

软组织三维生物打印与其配套装备研发的进展

胡妍珂 陈姝颖 周飞 熊雅慧 陈蕾 祁少海

中山大学附属第一医院烧伤与创面修复科, 广州 510080

通信作者: 祁少海, Email: qishh@mail.sysu.edu.cn

【摘要】 三维生物打印作为组织工程的前沿技术, 可以精确打印仿生组织, 在骨骼、牙齿等硬组织打印领域取得了巨大的进展, 软组织生物打印的研究也飞速发展。该文主要就软组织三维生物打印技术以及打印软件、打印硬件、配套耗材、生物反应器等配套装备的研发进展进行阐述, 并对其未来研究方向进行展望。

【关键词】 打印, 三维; 软组织损伤; 创面修复; 配套装备

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81971856); 广东省自然科学基金(2020B1515020049); 广州市科技计划(20170420165)

Progress in research and development of soft tissue three-dimensional bioprinting and its supporting equipment

Hu Yanke, Chen Shuying, Zhou Fei, Xiong Yahui, Chen Lei, Qi Shaohai

Department of Burns and Wound Repair, the First Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China

Corresponding author: Qi Shaohai, Email: qishh@mail.sysu.edu.cn

【Abstract】 As a cutting-edge technology of tissue engineering, three-dimensional bioprinting can accurately fabricate biomimetic tissue, which has made great progress in the field of hard tissue printing such as bones and teeth. Meanwhile, the research on soft tissue bioprinting is also developing rapidly. This article mainly discussed the development progress in various bioprinting technologies and supporting equipment including printing software, printing hardware, supporting consumables, and bioreactors for soft tissue three-dimensional bioprinting, and made a prospect for the future research and development direction of soft tissue three-dimensional bioprinting.

【Key words】 Printing, three-dimensional; Soft tissue injuries; Wound repair; Supporting equipment

Fund program: General Program of National Natural Science Foundation of China (81971856); Natural Science Foundation of Guangdong Province of China (2020B

1515020049); Science and Technology Program of Guangzhou (20170420165)

组织工程技术将细胞、生物材料支架和生物活性因子进行整合, 其相关产品可用于修复甚至替换自体受损组织^[1]。传统组织工程技术形成的组织替代物囿于形状和机械性能, 无法满足组织修复的外形及功能的个体化需求。而三维生物打印作为组织工程领域的前沿技术, 可以制造精确且复杂的仿生结构, 已在临床上用于修复或替换受损的骨骼、牙齿等硬组织。软组织三维打印需要更复杂的组织器官建模、更多样的生物墨水以及更适合细胞生存的打印过程, 其发展虽相对缓慢, 但也在皮肤、神经、肌肉等方面的仿生制造中取得一定进展。本文主要就软组织三维生物打印技术以及配套耗材、打印软件、打印硬件、生物反应器等配套装备的研发进展进行回顾, 并对软组织三维生物打印的前景进行展望。

1 软组织三维生物打印技术

适合的软组织三维生物打印技术主要有 4 种, 即挤压式生物打印(EBB)、液滴式生物打印(DBB)、激光式生物打印(LBB)和光固化立体成型(SLA)。

1.1 EBB

EBB 是所有生物打印技术中应用最广泛的一种, 其基本原理是在计算机控制下, 利用气动或机械流体分配系统, 将生物墨水通过微喷嘴尖端挤出, 形成圆柱状细丝, 并沿计算机预设路径精确沉积生成三维组织结构^[2-3]。基于 EBB 的生物打印目前已经被用于打印细胞、组织、器官模块等, 现已制造出骨骼肌^[4]、皮肤^[5]等结构。Cubo 等^[5]利用人血浆与从活体组织检查的人皮肤提取的原代 Fb 和 KC, 基于纤维蛋白构建出和天然人类皮肤高度相似的双层真皮结构。Hsieh 等^[6]使用含有神经干细胞的聚氨酯纳米水凝胶进行生物打印, 所得结构中神经干细胞具有良好的增殖和分化能力, 可促进胚胎神经损伤斑马鱼及创伤性脑损伤成年斑马鱼受损的中枢神经系统的修复。另外, 可通过 EBB 打印器官模块, 如 Kim 等^[7]将小鼠原代肝细胞和海藻酸盐混合, 打印出三维肝脏结

DOI: 10.3760/cma.j.cn501120-20210922-00327

本文引用格式: 胡妍珂, 陈姝颖, 周飞, 等. 软组织三维生物打印与其配套装备研发的进展[J]. 中华烧伤与创面修复杂志, 2022, 38(11): 1090-1095. DOI: 10.3760/cma.j.cn501120-20210922-00327.

Hu YK, Chen SY, Zhou F, et al. Progress in research and development of soft tissue three-dimensional bioprinting and its supporting equipment[J]. Chin J Burns Wounds, 2022, 38(11): 1090-1095. DOI: 10.3760/cma.j.cn501120-20210922-00327.



