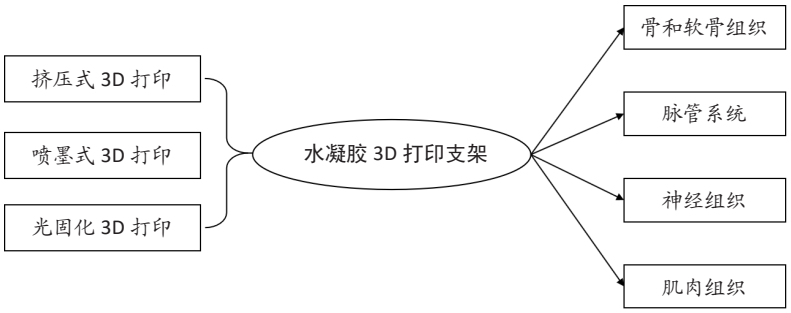
中国组织工程研究
Chinese Journal of Tissue Engineering Research
www.CJTER.com

3D 打印水凝胶仿生结构修复运动系统的组织损伤

吴吉岑元，朱 舟，裴锡波

https://doi.org/10.12307/2024.535
投稿日期：2023-10-07
采用日期：2023-11-14
修回日期：2023-12-05
在线日期：2023-12-13
中图分类号：
R459.9；R318；R363
文章编号：
2095-4344(2024)29-04703-07
文献标识码：A

文章快速阅读：3D 打印水凝胶材料在组织缺损修复中的作用



文题释义：
仿生结构：受自然界生物的特殊结构启发，利用生物材料模仿设计出的相似结构，以发挥理想的功能。
运动系统：包括骨、骨连结和骨骼肌3部分，骨借助骨连结形成骨骼，骨骼肌附着于骨，跨过关节，牵拉骨产生运动。

摘要
背景：创伤、炎症和肿瘤等因素常会造成运动系统各组织缺损，损伤包括骨、关节、骨骼肌以及伴行血管及神经，而临床上通常难以对涉及的所有组织功能损伤实现系统地修复，这为临床治疗带来了极大的挑战。
目的：阐述3D打印的水凝胶仿生结构在运动系统组织损伤中的应用。
方法：运用计算机检索中国知网、万方和PubMed数据库中2003−2023年发表的相关文献，以“3D printing，Hydrogel，Bone，Cartilage，Muscle，Nerve，Vasculature，Tissue engineering，Biomimetics”为英文检索词，以“3D打印，水凝胶，骨，软骨，肌，神经，脉管系统，组织工程，仿生结构”为中文检索词检索，并进行筛选、归纳与总结，最终纳入63篇相关文献进行综述。
结果与结论：①3D打印水凝胶可以通过几种不同的方式实现，如直接3D打印、混合模式3D打印，或是通过打印中间模具来制造具有3D仿生结构的水凝胶，在目前的研究中，3D打印水凝胶仿生结构的制造工艺里应用最广泛的还是挤出式打印。②通过生物打印水凝胶可制造具有复杂灌注结构的仿生血管并可诱导形成生物相关、高度组织化及完整的血管。③可以利用生物打印技术，模仿天然骨的分级结构和功能，将水凝胶与不同类型的细胞和生长因子结合，制造出更接近天然骨组成与结构的组织工程支架，以更好地实现骨再生。④可通过在3D打印的水凝胶导管结构内加入不同纤维材料实现神经纤维结构仿生。⑤利用特定水凝胶模拟肌束结构或者制造整合了血管/神经的工程化肌组织仿生结构可在体内增强体积性肌肉损害模型修复。⑥综合目前的相关研究，接近细胞外基质特性的甲基丙烯酰化明胶常被考虑为3D打印各种组织仿生结构的水凝胶原材料，研究者们还会在其中加入不同的生长因子或者细胞进行生物打印来实现目标组织的修复。⑦3D打印水凝胶仿生结构的临床试验报道尚欠缺，说明此类材料的临床转化还需要经历一个长期过程，临床应用方面仍需完善，还需要更加全面的体内安全性评估。
关键词：3D打印；水凝胶；组织损伤；组织工程；仿生结构；脉管系统；骨组织工程；骨关节结构；神经结构；体积性肌肉损伤

3D-printed biomimetic hydrogel for repairing tissue damage in motor systems

Wu Jicenyuan, Zhu Zhou, Pei Xibo
National Clinical Medical Research Center for Oral Diseases, State Key Laboratory of Oral Diseases, Department of Prosthodontics, West China Hospital of Stomatology, Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China
Wu Jicenyuan, Master candidate, National Clinical Medical Research Center for Oral Diseases, State Key Laboratory of Oral Diseases, Department of Prosthodontics, West China Hospital of Stomatology, Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China
Corresponding author: Pei Xibo, PhD, Associate professor, Master’s supervisor, National Clinical Medical Research Center for Oral Diseases, State Key Laboratory of Oral Diseases, Department of Prosthodontics, West China Hospital of Stomatology, Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China

Abstract
BACKGROUND: Trauma, inflammation, tumors, and other factors commonly result in tissue defects, including damage to bones, joints, skeletal muscles, and associated blood vessels and nerves. Clinically, it is often challenging to repair all the functional injuries involving these tissues, posing great challenges for

四川大学华西口腔医院修复科，口腔疾病研究国家重点实验室，国家口腔疾病临床医学研究中心，四川省成都市 610041
第一作者：吴吉岑元，女，1999 年生，云南省昆明市人，汉族，四川大学在读硕士，主要从事水凝胶材料在骨修复中的应用研究。
通讯作者：裴锡波，博士，副教授，硕士生导师，四川大学华西口腔医院修复科，口腔疾病研究国家重点实验室，国家口腔疾病临床医学研究中心，四川省成都市 610041
https://orcid.org/0009-0008-1925-4584(吴吉岑元)；https://orcid.org/0000-0003-0386-8262(裴锡波)
基金资助：国家自然科学基金－面上项目 (82271016)，项目负责人：裴锡波；四川大学华西口腔交叉学科创新项目 (RD-03-202310)，项目负责人：裴锡波
引用本文：吴吉岑元，朱舟，裴锡波 . 3D 打印水凝胶仿生结构修复运动系统的组织损伤 [J]. 中国组织工程研究，2024，28(29):4703-4709.

clinical treatment.
OBJECTIVE: To elucidate the application of 3D-printed hydrogel biomimetic structures in motor system tissue injuries.
METHODS: Relevant literature published from 2003 to 2023 was retrieved from the CNKI, Wanfang Data, and PubMed databases. The Chinese and English search terms were "3D printing, hydrogel, bone, cartilage, muscle, nerve, vasculature, tissue engineering, biomimetics". After screening, induction and summary, 63 relevant articles were finally included for review.
RESULTS AND CONCLUSION: (1) 3D-printed hydrogels can be achieved in several different ways, such as direct 3D printing, hybrid mode 3D printing, or manufacturing 3D bio-inspired structures in hydrogels by printing intermediate molds. Among these manufacturing processes, extrusion-based printing is currently the most widely used for 3D printing hydrogels with bio-inspired structures. (2) Bioprinting hydrogels enables the production of biovascular structures with complex perfusion patterns, and it can induce the formation of biologically relevant, highly organized, and intact blood vessels. (3) By utilizing bioprinting technology, it is possible to mimic the hierarchical structure and function of natural bone, combining hydrogels with different types of cells and growth factors to create tissue engineering scaffolds that closely resemble the composition and structure of natural bone, thereby facilitating better bone regeneration. (4) Neural fiber structure can be bio-inspired by incorporating different fiber materials into the 3D-printed hydrogel conduit structure. (5) Utilizing specific hydrogel formulations, it is possible to simulate muscle bundle structures or engineer muscle tissues integrating blood vessels and nerves, which can enhance the repair of volumetric muscle injuries *in vivo*. (6) Based on current related research, methacrylated gelatin, which closely resembles the characteristics of the extracellular matrix, is often considered as a raw material for 3D printing various tissue bio-inspired structures. Researchers also incorporate different growth factors or cells into the hydrogels for bioprinting to achieve the desired tissue repair outcomes. (7) Although there is a lack of clinical trial reports on 3D-printed hydrogel bio-inspired structures, this indicates that the clinical translation of such materials still requires a long-term process. Further improvements are needed in terms of clinical applications, as well as comprehensive *in vivo* safety assessments.
Key words: 3D printing; hydrogel; tissue damage; tissue engineering; biomimetic structure; vascular system; bone tissue engineering; osteoarticular structure; neural structure; volumetric muscle injury

