

综述

## 原位生物打印的研究进展与前景

李文韬, 王金武

上海交通大学医学院附属第九人民医院骨科, 上海 200011

**[摘要]** 生物打印是一种新兴的生物制造技术, 推动了许多创新并为再生医疗开辟了新途径。生物打印的目的是在体外制造移植体, 然后将其植入体内, 然而一直以来离体组织的培养及血管化都存在难以彻底解决的问题。为了解决这一难题, 研究者们提出了原位生物打印的概念, 将组织直接打印在受伤或缺损的部位, 利用体内的天然细胞微环境使打印组织成熟。该文对原位生物打印的技术、优势、应用领域、发展方向等进行综述。

**[关键词]** 原位生物打印; 组织再生; 生物墨水

**[DOI]** 10.3969/j.issn.1674-8115.2021.02.016 **[中图分类号]** Q819; R687.1 **[文献标志码]** A

### Progress and prospect of *in situ* bioprinting

LI Wen-tao, WANG Jin-wu

Department of Orthopaedic Surgery, Shanghai Ninth People's Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200011, China

**[Abstract]** Bioprinting is a new biological manufacturing technology, which opens up new ways for regenerative therapy. The purpose of bioprinting is to create the internal plants *in vitro*. However, it is difficult to culture and vascularize printed tissue *in vitro*. In order to overcome this difficulty, *in situ* printing is presented to print the tissue directly on the injured or defective site, using the natural microenvironment *in vivo* to make the printed tissue mature. This article reviews the technology, advantages and research status of *in situ* bioprinting and briefly introduces the future direction of *in situ* bioprinting.

**[Key words]** *in situ* bioprinting; tissue regeneration; bioink

自1986年3D打印技术问世后, 其应用范围迅速扩展至包括生物医疗在内的各个领域, 极大促进了相关领域的技术进步与行业发展<sup>[1]</sup>。在再生医学领域, 利用3D打印技术可以快速制造具有可控孔隙率和内部结构的组织支架, 并可以通过加载药物或生长因子调节细胞所处微环境, 促进组织再生。近年来, 随着细胞生物学、材料科学的发展及3D打印技术的进步, 生物打印发展迅猛, 受到科研人员及大众越来越多的关注, 被视作推动组织工程向功能性组织发展, 最终缓解移植器官短缺问题的希望<sup>[2]</sup>。

生物打印是一种通过计算机辅助, 同时将生物材料、活细胞及其他生物活性物质层层打印, 堆叠形成用于再生医学、疾病模型、药物筛选或其他生物研究的生物工程结构的技术<sup>[3]</sup>。目前, 生物打印在打印如皮肤、软

骨等不需要血管化的薄层组织上已取得部分成功, 能够在实验室环境下稳定构建这类组织<sup>[1-2]</sup>。然而, 对于打印大块组织的血管化问题目前还存在困难, 原位生物打印可以作为一个解决方案。原位生物打印可以通过将植入物与自体组织整合, 借助体内自然驱动的血管化过程, 募集内源性内皮细胞, 实现植入物的血管化, 形成新的功能化组织器官。

原位生物打印的概念最早由Campbell等<sup>[4]</sup>提出, 旨在利用喷墨打印技术直接在生物体内进行生物打印, 促进组织修复和再生。然而, 由于目前技术不成熟且许多外科医师也缺乏相关技能, 这项技术尚不能真正应用于临床。目前, 对于原位生物打印的研究逐渐深入, 并在皮肤、骨、软骨的修复上展现了巨大的潜力<sup>[5]</sup>。本文对目前原位打印的技术、优势、目前发展情况以及未来的

**[基金项目]** 国家重点研发计划(2018YFB1105600, 2018YFA0703000); 国家自然科学基金(81572156); 上海市科学技术委员会项目(19XD1434200, 18431903700); 上海市教育委员会高峰高原学科建设项目(20152224)。

**[作者简介]** 李文韬(1996—), 男, 硕士生; 电子信箱: li\_wentao@sjtu.edu.cn。

**[通信作者]** 王金武, 电子信箱: Jinwu\_wang@163.com。

**[Funding Information]** National Key Research and Development Program of China (2018YFB1105600, 2018YFA0703000); National Natural Science Foundation of China (81572156); Project of Science and Technology Commission of Shanghai Municipality (19XD1434200, 18431903700); Shanghai Municipal Education Commission—Gaofeng Clinical Medicine Grant Support (20152224).

