

空间生物技术在干细胞和组织工程学研究中的应用

蔡哲 张岚 舒峻 李桂琴 综述 左萍萍 审校

[关键词] 空间生物技术;太空微重力;干细胞;组织工程;综述

中图分类号:R318.5 文献标识码:A 文章编号:1006-9771(2004)01-0009-02

[本文标引格式] 蔡哲,张岚,舒峻,等.空间生物技术在干细胞和组织工程学研究中的应用[J].中国康复理论与实践,2004,10(1):9-10.

随着空间技术的发展,国内外近年来有关研究表明,太空微重力、射线和重金属离子辐射对哺乳动物细胞生物学和发育生物学具有一定影响,提示太空环境的特性及特殊优势可以为干细胞生物学和组织工程学研究提供新的实验模型。

1 空间生物技术在干细胞生物学研究中的应用

1.1 太空环境对胚胎发育和造血干细胞生物学特性的影响

目前研究表明,太空环境是以很强的宇宙线高能核粒子辐射、强烈的紫外照射、高真空和微重力为特征,对生物的生长发育及生存产生很强影响,因此从细菌到哺乳动物细胞对太空环境都非常敏感。空间生殖与发育生物学研究证实,飞行微重力条件可延长鹌鹑胚胎孵化时间,但不影响正常发育;可影响果蝇和无尾两栖类胚发育。此外,重力因素和宇宙线辐射也影响哺乳动物的生殖发育,微重力环境中早期胚胎死亡率增加。在模拟微重力条件下,造血干细胞的 G0/G1 期比普通重力条件下要长,能较长时间维持在不分化状态,因而造血潜能要比普通重力下强^[1]。太空环境使大鼠骨髓中单核-巨噬细胞和红细胞的祖细胞,以及部分多能造血干细胞数量明显减少,其原因是太空飞行过程中引起造血微环境基质损伤所致^[2]。也有研究表明,空间微重力环境对培养哺乳动物细胞的细胞增殖分化具有抑制作用,有可能是太空特殊环境使某些基因表达而另一些基因不表达,太空飞行发现失重大鼠股骨干骺端的 I 型前胶原(al)链及骨钙素基因表达下降^[3]。Woods 利用胚胎胸腺器官培养方法,发现太空飞行 16 天后大鼠和小鼠异种复合培养 CD4⁺、CD8⁺ 与 CD4⁺CD8⁺ T 淋巴细胞前体细胞明显减少一样,模拟微重力实验亦证实小鼠 CD4⁺CD8⁺ T 淋巴细胞前体细胞显著减少,原因是在 T 淋巴细胞发育过程中的 pre-T 细胞和 CD4⁺CD8⁺ 阶段被阻断^[4],提示重力因素在 T 淋巴细胞发育中起决定性作用。

1.2 利用太空环境建立空间干细胞生物学研究体系 干细胞生物学是 21 世纪瞩目的研究领域之一,是组织工程学研究的上游学科。干细胞的重要功能是控制和维持细胞的再生,具有自我更新复制能力和多分化潜能,它可分化为多种组织细胞。胚胎干细胞系的建立和成体干细胞分离纯化方法的日臻成熟,为干细胞研究的发展提供了无限的可能性。尽管自 20 世纪末

开始的干细胞生物学研究已取得了很大进展,但还有许多基本问题有待解决,其中调节干细胞分化的机制,如何实现干细胞定向诱导分化是限制干细胞临床应用的主要问题之一。目前空间生物技术研究现状已初步表明了空间环境对胚胎发育和造血干细胞的影响,提示干细胞生物学研究有必要与空间生物技术交叉结合,有效利用太空环境的特殊性及其空间辐射生物学效应,建立新的干细胞研究实验模型,用于探讨干细胞发育分化的调节规律和机制,从干细胞分子生物学水平揭示太空环境中哺乳动物的发育规律。已有文献表明,空间微重力环境有助于营造干细胞定向诱导三维空间环境,使干细胞可以均匀分布于细胞外基质材料上,有助于干细胞向肌细胞、骨骼肌细胞、神经细胞等组织细胞分化^[5-6]。迄今为止,有关空间生殖发育生物学研究对鸟类胚胎和鸡前庭系统、孕鼠后代地面发育和人类内分泌功能影响,以及模拟微重力对造血干细胞影响方面,已积累了丰富的经验,为开展空间干细胞生物学研究奠定了基础。