Funding: *National Natural Science Foundation of China, No. 82271016 (to PXB); Cross-Disciplinary Innovation Project of Sichuan University West China School of Stomatology, No. RD-03-202310 (to PXB)*
How to cite this article: *WU JCY, ZHU Z, PEI XB. 3D-printed biomimetic hydrogel for repairing tissue damage in motor systems. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2024;28(29):4703-4709.*

0 引言 Introduction

运动系统包括骨、骨连结和骨骼肌3部分，骨借助骨连结形成骨骼，骨骼肌附着于骨，跨过关节，牵拉骨产生运动[1]。同时，运动系统由神经支配驱动，通过血管的滋养来行驶正常的运动功能。由创伤、肿瘤切除等因素造成的运动系统组织损伤发生率较高，且该类因素造成的组织损伤通常会合并骨、软骨、肌肉、神经和血管中两种以上的组织，而临床修复治疗要恢复缺损部位的整体结构及功能，是一个复杂而困难的挑战。组织工程策略在近年来被认为是骨/软骨组织缺损、体积性肌肉损失的潜在治疗选择。通过修复支配神经及滋养血管来促进组织损伤修复，也是重要的间接修复损伤的策略。

仿生学是对自然和自然现象的研究，以了解生物物质、结构和过程的机制，创造模仿自然对应物的产品[2]。自然选择过程导致了许多材料、结构、模型、系统和过程的进化，这些材料、结构和过程已针对广泛的功能进行了优化。生物模仿或生物灵感涉及学习自然的设计原理，以建立各种长度、尺度、高度的复杂工程模型，并利用丰富的知识来解决人类面临的关键挑战[3]。早在1960年，仿生学的概念诞生，便开始有学者在此领域不断探究开发新的仿生材料，到20世纪90年代，仿生学领域已成为热门研究领域。漫长的进化过程中，自然界中的生物形成了各种力学性能优异的生物结构水凝胶，是组织工程中优秀的3D支架材料，开发具有仿生结构的水凝胶支架，是近来组织工程研究的热点。由于水凝胶拥有较理想的生物相容性，能够广泛用于医学、生物打印、组织工程和生物力学[4]，其具有高含水量和多孔结构，类似于细胞外基质，可用于模拟组织的三维微环境，这种特性可影响多种细胞活动，包括增殖、迁移和谱系特异性基因表达的调控，有助于对细胞间相互作用和细胞内信号通路的研究[4]。由于水凝胶的这些特点，使其能在结构和组成上达到更好的接近体内组织结构和功能的效果。3D打印水凝胶的微环境为细胞封装、充分接种和均匀分布提供了理想的腔室。构建载细胞水凝胶的技术包括挤出式生物打印、喷墨式生物打印、激光辅助生物打印和光刻生物打印[5]。

目前关于运动系统损伤修复的材料研究，研究者们运用生物相容性良好的水凝胶材料辅以各种生物因子或其他有效成分，制造出各种机械强度可调、降解速率与组织再生相适应的材料，但往往难以兼顾损伤部位复杂的功能结构，因此对恢复损伤区组织的功能还有一段距离。此外，中国许多材料研究距离临床应用转化都尚有一段距离。已有大量文献总结3D生物打印技术的特点及应用，以及水凝胶立体结构在各种组织损伤修复中的应用，而文章从仿生结构支架材料的角度入手，着眼于水凝胶仿生结构的应用，阐述3D打印技术制造的水凝胶仿生结构的研究进展，从物理/化学结合仿生学的角度分析组织工程的热点研究方向，为将来研究3D打印水凝胶材料应用于组织损伤修复提供了新思路，以期为临床组织修复应用提供更多的参考。

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 第一作者于2023年3–9月进行文献检索。

1.1.2 检索文献时限 2003年1月至2022年12月。

1.1.3 检索数据库 中国知网、万方及PuMed数据库。

1.1.4 检索词 中文检索词为"3D打印，水凝胶，骨，软骨，肌，神经，脉管系统，仿生结构"，英文检索词为"3D printing，Hydrogel，Bone，Cartilage，Muscle，Nerve，Vasculature，Biomimetics"。

1.1.5 检索文献类型 研究原著和综述。

1.1.6 检索策略 以PubMed数据库检索策略为例，见**图1**。

#1 3D printing [Title/Abstract]
#2 Hydrogel [Title/Abstract]
#3 (Bone [Title/Abstract]) OR (Cartilage [Title/Abstract]) OR (Muscle [Title/Abstract]) OR (Nerve [Title/Abstract]) OR (Vasculature [Title/Abstract])
#4 Biomimetics [Title/Abstract]
#5 #1 AND #2 AND #3 AND #4

图1 | PubMed数据库检索策略图

1.1.7 检索文献量 初步共检索到文献中文文献24篇，英文文献221篇。

1.2 入组标准

1.2.1 纳入标准 ①已正式发表的期刊文献；②文献内容与"关键词"高度相关；③英文文献所属刊物影响因子(IF)≥3，中文文献所属期刊属于中文核心期刊；④文章内容真实可靠。

1.2.2 排除标准 ①文献核心内容重复过多；②文献质量较低(影响因子低，不属于核心期刊)；③文献内容陈旧。

1.3 **文献质量评估及数据提取** 根据检索词，计算机初步共检索到中文24篇及英文221篇文献，阅读文章标题及摘要，结合文章纳入及排除标准筛选，最后共纳入63篇文章并对其内容进行分析和整理，其中选自中国知网和万方数据库的中文文献3篇，选自PubMed数据库的英文文献60篇，检索流程见**图2**。

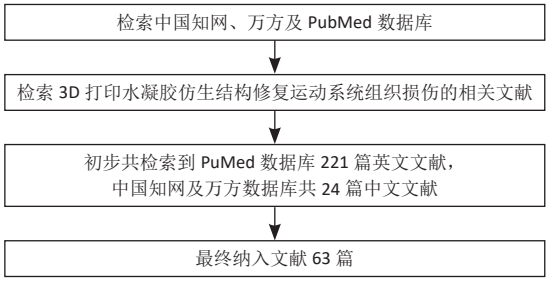
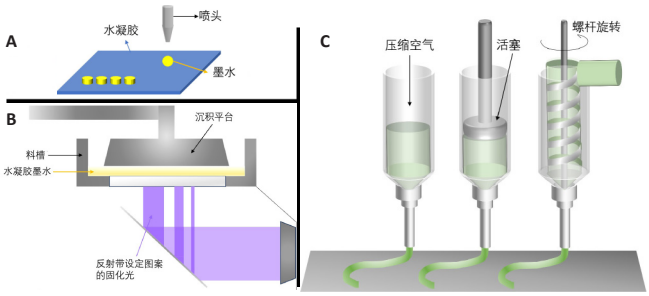


图2 | 文献筛选流程图

2 结果 Results

2.1 3D 打印具有仿生结构的水凝胶支架的技术 3D 打印水凝胶可以通过几种不同的方式实现，如直接 3D 打印，混合模式 3D 打印，或是通过打印中间模具来制造具有 3D 仿生结构的水凝胶。直接 3D 打印技术，包括喷墨打印、基于激光的系统和挤压式打印的方法。其他制造技术可以添加到直接打印中以创建混合模式制造平台，例如结合 3D 打印和静电纺丝来制造水凝胶 [6]。此外，3D 打印可用于快速制作铸造水凝胶的原型模具 [7]。研究者应结合该仿生结构想要达到的性能，比较不同制造技术的优势来作出选择。

2.1.1 直接 3D 打印 目前主流的直接 3D 打印水凝胶技术有挤压式打印系统、喷墨打印系统和基于激光的打印系统 [8]，见**图 3**，以下对这 3 种方法进行简述。



