

细胞膜片技术在组织工程中的应用

郭海林 贾智明 鲍星奇 谢华 陈方

【摘要】 细胞膜片技术在组织工程中显示了良好的应用前景。与传统胰酶消化收集细胞的方法相比,运用该技术收集到的细胞保留了体外培养过程中分泌的胞外基质、建立的细胞-基质连接以及细胞间连接等结构。目前细胞膜片技术已被应用到角膜、食管、心脏、牙周韧带及软骨等多种组织修复中。然而,应用细胞膜片技术构建富血管化的大块组织、细胞膜片技术的工业化进程及基于细胞膜片技术的再生医学被大众所认知和接受仍是其在组织工程中面临的挑战。本文就细胞膜片技术在组织工程中的研究现状及最新进展作一综述,并寻求出其在临床及基础研究中的进一步发展方向。

【关键词】 细胞膜片; 组织工程

Application of the cell sheet technology in tissue engineering Guo Hailin, Jia Zhiming, Bao Xingqi, Xie Hua, Chen Fang. Department of Urology, Shanghai Children's Hospital, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200062, China

Corresponding author: Chen Fang, Email: doctorchenfang@126.com

【Abstract】 Tissue engineering using whole, intact cell sheets has shown promise in many cell-based therapies. Avoiding the use of enzymes, expanded cells can be harvested together with endogenous extracellular matrix, cell-matrix contacts and cell-cell contacts. Currently, the cell sheet engineering has already been applied in various diseases, including the cornea, esophagus, heart, periodontal ligament, and cartilage. However, several challenges stand in the way of the vascularization of the big mass constructs, the industrialization of cell sheet products and the widespread acceptance of regenerative medicine based on cell sheet engineering. In this review, we introduce recent progress in the engineering of cell sheets and propose the directions of cell sheet technology in foundation and clinical studies.

【Key words】 Cell sheet; Tissue engineering

长期以来,供体紧缺和移植排斥反应是阻碍器官移植发展的两大瓶颈。组织工程学概念的提出为解决上述难题提供了新思路。组织工程学是基于细胞生物学、材料科学及生物工程学的原理在体外构建具有生物活性的组织类似物以替代、修复、改善或再生人体受损或病变的各种组织器官^[1-2]。传统组织工程技术主要为细胞悬液注射和支架材料复合细胞技术,两种技术各有其优势及缺陷:细胞悬液注射操作方便,创伤小,但单次注射细胞数量有限,难以定位,注射后细胞易流失,无法实现均匀分布,为了满足细胞数目要求,常需反复多次注射^[3];支架材料复合细胞负载细胞数目相对较高,亦可将细胞移植至特定部位,但支架材料复合细胞需胰酶消化,胰酶会破坏细胞的表面蛋白、胞间连接及细

胞外基质(extracellular matrix, ECM),对细胞损伤较大,且支架材料在移植至组织修复部位后会因自身降解而产生炎症反应,从而不利于细胞的存活和生长^[4-5]。

近年兴起的细胞膜片技术可有效避免传统组织工程技术的相关不足,它无需胰酶消化,细胞通过其自身分泌的ECM而自发地形成致密膜片样组织,其不仅可避免外源性支架材料所引起的移植排斥反应,而且与细胞悬液注射相比膜片内细胞数目多,存活时间长,是进行组织修复和改善器官功能的良好移植体^[3-6]。目前细胞膜片技术已成为组织工程领域的研究热点,并已被成功应用到包括角膜、软骨、牙周韧带、食管及心脏等各种组织器官修复中^[1,7-10]。本文将对细胞膜片技术在组织工程中的研究现状及最新进展做一综述。

一、细胞膜片的收获

细胞膜片可通过多种方法收获,如通过Vitamin C刺激ECM分泌而形成细胞膜片,通过温度敏感材料、光敏感材料、电敏感材料或聚合人纤维蛋白等包被培养皿而收获细胞膜片^[1,11-12]。由日本学者Okano等^[1,9,13]提出的利用温度敏感型培养皿获得细胞膜片是目前被应用最广的方法。温度

