

# 3D生物打印骨组织工程支架在骨缺损修复中的研究进展

郑中忍<sup>1</sup>, 王国栋<sup>2</sup>, 马 辉<sup>2</sup>, 赵晓伟<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>济宁医学院临床医学院, 山东 济宁

<sup>2</sup>济宁医学院附属医院骨关节科, 山东 济宁

收稿日期: 2022年11月23日; 录用日期: 2022年12月16日; 发布日期: 2022年12月28日

## 摘 要

大面积骨缺损的再生修复一直是临床上亟待解决的问题, 骨移植所带来的并发症问题, 严重地限制了目前的治疗选择。因此寻找比骨移植更适宜的替代疗法已成为目前的研究热点。3D生物打印骨组织工程支架的出现为骨缺损的修复提供了新思路、新方向。通过采用不同材料获得具有良好机械性能和生物相容性的支架, 促进骨骼和软组织的修补及诱导再生, 进而满足骨缺损修复的复杂需求。本文就3D生物打印技术以及不同种类的3D生物打印支架在骨缺损修复中的发展状况进行总结阐述, 并讨论了当前面临的挑战及未来发展的前景。

## 关键词

3D生物打印, 骨组织工程, 仿生支架, 骨缺损

# Research Progress of 3D Biological Printing Bone Tissue Engineering Scaffolds in Bone Defect Repair

Zhongren Zheng<sup>1</sup>, Guodong Wang<sup>2</sup>, Hui Ma<sup>2</sup>, Xiaowei Zhao<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>School of Clinical Medicine, Jining Medical University, Jining Shandong

<sup>2</sup>Department of Osteoarthritis, The Affiliated Hospital of Jining Medical University, Jining Shandong

Received: Nov. 23<sup>rd</sup>, 2022; accepted: Dec. 16<sup>th</sup>, 2022; published: Dec. 28<sup>th</sup>, 2022

\*通讯作者。

文章引用: 郑中忍, 王国栋, 马辉, 赵晓伟. 3D生物打印骨组织工程支架在骨缺损修复中的研究进展[J]. 临床医学进展, 2022, 12(12): 11823-11830. DOI: 10.12677/acm.2022.12121703

## Abstract

The regeneration and repair of large bone defects has always been an urgent problem to be solved in clinical practice. The complications caused by bone transplantation seriously limit the current treatment options. Therefore, to find a more suitable alternative therapy than bone transplantation has become a research hotspot. The appearance of 3D biological printing bone tissue engineering scaffold provides a new idea and direction for bone defect repair. By using different materials to obtain scaffolds with good mechanical properties and biocompatibility, it can promote the repair and induced regeneration of bone and soft tissue, thus meeting the complex needs of bone defect repair. This paper summarized the development of 3D biological printing technology and different kinds of 3D biological printing scaffolds in bone defect repair, and discussed the current challenges and future development prospects.

## Keywords

3D Biological Printing, Bone Tissue Engineering, Bionic Scaffold, Bone Defect

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

严重创伤、感染、肿瘤样病变切除、骨质疏松、骨骼发育异常的先天遗传性疾病导致的广泛骨缺损在临床上很常见,对骨科医生来说骨缺损的修复仍然是一个难点[1][2]。目前治疗骨缺损的常用医学方法包括自体骨移植、同种异体骨移植和异种骨移植。自体骨具有理想的组织工程骨构建所需的成骨细胞、骨诱导生长因子以及能够促进新骨形成的骨传导支架,在临床上自体骨移植被认为是修复骨缺损最有效的方法[3]。但是这种方法也带来一定的局限性,比如供体切除部位的坏死、大量失血、伤口感染和住院时间的延长等[4]。同种异体骨移植和异种骨移植也会带来额外的疼痛、移植排斥和疾病传播等严重的并发症,使得骨移植的应用受到了限制,给骨缺损修复带来一定的麻烦[5][6]。

