



3D生物打印技术及其在眼科的最新应用

杨芳^{1,2}, 王雁^{2,3,4*}, 赵新恒^{3,4}

1. 十堰市人民医院(湖北医药学院附属人民医院)眼科, 十堰 442000;

2. 天津医科大学眼科临床学院, 天津 300020;

3. 天津市眼科医院, 天津 300020;

4. 天津市眼科学与视觉科学重点实验室, 天津 300020

* 联系人, E-mail: wangyan7143@vip.sina.com

收稿日期: 2022-04-12; 接受日期: 2022-05-10; 网络版发表日期: 2022-06-24

摘要 3D生物打印技术是近年来出现的一种在数字三维模型驱动下, 按照一定增材制造原理定位装配生物材料及细胞单元, 以形成医疗器械、工程化组织、人工器官等制品的一种新兴技术. 它的出现可能解决器官移植供体来源紧缺的问题, 进而延续患者的生命或提高其生活质量. 在眼科领域, 可望通过“生物打印”构建眼球屈光系统组件, 3D生物打印蕴含着巨大的发展前景. 本文简述3D生物打印技术及其在眼科的最新应用, 报告当前的研究进展和未来的发展趋势, 旨在提高眼科医生和相关领域对3D生物打印技术在眼科应用方面的认识以期加速其开发和应用.

关键词 3D生物打印, 眼科, 人工角膜, 人工视网膜, 人工晶体

3D生物打印技术(3D bio-printing technology)是在计算机的控制下, 通过计算机辅助设计和计算机辅助制造, 将种子细胞、生物材料和生物分子精准地在空间上排列, 使之形成具有生物活性, 且与目标组织或生物器官接近、相同, 甚至功能更优越的组织或器官替代物^[1]. 在生物医药领域, 该技术通过对生物材料或活细胞进行3D打印, 可构建复杂生物三维结构如个性化植入体、可再生人工骨、体外细胞三维结构体、人工器官等^[1]. 以3D打印技术为基础的组织工程支架和器官打印技术的发展是目前3D打印技术研究的最前沿领域, 也是3D打印技术中最具活力和发展前景的方向之一.

目前可用的3D生物打印技术主要有以下几种类型(图1): 喷墨式生物打印技术、压力辅助生物打印技术、激光辅助生物打印技术、光固化立体印刷技术. 每种方法都有较广泛的研究, 均存在各自的优势和局限性. 目前利用3D生物打印技术已成功打印出骨骼^[2]、软骨^[3]、血管^[4]、皮肤^[5]、神经^[6]、角膜基质^[7]和人工耳^[8]等活体组织和器官. 由于3D生物打印所需的细胞由患者自身提供, 因此移植后不会产生免疫排斥反应. 利用这种技术, 医生可以打印出患者损伤前的组织或器官, 并移植到损伤部位, 修复受损伤的部位. 由于全球器官供应十分有限, 3D生物打印技术的出现无疑给那些等待器官供体的患者带来福音.

引用格式: 杨芳, 王雁, 赵新恒. 3D生物打印技术及其在眼科的最新应用. 中国科学: 生命科学, 2022, 52: 1060–1067

Yang F, Wang Y, Zhao X H. 3D bioprinting technology and its latest application in ophthalmology (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2022, 52: 1060–1067, doi: 10.1360/SSV-2021-0038

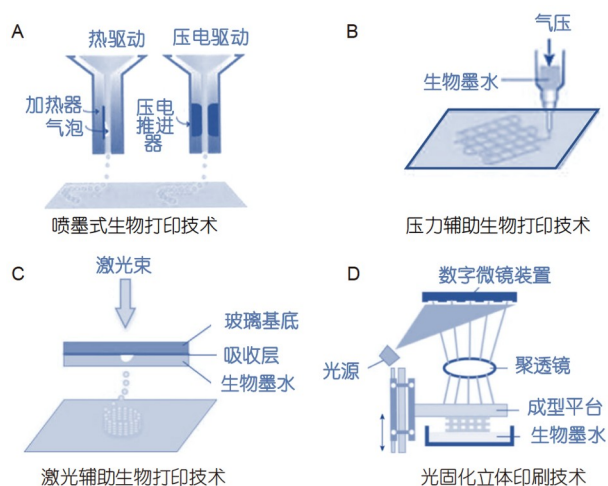


图 1 目前可用的3D生物打印技术(网络版彩图)

