

基于三维生物打印技术的皮肤组织工程研究进展

李洋 惠涛涛 郑东梅 葛俊 罗晓娥 王琳

西安外事学院医学院, 精准抗衰健康产品研发与转化陕西省高校工程研究中心, 西安 710077

通信作者: 王琳, Email: wanglin0527@126.com

【摘要】 组织工程皮肤开发的主要目的是恢复皮肤受损严重患者的皮肤屏障功能, 目前该产品已成为临床上皮肤移植的理想替代物。随着三维生物打印技术的不断发展, 构建的包含皮肤附属物等复杂结构的三维皮肤模型也日趋成熟。稳定的三维皮肤模型在皮肤生理病理研究、化妆品安全性及有效性评估, 以及替代动物实验等方面具有广泛应用。该文针对三维生物打印技术进行了分类介绍, 总结了常用于皮肤模型构建的生物墨水种类, 综述了近年来三维生物打印技术在皮肤组织工程领域的应用研究进展, 并对其未来研究发展方向和应用领域进行了探讨和展望。

【关键词】 皮肤移植; 组织工程; 三维生物打印; 皮肤模型

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(31900939); 陕西省“千人计划”青年项目; 陕西省重点研发计划(2023-YBSF-039); 陕西高校青年创新团队

Recent advances of skin tissue engineering based on three-dimensional bioprinting technology

Li Yang, Xi Taotao, Zheng Dongmei, Ge Jun, Luo Xiao'e, Wang Lin

Engineering Research Center of Personalized Anti-aging Health Product Development and Transformation of Universities of Shaanxi Province, College of Medicine, Xi'an International University, Xi'an 710077, China

Corresponding author: Wang Lin, Email: wanglin0527@126.com

【Abstract】 The fundamental purpose of tissue-engineered skin development is to restore the skin barrier function of patients with severe skin injury, and this kind of product has become an ideal substitute for skin transplantation in clinic at present. With the development of three-dimensional bioprinting technology,

the three-dimensional skin models constructed with complex structures such as skin appendages are also becoming increasingly mature. The stable three-dimensional skin model is widely used in skin physiological and pathological research, cosmetic safety and efficacy evaluation, and alternating animal experiments. In this paper, we introduced the three-dimensional bioprinting technology in categories, summarized the types of bio-inks commonly used for skin model construction, reviewed the recent advances of three-dimensional bioprinting technology applied in the field of skin tissue engineering, and explored and prospected the future directions of its research development and application fields.

【Key words】 Skin transplantation; Tissue engineering; Three-dimensional bioprinting; Skin model

Fund program: Youth Science Foundation Project of National Natural Science Foundation of China (31900939); Youth Project of "Thousand Talents Plan" of Shaanxi Province of China; Key Research and Development Plan of Shaanxi Province of China (2023-YBSF-039); The Youth Innovation Team of Shaanxi Universities

组织损伤是人类生存中不可避免的问题, 由于人体的再生能力有限, 大面积组织损伤往往难以自愈, 需要通过组织或器官移植方式进行治疗。但是, 治疗方案能否实施受限于损伤的程度、供体数量以及术后排异等因素。组织工程学旨在将生物学和工程技术相结合, 开发受损组织的实用替代物, 从而帮助挽救生命和提高生活质量。

三维生物打印是组织工程技术中的重要手段, 是将沉积的材料和细胞以层堆叠方式构建成复杂组织模型。三维生物打印能构建出具有分层结构的皮肤模型, 且模型内部具有相互连接的孔隙, 适合气体和营养物质的运输, 满足细

DOI: 10.3760/cma.j.cn501225-20230131-00029

本文引用格式: 李洋, 惠涛涛, 郑东梅, 等. 基于三维生物打印技术的皮肤组织工程研究进展[J]. 中华烧伤与创面修复杂志, 2023, 39(11): 1096-1100. DOI: 10.3760/cma.j.cn501225-20230131-00029.

