

文章编号:1004-7220(2016)04-0333-07

血管组织工程的发展现状和趋势

方俊, 李松

(Department of Bioengineering, University of California-Los Angeles, Los Angeles, CA 90095, USA)

摘要: 心脑血管疾病是全球发病率和死亡率最高的疾病,其主要病因是动脉粥样硬化。临床上主要采用血管移植重建病损血管,人造成血管在大口径血管修复中取得了满意的效果,但在小口径血管修复中效果并不理想。近30年来,血管组织工程发展极其迅速,从再生的角度为血管修复提供了新的途径。本文综述血管组织工程的最新进展(体外、体内、原位血管组织工程),并对未来发展趋势进行了前瞻性展望。

关键词: 血管组织工程; 组织工程; 原位再生

中图分类号: R 318.01 **文献标志码:** A

DOI: 10.3871/j.1004-7220.2016.04.333

Advances in vascular tissue engineering

FANG Jun, LI Song (Department of Bioengineering, University of California-Los Angeles, Los Angeles, CA 90095, USA)

Abstract: Cardiovascular diseases such as atherosclerosis remain the leading cause of morbidity and mortality in the world. The replacement of large diameter vessels (≥ 6 mm), such as the aorta, has been performed successfully with synthetic non-degradable vascular grafts, while it is still a challenge to engineer small diameter vessels with long-term patency. Over the past three decades, the rapid progress in the field of vascular tissue engineering has provided some promising approaches, including *in vitro*, *in vivo*, and *in situ* tissue engineering of vascular grafts. This review is focused on the most recent progress and trends in vascular tissue engineering.

Key words: Vascular tissue engineering; Tissue engineering; *In situ* regeneration

心脑血管疾病是当今威胁人类健康与生命的最主要的疾病,仅美国一年就有60万人死于心脏疾病^[1]。动脉粥样硬化是导致心血管疾病的主要病因,由于导致血流减少或阻断,带来心梗、中风及瘫痪等严重后果。心血管发病的主要机理有内皮细胞去功能化、免疫反应失调、平滑肌细胞去分化及血管干细胞分化^[2-7]。目前,临床上治疗心血管堵塞的主要方法有药物溶栓、经皮腔内冠状动脉成型术、支架介入和血管搭桥术。其中,血管搭桥手术在左主干病变、三支病变、冠心病心梗后并发症患者(心室破裂、室间隔穿孔、二尖瓣关闭不全)、糖尿病患者及

动脉瘤等情况下,是唯一或首选的治疗手段。

血管搭桥手术中常用病人自体血管(如胸廓内动脉、下肢大隐静脉等)或者人造血管搭建一条畅通的血流途径。自体血管修复病损血管的优势在于取材方便、组织相容性好、没有免疫排斥反应、术后远期通畅率好,但存在导致二次创伤、来源有限等不足^[8-9]。当病人没有合适的自体血管时,临床上可以用膨化聚四氟乙烯(ePTFE)、涤纶(Dacron)、聚氨酯(PU)等人造血管修复大口径血管(胸主动脉、腹主动脉及髂动脉),并取得了较好的临床效果^[10-12],但这些人造血管在直径小于6 mm的小口径血管(冠

收稿日期:2016-06-01; 修回日期:2016-07-01

基金项目:美国NIH资助项目(R01HL121450, R01HL117213)。

通信作者:李松,教授, E-mail: songli@g.ucla.edu。

状动脉、外周动脉等)替代中极不理想。由于小口径血管中血流速度慢,血管支架极易因血栓形成和内膜增生而堵塞,因此小口径血管的修复是目前亟待解决的全球性难题。

组织工程学是一门重建组织和器官的新兴交叉学科,是生命科学发展史上又一个里程碑,对现代再生医学的发展具有划时代意义的深远影响^[13]。组织工程从再生角度为血管修复提供了新的途径。组织工程血管是利用组织工程学方法,将血管种子细胞(内皮细胞、平滑肌细胞)种植于天然或合成材料支架上,以构建从形态到功能都接近活体血管的组织工程化血管。

1 血管组织工程

理想的血管支架应具备一些重要特性:良好的生物相容性、血液相容性、不易发生免疫排斥反应、仿生天然血管结构、匹配天然血管的力学性能、可控的生物可降解性、大量生产、长期储存、随时取用。根据血管支架构建或再生方式的不同,血管组织工程可分为体外、体内、原位血管组织工程(见图1)^[14-15]。

