

# 网膜包裹组织工程移植物构建复层结构的膀胱补片

李欣慧, 俞远东, 喻雄杰, 吴 光

(湖北医药学院附属人民医院肿瘤中心, 十堰 442000)

**【摘要】目的:**利用网膜包裹膀胱细胞基质(bladder acellular matrix, BAM)复合多种细胞的组织工程移植物构建复层结构且血管化丰富的组织工程膀胱补片。**方法:**将体外扩增培养的兔骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)、膀胱平滑肌细胞、膀胱上皮细胞分别以  $1.0 \times 10^6$  个/mL 先后种植于制备的 BAM 上, 培养 10 d 后制作成膀胱上皮细胞-平滑肌细胞-BMSCs-BAM 组织工程膀胱补片; 实验组将组织工程膀胱补片包裹在硅胶导管上植入兔网膜间培养, 对照组单纯将 BAM 补片包裹在硅胶导管上植入兔网膜间培养, 2 组分别于 4 周和 8 周后取材行免疫组化, 采用 CKAE1/AE3 抗体检测上皮层,  $\alpha$ -SMA 抗体检测平滑肌层及 CD31 抗体检测血管生成情况。**结果:**4 周后, 实验组膀胱补片有上皮层和平滑肌层形成, 且内部有明显的新生血管, CKAE1/AE3、 $\alpha$ -SMA 及 CD31 表达阳性; 8 周后, 实验组上皮层及平滑肌层增厚, 血管增多增粗。对照组 BAM 补片仅有微小血管形成, 无上皮层和平滑肌层形成。**结论:**将膀胱上皮细胞、平滑肌细胞和 BMSCs 与 BAM 复合后行体内网膜包裹培养, 可构建复层结构且血管化丰富的组织工程膀胱补片。

**【关键词】**膀胱上皮细胞; 膀胱平滑肌细胞; 骨髓间充质干细胞; 网膜包裹; 膀胱补片

**【中图分类号】**R318.5

**【文献标志码】**A

**【收稿日期】**2019-11-12

## Bladder patch construction with multilayer structure by tissue engineering graft wrapped up in omentum

Li Xinhui, Yu Yuandong, Yu Xiongjie, Wu Guang

(Department of Cancer Center, The Affiliated People's Hospital of Hubei University of Medicine)

**【Abstract】Objective:** To construct a tissue-engineered bladder patch with multilayer structure and abundant vascularization on the basis of bladder acellular matrix (BAM) combined with various cells wrapped up in omentum. **Methods:** Bone marrow mesenchymal stem cells (BMSCs), bladder epithelial cells and bladder smooth muscle cells of rabbits were seeded on the surface of BAM at  $1.0 \times 10^6$  cells/mL, respectively. After 10 days of cultivation, bladder epithelial cells-smooth muscle cells-BMSCs-BAM tissue engineered bladder patch was prepared. In the experimental group, tissue engineered bladder patch were wrapped on silica gel catheter and implanted into rabbit omentum for culture. In the control group, BAM patch was wrapped on silica gel catheter and implanted into rabbit omentum for culture. Samples in two groups were taken for immunohistochemistry after 4 weeks and 8 weeks respectively. The epithelial layer was detected by CKAE1/AE3 antibody, the smooth muscle layer was detected by  $\alpha$ -SMA antibody and the angiogenesis was detected by CD31 antibody. **Results:** After 4 weeks, epithelial layer and smooth muscle layer were formed in the experimental group, and obvious neovascularization were found in the bladder patch and CKAE1/AE3,  $\alpha$ -SMA and CD31 were expressed positively. After 8 weeks, the epithelial layer and smooth muscle layer in the experimental group became thicker, and the blood vessels became denser and thicker. However, the BAM patch in the control group had only minute angiogenesis, without epithelial layer and smooth muscle layer. **Conclusion:** Tissue engineered bladder patch with multilayer structure and abundant vascularization can be constructed by BAM combined with bladder epithelial cells, smooth muscle cells and BMSCs and wrapped up in omentum.

