DOI：10.12287/j.issn.2096-8965.20220208

3D生物打印在脊髓损伤领域的应用与发展

王健豪，冯世庆*

（天津医科大学总医院，脊髓损伤国际科技合作基地，天津市脊柱脊髓重点实验室，天津 300052）

【摘要】脊髓损伤是一种高死亡率、高致残率的神经系统疾病，常导致感觉、运动和自主神经功能不可逆丧失。损伤时的直接反应和继发性反应导致脊髓局部级联性反应，抑制了神经再生和组织修复，目前的手术和药物治疗无法达到理想效果。基于3D生物打印的移植策略逐渐成为有转化前景的候选疗法，神经组织工程的研究致力于平衡脊髓微环境，有效衔接生物支架与神经细胞，以修复脊髓组织结构和神经细胞功能。增材制造通过精确打印细胞来固定搭载组分的相对位置，调控生长状态并促进分化，并可以在预留孔径中打印特定的神经营养分子，形成特定的功能性神经网络，有助于改善脊髓损伤后的功能恢复，具有很高的临床应用前景。

【关键词】脊髓损伤；3D生物打印；组织工程材料；干细胞移植

中图分类号：R651.2，R318，R-1　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：2096-8965（2022）02-0057-09

Application and development of 3D bioprinting in the field of spinal cord injury

Wang Jianhao, Feng Shiqing*

(Tianjin Medical University General Hospital, International Science and Technology Cooperation Base of Spinal Cord Injury, Tianjin Key Laboratory of Spine and Spinal Cord, Tianjin 300052, China)

【**Abstract**】Spinal cord injury is the highly fatal and disabling neurological condition that often results in irreversible loss of sensory, motor and autonomic function. The immediate and secondary responses at the injury time result in a local cascade response in the spinal cord that inhibits nerve regeneration and tissue repair. Current surgical and pharmacological treatments fail to achieve the desired effect, meanwhile 3D bioprinting-based transplantation strategies are emerging as promising candidates for translational therapies. Neural tissue engineering research focuses on balancing the inhibitory microenvironment and effectively bridging the biological scaffold and nerve cells to repair spinal cord tissue structure and nerve cell function. Additive manufacturing fix the relative positions of components by precisely printing cells to regulate the growth states and promote differentiation and print specific neurotrophic molecules in the reserved apertures to form specific functional neural networks that can help improve functional recovery after spinal cord injury, which has high promise for clinical applications.

【**Keywords**】Spinal cord injury; 3D bioprinting; Tissue engineering materials; Stem cell transplantation

引言

急性脊髓损伤是一种严重的创伤性神经系统疾病，导致损伤平面以下不可逆转的感觉受损、运动丧失和自主神经功能障碍[1]。国内主要致伤原因是跌倒、交通事故和运动相关伤害[2]。完全损伤后的

收稿日期：2022-05-31；**修回日期**：2022-06-14

基金项目：国家重点研发计划干细胞及转化研究（2019YFA0112100）；天津市医学重点学科（专科）建设项目

通讯作者：冯世庆（1967-），男，山西晋中人，博士生导师，主要从事脊柱脊髓损伤研究。E-mail：sqfeng@tmu.edu.cn

高死亡率和终身瘫痪、不完全损伤后的肢体截瘫和相关并发症对患者、家庭和社会带来了严重影响，降低患者生活质量、增加家庭经济支出、给社会医疗系统增添负担。

脊髓损伤往往由直接损伤引起，原发性损伤发生脊髓局部血管出血、组织水肿和神经元的破坏，原发性水肿面积扩散、组织细胞缺血缺氧、炎症和过氧化等现象导致体液微循环和能量代谢的改变，继续破坏病灶周围的组织，造成脊髓平面以下不可逆的功能障碍。脊髓组织病变核心、原发损伤和级联性继发损伤产生的胶质细胞碎片和髓鞘碎片会产生细胞毒性副产物，与损伤空洞区域和反应性纤维胶质瘢痕构成抑制性炎症微环境，阻碍神经再生[3]。

为了阻止继发损伤和保护残余组织功能，最大限度地恢复神经可塑性，急性损伤后应该立即进行神经修复治疗。而目前的手术治疗仅能维持脊柱力学的稳定和解决神经组织的压迫，不能使已经损伤的神经组织恢复原有功能，并且临床常用药对神经组织的修复效果极其有限，针对脊髓损伤尚无有效治疗措施。内源性神经细胞的自发再生是有限的，其增殖、分化、迁移能力差，并且没有令人满意的干预措施来增强内源性再生以补充损失的神经组织，导致功能缺失。外源性移植细胞无法长期储存，且缺乏有效支撑，细胞杂乱聚集，纤维胶质瘢痕缠结，无法聚焦于损伤局部发挥其生物学效能[4]。因此研究制备内在结构高度仿生、能够重建脊髓损伤后破坏的功能性空间结构的组织工程学支架具有很高的临床应用前景。

3D生物打印支架能够为细胞和组织提供物理空间结构支撑，为目标细胞迁移到损伤部位构建中继区域，从而促进移植宿主的组织再生和修复[5]。通过增材制造构建3D生物打印脊髓组织支架，可以促进损伤区域的神经组织再生，重建功能性连接环路，防止瘢痕形成，促进神经细胞形成仿生脊髓组织。该技术仍然面临诸多挑战，例如制造具有精确控制、可调节的形貌、生化线索和表面能量的响应支架，能够指导和控制神经细胞的分化潜能，从而恢复脊髓损伤后功能障碍。

