

· 论 著 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.09.001

选择适宜的灌注去细胞方法应用于全肝脏去细胞支架的制备*

王康华^{1,2,3},程 远^{1,2,3},宫绪萌^{1,2,3},康利民^{1,2,3},洪 合^{1,2,3},高 毅^{1,2,3},潘明新^{1,2,3,△}

(南方医科大学:1.珠江医院肝胆二科;2.器官衰竭防治国家重点实验室;

3.器官衰竭防治协同创新中心,广州 510282)

[摘要] 目的 对比低浓度十二烷基硫酸钠(SDS)和 1% Triton X-100 对制备大鼠肝脏去细胞支架(DLBS)的影响,建立一种简单且适宜的 DLBS 的制备方法。方法 将低浓度 SDS(0.25%、0.50%)和 1% Triton X-100 分别加入大鼠肝脏去细胞流程,通过免疫荧光及扫描电子显微镜观察支架结构,并对支架内成分进行定量分析,再通过四氮唑盐比色法(MTT, Assay)观察支架对 C3A 的细胞毒性。结果 0.25% SDS 和 0.50% SDS 处理组的 DNA 定量均小于 50 ng/mg 干质量,并且糖胺聚糖在 0.25% SDS 和 1% Triton X-100 处理组的定量要高于 0.50% SDS 处理组。同时,MTT 实验表明 3 种方法处理后的去细胞支架对于 C3A 细胞的生长无毒性作用。结论 应用 0.25% SDS 在 5 mL/min 灌注流速下去细胞能够制备更为理想且有效的 DLBS,从而为器官再生打下基础。

[关键词] 去细胞化;肝脏组织工程;支架;方法**[中图分类号]** R318.14**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2015)09-1153-04**Determining the ideal decellularization protocol applied for preparing for liver biological scaffold***Wang Kanghua^{1,2,3}, Cheng Yuan^{1,2,3}, Gong Xumeng^{1,2,3}, Kang Limin^{1,2,3}, Hong He^{1,2,3}, Gao Yi^{1,2,3}, Pan Mingxin^{1,2,3,△}

(1. Second Department of Hepatobiliary Surgery, Zhujiang Hospital; 2. State Key Laboratory of Organ Failure Research;

3. Co-Innovation Center for Organ Failure Research, Southern Medical University, Guangzhou, Guangdong 510282, China)

[Abstract] **Objective** To develop an appropriate and simple decellularization protocol for preparing decellularized liver biological scaffold(DLBS). **Methods** Through immune-ofluorescence analysis, scanning electron microscope, quantification of Glycosaminoglycans(GAGs) and DNA, we evaluated the effectiveness of low concentrations of SDS(0.25%, 0.50%) and 1% Triton X-100 in the preservation of extracellular matrix of rat livers. Then, we assessed Cytotoxicity of DLBS treated with three methods by MTT assay. **Results** Residual DNA after SDS(0.25%, 0.50%) treatments were below 50 ng/mg dry weight, which were less than Triton X-100 treatments. The content of GAGs in the 0.25% SDS and 1% Triton X-100-treated scaffolds were higher than other detergent-treated scaffolds. The result of MTT assay showed that the liver scaffolds treated with three methods were not cytotoxic to proliferation of C3A cells. **Conclusion** The protocol containing 0.25% SDS and a perfusion rate of 5 mL/min could be a rapid and effective decellularization protocol. DLBS constructed using this protocol could be an ideal material for preparing a transplantable organ.

[Key words] decellularization; tissue engineering; scaffold; protocol

最近几年在组织工程和再生医学领域出现一些明显进步,有功能的组织和器官已经在体外被创造,并且成功地被移植入受体。一些工程性组织及器官例如血管^[1]、膀胱^[2]及角膜^[3]已有了明显的进步。以上的这些器官结构简单,然而像肝脏、肾脏、肺及心脏等成分、结构复杂,人工合成的支架材料难以模仿。对于大型并具有复杂结构的器官,以灌注为基础的去细胞方法已成功应用于心脏^[4]、肝脏^[5-7]、肺^[8]及肾脏^[9],这种方法不仅能够去除细胞及核性物质并避免了潜在的免疫反应的发生,还保留三维的细胞外基质结构及完整的脉管系统,提供了细胞生长和功能表达的最自然微环境。

