

·综述·

基于组织工程新技术构建理想体外瘢痕模型的研究进展

朱冬振¹ 姚斌² 闫自强³ 黄沙¹ 付小兵¹¹解放军总医院医学创新研究部创伤修复与组织再生研究中心,北京 100048;²天津大学医学工程与转化医学研究院,天津 300072;³解放军 69213 部队,喀什 844900

通信作者:黄沙,Email:stellarahuang@sina.com

【摘要】 瘢痕的形成给患者造成巨大的经济负担和严重的心理阴影。尽管目前用于瘢痕治疗的手段趋于多样化,但是能够真正实现人体皮肤损伤后的“完美愈合”或是“无瘢痕愈合”的治疗方法相当匮乏。随着组织工程技术在医学研究中的广泛应用,诸如生物三维打印、类器官培养和器官芯片技术等新技术不断涌现,基于这些新技术构建的体外疾病模型也展现出比以往传统动物疾病模型更大的优势。该文介绍了类器官培养、生物三维打印、器官芯片技术等目前在皮肤组织工程中应用的热点技术,重点总结了构建理想的体外瘢痕模型需把握的3个关键要素,并结合该研究团队长期从事皮肤组织修复与再生研究的经验,对未来构建理想体外瘢痕模型进行展望。

【关键词】 瘢痕; 组织工程; 皮肤; 疾病模型

基金项目:国家重点研发计划(2017YFC1103303);国家自然科学基金青年科学基金项目(32000969);上海王正国创伤医学发展基金会生长因子复兴计划(SZYZ-TR-03)

Research advances on the construction of an ideal scar model *in vitro* based on innovative tissue engineering technology

Zhu Dongzhen¹, Yao Bin², Yan Ziqiang³, Huang Sha¹, Fu Xiaobing¹

¹Research Center for Wound Repair and Tissue Regeneration, Medical Innovation Research Department, the PLA General Hospital, Beijing 100048, China; ²Institute of Medical Engineering and Translational Medicine, Tianjin University, Tianjin 300072, China; ³Unit 69213 of PLA, Kashgar 844900, China

Corresponding author: Huang Sha, Email: stellarahuang@sina.com

【Abstract】 The scar brings a huge economic burden and creates a serious psychological shadow for patients. Although the current methods for scar treatment tend to be diversified, the treatment method that can truly achieve the goal

of "perfect healing" or "scarless healing" after human skin injury is quite scarce. With the wide application of tissue engineering technologies in medicine research, technologies such as three-dimensional bioprinting, organoid culture, and organ chip technologies are constantly emerging. Disease models *in vitro* based on these innovative technologies showed more advantages than traditional animal disease models. The article introduces the current hotspot technologies in skin tissue engineering such as organoid culture, three-dimensional bioprinting, and organ chip technologies, focuses on summarizing the three key elements to be mastered for constructing an ideal scar model *in vitro*, and puts forward the future prospect of constructing an ideal scar model *in vitro* based on our research team's long-term experience in skin tissue repair and regeneration research.

【Key words】 Cicatrix; Tissue engineering; Skin; Disease model

Fund program: National Key Research and Development Program of China (2017YFC1103303); Youth Science Foundation of National Natural Science Foundation of China (32000969); Shanghai Wang Zhengguo Foundation for Traumatic Medicine Growth Factor Rejuvenation Plan (SZYZ-TR-03)

病理性瘢痕的形成不仅影响机体的功能,而且给患者带来心理上的痛苦^[1-2]。但是目前我国用于瘢痕治疗的药物相当匮乏,研究进展也相对缓慢,很大一部分原因在于没有用于瘢痕研究的理想模型^[3]。关于瘢痕形成机制和治疗方法的研究大部分采用以动物模型为主的体内模型,关于体外瘢痕模型的研究相对较少。然而病理性瘢痕的形成具有复杂的人体特异性,因此动物实验中的相关结论是否适用于临床还需进一步在后续研究中验证^[4]。20世纪70年代,Diegelmann等^[5]提取人瘢痕Fb,在二维培养环境下构建了体外瘢痕模型,为瘢痕的机制研究和药物研发做出了巨大贡献。从早期在二维培养环境下构建的单层细胞模型到目前

DOI: 10.3760/cma.j.cn501120-20210723-00257

本文引用格式:朱冬振,姚斌,闫自强,等.基于组织工程新技术构建理想体外瘢痕模型的研究进展[J].中华烧伤与创面修复杂志,2022,38(10):983-988. DOI: 10.3760/cma.j.cn501120-20210723-00257.

Zhu DZ, Yao B, Yan ZQ, et al. Research advances on the construction of an ideal scar model *in vitro* based on innovative tissue engineering technology[J]. Chin J Burns Wounds, 2022, 38(10): 983-988. DOI: 10.3760/cma.j.cn501120-20210723-00257.



