

·述评·

组织工程技术在儿童下尿路重建修复中的若干问题



全文二维码 开放科学码

於明明¹ 陈方^{1,2,3}

【摘要】 组织工程的发展日新月异,并且在儿童下尿路重建修复的临床前研究中取得了不错的成效。但临床前研究在向临床转化时效果都不太理想。临床转化失败的原因很多,其中最重要的一点是临床前研究常使用的是健康动物模型,从而不能准确模拟病态组织的结构和功能。针对当前组织工程向临床转化的困境,很多新的研究方案也应运而生,包括使用多种来源的干细胞,改善移植血供,应用可控释放生长因子的新型支架,探究深层次的信号通路以及细胞间相互作用等,但单用其中一种方法很难在临床应用中获得成功。本文阐述组织工程技术在儿童下尿路重建修复中已取得的研究进展及当前面临的主要问题。

【关键词】 组织工程;膀胱;尿道;干细胞移植;儿童

【中图分类号】 R726.9 R691.1

Research progress of tissue engineering in pediatric urology. Yu Mingming¹, Chen Fang^{1,2,3}. 1. Department of Urology, Children's Hospital of Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200062, China; 2. Department of Urology, Affiliated Sixth People's Hospital, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200233, China; 3. Shanghai Oriental Institute of Urological Repair & Reconstruction, Shanghai 200233, China. Corresponding author: Chen Fang, Email: doctorchenfang@126.com

【Abstract】 Tissue engineering undergoes constant evolutions and it has achieved considerable progress in pediatric urology. However, almost all outcomes of clinical application have been unsatisfactory. Many reasons may explain a failure of clinical transformation and the most important one is that healthy animal models, employed frequently for preclinical studies, fail to accurately imitate the structures and functions of pathological tissues. For overcoming current difficulties of clinical transformation, many new research programs have emerged, including using stem cells from various sources, new scaffolds with a controllable release of growth factors, regulating immune response, exploring deep signaling pathways, dynamic interactions between graft and host and interactions among different layers of graft. None of the methods alone can achieve final success in clinical practice. This paper reviews the progress and major dilemmas of tissue engineering in pediatric urology and discusses their solutions.

【Key words】 Tissue Engineering; Urinary Bladder; Urethra; Stem Cells Transplantation; Child

在小儿泌尿外科,很多先天性疾病及外伤都需要足够的自体组织用于重建修复。传统手术治疗能在一定程度上解决很多问题,但也存在不少并发症。以儿童膀胱重建为例,目前临床上主要采取肠膀胱成形术,但其并发症繁多,包括尿路感染、尿漏、结石、代谢紊乱、肠黏膜分泌物多,甚至恶变等^[1,2]。此外,很多患儿缺乏足够的自体组织用于重建,也会限制手术的实施。此时,组织工程技术是一个很好的替代选择,它将细胞与生物材料、生物工程原理相结合,制造出与目标组织具有相似结构和功能的替代组织。组织工程技术较传统手术方式最大的优势在于无需牺牲自体替代组织,不仅可以减轻手术创伤,而且能够很好地解决部分患儿因尿路缺损面积过大或者需要多次手术造成的自体替代组织不足的难题。组织工程技术已经能够

DOI:10.3969/j.issn.1671-6353.2020.04.001

基金项目:国家自然科学基金(编号:81870459)

作者单位:1. 上海市儿童医院,上海交通大学附属儿童医院泌尿外科(上海市,200062); 2. 上海交通大学附属第六人民医院泌尿外科(上海市,200233); 3. 上海东方泌尿修复重建研究所(上海市,200233)

通信作者:陈方, Email: doctorchenfang@126.com

构建出与正常组织结构相似并具有一定功能的膀胱和尿道组织,但在实际临床应用中的效果并不理想,这些工程化的下尿路组织移植到患儿体内后容易发生纤维化和结构改变,且重建部位的功能也难以达到正常水平。因此,利用组织工程技术重建和修复尿路缺损的效果尚不如传统手术方式,远未达到弥补传统手术不足的效果,这也促使研究者们不断重认识、重思考^[3,4]。