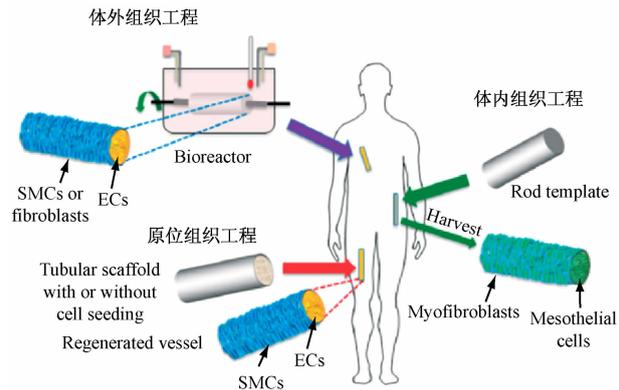


图1 体外、体内、原位血管组织工程示意图

Fig.1 Schematic illustration of *in vitro*, *in vivo*, and *in situ* tissue engineering of vascular grafts

1.1 体外血管组织工程

体外血管组织工程是通过生物支架材料、种子细胞和生物反应器构建活性血管支架。

1.1.1 血管组织工程支架材料 血管组织工程支架材料主要有天然材料、脱细胞外基质、合成生物可降解高分子材料、活性细胞膜片。这些材料通过选用合适的成型技术(熔融/溶液挤出法、盐沥滤法、

热致相分离法、静电纺丝法、卷绕成型及其复合技术等),可加工成与自体血管结构和形貌相似的血管支架。

天然材料主要有胶原、纤维蛋白、弹性蛋白、透明质酸、甲壳素、丝素蛋白、葡聚糖明胶、细菌纤维素等。天然材料血管支架的主要优点是生物相容性好、无免疫排斥反应等,但存在机械性能差的缺点。早期研究发现,胶原构建的血管支架需要添加Dacron织物来提高其力学性能^[16]。纤维蛋白制备的血管支架的力学性能好于胶原,而且通过循环扩张培养可进一步提高支架的机械性能^[17]。另外,在胶原支架中添加弹性蛋白不但可以提高力学强度,还能降低血栓和免疫响应^[18-19]。

脱细胞外基质血管支架完全由天然细胞外基质组成,具有良好的生物相容性和机械力学性能,理想的支架结构和形状,但力学强度和管壁顺应性不佳,且残留少量的异种抗原,有可能引起免疫排斥和疾病传播。瑞士科学家通过在异体脱细胞血管支架上种植病人自体骨髓来源内皮细胞/平滑肌细胞,成功开展了一例10岁儿童的门静脉搭桥手术^[20]。

合成生物可降解高分子材料主要有聚乙醇酸(PGA)、聚乳酸(PLA)、聚己内酯(PCL)等以及它们的复合物。可降解高分子血管支架的主要优点是合成高分子材料来源广泛、加工方法多样、力学与降解性能可调,缺点是细胞亲和性不佳。早在1999年,Niklason等^[21]开展了一项开拓性研究,他们在PGA多孔支架上种植自体平滑肌细胞,然后使用生物反应器对支架进行为期8周的循环力学拉伸培养,促进胶原合成和提高支架机械强度,接着在内腔表面种植内皮细胞,并用血流预处理支架后植入小猪股动脉,1个月后发现血流通畅,无明显血栓形成。2001年,Shin'oka等^[22]首次在人体中应用组织工程血管,他们用种植自体细胞的PGA编织增强的PLCL血管支架,治疗了一例先天性肺动脉4岁患者,结果令人鼓舞。自体细胞采集、分离、培养时间往往较长,为了让外科医生可以在病人需要的时候从架子上取下来就用,血管移植需要被提前制造,并可长期储放,且保持其强度和功效。2011年,Niklason团队将捐赠人的平滑肌细胞种植到PGA支架上,经过生物反应器培育,再经脱细胞处理后得到人类脱细胞组织工程血管;这种血管支架既保留了很好的强度和弹性,还能长期存放。该团队以狒狒

为动物模型开展了动静脉旁路手术,结果展示出良好的通畅性^[23]。2016年,该团队再次报道了用这种人类脱细胞组织工程血管为60名肾功能衰竭的病人进行血液透析,植入1年后血管支架结构完整,没有免疫排斥的现象,并且大量自体细胞长入组织再生,而且该支架的通畅性与临床上使用的ePTFE相当,他们希望通过进一步更大规模的临床实验来展示所研发支架的最终临床可靠性^[24]。