构,其中原代肝细胞可产生肝脏特异性蛋白,且肝细胞功能可保留长达 14 d;Homan 等^[8]用明胶/纤维蛋白混合水凝胶打印三维中空管道,使近端肾小管上皮细胞在其中贴壁形成单层连续肾小管样结构,该肾小管样结构表现出类似于在体肾小管的形态特征并维持 2 个月以上。

1.2 DBB

DBB 技术原理是生物墨水通过喷嘴以液滴的形式非接触性沉积到平台上,可进一步分为喷墨生物打印(IJB)、电-流体动力喷墨生物打印、声学液滴生物打印和微阀生物打印^[9]。其中 IJB 被广泛应用于骨、软骨、皮肤、神经等组织工程领域,可利用人类 KC 和 Fb 打印皮肤^[10],利用藻酸盐水凝胶和哺乳动物心肌细胞打印心肌组织^[11],利用人神经母细胞瘤细胞和导电纳米纤维素/碳纳米管支架打印神经组织^[12]。还可将负载内皮细胞的纤维蛋白基质作为生物墨水,打印微血管^[13]。Faulkner-Jones 等^[14]以含人胚胎干细胞的海藻酸盐为生物墨水,打印的肝脏组织可表达白蛋白和细胞核因子 4 α 等肝脏标志物。IJB 的优势是分辨率高、打印速度快、成本较低,且打印过程对细胞活性影响较小^[15]。然而,为了避免喷嘴堵塞、减少打印时剪切应力,DBB 只能采用低细胞密度、低黏度的生物墨水进行打印^[16];为了保证打印后组织形态稳定,打印后需进行额外的交联步骤,该步骤可能改变生物墨水生化特性。

1.3 LBB

2007 年,Duocastella 等^[17]首次将 LBB 技术应用于组织工程领域。LBB 的打印过程中,激光能量束不直接对生物墨水产生力学效果,而是通过蒸发生物墨水所附着的吸收层材料,在吸收层面向生物材料的一侧产生高压、微尺度的气泡,产生朝向接收基底面的生物墨水射流。根据激光光源和激光透明打印带的不同,LBB 可分为激光诱导的正向转移(LIFT)、基质辅助脉冲激光蒸发直写等。目前已成功利用 LBB 技术打印三维空间排列的细胞,包括人永生化 KC(HaCaT)、小鼠 Fb、人真皮 Fb、人间充质干细胞、大鼠施万细胞和星形胶质细胞等^[18],也成功打印了皮肤组织。Koch 等^[19]利用 LBB 将 HaCaT 和小鼠 Fb 嵌入胶原支架中,成功制造黏附性佳、具有丰富 ECM 形成的三维皮肤结构。Gaebel 等^[20]应用 LIFT 技术制备了搭载人脐静脉内皮细胞(HUVEC)和人骨髓间充质干细胞的心脏补片,成功促进大鼠心肌梗死边缘区的血管生成和急性心肌梗死后的心功能恢复。基质辅助脉冲激光蒸发直写打印是 LIFT 的改进,增加了吸收层厚度,进一步减少激光对生物墨水的损伤^[15]。LBB 具有极高分辨率、打印速度快等优点,对细胞活性影响较小;但是因为适合激光打印的生物墨水并不多,且激光系统成本较高,因此 LBB 在生物制造领域的应用受到限制。

1.4 SLA

SLA 技术在生物打印领域的应用始于 2004 年 Levy 等使用传统光固化立体打印机,将多孔羟基磷灰石生物陶瓷打印成眶底假体。SLA 的原理是采用光照射、聚合与固化材料,通过光移动逐层地垂直平移构建对象^[15]。Zhu 等^[21]以甲基

丙烯酸酐化明胶、神经干细胞和生物活性石墨烯纳米血小板作为纳米生物墨水,采用 SLA 技术打印水凝胶细胞支架,并证实神经干细胞可在该支架中存活、增殖并分化为神经细胞。在器官打印方面,Ma 等^[22]利用 SLA 技术打印三维水凝胶细胞培养模型,并将人诱导多能干细胞来源的肝祖细胞(hiPSC-HPC)、HUVEC 和脂肪干细胞嵌入此模型中,经过数周的体外培养,支架结构稳定,与二维培养的肝祖细胞以及三维培养的肝祖细胞相比,hiPSC-HPC 的肝脏特异性基因表达水平增高,代谢产物分泌增加,细胞色素 P450 酶的酶诱导增强。由于 SLA 的成型过程仅依赖紫外光照射,不需要打印头,相对喷墨打印技术打印速度快,并且无喷嘴堵塞问题,不会对细胞产生剪切力,从而可获得较高活力的细胞。同时,它是分辨率最高的生物打印方法,且随着基于双光子聚合的光刻技术的出现,更获得了纳米级(约 200 nm)分辨率。但是 SLA 技术只能应用可光聚合或含有光引发剂的生物墨水,而光引发剂具有细胞毒性,且细胞暴露于紫外线下容易发生裂解和 DNA 损伤,只有低黏度的生物墨水才能用于 SLA,这些条件也限制了 SLA 在生物打印中的应用^[15,18]。