**【Key words】** bladder epithelial cells; bladder smooth muscle cells; bone marrow mesenchymal stem cells; omentum wrapped; bladder patch

作者介绍: 李欣慧, Email: lixh5828@126.com,

研究方向: 泌尿系统肿瘤及组织工程研究。

通信作者: 俞远东, Email: yyd888106@126.com。

优先出版: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20200611.1703.005.html>

(2020-06-11)

由先天性异常(畸形)或后天性损害(创伤、肿瘤、炎症等)造成的膀胱缺损已成为泌尿外科常见的疾病。以往利用自身某些组织作为替代材料修复膀胱,因存在取材过程复杂、材料来源局限、并发症多等问题,限制了其广泛应用<sup>[1]</sup>。近年来,研究者尝试利用组织工程膀胱补片来修复缺损的膀胱,但由于组织工程膀胱补片上皮层和肌层缺失或不完整,以及补片的血管化不足等问题,尚未构建出理想的组织工程膀胱补片<sup>[2]</sup>。

膀胱脱细胞基质(bladder acellular matrix, BAM)接近正常膀胱的网架结构,保留了原始膀胱的生物力学性能,材料本身保留的某些成分(如生长因子和黏附肽)有利于细胞的黏附生长分化,可促进组织再生和重塑<sup>[3]</sup>。骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)具有多向分化能力。网膜具有丰富的血管形成能力,其内含有能促进组织血管生成的血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)和碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF),能使包裹其内的胶原组织快速血管化<sup>[4]</sup>。研究证明, BMSCs 可在 VEGF 和 bFGF 诱导下向血管内皮细胞分化<sup>[5]</sup>。BMSCs 和尿路上皮细胞联合培养或用尿路上皮培养过程中产生的条件培养基培养,可诱导分化为上皮样细胞;与平滑肌细胞联合培养或用平滑肌细胞衍生的条件培养基培养,可向平滑肌细胞分化<sup>[6]</sup>。卢慕峻等<sup>[7]</sup>研究证实,膀胱平滑肌细胞和尿路上皮细胞可接种在 BAM 上形成连续的复层尿路上皮层和膀胱平滑肌层。本实验将制备的膀胱上皮细胞-平滑肌细胞-BMSCs-BAM 膀胱补片行兔网膜包裹体内动态培养,成功制备了膀胱上皮层和平滑肌层结构完整且血管化丰富的组织工程膀胱补片,为临床膀胱大面积缺损的修复提供了科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

1.1.1 实验动物 15 只 SPF 级健康新西兰白兔,体质量 3.0 kg, 雄性(湖北医药学院动物实验中心提供),许可证号:SCXK(鄂)2016-0008,用于 BAM 的制备, BMSCs、膀胱上皮细胞和平滑肌细胞的原代培养及网膜包裹动物实验。

1.1.2 主要试剂及仪器 Percoll 分离液、磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)(Pharmacia, 美国);KSFM 培养基、DMEM/F12 培养基、青霉素-链霉素双抗(Invitrogen, 美国);脱氧胆酸钠(Amresco, 美国);乙二醇四乙酸、叠氮钠(上海化学试剂公司, 中国);VEGF、表皮生长因子和胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)(Hyclone, 美国);CK AE1/AE3 抗体、 $\alpha$ -SMA 抗体、CD31 抗体(Santa Cruz, 美国);RIPA 裂解液(Beyotime, 中国);II 型胶原酶、胰蛋白酶(Sigma, 美国);正置显微镜和倒置荧光显微镜(Olympus, 日本);手术器件(上海医疗器械有限公司, 中国)等。

### 1.2 实验方法

1.2.1 兔 BAM 的制备 取 3 只健康新西兰白兔,3%戊巴比妥麻醉,无菌条件下取出膀胱, PBS 清洗后置于 0.1%叠氮钠溶液中浸泡过夜,刮去膀胱上皮层和黏膜层。经 PBS 洗涤后置于 0.5 mmol/L 乙二醇四乙酸和 0.4%胰蛋白酶的混合液中震动浸泡 5~10 h。再用自制保护液(0.2%戊二醛保护液+1%甲醛)浸泡 10 min。PBS 漂洗后,用 1 mol/L NaCl(含 40 U/mL DNA 酶)溶液 37 °C 震动搅拌 6~8 h。最后用 0.1%叠氮钠溶液和 4%脱氧胆酸钠混合液浸泡搅拌 5~6 h,必要时需重复 1 次。将制备的 BAM 从不同部位测量其厚度并与切取的正常膀胱厚度比较,用拉力器测定 1~5 cm<sup>2</sup> BAM 组织的抗拉能力;取少量行苏木素-伊红(hematoxylin eosin, HE)染色及电镜扫描观察,其余置于 75%乙醇中消毒 30 min,行冷冻干燥,环氧乙烷消毒后密封保存用于后续实验。

