遇和挑战,如何把握好这个难得的机遇,迎接这一挑战,需要我们认真思考和研究。

[关键词] 组织工程,细胞因子,基因治疗,微生态治疗

再生医学(Regenerative Medicine, RM)有着很悠久的历史。原先指体内组织再生的理论、技术和外科操作。现在,其内涵已不断扩大,包括组织工程、细胞和细胞因子治疗、基因治疗^[1,2]以及微生态治疗^[3]。

组织工程学(Issue Engineering, IE)是20世纪80年代后期提出的一个新概念,它是以细胞生物学和材料工程学相结合,进行体外或体内构建组织或器官的一门新型学科^[4]。

国际再生医学基金会(International Foundation Regenerative Medicine, IFRM)明确把组织工程定为再生医学的分支学科,但很多情况下,两者常混用^[5]。

1 组织工程研究

组织工程被认为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,也是一场意义深远的医学革命^[1]。

组织工程最初是用来描述组织体外构建的有关理论和技术。现在,其内涵也在不断扩大,凡是能引导组织再生的各种方法和技术均被列入到组织工程范畴内,并已广泛用于体内组织再生和体外的组织重建^[6]。

组织工程的科学意义不仅在于提出了一个新的治疗手段,更主要的是提出了复制组织、器官的新理念,使再生医学进入了一个新的时代,面临重大机遇

与挑战,如何把握好这个难得的机遇,迎接这一挑战是我们要认真思考和研究的问题。

第一位提出“组织工程学”这一术语的是美籍华裔学者冯元祯(Y. C. Feng)教授,1987年美国国家科学基金会根据冯教授的建议,正式采用“组织工程学”这一术语来描述这一新兴的领域,并正式建立了这门新学科^[2]。

组织工程的基本原理是从机体获取少量活组织,将功能细胞从组织中分离出来并在体外进行培养扩增,然后与可降解、吸收的三维支架材料按一定比例混合,植入体内病损部位,生物材料在体内逐渐被降解和吸收,植入的细胞在体内增殖和分泌细胞外基质,最后形成所需的组织或器官,以达到创伤修复和功能重建的目的。

以往强调,要有种子细胞和生物材料两者同时介入以进行组织构建和再生才算是组织工程;现在不少学者提出,仅用生长因子或转基因载体与生物材料复合就可达到组织工程化构建的目的,因此也属组织工程^[7]。

从外科学的发展历程来看,先后经历了3个“R”阶段,即切除(resection)、修补(repair)和替代(replacement)^[8]。组织工程学的出现,意味着外科学已进入“再生医学”(Regeneration Medicine)的新阶段,是第4个“R”。

1.1 我国的组织工程研究

我国的组织工程得到了国家有关部门的大力支持

* 中国工程院院士。

本文于2006年1月9日收到。

持。20世纪90年代已有不少单位开展了组织工程的研究。1999年把“组织工程的基本科学问题”列入国家重点基础研究发展规划(“973”)项目,首席科学家为曹谊林教授。

先后出版了《组织工程基础与临床》、《组织工程》、《组织工程学理论与实践》等专著,举办了多次专业会议,学术空气十分活跃。

国外仍主要集中在体外研究,而我国用大动物模型构建了各种组织工程化组织,这方面的研究水平处于国际领先地位^[2]。

在临床应用方面,国内已开展了部分工作,如成都华西医院杨志明教授领导的组织工程实验室于1997年7月至2002年6月间,运用组织工程已成功修复重建骨缺损52例,肌腱、韧带21例,治疗肌病11例,大多取得了不同程度的满意效果。

《经济日报》2005年3月19日报道,一项“863”攻关课题——组织工程皮肤(第四军医大学金岩教授牵头)近期已通过国家食品药品监督管理局(SFDA)规定的临床试验,现已完成160例皮肤移植的实验,全部获得成功,其产品质量已达国际先进水平。与美国Organogenesis公司产品比,成本更低(1/6),保存时间更长(美国:1周;中国:3个月),治愈能力更强。

