

评述与展望

Review and Progress

ECM 支架与软骨修复

付晶^{1,2} 褚文辉¹ 张伟¹ 张爱武² 马丽娟² 李春义^{1*}

1 中国农业科学院特产研究所, 长春, 130112; 2 吉林农业大学中药材学院, 长春, 130118

* 通讯作者, lichunyi1959@163.com

摘要 细胞外基质(extracellular matrix, ECM)支架是含有很多生物活性分子的天然生物材料,可以维持组织内稳态并诱导组织再生。ECM 支架最大的优势是其可降解,且不会引起免疫排斥。目前,临床应用中 ECM 支架已经成功用于心血管、软骨组织等重建。软骨组织工程中,利用 ECM 支架进行修复的软骨组织具有结构稳定,低免疫原性,生物可降解及天然成分保留完整等优势特点。本综述回顾了 ECM 支架的来源、制备方案,评述了其在软骨组织修复中的优势与前景,有助于 ECM 支架在未来更好地应用。

关键词 细胞外基质, 支架, 软骨修复

ECM Scaffold and Cartilage Reparation

Fu Jing^{1,2} Chu Wenhui¹ Zhang Wei¹ Zhang Aiwu² Ma Lijuan² Li Chunyi^{1*}

1 Institute of Special Animal and Plant Sciences, Changchun, 130112; 2 Medicinal Materials College of Jilin Agricultural University, Changchun, 130118

* Corresponding author, lichunyi1959@163.com

DOI: 10.13417/j.gab.036.000000

Abstract Extracellular Matrix (ECM) scaffold is a natural biological material that contain a lot of bioactive molecules. It can maintain the homeostasis of tissues and induce their regeneration. The biggest advantage of ECM scaffold is biodegradable, and it won't cause immune rejection. At present, ECM scaffold has been successfully used in the reestablishment of cardiovascular and cartilage tissue in clinic. The cartilage tissue repaired by using ECM scaffold has some advantageous features, such as its stable structure, low immunogenicity, biodegradable property, and its complete reservation of natural ingredients. This paper reviewed the source and preparation solution of ECM scaffold, and observed the advantages and prospect of cartilage reparation. It would contribute to the better application of ECM scaffold in the future.

Keywords Extracellular matrix, Scaffold, Cartilage repair

随着现代生活压力增大和老龄化社会的到来,年轻人群和老年人群关节软骨损伤问题愈发普遍,如不及时改善和修复,会导致软骨或骨软骨病变。发生缺损的软骨自然愈合时会形成纤维软骨,其功能和生物力学性能不如原来的透明软骨,这使得受损的软骨组织进一步恶化,从而引起恶性循环。延误治疗,受损关节会持续肿胀、疼痛,若进一步恶化,日常活动将会受到限制,最终发展成为骨关节炎(osteoarthritis, OA)。最后只能通过人工关节置换术进行

治疗。全球超过 1.51 亿人患有 OA (Lützner et al., 2009),这是难以克服的临床难题,同时也造成巨大的社会经济负担。

目前,针对这一临床难题已有多种软骨修复治疗技术,可概括为细胞疗法和手术置换疗法。细胞疗法包括自体软骨细胞移植(Brittberg, 2008) (autologous chondrocyte implantation)、基质诱导软骨细胞移植(Zheng et al., 2007) (matrix-induced autologous chondrocyte implantation)、间充质干细胞(mesenchymal

基金项目: 本研究由吉林省科技发展计划项目(20140204010YY)资助

引用格式: Fu J., Chu W.H., Zhang W., Zhang A.W., Ma L.J., and Li C.Y., 2017, ECM scaffold and cartilage reparation, *Jiyinzuxue Yu Yingyong Shengwuxue* (Genomics and Applied Biology), 36(9): 0000-0000 (付晶, 褚文辉, 张伟, 张爱武, 马丽娟, 李春义, 2017, ECM 支架与软骨修复, 基因组学与应用生物学, 36(9): 0000-0000)