1.2.2 兔 BMSCs 的体外分离培养 取健康新西兰兔 1 只,采用髂前穿刺法抽取骨髓液于 15 mL 离心管中,其内加入 PBS 液及 Percoll 分离液混匀,离心后可见中层磨玻璃状单个核细胞层,提取后加入细胞培养瓶中,然后加入含 VEGF 的 DMEM/F12 培养基置于细胞培养箱内培养,每 2~3 d 更换培养基,倒置显微镜下观察细胞形态,细胞生长约 90%融合时行传代培养。本研究团队前期成功对兔 BMSCs 进行原代培养及鉴定<sup>[8]</sup>,当第 4 代 BMSCs 生长约 90%融合时,行后续实验。

1.2.3 兔膀胱上皮细胞和平滑肌细胞分离培养 取健康新西兰兔 1 只,3.0%戊巴比妥钠麻醉后,无菌条件下取出膀胱,用钝性玻片及镊子去除外层浆膜面及脂肪等混杂组织,然后用无菌镊子完整分离上皮层及平滑肌层,分别选取大小约 1 cm × 2 cm 的上皮层和平滑肌层,将其剪成大小约 1 mm<sup>3</sup> 的组织块,然后分别移入 15 mL 离心管内,各加入 0.1% II 型胶原酶 37 °C 振荡消化 4 h,再加入 0.2%的胰蛋白酶 37 °C 下消化 30 min,100 目过滤网过滤除去未被消化的组织块,将滤过液以 1 000 r/min 离心 5 min,弃上清,将上皮细胞的离心管中加入含有表皮生长因子的 KSFM 培养基,将平滑肌细胞的离心管中加入含 10% FBS 的 DMEM/F12 培养基,分

别调节细胞密度为  $1.0 \times 10^5$  个细胞/mL, 接种于一次性塑料培养瓶中, 置于  $37^\circ\text{C}$ 、 $5\%\text{CO}_2$  的细胞培养箱中培养, 每 2~3 d 更换一次培养基, 当细胞生长约 90% 融合时行传代培养。

1.2.4 兔膀胱上皮细胞和平滑肌细胞的鉴定 待第 4 代膀胱上皮细胞和平滑肌生长融合至 80%~90% 时, 分别制作细胞爬片, 将膀胱上皮细胞爬片置于 CK AE1/AE3 一抗中孵育, 将膀胱平滑肌细胞爬片置于  $\alpha$ -SMA 一抗中孵育, PBS 漂洗去除未结合的抗体, 分别加入含荧光标记的二抗反应后, 置于荧光倒置显微镜下观察。

1.2.5 BAM 与种子细胞的复合培养 将培养的第 4 代 BMSCs 消化离心后制成密度为  $1 \times 10^6$  个细胞/mL 的单细胞悬液, 均匀接种于培养皿内的 BAM 上, 静置孵育 2 h, 待细胞与 BAM 贴壁黏附后, 添加含 VEGF 的 DMEM/F12 完全培养基培养。2 d 后用同样的方法将膀胱平滑肌细胞接种于 BAM 上; 4 d 后再将膀胱上皮细胞种植于 BAM 上, 加 KSFM 培养基培养; 10 d 后制成膀胱上皮细胞-平滑肌细胞-BMSCs-BAM 膀胱补片。

1.2.6 组织工程膀胱补片的网膜包裹实验 待细胞长满 BAM 约 90% 时, 膀胱上皮层细胞面朝内, 将此补片卷裹缝合在无菌硅胶导管上。将实验动物随机分为 2 组, 每组 5 只, 实验组将膀胱上皮细胞-平滑肌细胞-BMSCs-BAM 膀胱补片卷裹在硅胶导管上, 对照组单纯将 BAM 补片卷裹在硅胶导管上, 在兔腹侧中线处作切口, 分别将移植物包埋到兔同一部位两层网膜之间, 然后通过 4/0 聚丙烯缝合线间断缝合 3 针, 将移植物固定在网膜上。为了防止免疫排斥, 每只动物在移植后注射免疫抑制剂环孢菌素 A, 给药剂量为每天 5 mg/kg。所有手术均在无菌条件下进行, 条件符合《国家实验动物管理条例》中关于中国国务院批准的动物实验条例。