DOI: 10.3877/cma.j.issn.2095-1221.2017.06.007

基金项目:上海交通大学博士创新基金(BXJ201741);国家自然科学基金(81470911)

作者单位: 200062 上海交通大学附属儿童医院 上海市儿童医院泌尿外科

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

敏感型培养皿主要由特殊的温度敏感材料聚 N- 异丙基丙烯酰胺(poly N-isopropylacrylamide, PIPAAm) 经电子束照射而共价结合于普通培养皿底部。此温度敏感材料可根据外在环境温度变化而改变其亲水及疏水性能, 在 37 °C 细胞培养环境中, 此温度敏感材料为疏水性, 可使接种细胞正常贴壁增殖, 当环境温度低于临界温度 32 °C 时, 此温度敏感材料变为亲水性。因此待 37 °C 环境下培养的细胞长满培养皿底部时, 通过降温而使温度敏感材料由疏水性变为亲水性, 此时贴满培养皿底部的细胞即可自动脱壁并依靠其自身分泌的 ECM 而形成具有二维结构(two dimensional, 2D) 的单张细胞膜片^[6, 9-10]。这种在温度敏感型培养皿内收获细胞膜片的方法避免了胰酶及分散酶的消化, 细胞的表面蛋白、胞间连接、ECM、细胞与细胞及细胞与 ECM 间的相互作用可以被很好地保留, 因此基于温度敏感型培养皿获得的细胞膜片可能蕴含了更多的生物学信息^[6, 10]。然而, 应用温度敏感型培养皿获得细胞膜片亦具有诸多不足: 首先, 这种由 PIPAAm 包被的温度敏感型培养皿至少需要 40 min 的 20 °C 低温环境来获取细胞膜片, 相对费时; 其次, 对一些较敏感的细胞系来说, 通过温度变化来获取细胞膜片可能会对细胞的基因表达及细胞功能产生一定影响; 再者, 制备 PIPAAm 包被的温度敏感型培养皿需要电子束辐射设备或气相聚合装置, 而这些设备在一些生物实验室中并不常用, 且包被过程复杂, 需要特殊的材料, 因而不利于其大规模普及^[12-13]。因此, 目前有研究者正尝试通过对 PIPAAm 修饰改性以期可更快、更高效地收获细胞膜片^[14]。

二、细胞膜片与 3D 组织构建

目前应用温度敏感型培养皿只可获得单张 2D 的细胞膜片。2D 的细胞膜片在少部分组织器官(如角膜) 修复中具有较大优势, 而对于大多数组织器官特别是富细胞的组织器官(如心脏、肝、膀胱和肾脏等) 常需要应用 3D 组织来修复。细胞膜片因含有丰富的 ECM、层粘连蛋白及纤连蛋白, 故而无需缝合便可紧密贴附在其他细胞膜片、器官组织及生物医学材料表面, 且膜片内细胞可被其自身分泌的 ECM 固定很少流失, 以上特性为多张细胞膜片复合而形成富细胞的 3D 组织提供了良好基础^[10, 15]。且基于细胞膜片叠加形成的 3D 组织与单张 2D 的细胞膜片相比, 3D 组织可更好地模拟体内组织的生长条件, 应用 3D 组织行组织修复可更有效地促进组织再生, 提高组织功能及治疗效果^[4, 10, 16]。此外, 由不同细胞分别形成的细胞膜片可按预设的结构层次先后完成叠加以有望实现组织器官的仿生构建和修复。如 Zhou 等^[16] 分别将脂肪干诱导成肌膜片、成纤维细胞膜片及口腔黏膜上皮细胞膜片依次叠加而构建了具有黏膜层、黏膜下层及平滑肌层的 3D 仿生尿道组织, 将其用于尿道的修复重建获得良好效果, 实现了组织器官的仿生修复。因此, 基于细胞膜片叠加形成的 3D 仿生组织在组织工程中具有更大的应用潜能。

