

# 软骨支架材料的制备方法及其优缺点

王泽文<sup>1</sup>, 李陈致<sup>1</sup>, 刘家河<sup>1</sup>, 李炎城<sup>1</sup>, 吴铭健<sup>1</sup>, 崔焱<sup>1</sup>, 李振豪<sup>1</sup>, 熊婉琦<sup>1</sup>, 何挺<sup>1</sup>, 刘保一<sup>1</sup>, 杨帆<sup>1, 2</sup>

<https://doi.org/10.12307/2024.378>

投稿日期: 2023-05-08

采用日期: 2023-07-04

修回日期: 2023-07-26

在线日期: 2023-08-07

中图分类号:

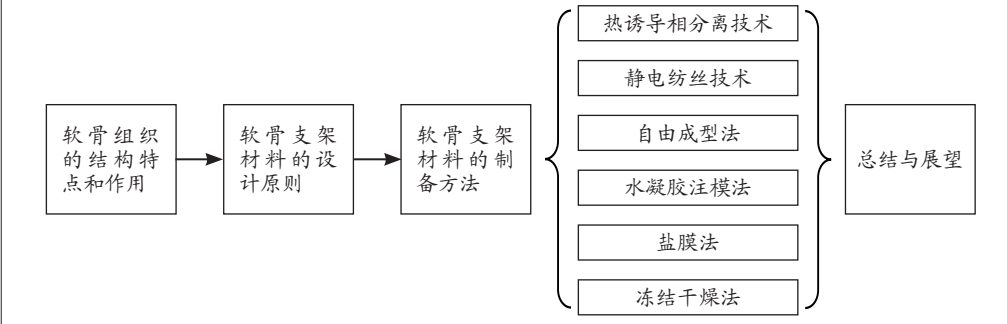
R459.9; R318.08; R-1

文章编号:

2095-4344(2024)15-02404-06

文献标识码: A

文章快速阅读: 修复软骨缺损的支架材料制备方法



文题释义:

**软骨支架材料:** 一种用于辅助软骨修复的材料,它能够支撑细胞的生长和分化、促进软骨组织的再生。支架材料通常由天然或合成聚合物制成,具有良好的生物相容性和力学性能,能够模拟天然细胞外基质的结构和功能。

**软骨组织工程:** 是一种新兴的技术,它将软骨细胞、信号刺激及支架材料有机整合,提高其整体的生物化学与生物机械能力,利用固定技术使之能更好地充填缺损,为修复软骨损伤提供一种可能。

摘要

**背景:** 软骨组织工程支架材料是提供空间和结构的平台,对软骨组织的再生至关重要,国内外学者均在尝试采用不同方式制备更理想的软骨组织工程支架材料。

**目的:** 综述软骨支架材料的设计原则和制备方式,并进一步探讨各种制备方法的优缺点。

**方法:** 应用计算机检索中国知网、万方、PubMed和FMR5数据库1998-2023年发表的与软骨组织工程中支架材料有关的文献,中文检索词包括“软骨修复,软骨组织工程,软骨支架材料,制备方法”,英文检索词包括“Cartilage repair, cartilage tissue engineering, cartilage scaffold materials, preparation”,最终选择57篇文献进行综述。

**结果与结论:** ①关节软骨结构特殊,其损伤后的自我修复能力较差,即使发生自我修复其新生的软骨通常为纤维软骨,无论是结构还是力学性能都远远不如正常关节软骨,难以维系正常的功能,通常很快会发生退行性病变。目前设计制备软骨修复的支架材料需要考虑以下内容:生物相容性和生物降解性、适宜的孔隙结构和孔隙率、合适的力学性能及生物活性。②软骨支架制备的研究取得了显著进展,不断涌现出新的制备方法和优化策略,这些方法各有优劣,可以根据具体需求选择合适的方法为软骨支架的定制化制备和功能性设计提供了更多可能性。

**关键词:** 软骨损伤; 软骨修复; 软骨组织工程; 软骨支架材料; 软骨支架材料设计; 软骨支架材料制备

## Preparation methods, advantages, and disadvantages of cartilage scaffold materials

Wang Zewen<sup>1</sup>, Li Chenzhi<sup>1</sup>, Liu Jiahe<sup>1</sup>, Li Yancheng<sup>1</sup>, Wu Mingjian<sup>1</sup>, Cui Yan<sup>1</sup>, Li Zhenhao<sup>1</sup>, Xiong Wanqi<sup>1</sup>, He Ting<sup>1</sup>, Liu Baoyi<sup>1</sup>, Yang Fan<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Zhongshan Hospital Affiliated to Dalian University, Dalian 116001, Liaoning Province, China; <sup>2</sup>Institute of Metal Research, Chinese Academy of Sciences, Shenyang 110000, Liaoning Province, China

Wang Zewen, Master candidate, Zhongshan Hospital Affiliated to Dalian University, Dalian 116001, Liaoning Province, China

**Corresponding author:** Liu Baoyi, PhD, Chief physician, Zhongshan Hospital Affiliated to Dalian University, Dalian 116001, Liaoning Province, China

**Corresponding author:** Yang Fan, PhD, Associate researcher, Zhongshan Hospital Affiliated to Dalian University, Dalian 116001, Liaoning Province, China; Institute of Metal Research, Chinese Academy of Sciences, Shenyang 110000, Liaoning Province, China

Abstract

**BACKGROUND:** Scaffold materials serve as platforms that provide space and structure, playing a crucial role in the regeneration of cartilage tissue. Scholars from around the world are exploring different approaches to fabricate more ideal scaffold materials.

**OBJECTIVE:** To review the design principles and preparation methods of cartilage scaffolds, and to further explore the advantages and limitations of various preparation methods.

<sup>1</sup>大连大学附属中山医院, 辽宁省大连市 116001; <sup>2</sup>中国科学院金属研究所, 辽宁省沈阳市 110000

第一作者: 王泽文, 男, 1998年生, 山东省烟台市人, 汉族, 大连大学在读硕士, 主要从事创伤骨科、软骨损伤、骨坏死等研究。

通讯作者: 刘保一, 博士, 主任医师, 大连大学附属中山医院, 辽宁省大连市 116001

通讯作者: 杨帆, 博士, 副研究员, 大连大学附属中山医院骨科, 辽宁省大连市 116001; 中国科学院金属研究所, 辽宁省沈阳市 110000

<https://orcid.org/0009-0005-2856-7660>(王泽文)

基金资助: 大连市博士后科学基金项目(285395), 项目负责人: 杨帆; 大连医学科学研究项目(2111038), 项目负责人: 杨帆;

辽宁省教育厅重点攻关项目(LJKZZ20220148), 项目负责人: 刘保一

引用本文: 王泽文, 李陈致, 刘家河, 李炎城, 吴铭健, 崔焱, 李振豪, 熊婉琦, 何挺, 刘保一, 杨帆. 软骨支架材料的制备方法及其优缺点[J]. 中国组织工程研究, 2024, 28(15):2404-2409.