图注：图 A 为喷墨式打印方法；B 为挤压式打印系统；C 为立体光刻打印法 (SLA)。

图 3 ｜直接 3D 打印示意图

挤压式打印系统是构建水凝胶支架最流行的技术，其主要使用活塞、气动泵或螺杆将水凝胶细丝通过喷嘴挤出到基材上固化 [9]。通过计算机建模预先设计打印路径，按照构建的模型逐层、有顺序地挤出材料，形成目标 3D 结构，使用这种方法成功制造出 3D 打印结构的关键是有良好的层间黏合。因此，对水凝胶的各种参数，如凝固温度、流变性能和凝胶凝固机制的控制就显得至关重要。在挤压式打印技术中，最初的聚合物必须是具有黏性或黏弹性的，在打印下一层之前，这些印刷层会固化并成为自支撑水凝胶 [10]。基于挤出的 3D 打印是一种具有成本效益的水凝胶制造技术，与黏度范围为 30–6×10^7 mPa•s 的水凝胶墨水兼容 [11]。

喷墨打印技术以可控的尺寸和小体积产生液体墨滴，并将其输送到基板上的特定位置 [12]，它由一个打印头和一个可沿 Z 轴移动的构建平台组成，并通过喷嘴打印到移动的 XY 平面上，喷头压力和打印速度分别取决于喷嘴直径和水凝胶的流变性 [10]。基于喷墨的水凝胶 3D 打印使用计算机控制的液滴在基材上逐层沉积。喷墨打印已制造出各种响应外部刺激的形状变化的水凝胶致动器 [13]。具有 < 10 mPa•s 的低黏度的水凝胶通常用于喷墨打印，由此产生的水凝胶致动器具有低结构完整性 [14]。

喷墨和挤压式打印机在简单、灵活和低成本方面具有独特的优势，然而，这两种方法也有局限性。喷嘴受到物理限制，这两种打印方法的分辨率较低，通常都在 50 μm 以上；此外，印刷结构的完整性也常受到限制，特别是在液滴 (在喷墨印刷的情况下) 和线条 (在挤出印刷的情况中) 的界面处 [15]。

大多数基于激光的 3D 打印系统适用于水凝胶复合材料制造，以特定设计图案的激光 (通常为紫外光范围) 照射于可光交联的水凝胶以构建 3D 结构 [16]。将光固化液体的表面暴露在紫外激光下，会形成薄的单层凝胶，然后随着样品台顺序向上或向下移动，可在预制结构的顶部继续形成下一层 [10]。基于激光的 3D 打印系统可根据激光源的类型、光束传输系统、扫描或曝光方法以及操作台移动系统的类型分为几类：激光诱导的正向转移，其使用激光将水凝胶液滴从供体层排放到基底上 [17]；双光子聚合 (two photon polymerization，TPP)，通过近红外激光脉冲照射引发水凝胶聚合 [16]；立体光刻 (stereo lithography appearance，SLA) 进行的光聚合 (紫外光或可见光)[18]；数字光投影 (digital light processing，DLP)，由 SLA 的掩模投影系统发展而来 [19]。然而，这些技术大多都需要后期处理，例如去除支撑物和其他不需要的材料，因此，后固化程序是必要的，以完全固化构建的结构来获得完整的机械稳定性。

与喷墨或挤出打印机的串行打印过程 (逐滴或逐行) 相比，DLP 打印机通过将光学图案的整个平面投影到光聚合物溶液上进行平行打印，这显著减少了制造所需的时间，可以打印平滑的 3D 对象，而不会在液滴 (喷墨打印) 或线条 (挤出打印) 之间出现人工界面。高精度的激光辅助打印系统的打印分辨率可以高达 1 nm 甚至更微细。但是，激光辅助打印系统对于打印材料的要求就比较局限，材料必须可光聚合，因此对于一些没有光聚合特性的材料，只能通过改性处理尝试打印或者采用其他的打印方法。而且基于激光的打印系统通常需要将原料充满到料槽内，打印结束后便不可避免的造成一部分材料的浪费和制造成本的增加 [20]。

文中将不同水凝胶支架的 3D 制造方法进行对比 [12, 17-19, 21-24]，见**表 1**。

表 1 ｜不同水凝胶支架制造方法的对比

打印方法	制造策略	分辨率	打印速度	制造特性
挤压式打印系统 [21-23]	使用活塞、气动泵或螺杆将水凝胶细丝通过喷嘴按照计算机设计的路径挤出到基材上固化	50–100 μm	慢	制造工艺无细胞毒性，应用广泛，但分辨率较低
喷墨式打印系统 [12, 17, 21, 24]	通过喷嘴按照计算机设计路径挤出水凝胶液滴，在基材上逐层沉积并固化	50–100 μm	快	速度快、分辨率高、成本低，但只能用于低黏度材料
基于激光的打印系统 [17-19]	使具有特定设计图案的激光照射于可光交联的水凝胶，逐层固化	< 50 μm，可达 1 nm	中等	高分辨率和高再现性，但只能用于光交联材料，固化光可能影响细胞活力

直接 3D 打印技术也存在一定的局限性。例如：基于激光系统的应用仅限于光聚合材料或高度可控的熔融材料；并且，SLA 中使用的未反应单体和光引发剂具有细胞毒性 [25]。对于挤压式打印系统，也存在某些设计限制。例如，其分辨率低于喷墨式打印系统和基于激光的打印技术。新材料的成功应用通常需要对工艺参数进行广泛且耗时的优化，因此，通常必须在分辨率或材料性能方面作出妥协，以生成合适的结构 [26]。

2.1.2 间接 3D 打印 为了克服直接 3D 打印技术的局限性，间接 3D 打印技术应运而生，是应用直接打印技术生成的构造作为最终构造的中间模具或牺牲模板 [27]，中间模型与最终结构方向相对应，挤出式 3D 制造的示意图如**图 4** 所示。间接打印终模型的方法，可以实现更高分辨率的终模型的生产，且由于间接打印的牺牲模具多是采用成熟的 3D 打印原材料制作，就使得终模型的材料限制显著放宽，一些原来无法直接打印的材料也可以通过中间模具来形成终模型，同时也不会在应用新材料时因为优化工艺参数等各种调整而造成大量的材料浪费，而如 SLA 技术产生的中间模型在成型后就可把未交联的单体去除，也不会留在终模型内而造成细胞毒性 [28]。直接打印水凝胶材料通常难以获得理想的机械强度，或是难以采用有利于细胞生存浓度的水凝胶材料直接打印 [29]。然而，与直接打印相比，间接打印能够使用质量分数 10% 及以下的聚合物浓度构建自支撑支架 [27]。

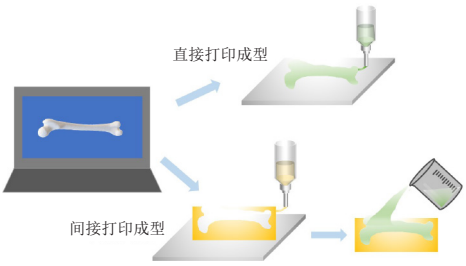


图 4 ｜挤出式 3D 打印间接制造水凝胶结构的示意图 (与挤出式打印直接制造成型方法对比)

现有的实现间接打印材料的技术也包括了挤出式打印、喷墨式打印和基于激光的打印方法 [30]，间接成型技术打印的水凝胶结构现已应用于从软组织到硬组织的结构仿生、微流体和血管网络的创建和神经组织工程等 [31-33]。

2.2 3D 打印仿生结构水凝胶的应用 各种 3D 打印技术的成熟使得 3D 打印的水凝胶仿生结构在组织工程中得到丰富的应用。随着仿生学概念的兴起，医学研究者们开始从自然界中的各种生物所有的结构和其特殊功能中寻找灵感，并设计出具有各种仿生结构的材料，以期应用于人体内组织缺损的治疗 [34-35]。3D 打印仿生结构水凝胶的发展历程见**图 5**。

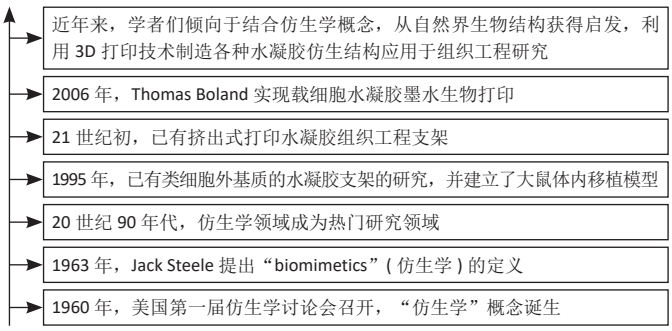


图 5 ｜ 3D 打印仿生结构水凝胶的发展历程 [34-35]