基于多种组织工程新技术构建的体外疾病模型,体外瘢痕模型的研发正在克服各种困难,有望成为瘢痕机制研究及其治疗药物筛选的理想模型。本文介绍了类器官培养、生物三维打印、器官芯片技术等目前在皮肤组织工程中应用的热点技术,重点总结了构建理想的体外瘢痕模型需把握的3个关键要素,并结合本研究团队长期从事皮肤组织修复与再生研究的经验,对未来构建理想体外瘢痕模型进行展望,以期对体外瘢痕模型的研究提供理论参考。

1 组织工程技术在皮肤疾病模型构建中的应用

近年来,利用生物三维打印技术、类器官培养技术和微流控芯片技术等新技术构建的疾病模型,逐渐得到广泛认可,并为相关疾病的机制研究和药物研发提供了新的策略和可靠的工具。然而,这些具有巨大潜力的新技术,在目前体外瘢痕模型构建中的应用却存在很大不足,因此本文总结了这些新技术在皮肤疾病模型尤其是瘢痕模型构建中的应用特点,并以此提出了一些可能用于体外瘢痕模型构建的新思路。

1.1 类器官培养技术

类器官培养技术通过提取成体组织或多能干细胞,利用三维培养技术在体外诱导细胞自组装形成结构和功能上类似目标器官或组织的三维细胞复合体^[6]。类器官培养技术源于体外组织培养技术,随着干细胞技术和组织工程技术的发展而有了进一步演变。起初是将活体组织检查取材的人体瘢痕组织在体外培养构建体外瘢痕组织培养模型,该模型具有与体内瘢痕组织相似的基因表达和一定的免疫原性,并且能够在体外保持瘢痕特性4~6周^[7]。Kischer等^[8]通过将体外培养瘢痕组织移植到免疫缺陷的小鼠中进行相关药物实验,证实体外瘢痕组织培养模型具有较为真实的生理性环境并且能够保持瘢痕特性60~240 d,但是由于其需要新鲜的瘢痕组织标本以及缺乏体内瘢痕的免疫环境,该瘢痕模型的应用受到限制。

早期主要利用类器官培养技术通过多能干细胞在体外三维培养环境下自组装形成肝、肾、胰、肠等类器官,而目前该技术也被广泛应用于肿瘤疾病模型的构建^[9]。肿瘤类器官培养技术通过提取患者肿瘤中的肿瘤细胞,选择合适的三维基质模拟肿瘤细胞基质微环境培养细胞,形成具有类似体内肿瘤形态和病理特性的类器官组织,该组织不仅有原发肿瘤的异质性,还具有患者特异性,为肿瘤的机制研究、药物筛选以及制订个体化精准治疗策略提供了可靠的技术平台。与传统的细胞培养模型相比,类器官在微观组织结构、基因和蛋白的表达以及代谢等功能方面更接近原生器官,但目前的类器官培养模型在临床应用方面也存在以下诸多不足:(1)寿命较短,只具有原生器官的部分功能;(2)尺寸较小,通常为100~500 μm;(3)由于细胞自组装具有一定随机性,由同一种细胞形成的类器官具有一定异质性;(4)检测类器官功能和生物学特性的手段较为单一,主要通过光学检测。为了克服这些挑战,我国也将类器官培养技术列为“十四五”国

家重点研发计划“干细胞研究与器官修复”的重点方向。

目前的体外瘢痕三维模型主要是指利用生物三维打印技术和组织工程技术,通过物理方法使细胞在不同的层次排列,直接构建的类似成熟期瘢痕的瘢痕模型。如何充分利用类器官的自组装特性,直接在体外构建瘢痕类器官,仍是目前研究的难点。相信通过将目前先进的工程化方法,如生物三维/四维打印技术、器官芯片技术和生物编织技术等应用于类器官构建中,前述难题也终将得到解决。

1.2 生物三维打印技术

生物三维打印技术是指利用三维打印将细胞和生物材料结合,通过逐层沉积获得类组织样结构的技术。理想的生物墨水既要能构建符合生理特性的ECM成分,又要具有可打印性,并且在打印过程中不影响细胞活力^[10]。因此,兼顾可打印性、生物相容性和机械性能这3个方面性能的生物打印墨水也是目前生物三维打印领域的研究热点和难点。生物三维打印常用的墨水有海藻酸盐、明胶、纤维蛋白原、琼脂糖和透明质酸等天然水凝胶,它们具有良好的生物相容性和可控的机械性能。目前皮肤组织工程常用的生物三维打印方法包括喷墨式打印^[11]、微挤出式打印^[12-13]、激光辅助式打印^[14]和立体光刻式打印^[15],这些方法各有其优点和不足,见表1。

