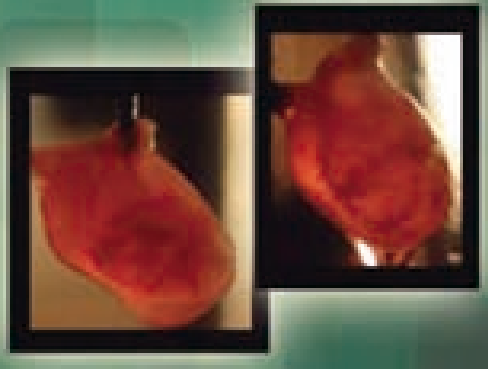
生命奥秘

LifeOmics

2011年 3月
总第33期

组织工程与再生医学研究进展



- 人造肉真的要走上我们的餐桌了吗?
- 聪明的蚂蚁绕过障碍物有高招

生命世界无奇不有

走进科学

解读生命

目录 CONTENTS

专题译述

组织工程与再生医学研究进展

学科创立篇

3 一、现代移植医学的兴起（1930s）
4 二、第一块体外培养的人工皮肤问世
5 三、第一次使用化学合成聚合材料促进软骨的再生
6 四、组织工程概念的发表 ——一个新学科的正式诞生
7 五、推向市场的组织工程产品——由学科应用价值开创的崭新时代
7 六、再生医学概念的提出；组织工程和再生医学的关系——学科的飞跃

学科理论基础与进展篇

9 一、生物反应器
10 二、细胞
11 三、信号分子
12 四、生物材料

顶尖科研结构及科研成果

22 一、顶尖科研机构简介
26 二、顶尖科研成果简介

产业概述篇

40 一、组织工程与再生医学产业发展历史
43 二、组织工程与再生医学产品的开发流程
44 三、组织工程与再生医学产品的监管
45 四、组织工程与再生医学产业现状

展望篇

53 一、研究方面
54 二、产业化发展方面

本刊文章主要由国外网站文章编译而成，如有版权问题，请版权所有人与本刊联系。

凡本刊所载文章，版权归作者本人和本刊所有，如需转载，请注明作者及出处“生命奥秘”。

本刊提供的任何信息都不能作为医疗凭证和依据，仅供科研参考。

下一期预告：光遗传学技术荣膺《自然-方法》2010年度生命科学技术

光遗传学，也称光刺激基因工程。它是一种通过使用光学技术和遗传技术来实现控制细胞行为的方法。下期《生命奥秘》将会介绍光遗传学技术的发展简史及其研究进展，并展望2011年的年度技术。

热点话题

57 人造肉真的要走上我们的餐桌了吗?

生命百态

61 聪明的蚂蚁绕过障碍物有高招
63 身静自然凉——雄性象海豹以静止不动的方式散热

封面图片：体外培养跳动的心脏。左边三张图片显示大鼠心脏的细胞成分被逐渐去除；右边两张图片显示心脏再细胞化过程。
图片来源：http://www.sciencebuzz.org/buzz_tags/decellularization

专题译述

Worthy Issues

组织工程与再生医学研究进展

特约编辑：林航*

引 言

早在2004年，当年仅19岁的前美国海军陆战队士兵Corporal Isaias Hernandez在伊拉克被迫击炮击中时，望着自己那几乎只剩下骨头的右腿心灰意冷。随后，尽管他积极接受了历时三年半的各种治疗，但是腿部功能仍然没有获得较大改善。Hernandez一度认为自己剩余的人生都要在轮椅上度过了。2008年，抱着强烈的重新站起来的愿望，Hernandez接受了一个全新的临床试验：医生在他伤腿的空洞处填满了像纸片一样的东西。到了2010年，奇迹出现了，他的伤腿竟然恢复了35%，原本是空洞的地方长出了新的肌肉血管乃至皮肤和神经。当他用恢复神速的伤腿站立在人们面前时，所有人都为之震惊。让大家始料不及的是，帮助Hernandez原本残缺的伤腿恢复得如此之快的关键，居然是来自猪小肠粘膜下层（SIS）的脱细胞组织基质。当媒体纷纷报道此类神乎其神的物质时，再生医学（Regenerative Medicine）再次成为人们关注、讨论的焦点。

*林航，男，博士，研究方向：组织工程与再生医学研究

学科创立篇

疾病、创伤及先天畸形造成的组织与器官缺损与人类的发展如影随形。早在远古时期，人们就有了挽救器官乃至整个机体的梦想，并且付诸实践。例如，人们曾在埃及和中国2500年前的古墓中发现了假牙和假耳。然而，由于受到当时知识匮乏的限制，古人更多时候只能通过各种各样的神话故事来表达再生的愿望。16世纪，Cranach根据神话传说创作了名画《长青之泉》（图1）。画中显示，左边的垂暮老者在长青之泉沐浴之后，就会脱胎换骨，成为一个精神焕发的年青人。

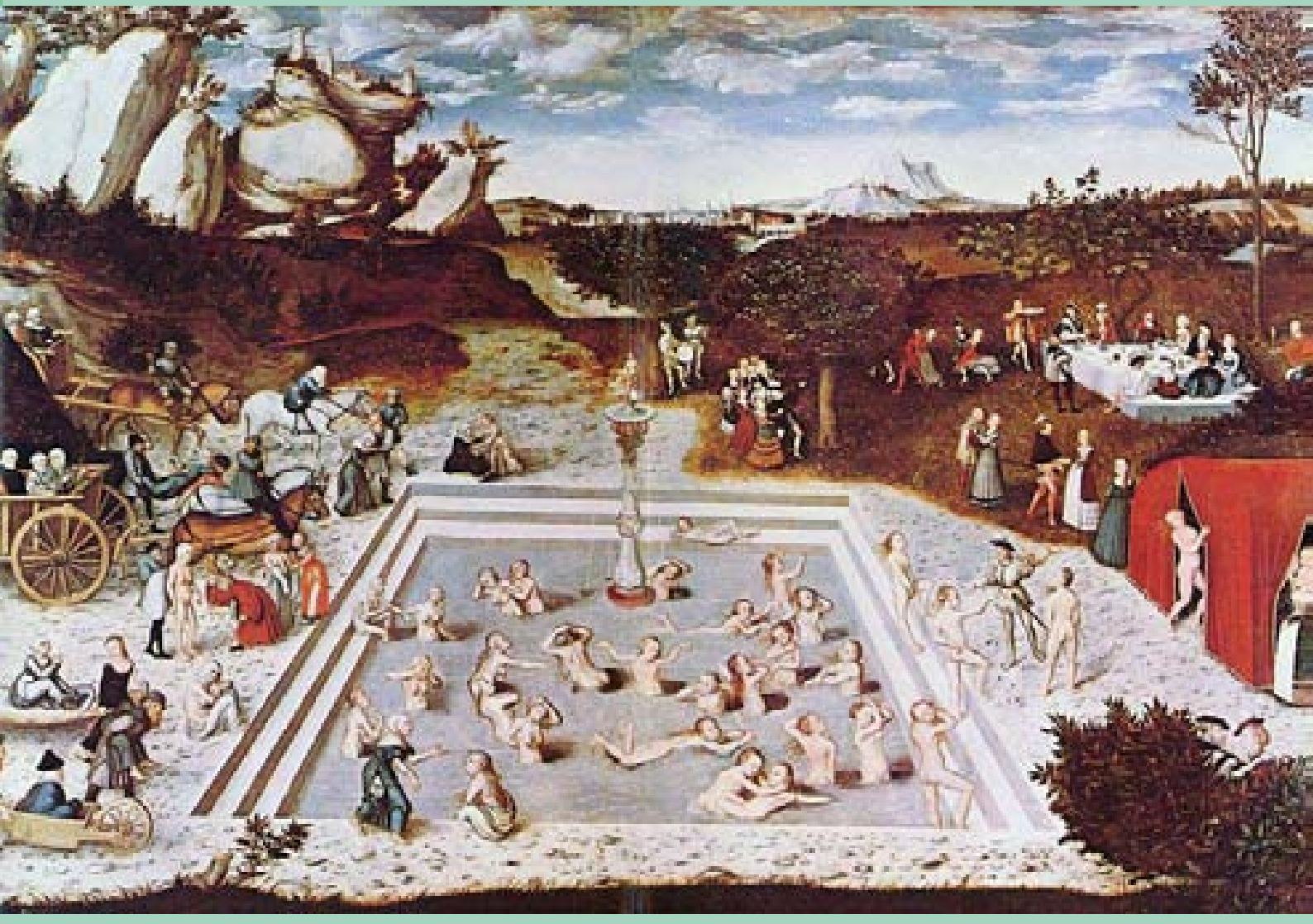


图1 长青之泉。图片来源：wikipedia。

自然科学的发展，尤其是16世纪人体解剖学和外科手术的发展，极大地丰富了人们对于人体结构的了解。1597年，意大利外科医生Gaspare Tagliacozzi进行了一项里程碑式的手术　　利用前臂皮片进行鼻子的再造，并在文章中详细描述了整个过程。图2形象地展示了一位接受该手术的病人的情况。这是有科学记录的最早的活组织移植手术。19世纪，人们认识了微生物，发展了灭菌技术，从而极大地保证了外科手术的成功率，而麻醉技术的发展则使得耗时长、痛感强的复杂手术成为可能。

图2 鼻子再造术。从前臂上选取一块皮片，利用特定的工具将它裁成合适的形状。为了让皮片附着在鼻子上，病人的手臂必须抬起，并用绷带固定。20天后，当手臂上的皮肤成功附着于鼻子上之际，手臂的皮片被切断，手臂方可放下来。待14日后，附着在鼻子上的皮片成形，也即成功重构了鼻子。图片来源：sciencemuseum。

一、现代移植医学的兴起（1930s）

1905年进行的角膜移植手术是现代意义上的第一例器官移植。1954年，美国波士顿医生成功在一对孪生兄弟之间实施了肾脏移植手术。在对免疫学不甚了解的年代，异体脏器移植无疑于谋杀，但由于双胞胎具有相似的免疫系统，加之外科医生技艺精湛的手术，人类历史上首个脏器移植手术　　肾脏移植成功实现。此后，随着免疫抑制药物的发现，异体器官移植成功率大大提高，并逐渐得到广泛应用。

1963年，实现肝与肺移植；
1966年，胰腺移植成功；
1967年，心脏成功移植，标志着移植科学到达巅峰；
1968年，骨髓移植手术拯救了成千上万的血液病人。

现在，外科手术技巧与免疫药物依然是移植医学的两大基本手段。截至本文定稿，全美累计约有5千万人接受过各种各样的器官移植。

器官移植的基础是有足够的可移植器官，但不幸的是，器官供体的数量远远少于受体的数量。目前，美国有9万多人到相关部门登记，排队等待接受器官移植。其中，部分人在漫长的等待中永远离开了人世。为了减少悲剧的发生，人们将眼光转向了被人类驯化了几千年的动物。首先得到广泛应用的是小猪皮的移植，以修复因烧伤或战争造成的皮肤缺损。虽然这些异种皮肤事实上并不具有良好的感觉与分泌功能，但它们可以很好地与人体共存，不会被机体所排斥，从而成为人体器官的良好替代物（replacement）。目前，人们通过转基因技术剔除了会引起免疫反应的基因，从而使得来源于这些转基因动物的器官可以完全被人体所接受。但是，异种移植始终存在着相容性与安全性的问题，为了能够得到更好的修复（repair）或者再生（regeneration）效果，人们很自然地开始思考，是否可以人工培育与身体相容并且有完全功能的人类器官呢？

其实早在上个世纪初叶，器官培养就已萌芽。其中，30年代Charles A. Lindbergh在洛克菲勒大学（Rockefeller University）从事的器官培养工作代表了这一时期的主要进展。他在其出版的著作中第一次明确提出了在体外培养器官以用于替换损伤或病变的组织器官。Charles Lindbergh更为人所知的是，他是世界上首位进行单人不着陆跨大西洋飞行的人。令人不解的是：他是如何把飞行与器官培养联系在一起的呢？遗憾的是，在他杰出的开创性工作之后，并没有更多的人加入到研究中来，加上对机体，尤其是细胞与分子水平了解的不足，很长一段时间内，这个领域没有任何进展。直到上世纪60年代，随着细胞生物学与发育生物学的发展，人们开始在体外进行组织培养乃至单细胞培养，从而令体外培育组织与器官最终成为可能并得以实现。

组织工程的早期工作主要是在马萨诸塞州的波士顿和剑桥完成的，包括麻省理工学院（Massachusetts Institute of Technology, MIT）和哈佛大学（Harvard University）。其中的代表人物，比如Robert S. Langer、Robert M. Nerem等直到现在仍然扮演着学科的领导角色。

二、第一块体外培养的人工皮肤问世

组织工程最早的突破在于修复烧伤造成的皮肤损伤。麻省总医院的John F. Burke与MIT的Yannas I.V.合作，首次利用动物来源的胶原与合成材料制备了人工皮肤替代物。但是，这种替代物并不含活体细胞。第一个真正的活体组织工程皮肤是由哈佛大学的Howard Green与MIT的Eugene Bell合作完成的。他们将病人自身的皮肤细胞种植于胶原之上，然后再移植回病人体内。这种活体皮肤能够很好地与机体相容，并促进皮肤组织的再生。值得一提的是，Eugene Bell建立了第一家组织工程公司 Organogenesis Inc.，并成为了科学家商人的典范。在他离世（2007年）之前，他捐出100多万美元建立了以自己名字命名的基金会——Eugene Bell Foundation（EBF），以资助组织工程研究。一直到现在，Organogenesis Inc.仍然是人工皮肤市场占有率最高的组织工程公司之一，在后续的产业报告篇章中将会对这个公司做详细介绍。

三、第一次使用化学合成聚合材料促进软骨的再生

图3 Robert Langer（http://hst.mit.edu/public/people/faculty/facultyBiosketch.jsp?key=Langer）与Joseph Vacanti（http://www.cimit.org/bios/vacanti.html）。

上世纪八十年代中期，MIT的化学家Robert S. Langer与波士顿儿童医院的Joseph P. Vacanti（图3）开始在细胞培养中加入化学合成高聚物，以进行软骨细胞的三维培养工作。他们希望通过这种方法获得与天然组织具有相似结构的体外培养物。相比于以前所使用的天然材料，这些可降解的、化学合成的聚合物有很好的可调控的理化性质，并且很容易构建成不同结构的三维细胞生长支架。1988年，他们合作发表了第一篇关于如何在可降解聚合物（如polyglactin和Polyorthoesters）上进行细胞培养的文章。1991年，他们将软骨细胞种植在可降解的合成材料上，随后将它们移植到动物体内，并观察修复情况。这些令人耳目一新的实验手段和结果，奠定了生物材料研究在组织工程中的关键地位。

Langer 原先是一位化学家，在波士顿从事了很长时间的肿瘤研究。他敏锐地发现了合成材料在组织工程中的重要性，从而开始了在生物材料领域的研究工作，最终成为其中的翘楚。如今，Langer的实验室可称是世界上最大的再生医学实验室，它拥有100位研究人员与每年1000万美元的研究经费。Langer的实验室培养了众多的生物材料领域的知名科学家和研究人员，他们现今分布在全美甚至世界各地。目前，美国90%做生物材料的科学家都或多或少与Langer实验室有关联。

比较而言，Joseph Vacandi显得低调得多。他是一位外科医生，所做的绝大部分工作与外科手术有关，学术影响较小。1996年，在他实验室诞生的人耳鼠（Vacanti Mouse）轰动全球（图4）。该实验室研究人员将聚乙醇酸和聚乳酸做成人耳的形状，然后将人软骨细胞种植在该材料上进行培养。接着，他们将体外培养的活体培养物移植到裸鼠的背上。由于裸鼠没有免疫系统，这个异体的人耳朵在鼠背上存活得非常好。这只怪异的人耳鼠与1997年的多利羊一道，曾引起人们极大的恐慌，然而在克林顿时代的美国，政策氛围较为宽松，资金支持非常宽裕，人们的关注反而使得该学科受到越来越多的资金投入。国内组织工程的早期创立者之一　曹谊林教授，在Vacanti的实验室从事了很长一段时间的组织工程研究工作。人耳鼠的移植手术主要是由曹教授完成，也正因此，他于1998年获得最佳整形外科相关论文奖　James Barrett Brown Award（参与实验的5个人共同分享了该奖项）。

图4 人耳鼠（Vacanti Mouse）。
图片来源：http://www.smashinglists.com/ten-ways-the-world-will-end/。

四、组织工程概念的发表
——一个新学科的正式诞生

目前人们公认的组织工程（Tissue Engineering）的最早定义来源于1993年Langer与Vacandi发表在《科学》（*Science*）上的综述文章。事实上， 组织工程 这个词的出现可以追溯到1987年Y.C. Fung在NSF会议上的演讲。在1988年召开的第84届美国外科医师学院年会（American College of Surgeons）会议上，与会科学家比较系统地讨论了这个领域，并且初步定义了Tissue engineering这个概念。但是，由于《科学》杂志巨大的影响力，Langer与Vacandi一不小心就成为了这个领域最为人所知的开创者。在这篇当时并不起眼的文章里，他们这样定义了组织工程： 组织工程是一个多学科领域，将工程学与生命科学的原则应用到开发生物替代物，以此挽救、保持或者改善组织功能。1995年，该学科第一本专业杂志 《组织工程》（Tissue Engineering）开始正式创刊出版；1996年，组织工程学会（Tissue Engineering Society）成立（现在已经更名为组织工程与再生医学国际协会，Tissue Engineering International & Regenerative Medicine Society），这标志着组织工程作为独立学科正式成为自然科学的一个分支。

五、推向市场的组织工程产品——由学科应用价值开创的崭新时代

1997年，美国FDA（Food and Drug Administration）批准了第一个组织工程产品　　由Advanced Biohealing公司生产的TransCyte。它可用于烧伤皮肤的治疗。该产品是由尼龙网包被着的猪胶原，上层覆盖有硅胶以达到保湿的功能。为了提高材料的修复功能，在制备工程中，人们将人成纤维细胞种植在胶原上以沉积过多的生物活性成分，然后在出厂时将细胞杀死，因而这是无细胞的组织工程产品。同年，第一个自体细胞疗法　　Carticel被批准，即将自体软骨细胞移植到缺损的软骨上，用于软骨缺损的修复。次年，包含有异体活体细胞的组织工程产品　　Organogenesis出产的Apligraf也获得了FDA的批准，可用于溃疡的治疗。该产品包含两层，下层是种植有成纤维细胞的牛胶原层，上层则是表皮细胞层，这是没有合成材料而完全由生物成分组成的产品。这些组织工程产品的推出极大丰富了创伤的治疗手段，开创了崭新的再生性修复时代。

六、再生医学概念的提出；组织工程和再生医学的关系——学科的飞跃

20世纪90年代，人们拉开了胚胎干细胞研究的序幕。干细胞的研究及应用促成了组织工程研究的飞跃和再生医学概念的提出。在干细胞发现之前，组织工程研究主要集中在皮肤与骨骼领域，这是因为我们极易获取大量的成纤维细胞。它们增殖迅速，可满足皮肤组织工程的应用。而骨再生是由于骨组织有大量的干细胞（当时并不了解），单纯的生物材料或者生长因子，如BMP已经足够可以诱导骨的再生。这是因为成纤维细胞与软骨细胞比较容易获取。而对于难分离及生长缓慢的细胞，如神经元而言，想要获取足够量的细胞是非常困难的，这无疑极大限制了研究进程。而在干细胞发现之后，组织工程研究人员能够迅速地得到大批量的种子细胞以用于组织器官构建。这些生长迅速、具有低免疫原性、能分化成成熟细胞的干细胞，如骨髓成体干细胞，已经被证明能够分化成为硬骨、软骨、肌肉和神经等等组织，并被应用到组织工程研究的各个方面，这使得组织工程的发展取得了长足进展，促成了再生医学概念的提出。

William Haseltine最早提出了再生医学（Regenerative Medicine）的概念，即再生医学是通过替代或再生人类细胞、组织或器官，来恢复或建立原本功能的医学。比较之前提出的组织工程的概念，再生医学是一个更广泛的名词，涵盖了组织工程、促再生药物及干细胞治

疗等内容。简单来说，再生医学就是3R　替换（replacement）、修复（repair）与再生（regeneration）。而组织工程重点在于体外培育器官并将人工器官用于器官的替换，不包括单纯的干细胞治疗。此外，组织工程中体外构建成熟的组织和器官的技术是再生医学所不涵盖的。基于目前构建复杂器官，如心脏和肺的困难，大多数研究者更愿意用再生医学这个词来定义自己的研究领域。此外，移植医学中，有关在体内植入非生物活性材料，如心脏起搏器、人工关节等以替换、修复原有器官功能的技术和研究并未被纳入组织工程的范畴，原因是这些材料未与机体整合或没有促进原有组织或器官的再生。随着再生医学概念被广泛接受，2005年，组织工程协会更名为组织工程与再生医学国际协会。

学科理论基础与进展篇

组织工程与再生医学的发展过程就是模仿个体发育与再生的过程。一般认为，组织工程有四个组成要素：细胞、生物材料、信号分子及生物反应器（图5）。浅显地说，类似于栽种粮食，细胞就是种子、生物材料就是土壤，信号分子好比肥料，而生物反应器则提供了阳光和雨露。

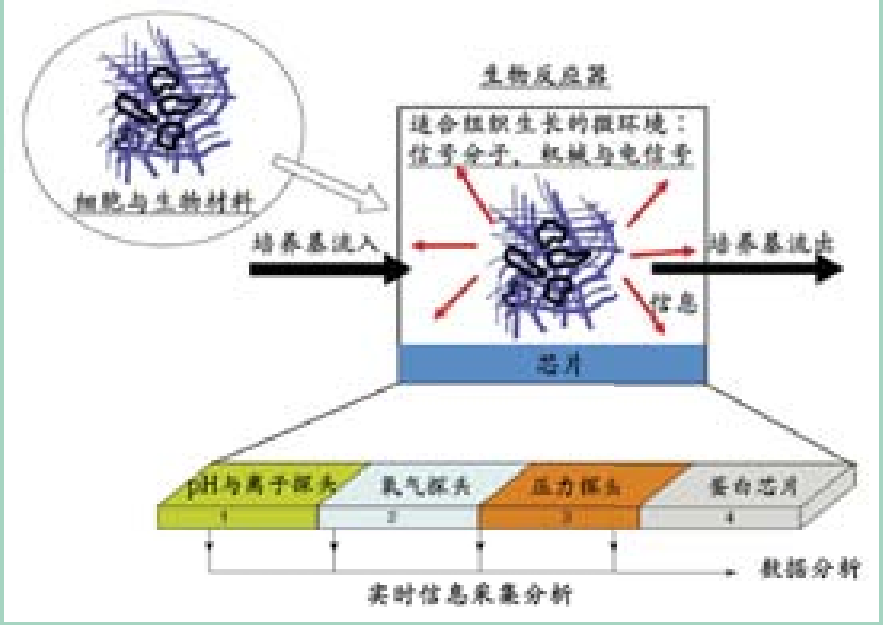


图5 组织工程的基本要素。图片来源：*Trends Biotechnol*。

虽然前面提到，移植医学的部分内容并不包括在再生医学之中，但对于组织工程产品的应用或者再生医学来说，如果没有很好的技术解决体外培养的组织器官在体内的存活并发挥功能的问题，那么组织工程将会毫无意义。因此，可将与再生医学联系紧密的　移植技术　称为上述四个基本元素之外的　第五元素　。

通过这几个组成要素我们可以看出，组织工程与再生医学是一个多领域合作的学科，包括生物学、化学、工程学及医学等等。在学科创立到现在短短20多年的时间里，这几个要素都得到了长足发展。目前，干细胞研究和移植医学已形成独立的研究领域，而有关新信号分子的进展较少，因此我们将在简单介绍各个要素之后，着重讨论生物材料领域的最新进展与技术。

一、生物反应器

如图5所示，生物反应器（bioreactor）最基本的功能是为工程组织提供营养与代谢的平台，并通过各种探测手段来了解细胞的变化以对培育条件作出调整。在各种营养成分中，氧气的有效运输尤为重要。在体内，氧气由血管系统运送，通过扩散的方式被细胞所吸收，血液中有血红素（hemoglobin），它可增加含氧量。在传统的组织培养中，通常直接将细胞或组织放入静态的培养基中培养，由于氧气在血浆或培养基中溶解性很差，只能渗透100um的距离，超过100um的组织的内部细胞则处于缺氧的状态，这对于组织的生长极为不利。为了模拟体内环境，需要给细胞提供扩散（Diffusion）和传送（Convection）两种氧传送方式。Langer实验室制备了一种多孔的高强度弹性聚合材料PGS，并将它整合到生物材料之中充当血管，起到氧传送的作用。Radisic等人在培养基中加入perfluorocarbon（PFC），模拟血红素的功能来充当氧气的可逆运载物。

此外，由于细胞生长需要合适的机械强度和电信号，所以生物反应器还需要提供机械信号和电信号。目前研究结果已证实，剪切力能够促进骨细胞表达骨特异蛋白，周期性的牵拉能够更好地促进生长在胶原上的心肌细胞形成心组织。例如，Mauck等人的实验结果表明，生长因子与机械作用的协同效应能够极大地促进工程软骨的功能。Radisic等人使用电信号刺激心肌细胞。8天以后，他们观察到细胞开始整齐排列、并且协同收缩的比率较不刺激组高7倍。