下面通过将 3D 打印的水凝胶仿生结构在组成运动系统的各个组织内得到的应用来分别阐述。组成运动系统的各部分组织中，血管为其他组织提供营养，而骨缺损的修复通常与脉管系统的滋养密切相关，关节结构的修复需要同时实现骨和软骨区域的恢复，而在修复肌肉组织的缺损时，如要恢复其功能便需要修复缺损区域的神经支配。因此，该节的阐述顺序为：脉管系统－骨－关节－神经－肌肉。

2.2.1 脉管系统仿生水凝胶 运动系统的每个部分都需要血管的滋养，在修复相应的组织缺损时，如果缺损部位伴有血管的损伤，也需要注意修复该组织相应的血供，否则不利于该缺损区域的恢复，如自体移植腓骨皮瓣修复大段颌骨缺损时，需要利用腓骨周围伴行的血管以建立颌骨缺损部位的血供，方可增加移植成功率和改善预后。因此，在研究生物相容性的材料用于大范围运动系统组织损伤时，需要考虑设计出可模仿脉管灌注系统功能的结构以恢复组织损伤区域破坏的血供。

微血管结构工程组织在体内发挥作用是需要宿主提供营养和氧气支持的，而通过其他方法制作的微血管结构工程组织，在植入宿主体内的初期常缺乏与周围组织的良好整合，其在宿主体内发挥的作用便受到了限制。因此，在工程组织构建体中创建可灌注的脉管系统有望解决这些问题，因为它在植入初期即允许血液运输。这种灌注可以提供充足的氧气和营养物质供应，同时去除废物，避免在组织内形成大块坏死区域 [36-37]。JIA 等 [38] 设计了一种基于甲基丙烯酰化明胶 (gelatin methacryloyl，GelMA)、海藻酸钠和 4− 臂聚 (乙二醇)− 四丙烯酸酯 [4-arm poly (ethylene glycol)-tetra-acrylate，PEGTA] 的共混生物墨水，利用三层同轴喷嘴实现中空血管微纤维的生物打印，并通过增强 PEGTA 的交联密度在提高机械强度的同时保持有益的多孔结构，结果显示在该可灌注纤维内包封的人脐静脉内皮细胞和骨髓间充质干细胞可以成熟为功能性细胞，并且该结构具有能让封装血管细胞存活和增殖。

制造可灌注的小直径脉管系统是生产用于临床应用的人体组织 / 器官的基础步骤 [39]。生成与平滑肌和内皮结合的脉管系统，以复制自然血管的复杂性和功能性，是一项极具挑战性的工作。CUI 等 [40] 合成了受贻贝启发的邻苯二酚官能化甲基丙烯酰基接枝明胶 (catechol-functionalized gelatin methacrylate，GelMA/C)，并用同轴挤压印刷制造了具有分层结构的自立式小直径脉管系统，协同使用无组织交联浆料来支持和固化 GelMA/C 生物墨水，从而确保血管系统的成功生成，通过生物功能化和动态刺激显著改善了平滑肌和内皮的血管重塑，通过体内生物相容性研究和对免疫缺陷小鼠 3D 生物打印脉管系统发育的研究验证了该设计的有效性，进一步验证了复杂组织 / 器官应用的效率和潜力。

上述制造出的复杂的、可灌注血管仿生结构，具有可诱导形成生物相关、高度组织化、完整的血管的潜能，并通过体外实验和动物实验验证了其应用于复杂组织和器官中的潜力。然而，用于临床修复的仿生血管将会需要大规模的组织生产，这迫切需要对打印尺寸和速度有进一步的改进，对于增加的组织尺寸也需要更大量的营养和氧气输送才能保持细胞的活力并促进组织的成熟，来保证组织的成功血管化。尽管在 3D 打印脉管系统方面已取得了重大进展，但将这类人工脉管系统网络成功整合到整个组织中仍然充满了挑战，使用生物反应器的动态培养可能是促进血管化组织成熟和延长生存能力的解决方案。

2.2.2 骨组织结构仿生水凝胶 在临床实践中，骨移植、金属装置和牵张成骨已被用于填充或修复下颌骨缺损。其中，腓骨游离皮瓣移植是下颌骨重建的金标准 [41]。但自体皮瓣移植又会对取瓣部位造成损伤，因此，寻找具有良好生物相容性、机械强度与骨组织接近、可实现仿骨组织结构的人工合成材料是非常理想的。骨骼是高度分化的复杂结构，其含有矿物质基质、多种细胞和血管网络。由于缺乏仿生结构、生物活性因子和功能性脉管系统，临床上对于大规模骨缺损的重建仍然具有挑战性。随着 3D 生物打印的进步，可以利用生物打印技术，模仿天然骨的分级结构和功能，将水凝胶与不同类型的细胞和生长因子结合，制造出更接近天然骨组成与结构的组织工程支架，以更好地实现骨再生。

骨多孔结构仿生：仿生结构支架的研究从骨结构的特点入手，骨结构包含了骨皮质与骨松质，其中由骨小梁作为连接。在骨结构仿生支架的研究中，往常研究的有机支架常没有令人满意的压缩模量，而无机陶瓷支架虽然具有优异的刚度，但易碎且孔隙率低，临床应用可能会导致骨折植入物松动。KIM 等 [42] 根据骨松质疏松多孔的结构，采用 γ 射线辐照处理制备了用于骨组织工程的含有羟基磷灰石 (hydroxyapatite，HAP) 纳米颗粒的丝素蛋白 (silk fibroin，SF) 复合水凝胶，并且在结果中显示，SF/HAP 复合水凝胶具有高度多孔的结构，HAP/ 纳米颗粒均匀地分散在 SF 水凝胶中，与纯 SF 水凝胶相比，SF/HAP 复合水凝胶还显示出细胞增殖和黏附增加。此外，这些水凝胶增强了体外人骨髓间充质干细胞的成骨分化。因此，这些结果表明 3D 多孔 SF/HAP 复合水凝胶有望成为骨组织工程的生物材料。

血管化工程骨结构仿生：在物理和化学特性及其多尺度脉管系统方面模拟生物组织的复杂结构时，组织工程面临着艰巨的挑战。用于临床的骨组织工程支架不仅应具有优异的成骨能力，还应具有营养转移、氧交换、废物清除、细胞和信号分子调节的互连血管 [43]。在前文中以阐述过脉管系统仿生结构的运用，一些研究者们根据骨组织需要血管滋养的生理特性，开发了仿血管化骨组织结构的水凝胶。

WANG 等 [44] 通过低温 3D 打印 β− 磷酸三钙和含水 / 聚乳酸－乙醇酸 / 二氯甲烷乳液墨水的成骨肽，制备了具有平衡骨传导性 / 骨诱导性的定制骨组织工程支架，其制备的支架具有分层多孔结构，在机械性能上可与人类松质骨相媲美，然后将含有 Ⅰ 型胶原水凝胶的血管生成肽涂覆在支架表面，以进一步提供具有血管生成能力的支架，支架获得了快速血管生成肽释放和缓慢但持续的连续成骨肽释放，在接种大鼠内皮细胞和大鼠骨髓间充质干细胞后，两种细胞均显示出高成活性，结果显示血管生成肽涂覆的支架改善了内皮细胞的体外迁移和血管生成，而在含有成骨肽的支架中观察到成骨分化功能的增强；体内结果表明，对于含有血管生成肽和成骨肽的支架，血管生成肽的快速释放在体内明显诱导了血管生成，同时成骨肽的持续释放显著改善了新骨形成。BYAMBAA 等 [45] 设计了一种将含不同浓度梯度血管内皮生成因子并具有不同机械强度的甲基丙烯酸明胶 (GelMA) 水凝胶柱形结构组装起来的水凝胶支架，在不同位置的水凝胶柱内分别包封了不同比例的人脐静脉内皮细胞和人骨髓间充质干细胞，以仿生含有脉管系统的工程骨组织，该结构中心为仅含人脐静脉内皮细胞的低强度 GelMA，这个部分的 GelMA 水凝胶柱快速地降解，使该结构中心很快能形成具有内皮衬里的可灌注管腔，体内培养 21 d 的结果显示该结构促进了包封的人骨髓间充质干细胞形成成熟的骨瓮，这种方法为制造用于治疗大型骨缺损的工程骨结构提供了思路。