1.2.7 组织工程膀胱补片的免疫组化检测 分别于术后 4 周和 8 周取材行免疫组化检测, 采用 CK AE1/AE3 抗体检测上皮层,  $\alpha$ -SMA 抗体检测平滑肌层, CD31 抗体检测血管生成情况。

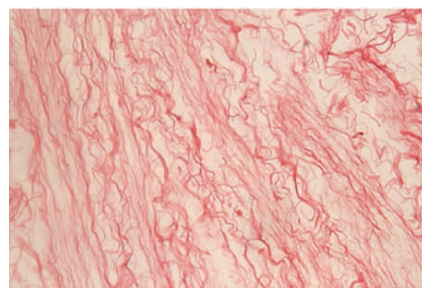
## 2 结果

### 2.1 BAM 的厚度及抗拉伸能力测定

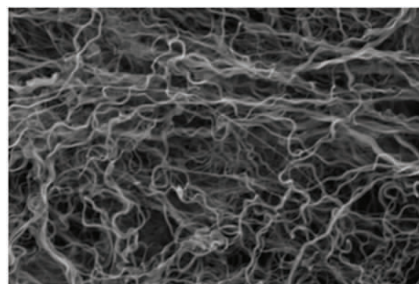
BAM 厚度为 3~5 mm, 与正常膀胱组织的厚度基本相同;  $1\sim 5\text{ cm}^2$  BAM 组织的抗拉伸能力分别为 0.63、0.54、0.47、0.35、0.26 kg。

### 2.2 HE 染色及电镜扫描结果

BAM 呈白色, HE 染色呈红色细丝状, 其内无细胞残留。电镜扫描可见 BAM 由许多白色胶原纤维组成, 交错排列成网状, 表面无细胞残片残留 (图 1)。



A. HE 染色 (400 ×)

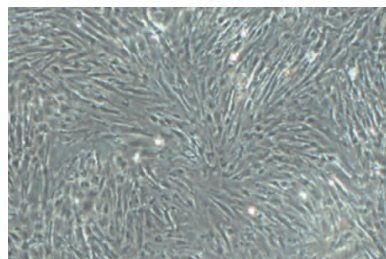


B. 电镜扫描 (400 ×)

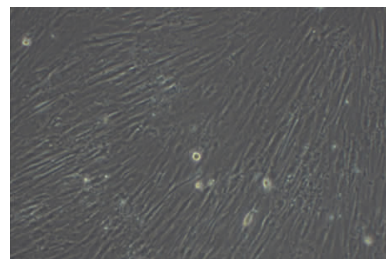
图 1 BAM 的 HE 染色及电镜扫描结果

### 2.3 BMSCs 的形态学观察

倒置显微镜可见 BMSCs 呈短小梭形或麦粒形, 细胞核清晰, 圆形居中; 第 4 代时细胞逐渐长为长条形, 呈旋涡样、鱼群样生长 (图 2)。



A. 旋涡样生长 (40 ×)



B. 鱼群样生长 (200 ×)

图 2 倒置显微镜下第 4 代 BMSCs 形态

### 2.4 兔膀胱上皮细胞与平滑肌细胞的形态观察与鉴定

第 4 代膀胱上皮细胞呈不规则多边形样 (图 3A), 免疫荧光鉴定显示 CK AE1/AE3 阳性 (图 3B)。第 4 代膀胱平滑肌细胞形态表现为典型的“长梭样”形态 (图 3C), 免疫荧光鉴定显示  $\alpha$ -SMA 阳性 (图 3D)。