3D生物打印技术可调节脊髓支架的尺寸、形状和性能，根据搭载组分的不同（细胞、营养因子或小分子化合物），令其具有多样化功能和应用场景。脊髓损伤是一种复杂的多功能障碍性疾病，其修复机制尚未明确，研究学者根据不同的作用机制（如：诱导神经细胞再生、促进血管再生、增强神经电信号传导和基因治疗等）制备出相对匹配的脊髓支架，探究其修复效果。3D生物打印脊髓支架的临床转化仍在起步阶段，而脊髓损伤后的并发症（如：手部抓取障碍、脊柱疼痛和体温失衡等）严重影响着患者的生活质量，在治疗方案尚未完成临床转化时，利用3D生物打印技术缓解损伤后并发症是必需且急迫的。本文描述和讨论了近五年3D生物打印支架搭载不同生物单元修复脊髓损伤的策略，以及依据不同修复策略进行的3D生物打印支架实验研究，最后介绍了3D生物打印支架改善脊髓损伤并发症的临床应用。

1 3D生物打印支架搭载不同生物单元修复脊髓损伤策略

3D生物打印将生物墨水（包括基质材料和生物单元）按照解剖结构、组织功能和体内微环境等建模标准，采用增材制造的方式制备出具有个性化和特征化的功能结构复合体。生物墨水具有目标组织的机械流变和理化生物学特性，同时要兼备可打印性、生物兼容性和机械性能，在3D打印之后交联固化形成稳定的目标组织结构。

由于生物墨水的基质材料具有诸多标准限制，其种类开发和稳定应用尚需多维度的实验验证，故目前3D生物打印常通过搭载不同生物单元（如：细胞、营养因子和小分子药物等），模拟脊髓组织的不同功能构建仿生支架发挥修复效能。根据搭载生物单元的不同可分为以下三类：单纯3D生物打印支架（包括单纯3D打印支架和脱细胞支架）、搭载单一生物单元的3D生物打印支架和搭载多重生物单元的3D生物打印支架。

1.1 单纯3D生物打印支架

单纯3D生物打印支架利用不同的基质材料构建目标功能的脊髓组织，内部不搭载任何生物单元，仅通过材料的形貌特征、空间结构、机械性能和理化性质来发挥作用。该策略简单易行，其异质性元素较少，仅有生物相容性较好的基质材料，而不存在生物单元的免疫排斥，移植后局部炎症反应较轻。与此相对的缺点是功能结构简单，无法联合多功能策略进行脊髓损伤的修复。

Sun等[6]利用胶原蛋白–壳聚糖为基质材料制备3D生物打印支架，构建T8脊髓完全横断模型，移植修复后显著提高运动功能，观察到运动诱发电位

的潜伏期降低、振幅增加，再生神经纤维密度显著增加。Sun等[7]采用聚乳酸-乙醇酸通过低温沉积制造技术制备3D生物打印支架，该支架低细胞毒性，细胞增殖良好，移植后显示脊髓组织显著恢复。Li等[8]以胶原蛋白-丝蛋白为材料，通过3D生物打印技术制备皮质脊髓束，构建脊髓完全横断模型，移植治疗后可改善轴突再生和促进神经网络的有序连接，从而改善大鼠运动功能。Chen等[9]制备了胶原蛋白-硫酸肝素为原料的均匀孔隙的多孔支架，该支架优化力学性能，提高压缩模量、强度和生物相容性，将其移植入T10脊髓完全横断的大鼠体内，移植支架为轴突提供连续的引导通道，从而改善神经功能。Kaplan等[10]制备了聚乳酸乙醇酸-聚乳酸软组织支架，诱导多能干细胞分化为神经元，引导再生轴突线性生长。Ko等[11]制备了双乙烯基磺酰甲基交联明胶生物降解导管，该导管具有良好的力学性能和低细胞毒性，表面具有亲水性，动物实验显示支架具有良好的修复效果。Espinosa-Hoyos等[12]制备了具有较低的机械刚度、接近人类力学性能的神经轴突，在损伤区域促进胶质细胞包裹，从而促进髓鞘形成，该项研究提示神经元可以在体内机械线索的环境下自我修复，同时髓鞘化对神经信号的转导、神经元的存活以及神经系统的正常功能非常重要。Da等[13]通过3D生物打印结合图形处理单元，加速医学图像处理，制备了一种快速省时的特异性定制神经支架来恢复神经损伤，大量缩短了所需医疗决策的时间，改善了病人的预后。Kong等[14]利用猪中央神经系统组织脱细胞化的细胞外基质生物墨水，通过3D生物打印制备神经肌肉，保留了中枢神经系统组织特异性的细胞外分子，对运动神经元轴突的生长和成熟具有积极影响。

多项研究利用不同的基质材料构建支架，主要侧重于损伤后运动功能的恢复和损伤头尾端组织的桥接，通过组织细胞学和行为功能学评估移植修复脊髓损伤的作用效果，然而功能恢复的评价体系仅限运动功能，感觉功能和自主功能的修复作用尚未研究。脊髓损伤是一种多因素导致的多功能障碍性疾病，单纯基质材料构建的支架仅能提供空间通道结构，无法发挥有效的生物学效应，亦无法促进内源性干细胞的募集和分化，因此需要搭载不同生物单元满足不同目标功能的需求。

