

名词解释

组织工程三要素：种子细胞、生长因子、支架材料

种子细胞 1：是**组织工程研究的前提和基础**，如何短期内获得大量具有旺盛且功能良好的种子细胞是进行组织工程研究和构建工程化组织的关键，构建的组织或器官的结构功能得以实现**取决于种子细胞的增殖及细胞外基质的分化**；

种子细胞 2：应用**组织工程**的方法**再造组织和器官**所用的各类细胞统称为种子细胞

生长因子：组织再生有时需添加一些特殊的因子如生长因子。生长因子可促进细胞生长和增殖，维持细胞的存活状态，并可诱导其分化，维持稳定表型等，是组织工程研究重要因素。是通过细胞间信号传递影响细胞活动的一类多肽或糖蛋白。

支架材料 1：为细胞粘附提供物理支持，为细胞增殖和代谢提供空间；提供宏观和微观的结构，引导细胞构建特定功能的组织或器官；提供力学和化学信号，促进细胞生长、增殖、调控细胞表型分化；

支架材料 2：是指能与活体细胞结合并能植入生物体，并根据具体替代组织具备特定功能的材料。为了使种子细胞增殖和分化，需要提供一个由生物材料所构成的细胞支架，支架材料相当于人工细胞外基质。

干细胞：是指具有**无限或较长期的自我更新能力**，并能产生至少一种高度分化子代细胞的细胞。

胚胎干细胞：是指由**胚胎内细胞团**(inner cell mass, ICM)或**原始生殖细胞**(primordial germ cell, PGC)经体外抑制培养而筛选出的细胞，具有**发育全能性**。

iPS 细胞：即**诱导多能性干细胞**。使用**反转录病毒**将 Oct3/4、Sox2、c-Myc 和 Klf4 四种因子转入**皮肤成纤维细胞**。产生基因和蛋白表达、表观遗传修饰状态、

细胞倍增能力、分化能力与**胚胎干细胞极为相似**的细胞。使用自体成体细胞而避免了伦理问题、免疫排斥。

肌腱： 是位于肌腹两端，连接**肌肉和骨骼**的索状或膜状**致密结缔组织**，它通过连接肌肉与骨骼，把肌肉的收缩力传至骨骼从而使关节运动或保持身体的姿势。呈乳白色且较硬，没有收缩能力，但可抵抗强大的张力。对于**关节运动有重要作用**。含有大量**平行排列**的胶原组织。自身**血管化低**，神经分布少，**细胞含量低**。

韧带： 是使**各骨块相互连结**的致密结缔组织，可呈索状、板状或膜状。通常分布在关节的周围，有连接两骨及限制关节运动的作用，可增强关节的稳定性。主要成分为胶原纤维和弹力纤维。

3D 打印： 是快速成型技术的一种，它是一种以数字模型文件为基础，运用粉末状金属或塑料等可粘合材料，通过逐层打印的方式来构造物体的技术。

缺血性心脏病： 又称冠状动脉疾病(CAD)或简称冠心病、冠状动脉心脏病等，是最常见的心脏血管疾病，包含心绞痛、心肌梗死、缺血性心肌病和猝死。

肉芽组织： 由新生薄壁的毛细血管以及增生的成纤维细胞构成，并伴有炎性细胞浸润，肉眼表现为鲜红色，颗粒状，柔软湿润，**形似鲜嫩的肉芽**故而得名。是**增生旺盛的幼稚结缔组织**。进行真皮或皮下组织损伤后的修复。

组织工程： 组织工程(tissue engineering)，是一门以**细胞生物学**和**材料科学**相结合，进行体外或体内构建组织或器官的新兴学科。**特点是多学科交叉**。此术语最早由美籍华人学者**冯元桢** (Y.C. Feng) 教授提出。

组织细胞：（大概率不考）分为**自体细胞**、**异种/异体细胞**。自体细胞来源有限，在体外难以大量扩增，并且存在去分化现象等。异体/异种细胞来源广泛，但容易引起病原体体内传播、免疫排斥等。

大题

一、 组织工程支架需要适应体内生理环境，并引导和参与组织修复的过程，因此对支架材料有着严格的要求，其具体包括那些要求？

1. 支架材料本身要有良好的可加工性、无毒无感染性
2. 支架材料表面的结构和化学性能应有利于细胞的粘附和生长
3. 支架材料本身以及降解产物都应该有良好的生物相容性，包括血液相容性、细胞和组织相容性
4. 支架应该具有合适的机械性能，能够为新生组织提供良好的力学环境
5. 支架要有理想的空隙和渗透性，以利于细胞和营养物质的进入