在临床迫切需求的驱动下,骨组织工程领域应运而生,并在过去的几十年取得了飞速的发展。骨组织工程是指将种子细胞进行体外培养和扩增,然后将其种植在具有良好生物相容性并可以被人体逐渐降解和吸收的3D支架上,辅以细胞因子促进细胞增殖分化,然后将该支架植入到骨缺损部位,达到修复的目的[7]。与传统方法不同的是,骨组织工程的目标是生产针对特定患者的生物替代品,以试图规避现有临床治疗受损组织或器官的局限性[8]。更具体地说,骨组织工程就是把3D生物打印支架作为修复骨缺损的“补丁”。理想的支架应该模拟天然骨细胞外基质的结构和性质,具有提供机械支撑、诱导细胞分化增殖和促进成骨活性的特征[9]。在骨移植获取有限或无法获得的情况下,骨组织工程的新兴提供了另一种有希望的治疗选择。本综述将介绍骨组织工程中3D生物打印技术以及不同的3D生物打印支架在骨缺损修复中的研究进展,并对未来的研究方向进行展望。

## 2. 3D 生物打印技术

### 2.1. 3D 生物打印发展及概述

20世纪80年代初美国工程师查尔斯·赫尔(Charles Hull)制造了世界上第一台3D打印机,标志着3D

打印技术的出现[10]。到 20 世纪 90 年代末, 3D 打印逐渐出现在医疗保健领域, 许多外科医生开始使用 3D 打印设计牙齿、定制关节假体等。随后, 2003 年 3D 生物打印概念的提出将我们带入了具有颠覆性的个性化医疗的全新时代。

3D 生物打印是一门与医学、生物学、机械工程和材料科学密切相关的交叉学科, 从广义上讲, 直接与生物医学领域相关的 3D 打印可视为 3D 生物打印; 从狭义上讲, 3D 生物打印是指运用层积制造法打印出仿生支架, 然后再将细胞种入支架中, 使细胞得以生长的技术[11]。常用的 3D 生物打印技术包括喷墨式生物打印、挤压式生物打印和基于激光的生物打印[12]。典型的 3D 生物打印过程通常分为三个阶段, 即预处理阶段、加工阶段和后处理阶段。预处理阶段是从医学影像中获得重要参数和选择合适的打印材料。预处理后, 将设计的图像发送至 3D 生物打印系统, 加载生物材料进行处理。最后, 将打印的初始物转移到细胞培养器中, 在后处理阶段进行组织培养成熟[13][14]。随着 3D 生物打印的发展与应用, 它与组织工程的结合, 孕育出了新的发展前景。

## 2.2. 3D 生物打印支架的特征

为了能够更好的修复骨缺损, 支架必须促进其结构内部的细胞生长, 并且能够在体内和体外特定的植入部位以受控的方式进行反应。骨再生过程复杂, 对仿生支架的设计也有很多要求。一些最重要的设计考虑如下:

1) 生物相容性: 3D 生物打印支架的生物相容性是指拥有支持正常细胞生长的能力。理想的骨支架必须具有生物相容性, 允许骨细胞附着于支架, 并在其表面和孔隙内增殖分化形成所需的细胞外基质, 通过生物分子信号和召集祖细胞来诱导新骨形成。此外, 理想的支架还需要在植入后的几周内生成血管, 来提供营养、运输氧气和废物[15][16]。

2) 机械性能: 理想的 3D 生物打印支架的机械性能应与宿主骨组织的性能相匹配。从松质骨到皮质骨, 骨的力学性质差异很大。皮质骨的杨氏模量在 15~20 GPa 之间, 松质骨的杨氏模量在 0.1~2 GPa 之间。皮质骨的抗压强度在 100~200 MPa 之间, 松质骨的抗压强度在 2~20 MPa 之间[17]。

3) 合适的孔径和孔隙率: 支架必须具有的特性是多孔性, 孔径至少 100  $\mu\text{m}$ , 才能保证细胞获得存活所必需的营养物质和氧气。然而, 新骨组织的生长需要的最佳孔径为 200~350  $\mu\text{m}$ [18]。最近的研究表明, 不同的孔隙率对支架的机械性能也有不同的影响。

4) 生物降解性: 生物降解性也是骨组织再生支架的一个重要特征。完美的支架不仅应该具有与骨组织相似的机械强度, 而且还应具有随时间的变化能够在体内降解, 并为新生骨组织的生长创造空间的性能[19]。