另外一种构建血管支架的方法是基于细胞膜片的组织工程血管,这种方法无需使用支架材料^[25]。通过长时间细胞培养,可以分泌大量的细胞外基质,进而形成一定力学强度的细胞膜片。2009年,McAllister等^[25]从病人自体皮肤和浅静脉分离得到成纤维细胞,经过体外培养形成细胞膜,将其卷绕到不锈钢棒上后再继续培养10周促进细胞成熟与融合,最后得到细胞膜片管状血管。他们利用这种支架为肾功能衰竭末期的病人透析血液。临床结果显示,在这群高危病人中,血管的初级通畅率在1个月为70%,6个月为60%。这种支架所用的细胞为自体细胞,没有免疫排斥现象,但存在的最大不足是培养时间过长(6~9月)。2014年,为了使得这种血管支架大规模生产、降低成本、长期存放备用,该团队采用异体成纤维细胞膜片制备了异种组织工程血管,并为肾功能衰竭末期的病人进行血液透析,结果表明这种血管没有免疫反应,力学强度稳定,没有发现明显的血管降解和膨胀^[26]。但这种由细胞膜片形成的组织工程血管支架是否能够在临床上得到广泛应用,还有待进一步的证实。

1.1.2 种子细胞的选择 血管组织工程所常用的种子细胞包括内皮细胞、平滑肌细胞、成纤维细胞、干细胞及重编程诱导干细胞。内皮细胞和平滑肌细胞是血管的重要组成成分,因此是最广泛运用的组织工程化血管种子细胞,但存在的不足是这些细胞扩增能力有限,往往需要较长时间(至少1个月)采集、分离、培养和种植。

干细胞主要分为胚胎干细胞(embryonic stem cell, ESC)和成体干细胞(adult stem cell, ASC),具有自我复制、多向分化的潜能,且增殖能力强,具有稳定传代的功能,因此成为理想的组织工程种子细胞^[27-28]。ESC存在于哺乳动物发育早期的胚胎内细胞团,因而具有发育的全能性。ESC在培养过程中可诱导分化成内皮细胞和平滑肌细胞,用于血管

支架的构建,可以改善支架在体内的通畅性^[29-30]。但是,使用ESC的主要障碍是存在社会伦理问题。ASC是存在于一种已经分化组织中的未分化细胞,这种细胞能够自我更新并且能够特化形成组成该类型组织的细胞。适用于组织工程血管构建的ASC有骨髓间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)、脂肪干细胞(adipose-derived stem cell, AD-SC)、骨骼肌干细胞(skeletal muscle stem cell, SMSC)、内皮祖细胞(endothelial progenitor cell, EPC)和平滑肌祖细胞(smooth muscle progenitor cell, SMP)等^[28]。MSC是一种多功能骨髓单核细胞,因其具有多向分化潜能、造血支持和促进干细胞植入、免疫调控和自我复制等特点而日益受到人们的关注^[31]。MSC可以被诱导分化成内皮细胞及平滑肌细胞^[32],并可作为种子细胞种植在异体脱细胞的血管支架上,这种支架已经成功地用于门静脉搭桥手术^[20]。在聚氨酯血管支架上种植肌肉来源的骨骼肌干细胞(muscle-derived stem cell, MDSC)可以分化成平滑肌细胞,并且获得了很好的机械强度^[33]。值得注意的是,大多数研究中采用的ASC并不能获得功能性组织工程血管支架,而是依赖于原位再生机理重建支架。EPC是血管内皮细胞的前体细胞,在生理或病理因素刺激下,可从骨髓动员到外周血中,然后参与损伤血管的修复^[34]。但EPC的特异性标记还有待进一步确定,而且晚期内皮祖细胞不能轻易获取,尤其是在老年病人或心脏病病人中^[35]。

诱导多功能型干细胞(induced pluripotent stem cell, iPSC)是一种新的血管组织工程种子细胞。诱导性多功能干细胞是利用导入特定基因或是特定基因产物等方式送入体细胞中,使该体细胞变成为具备如同胚胎干细胞般具有分化成各式细胞之多功能分化能力^[36-37]。在一定条件下,iPSC如ESC一样可分化成内皮细胞和平滑肌细胞^[38],但避免了社会伦理的问题。体外研究显示,老鼠iPSC分化而来的平滑肌细胞可以在三维纳米纤维支架增殖^[39]。体内研究中,iPSC分化而来的内皮细胞和平滑肌细胞具有一个旁分泌效应,可在急性期诱导新生组织形成,并在晚期减少细胞的凋亡^[40]。最近有研究采用直接重编程技术把成纤维细胞转化为内皮细胞(PiPS-ECs)或平滑肌细胞(PiPS-SMCs),并发现这类种子细胞有利于提高组织工程血管支架在体内的通畅性^[41-42]。