**[Corresponding Author]** WANG Jin-wu, E-mail: Jinwu\_wang@163.com.

发展方向进行综述。

## 1 概述

### 1.1 一般方法

原位生物打印是一种直接将生物墨水打印至生物体内缺损部位,以创建或修复活组织或器官的技术,其打印位置位于生物体内<sup>[5-7]</sup>。一般先通过CT、磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)或光学扫描等技术扫描缺损部位的几何形状,然后通过计算机辅助规划打印路径,最后按照预定方案选择合适的生物打印方法将生物墨水打印到体内合适的位置。

### 1.2 打印技术

目前的生物打印方式可分为三大类,即基于液滴的生物打印(droplet-based bioprinting, DBB)<sup>[8]</sup>、基于挤压的生物打印(extrusion-based bioprinting, EBB)<sup>[9]</sup>和基于激光的生物打印(laser-based bioprinting, LBB)<sup>[10]</sup>。

DBB打印机通过将生物墨水喷洒到沉积表面来构建3D活体结构<sup>[8]</sup>。这项技术较为成熟,有大量的商业平台可以使用,且可以实现多种生物墨水亚微米级别的高分辨率打印。此外,DBB打印机可以将液滴喷射到打印位置,实现非接触打印,减少打印头对正常组织及打印结构的影响。然而,由于其打印过程中需要打印头进行较大范围的移动来控制生物墨水沉积的位置,使得这项技术仅适用于表面组织的打印修复,无法实现如关节软骨等深层组织的微创化修复,限制了其在原位生物打印中的应用。

LBB打印机利用激光将生物材料固化成精细结构<sup>[10]</sup>。细胞的激光直写是一种广泛使用的生物印刷方法,它利用激光脉冲选择性地使细胞从供体容器转移到沉积位置上构建3D活体结构。这种打印技术可以实现微米级别的高精度打印,但是由于细胞暴露于激光下,可能降低细胞的存活率。此外,激光源尺寸较大,难以进入体内,需要通过类似内窥镜等设备的光纤结构将激光传导至打印位置。这使得打印机结构更加复杂,对打印设备的稳定性及精准度会产生一定影响。

EBB是将生物墨水从喷嘴中挤出形成特定3D生物结构的打印方法<sup>[9]</sup>,目前有大量生物打印机基于这一技术制造。这一技术较为成熟,且与关节镜、腹腔镜等现有手术设备兼容,与前述2种技术相比,应用于体内原位生物打印难度更低;但是,这一技术应用于原位生物打印在某些方面还需要改进,如提高打印精度、将打印设备

小型化等。

### 1.3 控制系统

**1.3.1 机械臂控制系统** 机械臂作为控制系统,一般需通过计算机辅助设计或计算机辅助制造确定打印的结构,并对打印路径进行规划;然后,根据预先的设定控制机械臂以控制生物墨水中各组分的空间位置,构建预先设定的结构。该过程也应在外科医师的控制下(如使用达芬奇手术系统)执行,方便根据实际情况调整打印方案。该系统的临床适用性已通过动物实验进行了部分验证<sup>[11-16]</sup>。但由于技术所限难以微创化,目前的试验局限于皮肤、颅骨缺损等相对表浅位置的打印。在未来,可以通过对机械臂结构的改良将设备小型化,实现深层组织的打印。