对于复杂组织的构建,常常不局限于一种打印方式。Kim等^[16]利用微挤出式打印和喷墨式打印分别构建了真皮层和表皮层,并且打印了功能性的Transwell系统,以这种方法构建组织工程皮肤,具有简单、高效和精确的优点。本研究团队不仅研究了生物三维打印可降解水凝胶在体内和体外对细胞行为的影响^[17],研发了可用于生物三维打印并具有保持间充质干细胞(MSC)多向分化潜能的含生物活性粒子墨水^[18],还通过生物三维打印技术构建了汗腺形成的物理和化学微环境诱导MSC形成功能性汗腺^[19]。目前生物三维打印技术被广泛应用于纤维化疾病模型以及2型糖尿病慢性溃疡等疾病模型的构建,展现出广阔的应用前景^[20-21]。本研究团队目前的研究表明,利用人瘢痕Fb作为种子细胞,瘢痕脱细胞基质溶液、海藻酸盐、明胶和胶原蛋白作为生物墨水,通过预培养技术和生物三维打印技术构建的个体化体外瘢痕模型具有与人体瘢痕类似的基质硬度和纤维排列,并且具有符合瘢痕特征的表型和相似的基因表达,能够用于瘢痕治疗药物的筛选^[22]。生物三维打印可提高瘢痕模型的标准化水平和可重复性,利用基因组学和蛋白质组学工具对生物三维打印模型进行分析,可减少模型间的差异问题,提高药物筛选数据的可靠性和一致性,减少药物筛选失败风险,有望在临床前研究中发挥重要作用。

1.3 生物编织技术

生物编织技术和生物三维打印技术是目前生物制造常用的2种技术^[23]。虽然生物三维打印技术在模型的构建中具有简单、高效和可重复等优势,但构建的模型在柔韧性、拉伸强度及延展性等力学特性上,与人体皮肤、肌腱和韧带等组织还有很大差距。采用生物编织技术构建的模型具有

表 1 皮肤组织工程常用的生物三维打印方法的优点和不足

打印方法	优点	不足
喷墨式打印	(1)打印速度快	(1)需采用有一定黏滞性的材料
	(2)可采用多种聚合机制	(2)不能打印厚度较高的模型
	(3)低成本、可商业化	(3)打印材料中细胞密度较低 (4)打印过程影响细胞活性
微挤出式打印	(1)可采用高黏滞性和高细胞密度溶液打印	(1)喷头易阻塞
	(2)可打印较厚的垂直结构	(2)高精度打印影响细胞活性
	(3)可采用多种聚合机制	(3)各层连接松散
激光辅助式打印	(1)打印材料中细胞活性高	(1)需采用有一定黏滞性的材料
	(2)高细胞密度打印	(2)不能打印厚度较高的模型
	(3)适用于低黏滞性材料	(3)单一聚合机制
	(4)打印精度高	(4)过程复杂、费用高
立体光刻式打印	(1)打印速度快	(1)打印墨水只能用光交联聚合物
	(2)打印精度高	(2)需采用有一定黏滞性的材料
	(3)可打印较厚的垂直结构	(3)紫外线可影响细胞活性
	(4)打印材料内部连接较为紧密	

结构的完整性和各向异性的力学特性,该技术特别适用于构建需要力学负荷的组织结构,可通过电纺丝、熔融纺丝、湿法纺丝和微流体纺丝等构建组织基本结构,随后根据不同组织的结构需求进一步编织成型^[23]。由于采用生物编织技术构建的模型具有可控的渗透性、孔径大小、机械强度以及弹性等生理性皮肤的特性,因此生物编织技术也被用于构建仿生皮肤组织,且在皮肤组织再生领域具有较好的应用前景。由于瘢痕纤维结构的各向异性特征及对 ECM 微环境力学性能的需求,使用生物编织技术构建的瘢痕真皮层 ECM 可能更符合瘢痕的组织学和病理学特性,但目前尚未见相关报道。

1.4 器官芯片技术

器官芯片是利用微细加工技术,在体外尽可能地模拟人体器官生理和病理机制形成的功能单元,并将这些功能单元整合在一个平台上的微型细胞培养装置^[24]。目前的器官芯片技术以微流控作为核心技术,该技术常被称为微流控器官芯片技术。微流控芯片可提供一个可控、可再生和可操作的细胞环境,通过先进的成像技术,实现从端点分析到细胞变化的在线监测^[24]。微流控器官芯片技术可以将不同的器官或组织结合在一起,动态调控芯片的物理因素(如温度、力和