目前,对于不同种属的肝脏已有多种灌注去细胞方法应用于制备肝脏去细胞支架(decellularized liver biological scaffold, DLBS),主要以十二烷基硫酸钠(SDS)和 Triton X-100 在去细胞过程中的应用最为广泛。其中,1% Triton X-100 已广泛应用于各种器官和组织的去细胞化^[10]。而对于 SDS,根据已报道文献 SDS 使用浓度可从 0.1%~5%^[9]。这些去细胞方法流程、效果

各有不同,难以统一。因此,作者使用了低浓度 SDS(0.5% SDS、0.25% SDS)及 1% Triton X-100 均以 5 mL/min 的灌注流速对大鼠肝脏进行脱细胞,比较三者对于大鼠 DLBS 的影响,从而确立一种耗时短且非常有效的大鼠肝脏去细胞方法。

1 材料与方法

1.1 材料 SPF 级 2 月龄 SD 大鼠 20 只(雌雄不限),体质量约 200~300 g,购自本校实验动物中心(合格证号:粤 2013-0002),Triton X-100(美国 Sigma 公司),SDS(上海化学试剂公司),DNA 酶(美国 Sigma 公司),羊抗大鼠 I 型胶原蛋白多克隆抗体(Santa Cruz),兔抗大鼠 IV 型胶原蛋白多克隆抗体(武汉博士德生物工程有限公司),羊抗大鼠弹性蛋白多克隆抗体(Santa Cruz),羊抗大鼠层粘连蛋白多克隆抗体(Santa Cruz),兔抗大鼠纤维粘连蛋白多克隆抗体(武汉博士德生物工程有限公司),倒置荧光显微镜(Leica,DMI6000B),DNA 提取试剂盒(Qiagen, Valencia, CA),DNA 定量试剂盒(Invitrogen, Carlsbad, CA),GAGs 定量试剂盒(Biocolour, Belfast, UK),超级酶联

* 基金项目:国家高技术研究发展计划(863 计划)基金资助项目(2012AA020505);国家自然科学基金资助项目(81470875);广东省中国科学院全面战略合作基金资助项目(2011B090300015)。作者简介:王康华(1990-),医师,在读硕士,主要从事肝脏去细胞化支架的研究。△ 通讯作者, Tel:18928918216; E-mail: Pmxwxy@sohu.com。

表 1 3 组的灌注去细胞的过程

| 组别 | 灌注去细胞方法 |
|------------------|---|
| 0.25% SDS 组 | 500 mL 1×PBS(0.02% EDTA, 2 mL 肝素钠), 0.25% SDS 600 mL(5 mL/min), 1 000 mL 去离子水冲洗 DLBS, 500 mL 1×PBS(0.06 mmol Dnase, 10 mmol MgCl ₂), 500 mL 去离子水冲洗 DLBS。 |
| 0.50% SDS 组 | 500 mL 1×PBS(0.02% EDTA, 2 mL 肝素钠), 0.5% SDS 600 mL (5 mL/min), 1 000 mL 去离子水冲洗 DLBS, 500 mL 1×PBS [(0.06 mmol Dnase, 10 mmol MgCl ₂), 500 mL 去离子水冲洗。 |
| 1% TritonX-100 组 | 500 mL 1×PBS(0.02% EDTA, 2 mL 肝素钠), 1% Triton X-100 600 mL(5 mL/min), 1 000 mL 去离子水冲洗 DLBS, 500 mL 1×PBS(0.06 mmol Dnase, 10 mmol MgCl ₂), 500 mL 去离子水冲洗。 |

免疫检测仪 (Model 680, Bio-Rad, US), 扫描电子显微镜 (Fei Qusnta 200)。

1.2 方法

1.2.1 动物及肝脏的获取 将大鼠分为 4 组, 每组 5 只, 包含 3 个实验组和 1 个对照组。所有大鼠均腹膜下注射麻醉; 大鼠麻醉后, 按以下步骤操作: (1) 打开腹腔, 游离肝周韧带; (2) 游离门静脉, 并经门静脉插管固定后灌注 500 mL 冲洗液 (1×PBS, 0.02% EDTA 和 2 mL 肝素钠); (3) 切断下腔静脉, 将其作为液体流出道灌注后; (4) 将肝脏移至大鼠体外, 将行灌注去细胞。