Li Y, Xi TT, Zheng DM, et al. Recent advances of skin tissue engineering based on three-dimensional bioprinting technology[J]. Chin J Burns Wounds, 2023, 39(11): 1096-1100. DOI: 10.3760/cma.j.cn501225-20230131-00029.



胞间和细胞内的信号传递,更接近于人体的病理生理状态。2004 年,研究者首次采用三维生物打印技术打印了人皮肤 Fb,为皮肤模型构建技术的发展奠定了基础^[1]。三维生物打印除了可以构建定制图案的皮肤模型,还可以在创面上进行原位打印,直接将生物体作为生物反应器,诱导组织分化成熟,提高组织修复效果^[2]。

目前,三维生物打印技术发展还未成熟,打印出的产品大多也只是处于实验室研究阶段。如何延长打印皮肤组织使用寿命、打印组织的血管化以及打印血管化皮肤组织移植后与创面的整合等问题,均是该领域需要解决的技术难点。因此,基于三维生物打印技术在皮肤再生领域的应用潜力,本文介绍该技术打印过程中涉及的打印策略以及常用生物墨水,分享最新的三维生物打印皮肤研究进展,并对目前存在的一些技术难点进行分析。

1 三维生物打印策略

常见的三维生物打印可分为 4 类:基于喷墨技术的三维生物打印、基于挤压技术的三维生物打印、基于激光辅助技术的三维生物打印和基于立体光刻技术的三维生物打印。

1.1 基于喷墨技术的三维生物打印

基于喷墨技术的三维生物打印是将低黏度悬浮生物材料和活细胞混合成生物墨水后沉积在“生物纸”(例如水凝胶基质和培养皿等)上,最终得到理想的图案。该打印方式较简单、价格低廉且打印平台建设简单;但是该技术要求打印材料黏度不能过低,且打印喷头易堵塞,打印过程中无法精确地控制液滴形状,打印精度在 50 μm 左右。有研究者使用基于喷墨技术的三维生物打印,将水凝胶包裹的自体真皮 Fb 和表皮 KC 直接输送到人全层皮肤缺损创面的特定位置,进行原位生物打印,结果显示,与未处理的同型对照相比,创面愈合加速、收缩减少且再上皮化加速^[3]。也有研究者使用改进的喷墨打印机将毛细血管样内皮网络整合到真皮-表皮中构建了双层皮肤模型,随后将皮肤模型植入到无胸腺裸鼠背部的全层皮肤缺损创面中,14~16 d 后观察到创面基本愈合^[4]。

1.2 基于挤压技术的三维生物打印

基于挤压技术的三维生物打印是将生物墨水在压力的作用下高精度挤出,再以逐层堆叠的方式构建三维模型。该打印方式可用材料范围广,可同时使用多种生物材料及高黏度的生物墨水打印,但是打印过程中存在过度的应力,可造成细胞结构破坏,且打印喷头易堵塞。该方法打印精度较低,通常低于 100 μm 。有研究者使用基于挤压技术的三维生物打印方式,以明胶/海藻酸钠/甲基丙烯酸酐化明胶(GelMA)为生物材料,打印了包含 3 层 Fb 和 1 层 KC 的皮肤模型,该皮肤模型可加速小鼠全层皮肤缺损创面愈合,促进创面皮肤再上皮化。也有研究者将纤维蛋白水凝胶与明胶、甘油、抑肽酶和透明质酸混合作为生物材料,将 KC、黑色素细胞、Fb、真皮微血管内皮细胞、毛囊真皮乳头细胞和脂

肪细胞悬浮在上述生物材料中,使用基于挤压技术的三维生物打印方式成功构建了 3 层皮肤模型;与打印的水凝胶(不含细胞)和空白对照相比,该皮肤模型有利于小鼠全层皮肤缺损创面的闭合,同时可促进上皮形成^[5]。结合上述技术特性,基于挤压技术的三维生物打印方式更适合于打印皮肤这种具有特殊分层结构的模型。