2 空间生物技术在组织工程学研究中的应用

组织工程学是生物医学工程领域新兴的快速交叉发展的交叉学科,主要通过生物学和工程学的原理和方法构建具有生物活性的组织(器官),用以修复、改善病理组织(器官)的功能,是未来医学的新模式。目前国内外在组织工程骨、软骨、皮肤、肌腱等研究领域均获得了满意结果,但当前的研究还仅限于简单组织的构建,而且现有实验体系限制了对一些复杂组织工程器官如肝脏、肺脏、心脏等的构建,为此,探讨建立新的实验体系,成为该领域解决复杂组织工程组织(器官)的技术难点之一。无疑空间生物技术的发展将为组织工程研究和发展增添新的研究途径。

2.1 微重力与微重力组织工程 重力对细胞和组织器官的发育分化和形成具有重要影响。Schwarz 等利用转壁式生物反应器(rotating wall vessel bioreactor, BWVB)造成模拟微重力环境,发现离体细胞在 BWVB 中培养呈高度密集,形成组织样结构^[7],微重力环境有助于三维组织培养空间的构建,三维空间环境可模拟正常组织结构,有助于细胞间的接触和细胞外基质的分泌合成,有利于细胞自分泌因子的分泌、细胞分化^[8-9]和信号途径的调控^[10],为微重力组织工程的建立和研究奠定了基础。

微重力组织工程的核心是建立哺乳动物细胞三维培养体系,包括由高分子可降解聚合物支架、胶原和微载体构成的三维培养系统,与单层培养相比,三维组织培养系统可以含有高密度细胞,对细胞分化和正常功能维持都具有重要影响。在组织工程研究领域,细胞和组织体外三维培养体系的微重力环境

作者单位:1.100029 北京市,中日友好医院临床医学研究所免疫学-组织工程研究室(蔡哲、张岚、舒峻、李桂琴);2.100005 北京市,中国医学科学院基础医学研究所药理系(左萍萍)。作者简介:蔡哲(1960-),女,北京市人,博士,副研究员,主要研究方向:干细胞生物学、组织工程学。

有助于基因和细胞水平的应答。Freed 综述了微重力这种物理现象对细胞生物学特性的影响,研究证实,微重力直接或间接影响细胞形态、代谢和移动,以及细胞外基质和可溶性因子的分泌,同时还影响组织器官构建和功能^[11]。Freed 等的研究也表明,RWVB 模拟微重力培养环境,可以减少培养液对细胞产生的流体剪切力,改善离体细胞培养条件,使细胞在三维立体培养条件下培养,有利于促进哺乳动物细胞的体外增殖和分化,对维持细胞正常功能具有重要作用。

2.2 微重力组织工程对体外组织(器官)构建的影响 三维培养不仅有利于维持正常细胞生物学功能,在组织工程组织构建中也具有重要作用。Wiesmann 等研究证实,三维环境可维持成骨细胞的增殖、迁移活性,其中成熟的成骨细胞具有合成产生骨钙蛋白、骨粘连蛋白和 I 型胶原的能力,指出三维培养方法可以作为组织工程骨研究的工具^[12]。微重力环境可以为组织培养营造三维空间环境, Jessup 等发现,模拟微重力不影响上皮细胞粘附,其基底膜蛋白、CEA 和细胞内粘附分子表达与正常对照一致,有望运用于组织工程组织(器官)的构建^[13]。Cameron 等将胰岛-Sertoli 细胞复合培养于 Rotating Vessel Biochamber 内 5 天后,三维培养的胰岛-Sertoli 细胞在葡萄糖刺激下可以分泌胰岛素,提示三维培养体系有助于细胞功能的维持^[14]。Baldwin 等的研究证实,微重力培养下可以增加 PC12 细胞间的接触和细胞密集度,提高 PC12 多巴胺分泌水平,细胞间的接触可以调节细胞分化状态,对组织工程研究中的组织构建具有重要意义^[15]。Freed 等通过与现有 4 种三维培养系统对比,发现模拟微重力在组织工程组织构建方面具有一定的潜能,模拟微重力有益于软骨组织构件的形成,如细胞可保持球形状态,分泌 II 型胶原和糖胺多糖,提高力学强度,对于心肌构建在拉长细胞的同时,具有自发同步收缩功能^[16]。Conza 等也证实,空间微重力环境体外培养猪软骨细胞形成软骨组织^[17]。