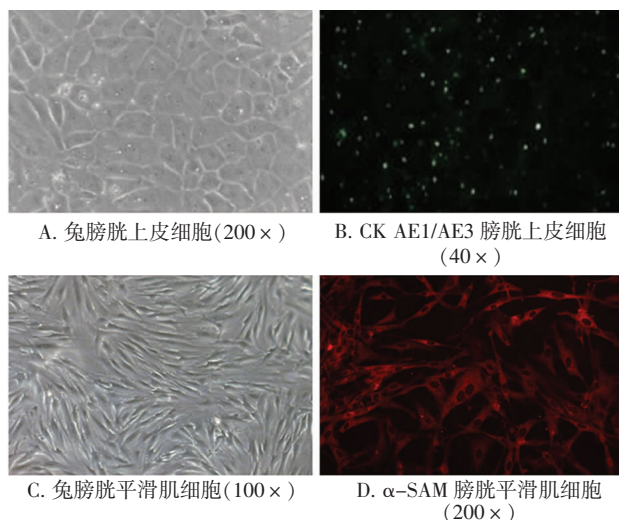
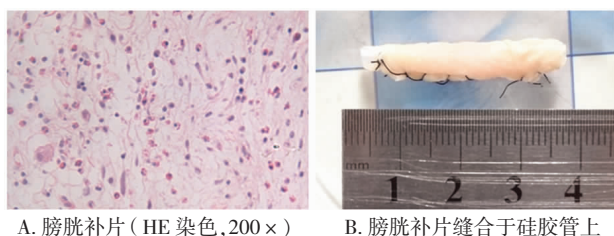


图3 第4代膀胱上皮细胞和膀胱平滑肌细胞的形态及免疫荧光

### 2.5 BAM 与种子细胞的复合生长情况

种子细胞与 BAM 复合培养 10 d 后行 HE 染色,可见细胞均匀生长于 BAM 表面及内部,染色后细胞核呈蓝色(图 4A)。无菌操作下将膀胱上皮细胞-平滑肌细胞-BMSCs-BAM 膀胱补片缝合在硅胶导管上(图 4B)。

图4 BAM 与种子细胞的复合生长情况  
及膀胱补片缝合在硅胶管上

### 2.6 组织工程膀胱补片的免疫组化

网膜包裹培养 4 周后取材行免疫组化检测,实验组可见上皮层形成,CK AE1/AE3 表达阳性(图 5A);平滑肌层形成,α-SMA 表达阳性(图 5B);血管生成,CD-31 表达阳性(图 5C);8 周后实验组上皮层及平滑肌层增多增厚,血管增多增粗(图 5E、F、G)。对照组 4 周和 8 周时仅可见少量 CD-31 阳性小血管,未见上皮层和肌层形成(图 5D、H)。

## 3 讨论

临床上由于肿瘤、畸形、创伤、炎症及手术并发症等导致的膀胱缺损越来越常见。利用肠代膀胱的方法治疗膀胱缺陷存在漏尿、狭窄、感染及肠梗阻等诸多并发症,且给患者带来严重的心理障碍<sup>[9]</sup>。因此,近年来研究者们探索采用组织工程的方法来修复缺损的膀胱。构建组织工程移植物的方法有 2 种:一种为直接植入同种或异种脱细胞基质,利用周围正常组织的再生能力沿着植入的脱细胞基质再生,形成新的组织;另一种为采用支架材料带细胞的方法,即先分离出种子细胞,经体外培养扩增达到一定数量后,将这些细胞种植在预先构建好的架上再植入体内,细胞沿支架迁移、铺展、生长、分化,支架以合适的速度降解而不妨碍细胞的渐进性生长,最终形成具有特定形态和功能的组织工程化移植物<sup>[10]</sup>。对于修复缺损面积较大的膀胱,面临移植