2.2.3 骨关节结构仿生水凝胶 关节软骨内无血管滋养，自我修复和自愈能力均较差，来自血液和骨髓的软骨细胞和祖细胞很难迁移到缺损部位，导致组织再生失败。大型骨软骨损伤不会自发恢复，如果治疗不当，小的软骨损伤会向下发展到软骨下骨，最终导致骨软骨组织退化 [46]。

骨软骨组织的环境复杂，具有不同的组成和结构，从透明软骨到软骨下骨都具有不同的生物医学特性 [47]。因此，具有模拟结构和生物化学性质的仿生水凝胶被认为是成功再生软骨细胞的有效方法 [48]。FANG 等 [49] 模拟骨软骨结构设计了一种机械增强生物相容性壳聚糖 / 明胶双网的双层水凝胶，该水凝胶具有与水凝胶层厚度相关的微观结构、机械性能和生物功能，以修复全厚度骨软骨缺损，这种双层水凝胶的上层掺入碱性成纤维细胞生长因子 (basic fibroblast growth factor，bFGF) 以诱导软骨再生，而羟基磷灰石 (HAp) 纳米颗粒通过原位矿化均匀沉积于下层，提供了可直接与宿主骨结合的生物活性界面以实现支架和软骨下骨之间的直接结合；通过体外细胞分析证明，这种双层凝胶可以支持软骨细胞和成骨细胞的附着、增殖和分化，体内研究证实双层凝胶对骨软骨再生和整合的

有效性。YU 等[50]将聚乙二醇二丙烯酸酯 (polyethylene glycol diacrylate，PEGDA) 加入 GelMA 中，并探究了不同浓度 PEGDA 的实验组，并在水凝胶中引入生物活性和软骨保护分子 (Kartogenin，KGN) 以刺激软骨再生 (该分子已被用于促进间充质基质细胞向软骨细胞的逐步分化)[51]，最终 20G+5P+KGN 组 (GelMA 浓度 20%，PEGDA 浓度 5%) 具有较满意的弹性模量和缓慢降解速率，并且该水凝胶软骨植入物成功修复了兔模型股骨区域的滑车软骨缺损。

骨关节结构仿生修复的难点主要在骨和软骨之间的界面稳定结合以及人工材料与组织的成功整合，若界面结合不稳定可能导致支架在组织再生过程中发生断裂或变形。因此，需要在兼顾生物相容性的情况下，在骨软骨单元的不同深度制造具有所需生物医学功能的集成支架，以支持软骨和软骨下骨再生，实现成功的组织修复。

2.2.4 神经组织仿生水凝胶 运动系统由神经支配，无论是骨、骨骼肌、骨连结中任何部分的大范围组织缺损，均有可能伤及支配这一部分的运动或感觉的神经。因此，若运动系统的组织损伤伤及支配该区域的运动或感觉的神经时，需设计并利用可仿神经组织传导功能的结构恢复支配该区域神经的完整性。

随着再生医学的发展，临床相关的组织工程导管已被证明是一种有前途的神经修复治疗方法，旨在弥补神经移植短缺和移植需求之间的差距，然而，理想的神经导管应具有足够的机械性能、高孔隙率和优异的生物相容性，这是细胞生长和随后组织形成成功的关键因素[52-54]。LIU 等[55]将电流体动力学喷墨印刷、浸涂和静电纺丝技术结合，制造出一种机械可调谐的三层明胶基神经导管结构，三层结构分别是：具有可调方向性的高分辨率电流体动力学喷射印刷的聚 ε- 己内酯 [Poly(ε-caprolactone，PCL] 细丝作为最内层；随后浸涂明胶水凝胶以形成中间层，最后用电纺 PCL 纳米纤维包裹作为导管的外层，并对制作导管的机械性能、孔隙率和生物相容性进行了评估，证实这种组合方法在制造具有良好神经元前体和血管细胞相容性的机械可调谐三层导管方面具有更大的潜力。WANG 等[56]提出了一种基于水凝胶内排列的导电纳米纤维纱线的核壳支架，以模拟天然神经组织的 3D 分层排列结构，当 PC12 细胞和背根神经节细胞在其 3D 外周表面上培养时，该方法能够诱导轴突排列和伸长，还诱导排列的轴突延伸和细胞沿着纳米纤维的方向从背根神经节外植体迁移，这些排列的纳米纤维纱线具有足够的生物相容性，还可诱导细胞排列和轴突伸长，证明这种 3D 分层排列的核 - 壳支架在周围神经组织工程领域具有巨大的潜在应用。

2.2.5 肌肉组织仿生水凝胶 目前，3D 生物打印技术已成为构建生物工程肌肉组织结构的有力工具。体积性肌肉损失 (Volumetric muscle loss，VML) 可能由严重创伤、肿瘤切除或肌肉消耗性疾病引起，会降低机体内源性自我修复能力，并导致肌肉功能丧失[57]。组织工程策略最近被视为体积性肌肉损失修复的潜在治疗选择，具有高度定向结构的天然骨骼肌是通过对齐的肌肉纤维束融合形成的，这在力的产生和各向异性运动中起着关键作用[58]。因此，生物制造仿生各向异性支架以模拟天然骨骼肌的排列结构，可以在三维环境中诱导细胞伸长，对于体外工程骨骼肌模型和体内体积肌肉损失修复至关重要。LI 等[59]探究出一种具有快速应力松弛的互穿网络 (interpenetrating network，IPN) 水凝胶，由 GelMA 和纤维蛋白原在光交联和酶交联后组合而成，将其作为生物墨水打印对齐的骨骼肌仿生支架，这个支架内部通过调节 GelMA 与纤维蛋白原的浓度比，表现出可调的黏弹性，C2C12 成肌细胞被包裹在这些 IPN 水凝胶中，具有快速应力松弛的 IPN 水凝胶显示出更高的 3D 细胞增殖和更好的分化，使用该水凝胶定制出体外 3D 工程化骨骼肌组织，发现其能够在体内增强体积性肌肉损失模型修复，因为它们能够募集天然肌肉细胞并促进原位血运重建。

已有文献表明，神经营养因子 (或神经营养素) 和神经成分释放的神经递质以及预先形成的神经肌肉接头 (neuromuscular junctions，NMJ) 可增加骨骼肌细胞的存活和分化[60-61]。肌肉纤维通过 NMJ 与运动神经元连接，将肌肉收缩信号从大脑传递到肌肉纤维，这些肌肉纤维被结缔组织层分组并包围，为骨骼肌提供结构稳定性[62]。为了解决与神经支配延迟相关的问题，KIM 等[63]通过生物印刷人类肌肉祖细胞和人类神经干细胞来开发具有神经细胞整合能力的人类骨骼肌构建体，并且评估将神经细胞整合到生物打印骨骼肌构建体中加速体内功能性肌肉再生的效果，作者通过体外实验证明了神经细胞成分可以支持长期细胞存活，增强肌源性分化，并在体外诱导生物打印骨骼肌结构中的肌纤维上形成 NMJ，并且以此依据在大鼠胫骨前肌肌肉缺损模型中也显示出快速恢复肌肉功能的能力，证明了使用这种生物打印方法修复临界尺寸肌肉缺损损伤的可行性。这些结果表明，3D 生物打印的人类神经骨骼肌结构可以与宿主神经网络快速集成，从而加速肌肉功能恢复，这种 NMJ 预制的生物工程骨骼肌结构可能是一种治疗广泛骨骼肌缺损的有效治疗方法。由此可见，3D 制造水凝胶仿生结构修复骨骼肌损伤多从模拟天然骨骼肌的肌束排列切入，并且考虑合并实现缺损部位血运重建或神经传导是更好恢复缺损部位功能的思路。

