

3D 打印在软骨组织损伤修复中的应用进展

吕超凡¹, 朱莉娅¹, 李客楼¹, 李宗安^{1,2}, 杨继全¹

(1. 南京师范大学江苏省三维打印装备与制造重点实验室, 江苏 南京 210042)

(2. 东南大学机械工程学院, 江苏 南京 211189)

[摘要] 近年来, 由于机械性创伤或骨病等原因造成的软骨损伤已成为一种普遍疾病, 严重威胁着人类的健康。目前临床可行的治疗方案大多是从表面上愈合损伤, 并不能促进细胞增殖分化并形成具有生物活性和力学特性的透明软骨组织。本文就软骨损伤修复的研究进展, 分别介绍了 3D 打印在软骨组织工程中的应用进展、软骨组织三维建模方法以及软骨组织快速成型方法。3D 打印技术在软骨组织工程方面研究的不断进步, 将会为人类健康事业的发展做出贡献。

[关键词] 3D 打印, 软骨修复, 组织工程, 三维建模, 快速成型

[中图分类号] TP205 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1672-1292(2017)01-0012-06

Application of 3D Printing in Cartilage Tissue Injury Repair

Lü Chaofan¹, Zhu Liya¹, Li Kelou¹, Li Zongan^{1,2}, Yang Jiquan¹

(1. Jiangsu Key Laboratory of 3D Printing Equipment and Manufacturing, Nanjing Normal University, Nanjing 210042, China)

(2. School of Mechanical Engineering, Southeast University, Nanjing 211189, China)

Abstract: In the recent years, cartilage injury has become a common disease, which seriously threatened human health, because of mechanical trauma, bone disease or other reasons. The most common clinic treatments can only heal damage on the surface, but can not continue to promote cell proliferation and differentiation as well as formation of cartilage tissue with biological and mechanical properties. This paper, based on research progress of cartilage injury repair, introduces applications of 3D printing in cartilage tissue engineering, three dimensional modeling methods and the rapid prototyping methods for cartilage tissue. In the future, cartilage tissue engineering based on 3D printing technology will play a more important role in the development of human health.

Key words: 3D printing, cartilage repair, tissue engineering, three-dimensional modeling, rapid prototyping

3D 打印(three dimensional printing), 又称增材制造(additive manufacturing)或快速成型(rapid prototyping), 首先用计算机软件进行建模, 再用切片软件进行切片分层, 最后利用逐层叠加的原理把材料堆积成实物模型^[1]。目前 3D 打印技术不断成熟, 已广泛应用于航空航天、汽车、珠宝、土木工程、教育和医疗产业等领域。

所谓个性化医疗, 就是强调以人为本, 注重患者的个体差异, 因地制宜, 找出适合患者个体的最佳治疗方案。个性化医疗是从疾病医学到健康医学, 从群体治疗到个体医疗的重要转变。3D 打印技术与个性化医疗的结合必定会成为今后发展的主要趋势。其中, 利用 3D 打印技术在体外人工构建透明软骨, 可有效解决传统软骨修复的不足, 为推进人类健康事业的发展做出重大贡献。

1 软骨组织修复方法

软骨组织可以使软骨之间避免摩擦和冲击, 是关节行使其正常功能的基础。受创伤、疾病等问题的影响, 关节软骨组织易发生各种损伤和病变。由于成人的软骨组织中并没有血管或神经, 因此软骨组织受损

收稿日期: 2016-12-29.

基金项目: 江苏省重点研发计划(BE2016010)、江苏省自然科学基金(BK20150973)、江苏省科技成果转化(BA2016106)、江苏省博士后科研基金(1601010B)。

通讯联系人: 朱莉娅, 博士, 讲师, 研究方向: 3D 打印. E-mail: julia_860527@163.com

后的自我修复能力有限. 由软骨损伤引起的骨关节炎等疾病,会导致关节功能障碍,严重影响和危害患者的生活. 对于软骨组损伤的研究,已成为再生医学的一个主要目标^[2-3].

1.1 传统软骨组织修复方法

传统的软骨组织治疗方法包括保守治疗和外科治疗. 其中,外科治疗包括自体软骨组织细胞移植、微骨折术、软骨下钻孔减压术、关节融合术及骨移植等,主要通过手术的方式完成^[4]. 但以上方法存在治疗效果不佳、供体有限、免疫排斥反应、无自我生长能力等问题.

