

## 生物反应器在组织工程研究中的应用

汤亭亭

(上海交通大学医学院附属第九人民医院 骨科 & 上海市骨科内植物重点实验室, 上海 200011)

**摘要:** 生物反应器在组织工程研究中的应用非常广泛,从最初的种子细胞增殖、分化,到关键的组织体外构建,都可以利用生物反应器来模拟细胞和组织在体内的生长环境,提高工程化组织构建的效率。本文结合本期发表的6篇相关文献,介绍了组织工程中研究中生物反应器的作用,建议通过包括生物力学在内的多学科的研究手段,获得调控不同类型细胞生长和组织构建的关键参数,实现功能化组织工程的研究目标。

**关键词:** 组织工程; 生物反应器; 生物力学

**中图分类号:** R318.01 **文献标志码:** A

### Application of bioreactors in tissue engineering

TANG Ting-ting (Department of Orthopaedic Surgery, Shanghai Ninth People's Hospital, Shanghai Jiaotong University School of Medicine & Shanghai Key Laboratory of Orthopaedic Implant, Shanghai 200011, China)

**Abstract:** Bioreactors could be used to simulate the growth conditions of cells and tissues in vivo which have benefits for the proliferation and differentiation of seeding cells and the tissue construction in vitro. Some papers in this issue were introduced and the application of bioreactors in tissue engineering were summarized. It was suggested to use the multidisciplinary approach including the biomechanical methods to develop the bioreactors and to investigate the key parameters of the cells growth and tissue construction for the functional tissue engineering.

**Key words:** Tissue engineering; Bioreactor; Biomechanics

组织工程概念从上个世纪80年代提出后至今已发展成一门新兴的学科。由于其主要方法是将具有特定生物学活性的组织细胞与生物材料相结合,在体外或体内构建组织和器官,以维持、修复、再生或改善损伤组织和器官的功能,因此组织工程是一门生物科学和工程科学密切交叉的前沿学科。近年来生物反应器技术在组织工程研究中的应用,就很好地反映了组织工程学科的这一特性。

生物反应器是指能提供可重复及可调控的特定细胞和组织培养环境(如温度、pH值、力、营养供应及废物运输等)的装置,其在组织工程研究中的应

用非常广泛,从最初的种子细胞增殖、分化,到关键的组织体外构建,都可以利用生物反应器来模拟细胞和组织在体内的生长环境,提高工程化组织构建的效率。目前应用于组织工程的生物反应器类型包括:旋转式生物反应器(Rotating wall bioreactor)、搅拌式生物反应器(Stirred/spinner flask bioreactor)、灌注式生物反应器(Perfusion bioreactor)、气升式生物反应器(Airlift bioreactor)、膜式生物反应器(Membrane bioreactors)和脉冲式生物反应器(Pulsatile flow bioreactor)等。

在组织工程研究中,三维支架生物材料的细胞

收稿日期:2009-02-09

作者简介:汤亭亭(1966-),研究员、博士生导师、上海市骨科内植物重点实验室主任、上海交通大学医学院附属第九人民医院骨科副主任。兼任国际华人骨研学会理事会理事、全国生物力学专业委员会委员、中华医学会骨科学分会骨质疏松学组和基础学组委员等职,为本刊编委。Tel:(021)63137020;E-mail:tingtingtang@hotmail.com