**1.3.2 手持式设备** 手持式生物打印设备是一种带有生物打印单元的便携式设备,典型的手持设备包含手柄、1个或多个墨盒、喷嘴、电动或气动挤出系统部分<sup>[17]</sup>。与机械臂控制的设备相比,手持生物打印设备具有许多优点,如手持式设备更加便携,对使用环境的要求更低,更适合于创伤的治疗,且技术难度与成本大幅降低。然而,由于使用手持式设备很难打印复杂的结构,该设备只适用于简单结构的打印,如用于皮肤创伤的修复。机械臂控制系统则可以帮助打印复杂的组织结构,并且,可以根据需要应用不同类型的细胞及生物材料获得更精细的组织结构,这是手持式设备难以实现的。

这2种方法并没有绝对的优劣之分,控制系统的选择取决于所打印的组织或器官的解剖位置和复杂性,而2种方法的结合可以用来打印复杂的组织结构并保持手术灵活性。

### 1.4 原位打印的优势

传统的生物打印方法所得到的组织很难完全匹配缺损的形状。首先,在进行影像学扫描时可能有较大的误差;此外,从打印形成组织到植入一般需要较长的时间,在这期间缺损形状也会发生变化,而且在植入时可能需要先进行清创。此外,体外生物打印的组织在植入体内的过程中容易发生破损,无法完全匹配设计的形状,甚至破坏重要结构,影响组织修复效果。原位生物打印技术则可以完全匹配缺损的形状进行修复,且不会在植入过程中损伤植入物,保证了组织修复效果<sup>[6]</sup>。

传统的生物打印需要将打印的组织置于体外生物反应器中培养,生物反应器必须尽可能模拟体内环境。根据目前的研究很难彻底明确细胞在体内所处的微环境,

更无法完全模拟体内环境<sup>[18]</sup>。采用原位生物打印的方法可直接将生物体当作生物反应器诱导组织分化成熟,并且,可以避免体外长期培养中可能出现的污染,相比体外诱导更加简单高效。此外,采用原位生物打印技术进行组织修复不需要体外培养植入物的过程,需要的准备时间更短,治疗的时效性更好。

原位生物打印也可以实现微创化,可以通过小切口完成组织器官的打印,甚至可以在体内打印电极等植入式医疗器械。同时,通过原位生物打印技术进行一期手术修复,不需要先取种子细胞在体外构建组织后再行第二次手术植入人工组织,可以减少治疗过程中的创伤。

## 2 原位生物打印的应用领域

### 2.1 皮肤

在医疗实践中,由于创伤、烧伤以及各种慢性伤口(如糖尿病、压疮等)所造成的皮肤损伤较常见。传统方法如自体皮肤移植,皮肤来源受限,准备时间长,因此治疗及时性差,3D生物打印可以较好地解决这一问题。皮肤作为人体最大和最浅表的器官,是最适合进行原位生物打印治疗的器官。目前,已有许多针对皮肤缺损的原位生物打印研究<sup>[14,19-20]</sup>,并在动物实验中取得了一定进展。

2010年Binder等<sup>[20]</sup>使用喷墨3D皮肤打印机将人角质形成细胞和成纤维细胞直接打印到小鼠皮肤缺损处,观察到缺损处皮肤完全形成,证明了原位生物打印用于小鼠皮肤缺损修复的可行性。在另一项研究中,Sofokleous等<sup>[21]</sup>设计了一种手持式电流体喷射枪,可以产生颗粒和纤维形式的聚合物,能够更好地模拟细胞外基质,促进皮肤的再生。

Albanna等<sup>[14]</sup>开发了一种移动式皮肤生物打印系统。该系统通过将自体真皮成纤维细胞和表皮角质形成细胞连同纤维蛋白原-胶原水凝胶直接打印到猪皮肤缺损模型中来修复缺损;与其他治疗方法(包括同种异体细胞打印、基质凝胶打印)和未处理组相比,自体细胞打印处理的伤口愈合速度更快且愈合效果更好。