基于组织和器官的异质性,结合几种生物打印方法的优点,开发混合生物打印技术的装备进行生物打印具有广阔前景。Kim 等^[23]使用混合生物打印技术打印了可灌注血管化三维皮肤模型:利用 EBB 技术依次打印真皮下组织、真皮下血管、真皮层,利用 IJB 技术打印表皮层——近似人类正常皮肤层。该模型优于仅含表皮层和真皮层的人工皮肤,但仍缺乏黑色素细胞、毛囊和汗腺等重要的人类皮肤功能性组分。生物打印的未来在于权衡不同的生物打印技术的适用性与局限性,建立混合生物打印系统,以得到具有高仿真结构和功能的组织和器官。

理想的软组织三维打印技术最重要的特征是分辨率高、精确度高、自由度高和打印速度快,并可兼容各种类型的生物墨水。目前对三维生物打印机提出了更高要求,如要求商业化的三维生物打印机硬件与软件的标准化,使之更有利于不同生物打印机之间的兼容互通,从而实现交叉通信;需要具备监测打印过程和反馈信息的能力,提高打印效率;需要减少人工操作程序,使用户更多地关注临床问题而不是烦琐的打印操作等。另外,打印成本也是一个需要关注的问题。

2 三维打印基本过程

软组织三维生物打印有 3 个阶段,即生物打印前、生物打印阶段和生物打印后。生物打印前通过微创活体组织检查收集组织细胞,进行干细胞分化与扩增,而后根据目标组织或器官的医学图像构建三维生物模型,进一步将三维图像转换为打印路径命令。生物打印阶段就根据打印路径命令,进行 x、y、z 轴不同坐标的生物墨水堆积。生物打印后阶段涉及通过各种刺激调节生物墨水性状及细胞状态,促进打印组织的成熟并将其应用于临床。

2.1 生物打印前

获得高分辨率影像并进行数字化处理是生物打印的基

础,选择何种扫描方法取决于靶组织的特性^[24]。现多利用 CT、磁共振成像(MRI)、超声成像技术和光学显微镜等方法获取成像信息。其中将 MRI 和超声成像技术用于含水量和含脂肪量多的组织,可获得较高分辨率的图像,甚至可以识别不同的皮肤层次,因此这 2 种技术更常被用于软组织成像。其他新兴扫描技术,如主动动态热成像,可以实现精确的表面测量、纹理映射和深度测量,精确地确定皮肤的颜色和着色级别,分析人体皮肤细节时分辨率可达 635 μm ,该技术可能成为创面三维成像的另一种潜在技术^[25]。

通过以上步骤获取经处理的目标组织/器官的轮廓后,还需设计可供细胞附着、增殖及营养流动的内部结构,才能建立完整的三维生物打印模型。在生物用计算机辅助设计(CAD)系统中,构造实体几何、边界表示和空间位置枚举等属于常用的软组织结构建模方法。以下方法可以进行生物打印的设计优化,如有限元分析(FEA)能用来确定流体特性和扩散系数^[26];计算流体动力学可进行三维组织中的血流模拟设计等^[27]。完成所有设计后,需将三维生物打印模型转化成打印机可识别的打印路径文件,即将三维图像转换为数张连续的二维路径供打印机识别和打印,并将格式为 STL 的三维模型导入切片软件中。三维打印机厂商只需开发前台控制软件,然后调用相应的切片引擎即可对三维模型进行分解,得到一系列连续的二维多边形,再将二维多边形转化为打印路径,并按照打印顺序、不同生物墨水分布层次进行路径优化,最终转化为打印机硬件可识别的 G 代码和格式文件,实现对打印头运动的精确控制^[28]。

2.2 生物打印阶段

软组织三维生物打印需根据目标组织特性进行综合决策,选择合适的打印技术及相应的生物墨水。理想的生物墨水需具有可打印性、可降解性和生物相容性^[29]。可打印性即生物墨水的物理性状和打印方式相匹配,打印物结构完整而稳定;可降解性即生物墨水能按照组织器官的既定功能在一定时间内降解;生物相容性即能提供细胞友好环境,以支持细胞黏附、增殖和扩散。

2.3 生物打印后

生物打印后阶段的组织成熟依赖于对环境和时间的精准调控,为了维持组织中细胞活力和功能,需要保证较佳的营养和氧气输送以及废物的清除,亦需通过施加各种刺激(机械、生化刺激等)来调控组织的成熟。生物反应器是一种体内环境的体外模拟器,可以精确调控 pH 值、温度、氧饱和度、细胞灌注以及外部刺激如剪切应力和机械力等参数,从而在生物打印后促成三维细胞支架的体外成熟,已在三维打印骨、皮肤、心血管等的打印后成熟过程中展现出实用性^[29]。