气体等)以及化学因素(如细胞因子和其他活性分子),集合传感器后还能够实现实时检测模拟器官的各种生物标志物的表达^[24]。微流控器官芯片技术结合了微流控技术和细胞生物技术,能更好地模拟人体生理性的三维微环境和组织器官之间的相互作用。目前已有相关的皮肤芯片模型,被用于研究真皮、表皮、毛发和毛囊的相互作用和外源性物质对皮肤的影响^[25],以及人工血管化对皮肤各种细胞的生物学影响等^[26]。Abaci 等^[27]研发了一种无泵的微流控皮肤组织类似物器官芯片,并证实了该种芯片在药物研发和筛选中的高效性。但是目前仍没有适合药物研发和筛选工业化需求的瘢痕芯片模型,仅有少量研究借用类器官组织培养模型思路,在某些芯片中培养瘢痕组织,但并没有完全发挥出器官芯片技术的优势。因此,未来通过改进芯片上皮肤模型的生理学因素,如生物因素(ECM 和细胞类型)、持续培养条件、物理因素(应力和 ECM 硬度等)和化学因素(培养基成分等)^[24],将进一步模拟皮肤体内微环境,这些方法也可被用于瘢痕和其他皮肤疾病的研究,但需要材料学、工程学和生物医学等研究人员的共同努力与合作。

1.5 生物四维打印技术

生物三维打印技术由于打印方式灵活多变以及可以构建含多种细胞的复杂物理结构而被广泛用于基础医学、生物学和材料学等领域的研究。但是采用生物三维打印技术构建的物体往往是静态的,不会随着时间的推移产生可控的生理功能。而四维打印则是在三维打印基础上增加了可控的时间和空间维度。四维打印与三维打印的主要区别在于四维打印采用的生物墨水是具有可编程的刺激响应材料,这些材料会在光、电、温度、离子等刺激下,产生可预见性的折叠、扭曲、弯曲、扩张等物理特性的改变^[28-29]。只要用于四维打印的材料与打印机具有较好的相容性,目前常用的三维打印技术均可支持四维打印。生物四维打印技术结合了生物三维打印技术和可编程的刺激响应材料,能够在构建复杂组织结构的同时具有时间和空间的可控性,这也就使得通过生物四维打印技术构建的组织工程结构具有与天然组织更为类似的动态演变特征。采用合适的刺激响应材料构建的体外瘢痕模型的机械强度、材料孔隙和纤维直径等具有可控性,能更加真实地模拟早期瘢痕到成熟期瘢痕的动态演变过程。

2 体外瘢痕模型构建

目前的新型体外瘢痕模型主要是指借助生物三维打印技术,将 KC 和 Fb 作为种子细胞,ADM 或人工合成的 ECM 作为生物墨水,构建的类似瘢痕基本结构的体外瘢痕模型^[11]。但受限于打印精度、生物相容性材料和血管化等因素,体外瘢痕模型并不能完全模拟瘢痕形成的病理性微环境^[12]。因此,本文总结了体外瘢痕模型构建中需注意的重点和难点问题,为理想体外瘢痕模型的构建提供一定研究思路。

2.1 组织结构的一致性

2.1.1 细胞成分 众所周知,肌 Fb 是瘢痕形成过程中特征性的和最重要的细胞因素。以往认为肌 Fb 是由创面局部

的 Fb 激活形成,而目前的研究表明,血管的内皮细胞和周细胞、骨髓源性的纤维细胞以及单核细胞等免疫细胞也是肌 Fb 的重要来源^[30]。并且新近研究表明 Fb 还具有多种亚型,不同亚型的 Fb 在功能上具有很大差异^[31]。还有研究表明,通过荧光激活细胞分选法可以在小鼠胚胎祖细胞中筛选出一种 *Engrailed-1* 阳性的 Fb,其在创面愈合过程中对瘢痕的形成具有重要作用^[32]。炎症反应伴随着创面愈合以及瘢痕形成的整个过程,参与炎症反应的免疫细胞主要有巨噬细胞、淋巴细胞、中性粒细胞和肥大细胞等。皮肤内皮受到损伤后,引发急性炎症反应,前述免疫细胞会相继激活初始免疫反应和适应性免疫反应,进而导致 Fb 的激活和肌 Fb 的形成,如果炎症反应持续存在并伴随着肌 Fb 的持续活化,最终将导致瘢痕形成^[33]。因此,炎症细胞尤其是巨噬细胞对于瘢痕的形成而言至关重要。研究表明,创面愈合过程中 M1 型巨噬细胞与 M2 型巨噬细胞相互转化的功能障碍,直接影响到创面的愈合结局,导致瘢痕的形成^[34]。综上所述,构建体外瘢痕模型时仅仅将瘢痕 Fb 和 KC 进行整合是远远不够的,还应至少考虑黑色素细胞及巨噬细胞等其他细胞,并通过更先进的筛选策略选择特定亚型的 Fb 及具有某种独特分子标志物的 Fb。