## 3. D 生物打印骨组织工程支架

### 3.1. 聚合物材料支架

用于骨组织工程支架上的聚合物材料, 包括天然聚合物材料和人工合成的聚合物材料。天然聚合物是由生物体所产生的一类生物材料, 天然来源的生物材料有许多优点, 首先是具有良好的生物相容性, 在体内仅引起轻微的炎症反应; 其次是具有良好的生物降解性, 在体内最终被微生物降解为  $\text{CO}_2$  和水[20]。广泛用于骨组织工程支架上的天然聚合物包括胶原蛋白、壳聚糖、透明质酸、藻酸盐和纤维蛋白等。天然聚合物的最大缺点就是机械强度的不足以及对降解速率的无法精确调控。因此, 通常用以复合材料或被化学改性的方式来提高支架的机械性能和降解速率[21]。人工合成的聚合物材料包括聚乳酸[poly(lactic acid), PLA]、聚乙醇酸、聚己内酯(polycaprolactone, PCL)、聚乙二醇、聚乳酸羟基乙酸共聚物[poly(lac-tic-co-glycolic acid), PLGA]等[22]。它们具有良好的生物相容性、生物降解性、可吸收性等优点。

然而此类聚合物也存在一些缺点, 比如细胞亲和力差、难溶于水, 并且某些聚合物降解后会释放酸性降解产物, 引发机体内的炎症反应和局部组织的肿胀[23]。

根据实际需求的不同将聚合物与 3D 生物打印技术结合在一起, 制造出具有个性化孔径大小、孔隙率、降解速率和机械强度的聚合物支架, 以满足临床需求。PCL 作为 3D 生物打印最常用的人工合成聚合物之一, 其生物相容性与聚乳酸、聚谷氨酸和 PLGA 类似, 但是 PCL 的降解速率和机械强度不及聚乳酸、聚谷氨酸和 PLGA [24]。为了取长补短, 将聚乳酸、聚谷氨酸和 PLGA 按照不同比例制造支架, 结果显示其降解速率及机械性能显著提高[25]。一些聚合物, 例如聚富马酸丙二醇酯(propylene fumarate, PPF), 表现出了与皮质骨相当的高抗压强度, 其降解时间可在很大范围内控制, 然而有些聚合物支架初始强度很高, 并且在体内也显示出快速的降解速率[26]。负载活细胞和生物活性因子的 3D 生物打印支架可以改善细胞生存能力和炎症微环境, 并进一步加速骨修复。Sun 等[27]人为了克服糖尿病患者临界骨缺损修复的难题, 他们设计了明胶/甲基丙烯酸酯化明胶(gelatin methacryloyl, GelMA)/聚乙二醇支架, 该支架包含骨髓间充质干细胞、RAW264.7 巨噬细胞和负载骨形态发生蛋白-4 (bone morphogenetic protein, BMP-4)的介孔二氧化硅纳米粒子, 并向其中多磷酸粘多糖来提高了支架的机械强度。结果表明, 在骨缺损中植入含有二氧化硅纳米粒子/BMP-4、骨髓间充质干细胞和 RAW264.7 巨噬细胞的 3D 生物打印支架可以通过 BMP-4 促进骨髓间充质干细胞成骨分化和调节 M2 型巨噬细胞极化以改善炎症微环境和分泌 BMP-2 的直接作用加速了糖尿病骨缺损的骨修复, 这可能是治疗糖尿病患者骨缺损的有效方法。为了模拟健康人骨的形态、基质强度和基质弹性, Bendtsen 等[28]人提出了一种由藻酸盐、聚乙烯醇(polyvinyl alcohol, PVA)和透明质酸(hyaluronic acid, HA)组成的新型水凝胶, 该水凝胶显示出优异的流变性能和高形状保真度, 具有最佳的可印刷性和生物相容性。此外, 其骨传导性使其成为新骨形成的有利环境。Hsieh 等[29]人开发了一种聚氨酯-明胶复合生物链接, 它允许高分辨率打印、长工作窗口、可调机械性能和降解速率, 为细胞生长提供了有利的微环境。Hassanajili 等[30]为了验证 PCL 和 PLA 组合对骨组织再生的能力, 他们将 PCL 和 PLA 通过 3D 生物打印技术制作成支架, 随后将 PLA/PCL 支架与骨髓间充质干细胞以及骨诱导材料(例如羟基磷灰石)结合在一起, 最后通过放射学, 计算机断层扫描(CT), 组织病理学, 免疫组织化学等一系列分析得出骨缺损部位, 分化的成骨细胞可增强和加速骨骼再生并可以获得更好的愈合效果。