生物反应器一个很重要的发展方向就是微阵列平台，通过这种高通量的方法，可以在一次实验中改变更多的条件。Figallo等人在一个标准载玻片上构建了12个独立的培养孔（图6），这样可以快速地比较不同条件下胚胎干细胞的分化结果。

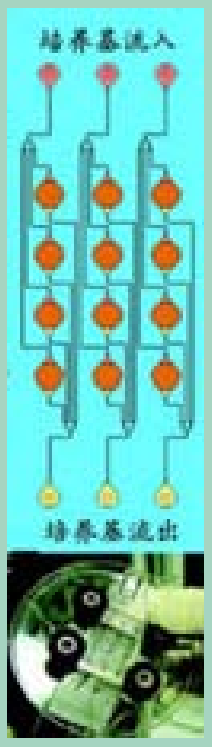


图6 高通量生物反应器。图片来源：Lab Chip。

二、细胞

在绝大多数情况下，使用病人自身的细胞培养出来的组织或者器官最为理想，因为它们能和病人自身很好地相容而不会出现免疫排斥，而且在应用上，所受到的管理层面，例如报批过程中的质疑也最少。所以在学科研究的早期，所使用的细胞大多都是病人自身成熟的或者是终末分化的细胞，例如表皮细胞、成纤维细胞及软骨细胞等。然而，这些细胞来源有限，要想在短时间内得到足够数量的细胞非常困难，根本无法满足急性损伤，如烧伤、心脏衰竭或时效性很高的现取现用（off-the-shelf，即这些活体产品能够像药物一样马上就能够使用）等的要求。鉴于此，在具有免疫原性低、增殖迅速及能分化成成熟细胞的干细胞被发现之后，组织工程与再生医学中对于细胞的使用越来越倾向于使用干细胞，包括成体干细胞及胚胎干细胞（图7）。由于干细胞是一个非常独立的研究领域，这里我就不做赘述。总而言之，组织工程与再生医学对细胞的要求为：

(1) 容易得到并且能够大量扩培；

(2) 没有或者有很低的免疫原性；

(3) 较高的纯度或者单一的分化方向；

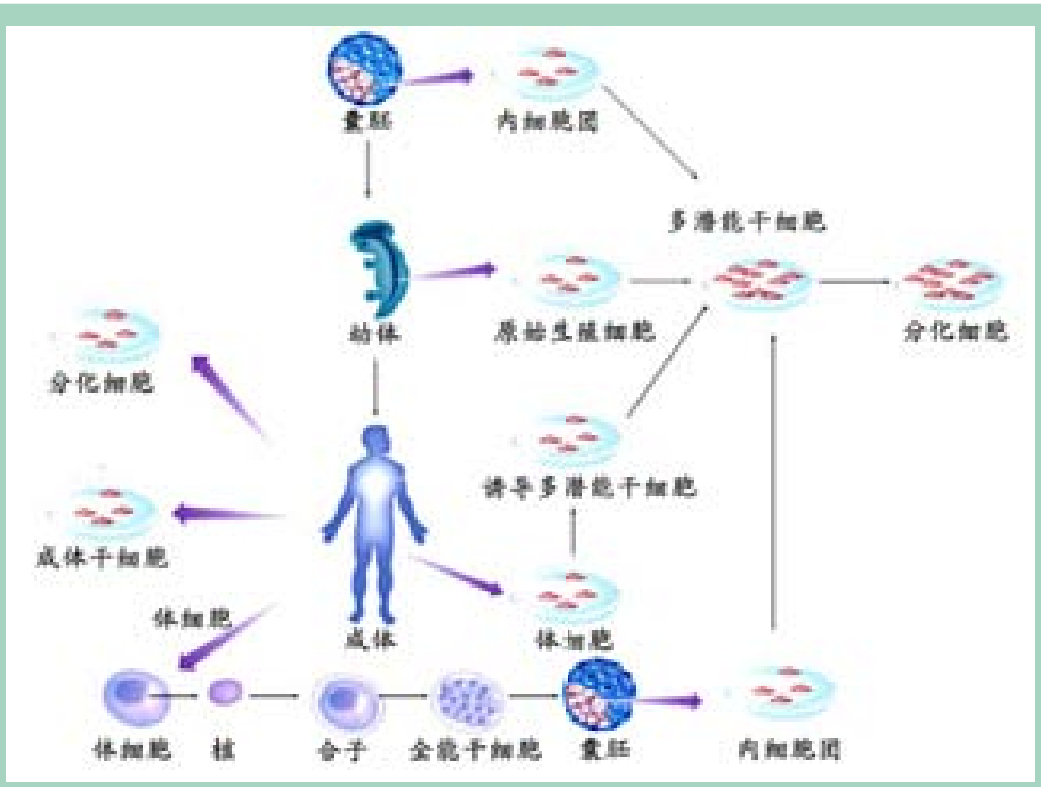


图7 组织工程中的细胞来源。图片来源：*Regen Med*。

三、信号分子

信号分子指的是能够促进细胞增殖、迁移乃至指导分化的小分子，包括生长因子、细胞活素等。信号分子不仅仅在发育过程中扮演着形态发生的重要作用，例如控制不同时期的细胞的增殖分化成特异组织，还在组织再生过程中扮演着重要角色，例如招募干细胞到受伤区域等。上个世纪60年代，人们发现脱钙骨基质（demineralized bone matrix, DBM）具有很强的骨诱导功能，而起到关键作用的只是一个多肽　　骨形态发生蛋白BMP-2。它能够诱导干细胞向软骨细胞分化，再生缺损的骨组织，从而大大提高骨修复速度。目前，BMP-2已经被广泛应用在大尺寸骨组织修复中；受损的肌肉组织能够释放Wnt蛋白，诱导静息的细胞增殖并分化成肌细胞与肌纤维融合，从而修复受损的肌肉组织。目前的结果也证明，Wnt信号在干细胞的分化过程中扮演着重要作用，抑制Wnt信号将抑制干细胞向骨细胞的分化。

由于生长因子经常是多肽分子，具有较短的半衰期，容易在溶液状态下失活，所以生长因子常常与生物材料以吸附或者交联的方式一起使用。相比于在溶液中，结合在材料上的生长因子能够保持更长时间的活性。此外，通过转基因的方式在细胞中表达生长因子也常常被使用，例如在骨髓间充质干细胞中表达的肝细胞生长因子HGF会参与受体肝损伤的修复和再生过程，并对肝脏的修复和再生产生有益的效果。

最近，能够促进干细胞增殖并且保持干细胞性的特异分子引起人们的极大兴趣。例如，Heather Himburg等人最近发现了一个名为pleiotrophin的天然小分子，它能够促进造血干细胞数量增加10倍。而美国罗彻斯特大学（University of Rochesterd）的 Mathew Hilton等人则同时发现RBPjk分子通过调控Notch蛋白能够极大地保持干细胞的分化潜能。

信号分子最为关键的功能就是控制细胞的分化命运。由于目前对于体内再生过程的了解有限，人们无法完整地模拟体内的环境来指导细胞分化，因此，所使用的体外分化方法都是建立在经验与猜测之上，同时使用一些体内不存在的分子。例如，在促进间充质干细胞向骨细胞分化的培养基中，人们加入了地塞米松等合成药物。这也是目前再生医学研究的一个重要领域，即利用大规模的合成分子的筛选，来寻找能够特异性指导干细胞分化的小分子。例如，加州Scripps研究所的Ding Shen实验室利用化学小分子来指导神经干细胞的分化，从而提升诱导多潜能干细胞的几率。他们发现的reversine分子甚至能够直接诱导肌肉细胞去分化而成为干细胞样细胞。这些无不显示了小分子研究在该领域的独特作用。图8是目前比较成熟的诱导胚胎干细胞分化的信号分子。

图8 诱导胚胎干细胞分化的信号分子。图片来源：*Nature Reviews Drug Discovery*。

四、生物材料

生物材料的概念比较广泛，任何与生物相关联的材料都可被称为生物材料。在组织工程与再生医学领域，生物材料特指适合细胞种植与培养的三维材料。在体内，细胞是处于被细胞外基质包被的三维结构中，且每个组织都有自身的特点，诸如不同的形状、密度及组成成分等，所以生物材料使用的目的就是模仿体内细胞所生活的外环境，针对不同组织的再生对生物材料有不同的要求。早期的生物材料，例如胶原的机械强度较差，但是它能够很好地支持细胞的生长与营养成分的流动，而像生物陶瓷类及一些金属材料等，则由于降解性很差，只能起到替代组织的功能（如充当义齿、骨股头和心阀等），无法发挥促进组织再生与修复的功能。另外，为了能够形成有生物学活性的组织，我们就必须使用能够被细胞降解的生物材料。鉴于此，目前的研究主要集中于使用可降解材料来模拟组织或器官的形状。总的来说，生物材料需要具备

生物相容性、可降解性及具备一定的机械强度等特点。随着材料科学的发展，生物材料开始向多功能化方向发展，例如控制特异性的细胞相互作用、缓释生长因子以及对环境做出应答反应等等，以令生物材料成为细胞获取信息的模版（Informational template）。最近的结果显示，生物材料的结构特性甚至能够直接影响细胞的行为，例如干细胞分化，我们将对这部分研究做重点阐述。

(一) 天然材料

最早的生物材料来源于动物的胶原。由于胶原是动物体含量最高的蛋白，分别占皮肤与骨组织总蛋白的70%与80%，所以允许人们经济、快速地得到足够的数量并用于研究。加之胶原具有很好的促细胞贴壁功能及成水凝胶能力，所以胶原仍然是目前比较常用的生物材料之一。

目前最为常用的天然材料之一就是脱细胞组织基质，即将天然的组织通过不同的手段，如去污剂处理，除去原先细胞，仅保留细胞外环境支架，作为细胞培养的支架材料。脱细胞的目的是为了去除原有细胞以去除免疫原性，同时产生空间及保留相应的生化信号，以让干细胞或者宿主相容的细胞能够生长并重建组织。最为经典的例子就是脱细胞皮肤，如将小牛皮脱细胞之后，可以直接应用在烧伤皮肤的治疗中。以前，人们认为细胞外基质仅仅提供了细胞贴附的支架而已，但现在的结果证实，细胞外基质里包含了许多直接调控干细胞功能的成分。我们下面将会提到的神奇粉末及人工心脏，都极大地拓宽了人们对于细胞外基质的理解。

除了脱细胞组织基质外，单一的细胞外基质蛋白，例如纯化的纤连蛋白与透明质酸等，由于成分单一，引起免疫反应或者携带病毒的几率更低，他们常常应用于合成材料的包被上，以改善合成材料的细胞相容性。

此外，分别从甲壳类动物的外骨骼，如虾壳和海带中提取的壳聚糖和藻酸盐，由于具有很好的细胞相容性和可修饰性，目前也受到很大的关注。例如，用虾皮来源的壳聚糖所制备的人造皮肤被移植到创面后，不仅可以控制水分丧失和阻止细菌侵入，还能避免人体出现免疫排斥，加快伤口愈合的速度。这些水凝胶类材料的缺点在于机械强度太差，不适合于需要高强度或弹性的、需要直接承受较大压力或拉伸力的组织修复，例如肌腱与韧带。而蚕丝和蜘蛛丝，由于具有极强的机械强度，目前已经被用于骨骼和韧带的修复中，但由于相容性等问题，它们的应用并没有很广泛。

(二) 合成材料

目前，合成材料已经广泛地应用于生物材料支架的制备方面。由于合成材料具有很好的可重复性，易于大量制备并且可以较容易地控制理化性质，加之目前FDA已经批准了左旋聚乳酸（PLLA）、聚乙醇酸（PGA）及聚乙二醇（PEG）的临床应用，所以合成材料是目前生物材料研究的主要部分。合成材料的研究方向一方面在于发现更多的新材料及改造现有材料，包括环境刺激敏感的材料及纳米材料等；另一方面则在于构建越来越接近组织器官结构的三维支架。

1. 新型材料

近年来，刺激敏感聚合物（stimuli-sensitive polymer），包括温度、pH及激素敏感的材料在生物材料研究领域得到广泛的认同与应用。我们知道，组织的发育过程是一个动态过程，需

要对外部信号做出应答，包括形变，而传统的生物材料并不具备这种能力，因此这类材料被称为灵活的生物材料（smart biomaterial），并受到了特别关注。例如，热敏高分子聚N-异丙基丙烯酰胺（PNIPAAm或poly（N-isopropylacrylamide））是目前使用最为广泛的热敏生物材料。它可与许多其它的高聚物偶联，形成独特的热敏生物材料。PNIPAAm能够随着温度变化膨胀缩小，甚至能够对ATP做出应答。由于只需改变温度，PNIPAAm就可在固态和液态间转变（32摄氏度以下是液体，32摄氏度以上是固体），所以它们经常起着细胞生长临时支架的作用。例如，Jianzhong Xi等人将肌肉细胞生长在PNIPAAm上，当细胞融合形成大量具有收缩功能的肌细胞时，将它们放至32摄氏度以下。此时，PNIPAAm支架会溶解，从而细胞自由收缩而形成一个三维的活体肌肉组织。此外，对刺激敏感的材料还被应用于药物缓释系统，例如能够对高血糖做出应答的胰岛素缓释系统。当探测到高浓度血糖时，该系统就能够自动释放胰岛素。

而具有记忆功能的材料则可以使其在控制手术创口的基础上，将很小的材料传送到目的部位，然后利用材料的记忆功能，在到达目的部位后恢复所需要的形状。

电流刺激对细胞的生长也有很大影响。由于神经与肌肉能够传导电流并做出应答，所以在神经与肌肉组织工程中，电传导材料具有特殊意义，可用于传导电流并帮助细胞对电刺激产生应答。电活性材料（Electroactive polymer, EAP）通常由电场活化聚合物（dielectric elastomer）与高聚物偶联而成，例如polypyrrole-(PPy)与polyaniline基的actuator（传动器）。它仅依赖溶液中的离子就能够产生机械活动，在很低的电压（<1V）就能够产生>30%的应变。目前该类已经产品化，主要用于血管连接及治疗膀胱失禁。此外，电刺激还能控制细胞表型并且调控材料上的生物活性分子的缓释。生物体内的蛋白合成机器也同样成为材料科学家设计新型材料的手段。由于范德华力与离子相互作用的存在，多肽与蛋白可以自我组装成不同结构。通过DNA重组技术在细菌中表达能够自我组装成水凝胶结构的多肽（通常是一些重复序列），随后就可以人为地产生符合不同要求的多肽类生物材料。例如，相比于天然的II 型胶原，在细菌体内表达的II型胶原重复序列所形成的材料能够更快地促进软骨细胞增殖与分泌细胞外基质。此外，还可以通过基因改造的方式在这些多肽材料中插入特异性的、能够促进细胞贴附与增殖的多肽，使材料具有更好的生物学功能。此外，由于DNA的ATGC具有非常特异的结合特性，所以能够使含有互补碱基段的DNA形成三维的DNA凝胶。此类材料通过受体介导的机制促进细胞的贴附，同时DNA带有的负电荷可吸引钙离子的聚集，所以能够极大地促进骨发生。

虽然这些合成材料能够非常好地模拟复杂的结构，但自身却缺乏天然生物材料，如胶原中促进细胞黏附的信号，所以合成材料的功能化逐渐成为组织工程生物材料的发展方向。目前，合成材料的功能化主要是将能够促进细胞黏附、生长的短肽，如源自纤粘蛋白（fibronectin）的精氨酸－甘氨酸－天门冬氨酸（Arg-Gly-Asp, RGD）三肽、源自层粘连蛋白（laminin）的酪氨酸－异亮氨酸－甘氨酸－丝氨酸－精氨酸（Tyr-Ile-Gly-Ser-Arg, YIGSR）五肽、细胞外基质蛋白、多糖等，通过交联或者简单吸附的方法偶联到生物材料上，从而形成功能化的复合材料。其中一个非常好的例子就是，将PEG与含有RGD、基质金属蛋白酶（MMP）降解位点的肽偶联，这种材料能够很好地控制细胞黏附与材料降解，从而能够达到更好的促修复功能。合成材料另外一个很重要的研究方面就是，通过不同材料的配比或者基团改造来控制材料的降解速度、组织的再生或者在体外构建一个活体组织，作为支架的生物材料必须随着组织的生长逐渐降解并被细胞分泌的细胞外基质所替代。如果材料的降解速度太快，那么将无法保持形状及提供足够长时间的支持；如果降解太慢，则会限制细胞外基质的重建，影响组织的生长。

2. 生物材料制备技术

2.1 梯度材料制备

在组织交界面上，常常需要带有梯度性质的材料。为了模仿前十字韧带（ACL）与骨相交的界面，需要一种三相的材料（图9）：高度可降解的聚乳酸/羟基乙酸共聚物（poly (lactide-co-glycolide), PLGA）网融合在降解速度更慢的PLGA上，分别模仿软组织相与成纤维软骨相，同时，两者又与模拟骨相的PLGA及生物活性玻璃的复合物偶联。

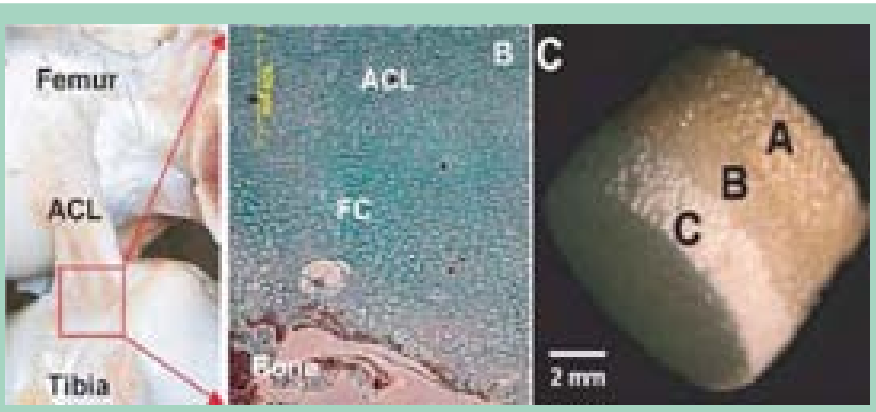


图9 三相生物材料。Tibia：胫骨，Femur：股骨，FC：纤维软骨。
图片来源：*Tissue Engineering*。

2.2 模具与造孔技术

最早的用于制备多孔材料的方法是在聚合物中预先植入合适大小的颗粒，如盐与冰晶，然后将盐溶解之后就形成了具有孔径的合成材料。由于这种方法简单有效，所以一直沿用至今。最近，人们还使用冰晶来代替盐，这样直接冻干就可以得到想要的孔径。

为了使材料能够达到需要的外形，比如说我们希望将材料做成心的形状，那么需要先做一个心形状的模子，然后将溶液状态下的材料倒入模子中，就可以得到需要的形状。此外，还可以对材料的外表面进行微操作（microfabrication）。例如，为了模仿细胞生长的外部拓扑（topo）结构，人们制备了600纳米深、1200纳米宽的表面，结果显示内皮细胞能够在6天内形成非常好的毛细血管样网络。

2.3 三维打印技术

三维打印技术（3D printing）是目前非常吸引眼球的生物材料制备技术。简单来说，该技术就是用特制的打印机打印出三维形状的生物材料。其中比较特殊的是，打印机使用的 墨水 是生物材料，而打印纸则是需要移植生物材料的部位或者细胞培养皿。

首先，我们将所需要的支架通过3D建模的方式形成一个由许多张二维照片构成的三维结构（此时照片是有厚度的，比如50微米）。然后，将照片用类似投影仪一样的镜头照射出来，投射到光敏感材料上，这样光照射的部分就会从液态向固态转变，形成了与照片一模一样的一层结构。最后，将所有照片一层一层地打印出来，堆砌在一起，从而能够构建不同结构的生物材料。例如，德国公司Envision TEC已开发了一个称为3D-Bioplotter的机器。它可以构建从水凝胶到陶瓷，甚至金属的生物材料。通过这种方式，甚至可以将细胞与材料一同 打印 到受损

部位，进行修复。该技术的最大好处就是可以将细胞直接种植在材料内部，而不像常规那样，先做好支架，再移植细胞。前者可以大大加快组织或者器官的生长和重建速度。Cyrille Norotte等人利用第一个商业化的生物打印机构建了无支架材料的、具有不同尺寸的血管材料。它的外壁完全由细胞构成（图10）。3D 打印技术原理虽然简单，但需要调控的条件很多。现有困难在于打印速度较慢，且适合打印的生物材料也比较有限。

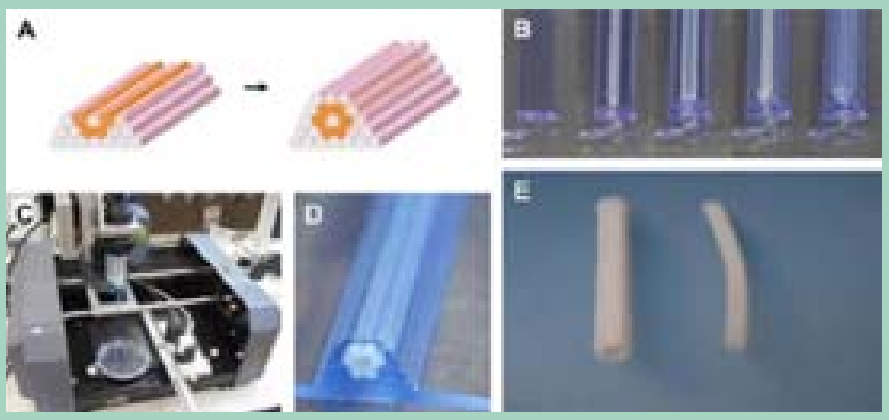


图10 无外支架血管的构建。A图显示将橙色的细胞团包裹在粉色琼脂糖中的形态，将琼脂糖去除之后就将形成中空的完全由细胞组成的血管。B和D图显示的是打印出来的不同孔径的支架，蓝色为琼脂糖。C图显示的是三维打印机。E图为完全由细胞构成的无外支架血管。图片来源：*Biomaterials*。

2.4 电纺技术

电纺技术（Electrospinning）大概10年前开始在组织工程研究中得到应用，其原理如图11所示。将溶解在有机挥发溶剂里的材料带上电荷，然后在高压电场中喷出，在此过程中溶剂挥发，材料形成纤维，附着在高速旋转的平板上，调整不同的条件就能够形成不同尺寸（从微米到纳米）的纤维，从而能够制备出模拟天然细胞外基质的材料。通过这种方法，不仅可以制备纤维无序排列的纳米材料，而且还可以制备出纤维排列一致的材料，用于指导细胞的定向生长。

目前，天然的细胞外基质分子，例如胶原已经可以直接通过电旋转技术形成纳米纤维，使得离天然的细胞外基质又更近了一些。而且通过混纺技术，可以把合成材料和天然的细胞外基质蛋白在纳米级别上整合，形成既具有良好生物相容性，又有很好机械强度的复合材料。例如，新加坡国立大学的Koh等人将层粘连蛋白（laminin）与PLLA溶解在1,1,1,3,3,3-六氟代-2-丙醇（1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-propanol, HFP）中，而后通过电纺的方式形成复合纤维。细胞培养结果显示，相比于laminin与PLLA 共价交联或简单吸附所形成的复合物，电纺材料能够促使大鼠肾上腺髓质嗜铬瘤分化细胞株PC-12细胞在混纺材料上产生更长的轴突。

该技术的缺点在于形成的纤维材料非常致密，无法精确形成合适的孔径以供细胞生长，所以细胞只能在材料的表面生长，而不能在材料内部生长。

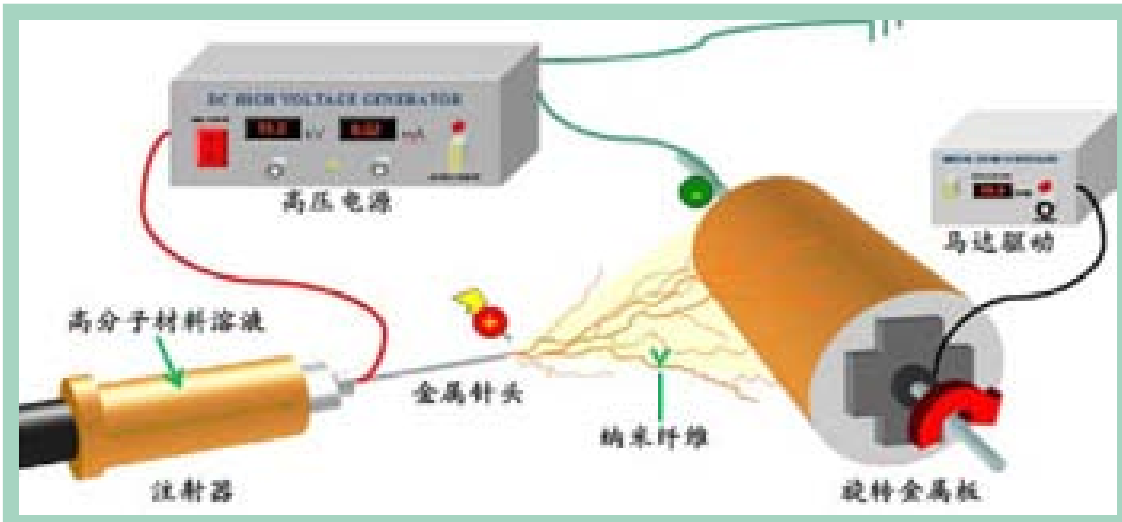


图11 电纺技术。图片来源：Yong-Gwang Ko。

2.5 水凝胶技术

水凝胶（Hydrogel）指的是亲水的同源聚合物（homopolymer）互相交联形成不可溶的大分子，这些大分子能够将水固定在材料中，从而形成凝胶样结构，例如胶原凝胶及藻酸盐凝胶等。由于它们的生化及物理特性易被操作，所以应用非常广泛。美国西北大学（Northwestern University）的Samuel Stupp利用类似的技术将信号分子锚定在水凝胶中，从而促进神经干细胞分化成神经元。斯坦福大学（Stanford Universtity）的Helen M. Blau实验室利用水凝胶来研究细胞外基质对单个干细胞行为的影响。如果使用凝胶作为墨水，利用我们提到的3D printing技术，就可以将细胞种植在凝胶内部。哈佛医学院（Harvard Medical School）的Khademhosseini等人证明，含有细胞的水凝胶能够做成各种形状，然后将这些不同形状的凝胶放在一起能自我组织成更大的结构。这种技术可以用于复杂组织，例如肝组织的构建上。