**METHODS:** Literature searches were conducted on the databases of CNKI, WanFang Data, PubMed, and FMRS from 1998 to 2023. The search terms were “cartilage repair, cartilage tissue engineering, cartilage scaffold materials, preparation” in Chinese and English. A total of 57 articles were ultimately reviewed.

**RESULTS AND CONCLUSION:** (1) The articular cartilage has a unique structure and limited self-repair capacity after injury. Even if self-repair occurs, the newly formed cartilage is typically fibrocartilage, which is far inferior to normal articular cartilage in terms of structure and mechanical properties. It is difficult to maintain normal function and often leads to degenerative changes. Currently, the design and fabrication of scaffold materials for cartilage repair need to consider the following aspects: biocompatibility and biodegradability, suitable pore structure and porosity, appropriate mechanical properties, and bioactivity. (2) Research on the preparation of cartilage scaffolds has made significant progress, continuously introducing new preparation methods and optimization strategies. These methods have their advantages and disadvantages, providing more possibilities for customized preparation and functional design of cartilage scaffolds according to specific requirements.

**Key words:** tissue injury; cartilage repair; cartilage tissue engineering; cartilage scaffold material; cartilage scaffold material design; cartilage scaffold material preparation

**Funding:** Postdoctoral Science Foundation of Dalian, No. 285395 (to YF); Dalian Medical Science Research Project, No. 2111038 (to YF); Key Research Project of Education Department of Liaoning Province, No. LJKZZ20220148 (to LB)

**How to cite this article:** WANG ZW, LI CZ, LIU JH, LI YC, WU MJ, CUI Y, LI ZH, XIONG WQ, HE T, LIU BY, YANG F. Preparation methods, advantages, and disadvantages of cartilage scaffold materials. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2024;28(15):2404-2409.

## 0 引言 Introduction

软骨组织由软骨细胞和细胞外基质构成，软骨组织的细胞外基质由胶原蛋白、蛋白多糖、蛋白质和水组成<sup>[1]</sup>。胶原蛋白是主要的结构蛋白，赋予软骨组织强度和弹性，而蛋白多糖则提供了水合性和压缩性。细胞外基质—软骨细胞之间的相互作用是软骨组织工程中的重要因素，细胞外基质可以提供机械支撑和结构支持，维持软骨细胞的形态和功能。而软骨细胞通过与细胞外基质分子的相互作用来感知和响应外界刺激，这可以调节它们的生物学行为，如增殖、分化和合成细胞外基质的能力；此外，细胞外基质中的信号分子、生长因子和细胞因子可以调节软骨细胞的活性和功能，对软骨组织的再生和修复起着重要作用<sup>[2]</sup>。

关节软骨结构特殊，只有软骨细胞而没有血管、神经及淋巴，并且软骨细胞代谢活性低以及高细胞外基质分布限制了软骨细胞的活动<sup>[3-5]</sup>。因其特殊结构，关节软骨损伤后的自我修复能力较差<sup>[6]</sup>，即使发生自我修复其新生的软骨通常为纤维软骨，无论是结构还是力学性能都远远不如正常关节软骨，难以维系正常的功能，通常很快就會发生退行性病变<sup>[7]</sup>，因此，关节软骨损伤的修复一直以来都是骨科领域研究的难题。研究过程中各式各样的治疗方法不断被提出，但最后都存在着供体来源不足、治疗效果不理想等问题，难以满足临床上治疗软骨损伤的需求。直至组织工程学兴起，为关节软骨修复研究提供了一个新的方向。根据软骨组织的特点，软骨组织工程研究需要用到具有特别理化属性的支架材料，因此，自从1977年GREEN等开始将分离出来的软骨细胞和脱钙骨支架材料一起培养以后，对软骨组织支架材料的研究从未间断，各种制备支架材料的方法应运而生，但是目前还没有发现足够理想的支架材料制备方法<sup>[8-11]</sup>。作者通过阅读近年来国内外关于软骨组织工程支架制备的相关文献，对其进行简要综述。

## 1 资料和方法 Data and methods

### 1.1 资料来源

1.1.1 检索人及检索时间 由第一作者在2023年4月进行检索。

1.1.2 检索文献时限 1998–2023年。

1.1.3 检索数据库 中国知网、万方、PubMed和FMRS数据库。

1.1.4 检索词 中文检索词包括“软骨修复，软骨组织工程，软骨支架材料，制备方法”，英文检索词包括“Cartilage repair, cartilage tissue engineering, cartilage scaffold materials, preparation”。

1.1.5 检索文献类型 研究原著、综述、临床研究和荟萃分析。

1.1.6 手工检索情况 未进行手工检索。

1.1.7 检索策略 以PubMed数据库为例，检索策略见图1。

```
#1 cartilage repair [Title/Abstract]
#2 cartilage tissue engineering [Title/Abstract]
#3 #1 OR #2
#4 cartilage scaffold materials [Title/Abstract]
#5 preparation [Title/Abstract]
#6 fabrication methods [Title/Abstract]
#7 #4AND #5
#8 #4AND #6
```

图1 | PubMed数据库检索策略

1.1.8 检索文献量 初步检索到文献887篇，中文文献134篇、英文文献753篇。

### 1.2 入组标准

1.2.1 纳入标准 ①与支架材料修复软骨损伤有关的文章；②一些有重要意义但年限久远的文章；③对相似文章尽量选取时间临近者。

1.2.2 排除标准 ①排除内容重复的文章；②排除相同研究类型但无明显变化的文章；③排除年限久远的文章。

1.3 数据提取与文献质量评价 初步共得到887篇相关文献，经资料收集者共同评估纳入文献的相关性及时效性，将中英文重复文献排除，最后纳入57篇文献进行综述，其中英文文献54篇、中文文献3篇，见图2。

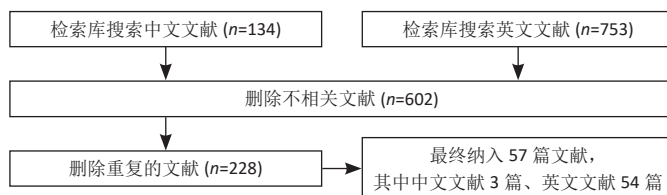


图2 | 文献筛选流程图

## 2 结果 Results

2.1 组织工程中软骨支架材料的设计原则 软骨支架材料是软骨组织工程的核心组成部分，对软骨再生有着至关重要的影响。一个理想的软骨支架应该具备多种特点，其中最重要的包括以下几个方面：