1.3 基于激光辅助技术的三维生物打印

基于激光辅助技术的三维生物打印的设备主要由脉冲激光源、激光能量吸收层、生物样品层(靶板)和接受基板组成,其打印过程就是将包裹细胞的生物墨水沉积到接受基板上过程。该打印方式具有高精度和高分辨率等优点,可对高密度细胞样品进行沉积,打印精度可达 30~100 μm ,且不存在喷头堵塞的问题;但是打印速度慢、打印材料制备过程复杂且价格昂贵。有研究者采用基于激光辅助技术的三维生物打印创建了完全细胞化的皮肤模型,该皮肤模型含有构建到 ADM 之上的 20 层包裹 Fb 的胶原和 20 层包裹 KC 的胶原。小鼠全层皮肤缺损模型实验结果显示,移植该皮肤模型后 11 d,移植体与创面周围组织完全连接^[6]。

1.4 基于立体光刻技术的三维生物打印

基于立体光刻技术的三维生物打印是一种基于面投影光固化原理的高精度三维生物打印技术。该技术通过将构成三维模型的二维离散图案投影到光敏树脂表面,激发局部光固化反应的方式,逐层叠加组建三维结构。基于立体光刻技术的三维生物打印技术打印样本制备容易,打印精度相对较高(约为 50 μm),打印成本较低;但对墨水的要求较高,一般使用具备光敏特性的生物墨水,后期处理过程相对复杂,可用于三维水凝胶内部微通道创建,如毛细血管网络构建等。研究人员开发了一种基于数字光处理的立体光刻技术,通过三维生物打印制造出了一个内部由 GelMA 凝胶包裹人脐静脉内皮细胞模仿骨髓空间,外周含有磷酸八钙模仿骨组织的三维水凝胶结构。这种结构模仿了骨组织的仿生双环结构,可应用于骨组织构建^[7]。

以上 4 种打印策略打印精度各异,适用的范围也不同。所以实际研究过程中,可以根据不同需求,选择合适的打印策略。

2 皮肤模型三维生物打印常用生物墨水

确定好打印策略之后,选择具有合适物理、化学性质的生物墨水至关重要。生物墨水包含细胞及生物相容性材料 2 个部分,下面举例介绍一些常用于皮肤模型打印的细胞和水凝胶。

2.1 细胞

通常三维生物打印皮肤组织的细胞来源可分为 3 类:(1)人体组织分离的原代细胞;(2)永生化皮肤细胞系;(3)诱导干细胞。

2.1.1 人体组织分离的原代细胞 常用于皮肤模型构建的原代皮肤细胞有 Fb 和 KC。有研究者使用胰酶消化法分离了人原代 Fb 和 KC,结合人 I 型胶原和纤维连接蛋白

进行三维生物打印,将构建的双层皮肤模型(Fb为真皮层、KC为表皮层)在免疫缺陷小鼠全层皮肤缺损创面上应用后,观察到表皮层分化良好^[8]。

2.1.2 永生化皮肤细胞系 原代皮肤细胞在使用过程中存在细胞种群倍增数量有限及衰老等问题。为了克服原代细胞使用的局限性,研究人员改造得到了永生化皮肤细胞系。有研究者通过将纳米纤维素与海藻酸盐、羧甲基纤维素结合,包裹人皮肤Fb形成真皮层,再在上层覆盖人永生化表皮细胞HaCaT,所构建的皮肤模型成为一种皮肤组织工程药物筛选的有力工具^[9]。

2.1.3 诱导干细胞 由于体细胞的分化功能有限,癌细胞系具有风险性,所以也可以掺入干细胞进行复杂皮肤模型的构建。例如有研究者将羊水干细胞和骨髓间充质干细胞包裹在纤维蛋白水凝胶中,在小鼠全层皮肤缺损创面上原位打印,促进了创面闭合及再上皮化^[10]。然而,由于干细胞的分化是无方向性的,用其构建的组织可能具有发育畸形及发生其他不良反应的风险。