2.1.2 ECM 成分 ECM 是细胞所处微环境的主要组成部分,对细胞的生物学行为和生物学作用起到决定性作用。增生性瘢痕最主要的病理表现为真皮层 ECM (主要成分为 I 型胶原蛋白和 III 型胶原蛋白) 的过度积累,与炎症环境下肌 Fb 和其他细胞分泌胶原过度而降解胶原的相关酶失活和产生较少有关^[35]。增生性瘢痕早期形成的肉芽组织中的胶原蛋白以 III 型胶原蛋白为主;增生性瘢痕重塑期, I 型胶原蛋白逐渐取代 III 型胶原蛋白,成为增生性瘢痕最主要的成分^[5]。因此,可将人体病理性瘢痕组织的脱细胞真皮 ECM 或是能够模拟病理性瘢痕 ECM 物理化学特性的人工合成基质作为体外瘢痕模型的基质成分。

2.1.3 血管结构 血管的形成对创面愈合和组织再生而言至关重要。血管具有运输养分、氧气和排出局部代谢废物的功能。以往认为创面形成早期,大量新生血管形成有利于创面早期的愈合^[36]。但随着研究的深入,越来越多的研究表明,组织损伤后形成的大量不成熟和具有高通透性的无功能血管可能导致持续性的慢性炎症反应,进而影响后期创面的愈合并导致瘢痕形成^[36-37]。并且大量研究表明,基于限制血管生成的策略,可有效减少增生性瘢痕形成^[37]。因此,构建含血管的体外瘢痕模型将为瘢痕形成机制的研究和治疗药物的筛选提供更多依据。

2.2 病理性微环境的一致性

病理性瘢痕与正常皮肤组织的基本细胞成分虽然都是 KC 和 Fb,但是这 2 种组织在大体和微观结构上却具有显著差异,主要在于细胞所处微环境不同。因此,有必要从瘢痕的机械力学、微观拓扑结构和细胞因子这 3 个方面讨论病理性瘢痕微环境对于构建理想体外瘢痕模型的重要性。

2.2.1 机械力学 基因组学和蛋白质组学时代主要研究

了生物化学因素在瘢痕形成和发展中的作用机制;但越来越多的证据表明,基质硬度等机械力学因素对瘢痕的形成和发展也发挥着至关重要的作用^[38]。正常小鼠肺和肝组织基质硬度为 0.5~1 kPa,而发生纤维化后可升高至 50~100 kPa^[39],人体皮肤损伤后瘢痕形成或纤维化后硬度也明显增加^[40]。还有研究表明,瘢痕基质的高硬度可抑制肌 Fb 的凋亡,这一机制对瘢痕的形成与发展也至关重要^[41]。因此,机械力学的改变不仅是病理性瘢痕形成的结果,还是瘢痕形成的重要诱导因素。本课题组研究也表明,模拟人体增生性瘢痕硬度构建的体外瘢痕模型,在基因和蛋白表达上均更符合人体瘢痕特征^[22]。

2.2.2 微观拓扑结构 人体肌肉、神经、血管和骨等组织的微观拓扑结构都呈单轴有序排列^[42]。通过染色技术和电子显微镜技术也可以观察到病理性瘢痕组织具有类似的单轴排列特征。在体外构建这些组织和器官模型时,模拟这种独特的拓扑结构,对于细胞发挥生物学功能至关重要。也有研究表明,胶原纤维的微观拓扑结构(如排列、直径和孔径等)对肌 Fb 的分化具有独立调节作用^[43]。因此,选择合适微观拓扑结构的生物材料,对于尽可能模拟病理性瘢痕微环境而言也至关重要。

2.2.3 细胞因子 细胞因子在病理性瘢痕的形成过程中作为细胞与 ECM 的媒介,发挥着重要的生物学作用。TGF- β 是哺乳动物创面愈合中普遍存在的生长因子,其中 TGF- β_1 和 TGF- β_3 在创面愈合和瘢痕形成中发挥重要作用^[3]。TGF- β_1 参与瘢痕形成和系统性硬化的进展;TGF- β_1 在创面愈合早期由激活的血小板释放,作为炎症介质,招募巨噬细胞和其他炎症细胞,最终促进瘢痕的形成和发展。而 TGF- β_3 则被认为具有抗纤维化和促进组织再生的作用, TGF- β_3 出现在创面愈合的早期和后期,有助于巨噬细胞的募集、ECM 的沉积,并可能减少细胞增殖。其他细胞因子如血小板源性生长因子、TGF- β_2 、FGF、胰岛素样生长因子 I 等可通过促进 Fb 增殖、胶原酶的产生和胶原合成促进增生性瘢痕的形成;TNF- α 和 γ 干扰素等细胞因子具有调控 Fb 增殖与代谢的作用,从而抑制增生性瘢痕的形成^[44]。因此,在体外瘢痕模型的构建中,应创造能够促进细胞分泌促纤维化生长因子的微环境或加入外源性的促纤维化生长因子。