1.2 搭载单一生物单元的3D生物打印支架

Koffler等[15]利用连续投影打印方法，根据啮齿类动物的脊髓尺寸定制仿生水凝胶支架构建中枢神经组织。制备脊髓完全损伤模型后，移植载神经干细胞的3D仿生水凝胶支架修复损伤，实验发现，生物支架可以促进轴突再生并形成突触结构，从而组建跨越损伤区域的神经中继站，显著改善运动功能。Liu等[16]设计的搭载神经干细胞的3D生物打印壳聚糖-透明质酸-基底膜基质支架具有快速凝胶和自发共价交联能力，能够保持95%神经干细胞活性，提供良好的微环境以促进细胞物质相互作用，并分化形成神经网络，促进轴突再生、减少胶质瘢痕沉积，显著恢复运动功能。Rodríguez-Sánchez等[17]制备的搭载犬源多能间充质干细胞的聚己内酯神经导管修复神经后，运动功能和电生理恢复，但与对照组相比无显著统计学差异。De等[18]利用甲基丙烯酸化水凝胶并搭载星形胶质细胞的3D生物打印构建富含星形胶质细胞的神经样组织，类似于天然细胞微环境，用于研究星形胶质细胞的功能及其与神经系统相关疾病的机制关系。Huang等[19]通过微型3D打印技术创建了一种聚吡咯涂层微针阵列，该技术可以控制电子封装，经硬脊膜释放地塞米松药物后，实验发现局部炎症减少。可见聚吡咯涂层微针能够将抗炎药物经硬脊膜途径输送到中枢神经系统并发挥有效作用。

与单纯基质材料制备3D生物打印支架相比，搭载生物单元的脊髓支架有助于发挥特定功能。生物单元的选择是器官/组织生物打印的重要因素之一，需要模拟体内细胞的生理状况并维持其效能，以确保所产生目标结构的正常功能。搭载不同类型生物单元的支架具有不同的功能，比如搭载神经干细胞[15,16]的支架可以释放外源性干细胞，在损伤局部分化为神经元；搭载间充质干细胞[17]、星形胶质细胞[18]或地塞米松[19]的支架可以局部释放搭载细胞/药物，调节损伤区域的免疫炎症因子，维持有益微环境，促进内源性神经元再生。然而，脊髓作为构成中枢神经系统的重要器官之一，单一生物单元的作用效果有限，无法满足神经系统生物信息交互网络的复杂性和多样性，达到理想的修复效果。因此研究开发搭载多重生物单元的3D生物打印支架是大势所趋，通过多样化生物单元的相互促进和协同作用，尽可能达到同质修复的效果。

1.3 搭载多重生物单元的3D生物打印支架

Wang等[20]通过模拟脊髓结构中灰白质的细胞种类和相对空间位置构建了生理功能相似的仿生脊

髓支架。支架由同源性骨髓间充质干细胞和雪旺细胞组成，类似于“夹心饼干”结构，上下两层载骨髓间充质干细胞水凝胶微丝构成水平面外围结构，左右两侧载雪旺细胞水凝胶微丝构成双层轴向丝状结构体，组成均匀孔径，从而实现细胞类型、细胞位置和轴突生长方向可控。支架植入缺损部位后，可加强骨髓间充质干细胞与雪旺细胞之间的细胞联系，引导细胞在支架内规则排布与定向分化，此结构有利于引导再生轴突定向延伸穿越损伤区域。Joung等[21]制备了由诱导多能干细胞衍生的神经元祖细胞和少突胶质细胞祖细胞精准组成的生物打印脊髓支架，在支架的微尺度通道中可发现分化和延伸的轴突跨越损伤区域，通过钙通量检测证实该网络具有神经元功能，提示3D生物打印神经元祖细胞可分化为成熟的功能性神经元。Huang等[22]制备了搭载神经生长因子和背根神经节细胞的脊髓支架，结合地形引导和分子浓度梯度设计，沿着纵向微通道诱导轴突再生并促进髓鞘再生，以恢复脊髓损伤后的感觉和运动能力。

多重生物单元的细胞–细胞间和细胞–营养因子间的相互作用不仅可以发挥单一生物单元的作用，还能结合发挥更多的效能。例如，上述研究[20]中雪旺细胞促进骨髓间充质干细胞分化为神经元，骨髓间充质干细胞促进雪旺细胞分化为少突胶质细胞，继而分化为髓鞘包绕神经元形成有髓神经纤维结构。雪旺细胞和骨髓间充质干细胞在发挥单一作用的同时，可以构成轴突再生的郎飞氏结结构，形成神经电信号的跳跃式传导，加快脊髓损伤后的功能修复。由此可见，多重生物单元的生物学效能可以多项叠加，共同促进损伤后修复。然而体外模型构建和体内移植环境的差别会影响修复效果，同时生物墨水中生物单元与基质材料存在相互作用影响彼此功能，其中的适配性、相容性和作用机制仍处于探索阶段。

2 根据脊髓损伤修复策略进行3D生物打印支架实验研究

脊髓损伤后神经元和胶质细胞死亡，血管损伤造成供血不足引起局部缺血坏死，继而诱发炎症反应[23]。由于细胞通透性增加、免疫炎症反应和组织结构坍塌等多种因素导致组织水肿和纤维瘢痕压迫脊髓，加重损伤，最终神经纤维电信号传导中断，造成功能障碍[24]。根据脊髓损伤的不同致伤机制修复策略有所不同[25]，目前可分为以下几种：诱导神经细胞再生[26–33]、促进血管再生[34–37]、优化生物支架理化性质[38–42]、增强神经电信号传导[43–49]、基因治疗[50,51]等。