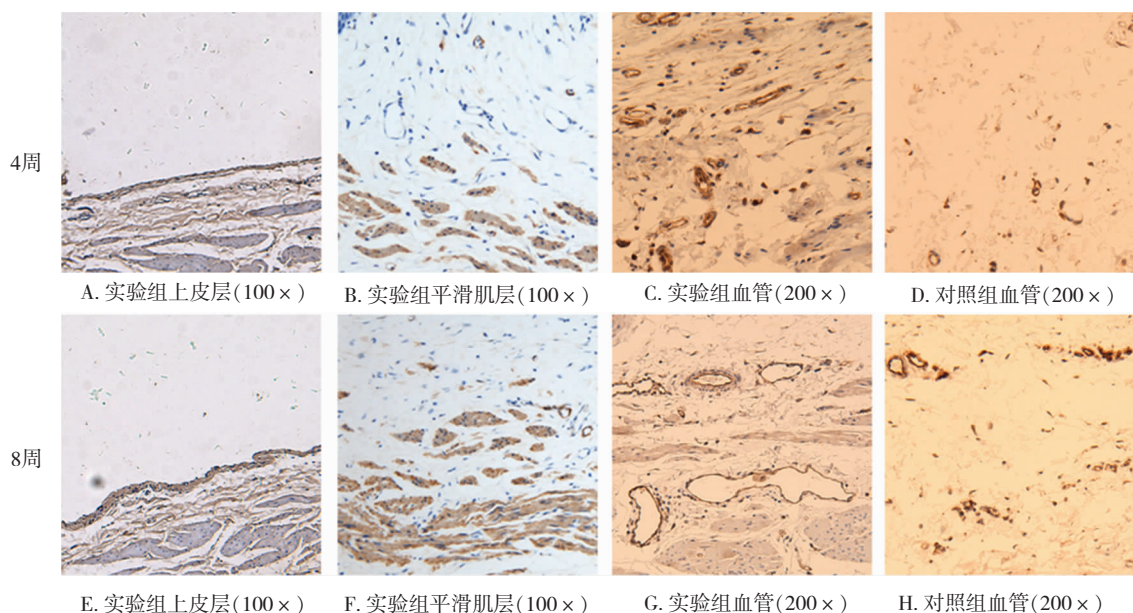


图5 4 周和 8 周时实验组和对照上皮层、平滑肌层及血管生成情况

物上皮层、平滑肌层不完整及血管化不足的问题<sup>[11]</sup>。因此,构建组织结构及生理功能与正常膀胱组织相同或相似,且血管化丰富的组织工程膀胱补片势在必行。

构建组织工程膀胱补片需要合适的支架与理想的种子细胞。合适的支架材料必须具有良好的生物相容性、生物降解特性和机械性能,尤其是反复的牵拉性和回缩性。细胞外基质衍生物被认为是较理想的支架材料,在膀胱修复重建中 BAM 被认为最为合适。BAM 是正常膀胱组织经过脱细胞处理后形成的三维支架材料,经过脱细胞处理后去除了其免疫原性,减除了排斥反应,支架保留了大量的 I、II、III、IV 型胶原蛋白,弹性蛋白、层粘连蛋白和纤维连接蛋白也被证实存在于 BAM 中。其中,以 I、IV 型胶原蛋白为主,III 型胶原蛋白较少, I 型胶原蛋白为膀胱持续承受单轴和多轴机械负荷提供了合适的强度,层粘连蛋白可刺激种子细胞与 IV 型胶原蛋白结合并诱导细胞分化,这些弹力纤维和胶原蛋白保证了 BAM 的韧性和收缩性。纤维和胶原交织形成的网架结构有利于细胞黏附生长。此外, BAM 自身保留的部分活性因子(如多种有生长因子、黏附分子、纤连及凝聚调节剂等生物活性因子)除有利于细胞黏附生长分化外,还可增强组织的再生和重塑<sup>[13,12-14]</sup>。Eberli D 等<sup>[15]</sup>将 BAM 植入体内培养 3 个月后,检测 BAM 的机械性能(如拉伸应力和拉伸应变)没有显著变化。Harvestine JN 等<sup>[16]</sup>将 BMSCs 种植在 BAM 上培养,后通过流式细胞仪检测 BAM 上的细胞群,发现 CD31 和 CD34 阳性的细胞最多,证实 BAM 能更好地保留 CD31 和 CD34 阳性细胞群。有总结报告指出,将 BAM 与 hBMSCs 共培养, BAM 可诱导 hBMSCs 分化为上皮细胞、平滑肌细胞、血管内皮细胞、脂肪细胞及软骨细胞等细胞,且不影响 hBMSCs 的增殖和再分化能力<sup>[17]</sup>。故 BAM 被认为是较为理想的支架材料。

理想的种子细胞具有易获取、易分离培养的特点,且具有一定的分化能力。BMSCs 具有来源丰富、易分离培养的特点,且在特定的条件下可诱导分化为血管内皮细胞、上皮谱系细胞、肌细胞等多种细胞<sup>[18]</sup>。王俊力等<sup>[19]</sup>研究证实 BMSCs 可在 VEGF 和 bFGF 诱导下向血管内皮细胞分化。陈亮等<sup>[20]</sup>研究证