stem cells)补充修复(微骨折法)(Steadman et al., 2002)。手术置换疗法是指更换关节接头内的受损组织,如同种异体骨软骨移植(Bugbee and Convery, 1999; Bugbee et al., 2012)、镶嵌式成形术(Hangody et al., 1998)。这些技术都取得了一定的临床效果,但对透明软骨的正常功能修复存在术后长期不确定性。为了进一步完善透明软骨的功能修复,新兴软骨组织工程疗法被视为良好的再生疗法。软骨组织工程修复透明软骨成功的关键在于良好的生物材料以及移植处内环境和移植材料或细胞(Vinatier et al., 2009)之间的最佳组合。目前用于软骨组织工程的生物材料可以大概分为两类:(1)天然生物材料,如胶原蛋白(Tohyama et al., 2009)、明胶(Shin et al., 2012)、纤维蛋白(Ahmed et al., 2011)及细胞外基质(extracellular matrix, ECM);(2)合成生物材料,如聚己酸内酯(PCL)(Jeong et al., 2012)和聚乳酸(PLA)(Oshima et al., 2009)。

通常情况下,合成材料拥有良好的生物力学强度,且可以通过改变聚合物组分来定制所需的特定属性。天然生物材料拥有良好的生物相容性,并且是生物可降解的材料,这与合成生物材料相比更具优势。例如,ECM 支架在体内特定的微环境下,可以与接种的种子细胞或自体移植处细胞动态互作,提供必要的力学支持和细胞生长发育所需因子。因此,合成材料尽管已有了很大的进步,但软骨组织这种复杂结构现阶段尚不能完全模拟。所以,天然 ECM 支架材料可能是软骨修复方法最佳选择之一。

1 ECM 支架

1.1 ECM 介绍

ECM 是活体组织和器官内细胞分泌的细胞外产物,ECM 作为细胞生长的微环境,在细胞粘附、增殖和分化方面起着重要作用(Badylak et al., 2011; Traverse, 2012)。ECM 主要由细胞外的结构和功能蛋白构成,其成分包含胶原、弹性蛋白、层粘连蛋白、蛋白聚糖等。而且,不同物种间,同一组织来源的 ECM 组分是保守的(Gilbert et al., 2006),可通过脱细胞技术获得。脱细胞方法包括化学法、物理法和酶解法,这些方法可以破坏组织或器官中的细胞结构。然后在保留 ECM 组分的同时,将细胞碎片从 ECM 中清除,达到脱细胞效果。脱细胞技术的最终目的是尽量移除所有的细胞组分,包括细胞膜、细胞器、胞内蛋白、糖脂及核酸等一切细胞内容物,且不影响 ECM 组

分的生物力学特性和生物学功能(员海超等, 2012)。

1.2 ECM 支架来源

在一定程度上,ECM 支架组分在同种和异种间是保守的,所以 ECM 支架没有组织特异性。其次,由于脱细胞技术去除了细胞表面抗原及细胞内一切组分,ECM 支架没有免疫原性,既可以用于同种移植也可以用于异种移植。综合评价,ECM 支架来源及应用领域极其广泛。

ECM 支架可来自于同种异体。例如,狗小肠粘膜下层 (small intestinal submucosa) ECM 支架已经成功修复了狗腓肠肌和跟腱之间的肌肉肌腱结合点(Turner et al., 2010)。并且支架最终完全被有功能收缩性的肌肉和肌腱所取代(Turner et al., 2012)。

ECM 支架在成功移除抗原的脱细胞技术后,甚至可以来自于异种异体(Penolazzi et al., 2012; Schwarz et al., 2015)。例如,来自于猪的小肠和膀胱等器官经过脱细胞技术处理并灭菌的 ECM 支架已经临床应用超过 200 000 个病人身上(Badylak, 2014)。目前也有报道称,利用人类软骨,ECM 支架成功在裸鼠体内植入种植了犬类骨髓间充质干细胞。细胞表现出良好的生存能力,且新生软骨含有粘多糖和 II 型胶原蛋白。

ECM 支架可来自单个组织或者整个器官。目前,整个器官脱细胞的临床产物已经成功应用于许多病人身上,例如:皮肤移植和生物心脏瓣膜移植(Gilbert, 2012)。这种来源的 ECM 支架拥有复杂的器官几何形状和一个完整的血管网系统,可以增强营养供应,有益于再生和再细胞化。