在此总结各种水凝胶材料仿生结构的设计思路及制造策略以及在运动系统中各个组成部分中的应用，见**表 2**，**3**。

表 2 | 各种水凝胶材料仿生结构的制造策略

研究者 / 发表年份	仿生结构类型 (宏观)	微观仿生结构	设计思路	制造策略
JIA 等[38]，2016	脉管系统结构	模拟由多种细胞类型组成的天然血管	GelMA 接近细胞外基质的理化特性，但机械强度不足，PEGTA 增加支架结构的机械强度并且多孔结构利于细胞铺展、运动和黏附	三层同轴喷嘴挤出式打印
KIM 等[42]，2017	骨组织结构	骨多孔结构	生物特性优异的丝素蛋白水凝胶结合羟基磷灰石纳米颗粒增加机械强度	γ 射线辐照交联制造多孔结构
BYAMBAA 等[45]，2017	血管化骨组织	骨多孔结构	梯度浓度 GelMA 调控不同机械强度和分解速度，血管仿生部分辅以 VEGF，分别载 hUVECs 和 hMSC 的生物打印	挤出式生物打印
CUI 等[40]，2019	脉管系统结构	平滑肌 - 内皮双层血管结构	仿贻贝交联机制的生物交联墨水 GelMA/C	同轴挤压与立体光刻联合打印
WANG 等[56]，2019	神经结构	神经外膜包封传导纤维的分层结构	定向 PCL/ 丝素蛋白 /CNT 纳米纤维纱线封装在 GelMA 内	干 - 湿静电纺丝
KIM 等[63]，2020 年	神经整合的骨骼肌结构	骨骼肌肌束结构	含透明质酸的明胶，载 hMPCs 和 hNSCs 的生物打印	多喷嘴平行挤出式打印
WANG 等[44]，2021 年	血管化骨组织	骨多孔结构	成骨肽和血管生成肽功能分别等同于 BMP-2 和 VEGF	低温挤出式 3D 打印，支架冻干赋予多孔结构
LIU 等[55]，2021	神经结构	神经纤维及导管结构	PCL 纤维利于细胞黏附，诱导定向神经细胞生长，明胶具有良好生物相容性	电流体喷墨印刷、浸涂和静电纺丝
FANG 等[49]，2022	骨关节结构	骨 - 软骨结合	壳聚糖 / 明胶机械增强水凝胶网络，上层加 bFGF 诱导软骨再生，下层羟基磷灰石颗粒诱导矿化及骨 - 软骨结合	化学交联 + 物理交联
YU 等[50]，2022	骨关节结构	促软骨再生生物因子	GelMA 的高生物相容性，加 PEGDA 增加机械强度，加入 KGN 促进软骨再生	可注射 + 光固化
LI 等[59]，2022	肌肉结构	组织内肌细胞单轴排列	GelMA 和纤维蛋白原的光交联与酶交联，调节纤维蛋白原浓度使黏弹性可调	挤出式打印

表注：GelMA 是甲基丙烯酰化明胶；PEGTA 是 4- 臂聚 (乙二醇)- 四丙烯酸；VEGF 是血管内皮生长因子；hUVECs 是人脐静脉内皮细胞；hMSC 是人骨髓间充质干细胞；GelMA/C 是邻苯二酚官能化甲基丙烯酰基接枝明胶；hMPCs 是人间充质前体细胞；hNPCs 是人髓核细胞；BMP-2 是骨形态发生蛋白 2；PCL 是聚己内酯；bFGF 是碱性成纤维细胞生长因子，PEGDA 是聚乙二醇二丙烯酸酯；KGN 是软骨保护分子。

从上述表 2，3 整理看出，目前用于组织工程研究的水凝胶材料大多都具有较好的生物相容性，大部分研究者们都会考虑以明确较好生物相容性的 GelMA 材料作为 3D 生物打印的墨水，挤出式打印是 3D 打印水凝胶仿生结构的应用最广泛的制造手段。水凝胶的仿生结构设计和 3D 打印技术在体外和体内实验中已显示出一定的潜力，但尚未广泛应用于临床治疗，说明此类材料距离临床应用尚有一段距离。材料创新度较大，制造难度更高的研究中通常欠缺一些完整的体外和体内实验数据，文章内更着重于描述材料制造以及材料创新、体外及体内实验数据更加完善的文章，在材料制造工艺上又会缺乏一些更精细或者更符合其仿生

表 3 | 各种水凝胶材料仿生结构的应用

研究者 / 发表年份	仿生结构类型 (宏观)	细胞类型	主要支架材料	生物相容性	研究成果
JIA 等 [38]，2016	脉管系统结构	hUVEC 和 hMSC	GelMA 和 PEGTA	细胞活性 > 80%	墨水可支持血管细胞的增殖和早期成熟，可诱导类似于天然血管系统的早期成熟的有活力和功能的血管的形成
KIM 等 [42]，2017	骨组织结构	hMSC	SF 水凝胶和 HAP 颗粒	活死染色表现无明显细胞毒性	体外实验成骨分化性能佳
BYAMBAA 等 [45]，2017	血管化骨组织	hUVEC 和 hMSC	GelMA		体外实验中毛细血管样结构及血管网结构成功形成，成功的成骨分化
CUI 等 [40]，2019	脉管系统结构	hCASMC 和 hUVEC	GelMA/C	细胞活性接近 100%	小鼠体内实验验证了血管系统的成功生成以及该设计的应用有效性
WANG 等 [56]，2019	神经结构	PC12 和 DRG	PCL/SF/CNT 和 GelMA	活死染色细胞活性大于 90%	神经细胞增殖活性良好，可沿轴突定向排列和伸长
KIM 等 [63]，2020 年	神经整合的骨骼肌结构	hMPC 和 hNSC	明胶	细胞活性 > 90%	神经细胞可支持体外肌细胞存活及分化，体内实验中大鼠肌肉缺损呈现快速的组织结构及功能恢复
WANG 等 [44]，2021 年	血管化骨组织	hUVEC 和 hMSC	TCP/PLGA	细胞活性约等于 98%	体内实验表现促 hUVEC 迁移及 hMSC 分化，体外实验表现血管生成和成骨的协同促进
LIU 等 [55]，2021	神经结构	hUVEC	PCL 和明胶	活死染色及 CCK8 分析支持材料良好生物相容性和低细胞毒性	良好细胞增殖活性，良好的生物相容性和无毒性
FANG 等 [49]，2022	骨关节结构	MC3T3-E1	壳聚糖 / 明胶	可支持软骨细胞和成骨细胞的附着和增殖	体外实验证实该结构支持成骨细胞和软骨细胞增殖分化，体内实验证实骨软骨结构再生
YU 等 [50]，2022	骨关节结构		GelMA 和 PEGDA	GelMA浓度20%，PEGDA 浓度 5% 组表现出适宜的的弹性模量和缓慢的降解速率，成功修复了兔模型股骨区域的滑车软骨缺损	
LI 等 [59]，2022	肌肉结构	C2C12	GelMA	细胞活性> 85%，FG 浓度增加，细胞活性增高	体外实验显示优异的肌细胞增殖分化，体内实验显示良好肌肉损失修复及血运重建

表注：hUVEC 是人脐静脉内皮细胞；hMSC 人骨髓间充质干细胞；GelMA 是甲基丙烯酰化明胶；PEGTA 是 4− 臂聚 (乙二醇)− 四丙烯酸；SF 是丝素蛋白；HAP 是羟基磷灰石；hCASMC 是人冠状动脉血管平滑肌细胞；GelMA/C 是邻苯二酚官能化甲基丙烯酰基接枝明胶；PC12 是鼠嗜铬细胞瘤来源的神经细胞；DRG 背根神经节细胞；PCL 是聚己内酯；CNT 是碳纳米管；hMPCs 是人间充质前体细胞；hNPCs 是人髓核细胞；TCP 是磷酸三钙；PLGA 是聚乳酸 − 羟基乙酸；MC3T3-E1 是小鼠胚胎成骨细胞；PEGDA 是聚乙二醇二丙烯酸酯；C2C12 是成肌细胞。

灵感的设计，这启发研究者要更积极地采取跨学科、跨专业的合作模式来完善研究，使研究成果有更大的临床转化可能和临床应用空间。

3 总结与展望 Summary and prospects

3.1 既往研究贡献和存在问题 运动系统的大范围组织损伤一直是临床治疗的难题。临床上对于骨组织损伤常采用自体骨移植来进行治疗，但会受到供体区移植皮瓣的限制，同时供体区的损伤也需要一定时间的愈合，由于是自体皮瓣供给，皮瓣范围受限，已经有很多对于可替代自体移植所期望的生物材料的研究。由创伤所致的临界骨骼肌损失，其自然再生的能力受到长久损害，目前的治疗手段为取健康肌肉组织进行移植，但效果不佳，因此急需治疗效果更佳的方案。关节的损伤由于其较差的血供常导致愈合不佳，治疗时还需要注意关节中的骨 − 软骨交接界面和骨连结的恢复，否则容易对关节行使功能造成较大的影响。目前关于运动系统损伤修复的材料，研究者们已制造出多种有理想的机械强度 / 降解速率 / 生物相容性等优异性能的材料，但常难以兼顾损伤部位复杂的功能结构组成，因此距恢复损伤区组织的功能还有一段距离。

