

3D生物打印实用化脚步渐近

■本报记者 李惠钰

3D打印器官组织模型并非难事,但要想打印出具有生物活性的器官组织却不简单。不过,美国维克森林大学再生医学研究所最新研发出的改进版3D生物打印机或许可以化繁为简。

该校研发的“一体式组织—器官打印系统”(ITOP)可以在打印出的组织内部构造微型通道。在器官的初步成长中,这些微型通道可以提供血管的功能,使营养物质和氧分子抵达器官内部的细胞。

“这一打印机可以制造出稳定、符合人体尺寸的任何形状的组织。未来,这一技术将可以打印活体组织和器官结构,用于器官移植手术。”项目负责人安东尼·阿塔拉说。

不过,微通道离真正意义上的血管还有很大距离,但ITOP的各种技术突破仍然给3D生物打印带来更多思路。

多项技术获突破

3D生物打印机是一种以生成具有功能性的组织和器官为目标,可以按分层图样打印细胞的机器。然而,很多此类产物在结构上都不稳定,以至于无法进行手术植入。另外,由于很多打印产物缺乏血管,它们的大小受到营养物质和氧气的扩散限制,所以只能做到200微米左右,这样的尺寸对于制作人体组织和器官来说都太小。

阿塔拉研究团队为解决上述问题,把细胞和可生物降解的聚合物材料一起打印,聚合物材料在新形成的组织成熟之前,提供了机械强度。为了克服尺寸限制从而打印出足够大的组织,研究团队还在打印构建体的设计中融合了微通道,这样养分和氧气可以输送到打印出的结构中任何部位的细胞中。

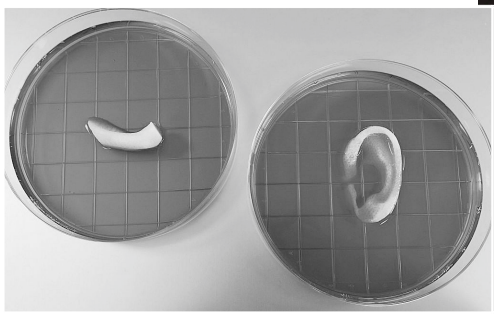
在中国科学院物理研究所—重庆大学生物3-D打印联合研发团队的负责人刘雳宇看来,ITOP最突出的优势就是集中整个打印过程于一体,实现了细胞与骨架的同时打印。

“现在3D生物打印是先打出结构,再注入细胞,而ITOP可以实现细胞合并材料的同时打印,并保证了细胞的存活性。这样的话,整个结构就成为一个动态的活性结构,细胞会在里面不停地生长,并最终发展成我们所设计的器官或组织的样子,这是一个很大的突破。”刘雳宇对《中国科学报》记者分析称。

为了测试打印效果,研究团队将3D打印的“耳朵”植入在小白鼠皮下,两个月后,植入的耳朵不仅保持形状,还生成了适当的软骨组织。而另一部分打印并移植的肌肉组织,仅用了两周时间,就在小白鼠体内引起神经形成。

在刘雳宇看来,没有生物活性就不是真正意义上的生物打印。ITOP利用构造出的微通道为细胞存活提供必需的营养,并从临床上证明了其打印出来的结构具备生物兼容性,不

“3D生物打印的一些前瞻性研究和个体实例出现是好事,但在植入人体前还要做大量实验、积累并分析大量数据,要做的事情还有很多。”



会有排异反应,这是一个令人振奋的成果。

不仅如此,刘雳宇还表示,利用已有成像技术3D扫描形成打印所需数字模板、多喷头协同工作、利用不同打印方式和培养环境来控制细胞分化和组织,这些都是ITOP对比现有3D生物打印所具备的强劲特色。