2.1 诱导神经细胞再生

Salaris等[26]利用3D生物打印技术装载诱导多能干细胞构建神经元和星形胶质细胞共培养系统，来研究神经网络活动行为。研究显示一个复杂功能性的活细胞系统需要多个细胞类型存在以及在其中发挥特定功能，并相互作用。聂虎等[27]采用两种生物材料（海藻酸钠和明胶）和三种细胞类型（神经母细胞瘤细胞系、诱导多能干细胞和神经干细胞）分别构建体外模型，研究神经退行性疾病的潜在机制。研究发现在两种材料上种植的不同细胞间相互作用可以影响疾病的发生和发展。Kaplan等[28]利用牙龈来源的间充质干细胞，通过3D生物打印制备无支架的神经结构，将其移植到大鼠损伤部位后，间充质干细胞分化为神经元桥接面神经缺损。该研究将同源性生物体的不同部位/种类的干细胞进行异位移植，仍具有修复效果。Cadena等[29]通过3D生物打印构建创伤性中枢神经损伤的微型冲击模型，利用3D培养的诱导多能干细胞衍生的神经祖细胞构建共培养模型，研究观察中枢神经损伤的特征，并可为神经系统的药物筛选提供平台。Xu等[30]将牛血清白蛋白纳米束装载至3D生物打印神经导管内部，通过蛋白诱导干细胞分化为神经元，从而引导损伤神经组织的长节段再生修复。Lindsay等[31]以海藻酸盐为基质材料打印生物结构，与神经祖细胞共培养后发现可促其增殖。同时，引导性纤维支架可以诱导神经干细胞分化，促进神经再生。Keshavarz等[32]采用3D生物打印和热拉伸技术制备了搭载神经干细胞的聚碳酸酯纤维支架，该支架可诱导神经干细胞分化，并引导神经细胞再生。

多种细胞参与脊髓损伤修复过程，其中神经细胞大致包括神经元细胞和神经胶质细胞，神经胶质细胞又包括小胶质细胞、少突胶质细胞和星形胶质细胞[33]。诱导神经元细胞的有效再生能够促进脊髓组织的修复和桥接。诱导M1亚型小胶质细胞激活产生炎症因子和氧化应激产物，可加重神经元损伤；诱导M2亚型小胶质细胞激活可以减少促炎因子和活性氧的产生，可减少神经元损伤。诱导少突胶质细胞激活会释放炎症因子诱导炎症反应，继而造成细胞毒性因子释放、过氧化产物堆积和局部缺

血水肿加重损伤。诱导星形胶质细胞活化，可迁移至损伤区域包裹成纤维细胞和少突胶质细胞前体细胞形成胶质瘢痕。在损伤前期，胶质瘢痕可以阻止组织坏死和细胞凋亡蔓延至正常脊髓组织，限制损伤扩大。然而在损伤后期，胶质瘢痕作为物理屏障会抑制神经再生与修复，与细胞外蛋白和硫酸软骨素蛋白多糖共同作用抑制轴突再生。

诱导神经细胞再生策略可以根据神经细胞的不同功能采取不同的诱导方式（激活或抑制）从而产生不同的作用效果，还可以由3D生物打印支架搭载不同种类的神经细胞，通过外源性神经细胞的分化或分泌产生效能，亦或是将特定功能的生物支架移植入体内，诱导内源性神经细胞的活化发挥作用。然而材料与神经细胞、材料与脊髓组织或搭载细胞与脊髓组织之间存在相互作用，外源性和内源性神经细胞的存活依赖局部血供和充分的物质交换，其机制十分复杂，有待进一步研究。

2.2 促进血管再生

Li等[34]使用超高分辨率的同步辐射显微CT三维重建大鼠脊髓的血管结构，研究脊髓血管的结构和功能，为神经血管疾病模型的病理研究奠定了结构基础。Grigoryan等[35]通过光响应水凝胶制备多血管结构，利用单层薄片透明水凝胶制备血管内3D流体混合器和功能性二尖瓣，通过空间填充数学拓扑结构，详细阐述了复杂纠缠的血管网络，探讨人类红细胞在潮气量通气和近端气道扩张过程中的氧合和流动。研究显示，实体器官通过不同的血管网络运输流体，这些血管网络在生物物理和生物化学上纠缠在一起，创造了复杂的三维运输机制。Kinstlinger等[36]调整细胞增殖和细胞代谢的浓度梯度、血管网络内流体对流、氧气扩散和反应代谢产物，通过牺牲激光烧结碳水化合物模板制备了树突状血管网络模型组织。可灌注树突状血管网络水凝胶有助于维持厚实密集的细胞化工程组织，并协助物质运输和调节组织之间的相互作用。

脊髓损伤后血管网络的重建和调节为神经细胞再生提供营养物质和诱导线索[37]，抑制损伤组织缺血坏死，限制脊髓组织萎缩，提升移植物与组织的相容性，并为生物支架的搭载细胞提供氧气，为支架和组织之间的细胞交流创造交互网络和便捷条件。因此3D生物打印在血管再生领域的研究对修复脊髓损伤提供了修复思路。然而，血管的支撑能力薄弱且空间结构复杂不可控，无法诱导再生神经的轴突延伸，损伤区域上下连接部位无法形成新的中继连接，便无法重建神经环路恢复功能。

2.3 优化生物支架理化性质

Pan等[38]采用黄原胶水凝胶通过酶聚合和酰胺生物偶联，制备了3~100 kPa机械强度区间的3D生物打印支架。曾柏方等[39]制备了含人诱导多能干细胞及其衍生物的纤维蛋白生物打印支架，纤维蛋白的存在提升了支架的抗变形刚度和支撑能力。Jiang等[40]发明的含有衍生感觉神经元的生物墨水可用快速、精确和可控的方式设计生物支架微结构，使其具备机械响应功能。用其制备的3D生物打印支架，光学微结构排列显示其对诱发热/冷感觉的化学物质和机械应力具有反应性。该设计可连接受伤区域，塑造宿主神经元系统，可以作为脊髓植入物，增强感觉神经修复。Facchinello等[41]设计了一款光纤脊髓内固定物，在脊髓损伤时，利用嵌入式光学传感器观察光透射损耗的纤维弯曲，感知损伤期间脊髓所承受的内部负荷，具有良好的力学性能和感知能力，压缩感知阈值与猪脊髓相似，且具有优异的可重复性。