### 3.2. 生物陶瓷材料支架

生物陶瓷材料因其与天然骨骼无机成分相似, 广泛的应用于髌膝关节置换、韧带修复、颌面部重建、脊柱融合、骨缺损填充和牙周病修复等领域。众所周知, 生物陶瓷材料可以促进生物矿化, 具有良好的生物相容性、骨传导性、耐化学腐蚀性、抗氧化性和低摩擦系数等特点[31]。常用的生物陶瓷材料主要包括羟基磷灰石(hydroxyapatite, HA)、 $\beta$ -磷酸三钙( $\beta$ -tricalcium phosphate,  $\beta$ -TCP)、双相磷酸钙(biphasic calcium phosphate, BCP)、磷酸镁(magnesium phosphate, MP)、氧化铝、氧化锆等。羟基磷灰石是天然骨骼的主要成分, 它可以通过化学键与组织结合, 植入后可形成新的骨组织。由于 HA 的机械性能较差, 在多孔 HA 支架中形成的新骨不能承受重塑所需的机械载荷。为了解决这个问题, 在 HA 中加入具有可生物降解的聚合物, 如聚乙醇酸、聚乳酸和聚乳酸羟基乙酸共聚物等, 可以更好地控制复合材料的宏观和微观结构, 以适应骨缺陷部位的机械强度[32]。 $\beta$ -TCP 具有良好的生物活性、生物降解性和生物相容性, 可增强种子细胞的增殖能力, 诱导骨组织再生。氧化铝( $\text{Al}_2\text{O}_3$ )和氧化锆( $\text{ZrO}_2$ )属于生物惰性陶瓷, 具有高机械性能、高硬度, 也成功用于骨科, 特别是髌膝关节置换方面。

正是由于到其独特的性质, 生物陶瓷已经广泛应用于组织工程和生物医学领域, 特别是开发能够模拟天然组织的 3D 支架。白磷钙石(Whitlockite, WH)是一种含有镁离子的磷酸钙衍生物, WH 的钙/磷比为



1.43, 具有类似于  $\beta$ -磷酸三钙的菱形形态。与透明质酸和  $\beta$ -磷酸三钙相比, WH 的生物力学性能更为有利, 尤其是其抗压强度。WH 已被证明具有优越的骨传导性和骨诱导性, 在 WH 支架上培养的人骨髓间充质干细胞显著抑制了增加的胚胎成纤维细胞特异性表达, 因此, 由于其高成骨活性, WH 有望成为一种新的修复骨缺损的生物材料[33]。Zheng 等人[34]以  $\beta$ -TCP/PLGA 骨组织支架为载体, 负载促成骨药物 HA15, 采用 3D 打印技术构建骨组织支架。结果表明, 支架植入 12 周后, 兔桡骨缺损修复, 周围血管再生。他们认为  $\beta$ -TCP/PLGA 支架负载的 HA15 骨组织支架具有独特的生物力学性能和骨传导性, 可以作为骨缺损治疗的替代材料。为了将生物材料与骨髓间充质干细胞复合进行骨组织工程的临床应用, 并且要求骨支架具有良好的生物相容性和骨诱导性, 以促进骨缺损的修复。Lei 等[35]人采用冷冻干燥法制备了锶-羟基磷灰石(Sr-Hydroxyapatite, SrHAp)/壳聚糖(chitosan, CS)纳米杂化支架。体外细胞实验表明, HAP/CS、Sr1HAP/CS、Sr5HAP/CS 和 Sr10HAP/CS 纳米杂化支架均具有良好的细胞相容性, 具有良好的人骨髓间充质干细胞(bone mesenchymal stem cells, BMSCs)的黏附、铺展和增殖能力。其中, 由于  $\text{Ca}^{2+}$  和  $\text{Sr}^{2+}$  的协同作用, Sr5HAP/CS 纳米杂化支架在四组材料中表现出最好的骨诱导活性。因此, 具有良好细胞相容性和成骨性能的 Sr5HAP/CS 纳米杂化支架在骨组织工程中具有广阔的应用前景。