3.2 作者综述区别于他人他篇的特点 目前已有大量文献总结 3D 生物打印技术的特点及应用，以及水凝胶立体结构在各种组织损伤修复中的应用，而作者的综述着眼于水凝胶仿生结构的应用，从物理 / 化学结合仿生学的角度分析组织工程的热点研究方向，为将来研究 3D 打印水凝胶材料应用于组织损伤修复提供了新思路。

3.3 综述的局限性 ①文章对关于 3D 制造水凝胶仿生结构的应用的相关研究，基本停留在基础研究方面，尚缺乏大量且有说服力的动物实验及临床应用的报道；②对于这些水凝胶仿生结构的制造工艺及其特点的对比未作更深入的探讨和比较，也未对各工艺具体的适用情况作更细致的探究和比较。

3.4 综述的重要意义 随着 3D 打印技术、材料学、仿生学、组织工程学及生物力学等多学科的发展，打印的精确度、材料的可行性都在提高，水凝胶无疑是3D打印组织工程研究领域受关注度逐渐提高的材料之一。通过制造仿生物结构物质的水凝胶材料，利用生物打印的方法使水凝胶打印墨水负载活细胞来进行水凝胶材料制造，利用水凝胶材料仿细胞外基质功能将其与硬材料支架直接组合，或是依据运动系统各种结构特点制造结构仿生水凝胶等，是现在 3D 打印仿生水凝胶的几个研究方向。水凝胶材料通常具有较优异的生物相容性，其吸水性能等也能作为细胞外基质的良好模拟，这使其在用作细胞培养时常可获得较理想的效果。不同的水凝胶材料可通过不同的方式固化，便能在 3D 生物打印中实现灵活的运用。但水凝胶材料通常机械强度较低，因此在骨和软骨等硬组织修复，甚至一些较大范围的运动系统其他组织缺损修复上的单独应用均受到限制。并且水凝胶的降解速度需要和修复组织的新生速度相适应，否则将无法发挥材料的优势。目前仍需探索更优的水凝胶负载活细胞的形式，提高水凝胶内细胞活性，更好地发挥水凝胶模拟细胞外环境的优势。对于研究出生物相容性更好、生物力学性能佳、合理的仿生结构设计的水凝胶，以期可应用于临床治疗，将是未来对于 3D 打印仿生结构水凝胶研究的重点。虽然水凝胶材料具有理想的生物相容性和可调控的特性，但在临床转化中仍存在一些挑战，如材料的机械性能、降解速度需要和组织相适应，在材料中添加生物活性因子时要考虑其如何在机体内稳定发挥作用等。因此，要将水凝胶的仿生结构应用于临床治疗，还需要更多的动物实验资料以及人体内的临床应用探究。

3.5 课题组专家的建议 目前中国对于运动系统组织损伤的修复，大多局限在单类组织的缺损修复，然而大范围的组织缺损通常是合并两种以上的组织，常难以通过单一的修复材料来实现系统的组织修复。3D 打印技术可以实现将可发挥不同生物医学功能的材料个性化的结合，而水凝胶材料因优异的生物相容性成为组织工程中的热点材料，再结合结构仿生的角度，常能在组织损伤修复材料的研究中实现新的突破。但是该领域中诞生的新材料尚未广泛实现临床转化，未在临床应用中得到普及，因此在未来，需要进一步提高这类材料与组织协调的机械特性和生物相容性，实现这类材料在体内组织中的成功整合。

