

·学科进展与展望·

生物制造工程的发展和趋势

颜永年 刘海霞 李生杰 熊卓 王小红

(清华大学机械系, 生命科学与医学研究院, 生物制造研究所, 北京 100084)

[摘要] 文中全面、系统地阐述制造工程前沿之一生物制造的内涵、定义和组成, 基于生物制造工程本身发展的不同阶段和过程对其主要研究方向和相应国内外研究现状进行了综述。此外, 从学科交叉、融合与发展的角度, 进一步指出了今后几年我国生物制造工程的主要技术发展方向。

[关键词] 生物制造, 研究现状, 细胞组装

1 生物制造工程

早在 1995 年, 生物成形的概念就提出了, 作者^[1]将生长成形与去除成形(切削加工……)、受迫成形(铸造……)和离散-堆积成形并列为四大成形工艺, 从学科高度概括了当今和未来的成形方法。“21 世纪制造业挑战展望委员会”主席 J. Bollinger 博士于 1998 年提出了生物制造的概念^[2], 中国学者^[3]也于 2000 年提到了生物制造。可见生物制造的概念早已备受关注。但是, 由于概念的定义和内涵不够清晰, 对于制造业的发展没有起到太多的指导作用。随着制造业尤其是快速原型技术在生物医学中应用的日渐深入, 生物制造工程的概念, 也逐渐明确起来。

生物制造可以从比较宽泛和比较狭义两个角度来定义:

宽泛定义为: 包括仿生制造、物质和生物体制造, 涉及生物学和医学的制造科学和技术均可视为生物制造, 用 BM—Bio-manufacturing 表示。

狭义定义为: 主要指生物体制造, 是运用现代制造科学和生命科学的原理和方法, 通过单个细胞或细胞团簇的直接和间接受控组装, 完成具有新陈代谢特征的生命体成形和制造, 经培养和训练, 完成用以修复或替代人体病损组织和器官。从某种角度上讲, 生物体制造也可视为是上世纪 80 年代出现的组织工程(Tissue Engineering)的拓展和延伸。

生物制造从生命的机械观这样一个朴素、明确

而简单的概念“所有生命现象均可用物理和化学的词汇来解释”, “生命完全只是物理化学的产物”出发, 形成了其哲学理念: 任何复杂的生命现象都可以用物理、化学的理论和方法在人工条件下再现, 组织和器官是可以人工制造的; 生物体制造不是制造生命, 它并不涉及生命起源的问题, 而是用有活性的单元和有生命的单元去“组装”成具有实用功能的组织、器官和仿生产品。

2 研究现状及进展

体外再造具有一定生理生化功能的人体组织器官, 达到修复或重建病损组织器官, 是人类有史以来便具有的一个梦想, 也是生物制造工程的长远目标。最早的人造器官是机械性的, 如心室辅助装置(VAD)和全人工心脏(TAH)(如美国麻省的Aboimed公司开发出 Abio Cor 装置), 还有各种无生物活性的高分子材料构建的皮肤和血管等, 后来发展到半机械性半生物性, 如混合性生物人工肝(BAL)等, 发展到今天制造完全类似于天然器官的全生物型人造组织器官。现阶段, 研究人员还没有掌握自然界那样极精湛的技能。复制人体器官需要循序渐进, 首先从单一组织入手, 经过复杂组织, 功能性组织, 向部分和全部器官推进。目前, 已在前几个阶段取得突破性的研究进展。

不降解非生物相容的生医模型的应用已进入临床应用阶段, 如中国北京时代天使生物技术公司的牙隐型校正器的大规模生产与应用是最好的证明。

本文于 2007 年 1 月 5 日收到。

颅骨、骨盆、颌面修复用的生医物理模型已经十分普遍;用于复杂骨外科(如车祸、战伤等)手术的原位物理模型逐渐成为骨外科医生的不可缺少的参考模型和手术预演器械。

植入人体内的生物相容性良好、非降解支架和假体的个性化制造已是比较成熟的技术。如金属(或非金属)假肢以及它们与活体的界面进一步活性的应用正在逐渐推广。个性化耳、颌面骨等的再造与修复,整容性的颌面再造、植入体内的颅骨支撑支架,网板以及其他修复性医疗器件的设计与制造都从生物制造的发展中受益,并已形成一个以生物制造为核心的技术与产品开发方向。