目前3D生物打印生物材料不能充分模拟人体组织和器官的生物复杂性和多样性，需要扩展适用的3D生物打印墨水的种类，优化其打印支架的理化性质，利于支撑脊髓损伤区域，防止空间结构坍塌和瘢痕缠结。新开发的生物墨水和3D生物打印构造必须满足相互匹配的要求，包括最佳打印状态、打印结构和生物学效果，结合体外模型和体内组织/器官进行特异性评估。3D生物打印结合了生物墨水和目标细胞，将生物墨水中所含细胞定位到特定组织替代结构中的位置，制备病变或损伤组织的替代品。然而脊髓损伤不仅是轴突的连续性中断，其根本原因是轴突传导的神经电信号环路的不可逆破坏[42]。脊髓内的内源性生物电信号在维持神经元功能、神经突生长和神经再生中发挥着不可或缺的作用。因此，3D生物打印支架内部及生物支架与组织连接处的神经电信号传导效率至关重要。

2.4 增强神经电信号传导

Rowan等[43]制备了柔软可伸缩的微电极阵列与双光子3D生物打印微夹神经接口。该神经接口体积小，可减少对宿主组织的干扰，与神经周围密切接触，能避免使用缝线或粘接剂干扰神经传导，可在一定压力下低阈值刺激调节神经放电功能。双层电极引线增加空间分辨率，降低了生物力学特性与

神经不匹配的概率。双光子3D生物打印微夹神经接口具有电机械坚固特性，能够稳定记录体内刺激微弱的神经活动。该神经界面利用生物电子医学和神经修复学，靶向针对神经系统富含的治疗性神经调节靶点，在选择性和侵入性之间进行权衡。Otchy等[44]制备了微型可植入设备纳米夹，可以长周期稳定记录行为相关的高信噪比神经活动，在装置范围内可以多维度控制多通道的电流刺激方向。Lissandrello等[45]采用直接激光写入技术设计和制造了微尺度的电极负载纳米钳，能与直径为50 μm的神经连接，该纳米钳体积小、容易植入，长时间保持微小神经原状。该神经界面解决了周围神经系统中微小神经的连接问题，未来有望成为治疗疾病的工具。Zhang等[46]模仿生物感觉和神经功能定制了人工知觉传递神经，摩擦电极通过梯度厚度介质层和网格表面结构检测多个像素的变化，探测并传递机械刺激的位置信息。在人工知觉传递神经上采用滑动模态输出信号来消除振幅的影响，具有可靠性、柔韧性、低成本和易安装的特点。该人工知觉传递神经能够仿生识别和传输刺激位置反馈神经信号，可作为人工智能感官神经系统和人机交互的研究基础。Aleemardani等[47]发现脱细胞石墨烯涂层神经导管可以修复完全横断神经损伤（最大间隙30 mm），恢复神经电信号的传导。Wang等[48]以聚L-丙交酯-己内酯为材料，采用静电纺丝技术和氧化石墨烯涂层技术制备不同的超细纤维图案，在电刺激下沿着导电微纤维诱导形成神经元样网络，促进神经突生长并形成定向类神经元网络。

石墨烯通过促进电信号超低损耗传导并调控代谢活动，可以有效恢复神经功能。作为一种新兴的导电纳米材料，其具有独特的拓扑特性，二维拓扑绝缘体的表面态被称为螺旋表面态，当电子处在这样的状态时，它在前进过程中不会被杂质散射，可以实现无能耗的传输[49]。石墨烯和石墨烯基质材料应用于制造电活性导电表面，可以增强神经细胞的分化和增殖，诱导干细胞分化，引导形成神经元网络，促进神经电信号传导，以恢复损伤的神经系统。还可以结合多种材料进行3D生物打印，包括静电纺丝纤维、薄膜、泡沫和水凝胶等，具有联合制造的优势和前景。

生物电子医学新兴领域寻求解码和调节神经系统信号靶向控制器官和效应器，该领域中应用电流刺激方法在很大程度上依赖于电极设备，但尺寸的可伸缩性、外接接口适用材料、精细制造、手术可行性、生物力学动态变化和植入环境研究等存在重大技术挑战。

2.5 基因治疗

Ma等[50]通过微阵列和三代测序技术分析得出脊髓损伤区域与已修复组织中环状RNA（circRNA）的表达发生改变，进一步确定了特异性差异表达的circRNA（circ-HIPK3、cicRNA.7079、circRNA_01477、 circRNA-2960 和 circ_0001723）可以通过相关microRNA对脊髓损伤修复和再生过程中神经细胞产生影响，包括调控神经元凋亡、星形胶质细胞活化和神经炎症反应。由此可见，circRNA及其靶向microRNA有望成为治疗脊髓损伤的有效候选者。Zhang等[51]建立了大鼠脊髓缺血/再灌注损伤模型，发现miR-101a-3p模拟物通过抑制MYCN和p53信号通路改善了脊髓缺血/再灌注损伤诱导的神经细胞凋亡和炎症。因此，miR-101a-3p模拟疗法可能是脊髓缺血/再灌注损伤的潜在治疗选择。

目前，基因治疗研究主要是将特定基因作为目的基因，实际上脊髓再生机制复杂而多样，不同时期的修复机制在不断变化，特定基因的研究往往像庞大交互网络中的一个点，基因之间的相互作用和整合机制尚不清楚，期待只转入某种特定基因就解决脊髓再生修复的问题是不切实际的。