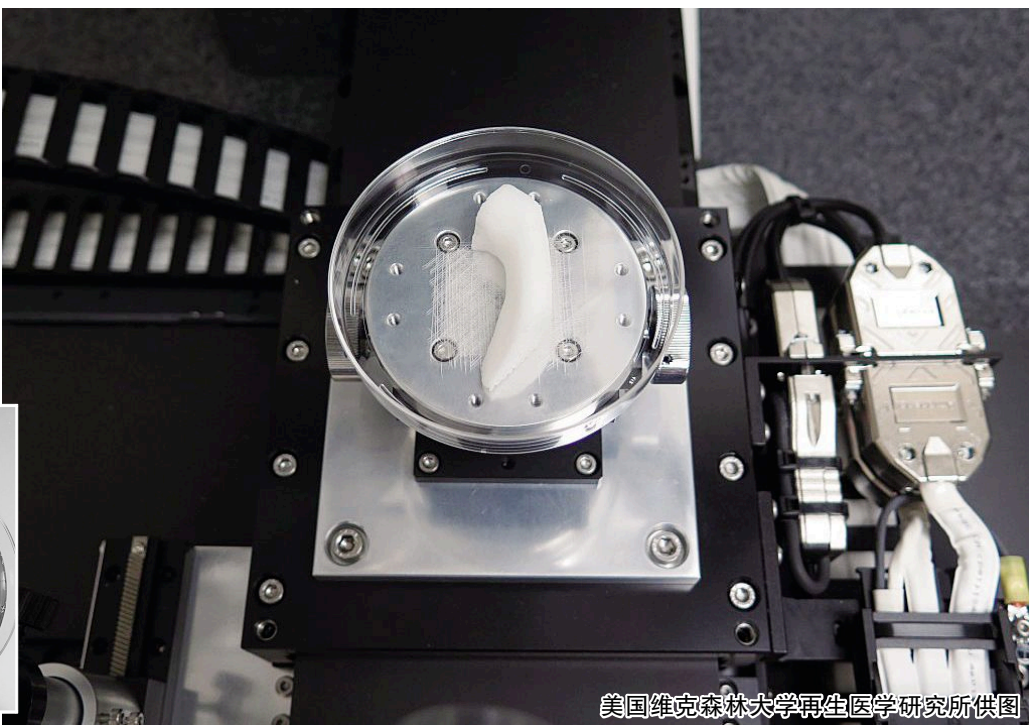
血管打印是难点

虽然研究人员在试验中使用人类细胞及兔子、老鼠等动物的细胞进行人造器官组织打印,都取得了不错的效果,但正如阿塔拉所述:“目前,这项技术还处于早期试验阶段,须进一步改善。”

重庆大学教授刘如川表示,ITOP只是尝试了几类组织/器官的打印,虽然在一定程度上利用了细胞自发行,并知道这几类组织/器官3D打印及后续培养条件,但没有完全掌控其中的细胞分化或组织机制,对于其他组织/器官仍需大量实验摸索条件。

另外,ITOP只是打印出了一些微通道,并没有涉及到组织/器官中所需的血管的打印,离真正意义上的血管/毛细血管还有艰难的一大步要走。

“血管有很多功能,第一要有弹性,第二能够交换很多营养和物质,所以血管打印是一个难点。”刘如川说,“文章中虽然粗浅地提到有血管生成,但是不是水凝胶材料能够诱导血管生长,目前并不确定。”



美国维克森林大学再生医学研究所供图

不仅如此,刘如川称,ITOP还没有涉及到心脏(及其他循环系统中的组织)、大脑(神经网络)、呼吸系统中的肺泡等,所有这些都与管道、网络相关,也是3D生物打印的终极目标,ITOP要想搞得3D生物打印的“皇冠”还很困难。

中国科学院动物研究所研究员赵同标则对《中国科学报》记者表示,细胞来源也是3D生物打印非常重要的方面。成体干细胞将是主要方向,而不能去用一些未端成熟的细胞。成体干细胞在生物材料上还能继续发育分化,形成未端成熟的细胞与组织器官一致,如果应用于人体内,很可能会形成统一的功能整合体。

另外,如何像上帝之手一样设计器官,并控制细胞长成我们精准预料的器官,也是3D生物打印未来的突破点。“这就像蒸馒头,虽然做的时候是一个小点,但蒸出来的馒头要跟我想象的大小、形状一模一样,这就是难点。”刘雳宇形象地比喻。

刘雳宇表示,未来,3D生物打印更多的是要与临床相结合用于疾病的治疗,组织修复无疑是其大方向之一。除此之外,利用3D打印在体外做出个体病人病变组织模型,来进行病变机制研究(比如癌症侵袭及预测)、药物筛选等,实现针对不同个体的精准医疗,也将是主要研究方向。