采用生物可降解、生物相容性好的生物材料的组织工程支架的研究和制造正在广泛地开展。目前,结构性组织工程已经取得了相当的成果。结构性组织是指皮肤、骨、软骨、肌肉和肌腱等一类细胞较为单一,结构相对简单的组织,其构建已取得很大

进展,数种组织工程化软骨、皮肤产品已获得美国FDA批准。从上世纪90年代起,我国就在“973”、“863”、国家自然科学基金等重大国家计划中进行了重点支持,目前已在国际上占有一席之地。早在1994年,上海第二医科大学就成功地在裸鼠背培育出人耳廓样软骨,在国际上引起了强烈反响。上海组织工程研究与开发中心还成功地实施数起皮肤和骨骼修复手术。

清华大学和第四军医大学全军骨科研究所及中国科学院化学研究所合作,开展快速成形组织工程的研究,在骨、软骨等组织工程中取得了良好的效果。以PLGA/TCP为原料,采用低温沉积制造(LDM)工艺制成的孔隙体人工骨支架(图1),复合bBMP、bFGF等生长因子,成功修复了兔桡骨15mm节段性骨缺损和犬桡骨20mm节段性缺损及兔关节软骨缺损。此人工骨有望成为一种优异的骨缺损修复材料进入临床^[4]。

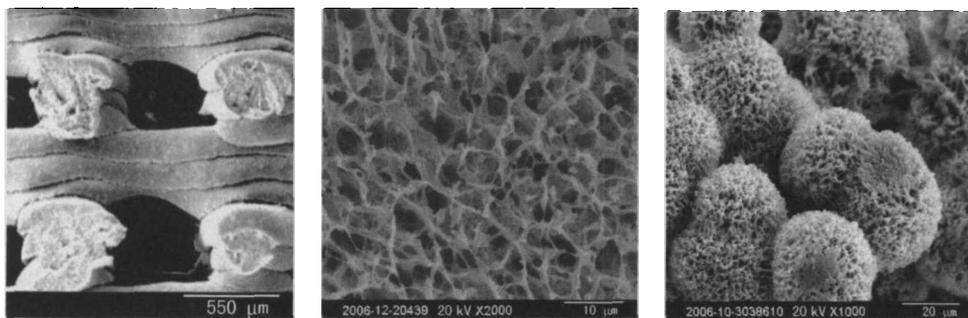


图1 具有三级孔隙结构的纳米结构人工骨支架

在全功能内脏器官方面,由于其结构复杂,涉及细胞种类数量众多,细胞和组织的调控及再生机理尚不很明确,血管网的构建尚未很好解决,如何在体外实现人工制造并获得类似天然器官功能的表达,其机理还待继续研究和阐明。血管重建在复杂器官的体外构建中具有十分重要的意义。国内外都进行了各种途径的尝试,并有部分产品面市,但如何应用于器官重建,还有很长一段路需要走。国内以清华大学的研究为例,研发了多分支、多层结构血管支架的RP溶芯-沉积成形技术。

国内外针对各种内脏器官的修复和构建,已进行了近二十年的研究,取得卓有成效的进展。近年来,具有一致跳动性类似心肌组织功能的组织工程心肌片或心肌条已被成功构造。代表性工作有以色列特拉维夫大学,美国哈佛大学和麻省理工学院,德国埃兰根-纽伦堡大学,以及日本东京女子医科大学^[5],国内军事医学科学院,清华大学生物制造工程中心等^[6]。这些结果,为大尺度结构心肌组织的缺

损修复带来了希望,也为药物筛选、心脏电生理的研究提供了方便。

在肝脏组织工程方面,最近Newcastle University的研究人员取得了振奋人心的成果^[7],制造出不到1in(约2.5cm)的肝脏组织。有望应用于替代病患小块肝脏组织缺损,并用于取代部分人类与动物的药物试验,追踪新药研制。这一研究成果为最终制造出拥有自己的血液供应与纤维性骨架的完整肝脏奠定了基础。

具有复杂结构和功能如心、肝、肾等内脏器官的人工构建,绝非易事。美国Wake Forest大学再生医学研究所研究小组第一次成功利用患者自身的细胞组织在实验室培植出了人体膀胱,已经在7名患者体内再生,患者反应良好^[8]。这是目前在实验室第一个人工制造并培育出的人体内脏器官。近年来,基于细胞直接三维受控组装技术构建内脏器官的研究成为热点^[9,10]。