此外，凝胶可以制备成对光敏感（光敏）或者对温度敏感（温敏）等的材料。温敏凝胶的潜在应用在于在细胞培养过程中保留细胞的微环境。如图12所示，当细胞被胰酶消化时，细胞之间及与细胞外基质的连接被酶所破坏，而利用温敏材料在常温下液化的原理，可以让细胞离开培养板而同时保留细胞外结构。科罗拉多大学（University of Colorado）的Kristi Anseth实验室制备了对光敏感的材料。先将液体材料注射到形状不规则的部位，然后用UV照射材料，形成水凝胶，从而实现把细胞或者活性分子固定在受损部位的目的。瑞士的生物材料翘楚Hubbles的实验室开发了一种对基质金属蛋白酶（MMP，由细胞分泌用于降解细胞外基质）敏感的材料。这样，随着细胞分泌MMP，材料也逐渐降解，从而达到组织重建的目的。实验结果证实，这种材料能够促进组织更快再生。目前该产品已经被开发上市，商品名叫Q Gel，500ul售价约为180美元，非常昂贵。

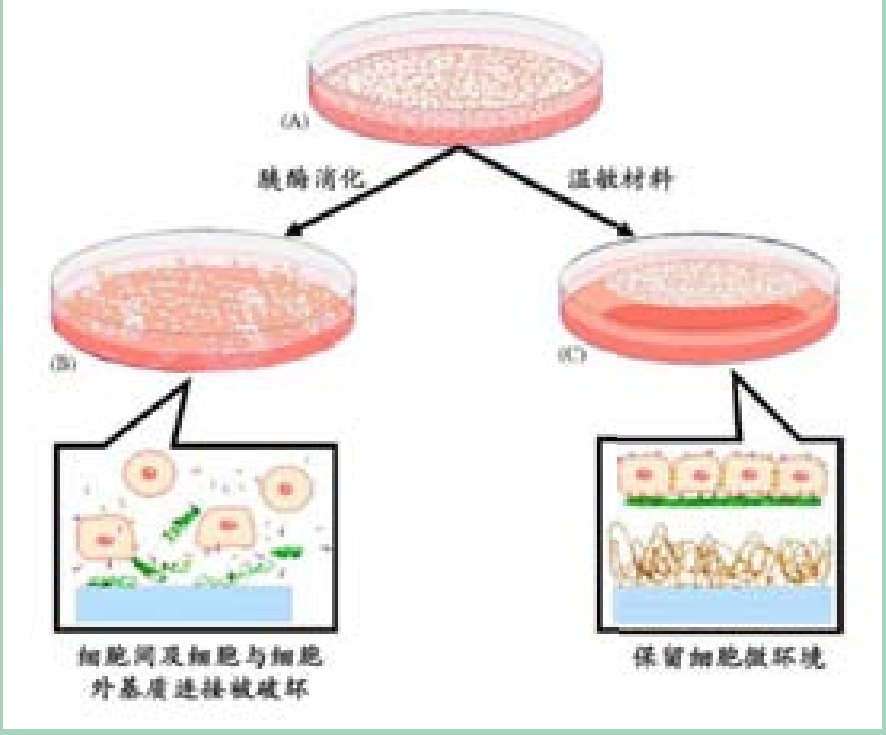


图12 温敏材料保留细胞微环境。图片来源：*Biomaterials*。

3. 控制免疫反应的材料

目前的观点认为，免疫系统在保护人体的同时，也损害了组织的再生能力。对于高等动物来说，迅速的免疫反应能够马上覆盖伤口，形成疤痕来防止体液的流失及伤口感染对机体的损害。同时，长期的慢性炎症反应，包括发炎与纤维化，通过致密的疤痕结构则抑制了组织再生。通俗地说，免疫系统倾向于牺牲部分而保护整体。然而，损伤初期的急性炎症反应对再生是有好处的，它能够极大地加快血管化并分泌多种生长因子，例如蝾螈的树突状（dendritic）细胞能够促进水晶体再生，巨噬细胞能够分泌生长因子促进大鼠视神经再生。怎样才能与免疫系统共存，乃至与免疫系统互作并利用免疫系统促进再生成为生物材料领域的另一个研究新热点。例如，藻蛋白酸盐（alginate）能够与单核细胞上的TLR-2和4结合，增强炎症反应。细菌的纤维素能够非常好地与宿主结合，同时不会引起慢性炎症反应。这启发人们思考，是否能够从入侵人体的病原体上寻找更多的控制免疫反应的线索。图13显示了目前该类生物材料的开发策略，包括促免疫耐受材料及促免疫反应材料等。

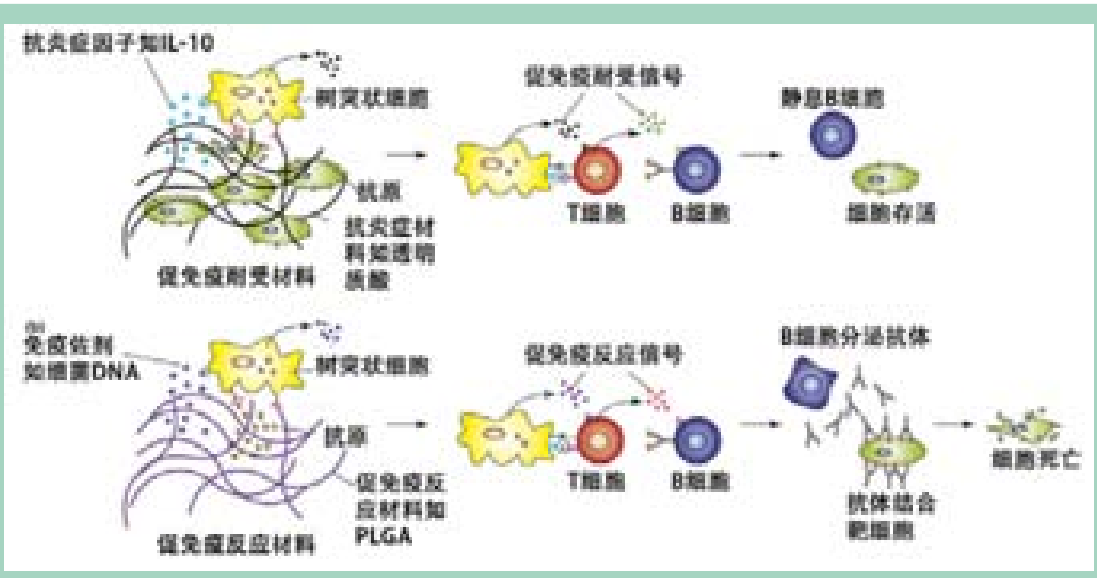


图13 免疫抑制与促免疫反应生物材料制备策略。图片来源：*Trends in Biotechnology*。

4. 纳米技术与材料在组织工程与再生医学中的应用

构成细胞外基质的纤维尺寸是纳米级的，也就是说细胞生存的环境是一个纳米环境，例如胶原蛋白形成15-300nm的纤维。目前的实验结果表明，纳米结构具有更大的比表面积及孔隙率。现有实验结果亦表明，利用电纺（electrospin）方法得到的纳米级别材料能够促进干细胞的增殖与分化，抑制细胞凋亡，因而具有非常好的促修复功能。现在，纳米材料的研究逐渐受到重视，成为再生医学研究领域的热点之一。

如图14所示，目前在组织工程与再生医学领域所使用的纳米材料包括纳米颗粒、量子点（Quantum dots）、碳纳米管、纳米纤维及纳米级工程底物。其应用包括：(1) 细胞示踪；(2) 细胞传送；(3) 分子传送；(4) 模仿体内微环境等等。

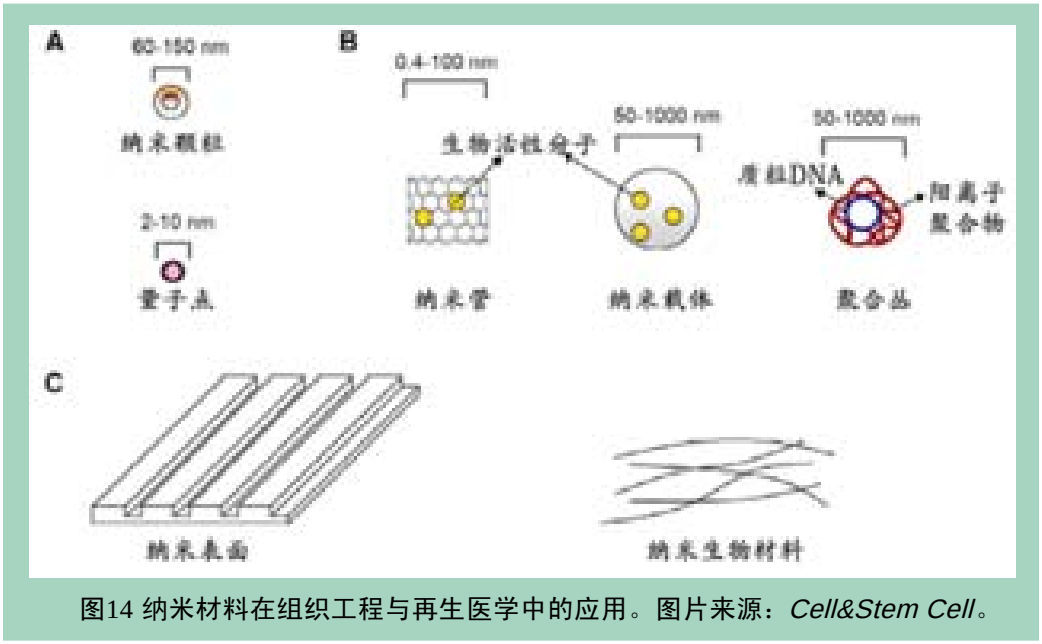


图14 纳米材料在组织工程与再生医学中的应用。图片来源：*Cell&Stem Cell*。

对于组织工程与再生医学而言，通过非入侵的手段和方法来研究细胞命运是非常重要的。当进行细胞移植之后，人们需追踪细胞究竟去往哪个部位，细胞停留预想位点的情况如何。人们最初通过标记荧光蛋白的方法来追踪，但其缺点在于分辨率不高，淬灭后无法追踪，而且必须将材料从体内取出才能准确判断。如今，利用纳米材料追踪的方法广为接受，例如，纳米颗粒Superparamagnitic iron oxide（SPIO）（这是一种将金属粒子，如铁包被上葡聚糖（dextran）之后形成的纳米级颗粒）可以通过吸附到细胞膜上，以内吞的方式进入细胞内部。在标记细胞后，通过核磁共振直接活体检测细胞的分布。这种纳米材料已被FDA批准，进入临床应用阶段。而尺寸更小的量子点（直径在2-10nm）的电子和空穴被量子限域，连续能带变成具有分子特性的分立能级结构，因而在受到光激发或电压刺激后能产生荧光发射。这些量子点可以简单地通过调整自身尺寸来得到不同颜色的荧光，并且光稳定性比传统的荧光染料要高得多，因此被用来实时探测细胞组分的变化。例如，伊力诺依大学（University of Illinois）的Chen等人用量子点来研究在干细胞分化过程中整合素（integrin）的移动情况。

此外，还可以利用纳米颗粒将活性分子直接导入细胞内部来提高分子运送效率。麻省理工学院（Massachusetts Institute of Technology）的Ferreira等人将血管生长因子通过纳米颗粒倒入胚胎干细胞的拟胚体EB中，从而极大地诱导细胞分化。德国埃朗根-纽伦堡大学（University of Erlangen-Nuremberg）Park等人比较了在不同尺寸TiO_2纳米管上干细胞的行为。结果显示，相比于平滑的表面，15nm的纳米管能够最大地促进干细胞贴壁与增殖，Focal Adhesion Complex 磷酸化及FAK活性在15nm表面上也最高，而大于30nm的纳米管则抑制细胞的活性。而台湾阳明大学（Yang Ming University）Shih等人的研究结果则显示，人骨髓间充质干细胞在500-1000纳米的纳米纤维上具有更高的细胞活性及更低的细胞移动率。然而，纳米材料的孔径太小，细胞不能够生长到材料内部。杜克大学（Duke University）Dang等人将人骨髓间充质干细胞生长在有序的热敏感的纳米材料上，然后将纳米材料一层一层堆积，结果发现细胞能向肌肉细胞分化，表达肌肉特异蛋白Myogenin。他们的方法并没有使用任何额外的生化诱导分子，从而揭开了生物材料独立影响细胞命运的面纱。

5. 生物材料的独立信号

之前，人们普遍认为生物材料的功能仅仅是提供一个细胞生长的平台，细胞对于生物材料的反应仅限于材料上能够被细胞识别的配体或者降解物。然而，最近大量的实验结果显示，材料的形状、拓扑结构、组成及强度都将影响细胞的活动，从而提出了生物材料独立作用的理论。

生物体内不同组织不仅由不同的细胞、细胞外基质构成，而且具有不同的机械强度。例如，骨组织很硬而脂肪组织较软，细胞就是生活在这样一个既有生化信号，又有机械信号的环境里。以前，人们过多关注与细胞外基质的直接生物学效应，而忽视了细胞外基质的排列以及不同强度对细胞的影响。细胞没有眼睛观察基质，但却可以通过触觉基质来感受不同并做出反应，如增殖、迁移、分化甚至死亡。美国宾夕法尼亚大学（University of Pennsylvania）的Eagler等人在Discher实验室的工作发现，干细胞在不同强度的基质上的延伸是不一样的，在硬的材料上，细胞形成更多的应力纤维（stress fiber），并且能够铺展更大的面积，而生长在软材料的细胞则倾向于收缩形成圆形。他们制备了不同强度的凝胶作为干细胞生长的支架。非常软的胶，例如模仿脑组织强度的基质，能够诱导骨髓间充质干细胞表达神经相关蛋白。而中等弹性的胶，如模仿肌肉强度的基质则会使得干细胞向肌肉细胞分化。而强度很大的胶（35kPa）

则能够诱导干细胞的骨系分化（图15）。美国斯坦福大学（Stanford University）的Helen Blau实验室的最新结果表明，细胞外基质的强度甚至能够直接调控细胞的自我更新，生长在与肌肉组织相似机械强度材料上的肌肉干细胞能够在培养过程中最大限度地保持干细胞活性。

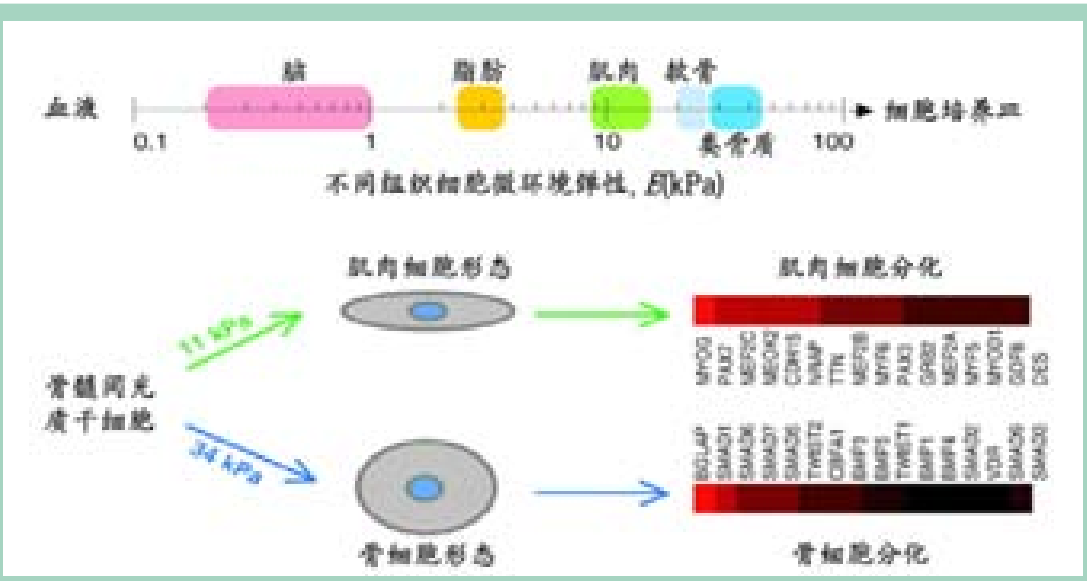


图15 不同组织的弹性及骨髓间充质干细胞在不同弹性的材料上分别向肌肉或者骨细胞分化。图片来源：*Journal of Cell Science*。

可能机械信号最终转变为生物信号的模式在这个过程中扮演了重要角色，人们对这种信号通路的了解还非常少，可能包括integrin、肌球蛋白（myosin）等，而其中最为关键的就是被称为为局部黏着的Focal dhesions（FA）。细胞通过FA将细胞外基质蛋白，如胶原蛋白（collagen）、laminin与细胞内的actin-myosin细胞骨架相连，产生拉力来对抗基质（基质强度越大，产生的力也越大），从而启动一系列的信号通路，包括Rho活性及钙通道改变等等。此外，人们还假设有一类存在于细胞膜附近的对拉力敏感的蛋白，当拉力增强时，它们的构象被改变，活性受影响，进而引起细胞行为的改变。

基于细胞骨架与干细胞命运的联系，美国宾夕法尼亚大学的Jianping Fu等人开发出了能够在24小时内预测干细胞命运的系统。他们首先构建了弹性聚合物　　聚二甲基硅氧烷微棒（直径为1微米）所组成的不同支架，这些支架保持微棒的排列不变，而仅仅是令微棒的高度不同，这个过程排除了生物材料几何形状对干细胞分化的影响。随后，他们将人骨髓间充质干细胞种植在不同高度的支架上，结果发现细胞对支架的牵引力与细胞分化命运息息相关。在同样的牵拉力作用下，高的微棒容易被牵拉，短的微棒则能够对抗更大的拉力，从而造成了在不同表面细胞形状的不同，而且当干细胞向骨细胞分化时，它们产生的牵拉力是向脂肪细胞分化时的两倍。其中令人惊奇的是，这种牵引力的不同只在24小时内发生。因此，只要通过监测细胞所产生的牵引力，就可以在24小时内预测细胞的分化命运，而无需等待两至三个星期之后才监测特异标记物的表达，从而提供了一个快速预测干细胞命运的方法。

总而言之，生物材料的发展方向主要朝着智能化（smart materials）与功能模拟化（Biomimic materials ）方向发展。一方面，人们通过对生物材料的改性或者通过发现新的生物

材料，使得它们能够很容易地按照需要的形状，结构与强度被操作。另一方面，该领域的研究必将更加重视对天然体内环境的模拟，当我们需要干细胞保持干细胞性时，需要模拟干细胞在体内的微环境（Niche）；而当我们需要干细胞分化成某一个特定组织细胞时，则需要模拟损伤组织的微环境，以保证干细胞能够定向地整体分化。总的来说，细胞的微环境包括可溶性的因子、细胞间相互作用及细胞与细胞外基质的相互作用等。随着对发育与再生过程的机理的深入了解，人们最终必定能够创造出完全能够让细胞理解并做出所需反应的环境，从而在体外培育出真正有功能的组织与器官。

顶尖科研机构及科研成果

一、顶尖科研机构简介

目前，几乎所有国家都已经开展了组织工程与再生医学的研究工作，一些研究院所已经成长为其中的佼佼者，引领着学科发展的方向。这些研究所包括美国McGowan再生医学研究所（McGowan Institute for Regenerative Medicine）、维克森林再生医学研究所（Wake Forest Institute for Regenerative Medicine, WFIRM）、欧洲爱丁堡大学再生医学中心、我国的组织工程国家工程研究中心等。我们将重点介绍国际上当之无愧的两个最顶级的研究中心：美国McGowan再生医学研究所与维克森林再生医学研究所。

McGowan再生医学研究所

图片描述：McGowan再生医学研究所网站首页。图片来源：http://www.wfubmc.edu/wfirm/

该研究所于2001年诞生于拥有移植圣地之称的美国宾夕法尼亚州匹兹堡市，由匹兹堡大学和匹兹堡大学医学中心（UPMC）在原有的McGowan人造器官中心的基础上联合创立。

McGowan研究所从属于UPMC，后者曾被《美国新闻和世界报道》（*U.S. News &World Report*）评为美国最好的医疗服务中心之一。UPMC拥有一系列组织良好和行之有效的临床试验基础设施，这为课题的临床研究及转化提供了很好的平台，而众多的就医者也为研究提供了多样化的研究样本。成立至今，匹兹堡大学和UPMC共进行了22项不同内容的再生医学方面的临床试验。

McGowan研究所拥有240多位固定职位研究人员及2000多名博士后及学生。研究领域主要包括组织工程和生物材料、细胞治疗、医学设备及人工器官等等。匹兹堡大学和UPMC每年在再生医学研究领域的投资超过750万美元。此外，还有大量来自NIH与美国国防部的经费。

目前，研究所下设脂肪干细胞中心（Adipose Stem Cells），颅面再生研究中心（Craniofacial Regeneration）、福克斯视觉恢复中心（Fox Center for Vision Restoration）、炎症与再生造型中心（Inflammation and Regenerative Modeling）、神经工程学中心（Neural Engineering）、干细胞研究中心（Stem Cell Center）、技术转化中心（Technology Transition）以及血管再生与重塑中心（Vascular Regeneration and Remodeling）等9个中心。

基于在细胞生物学、发育生物学、基因治疗、影像学、蛋白设计与表达、生物材料、生物工程和生物运转、临床转化等方面的雄厚研究实力，McGowan再生医学研究所正在成为世界级的科研与转化中心。

McGowan再生医学研究所的主要研究工作

研究工作类别	具体内容
医疗装置和人工器官方向/ Medical Devices & Artificial Organs	★着力于发展人工合成的器官或组织，以及用于修复病损器官功能的装置和替代器官。比如，将左心室辅助器和人工肝脏同干细胞治疗、基因治疗或生物材料一起用于受损器官的修复或替代；★不断寻找能够改善这些装置和人工器官的方法，包括构建抗菌生物材料降低感染几率、发展智能控制体系和生物电池协助装置等； ★研究专门用于调控心脏输出量、调节功能和内分泌功能的控制体系。
细胞治疗/Cellular Therapies	★致力于研究干细胞和基因改造细胞等多种细胞在修复或替代受损细胞功能方面的潜力，包括各种遗传疾病以及具有代谢缺陷的组织的治疗方法。 ★尝试利用细胞治疗手段修复骨折、受损肌肉（包括心肌）、受损器官（包括肝、肾、胰腺），并将这一治疗方法应用于遗传疾病及癌症的治疗。由于胚胎干细胞的使用严格受限，该所研究人员开始寻找其它来源的细胞并将其分化成所需细胞。如该所Huard研究组分离出的成人肌肉来源的干细胞已经显示出向肌肉、骨骼和胰腺分化的潜质，并具有用于修复肌肉功能的可能，如用于治疗裘馨氏肌肉萎缩症等疾病。
临床转化/Clinical Translation	★2008年，McGowan研究所接受了国家8500万美元的研究项目，与其它几个研究机构共同建立军队再生医学研究所（AFIRM），致力于利用再生医学为战场受伤的士兵进行修复治疗。期间开发的医疗方法也将有利于民众烧伤和严重创伤的治疗。 ★McGowan再生医学研究所与国防部合作，参与协助紧急情况下的再生医学治疗手段的临床评估和转化。自成立以来，研究所已经将研究成果转化到了15家公司。
组织工程和生物材料方向/ Tissue Engineering & Biomaterials	★正在开发有合适机械强度的生物可降解多聚材料——测试了胶原凝胶、脱细胞肠粘膜、碳水化合水凝胶等大量天然材料，以考察其可否用于构建合适的组织或器官； ★与组织工程材料的机械特性相关的研究也是该所的着力点之一。比如，如何在生物材料的构建中将材料机械属性和组织的微结构，及微结构与构建材料的功能相关联，从而有助于后续的与支架材料发育以及其机械训练有关的研究； ★关注干细胞对机械刺激的应答情况。