综上所述,空间生物技术的发展促进了组织工程基础研究的快速进展,微重力组织工程技术体系的建立,为组织工程组织(器官)构建、营造三维空间环境,它不仅为组织工程肝脏、肺脏和心脏等复杂器官的研究提供了新的技术方法,并且使上述研究工作的开展成为可能。

3 前景展望

自从人类开展太空探索以来,太空环境特别是微重力和空间生物辐射,成为空间生命科学研究中的重要内容,空间发育生物学研究已发现空间微重力和宇宙射线辐射对生物体产生了重要影响。空间干细胞生物学和空间组织工程学技术体系的建立,将有助于解决干细胞诱导分化和组织工程组织(器官)构建中存在的技术难点,为干细胞研究和复杂组织工程组织(器官)的构建开辟新的途径。可以预见在未来医学中,空间生

命科学与干细胞生物学、组织工程学三领域的交叉发展将具有不可估量的美好前景。

[参考文献]

- [1] Plett PA, Stacy MF, Rafat A, et al. Proliferation of human hematopoietic bone marrow cells in stimulated microgravity[J]. *In Vitro Cell Dev Biol Animal*, 2001, 37:73-78.
- [2] Domaratskaya EI, Michurina TV, Bueverova EI, et al. Studies on clonogenic hemopoietic cells of vertebrate in space: problems and perspectives[J]. *Adv Space Res*, 2002, 30(4):771-776.
- [3] Woods CC, Banks KE, Gruener R, et al. Loss of T cell precursors after spaceflight and exposure to vector-averaged gravity[J]. *FASEB J*, 2003, 17(11):1526-1528.
- [4] Evans GL, Emily MH, Russell TT. Spaceflight has compartment and gene-specific effect on mRNA levels for bone matrix proteins in rat femur[J]. *J Appl Physiol*, 1998, 84(6):2132-2137.
- [5] Gonda SR, Wu H, Pingerelli PL, et al. Three-dimensional transgenic cell model to quantify genotoxic effects of space environment[J]. *Adv Space Res*, 2001, 27(2):421-430.
- [6] Vunjak-Novakovic G, Sear N, De Luis J, et al. Microgravity studies of cells and tissue[J]. *Ann N Acad Sci*, 2002, 974:504-517.
- [7] Schwarz RP, Goodwin TJ, Wolf DA. Cell culture for three-dimensional modeling in rotating-wall vessels: an application of simulated microgravity[J]. *J Tissue Culture Methods*, 1992, 14:51-58.
- [8] Licato LL, Grimm EA. Multiple interleukin-2 signaling pathways differentially regulated by microgravity[J]. *Immunopharmacology*, 1999, 44(3):273-279.
- [9] Freed LE, Pellis N, Searby N, et al. Microgravity cultivation of cells and tissues[J]. *Gravit Space Biol Bull*, 1999, 12(2):57-66.
- [10] Licato LL, Grimm EA. Multiple interleukin-2 signaling pathways differentially regulated by microgravity[J]. *Immunopharmacology*, 1999; 44(3):273-9. (与[8]同)
- [11] Freed LE, Vunjak-Novakovic G. Spaceflight bioreactor studies of cells and tissues[J]. *Adv Space Biol Med*, 2002, 8:177-195.
- [12] Wiesmann HP, Nazer N, Klatt C, et al. Bone tissue engineering by primary osteoblast-like cells in a monolayer system and 3-dimensional collagen gel[J]. *J Oral Maxillofac Surg*, 2003, 61(12):1455-1462.
- [13] Jessup JM, Brown K, Ishii S, et al. Simulated microgravity does not alter epithelial cell adhesion to matrix and other molecules[J]. *Adv Space Res*, 1994, 14(8):71-76.
- [14] Cameron DF, Hushen JJ, Nazian SJ. Formation of insulin-secreting, Sertoli-enriched tissue constructs by microgravity coculture of isolated pig islets and rat Sertoli cells[J]. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*, 2001, 37(8):490-498.
- [15] Baldwin SP, Saltzman WM. Aggregation enhances catecholamine secretion in cultured cells[J]. *Tissue Eng*, 2001, 7(2):179,190.
- [16] Freed LE, Vunjak-Novakovic G. Microgravity tissue engineering[J]. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*, 1997, 33(5):381-385.
- [17] Conza N, Mainil-Varlet P, Rieser F, et al. Tissue engineering in space[J]. *J Gravit Physiol*, 2001, 8(1):17-20.