1.3 ECM 支架制备方法与标准

ECM 支架可以通过各种方法制备获得,包括物理方法、化学方法和酶处理。物理方法包括热冲击、冻融和机械破碎等。物理方法可以导致细胞裂解和组织分解让化学渗透物更容易进入(Wang et al., 2012)。但是,只利用物理方法一般不能达到最理想的脱细胞效果,一些具有生物粘性的细胞裂解后组分很难从 ECM 中彻底清除,所以需要联合其他方法进行脱细胞处理。化学方法包括洗涤剂法和酸碱处理法,洗涤剂法常用洗涤剂或其他化学物质进行脱细胞处理,其目的是分解细胞膜和核膜(Wang et al., 2014),如 SDS 和 Triton x-100 等。这些物质都会在随后的步骤中被清洗掉。酸碱处理法是通过促进生物大分子水解,达到溶解细胞组分及核酸,有效移除细胞成

分的目的;酸碱处理法常使用过氧乙酸、乙酸、氢氧化铵等。酶处理法需要根据脱细胞组织的不同结构进行选择,通常选用胰蛋白酶和核酸酶,用于分解多肽、DNA 和 RNA (Crapo et al., 2011)。

科学界对于成功的脱细胞基质或更好的无核化基质已经提出了明确的国际化标准:(1)组织学评估标准:不存在细胞核(通过 HE 染色或 DAPI 染色验证);(2)干燥组织中 DNA 定量<50 ng/mg;(3) DNA 片段<200 bp (Gilbert, 2012)。然而,这些标准是基于组织松散的脱细胞组织(SIS 和膀胱基质 UBM)制定的,并不适用于更致密的组织,如软骨组织。某些科学家也提出了严格的脱细胞标准,强调了 ECM 和 ECM 中某些化合物结构的完整性。然而,现阶段关于 ECM 制备是否需要彻底的脱细胞化还在激烈的辩论,因为脱细胞不彻底的基质仍然可以诱导类似的宿主重塑(Keane et al., 2012)。脱细胞的最佳效果是移除所有细胞组分和膜表面抗原,与此同时保留 ECM 中重要的生物活性因子。已有研究发现,膀胱黏膜下层基质经过几次洗涤剂 and 酶处理后,可以实现完全脱细胞化,同时还保留了基质中重要的生长因子(Chun et al., 2007),如血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF) 和表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)等。

2 ECM 支架与软骨修复

2.1 ECM 支架修复软骨的优势

相对于传统支架材料来说 ECM 支架材料具有诸多优势:(1)来源组织的 3D 结构得到完整的保留(Badylak et al., 2012)。所有的组织都是由细胞组成的,细胞由胞外基质环绕包围,基质是由细胞分泌的结构和功能性的分子组成。这些分子构成了具有组织专一性的 3D 结构和微环境。例如,软骨细胞外基质是一个复杂的 3D 结构,其中包含了多种类型的胶原蛋白和生物活性因子,这一结构的保留对软骨修复至关重要。(2)来源组织内天然组分得到保留,利于细胞黏附、增殖和分化(Crapo et al., 2011)。ECM 支架材料作为生物支架保留了原组织中生长因子,这样移植活体后组织才会做出自然应答。对于软骨,一些重要的生长因子如 TGF β 1、FGF 和 EGF,它们的保留对软骨的再生有特殊的益处,可以增强细胞的功能并促进血管化的形成(Traverse, 2012)。(3)低免疫原性。脱细胞过程中,细胞膜及其表面受体得到了有效的清除,移植活体几乎不产生免疫原性,ECM 支架

甚至可用于异种异体移植(Pan et al., 2014)。(4)具有生物可降解性(Yagi et al., 2013)。在机体内自然环境下,ECM 支架结构能够自动断裂,其高分子链能够裂解成小分子。最后这些物质会逐渐被机体吸收代谢,且降解所形成的物质不会影响正常的细胞增殖。(5)具有生物相容性。ECM 支架植入体内,支架本身以及其降解产物对机体/细胞没有毒副作用,可以降低炎症等自身免疫反应的发生(Benders et al., 2013)。