通过细胞膜片叠加虽可形成 3D 组织, 但如何在叠加形成的 3D 组织内构建血管网络以促使其在植入体内后可尽快地与宿主的血管系统建立血运联系而不影响其存活是基于细胞膜片技术构建 3D 组织面临的重要挑战^[1, 17]。通常单纯细胞膜片不会自行生成血管, 内皮细胞(endothelial cell, EC) 对于促进 3D 组织中新血管再生起着关键作用^[18-19]。Sasagawa 等^[19] 应用“三明治法”将人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cells, HUVECs) 间置在 5 层成肌细胞膜片间, 在体外培养环境中, HUVECs 会以出芽方式在组织内形成血管网络。将 5 层成肌细胞膜片植入裸鼠皮下发现, 成肌细胞膜片内的内皮血管网络会与宿主的血管建立血运联系进而支持体外构建的 3D 组织的存活。此外, 心肌细胞与 EC 共培养形成膜片后再叠加或成纤维细胞与 EC 分别形成膜片后再叠加也可构建血管化的 3D 组织^[10, 20]。结合细胞膜片技术构建血管化的 3D 组织, 是一项具有巨大潜力的组织工程血管化新策略^[17-18, 21], 更有利于其在植入体内后的早期存活, 促进组织器官修复和改善器官功能。

三、细胞膜片技术在组织修复中的应用

目前细胞膜片技术较多地被应用于角膜、食管、牙周韧带及心脏等组织修复中, 且单张细胞膜片已被临床应用于角膜、食管的修复, 多张细胞膜片亦被应用到心肌、牙周及软骨组织的修复, 证实了细胞膜片技术在组织修复中的潜在临床应用价值。

当单侧眼角膜缘干细胞出现病变时, 另一侧的角膜缘干细胞可用于病变侧眼的修复, 但存在对健侧眼角膜缘干细胞造成损伤的风险。当双侧眼角膜缘干细胞均出现病变时, 可采用口腔黏膜上皮细胞膜片进行修复。口腔黏膜上皮细胞膜片含有干细胞或祖细胞样细胞, 可抑制角膜内的炎症反应, 恢复角膜的清洁和平滑^[1]。在临床应用中, Nishida 等^[22] 将自体的口腔黏膜上皮细胞膜片用于 4 例双侧眼角膜缘干细胞缺陷的患者获得了良好的治疗效果。临床试验的成功正促使细胞膜片的产品化获得市场授权^[23]。

细胞膜片技术在扩张性心肌病及缺血性心肌病导致的严重心衰中亦具有重要的应用价值。Sawa 等^[24] 报道了 1 例应用成肌细胞膜片治疗扩张性心肌病需左室辅助系统(left ventricular assist system, LVAS) 支持的患者, 他们将 20 张成肌细胞膜片分 5 处贴附(每处贴附 4 张叠加的成肌细胞膜片) 在左心室的前壁和侧壁上, 3 个月后发现成肌细胞膜片提高了心脏功能, 使心衰导致的症状完全消失, 患者亦无需 LVAS 支持。在一项同样应用成肌细胞膜片修复鼠心肌梗死模型的研究中发现, 成肌细胞膜片可通过旁分泌多种生长因子来提高病变心脏的功能, 并减少缺血性心肌纤维化^[25]。据此推测, 成肌细胞膜片在临床应用中改善扩张性心肌病患者心脏功能的机制应该也与成肌细胞膜片的旁分泌效应相关^[1]。