3 软组织三维生物打印相关装备

打印软件、打印硬件、配套耗材、生物反应器等是软组织三维生物打印的重要配套装备。一个通用的三维生物打印系统一般由两大部分组成,即软件系统和硬件系统。生物墨水是打印过程的重要耗材,生物反应器负责三维打印组织支

架的成熟。

3.1 软组织三维打印软件

软组织三维打印的软件系统主要包括系统控制软件、三维打印模型处理软件及接口软件。其中系统控制软件用于对机械硬件进行控制及对各个传感器反馈的数据进行及时处理;三维打印模型处理软件对上传到打印设备的模型数据进行切片、分层、工艺规划(包括打印控制方式、成型方向优化等)等;接口软件主要完成上位机与下位机之间的接口驱动。现已开发出专门的医学、生物用 CAD 软件,如 Mimics、Simpleware、三维 Slicer、Amira 和 OsiriX 等。其中 Mimics 软件在医学图像处理领域的应用最为广泛,其支持输入各种影像学(CT、CT 血管造影、数字减影血管造影等)数据,建立三维模型并进行编辑,输出通用的 CAD、FEA、快速成型格式,完成数据转换;另外,Mimics 软件可以直接读取医学数字成像和通信数据,高效地进行大规模数据的转换处理,操作简单、建模快速^[30-31]。随着软组织三维生物打印技术的普及和打印硬件的发展,三维生物打印机的配套软件研发取得了一定进展,如目前已研发出的三维打印机器人 BioAssemblyBot™ 的专用软件 TSIM™,可高精度识别 CT、MRI 等医学图像,同时支持点击式自由设计或从其他软件导入三维模型,并提供可视化预打印方案,已成功完成皮肤贴片、仿骨组织等结构的体外打印^[32-33]。

3.2 软组织三维打印硬件

硬件系统包括机械结构子系统和硬件控制子系统,不同打印技术的硬件组成也各不相同^[28]。现有的商用 EBB 打印机主要分为 5 个大类:传统式(如 Alpha 打印机和 Omega 打印机、Fab@Home 打印机等)、高自由度式(如 BioAssemblyBot™ 打印机)、支持生物绘图过程式(如三维生物绘图仪)、支持细胞聚集式(如 Novogen MMXTM、nScript 打印机等)以及支持其他特性的 EBB 打印机(如三维发现打印机、三维生物探索打印机等)。商用 DBB 打印机有 Autodrop Compact、AD-P-8000 和 MicroFab jetlab 等。目前市场上还尚未出现商用 LBB 打印机^[34]。商用 SLA 打印机有高精度投影式光固化生物三维打印机 EFL-BP-8600/8601。

理想的生物打印机应具有打印高自由度、打印过程完全自动化的特点。BioAssemblyBot™、Rokit Dr.Invivo 等是近期出现的新型生物打印机器人,它们应用了多轴打印、四维打印等概念,有望进行精确的器官打印。现今三维生物打印的主要限制为打印须有平坦的底台,而组织器官的形态复杂,缺少相应支撑面,因此曲面成型技术的发展可能成为三维生物打印的一个新突破,使用形状记忆特性的材料或控制打印区域的磁场也有利于复杂结构的打印^[3]。

3.3 生物墨水

生物墨水主要由水凝胶和/或细胞构成。水凝胶由天然生物材料和合成生物材料 2 类材料构成,天然生物材料包括 ECM、纤维蛋白、明胶、胶原、壳聚糖、海藻酸钠、透明质酸等,合成生物材料包括甲基丙烯酸酐化明胶、聚乙二醇等。这些水凝胶可以单独或者搭载相应细胞被制成生物墨水;细胞也

可不添加外源性生物材料单独作为打印墨水使用,打印出组织球状体、细胞聚合体、组织链等结构^[35]。生物墨水中,单一组分的水凝胶应用最广泛,但其降解速度很慢,降解产物可能对人体组织有害^[36]。另外,水凝胶的包裹限制了细胞之间的黏附等相互作用,水凝胶浓度和生物活性的不平衡性等也限制了水凝胶的应用。脱细胞 ECM(dECM)具有高度生物相容性、可模拟组织器官原位微环境等特征,对细胞存活、黏附、扩散等有促进作用,但其存在机械性弱、可能引起受体免疫反应,在脱细胞过程中失去部分生物特性,并可能产生有害物质等问题。由细胞作为生物墨水打印的组织球状体、细胞聚合体等,因缺乏必要的用于养分交换的 ECM 成分,中心的细胞易缺氧坏死,还需另外构造贯穿其中的血管,以减少细胞坏死。