**生物相容性和生物降解性：**软骨支架应该具有良好的生物相容性和生物降解性，能够与周围组织形成紧密结合，同时材料的降解速率应与软骨组织的再生速度相匹配，以提供适当的支持和空间，并为新生组织的生长和重塑提供条件<sup>[3]</sup>。这包括选择生物可降解材料或生物惰性材料<sup>[12]</sup>，以减少对组织的刺激和免疫反应。材料的表面特性、溶解物质和降解产物也需要考虑其对细胞和组织的影响。

**适宜的孔隙结构和孔隙率：**软骨支架的设计应考虑其孔隙结构和孔隙率，以确保提供足够的细胞附着、增殖和分化所需的空间和表面积，并同时促进养分和代谢产物的有效扩散<sup>[13]</sup>。这是由于软骨细胞需要适宜的空间和支持来维持正常的生长和分化，并且需要养分和氧气的供应以及代谢产物的排泄。孔隙结构的大小和分布可以通过调控材料制备过程中的参数来精确控制。

**合适的力学性能：**软骨支架材料应具备与自然软骨组织相似的机械性能，以提供足够的支撑和稳定性<sup>[14]</sup>。这涵盖了合适的弹性模量、形变能力和抗压性能<sup>[15]</sup>，这是由于软骨组织需要承受体质量和各种力的作用，因此支架材料的力学性能至关重要，需要与天然软骨相匹配。机械性能的调节可以通过材料成分、结构设计和交联程度等方面的控制来实现。

**生物活性：**软骨支架应该具有一定的生物活性，能够刺激或诱导细胞分泌软骨基质并与其相互作用。这是因为软骨细胞需要受到外界信号的刺激才能够正常地分泌软骨基质，因此支架材料的生物活性对软骨再生的成功非常重要。

总之，软骨支架材料的设计需要综合考虑生物相容性和生物降解性、孔隙结构和孔隙率、力学性能、生物活性等因素，如图3所示，以实现有效的软骨组织修复和再生。这些设计原则将促进材料与周围组织的相



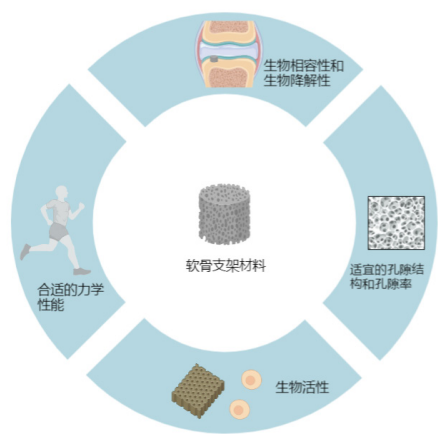


图3 | 软骨支架材料的设计原则

相互作用,并为细胞的黏附、增殖、分化和基质合成提供合适的支持和环境。为了实现这些设计目标,研究者需要选择合适的软骨支架材料制备方法。  
**2.2 组织工程中常用的软骨支架材料制备技术** 该文从软骨组织支架材料的设计原则出发,旨在实现有效的软骨组织修复和再生。在设计阶段需要考虑生物相容性和生物降解性、孔隙结构和孔隙率、力学性能、生物活性等关键因素,接下来为了实现这些设计目标,需要通过比较选择合适的方法制备软骨支架材料,见表1。

表1 | 软骨支架材料制备方法优缺点对比

制备方法	优点	缺点
热诱导相分离技术	材料选择广泛;工艺灵活可控;材料可扩展	工艺复杂;耗时长;孔径和孔隙率限制
静电纺丝技术	可以制备高表面积和纳米级纤维结构;孔隙结构可调控;具有良好的力学性能;具有良好的生物相容性	复杂的工艺控制
自由成型法	高精度;高可控性;制备速度快	材料选择受限;制备成本高
水凝胶注射法	具有良好的生物相容性和生物降解性;简单和可控的制备方法;能够模拟天然软骨组织形态和功能	缺乏力学强度;制备周期长;材料选择受限;难以控制孔隙率
直接固化法	制备迅速;定制性强;保留细胞活性;具有良好的稳定性和机械强度	材料选择受限;固化反应的控制性较差;形状复杂性受限
盐膜法	简单易行;孔隙结构可调控;具有良好的生物相容性和生物降解性;可以批量制备	孔隙结构不均匀;盐颗粒去除困难;材料选择局限于生物可降解聚合物
冻干干燥法	保留生物活性和结构完整性;长期稳定性和抗菌性能;孔隙结构可调控	工艺复杂;昂贵的设备需求;孔隙结构不均匀

传统的制备方法如冷冻干燥技术<sup>[16]</sup>、发泡技术<sup>[17]</sup>、颗粒浸出技术等已经被研究人员广泛应用于软骨组织工程支架材料的制备<sup>[18]</sup>,然而在近年来的研究中,这些传统技术的应用已经相对较少。随着软骨组织工程的研究不断深入,新兴的制备方法不断涌现,如静电纺丝技术和3D/4D打印技术等。静电纺丝技术可以制备具有高孔隙率、均匀孔径分布和连续孔道结构的支架材料。3D/4D打印技术可以实现支架材料的梯度结构和定制化制备。这些新技术的引入将进一步推动软骨组织工程支架材料的制备和应用,有望在未来为软骨组织的修复和再生提供更有效的解决方案。

**2.2.1 热诱导相分离技术** 热诱导相分离技术是一种制备高分子微孔支架材料的方法,该技术的基本原理是利用高温下聚合物和溶剂的均相溶解以及低温下溶液的相分离,形成具有多孔结构的聚合物凝胶,通过萃取或冻干等方法去除溶剂后得到多孔支架材料。

近年来,诱导相分离技术在软骨组织工程领域得到了广泛应用,并取得了一系列研究进展。制备高分子微孔支架材料的首要任务是选择适合的聚合物材料。目前常用的聚合物材料有天然高分子材料、合成高分子材料、生物可降解高分子材料等,其中生物可降解高分子材料由于其良好的生物相容性和可降解性,受到了广泛关注。研究表明,聚乳酸、聚乳酸-羟基乙酸、聚己内酯等生物可降解高分子均可通过诱导相分离技术制备出具有多孔结构的支架材料<sup>[19]</sup>。接下来,将聚合物溶解在适当的溶剂中,形成均匀的聚合物溶液。根据需要可以添加其他辅助剂,如