维克森林再生医学研究所

图片描述：威克森林再生医学研究所网站首页。
图片来源：http://www.wfubmc.edu/wfirm/

位于美国北卡罗来纳州的威克森林再生医学研究所，作为该领域的领跑者，自2006年成立以来发展速度惊人，她在将科研成果转化为临床治疗方面的表现非常突出。目前，WFIRM正研究培育的组织和器官已扩展到了多达22种，包括肾脏（kidney）、膀胱（bladder）、肺（lung）、心脏（heart）、肝脏（liver）、乳房（breast）、子宫（uterus）、睾丸（testes）、外生殖器（genitalia）、平滑肌（smooth muscle）、骨骼肌（skeletal muscle）、软骨（cartilage）、骨骼（bone）、食道（esophagus）、血管（vessels）、泌尿管（urethra）、输尿管（ureter）、气管（trachea）、视网膜（retina）、唾液腺（salivary glands）、胰腺（pancreas）和神经（nerve），并囊括了由胰岛素分泌细胞（Insulin-producing cell, IPC）的培育、心脏搭桥手术中的血管构建术以及士兵伤病治疗方面等的再生医学研究等。

如今，WFIRM的200多位科学家和技术专家的工作不仅覆盖了现有的组织工程研究和应用的所有流程，并且已涉及到生物医学和化学工程、细胞和分子生物学、生物化学、药理学、生理学、材料科学、纳米技术、基因组学、蛋白质组学、药物传递和外科手术等多个学科领域。实力雄厚的医药企业也正在与WFIRM进行密切合作，以帮助其将研究成果稳步向临床治疗转化。毫不夸张地说，科幻小说中的情景正在这里上演，相信未来该研究所会创造更多奇迹。

WFIRM的医生和科学家在对人体各种器官的研究和培育方面首创的多项技术和成果

发展了生物学策略，从而大批量获得之前认为不能在体外大量培养的人类细胞；
首次展示了利用细胞构建复杂组织结构的可能；
首次使用天然脱细胞生物材料进行组织再生研究；
人工膀胱移植成功，这使得该研究所成为世界上首家构造了全人工器官的研究机构；
鉴定了一类分离于羊水和胎盘的不会引起伦理争议的新型干细胞，显示出此类细胞可用于多种疾病治疗的潜质。这些细胞已被证明可分化成多种组织类型，包括血管、骨骼、肝脏、和肌肉等等。目前已经建立了包含100,000个此类细胞样本的样本库，该库可以为99%的美国人提供移植所需的配型。

WFIRM建立了完善的组织工程研究和应用流程

挑选合适的细胞用于器官构建：挑选出合适的细胞是构建器官的关键

下文将要提及的人工膀胱构建-的成功案例中，研究人员先从一片类似邮票大小的组织中提取细胞，与生长因子混合后，快速扩增，用于器官构建。对于一些不能在体外扩增的细胞，则需由干细胞分化得到。目前，该研究所正探索这些分离自羊膜水和胎盘的干细胞在糖尿病及心脏病治疗方面的应用潜能。

↓

材料筛选

理想的生物材料应与机体相容、能够促进细胞生长、并在此过程中不断降解，最终与原有组织很好地整合。为此，WFIRM的科学家建立了一套机器自动测试系统，用来测试各种具有潜在应用价值的生物材料，以了解这些材料与机体细胞的相互作用情况。通过这种测试，挑选及鉴定出新型生物材料。

↓

支架制作

在组织工程中，细胞扩培后的下一步是制作与相应组织或器官同形状的支架。例如使用电纺丝技术（Electrospinning）制作血管、肌肉或肌腱的支架。

↓

生物打印

此外，WFIRM研究人员还利用喷墨打印机的简单原理在三维结构上精细排列细胞以构建具有正常功能的组织和器官，如心脏、骨骼及血管组织等。WFIRM还在军队中建立了定点服务，可直接在不幸烧伤的士兵的皮肤上“打印”细胞，促进皮肤修复和再生。

↓

质量检测

在这一过程中，利用由激光共聚焦扫描显微镜获得样品的高分辨率图像后，再通过光学断层技术获得获得点到点图片，在计算机中重构出组织工程器官或组织的三维图像。此外，WFIRM还使用扫描式电镜检查支架和人造组织，以确保细胞和支架间的正确连接。

↓

功能测试

WFIR的研究人员使用组织灌流法在实验室检测组织工程的材料或器官的功能情况。通过灌流实验，了解该组织对化学药品和电刺激的反应情况。通常将制备的材料或器官悬挂在温度可控的密室或生物反应器中。该反应器的灌流由电脑控制，模仿在正常生物体内的情况，其应答情况同时被记录。通过与正常组织的已有数据比较，判断得到的组织工程产品的可靠程度。

二、顶尖科研成果简介

组织工程与再生医学研究范围已经涵盖了几乎所有的人体组织与器官，从相对简单的皮肤到具有复杂结构与分泌功能的脏器，而且在某些领域已经有了很激动人心的进展，例如微型肺已经可以自主呼吸、人工皮肤组织与骨组织可以与宿主相容并且生长良好、人工心脏甚至可以在体外搏动等。诺贝尔奖获得者Walter Gilbert据此认为：“不用50年，人类将能培育出人体的所有器官。”然而，我们也必须清醒地意识到，目前大部分工作依然停留在实验阶段，实验技术还不够成熟稳定或者还不具有真正的应用价值。下面我们遴选了其中有代表性的五类研究工作，以期在梳理过去与现在的基础上，窥探学科未来的发展方向。

1. 膀胱的再生

2006年，世界顶级医学杂志《柳叶刀》（*Lancet*）发表了一篇名为《为需要膀胱成形术的患者所制备的组织工程自体膀胱》（Tissue-engineered autologous bladders for patients needing cystoplasty）的文章。里面详细报道了Anthony Atala医生等人在体外制备人工膀胱，并成功移植到病人体内的工作。这一成果让Anthony Atala及其领导的维克森林再生医学所受到了更多的关注（但事实上，这部分工作是在波士顿儿童医院完成的）。文章中，他们描述了那些4至19岁的丧失膀胱功能的患者是如何受益于体外培养的组织工程膀胱的。这些病人均患有先天性脊柱裂，体内控制膀胱的神经系统功能已经紊乱、膀胱受损、无法控制尿液的排放、有时尿液不断，有时却无法排出而被逼回内脏，损伤肾脏功能。

其实，有许多原因都会造成膀胱功能丧失或不全，例如受伤或先天性缺陷，包括膀胱外翻、脊柱裂（spina bifida）等都可能造成膀胱高压与高渗。如果药物治疗失败，这些患者需要接受膀胱成形术（cystoplasty）进行修复。一直以来，胃肠片段移植是经常使用的方法，即将患者体内的胃或者肠的一段通过缝合的方式连接到受损的膀胱上，这也是目前膀胱修复的金标准。然而这种方法造成胃肠的损伤，并且膀胱会发生并发症，如代谢紊乱、尿结石等。随后，人们尝试了各种材料，例如特富龙、胶原海绵及硅胶等等，但由于机械强度及生物相容性的问题，结果都不是很理想，例如非降解材料造成结石，而降解材料则造成成纤维细胞沉积及疤痕形成等。基于组织工程的巨大诱惑力，人们开始尝试体外构建膀胱组织的方法，来修复此类损伤。

Atala是一位泌尿科医生。在组织工程摇篮之一的哈佛医学院工作期间，他深受熏陶并开始尝试膀胱的体外培养工作。1999年，Atala等人在《自然-生物技术》（*Nature Biotechnology*）上发表了人工膀胱成功在比格犬上发挥功能的开创性工作。该实验采用了最为经典的组织工程方法。首先，研究人员从膀胱组织上取下约一平方毫米大小的活检组织（biopsy），然后分别提取平滑肌细胞和膀胱上皮细胞，并置于不同的培养器皿中培养。同时，他们按照膀胱的大小制作了由可降解的PGA与聚乳酸乙醇酸共聚物（PLGA）构成的支架。当获得足够的细胞数目后，他们分别将平滑肌与膀胱上皮细胞种植在支架的外壁与内壁，并且让含有细胞的支架在体外培养3至4天以确保细胞能够贴附在支架上。随后，他们将人工培育的膀胱移回到切除了膀胱

的动物体内，在不同时间观察膀胱的形态，并对膀胱的功能进行了测试。

实验结果非常完美，从图16的膀胱造影照片可以看出组织工程膀胱在体内能够完全存活并且大小和形状保持良好。更重要的是，它能够保存尿液并能正常排出，而单纯的生物材料组的恢复功能则相差甚远。接受人造膀胱移植的比格犬能够正常排尿长达11个月。由于实验需要，他们宰杀了所有接受膀胱移植的实验比格犬，发现它们的膀胱看起来与正常膀胱几乎完全一样。

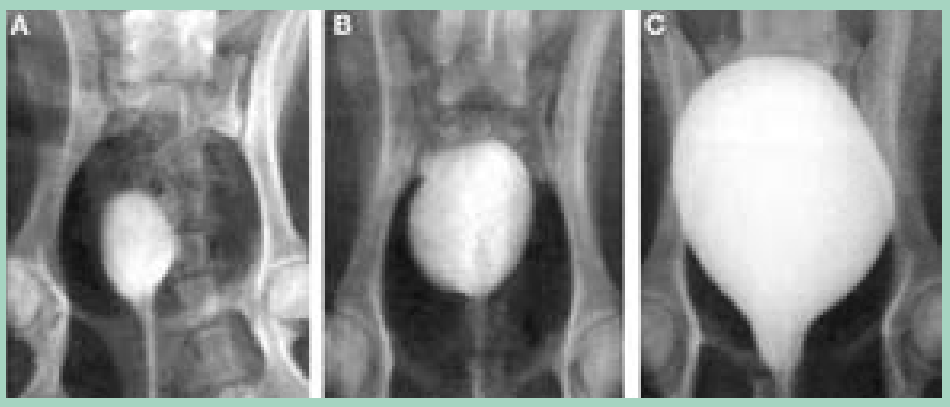


图16 膀胱切除术后11个月各组动物的造影照片。
A 为无任何处理组，B为单纯材料组，C为组织工程膀胱组。
图片来源：*Nature Biotechnology*。

基于动物实验上的良好结果，他们使用完全相同的技术手段，于1999年进行了首例人类膀胱培育和移植手术，但一直没有公布结果。随后，研究小组又进行了多例移植手术，先后在7名患者身上取得成功。这些患者的年龄分别在4岁至19岁之间，经过长达数年的的追踪并得到阳性的反馈结果后，他们正式向世人宣布了将可能给数以百万计膀胱功能不全患者带来福音的成果。此次实验对象均为患有膀胱疾病的青少年，临床治疗的最终目的是降低膀胱压力、提高膀胱的收纳和节制能力（compliance & continence），实验方法与上述描述的完全相同，唯一区别在于，他们利用来源于膀胱组织的胶原成分与PGA形成复合的支架，在保留支架机械强度的同时，增强了细胞相容性。接下来，他们分离患者自身的膀胱平滑肌细胞及上皮细胞体外培养6至7个星期之后，分别扩培至约7亿细胞。随后，研究人员将这些细胞种植在支架材料上（图17），体外培养3-4天之后移回患者体内，通过生物胶将人工培育膀胱与体内原有的膀胱组织结合。

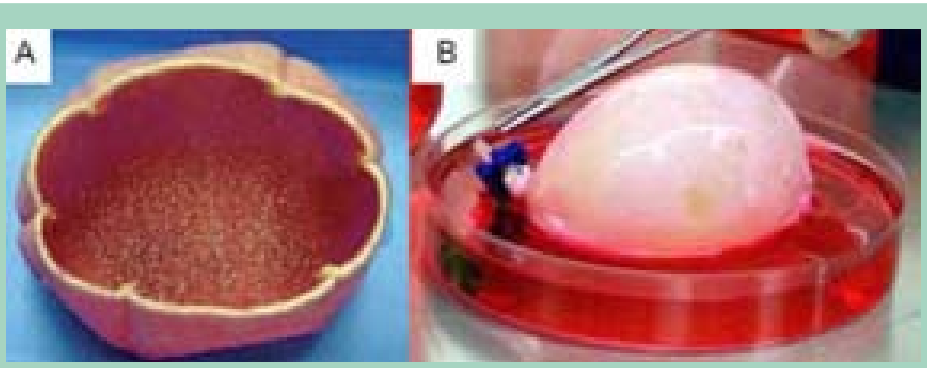


图17 左图为细胞培养的支架材料，右图为体外培养的膀胱。图片来源：*Lancet*。

由于人工膀胱的细胞来自患者自身，因此它在移植到患者体内后没有发生任何排异反应。实验结果显示，患者在接受了人工膀胱移植之后，新膀胱在一定程度上恢复了功能。例如，对于膀胱的控制能力增强并且膀胱的容积增加1.58倍，而且膀胱压下降56%左右。病人的肾脏功能逐渐恢复而且没有任何其它并发症。图18显示的膀胱外观与切片结果都表明组织工程膀胱在结构上与天然膀胱并无两样。

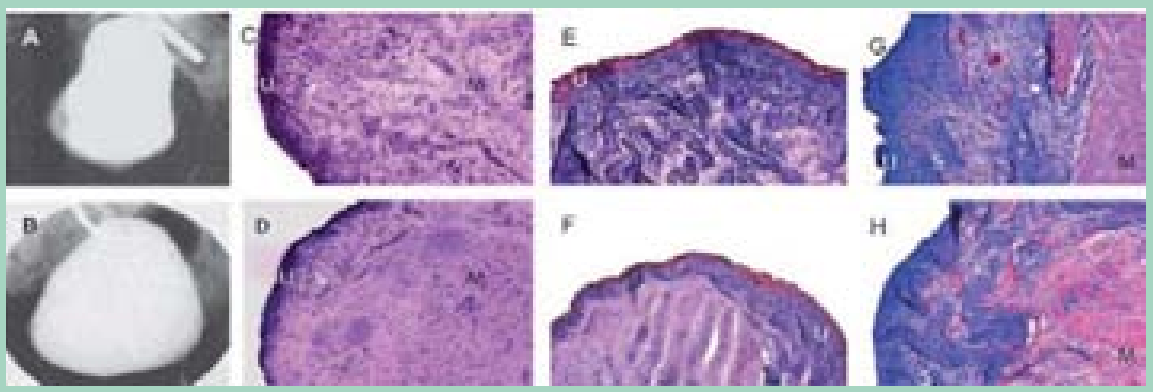


图18 A,B分别显示了术前及术后10个月膀胱的造影图。C,E,G为移植人工膀胱后31个月膀胱组织切片染色图。D,F,H为正常膀胱的切片染色图。C,D为Haemotoxylin&Eosin（H&E）染色，E,F为抗pan-cytokeratin AE1/AE3免疫组化。G,H为抗SMA免疫组化。组织工程膀胱包含三层结构，包括尿路上皮细胞（U）、黏膜下层（S）及肌肉层（M）。图片来源：*Lancet*。

16岁的Kaitlyne McNamara在五年前接受了此项手术。得益于用自身细胞培育的新膀胱，现在她已经摆脱了出生伊始就陪伴自己的尿布，近乎衰竭的肾脏也得到恢复，开始了正常的生活。

然而，在这部分工作中我们可以看出这不是一个真正意义上的全膀胱移植，在体外并没有血管或者神经系统，移植之时，原有的膀胱并未被切除，人造膀胱只是包被在了原有受损膀胱的外围，通过原有膀胱的血管和神经系统的延伸来达到人造膀胱的存活并发挥功能。尽管如此，这已经给这些饱受折磨的病人带来了巨大的福音。

前文提到，组织工程研究首先在骨与皮肤组织修复中得以萌芽并开始发展，然而在随后的十几年间一直没能在其它更为复杂的组织或器官有大的突破，包括膀胱等。与皮肤或骨组织等单一组织不同，膀胱需要更加复杂的结构及几类细胞，包括肌肉细胞、神经细胞、上皮细胞及血管细胞等的协作来控制排尿过程。人工培养膀胱在体内的存活并功能化显示了它良好的血管化和神经化，这是复杂组织工程构建的关键。因此，Atala的工作意味着组织工程在人体的应用从单一组织向复杂组织的重大飞跃。

从这个成功的例子中我们也可以看到，组织工程与再生医学的发展需要依托于科学研究机构与拥有充足医疗资源的医院的结合，并进行大胆尝试。Atala是一位地道的外科医生，直到现在虽然贵为维克森林再生研究所的所长，但本身并不指导学术，他所采用的技术并没有新颖的地方，胶原与PGA都是早已经被FDA批准可以被用作医疗用途的材料，细胞培养也并非新技术。他的成功很大一部分归功于他的冒险精神、波士顿儿童医院（全美最大的儿童医院之一，

哈佛大学医学院的的附属医院）的支持，以及充足的医疗资源。另外，这是一个几乎完全由他个人负责的临床实验，没有得到任何外界经费的支持。这很好地诠释了依然处在发展早期的组织工程与再生医学的特点，即在无法得知具体机理的时候，首先迈开尝试的脚步。

而真正意义上的全器官移植则始于2006年并在2008年末发表的人工气管的构建与移植。一位名为Claudia Castillo的西班牙妇女因肺结核（tuberculosis）造成左肺与气管连接处的支气管受到感染而产生病变，如不及时移植新支气管，她的左肺将会因感染将被切除，而少了一半的肺后她的生活将受到巨大的影响。在失去左肺与移植人工气管之间，在稳妥但衰弱与冒险但健康之间，Castillo选择了后者，在巴塞罗那大学医院接受了全球第一例活体组织工程气管的移植手术。

整个过程及术后没有使用任何免疫抑制剂，但实验获得了难以想象的成功。手术后 4 天，移植气管已经基本和其它气管一样，没有任何的排异反应，Castillo甚至可以在手术后10天就出院回家照顾自己的孩子！这个实验是一个完全切除然后再生的过程，更为重要的是，它避免了对人体健康有巨大伤害的免疫抑制剂，凸显了自体移植的巨大优势。

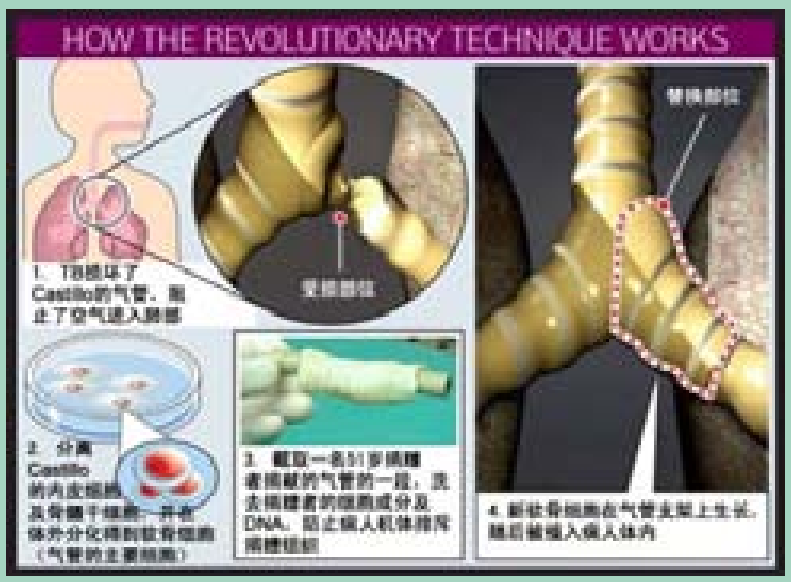
气管的移植手术过程

在该实验中，首先截取一名 5 1 岁捐赠者捐献的气管的一段，使用十二烷基硫酸钠（SDS）与脱氧核酸酶I（Dnase I）去除细胞成分及DNA，制备无细胞支架。该支架保留了气管的结构，但已经没有了捐赠者的细胞成分。

其次，分离Castillo的内皮细胞及骨髓干细胞，并在体外分化得到软骨细胞（气管的主要细胞），接着在体外扩增培养。

随后，将内皮细胞与软骨细胞种植在脱细胞的气管支架上，并在生物反应器中培养4天。

最后，通过手术将Castillo坏死的气管完全切除，植入再造气管（5cm长）。



图片来源：http://www.fareastgizmos.com。

2. 脱细胞组织基质的神奇作用　　人体再生的巨大潜能

回到我们开篇所提到的Hernandez的故事。在进行手术之前，Hernandez右腿上的伤口有一个深及骨骼的大洞，因为损失了90%的肌肉，他几乎无法控制这条腿。由于伤口非常不规则，外科医生无法给他移植被炸掉的肌肉以及其它组织。医生甚至考虑截肢以防止伤口恶化从而影响机体。在历经3年多的折磨后，Hernandez决定接受医生Steven Wolves的建议，采用脱细胞组织基质来治疗受损的右腿。脱细胞膀胱组织基质（urinary bladder matrix, UBM）及脱细胞小肠黏膜基质（Small intestinal submucosa-extracellular matrix）已经被FDA批准用于烧伤、溃疡等皮肤损失的修复，或者腹腔壁等结构组织的修复，但很少用于人体的深层组织，诸如肌肉神经组织的修复。在实验中，医生使用了10层冻干的SIS材料叠在一起，然后填充到缺损的部位。

手术几周后，Hernandez腿上长出了新组织以及新肌肉，伤口被填平。两个月后的CT扫描结果已经显示了新组织的再生。从9个月时的CT扫描图（图19）中，我们可以看出在移植了SIS之后，腿部生长了约1.9　4.9　9.4 cm大小的新组织，约20%的丢失组织已经再生，医生预计最终能再生约50%的组织。

图19 A、B显示了手术前后侧面CT图，C、D显示了手术前后切面CT图，箭头表示再生组织的位置。图片来源：*Orthopedics*。

如今，Hernandez可以毫不费力地用双腿走路，甚至梦想着有一天能重回岗位。尽管Hernandez及主治医生都极力宣称手术极其成功，但是对这样的结果许多医生及科学家依然持非常谨慎的态度，这一方面由于实验缺乏对照，另一方面则是人们对这种材料的作用机理知之甚少，所以最终这项实验结果并未发表在主流的医学杂志上。

非常有意思的是，许多主流媒体却报道是一种神奇粉末挽救了Hernandez，而事实上用在Hernandez身上的并不是粉末。笔者就此事专门联系了发表此项工作的通讯作者Thomas Walters，证实了他们所使用的是多层膜而不是粉末。而这类材料之所以被称为神奇粉末，是因为来源于猪的UBM被做成粉末的形状后，能够诱导断指的再生。加之美国军方也在使用这种粉末，这极具媒体效应的结果让神奇粉末的名声不胫而走，结果以讹传讹，导致了媒体的误读。

断指是一种比较常见的外伤，对于成人来说，断指几乎是不可能自我再生的。然而，两岁前儿童断指再生的事例却比比皆是，在两岁之后这种能力则消失了。虽然目前人们还没有弄明白原因，但是再生医学科学家们已经已经告诉人们，成人的断指也将可以再生了！

2005年8月，时年63岁的Lee Spievack在演示一架飞机模型时，不小心被快速旋转的飞机螺旋桨削掉了右手中指长约1厘米的手指尖，而且这截指尖也无法找到了。医生观察伤口后告

诉Lee可以将胳膊或腿部皮肤移植到手指来包裹伤口，以加快伤口愈合，但是手指将无法复原，也就是手指将短了一截。随后，Spievack将这个沮丧的消息了告诉了他的哥哥Alan Spievack（2008年去世，知名再生医学专家与外科医生）。在得知这一消息之后，Alan劝Lee不要做手术，并送给他一小瓶白色的粉末，告诉他每隔两天将粉末撒在伤口。事实上，这些粉末来自于Alan创建的一家名为ACell的公司。这些粉末来自于脱细胞猪膀胱组织。Lee接受了Alan的建议，每隔两天将这些粉状物敷在受损的手指尖处。结果不到4周，奇迹出现了，断指生长了约半英寸，达到了原有的长度。4个月后，重生的手指尖除了顶端有轻微疤痕外，一切并无异样（图20）！除了Lee Spievack，Acell公司生产的神奇粉末已经至少成功治愈了3例断指患者，而美国国防部也正在尝试将这些粉末应用在肢体受损的士兵身上。