总体而言,以 ESC、ASC 及 iPSC 分化而来的血管细胞作为种子细胞在血管组织工程中的应用研究仍处于初期,其分化的稳定性和安全性仍需更多的验证评估。

1.1.3 血管生物反应器 血管生物反应器是一种模拟人体血管脉搏及血流冲刷作用的装置,能够形成有搏动的液流并能控制流量,以模拟体内的生理环境。该装置有利于细胞外基质的合成、细胞适应性的重塑及良好力学性能的形成^[43]。通过旋转、灌注生物反应器或对反应器抽真空等方法,可在血管支架上实现细胞均匀、有效、快速的种植^[44-45]。

1.2 体内血管组织工程

体内血管组织工程是以身体微环境为生物反应器,在腹腔或皮下埋植聚合物管材,然后体内细胞在管状模具上生长、形成细胞缠绕层,这种活体组织可以作为血管支架^[46]。在一个早期研究中,把不同长度和直径的硅胶管埋入大鼠或兔腹腔,管材在2周后被肌成纤维细胞、胶原基质及间皮层包裹^[47]。去除硅胶管后,便获得一个类似于血管结构、具有非血栓性间皮细胞内衬和基质外层的血管支架。这种血管支架在动物体内实验中具有长期通畅性,通过在其内腔种植单层内皮细胞,可进一步改善血液相容性^[48]。另外,有研究采用一个可植入装置施加周期性拉伸,增加了腹膜下管状组织的力学强度^[49]。另一体内血管组织工程生成位置是皮下埋植,包绕组织的厚度与埋植材料的种类有一定的关系^[46],在皮下包绕组织的形成机制可能与腹腔中不同,仍需进一步研究。除了选用不同的材料,在今后的研究中,还可开发一些有生物活性的管状模具用于组织状的制备。体内血管组织工程方法的优点是,它仅需要很小的体外操作而获得自体移植支架。然而,支架成熟的时间为2~4周,从而仅限于应用在非紧急的临床治疗中。

1.3 原位血管组织工程

原位血管组织工程是采用具有血管特性的支架,经过体内细胞长入再生构建血管,因为这种方法避免了耗时的体外培养、可大量生产、现货备用,有望成为最理想的血管修复方法。原位血管组织工程的移植物可以是接种细胞后直接植入或经短期培养的细胞支架,也可以是不种植细胞的支架,并能通过结构、降解性能及生物活性的调控促进原位再生。

1.3.1 种植细胞的原位血管组织工程 原位组织

工程的支架材料主要有细胞外基质和生物可降解高分子材料,通过移植内皮细胞、内皮祖细胞、骨髓间充质干细胞、骨骼肌干细胞或周细胞,可以改善支架血液相容性、促进内皮化、提高通畅率、促进原位血管重建^[23]。日本科学家在PGA编织增强的PLCL血管支架中种植骨髓单核细胞(mononuclear cell, MNC),发现即使在免疫缺陷宿主中种植的细胞也不能长期存在,而且种植MNC的支架有利于招募周围单核细胞,并参与血管的原位再生重建^[50]。目前这种血管支架已在日本成功地用于临床治疗^[51],并在美国开展了先天性心脏病的临床治疗^[52]。支架植入体内后宿主细胞替换了移植细胞表明,可以利用内源性的再生潜力开发无需种植细胞的原位血管支架。

1.3.2 不种植细胞的原位血管组织工程 早在1999年,有研究者采用肝素处理的脱细胞小肠黏膜作为血管支架,发现胶原基质与宿主组织融合并原位重构成功能血管,揭示了不种植细胞的原位血管组织工程的可行性^[53]。通过结构、化学性能、降解速率及生物活性的设计,可以最大限度地激发原位再生潜力。

选用合适的加工成型技术可以制备仿生血管支架。近年来,静电纺纳米纤维血管组织工程支架及其生物活性分子修饰构建仿生血管组织微环境成为研究热点^[54-55]。静电纺丝技术制备血管支架具有较显著的优势:可加工成型大量的天然及合成高分子材料;具有体内ECM的仿生结构和特点;具有较高的孔径、孔隙率、较好的孔道连通性和极大的比表面积,能够满足细胞黏附、迁移及增殖生长等的要求;通过参数的调节,可制备单一或复合型纤维支架,并很好地控制纳米纤维的直径、支架的厚度及其三维结构、力学性能等;本体或表面可进行生物活性分子修饰。静电纺PCL血管支架比ePTFE更加迅速内皮化^[56],但在12~18个月的长期研究表明细胞退化和支架钙化^[57]。混纺合成与天然高分子材料的复合纤维支架结合了两种材料的优势,即具有良好的力学性能、加工成型性,也增加了细胞亲和性^[55]。