实 BMSCs 与尿路上皮细胞共培养或在尿路上皮细胞的条件培养液中培养,均可分化为 AE1/AE3 表达阳性的尿路上皮细胞。王振显等<sup>[21]</sup>研究表明, BMSCs 体外经膀胱组织匀浆上清液诱导后可定向分化为  $\alpha$ -SMA 表达阳性的平滑肌样细胞。因此, BMSCs 被认为是理想的种子细胞。此外,膀胱平滑肌细胞和尿路上皮细胞也是构建组织工程膀胱补片必要的种子细胞。早在 2006 年, Atala A 等<sup>[22]</sup>报道用自身膀胱上皮细胞和平滑肌细胞构建的组织工程化膀胱治疗 7 例脊髓脊膜膨出伴膀胱功能异常患者并获得成功,具有里程碑的意义。卢慕峻等<sup>[7]</sup>研究证实膀胱平滑肌细胞和尿路上皮细胞可接种在 BAM 上形成连续的复层膀胱上皮层和膀胱平滑肌层。

网膜内含有间皮细胞、内皮细胞、脂肪细胞及大量免疫细胞,网膜脂细胞能合成 VEGF,而网膜微血管内皮细胞则能合成 bFGF,目前研究已证实 VEGF 和 bFGF 是强力的促血管生长因子,两者能促进包裹其内的胶原组织快速血管化<sup>[23]</sup>。Baumert H 等<sup>[24]</sup>将尿路上皮细胞和平滑肌细胞种植于球形脱细胞支架上,植入网膜内培养 3 周发现其构建的组织工程化膀胱高度血管化,同时免疫组化分析证实有多层上皮细胞覆盖,其下有分化的平滑肌细胞和纤维细胞成簇排列。黄俊杰等<sup>[25]</sup>用大网膜包埋移植肝脏去细胞生物支架,术后 7 d 发现支架出现新生血管, 14 d 后支架内形成血管化网状组织, 28 d 后血管化网状组织密集存在,证实大网膜包裹可促使肝脏去细胞支架再细胞化,最终形成血管化的网状结构。

本研究团队前期成功培养鉴定了兔 BMSCs<sup>[8]</sup>。本实验进一步将 BMSCs、膀胱平滑肌细胞、膀胱上皮细胞种植于 BAM 上,达到 BMSCs 与膀胱上皮细胞、膀胱平滑肌细胞共培养的目的。然后将膀胱上皮细胞-平滑肌细胞-BMSCs-BAM 膀胱补片采用兔网膜包裹行体内动态培养。第 4 周和第 8 周时取材行免疫组化检测证实将膀胱上皮细胞、平滑肌细胞、BMSCs 与 BAM 复合培养后行体内网膜包裹可构建复层结构且血管化丰富的组织工程膀胱补片,为后期进一步行膀胱大面积缺陷的修复提供了科学依据。

本实验对 BAM 进行了简单的厚度及抗拉伸能力测定,未进一步测定其内的生物活性因子及收缩

功能等特性,也未用制备的组织工程膀胱补片修复大面积缺损的膀胱,因此,修复后膀胱的生理功能及漏尿、坏死、感染等情况也不得而知。本研究所构建的膀胱补片修补较大面积膀胱缺损的可行性有待深入研究。