1.2.2 大鼠肝脏去细胞 将去细胞液通过已插好的管道灌入肝脏内; 具体各组的灌注去细胞的过程见表 1。

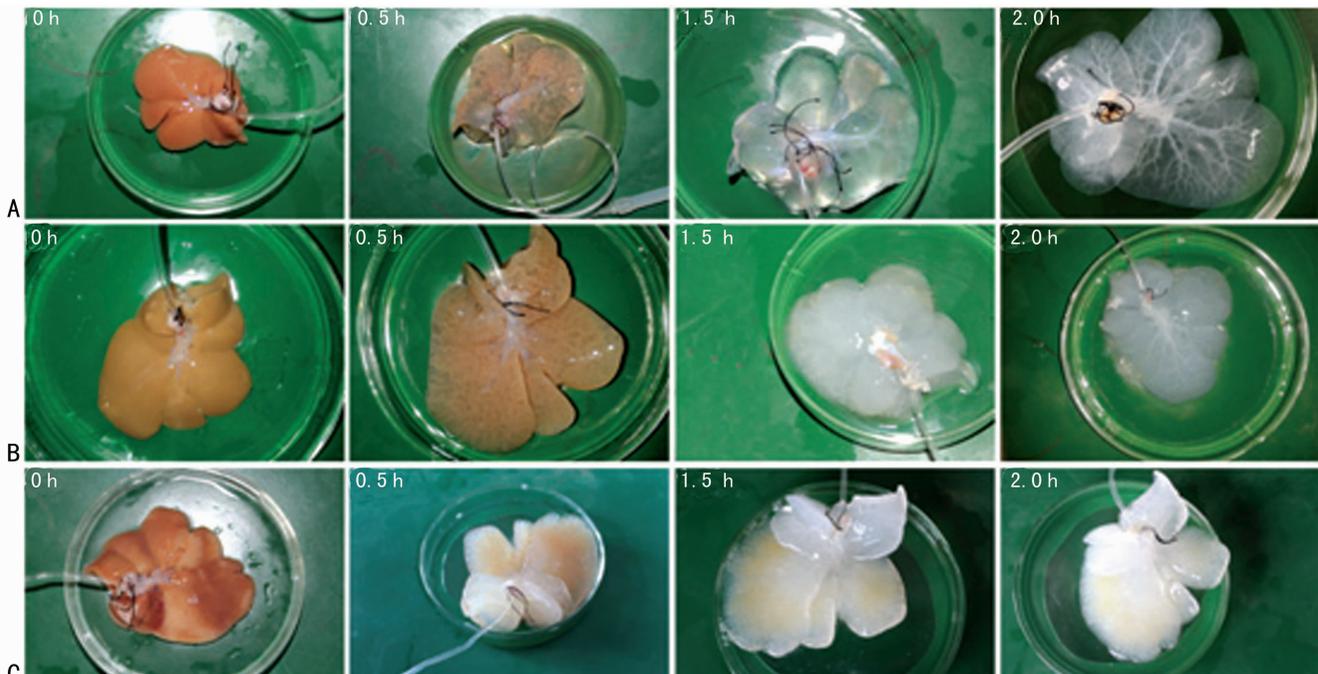
1.2.3 免疫荧光 每组取 1 个样本, 用 4% 多聚甲醛固定 12 h; 将样本包埋, 将样本切成厚度为 5 μm 薄片, 将其黏附在载玻片上; 进行荧光分析前, 用二甲苯脱蜡 2 次; 接着依次经梯度乙醇及纯水进行脱水。用 PBS 冲洗, 将样本浸泡在柠檬酸溶液中, 再用 1×PBS 洗 3 次。用 10% 正常山羊血清在室温下封闭样本 30 min; 用一抗在 4 °C 环境下孵育过夜; 荧光标记二抗在室温下湿盒避光封闭孵育 1 h; 4', 6-二脒基-2-苯基吡啶

(DAPI) 室温下湿盒避光封闭孵育 5 min; 抗荧光淬灭剂封片, 用倒置荧光显微镜拍片。

1.2.4 DNA 定量实验 将正常肝脏组织和去 DLBS 切成小片, 放入离心管, 进行冻干, 再称好各组样本质量 (n=5), 对样本进行消化, 蛋白沉淀后, 将蛋白去除, 用 DNeasy Tissue kit 按照操作说明对样本进行 DNA 提取; 接着用 Quant-iT PicoGreen dsDNA assay 按照操作说明对样本 DNA 水平进行定量; 根据 DNA 定量的标准曲线, 测定样本 DNA 水平。