软骨组织工程技术的出现,为解决上述问题提供了新思路. 早在 20 世纪 70-80 年代,麻省理工大学与哈佛大学的学者已经提出了基于组织工程的人体器官内部微观组织再生思想,该理念在软骨组织修复、移植等临床医学方面都有很大的应用^[5]. 利用软骨组织工程技术,可通过人工手段在体外直接构建具有生命力的软骨组织,对病损区结构和组织进行重建,同时利于实现无创/微创损伤修复^[6].

1.2 3D 打印软骨组织修复方法

作为一种新兴的制造技术,3D 打印技术为组织工程和临床医学的发展提供了一个新的平台. 目前,3D 打印技术正在朝着多材料、多维度的方向不断发展^[7]. 利用 3D 打印技术,可于时间和空间上精确、按需沉积不同种类的生物材料(包括细胞、具有生物相容性且可降解的水凝胶、生长因子等),在制造任意复杂形状支架的同时,可有效制定支架的孔隙率、孔径大小等尺寸参数,促进细胞增殖和组织再生,从而解决传统治疗方法存在的不足.

如图 1 所示,亚洲大学的 Kim^[8]等用接种纤维蛋白/软骨细胞的 PCL 支架植入到兔子鼻背的骨膜下,经过一段时间的观察,发现植入物的初始形状几乎保持不变,且无任何术后病发症. 结果表明,这种方法在鼻整形术和软骨修复等方面具有广泛的应用前景. Cathal D^[9]等以 GelMa/HAMa 作为基底材料,加入脂肪干细胞后,用生物打印笔装置在软骨损伤部位进行原位打印并通过 UV 光源照射固化. 实验结果表明,经 3D 打印成型的干细胞具有较高的存活率,并有利于软骨损伤的愈合修复. Mumme^[10]等人制备了 HA 交联的电纺明胶/PLA 纳米纤维支架,软骨细胞在支架上的培养实验表明,细胞的生存状态良好,且经测试支架仍具有极好的弹性,在软骨组织修复方面有很大的应用前景. Cui 和美国斯克里普斯研究所的 D' Lima^[11]等利用 PEGDMA/软骨细胞混合溶液作为生物打印墨水,在 UV 光源的照射情况下对软骨损伤部位进行打印修复. Rampichová^[12]等运用同种异体软骨细胞-透明质酸对全层关节软骨缺损进行修复,治疗 6 个月后实验结果表明上述再生软骨具有极好的生物相容性.

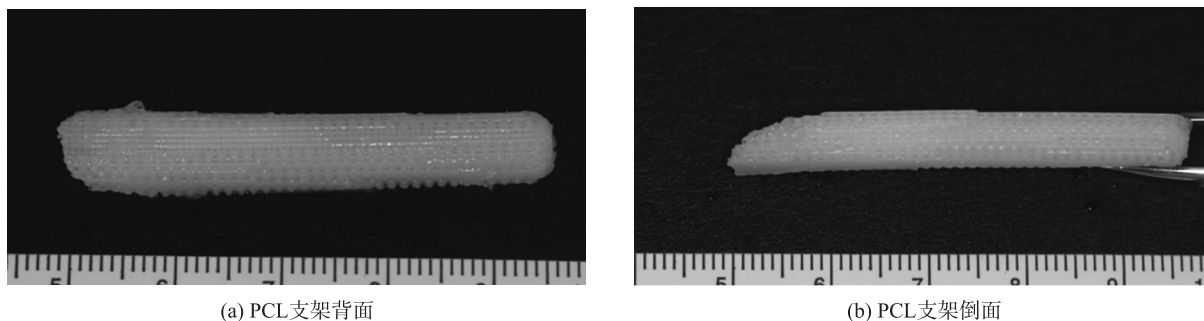


图 1 3D 打印 PCL 支架模型

Fig. 1 Shape of PCL scaffold designed and produced by 3D printing method

2 软骨组织三维建模方法

组织工程中的个性化医疗强调设计完善、软件一体化. 通过表面肢体数据采集,对病患区域进行裁剪提取、网络偏置、表面空洞修复等处理后生成待修复组织的三维模型,进行三维打印快速成型.