二、 作为组织工程的种子细胞应该满足什么要求？

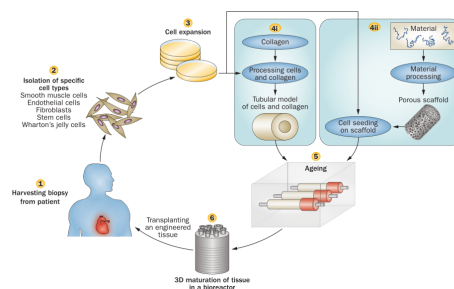
1. **体外增殖能力强**，能进行大规模扩增，是对量的要求。
2. **活力和功能良好**，具备构建组织的特定生物学功能，是对质的要求。
3. **遗传背景稳定**，具备特定生物学功能。
4. **细胞纯度高**，具备特定生物学功能的细胞主导。
5. **不发生免疫排斥反应**，能够植入体内。
6. **生物安全性好**，不存在致病，致瘤、致畸等危险

三、 在血管新生过程中，血管生成、血管形成以及动脉生成这三个方面均起着重要作用，请简述三者的形成过程。

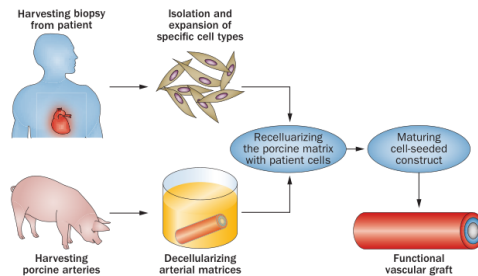
- **血管生成 (Angiogenesis)**: 在已有的血管基础上，血管内皮细胞以出芽的方式扩增、迁移并相互连结形成血管内膜腔，进而塑形成为新的血管。血管生成形成人体的中、小血管以及毛细血管。其主要涉及了以下几个方面：血管细胞分泌蛋白水解酶降解血管基底膜；内皮细胞穿过基底膜迁移到血管周围基质；内皮增殖、互相黏附并连接；形管腔样结构；基质重塑和平滑肌细胞的包绕及血管的相互吻合形成血管网。

- **血管形成 (Vasculogenesis):** 由内皮祖细胞或其他干细胞分化为成熟的内皮细胞。这些细胞在无血管的区域增殖并且创造了第一个初始的血管网络。
- **动脉生成 (Arteriogenesis):** 已存在的血管从侧支小血管扩大形成较大的血管的过程，不仅内皮细胞，平滑肌细胞也同时扩增。与血管生成不同，动脉生成主要由炎性介质和单核细胞参与。首先，血液动力学增加对小动脉血管壁的剪切力并激活内皮细胞，内皮细胞上调 NO 生成，同时释放单核细胞趋化蛋白，巨噬细胞集落刺激因子和 TGF- β ，在这些因子的刺激下，循环中的单核细胞黏附、侵入血管壁后，转化为巨噬细胞，并产生连接蛋白、蛋白多糖及蛋白酶以重塑细胞外基质，平滑肌细胞扩增、黏附，最终，血管成熟为肌性动脉。

四、 请结合课堂所学知识阐述至少两种以脂肪干细胞作为种子细胞构建组织工程血管的方法。



从**患者体内获取细胞**，根据细胞表型分离细胞并在体外进行细胞扩增。随后将细胞种植于**胶原蛋白**或者**人造多孔支架材料**中。最后在生物反应器中培养成熟后，即成为具备完整功能的组织工程血管，并可用于体内移植。



从**患者体内获取细胞**，根据细胞表型分离细胞并在体外进行细胞扩增。同时从同种异体或异种的动物体内获取一段血管，**脱掉细胞**，留下**细胞外基质**。然后将扩增后的细胞种植到脱细胞基质上，最后将构建的血管放入生物反应器中培养成熟，使其成为有一定生物功能的人工血管。

五、为什么说干细胞是组织器官损伤修复研究中理想的种子细胞来源。

- 干细胞具有**多能性**，可以分化为多种细胞，具有多种应用价值；
- 存在于许多组织中，**容易获得**；
- 有自我更新能力，可在体外**大量扩增**；
- 条件正确可能发育为较完整器官；
- 可以避免通过克隆人产生器官；

六、微血管网络的作用与毛细血管有效作用范围？

- 功能性血管网在**新陈代谢**的调节与发展，伤口的愈合与再生以及免疫反应等各种生物过程中起着至关重要的作用，例如：促进氧转移、输送营养、处理代谢废物、通过血液循环快速将免疫细胞运输到周围组织等。
- **毛细血管**通过**扩散**传递氧气和营养物质，其有效作用范围 **200 μ m** 内。