我国在内脏器官的人工制造方面,总体来看,取

得了相当的进展,在国际上具有重要的影响,但研究还不够系统和深入。目前从事这方面研究的有清华大学生物制造研究所,军事医学科学院组织工程研究中心、解放军总医院普通外科研究所等单位,在心脏、胰脏及肝脏等内脏器官再造研究方面已经取得阶段性的成果,部分达到国际先进水平^[11]。

基于离散-堆积原理的细胞-基质材料的三维受控组装技术,是21世纪初兴起的组织器官生物制造技术前沿研究。制造科学中,离散-堆积成形原理的提出,大大拉近了制造科学与生物生命科学的距离,促进相互结合。离散-堆积原理的核心实际上就是一种受控组装的概念,它贯串了从宏观单元、介观单元到微观单元的不同层次的受控组装。在宏观尺度上的体现,即为生物材料微滴组装,这是当前生物制造的主战场;在介观尺度上的体现为细胞组装,这是生物制造当今的热点,在世界及我国均属刚刚开始。当前国际上主要有美国克莱姆森和南卡罗来纳、英国BATH大学和中国的清华大学、德国的弗赖堡研究中心等少数的大学进入这一领域;在微观尺度上的体现为分子组装。在这一领域,科学家们还处在议论和兴趣性探讨阶段,尚未见实质性的科技进展。内脏组织器官,如心、肝、肾、肺等的可制造技术是人们孜孜以求的梦想,与结构性组织,如骨和皮肤等的制造技术不同,涉及更深层次的生命科学与制造科学问题,与制造科学在分子与细胞层次的操控和组装具有紧密的关系。作为学科交叉的细胞簇的三维受控组装技术已成为目前十分有希望的内脏人工制造技术之一,如种类繁多的不同类型细胞的精确三维排布(运输、控制、连接和发育问题);不同基因组在不同时间、不同位置表达的诱导问题等。这些问题在相当程度上涉及生命的形成和进化的本质。预计到2020年,随着生命科学与制造科学交叉发展,人工制造人体全功能内脏器官机理将能阐明。

3 生物制造工程的重要技术发展方向

人体器官的人工制造对人类而言,还处在探索阶段,其机理的探索研究还要持续10—20年,这就是人体器官人工制造的长期性的特点;另一方面,人体器官人工制造涉及许多重要的学科领域,需要不同学科长期、深度地交叉和融合。人体器官人工制造机理的研究应与关键技术和应用研究结合起来,互相促进才能健康和快速发展,造福于人类。

归纳起来,现阶段有如下涉及人体器官人工制造机理及应用的关键研究。

3.1 器官制造工艺技术和软硬件系统

器官制造工艺指在数字器官模型的驱动下,将细胞、支架材料和生长因子进行受控和自组装,制造类似天然人体器官的方法。现有的低温沉积制造、细胞打印、生物绘图以及细胞三维直接受控组装等工艺已不能满足生物制造诸多需求。多细胞/多材料空间精确受控组装的工艺开发和研究成为必然。不同细胞或外基质材料贮存在不同的料腔内,根据数字模型中某一位置的细胞/基质材料的实际成分比例,采用多喷头工艺分别按需输送,或使用带有多材料源输送-成分受控混和机构的单喷头,实现细胞等生物活性材料团簇的精确空间定位,组装成具有模仿天然人体器官的复杂梯度物理结构。

3.2 生理模拟系统

通过生物制造构建的三维类组织前体,再通过生物信息分析和生理功能建模,控制不同细胞间数量和空间组成方式,调节细胞间的信号传导,从而建立能真实模拟特定生理系统机能的微小生理单元。可用于研究多种细胞相互作用的机理及生物系统的功能特性等,为药物筛选、疾病发病机理、疾病的诊断与防治等领域的研究开辟新的手段。

3.3 器官制造的细胞来源

人体器官是由细胞组成的,来自于患者本身的细胞是必不可少的“材料”。由于取自相应器官的细胞数量不多,分化和扩增能力受限,细胞来源就成为一个巨大的瓶颈。干细胞是来自体内的一类性状较为原始、增殖活性和分化潜力巨大的细胞,通过对从人体获得干细胞,对其定向诱导分化与种子细胞规模化扩增研究,可以得到巨量的各种不同细胞,将成为器官制造的细胞主要来源,为体外构建人体组织和器官提供重要的基础。

3.4 基质材料仿生化

基质材料是细胞生存的外基质环境。为细胞提供一个尽可能类似人体内部的天然环境,基质材料就要进行仿生化的研究。其中的内容有:对现有的生物材料进行筛选和表面修饰,深入研究其生物相容性、血液相容性、机械性能、可成形性和老化性质,研究其对生长因子和其他细胞生长分化必需蛋白的活性影响和吸附缓释作用,最终实现仿生基质材料和细胞的“无缝隙”连接。