一、下尿路组织工程的临床前研究

组织工程最基础的两个组成部分是支架和种子细胞,细胞是工程化组织的来源,而支架为细胞的增殖、分化以及迁移等行为提供空间,并且为组织形成提供结构支持^[5]。

尿路的结构与功能特点对支架的选择提出了很高的要求。一个理想的支架应包含以下特性:良好的生物相容性、可有序降解性、特定的空间结构、适当的力学强度以及能为细胞提供良好的生物环境。目前常用的支架主要有天然支架和人工合成支架。天然支架主要来源于机体组织或天然高分子聚合物,如小肠黏膜下层(small intestine submucosa, SIS)、膀胱脱细胞基质以及胶原蛋白、丝素蛋白等,其优点在于具有良好的生物活性、生物相容性以及低免疫原性,缺点是差异性较大、制备及灭菌存在一定困难^[6-10]。而人工合成支架常以合成的高分子聚合物为材料,如聚乙醇酸、聚乳酸、聚己内酯、聚乙二醇、聚乳酸-乙醇酸等,其性质均一,产量高,可调节性强,但在生物活性、免疫原性及炎症反应等方面表现不如天然材料^[11-15]。

常见的种子细胞主要包括各种成熟细胞和干细胞。自体的尿路上皮细胞和平滑肌细胞是儿童下尿路组织工程技术最常用的种子细胞,因其不存在免疫反应及炎症反应,已被多次应用于临床研究中^[16]。而干细胞具有良好的分化性、可塑性、自我更新能力,且能够调节免疫反应、炎症反应、血管化水平等,常用来弥补成熟细胞的不足,在临床前研究中有广泛的应用^[5]。

下尿路组织工程技术已经在临床前研究中取得了不错的成果,在诸多动物(如大鼠、兔、狗及猪等)体内能重建出接近正常结构和功能的膀胱与尿道,显示出组织工程技术在下尿路重建修复中的强大优越性,并为其临床转化奠定了一定基础^[17-20]。

二、组织工程技术在儿童下尿路重建修复中的临床应用

1. 膀胱:据文献报道,有30例患儿利用组织工程技术重建修复了膀胱。早在十几年前,Atala等^[21]首次将成熟的组织工程技术应用于临床。该研究对7例脊髓脊膜膨出伴膀胱疾病的患儿通过膀胱活检术取得膀胱上皮细胞及平滑肌细胞,在体外培养扩增后将这些自体细胞接种在可降解的胶原支架或胶原-PGA复合支架上,随后移植到体内重建膀胱并伴或不伴大网膜包裹,取得了初步成效。研究结果表明使用复合支架并伴大网膜包裹的膀胱重建效果相对较好,尿漏点压、容量及顺应性均有改善,但重建后膀胱的顺应性及容量随年龄继续增长的效果难以令人满意。随后,Joseph等^[22]利用相似的方法在10例神经源性膀胱患儿中进行了二期临床研究,但结果仍不理想。该研究采用自体膀胱上皮细胞及平滑肌细胞结合聚乙醇酸/聚乳酸可降解支架,术后1年和3年随访,发现患儿膀胱容量和顺应性没有显著改善,所有患儿出现了并发症,其中4例出现了严重肠梗阻或膀胱破裂。SIS是临床使用最多的天然支架,并且可以不结合细胞而单独应用,尽管此前SIS在临床前研究中取得了不错的效果,但临床应用时效果很一般。Caione等^[23]将SIS移植到5例膀胱外翻术后膀胱功能欠佳的患儿体内重建膀胱时,发现SIS植入后可以逐渐被正常膀胱上皮和肌层替代,术后6个月膀胱容量和顺应性有明显改善,证明了SIS重建膀胱的可行性;但重建的膀胱组织中肌肉含量很低,术后18个月随访发现膀胱容量及顺应性没有持续显著提升。同样,Schaefer等^[24]利用SIS对6例患儿(1例膀胱外翻术后、1例膀胱输尿管反流术后、2例脊柱裂和2例膀胱外翻)重建膀胱,效果也不理想。该研究发现SIS虽然可以转化为膀胱组织,但其中结缔组织含量过高,仅2例形成了规则的尿路上皮;术后膀胱顺应性没有显著提升,并且有3例出现了并发症(2例膀胱结石和1例膀胱破裂)。另外,Zhang等^[25]通过对15例神经源性膀胱患者(含2例儿童)的临床研究发现,SIS重建膀胱的远期成功率为60%(膀胱容量和最大逼尿肌压有了显著改善),有1例患儿术后出现了膀胱结石。值得一提的是,Schaefer等^[24]还发现膀胱外翻患者行自体细胞重建的膀胱组织中依然会出现膀胱外翻的病理变化-Von Brunn细胞巢,证实病态组织来源的成熟细胞会将其病理特性传递到其重建的组织中^[26]。总的来说,组织工程技术在儿童膀胱重建修复中的初步应用效果一般,虽然重建的膀胱在短期内顺应性和容量提升尚可,但难以具备与年龄增长相匹配的持续提升能力,并且面临相对较高的术后并发症发生率,其效果尚不及传统手术的效果。