通常, 具有单一类型大孔的支架具有相对低的孔隙率和表面积, 并且限制了细胞存活所需的氧气和营养的输送。Luo 等[36]通过改良的同轴 3D 打印技术制备多向中空通道的生物陶瓷支架。正是由于具有高孔隙率和表面积, 使得支架的抗压强度和抗压模量显著增加。生物陶瓷支架独特的中空支撑结构显著改善了细胞的附着和增殖能力, 促进了支架中心新骨组织的形成, 进一步表明中空通道的陶瓷支架可用于大面积骨缺损的再生。最近, 一些研究人员致力于设计用于骨肿瘤治疗的功能性 3D 打印支架, 这些功能性支架可用于修复骨肿瘤手术引起的骨缺损, 杀死可能残留的肿瘤细胞, 达到骨肿瘤治疗的目的[37]。

### 3.3. 复合材料支架

复合材料支架由两种或更多种不同的材料制成, 例如金属和生物陶瓷, 聚合物材料和生物陶瓷等相互组合。每种材料都有优点和缺点, 各种材料的优点可以结合起来, 互相补充, 制造出满足更多需求的多孔支架。

基于聚合物材料通常会有机械强度不足、支架保真度低的特点, Eyisoğlu 等[38]人开发了一种负载人骨髓间充质干细胞的氧化石墨烯(graphene oxide, GO)/藻酸盐/明胶复合生物的支架, 为了模拟小鼠临界尺寸的颅骨缺损并证明支架的保真度, 成功地对具有复杂几何形状的充满细胞的 3D 骨缺损支架进行了生物打印。在生物反应器中培养 42 天后, 1GO 保持了最佳的支架保真度并具有最高的矿物质体积。由此可见 GO 复合体系具有比纯藻酸盐/明胶体系更好的支架保真度、细胞增殖、成骨分化和细胞外基质矿化。Zhang 等[39]人制备含镁钙硅酸盐(magnesium calcium silicates, MCs)、醇溶蛋白和聚己内酯(PCL)介孔生物玻璃纤维的三元复合材料 3D 生物打印支架, 将该支架植入兔股骨缺损处, 结果表明, 含有 MMCs 的支架在体内通过降解促进了新骨的形成和向支架内的生长。随着 MMCs 含量的增加, I 型胶原在支架中的表达增强。支架表现出了结构可控、生物相容性好、抗压强度高、可降解性好、体内成骨能力强等特点, 具有很大的骨再生潜力。对于外科手术切除肿瘤来说, 有必要设计一种能杀死剩余的骨肿瘤并且修复手术切除引起的骨缺损的支架。Dang 等[40]人通过 3D 打印技术, 成功制备了金属铜-TCP-磷酸三钙支架。当与骨肉瘤细胞培养时, 铜-TCP-磷酸三钙支架暴露近红外光后, 通过释放的热能显著杀死骨肉瘤细胞。体外研究发现, 将铜-TCP-磷酸三钙支架植入兔骨缺损后, 能有效促进骨再生。因此, 将磷酸三钙支架的成骨生物活性与铜-TCP 纳米片的光热特性和铜离子的血管生成活性相结合, 赋予了铜-TCP-磷酸三钙支架多功能性, 为开发同时治疗骨肿瘤和修复骨缺损的生物材料开辟了新的前景。研究人员发现了一种新型多孔纳米三磷酸腺苷支架, 首先发现纳米三磷酸腺苷支架对骨髓间充质干细胞具有良好的生物相

容性,能够在体外上调成骨相关基因的表达以及钙沉积。有趣的是,断层扫描和组织学分析显示,在大鼠颅骨缺损模型中,沿着缺损边缘,甚至在3D生物打印多孔ATP支架上方和内部,观察到大量新形成的骨。此外,组织学分析表明,骨是在类似于膜骨化的过程中直接形成的,没有任何中间软骨形成,并且在第4和第8周,许多新形成的血管位于3D打印支架的孔内[41]。

在复合支架的研究中还可以根据需要添加生物活性因子,使得支架具有更强的骨再生能力。三代骨组织工程支架的修复作用主要也是通过生长因子、药物和基因传递实现的[42]。当HA/胶原/聚乳酸支架负载骨形态发生蛋白-2时,新骨沉积比纯支架更快,增强的血管化为缺损部位提供了丰富的骨祖细胞,同时对成骨细胞的迁移和分化具有直接的刺激作用。