2.2 水凝胶

水凝胶是一种具有亲水性和三维网状交联结构的高分子网络体系,与ECM具有相似性,是用于三维生物打印的良好生物相容性材料。根据材料来源不同,可将水凝胶分为天然水凝胶和合成水凝胶。

2.2.1 天然水凝胶 天然水凝胶来源广泛,且不易诱发炎症,是用于生物打印的最佳水凝胶。常见的天然水凝胶有胶原、明胶、透明质酸、壳聚糖等。

2.2.1.1 胶原 胶原是哺乳动物ECM中的主要结构蛋白,具有良好的生物相容性,被广泛应用于生物医学领域。有研究者将胶原、明胶、纤维蛋白和弹性蛋白混合,包裹新生儿真皮Fb打印真皮层,上面覆盖由层粘连蛋白/肌动蛋白构成的基底层和由KC构成的表皮层,成功构建了最小横向组织收缩的全层皮肤模型^[11]。

2.2.1.2 明胶 将胶原在酸性或碱性条件下水解即可得到明胶。明胶属于热敏性材料,在温度高于40℃时溶解,冷却至30℃以下时变为凝胶状态,可用于三维生物打印。有研究人员以明胶/海藻酸盐为原料进行三维生物打印,之后使用冷冻干燥技术进行打印后基质的固化,提高模型的机械性能,构建好的模型在医疗领域可作为创面敷料使用^[12]。然而,明胶因其难以优化的生理温度及黏度,多与其他聚合物组成复合材料应用。此外,明胶的化学交联修饰形式也适用于生物打印,例如GelMA是双键改性的明胶,其温敏性、机械性及黏弹性良好,是三维生物打印领域应用广泛的生物材料。有研究者将GelMA、胶原和酪氨酸酶混合,包裹人黑素细胞、HaCaT和Fb,进行三维生物打印,形成稳定的三维皮肤组织模型^[13]。

2.2.1.3 纤维蛋白和纤维蛋白原 纤维蛋白是一种类似于胶原的聚合物,是创面愈合的关键调节剂,由纤维蛋白原在凝血酶的作用下酶促聚合形成。纤维蛋白原和纤维蛋白在临床上可被用于生产具有止血功能的敷料,修复受损

创面。有研究者使用纤维蛋白+胶原包裹人Fb和KC,使用三维生物打印的方式构建分层皮肤结构,直接敷于小鼠受损创面位置,2周后创面完全愈合^[14]。

2.2.1.4 透明质酸 透明质酸,也称糖醛酸,由D-葡萄糖醛酸和N-乙酰氨基葡萄糖为单位的线性多糖组成,具有调节血管壁的通透性、保持皮肤中的水分及促进创面愈合的作用,适用于三维生物打印。有研究者使用由藻酸盐、纤维蛋白、胶原和透明质酸组成的生物材料,通过手持式皮肤打印机打印出类似于天然皮肤结构的3层皮肤组织片,该打印材料可加速小鼠和猪全层皮肤缺损模型的创面愈合^[15]。

2.2.2 合成水凝胶 除了天然水凝胶以外,聚乙二醇、聚己内酯、聚乳酸和聚乳酸-乙醇酸共聚物(PLGA)等一些碳氢化合物聚合物,也被广泛应用于组织工程皮肤模型的构建。这些聚合物也可与胶原和壳聚糖等天然水凝胶结合使用,形成性能更佳生物材料。