七、为什么微血管网络在组织工程至关重要？

- **临床需求**。在人体组织工程中，微血管化的形成可以促进移植后组织重塑和生长。
- **避免支架材料的坏死**。微血管化形成可以建立与宿主血管网络的连接与融合，从而促进移植植物中的氧气和营养输送。
- **允许各种细胞类型的循环和浸润**。微血管化的形成可以促进各种细胞的循环和浸润，在初始炎症反应和自体移植植物重建中发挥有益作用。

八、组织工程血管特点？（大概率不考）

- 良好的生物组织相容性；
- 适宜的三维立体解剖结构、长度、容积；
- 可控的生物降解性和降解率，降解产物对机体无毒副作用、不引起强烈的免疫排斥反应和炎症反应；良好的多孔结构，易于种子细胞种植、迁移，细胞彼此之间相互接触，易于生物信号分子的传递；
- 具备一定的生物表面活性，能促进种子细胞黏附，并为种子细胞增殖、分化、分泌细胞因子和合成细胞外基质提供良好的生物微环境；
- 一定的可塑性和良好的生物机械力学强度，在机体生物力学条件下能够保护细胞，不抑制生物信息的传递；

- 方便消毒、保存、运输；
- 支架在重塑过程中具备一定的耐久性。
- **良好的抗血栓性能、抑制内膜增生、能够保持长期通畅。**

九、骨的结构包括？

- **骨膜**：覆盖在骨的表面，由致密的纤维结缔组织构成，含有丰富的神经和血管，对骨的营养、生长发育、创伤修复和感觉有重要作用。
- **骨质**：在骨膜之下，是由骨密质和骨松质两种成分组成；骨质是骨的主要部分，主要作用是抗压、承受重量。
- **骨髓**：填充在骨髓腔和骨松质的空隙内，由造血功能的红骨髓和无造血功能的黄骨髓组成。

请结合课堂所学知识简要论述组织工程骨的构建方法？

十、软骨的结构包括？

- **软骨组织**：由软骨细胞和软骨基质（基质和纤维）构成，软骨组织含有胶原组织、少许细胞、以及 60-80%的水份等成份。软骨组织的主要作用是避免骨骼之间的摩擦及冲击。
- **软骨膜**：软骨表面被覆的薄层致密结缔组织，含有大量的胶原纤维和骨祖细胞，具有保护、参与软骨生长和提供营养的作用。

十一、皮肤的结构包括？

- **表皮**：皮肤的最外层。坚韧、对有毒物质或有害微生物不可渗透、防止水分丧失。按照细胞形态又可分为 5 层：角质层、透明层、颗粒层、棘层、基底层。最主要的成分是角化细胞，它们由细胞桥粒形成互相结合的重叠结构，使得细胞与细胞互相粘连
- **真皮**：厚 0.3 ~ 3mm，比表皮厚约 7 倍。含大量水分，占全身水分的 18% ~ 40%，可分为乳头层和网织层。主要细胞是成纤维细胞，产生和维持大部分细胞外基质。
- **皮下组织**：含大量血管、淋巴系统、神经束。

十二、请结合课堂所学知识阐述血管化的方法？

- A. 从**细胞角度**构建血管化网络：利用血管内皮细胞、内皮祖细胞等生成新生血管的能力或者干细胞分化为内皮细胞的分化能力，将它们负载在支架上实现血管化

1. 体外构建预血管化的工程组织

- a. 在体外通常把种子细胞等单独或混合接种于支架，以构建三维血管化的结构。随后将构建的血管网络植入缺血区。建立一个由周围血管提供血液的组织。

2. 体内构建预血管化的工程组织

- a. 指将构建的工程组织先植入宿主体内血管丰富的部位，使得周围血管长入组织，然后再将组织移植到靶位置。建立一个由周围血管提供血液的组织，这一过程称为吻合

- B. 从**支架材料角度**构建血管化网络：基于材料的管状结构及其性质来引导血管新生

十三、请结合课堂所学知识简要论述组织工程神经的构建方法？

用支架直接做 用支架+细胞 培养 etc.

十四、人工血管口径分类：

1. **大口径人工血管**：口径 > 6mm。以尼龙、涤纶（Dacron）、聚四氟乙稀（PTFE）等合成材料制成的大口径人工制造，**临床**已取得满意的效果。
2. **小口径人工血管**：口径小于 6mm。**尚无**理想的产品。