1.2.5 GAGs 定量实验 使用 Blyscan GAG assay kit 对 GAGs 进行定量。将样品冷冻干燥 (n=5), 称质量, 然后在 65 °C 的环境下用木瓜蛋白酶孵育 (150 μg/mL)。取上清液放入 1.5 mL EP 管中。添加 Blyscan 染料试剂后, 离心 10 min。用分离剂将离心后的沉淀进行溶解, 读取 650 nm 处的吸光 (A) 值。

1.2.6 扫描电子显微镜观察 DLBS 微观形态 用 2.5% 戊二醛将少量 DLBS 固定 24 h, 并保存在 4 °C 冰箱内; 然后用加入乙醇逐级梯度脱水。加入醋酸异戊酯, 将乙醇置换出来, 再加入纯醋酸异戊酯将样本浸泡, 干燥样本, 将样本均匀喷镀金属。再用扫描电子显微镜观察样本。



A: 0.25% SDS 处理组; B: 0.50% SDS 处理组; C: 1% Triton X-100 处理组。

图 1 各处理组的灌注过程图

1.2.7 MTT 检测 DLBS 对 C3A 细胞增殖的影响 按 DMEM 培养液与 DLBS 之比为 1 mL/mg 加入 DMEM 培养液 (10% FBS), 于 37 °C 下静置 24 h 制备浸提液, 取一代生长良好的 C3A 细胞, 稀释成 2×10^3 个细胞/mL, 接种到 3 块 96 孔板上, 每块板上接种 4 组, 每组 5 孔, 每孔 200 μ L, 于 5% CO₂ 培养箱中 37 °C 下培养 24 h, 弃原培养液, 对照组加新配制的含 10% FBS 的 DMEM 100 μ L, 实验组分别加各处理组样品浸出液 100 μ L, 置培养箱中继续培养, 于 1、3、5 d 各取出 1 块培养样板, 每孔加入 5 mg/mL 的 MTT 20 μ L, 继续培养 4 h, 倒出培养液, 再加 150 μ L 二甲基亚砜, 振荡 10 min, 酶联免疫检测仪器上以 490 nm 波长测吸收值。

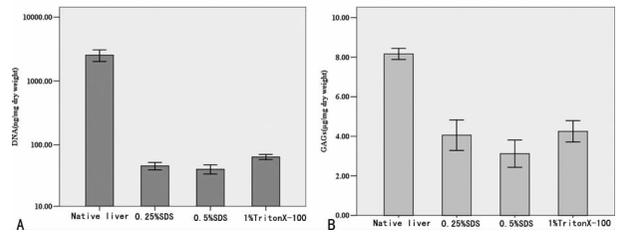
1.3 统计学处理 采用 SPSS 15.0 统计软件进行分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 one-way ANOVA 判断各处理组与对照组有无差异, 各处理组的差异性采用 SNK 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠肝脏的灌注去细胞 以 0.25% SDS、0.50% SDS、1% Triton X-100 灌注的肝脏在灌注 2 h 后大鼠肝脏均成功地去细胞, 产生了全肝脏细胞支架, 并呈现透明外观, 包膜完整, 保留了肝脏的形态, 肉眼可见包膜内的 Glisson 系统保存 (图 1)。各组残留 DNA 定量 (图 2), 0.25% SDS、0.50% SDS 及 1% Triton X-100 处理组的 DNA 残留量为 (46.14 \pm 6.08) ng/mg、(40.89 \pm 6.73) ng/mg、(64.07 \pm 5.99) ng/mg。0.25% SDS 组和 0.50% SDS 组的 DNA 定量小于 50 ng/mg (干质量); 另外, 各处理组的残留 DNA 量仅为对照组 DNA 量 (2546.81 \pm 526.39) ng/mg 的 2%~3%。各处理组间比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