用于血管组织工程的支架材料的生物降解速率应与血管再生速率相匹配。可降解高分子支架植入体内后逐渐降解,自体的细胞和组织随之长入,最终实现血管再生。2012年,美国匹兹堡大学Wu等^[58]

报道了支架的快速降解可加速血管的原位重建,他们制备了一种无细胞、可降解的弹性聚癸二酸甘油酯(PGS)小口径支架,植入大鼠腹主动脉3个月后完全降解,实现了体内的血管重构,研究还发现M2型巨噬细胞参与了组织的重构^[59]。值得注意的是,大鼠细胞的增殖能力远大于人体细胞,真正适合人的血管支架的降解速率还有待于进一步研究。

为了降低血小板的黏附和阻止血栓的形成,血管支架往往需要采用生物活性分子进行功能化修饰。修饰的方法主要有物理吸附、生物亲和、化学共价接枝法。其中,共价接枝活性因子比物理吸附更稳定,特别是在血流动力学条件下有利于获得稳定的生物活性。普遍应用的合成高分子没有活性官能团,因此需要通过物理法(等离子体、辉光放电、UV照射)和化学法(水解法)进行活化处理获得活性反应位点。目前广泛应用的抗凝活性分子有多糖(肝素、透明质酸)、多肽(水蛭素)、蛋白酶(尿激酶)、两性离子单体或聚合物、PEG等^[60]。其中,肝素已被广泛用于心血管设备的表面抗凝血修饰。肝素修饰的电纺支架可作为犬股血液透析的动静脉通路,其插管位置漏血的停止速率比ePTFE快10倍,而且具有良好的血液相容性和快速的伤口愈合^[61]。

天然内皮细胞层是最佳的抗凝表面,并能降低免疫反应,抑制平滑肌细胞过度增殖,阻止内膜增生。成熟人体内皮细胞的迁移增殖能力很低,难以实现原位快速内皮化。因此,有研究开始尝试从循环血液招募EPC或外周组织招募内皮细胞、间充质细胞,促进内皮化。有团队用抗CD34抗体蛋白修饰ePTFE支架,加速了内皮化,但也导致了静脉吻合口处内膜增生^[62]。基质细胞衍生因子(stromal-cell derived factor-1 alpha, SDF-1 α)是一种可招募EPC促进血管生成的趋化因子,具有促进内皮化的效果^[63],另有研究采用肝素修饰静电纺PLA支架有利于吸附SDF-1 α ,进而促进了SMC组细胞招募和血管的再生^[64]。募集内皮祖细胞的另一种活性因子是粒细胞集落刺激因子(granulocyte colony stimulating factor, G-CSF),通过皮下注射粒细胞集落刺激因子,增加了循环骨髓祖细胞,并促进了合成支架的内皮化^[65]。总体而言,生物活性支架和干细胞招募技术领域已取得可喜的成果,但干细胞生物学和支架工程仍然有待更深入的研究。

2 展望与结论

人类对大量病损血管修复和重建的迫切需求,带来了资源和科研人力的巨大投入,推动着血管组织工程的快速发展。过去30年里,血管组织工程领域的研究结合了生物工程、组织工程、血管生物学、生物材料、细胞工程及干细胞生物学等众多学科知识和技术,从再生角度为血管修复提供了新的途径,主要包括体外、体内、原位血管组织工程。虽然这3种组织工程血管都已经进入了临床研究,并取得了令人兴奋的结果,但修复效果还有待提高。虽然目前为此,关于组织工程血管的临床研究主要在大血管中开展,但这些研究成果和经验有助于开发更好的小口径组织工程血管,最终有望彻底解决心血管疾病中大小口径血管修复的难题。

参考文献:

- [1] KOCHANKEK KD, XU J, MURPHY SL, et al. Deaths: Final data for 2009 [J]. Natl Vital Stat Rep, 2011, 60(3): 8-9.
- [2] ROSS R. Atherosclerosis—An inflammatory disease [J]. N Engl J Med, 1999, 340(2): 115-126.
- [3] LIBBY P, RIDKER PM, HANSSON GK. Progress and challenges in translating the biology of atherosclerosis [J]. Nature, 2011, 473(7347): 317-325.
- [4] OWENS GK, KUMAR MS, WAMHOFF BR. Molecular regulation of vascular smooth muscle cell differentiation in development and disease [J]. Physiol Rev, 2004, 84(3): 767-801.
- [5] MAJESKY MW, DONG XR, REGAN JN, et al. Vascular smooth muscle progenitor cells: Building and repairing blood vessels [J]. Circ Res, 2011, 108(3): 365-377.
- [6] XU QB. Stem cells and transplant arteriosclerosis [J]. Circ Res, 2008, 102(9): 1011-1024.
- [7] TANG Z, WANG A, YUAN F, et al. Differentiation of multipotent vascular stem cells contributes to vascular diseases [J]. Nat Commun, 2012, 3: 875.
- [8] ROLL S, MULLER-NORDHORN J, KEIL T, et al. Dacron® vs. PTFE as bypass materials in peripheral vascular surgery—systematic review and meta-analysis [J]. BMC Surg, 2008, 8: 22.
- [9] SAYERS R, RAPTIS S, BERCE M, et al. Long-term results of femorotibial bypass with vein or polytetrafluoroethylene [J]. Br J Surg 1998, 85(7): 934-938.
- [10] ZDRAHALA RJ. Small caliber vascular grafts. Part I: state of the art [J]. J Biomater Appl, 1996, 10(4): 309-329.
- [11] ZDRAHALA RJ. Small caliber vascular grafts. Part II: Pol-

- yurethanes revisited [J]. *J Biomater Appl*, 1996, 11(1): 37-61.
- [12] LORENTZEN JE, Nielsen OM, Arendrup H, *et al.* Vascular graft infection: An analysis of sixty-two graft infections in 2411 consecutively implanted synthetic vascular grafts [J]. *Surgery*, 1985, 98(1): 81-86.
- [13] LANGER R, VACANTI JP. Tissue engineering [J]. *Science*, 1993, 260(5110): 920-926.
- [14] NEREM RM, SELIKTAR D. Vascular tissue engineering [J]. *Annu Rev Biomed Eng*, 2001, 3(1): 225-243.
- [15] KUROBE H, MAXFIELD MW, Breuer CK, *et al.* Concise review: Tissue-engineered vascular grafts for cardiac surgery: Past, present, and future [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2012, 1(7): 566-571.
- [16] WEINBERG CB, BELL E. A blood vessel model constructed from collagen and cultured vascular cells [J]. *Science*, 1986, 231(4736): 397-400.
- [17] SYEDAIN ZH, MEIER LA, BJORK JW, *et al.* Implantable arterial grafts from human fibroblasts and fibrin using a multi-graft pulsed flow-stretch bioreactor with noninvasive strength monitoring [J]. *Biomaterials*, 2011, 32(3): 714-722.
- [18] BERGLUND JD, NEREM RM, SAMBANIS A. Incorporation of intact elastin scaffolds in tissue-engineered collagen-based vascular grafts [J]. *Tissue Eng*, 2004, 10(9-10): 1526-1535.
- [19] TIECHE C, ALKEMA PK, LIU SQ. Vascular elastic laminae: Anti-inflammatory properties and potential applications to arterial reconstruction [J]. *Front Biosci*, 2004, 9: 2205-2217.
- [20] OLAUSSON M, PATIL PB, KUNA VK, *et al.* Transplantation of an allogeneic vein bioengineered with autologous stem cells: A proof-of-concept study [J]. *Lancet*, 2012, 380(9838): 230-237.
- [21] NIKLASON LE, GAO J, ABBOTT WM, *et al.* Functional arteries grown *in vitro* [J]. *Science*, 1999, 284(5413): 489-493.