可以通过交联、组合不同的生物墨水及添加活性生物成分,来制造理想的生物墨水。对于 DBB,应开发具有低黏度和有足够机械特性的生物墨水;适用于 EBB 的生物墨水不仅需要黏度较低,且需具有打印后快速凝固的能力;适用于 LBB 的生物墨水应具有特定的机械性能,以适应激光打印过程并形成均匀的凝胶结构;对于 SLA,开发新型的光固化材料和光引发剂则极其重要。随着生物墨水材料的改进与打印技术的进步,软组织三维生物打印将成为组织工程中的关键技术。近年,有研究者将生物墨水与纳米材料结合,以提高生物墨水的剪切稀释特性,改变其力学性能;通过改变打印时的条件,如微调打印时的温度,从而使材料可打印性增加^[3]。而 dECM 是较理想的生物墨水,但由于其成分复杂,如何在保证 ECM 功能的基础上对其进行良好的改性以适应打印过程,是研究人员需进一步克服的难题。

3.4 生物反应器

三维打印组织移植后,宿主血管长入三维打印组织的速度较慢,短时间内打印物只能通过周围组织液获取营养,打印完成后即刻移植常导致组织中心区域失活。故打印物还需在体外完成部分成熟过程,根据不同组织及细胞需要的生物力学环境,选择不同生物反应器促进三维打印组织支架的成熟。

搅拌瓶生物反应器利用磁转子或搅拌轴使培养基流动,从而使打印组织周围的氧气和营养物质均匀分布,这种生物反应器是促进脂肪干细胞在体外大规模分化为软骨细胞的有效方法。其不足为搅拌产生的剪切应力在不同位置可能存在显著差异,并非所有细胞都暴露在相同的剪切应力下。旋转壁容器式生物反应器为同心圆筒结构,培养液位于内外圆筒之间,内圆筒通气不透液,以提供氧气并排出二氧化碳;外圆筒连续旋转使其中的细胞或组织悬浮,并在低流体剪切的生理环境中生长。但当打印组织体积较大时,需要提高转速使组织保持悬浮状态,但这样易导致组织与内外壁碰撞,并且增大组织受到的流体剪切力,故旋转壁容器式生物反应器对打印产物的体积和质量有一定要求。压缩式生物反应器由带有活塞的压缩室组成,活塞直接将压缩载荷施加到打印支架上,旨在模拟体内组织的自然生理负荷,在骨、软骨及

心脏等对机械力要求较高的组织的打印后成熟期应用广泛。灌注生物反应器通过直接泵送的方式向打印物提供连续的培养液,进行营养物质和氧气的输送,由于可在灌注通道形成剪切应力,可促进通道内血管内皮细胞形成结构、功能趋于完整的血管,在大型组织块构建中具有很大优势^[37-38]。

另外,复杂器官常需多种生物反应器的结合或更复杂的生物反应器的设计,以模拟目标组织的实际生理状态。如心脏组织工程中,通过压缩(活塞压缩结构)和剪切应力(灌注)模拟喷射血液时的心脏状态^[39],将灌注生物反应器与电场刺激结合,对心脏结构成熟有额外的促进作用;肺组织工程中,维持动态培养的气液平面以及通过负压或正压通气进行循环拉伸,有利于促进肺泡上皮细胞分化或加速细胞增殖,最终使组织成熟^[40]。尽管三维打印技术已可在体外重建多种软组织,如皮肤、神经、心脏和肝脏等复杂器官,但细胞存活和分化不良、血管化率较低和代谢物扩散改变等问题依旧存在^[41]。要将生物反应器应用于临床,还需要在安全、可重复、可自动化以及可实时监测打印组织及微环境情况等方面进行研发。目前符合特定临床要求的定制生物反应器昂贵且耗时,且往往不符合国际监管要求^[39,42],故暂未见将三维打印软组织应用于临床试验,临床治疗更无从说起。随着研究者们对体内生物化学、机械、电生理环境等微环境更精确地模拟以及研发更精密的生物反应器,有望在体外构建具有完整功能的较大组织、器官。