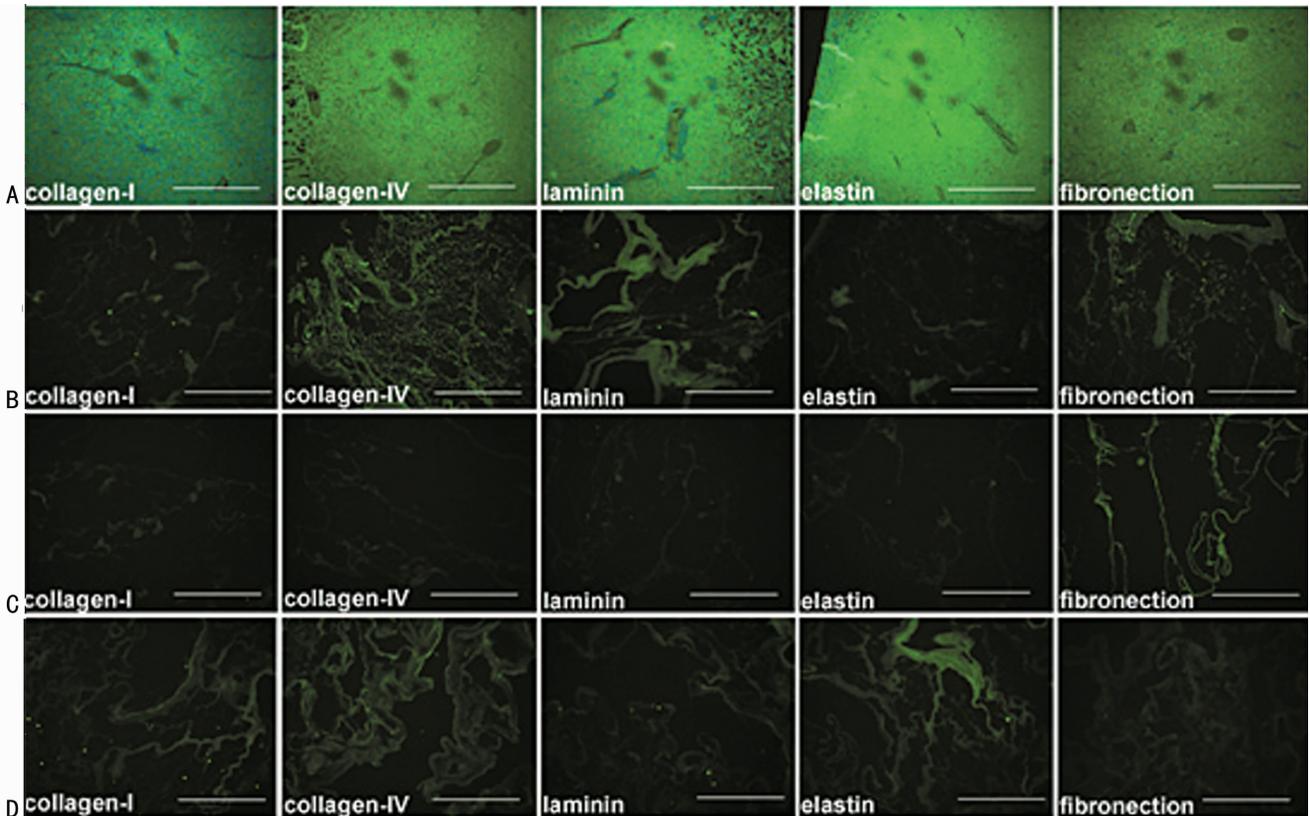
2.2 DLBS 成分的免疫荧光分析 通过免疫荧光, 可以展现细胞外基质中的 5 种蛋白成分在 DLBS 中的分布 (图 3)。在所有样本, 可见 Collagen-I 的阳性标记广泛存在于细胞外基质, 主要位于肝小叶之间的纤维连接组织中。Collagen-IV 则位于正常肝脏中内大管道, 在以上 3 种去细胞方法处理组中可见 Collagen-IV 阳性标记存在于细胞外基质中一些保持着血管结构的区域。Fibronectin 在荧光图片中与 Collagen-I 阳性标记区位置大致相同; 而 elastin 与 laminin-2 的阳性标记可见于一些较大的管道周围。

2.3 GAGs 定量分析 GAGs 在 0.25% SDS 处理组、0.50% SDS 处理组、1% Triton X-100 处理组干质量分别为 (4.05 \pm 0.77) μ g/mg、(3.12 \pm 0.68) μ g/mg、(4.25 \pm 0.54) μ g/mg, 约为正常肝脏 GAGs 水平 [(8.16 \pm 0.28) μ g/mg] 的 50% 左右, 0.25% SDS 处理组和 1% Triton X-100 处理组的 GAGs 定量高于 0.50% SDS 处理组 ($P < 0.05$), 前两组间比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见图 2。



A: 各处理组之间的残留 DNA 定量, 组间比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$); B: 各组 GAGs 定量, 0.50% SDS 处理组的 GAGs 定量小于其他两组 ($P < 0.05$)。