2.2.2.1 聚乙二醇 聚乙二醇具有无毒性、无免疫原性、水溶性好等优点,是当今常用的高分子材料之一,已通过美国食品药品监督管理局(FDA)批准,可供静脉注射、口服和皮肤外用。有研究者以京尼平为交联剂,甘油和聚乙二醇为增塑剂,采用三维生物打印技术制备了交联壳聚糖基质膜。该膜具有黏附到上皮表面的能力,有望成为治疗慢性创面的敷料^[16]。

2.2.2.2 聚己内酯 聚己内酯作为一种潜在的生物降解材料,具有无免疫原性、生物相容性好、柔韧性强、力学强度高等诸多优点,是FDA批准的适用于组织修复的材料。有研究者使用基于挤压技术的三维生物打印方法,将用胶原包裹的Fb和KC构建到无细胞的聚己内酯+胶原层上,经气液界面培养,得到仿真的全层皮肤模型^[17]。

2.2.2.3 聚乳酸或PLGA 聚乳酸,是指以乳酸为主要原料聚合得到的聚酯类聚合物,属于新型可再生生物降解材料。有研究者使用三维生物打印方法制造出聚乳酸和β-磷酸三钙支架,并将其与胶原、海藻酸钠壳聚糖等结合,构建的三维支架具有组织修复和再生能力^[18]。乳酸和羟基乙酸随机聚合可组成PLGA,PLGA也是一种可降解的高分子有机化合物,具有良好的成型性。有研究者将构建的三维PLGA支架嵌入胶原支架中,构建出多层PLGA-胶原-壳聚糖支架,该模型在大鼠全层皮肤缺损创面的应用中表现出良好的促愈合效果^[19]。

总之,天然水凝胶具有良好的生物相容性且来源丰富,在皮肤模型打印方面应用广泛,但不足是稳定性较差、易降解等。合成水凝胶的机械性能可经物理交联或化学交联的方式得以强化,这弥补了天然水凝胶的不足。因此,实际打印时可混合多种生物材料,获得具有合适的刚度、生物活性以及降解能力的生物墨水。

3 三维生物打印技术在皮肤组织工程中的应用

近年来,三维生物打印技术在皮肤模型构建、创面修

复、再生医学方面显示出巨大的应用潜力。下面,主要对三维生物打印技术在皮肤组织工程中的应用进行归纳介绍。

3.1 皮肤模型构建

使用三维生物打印方式可以构建不同种类的皮肤模型。有研究者设计并打印了一种双层支架,该支架上层和下层分别由 PLGA 和海藻酸盐水凝胶组成,分别模仿了皮肤表皮层和真皮层。该支架可以促进大鼠全层皮肤缺损创面愈合,适合作为创面敷料或皮肤替代物^[20]。还有研究者通过基于挤压技术的三维生物打印方法,以无细胞脂肪基质和纤维蛋白原为材料构建皮下层,Fb 混合真皮基质构建真皮层,将包裹人脐静脉内皮细胞的明胶和凝血酶作为血管通道,通过喷墨打印将 KC 打印在支架上层,最终构建的全层血管化皮肤模型与原生人体皮肤具有良好的相似性^[21]。

3.2 疾病模型构建

黑色素瘤和银屑病等疾病模型可以通过三维生物打印的方式来构建。有研究者将黑色素瘤细胞系或原发黑色素瘤患者来源的黑色素瘤细胞、Fb、间充质干细胞和内皮细胞嵌入琼脂糖-I 型胶原蛋白水凝胶中,经三维生物打印构建了黑色素瘤模型,该模型中细胞增殖和代谢活性良好,为研究黑色素瘤的治疗及重塑肿瘤微环境提供了实验基础^[22]。还有研究者将牛皮癣患者的极化 Th1/Th17 和趋化因子受体 6 阳性皮肤淋巴细胞抗原阳性 T 细胞加入由 I 型胶原包裹的人 KC 和 Fb 组成的全层皮肤模型中,之后检测该模型具有银屑病表皮表型,并表达银屑病相关特征性细胞因子,表明成功建立了银屑病三维皮肤模型^[23]。