与此同时，中枢神经系统针对特定基因仍存在免疫排斥反应。解决方法之一是开发免疫逃逸技术（类似肿瘤细胞逃逸），而此方法的机制尚处于探索阶段，机制尚未阐明且输出制造不稳定。方法之二是移植搭载特定基因的自体细胞，而在脊髓组织中受体细胞的存活和表达仍存疑。方法之三是移植搭载特定基因的生物支架，而支架与基因的相互作用和持续释放能力仍在研究中。因此在免疫逃逸机制的研究、自体细胞移植的技术方法、基因表达的调控、生物支架与基因的适配性等方面任重而道远，需要更加深入和稳定的研究成果。

3 3D生物打印支架改善脊髓损伤并发症的临床应用

脊髓损伤的致病机制具有多样性和复杂性，3D生物打印在该领域的应用多以细胞实验、动物实验和机制研究为主，极少数研究成果完成临床转化。然而脊髓损伤患者却饱受病痛之苦，其生存条

件、生活质量和经济负担仍然难以改善。因此在临床研究中，多采用3D生物打印技术改善脊髓损伤后并发症以缓解预后，根据并发症的发生类型，恢复患者的部分功能，目前临床研究已可以改善手腕抓持能力、缓解脊柱疼痛和治疗体温失衡等。

3.1 改善手腕抓持能力

Yoo等[52]利用3D生物打印技术制备聚乳酸材质的手部穿戴设备，手部矫形器由肌电图控制，增强了肌腱的抓持力，辅助患者抓取，恢复进食功能，无任何副作用，是一种有效改善日常生活手部功能的外骨骼系统。Portnova等[53]采用3D生物打印技术制备腕部驱动矫形器，可以提高抓握强度和改善手部功能，其优势为组装时间较短（1.5 h）和成本低廉（$15），原始软件为开源性，允许外界访问并在此基础上进行二次代码创新。Burns等[54]利用3D生物打印技术和柔性传感器策略，制备能够监测手部运动的仪器手套，观察手部的动态变化，帮助临床医生和物理治疗师对患者进行诊断、治疗和康复。Shin等[55]通过3D生物打印定制电动轮椅操纵杆，该设备符合手功能障碍患者需求，能够提高手部功能障碍患者的驾驶能力和满意度。

3.2 缓解脊柱疼痛

Hale等[56]根据患者临床数据，通过3D生物打印定制个性化颈椎/腰椎矫正佩戴器，改善患者依从性，同时减轻脊柱疼痛，延缓脊柱病情恶化。

3.3 治疗体温失衡

Chen等[57]利用多材料立体光刻技术制备水凝胶致动器，这是一种化学/力学响应水凝胶材料，在温度降低时（<30°C），设备增压驱动，孔隙关闭；在温度升高时（>30°C），孔隙扩张，使局部排汗。该设备可以通过自主排汗维持稳定体温，可有效解决脊髓损伤后体温失衡的并发症。

4 结论

脊髓损伤是一种尚无有效治疗方案的中枢神经系统疾病，对个人、家庭和社会产生严重的负面影响。中枢神经系统结构的破坏导致轴索连接中断，脊髓损伤后的抑制环境导致神经元胞体和相关支持细胞的丧失。神经组织工程研究致力于平衡脊髓微环境，有效衔接生物支架与神经细胞，以修复脊髓组织结构和神经细胞功能。3D生物打印是一种非常有吸引力的技术，在脊髓损伤的部位，可降解的生物材料填充空腔，传导治疗性细胞/因子/药物，并为移植或宿主细胞提供吸附部位。一些可再生的生物材料还可以抑制细胞凋亡、炎症和胶质疤痕的形成，或进一步促进神经发生、轴突生长和血管生成。另一方面，复合单元结构中成分、比例、大小、配置和彼此连接仍然是该技术的一个挑战。本文详细讨论了不同生物单元和脊髓损伤修复策略的实验研究，在3D生物打印支架尚未应用于临床时，通过改善脊髓损伤并发症的实际应用，提升患者的预后生活质量，未来应进一步以临床需求为导向，开展可持续性临床转化研究。

参 考 文 献

[1] FAN B Y, WEI Z J, YAO X, et al. Microenvironment imbalance of spinal cord injury[J]. Cell Transplant, 2018, 27(6): 853-866.

[2] 冯世庆. 脊髓损伤基础研究的现状和展望[J]. 中华实验外科杂志, 2021, 38(7): 1193-1198.

[3] HUANG H Y, YOUNG W, SKAPER S, et al. Clinical neurorestorative therapeutic guidelines for spinal cord injury (IANR/CANR version 2019)[J]. J Orthop Translat, 2020, 20: 14-24.

[4] 王健豪, 刘洋, 付玄昊, 等. 3D生物打印组织工程支架联合骨髓间充质干细胞移植修复脊髓损伤[J]. 中华骨科杂志, 2021, 41(4): 376-385。

[5] ROTH S, SEHMISCH S, DECKER S. 3D printing in spinal surgery-Update[J]. Der Unfallchirurg, 2022, 125 (5): 351-360.

[6] SUN Y, YANG C, ZHU X, et al. 3D printing collagen/chitosan scaffold ameliorated axon regeneration and neurological recovery after spinal cord injury[J]. J Biomed Mater Res A, 2019, 107(9): 1898-1908.

[7] SUN F, SHI T, ZHOU T, et al. 3D poly(Lactic-co-glycolic acid) scaffolds for treating spinal cord injury[J]. J Biomed Nanotechnol, 2017, 13(3): 290-302.