1.2 组织工程需要研究的科学问题

(1) 种子细胞^[1,2,6]。(i) 自体细胞:可来自自体组织,分离培养功能细胞;也可由骨髓培养的间充质干细胞,再定向诱导分化为所需的功能细胞。优点很多,但操作费时,需经过分离、培养、扩增、鉴定,并与人工细胞外基质联合培养一段时间才能植入人体,因此对急症手术的组织修复或恶性肿瘤切除后修复不适用。老年人自体细胞的增殖能力差,形成新组织相对较低。研究自体细胞简易培养、扩增技术,使其能在短时间内获得足够数量和功能很强的种子细胞,并能降低成本,则临床应用价值会更大。(ii) 同种异体细胞:经基因改造,建立无瘤倾向的标准细胞系才能进行产业化生产。胚胎来源的同种异体细胞优于成体细胞,但需降低其抗原性(如应用免疫隔离技术等)。要保证临床应用的安全性,其致瘤性、遗传物质的改变等应做出长期评价。目前尚无经过基因改造的细胞用于组织工程临床。(iii) 胚胎干细胞(ESC):要研究ESC形成组织的微环境及条件;ESC定向分化功能细胞的条件及调控;ESC形成组织的功能状态及最后结局;应用ESC细胞的社会伦理等。(iv) 异种细胞:目前研究较多的是猪,必须

解决排斥反应问题。

(2) 细胞培养技术^[1,2,6]。(i) 快速扩增细胞的形态、功能检测:要确认经快速扩增后仍能保持原代细胞的形态和功能时才能用于构建组织工程产品。(ii) 生长因子应用:生长因子在体内的促增殖、促分化作用是由自身调节机制控制;在体外如何调控?生长因子作用后细胞遗传物质是否会发生改变,临床应用给药途径及安全性等问题,都要进一步探讨。(iii) 细胞生长与应力的关系:细胞在体外培养条件下,失去体内的力学环境,其形态、功能均会受到影响。对于什么样的应力,多大量的应力,应力作用的持续时间和方式,应力作用下细胞的改变等均需作深入研究。

(3) 支架材料^[1,2,6]。理想的支架材料应具备以下特点:(i) 生物相容性好;(ii) 可降解,其降解产物对人体无害;(iii) 有一定力学强度;(iv) 可塑型;(v) 材料降解速度与细胞的功能发挥尽可能相匹配;(vi) 材料本身具有引导或诱导组织再生的能力。目前所有支架均不完全具备上述要求,因此不仅要研究单一成分材料,更要研究复合材料及生物衍生材料。经去脂,去细胞、去抗原处理后,可能成为较好的细胞外基质用于临床。

(4) 细胞与支架材料的相互作用。细胞停泊在支架材料上,不仅是一种物理行为,而且还可能有生物化学、分子生物学、遗传性状的变化。细胞与支架材料的相互作用研究涉及分子水平、蛋白水平、基因水平的研究较少,而这正是临床应用安全性需要阐明的基础理论^[1,2,6]。

(5) 动物体内植入试验。要在有免疫功能的大小动物中进行体内植入试验,人和动物总是有差别,因此在获得确定的实验研究成果后,尽早临床试用^[1]。

(6) 临床验证研究。经政府批准,在确保安全、病人知情的条件下,作双盲临床试验,包括局部组织反应、全身反应、组织的愈合、再生能力、修复组织的功能状态、在人体内细胞与支架的结合、修复组织的远期结果等,对结果进行评估后,提出进一步完善实验研究计划^[1]。

(7) 检测及评价。美国FDA批准用于临床的组织工程皮肤已有检测方法及评定标准。因不同组织采用的种子细胞和支架材料不同,检测方法及评定标准也不同。我国应制订自己的标准,作为今后制订国际标准的基础^[1,2]。

(8) 产业化研究。我国规定组织工程产品属第

三类器械,对于组织工程产品的产业化,需研究标准化批量生产的工艺技术、产品的包装技术、贮存及运输技术、人体内植入前的复苏技术、植入人体后的长期监督技术等,还要熟悉审批手续,制定管理制度和相应的政策法规^[1]。