2. 尿道:组织工程技术在儿童尿道重建修复中的临床研究相比膀胱较少,目前研究共涉及16例患儿。Fossum等^[27]最早将通过膀胱灌注获得的膀胱上皮细胞在体外扩增后接种在脱细胞真皮上重建尿道治疗重度尿道下裂,术后6例患儿均能以站姿从成形的尿道口正常排尿,这说明了组织工程技术重建儿童尿道的可行性;但术后(随访3~5.5年)并发症相对较多,包括1例尿道狭窄、1例吻合口梗阻及2例尿道瘘。Bhargava等^[28]研究通过口腔黏膜活检分离培养角化细胞和成纤维细胞,随后将两者接种到去真皮脱细胞基质上,再将其用于5例尿道狭窄(由硬化性苔藓引起)患儿的尿道重建修复,虽然初次移植的成功率为100%,但在随后近3年的随访中发现5例患儿均出现了轻重不一的并发症,其中2例因尿道纤维化或尿道收缩需要完全或部分切除重建的尿道段,整体远期成功率为零。Raya-Rivera等^[29]研究结果相对乐观很多,研究者通过膀胱活检术获取5例尿道膜部损伤患儿的自体膀胱上皮细胞和平滑肌细胞,分离培养后分别接种于管状聚乙醇酸支架的内外两层,然后植入体内重建后尿道。结果显示仅1例术后2周出现了尿道狭窄(随后行尿道内切开术解决),术后3个月尿道活检显示所有重建的尿道结构正常,长期随访(6年)未发现尿道狭窄,表明这种管状的组织工程化尿道可以用于临床治疗,并且可以在患儿体内持续作用6年以上。由此可见,以尿道下裂及外伤为主的儿童尿道重建是一个复杂的难题,而组织工程化尿道为解决这个难题提供了一个初步可行但仍需继续改进的新方法^[30]。总的来说,已有临床研究展示出了组织工程技术在儿童下尿路重建修复中的初步可行性和一定的短期成功率,但在远期成功率及并发症方面仍不理想,整体效果尚未达到临床前研究的预期。

三、临床转化失败的主要原因

组织工程技术重建修复儿童下尿路从临床前研究向临床研究的转化在已有研究中基本是失败的,当前面临的问题大致可总结如下:首先,临床前研究常采用健康的动物,不能准确模拟病态组织的结构和功能。健康动物来源的细胞各种特性均正常;而有研究显示,从先天性下尿路疾病患儿体内分离培养的成熟细胞在体外增殖、分化、黏附及收缩能力等诸多方面都会有别于正常细胞,甚至还有可能继承和传递某些病理特征,这对临床应用的效果可能会产生一定的影响^[31-33]。因此,目前在健康动物中取得的成功很难复制到患有先天性疾病的儿童中。其次,移植物的血供没有受到足够重视。移植物用于重建时需与周围组织通过缓慢的芽生方式建立血运才可存活,而组织内氧气扩散的最大距离只有100~200 μm,这势必会影响移植物的存活与重建效果,尤其是对于面积或体积大的移植物^[34,35]。这一点从Atala等^[21]研究中也可以看出,大网膜作为目前常用的体内血管床,包裹移植物后可以明显提高膀胱重建修复的效果。目前,临床前研究已探索出多种有效改善移植物血供的方法,但由于受各种因素限制尚未应用到临床研究中。此外,目前研究多注重结构重建,而忽略了功能恢复。功能重建对于膀胱来说尤为重要,膀胱除了像尿道一样需要具备一定的结构和容量,还需要有合适的充盈以及收缩能力,重建后膀胱功能缺失会带来很多并发症。因此,通过各种手段(如利用干细胞或生长因子在分子水平调控移植物的生长环境)促进重建组织功能恢复也很重要^[36]。最后,长期随访对于儿童尤为重要。儿童是一个特殊的群体,其生理特点对重建组织提出了很高的要求,如良好的生长潜能、稳定的结构与成分以及长期的使用寿命等^[37]。以膀胱重建为例,成年患者重建后的膀胱只需获得可维持的容量及顺应性提升即可,而对于儿童重建后的膀胱还需要具备与年龄增长相匹配的生长能力。这也是目前临床研究面临的问题,虽然目前从短期来看效果尚可,但长期效果远未能达到满意。