### 2.2 软骨

骨关节炎是最常见的退行性关节疾病,会导致关节软骨的炎症和损伤。现有的软骨缺损治疗方法包括自体软骨细胞植入、清理术、骨膜移植等;然而,这些方法的临床研究结果未能显示出可靠疗效<sup>[22]</sup>,而原位生物打印对于软骨的修复可能会取得更好的效果<sup>[17,23-25]</sup>。

O'Connell等<sup>[17]</sup>于2016年发明了一种手持气动式生物打印笔用于软骨缺损的修复,基于其特殊的喷嘴设计,可以用不同生物材料打印出同轴的壳/核结构;在这种结构中细胞位于内部的核中,在利用紫外光固化材料的过程中外部的壳可以减少紫外光对内部细胞的影响;体外研究表明,人脂肪干细胞在打印1周后的水凝胶中仍具有很高的活性。随后,该课题组<sup>[24]</sup>利用该装置进行了绵羊动物实验,结果表明,体内生物打印组相比体外生物打印构建植入物和微骨折组有更好的宏观和微观特征。

### 2.3 骨

骨缺损可由创伤、感染、肿瘤手术以及各种先天性疾病等多种原因造成。传统的治疗方法是使用植入物,如自体骨或骨水泥等生物材料填补缺失的部分,提供机械强度和结构支撑;但这种方法不能提供永久性的治疗,在修复后可能需要再次翻修<sup>[26]</sup>。原位生物打印则具有使缺损部位骨组织再生的潜力<sup>[11-12,15,27]</sup>,可提供终身解决方案。

2010年Cohen等<sup>[12]</sup>使用基于机器人的挤压式生物打印系统将藻酸盐水凝胶打印到离体牛股骨骨软骨缺损上。2017年Li等<sup>[28]</sup>通过高分辨率3D扫描获得了骨骼缺损区域的精确范围,然后,利用原位打印技术使用藻酸盐-聚乙二醇水凝胶进行离体缺损修复。虽然这些研究仅在离体骨上进行了试验,且所用材料在临床应用中具有一定局限性,但研究证明了原位打印系统也可以实现高精度打印。

Keriquel等<sup>[11]</sup>通过将纳米羟基磷灰石激光原位打印以微创方式修复了小鼠颅骨缺损。其后,Keriquel等<sup>[13]</sup>又利用类似方法将间充质干细胞、纳米羟基磷灰石和I型胶原作为生物墨水修复小鼠颅骨缺损;结果显示,该方法能够有效修复颅骨缺损,且激光对于小鼠脑组织并未造成伤害。这证明了激光辅助生物打印也可以作为原位生物打印的一种手段。

### 2.4 植入式医疗器械

植入式医疗器械,如神经电刺激器、心脏起搏器、药物检测系统等植入式设备对疾病的治疗和管理起到重要作用;但这类设备植入大多需要手术操作,流程复杂、创伤较大,不可避免地给患者带来生理上的痛苦和心理上的负担。因此,迫切需要寻找一种新的植入方法,简单、安全地完成医疗器械植入。

Jin等<sup>[29]</sup>以植入式电极为突破点,提出了一种利用原位打印技术在体内直接构建植入式医疗器械的方法。



研究者们将生物相容性的封装材料及液态金属依次注射于体内并固化形成特定结构,实现了电极的微创化植入,未来还可能打印植入更复杂的结构;他们还进行了初步动物实验,利用此方法在小鼠体内植入电极,成功记录到小鼠心电图,并通过该电极对小鼠施加电刺激观察到相应心电图变化。Sun等<sup>[30]</sup>将液态金属电极加入电化学治疗肿瘤的方案中,将液态金属注射到肿瘤组织内,结合传统铂电极施加电刺激,在动物实验中证实了该方案的优势。