3.3 皮肤创面敷料

当三维生物打印技术以含有促进创面愈合的生物材料为打印原料时,即可构建皮肤创面敷料。有研究者使用三维生物打印技术构建了一种基于噬菌体的具有抗菌功效的创面敷料,该敷料可以缓慢释放游离噬菌体,维持人表皮创面处噬菌体数量,具有抗菌作用^[24]。还有研究者基于三维生物打印技术,开发出了糖尿病足溃疡辅助治疗药物。他们使用含有脂肪干细胞的猪皮肤 ECM 和内皮祖细胞打印了三维皮肤贴片,应用于糖尿病足溃疡创面后,可较基于胶原的三维皮肤贴片加速创面愈合,增强上皮再生^[25]。

3.4 化妆品功效评估

三维皮肤模型被广泛应用于化妆品功效检测中。有研究者使用 Fb 和 KC,以及外周血单个核细胞诱导的 M1/M2 型巨噬细胞,构建了促炎/抗炎的三维皮肤模型(其中用 M1 型巨噬细胞构建促炎模型,M2 型巨噬细胞构建抗炎模型),该类模型可用于化妆品成分分析及药物筛选^[26]。也有研究者在重建人表皮模型和三维生物打印的全层皮肤模型上应用化妆品,通过测定组织活力、上皮电阻和细胞因子分泌情况,分析受试化合物对皮肤模型的刺激及致敏性,测试化妆品功效^[27]。

4 展望

皮肤组织工程的目标是生理皮肤的再生及功能恢

复^[28]。而三维生物打印技术因具有可定制构建含多细胞复杂分层结构皮肤模型的优势,在再生医学和药物筛选方面具有巨大的应用潜力。三维生物打印技术在过去十几年迅速发展,然而面对不同打印需求时,如何提高打印分辨率、开发功能性打印材料,以及实现高通量打印,这些都是新的挑战^[29]。为了解决这些问题,研究人员做了很多研究,例如开发了基于碘克沙醇的生物墨水,可以提高基于数字光处理技术的三维生物打印分辨率。聚氨酯是一种可生物降解材料,应用于基于立体光刻和数字光处理技术的三维生物打印中时,可实现较高分辨率打印,在软骨细胞、肌肉和神经支架的三维模型构建中具有巨大应用潜力。此外,基于纳米材料开发的具有导电性质的生物墨水以及混合了生物活性分子的生物墨水,都为构建功能性三维组织模型提供了新的方向。三维生物打印技术方兴未艾,四维生物打印技术也带着它新的技术特点应运而生。四维生物打印不仅包含三维的长、宽和高 3 个维度,更增加了一个时间维度,使打印出的物体可以随着时间推移在形态结构上自我调整,最终达到预先设计要求。四维生物打印使用的刺激响应性材料是一种用于创面修复的新兴材料,其结构特性可受磁场、温度、氧化还原状态、pH 值和光等各种刺激调控^[30]。多功能的新型四维生物墨水系统的建立也会在组织工程中开辟许多应用领域。