图 2 各组残留 DNA 定量图



A: 对照组; B: 0.25% SDS 处理组; C: 0.50% SDS 处理组; D: 1% Triton X-100 处理组。所有切片均以 DAPI 复染, Scale bars: 100 μ m。

图 3 各组正常大鼠肝脏和去细胞肝脏组织的 5 种蛋白的免疫荧光染色

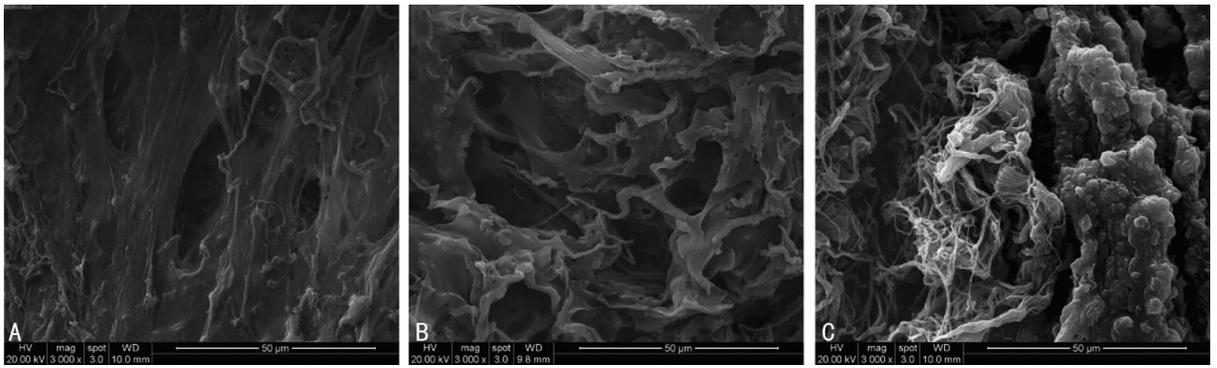


图 4 扫描电子显微镜下显示各处理组影像

图 4 扫描电子显微镜下显示各处理组影像

2.4 扫描电子显微镜观察 电子显微镜显示在 DLBS 中可见包含着包膜和脉管结构的三维的细胞外基质微结构,可见一些管道系统的存在(图 4)。但 1% TritonX-100 处理组可见 DLBS 内的胶原纤维排列较为松散,而 0.25% SDS 处理组和 0.50% SDS 处理组内的胶原纤维排列更为紧凑。

2.5 MTT 实验 体外细胞毒性实验结果见表 2。0.25% SDS 处理组、0.50% SDS 处理组、1% Triton X-100 处理组与对照组在 1、3、5 d 的 A 值比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表 2 各组在 MTT 实验的第 1、3、5 天的 A 值比较($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 第 1 天 | 第 3 天 | 第 5 天 |
|---------------------|-------------|-------------|-------------|
| 对照组 | 0.201±0.009 | 0.376±0.008 | 0.517±0.004 |
| 0.25% SDS 处理组 | 0.192±0.007 | 0.378±0.012 | 0.515±0.006 |
| 0.50% SDS 处理组 | 0.190±0.014 | 0.373±0.011 | 0.512±0.009 |
| 1% Triton X-100 处理组 | 0.191±0.015 | 0.377±0.012 | 0.514±0.007 |

3 讨论

本研究按照既往文献中的标准进行评价 0.25% SDS、0.50% SDS 及 1% Triton X-100 的去细胞效果,标准包括:(1)有效地去除肝脏内细胞物质(DNA 水平 ≤ 50 ng/mg)^[11];(2)肝脏去细胞后的超微结构和细胞外基质成分的保留^[12];(3)体外细胞培养的毒性实验^[9]。

所有的方法均能最大程度地降低去细胞肝脏的 DNA 水平,0.25% SDS 和 0.50% SDS 处理后大鼠肝脏的 DNA 水平达到作者设定的标准,这两组 DNA 水平的平均值低于 50 ng/mg 干质量。假设去细胞肝脏应用于临床移植,其残留的 DNA 可能做为引起免疫排斥反应的潜在因素,因此,对于 DNA 水平这项标准就显得尤为重要^[13]。