2 干细胞研究

我国有关干细胞的研究也十分活跃,国家科技部于2001年批准19项“973”项目,其中有两项为干细胞研究,一项是“胚胎生殖嵴干细胞的分化与组织干细胞的可塑性研究”,首席科学家为北京大学干细胞中心李凌松教授;另一项是“干细胞的基础研究与临床应用”,首席科学家为上海第二医科大学的盛惠珍教授。在同一年度、同一领域批准两项“973”项目,以往从未有过。近期,又出版了许多专著(如2003年科学出版社出版的《干细胞生物学》,裴雪涛主编,71.2万字),召开过多次学术会议,并在血液病等疾病的临床治疗上发挥了重要作用。

2.1 干细胞的应用前景

干细胞在细胞治疗、组织器官修复、发育生物学、药理学等领域有着广阔的应用前景^[9]。

(1) 作为细胞治疗与组织器官替代治疗的种子细胞。如骨髓间充质干细胞在体内能分化为肌肉细胞和神经细胞,为治疗肌萎缩、脑萎缩、帕金森病等退行性疾病带来希望。已从发育中甚至成年CNS组织中分离出神经干细胞,体外扩增培养后植入CNS损伤部位,可分化为神经元、星形胶质细胞、少突胶质细胞,为神经组织修复提供希望。

(2) 探讨胚胎发育的调控机制。生命最大的奥秘就是探讨一个受精卵如何发育成复杂的生命体,受精卵进入子宫后无法接近,因而人胚胎干细胞系的建立将有助于了解胚胎发育工程中不同时空的分化细胞间基因表达的差异,以及胚胎发育与分化的分子机制。

(3) 作为疾病基因治疗的载体。骨髓间充质干细胞易于外源性基因的导入和表达,可作为一种理想的基因治疗靶细胞。

(4) 利用胚胎干细胞体外整合外源性基因,研究基因功能;利用胚胎干细胞与基因定位整合技术,可将一些在发育过程中特定的基因敲除,进行基因缺乏的研究。

(5) 药物筛选平台的建立、药理研究与新药开发。干细胞经体外诱导,可用于药物筛选、鉴定,并有助于人类疾病细胞模型的建立及新药开发。

2.2 干细胞研究中未解决的科学问题

干细胞用于再生医学的研究已取得了较大的进展,但真正做到全面的临床应用,仍有许多科学问题需要解决,主要有以下几点^[9]:

- (1) 维持胚胎干细胞未分化状态的机制;
- (2) 干细胞定向诱导分化的调控机制;
- (3) 获得高数量和高浓度的分化细胞,为组织工程提供种子细胞;
- (4) 是否具有形成复杂器官的能力;
- (5) 用干细胞作替代治疗的移植排斥问题;
- (6) 临床应用的安全性;
- (7) 可塑性机制;
- (8) “归巢”(homing, 游离干细胞定向迁移过程)的调控机制;
- (9) 相关的伦理和社会学问题。

3 基因治疗

基因治疗分为经体外(*ex vivo*)和经体内(*in vivo*)两种^[2]。经体外指病人身上取出特定的病变细胞,将正常基因转入病变细胞,筛选扩增后移入病人体内,以达到治疗的目的。组织工程种子细胞的基因改造(延缓老化、促进增殖、促进干细胞定向分化等)多采用此法,如将骨形成蛋白-2(BMP-2)转入干细胞中以加强其成骨作用。

经体内指将病人的基因经遗传工程处理后,直接放在病人体内,如将含有骨缺损处细胞在迁移入生物材料后能自动摄取材料中的治疗基因,以达到体内完成基因转染的效果。

基因治疗最初用于治疗遗传性疾病,因需转基因的长期表达进行终身治疗,故难以达到要求。组织工程化组织构建所需的时间较短(约数周),故基因治疗相当适用。

4 微生态治疗

人类实质细胞数(含血细胞和神经元)平均为 10^{12} ,而皮肤上常驻的细菌数也大约是 10^{12} ,口腔内 10^{10} ,肠道内 10^{14} ^[10]。肠道内估计有1000种以上的微生物,还有许多微生物有待发现。肠道内主要有多种专性厌氧菌,包括类杆菌(bacteroid)、梭状菌属、乳酸杆菌属、埃希杆菌属、双歧杆菌属、酵母菌和其他微生物,它们共同存在,维持动态的生态平衡。