2.3 时空一致性

瘢痕主要在创面闭合后的 4~8 周形成,增生性瘢痕通常持续 6 个月左右,然后会逐渐减退,1 年以后逐渐变得稳定。在这一过程中,细胞成分(包括 Fb 和炎症细胞)逐渐减少并趋于稳定,基质成分逐渐减少, I 型胶原蛋白和 III 型胶原蛋白的比例也趋于稳定,新生血管逐渐退化^[45]。因此,构建的体外瘢痕模型至少应包括早期瘢痕模型和成熟瘢痕模型,最理想的瘢痕模型应能够模拟早期瘢痕形成到瘢痕成熟这一动态演变过程。

3 小结和展望

体外瘢痕模型的构建任重道远,缺少人体特异性、标

准化和可重复性瘢痕模型是瘢痕机制研究及其药物研发亟待解决的问题。除要在实验室层面构建出理想的瘢痕模型外,还应尽可能减少制造成本、标准化构建过程,才有可能实现体外瘢痕模型的商业化,最终造福于瘢痕患者。

本文介绍的可用于理想瘢痕模型构建的新技术均是目前组织工程领域和干细胞领域研究的热点,并且仍有很多新的改进技术和研究方案不断涌现。比如基于挤出式打印技术而研发的悬浮生物三维打印技术,采用该技术打印的材料具有更高的细胞活性,能够全方位立体打印,并且具有更高的打印分辨率^[46];抑或是能够实现在大尺寸模型中构建血管网络的同轴生物三维打印技术^[47];以及结合多种生物构造技术的混合生物制造技术,采用该技术能够构建更符合人体病理生理的体外类器官和疾病模型。目前研究较为广泛的混合生物制造技术将生物三维打印技术与类器官培养技术结合在一起,相较于传统单一的模型构建技术,其不仅可以在结构上引导类器官发育,还可以构建含血管的类器官以延长类器官的寿命并增加类器官的尺寸,而且机械化的生物三维打印流程在提高类器官构建效率的同时更具标准化和可重复性,加速了疾病模型构建、药物研发和精准医疗等相关研究从基础向临床的转化。