#### 4. 小结和展望

目前3D生物打印在生物学方面的研究大量涌现,蓬勃发展,3D生物打印技术在骨组织工程支架方面已经取得了许多成就。然而,要想真正实现3D生物打印骨组织工程支架广泛应用于临床还存在如何实现适当的血管化、支架的高机械强度以及支架可持续性挑战。为了克服3D生物打印的挑战,制造机械性强、功能性高、低成本的骨组织替代物,有必要将生物打印方法与多学科联合,依照医学成像、计算机建模、精确的虚拟设计,打印出更具个性化的支架,来治疗目前临床上具有挑战性的骨缺损。然而,这一领域仍处于发展的早期阶段,多学科合作将是迈向先进组织工程的极其重要的下一步。最后,我们相信在不久的将来,3D生物打印骨组织工程支架的进一步发展将会把骨再生领域推向一个新的高度。

#### 基金项目

国家自然科学基金面上项目(81871814);济宁市重点研发计划(2021YXNSO76)。

#### 参考文献

- [1] Nauth, A., Schemitsch, E., Norris, B., et al. (2018) Critical-Size Bone Defects: Is There a Consensus for Diagnosis and Treatment? *Journal of Orthopaedic Trauma*, **32**, S7-S11. <https://doi.org/10.1097/BOT.0000000000001115>
- [2] Brydone, A.S., Meek, D. and Maclaine, S. (2010) Bone Grafting, Orthopaedic Biomaterials, and the Clinical Need for Bone Engineering. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H*, **224**, 1329-1343. <https://doi.org/10.1243/09544119JEIM770>
- [3] Faour, O., Dimitriou, R., Cousins, C.A., et al. (2011) The Use of Bone Graft Substitutes in Large Cancellous Voids: Any Specific Needs? *Injury*, **42**, S87-S90. <https://doi.org/10.1016/j.injury.2011.06.020>
- [4] Alluri, R., Song, X., Bougioukli, S., et al. (2019) Regional Gene Therapy with 3D Printed Scaffolds to Heal Critical Sized Bone Defects in a Rat Model. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, **107**, 2174-2182. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.36727>
- [5] Miao, Y., Chen, Y., Luo, J., et al. (2023) Black Phosphorus Nanosheets-Enabled DNA Hydrogel Integrating 3D-Printed Scaffold for Promoting Vascularized Bone Regeneration. *Bioactive Materials*, **21**, 97-109. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2022.08.005>
- [6] Bose, S. and Sarkar, N. (2020) Natural Medicinal Compounds in Bone Tissue Engineering. *Trends in Biotechnology*, **38**, 404-417. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2019.11.005>
- [7] Li, J.J., Ebied, M., Xu, J., et al. (2018) Current Approaches to Bone Tissue Engineering: The Interface between Biology and Engineering. *Advanced Healthcare Materials*, **7**, e1701061. <https://doi.org/10.1002/adhm.201701061>
- [8] Potyondy, T., Uquillas, J.A., Tebon, P.J., et al. (2021) Recent Advances in 3D Bioprinting of Musculoskeletal Tissues. *Biofabrication*, **13**. <https://doi.org/10.1088/1758-5090/abc8de>
- [9] Genova, T., Roato, I., Carossa, M., et al. (2020) Advances on Bone Substitutes through 3D Bioprinting. *International Journal of Molecular Sciences*, **21**, Article No. 7012. <https://doi.org/10.3390/ijms21197012>
- [10] Dey, M. and Ozbolat, I.T. (2020) 3D Bioprinting of Cells, Tissues and Organs. *Scientific Reports*, **10**, Article No. 14023. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-70086-y>
- [11] Gu, Z., Fu, J., Lin, H., et al. (2020) Development of 3D Bioprinting: From Printing Methods to Biomedical Applica-