四、启示与策略

临床转化失败迫使尿路组织工程研究做出改变。首先,临床前研究应当使用患有相应疾病的动物模型。儿童下尿路重建修复以各种先天性疾病最为常见,因此在临床前研究中不能简单地选用尿路机械性损伤或部分切除的动物模型,而要选用具有相应原发疾病的动物模型。目前,很多小儿泌尿外科疾病都有了成熟的动物模型,如神经源性膀胱、尿道下裂及膀胱梗阻等^[38-40]。此外,大动物比小动物更适合组织工程研究,因为其更能模拟人体状态^[41]。因此,临床前研究中动物模型的选择应由健康动物模型向患病动物模型、从小动物向大动物逐渐转变,这样才能更好地向临床研究转化。

其次,需要充分利用干细胞的优势。干细胞除了能定向分化、促进组织血管化、调节免疫反应和炎症反应等以外,其分化而来的平滑肌细胞在组织工程中的应用效果似乎也比成熟的平滑肌细胞更好^[42,43]。有研

究显示脊柱裂患儿来源的干细胞与健康个体来源细胞的再生潜能相似,这一点对于儿童有着重要的意义,因为儿童下尿路缺损以先天性疾病为主,其来源的成熟细胞相比于正常细胞,多种能力有明显差异,且很可能会继承和传递某些病理特征,进而影响工程化组织的使用效果。因此,在儿童下尿路组织工程中使用干细胞似乎可以避免成熟自体细胞带来的弊端^[44]。此外,多种来源的干细胞(如骨髓间充质干细胞、脂肪干细胞等)都已被用于临床前研究,丰富了种子细胞的来源,并且一些新兴的、可以无创获取的干细胞(如尿源性干细胞)降低了取材的难度,减轻了创伤^[45-47]。

第三,血供不仅关系着移植物的存活,更决定了其结构和功能恢复的程度。目前,在临床前研究中促进血管化的手段有很多,除了调节支架特性及应用生长因子等传统方法以外,很多研究将种子细胞和血管生成相关的细胞如内皮细胞或内皮祖细胞等共培养,并取得了很好的效果^[48,49]。内皮细胞可与间充质干细胞、成骨细胞、心肌细胞等多种细胞共培养,还可以包裹在两层细胞膜片之间,这样构建的细胞膜片在移植前就具备了丰富的内部微血管网络^[50-53]。此外,还有研究者尝试了将预血管化后的移植物连同其下方轴心血管一同移植的方法,将构建的组织先在含轴心血管的体内或体外生物反应器中预血管化,离断轴心血管后随组织一起移植并与宿主大血管相吻合^[52,54]。Sekine等^[52]研究结果显示,心肌细胞与内皮细胞共培养的细胞膜片在体外生物反应器预血管化后会提高其活性,而移植时轴心血管吻合会大幅提升这一效果。由此可见,在组织内预先构建微血管网络固然重要,但更重要的是能及时将这些微血管网络通过大血管与宿主的循环系统连接起来。

第四,生长因子能促进细胞增殖、分化及组织结构和功能的再生,对组织工程有重要的促进作用。但生长因子在体内很不稳定,因此实现可控、缓慢释放才能使其持续发挥作用。目前,多种由天然材料或者合成材料构建的支架都可以实现将生长因子包裹后在体内缓慢释放^[55,56]。此外,针对无支架的细胞膜片,有研究者设计了一种能包裹血管内皮生长因子的纤维垫,将其加盖在六层心肌细胞膜片上可以实现血管内皮生长因子缓慢释放^[57]。这些控制生长因子在体内缓慢释放的方法在组织工程中有很好的应用前景。

最后,组织重建修复过程中细胞间相互作用和信号通路等问题应当被重视并加以利用。以巨噬细胞为例,它分为有促炎作用的M1型和有抗炎作用的M2型,是组织血管化和功能重建的重要参与者^[58]。在移植前期M1型占主导地位可以促进血管生成,而在移植后期M2型占主导地位可以促进组织功能恢复及减少瘢痕形成^[59]。因此,通过改变支架性质或应用生长因子等方法调节不同时期两型巨噬细胞的表达,可以促进移植物结构和功能的重建^[60]。此外,有研究者发现BAM单独使用和联合ADSCs重建膀胱时,重建的组织在基因表达和信号通路上存在较大的差异,说明ADSC能通过多条信号通路改变膀胱愈合的分子机制,这些信号通路可以作为促进尿路重建修复效果的靶点^[61]。