3.5 人体器官的生物建模

人体器官的解剖学数字模型(Digital Model of Anatomy)是人工制造的前提之一。基于CT/MRI断层扫描技术获得的器官信息,开发专家系统软件,

重构有效的能描述器官复杂组织成分、功能梯度的数字化模型,涉及许多理论和技术细节,如基于分形理论的局部到全局的几何建模、材料建模和功能建模,以及系统优化问题;基于器官制造工艺和仿生原理,同时解决血管化功能和组织基体结构,创造具有自然组织中三维细胞生存微环境的类组织前体分级结构建模具有重要的意义。

3.6 人造器官的血管化

在体外构建的人体器官中,动脉、静脉等较大的血管分支可通过利用具有仿生分支结构的血管支架诱导形成。对于毛细血管网络,可通过在支架中预留血管增生通道、预植入内皮细胞和相关生长因子等方法以血管发生或再生的方式加以构建。因此研究发育生物学中血管化的机理和规律也就成为必要,寻找血管和微血管网络形成的局部微环境条件,从而加以指导人工血管的构建及人造器官血管化。

3.7 生物反应器的设计优化

类组织前体的体外培养和训练需要能模拟人体内部温度、液体、气体、pH值、应力和应变场、电学信号传导等诸多因素动态变化的生物反应器,使前体在此环境下接受各种外源信号刺激,不断诱导自身的修复和重建功能,实现各部分的融合、最终形成全功能人体器官。这一研究,不仅包括设备研究,还涉及发育生物学和再生生物学的诸多基本科学问题。

天然组织中的细胞生存在三维的环境中,与周围的细胞是相互联系的,这种联系在体外培养中直观上表现为细胞团簇的形成。传统的培养方法都是二维的,细胞在重力的作用下沉降而平面生长,失去在天然组织中的三维均衡生长状态,从而不能发生正常相互联系,这是导致通过体外细胞培养,重建和培养组织和器官失败的重要原因。

利用细胞三维受控组装技术制造的类组织前体,一定程度上也模拟了细胞在自然环境下三维生长的状态。但在传统的静态培养中,支架材料中的细胞密度较高,与培养基的物质交换不够充分,另外,重力作用也会影响到细胞在三维支架结构中的生长与迁徙。而如果置于微重力环境下的RCCS系统中进行培养,液体的涡流运动,大大加强了交换作用,使得细胞与培养基的换质作用充分,细胞能够沿着微重力环境下的三维纤维支架自由生长繁殖,更有利于细胞的生长接触和通信建立。而所制造的类组织前体,本身解决了不同细胞的空间定位问题,在

微重力环境下,同种细胞,异种细胞之间都能够充分相互作用,从而不断实现结构的融合与功能的发育,最终形成体外培养的组织。

4 总结

总之,生物制造科学技术拥有坚实的材料科学、制造技术和生物学基础;它突破了传统的制造科学与生命科学间的鸿沟,将制造科学引导至一个新的天地。随着基于生物制造科学与技术的内脏器官人工制造的发展、干细胞技术的成熟和发展以及相关生物制造科学和技术的衍生和应用,必将引起医学和生物技术的变化,人体器官银行将存放着人们第二套重要脏器,随时可挽救遭受不测的人的生命,提高成千上万人的生活质量。

参 考 文 献

- [1] Yongnian Yan, Jianguo Wang, Yaohua Wu. Modern shaping science and rapid prototyping processes. Symposium on information control problems in manufacturing, 1995.
- [2] 颜永年,熊卓,张人信等. 生物制造工程的原理与方法. 清华大学学报, 2005, 45(2): 145—150.
- [3] 吴永辉,李涤尘,卢秉恒等. 基于快速成形的生物制造工程研究. 机械工程学报, 2000, 36(9): 61—64.
- [4] 熊卓. 骨组织工程支架的低温沉积制造及应用基础研究(博士学位论文). 北京:清华大学机械工程系, 2003.
- [5] Vara D S, Salacinski H J, Kannan R Y et al. Cardiovascular tissue engineering: state of the art. Pathologie Biologie, 2005, 53(10): 599—612.
- [6] 颜永年,刘海霞,王小红等. 细胞直接受控组装技术的实现及研究进展. 科学通报, 2005, 5(11): 1—2.
- [7] FIONA MacRAE. British scientists grow human liver in a laboratory. http://www.dailymail.co.uk/pages/live/articles/news/news.html?inSarticle_id=413551&in_page_id=1770&ico=Homepage&icl=TabModule&icc=NEWS&ct=5, 31st October 2006.
- [8] Atala A, Bauer SB, Soker S et al. Tissue-engineered autologous bladders for patients needing cystoplasty. Lancet, 2006, 367(9518): 1241—1246.
- [9] Xu T, Jin J, Gregory C et al. Inkjet printing of viable mammalian cells. Biomaterials, 2005, 26(1): 93—99.
- [10] Yan YN, Wang XH, Pan YQ. Fabrication of viable tissue-engineered constructs with 3D cell-assembly technique. Biomaterials, 2005, 26(29): 5864—5871.
- [11] 刘海霞. 细胞直接三维受控组装技术研究(博士学位论文). 北京:清华大学机械工程系, 2006.