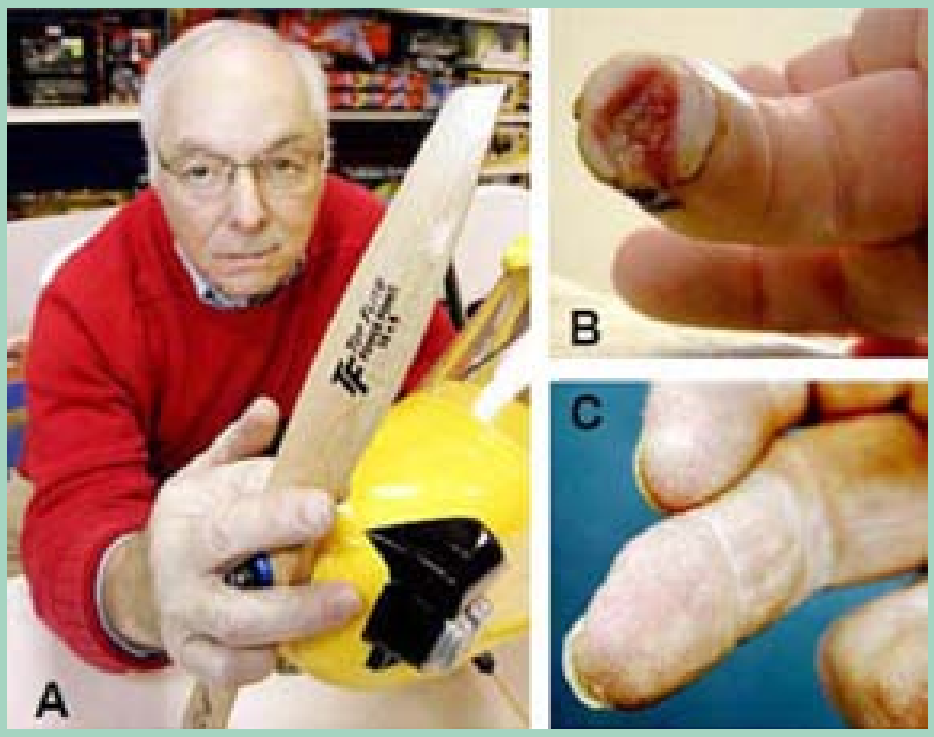


图20 A小图：Lee Spievack演示罪魁祸首-飞机模型。B小图：为其断指；C小图：显示断指完全复原。图片来源：Behrman&Spievack。

目前，人们还不十分了解这种粉末的作用机理。在这些粉末里至少包含了laminin、纤维粘连蛋白（fibronectin）、巢蛋白（entactin）、饰胶蛋白（decorin）、双糖链蛋白多糖（biglycan）、I、III、IV、V及VI型胶原蛋白（collagen I, III, IV, V, VI），以及一些生长因子，如碱性成纤维细胞生长因子（bFGF）等。它们不仅可以促进干细胞贴壁，还可以促进干细胞的迁移与增殖。兼任ACell公司科学顾问的再生医学科学家Stephen Badylak指出，粉末可以募集干细胞到受损部位，而迁移的干细胞能够接受周围环境所产生的刺激信号而分化，继而形成手指再生所需要的骨、皮肤以及神经等等。

Stephen Badylak的实验室继开发并商业化这种神奇粉末之后，又开发出了升级版的神奇粉末。在2010年2月的《美国国家科学院院刊》（*PNAS*）上，他们发表了题为《成年哺乳动物组

织替代的割处再生方法》（Epimorphic regeneration approach to tissue replacement in adult mammals）的文章。作者将猪的UBM放在酸性的胃蛋白酶（pepsin）中降解成可溶于水的短肽，冻干之后制成粉末。这些粉末状细胞外基质的酶降解产物具有极强的生物学活性，体外结果显示它们能够极大地吸引干细胞迁移及促进干细胞的增殖。随后，他们开始尝试在动物实验中了解这些降解产物的作用。

他们首先将小鼠的第三脚趾切除，然后在受伤的部位（即割处）注射这些降解产物。两周后，从外观上看，实验组与对照组并无二致。然而，在注射了降解产物的愈合组织中，研究人员发现了大量的单核细胞，这些细胞不仅数目众多，而且大量表达干细胞的标志物。更让人惊奇的是，这些干细胞能够在体外诱导成为表达神经标志物的细胞，而来自于对照组，即未注射降解物组的细胞并不能分化成神经细胞（图21）。

这些结果不由得让我们想起神经细胞在具有极强再生能力的蝾螈（newt）断肢愈合过程中的关键作用，即切断神经的蝾螈将失去断肢再生的能力。在这个实验里，干细胞的神经分化潜能是否暗示哺乳动物也可以像蝾螈那样再生？遗憾的是，也许时间太短的原因，我们没能知道断趾的最终修复结果。

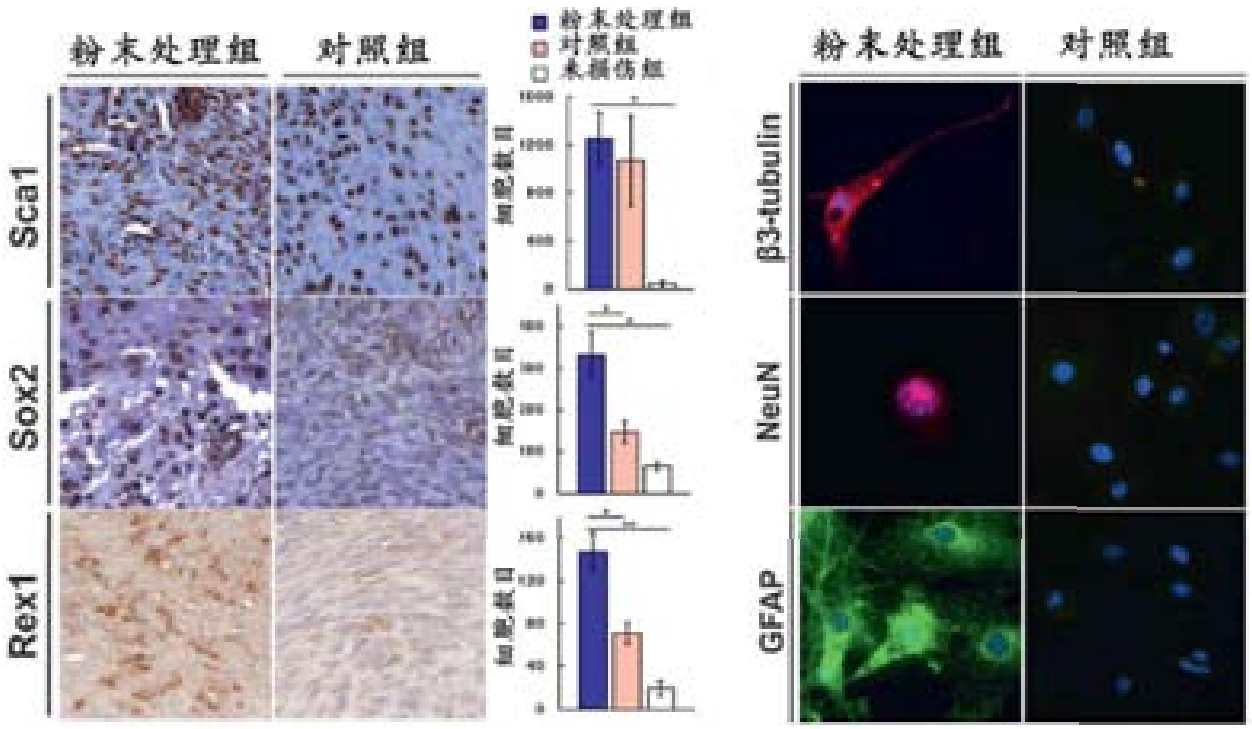


图21 左图的切片图显示了在注射粉末溶液之后，募集了大量具有干细胞标志物的细胞到损伤部位。右图表明这些细胞能够分化产生神经细胞的标志物。图片来源：*PNAS*。

目前，科学家对这一结果意见不一。在该研究中，产生降解产物多肽的方法是极为经典的获得胶原的方法，所以一部分人认为所谓的降解产物仅仅是胶原而已，在实验过程中应该加上胶原组作为对照以证明这些降解产物的确具有不同于胶原的特殊的活性。而另一部分支持者则认为，细胞外基质是极其复杂的，它包含了多种多样的基质蛋白、生长因子和糖类，这些活性分子极有可能保留在降解产物之中。而且根据最新的理论猜测，细胞外基质蛋白包含有类似于生长因子的序列，它能够与细胞膜受体作用而产生与生长因子类似的作用，所以谜底需要在我们完全确定多肽的序列及功能之后才能解开。尽管如此，此类产品已经在组织工程产品中占有重要的一席之地。而这些脱细胞组织基质的特殊活性也促使人们开始更多地使用类似的材料作为器官构建的支架材料，而我们下面提到的人工心脏的构建，则是其中的一个不可思议的成功案例。

3. 人工培养的活体心脏

心脏是非常独特的器官，具有复杂的搏动功能以推动血液循环，但同时结构又相对简单与独立，没有分泌功能。它主要由心肌细胞及构成血管系统的平滑肌与内皮细胞等细胞所组成，而心肌是控制心脏跳动的直接执行者。目前，由于心肌细胞受损（缺氧或者病变造成心肌细胞跳动不正常或不足）而造成的心肌梗塞或心衰仍是死亡率最高的疾病之一，而且一直呈增长的趋势。

在组织工程与再生医学研究领域，目前已经有许多方面应用了成体干细胞，例如直接注射骨髓干细胞的方法来修复受损的心肌。然而，通过注射的方式移植的细胞只有很小一部分，约为1%左右能够保留在受损部位，其余的细胞则通过血液循环进入不同的部位，例如肺和肾脏。通过抗体偶联等方式能够将细胞的保留率提高到10%。但是这部分保留细胞能否存活，能否分化及发挥功能目前还一直存在争议，人们对于治疗结果也是各执一词。而通过联合生物材料注射的方式则可以大大提高细胞的传送率及存活率。例如，加州大学伯克利分校（University of California Berkeley）的Christman等人通过纤维蛋白（fibrin）包被成肌细胞（myoblast）的方式将细胞移植到受损部位，相比无生物材料的细胞溶液组，在5星期之后细胞存活率大大提高。此外，美国华盛顿大学（University of Washington）的Okano等人利用活细胞组织片（tissue patch）技术，将细胞在体外培养在温度敏感的材料上，然后细胞形成完整的新生肌肉组织片，最后将这种约1mm厚的组织片移植到受损的大鼠心肌组织外部。结果显示移植的细胞能够与宿主心肌同步搏动，结构也与天然组织非常类似，心脏功能获得了大大改善。然而这种技术并不适合大面积心肌受损的病人。

目前对于晚期的心衰患者来说，人工心脏起搏器是常用的选择。患者可以通过机械辅助的方式保持心脏的收缩与舒张功能。然而，这些机械装置都有使用寿命短、存在感染风险等问题，并且生活质量受到影响，所以心脏移植依旧是治疗严重心脏疾病的金标准。然而，在美国有约五百万的心衰患者，且每年新增55万病例。每年约有2700人等待心脏移植，但捐献的器官只有2200颗，而且在手术之后病人需要长期服用免疫抑制剂，并承担着糖尿病或肾衰的风险。

异种器官移植是另外一种可能性，例如移植猪的心脏，然而目前离应用还遥遥无期。另一方面，由Abiomed公司开发的完全无生物活性的人工心脏（不同于起搏器，它可以完全取代原有心脏）于2006年得到美国食品和药物管理局批准使用。这也是首个获得批准使用的人造心脏，名为AbioCor。它完全由钛和塑胶制成，可以让心脏病晚期病人延长寿命。这点是毫无疑问的，但具体能使用多长时间，则还没有更多的结果。因此，目前来说，对于这类病人，心脏移

植是最终的解决方案。然而正如我们前文提及的，心脏供体的数目远远不能满足移植的要求。因此，人们开始尝试使用组织工程方法来构建人工活体心脏。但目前进展极其缓慢，存在的难点在于：(1) 如何构建能够与身体相连的血管系统；(2) 如何得到足够的细胞，并且能够从里到外种植在三维支架上以构建心肌组织；(3) 找到合适的生物反应器以让组织成熟。构建与心脏结构类似的外部支架目前不存在技术问题，但是如何模拟内部结构则非常困难。

美国明尼苏达大学（University of Minnesota）的Ott等人则巧妙地避开了以上这个难题。他们通过将天然心脏脱细胞的手段来得到三维支架，同时最大程度地保留了内部结构以供细胞生长。在移植了内皮细胞与心肌细胞之后，一个令人惊喜的、会跳动的人工心脏诞生了。这部分杰出的工作发表在2008年1月的《自然医学》（*Nature Medicine*）杂志上。

他们使用大鼠的心脏作为研究对象。首先，他们比较了不同的脱细胞方法，通过冠状动脉灌注的方式将脱细胞液（包括PEG、Triton-X100及SDS等）注入组织内部。图22的宏观照片及HE染色结果显示，在SDS溶液灌注12小时后，细胞成分能够被最大程度地去除，同时保留了内部结构。

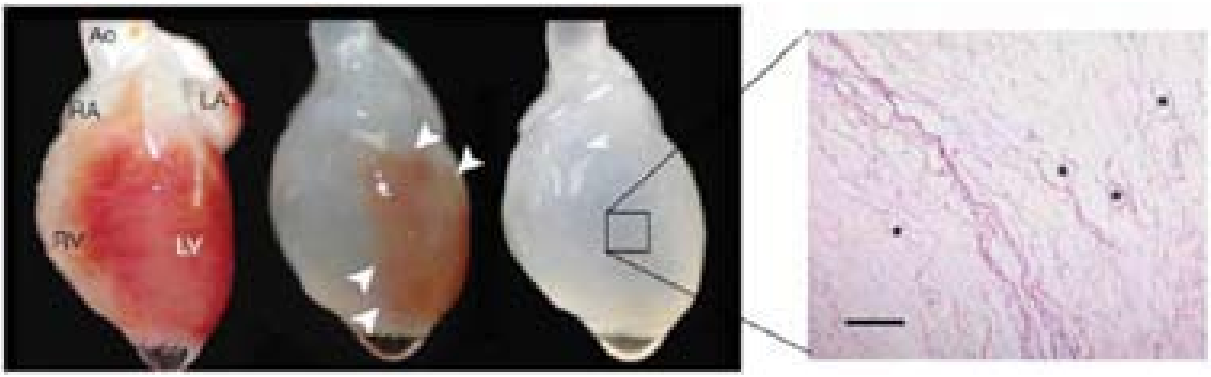


图22 左图显示了大鼠心脏的细胞成分在逐渐被去除。右图的HE染色已经观察不到核成分，但保留了大血管结构。图片来源：*Nature Medicine*。

随后，研究人员将脱细胞心脏切片并做免疫组化染色。结果表明，脱细胞的组织主要由I型与III型胶原、fibronectin及laminin构成，保留了血管结构，但细胞已经完全去除。

在得到无细胞支架后，他们首先进行了心肌细胞的培养实验，将新生大鼠的心肌细胞、内皮细胞、平滑肌细胞及纤维细胞等心脏的主要细胞群通过内部注射的方式输送到材料的内部，然后将包含有细胞的心脏支架放置在生物反应器中。随后，他们通过培养基的循环达到营养与氧气的运输及提供机械刺激。接下来，他们将培养基通过脉动的方式从左心房输入心脏然后从大动脉流出。同时左心室的脉动膨胀（前负荷）与一个屈从回路（compliance loop）连接到升主动脉（ascending aorta）上，以提供生理上的冠状动脉灌流及后负荷。冠状动脉的灌流液则从右心房流出，同时加上了电刺激信号（约8-20伏，1赫兹），以模拟细胞在体内的情况。这也是他们实验能够成功的关键之一。

在第8天，该人工心脏组织已经能够对电与机械刺激产生反应了，甚至能够像天然心脏一样对肾上腺素做出反应，产生整体的节律改变。同时，它还能够产生类似于泵的功能，可以达到相当于正常心脏2%的收缩功能（图23)。

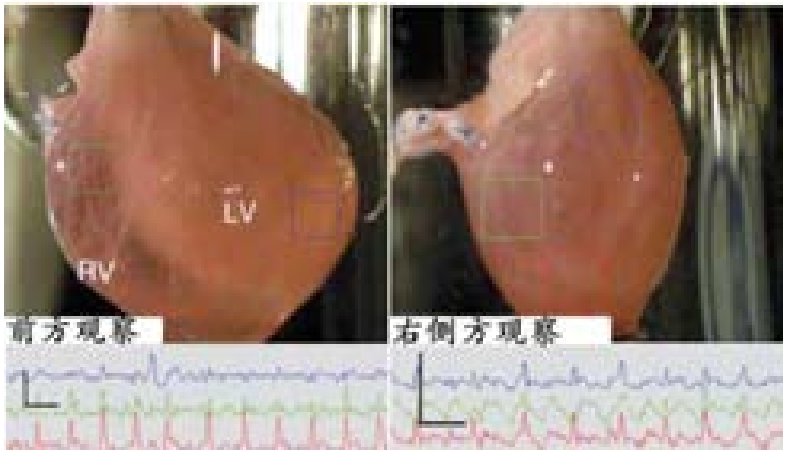


图23 显示不同角度的人工心脏及在不同部位的搏动情况。RV及LV分别表示左右心室。图片来源：*Nature Medicine*。

在组织学分析中，8天之后活体组织的厚度大约为1毫米，细胞存活率达到95%左右。在整个左心室都检测到了平滑肌细胞及心肌细胞的标志物。在有些区域同时有内皮细胞标志物的表达，同时具有收缩能力的不成熟纤维开始形成。间隙连接蛋白基因（connexin-43）的表达及协同收缩表明这些纤维及连接是有功能的。

从这篇文章中，我们可以看出脱细胞全组织目前是构建人工组织的一个极其有效的手段，它们保持了很好的形状与信号来指导组织重建，这一点在脱钙骨基质的成功应用上就早已得到证实。上述我们所提到的人工气管的成功也同样证实了脱细胞支架的巨大潜力。虽然体外构建的心脏能够有节律地跳动并做出反应，但功能依旧很弱，也许更长时间的培养能够使其更成熟，但随之带来的血管化问题则让全心脏的生长困难重重，目前该研究组还没有在构建的组织中检测到明显的活体血管的出现，这意味着细胞的存活仍然完全依赖于营养液渗透而不是脉管系统。此外，他们目前使用的是大鼠心脏，面对大得多的人的心脏，难度将会更大，这也是直到现在，这部分工作依然没有太大的后续突破的原因。为了尝试解决这个问题，他们在文章的最后一部分采用了先种植内皮细胞让组织血管化的办法，结果也显示了有血管样结构的形成。

在这部分工作之后， 2010年6月的《科学》（*Science*）杂志及2010年6月的《自然医学》（*Nature medicine*）杂志分别发表了题为 可体内移植的组织工程肺（Tissue-Engineered Lungs for in Vivo Implantation） 及 通过脱细胞肝组织基质重细胞化的方式构建可移植物让器官再造（Organ reengineering through development of a transplantable recellularized liver graft using decellularized liver matrix ）的两篇文章，显示出人们对这种技术的热情与期待。

在这两部分工作中，作者采用了与上述方法几乎完全一样的技术流程，但更进了一步。他们将大鼠的肺组织或小鼠的肝组织脱去细胞后保留结构，然后将肺上皮细胞、内皮细胞或肝细胞种植在脱细胞肺或肝支架上，从而获得了肺样或者肝样活体结构。更重要的是，他们都在材料血管化及动物实验方面进行了更进一步的尝试。前者将肺样组织移植到了切除左肺的大鼠体内，结果显示移植物能够很好地存活，并且在移植物内观察到了血液循环，但是动物最长只存活了两个小时；后者将活体肝样构建物移植到了大鼠的体内，并且通过与体内血管相连的方式尝试在无血管移植物上建立供血系统。移植物在体内至少能存活8个小时，并且能够部分执行肝

细胞功能。这让我们非常期待后续的实验结果，即这些人工肝是否能够独立发挥功能以替代受损的肝脏。

对于具有复杂结构的脏器器官的构建，3D打印技术将会是最有前景的技术。通过切片的方式可以将心脏的结构从三维解构到二维，然后转化成打印所需要的照片，接着利用层叠的方式就可以得到三维打印所需要的数据。目前人们对于心脏细胞的分布是比较了解的，这样可以分析出每张照片上需要什么样的细胞及如何分布、需要什么样的细胞外基质，包括血管等，从而可以通过层层叠加的方式构建出一个与天然心脏类似的人工心脏，然后在生物反应器中成熟。但是，目前3D打印技术还不能解决同时打印不同材料的难题，而且目前还没能找到适合细胞生长，同时又能够快速成型、具有足够机械强度的材料。基于目前生物材料科学的庞大研究规模与日新月异的发展速度，相信在10年之内，就会有满足要求的材料问世。

4. 换脸人——移植医学创造的再生奇迹

前文提到，移植医学是再生医学的“第五元素”。自1954年Joseph E. Murray医生完成第一例肾移植以来，移植科学逐渐成长为外科学中发展最快的学科。而Joseph也因此于1990年获得了诺贝尔医学与生理学奖。在随后的发展历程中，移植的对象逐渐扩增到心、肝等几乎所有实体器官（solid organ）。此类手术的主要内容包括血管的缝合与及器官在体内的固定等，整个流程比较成熟。但免疫排斥问题始终困扰着医生和患者，患者移植后存活率一直较低。随着免疫抑制药物的不断改进，病人的存活率不断提高，例如他克莫司的使用可以使肝移植患者的一年存活率提高到90%左右。目前来说，环孢素A、麦考酚酸酯、他克莫司是移植免疫排斥主要的药物，医生通常采取联合用药的方式，不断调整剂量以抑制免疫系统。在美国，他克莫司的使用率占到了90%，环孢素A约占10%。不幸的是，这些药物副作用都极大，例如最终会造成心血管疾病及糖尿病等。总的来说，实体器官的移植已经是目前比较成熟的外科手术之一了。

复合器官的移植（composite tissue allotransplantation）一直到上个世纪90年代末才开始有了大的突破。所谓复合组织移植，指的是移植过程涉及多种组织，包括神经、肌肉、血管、皮肤、骨头等等。手术复杂程度要远远大于单一实体器官的移植，涵盖皮肤、神经组织的缝合、骨组织融合等。而且皮肤是对免疫原最为敏感的组织，排异性与被排斥性都非常强（这就是为什么检验是否过敏时，通常采用皮试的原因），常规药物无法彻底阻止免疫系统对皮肤的排斥。直到能够阻止多组织排异的免疫抑制剂出现，活体复合组织移植才得以实现。

第一例真正意义上的复合组织移植是1998年英国医生Michel Dubernard所做的手臂移植。虽然这是一个成功的开山之作，但是由于病人需要终身服用副作用极大且费用昂贵的抗排斥药物，从而导致了一个伦理学问题的产生，即是否需要以使用对自己身体伤害极大甚至缩短寿命的药物来换取一个并不会拯救生命的组织？接受该移植手术的新西兰人Clint Hallam在术后28个月之后请求医生切除新手，一方面是因为他始终无法在心理和生理上认同新手臂，而另一方面则是他无法忍受组织排斥的折磨，也无力承担高昂的抗排斥药物。

此后几年，也只有少数几个中心计划开展类似的复合组织移植。直到2005年的首例面部移植（face transplant）的成功，才真正让世人了解到复合组织异体移植对人们生活所产生的巨大改变。换脸之所以能够给人们带来如此大的刺激，源于脸孔在当今社会的极其重要性。例如，一个手或者脚残疾的人，可以在公众面前很好地生活，人们对于此类残疾的包容度非常高，能提供自己力所能及的帮助并且可与这类残疾人进行很好的沟通。但对于脸部缺陷，尤其是面容完全损毁，人们的心里承受能力将大大降低，坦率地说，患者将失去最基本的社会交往。此

外，抛开疾病的层面，从容貌改变的角度来说，换脸手术市场更是巨大。例如，通过锻炼可以让四肢更加强壮，却不可以让自己的容貌有太大的改变。所以，总的来说，换脸术无论在临床及美容市场都有非常巨大的需求。更为重要的是，由于换脸术将再生一张活生生的脸，而不是类似面具的整容，所以这也是一个从重塑（reconstructing）到重建（restoring）的巨大飞跃。然而，此类手术同样会带来令人恐怖的伦理问题及一系列社会问题。在《换脸》（FaceShift）这部电影里，我们可以直观地体会到换脸给受术者自身带来的认知混乱，以及给社会带来的巨大影响。

从2005年11月首例面部移植以来，全球有报道的脸部移植手术总共有13例，6例在法国、3例在西班牙、2例在美国、1例在中国，还有1例在埃及。第一例手术的患者只缺损了鼻子，上下唇及下巴，手术内容相对简单，目前患者状态非常健康，最新的照片显示其面部已与常人无异，能够正常做各种表情（图24）。值得骄傲的是，我国的郭树忠医生及其团队在半年之后做了全球第二例面部移植，为一位被熊咬伤2/3面部的村民移植了新的脸。遗憾的是，病人在2008年去世。由于当地风俗的原因，无法对病人做检查，从而也无法得知病人死亡的真正原因。最近的一例是在西班牙完成的全脸移植，这也是世界上首例真正的全脸移植案例。一位名为Oscar的西班牙青年在事故中几乎失去了所有的面部组织，而且不能说话不能吞咽。在做了全脸移植手术之后的四个月，病人已经能够开始感觉到脸部的存在并且能够做简单的运动。最神奇的是，他开始说话了！但遗憾的是，至今他依然无法在睡觉时合上眼睑。

图24 第一位换脸人Isabelle Dinoire在术后三个月与一年时的脸部表情。
图片来源：XINHUA/AFP。

在这些换脸手术案例中，美国俄亥俄克里夫兰临床医院所做的手术事实上是第一个被批准的换脸术（2004年底被批准），由于多种原因该医院一直推迟到2008年底才开始实施。期间，手术实施团队花费了近4年时间选择手术对象。他们认为患者必须心理稳定、拥有家庭支持并有能力权衡潜在风险和收益，这些要素是手术成功的关键。虽然他们的工作并不是最新的案例，也不是全脸移植（约有80%的脸部组织被更换），但他们的工作是发表在主流医学杂志《柳叶