- tions. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, **15**, 529-557. <https://doi.org/10.1016/j.ajps.2019.11.003>
- [12] Ostrovidov, S., Salehi, S., Costantini, M., *et al.* (2019) 3D Bioprinting in Skeletal Muscle Tissue Engineering. *Small*, **15**, e1805530. <https://doi.org/10.1002/smll.201805530>
- [13] Bandyopadhyay, A., Mitra, I. and Bose, S. (2020) 3D Printing for Bone Regeneration. *Current Osteoporosis Reports*, **18**, 505-514. <https://doi.org/10.1007/s11914-020-00606-2>
- [14] Sigaux, N., Pourchet, L., Breton, P., *et al.* (2019) 3D Bioprinting: Principles, Fantasies and Prospects. *Journal of Stomatology, Oral and Maxillofacial Surgery*, **120**, 128-132. <https://doi.org/10.1016/j.jormas.2018.12.014>
- [15] Wubneh, A., Tsekoura, E.K., Ayranci, C., *et al.* (2018) Current State of Fabrication Technologies and Materials for Bone Tissue Engineering. *Acta Biomaterialia*, **80**, 1-30. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2018.09.031>
- [16] Williams, D.F. (2008) On the Mechanisms of Biocompatibility. *Biomaterials*, **29**, 2941-2953. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2008.04.023>
- [17] Park, J.Y., Park, S.H., Kim, M.G., *et al.* (2018) Biomimetic Scaffolds for Bone Tissue Engineering. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, **1064**, 109-121. [https://doi.org/10.1007/978-981-13-0445-3\\_7](https://doi.org/10.1007/978-981-13-0445-3_7)
- [18] Murphy, C.M., Haugh, M.G. and O'Brien, F.J. (2010) The Effect of Mean Pore Size on Cell Attachment, Proliferation and Migration in Collagen-Glycosaminoglycan Scaffolds for Bone Tissue Engineering. *Biomaterials*, **31**, 461-466. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.09.063>
- [19] Bharadwaz, A. and Jayasuriya, A.C. (2020) Recent Trends in the Application of Widely Used Natural and Synthetic Polymer Nanocomposites in Bone Tissue Regeneration. *Materials Science & Engineering C—Materials for Biological Applications*, **110**, Article ID: 110698. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.110698>
- [20] Aamodt, J.M. and Grainger, D.W. (2016) Extracellular Matrix-Based Biomaterial Scaffolds and the Host Response. *Biomaterials*, **86**, 68-82. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2016.02.003>
- [21] Heinrich, M.A., Liu, W., Jimenez, A., *et al.* (2019) 3D Bioprinting: From Benches to Translational Applications. *Small*, **15**, e1805510. <https://doi.org/10.1002/smll.201805510>
- [22] 王进, 葛建飞, 郭开今, 等. 3D 打印多孔材料应用于骨缺损修复的研究进展[J]. 中华骨与关节外科杂志, 2019, 12(7): 556-560.
- [23] Gao, C., Deng, Y., Feng, P., *et al.* (2014) Current Progress in Bioactive Ceramic Scaffolds for Bone Repair and Regeneration. *International Journal of Molecular Sciences*, **15**, 4714-4732. <https://doi.org/10.3390/ijms15034714>
- [24] Shim, J.H., Won, J.Y., Park, J.H., *et al.* (2017) Effects of 3D-Printed Polycaprolactone/Beta-Tricalcium Phosphate Membranes on Guided Bone Regeneration. *International Journal of Molecular Sciences*, **18**, Article No. 899. <https://doi.org/10.3390/ijms18050899>
- [25] Huh, J., Lee, J., Kim, W., *et al.* (2018) Preparation and Characterization of Gelatin/Alpha-TCP/SF Biocomposite Scaffold for Bone Tissue Regeneration. *International Journal of Biological Macromolecules*, **110**, 488-496. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.09.030>
- [26] Bose, S., Roy, M. and Bandyopadhyay, A. (2012) Recent Advances in Bone Tissue Engineering Scaffolds. *Trends in Biotechnology*, **30**, 546-554. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2012.07.005>
- [27] Sun, X., Ma, Z., Zhao, X., *et al.* (2021) Three-Dimensional Bioprinting of Multicell-Laden Scaffolds Containing Bone Morphogenic Protein-4 for Promoting M2 Macrophage Polarization and Accelerating Bone Defect Repair in Diabetes Mellitus. *Bioactive Materials*, **6**, 757-769. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2020.08.030>
- [28] Bendtsen, S.T., Quinnell, S.P. and Wei, M. (2017) Development of a Novel Alginate-Polyvinyl Alcohol-Hydroxyapatite Hydrogel for 3D Bioprinting Bone Tissue Engineered Scaffolds. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, **105**, 1457-1468. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.36036>
- [29] Hsieh, C.T. and Hsu, S.H. (2019) Double-Network Polyurethane-Gelatin Hydrogel with Tunable Modulus for High-Resolution 3D Bioprinting. *ACS Applied Materials & Interfaces*, **11**, 32746-32757. <https://doi.org/10.1021/acsami.9b10784>
- [30] Hassanajili, S., Karami-Pour, A., Oryan, A., *et al.* (2019) Preparation and Characterization of PLA/PCL/HA Composite Scaffolds Using Indirect 3D Printing for Bone Tissue Engineering. *Materials Science & Engineering C—Materials for Biological Applications*, **104**, Article ID: 109960. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.109960>
- [31] Vijayavenkataraman, S., Yan, W.C., Lu, W.F., *et al.* (2018) 3D Bioprinting of Tissues and Organs for Regenerative Medicine. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **132**, 296-332. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2018.07.004>
- [32] Kim, S.S., Sun, P.M., Jeon, O., *et al.* (2006) Poly(lactide-co-glycolide)/Hydroxyapatite Composite Scaffolds for Bone Tissue Engineering. *Biomaterials*, **27**, 1399-1409. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2005.08.016>
- [33] Zhang, Y., Wu, D., Zhao, X., *et al.* (2020) Stem Cell-Friendly Scaffold Biomaterials: Applications for Bone Tissue Engineering and Regenerative Medicine. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, **8**, Article ID: 598607.