五、小结与展望

综上所述,多种支架材料和细胞已经被用于儿童下尿路组织工程研究,并且在临床前研究中取得了不错的效果,但临床前研究向临床研究转化的初步结果不理想,虽然体现出了初步的可行性,但在远期成功率和并发症方面的表现远不如传统手术。转化失败的原因主要包括:常选择健康的动物模型,缺少从小动物向大动物的过渡;未重视移植物的血供;注重结构重建而忽略了功能恢复;缺少长期随访等。针对这些问题,很多解决策略也应运而生,如应用患有相应疾病的动物模型,发挥干细胞的优势,移植物预血管化或带血管蒂移植,使用能可控缓慢释放生长因子的“智能支架”,深入研究组织再生过程中的细胞间相互作用及分子机制等。但有一点可以肯定的是,单用一种方法很难解决目前的问题,只有综合多种方法才能实现最终的临床应用。

组织工程技术在儿童下尿路重建修复中已经显示出了初步的可行性和一定的短期成功率,它作为一种新兴技术具有良好的发展前景。随着研究的逐渐深入以及研究者们对组织工程技术和儿童下尿路重建修复认识的逐渐增加,工程化组织的效果会越来越好,并且可能最终完全替代自体组织。

参考文献

- 1 Ross JPJ, Keays M, Neville C, et al. Pediatric bladder augmentation—Panacea or Pandora’s box? [J]. Can Urol Assoc J, 2020, 14

- (6):1-13. DOI:10.5489/cuaj.6024.
- 2 Stein R,Zahn K,Huck N. Current indications and techniques for the use of bowel segments in pediatric urinary tract reconstruction [J]. *Front Pediatr*,2019,7:236. DOI:10.3389/fped.2019.00236. eCollection2019.
 - 3 贾幸,谢华.尿道下裂阴茎下弯的组织学和手术治疗研究进展[J].*临床小儿外科杂志*,2019,18(9):795-799,802. DOI:10.3969/j.issn.1671-6353.2019.09.018.
Jia X,Xie H. Research advances in histology and surgery of ventral penile curvature in hypospadias[J]. *J Clin Ped Sur*,2019,18(9):795-799,802. DOI:10.3969/j.issn.1671-6353.2019.09.018.
 - 4 Versteegden LR,de Jonge PK,IntHout J,et al. Tissue engineering of the urethra;a systematic review and meta-analysis of preclinical and clinical studies[J]. *Eur Urol*,2017,72(4):594-606. DOI:10.1016/j.eururo.2017.03.026.
 - 5 Sharma S,Gupta DK. Tissue Engineering and Stem Cell Therapy in Pediatric Urology [J]. *J Indian Assoc Pediatr Surg*,2019,24(4):237-246. DOI:10.4103/jiaps.JIAPS_77_18.
 - 6 Wang F,Song Q,Du L,et al. Development and characterization of an acellular porcine small intestine submucosa scaffold for use in corneal epithelium tissue engineering[J]. *Curr Eye Res*,2020,45(2):134-143. DOI:10.1080/02713683.2019.1663386.
 - 7 Zhao F,Zhou L,Liu J,et al. Construction of a vascularized bladder with autologous adipose-derived stromal vascular fraction cells combined with bladder acellular matrix via tissue engineering [J]. *J Tissue Eng*,2019,10:2041731419891256. DOI:10.1177/2041731419891256.
 - 8 Nguyen TP,Nguyen QV,Nguyen VH,et al. Silk fibroin-based biomaterials for biomedical applications;a review[J]. *Polymers (Basel)*,2019,11(12):E1933. DOI:10.3390/polym11121933.
 - 9 Versteegden LR,van Kampen KA,Janke HP,et al. Tubular collagen scaffolds with radial elasticity for hollow organ regeneration [J]. *Acta Biomater*,2017,52:1-8. DOI:10.1016/j.actbio.2017.02.005.
 - 10 Qiu YL,Chen X,Hou YL,et al. Characterization of different biodegradable scaffolds in tissue engineering[J]. *Mol Med Rep*,2019,19(5):4043-4056. DOI:10.3892/mmr.2019.10066.