溶剂、增稠剂或生物活性物质等,以调节支架材料的性能和功能。在适当的温度下保持聚合物溶液处于液态。初始阶段,通常保持较高的温度,使聚合物溶液呈现单相状态。随着温度的降低,聚合物溶液达到临界温度点,发生相分离现象。在相分离过程中,聚合物分子聚集并形成相互交错的聚集体,导致溶液分离成富含聚合物的凝胶相和富含溶剂的连续相。凝胶相的形成可以通过快速冷却或添加凝胶剂等方式实现,凝胶相的形成在连续相中形成多个孔隙结构,从而构成软骨支架材料的多孔结构。最后,通过逐渐去除凝胶相中的溶剂或通过交联反应固化凝胶相,在固化过程中聚合物形成交联网络,增强支架的力学性能和稳定性。制备高分子微孔支架材料的核心是调控其孔径和孔隙率,以满足不同软骨修复需求。研究表明,孔径和孔隙率的大小与温度、聚合物浓度、溶剂种类和比例等因素密切相关<sup>[20]</sup>。一般来说,温度越高,孔径和孔隙率越大;聚合物浓度越高,孔径和孔隙率越小<sup>[21]</sup>;溶剂种类和比例对孔径和孔隙率的影响较为复杂,需要进行综合考虑。

关于生物相容性,热诱导相分离技术制备的高分子支架材料通常是由天然或合成高分子材料制成的<sup>[22]</sup>,例如聚乳酸、聚丙烯酸、明胶、明胶-聚乳酸共聚物等,这些材料在人体内可以被逐渐降解和代谢,而且不会对周围组织产生不良影响;此外,这些材料的表面也可以通过化学改性或生物修饰等方法来增强其生物相容性,例如引入羟基磷灰石等生物活性物质<sup>[23-24]</sup>。

在力学性能方面,热诱导相分离技术制备的高分子支架材料通常具有较低的强度和刚度,因此需要根据不同的应用需求进行调整。例如在软骨组织工程中,支架材料需要具有一定的柔韧性和可压缩性,以适应软组织的应力环境。同时,为了保证修复后的组织长期稳定性,支架材料还需要具有足够的耐久性和抗裂性。通过控制溶液成分、温度变化和凝固条件等参数可以调节软骨支架材料的孔隙结构、孔隙率和力学性能,以满足不同的组织工程需求。CONOSCENTI等<sup>[25]</sup>利用热诱导相分离技术制备了两种不同孔径的聚乳酸支架,并将软骨细胞固定于支架上进行培养,发现软骨细胞在该支架上生长状态良好,该支架在软骨修复中有着良好的应用潜力。由此可见,热诱导相分离技术是一种有效且灵活制备软骨组织工程支架材料的方法,它为实现软骨缺损的再生修复提供了新的可能性,但其调控孔径及孔隙率的优点随着3D/4D打印技术的成熟也渐渐式微。

此外,热诱导相分离技术涉及到温度控制、溶液组成和凝固速率等多个参数的调控,需要较高的技术要求和设备支持。因此,该制备方法在操作上较为复杂,对研究人员的技术能力有一定要求。总的来说,热诱导相分离技术作为制备高分子微孔支架材料的一种常用方法,具有灵活性、可控性和可扩展性等优点。随着技术的发展和完善,其在软组织修复、骨组织工程、血管再生等领域的应用前景将会更加广泛。

**2.2.2 静电纺丝技术** 静电纺丝技术通过对聚合物溶液或熔体施加高压电场使其在电场作用下流动成纳米级纤维,并在收集器上形成多孔支架材料。由于静电纺丝技术所制备的支架材料具有高比表面积和良好的生物相容性,因此具有很大的应用前景。静电纺丝技术制备的支架材料已被广泛应用于软骨组织工程领域,如制备软骨修复材料、软骨再生材料、人工软骨等。此外,静电纺丝技术还可以结合其他技术(如3D打印、胶原蛋白等)来制备具有更好性能和功能的支架材料<sup>[26]</sup>。静电纺丝技术的不断发展和完善,为软骨组织工程提供了更多的可能性和希望。SEMATELA等<sup>[27]</sup>利用静电纺丝技术制备了聚己内酯-明胶纳米纤维支架,并且在制作过程中通过在同步电喷雾中引入聚乙二醇颗粒,随后再把这些颗粒去除,从而使纤维支架具有较大的孔径,该支架在软骨修复中具有良好的应用潜力。静电纺丝技术制备的支架材料具有许多优点:首先,静电纺丝技术制备的支架材料具有高度的可控性和可调性,可以通过调节聚合物的浓度、分子量、表面活性剂、电场强度、喷射距离等参数来控制纤维的形貌、组成、取向和孔隙度等性能;其次,由于静电纺丝技术制备的支架材料纤维直径很小,通常在100 nm以下,因此具有较高的比表面积和大量的孔隙结构,能够模拟人体组织的微结构,提供了更好的生物相容性和细胞生长环境;此外,静电纺丝技术制备的支架材料还具有优异的力学性能,如高强度、高韧性和优异的弯曲性能,可以满足不同软骨组织工程的需求。以静电纺丝技术为主的纳米纤维材料已被广泛应用于软骨组织工程支架材料的制作<sup>[28]</sup>,为制作更好的仿软骨细

胞外基质支架的研究提供了希望<sup>[29]</sup>。但是在静电纺丝过程中,纤维膜的形成受到多种因素的影响<sup>[30]</sup>,如电压、流速、距离、温度、湿度等,这些因素之间存在复杂的相互作用,导致静电纺丝过程难以控制和重现,影响纤维膜的均匀性和可重复性。

**2.2.3 自由成型法** 自由成型法的原理是基于逐层堆叠材料以创建所需形状和结构的三维模型。这种方法通常与立体打印技术(3D/4D打印技术)相关联:首先,通过计算机辅助设计软件或其他建模工具,设计满足特定应用需求的软骨支架的几何形状和结构;然后,将设计好的软骨支架模型切割成一系列薄片,每个薄片代表着软骨支架在垂直方向上的一个层次,并使用立体打印设备,按照设计好的模型,逐层将材料堆叠在一起,固化和黏合各个层次之间的材料以保持整个支架结构的稳定性;最后,进行适当的后处理步骤,如去除辅助支撑材料、消毒和清洁、物理性能测试等。