(下转 80 页)

我认为有两个时机特别适合教员到其他实验室去访问:(i)在他们开始独立工作之前,即做研究生或者博士后;(ii)在他们刚取得永久职位或者是与之相当的职位之后,这样他们就有足够的保障来计划一个更长期的研究项目。除非中国体制内的激励措施能特别鼓励那些最好的新想法的实施,并鼓励在国际层次上的竞争,否则这两个时间窗口都没有用处。

(4) 国际评估。邀请国际性的委员会对中国化学进行评价,并提出建议。我曾经参与英国工程与自然科学研究委员会(EPSRC)和英国皇家化学会(RSC)组织的评估委员会。我相信我们做出的报告和建议有助于被评估的组织思考如何变革,从而发展得更好(Alejandra Palermo 博士是英国皇家化学会的执行秘书,她能告诉你们,评估委员会当时什么做得好,什么做得不好,大学的反应到底有多快,以及需要做些什么后续工作才能更好的执行变革方案)。这样的报告也能赋予内部组织(在中国,我认为中国科学院和大学)以权威性,使得他们更好地实现加速变革的想法。

6 小结

关于研究性大学采取什么样的体制问题,我认为中国已经到了做出关键性决定的时刻。中国有很快跻身世界一流科学国家行列的人力和财力;中国存在一些化学应有所建树的相当重要的问题(包括区域性和全球性);但是在我看来,目前体制中的激

励机制和社会结构似乎阻碍了它的发展。现在可以作改进(也许不是件令人愉快的事)或者不改进这一体制的选择。当然,不做选择也算是一种选择吧。

编后语: George Whitesides 是哈佛大学化学与化学生物系教授,美国国家科学院院士,美国国家工程院院士,在物理有机化学、材料科学、表面科学、自组装纳米结构、微-纳技术、细胞表面生物化学等领域成就卓著,曾获得 Arthur C. Cope Award, National Medal of Science, Von Hippel Award, Kyoto Prize for Advanced Technology, Priestly Metal 等奖励和荣誉 28 项。2006 年 9 月 10—22 日,他应邀访问北京、杭州和上海,中国科学院常务副院长白春礼院士、国家自然科学基金委员会副主任朱道本院士分别会见了 Whitesides 教授。他在清华大学、北京大学、中国科学院化学研究所及浙江大学做了五次学术报告,并与一些科技工作者及学生们就化学未来的发展方向、基础与应用研究的关系、科技评价与导向、青年科学家和学生的培养以及中国化学界的改革等方面进行了广泛的座谈和交流。在结束他的中国之行后,他有感而发,致信清华大学张希教授和吉林大学沈家骢院士。此文是经作者同意并修改后的中文译稿,但正如作者所强调:它仅是一个不太了解中国体制人的感想,只是他思考如何帮助中国化学更迅速发展一个开端。此文的译者是清华大学化学系张希教授。

(上接 68 页)

DEVELOPMENT AND TREND OF BIOMANUFACTURING

Yan Yongnian Liu Haixia Li Shengjie Xiong Zhuo Wang Xiaohong

(Center of Organism Manufacturing, Institute of Life Science & Medicine,
Department of Mechanical Engineering, Tsinghua University, Beijing 100084)

Abstract In this paper we make a thorough and systematic expatiation of the definition, connotation and composition of biomanufacture. Based on the different development stages and process of bioengineering, its main research direction and corresponding researches were reviewed. Further, from the viewpoint of interdisciplinary, integration and development, the main technological development direction of bioengineering in the coming years were pointed out.

Key words biomanufacturing, research, cell assembling