 - 11 Xu ZC,Zhang Q,Li H. Elastic large muscular vessel wall engineered with bone marrow-derived cells under pulsatile stimulation in a bioreactor[J]. *Mol Med Rep*,2015,12(4):6005-6012. DOI:10.3892/mmr.2015.4147.
 - 12 Wang DJ,Li MY,Huang WT,et al. Repair of urethral defects with polylactid acid fibrous membrane seeded with adipose-derived stem cells in a rabbit model[J]. *Connect Tissue Res*,2015,56(6):434-439. DOI:10.3109/03008207.2015.1035376.
 - 13 Zhou Z,Yan H,Liu Y,et al. Adipose-derived stem-cell-implanted poly(ϵ -caprolactone)/chitosan scaffold improves bladder regeneration in a rat model[J]. *Regen Med*,2018,13(3):331-342. DOI:10.2217/rme-2017-0120.
 - 14 Tan HL,Kai D,Pasbakhsh P,et al. Electrospun cellulose acetate butyrate/polyethylene glycol (CAB/PEG) composite nanofibers: A potential scaffold for tissue engineering [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*,2019,188:110713. DOI:10.1016/j.colsurfb.2019.110713.
 - 15 Sánchez-Pech JC,Rosales-Ibáñez R,Cauich-Rodríguez JV,et al. Design,synthesis,characterization,and cytotoxicity of PCL/PLGA scaffolds through plasma treatment in the presence of pyrrole for possible use in urethral tissue engineering[J]. *J Biomater Appl*,2020,34(6):840-850. DOI:10.1177/0885328219882638.
 - 16 Culenova M,Ziaran S,Danisovic L. Cells involved in urethral tissue engineering;systematic review[J]. *Cell Transplant*,2019,28(9-10):1106-1115. DOI:10.1177/0963689719854363.
 - 17 Xia D,Yang Q,Fung KM,et al. Immunomodulatory response of layered small intestinal submucosa in a rat bladder regeneration model[J]. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*,2019,107(6):1960-1969. DOI:10.1002/jbm.b.34289.
 - 18 Wang C,Chen C,Guo M,et al. Stretchable collagen-coated polyurethane-urea hydrogel seeded with bladder smooth muscle cells for urethral defect repair in a rabbit model[J]. *J Mater Sci Mater Med*,2019,30(12):135. DOI:10.1007/s10856-019-6342-7.
 - 19 Lv X,Feng C,Liu Y,et al. A smart bilayered scaffold supporting keratinocytes and muscle cells in micro/nano-scale for urethral reconstruction[J]. *Theranostics*,2018,8(11):3153-3163. DOI:10.7150/thno.22080.
 - 20 Pokrywczynska M,Jundzill A,Rasmus M,et al. Understanding the role of mesenchymal stem cells in urinary bladder regeneration-a preclinical study on a porcine model[J]. *Stem Cell Res Ther*,2018,9(1):328. DOI:10.1186/s13287-018-1070-3.
 - 21 Atala A,Bauer SB,Soker S,et al. Tissue-engineered autologous bladders for patients needing cystoplasty [J]. *Lancet*,2006,367(9518):1241-1246. DOI:10.1016/S0140-6736(06)68438-9.
 - 22 Joseph DB,Borer JG,De Filippo RE,et al. Autologous cell seeded biodegradable scaffold for augmentation cystoplasty:phase II study in children and adolescents with spina bifida[J]. *J Urol*,2014,191(15):1389-1395. DOI:10.1016/j.juro.2013.10.103.