### 3 挑战与展望

#### 3.1 生物墨水

除了满足足够的机械强度、可降解性、细胞活性等要求外,用于原位生物打印的墨水还应具有可快速固化及不需要紫外光或化学固化剂等优点。虽然O'Connell等<sup>[17]</sup>在打印过程中使用了紫外光固化,但这种固化方式可能对周围正常组织产生不利影响,在临床中应尽量避免使用。Li等<sup>[31]</sup>报道了一种新型的多肽-DNA水凝胶,通过交替印刷多肽-DNA墨水与DNA交联剂可以实现快速固化,并且不需要化学交联和光固化过程,避免了对周围正常组织的影响。

此外,由于当前生物打印技术的限制,打印结构难以完全模拟生物体原有结构,而且打印出的结构无法随组织再生的过程发生相应变化以进一步促进组织再生。各种刺激响应生物墨水为解决这些问题提供了方向,这类墨水不仅可以在打印后实现精细结构的自组装,还可以通过磁场、组织微环境的变化使打印结构出现相应改变或释放适当的因子,更好地促进组织再生<sup>[32-34]</sup>。

#### 3.2 打印系统

如果原位打印设备最终能够应用于手术室,那么外科医师将成为其主要用户,而让外科医师精通生物打印技术并能够稳定高质量地打印组织是很困难的。因此,可在原位生物打印系统中整合先进的外科技术,如机器人辅助系统,尽可能减少打印过程中需要人为设定的参数,最大程度保证打印过程的自动化,利于设备推广应用<sup>[6]</sup>。这就需要开发配套人工智能软件,自动规划打印路径,设定打印参数,而操作者只需监控整个打印过程并对打印过程进行简单调整。

在设备设计的过程中,另一个需要考虑的重要因素是小型化。在这方面手持式设备具有天然的优势,医护人员可以随身携带并用于急性创伤的救治。但是,手持

式设备只能进行一些简单的打印,要想真正实现复杂器官打印还需要机器人的参与。在机器人设计的过程中也应考虑到在打印过程中所造成的创伤,可以采用类似达芬奇手术系统的结构,通过小切口完成打印<sup>[15]</sup>。此外,缺损和打印基底的不规则要求控制系统具有更大的运动范围和自由度,以提高打印灵活性,使用多轴机械臂作为控制系统进行打印可以更好地应对复杂结构,更好地实现微创化。美国Advanced Solutions公司开发的BioAssemblyBot打印机<sup>[35]</sup>就是一款基于6轴机械臂的生物打印机,可以更好地实现对复杂结构的打印,更加适合原位生物打印。

#### 3.3 扫描系统

对于体外生物打印来说,由于在打印前无法直视缺损位置,往往需要采用CT或MRI等影像学方法确定缺损形状,建立模型。而由于原位打印过程通常可以做到直视缺损部位,完全可以通过高精度3D扫描仪对缺损部位进行扫描,其精度可以远远超过传统影像学手段。如在Li等<sup>[28]</sup>的研究中就采用了手持式3D扫描仪用于创建立体光刻(stereo lithography, STL)文件。对于表浅位置的3D扫描技术是成熟的,但对于一些深部组织需要通过关节镜、腹腔镜等进行扫描建模,这方面的技术还需要进一步研究。

#### 3.4 反馈系统

在体内进行生物打印时很可能会受到呼吸、抽搐等的影响,这很大程度上限制了原位生物打印的应用范围。要想克服这个问题就需要在原位打印设备中集成一套可靠的反馈系统,根据打印位置的移动变化对打印方案自动进行合理的调整。Zhu等<sup>[36]</sup>的一项研究有希望克服这一问题,他们开发了一种基于挤压的自适应打印技术,集成了闭环反馈和基于计算机视觉的控制系统,以实时校正动态打印表面造成的打印错误。视觉跟踪系统包括固定在3D打印机末端的2个机器视觉摄像头,能够对打印表面进行精确定位。将几何信息与目标表面任意运动的实时估计相结合,作为运动控制器的输入信息进行自适应3D打印。

#### 3.5 血管化组织大块缺损的修复

虽然在体内进行生物打印可以将机体作为生物反应器,利用组织微环境促进打印组织的血管化,但这需要一个较长的过程,在血管化之前需要保证打印组织的多孔结构,以促进养分在打印组织内的运输及废物的排除,