2.2 ECM 支架治疗在软骨缺损中的应用

通过 ECM 支架进行软骨修复有多种不同的方式,可概括为以下三大类。

第一类,未脱细胞的软骨微粒结合可降解生物材料植入缺损处修复缺陷(Cole et al., 2011)。将软骨组织加工成软骨微粒,作为添加剂与细胞悬液或生物材料混合植入缺损处修复缺陷。该方法的临床效果与微骨折法相当。这种方法的材料来源广泛甚至可以用骨关节炎患者自身的软骨粒子作为种子材料。有报道称,将经历冻融的 OA 软骨粒子与纤维蛋白中的骨髓间充质干细胞结合,植入小鼠皮下,结果发现新生软骨塑形良好,并且其粘多糖(glycosaminoglycan, GAG)含量和软骨细胞的基因表达量也相对增强(Chen et al., 2012)。

第二类,同种异体或异种软骨构造 ECM 支架材料植入缺损处修复缺陷。临床结果显示,直接将软骨组织植入到缺损区域,其再形成新生软骨方面的能力较弱(Peretti et al., 2006)。因此,研究人员进行了技术改进,将同种或异种的软骨组织经脱细胞处理后构造成 ECM 支架,再移植至缺损区域,结果显示 ECM 支架在促进新生软骨基质合成方面具有明显优势。有报道称,通过冻干技术制备的脱细胞支架(Schwarz et al., 2012),在新西兰大白兔模型上可以结合间充质干细胞并成功诱导透明软骨再生(Yang et al., 2010)。

第三类,通过人工培养细胞,构造细胞衍生 ECM 支架植入缺损处修复缺陷(Lu et al., 2011)。细胞衍生的 ECM 克服了来源于组织的外源性病原体转移产生的问题,并可以使用病人自身的细胞构造 ECM,避免了免疫排斥反应。经研究发现,软骨细胞通过细胞培养衍生的 ECM 支架,体外实验证明这种 ECM 支架能够促进细胞增殖,并且可以促进组织再生(Lu et al., 2011)。

3 ECM 支架骨软骨修复的未来前景

ECM 支架在软骨组织工程领域取得了一定进

展并且潜力巨大。其可以拥有类似正常组织的三维结构并且保留了其中的生长因子而人工合成材料却很难做到这一点。

ECM 支架的未来前景可以概括为以下几个方面。

首先,可以制定出特定的 ECM 支架进行软骨修复。众所周知,软骨包含不同的带状层、基质成分以及软骨细胞表型,这会导致它们有不同功能(Klein et al., 2009; Malda et al., 2009)。由于这种结构,若要模拟构建正常关节软骨的生物环境,可以将来源于不同带状层细胞的 ECM 结合在一起。另外,还可以通过生物 3D 打印技术(Khalil and Sun, 2009),将人工合成材料结合水凝胶制备成具有 3D 立体多空间结构特性的支架材料。并且这种材料还有一个优点,可以设定所需的特定力学强度。其次,软骨修复的 ECM 支架材料可以来自非特异性组织。目前利用脱细胞技术构造 ECM 支架进行软骨修复的材料都来自于软骨组织(Yang et al., 2009),且这些 ECM 支架都是由干细胞或软骨细胞产生(Xue et al., 2012)。经过目前体外和体内实验,非特异性的材料的生物学功能已经得到了验证。其具备制作方法简便且有广泛的来源等优点,未来可以研发更多非特异性组织构造 ECM 支架进行软骨修复。最后,可以更灵活的运用 ECM 支架材料进行软骨修复。我们可以按照分层支架的原理,将目前已经成功的应用于临床的生物材料,如磷酸三钙(TCP)和双相磷酸钙(BCP)(Yuan et al., 2010)结合到软骨 ECM 支架材料上,用于软骨修复。结合了生物材料的 ECM 支架还可以不接种种子细胞,它们可以从植入位点吸引自体细胞进入材料并增殖分化成移植处组织所需的细胞类型,从而引起内源性自我修复,用于更大范围的软骨缺损修复。