- 23 Caione P, Boldrini R, Salerno A, et al. Bladder augmentation using acellular collagen biomatrix: a pilot experience in exstrophic patients [J]. *Pediatr Surg Int*, 2012, 28(4): 421-428. DOI: 10.1007/s00383-012-3063-0.
- 24 Schaefer M, Kaiser A, Stehr M, et al. Bladder augmentation with small intestinal submucosa leads to unsatisfactory long term results [J]. *J Pediatr Urol*, 2013, 9(6 Pt A): 878-883. DOI: 10.1016/j.jpuro.2012.12.001.
- 25 Zhang F, Liao L. Long-term follow-up of neurogenic bladder patients after bladder augmentation with small intestinal submucosa [J]. *World J Urol*, 2019. DOI: 10.1007/s00345-019-03008-x. [Epub ahead of print]
- 26 Eastman R Jr, Leaf EM, Zhang D, et al. Fibroblast growth factor-10 signals development of von Brunn's nests in the exstrophic bladder [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2010, 299(5): F1094-F1110. DOI: 10.1152/ajprenal.00056.2010.
- 27 Fossum M, Svensson J, Kratz G, et al. Autologous in vitro cultured urothelium in hypospadias repair [J]. *J Pediatr Urol*, 2007, 3(1): 10-18. DOI: 10.1016/j.jpuro.2006.01.018.
- 28 Bhargava S, Patterson JM, Inman RD, et al. Tissue-engineered buccal mucosa urethroplasty-clinical outcomes [J]. *Eur Urol*, 2008, 53(6): 1263-1269. DOI: 10.1016/j.eururo.2008.01.061.
- 29 Raya-Rivera A, Esquiliano DR, Yoo JJ, et al. Tissue-engineered autologous urethras for patients who need reconstruction: an observational study [J]. *Lancet*, 2011, 377(9772): 1175-1182. DOI: 10.1016/S0140-6736(10)62354-9.
- 30 孙宁. 关于提高尿道下裂手术技能的一些思考 [J]. *临床小儿外科杂志*, 2018, 17(8): 561-563. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6353.2018.08.001.
- Sun N. Thoughts on refining surgical techniques for hypospadias [J]. *J Clin Ped Sur*, 2018, 17(8): 561-563. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6353.2018.08.001.
- 31 Lin HK, Cowan R, Moore P, et al. Characterization of neuropathic bladder smooth muscle cells in culture [J]. *J Urol*, 2004, 171(3): 1348-1352. DOI: 10.1097/01.ju.0000108800.47594.8b.
- 32 Dozmorov MG, Kropp BP, Hurst RE, et al. Differentially expressed gene networks in cultured smooth muscle cells from normal and neuropathic bladder [J]. *J Smooth Muscle Res*, 2007, 43(2): 55-72. DOI: 10.1540/jsmr.43.55.
- 33 Subramaniam R, Hinley J, Stahlschmidt J, et al. Tissue engineering potential of urothelial cells from diseased bladders [J]. *J Urol*, 2011, 186(5): 2014-2020. DOI: 10.1016/j.juro.2011.07.031.
- 34 Laschke MW, Menger MD. Prevascularization in tissue engineering: Current concepts and future Directions [J]. *Biotechnol Adv*, 2016, 34(2): 112-121. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2015.12.004.
- 35 Utzinger U, Baggett B, Weiss JA, et al. Large-scale time series microscopy of neovessel growth during angiogenesis [J]. *Angiogenesis*, 2015, 18(3): 219-232. DOI: 10.1007/s10456-015-9461-x.
- 36 Adamowicz J, Kuffel B, Van Breda SV, et al. Reconstructive urology and tissue engineering: Converging developmental paths [J]. *J Tissue Eng Regen Med*, 2019, 13(3): 522-533. DOI: 10.1002/term.2812.
- 37 Horst M, Eberli D, Gobet R, et al. Tissue engineering in pediatric bladder reconstruction-the road to success [J]. *Front Pediatr*, 2019, 7: 91. DOI: 10.3389/fped.2019.00091.
- 38 Mirzaei-Dizgah I, Salmanyan B. Renal function in a rat model of neurogenic bladder, effect of statins and phosphodiesterase-5 inhibitors [J]. *Eur Spine J*, 2013, 22(12): 2766-2769. DOI: 10.1007/s00586-013-2927-x.
- 39 Lin D, Liu P, Wang G, et al. The distribution of Preputial vessels in different severity of rat congenital hypospadias model: imaging study using micro-computerized tomography [J]. *BMC Urol*, 2019, 19(1): 111. DOI: 10.1186/s12894-019-0547-4.
- 40 Vasquez E, Cristofaro V, Lukianov S, et al. Deletion of neuropilin 2 enhances detrusor contractility following bladder outlet obstruction [J]. *JCI Insight*, 2017, 2(3): e90617. DOI: 10.1172/jci.insight.90617.
- 41 Farhat WA. Tissue engineering of the bladder-when will we get there? [J]. *J Urol*, 2014, 192(4): 1021-1022. DOI: 10.1016/j.juro.2014.07.079.
- 42 Iannaccone PM, Galat V, Bury MI, et al. The utility of stem cells in pediatric urinary bladder regeneration [J]. *Pediatr Res*, 2018, 83(1-2): 258-266. DOI: 10.1038/pr.2017.229.
- 43 Sharma AK, Hota PV, Matoka DJ, et al. Urinary bladder smooth muscle regeneration utilizing bone marrow derived mesenchymal stem cell seeded elastomeric poly(1,8-octanediol-co-citrate) based thin films [J]. *Biomaterials*, 2010, 31(24): 6207-6217. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2010.04.054.
- 44 Sharma AK, Bury MI, Fuller NJ, et al. Cotransplantation with specific populations of spina bifida bone marrow stem/progenitor cells enhances urinary bladder regeneration [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110(10): 4003-4008. DOI: 10.1073/pnas.1220764110.