Li等<sup>[31]</sup>设计了一种聚己内酯/聚乙烯吡咯烷酮复合生物支架,通过调整3D打印过程中的各项参数对其进行优化,最终设计出来的支架有良好的细胞相容性,并且可促细胞的生长与增殖,在软骨组织工程领域有着良好的应用潜力。3D打印技术有着高度定制性,并且可以根据需求创建个性化的软骨支架结构,包括形状、尺寸、孔隙度和内部结构等,以满足个体化医疗需求和不同患者的特定要求,在软骨组织工程支架材料的制作中该技术有着其独特的优越性<sup>[32]</sup>。与3D打印类似,4D打印也依赖于新型的生物材料,但是这些材料通常会因为一些刺激(湿度、温度或化学物质)而发生一些相应的反应<sup>[33]</sup>。所以在3D打印材料的基础上,4D打印材料会随着时间的推移根据来自环境的刺激而改变,因此这种方法为支架材料的制作与设计提供了更多的可能以及附加功能。HENDRIKSON等<sup>[34]</sup>使用增材制造技术制作了4D聚氨酯支架,并通过植入细胞来评估该支架的形状记忆能力,发现随着该支架形状的恢复细胞明显被拉长,结果表明其形状恢复引起的机械应力会影响细胞行为。自由成型法利用的计算机辅助设计和先进的制造技术,具有高精度和可控性,能够实现材料的精确堆叠和控制,确保软骨支架的几何形状和结构的精确复制,以及材料的均匀分布和黏附<sup>[35]</sup>。相对于传统的制备方法,自由成型法具有较快的制备速度,逐层堆叠和固化的方式可以在相对短的时间内完成,提高了制备效率。但是其材料选择有限,目前可用于自由成型法的软骨支架材料有限,主要是生物可降解聚合物和生物活性因子,这些材料的性能和稳定性需要进一步研究和改进以满足临床应用的要求<sup>[36]</sup>;制备成本较高,自由成型法涉及先进的制造设备和技术,导致制备成本较高,限制了在大规模生产和广泛应用中的可行性<sup>[37]</sup>;材料的力学性能限制,某些自由成型法所用的材料在力学性能方面可能存在限制,软骨支架材料需要具备足够的强度、韧性和弹性以支撑和模拟天然软骨组织的功能。

**2.2.4 水凝胶注射法** 在软骨组织工程中水凝胶支架是一种常用的材料,用于促进软骨组织的再生和修复。水凝胶是一种高水含量的材料,具有类似于软骨组织的水合特性和生物相容性<sup>[38]</sup>,它能够提供一个适宜的环境促进软骨细胞的附着、增殖和分化,并且支持细胞与细胞之间的相互作用<sup>[39]</sup>。软骨支架的水凝胶注射法通过将水凝胶溶液注入到设计好的模具中,然后使其凝胶化或交联形成软骨支架所需的形状和结构。首先,选择适合软骨组织工程的水凝胶材料,并将其溶解或悬浮在溶剂中制备成水凝胶溶液;然后,设计模具,以确保软骨支架的形状和尺寸符合要求,在注模过程中,将水凝胶溶液注入到模具中并确保填充每个细节和空腔;随后,通过凝胶化或交联反应将水凝胶溶液转变为凝胶状态,这一过程可以通过改变温度、pH值、添加交联剂或引入外部刺激等方法触发<sup>[40]</sup>;最后,从模具中取出凝胶化的软骨支架,其具有模具所设计的几何形状和内部结构。

软骨支架的水凝胶注射法具有制备灵活、能够模拟天然软骨组织形态和功能的优点,是一种相对简单和可控的制备方法,它不需要复杂的设备和制备过程,易于掌握和操作;可以根据需要设计模具,灵活调整软骨支架的形状、尺寸和内部结构,以满足不同患者的需求;能够制备复杂的三维结构,如微孔洞和通道,有助于模拟天然软骨组织的形态和功能<sup>[41]</sup>;常用的水凝胶材料具有良好的生物相容性和生物降解性,有利于支架在体内的适应性和组织修复。水凝胶注射法制备软骨支架存在一些缺点:包括缺乏力学强度、制备周期长、材料选择有限和难以控制孔

隙度等,某些水凝胶材料在力学性能方面限制较大,无法满足软骨支架对强度和韧性的要求;目前可用的材料选项相对有限,主要以生物可降解聚合物为主,其他材料选择较少;在孔隙度的控制方面较为困难,可能导致孔隙结构不均匀或过大,影响细胞附着和组织工程修复效果。

**2.2.5 直接固化法** 直接固化法的原理是通过在材料中添加适当的交联剂或引发剂使材料在一定条件下进行交联或固化,这种固化过程可以通过化学反应<sup>[42]</sup>、光聚合或热交联等方式实现<sup>[43-44]</sup>,从而形成具有所需形状和结构的固定支架。固化后的支架材料具有良好的稳定性和机械强度,可以用于支持和模拟软骨组织的功能。直接固化法不需要复杂的制备过程,可在较短时间内完成支架制备;定制性强,可根据需求和设计要求调整交联剂或引发剂的种类、浓度和反应条件,实现软骨支架的定制化制备;保留了细胞活性,通过选择和控制交联剂或引发剂的条件,减少对细胞的不良影响,更好地保留细胞的活性和功能。然而,直接固化法也存在一些缺点:包括材料选择受限,需要选择适合固化反应的材料和交联剂/引发剂,可用的材料范围相对较窄;固化反应的控制性较差,容易受到环境因素、材料的批次差异和操作技术的影响,导致固化效果的不稳定性和一致性的问题;形状复杂性受限,对于形状复杂的结构和空间分布要求较高的支架制备可能存在困难和限制。

**2.2.6 盐膜法** 盐膜法的原理是基于溶剂蒸发和盐颗粒的模板作用:①首先,将生物可降解聚合物溶液(如聚乳酸或聚乙二醇酸)制备成溶液或凝胶状,同时加入细小的盐颗粒(如氯化钠)。②随后,将混合物倒入模具或培养皿中,使其均匀分布。在制备过程中溶剂逐渐蒸发,使得聚合物溶液逐渐凝胶化。同时盐颗粒起到模板的作用,形成具有孔隙结构的支架。盐颗粒的大小和分布可以影响最终支架的孔隙结构。随着溶剂的完全蒸发,凝胶固化并形成固体结构,其中盐颗粒留下空隙。③接下来,使用适当的方法(如浸泡在水中或超声波处理),将盐颗粒从支架中去除,留下具有孔隙结构的软骨支架。该方法的关键在于通过盐颗粒的模板作用,实现支架内部的孔隙结构形成<sup>[45]</sup>,这些孔隙有助于细胞的附着、增殖和营养物的扩散,促进软骨组织的生长和修复<sup>[46-47]</sup>。