<https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.598607>

- [34] Zheng, C., Attarilar, S., Li, K., *et al.* (2021) 3D-Printed HA15-Loaded Beta-Tricalcium Phosphate/Poly(Lactic-co-glycolic acid) Bone Tissue Scaffold Promotes Bone Regeneration in Rabbit Radial Defects. *International Journal of Bioprinting*, **7**, 317. <https://doi.org/10.18063/ijb.v7i1.317>
- [35] Lei, Y., Xu, Z., Ke, Q., *et al.* (2017) Strontium Hydroxyapatite/Chitosan Nanohybrid Scaffolds with Enhanced Osteoinductivity for Bone Tissue Engineering. *Materials Science & Engineering C—Materials for Biological Applications*, **72**, 134-142. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.11.063>
- [36] Luo, Y., Zhai, D., Huan, Z., *et al.* (2015) Three-Dimensional Printing of Hollow-Struts-Packed Bioceramic Scaffolds for Bone Regeneration. *ACS Applied Materials & Interfaces*, **7**, 24377-24383. <https://doi.org/10.1021/acsami.5b08911>
- [37] Wang, Y., Gao, M., Wang, D., *et al.* (2020) Nanoscale 3D Bioprinting for Osseous Tissue Manufacturing. *International Journal of Nanomedicine*, **15**, 215-226. <https://doi.org/10.2147/IJN.S172916>
- [38] Zhang, J., Eyisoğlu, H., Qin, X.H., *et al.* (2021) 3D Bioprinting of Graphene Oxide-Incorporated Cell-Laden Bone Mimicking Scaffolds for Promoting Scaffold Fidelity, Osteogenic Differentiation and Mineralization. *Acta Biomaterialia*, **121**, 637-652. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2020.12.026>
- [39] Zhang, Y., Yu, W., Ba, Z., *et al.* (2018) 3D-Printed Scaffolds of Mesoporous Bioglass/Gliadin/Polycaprolactone Ternary Composite for Enhancement of Compressive Strength, Degradability, Cell Responses and New Bone Tissue In-growth. *International Journal of Nanomedicine*, **13**, 5433-5447. <https://doi.org/10.2147/IJN.S164869>
- [40] Dang, W., Ma, B., Li, B., *et al.* (2020) 3D Printing of Metal-Organic Framework Nanosheets-Structured Scaffolds with Tumor Therapy and Bone Construction. *Biofabrication*, **12**, Article ID: 025005. <https://doi.org/10.1088/1758-5090/ab5ae3>
- [41] Wang, Z., Hui, A., Zhao, H., *et al.* (2020) A Novel 3D-Bioprinted Porous Nano Attapulgite Scaffolds with Good Performance for Bone Regeneration. *International Journal of Nanomedicine*, **15**, 6945-6960. <https://doi.org/10.2147/IJN.S254094>
- [42] Li, J., Hong, J., Zheng, Q., *et al.* (2011) Repair of Rat Cranial Bone Defects with nHAC/PLLA and BMP-2-Related Peptide or rhBMP-2. *Journal of Orthopaedic Research*, **29**, 1745-1752. <https://doi.org/10.1002/jor.21439>