4 总结与展望

软组织三维生物打印利用细胞、支架和生物因子已成功打印皮肤、血管、神经和肌肉等组织类似物,但是离真正修复、再生和替换人体的受损组织和器官还有一定距离。三维打印技术相较于传统的组织工程方法,能够制造复杂的三维组织,可大量生产载细胞的支架,应用于三维打印的生物墨水应具有 ECM 的功能、合适的力学协调性、生物相容性和生物降解性,但现有的生物墨水难以同时兼有以上特性。生物打印机、生物墨水和生物反应器的研发需要与打印工艺的创新并驾齐驱,以期精确制造模拟天然组织微环境的结构,修补甚至替换缺损的组织器官。三维生物打印机种类繁多,生物墨水作用机制和功能复杂,且打印物用于植入人体,属于应严格管控的第三类医疗器械,三维生物打印组织和器官的植入面临着严峻的监管挑战,因此制订关于医疗设备和产品的制造、使用的法律法规刻不容缓。另外,目前没有与时俱进的有关三维生物打印技术、生物打印材料和整个打印过程的行业标准,迫切需要制订相关指南,以降低三维生物打印的开发成本、提高开发效率。为了提高软组织三维生物打印分辨率、打印速度及打印结构复杂性,并兼容不同物理化学性质的细胞和材料,实现其他更多功能,早日完成临床转化,需要多技术的发展进步与多学科的交叉协调。总之,作为 21 世纪最有影响力的生物医学工程技术之一,软组织三维生物打印的技术难题还有待攻克,潜力还有待发掘,功能还有待实现。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Janmohammadi M, Nourbakhsh MS. Recent advances on 3D printing in hard and soft tissue engineering[J]. *Int J Polym Mater Po*, 2020, 69(7): 449-466. DOI: 10.1080/00914037.2019.1581196.
- [2] Landers R, Hübner U, Schmelzeisen R, et al. Rapid prototyping of scaffolds derived from thermoreversible hydrogels and tailored for applications in tissue engineering[J]. *Biomaterials*, 2002, 23(23): 4437-4447. DOI: 10.1016/s0142-9612(02)00139-4.
- [3] Heinrich MA, Liu W, Jimenez A, et al. 3D bioprinting: from benches to translational applications[J]. *Small*, 2019, 15(23): e1805510. DOI: 10.1002/sml.201805510.
- [4] Choi YJ, Jun YJ, Kim DY, et al. A 3D cell printed muscle construct with tissue-derived bioink for the treatment of volumetric muscle loss[J]. *Biomaterials*, 2019, 206: 160-169. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2019.03.036.
- [5] Cubo N, Garcia M, Del Cañizo JF, et al. 3D bioprinting of functional human skin: production and in vivo analysis[J]. *Biofabrication*, 2016, 9(1): 015006. DOI: 10.1088/1758-5090/9/1/015006.
- [6] Hsieh FY, Lin HH, Hsu SH. 3D bioprinting of neural stem cell-laden thermoresponsive biodegradable polyurethane hydrogel and potential in central nervous system repair[J]. *Biomaterials*, 2015, 71: 48-57. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2015.08.028.
- [7] Kim Y, Kang K, Jeong J, et al. Three-dimensional (3D) printing of mouse primary hepatocytes to generate 3D hepatic structure [J]. *Ann Surg Treat Res*, 2017, 92(2): 67-72. DOI: 10.4174/astr.2017.92.2.67.
- [8] Homan KA, Kolesky DB, Skylar-Scott MA, et al. Bioprinting of 3D convoluted renal proximal tubules on perfusable chips[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 34845. DOI: 10.1038/srep34845.
- [9] Klebe RJ. Cytoscribing: a method for micropositioning cells and the construction of two- and three-dimensional synthetic tissues [J]. *Exp Cell Res*, 1988, 179(2): 362-373. DOI: 10.1016/0014-4827(88)90275-3.
- [10] Tan B, Gan S, Wang X, et al. Applications of 3D bioprinting in tissue engineering: advantages, deficiencies, improvements, and future perspectives[J]. *J Mater Chem B*, 2021, 9(27): 5385-5413. DOI: 10.1039/d1tb00172h.
- [11] Xu T, Baicu C, Aho M, et al. Fabrication and characterization of bio-engineered cardiac pseudo tissues[J]. *Biofabrication*, 2009, 1(3): 035001. DOI: 10.1088/1758-5082/1/3/035001.
- [12] Kuzmenko V, Karabulut E, Pernevik E, et al. Tailor-made conductive inks from cellulose nanofibrils for 3D printing of neural guidelines[J]. *Carbohydr Polym*, 2018, 189: 22-30. DOI: 10.1016/j.carbpol.2018.01.097.
- [13] Hewes SA, Wong AD, Searson PC. Bioprinting microvessels using an inkjet printer[J]. *Bioprinting*, 2017, 7: 14-18. DOI: 10.1016/j.bprint.2017.05.002.
- [14] Faulkner-Jones A, Fyfe C, Cornelissen DJ, et al. Bioprinting of human pluripotent stem cells and their directed differentiation into hepatocyte-like cells for the generation of mini-livers in 3D [J]. *Biofabrication*, 2015, 7(4): 044102. DOI: 10.1088/1758-5090/7/4/044102.
- [15] 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.
- [16] Varkey M, Visscher DO, van Zuijlen PPM, et al. Skin bioprinting: the future of burn wound reconstruction? [J/OL]. *Burns Trauma*, 2019, 7:4[2022-10-21]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30805375/>. DOI: 10.1186/s41038-019-0142-7.
- [17] Duocastella M, Colina M, Fernández-Pradas JM, et al. Study of the laser-induced forward transfer of liquids for laser bioprinting [J]. *Appl Surf Sci*, 2007, 253(19): 7855-7859. DOI: 10.1016/j.apsusc.2007.02.097.
- [18] Vijayavenkataraman S, Yan WC, Lu WF, et al. 3D bioprinting of tissues and organs for regenerative medicine[J]. *Adv Drug Del Rev*, 2018, 132: 296-332. DOI: 10.1016/j.addr.2018.07.004.
- [19] 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.
- [20] Gaebel R, Ma N, Liu J, et al. Patterning human stem cells and endothelial cells with laser printing for cardiac regeneration[J]. *Biomaterials*, 2011, 32(35): 9218-9230. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2011.08.071.
- [21] Zhu W, Harris BT, Zhang LG. Gelatin methacrylamide hydrogel with graphene nanoplatelets for neural cell-laden 3D bioprinting [J]. *Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc*, 2016, 2016: 4185-4188. DOI: 10.1109/EMBC.2016.7591649.
- [22] Ma X, Qu X, Zhu W, et al. Deterministically patterned biomimetic human iPSC-derived hepatic model via rapid 3D bioprinting[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113(8): 2206-2211. DOI: 10.1073/pnas.1524510113.
- [23] Kim BS, Gao G, Kim JY, et al. 3D cell printing of perfusable vascularized human skin equivalent composed of epidermis, dermis, and hypodermis for better structural recapitulation of native skin[J]. *Adv Healthc Mater*, 2019, 8(7): e1801019. DOI: 10.1002/adhm.201801019.
- [24] Yu JR, Navarro J, Coburn JC, et al. Current and future perspectives on skin tissue engineering: key features of biomedical research, translational assessment, and clinical application[J]. *Adv Healthc Mater*, 2019, 8(5): e1801471. DOI: 10.1002/adhm.201801471.
- [25] Vijayavenkataraman S, Lu WF, Fuh JY. 3D bioprinting of skin: a state-of-the-art review on modelling, materials, and processes[J]. *Biofabrication*, 2016, 8(3): 032001. DOI: 10.1088/1758-5090/8/3/032001.
- [26] Wu Y, Fortunato GM, Okesola BO, et al. An interfacial self-assembling bioink for the manufacturing of capillary-like structures with tuneable and anisotropic permeability[J]. *Biofabrication*, 2021, 13(3). DOI: 10.1088/1758-5090/abe4c3.
- [27] Itatani K, Sekine T, Yamagishi M, et al. Hemodynamic parameters for cardiovascular system in 4D flow MRI: mathematical definition and clinical applications[J]. *Magn Reson Med Sci*, 2022, 21(2): 380-399. DOI: 10.2463/mrms.rev.2021-0097.
- [28] 姚栋嘉, 陈智勇, 吕磊. 3D 打印技术[M]. 北京: 机械工业出版社, 2018.
- [29] Datta P, Barui A, Wu Y, et al. Essential steps in bioprinting: from pre- to post-bioprinting[J]. *Biotechnol Adv*, 2018, 36(5): 1481-1504. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2018.06.003.
- [30] 曹桂平, 张明娇, 刘非, 等. Arigin 3D Pro 软件与 Mimics 软件三维重建模型的精度研究[J]. *中国组织工程研究*, 2018, 22(15): 2384-2389. DOI: 10.3969/j.issn.2095-4344.0729.
- [31] Song JL, Fu XY, Raza A, et al. Enhancement of mechanical strength of TCP-alginate based bioprinted constructs[J]. *J Mech Behav Biomed Mater*, 2020, 103: 103533. DOI: 10.1016/j.jmbm.2019.103533.
- [32] Albouy M, Desanlis A, Brosset S, et al. A preliminary study for an intraoperative 3D bioprinting treatment of severe burn injuries