盐膜法在软骨组织工程中制备软骨支架具有简单易行、可调控孔隙结构、良好的生物相容性和生物降解性以及批量制备的优点<sup>[48]</sup>。然而该方法也存在一些缺点:包括孔隙结构不均匀性、盐颗粒去除困难以及材料选择受限,孔隙结构的不均匀性可能影响细胞附着和组织工程修复效果,完全去除支架中的盐颗粒可能需要采用特殊处理方法以保证支架的完整性和纯净性,而盐膜法所使用的材料主要局限于生物可降解聚合物,其他材料的选择相对较少,可能受到力学性能和稳定性的限制。

**2.2.7 冻结干燥法** 冻结干燥法的原理是通过将含有细胞或生物材料的溶液或凝胶样品迅速冷冻,并在低温下施加真空,使水分从固态冰直接转变为气态水蒸气,绕过液态阶段,实现了无水化的干燥过程。具体而言,包括以下步骤:首先,将溶液或凝胶样品迅速冷冻,使水分形成冰晶;接着,在低温下施加真空,通过升华的方式将冰晶中的水分直接转变为气态水蒸气;最后,将干燥的样品退冻到常温,以恢复其原始形态。

冻结干燥法在软骨组织工程中制备软骨支架材料具有以下优点:①首先,它能保留细胞和生物材料的生物活性和结构完整性,通过无水化的干燥过程避免了细胞损伤和形态改变。②其次,冻结干燥法制备的软骨支架材料具有多孔的结构,有利于细胞的生长、营养物质的输送以及细胞定植<sup>[49-50]</sup>。通过调节冻结和干燥过程的参数可以灵活控制支架的孔隙大小、分布和连接性,以满足特定应用的需求<sup>[51]</sup>。③此外,冻结干燥法制备的软骨支架材料具有较低的水含量,从而提高了材料的长期稳定性和抗菌性能。然而冻结干燥法也存在一些缺点:①首先,它的工艺复杂性较高,需要精确控制冷冻和干燥过程中的温度、压力和速度等参数,增加了操作的难度;②其次,为了实现有效的冷冻和干燥过程,需要使用昂贵的设备,如真空冷冻干燥器,增加了制备成本;③此外,冻结干燥法制备的软骨支架材料的孔隙结构可能存在不均匀性,因为冰晶的形成和水分的升华过程可能导致孔隙分布的不一致,从而影响细胞的附着和组织工程修复效果。

### 3 讨论 Discussion

**3.1 既往他人在该领域研究的贡献和存在的问题** 近年来许多学者致力于综述软骨支架制备方法,为这一领域的发展做出了重要的研究贡献。



首先,他们对各种制备方法的优缺点进行了全面的评估和比较,帮助研究人员选择最适合其研究目的和需求的制备方法<sup>[52-53]</sup>。通过综合考虑材料的特性、制备过程的复杂性、成本效益等因素,他们为制备软骨支架提供了一些建议和指导原则<sup>[54-55]</sup>。其次,他们探索了新的制备方法和技术,如光固化<sup>[56]</sup>、热固化等,以拓宽软骨支架制备的技术范围。这些新方法的引入为提高支架的力学性能、生物相容性和生物活性提供了新的途径,促进了软骨组织工程领域的创新和进步。然而,综述研究中也存在一些不足之处:首先,一些综述研究可能过于注重方法的总结,而忽视了方法参数的变化对制备过程和产物性能的影响,这使得人们对制备方法的依赖性和选择性的理解仍然不够深入;其次,一些综述文献的缺点在于其覆盖范围有所限制<sup>[57]</sup>,由于快速发展的研究领域和不断涌现的新技术,某些最新的制备方法和技术可能未被充分涵盖;此外,对于某些制备方法的评估和性能分析可能相对较少,需要进一步的研究。

**3.2 该篇综述区别于他篇特点** 该篇综述总结了近年来修复软骨缺损的支架材料制备方法,从软骨支架材料的设计原则出发对近年来的研究进展进行评述,对多种支架材料制备方法的性能进行比较分析,便于其他研究者快速了解软骨支架材料的制备方式以期制备更理性的复合支架材料。

**3.3 综述的局限性** 该篇综述主要以关键词结合自由词进行文献检索,由于该综述覆盖方面多、时间跨度较长,可能导致文献检索不完全等问题,但尽可能将该综述的研究内容及最新成果进行归纳总结。该篇综述在评估制备方法时侧重于综合考虑材料性能、制备效率和成本效益等方面的因素,然而不同研究项目和应用场景对软骨支架的需求和要求可能有所不同,因此对制备方法的选择和适用性可能存在一定的主观性和局限性。需要更多的比较研究,以更全面、客观地评估制备方法的适用范围和局限性。

**3.4 该综述的重要意义** 该篇综述在促进学科交叉与合作方面起到了重要的桥梁作用。软骨支架制备方法涉及材料科学、化学工程、生物学等多个学科领域,通过对制备方法的综合评估和比较,可以促进不同学科之间的合作与交流,加强跨学科研究团队的形成,推动软骨组织工程的发展。此外,该篇综述汇集和整合大量的研究成果和知识,这有助于研究人员了解不同制备方法的原理、特点和应用范围,以及各自的优缺点。通过该综述,研究人员可以系统地该领域的发展动态,促进学术交流和知识共享。

**3.5 课题专家组对未来的建议** 软骨支架材料的制备是组织工程领域中的一个重要研究方向,在未来的工作中,将结合不同支架材料的特性,利用不同的制备方法开发出更好的复合支架材料。此外,软骨组织工程是一个涉及材料学、生物学和医学等多个领域的交叉学科,需要从多个角度去解决复杂的问题。虽然软骨组织工程支架材料的研究已经取得了很大的进展,但目前动物实验和临床实验研究仍相对匮乏,因此为了进一步推动该领域的发展,必须加强相关的病理学模型和动物实验的研究,以便更好地理解软骨缺损的形成和修复过程,并寻找更好的治疗方案。病理学模型和动物实验是软骨组织工程支架材料研究的重要组成部分,这些研究可以提供关于不同软骨损伤和病变类型的深入了解,有助于开发更加有效和个性化的治疗方案。此外,动物实验还可以提供更接近真实临床情况的数据,更好地评估支架材料的安全性和有效性,并为未来的临床试验提供重要参考。

**作者贡献:** 李陈致进行文章设计,王译文成文,收集资料为刘家河、李炎城、吴铭健、崔焱、李振豪、熊婉琦,何挺审核。

**利益冲突:** 文章的全部作者声明,在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。

**开放获取声明:** 这是一篇开放获取文章,根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享 4.0”条款,在合理引用的情况下,允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展,同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献,并为之建立索引,用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