“3D生物打印跟其他打印不一样,未来不一定要实现大规模的生产,而是更趋向于个体化、精准化,因此不需要在成本上太过纠结。当然它一定要安全有效,因为它跟人的生命息息相关。”刘雳宇补充道。

“3D生物打印能否取得突破关键取决于材料。”刘雳宇将大部分精力集中到材料研究上,在他看来,3D生物打印的材料决定了细胞

在里面到底能够存活多久,“目前研究人员大多集中在水凝胶材料上,其实最理想的材料是长完之后不会留任何残余,而是跟人体完全融合的材料。”

中国科学院动物研究所研究员赵同标则对《中国科学报》记者表示,细胞来源也是3D生物打印非常重要的方面。成体干细胞将是主要方向,而不能去用一些未端成熟的细胞。成体干细胞在生物材料上还能继续发育分化,形成未端成熟的细胞与组织器官一致,如果应用于人体内,很可能会形成统一的功能整合体。

另外,如何像上帝之手一样设计器官,并控制细胞长成我们精准预料的器官,也是3D生物打印未来的突破点。“这就像蒸馒头,虽然做的时候是一个小点,但蒸出来的馒头要跟我想象的大小、形状一模一样,这就是难点。”刘雳宇形象地比喻。

刘雳宇表示,未来,3D生物打印更多的是要与临床相结合用于疾病的治疗,组织修复无疑是其大方向之一。除此之外,利用3D打印在体外做出个体病人病变组织模型,来进行病变机制研究(比如癌症侵袭及预测)、药物筛选等,实现针对不同个体的精准医疗,也将是主要研究方向。

“3D生物打印跟其他打印不一样,未来不一定要实现大规模的生产,而是更趋向于个体化、精准化,因此不需要在成本上太过纠结。当然它一定要安全有效,因为它跟人的生命息息相关。”刘雳宇补充道。

酷技术



图片来源:百度图片

智能手机变身3D打印机

智能手机几乎占据了我们生活的方方面面,我们大多数时间都在打开网络链接、刷新朋友圈或者听电脑精选的歌曲播放。很快我们将可以使用自己的手机设备打印3D物体。

台湾科技研究团队是由台湾科技机械工程的一位教授Jeng Ywam-Jeng带领的,其研发出的3D打印机被称作“台湾科技手机打印机”,其最大的特点就是可以用智能手机或者平板电脑上的可见光来一层层固化树脂。

与典型的环绕式3D打印机不同,这款基于手机的打印设备可以在露天打印物体,只需把它放在阴暗角落里即可。一个外层镀上独特树脂的大桶被放在智能手机上方,这使得手机发出的光位于大桶上方打印平台上的物质变硬。随着每一层逐渐变硬,这个平台逐渐上升直到打印物体的过程结束。台湾科技的3D打印机已经能够打印一个100微米

厚的中空球。

这并不是首次在3D打印领域里提到智能手机。意大利快速成型公司Solido3D去年10月发布了基于手机的3D打印机OLO,Solido3D尚未发布OLO工作原理的细节。

利用全世界20亿人正在使用的手机设备进行3D打印真是颇具独创性的想法。然而,无论制造商是谁,手机并不能保证这种新型3D打印机的打印水平与其他3D打印机的一样。“智能手机的光非常微弱,因此它的打印速度比其他聚合打印机的速度更慢。但我们仍在努力解决这个问题,近期似乎已经取得一些颇具前景的进展。”台湾科技研究助理Hanhsuan Lee这样表示,“有一名教授研发出一款每两秒即可打印一层的数字光处理打印机,我们目前正在努力开发新的程序,使得智能手机的光变得更加强大。”(陶朵朵整理)

甲状腺球蛋白与降钙素检测改善甲状腺癌患者诊疗

■高莹莹

随着临床研究进展,甲状腺球蛋白(Tg)和降钙素(Calcitonin)等血清肿瘤标志物在分化型甲状腺癌(DTC)、甲状腺髓样癌(MTC)等鉴别诊断、治疗监测、术后评估及随访中的重要价值已被逐渐认可。日前,在北京举办的肿瘤标志物大师班交流会上,西班牙巴塞罗那临床医院生化实验室癌症研究中心主任Rafael Molina教授分别就Tg和Calcitonin在DTC与MTC患者诊疗中的临床应用进行了分享交流。