4 展望

目前,随着骨软骨缺损患者数目的增多,组织工程和再生医学的不断发展,软骨组织工程受到越来越多的关注。ECM 支架在组织工程中应用前景广泛,因为 ECM 支架保留了组织中关键生长因子如 TGF β 1、FGF 和 EGF 等,不仅拥有良好生物相容性,而且活体移植后能够做出自然应答,促进受损组织的修复。目前各国都在加紧对 ECM 支架来源及脱细胞技术的研发,并与临床应用紧密联系。该技术的进一步发展必将促进软骨组织工程的进步,为广大骨软骨缺损病人带来康复的希望,为组织与器官最终的修复重建做出贡献。

作者贡献

付晶、褚文辉和李春义负责文章的构思、综述的设计和论文初稿的写作;李春义负责文章的审校与修改,张伟、张爱武、马丽娟参与文章的起草。全体作者都阅读并同意最终的文本。

致谢

本研究由吉林省科技发展计划项目(201402040-10YY)资助。

参考文献

- Ahmed T.A., Giulivi A., Griffith M., and Hincke M., 2011, Fibrin glues in combination with mesenchymal stem cells to develop a tissue-engineered cartilage substitute, *Tissue Engineering Part A*, 17(3): 323-335
- Badylak S.F., 2014, Xenogeneic extracellular matrix as a scaffold for tissue reconstruction, *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 12(3): 367-377
- Badylak S.F., Taylor D., and Uygun K., 2011, Whole-organ tissue engineering: decellularization and recellularization of three-dimensional matrix scaffolds, *Annual Review of Biomedical Engineering*, 13: 27-53
- Badylak S.F., Weiss D.J., Caplan A., and Macchiarini P., 2012, Engineered whole organs and complex tissues, *Lancet*, 379 (9819): 943-952
- Benders K.E., van Weeren P.R., Badylak S.F., Saris D.B., Dhert W.J., and Malda J., 2013, Extracellular matrix scaffolds for cartilage and bone regeneration, *Trends in Biotechnology*, 31(3): 169-176
- Brittberg M., 2008, Autologous chondrocyte implantation—Technique and long-term follow-up, *Injury*, 39(1): 40-49
- Bugbee W., Cavallo M., and Giannini S., 2012, Osteochondral allograft transplantation in the knee, *The Journal of Knee Surgery*, 25(2): 109-116
- Bugbee W.D., and Convery F.R., 1999, Osteochondral allograft transplantation, *Clinics in Sports Medicine*, 18(1): 67-75
- Chen C.C., Lia o C.H., Wang Y.H., Hsu Y.M., Huang S.H., Chang C.H., and Fang H.W., 2012, Cartilage fragments from osteoarthritic knee promote chondrogenesis of mesenchymal stem cells without exogenous growth factor induction, *Journal of Orthopaedic Research*, 30(3): 393-400
- Chun S.Y., Lim G.J., Kwon T.G., Kwak E.K., Kim B.W., Atala A., and Yoo J.J., 2007, Identification and characterization of bioactive factors in bladder submucosa matrix, *Biomaterials*, 28(29): 4251-4256
- Cole B.J., Farr J., Winalski C.S., Hosea T., Richmond J., Man-