未来可使用生物四维打印技术、生物编织技术和类器官培养技术共同构建含血管的体外早期瘢痕仿生模型,并通过微流控芯片技术在时间和空间上控制刺激响应材料的物理特性、细胞的生物学行为(增殖、分化与凋亡等)以及血管的增殖和退化,以尽可能模拟瘢痕进展的动态演变过程,并利用与微流控芯片连接的实时监测系统全程监测体外瘢痕模型的病理生理变化,最终构建理想的体外瘢痕模型,更加深层次地揭示瘢痕形成的机制,为药物研发从动物实验向人体试验的过渡铺平道路,为患者提供更具体和个性化的治疗方案。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Rahimnejad M, Derakhshanfar S, Zhong W. Biomaterials and tissue engineering for scar management in wound care[J]. *Burns Trauma*, 2017, 5:4[2022-09-21]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28127573/>. DOI:10.1186/s41038-017-0069-9.
- [2] 中国整形美容协会瘢痕医学分会. 瘢痕早期治疗全国专家共识(2020版)[J]. *中华烧伤杂志*, 2021, 37(2): 113-125. DOI: 10.3760/cma.j.cn501120-20200609-00300.
- [3] Sharma JR, Lebeko M, Kidzeru EB, et al. In vitro and ex vivo models for functional testing of therapeutic anti-scarring drug targets in keloids[J]. *Adv Wound Care (New Rochelle)*, 2019, 8(12): 655-670. DOI:10.1089/wound.2019.1040.
- [4] Seok J, Warren HS, Cuenca AG, et al. Genomic responses in mouse models poorly mimic human inflammatory diseases[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110(9):3507-3512. DOI:10.1073/pnas.1222878110.
- [5] Diegelmann RF, Cohen IK, McCoy BJ. Growth kinetics and collagen synthesis of normal skin, normal scar and keloid fibroblasts in vitro[J]. *J Cell Physiol*, 1979, 98(2): 341-346. DOI: 10.1002/jep.1040980210.
- [6] Garreta E, Kamm RD, Chuva de Sousa Lopes SM, et al. Rethinking organoid technology through bioengineering[J]. *Nat Mater*, 2021, 20(2):145-155. DOI:10.1038/s41563-020-00804-4.
- [7] Bagabir R, Syed F, Paus R, et al. Long-term organ culture of keloid disease tissue[J]. *Exp Dermatol*, 2012, 21(5): 376-381. DOI: 10.1111/j.1600-0625.2012.01476.x.
- [8] Kischer CW, Pindur J, Shetlar MR, et al. Implants of hypertrophic scars and keloids into the nude (athymic) mouse: viability and morphology[J]. *J Trauma*, 1989, 29(5): 672-677. DOI: 10.1097/00005373-198905000-00023.
- [9] Jacob F, Salinas RD, Zhang DY, et al. A patient-derived glioblastoma organoid model and biobank recapitulates inter- and intra-tumoral heterogeneity[J]. *Cell*, 2020, 180(1): 188-204. e22. DOI: 10.1016/j.cell.2019.11.036.
- [10] Sun W, Starly B, Daly AC, et al. The bioprinting roadmap[J]. *Biofabrication*, 2020, 12(2): 022002. DOI: 10.1088/1758-5090/ab5158.
- [11] Binder KW, Zhao W, Aboushwareb T, et al. In situ bioprinting of the skin for burns[J]. *Journal of the American College of Surgeons*, 2010, 211(3-suppl-S): S76. DOI: 10.1016/j.jamcollsurg.2010.06.198.
- [12] Huang S, Yao B, Xie J, et al. 3D bioprinted extracellular matrix mimics facilitate directed differentiation of epithelial progenitors for sweat gland regeneration[J]. *Acta Biomater*, 2016, 32:170-177. DOI:10.1016/j.actbio.2015.12.039.
- [13] Rimann M, Bono E, Annaheim H, et al. Standardized 3D bioprinting of soft tissue models with human primary cells[J]. *J Lab Autom*, 2016, 21(4): 496-509. DOI: 10.1177/2211068214567146.
- [14] Koch L, Deiwick A, Schlie S, et al. Skin tissue generation by laser cell printing[J]. *Biotechnol Bioeng*, 2012, 109(7): 1855-1863. DOI: 10.1002/bit.24455.
- [15] Zhou F, Hong Y, Liang R, et al. Rapid printing of bio-inspired 3D tissue constructs for skin regeneration[J]. *Biomaterials*, 2020, 258: 120287. DOI:10.1016/j.biomaterials.2020.120287.
- [16] Kim BS, Lee JS, Gao G, et al. Direct 3D cell-printing of human skin with functional transwell system[J]. *Biofabrication*, 2017, 9(2): 025034. DOI:10.1088/1758-5090/aa71c8.
- [17] Yao B, Hu T, Cui X, et al. Enzymatically degradable alginate/gelatin bioink promotes cellular behavior and degradation in vitro and in vivo[J]. *Biofabrication*, 2019, 11(4): 045020. DOI: 10.1088/1758-5090/ab38ef.
- [18] Li J, Zhang Y, Enhe J, et al. Bioactive nanoparticle reinforced alginate/gelatin bioink for the maintenance of stem cell stemness[J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2021, 126: 112193. DOI: 10.1016/j.msec.2021.112193.
- [19] Yao B, Wang R, Wang Y, et al. Biochemical and structural cues of 3D-printed matrix synergistically direct MSC differentiation for functional sweat gland regeneration[J]. *Sci Adv*, 2020, 6(10): eaaz1094. DOI:10.1126/sciadv.aaz1094.
- [20] Singh NK, Han W, Nam SA, et al. Three-dimensional cell-printing of advanced renal tubular tissue analogue[J]. *Biomaterials*, 2020, 232:119734. DOI:10.1016/j.biomaterials.2019.119734.
- [21] Kim BS, Ahn M, Cho WW, et al. Engineering of diseased human skin equivalent using 3D cell printing for representing pathophysiological hallmarks of type 2 diabetes in vitro[J]. *Biomaterials*, 2021, 272:120776. DOI:10.1016/j.biomaterials.2021.120776.
- [22] Yao B, Zhu DZ, Cui XL, et al. Modeling human hypertrophic scars with 3D preformed cellular aggregates bioprinting[J]. *Bioact Mater*, 2022, 10:247-254. DOI:10.1016/j.bioactmat.2021.09.004.