接种以及细胞-三维支架材料复合物的体外培养是其中的关键技术。细胞接种的传统方法为静态接种,往往存在接种效率低、细胞在三维支架材料中分布不均的缺点。三维支架材料中细胞的氧供应和可溶性营养物质的供应是决定其体外培养能否成功的关键问题。在对细胞-三维支架复合物进行传统的静态培养时,载体内的营养及氧交换是通过溶质的梯度差,即扩散作用而实现,细胞增殖分化所必需的营养供应范围有限,例如聚羟基乙酸(PGA)支架上软骨细胞仅在距表面 400  $\mu\text{m}$  范围内形成氨基葡聚糖,接种到多聚乳酸-羟基乙酸(PLGA)支架上的骨髓间充质干细胞(hMSCs)形成的矿化基质仅达到距表面 240  $\mu\text{m}$  处,这就意味着细胞-三维支架复合物的体积不能过大,否则位于支架中心的细胞将因营养匮乏而不能存活,而组织工程化组织的体积至少要数个毫米直径才能满足组织缺损修复的需要。因此如何提高细胞在三维支架上的接种效率以及解决细胞-支架复合物体外培养的氧和营养物质的供应,是目前组织工程应用中面临的一大挑战。这时应用生物反应器就可以有效地提高细胞接种的效率,使细胞在三维支架材料中均匀分布,并通过营养物质及代谢产物的有效运输确保种子细胞在三维支架内存活增殖。本期杂志即有 2 篇论文介绍了这方面的研究结果,如香港中文大学报告的旋转式生物反应器快速扩增骨髓间充质干细胞和华东理工大学研究的采用生物反应器体外构建大面积组织的接种技术等。

力学调控在工程化组织的构建中也发挥重要作用。利用生物反应器对细胞施加不同类型的力学刺激,或将力学因素与生化因素相结合,可调控细胞的增殖与分化,形成具有生理功能的工程化组织器官。如在软骨组织工程中,生理水平的应力可以增加蛋白聚糖及 II 型胶原的合成并可以提高工程化软骨的力学性能;骨组织工程中,应力刺激对于工程化骨组织达到适当弹性模量及良好的显微结构是必不可少的;血管组织工程中,脉冲应力刺激可以增加平滑肌细胞中弹力蛋白的表达;心肌组织工程中,循环作用的弹性应力刺激可以促进三维支架材料上心肌细胞增殖及基质排列。但在工程化组织的力学调控方面,还存在大量有待探索的问题,如大量实验研究已

经证实,力学刺激确实可以改善工程化组织的结构及功能,但是很少有研究说明构建特定工程化组织所需的具体参数,如作用力的、大小、频率、持续时间、间断时间以及工作周期等。另外有研究表明生物反应器中液体流动产生的流体剪切应力刺激对于骨系细胞的影响远远大于静水压力刺激或者基质变形引起的牵张拉伸应力刺激,但对不同组织所需的最佳应力刺激形式还有待进一步探讨。这些问题的解决,又涉及到工程科学和生物科学的诸多方面,如计算流体动力学(computational fluid dynamics, CFD)的应用。从本期的研究来看,利用 CFD 可以分析生物反应器内的流场分布、计算三维支架材料内部及表面的流体剪切应力、绘制氧分布图等。CFD 可以提供包括流体流动速度、压力、溶质或粒子浓度、温度、应力及通过流域的热量流或物质流的详尽数据。这些都是生物反应器设计时需要考虑的重要参数。另外,CFD 还可以对生物反应器中的各种参数以及三维支架材料的孔径、孔隙率等参数进行研究,寻找有利于组织生长的最佳参数。

在我国,生物反应器主要应用于骨软骨组织工程、心肌组织工程、肌腱组织工程、血管组织工程、肝脏组织工程及皮肤组织工程等领域。本期的几篇论文,主要介绍了骨、血管、心肌等不同组织的生物反应器的研制和应用,如灌注式生物反应器和大段组织工程化骨的构建(上海交通大学医学院附属第九人民医院骨科)、基于虚拟仪器技术的血管生物反应器系统的研制(军事医学科学院卫生装备研究所)、采用灌注生物反应器构建的心肌组织中氧分布的数值模拟(华东理工大学生物反应器工程国家重点实验室)等。这些论文在一定程度上也反映了我国目前生物反应器在组织工程领域应用的现状。

综上所述,生物反应器是实现功能化组织工程的最重要工具,而其研制和应用是涉及到多学科交叉的前沿研究领域,因此需要各相关领域科学家的共同参与和努力。国内从事生物力学和力学生物学研究的专家,本身具备多学科的知识背景,在细胞力学等领域也有诸多达到国际先进水平的研究成果,因此更有可能在这一领域有所作为,推动我国生物反应器和组织工程研究水平的进一步提高。