[8] LI X H, ZHU X, LIU X Y, et al. The corticospinal tract structure of collagen/silk fibroin scaffold implants using 3D printing promotes functional recovery after complete spinal cord transection in rats[J]. J Mater Sci Mater Med, 2021, 32(4): 31.

[9] CHEN C, ZHAO M L, ZHANG R K, et al. Collagen/heparin sulfate scaffolds fabricated by a 3D bioprinter improved mechanical properties and neurological function after spinal cord injury in rats[J]. J Biomed Mater Res A, 2017, 105(5): 1324-1332.

[10] KAPLAN B, MERDLER U, SZKLANNY A A, et al.

Rapid prototyping fabrication of soft and oriented polyester scaffolds for axonal guidance[J]. Biomaterials, 2020, 22(251): 120062.

[11] KO C H, SHIE M Y, LIN J H, et al. Biodegradable bisvinyl sulfonemethyl-crosslinked gelatin conduit promotes regeneration after peripheral nerve injury in adult rats[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 17489.

[12] ESPINOSA-HOYOS D, JAGIELSKA A, HOMAN K A, et al. Engineered 3D-printed artificial axons[J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 478.

[13] DA SILVA K, KUMAR P, CHOONARA Y E, et al. Preprocessing of medical image data for three-dimensional bioprinted customized-neural-scaffolds[J]. Tissue Eng Part C Methods, 2019, 25(7): 401-410.

[14] KONG J S, HUANG X, CHOI Y J, et al. Promoting long-term cultivation of motor neurons for 3d neuromuscular junction formation of 3d in vitro using central-nervous-tissue-derived bioink[J]. Adv Healthc Mater, 2021, 10 (18): e2100581.

[15] KOFFLER J, ZHU W, QU X, et al. Biomimetic 3D-printed scaffolds for spinal cord injury repair[J]. Nat Med, 2019, 25(2): 263-269.

[16] LIU X, HAO M, CHEN Z, et al. 3D bioprinted neural tissue constructs for spinal cord injury repair[J]. Biomaterials, 2021, 272: 120771.

[17] RODRÍGUEZ-SÁNCHEZ D N, PINTO G B A, CARTAROZZI L P, et al. 3D-printed nerve guidance conduits multi-functionalized with canine multipotent mesenchymal stromal cells promote neuroregeneration after sciatic nerve injury in rats[J]. Stem Cell Res Ther, 2021, 12(1): 303.

[18] DE MELO B A G, CRUZ E M, RIBEIRO T N, et al. 3D bioprinting of murine cortical astrocytes for engineering neural-like tissue[J]. J Vis Exp, 2021, (173).

[19] HUANG J, YAP N, WALTER M, et al. 3D-printed polypyrrole microneedle arrays for electronically controlled transdural drug release[J]. ACS Biomaterials Science & Engineering, 2022, 8(4): 1544-1553.

[20] WANG J H, KONG X H, LI Q, et al. The spatial arrangement of cells in a 3D-printed biomimetic spinal cord promotes directional differentiation and repairs the motor function after spinal cord injury[J]. Biofabrication, 2021, 13(4).

[21] JOUNG D, TRUONG V, NEITZKE C C, et al. 3D printed stem-cell derived neural progenitors generate spinal cord scaffolds[J]. Adv Funct Mater, 2018, 28(39): 1801850.

[22] HUANG L, GAO J, WANG H, et al. Fabrication of 3d scaffolds displaying biochemical gradients along longitudinally oriented microchannels for neural tissue engineering[J]. ACS Appl Mater Interfaces, 2020, 12(43): 48380-48394.

[23] LI Y, CAO X, DENG W, et al. 3D printable sodium alginate-matrigel (SA-MA) hydrogel facilitated ectomesenchymal stem cells (EMSCs) neuron differentiation[J]. J Biomater Appl, 2021, 35(6): 709-719.

[24] JUG M. A 3d-printed model-assisted cervical spine instrumentation after tumor resection in a 4-year-old child: a case report[J]. Pediatr Neurosurg, 2021, 56(3): 254-260.

[25] CHA M, JIN Y Z, PARK J W, et al. Three-dimensional printed polylactic acid scaffold integrated with BMP-2 laden hydrogel for precise bone regeneration[J]. Biomater Res, 2021, 25(1): 35.

[26] SALARIS F, COLOSI C, BRIGHI C, et al. 3D bioprinted human cortical neural constructs derived from induced pluripotent stem cells[J]. J Clin Med, 2019, 8(10): 1595.

[27] 聂虎, 牛国旗, 周功, 等. 3D打印技术结合新型胸椎椎弓根螺钉钉道探测器辅助胸椎椎弓根植钉的临床应用[J]. 中国修复重建外科杂志, 2021, 35(5): 586-592.

[28] KAPLAN B, MERDLER U, SZKLANNY A A, et al. Rapid prototyping fabrication of soft and oriented polyester scaffolds for axonal guidance[J]. Biomaterials, 2020, 251: 120062.

[29] CADENA M, NING L, KING A, et al. 3D bioprinting of neural tissues[J]. Advanced Healthcare Materials, 2021, 10(15): e2001600.

[30] XU H T, ZHENG S, DONG R P, et al. Combined 3-dimensional printing model and 3-dimensional fluoroscopic navigation to assist C2 pedicle screw insertion: a case report[J]. Medicine, 2020, 99(43): e21838.

[31] LINDSAY C D, ROTH J G, LESAVAGE B L, et al. Bioprinting of stem cell expansion lattices[J]. Acta Biomater, 2019, 95: 225-235.

[32] KESHAVARZ M, WALES D J, SEICHEPINE F, et al. Induced neural stem cell differentiation on a drawn fiber scaffold-toward peripheral nerve regeneration[J]. Biomed Mater, 2020, 15(5): 055011.