细胞外基质的基础性的超微结构和本身的蛋白的保留则是第 2 个评价标准,而以上 2 个方面恰恰是以目标细胞重建功能器官所必须。在保留 sGAG 方面,由于 sGAG 能保护游离生长因子以免受到蛋白降解,并且在去细胞化细胞外基质的再细胞化过程中对细胞黏附、形态改变及运动性和细胞原始表型保持有着重要的作用^[11],从这 2 个方面看,显然 0.25% SDS 处理组和 1% Triton X-100 处理组较其他组对支架的再细胞可能更有优势。

另外,为了进一步研究这些 DLBS 是否能够支持细胞的生长,同时观察是否有可溶性毒性物质存在于其中。作者通过

MTT 实验观察细胞在不同处理组的支架浸出液中的生长情况。根据实验结果,各处理组的细胞生长基本呈现一个持续增加的趋势。总体上,经 0.25% SDS、0.50% SDS 及 1% Triton X-100 等处理组 DLBS 是能够维持细胞的黏附和生长,并未留下任何不利于细胞生长和繁殖的毒性物质。

以 0.25% SDS 处理的 DLBS 在这 3 个标准的评定中,较其他处理组具备一定优势,这不支持之前的一些认为 SDS 对去细胞化细胞外基质的破坏剧烈的观点^[14-15]。说明以低浓度 SDS 灌注去细胞后,同样能够完全去除细胞及核性物质,并最小化地破坏细胞外基质的结构和成分。

本研究证明了低浓度 SDS 即 0.25% SDS 有良好的去细胞效果,同时确立了一个有效且快速的大鼠肝脏去细胞方法,为以后支架的细胞再灌注及体内移植奠定基础。

参考文献

- [1] Shin'oka T, Imai Y, Ikada Y, et al. Transplantation of a tissue-engineered pulmonary artery[J]. N Engl J Med, 2001,344(7):532-533.
- [2] Atala A, Bauer SB, Soker S, et al. Tissue-engineered autologous bladders for patients needing cystoplasty[J]. Lancet, 2006,367(9518):1241-1246.
- [3] Pang K, Du L, Wu X, et al. A rabbit anterior cornea replacement derived from acellular porcine cornea matrix, epithelial cells and keratocytes[J]. Biomaterials, 2010,31(28):7257-7265.
- [4] Ott HC, Matthiesen TS, Goh SK, et al. Perfusion-decellularized matrix: using nature's platform to engineer a bioartificial heart[J]. Nat Med, 2008,14(2):213-221.
- [5] Uygun BE, Soto-Gutierrez A, Yagi H, et al. Organ reengineering through development of a transplantable recellularized liver graft using decellularized liver matrix[J]. Nat Med, 2010,16(7):814-820.
- [6] Pan MX, Hu PY, Cheng Y, et al. An efficient method for decellularization of the rat liver[J]. J Formos Med Assoc, 2014,113(10):680-687.
- [7] 胡鹏蕴,程远,汪艳,等.去细胞化全肝生物支架循环灌注培养条件下体外细胞再植[J].中国组织工程研究,2012,16(18):3231-3235.
- [8] Petersen TH, Calle EA, Zhao L, et al. Tissue-engineered lungs for in vivo implantation[J]. Science, 2010,329(5991):538-541.

的功能。

参考文献

- [1] Chang G, Zhang D, Yu H, et al. Cardioprotective effects of exenatide against oxidative stress-induced injury[J]. *Int J Mol Med*, 2013, 32(5): 1011-1020.
- [2] Yue R, Hu H, Yiu KH, et al. Lycopene protects against hypoxia/reoxygenation-induced apoptosis by preventing mitochondrial dysfunction in primary neonatal mouse cardiomyocytes[J]. *PLoS One*, 2012, 7(11): e50778.
- [3] Tang X, Yang X, Peng Y, et al. Protective effects of lycopene against H₂O₂-induced oxidative injury and apoptosis in human endothelial cells[J]. *Cardiovasc Drugs Ther*, 2009, 23(6): 439-448.
- [4] Zhao ZQ. Oxidative stress-elicited myocardial apoptosis during reperfusion[J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2004, 4(2): 159-165.
- [5] Ghyasi R, Sepehri G, Mohammadi M, et al. Effect of melidipine on oxidative stress and lipid peroxidation in myocardial ischemic-reperfusion injury in male rat[J]. *J Res Med Sci*, 2012, 17(12): 1150-1155.
- [6] Wang Y, Zhang ZZ, Wu Y, et al. Honokiol protects rat hearts against myocardial ischemia reperfusion injury by reducing oxidative stress and inflammation[J]. *Exp Ther Med*, 2013, 5(1): 315-319.
- [7] 庾辉, 叶林, 张冬颖, 等. 艾塞那肽预处理对过氧化氢损伤的 H9c2 心肌细胞的保护作用研究[J]. *中国药房*, 2012,

23(21): 1972-1974.