内镜下黏膜切除(endoscopic submucosal dissection,

ESD) 是治疗早期浅表性食管癌的有效措施,然而在食管黏膜切除范围较大时可出现炎症反应和食管狭窄等并发症。经基础研究证实,口腔黏膜上皮细胞膜片贴附在行ESD术后的基底组织创面上可有效减少食管狭窄的发生^[26]。Ohki等^[7]将口腔黏膜上皮细胞膜片贴附在10例行ESD患者的基底组织创面上证实了同样的结果。新近研究发现,应用皮肤表皮细胞膜片同样可有效减少术后食管狭窄的发生,为防止ESD术后食管狭窄的发生提供了新的组织来源^[27]。

综上所述,细胞膜片技术自诞生以来获得了突飞猛进的发展,而且在心脏、食管和角膜修复方面已经积累了相应临床经验。除此以外,应用牙周组织细胞膜片促进牙周组织再生及应用软骨细胞膜片修复骨关节炎导致的软骨缺损的临床试验亦在进行中^[1,8]。随着细胞膜片技术研究的深入,越来越多的器官病变或组织缺损可应用细胞膜片技术进行修复,细胞膜片技术在修复组织缺损或改善器官功能方面具有巨大的临床应用潜能。

四、细胞膜片技术应用新领域

目前细胞膜片技术在心脏、食管、角膜、牙周及软骨等组织工程领域报道较多。随着细胞膜片技术应用领域的不断拓展,近年来一些较少见组织器官的病变亦开始应用细胞膜片技术来修复。

中耳炎术后导致的中耳黏膜缺损会导致鼓膜回缩和粘连的复发,如果可在骨的表面尽快地使上皮再生,可有效防止术后鼓膜粘连。Yaguchi等^[28]采用自体中耳黏膜细胞膜片修补新西兰大白兔中耳炎手术后造成的黏膜缺损和骨暴露,不仅可恢复中耳黏膜连续性,还可有效抑制术后肉芽组织生长和骨质增生,减少手术并发症。然而中耳黏膜取材相对较难,且在临床工作中不宜将健侧耳黏膜切除去修复患侧耳黏膜缺损。Yamamoto等^[29]研究发现将鼻黏膜上皮细胞膜片覆盖在中耳炎术后导致的骨暴露处同样可抑制骨质增生,增大鼓室容积,促进中耳上皮恢复,为鼻黏膜上皮细胞膜片在中耳炎手术中的应用奠定了基础。与中耳黏膜相比,鼻黏膜取材创伤对机体功能影响较小,且鼻黏膜上皮特点与中耳黏膜上皮类似,更适于临床推广,因此鼻黏膜上皮细胞膜片在中耳炎术后防止鼓膜粘连方面具有更大的应用潜能。细胞膜片除了可防止中耳炎术后导致的鼓膜粘连,其在防止宫腔粘连及腹腔粘连方面亦有相关报道^[30-31]。

近年来细胞膜片在治疗胸膜瘘方面亦有相关报道。如Kanzaki等^[32]将猪皮肤成纤维细胞膜片贴附在脏胸膜破损处可使胸膜瘘立即关闭。4周后发现成纤维细胞膜片仍贴附在胸膜表面,并可随着肺通气造成的肺容量变化而发生扩张和收缩,从而为胸膜缺损提供了新的有效闭合措施。另外,有学者证明成肌细胞膜片在胰瘘及胃穿孔闭合方面亦有潜在的应用价值^[33-34]。