**版权转让:** 文章出版前全体作者与编辑部签署了文章版权转让协议。

**出版规范:** 该研究遵守《系统综述和荟萃分析报告规范》(PRISMA指南)。文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行3次查重。文章经小同行外审专家双盲外审,同行评议认为文章符合期刊发稿宗旨。

## 4 参考文献 References

- CAMPOS Y, ALMIRALL A, FUENTES G, et al. Tissue Engineering: An Alternative to Repair Cartilage. *Tissue Eng Part B Rev.* 2019;25(4):357-373.
- LIU S, DENG Z, CHEN K, et al. Cartilage tissue engineering: From proinflammatory and anti-inflammatory cytokines to osteoarthritis treatments (Review). *Mol Med Rep.* 2022;25(3):99.
- ARMIENTO AR, STODDART MJ, ALINI M, et al. Biomaterials for articular cartilage tissue engineering: Learning from biology. *Acta Biomater.* 2018; 65:1-20.
- EMANUEL KS, KELLNER LJ, PETERS MJM, et al. The relation between the biochemical composition of knee articular cartilage and quantitative MRI: a systematic review and meta-analysis. *Osteoarthritis Cartilage.* 2022; 30(5):650-662.
- WU Z, KORNTNER SH, MULLEN AM, et al. Collagen type II: From biosynthesis to advanced biomaterials for cartilage engineering. *Biomater Biosyst.* 2021; 4:100030.
- O'DRISCOLL SW. The healing and regeneration of articular cartilage. *J Bone Joint Surg Am.* 1998;80(12):1795-1812.
- GRANDE DA, BREITBART AS, MASON J, et al. Cartilage tissue engineering: current limitations and solutions. *Clin Orthop Relat Res.* 1999;(367 Suppl): S176-185.
- ZHU M, ZHONG W, CAO W, et al. Chondroinductive/chondroconductive peptides and their-functionalized biomaterials for cartilage tissue engineering. *Bioact Mater.* 2021;9:221-238.
- AGARWAL T, CHIESA I, PRESUTTI D, et al. Recent advances in bioprinting technologies for engineering different cartilage-based tissues. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2021;123:112005.
- WANG Y, ZHANG W, YAO Q. Copper-based biomaterials for bone and cartilage tissue engineering. *J Orthop Translat.* 2021;29:60-71.
- LARSEN CG, STAPLETON EJ, SGAGLIONE J, et al. Three-Dimensional Bioprinting in Orthopaedics. *JBS Rev.* 2020;8(4):e0204.
- SANCHO-TELLO M, FORRIOL F, MARTÍN DE LLANO JJ, et al. Biostable scaffolds of polyacrylate polymers implanted in the articular cartilage induce hyaline-like cartilage regeneration in rabbits. *Int J Artif Organs.* 2017;40(7):350-357.
- CHEN G, KAWAZOE N. Porous Scaffolds for Regeneration of Cartilage, Bone and Osteochondral Tissue. *Adv Exp Med Biol.* 2018;1058:171-191.
- SCHULZ RM, BADER A. Cartilage tissue engineering and bioreactor systems for the cultivation and stimulation of chondrocytes. *Eur Biophys J.* 2007;36(4-5):539-568.
- SOUZA MT, TANSAZ S, ZANOTTO ED, et al. Bioactive Glass Fiber-Reinforced PGS Matrix Composites for Cartilage Regeneration. *Materials (Basel).* 2017;10(1):83.
- HO MH, KUO PY, HSIEH HJ, et al. Preparation of porous scaffolds by using freeze-extraction and freeze-gelation methods. *Biomaterials.* 2004;25(1): 129-138.
- KIM SS, SUN PARK M, JEON O, et al. Poly(lactide-co-glycolide)/hydroxyapatite composite scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials.* 2006;27(8): 1399-1409.
- ROYCHOWDHURY P, KUMAR V. Fabrication and evaluation of porous 2,3-dialdehyde cellulose membrane as a potential biodegradable tissue-engineering scaffold. *J Biomed Mater Res A.* 2006;76(2):300-309.
- SONG Y, CHOI JH, TUMURSUKH NE, et al. Macro- and microporous polycaprolactone/duck's feet collagen scaffold fabricated by combining facile phase separation and particulate leaching techniques to enhance osteogenesis for bone tissue engineering. *J Biomater Sci Polym Ed.* 2022; 33(8):1025-1042.
- SAMADIAN H, KHASTAR H, EHTERAMI A, et al. Bioengineered 3D nanocomposite based on gold nanoparticles and gelatin nanofibers for bone regeneration: in vitro and in vivo study. *Sci Rep.* 2021;11(1):13877.
- RIEPPON J, HALLIKAINEN J, JURVELIN JS, et al. Practical considerations in the use of polarized light microscopy in the analysis of the collagen network in articular cartilage. *Microsc Res Tech.* 2008;71(4):279-287.