柴岚^[13]等利用 Micro-CT 获得正常骨骼 DICOM 数据,并对该数据进行滤波等处理,生成三维数据模型并转换为 STL 文件. 尤飞^[14]基于多约束背包问题模型,通过对模型之间的布尔运算获得含微观孔的仿生支架模型. 孙伟^[15]提出了一种基于计算机辅助组织工程(CATE)的骨组织支架仿生建模方法,首先通过 CT 扫描得到骨组织的影像学信息,然后进行分割和特征化处理等完成三维模型重建. 其中所述 3 种建模方法(包括 MedCAD 法、反求法、STL 法)的特点如表 1 所示. Chang^[16]等人在机械特性和扩散性等生物学标准的基础上,

基于有限元分析,得到了满足组织工程支架结构设计各种力学要求的设计建模方法. 如图 2 所示,王富友^[17]等对人体正常关节软骨进行 CT 扫描后获取其结构形态等信息,使用 UGNX5.0 建模软件建立骨软骨一体化的 CAD 模型,并通过三维打印快速成型技术制备组织工程支架,实现了骨软骨组织一体化修复.

表 1 CAD 三维重建方法的比较

Table 1 Comparison of three-dimensional reconstruction of CAD

建模方法	特点	文件大小	质量
MedCAD 法	简单,迅速,不适用复杂文件	中	差
反求法	耗时长,可得到控制合适复杂结构的重建	最初始点文件不大,但最终 CAD 文件相对较大	优
STL 法	耗时短,不可得到复杂结构重建;不适用几何图形	初始 STL 文件大,致使 CAD 模型的 IGES 文件也大	一般

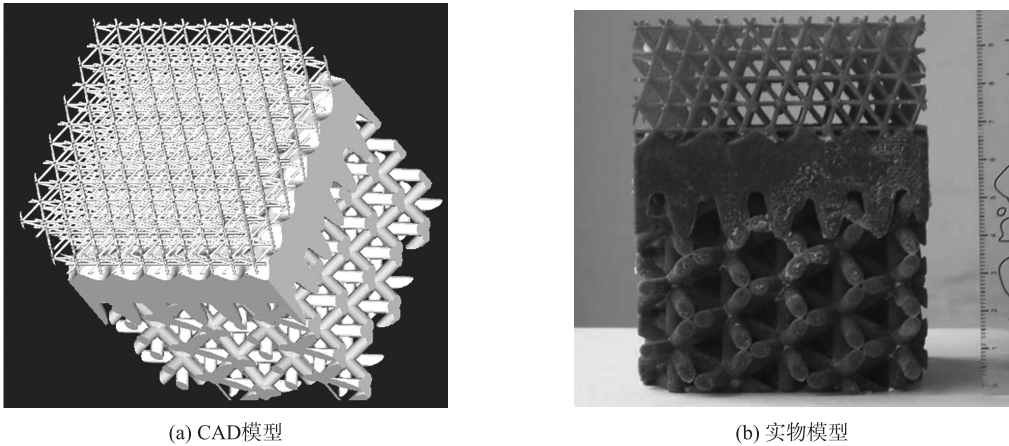


图 2 骨软骨支架模型

Fig. 2 Osteochondral scaffold model

3 软骨组织快速成型方法

3.1 熔融沉积制造

熔融沉积制造(fused deposition modeling,FDM)成型工艺是由计算机控制喷头挤出材料,从下到上逐层打印. FDM 工艺可以制造高重复性和任意尺寸的医疗支架模型. 南洋理工大学的 YANG^[18]等人采用这种工艺,以 PCL 和 PCL 2HA 复合丝作为原材料,得到仿生骨支架,经过测试表明其力学性能良好,且具有极好的生物相容性. Sawyer^[19]等人采用这种工艺制造了 PCL-TCP/胶原支架,设置 rhBMP-2 装载支架与空白组对照实验,对大鼠严重缺损的颅面骨进行修复和再生. 实验结果表明,空白组经过一段时间愈合相对缓慢. Rohner^[20]等采用 FDM 技术制备了聚己内酯骨支架,采用该支架与骨髓复合后的支架对比修复猪颅骨缺损. 实验结果表明,打印的支架与骨缺损处匹配精准,骨修复能力明显高于空白对照组. 如图 3 所示,Castro^[21]等人使用这种工艺制造了一种纳米仿生复合支架,打印所选用的生物墨水内含有有机和无机生物活性因子,用于模仿天然的细胞质基质环境. 实验结果表明,该支架有利于增强人骨髓间充质干细胞