- [22] SHIN'OKA T, IMAI Y, IKADA Y. Transplantation of a tissue-engineered pulmonary artery [J]. *N Engl J Med*, 2001, 344(7): 532-533.
- [23] DAHL SLM, KYPSON AP, LAWSON JH, *et al.* Readily available tissue-engineered vascular grafts [J]. *Sci Transl Med*, 2011, 3(68): 68ra9-68ra9.
- [24] LAWSON JH, GLICKMAN MH, ILZECKI M, *et al.* Bioengineered human acellular vessels for dialysis access in patients with end-stage renal disease: Two phase 2 single-arm trials [J]. *Lancet*, 2016, 387(10032): 2026-2034.
- [25] MCALLISTER TN, MARUSZEWSKI M, GARRIDO SA, *et al.* Effectiveness of haemodialysis access with an autologous tissueengineered vascular graft: A multicentre cohort study [J]. *Lancet*, 2009, 373(9673): 1440-1446.
- [26] WYSTRYCHOWSKI W, MCALLISTER TN, ZAGALSKI K, *et al.* First human use of an allogeneic tissue-engineered vascular graft for hemodialysis access [J]. *J Vasc Surg*, 2014, 60(5): 1353-1357.
- [27] BAJPAI VK, ANDREADIS ST. Stem cell sources for vascular tissue engineering and regeneration [J]. *Tissue Eng Part B Rev*, 2012, 18(5): 405-425.
- [28] KRAWIEC JT, VORP DA. Adult stem cell-based tissue engineered blood vessels: A review [J]. *Biomaterials*, 2012, 33(12): 3388-3400.
- [29] WANG ZZ, AU P, CHEN T, *et al.* Endothelial cells derived from human embryonic stem cells form durable blood vessels *in vivo* [J]. *Nat Biotechnol*, 2007, 25(3): 317-318.
- [30] CHEUNG C, BERNARDO AS, TROTTER MW, *et al.* Generation of human vascular smooth muscle subtypes provides insight into embryological origin dependent disease susceptibility [J]. *Nat Biotechnol*, 2012, 30(2): 165-173.
- [31] PROCKOP DJ. Marrow stromal cells as stem cells for non-hematopoietic tissues [J]. *Science*, 1997, 276(5309): 71-74.
- [32] HUANG NF, LI S. Mesenchymal stem cells for vascular regeneration [J]. *Regen Med*, 2008, 3(6): 877-892.
- [33] NIEPONICE A, SOLETTI L, GUAN J, *et al.* Development of a tissue-engineered vascular graft combining a biodegradable scaffold, muscle-derived stem cells and a rotational vacuum seeding technique [J]. *Biomaterials*, 2008, 29(7): 825-833.
- [34] RAFII S, LYDEN D. Therapeutic stem and progenitor cell transplantation for organ vascularization and regeneration [J]. *Nat Med*, 2003, 9(6): 702-712.
- [35] STRONCEK JD, GRANT BS, BROWN MA, *et al.* Comparison of endothelial cell phenotypic markers of late-outgrowth endothelial progenitor cells isolated from patients with coronary artery disease and healthy volunteers [J]. *Tissue Eng Part A*, 2009, 15(11): 3473-3486.
- [36] TAKAHASHI K, YAMANAKA S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors [J]. *Cell*, 2006, 126(4): 663-676.
- [37] WERNIG M, MEISSNER A, FOREMAN R, *et al.* *In vitro* reprogramming of fibroblasts into a pluripotent ES-cell-like state [J]. *Nature*, 2007, 448(7151): 318-324.
- [38] WANJARE M, KUO F, GERECHT S. Derivation and maturation of synthetic and contractile vascular smooth muscle cells from human pluripotent stem cells [J]. *Cardiovasc Res*, 2013, 97(2): 321-330.
- [39] XIE C, HU J, MA H, *et al.* Three-dimensional growth of iPS cell derived smooth muscle cells on nanofibrous scaffolds [J]. *Biomaterials*, 2011, 32(19): 4369-4375.
- [40] HIBINO N, DUNCAN DR, Nalbandian A, *et al.* Evaluation