除可修复组织缺损外,细胞膜片技术在促血管化构建、疾病机制研究及肿瘤模型构建方面亦有相关报道。如Kato

等^[35]将脂肪干细胞膜片贴附在2型糖尿病大鼠头部全厚皮肤缺损创面上,脂肪干细胞膜片可通过分泌多种促血管生成因子来促进创面组织的血管化进而促进人造皮肤的存活。Chen等^[36]发现将脐静脉内皮细胞以20 000/cm²密度种植在人间充质干细胞膜片上并在常氧环境下(20% O₂)培养1周可获得预血管化的间充质干细胞膜片,与单纯间充质干细胞膜片相比,其分泌生长因子更多,促缺损组织创面血管床优化更明显,进而也可使贴附其上的自体中厚皮片挛缩更少。Sekine等^[37]将新生大鼠的心肌细胞膜片环形包绕在切除下来的成年大鼠胸主动脉,使其黏附并形成心肌管道,再将该心肌管道替代裸鼠的腹主动脉。4周后发现该心肌管道可自发地节律性搏动,使心肌管道内产生约(5.9 ± 1.7) mmHg的压力(1 mm Hg = 0.133 kPa),并且血流的机械压力会使血管外的心肌细胞发生肥大和增生。这种体外细胞膜片技术构建的心肌管道不仅可为心衰的机制研究提供帮助,更为心脏支持设备研究提供了一种新的途径。另外,细胞膜片技术在肿瘤模型构建方面亦有相关应用。如Suzuki等^[38]发现与传统的单纯癌细胞悬液皮下注射成瘤相比,肿瘤细胞膜片移植成瘤速度更快,且同等时间内成瘤体积更大,因而可为肿瘤模型构建、新药研发及抗肿瘤治疗研究提供新思路。

五、总结

尽管细胞膜片技术在保留细胞表面蛋白、胞间连接、ECM、细胞与细胞间及细胞与ECM间相互作用方面具有较多优势,但目前仍存在一些不足之处:第一,单张细胞膜片相对薄,易碎,机械性能欠佳,易卷缩,转移和运输较困难,难以直接移植,常需使用一定的运载辅助工具完成移植;第二,细胞膜片培养周期较长,文献报道7~28 d不等,培养成本较高,且在培养过程中只换液不传代,细胞状态难以质量控制,难以满足大规模生产满足临床应用;第三,单纯细胞膜片通常不会自行生成血管,对于多层细胞膜片用于修复较大的富细胞的组织缺损时,常需构建预血管化的组织并采用多次手术的方式以保证其移植修复后的营养供给,多次手术创伤较大,不利于临床应用推广;第四,细胞膜片难以塑形,如需修复特定形态的组织缺损常需将细胞膜片技术与支架材料相结合,而支架材料的降解不利于细胞的存活及移植修复部位的组织学优化,如何将细胞膜片有效塑形亦是其在组织工程研究中面临的又一挑战。

细胞膜片技术在组织工程中的应用研究方兴未艾,且有些研究已经进入到临床阶段。与传统组织工程技术相比,基于细胞膜片技术构建的组织保留了更多的生物学信息,因此新的组织器官模型及肿瘤模型亦开始结合细胞膜片技术来进行构建。但应用细胞膜片技术构建血管化的大块组织及基于细胞膜片技术进行全器官的替代移植仍是非常遥远的事情,其需要细胞生物学、生物工程学、临床医学及商业部门的共同参与才有望早日实现其工业化进程。期待能有更