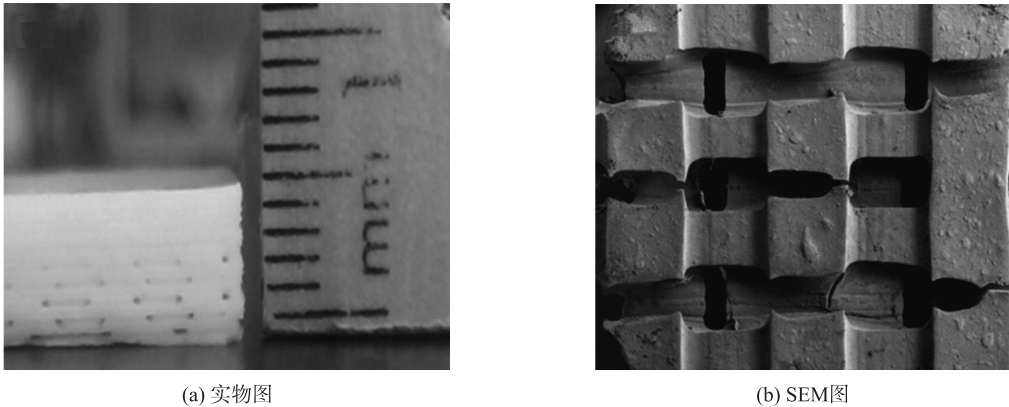


图 3 纳米仿生复合支架

Fig. 3 Nano-bionic compositescaffold

粘附、增殖和体外骨软骨分化。

3.2 选择性激光烧结

选择性激光烧结(selected laser sintering,SLS)工艺通过三维模型切片的平面几何信息控制激光器运动,将粉末铺在工作平台上,利用二氧化碳激光烧结器对所铺粉末进行选择激光烧结直至成型。美国 Texas 大学的 Lee 和 Vail^[22-23]等人采用 SLS 技术,以磷酸钙陶瓷材料作为打印原材料,成功制备了人工骨移植体。Shuai^[24]等人用 SLS 工艺制造 PVA 支架应用于骨组织工程,实验结果表明,该多孔支架结构可以为骨组织向内生长提供空间。Chen^[25]等将软骨细胞接种在胶原蛋白中,进一步装载在 PCL 支架上,并对孔隙结构分布进行研究。研究结果表明,这种 PCL 支架在软骨组织工程的研究中具有很大的应用前景。

3.3 3D 打印技术

3D 打印技术(three dimensional printing,3DP)与 SLS 工艺相似,成型材料均为高分子粉末材料,区别在于 3DP 工艺通过喷头喷射粘结剂完成粉末粘结。Sherwood^[26]等人采用这种工艺制备了多层软骨支架,支架上层是由 PLGA/PLA 材料复合而成,支架下层是 PLGA/TCP 材料进行复合。经过一段时间的体外培养后,实验结果表明,支架的上下层形成的软骨组织与松质骨的组织极为相似。如图 4 所示,瑞士伯恩塞尔医院的 Weinand^[27]等人采用 β -TCP/PLGA 复合材料,成功打印了拇指结构复合支架。



图 4 拇指结构复合支架

Fig. 4 Thumb structure composite scaffold

3.4 光固化成型

光固化成型(stereolithography apparatus,SLA)工艺以液态光敏树脂为原料,利用计算机控制紫外光束对其进行照射,完成三维模型成型。由于纳米纤维素无毒、保水性能良好且具有极好的生物相容性,常作为支架应用在组织工程中。如图 5 所示,赵珊^[28]等人制备了 CNFs/CR 水凝胶支架和 CNFs/CR 气凝胶支架,并在固化时间为 40 s 时,对支架进行外部几何结构与力学性能测试。实验结果表明,纳米纤维素的含量在 CNFs/CR 支架中起着支撑作用,可通过控制纳米纤维素的添加含量来得到满足不同条件的 CNFs/CR 多孔支架,从而满足组

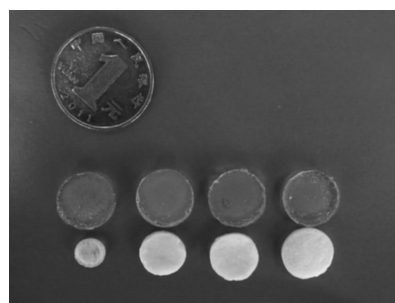


图 5 不同 CNFs 添加量的水凝胶(上)和气凝胶(下)支架
Fig. 5 Hydrogel(top)and Aerogel(bottom)scaffold
with different CNFs additions