- [23] Pedde RD, Mirani B, Navaei A, et al. Emerging biofabrication strategies for engineering complex tissue constructs[J]. *Adv Mater*, 2017,29(19). DOI:10.1002/adma.201606061.
- [24] Bhatia SN, Ingber DE. Microfluidic organs-on-chips[J]. *Nat Biotechnol*,2014,32(8):760-772.DOI:10.1038/nbt.2989.
- [25] Ataç B, Wagner I, Horland R, et al. Skin and hair on-a-chip: in vitro skin models versus ex vivo tissue maintenance with dynamic perfusion[J]. *Lab Chip*, 2013, 13(18): 3555-3561. DOI: 10.1039/c3lc50227a.
- [26] Mori N, Morimoto Y, Takeuchi S. Skin integrated with perfusable vascular channels on a chip[J]. *Biomaterials*, 2017, 116: 48-56. DOI:10.1016/j.biomaterials.2016.11.031.
- [27] Abaci HE, Gledhill K, Guo Z, et al. Pumpless microfluidic platform for drug testing on human skin equivalents[J]. *Lab Chip*, 2015, 15(3):882-888. DOI:10.1039/c4lc00999a.
- [28] Momeni F, Seyed M, Xun L, et al. A review of 4D printing[J]. *Materials & design*, 2017, 122:42-79. DOI:10.1016/j.matdes.2017.02.068.
- [29] Chu H, Yang W, Sun L, et al. 4D printing: a review on recent progresses[J]. *Micromachines (Basel)*, 2020, 11(9): 796. DOI: 10.3390/mi11090796.
- [30] 王蕴璋, 苏晨, 付思祺, 等. 瘢痕疙瘩中的成纤维细胞特性研究进展[J]. *中华烧伤与创面修复杂志*, 2022, 38(6):590-594. DOI: 10.3760/cma.j.cn501120-20210510-00176.
- [31] Buechler MB, Pradhan RN, Krishnamurty AT, et al. Cross-tissue organization of the fibroblast lineage[J]. *Nature*, 2021, 593(7860): 575-579. DOI:10.1038/s41586-021-03549-5.
- [32] Mascharak S, desJardins-Park HE, Davitt MF, et al. Preventing Engrailed-1 activation in fibroblasts yields wound regeneration without scarring[J]. *Science*, 2021, 372(6540): eaba2374. DOI: 10.1126/science.aba2374.
- [33] Wang ZC, Zhao WY, Cao Y, et al. The roles of inflammation in keloid and hypertrophic scars[J]. *Front Immunol*, 2020, 11:603187. DOI:10.3389/fimmu.2020.603187.
- [34] Shook BA, Wasko RR, Rivera-Gonzalez GC, et al. Myofibroblast proliferation and heterogeneity are supported by macrophages during skin repair[J]. *Science*, 2018, 362(6417): eaar2971. DOI: 10.1126/science.aar2971.
- [35] Chen CZ, Raghunath M. Focus on collagen: in vitro systems to study fibrogenesis and antifibrosis state of the art[J]. *Fibrogenesis Tissue Repair*, 2009, 2:7. DOI:10.1186/1755-1536-2-7.
- [36] Veith AP, Henderson K, Spencer A, et al. Therapeutic strategies for enhancing angiogenesis in wound healing[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2019, 146:97-125. DOI:10.1016/j.addr.2018.09.010.
- [37] Korntner S, Lehner C, Gehwolf R, et al. Limiting angiogenesis to modulate scar formation[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2019, 146: 170-189. DOI:10.1016/j.addr.2018.02.010.
- [38] Hsu CK, Lin HH, Harn HI, et al. Mechanical forces in skin disorders[J]. *J Dermatol Sci*, 2018, 90(3):232-240. DOI:10.1016/j.jdermsci.2018.03.004.
- [39] Georges PC, Hui JJ, Gombos Z, et al. Increased stiffness of the rat liver precedes matrix deposition: implications for fibrosis[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2007, 293(6): G1147-1154. DOI:10.1152/ajpgi.00032.2007.
- [40] Viji Babu PK, Rianna C, Belge G, et al. Mechanical and migratory properties of normal, scar, and Dupuytren's fibroblasts[J]. *J Mol Recognit*, 2018, 31(9):e2719. DOI:10.1002/jmr.2719.
- [41] Santos A, Lagares D. Matrix stiffness: the conductor of organ fibrosis[J]. *Curr Rheumatol Rep*, 2018, 20(1): 2. DOI: 10.1007/s11926-018-0710-z.
- [42] Zhu Y, Cao Y, Pan J, et al. Macro-alignment of electrospun fibers for vascular tissue engineering[J]. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 2010, 92(2):508-516. DOI:10.1002/jbm.b.31544.
- [43] Seo BR, Chen X, Ling L, et al. Collagen microarchitecture mechanically controls myofibroblast differentiation[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2020, 117(21): 11387-11398. DOI: 10.1073/pnas.1919394117.
- [44] Berman B. Biological agents for controlling excessive scarring[J]. *Am J Clin Dermatol*, 2010, 11 Suppl 1: S31-34. DOI: 10.2165/1153419-S0-000000000-00000.
- [45] Sylakowski K, Wells A. ECM-regulation of autophagy: the yin and the yang of autophagy during wound healing[J]. *Matrix Biol*, 2021, 100-101:197-206. DOI:10.1016/j.matbio.2020.12.006.
- [46] McCormack A, Highley CB, Leslie NR, et al. 3D printing in suspension baths: keeping the promises of bioprinting afloat[J]. *Trends Biotechnol*, 2020, 38(6): 584-593. DOI: 10.1016/j.tibtech.2019.12.020.
- [47] Ramezani H, Zhou LY, Shao L, et al. Coaxial 3D bioprinting of organ prototypes from nutrients delivery to vascularization[J]. *J Zhejiang Univ Sci A*, 2020, 21: 859-875. DOI: 10.1631/jzus.A2000261.

(收稿日期:2021-07-23)