规范化Tg检测改善DTC诊疗管理

作为一种激素原,Tg在帮助合成甲状腺激素T4和T3中起到重要作用,是甲状腺组织特有的生物标志物,是DTC最关键的血清学指标。国际上,甲状腺癌相关欧洲共识和美国指南均认可Tg在DTC鉴别诊断、复发情况的早期诊断、治疗监测和预后评估方面的作用。

DTC的治疗可采取全/近全甲状腺切除术,并在术后选择性进行放射性¹³¹I治疗,促甲状腺激素(TSH)抑制治疗。如诊断较早,且DTC预后情况良好,死亡率可以控制在10%以下。随访期间可根据DTC患者复发危险度,选择性应用血清基础Tg或TSH刺激后的Tg检测。对已清除全部甲状腺(手术和¹³¹I治疗后)的DTC患者,术后每6个月需要检测血清Tg和TgAb水平,并沿用同一种检测方法以确保检测结果的可比性。如在血清中检测到Tg,往往提示DTC病灶残留或复发可能,可将TSH抑制状态下基础Tg > 1ng/mL、TSH刺激后的Tg > 2ng/mL设定为截断值。对Tg有持续升高的患者,应考虑甲状腺组织或肿瘤生长复发的可能性,并结合颈部超声等其他检查进一步评估。

血清Tg的浓度主要由三个因素决定:已有的甲状腺分化组织的大小、甲状腺的损伤程度(如外伤及炎症等)及激素影响(如TSH、人绒毛膜促性腺激素hCG及TSH受体抗体TgAb等)。Molina教授指出:“因TSH水平是血清Tg浓度的主要调节物,不了解患者TSH状态很难

解释血清Tg值。当过量抗原超过抗体结合能力,会发生钩状效应(hook effect),导致血清Tg浓度过高(> 1000 ug/L)时,检测结果反而明显偏低。建议使用二步法以尽量避免钩状效应。”

此外,因受碘摄取影响,血清Tg参考范围具有地区敏感性。选择受体对象进行正常Tg参考范围评估时还应考虑:是否有吸烟史、甲状腺疾病的个人或家族史、出现甲状腺自身抗体(TgAb和/或TPOAb)、出现甲状腺功能紊乱(血清TSH水平< 0.5mU/L或> 2.0mU/L)等。而甲状腺炎、甲状腺功能亢进和甲状腺腺瘤导致的假阳性也会使其水平发生变化。

目前,大多数实验室采用的都是比较先进的免疫分析法,其中,相较于放射免疫分析(RIA),酶免疫分析检测(EIA)具有更短的孵化周期、更大的血清水平动态变化范围,以及更稳定的试剂,因此使用频率更高。若DTC患者中检测到Tg自身抗体TgAb,会影响Tg免疫分析法检测值,尚无检测方法可保证不受其干扰。

Molina教授表示:“临床上,Tg检测应参照CRM-457国际标准,但不同方法检测血清Tg浓度时仍有较大差别。实验室在改变Tg检测方法前必须通知临床医师,以便对DTC患者重新设立基线。同时,利用超敏感方法提高检测的功能敏感性,达到尽可能低的浓度表达,理想标准为小于0.2ng/mL。”

罗氏诊断新一代Elecsys® Tg II检测改进了阴性预测值,灵敏度达到0.04 ng/mL,能够尽量减少TSH刺激后的Tg检测,极大减轻患者负担。

动态监测Calcitonin和CEA辅助MTC诊断与随访

当前,外科手术是MTC的主要治疗手段,但MTC通常无典型症状,术前评估肿瘤侵犯的程度对选择手术时机非常重要。2015年美国甲状腺协会(ATA)指南推荐血清Calcitonin及癌胚抗原(CEA)的联合检测,其对MTC早期

诊断、治疗监测、判断手术效果和观察肿瘤复发等具有重要意义。

Calcitonin在人体中由甲状腺滤泡旁C细胞产生,其主要功能与甲状腺旁激素(PTH)作用相反,两者共同作用以调节血钙浓度相对稳定。“作为MTC特异性的肿瘤标志物,Calcitonin可作为MTC诊断及判断手术疗效和术后复发的指标。”Molina教授指出,“须注意,在桥本甲状腺炎、良性C细胞增生、高血钙、慢性肾功能衰竭等某些良性疾病以及奥美拉唑和糖皮质激素治疗中,Calcitonin水平也会有所升高。”