织工程应用的不同需求。

从上述研究成果可以看出,3D 打印技术具有成型精度高、时间短、可按需打印等优点,但仍存在很多问题尚待解决,如 3D 打印技术支架孔径较小,机械强度仍有待提高。选择性激光烧结由于精度不高,很难制作出仿生骨细微结构。光敏树脂的生物相容性与降解性不好,所以光固化在组织工程的应用有一定的局限等^[29]。

4 展望

本文主要介绍了 3D 打印在软骨组织损伤修复中的应用与研究进展、软骨组织建模与软骨组织快速成型方法。研究发现,3D 打印在组织工程中的应用已取得了很大的进步。但 3D 打印是一门涉及很多学科领域的技术,在医学领域目前还处于不断摸索的阶段,在未来仍将面临很大的挑战。对快速成型打印方式的优化,将支架从单一型多功能材料向多功能复合型材料的转变,以及在人体应用的安全性、可靠性等,仍是很多学者研究的方向和目标。组织工程的最终目的就是要应用于临床,缓解广大患者的病痛。3D 打印技术及其在分子生物学、组织工程学方面的应用与发展,将会为软骨组织损伤修复带来更加光明的前景。

[参考文献] (References)

- [1] 杨继全,冯春梅. 3D 打印(面向未来的制造技术)[M]. 北京:化学工业出版社,2014:28-32.
YANG J Q, FENG J M. 3D Printing (Future-oriented manufacturing technology) [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2014:28-35. (in Chinese)
- [2] 王明杰,刘舒云,郭维民,等. 干细胞在软骨再生中的应用[J]. 中国医药生物技术,2016(5):457-462.
WANG M J, LIU S Y, GUO W M, et al. Application of stem cells in cartilage regeneration [J]. Chinese pharmaceutical biotechnology, 2016(5):457-462.
- [3] ODA T, SAKAI T, HIRAIWA H, et al. Osteoarthritis-derived chondrocytes are a potential source of multipotent progenitor cells for cartilage tissue engineering[J]. Biochemical and biophysical research communications, 2016, 479(3):469-475.
- [4] 肖东亮,赵劲民. 骨性关节炎的治疗新进展[J]. 中国现代医生,2010(2):14-16.
XIAO D L, ZHAO J M. New progress in the treatment of osteoarthritis [J]. Modern Chinese medicine, 2010(2):14-16. (in Chinese)
- [5] 刘杰. 人工活性骨三维仿生建模方法研究[D]. 西安:西安科技大学,2004.
LIU J. Study on the method of 3D bionic modeling of artificial bone [D]. Xi'an: University of Science and Technology, 2004. (in Chinese)
- [6] NUKAVARAPU S P, DORCEMUS D L. Osteochondral tissue engineering: current strategies and challenges [J]. Biotechnology advances, 2013, 31(5):706-721.
- [7] 王稼垠,柴磊,刘利彪,等. 人体器官 3D 打印的最新进展[J]. 机械工程学报,2014,23:119-127.
WANG J Y, CHAI L, LIU L B, et al. Progress in the 3D printing of human organs [J]. Chinese journal of mechanical engineering, 2014, 23:119-127. (in Chinese)
- [8] KIM Y S, SHIN Y S, CHOI J W, et al. The application of three-dimensional printing in animal model of augmentation rhinoplasty [J]. Annals of biomedical engineering, 2015, 43(9):2153-2162.
- [9] CATHAL D O, DI BELLA C, THOMPSON F, et al. Development of the Biopen: a handheld device for surgical printing of adipose stem cells at a chondral wound site [J]. Biofabrication, 2016, 8(1):015019.
- [10] MUMME M, BARBERO A, MIOT S, et al. Nasal chondrocyte-based engineered autologous cartilage tissue for repair of articular cartilage defects: an observational first-in-human trial [J]. The lancet, 2016, 388(10055):1985-1994.
- [11] CUI X, BREITENKAMP K, FINN M G, et al. Direct human cartilage repair using three-dimensional bioprinting technology [J]. Tissue engineering part A, 2012, 18(11/12):1304-1312.
- [12] RAMPICHOVÁ M, FILOVÁ E, VARGA F, et al. Fibrin/hyaluronic acid composite hydrogels as appropriate scaffolds for in vivo artificial cartilage implantation [J]. Asaio journal, 2010, 56(6):563-568.
- [13] 柴岗,张艳,刘伟,等. 基于 Micro-CT 的三维打印组织工程骨建模技术[J]. 组织工程与重建外科杂志,2007(5):247-248.