致谢：感谢四川大学华西口腔医院口腔疾病研究国家重点实验室及国家口腔疾病临床医学研究中心提供的检索平台。

作者贡献：朱舟及裴锡波老师进行文章设计及审校。吴吉岑元收集文献资料、评估整理文献并最终成文。

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

[1] 胡莹莹 , 李雷 , 张维 , 等 . 基于运动系统知识框架的解剖学教学认知体系构建 [J]. 基础医学教育 ,2021,23(7):448-451.
[2] 张亮 , 韩泽奎 , 臧旖欣 , 等 . 仿生蛛网孔隙结构 3D 打印个性化钛网设计及三维有限元分析 [J]. 中国组织工程研究 ,2023,27(30):4796-4801.
[3] NAIK RR, SINGAMANENI S. Introduction: bioinspired and biomimetic materials. Chem Rev. 2017;117(20):12581-12583.
[4] ZHANG Y, CHEN H, LI J. Recent advances on gelatin methacrylate hydrogels with controlled microstructures for tissue engineering. Int J Biol Macromol. 2022; 221:91-107.
[5] 王曙东 , 马倩 , 王可 , 等 . 3D 生物打印制备组织工程支架的研究进展 [J]. 纺织学报 ,2023,44(3):210-220.
[6] WU Y. Electrohydrodynamic jet 3D printing in biomedical applications. Acta Biomater. 2021;128:21-41.
[7] SUN W, SCHAFFER S, DAI K, et al. 3D printing hydrogel-based soft and biohybrid actuators: a mini-review on fabrication techniques, applications, and challenges. Front Robot AI. 2021;8:673533.
[8] OSTROVIDOV S, SALEHI S, COSTANTINI M, et al. 3D bioprinting in skeletal muscle tissue engineering. Small. 2019;15(24):e1805530.
[9] LI J, WU C, CHU PK, et al. 3D printing of hydrogels: Rational design strategies and emerging biomedical applications. Mat Sci Eng R. 2020;140:100543.
[10] JANG TS, JUNG HD, PAN HM, et al. 3D printing of hydrogel composite systems: recent advances in technology for tissue engineering. Int J Bioprint. 2018;4(1):126.
[11] KYLE S, JESSOP ZM, AL-SABAH A, et al. 'Printability' of candidate biomaterials for extrusion based 3D printing: state-of-the-art. Adv Healthc Mater. 2017;6(16): 1700264.
[12] LI X, LIU B, PEI B, et al. Inkjet bioprinting of biomaterials. Chem Rev. 2020;120(19): 10793-10833.
[13] AXPE E, OYEN ML. Applications of alginate-based bioinks in 3D bioprinting. Int J Mol Sci. 2016;17(12):1976.
[14] MANI MP, SADIA M, JAGANATHAN SK, et al. A review on 3D printing in tissue engineering applications. J Polym Eng, De Gruyter. 2022;42(3):243-265.
[15] ZHU W, MA X, GOU M, et al. 3D printing of functional biomaterials for tissue engineering. Curr Opin Biotechnol, 2016;40:103-112.
[16] BILLIET T, VANDENHAUTE M, SCHELFHOUT J, et al. A review of trends and limitations in hydrogel-rapid prototyping for tissue engineering. Biomaterials. 2012;33(26):6020-6041.
[17] MIRI AK, MIRZAEE I, HASSAN S, et al. Effective bioprinting resolution in tissue model fabrication. Lab Chip. 2019;19(11):2019-2037.
[18] LIN Q, TANG M, KE C. Thermo-responsive 3D-printed polyrotaxane monolith. Polymer Chemistry, The RSC. 2020;11(2):304-308.
[19] RASTOGI P, KANDASUBRAMANIAN B. Review of alginate-based hydrogel bioprinting for application in tissue engineering. Biofabrication. 2019;11(4):042001.
[20] SHINKAR K, RHODE K. Could 3D extrusion bioprinting serve to be a real alternative to organ transplantation in the future? Annals of 3D Printed Medicine. 2022;7:100066.
[21] BUDHARAJU H, SUBRAMANIAN A, SETHURAMAN S. Recent advancements in cardiovascular bioprinting and bioprinted cardiac constructs. Biomater Sci. 2021; 9(6):1974-1994.
[22] BUDHARAJU H, SUBRAMANIAN A, SETHURAMAN S. Efficient dual crosslinking of protein-in-polysaccharide bioink for biofabrication of cardiac tissue constructs. Biomater Adv. 2023;152:213486.
[23] RAMESH S, HARRYSSON OLA, RAO PK, et al. Extrusion bioprinting: recent progress, challenges, and future opportunities. Bioprinting. 2021;21:e00116.
[24] GOMES GAMA JF, DIAS EA, AGUIAR COELHO RMG, et al. Development and implementation of a significantly low-cost 3D bioprinter using recycled scrap material. Front Bioeng Biotechnol. 2023;11:1108396.
[25] CHIA HN, WU BM. Recent advances in 3D printing of biomaterials. J Biol Eng. 2015;9(1):4.
[26] HOUBEN A, VAN HOORICK J, VAN ERPS J, et al. Indirect rapid prototyping: opening up unprecedented opportunities in scaffold design and applications. Ann Biomed Eng. 2017;45(1):58-83.
[27] VAN HOORICK J, DECLERCQ H, DE MUYNCK A, et al. Indirect additive manufacturing as an elegant tool for the production of self-supporting low density gelatin scaffolds. J Mater Sci Mater Med. 2015;26(10):247.
[28] TABOAS JM, MADDOX RD, KREBSBACH PH, et al. Indirect solid free form fabrication of local and global porous, biomimetic and composite 3D polymer-ceramic scaffolds. Biomaterials. 2003;24(1):181-194.
[29] BILLIET T, GEVAERT E, DE SCHRYVER T, et al. The 3D printing of gelatin methacrylamide cell-laden tissue-engineered constructs with high cell viability. Biomaterials. 2014;35(1):49-62.
[30] LEE JM, YEONG WY. Design and printing strategies in 3D bioprinting of cell-hydrogels: a review. Adv Healthc Mater. 2016;5(22):2856-2865.
[31] KOLESKY DB, TRUBY RL, GLADMAN AS, et al. 3D bioprinting of vascularized, heterogeneous cell-laden tissue constructs. Adv Mater. 2014;26(19):3124-3130.
[32] HA DH, KO DH, KIM JO, et al. Indirect fabrication of versatile 3D microfluidic device by a rotating plate combined 3D printing system. RSC Adv. 2018;8(66): 37693-37699.
[33] NAGHIEH S, SARKER MD, ABELSETH E, et al. Indirect 3D bioprinting and characterization of alginate scaffolds for potential nerve tissue engineering applications. J Mech Behav Biomed Mater. 2019;93:183-193.
[34] CIULLA MG, MASSIRONI A, SUGNU M, et al. Recent advances in the development of biomimetic materials. Gels. 2023;9(10):833.
[35] VINCENT JF. Biomimetics--a review. Proc Inst Mech Eng H. 2009;223(8):919-939.
[36] RADISIC M, YANG L, BOUBLIK J, et al. Medium perfusion enables engineering of compact and contractile cardiac tissue. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2004; 286(2):H507-H516.
[37] LIU Y, LIU X, ZHANG Y, et al. Interpenetrating polymer network HA/Alg-RGD hydrogel: an equilibrium of macroscopic stability and microscopic adaptability for 3D cell growth and vascularization. Biomacromolecules. 2023. doi: 10.1021/acs. biomac.3c01022.
[38] JIA W, GUNGOR-OZKERIM PS, ZHANG YS, et al. Direct 3D bioprinting of perfusable vascular constructs using a blend bioink. Biomaterials. 2016;106:58-68.
[39] BARRS RW, JIA J, SILVER SE, et al. Biomaterials for bioprinting microvasculature. Chem Rev. 2020;120(19):10887-10949.
[40] CUI H, ZHU W, HUANG Y, et al. In vitro and in vivo evaluation of 3D bioprinted small-diameter vasculature with smooth muscle and endothelium. Biofabrication. 2019;12(1):015004.
[41] GUO J, YAO H, LI X, et al. Advanced hydrogel systems for mandibular reconstruction. Bioact Mater. 2023;21:175-193.
[42] KIM MH, KIM BS, LEE J, et al. Silk fibroin/hydroxyapatite composite hydrogel induced by gamma-ray irradiation for bone tissue engineering. Biomater Res. 2017;21:12.
[43] YAN Y, CHEN H, ZHANG H, et al. Vascularized 3D printed scaffolds for promoting bone regeneration. Biomaterials. 2019;190-191:97-110.
[44] WANG C, LAI J, LI K, et al. Cryogenic 3D printing of dual-delivery scaffolds for improved bone regeneration with enhanced vascularization. Bioact Mater. 2021; 6(1):137-145.
[45] BYAMBAA B, ANNABI N, YYE K, et al. Bioprinted osteogenic and vasculogenic patterns for engineering 3D bone tissue. Adv Healthc Mater. 2017;6(16):1700015.
[46] RIM YA, NAM Y, JU JH. Application of cord blood and cord blood-derived induced pluripotent stem cells for cartilage regeneration. Cell Transplant. 2019;28(5):529-537.
[47] GAO F , XU Z , LIANG Q, et al. Direct 3D printing of high strength biohybrid gradient hydrogel scaffolds for efficient repair of osteochondral defect. Adv Funct Mater. 2018;28(13):1706644.
[48] GAO Y, ZHANG X, ZHOU H. Biomimetic hydrogel applications and challenges in bone, cartilage, and nerve repair. Pharmaceutics. 2023;15(10):2405.
[49] FANG J, LIAO J, ZHONG C, et al. High-strength, biomimetic functional chitosan-based hydrogels for full-thickness osteochondral defect repair. ACS Biomater Sci Eng. 2022;8(10):4449-4461.
[50] YU H, FENG M, MAO G, et al. Implementation of photosensitive, injectable, interpenetrating, and kartogenin-modified GELMA/PEDGA biomimetic scaffolds to restore cartilage integrity in a full-thickness osteochondral defect model. ACS Biomater Sci Eng. 2022;8(10):4474-4485.
[51] JOHNSON K, ZHU S, TREMBLAY MS, et al. A stem cell-based approach to cartilage repair. Science. 2012;336(6082):717-721.
[52] ZHANG L, ZHANG H, WANG H, et al. Fabrication of multi-channel nerve guidance conduits containing schwann cells based on multi-material 3D bioprinting. 3D Print Addit Manuf. 2023;10(5):1046-1054.
[53] VIJAYAVENKATARAMAN S, ZHANG S, THAHARAH S, et al. Electrohydrodynamic jet 3D printed nerve guide conduits (NGCs) for peripheral nerve injury repair. Polymers. 2018;10(7):753.
[54] VIJAYAVENKATARAMAN S, THAHARAH S, ZHANG S, et al. Electrohydrodynamic jet 3D-printed PCL/PAA conductive scaffolds with tunable biodegradability as nerve guide conduits (NGCs) for peripheral nerve injury repair. Mater Design. 2019;162:171-184.
[55] LIU S, SUN L, ZHANG H, et al. High-resolution combinatorial 3D printing of gelatin-based biomimetic triple-layered conduits for nerve tissue engineering. Int J Biol Macromol. 2021;166:1280-1291.
[56] WANG L, WU Y, HU T, et al. Aligned conductive core-shell biomimetic scaffolds based on nanofiber yarns/hydrogel for enhanced 3D neurite outgrowth alignment and elongation. Acta Biomater. 2019;96:175-187.
[57] AGRAWAL G, AUNG A, VARGHESE S. Skeletal muscle-on-a-chip: an in vitro model to evaluate tissue formation and injury. Lab Chip. 2017;17(20):3447-3461.
[58] ZHANG Y, ZHANG Z, WANG Y, et al. 3D myotube guidance on hierarchically organized anisotropic and conductive fibers for skeletal muscle tissue engineering. Sci Eng C Mater Biol Appl. 2020;116:111070.
[59] LI T, HOU J, WANG L, et al. Bioprinted anisotropic scaffolds with fast stress relaxation bioink for engineering 3D skeletal muscle and repairing volumetric muscle loss. Acta Biomater. 2022;156:21-36.
[60] KO IK, LEE BK, LEE SJ, et al. The effect of in vitro formation of acetylcholine receptor (AChR) clusters in engineered muscle fibers on subsequent innervation of constructs in vivo. Biomaterials. 2013;34(13):3246-3255.
[61] VILMONT V, CADOT B, OUANOUNOU G, et al. A system for studying mechanisms of neuromuscular junction development and maintenance. Development. 2016; 143(13):2464-2477.
[62] ZHANG W, LIU Y, ZHANG H. Extracellular matrix: an important regulator of cell functions and skeletal muscle development. Cell Biosci. 2021;11:65.
[63] KIM JH, KIM I, SEOL YJ, et al. Neural cell integration into 3D bioprinted skeletal muscle constructs accelerates restoration of muscle function. Nat Commun. 2020;11:1025.

（责任编辑：WJ，ZN，QY，YJ）