刀》（*Lancet*）上有关脸部移植的最新报道。该手术有非常完整的被临床医生承认的记录与评价，所以我们将详细介绍他们的工作。

2004年，时年41岁的Connie Culp在与丈夫的争执中，被丈夫用猎枪打中脸部，失去了鼻子、一只眼睛、上颚以及上嘴唇。她不能吃固体食物，没有味觉和嗅觉，只能通过一个直接插入气管的管子呼吸。在克里夫兰临床医院历经20余次矫形之后，Connie外形并未明显改善，依然无法在公众之中正常生活，沮丧的她在与医生Maria Siemionow交谈之后，决定接受换脸手术。

接下来，由多专家组成的团队，包括外科医生、耳鼻喉专家、移植医生、麻醉师、移植精神病学家、生物伦理学家、牙医、移植感染疾病专家及免疫学家等，对Connie做了全面评价。他们告知Connie手术的风险，包括严重的感染、糖尿病、肾衰及骨坏死等。在完成这一系列术前工作之后，医生选择了一位脑部死亡的妇女作为脸部的供体，该妇女的年龄、种族与皮肤结构都与Connie类似。

2008年12月9日，Connie接受了长约23个小时的手术，主治医生Siemionow是世界闻名的手部微创专家。两台手术同时进行，一台手术基于CT扫描的结果确认Connie所需要更换的组织与具体结构，将 捐脸者 的脸部器官和组织完整切割下来；而另一台手术则是移除Connie脸上原先的疤痕组织与矫形之后的植入物，并在保留大血管与神经完整的前提下，将 新脸 移植到Connie脸上。其中最为主要的是，缝合血管组织与神经干。从图25的手术示意图中我们可以看出，这是一个极其精细的手术，整个手术几乎完全在显微镜下完成，这也是为什么主治医生选择了优秀的显微外科医生Siemionow的原因。

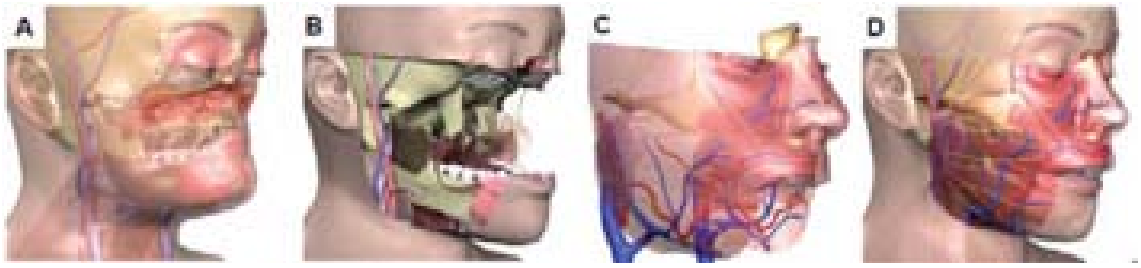


图25 换脸的手术流程模拟图。A为术前康妮的脸部形态，B为手术过程中移除的原有的植入物及疤痕组织等，暴露出需要移植的部分，以此为依据从捐献者脸上移取互补的部分C。D为移植后预计的外观 。图片来源：*Lancet*。

术后，Connie的状态非常好（图26）。我们已经可以看出现在的她可以自如地操控她的新脸，做一些表情甚至微笑了。新面孔几乎与正常的脸孔没有区别，并且她已经能够融入公众，开始正常的生活了。从这个案例我们也可以看出，对于一个成功的复合组织移植手术来说，必须要求精湛的外科手术技巧，尤其是显微外科技巧、具有坚强心理素质的病人、有效的免疫移植剂、术后的锻炼及社会关怀等等。

基于目前许多医院拟开展相关的手术，关于复合组织移植的标准规范正在建立之中，由于病人终身需要服用相当于慢性自杀的免疫抑制剂，所以目前还面临着伦理学的讨论。只有当无毒的免疫抑制剂出现时，此类手术才会迎来真正的春天。此外，如果组织工程没有进一步的突破的话，那么此类移植将会持续发展与应用，直到自体器官体外构建成功。

图26 康妮在受伤前(A)、受伤后（B）、脸部移植手术6个月（C）与21个月后（D）。
图片来源： http://projects.ajc.com/gallery/view/health/face-transplant/4.html 及*Lancet*。

产业概述篇

尽管历经20余年的发展，再生医学目前的市场仍然远远小于传统的医药行业，但是几乎所有的科学家、医生乃至投资者都认为它最终将发展成为一个广阔的市场。随着人口寿命的增加，老龄人的健康问题将成为社会的一个突出问题。由于衰老造成的器官衰竭，将会大大降低人们的生活质量，与此相关的医疗支出将大大增加。例如，2008年美国的医疗保健费用占GDP的16.6%，2040年，老年人口数目将是目前的两倍，那时GDP的25%将用于医疗保健。从表1的数据我们可以知道这些相关疾病治疗与护理的市场是多么的巨大。

此外，由于出生缺陷或者由病变受伤而造成的器官损伤或者坏死，客观上要求有足够量的可移植器官，但现在面临着供远远小于求的窘境。例如，目前美国平均每天有18个人在等待器官的过程中死去。另据报道，我国每年骨缺损和骨损伤患者约为300万人，因各种事故、烧伤等原因入院治疗的病人约为120万人，而需要做肾移植的病人更在6万例以上。组织工程与再生医学正是解决这些疾病的金钥匙。

表1 各种疾病治疗与护理的费用（来源：*Regenerative Medicine*）

疾病	数据来源年份	直接花费（十亿）	间接花费（十亿）	总花费（十亿）	目前病人数(百万)	平均花费（美元/人）
心脏病	2007	164.90	112.20	277.10	5.20	N/A
心衰	2007	30.20	20.50	50.70	5.20	9,750
老年痴呆症	2007	69.40	74.10	143.50	3.41	42,082
糖尿病	2005	57.40	67.70	125.10	5.80	21,570
帕金森症	2002	6.70	16.30	23.00	0.65	35,390
脊髓损伤	2006	22.20	15.00	37.20	0.25	148,800

一、组织工程与再生医学产业发展历史

纵观组织工程与再生医学的产业发展历程，不得不让人们惊叹研究成果转化的速度。可以说学科发展的30年就是产业发展的30年，甚至在1993年学科正式建立之前，就已经有许多与组织工程产品相关的公司开始了最早的市场化探索，直到现在依然如此。例如学科专业杂志——《再生医学》（*Regenerative Medicine*）发表的文章约有一半与转化有关。最有意思的是，该领域的科研先驱们同时也是最早的一批组织工程产品公司的奠基者。1998年FDA批准的第一个活体组织工程产品Apligraf就源于双层人工皮肤缔造者Eugene Bell开办的Organogenesis公司。而开发Epicel的 Biosurface Technology公司的所有者，则是Howard Green博士，后来公司被大名鼎鼎的Genzyme收购。麻省理工聚合物科学与工程系教授Ioannis Yannas博士一直致力于开发能够刺激病人自身细胞增殖再生的无细胞支架，最终将含有胶原蛋白和粘多糖海绵的Integra Dermal Regeneration Template推向市场。学科的奠基者 Lange和Vacanti则是Pervasis Therapeutic的科学顾问。

我们从投入到组织工程产业的资金图及整个行业的市值（表2），可以看出组织工程产业发展以2003年为分水岭，历经了两个阶段。

表2 组织工程与再生医学产业在不同年份的投入与市值（来源：*Journal of the Royal Society*）

	1994	1997	2000	2003	2007
年投资额（亿美元）	2.46	4.53	6.10	4.87	24
行业市值(亿美元)	N/A	17.00	26.00	3.00	47

组织工程产品商业化的第一个阶段是从上个世纪90年代年起，在2000年达到狂热的巅峰的。在这个阶段，组织工程学科被过度简单化及神化，人们给予了它过高、过快的期望，认为在细胞培养皿上培育器官将在10至20年内实现。《时代》（Times）杂志2000年5月22号刊将组织工程评为未来最热的工作。时年，约有6亿美元的研发经费，市场共有约70个公司，总价值约26亿美元。那时，只要与组织工程搭上一点关系的公司，股票价格都飞速上涨，虽然事实上产品的销售收入少得可怜。

与单克隆抗体和遗传工程的发展过程一样，该领域市场过度繁荣的背后隐藏着极大危机。虽然有极大的应用价值，但是在现阶段还有许多问题需要解决，而其中最大的硬伤就是组织工程产品大范围使用后的临床效果与最初计划相去甚远。例如，Apligraf在人体上使用之后会发生断裂，因此只能起到刺激机体自身细胞的作用而不能作为皮肤替代物使用。这种不稳定性直接导致了产品审批缓慢。此外，复杂组织的构建依然没有太大进展，例如虽然总的投资达到了惊人的两亿美元，但是人工胰腺至今为止连大动物模型都没有成功，更别说临床实验了。此外，由于组织工程产品一直缺乏成熟的、可以参考的审批流程，市场化时间大大延迟。2001年前后，在美国9.11事件大背景下，风投开始撤回资金，整个再生医学行业跌到了谷底。组织工程与再生医学行业的市值也从2000年的26亿美元跌到了2003年的3亿美元，缩水了将近90%，并且一大批公司破产。那时候数以万亿计热钱从网络与生物等创新行业转移到了政府债券或者住房，为此后的次贷危机埋下了伏笔。

总的来说，这个阶段市场化失败的原因包括

（1）产品偏重重复已有的结果，而不是在科学层面上对产品进行深入理解，造就了产品的不稳定性；

（2）科学家的过度乐观造成了社会对于组织工程产品的过度期待；

（3）基于生物技术的商业模式被套用，事实证明这种模式并不适合组织工程产品的市场化；

（4）投资过度依赖于私人投资，没有政府层面的支持。例如，这期间私人投资约为45亿美元而政府投资只有区区2至3亿美元；

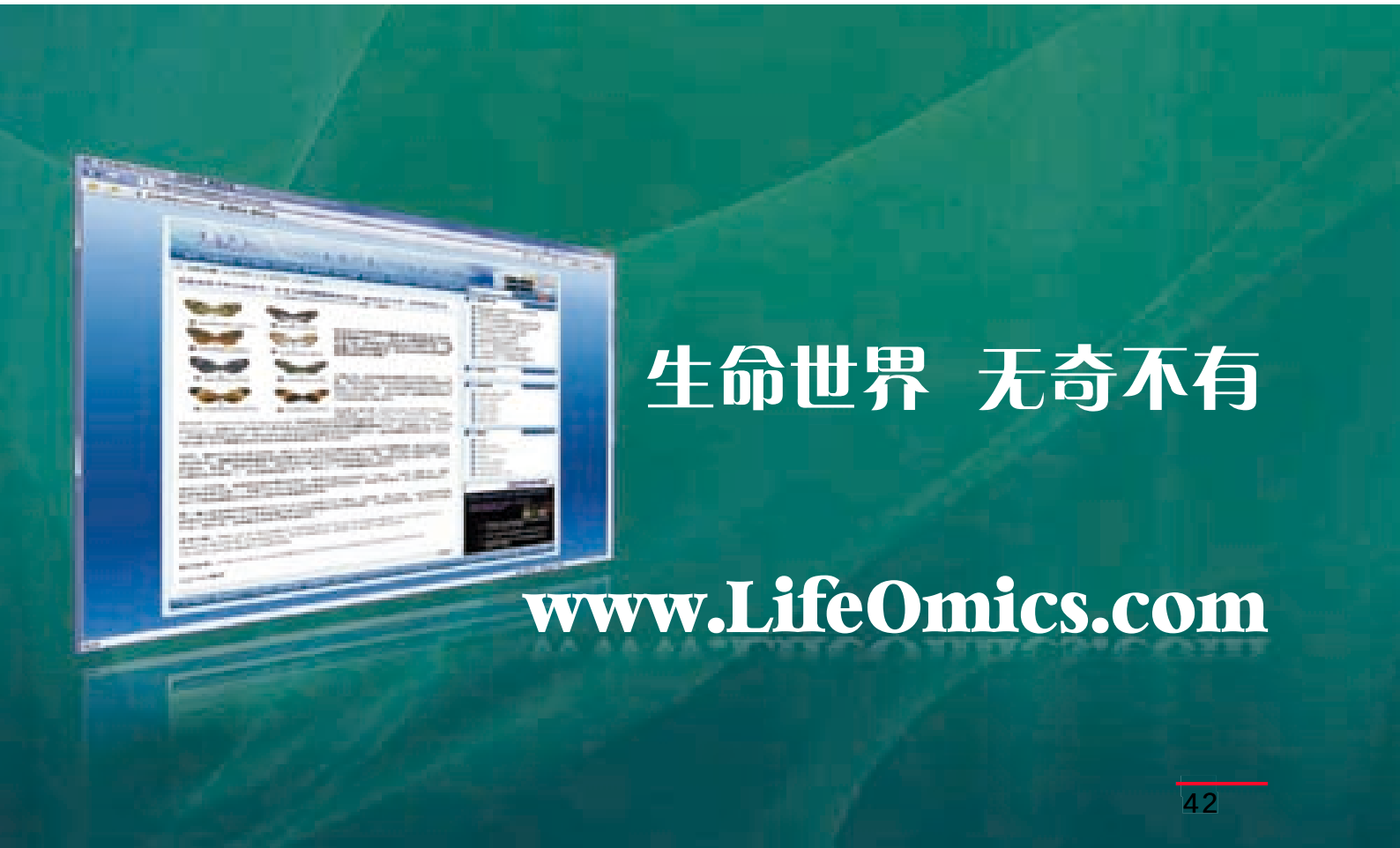
（5）不成熟或者过于谨慎的管理模式造成了产品市场化极其缓慢；

（6）对于产品市场化后的一系列问题研究不够，包括如何运输与保存，了解使用寿命等等，例如含有活细胞的Apligraf由于一直没有找到合适的运输办法而大大限制了产能。

在经历了2003年的低谷之后，热衷于再生医学与组织工程产品的科学家开始思考和讨论如何让学科走出低谷重新焕发生机。经过几年的努力，市场投资开始回暖，2007的投资额达到24亿美元，已经大大超过了顶峰时期的2000年。值得注意的是，这期间政府投入的比重大大增加。此外，业界不仅开设了许多新的公司，许多当初破产的公司也开始被重组且重新入市，包括元老Organogenesis等。Advanced Tissue Sciences虽然没有重组计划，但是它旗下的著名产品Transcyte和Dermagraft被Advanced Biohealing公司买下，并重新上市。

2008年9月的第三届组织工程国际会议（Third International Aegean Conference on Tissue Engineering）专门召开了题为组织工程与再生医学进展与价值评价：产业构建（Progress and Value Assessment of Tissue Engineering and Regenerative Medicine: Building an Industry）的讨论。以此为契机，次年的组织工程与再生医学国际协会TERMIS专门成立了一个商业委员会（Industry Committee）来帮助解决研究成果转化的问题。2010年4月，世界组织工程与再生医学研究领军机构维克森林再生医学所主持召开了了第一届转化再生医学论坛。此后，该论坛将每年举办一次，邀请包括管理机构FDA代表、科研人员及企业家等共同商讨产业化问题。2010年我国的香山科学会议以　组织再生中的转化医学问题：基础研究与临床应用的激烈碰撞　为题，详细探讨了组织工程与再生医学产品的市场化问题。

可以说，现在再生医学产业正在迎来第二个发展的春天。而在这个阶段，细胞在组织工程产品中的比重越来越大，不仅包括单纯的细胞注射疗法，还有许多包含活细胞的复合组织工程产品也处在临床研究阶段。相信很快会有越来越多的活细胞产品进入市场。



二、组织工程与再生医学产品的开发流程

研究到应用的转化过程如何实施，是市场化要考虑的最首要的问题。图27显示了组织工程与再生医学产品转化的基本流程。

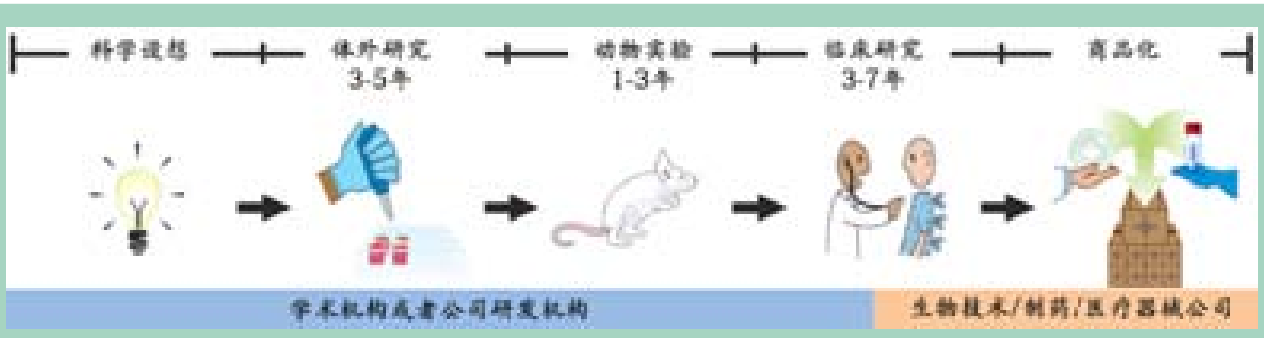


图27 组织工程与再生医学从研究到应用的流程、参与者与时间。
图片来源：*Translational Approaches in Tissue Engineering and Regenerative Medicine*.

我们需要注意的是，这个过程并非单向地从实验台到病床，然后停止，而是一个循环的过程。实验室结果与大规模临床应用结果往往出入很大，临床上的结果需要反馈给科学研究者，以改进产品或者根据这些问题开发新的产品。此外，再生医学的转化模式也与小分子药物或者生物技术的经典转化模式不尽相同。经典的转化模式是实验室利用政府或者私人投资，获得足够的体外实验或者动物实验结果后，吸收风险投资开始做临床研究直到II期临床。此后，公司开始上市融资或者被大的制药公司收购。然而组织工程与再生医学第一波发展浪潮的惨淡收场，证明复制这种模式在再生医学的转化过程中并不适用，其中的最大的问题在于缺乏政府的资金与政策的扶持。由于再生医学临床研究时间大大长于其它行业，小的风险投资无法承受如此长时间无回报的投资，尽管事实上组织工程临床研究所需要的资金或病人规模并不会比药物临床实验更多。而另外一个问题则在于缺乏成功的商业模式来创造与获取价值。

再生医学产品转化有两个缺口。具体来说，第一个缺口称为 死亡之谷（Valley of Death） ，它涵盖了从基础研究一直到II期临床。在这个阶段，必须保证产品的安全有效，此后就应该开始吸引稳定的政府投资或者大的制药厂参与到大规模的后续III期临床研究中，而不是短期的少量资金。如果没有大量资金投入，从实验室到临床的转化的第一个缺口将无法逾越。第二个转化缺口则在与产品的市场化所需要的一系列涉及到政府、管理机构如FDA、医院、保险公司、病人的沟通及各种审批。如果没有应用足够的政治与经济后盾，这个过程将会非常非常的漫长，而且即使商品化后，也无法保证利润的最大化。

三、组织工程与再生医学产品的监管

虽然各个国家对于组织工程产品的要求不尽相同，但有一些方面是相通的。我们以美国的组织工程产品审批为例叙述。组织工程与再生医学产品通常由FDA监管，按照产品的不同而被分到组织（Tissue）、生物制品（Biological product）或者医疗器械（Medical device）三个部门。由于事实上，有些组织工程产品并不是单一的，例如既包含了细胞，也包括了生物材料等等。为了能够避免产品审批及监管分类的混乱，FDA在2002年成立了一个称为组合产品办公室（Office of Combination Products, OCP）的部门以协调这三个部门的工作。需要注意的是，如果产品包含血管系统，例如移植所用的异体心脏、肾脏等，则属于美国健康资源服务部（Health Resources Services Administration）。目前尚未有如此复杂的组织工程产品出现，所以暂时来说，所有的组织工程产品都将提交FDA批准。

由于细胞移植，尤其是异体干细胞移植的不稳定性与潜在风险，FDA最初对于再生医学产品的要求非常严格，而且由于缺乏诸如药物研发那样成熟的体系可以遵守，因此组织工程产品市场化一直进展缓慢。在经历了整个行业的低谷之后，FDA不断反思并积极采取措施来加快再生医学产品的审批。2000年，由美国科学与技术委员会牵头成立的多机构组织工程联合工作组（Multi-Agency Tissue Engineering Science, MATES）联合了组织工程与再生医学产品开发相关的管理机构，包括美国商业部、美国能源部、美国卫生和人类服务部、美国农业部、美国国家标准与技术研究所、美国国防部、美国国防先进技术研究计划署、美国医疗补助服务中心、美国食品药品监督管理局、美国国立卫生研究院、美国国家航空航天局、美国国家自然科学基金会和美国海军研究实验室等14个机构，来确定组织科学和工程学的总体研究目标，为美国联邦政府机构间的合作奠定基础，从而实现科学知识的拓展、技术的进一步发展、公共卫生的改善、环境的保护、国防的提高以及对美国经济的支持。而FDA正是其中一员，体现了FDA对于组织工程与再生医学产品的关注。为了能够更加直接地参与到组织工程与再生医学的产业化中来， 2008年10月，FDA实施了一个被称为主管的研究员项目（Commissioner s fellowship

图28 组织工程与再生医学产品开发与研究内容。图片来源：*Tissue Engineering*。

program）。该项目由专门人员来研究当前的组织工程与再生医学的进展，沟通FDA下属几个中心的工作，并通过培训的形式向广大的雇员及管理者普及知识，以让管理审批人员能够更加了解这个领域，从而能够加快组织工程与再生医学产品的市场化。

目前，FDA对于三类产品均有很严格的标准。对于现阶段组织工程产品而言，图28代表了一个比较高效并且可靠的能够被FDA接受的开发流程。

此外，各个国家的监管机构都出台了不同的措施以促进本国再生医学产业的发展，例如我国在2007年出台了《组织工程医疗产品研究及申报相关要求》等指导组织工程产品的研发。国家药监局中检所奚廷斐教授课题组完成了多项组织工程相关产品标准的制定，为我国整个组织工程产业发展提供了可参考的依据。

四、组织工程与再生医学产业现状

截至2010年，全世界约有700家与再生医学相关的企业。图29显示了公司数目全球分布图，该图表明绝大部分公司依然分布在美国和欧洲等发达国家，其中美国约占60%。此外，结合图中各个国家对再生医学的资金投入，我们可以得出一个结论：绝大部分公司都出自具有大量科研人员及研究经费的国家，例如美国、德国等。这体现了科学研究对于应用的强大支持，产业的发展与国家投入密不可分。

图29 组织工程与再生医学研究投入与公司的分布图，褐色表示国家的投入，绿色代表公司的数目。图片来源：ProteusVenture Partners及MaRS报告。

2007年，约有50个上市销售的组织工程与再生医学产品，而且还有大约55个产品在临床试验阶段。目前来说，一般认为再生医学的三个核心产业包括生物材料、细胞治疗及细胞与生物材料结合的复合产品。最简单的复合产品就是将细胞种植在三维支架上。目前市场化的复合组织工程产品主要为人工皮肤，如Apligraft。对于单独的具有再生促进作用的小分子，例如生长因子等，由于目前此类分子的市场化遵循的是药物开发的流程，一般归为药物范畴，在这里我们不做描述。

2007年，各种各样的组织工程与再生医学产品年销售额已达到11亿美元，目前整个组织工程与再生医学市场依然在快速成长中，保守估计每年增加25%。但是，对于这个数据，目前业界还有不同的看法。有人认为受整个经济疲软的影响，相比于2007年，2009年的销售额并未有太大的提高。而有的报告则认为2008年的市场已达到约36亿美元，我们需要注意的是，这个数字并不是指产品的销售额，还包括了各种各样的投资等。而令人惊奇的是，2007年约有一半的组织工程与再生医学产品来自于一个名为Infuse的无细胞活性骨修复产品。而脱细胞组织基质产品，例如上述提到的SIS异军突起，销售额达到了约2.4亿美元。也就是说，无细胞生物材料占据了约80%的市场，而细胞治疗产品只占到整个市场的10至15%，约为1-2亿美元。复合组织工程产品，例如Apligraf加上其它皮肤类修复产品约有9000万美元的销售额。

尽管目前无细胞产品是目前市场上销售额最大的组织工程产品，有大约1/3的再生医学公司在从事无细胞生物材料研究和销售工作。但是，现在投入细胞领域的投资占到了整个领域投入的80%以上，这暗示了细胞类产品将会有长足发展。截至2010年，全球约有500家企业在从事或者计划开展细胞治疗，而约100家与干细胞治疗相关。干细胞的专利也从2003年的111个迅速增加到2007年的539个。然而，目前仅有少数公司有产品进入临床研究或者市场化。值得一提的是， FDA已经对胚胎干细胞的临床应用解禁。例如Advanced Cell Technology与Geron公司分别在2009年的1月与2010年的11月获得FDA的授权，启动使用胚胎干细胞来源的神经细胞或视网膜色素上皮细胞来治疗脊髓损伤与Stargardt病（Stargardt's macular dystrophy，一种因为遗传造成的眼部退行性疾病）的临床研究。同时，整个细胞治疗领域的发展还体现在临床研究数目的急剧增加上。目前美国国立健康研究所（NIH）正在跟踪约900例细胞临床研究，例如心脏疾病、糖尿病、烧伤、骨再生及视力损伤等。根据NIH统计，截至2010年5月26日，我国大陆地区共开展细胞治疗临床研究35项、香港3项、台湾地区22项。相比全球目前总共约有900项细胞临床研究，我国的干细胞临床研究的数量明显偏少，所以需要在资源与资金投入上给予更大的倾斜。