- CHAI G,ZHANG Y,LIU W,et al. Micro-CT-based three-dimensional printing tissue engineering bone modeling technology[J]. Journal of tissue engineering and reconstructive surgery,2007(5):247-248.(in Chinese)
- [14] 尤飞. 面向骨组织工程的仿生支架建模研究[D]. 上海:上海大学,2011.
YOU F. Bionic scaffold modeling for bone tissue engineering[D]. Shanghai:Shanghai University,2011.(in Chinese)
- [15] 孙伟. 计算机辅助组织工程在组织支架仿生建模和设计中的应用[J]. 医用生物力学,2005(4):247-255.
SUN W. Computer-assisted tissue engineering in tissue scaffold biomimetic modeling and design[J]. Medical biomechanics, 2005(4):247-255.(in Chinese)
- [16] CHANG C C,CHEN Y,ZHOU S,et al. Biomaterials for implants and scaffolds[M]. Berlin:Springer-Verlag,2017:349-369.
- [17] 王富友. 组织工程骨软骨仿生设计与初步构建[D]. 重庆:第三军医大学,2008.
WANG F Y. Tissue engineering bone cartilage bionic design and initial construction[D]. Chongqing:Third Military Medical University,2008.(in Chinese)
- [18] YANG S,LEONG K F,DU Z,et al. The design of scaffolds for use in tissue engineering. Part II. Rapid prototyping techniques[J]. Tissue engineering,2002,8(1):1-11.
- [19] SAWYER A A,SONG S J,SUSANTO E,et al. The stimulation of healing within a rat calvarial defect by mPCL-TCP/collagen scaffolds loaded with rhBMP-2[J]. Biomaterials,2009,30(13):2 479-2 488.
- [20] ROHNER D,HUTMACHER D W,CHENG T K,et al. In vivo efficacy of bone-marrow-coated polycaprolactone scaffolds for the reconstruction of orbital defects in the pig[J]. Journal of biomedical materials research part B:applied biomaterials,2003, 66(2):574-580.
- [21] CASTRO N J,PATEL R,ZHANG L G. Design of a novel 3D printed bioactive nanocomposite scaffold for improved osteochondral regeneration[J]. Cellular and molecular bioengineering,2015,8(3):416-432.
- [22] LEE G,BARLOW J W. Selective laser sintering of bioceramic materials for implants[C]//Proceedings of the solid freeform fabrication symposium. Austin,TX,1993:376-380.
- [23] VAIL N K,SWAIN L D,FOX W C,et al. Materials for biomedical applications[J]. Materials and design,1999,20(2):123-132.
- [24] SHUAI C,MAO Z,LU H,et al. Fabrication of porous polyvinyl alcohol scaffold for bone tissue engineering via selective laser sintering[J]. Biofabrication,2013,5(1):015014.
- [25] CHEN C H,SHYU V B H,CHEN J P,et al. Selective laser sintered poly-ε-caprolactone scaffold hybridized with collagen hydrogel for cartilage tissue engineering[J]. Biofabrication,2014,6(1):015004.
- [26] SHERWOOD J K,RILEY S L,PALAZZOLO R,et al. A three-dimensional osteochondral composite scaffold for articular cartilage repair[J]. Biomaterials,2002,23(24):4 739-4 751.
- [27] WEINAND C,GUPTA R,WEINBERG E,et al. Toward regenerating a human thumb in situ[J]. Tissue engineering part A, 2009,15(9):2 605-2 615.
- [28] 赵姗. 纳米纤维素的光固化及其组织工程支架的可控制备研究[D].广州:华南理工大学,2015.
ZHAO S. Nano-cellulose light-curing and tissue engineering scaffold controllable preparation[D]. Guangzhou:South China University of Technology,2015.(in Chinese)
- [29] 郑欣,陈一心,邱旭升,等. 快速成型技术在骨组织工程中的应用进展[J]. 中国矫形外科杂志,2014,22(24):2 244-2 247.
ZHENG X,CHEN Y X,QIU X S,et al. Application of rapid prototyping technology in bone tissue engineering[J]. Chinese journal of orthopedic surgery,2014,22(24):2 244-2 247.(in Chinese)

[责任编辑:严海琳]