直至新生血管的生成<sup>[3]</sup>。另一个主要问题是生长因子难以渗透到打印组织的中央,而这些生长因子是诱导干细胞分化所必需的,这一困难可以通过基因疗法来克服。例如,可以将带有特定基因的腺病毒作为基质进行打印,形成基因活化基质(gene activated matrix, GAM),利用GAM可促进打印组织中的细胞表达相关生长因子,形成利于细胞定向分化的微环境<sup>[37]</sup>。

## 4 结语

总之,原位生物打印目前还只是一个概念性的想法,要想真正走向临床,在生物墨水、打印精度、设备的微型化、机械臂的自由度以及整个系统软件的自动化程度等方面都需要取得重大突破,这一过程可能会耗费数十年的时间。但是,不可否认原位生物打印所具有的诸多优势可能会使得其成为生物打印的一个重要发展方向。

## 参·考·文·献

- [1] Murphy SV, Atala A. 3D bioprinting of tissues and organs [J]. Nat Biotechnol, 2014, 32(8): 773-785.
- [2] Zhang YS, Yue K, Aleman J, et al. 3D bioprinting for tissue and organ fabrication[J]. Ann Biomed Eng, 2017, 45(1): 148-163.
- [3] Ozbolat IT. Bioprinting scale-up tissue and organ constructs for transplantation[J]. Trends Biotechnol, 2015, 33(7): 395-400.
- [4] Campbell PG, Weiss LE. Tissue engineering with the aid of inkjet printers [J]. Expert Opin Biol Ther, 2007, 7(8): 1123-1127.
- [5] Ashammakhi N, Ahadian S, Pountos I, et al. *In situ* three-dimensional printing for reparative and regenerative therapy[J]. Biomed Microdevices, 2019, 21(2): 42.
- [6] Wang MY, He JK, Liu YX, et al. The trend towards *in vivo* bioprinting[J]. Int J Bioprinting, 2015, 1(1): 15-26.
- [7] Singh S, Choudhury D, Yu F, et al. *In situ*-bioprinting: bioprinting from benchside to bedside?[J]. Acta Biomater, 2020, 101: 14-25.
- [8] Gudapati H, Dey M, Ozbolat I. A comprehensive review on droplet-based bioprinting: past, present and future[J]. Biomaterials, 2016, 102: 20-42.
- [9] Ozbolat IT, Hospodiuk M. Current advances and future perspectives in extrusion-based bioprinting[J]. Biomaterials, 2016, 76: 321-343.
- [10] Sorkio A, Koch L, Koivusalo L, et al. Human stem cell based corneal tissue mimicking structures using laser-assisted 3D bioprinting and functional bioinks[J]. Biomaterials, 2018, 171: 57-71.
- [11] Keriquel V, Guillemot F, Arnault I, et al. *In vivo* bioprinting for computer- and robotic-assisted medical intervention: preliminary study in mice[J]. Biofabrication, 2010, 2(1): 014101.
- [12] Cohen DL, Lipton JJ, Bonassar LJ, et al. Additive manufacturing for *in situ* repair of osteochondral defects[J]. Biofabrication, 2010, 2(3): 035004.
- [13] Keriquel V, Oliveira H, Rémy M, et al. *In situ* printing of mesenchymal stromal cells, by laser-assisted bioprinting, for *in vivo* bone regeneration applications[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 1778.
- [14] Albanna M, Binder KW, Murphy SV, et al. *In situ* bioprinting of autologous skin cells accelerates wound healing of extensive excisional full-thickness wounds[J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 1856.
- [15] Lipskas J, Deep K, Yao W. Robotic-assisted 3D bio-printing for repairing bone and cartilage defects through a minimally invasive approach[J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 3746.
- [16] Ding HZ, Chang RC. Simulating image-guided *in situ* bioprinting of a skin graft onto a phantom burn wound bed[J]. Addit Manuf, 2018, 22: 708-719.
- [17] O'Connell CD, 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.
- [18] Murdock MH, Badylak SF. Biomaterials-based *in situ* tissue engineering[J]. Curr Opin Biomed Eng, 2017, 1: 4-7.