此外，基于干细胞的药物研发技术也是增长迅速的领域，通过体外的细胞培养来检测新药物可能带来的负面影响，从而可以节省大量的临床研究经费。干细胞研究与应用也催生了一大批与干细胞培养相关的公司。例如Invitrogen，它作为全球最大的细胞培养相关产品供应商，2007年的销售额达到惊人的12.8亿美元。2008年，invitrogen与专门从事PCR技术与产品开发的Biosystem合并，成立Life Technologies，从而超越Sigma一跃成为生物试剂生产商的龙头老大。他们最近开发的Knockout血清替代物，在培养胚胎干细胞的时候完全摒弃了血清，从而大大降低了由于使用血清造成的疾病传播的风险。

具体到治疗的组织方面，目前组织工程与再生医学产品涵盖了皮肤修复、骨修复、心脏相关疾病修复，如心血管、糖尿病及神经退行性疾病治疗等五大方面。图30显示了相关产品目前的市场占有情况。由于在统计心脏疾病相关产品时加入了合成材料等并没有再生能力的产品，所以事实上真正问世的此类再生医学产品并不多。目前产品最多、销量最大的依然是皮肤修复与骨修复相关产品。

图30 组织工程与再生医学研究市场分布图。图片来源：Venture Partners报告。

1. 骨修复

具有　生物活性　是一个衡量骨支架修复能力的关键词，也是再生医学产品的一个标志，可表明它能促使骨再生和融合。例如，Orthovita公司已开发出好几种合成的具有生物活性的骨填充物，其中一种名为Vitoss。它采用磷化钙材料，模仿人类多孔骨的化学结构和成分而制成，因此能促进自身骨向支架内生长。另一家公司Osteotech则研制了一种采用来源于天然骨的脱钙骨基质，该产品经由表面改良技术处理，可防止免疫排斥的发生。而在这些活性骨组织工程产品中，最为人们所青睐的要数包含骨形态发生蛋白BMP（能够促进骨组织再生的生长因子）的骨支架材料了。目前市场上有两类代表性产品，分别是Medtronic公司的Infuse和Stryker公司的OP-1 Putty。后者在2001被批准上市，它是第一个市场化的包含BMP的骨支架材料，而Infuse则在2004投入市场。这两类材料都采用了I型胶原作为支架，这与胶原作为骨组织主要蛋白有关。但它们所使用的BMP不同，Infuse使用的是BMP-2，而Stryker使用的是BMP-7。自2004年获准在市场上销售以来，Infuse已经治疗了至少50万人，而且逐年增加。2010年第一季度Infuse的销售额达到惊人的8亿美元，占到了整个再生医学产业销售的半壁江山，所以说infuse是目前市场占有率最高、也是最为成功的无细胞组织工程产品。然而，由于Infuse所包含的BMP-2在移植之后可能扩散而造成异位成骨，所以存在潜在风险。事实上，目前已有病人就此将Medtronic诉至法院。OP-1虽然早于Infuse上市，但是目前仅有4万左右的病人使用了OP-1。这固然与产品的疗效有关，但是公司的运作也是很大的因素。此外，这些产品无一例外都非常昂贵，几毫升的支架材料的花费在3600-5200美元之间，利润非常可观，这也是组织工程产业深受风险投资偏爱的主要原因之一。

组织工程软骨产品主要用于下肢软骨缺损，例如关节软骨的修复。根据2002年的数据，仅一年，全球约新增2000万软骨缺损或损伤疾病患者。2003年，仅仅是针对关节软骨修复的组织工程软骨产品的实际年销售额已经达到4000万美元，然而这些产品仅仅是市场需求极小的一部

分，仅在美国一个国家的市场预计也将达到3至10亿美元。目前，针对软骨修复的上市产品相对有限，主要以细胞疗法为主。例如，医药大鳄Genzyme旗下的Genzyme Surgical Products开发的自体软骨细胞移植产品Carticel于1997获得FDA批准，成为第一个市场化的细胞治疗产品。该疗法将自体膝关节非负重部位关节软骨消化后获得的软骨细胞在体外扩培，然后注射到负重关节软骨的缺损部位，由此获得很好的修复效果。该产品在2005年开始盈利，2007年，Carticel在全球的销售额已经达到了约9000万美元，较2006年增加了约30%。

2. 组织工程皮肤修复产品

全球每年约有50万例因糖尿病造成的溃疡需要治疗，约5万例的烧伤需要皮肤移植。组织工程皮肤产品主要应用于临床上皮肤的修补与诊治，比如烧伤烫伤、美容手术、修补手术、慢性皮肤溃疡手术等。在烧伤治疗与康复，尤其是大面积烧伤方面，人工皮肤可以实现快速伤口覆盖，减少体液的流失和防止伤口感染等，从而加快伤口愈合，减少疤痕形成。然而，目前组织工程皮肤仅仅提供了2.5-3.2%的市场需求。即便如此，在2002年，用于溃疡修复的Apligraf的年销售额已经达到2300万美元，2007年则大幅提高到了3000万美元。值得一提的是，组织工程产品的使用费用很高，售价约为9.92-20.85美元/cm2，大大高于捐献的天然皮肤（0.37-8.66美元/cm2），这也影响了组织工程产品的应用与发展。例如在成立之初，Apligraf的售价事实上是低于成本价的，这也是导致公司第一次破产的重要原因。然而，虽然这种治疗方法较传统的疗法一次性花费更加昂贵，但考虑到良好的愈合率等因素就会发现组织工程皮肤的价值。例如，使用组织工程皮肤可以大大减少用药、换药和护理的次数，总体费用反而更低。此外，在治疗难以愈合的溃疡，如腿部静脉溃疡和糖尿病足部溃疡方面，组织工程产品也是更好的选择。

目前，除Apligraf之外，还有Advanced Tissue Science公司生产的Dermagraf、Ortec公司生产的Orcel，以及英国Intercytex公司生产的Icx-PRO等组织工程皮肤产品。Dermagraft的年销售额大约为450万美元。美国Integra LifeScience公司生产的名为真皮再生模板的人工皮肤，由胶原和粘多糖制成，它能诱导皮肤细胞再生，因此是烧伤病人救护很好的治疗手段。美国的Genzyme Biosungery公司和英国的Gelltran公司也销售类似的产品。但是在临床上，此类产品并未得到大范围的推广

3. 心脏相关疾病

美国每年治疗冠心病的花费约为1000多亿美元。2006年，约1700万美国人患有冠心病，800万人有心肌梗死，约1000万人患心绞痛。2006年，美国一共做了130万例血管形成术。此外，每年欧洲和美国进行约72-88万例冠脉搭桥手术，其中约30%的病例无法使用自体血管，需要采用人工合成的无细胞血管替代物，而这些替代物只有40-50%能够在5年内保持通畅。这是无活性血管产品无法解决的问题，因此组织工程血管将会是这个领域将来的主要产品。据初步估算，需要血管替代治疗的全球年市场规模为15亿美元。此外，组织工程化心脏瓣膜目前尚未有产品进入市场，而2001年全球心脏瓣膜的市场达到8.3亿美元。组织工程瓣膜产品一旦获得成功，将成为这个市场的主宰者。

目前，再生医学在心脏疾病领域另一应用可能在于利用干细胞治疗心肌梗死。虽然目前对干细胞是否能够高效分化成心肌细胞还存在争议，但并不影响目前的临床实验。目前，约有50

个类似的临床实验，包括约3200个病人并涉及约12个公司。2007年3月， Osiris公司与Mytogen公司的临床研究结果显示干细胞治疗能提高心脏泵血功能。2007年5月，Baxter公司宣布干细胞治疗能减少胸痛。

4. 糖尿病

糖尿病是一种常见病，而且有向低龄化扩张的趋势。最新的数据显示，仅在中国，糖尿病人就已经达到惊人的9000多万，成为全球最大糖尿病流行区。2007年，约2400万的美国糖尿病患者花掉了约1740亿美元，即1/10的医疗花销将用于糖尿病及并发症的治疗上。目前，对于再生医学在糖尿病治疗方面的市场估计不太统一，有的报告认为约为26亿美元，而有些统计数据则认为仅在美国就有约20亿的美元市场。目前的治疗胰岛素依赖型糖尿病的办法是移植胰岛细胞，需要从两个供体移植约60万个细胞到受体；另外一种办法是全胰岛器官移植，全世界每年约有340万例胰岛移植，但是供体远远不能够满足需求。2007年，Vitro Diagnostics宣称发现了由干细胞向胰岛细胞分化的方法，并且这些细胞体外培养后，在结构上与天然胰岛相像。Geron公司与阿尔伯塔大学成功将胚胎干细胞分化成为胰岛样细胞。这些细胞能够感应血糖变化并分泌胰岛素。目前这些结果正处于临床前研究阶段，市场化依然遥远。

5. 神经退行性疾病

神经退行性疾病发病率逐年增高，目前美国约有25万人有脊髓损伤，150万人患有帕金森症。此外，《2009年世界阿尔茨海默氏症》（*World Alzheimer Report 2009*）报告显示，全世界有3500多万名痴呆症患者，而且这一数字还将每20年翻一番， 2030年增至6570万人以上。

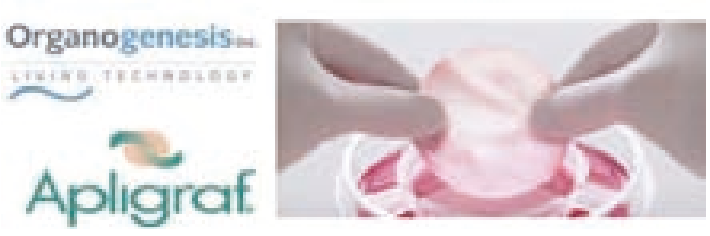
对于脑部疾病，由于其复杂性与脆弱的机械结构，因此主要采用细胞注射的方法，通过干细胞分化成神经元或者构建微环境等办法来恢复神经元的连接。Stem Cells公司的产品HuCNS-SC是一种分离自胎儿脑部的人类神经干细胞。临床前试验结果表明，此类细胞被植入中枢神经系统，例如脑中后可以分化为神经元和神经胶质细胞。这些移植细胞在体内可以存活至少一年的时间而不会形成肿瘤或产生副作用。2009年1月，该公司成功完成了使用神经干细胞治疗神经元蜡样脂褐质沉积症（Neuronal Ceroid Lipofuscinosis, NCL）的I期临床研究。2009年11月，公司又获准开展HuCNS-SC治疗慢性儿童型脑硬化症（Pelizaeus-Merzbacher Disease, PMD）的I期临床研究。而Geron公司则于2009年获准利用胚胎干细胞源的细胶质胞治疗脊髓损伤。

对于缺口较大的外周神经损伤，由于神经元的连接是有方向性的，因此需要通过神经导管（nerve guidance conduit）来定向连接受损部位两端的神经，同时通过注射干细胞或者生长因子的方式来增强神经元的轴突的延伸或者移植神经元，以重新建立神经连接。目前市场已经有由不同材料制备的神经导管，包括由胶原制备的NeuroMatrix™及由聚乙醇酸制备的Neurotube™等。

表3我们列出了目前销量排在世界前10位（2007数据）的组织工程与再生医学商品及其开发公司。令人惊奇的是，这些公司居然全部出自美国，这显示了美国在组织工程与再生医学的霸主与垄断地位。这是一个危险的信号，让人联想起微软对于整个操作系统长达二十年的垄断，所以大力扶持本土组织工程与再生医学产业已经迫在眉睫。

表3 组织工程与再生医学销售量前十的公司（来源：2007年Proteus Venture Partners报告）

产品名	生产公司	国家	描述	包含活细胞?	临床应用	销售额: 亿美元
Infuse	Medtronic	美国	I型胶原与BMP-2的固态复合物	否	骨修复、脊柱融合	7.00
AlloDerm	LifeCell	美国	同种异体脱细胞基质	否	疝、乳房再造	1.67
Carticel	Genzyme Biosurgery	美国	自体软骨细胞	是	软骨缺损修复	0.88
OP-1	Stryker	美国	I型胶原与BMP-7的胶状复合物	否	骨修复	0.80
Allograft Implants	RTI Biologics	美国	同种异体脱细胞基质	否	骨修复	0.41
Apligraf	Organogenesis	美国	包含胶原、成纤维细胞与角质细胞的双层皮肤	是	足部溃疡修复	0.30
Dermagraft	Advanced BioHealing	美国	2-羟基丙酸与羟基乙酸共聚物上接种人成纤维细胞	是	足部溃疡修复	0.20
IDRT&IFWM	Integra Lifesciences	美国	DRT为牛胶原与6-硫酸软骨素交联的多孔膜，IFWM为颗粒状牛胶原与6-硫酸软骨素交联胶	否	皮肤烧伤与溃疡修复	0.20
Osteocell	Osiris	美国	异体来源骨髓间充质干细胞	是	骨修复等	0.15
Celution	Cytori	美国	自体脂肪来源干细胞	是	乳房再造	0.10~0.12



在组织工程研究成果的市场化进程中，我们不得不提到活细胞复合组织工程产品业界当之无愧的老大Organogenesis公司。他们成立于组织工程刚刚萌芽的80年代，开发了第一个被FDA批准的活性组织工程皮肤Apligraf。在经历了2000年前后的投资泡沫，甚至在2002年遭遇破产的命运后，它又被重组后重新焕发生机。通过Organogenesis的发展历史与现状，我们可以了解组织工程产品市场化的艰难及蕴含巨大潜力。美国《商业周刊》（*Business Week*）2009年6月3日刊，以Organogenesis为例子，专门撰文讨论了目前创新产业在美国面临的困境。

Organogenesis公司的创立者Eugen Bell教授是最早从事组织工程研究的科学先锋者之一。在1979 年麻省总医院（Massachusetts General Hospital）的Burke医生与麻省理工学院的Yannas教授合作的开创性临床实验之后（利用无细胞胶原材料治疗一名烧伤的妇女），时任麻省理工学院教授的Bell与同事Howard Green意识到在胶原材料中加入细胞也许能够促进更快

的组织重建。在这个过程中，他有两个决定非常关键：一是非常睿智地使用了新生儿的包皮成纤维细胞，将这些细胞接种到牛肌腱来源的胶原凝胶中形成真皮替代物层后，很容易被宿主接受；二是构建了双层皮肤。他们在构建了真皮替代物后，又在真皮替代物上种植角质细胞，并放置于气　液界面，以促进角质细胞分化形成角质层。而角质层为创面提供了天然屏障，并具有防止机械损伤、感染和创面干燥等作用，因此 Apligraf 是具有真皮层和表皮层的双层皮肤替代物，与天然皮肤非常类似。在1981年成功构建双层皮肤后，Bell敏感地意识了其中蕴含的巨大商机，于是他与他的两个博士后于1985年在马萨诸塞州的小城Canton（广东的英文发音）成立了Organogenesis公司，希望将这种皮肤替代品市场化。

Eugen Bell博士研而优则市的科学企业家模式也是组织工程萌芽时的经典景象，这与硅谷发展之初的情形是如此的相似，不禁让当时的人们对这个行业的发展浮想联翩，寄予厚望。然而，这种包含了人类细胞，甚至包含了两种细胞同时又有来自于牛的胶原的材料让FDA头痛不已。这种产品究竟属于什么分类？细胞？医疗器械？似乎都不是，于是FDA出于慎重考虑，不断要求Organogenesis做尽可能多的临床试验以保证其安全性，而这一切是需要大量资金支持的。在长期的等待与煎熬中，Eugen Bell曾经一度打算放弃Graftskin（Apligraf的前身），转而开发不包含细胞的生物材料。1993年，他创办了TEI Biosciences，专门从事生产不含细胞的胶原支架材料。目前，这个公司已有5个产品在销售。

1996年，Burke与Yannas开发的无细胞皮肤支架材料Integra Dermal Regeneration Template被FDA批准。1997年，Advanced Tissue Science的Transcyte也开始上市。这些无细胞生物材料的成功上市令包含活细胞的皮肤组织工程产品越发让人期待。FDA似乎抵挡不住狂热的科学家、企业家甚至政客的压力， FDA在漫长的13年之后，终于于1998年批准Apligraf的上市，成为世界上第一批活性复合皮肤替代物，用于治疗糖尿病患者的腿部溃疡和那些长期暴露在外的其它种类的伤口。在临床实验中，研究人员对208个因糖尿病造成的皮肤溃疡病人分别进行Apligraf治疗和常规治疗。在12 周内，Apligraf组治愈了约56 %的患者，而常规治疗组治愈率仅为38 %，而且Apligraf能有效地减少伤口愈合时间。平均而言，Apligraf的治愈时间为65 天，常规治疗组则为90 天。对Apligraf的批准为组织工程整个行业打开了大门，随后有一系列的产品得到批准。很快，Apligraf在加拿大和瑞士获得批文并被出口到这些地区。2001年，瑞士制药龙头Novartis Pharmaceuticals公司以4000万美元的价格取得其全球销售权。这一切都显示组织工程行业正在复制计算机乃至互联网的神话，是推动美国经济进入21世纪的又一个高科技拳头产业。

然而，产品商业化甚至全球化之后，公司开始面临许多问题。首先一个问题是Apligraf的生产成本太高，甚至超过了其销售收入，但是如果销售价太高，许多病人负担不起，产品将失去市场。此外，因为Apligraf含有活细胞，Organogenesis公司一直无法找到一种可靠的运输方式。一般来说，他们通过快递的方式将产品运输到各个需要的医疗单位，而且要求在5天之内使用，否则细胞将死亡。在美国境内，这种办法在时间上没有太大问题，但是由于无法大批量运输，这无疑大大增加了成本。而对于海外市场，这种运输保存方式则有潜在的风险，例如无法及时提供产品及细胞的死亡问题等等。到2002年，当组织工程产品大规模临床应用后所得到的结果与人们过高的预期相去甚远时，医生、病人对Apligraf的热情消失了，随之一起消失的还有投资者Novartis公司及风险投资家，在他们退出Organogenesis后，Organogenesis宣告破产。

Organogenesis的遭遇，何尝不是整个行业在1990至2002年之间的写照？同样，作为行业先驱者的Advanced Tissue Science也不得不接受破产的命运，两者的破产仅仅相隔半个月。难

以想象的是，在最顶峰时期，两个公司加起来的市值近10亿美元。直到现在，Advanced Tissue Science仍然没有被重组。这种完全依赖市场投资的方式让这些小公司在市场风云变化中完全无法把握自己的命运，风险资本投入的目的是为了最快、最大地获利，这对于仍处于萌芽阶段需要呵护的产品及产业来说，无异于杀鸡取卵。

在破产之后，原先在Novartis公司工作的Geoff MacKay于2003年接管重组了Organogenesis公司，成为新的CEO与总裁。Geoff在Novartis是一个非常成功的销售主管，历任Novartis美国组织工程部副总裁、Novartis欧洲生物技术部的销售与市场总监等职位，在生物技术的市场化方面非常有经验。从2003年12月接手公司以来，Geoff一干就是7年。公司重组之初，总共的雇员只有大约60个人。在通过降低成本、解决产品从开发到运输的诸多细节问题之后，2007年的销售额一举突破6000万美元，公司开始扭亏为盈，此后以每年20%的速度在增加。如今，公司员工已经增加到约400人。直到现在，Apligraf在活细胞皮肤损伤修复市场的老大地位仍然无法被撼动。

目前临床使用Apligraf的病人数目比其它所有的细胞产品的总和还多。按照Geoff的说法，在美国约有90%的损伤修复中心在使用Apligraf，周一到周五，平均每两分钟就有一个病人使用Apligra。

目前企业正在致力将Apligraf作为治疗烧伤的行业标准。这一次，他们吸收了公司倒闭的教训，一直到现在都没有上市，而是聪明地与政府、美国军方及NIH等合作，同时作为美国国防部下属的武装部队再生医学研究所（Armed Forces Institute of Regenerative Medicine）的一员，参与到烧伤士兵的治疗与护理中。此外，他们还在积极拓展产品的销售范围和开发新的产品。2010年的9月，他们获准在沙特阿拉伯销售Apligraft。而目前处于III期临床阶段的CelTx是一个含有活细胞用于牙龈修复的材料，这是离市场化最近的材料。此外，他们还在开发无细胞的胶原材料及生长因子产品。这个具有传奇色彩的公司正不断的开拓进取，也许若干年后，它会成为组织工程与再生医学行业的微软或者谷歌。

展望篇

一、研究方面

1. 借鉴具有强大再生能力的动物

该学科的先驱人物Yannas认为：当哺乳动物的器官受到损伤，随之启动的修复过程倾向于保存整体而牺牲受损器官。而免疫系统启动的疤痕式修复是阻止成体哺乳动物器官再生的一个重要原因。由于人类自身及整个哺乳动物界的再生能力是有限的，因此我们缺乏一个很好的模型来研究机理以了解促进再生或者组织器官构建所需要的元素。目前，人们正从大自然中寻找具有很强再生能力的动物，以此为模型了解再生过程，以期了解人类不能再生的原因，并探索如何给予特定的条件以促进再生等等。爬行动物，如蝾螈及鱼类，如斑马鱼是两类主要的模式动物。蝾螈的四肢、眼睛、尾巴甚至脊柱都可以再生，而斑马鱼的心脏在损失30%以下都可以完整再生。在蝾螈四肢的再生过程中（图31），一旦损伤，受损部位会迅速形成一层包裹伤口的上皮组织，以此防止伤口感染，同时开始形成被称为芽基（Blastema）的组织。该组织里面含有大量干细胞，为再生不同的组织作准备。目前已经知道这些干细胞来源于不同的组织，如骨组织与肌肉组织，其中非常值得研究的是，一群来自于多核骨骼肌细胞通过去分化（dedifferentiation）方式而产生的干细胞，这类细胞约占芽基总干细胞的17%。这种产生干细胞的方式目前在哺乳动物，如人类中还没有得到确认。虽然有些报道描述了这种可能性，但是并未得到公认。此外，目前的研究中，人们发现神经在再生过程中具有极其重要性，如果切除了近端神经，那么蝾螈的四肢在切断之后将不能再生。而最近的研究结果显示，一种名为 Amblox 的特殊酶在蝾螈肢体再生过程中起着重要作用。这种酶是蝾螈类所独有的。科学家将Amblox使用在人类皮肤上后，发现皮肤的再生速度大大加快，这极有可能是潜在的将来能够促进人体再生的候选者。

2. 细胞的同步化

大量安全并且均一的细胞来源是组织工程的首要前提。干细胞将会是未来应用的发展方向，但是干细胞应用面临的问题在于无法均一完全地诱导分化成需要的目的细胞。所以一方面，我们需要探索更多的体外诱导分化方法，例如上述提到的通过大规模筛选的方式寻找小分子来控制分化；另一方面，我们要寻找更多的特异细胞表面分子，从而能够达到纯化细胞的目的。例如，CD34就是人类造血干细胞非常特异的表面标志物。此外，我们知道成纤维细胞是体内分离方法相对容易且增殖迅速的细胞，目前利用iPS技术可以将成纤维细胞重编程为胚胎干细胞样细胞。同样，我们希望能够通过类似的方式将其重编程为其它细胞，例如神经细胞或者肝细胞等。2010年2月的《自然》（*Nature*）杂志报道了成纤维细胞可以被直接重编程为有功能的

神经元，表明了该方法的可行性。但是，只有当重编程效率提高到10%以上时，此类方法才会有真正的应用价值。

3. 复杂模拟系统的构建

科学家必须开发出在生物反应器中大量培育细胞并促进其成熟的的方法。活系统的复杂程度是难以想象的，细胞能否发挥功能不仅仅在于自身，同样也依赖于同其它细胞间的相互关系和遍布每种组织的细胞外基质，即细胞微环境，而生物反应器所要做的就是最大可能地模仿人体环境。此外，为了培育复杂器官，科学家必须了解什么条件是所有细胞能够互相配合的最佳条件。使用3D打印机通过细胞与材料联合打印的方式，可以快速精确地构建各种各样结构复杂的器官。因此，Invetech公司和Organovo公司合作开发的3D生物打印机被评为2010年的50项最佳发明之一。但是，正如上述所提到的，3D打印机的发展依然有赖于材料科学的突破。

图31 蝾螈的前肢再生过程。
图片来源：http://www.livescience.com。

二、产业化发展方面

到2020年，95%的移植细胞、组织和器官将由组织工程技术产生。然而，目前有许许多多的产品还处于实验室研究阶段，在此阶段的投入主要来源于科研基金或私人基金。一旦要进入临床阶段，由于组织工程与再生医学产品相对较长的开发周期，必须保证在启动临床研究之初会有大约7至10年的资金投入。