- [22] PISZKO P, WŁODARCZYK M, ZIELIŃSKA S, et al. PGS/HAp Microporous Composite Scaffold Obtained in the TIPS-TCL-SL Method: An Innovation for Bone Tissue Engineering. *Int J Mol Sci.* 2021;22(16):8587.
- [23] 杨宁文, 何星. 羟基磷灰石/氧化石墨烯复合支架在骨缺损修复治疗中的研究进展 [J]. *复合材料学报*, 2023. doi: 10.13801/j.cnki.fhclxb.20230423.001
- [24] MO X, ZHANG D, LIU K, et al. Nano-Hydroxyapatite Composite Scaffolds Loaded with Bioactive Factors and Drugs for Bone Tissue Engineering. *Int J Mol Sci.* 2023;24(2):1291.
- [25] CONOSCENTI G, SCHNEIDER T, STOELZEL K, et al. PLLA scaffolds produced by thermally induced phase separation (TIPS) allow human chondrocyte growth and extracellular matrix formation dependent on pore size. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2017;80:449-459.
- [26] WANG Z, WANG Y, YAN J, et al. Pharmaceutical electrospinning and 3D printing scaffold design for bone regeneration. *Adv Drug Deliv Rev.* 2021; 174:504-534.
- [27] SEMITELA Â, GIRÃO AF, FERNANDES C, et al. Electrospinning of bioactive polycaprolactone-gelatin nanofibres with increased pore size for cartilage tissue engineering applications. *J Biomater Appl.* 2020;35(4-5):471-484.
- [28] YE K, KUANG H, YOU Z, et al. Electrospun Nanofibers for Tissue Engineering with Drug Loading and Release. *Pharmaceutics.* 2019;11(4):182.
- [29] EFTEKHARI A, MALEKI DIZAJ S, SHARIFI S, et al. The Use of Nanomaterials in Tissue Engineering for Cartilage Regeneration; Current Approaches and Future Perspectives. *Int J Mol Sci.* 2020;21(2):536.
- [30] PERANIDZE K, SAFRONOVA TV, KILDEEVA NR. Fibrous Polymer-Based Composites Obtained by Electrospinning for Bone Tissue Engineering. *Polymers (Basel).* 2021;14(1):96.
- [31] LI K, WANG D, ZHAO K, et al. Electrohydrodynamic jet 3D printing of PCL/PVP composite scaffold for cell culture. *Talanta.* 2020;211:120750.
- [32] SULTAN S, THOMAS N, VARGHESE M, et al. The Design of 3D-Printed Poly(lactic Acid)-Bioglass Composite Scaffold: A Potential Implant Material for Bone Tissue Engineering. *Molecules.* 2022;27(21):7214.
- [33] SU JW, TAO X, DENG H, et al. 4D printing of a self-morphing polymer driven by a swellable guest medium. *Soft Matter.* 2018;14(5):765-772.
- [34] HENDRIKSON WJ, ROUWKEMA J, CLEMENTI F, et al. Towards 4D printed scaffolds for tissue engineering: exploiting 3D shape memory polymers to deliver time-controlled stimulus on cultured cells. *Biofabrication.* 2017; 9(3):031001.
- [35] SHANJANI Y, DE CROOS JN, PILLIAR RM, et al. Solid freeform fabrication and characterization of porous calcium polyphosphate structures for tissue engineering purposes. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2010; 93(2):510-519.
- [36] XU T, BINDER KW, ALBANNA MZ, et al. Hybrid printing of mechanically and biologically improved constructs for cartilage tissue engineering applications. *Biofabrication.* 2013;5(1):015001.
- [37] AYAN B, CELIK N, ZHANG Z, et al. Aspiration-assisted freeform bioprinting of prefabricated tissue spheroids in a yield-stress gel. *Commun Phys.* 2020;3:183.
- [38] GUO C, CAO Z, PENG Y, et al. Subchondral bone-inspired hydrogel scaffold for cartilage regeneration. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2022;218:112721.
- [39] YANG J, ZHANG YS, YUE K, et al. Cell-laden hydrogels for osteochondral and cartilage tissue engineering. *Acta Biomater.* 2017;57:1-25.
- [40] CHANG SC, TOBIAS G, ROY AK, et al. Tissue engineering of autologous cartilage for craniofacial reconstruction by injection molding. *Plast Reconstr Surg.* 2003;112(3):793-799; discussion 800-801.
- [41] KOBAYASHI M, OKA M. Characterization of a polyvinyl alcohol-hydrogel artificial articular cartilage prepared by injection molding. *J Biomater Sci Polym Ed.* 2004;15(6):741-751.
- [42] LEE CS, HWANG HS, KIM S, et al. Inspired by nature: facile design of nanoclay-organic hydrogel bone sealant with multifunctional properties for robust bone regeneration. *Adv Funct Mater.* 2020;30(43):2003717.
- [43] ZHU H, YANG H, MA Y, et al. Spatiotemporally Controlled Photoresponsive Hydrogels: Design and Predictive Modeling from Processing through Application. *Adv Funct Mater.* 2020;30(32):2000639.
- [44] NONOYAMA T, LEE YW, OTA K, et al. Instant Thermal Switching from Soft Hydrogel to Rigid Plastics Inspired by Thermophile Proteins. *Adv Mater.* 2020;32(4):e1905878.
- [45] KANIMOZHI K, BASHA SK, KAVIYARASU K, et al. Salt Leaching Synthesis, Characterization and In Vitro Cytocompatibility of Chitosan/Poly(vinyl alcohol)/Methylcellulose-ZnO Nanocomposites Scaffolds Using L929 Fibroblast Cells. *J Nanosci Nanotechnol.* 2019;19(8):4447-4457.
- [46] SANGKATIP R, SRISEUBSAI W, KIATKITTIPONG K, et al. Optimization of Salt-Leaching Parameters for Gelatin/Na2Ti3O7 Scaffolds Using a Mixture Design Experiment. *Polymers (Basel).* 2022;14(3):559.
- [47] ZHOU F, ZHANG X, CAI D, et al. Silk fibroin-chondroitin sulfate scaffold with immuno-inhibition property for articular cartilage repair. *Acta Biomater.* 2017;63:64-75.
- [48] EGLIN D, GRAD S, GOGOLEWSKI S, et al. Farnesol-modified biodegradable polyurethanes for cartilage tissue engineering. *J Biomed Mater Res A.* 2010;92(1):393-408.
- [49] LU H, KO YG, KAWAZOE N, et al. Cartilage tissue engineering using funnel-like collagen sponges prepared with embossing ice particulate templates. *Biomaterials.* 2010;31(22):5825-5835.
- [50] KOENS MJ, GEUTJES PJ, FARAJ KA, et al. Organ-specific tubular and collagen-based composite scaffolds. *Tissue Eng Part C Methods.* 2011;17(3):327-335.
- [51] SCHOOF H, APEL J, HESCHEL I, et al. Control of pore structure and size in freeze-dried collagen sponges. *J Biomed Mater Res.* 2001;58(4):352-357.
- [52] 刘天, 王臻, 储彬, 等. 人工软骨支架材料、结构设计与制备技术研究进展 [J]. *功能材料*, 2023,54(3):3001-3011.
- [53] 贵浩然, 李澎, 张卫国. 制备软骨组织工程支架的材料和方法 [J]. *中国组织工程研究*, 2013,17(3):509-516.
- [54] LI WJ, COOPER JA JR, MAUCK RL, et al. Fabrication and characterization of six electrospun poly(alpha-hydroxy ester)-based fibrous scaffolds for tissue engineering applications. *Acta Biomater.* 2006;2(4):377-385.
- [55] HUTMACHER DW, SCHANTZ JT, LAM CX, et al. State of the art and future directions of scaffold-based bone engineering from a biomaterials perspective. *J Tissue Eng Regen Med.* 2007;1(4):245-260.
- [56] XUE X, HU Y, WANG S, et al. Fabrication of physical and chemical crosslinked hydrogels for bone tissue engineering. *Bioact Mater.* 2021;12:327-339.
- [57] PAWELEC KM, HUSMANN A, BEST SM, et al. Understanding anisotropy and architecture in ice-templated biopolymer scaffolds. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2014;37:141-147.

(责任编辑: QY, GW, ZN, LJY)