- [J]. *Plast Reconstr Surg Glob Open*, 2022, 10(1): e4056. DOI: 10.1097/GOX.00000000000004056.
- [33] Maturavongsadit P, Narayanan LK, Chansoria P, et al. Cell-laden nanocellulose/chitosan-based bioinks for 3D bioprinting and enhanced osteogenic cell differentiation[J]. *ACS Appl Bio Mater*, 2021, 4(3):2342-2353. DOI:10.1021/acsabm.0c01108.
- [34] Ozbolat IT, Moncal KK, Gudapati H. Evaluation of bioprinter technologies[J]. *Additive Manufacturing*, 2017, 13: 179-200. DOI: 10.1016/j.addma.2016.10.003.
- [35] Zhang Y, Enhejirigala, Yao B, et al. Using bioprinting and spheroid culture to create a skin model with sweat glands and hair follicles [J/OL]. *Burns Trauma*, 2021, 9: tkab013[2022-10-21]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34213515/>. DOI: 10.1093/burnst/tkab013.
- [36] 刘小刚, 陈蕾, 李海航, 等. 天然与重组胶原蛋白在创面修复中的应用研究进展[J]. *中华烧伤与创面修复杂志*, 2022, 38(10): 978-982. DOI: 10.3760/cma.j.cn501120-20211123-00394.
- [37] Sharma D, Ross D, Wang GF, et al. Upgrading prevascularization in tissue engineering: a review of strategies for promoting highly organized microvascular network formation[J]. *Acta Biomater*, 2019, 95: 112-130. DOI: 10.1016/j.actbio.2019.03.016.
- [38] Zhang J, Wehrle E, Rubert M, et al. 3D bioprinting of human tissues: biofabrication, bioinks, and bioreactors[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(8):3971. DOI:10.3390/ijms22083971.
- [39] Paez-Mayorga J, Hernández-Vargas G, Ruiz-Esparza GU, et al. Bioreactors for cardiac tissue engineering[J]. *Adv Healthc Mater*, 2019, 8(7):e1701504. DOI:10.1002/adhm.201701504.
- [40] Mahfouzi SH, Amoabediny G, Safiabadi Tali SH. Advances in bioreactors for lung bioengineering: from scalable cell culture to tissue growth monitoring[J]. *Biotechnol Bioeng*, 2021, 118(6): 2142-2167. DOI:10.1002/bit.27728.
- [41] Pennarossa G, Arcuri S, De Iorio T, et al. Current advances in 3D tissue and organ reconstruction[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(2):830. DOI:10.3390/ijms22020830.
- [42] Ravichandran A, Liu Y, Teoh SH. Review: bioreactor design towards generation of relevant engineered tissues: focus on clinical translation[J]. *J Tissue Eng Regen Med*, 2018, 12(1): e7-e22. DOI:10.1002/term.2270.