- [19] 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.
- [20] Binder KW, Zhao WX, Aboushwareb T, et al. *In situ* bioprinting of the skin for burns[J]. J Am Coll Surg, 2010, 211(3): S76.
- [21] Sofokleous P, Stride E, Bonfield W, et al. Design, construction and performance of a portable handheld electrohydrodynamic multi-needle spray gun for biomedical applications[J]. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl, 2013, 33(1): 213-223.
- [22] Makris EA, Gomoll AH, Malizos KN, et al. Repair and tissue engineering techniques for articular cartilage[J]. Nat Rev Rheumatol, 2015, 11(1): 21-34.
- [23] Duchi S, Onofrillo C, O'Connell CD, et al. Handheld co-axial bioprinting: application to *in situ* surgical cartilage repair[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 5837.
- [24] Di Bella C, Duchi S, O'Connell CD, et al. *In situ* handheld three-dimensional bioprinting for cartilage regeneration[J]. J Tissue Eng Regen Med, 2018, 12(3): 611-621.
- [25] Duchi S, Onofrillo C, O'Connell CD, et al. Innovative cartilage regeneration for *in situ* co-axial 3D bioprinting [J]. Tissue Engineering Part A, 2017, 23: S22.
- [26] Ibrahim A. 3D bioprinting bone[M]//Thomas DJ. 3D bioprinting for reconstructive surgery. Duxford: Elsevier, 2018: 245-275.
- [27] Kérourédan O, Hakobyan D, Rémy M, et al. *In situ* prevascularization designed by laser-assisted bioprinting: effect on bone regeneration[J]. Biofabrication, 2019, 11(4): 045002.
- [28] Li L, Yu F, Shi JP, et al. *In situ* repair of bone and cartilage defects using 3D scanning and 3D printing[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 9416.
- [29] Jin C, Zhang J, Li XK, et al. Injectable 3-D fabrication of medical electronics at the target biological tissues[J]. Sci Rep, 2013, 3: 3442.
- [30] Sun XY, Yuan B, Rao W, et al. Amorphous liquid metal electrodes enabled conformable electrochemical therapy of tumors[J]. Biomaterials, 2017, 146: 156-167.
- [31] Li C, Faulkner-Jones A, Dun AR, et al. Rapid formation of a supramolecular polypeptide-DNA hydrogel for *in situ* three-dimensional multilayer bioprinting[J]. Angew Chem Int Ed Engl, 2015, 54(13): 3957-3961.
- [32] Li YC, Zhang YS, Akpek A, et al. 4D bioprinting: the next-generation technology for biofabrication enabled by stimuli-responsive materials[J]. Biofabrication, 2016, 9(1): 012001.
- [33] Ashammakhi N, Ahadian S, Fan ZJ, et al. Advances and future perspectives in 4D bioprinting[J]. Biotechnol J, 2018, 13(12): e1800148.
- [34] Kahn JS, Hu YW, Willner I. Stimuli-responsive DNA-based hydrogels: from basic principles to applications[J]. Acc Chem Res, 2017, 50(4): 680-690.
- [35] Ozbolat IT, Moncal KK, Gudapati H. Evaluation of bioprinter technologies[J]. Addit Manuf, 2017, 13: 179-200.
- [36] Zhu ZJ, Guo SZ, Hirdler T, et al. 3D printing: 3D printed functional and biological materials on moving freeform surfaces (adv. Mater. 23/2018)[J]. Adv Mater, 2018, 30(23): 1870165.
- [37] Evans CH. Gene delivery to bone[J]. Adv Drug Deliv Rev, 2012, 64(12): 1331-1340.

[收稿日期] 2020-02-26

[本文编辑] 吴 洋