- 45 Yudincheva NM, Nashchekina YA, Blinova MI, et al. Experimental bladder regeneration using a poly-l-lactide/silk fibroin scaffold seeded with nanoparticle-labeled allogenic bone marrow stromal cells [J]. *Int J Nanomedicine*, 2016, 11; 4521–4533. DOI: 10.2147/IJN.S111656.
- 46 Zhe Z, Jun D, Yang Z, et al. Bladder acellular matrix grafts seeded with adipose-derived stem cells and incubated intraperitoneally promote the regeneration of bladder smooth muscle and nerve in rat model of bladder augmentation [J]. *Stem Cells Dev*, 2016, 25(5); 405–414. DOI: 10.1089/scd.2015.0246.
- 47 Wan Q, Xiong G, Liu G, et al. Urothelium with barrier function differentiated from human urine-derived stem cells for potential use in urinary tract reconstruction [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2018, 9(1); 304. DOI: 10.1186/s13287-018-1035-6.
- 48 Jia Z, Guo H, Xie H, et al. Harvesting prevascularized smooth muscle cell sheets from common polystyrene culture dishes [J]. *PLoS ONE*, 2018, 13(9); e0204677. DOI: 10.1371/journal.pone.0204677.
- 49 Guduric V, Siadous R, Babilotte J, et al. Layer-by-layer bioassembly of poly(lactic) acid membranes loaded with coculture of HBMSCs and EPCs improves vascularization in vivo [J]. *J Biomed Mater Res A*, 2019, 107(12); 2629–2642. DOI: 10.1002/jbm.a.36769.
- 50 Nguyen BB, Moriarty RA, Kamalitinov T, et al. Collagen hydrogel scaffold promotes mesenchymal stem cell and endothelial cell coculture for bone tissue engineering [J]. *J Biomed Mater Res A*, 2017, 105(4); 1123–1131. DOI: 10.1002/jbm.a.36008.
- 51 Zhou F, Zhang L, Chen L, et al. Prevascularized mesenchymal stem cell-sheets increase survival of random skin flaps in a nude mouse model [J]. *Am J Transl Res*, 2019, 11(3); 1403–1416.
- 52 Sekine H, Shimizu T, Sakaguchi K, et al. In vitro fabrication of functional three-dimensional tissues with perfusable blood vessels [J]. *Nat Commun*, 2013, 4; 1399. DOI: 10.1038/ncomms2406.
- 53 He J, Han X, Wang S, et al. Cell sheets of co-cultured BMP-2-modified bone marrow stromal cells and endothelial progenitor cells accelerate bone regeneration in vitro [J]. *Exp Ther Med*, 2019, 18(5); 3333–3340. DOI: 10.3892/etm.2019.7982.
- 54 Yap KK, Yeoh GC, Morrison WA, et al. The Vascularised Chamber as an In Vivo Bioreactor [J]. *Trends Biotechnol*, 2018, 36(10); 1011–1024. DOI: 10.1016/j.tibtech.2018.05.009.
- 55 Ding Y, Zhao AS, Liu T, et al. An injectable nanocomposite hydrogel for potential application of vascularization and tissue repair [J]. *Ann Biomed Eng*, 2020. DOI: 10.1007/s10439-020-02471-7. [Epub ahead of print]
- 56 Abdullah MF, Nuge T, Andriyana A, et al. Core-shell fibers: design, roles, and controllable release strategies in tissue engineering and drug delivery [J]. *Polymers (Basel)*, 2019, 11(12); E2008. DOI: 10.3390/polym11122008.
- 57 Nagase K, Nagumo Y, Kim M, et al. Local release of VEGF using fiber mats enables effective transplantation of layered cardiomyocyte sheets [J]. *Macromol Biosci*, 2017, 17(8). DOI: 10.1002/mabi.201700073.
- 58 Spiller KL, Freytes DO, Vunjak-Novakovic G. Macrophages modulate engineered human tissues for enhanced vascularization and healing [J]. *Ann Biomed Eng*, 2015, 43(3); 616–627. DOI: 10.1007/s10439-014-1156-8.
- 59 Ley K. M1 means kill; M2 means heal [J]. *J Immunol*, 2017, 199(7); 2191–2193. DOI: 10.4049/jimmunol.1701135.
- 60 Garg K, Pullen NA, Oskeritzian CA, et al. Macrophage functional polarization (M1/M2) in response to varying fiber and pore dimensions of electrospun scaffolds [J]. *Biomaterials*, 2013, 34(18); 4439–4451. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2013.02.065.
- 61 Pokrywczynska M, Rasmus M, Jundzill A, et al. Mesenchymal stromal cells modulate the molecular pattern of healing process in tissue-engineered urinary bladder; the microarray data [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2019, 10(1); 176. DOI: 10.1186/s13287-019-1266-1.

(收稿日期: 2020-01-12)

本文引用格式: 於明明, 陈方. 组织工程技术在儿童下尿路重建修复中的若干问题 [J]. *临床小儿外科杂志*, 2020, 19(4): 285–291. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6353.2020.04.001.

Citing this article as: Yu MM, Chen F. Research progress of tissue engineering in pediatric urology [J]. *J Clin Ped Sur*, 2020, 19(4); 285–291. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6353.2020.04.001.