多的创新性手段融入到细胞膜片技术上来,以实现其工业化进程及全器官的替代移植。

参 考 文 献

- Owaki T, Shimizu T, Yamato M, et al. Cell sheet engineering for regenerative medicine: current challenges and strategies[J]. *Biotechnol J*, 2014, 9(7):904-914.
- 郭海林. 组织工程尿道重建从基础到临床应用的反思[J]. *现代泌尿外科杂志*, 2016, 21(2):152-155, 158.
- Takeuchi R, Kuruma Y, Sekine H, et al. *In vivo* vascularization of cell sheets provided better long-term tissue survival than injection of cell suspension[J]. *J Tissue Eng Regen Med*, 2016, 10(8):700-710.
- Masuda S, Shimizu T. Three-dimensional cardiac tissue fabrication based on cell sheet technology[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2016, 96:103-109.
- Rahmi G, Pidal L, Silva AK, et al. Designing 3D mesenchymal stem cell sheets merging magnetic and fluorescent features: when cell sheet technology meets Image-Guided cell therapy[J]. *Theranostics*, 2016, 6(5):739-751.
- Osada A, Sekine H, Soejima K, et al. Harvesting epithelial keratinocyte sheets from temperature-responsive dishes preserves basement membrane proteins and improves cell survival in a skin defect model[J]. *J Tissue Eng Regen Med*, 2017, 11(9):2516-2524.
- Ohki T, Yamato M, Ota M, et al. Application of regenerative medical technology using tissue-engineered cell sheets for endoscopic submucosal dissection of esophageal neoplasms[J]. *Dig Endosc*, 2015, 27(2):182-188.
- Iwata T, Washio K, Yoshida T, et al. Cell sheet engineering and its application for periodontal regeneration[J]. *J Tissue Eng Regen Med*, 2015, 9(4):343-356.
- Matsuura K, Utoh R, Nagase K, et al. Cell sheet approach for tissue engineering and regenerative medicine[J]. *J Control Release*, 2014, 190:228-239.
- Sakaguchi K, Shimizu T, Okano T. Construction of three-dimensional vascularized cardiac tissue with cell sheet engineering[J]. *J Control Release*, 2015, 205:83-88.
- Patel NG, Zhang G. Responsive systems for cell sheet detachment[J]. *Organogenesis*, 2013, 9(2):93-100.
- Juthani N, Howell C, Ledoux H, et al. Infused polymers for cell sheet release[J]. *Sci Rep*, 2016, 6:26109.
- 周末奎, 张楷乐, 王营, 等. 细胞膜片技术在组织工程中的应用与研究进展[J]. *中国组织工程研究*, 2016, 20(11):1630-1636.
- Sakuma M, Kumashiro Y, Nakayama M, et al. Preparation of thermoresponsive nanostructured surfaces for tissue engineering[J]. *J Vis Exp*, 2016, (109):e53465.
- Haraguchi Y, Shimizu T, Sasagawa T, et al. Fabrication of functional three-dimensional tissues by stacking cell sheets *in vitro*[J]. *Nat Protoc*, 2012, 7(5):850-858.
- Zhou S, Yang R, Zou Q, et al. Fabrication of Tissue-Engineered bionic urethra using cell sheet technology and labeling by ultrasmall superparamagnetic Iron oxide for Full-Thickness urethral Reconstruction[J]. *Theranostics*, 2017, 7(9):2509-2523.
- Moschouris K, Firoozi N, Kang Y. The application of cell sheet engineering in the vascularization of tissue regeneration[J]. *Regen Med*, 2016, 11(6):559-570.
- 陈佳, 马东洋, 任利玲. 细胞膜片技术在构建工程化血管化组织中的应用进展[J]. *中国修复重建外科杂志*, 2015, 29(3):368-371.
- Sasagawa T, Shimizu T, Sekiya S, et al. Design of prevascularized three-dimensional cell-dense tissues using a cell sheet stacking manipulation technology[J]. *Biomaterials*, 2010, 31(7):1646-1654.
- Asakawa N, Shimizu T, Tsuda Y, et al. Pre-vascularization of *in vitro* three-dimensional tissues created by cell sheet engineering[J]. *Biomaterials*, 2010, 31(14):3903-3909.
- Laschke MW, Menger MD. Prevascularization in tissue engineering: Current concepts and future directions[J]. *Biotechnol Adv*, 2016, 34(2):112-121.