为了缩短审批环节的时间，在产品开发阶段，就必须非常注意四个问题：

（1）确认自己的产品将会处于哪一个管理目录之下；

（2）尽快与管理机构沟通，获得反馈以调整实验流程；

（3）理解相关的管理法规并严格执行；

（4）尽早考虑在临床研究过程中所需要面临的问题。

此外，对于活细胞产品应用非常关键的问题就是，产品的保存与运输问题。人们必须开发出一套成熟的流程，以确保组织工程产品在从工厂到手术室的途中能以良好的功能状态存活。

2009年，美国总统Obama宣布取消禁止联邦政府资助胚胎干细胞研究的限制，使得先前完全依赖民间资金、并且只针对20多种合法干细胞系的胚胎干细胞研究终于挣脱了桎梏。NIH新批准了50多种新干细胞系进入政府支持的合法研究范畴，并且划拨共约两亿美元的专项科研经费。然而，不到一年半后的2010年8月23日，美国哥伦比亚特区地方法院Royce C. Lamberth法官发布临时禁令，以破坏人类胚胎、违反《迪基—威克修正案》（Dickey–Wicker Amendment）为由禁止使用联邦政府资金资助人类胚胎干细胞研究。这意味着科研单位无法从NIH获得资金以支持胚胎干细胞研究，这对胚胎干细胞科学研究者来说，无异于当头一棒。直到现在，此事依然悬而未决。此外，德国严厉禁止制备胚胎干细胞，他对胚胎干细胞的研究管理非常严格，这些在客观上造成了拥有先进科研资源的国家无法全力参与干细胞的研究与开发，无疑大大限制了整个产业的发展。尽管如此，目前美国政府对于再生医学产业的支持力度与政策倾斜越来越大。这与以前一些成功的例子非常相似，例如在上个世纪80年代末90年代初美国重点扶持的半导体技术，政府的20亿美元的投入使得每年原本80亿美元的市场猛增到了1700亿美元，几乎占据了全球市场的一半。他们希望以类似成功的经验来培育组织工程与再生医学市场。

而包括我国在内的其他国家也同样对这个领域投入巨资。2010年首期的《再生医学》（*Regenerative Medicine*）杂志刊登了加拿大麦克劳克林—罗特曼全球卫生中心（McLaughlin-Rotman Centre for. Global Health）调查的关于中国再生医学研究现状的报告，其中详细描述了我国的研究人员及经费、地域分布等等。报告通过检索的方式显示中国在国际学术期刊上发表的组织工程与再生医学相关论文数量位居世界第五，表明我国的研究与世界顶尖国家差别并不大。我国目前也有一些拥有自主知识产权的产品上市销售，例如陕西的艾尔肤公司的活性皮肤修复产品及广东冠昊公司生产的脑膜修复产品等等。但是，目前我国在该行业的投资依然远远少于西方，研究人员仍然不足。此外，在科研过程中还存在不够严谨，数据不充分的缺点，这也直接造成了世界范围内对中国科研的怀疑态度，这些都是制约我国再生医学发展的因素。为了避免在下一个20年，在关乎亿万人们健康的产业上受制于人，我们必须不断加大政府投入及政策扶植，在坚实的科学研究基础上转化更多优秀成果。在祖国日益强大与繁荣的时代里，我们没有理由在从同一起跑线上的比赛中失败。

借鉴单克隆抗体市场在历经几十年后才开始成熟、稳定并盈利的例子，我们有理由相信，含有活细胞的、更加复杂的组织工程与再生医学产品市场的成熟会需要更长的时间。也许到那个时候，器官的移植就会像现在拔牙、镶牙一样简单而安全了。

参考文献

http://www.orthosupersite.com/view.aspx?rid=65583

http://www.wealthdaily.com/articles/regenerative-medicine-investing-a-look-into-the-future/2564

http://www.post-gazette.com/pg/10146/1060721-114.stm

http://www.eurotransplant.org/?id=timeline

http://www.charleslindbergh.com/history/index.asp

http://www.organogenesis.com/

http://web.mit.edu/newsoffice/2007/obit-bell-0712.html

http://www.aaps1921.org/awards_recipients_JamesBarrettBrown.cgi

http://www.pnas.org/content/107/8/3351.full

Chris Mason and Elisa Manzotti. (2010) The Translation Cycle: round and round in cycles is the only way forward for regenerative medicine. *Regen. Med*. 5(2): 153-155.

Chris Mason and Peter Dunnill. (2008) The strong financial case for regenerative medicine and the regen industry. *Regen. Med*, 3(3): 351-363.

Elsie s. Place, Nicholas d. evans and Molly m. stevens. (2009) Complexity in biomaterials for tissue engineering. *Nature Materials*, 8: 457-470.

Frank Oberpenning, Jun Meng and Anthony Atala. (1999) De novo reconstitution of a functional mammalian urinary bladder by tissue engineering. *Nature Biotechnology*, 17: 149-155.

Gail Chan and David J. Mooney. (2008) New materials for tissue engineering: towards greater control over the biological response. *Trends in Biotechnology,* 26(7): 382-392.

Jennifer Hipp & Anthony Atala. (2008) Sources of Stem Cells for Regenerative Medicine. *Stem Cell Reviews and Reports*, 4(1):3-11.

Harald C Ott, Thomas S Matthiesen and Doris A Taylor et al. (2007) Perfusion-decellularized matrix: using nature's platform to engineer a bioartificial heart. *Nature Medicine*, 14(2): 213-221.

Linda G. GrifÞth and Gail Naughton. (2010) Tissue EngineeringÑCurrent Challenges and Expanding Opportunities. *Science*, 295(5557): 1009-1014.

Mark H. Lee, Judith A. Arcidiacono, and Steven S. Oh et al. (2010) Considerations for Tissue-Engineered and Regenerative Medicine Product Development Prior to Clinical Trials in the United States. *Tissue Engineering Part B Rev*., 16(1): 41-54.

Maria Siemionow, Frank Papay and John Fung. (2009) Near-total human face transplantation for a severely disfi gured patient in the USA. *Lancet,* 374(9685): 203-209.

Robert Langer and Joseph P. Vacanti. (1993) Tissue Engineering. *Science*, 260(5110): 920-926.

Warren L. Graysona, Timothy P. Martensa and Gordana Vunjak-Novakovic et al. (2009) Biomimetic approach to tissue engineering. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 20(6): 665-673.

W J Armitage, A B Tullo, D F P Larkin. (2006) The first successful full-thickness corneal transplant: a commentary on Eduard Zirm's landmark paper of 1906. *Br J Ophthalmol*, 90: 1222-1223.

热点话题

Hot Topics

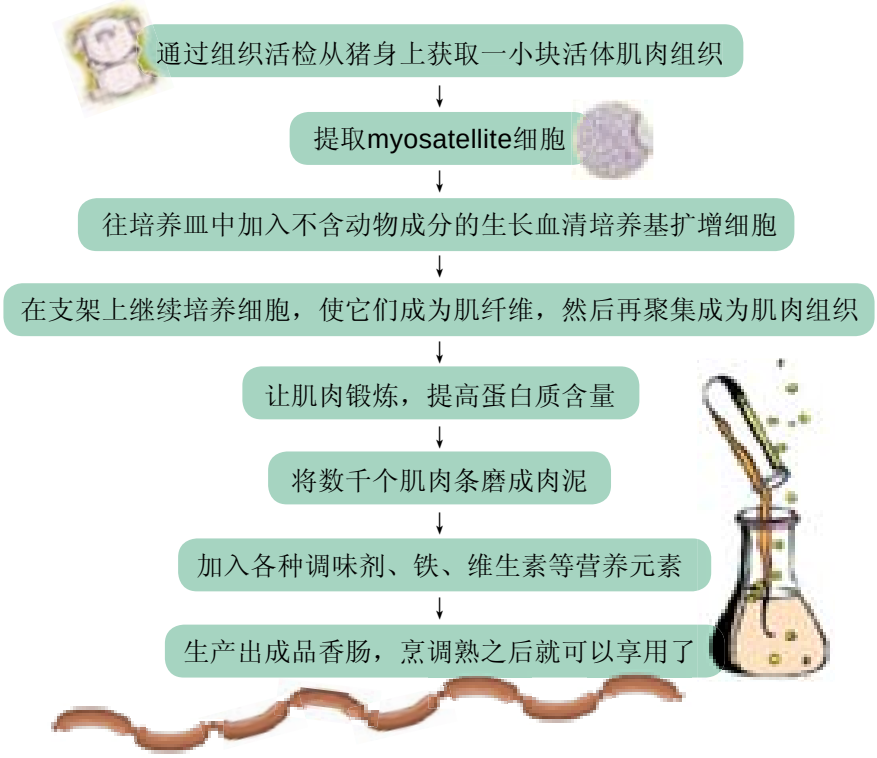
人造肉

真的要走上我们的餐桌了吗？

科学家相信，他们可以把实验室里“长出来”的肉推上老百姓的餐桌，只要他们能够在实验室里大量培养肌肉细胞。

从猪到培养皿

研究人员利用组织工程学方法在实验室中生产食用猪肉产品



Mark Post是荷兰艾恩德霍芬理工大学（Eindhoven University of Technology）的研究人员，他目前正从事一项　边缘　研究　　体外培养动物肌肉组织。Post希望他的工作能够在实验室中制造出肉类食品，最终取代传统的、效率低下的畜牧业生产工作。他的近期目标是制造出美味的猪肉香肠，然后将这种人工香肠和它的细胞来源　　一头真正的猪同时展出，当然前提是Post能够争取到足够的科研经费。据Post估计，至少还需时1年以及25万美元的科研经费才能制造出第一根人工猪肉香肠。那么，除此之外还需要别的什么条件吗？

条件一、选择合适的细胞来源

科学家要解决的第一个问题就是该选择哪种家畜的肌肉细胞来培养。他们首先想到的自然是胚胎干细胞（embryonic stem cell）。因为它是一种永生化细胞，可以源源不断地提供材料，因此也相对便宜。但是迄今为止，科学家都没能成功获得家畜的胚胎干细胞。现在科学家重点关注一种名为肌卫星细胞（myosatellite cell）的成体干细胞。这种干细胞的主要生理功能是促进肌肉组织生长和修复。而且，myosatellite细胞的获取方法相对简单，利用对家畜无害的肌肉活体穿刺技术（muscle biopsy）就能从猪、牛、羊、鸡、火鸡等家畜体内获得肌肉组织，然后通过酶解、分离技术就能得到myosatellite细胞，用于体外培养。

条件二、选择合适的培养基成分

Post一直使用的都是普通的细胞培养基来培育猪肉myosatellite细胞。这种培养基含有胎牛血清成分。由于该成分主要来自死牛，因此会让人工生产猪肉工作失败。此外，这种培养基里

还含有抗生素和抗真菌药物，而这些也都不太适合食用。为了能让myosatellite细胞分化成肌肉细胞，Post也尝试使用过马血清来培养细胞，但是马血清也存在和胎牛血清同样的问题。

美国纽约Touro大学的名誉退休教授Morris Benjaminson则比较倾向于另一种技术，那就是在体外培养整个肌肉活检组织。早在2002年，Benjaminson就在他的实验室里使用这种整体培养方法成功的获得了金鱼鱼肉组织。他们利用磨碎的肌肉组织，并且仅仅只用了一周的时间就培养出了成片的新生鱼肉组织。新生组织的面积占整个培养皿面积的79%。不过，他们还不清楚这种方法是否能够用于工业化大生产。

现在市面上已经出现了使用植物或微生物等材料制成的不含动物成分的培养基，可以用于体外细胞培养实验。但是这种培养基和动物来源的培养基一样，价格昂贵，在实验室培养的猪肉产品的成本中有90%都花在了培养基上。而且，这种培养基的配方是受专利保护的，因此很难进行各种优化，以满足不同实验室的需要。不过，Benjaminson发现可以用碾碎的舞茸（maitake，一种蘑菇）来代替小牛血清培养基，至少在他的金鱼实验里这样做是完全没有问题的。

荷兰阿姆斯特丹大学从事人工猪肉开发工作的科研人员正在尝试另一种更为便宜的培养基，这是一种取自蓝绿藻（blue-green algae）的培养基，其中还加入了大肠杆菌表达的人工生长因子。但是到目前为止，还没人能够大量制作出廉价的，不含动物血清成分的培养基。

条件三、解决myosatellite细胞的生长极限问题

由于端粒的影响，myosatellite只能分裂几十次。不过，幸好还有其它的办法帮助myosatellite细胞增殖，比如向myosatellite细胞内转染端粒酶编码基因。而美国加利福尼亚州帕洛阿尔托市的新兴生物技术公司Mokshagundam就利用了促进肿瘤生长的基因。经过遗传修饰之后，在实验室里“生长”的肉制品就能够达到足够的分量，供消费者食用了。还有其它的一些方法，比如从年幼的家畜体内获取myosatellite细胞或者优化培养条件等等。

条件四、组装的“肌肉”需加强“锻炼”

在支架上生长的myosatellite细胞会融化形成肌纤维，并最终聚集在一起形成肌肉组织。但是在实验室里“组装”出来的肌肉绵软无力，缺乏正常肌肉的组织结构。要想获得蛋白质含量丰富的人工肌肉产品就需要让这些肌肉得到充分的锻炼。其实可以让连接在两个锚定点之间的肌纤维组装形成肌肉组织，因为这两点之间存在张力，所以可能会起到一定的锻炼作用。Post成功地借助这种方法提高了肌肉产品的蛋白质含量，在短短数周的时间里肌肉条里的蛋白含量从100毫克猛增至800毫克。而且，Post还有一项秘密武器，他给肌肉组织每秒施加了一次10伏的电击刺激，这样能使肌肉条的蛋白含量增加至1克。不过，如果将这种电击刺激用于大规模的商业生产，那么成本就太高了，因此Post科研小组还在尝试使用其它的方法，模拟电击后肌肉产生的化学信号，帮助肌肉收缩。

美国查尔斯登南卡罗来纳医科大学（Medical University of South Carolina）的Vladimir Mironov采用了另外一种方法，他们以采自蟹或真菌的壳聚糖为原料制作了壳聚糖微珠（chitosan microbead）支架。这种支架会随着温度的变化而伸缩，从而帮助附着在支架上的肌肉组织做伸缩运动。

如果在实验室里生长成的肌肉能够达到200毫米厚，那么肌肉中心部位的细胞就会因为缺乏营养素和氧气供给而死亡。于是，Post就培植了很多小肌肉条，再用这些肌肉条制作香

肠。包括Mironov在内的其他一些人则采用美国NASA开发的一种搅拌器大小的生物反应器（bioreactor）来研究肌肉在微重力环境下的生长情况。这些微重力条件有助于防止细胞聚集、改善氧气和营养素的供给情况。

如果要进行工业化生产，那么就需要一个超大型，好像生物制药公司里使用的那种生物反应器。Mironov估计商业化的体外肉类培养设备可能会有5层楼那么高，这又一大笔投资。所有这一切只是为了生产肉制品。如果要生产肉排那么条件还要苛刻，因为还需要为肉排提供一整套人工血管供给系统。这恐怕要几十年之后才能实现。

条件五、落实市场化问题

热衷于人工肉制品的人讨论的最少的就是口味问题，可能是因为还没人尝过它的味道。在美国，科研人员都会尽量避免食用任何在实验室里生长出来的东西，因为他们害怕这么做会违反《食品与药品管理条例》（*Food and Drug Administration regulation*），不过也没人知道这么做是否真的会违反该条例，他们也害怕这么做会让自己成为舆论的焦点。在Benjaminson开展金鱼实验的时候，他的研究团队就将　金鱼产品　放到橄榄油里，拌上面包屑给炸熟了，然后将金鱼排给美食鉴赏团评判，结果大家一致认为这个鱼排看上去可以吃，不过最终Benjaminson他们也没让谁真的吃了这块鱼排。

科学家们通常都相信如果他们能够生产出正常质地的肉制品，那么味道不成问题，反正有那么多调味料。幸运的是，myosatellite细胞还能转换成脂肪细胞，这就更能增添风味了。Mokshagundam生物技术公司的目标就是制造出由各种肌肉和细胞混合而成的罐头样产品，这种产品具有日本风味，尝起来和普通肉制品无异。科学家还会尝试加入各种营养素，比如铁元素、维生素B12等等。

可以想象，这种人造肉制品肯定不便宜。根据粗略的估计，第一代人造肉制品的价格会达到每吨3500欧元，而普通的不受政府补贴的鸡肉每吨才卖1800欧元。Mironov认为要在初期阶段保住人造肉制品的市场，就得将这种实验室产品打造成各种功能性食品，吸引富裕人群或者名人，还可以加入一些其它成分，比如提高产品的保健价值或者用于帮助某些人抑制食欲等。不过，如果能用这种人造肉技术生产出濒危动物或者已灭绝动物的肉制品，那也将是一块不小的市场。长远来看，素食主义者、环保主义者以及想要赎罪的人群都会是人造肉的消费群体。

Post等科研人员认为人造肉技术还需要进一步改进，不过将人造肉推向市场还是值得一试，但首要问题是如何说服投资人继续支持他们的科学研究。Post从荷兰政府那里申请到的资金只能维持到2009年，他利用这笔资助生产出了数百条猪肉，但是离他用来生产香肠所需要的数千条还差得远。今天，好几家社团联合组织（umbrella organizations，好几家组织共同结成的联盟组织），比如非盈利性的New Harvest组织（该组织主要为美国和欧洲的科研项目提供小额资助）和美国加利福尼亚州的Pure Bioengineering商业公司（该公司主要从事风险投资事物）等都在积极的推动人造肉技术的发展。但是他们到目前为止都还没有得到任何回报。

Post还会继续为他的人造香肠寻找资金支持，不过他也知道不太可能争取到足够的资金使人造肉项目商业化。Post说：　我一般都会跟人说100万欧元就够了。这也是我向荷兰政府要求的，但是所有人听到这个数字之后都晕了过去。

原文检索：
Nicola JoNes. (2010) A taste of things to come? *Nature*, 468: 752-753.

筱玥/编译

生命百态

Amazing Lives

聪明的蚂蚁绕过障碍物有高招

众所周知，蚂蚁善于寻找通向食物的最短途径。蚁群通过留下容易挥发的信息素来为它们的同伴带路，并最终选择出最短的路径追踪食物。这是由于信息素会在离食物较远的路途中散失，而在蚂蚁常走的较短路径中得到加强的缘故。软件工程师由此想到，对于人类同胞，比如运输代理商、电话线路设计员和系统分析人员而言，在各自的网络中选择最佳路径也是一道难题，是否能从中受到什么启发呢？于是，他们转而研究懂得通过设路标而开辟道路的蚂蚁，以期找到解决问题的灵感。目前，来自澳大利亚悉尼大学（Sydney University）的Chris Reid和Madeleine Beekman以及瑞典乌普萨拉大学（Uppsala University）的David Sumpter向我们解释说，有一种网络求解的算法就是利用真正的蚂蚁及其留下的真正的信息素痕迹来识别最短的路径；但这种算法有一个缺陷，即当网络系统总是发生变化时，它就无法像现实生活中的蚂蚁表现得那样奏效了。不过，蚂蚁毕竟经历了上百万年的多变环境，适应变化对它们而言应该不是难事。因此，Reid等人决定以阿根廷蚂蚁为研究对象，看看它们在一个以汉诺塔之谜形式出现的变化网络情况下，如何识别出最佳途径。

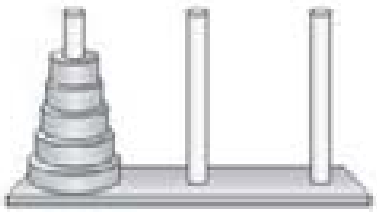


图4 汉诺塔之谜的初始状态。

或许你也听说过汉诺塔　一个源自印度古老传说的益智游戏，它是传说中的上帝在创造世界时给婆罗门留下的谜题。谜面是三根金刚石柱子，其中一根柱子自上而下按大小顺序摞着64片黄金圆盘，任务就是把这些圆盘按原样转移到另一根柱子上，但三根柱子之间一次只能移动一个圆盘，而且小圆盘上不能放大圆盘。当然，研究小组不会叫蚂蚁去把谜中出现的圆盘在栓柱之间移动，而是把这项任务转换成一个可移动的胶版，然后再用这个胶版依次组成一个六角形的迷宫，这样就可以开始试验了。首先，研究小组让一群蚂蚁在迷宫里探路，并留下它们的信息素（包括短暂的觅食信息素和持久的探索信息素）。然后，他们把食物放在迷宫的出口，接着开始拍摄这些蚂蚁试图在迷宫中识别通往食物的最佳途径的过程，并在此过程中阻断某些路径，再打开另外的通道，以人为方式做出变化的场景。

结果，蚂蚁们几乎没怎么费力就解决了问题。它们先是发现了一条最短的路径，然后沿着迷宫的外棱直奔食物来源。而当研究小组阻断这条路径，又打开另一条穿过迷宫中央的通路时，蚂蚁们改变了路线。它们以　之　字形路线穿过迷宫，沿垂直于原路的方向前进，直至发现那条另外打开的通路为止。研究小组猜测，蚂蚁在探索通路时，释放的两种信息素都发挥着关键的作用：短暂的觅食信息素使蚂蚁在路径发生改变时产生快速反应，持久的探索信息素则迅速定下最佳路线，这就大大提高了它们的效率。另外，Reid等人注意到，当一只蚂蚁遇到某个障碍物时，它会在障碍物的周边寻找新的路径，而不是掉头原路返回。研究小组由此猜想，蚂蚁不仅仅是依靠物体的几何形状来识别路径并绕过障碍，它们还可能运用某种存在于体内的指南针来协助自己到达目的地。所谓双管齐下，恐怕就是蚂蚁探路的高妙之处了吧。最后，我们的三位研究者希望这个新发现，即蚂蚁运用多种信息素和可能存在的体内指南针识别路径，能够激发软件工程师的灵感，从而开发出另一种基于蚂蚁的算法来解决复杂的动态网络问题。

原文检索：

Reid, C. R., Sumpter, D. J. T. and Beekman, M. (2011). Optimisation in a natural system: Argentine ants solve the Towers of Hanoi. *J. Exp. Biol.* 214, 50-58.

文佳/编译

小词典

蚁群算法，又称蚂蚁算法，由Marco Dorigo在其1992年的博士论文中提出，灵感源于蚂蚁在寻找食物过程中发现路径的行为。蚂蚁在前进时会遵循之前的蚂蚁留下的信息素选择路径，同时留下信息素，不断增强的信息素很快使蚁群聚集到最短路径上。蚁群算法就模拟了这种生物行为，通过相对简单的规则建立数学模型，对组合最优化问题进行求解。该算法广泛应用于科学和工程中的多个领域，如通信系统、运输系统等。

身静自然凉

雄性象海豹以静止不动的方式散热

对于雄性象海豹而言，交配季节是一段极耗精力的时期，为了守护它们的妻妾，这些雄性动物在其悠长的交配马拉松期间会进行节食，并为此失去大约36%的体重。但你肯定没想到的是，这种很会保暖的象海豹在它们忙碌的交配期间，要产生巨大的热量，但它们却天生缺乏汗腺，所以只能在其血液流经皮肤时散发掉过多的热量。来自索诺马州立大学（Sonoma State University）的Amy Norris等人知道，象海豹能选择性地提高其皮肤温度，从而防止自己的身体过热。于是他们产生了一个疑问，即在这种极端持久的交配季考验中，是哪些环境因素和行为因素影响了雄性象海豹的体表温度呢？

Norris、Dorian Houser和Dan Crocker跑到了加利福尼亚的新年岬州立保留区（Año Nuevo Reserve），用带有自动温度计的照相机拍下了雄性象海豹在3个月交配季节期间的活动情况。研究小组记录下了象海豹在打斗以及其它日常活动时的热影像，并从82只（囊括了从为首的象海豹到徘徊在群族外围的象海豹）雄性象海豹中收集了2550张影像。然后，Norris等人据此对象海豹的热量分布作了分析，发现太阳辐射、水蒸气压和月份都显著影响象海豹的体表温度，其中一些象海豹的体表温度甚至可以在晴天急速上升到30℃，而在多云天气又降到15℃。研究小组还发现，打斗中的雄性象海豹具有最大的热力范围，此时它们的体表温度比象海豹的平均体温要偏高一个水平，从而有助于它们散发热量。但是，结果显示，这些相互竞争中的雄性并不是最热火朝天的，反倒是最懒散的雄性象海豹的体表温度最高，其身体与环境之间的温度变化率最大。研究小组猜测，在温暖湿润的日子里，雄性海象更不容易甩掉过多的热量，所以只能限制自身的活动水平，防止它们身体过热。最后，研究人员表示：　这些研究结果有力地表明，雄性象海豹改变自身的行为与它们设法传送或蒸发掉自身热量的潜能有关。

原文检索：

Norris, A. L., Houser, D. S. and Crocker, D. E. (2010). Environment and activity affect skin temperature in breeding adult male elephant seals (*Mirounga angustirostris)*. *J. Exp. Biol*. 213, 4205-4212.

文佳/编译

小词典

象海豹：本文所述象海豹为北象海豹（*Mirounga angustirostris*），海豹科象海豹属，主要生活在北半球的太平洋东部。这种动物高度遵循一夫多妻制，一头雄性象海豹可以在交配季节（12月至1月）内令多达50头雌性象海豹受孕。为确保地位，雄性会先登陆进行相互打斗，成功者可选择配偶，败者只能在群族的边缘徘徊。

www.LifeOmics.com

www.LifeOmics.cn