最后,由于生物打印过程的复杂性,未来的目标可能是机器学习的应用和计算方法集合。机器学习可以将组织模型以三维的形式展现出来,并且可以预测模型构建时所用材料的兼容性。临床上三维生物打印的数据来源可以是不同的诊断图像、实验数据和科学文献,这些都可以使用机器学习来整合^[31]。总之,三维生物打印技术凭借其无法比拟的成型技术优势,成为皮肤组织工程研究的热点之一,希望能加快实现皮肤组织工程相关的三维生物打印技术的临床前研究和转化应用。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Agarwal S, Saha S, Balla VK, et al. Current developments in 3D bioprinting for tissue and organ regeneration - a review [J]. *Front Mech Eng*, 2020, 6: 90. DOI: 10.3389/fmech.2020.589171.
- [2] 李文韬,王金武. 原位生物打印的研究进展与前景[J]. *上海交通大学学报(医学版)*, 2021, 41(2): 228-232. DOI: 10.3969/j.issn.1674-8115.2021.02.016.
- [3] Yanez M, Rincon J, Dones A, et al. In vivo assessment of printed microvasculature in a bilayer skin graft to treat full-thickness wounds[J]. *Tissue Eng Part A*, 2015, 21(1/2): 224-233. DOI: 10.1089/ten.TEA.2013.0561.
- [4] Lian Q, Jiao T, Zhao T, et al. 3D bioprinted skin substitutes for accelerated wound healing and reduced scar[J]. *J Bionic Eng*, 2021, 18(4): 900-914. DOI: 10.1007/s42235-021-0053-8.
- [5] Jorgensen AM, Varkey M, Gorkun A, et al. Bioprinted skin recapitulates normal collagen remodeling in full-thickness wounds[J]. *Tissue Eng Part A*, 2020, 26(9/10): 512-526. DOI:

- 10.1089/ten.TEA.2019.0319.
- [6] Michael S, Sorg H, Peck CT, et al. Tissue engineered skin substitutes created by laser-assisted bioprinting form skin-like structures in the dorsal skin fold chamber in mice [J]. *PLoS One*, 2013, 8(3): e57741. DOI: 10.1371/journal.pone.0057741.
- [7] Anada T, Pan CC, Stahl AM, et al. Vascularized bone-mimetic hydrogel constructs by 3D bioprinting to promote osteogenesis and angiogenesis [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(5): 1096. DOI: 10.3390/ijms20051096.
- [8] Baltazar T, Jiang B, Moncayo A, et al. 3D bioprinting of an implantable xeno-free vascularized human skin graft [J]. *Bioeng Transl Med*, 2022, 8(1): e10324. DOI: 10.1002/btm2.10324.
- [9] Zidarič T, Milojević M, Gradišnik L, et al. Polysaccharide-based bioink formulation for 3D bioprinting of an in vitro model of the human dermis [J]. *Nanomaterials (Basel)*, 2020, 10(4): 733. DOI: 10.3390/nano10040733.
- [10] Skardal A, Mack D, Kapetanovic E, et al. Bioprinted amniotic fluid-derived stem cells accelerate healing of large skin wounds [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2012, 1(11): 792-802. DOI: 10.5966/sctm.2012-0088.
- [11] Derr K, Zou J, Luo K, et al. Fully three-dimensional bioprinted skin equivalent constructs with validated morphology and barrier function [J]. *Tissue Eng Part C Methods*, 2019, 25(6): 334-343. DOI: 10.1089/ten.TEC.2018.0318.
- [12] Kuo CC, Qin H, Cheng Y, et al. An integrated manufacturing strategy to fabricate delivery system using gelatin/alginate hybrid hydrogels: 3D printing and freeze-drying [J]. *Food Hydrocolloids*, 2021, 111: 106262. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2020.106262.
- [13] Shi Y, Xing TL, Zhang HB, et al. Tyrosinase-doped bioink for 3D bioprinting of living skin constructs [J]. *Biomed Mater*, 2018, 13(3): 035008. DOI: 10.1088/1748-605X/aaa5b6.
- [14] de Melo B, Jodat YA, Cruz EM, et al. Strategies to use fibrinogen as bioink for 3D bioprinting fibrin-based soft and hard tissues [J]. *Acta Biomater*, 2020, 117: 60-76. DOI: 10.1016/j.actbio.2020.09.024.
- [15] Hakimi N, Cheng R, Leng L, et al. Handheld skin printer: in situ formation of planar biomaterials and tissues [J]. *Lab Chip*, 2018, 18(10): 1440-1451. DOI: 10.1039/c7lc01236e.
- [16] Hafezi F, Scoutaris N, Douroumis D, et al. 3D printed chitosan dressing crosslinked with genipin for potential healing of chronic wounds [J]. *Int J Pharm*, 2019, 560: 406-415. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2019.02.020.
- [17] Ramasamy S, Davoodi P, Vijayavenkataraman S, et al. Optimized construction of a full thickness human skin equivalent using 3D bioprinting and a PCL/collagen dermal scaffold [J]. *Bioprinting*, 2021, 21: e00123. DOI: 10.1016/j.bprint.2020.e00123.
- [18] Aydogdu MO, Oner ET, Ekren N, et al. Comparative characterization of the hydrogel added PLA/ β -TCP scaffolds produced by 3D bioprinting [J]. *Bioprinting*, 2019, 13: e00046. DOI: 10.1016/j.bprint.2019.e00046.
- [19] Pan X, You C, Wu P, et al. The optimization of PLGA knitted mesh reinforced-collagen/chitosan scaffold for the healing of full-thickness skin defects [J]. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 2023, 111(4): 763-774. DOI: 10.1002/jbm.b.35187.
- [20] Wang S, Xiong Y, Chen J, et al. Three dimensional printing bilayer membrane scaffold promotes wound healing [J]. *Front Bioeng Biotechnol*, 2019, 7: 348. DOI: 10.3389/fbioe.2019.00348.
- [21] 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.
- [22] López de Andrés J, Ruiz-Toranzo M, Antich C, et al. Biofabrication of a tri-layered 3D-bioprinted CSC-based malignant melanoma model for personalized cancer treatment [J]. *Biofabrication*, 2023, 15(3). DOI: 10.1088/1758-5090/ac8dc6.
- [23] Shin JU, Abaci HE, Herron L, et al. Recapitulating T cell infiltration in 3D psoriatic skin models for patient-specific drug testing [J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 4123. DOI: 10.1038/s41598-020-60275-0.
- [24] Shen HY, Liu ZH, Hong JS, et al. Controlled-release of free bacteriophage nanoparticles from 3D-plotted hydrogel fibrous structure as potential antibacterial wound dressing [J]. *J Control Release*, 2021, 331: 154-163. DOI: 10.1016/j.jconrel.2021.01.024.
- [25] Kim BS, Kwon YW, Kong JS, et al. 3D cell printing of in vitro stabilized skin model and in vivo pre-vascularized skin patch using tissue-specific extracellular matrix bioink: a step towards advanced skin tissue engineering [J]. *Biomaterials*, 2018, 168: 38-53. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2018.03.040.
- [26] Lègues M, Milet C, Forraz N, et al. The world's first 3D bioprinted immune skin model suitable for screening drugs and ingredients for normal and inflamed skin [J]. *IFSCC Magazine*, 2020, 233-239.
- [27] Wei Z, Liu X, Ooka M, et al. Two-dimensional cellular and three-dimensional bio-printed skin models to screen topical-use compounds for irritation potential [J]. *Front Bioeng Biotechnol*, 2020, 8: 109. DOI: 10.3389/fbioe.2020.0109.
- [28] 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 [2023-01-31]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34213515/>. DOI: 10.1093/burnst/tkab013.
- [29] Radmanesh S, Shabangiz S, Koupaei N, et al. 3D printed bio polymeric materials as a new perspective for wound dressing and skin tissue engineering applications: a review [J]. *J Polym Res*, 2022, 29: 50. DOI: 10.1007/s10965-022-02899-6.
- [30] Antezana PE, Municoy S, Álvarez-Echazú MI, et al. The 3D bioprinted scaffolds for wound healing [J]. *Pharmaceutics*, 2022, 14(2): 464. DOI: 10.3390/pharmaceutics14020464.
- [31] Shin J, Lee Y, Li Z, et al. Optimized 3D bioprinting technology based on machine learning: a review of recent trends and advances [J]. *Micromachines (Basel)*, 2022, 13(3): 363. DOI: 10.3390/mi13030363.

(收稿日期: 2023-01-31)