[33] ZHENG J Y, MURUGAN M, WANG L X, et al. Microglial voltage-gated proton channel Hv1 in spinal cord injury[J]. Neural Regeneration Research, 2022, 17 (6): 1183-1189.

[34] LI P, XU Y, CAO Y, et al. 3D digital anatomic

angioarchitecture of the rat spinal cord: a synchrotron radiation micro-ct study[J]. Front Neuroanat, 2020, 14: 41.

[35] GRIGORYAN B, PAULSEN S J, CORBETT D C, et al. Multivascular networks and functional intravascular topologies within biocompatible hydrogels[J]. Science, 2019, 364(6439): 458-464.

[36] KINSTLINGER I S, SAXTON S H, CALDERON G A, et al. Generation of model tissues with dendritic vascular networks via sacrificial laser-sintered carbohydrate templates[J]. Nat Biomed Eng, 2020, 4(9): 916-932.

[37] REN H, CHEN X, TIAN M, et al. Regulation of inflammatory cytokines for spinal cord injury repair through local delivery of therapeutic agents[J]. Adv Sci, 2018, 5(11): 1800529.

[38] PAN H, ZHENG B, SHEN H, et al. Strength-tunable printing of xanthan gum hydrogel via enzymatic polymerization and amide bioconjugation[J]. Chem Commun, 2020, 56(23): 3457-3460.

[39] 曾柏方, 吴超, 李涛, 等. 3D打印皮外导板辅助微创椎弓根螺钉植入治疗多节段胸腰椎骨折[J]. 中国修复重建外科杂志, 2021, 35(6): 742-749.

[40] JIANG Y, JI Z, GUO F, et al. Side effects of CT-guided implantation of (125) I seeds for recurrent malignant tumors of the head and neck assisted by 3D printing non co-planar template[J]. Radiat Oncol, 2018, 13(1): 18.

[41] FACCHINELLO Y, WAGNAC É, UNG B, et al. Development of an instrumented spinal cord surrogate using optical fibers: a feasibility study[J]. Med Eng Phys, 2017, 48: 212-216.

[42] HALE L, LINLEY E, KALASKAR D M. A digital workflow for design and fabrication of bespoke orthoses using 3D scanning and 3D printing, a patient-based case study[J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 7028.

[43] ROWAN C C, GRAUDEJUS O, OTCHY T M. A microclip peripheral nerve interface (μcpni) for bioelectronic interfacing with small nerves[J]. Adv Sci, 2022, 9(3): e2102945.

[44] OTCHY T M, MICHAS C, LEE B, et al. Printable microscale interfaces for long-term peripheral nerve mapping and precision control[J]. Nat Commun, 2020, 11 (1): 4191.

[45] LISSANDRELLO C A, GILLIS W F, SHEN J, et al. A micro-scale printable nanoclip for electrical stimulation and recording in small nerves[J]. J Neural Eng, 2017, 14 (3): 036006.

[46] ZHANG Q, ZHANG Z, LIANG Q, et al. All in one, self-powered bionic artificial nerve based on a triboelectric nanogenerator[J]. Adv Sci, 2021, 8(12): 2004727.

[47] ALEEMARDANI M, ZARE P, SEIFALIAN A, et al. Graphene-based materials prove to be a promising candidate for nerve regeneration following peripheral nerve injury[J]. Biomedicines, 2021, 10(1): 73.

[48] WANG J, WANG H, MO X, et al. Reduced graphene oxide-encapsulated microfiber patterns enable controllable formation of neuronal-like networks[J]. Adv Mater, 2020, 32(40): e2004555.

[49] MANSOUR N M, PINO I P, FREEMAN D, et al. Advances in epidural spinal cord stimulation to restore function after spinal cord injury: history and systematic review[J]. Journal of Neurotrauma, 2022.

[50] MA X Z, WANG X S, MA X X, et al. An update on the roles of circular RNAs in spinal cord injury[J]. Molecular Neurobiology, 2022, 59(4): 2620-2628.

[51] ZHANG Z L, WANG D, CHEN F S. MicroRNA-101a-3p mimic ameliorates spinal cord ischemia/reperfusion injury [J]. Neural Regeneration Research, 2022, 17(9): 2022-2028.

[52] YOO H J, LEE S, KIM J, et al. Development of 3D-printed myoelectric hand orthosis for patients with spinal cord injury[J]. J Neuroeng Rehabil, 2019, 16(1): 162.

[53] PORTNOVA A A, MUKHERJEE G, PETERS K M, et al. Design of a 3D-printed, open-source wrist-driven orthosis for individuals with spinal cord injury[J]. PLoS One, 2018, 13(2): e0193106.

[54] BURNS M, ROSA R, AKMAL Z, et al. Design and implementation of an instrumented data glove that measures kinematics and dynamics of human hand[J]. Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc, 2021, 2021: 7229-7232.

[55] SHIN H D, AHN D H, LEE H A, et al. Customized power wheelchair joysticks made by three-dimensional printing technology: a pilot study on the environmental adaptation effects for severe quadriplegia[J]. Int J Environ Res Public Health, 2021, 18(14): 7464.

[56] HALE L, LINLEY E, KALASKAR D M. A digital workflow for design and fabrication of bespoke orthoses using 3D scanning and 3D printing, a patient-based case study[J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 7028.

[57] CHEN C, ZHAO M L, ZHANG R K, et al. Collagen/ heparin sulfate scaffolds fabricated by a 3D bioprinter improved mechanical properties and neurological function after spinal cord injury in rats[J]. J Biomed Mater Res A, 2017, 105(5): 1324-1332.