Figure 1 Currently available 3D bioprinting technology (Color online)

1 3D生物打印技术概述

1.1 3D生物打印技术的原理

3D生物打印的成型基本原理: 将生物材料形成一种熔化的或黏稠的液体, 或者凝胶(融合细胞材料), 放入材料墨盒并流出, 通过三轴机械系统控制的挤出头输送于打印托盘上, 通过物理或化学作用固化, 即可创造一个三维实体。在生物医学领域, 3D生物打印通常有2种路径: (i) 先打印出具有生物相容性的支架材料, 再将具有活性的细胞种植到支架材料上, 从而形成细胞-材料复合体, 然后将细胞-材料复合体植入组织缺损部位, 生物材料在逐步降解的同时, 种植的细胞不断增殖, 从而达到修复组织缺损的目的^[9,10]; (ii) 将细胞与支架材料直接混合打印^[11]。

1.2 用于3D生物打印材料的要求

基于生物应用指向的3D打印技术的打印材料组成与其他领域3D打印材料相比具有更多特殊要求。根据应用目的, 应考虑以下要求。首先, 可打印性: 材料的黏度、流变和凝胶化等性能直接影响到3D打印的可操作性, 决定打印制品的空间和时间分辨率^[1]。其次, 生物相容性: 包含生物安全性和生物功能性两方面, 不仅要求材料有很低的毒性及不引起机体的任何不良反应, 而且要求材料能在特定的应用中激发机体的相应功能^[12]。再次, 可降解性: 包括材料的降解速度可控性、与组织再生速度的匹配性、降解产物安全性、材

料的溶胀和收缩特性等^[1]。另外, 机械性能也需考虑: 3D打印的材料往往具有支撑细胞和组织三维结构的作用, 针对特定的组织类型, 材料打印后须具有不同的力学强度和微结构, 尤其是材料的孔隙和机械性能, 从而为细胞提供附着、增殖和分化的稳定环境^[13]。最后, 仿生学特性也应顾及, 材料仿生学特性有利于刺激细胞响应, 在生物材料中掺入生物活性组分可对内源或外源细胞的黏附、迁移、增殖及功能表达产生积极作用^[14,15]。此外, 材料表面性质如化学基团的修饰、粗糙度、亲疏水性、微纳米结构等直接影响到细胞的铺展形状、分化过程、运动、取向、细胞骨架的组装, 甚至是细胞内部的相关信号通路^[16]。

1.3 3D生物打印的应用层次

3D生物打印涵盖的内容十分广泛, 根据打印材料的不同可将其分为4个层次的应用: 个性化体外模型制造^[17,18]、个性化植入体制造^[19-21]、可降解组织工程支架制造^[10,22]和细胞三维结构体的人工构建^[23-25]。这4个层次生物3D打印对生物医学领域的基础研究、药物筛选和临床应用都具有重要的促进作用。但目前的印刷技术只能完成相对简单的组织结构和生物功能, 含有活细胞的3D组织或器官生物打印仍然处在非常早期的探索阶段。

2 3D生物打印在眼科方面的研究

3D生物打印在眼科领域的应用与其他医学领域在概念上并无不同。内眼特别是眼前节的可及性, 再加上眼睛的免疫赦免状态, 以及可用于诊断和识别各种眼部状况的众多工具, 使眼睛成为实施3D打印的沃土。生物相容性材料的进步和自体干细胞的使用增强了植入物的适应性, 并降低了由植入物引起的排斥和刺激的风险。理论上眼部组织如角膜、眼睑、巩膜、虹膜、晶状体等都可进行3D生物打印, 打印出的组织可用于相应部位的移植, 有着非常广泛的应用前景, 但目前其在眼科领域仍处于研究阶段(图2)。