(收稿日期:2021-09-22)

· 科技快讯 ·

基于趋化因子 CXC 受体 6 的间充质干细胞基因治疗可促进小鼠糖尿病创面的皮肤再生

引用格式: Dhoke NR, Kaushik K, Das A. Cxcr6-based mesenchymal stem cell gene therapy potentiates skin regeneration in murine diabetic wounds[J]. *Mol Ther*, 2020, 28(5):1314-1326. DOI: 10.1016/j.ymthe.2020.02.014.

将间充质干细胞(MSC)用于创面治疗时,常因移植细胞的募集数量不足以及进行皮肤再生的细胞系分化受损而导致创面愈合延迟。该研究观察到,在小鼠创面中移植骨髓源性 MSC,趋化因子 CXC 配体 16(CXCL16)及趋化因子 CXC 受体 6(CXCR6)的表达均增加,提示外源性 MSC 移植治疗具有潜在价值。CXCL16/CXCR6 轴的激活调控了局部黏着斑激酶,Src 和细胞外信号调节激酶 1/2 介导的基质金属蛋白酶-2 启动子的表达,以及 MSC 中的迁移信号通路。CXCL16 的激活也促进了 MSC 向内皮样细胞和 KC 的分化。在 1 型和 2 型糖尿病小鼠切开并用夹板固定的创面中,通过移植异体来源的 MSC 及 CXCR6 增加了创面的血管新生和再上皮化,最终促进了皮肤组织再生。这项研究表明,在 CXCR6 过度表达的生物工程 MSC 中,激活 CXCL16/CXCR6 轴为糖尿病创面的治疗提供了一种有前景的治疗方法。

李佳伦,编译自《Mol Ther》,2020,28(5):1314-1326;史春梦,审校

· 《Burns & Trauma》好文推荐 ·

光动力疗法可通过促进上皮再生加速皮肤创面愈合

引用格式: Yang Z, Hu X, Zhou L, et al. Photodynamic therapy accelerates skin wound healing through promoting re-epithelialization[J/OL]. *Burns Trauma*, 2021, 9:tkab008[2022-09-22]. <https://doi.org/10.1093/burnst/tkab008>. DOI: 10.1093/burnst/tkab008.

位于皮肤毛囊和表皮基底层的表皮干细胞(ESC)在创面愈合和皮肤稳态维持方面起关键作用。然而关于光化学活化对创面愈合过程中 ESC 分化、增殖和迁移的影响知之甚少。陆军军医大学西南医院尹锐教授团队近期于《Burns & Trauma》发文《Photodynamic therapy accelerates skin wound healing through promoting re-epithelialization》。该文观察到,基于 5-氨基乙酰丙酸的光动力疗法(PDT)可以通过增加小鼠全层皮肤缺创面中胰岛素样生长因子 1(IGF-1)的表达量改变创面 ESC 分化的方式,从而促进创面中 ESC 的增殖、迁移、分化,促进上皮再形成。同时,该疗法可以通过增加血管生成标志物 CD31 及 VEGF A 的表达,抑制炎症因子 TNF- α 、IL-23、IL-1 β 的表达,从而促进创面中的血管生成,抑制炎症浸润。该种改进的 PDT 具有一定的临床应用前景,可为探索高效、经济、无不良反应的临床创面治疗方法提供思路。

谢文韬,编译自《Burns Trauma》,2021,9:tkab008;史春梦,审校