- of the use of an induced pluripotent stem cell sheet for the construction of tissue-engineered vascular grafts [J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2012, 143(3): 696-703.
- [41] MARGARITI A, WINKLER B, KARAMARITI E, *et al.* Direct reprogramming of fibroblasts into endothelial cells capable of angiogenesis and reendothelialization in tissue-engineered vessels [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(34): 13793-13798.
- [42] KARAMARITI E, MARGARITI A, WINKLER B, *et al.* Smooth muscle cells differentiated from reprogrammed embryonic lung fibroblasts through DKK3 signaling are potent for tissue engineering of vascular grafts [J]. *Circ Res*, 2013, 112(11): 1433-1443.
- [43] BARRON V, LYONS E, STENSON-COX C, *et al.* Bioreactors for cardiovascular cell and tissue growth: A review [J]. *Ann Biomed Eng*, 2003, 31(9): 1017-1030.
- [44] NASSERI BA, POMERANTSEVA I, KAAZEMPUR-MOFRAD MR, *et al.* Dynamic rotational seeding and cell culture system for vascular tube formation [J]. *Tissue Eng*, 2003, 9(2): 291-299.
- [45] WILLIAMS C, WICK TM. Perfusion bioreactor for small diameter tissue-engineered arteries [J]. *Tissue Eng*, 2004, 10(5-6): 930-941.
- [46] NAKAYAMA Y, ISHIBASHI-UEDA H, TAKAMIZAWA K. *In vivo* tissue-engineered small-caliber arterial graft prosthesis consisting of autologous tissue (biotube) [J]. *Cell Transplant*, 2004, 13(4): 439-449.
- [47] CAMPBELL JH, EFENDY JL, CAMPBELL GR. Novel vascular graft grown within recipient's own peritoneal cavity [J]. *Circ Res*, 1999, 85: 1173-1178.
- [48] ZHANG ZX, XI TF, WANG YJ, *et al.* *In vitro* study of endothelial cells lining vascular grafts grown within the recipient's peritoneal cavity [J]. *Tissue Eng Part A*, 2008, 14(6): 1109-1120.
- [49] STICKLER P, DE VISSCHER G, MESURE L, *et al.* Cyclically stretching developing tissue *in vivo* enhances mechanical strength and organization of vascular grafts [J]. *Acta Biomater*, 2010, 6(7): 2448-2456.
- [50] ROH JD, SAWH-MARTINEZ R, BRENNAN MP, *et al.* Tissue-engineered vascular grafts transform into mature blood vessels via an inflammation-mediated process of vascular remodeling [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(10): 4669-4674.
- [51] SHIN'OKA T, MATSUMURA G, HIBINO N, *et al.* Mid-term clinical result of tissue engineered vascular autografts seeded with autologous bone marrow cells [J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2005, 129(6): 1330-1338.
- [52] PATTERSON JT, GILLILAND T, MAXFIELD MW, *et al.* Tissue-engineered vascular grafts for use in the treatment of congenital heart disease: From the bench to the clinic and back again [J]. *Regen Med*, 2012, 7(3): 409-419.
- [53] HUYNH T, ABRAHAM G, MURRAY J, *et al.* Remodeling of an acellular collagen graft into a physiologically responsive neovessel [J]. *Nat Biotechnol*, 1999, 17(11): 1083-1086.
- [54] PHAM QP, SHARMA U, MIKOS AG. Electrospinning of polymeric nanofibers for tissue engineering applications: A review [J]. *Tissue Eng*, 2006, 12(5): 1197-1211.
- [55] HASAN A, MEMIC A, ANNABI N, *et al.* Electrospun scaffolds for tissue engineering of vascular grafts [J]. *Acta Biomater*, 2014, 10(1): 11-25.
- [56] PEKTOK E, NOTTELET B, TILLE JC, *et al.* Degradation and healing characteristics of small-diameter poly(ϵ -caprolactone) vascular grafts in the rat systemic arterial circulation [J]. *Circulation*, 2008, 118(24): 2563-2570.
- [57] DE VALENCE S, TILLE JC, MUGNAI D, *et al.* Long term performance of polycaprolactone vascular grafts in a rat abdominal aorta replacement model [J]. *Biomaterials*, 2012, 33(1): 38-47.
- [58] WU W, ALLEN RA, WANG Y. Fast-degrading elastomer enables rapid remodeling of a cell-free synthetic graft into a neoartery [J]. *Nat Med*, 2012, 18(7): 1148-1153.
- [59] BROWN BN, VALENTIN JE, STEWART-AKERS AM, *et al.* Macrophage phenotype and remodeling outcomes in response to biologic scaffolds with and without a cellular component [J]. *Biomaterials*, 2009, 30(8): 1482-1491.
- [60] LI S, HENRY JJ. Nonthrombogenic approaches to cardiovascular bioengineering [J]. *Annu Rev Biomed Eng*, 2011, 13: 451-475.
- [61] HASHI CK, DERUGIN N, JANAIRO RR, *et al.* Antithrombogenic modification of small diameter microfibrillar vascular grafts [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2010, 30(8): 1621-1627.
- [62] ROTMANS JI, HEYLIGERS JM, VERHAGEN HJ, *et al.* *In vivo* cell seeding with anti-CD34 antibodies successfully accelerates endothelialization but stimulates intimal hyperplasia in porcine arteriovenous expanded polytetrafluoroethylene grafts [J]. *Circulation*, 2005, 112(1): 12-18.
- [63] DE VISSCHER G, MESURE L, MEURIS B, *et al.* Improved endothelialization and reduced thrombosis by coating a synthetic vascular graft with fibronectin and stem cell homing factor SDF-1 α [J]. *Acta Biomater*, 2012, 8(3): 1330-1338.
- [64] YU J, WANG A, TANG Z, *et al.* The effect of stromal cell derived factor-1 α /heparin coating of biodegradable vascular grafts on the recruitment of both endothelial and smooth muscle progenitor cells for accelerated regeneration [J]. *Biomaterials*, 2012, 33(32): 8062-8074.
- [65] SHI Q, BHATTACHARYA V, HONG-DE WU M, *et al.* Utilizing granulocyte colony-stimulating factor to enhance vascular graft endothelialization from circulating blood cells [J]. *Ann Vasc Surg*, 2002, 16(3): 314-320.