- [8] Gottlieb RA. Cell death pathways in acute ischemia/reperfusion injury[J]. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*, 2011, 16(3/4): 233-238.
- [9] Ong SB, Hall AR, Hausenloy DJ. Mitochondrial dynamics in cardiovascular health and disease[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2012, 19(4): 400-414.
- [10] Honda HM, Korge P, Weiss JN. Mitochondria and ischemia/reperfusion injury[J]. *Ann NY Acad Sci*, 2005, 1047: 248-258.
- [11] Larsen M, Webb G, Kennington S, et al. Mannitol in cardioplegia as an oxygen free radical scavenger measured by malondialdehyde[J]. *Perfusion*, 2002, 17(1): 51-55.
- [12] Jang JU, Lee SH, Choi CU, et al. Effects of heme oxygenase-1 inducer and inhibitor on experimental autoimmune uveoretinitis[J]. *Korean J Ophthalmol*, 2007, 21(4): 238-243.
- [13] Armstrong JS. The role of the mitochondrial permeability transition in cell death[J]. *Mitochondrion*, 2006, 6(5): 225-234.
- [14] Galluzzi L, Morselli E, Kepp O, et al. Targeting postmitochondrial effectors of apoptosis for neuroprotection[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1787(5): 402-413.

(收稿日期: 2014-10-08 修回日期: 2014-12-10)

(上接第 1156 页)

- [9] Sullivan DC, Mirmalek-Sani SH, Deegan DB, et al. Decellularization methods of porcine kidneys for whole organ engineering using a high-throughput system[J]. *Biomaterials*, 2012, 33(31): 7756-7764.
- [10] Shirakigawa N, Ijima H, Takei T. Decellularized liver as a practical scaffold with a vascular network template for liver tissue engineering[J]. *J Biosci Bioeng*, 2012, 114(5): 546-551.
- [11] Arenas-Herrera JE, Ko IK, Atala A, et al. Decellularization for whole organ bioengineering[J]. *Biomed Mater*, 2013, 8(1): 14-16.
- [12] Ma R, Li M, Luo J, et al. Structural integrity, ECM components and immunogenicity of decellularized laryngeal scaffold with preserved cartilage[J]. *Biomaterials*, 2013,

34(7): 1790-1798.

- [13] Badylak SF, Taylor D, Uygun K. Whole-organ tissue engineering: decellularization and recellularization of three-dimensional matrix scaffolds[J]. *Annu Rev Biomed Eng*, 2011, 13: 27-53.
- [14] Ott HC, Clippinger B, Conrad C, et al. Regeneration and orthotopic transplantation of a bioartificial lung[J]. *Nat Med*, 2010, 16(8): 927-933.
- [15] Kajbafzadeh AM, Javan-Farazmand N, Monajemzadeh M, et al. Determining the optimal decellularization and sterilization protocol for preparing a tissue scaffold of a human-sized liver tissue[J]. *Tissue Eng Part C Methods*, 2013, 19(8): 642-651.

(收稿日期: 2014-10-19 修回日期: 2014-12-19)

《四川兵工学报》增设“军事医学与卫生装备”栏目 欢迎赐稿

《四川兵工学报》正在申请更名为《兵器装备工程学报》，系军事科技类综合性学术期刊，中国科技核心期刊，中国科技论文统计源期刊，RCCSE 中国核心学术期刊。为使本刊栏目设置涵盖军事科技各学科专业领域，彰显本刊学术交流平台价值功能的效益最大化，服务于更多领域的学者和专家，本刊拟增设“军事医学与卫生装备”栏目。主要刊登军事医学及相关学科的创新性论著，辅以研究简报，技术方法及有一定指导性的文献综述。内容涉及放射医学、微生物学与流行病学、药理学与毒理学、药物化学、基础医学、卫生学与环境医学、卫生装备、临床医学及医学高新技术等领域。欢迎赐稿。

联系电话: 023-68852703, 62569336 办公邮箱: scbgxb@126.com 本刊网址: <http://scbg.qks.cqut.edu.cn/>

四川兵工学报编辑部