- delbaum B., and de Deyne P.G., 2011, Outcomes after a single-stage procedure for cell-based cartilage repair a prospective clinical safety trial with 2-year follow-up, *The American Journal of Sports Medicine*, 39(6): 1170-1179
- Crapo P.M., Gilbert T.W., and Badylak S.F., 2011, An overview of tissue and whole organ decellularization processes, *Biomaterials*, 32(12): 3233-3243
- Gilbert T.W., 2012, Strategies for tissue and organ decellularization, *Journal of Cellular Biochemistry*, 113(7): 2217-2222
- Gilbert T.W., Sellaro T.L., and Badylak S.F., 2006, Decellularization of tissues and organs, *Biomaterials*, 27(19):3675-3683
- Hangody L., Kish G., Kárpáti Z., Udvarhelyi I., Szigeti I., and Bély M., 1998, Mosaicplasty for the treatment of articular cartilage defects: application in clinical practice, *Orthopedics*, 21(7): 751-756
- Jeong C.G., Zhang H., and Hollister S.J., 2012, Three-dimensional polycaprolactone scaffold-conjugated bone morphogenetic protein-2 promotes cartilage regeneration from primary chondrocytes in vitro and in vivo without accelerated endochondral ossification, *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 100(8): 2088-2096
- Keane T.J., Londono R., Turner N.J., and Badylak S.F., 2012, Consequences of ineffective decellularization of biologic scaffolds on the host response, *Biomaterials*, 33(6): 1771-1781
- Khalil S., and Sun W., 2009, Bioprinting endothelial cells with alginate for 3D tissue constructs, *Journal of Biomechanical Engineering*, 131(11): 563-573
- Klein T.J., Malda J., Sah R.L., and Hutmacher D.W., 2009, Tissue engineering of articular cartilage, *Tissue Engineering Part B: Reviews*, 15(2): 143-157
- Lu H., Hoshiba T., Kawazoe N., and Chen G., 2011, Autologous extracellular matrix scaffolds for tissue engineering, *Biomaterials*, 32(10): 2489-2499
- Lu H., Hoshiba T., Kawazoe N., Koda I., Song M., and Chen G., 2011, Cultured cell-derived extracellular matrix scaffolds for tissue engineering, *Biomaterials*, 32(36): 9658-9666
- Lützner J., Kasten P., Günther K.P., and Kirschner S., 2009, Surgical options for patients with osteoarthritis of the knee, *Nature Reviews Rheumatology*, 5(6): 309-316
- Malda J., Benders K.E., Klein T.J., de Grauw J.C., Kik M.J., Hutmacher D.W., Saris D.B., van Weeren P.R., and Dhert W.J., 2009, Comparative study of depth-dependent characteristics of equine and human osteochondral tissue from the medial and lateral femoral condyles, *Osteoarthritis and Cartilage*, 20(10): 1147-1151
- Oshima Y., Harwood F.L., Coutts R.D., Kubo T., and Amiel D., 2009, Variation of mesenchymal cells in polylactic acid scaffold in an osteochondral repair model, *Tissue Engineering Part C: Methods*, 15(4): 595-604
- Pan M.X., Hu P.Y., Cheng Y., Cai L.Q., Rao X.H., Wang Y., and Gao Y., 2014, An efficient method for decellularization of the rat liver, *Journal of the Formosan Medical Association*, 113(10): 680-687
- Penolazzi L., Mazzitelli S., Vecchiattini R., Torreggiani E., Lambertini E., Johnson S., Badylak S.F., Piva R., and Nastruzzi C., 2012, Human mesenchymal stem cells seeded on extracellular matrix-scaffold: viability and osteogenic potential, *Journal of Cellular Physiology*, 227(2): 857-866
- Peretti G.M., Campo-Ruiz V., Gonzalez S., Randolph M.A., Wei X.J., Morse K.R., Roses R.E., and Yaremchuk M.J., 2006, Tissue engineered cartilage integration to live and devitalized cartilage: a study by reflectance mode confocal microscopy and standard histology, *Connective Tissue Research*, 47(4): 190-199
- Schwarz S., Elsaesser A.F., Koerber L., Goldberg-Bockhorn E., Seitz A.M., Bermueller C., Dürselen L., Ignatius A., Breiter R., and Rotter N., 2015, Processed xenogenic cartilage as innovative biomatrix for cartilage tissue engineering: effects on chondrocyte differentiation and function, *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 9(12): 239-251
- Schwarz S., Koerber L., Elsaesser A.F., Goldberg-Bockhorn E., Seitz A.M., Dürselen L., Ignatius A., Walther P., Breiter R., and Rotter N., 2012, Decellularized cartilage matrix as a novel biomatrix for cartilage tissue-engineering applications, *Tissue Engineering Part A*, 18(21): 2195-2209
- Shin H., Olsen B.D., and Khademhosseini A., 2012, The mechanical properties and cytotoxicity of cell-laden double-network hydrogels based on photocrosslinkable gelatin and gellan gum biomacromolecules, *Biomaterials*, 33(11): 3143-3152
- Steadman J.R., Rodkey W.G., and Briggs K.K., 2002, Microfracture to treat full-thickness chondral defects: surgical technique, rehabilitation, and outcomes, *The Journal of Knee Surgery*, 15(3): 170-176
- Tohyama H., Yasuda K., Minami A., Majima T., Iwasaki N., Muneta T., Sekiya I., Yagishita K., Takahashi S., Kurokouchi K., Uchio Y., Iwasa J., Deie M., Adachi N., Sugawara K., and Ochi M., 2009, Atelocollagen-associated autologous chondrocyte implantation for the repair of chondral defects of the knee: a prospective multicenter clinical trial in Japan, *Journal of Orthopaedic Science*, 14(5): 579-588
- Traverse J.H., 2012, Using biomaterials to improve the efficacy of cell therapy following acute myocardial infarction, *Journal of Cardiovascular Translational Research*, 5(1): 67-72
- Turner N.J., Badylak J.S., Weber D.J., and Badylak S.F., 2012, Biologic scaffold remodeling in a dog model of complex musculoskeletal injury, *Journal of Surgical Research*, 176(2): 490-502