肠道菌丛与宿主间通过酶作用物的代谢交换和共同代谢,维持着紧密的相互作用和平衡关系。宿主内药物的蓄积,结局和毒性常受肠道菌丛的影响,

由此认为,人类肠道菌丛的活性是未来个体健康的必然组成部分。

现在越来越认识到,肠道菌丛作为影响人类和动物健康的一个因素,一旦失衡(如数量和品种的巨变、代谢障碍等)就会产生疾病,并影响组织的再生和修复,因此,有人将体内微生态平衡也列入再生医学范畴。

5 展望

组织工程学自学科建立以来,仅有20余年的历史,但其发展速度极快,研究范围不断拓宽,研究内容不断深入,现已在许多大动物身上成功构建了多种再生组织,有些(如软骨、人工皮肤)已作为产品上市。预计不久将有更多的组织工程产品问世。

但是,构建不同的具有正常生理功能的器官,特别是重要的生命器官,难度却非常大,甚至是否具有形成复杂器官的能力,目前还不清楚,所谓“生物科学人体时代”的到来,还言之过早。在今后相当长的时间内,再生医学(组织工程)将和替代外科平行发展,相互补充。

干细胞与癌症的关系:生长最迅速,最具侵袭力的癌细胞,其特征类似于干细胞。如果癌症的产生是由于干细胞出现差错,研究细胞的“干细胞特性”

将有助于我们早期发现并有效治疗肿瘤。

再生医学的发展还面临着伦理学问题,哪些是可以突破的?哪些是不应突破的?这些都有待我们在前进中逐步解决。

参 考 文 献

- [1] 杨志明. 组织工程基础与临床. 成都:四川科学技术出版社, 2000, 1—13.
- [2] 曹道林. 组织工程学理论与实践. 上海:上海科学技术出版社, 2004, 3—7, 111—160.
- [3] Nicholson J K, Holmes E, Wilson I D. Gut microorganisms, mammalian metabolism and personalized health care. *Nature Reviews Microbiology* 3, 431—438 (01 May 2005).
- [4] Langer R, Vacanti JP. *Tissue engineering*. *Science*, 1993, 260: 920—926.
- [5] International Foundation Regenerative Medicine gGmbH. (<http://www.regmed.org/foundation.htm>) (2005).
- [6] 杨志明. 组织工程. 北京:化学工业出版社, 2002, 1—7, 8—68.
- [7] Banadio J. *Tissue engineering via local gene delivery*. *J Mol Med*, 2000, 78: 303—311.
- [8] 黄萃庭. 我国外科的回顾与展望. *中华外科杂志*, 1991, 29: 659—661.
- [9] 裴雪涛. 干细胞生物学. 北京:科学出版社, 2003, 3—18.
- [10] Todar K. *The bacterial flora of humans*. Todar's online. textbook of bacteriology [online], (<http://textbookofbacteriology.net>) (2004).

REGENERATIVE MEDICINE — OPPORTUNITIES AND CHALLENGE

Wang Zhengguo

(Dept. 4 Research Institute of Surgery, Third Military Medical University, Chongqing 400038)

Abstract In this paper the author presented the definition and contents of regenerative medicine, including tissue engineering, cell therapy, cellulo-factor therapy, gene therapy and microecologic cure. In addition, the prospects and difficulties for clinical application of these therapies were also mentioned. It indicates that the regenerative medicine has come to a new era that is full of opportunities and challenge. How to face and treat this situation is an important thing and worth to discuss the question in detail.

Key words tissue engineering, cellular factors, gene therapy, microecologic cure