## 参 考 文 献

- [1] 肖树伟,符伟军,张旭.膀胱组织工程研究进展[J].中华实验外科杂志,2018,35(3):595-597.
- [2] Zou Q,Fu Q. Tissue engineering for urinary tract reconstruction and repair:progress and prospect in China[J].Asian J Urol,2018,5(2):57-68.
- [3] Pokrywczynska M,Gubanska I,Drewa G,et al. Application of bladder acellular matrix in urinary bladder regeneration;the state of the art and future directions[J].Biomed Res Int,2015,2015:613439.
- [4] Chung EJ,Ju HW,Yeon YK,et al. Development of an omentum-cultured oesophageal scaffold reinforced by a 3D-printed ring;feasibility of an *in vivo* bioreactor[J].Artif Cells Nanomed Biotechnol,2018,46(S1):S885-S895.
- [5] 王俊力,许慧芳,冯莉,等.不同组织来源间充质干细胞向血管内皮细胞诱导分化的研究与进展[J].中国组织工程研究,2016,20(36):5466-5472.
- [6] Polymeri A,Giannobile WV,Kaigler D. Bone marrow stromal stem cells in tissue engineering and regenerative medicine[J].Horm Metab Res,2016,48(11):700-713.
- [7] 卢慕峻,王忠,周广东,等.组织工程化膀胱壁复层结构的体外构建[J].中华泌尿外科杂志,2007,28(z1):82-85.
- [8] 李欣慧,廖文彪,李永伟,等.骨髓间充质干细胞与膀胱脱细胞基质的生物相容性[J].中国组织工程研究,2012,16(51):9567-9573.
- [9] 王颖,郭晶晶,李思思.膀胱癌根治术后回肠膀胱尿流改道术后并发症及处理[J].肿瘤基础与临床,2019,32(1):74-76.
- [10] Atala A,Danilevskiy M,Lyundup A,et al. The potential role of tissue-engineered urethral substitution;clinical and preclinical studies[J].J Tissue Eng Regen Med,2017,11(1):3-19.
- [11] Hassanzadeh P,Atyabi F,Dinarvand R. Tissue engineering:still facing a long way ahead[J].J Control Release,2018,279:181-197.
- [12] Davis NF,Cunnane EM,O'Brien FJ,et al. Tissue engineered extracellular matrices (ECMs) in urology:evolution and future directions[J].Surgeon,2018,16(1):55-65.
- [13] Simoes IN,Vale P,Soker S,et al. Acellular urethra bioscaffold: decellularization of whole urethras for tissue engineering applications[J].Sci Rep,2017,7:41934.
- [14] Jiang D,Huang J,Shao H,et al. Characterization of bladder acellular matrix hydrogel with inherent bioactive factors[J].Mater Sci Eng C Mater Biol Appl,2017,77:184-189.
- [15] Eberli D,Susaeta R,Yoo JJ,et al. Tunica repair with acellular bladder matrix maintains corporal tissue function[J].Int J Impot Res,2007,19(6):602-609.
- [16] Harvestine JN,Orbay H,Chen JY,et al. Cell-secreted extracellular matrix,independent of cell source,promotes the osteogenic differentiation of human stromal vascular fraction[J].J Mater Chem B,2018,6(24):4104-4115.
- [17] 谭云鹤,邢俊平,郭子宽.兔膀胱脱细胞基质对人骨髓间充质干细胞增殖、分化的影响[J].中国临床研究,2018,31(5):589-592.
- [18] 段红永,管强,武欣,等.骨髓间充质干细胞诱导分化为组织工程血管用种子细胞的研究[J].中华实验外科杂志,2015,32(4):748-752.
- [19] 王俊力,许慧芳,冯莉,等.不同组织来源间充质干细胞向血管内皮细胞诱导分化的研究与进展[J].中国组织工程研究,2016,20(36):5466-5472.
- [20] 陈亮,丁明霞,左毅刚.体外诱导猪骨髓间充质干细胞向尿路上皮细胞分化的实验研究[J].昆明医学院学报,2011,32(11):36-39.
- [21] 王振显,蔡文清,宋永周,等.膀胱匀浆上清液在大鼠骨髓间充质干细胞诱导分化为平滑肌样细胞中的作用[J].中国组织工程研究与临床康复,2008,12(8):1422-1425.
- [22] Atala A,Bauer SB,Soker S,et al. Tissue-engineered autologous bladders for patients needing cystoplasty[J].Lancet,2006,367(9518):1241-1246.
- [23] Ree JJ,Baltzer WI,Nemanic S. Randomized,controlled,prospective clinical trial of autologous greater omentum free graft versus autogenous cancellous bone graft in radial and ulnar fractures in miniature breed dogs[J].Vet Surg,2018,47(3):392-405.
- [24] Baumert H,Simon P,Hekmati M,et al. Development of a seeded scaffold in the great omentum;feasibility of an *in vivo* bioreactor for bladder tissue engineering[J].Eur Urol,2007,52(3):884-890.
- [25] 黄俊杰,王志斌,陈纳,等.大网膜包埋移植肝脏去细胞生物支架血管化过程观察[J].温州医科大学学报,2017,47(10):703-707.

(责任编辑:唐秋姗)