- Turner N.J., Yates A.J., Weber D.J., Qureshi I.R., Stolz D.B., Gilbert T.W., and Badylak S.F., 2010, Xenogeneic extracellular matrix as an inductive scaffold for regeneration of a functioning musculotendinous junction, *Tissue Engineering Part A*, 16(11): 3309-3317
- Vinatier C., Mrugala D., and Jorgensen C., 2009, Cartilage engineering: a crucial combination of cells, biomaterials and biofactors, *Trends in Biotechnology*, 27(5): 307-314
- Wang Q.B., Zhang C.L., Zhang L.P., Guo W., Feng G.Y., Zhou S., Zhang Y.Q., Tian T., Li Z.F., and Huang F., 2014, The preparation and comparison of decellularized nerve scaffold of tissue engineering, *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 102(12): 4301-4308
- Wang S., Goecke T., Meixner C., Haverich A., Hilfiker A., and Wolkers W.F., 2012, Freeze-dried heart valve scaffolds, *Tissue Engineering Part C: Methods*, 18(7): 517-525
- Xue J.X., Gong Y.Y., Zhou G.D., Liu W., Cao Y., and Zhang W. J., 2012, Chondrogenic differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells induced by acellular cartilage sheets, *Biomaterials*, 33(24): 5832-5840
- Yagi H., Soto-Gutierrez A., and Kitagawa Y., 2013, Whole-organ re-engineering: a regenerative medicine approach in digestive surgery for organ replacement, *Surgery Today*, 43 (6): 587-594
- Yang Q., Peng J., Lu S.B., Guo Q.Y., Zhao B., Zhang L., Wang A.Y., Xu W.J., Xia Q., Ma X.L., Hu Y.C., and Xu B.S., 2009, Evaluation of an extracellular matrix-derived acellular biphasic scaffold/cell construct in the repair of a large articular high-load-bearing osteochondral defect in a canine model, *Chinese Medical Journal*, 124(23): 3930-3938
- Yang Z., Shi Y., Wei X., He J., Yang S., Dickson G., Tang J., Xiang J., Song C., and Li G., 2010, Fabrication and repair of cartilage defects with a novel acellular cartilage matrix scaffold, *Tissue Engineering Part C: Methods*, 16(5): 865-876
- Yuan H.C., Pu C.X., Wei Q., and Hang P., 2012, Research progress of extracellular matrix material for tissue engineering, *Zuzhi Gongcheng Xibao Waijizhi Cailiao Yanjiu Jinzhan* (Chinese Journal of Reparative and Reconstructive Surgery), 26(10): 1251-1254 (员海超, 蒲春晓, 魏强, 韩平, 2012, 组织工程细胞外基质材料研究进展, 中国修复重建外科杂志, 26(10): 1251-1254)
- Yuan H.P., Fernandes H., Habibovic P., de Boer J., Barradas A. M.C., de Ruiter A., Walsh W.R., van Blitterswijk C.A., and de Bruijn J.D., 2010, Osteoinductive ceramics as a synthetic alternative to autologous bone grafting, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(31): 13614-13619
- Zheng M.H., Willers C., Kirilak L., Yates P., Wood D.J., and Shimmin A., 2007, Matrix-induced autologous chondrocyte implantation (MACI): biological and histological assessment, *Tissue Engineering*, 13(4): 737-746