- Nishida K, Yamato M, Hayashida Y, et al. Corneal Reconstruction with tissue-engineered cell sheets composed of autologous oral mucosal epithelium[J]. *N Engl J Med*, 2004, 351(12):1187-1196.
- Burillon C, Huot L, Justin V, et al. Cultured autologous oral mucosal epithelial cell sheet (CAOMECS) transplantation for the treatment of corneal limbal epithelial stem cell deficiency[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2012, 53(3):1325-1331.
- Sawa Y, Miyagawa S, Sakaguchi T, et al. Tissue engineered myoblast sheets improved cardiac function sufficiently to discontinue LVAS in a patient with DCM: report of a case[J]. *Surg Today*, 2012, 42(2):181-184.
- Sawa Y, Miyagawa S. Present and future perspectives on cell sheet-based myocardial regeneration therapy[J]. *Biomed Res Int*, 2013, 2013(3):583912.
- Ohki T, Yamato M, Murakami D, et al. Treatment of oesophageal ulcerations using endoscopic transplantation of tissue-engineered autologous oral mucosal epithelial cell sheets in a canine model[J]. *Gut*, 2006, 55(12):1704-1710.
- Kanai N, Yamato M, Ohki T, et al. Fabricated autologous epidermal cell sheets for the prevention of esophageal stricture after circumferential ESD in a porcine model[J]. *Gastrointest Endosc*, 2012, 76(4):873-881.
- Yaguchi Y, Murakami D, Yamato M, et al. Middle ear mucosal regeneration with three-dimensionally tissue-engineered autologous middle ear cell sheets in rabbit model[J]. *J Tissue Eng Regen Med*, 2016, 10(3):E188-E194.
- Yamamoto K, Hama T, Yamato M, et al. The effect of transplantation of nasal mucosal epithelial cell sheets after middle ear surgery in a rabbit model[J]. *Biomaterials*, 2015, 42:87-93.
- Kawanishi K, Yamato M, Sakiyama R, et al. Peritoneal cell sheets composed of mesothelial cells and fibroblasts prevent intra-abdominal adhesion formation in a rat model[J]. *J Tissue Eng Regen Med*, 2016, 10(10):855-866.
- Kuramoto G, Takagi S, Ishitani K, et al. Preventive effect of oral mucosal epithelial cell sheets on intrauterine adhesions[J]. *Hum Reprod*, 2015, 30(2):406-416.
- Kanzaki M, Yamato M, Yang J, et al. Functional closure of visceral pleural defects by autologous tissue engineered cell sheets[J]. *Eur J Cardiothorac Surg*, 2008, 34(4):864-869.
- Tanaka S, Kanetaka K, Fujii M, et al. Cell sheet technology for the regeneration of gastrointestinal tissue using a novel gastric perforation rat model[J]. *Surg Today*, 2017, 47(1):114-121.
- Tanaka T, Kuroki T, Adachi T, et al. Development of a novel rat model with pancreatic fistula and the prevention of this complication using tissue-engineered myoblast sheets[J]. *J Gastroenterol*, 2013, 48(9):1081-1089.
- Kato Y, Iwata T, Morikawa S, et al. Allogeneic transplantation of an Adipose-Derived stem cell sheet combined with artificial skin accelerates wound healing in a rat wound model of type 2 diabetes and

- obesity[J]. *Diabetes*, 2015, 64(8):2723-2734.
- 36 Chen L, Xing Q, Zhai Q, et al. Pre-vascularization Enhances Therapeutic Effects of Human Mesenchymal Stem Cell Sheets in Full Thickness Skin Wound Repair[J]. *Theranostics*, 2017, 7(1):117-131.
- 37 Sekine H, Shimizu T, Yang J, et al. Pulsatile myocardial tubes fabricated with cell sheet engineering[J]. *Circulation*, 2006, 114(1 Suppl):I87-I93.
- 38 Suzuki R, Aruga A, Kobayashi H, et al. Development of a novel in vivo cancer model using cell sheet engineering[J]. *Anticancer Res*, 2014, 34(9):4747-4754.

(收稿日期: 2017-08-31)

(本文编辑: 陈媛媛)

郭海林, 贾智明, 鲍星奇, 等. 细胞膜片技术在组织工程中的应用 [J/CD]. 中华细胞与干细胞杂志(电子版), 2017, 7 (6): 351-355.