Calcitonin基线水平能够鉴别诊断MTC和C细胞增生。术前Calcitonin基础水平提示了肿瘤的负荷量,预示着淋巴结转移程度。ATA指南提出,应根据Calcitonin的水平决定颈淋巴结清扫范围,当Calcitonin水平大于200pg/mL时,提示100%有MTC存在,建议进行双侧预防性的颈淋巴结清扫;当血清Calcitonin为100~200pg/mL时,则提示可能存在MTC。因此,对甲状腺结节患者进行血清Calcitonin筛查有利于早期诊断MTC。Molina教授表示:“Calcitonin同时可作为术后病灶残留或复发的预测因子,在全部甲状腺切除后,Calcitonin水平持续升高则说明有残余肿瘤组织形成,术后Calcitonin激发试验亦可帮助评估肿瘤切除的彻底性。”

ATA指南指出,MTC术后患者血清Calcitonin水平倍增时间反映了病变进展程度,与肿瘤预后密切相关。当倍增时间少于6个月时,患者5年及10年的生存率分别为25%及8%;若为6~24个月,患者生存率为92%及37%;而超过24个月时,生存率将近100%。指南建议凡是术后Calcitonin水平高于正常的患者,每半年应进行Calcitonin检测并计算倍增时间。

罗氏诊断Elecsys® Calcitonin检测已于2014年正式在中国上市,凭借良好的灵敏性可在体内低浓度Calcitonin时仍提供检测结果,使检测和随访数据更加可靠。其检测试剂通用于cobas平台,具有优良的批间稳定性,更加有利于MTC患者的长期监测。

欧盟出台限制基因测试新政策

最近,欧盟出台限制基因测试新政策。这可能缩小了基因测试的应用场景。

医学研究者们并不支持这一限制。一些研究人员聚集在一起并表达了他们的意见。他们认为这个提案会限制基因测试的可用性,不利于社会发展。

基因测试是指通过实验方法来查看一个人的基因(带有遗传信息的DNA)。它可以用来诊断遗传性疾病、扫描产生特定健康问题的风险、选择治疗方法或者评估治疗的反应。基因测试一般通过血液或者组织样品进行,根据测试结果进行咨询讨论形成最佳做法。

根据英国医学研究理事会,欧盟认为基因测试重绘了包括体外诊断设备在内的所有医疗设备的制造和销售规则。这覆盖了从糖尿病和家庭妊娠检测的血糖监测套件到复杂的医院化验。

新规定草案提议只有专业的医疗专家才可以进行基因测试,同时处方需要签字。一些科学家担心这会阻止医疗专家在婴儿出生时采取血样检测遗传性疾病。还有人担心这些限制会阻碍疾病的研究。

基因检测可以检测的基因突变包括:由于体内外各种因素使基因特定的DNA序列的碱基组成或排列顺序发生改变,导致DNA一级结构发生改变。

基因检测主要检测基因序列的各种改变,包括单个碱基的改变,即单核苷酸变异(SNV),大或小序列片段的插入和缺失(DNA序列插入/缺失一个或多个核苷酸),DNA序列片段的插入和缺失(DNA序列插入/缺失一个或多个核苷酸的突变),序列片段的拷贝数变异,序列的结构变异,动态突变等等,目前最主要的检测突变类型是单核苷酸变异(SNV),插入和缺失突变(InDel)和拷贝数变异(CNV)。

“10万基因组计划”是这种研究的一个例子。这是一个复杂的、具有挑战性的项目,可以在将来帮助英国国民保健服务(NHS)提供给需要的病人更多的基因组药物。这项计划由英国政府于2012年发起,并由一个名为英国基因组的国有公司负责实施,旨在对英国国民医疗保健制度(NHS)记录中的10万名病人的完整基因组进行测序。

据“10万基因组计划”官网介绍,其目标是根据基因组学和临床数据制定个性化的癌症和罕见疾病疗法,并使NHS成为“世界上第一个将提供基因组医学作为日常护理一部分的主流健康服务体系”。这个项目的另一个目的是创造包括癌症在内的临床记录序列数据的国家资源。这表明欧盟需要重新审视这个提案。

(陶朵朵)