2.1 在角膜领域的基础和临床研究

全球角膜移植的需求呈上升趋势, 开发生产类似角膜结构的需求也逐年升高。因为角膜混浊失明的患者, 复明主要依赖角膜移植, 需移植的角膜又主要来

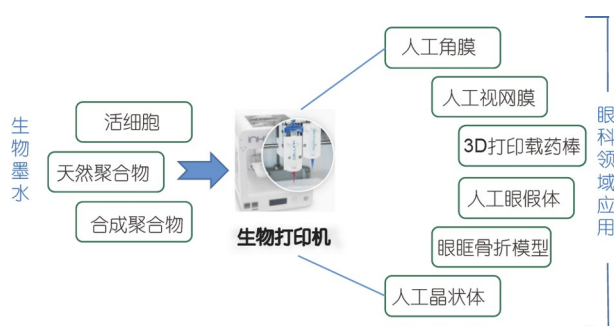


图2 3D生物打印在眼科领域的应用(网络版彩图)

Figure 2 Application of 3D bioprinting in ophthalmology (Color online)

源于捐献,来源非常有限,相当多的患者失去复明的机会。与其他组织相比,角膜具有许多生物打印的优势,因为它在细胞水平上相对均一,代谢需求极低,并且完全无血管。如果能成功运用3D打印技术打印出人造的角膜,则可为角膜盲的病人带来希望。

目前已有许多研究团队通过3D生物打印技术实现了角膜支架的构建。Wu等人^[26]用3D打印机打印出人角膜上皮细胞-胶原蛋白-明胶-海藻酸盐水凝胶三维复合物,在这种复合物中人角膜上皮细胞具有较高的细胞增殖速率和较高的细胞角蛋白表达。该研究探索了一种以3D生物打印技术为基础构建的新型海藻酸盐三维角膜细胞培养系统,为解决3D打印角膜支架中细胞的存活和增值提供了理论基础。Isaacson等人^[27]将来自健康供体角膜的人角膜基质细胞与海藻盐酸和胶原蛋白混合在一起,形成了一种可以打印角膜基质的“生物墨水”,通过3D生物打印制造出角膜基质,其中的角膜基质细胞在印刷后第1天和第7天都显示出高的细胞活力(分别为>90%和83%)。Duarte Campos等人^[28]也证实生物打印后的角膜基质细胞在生物打印过程中仍然存活,并在体外培养7天后保持其固有的树突状形态和角质细胞表型。近期已有国内团队证明了3D打印的仿生上皮/基质双层植入物用于角膜再生的可行性,利用甲基丙烯酸明胶(methacrylate gelatin, GelMA)和长链聚乙二醇二丙烯酸酯(poly(ethylene glycol) diacrylate, PEGDA)共混作为双组分墨水,通过数码光处理(digital light processing, DLP)印刷技术打印的PEGDA-GelMA水凝胶支持细胞的黏附、增殖、迁移,同时表现出较高的透光率,以及适当的溶胀度、营养物质的渗透率和降解率^[29]。由负载兔角膜上皮细胞的上皮层和负载兔脂肪间充质干细胞正交排列的纤维基质

层打印出的双层穹顶状角膜支架表现出高保真性和强大的手术处理能力,这种双层细胞负载的角膜支架被移植于兔角膜缺损模型,术后显示角膜缺损区的有效封闭、再上皮化和基质再生^[29]。这种3D打印的角膜支架微结构与上皮和基质层中细胞的精确定位相结合,为角膜再生提供了最佳的地形学和生物学微环境。也有研究团队将DLP和挤压生物打印结合到一个集成的3D角膜生物打印系统中,基于数学模型和计算机断层扫描技术,设计了一种可设计的个性化角膜替代物,该曲面薄膜符合自然人体角膜结构特征的高含水量、高透光率的特点,且具有几何特征^[30]。尽管研究结果令人震惊和兴奋,但目前3D打印的人工角膜并不能直接用于移植,还需要更多的测试来确定其安全性和临床适应性,距离真正临床使用的那一天仍然还有一段距离要走。

近年来干细胞在角膜组织工程领域的研究越来越广泛,因为与同种异体分化的基质细胞(例如角质形成细胞或成纤维细胞)相比,将干细胞整合到基质中的优势在于其修复能力和增殖能力以及非免疫原性的潜力。激光印刷的人胚胎干细胞来源的角膜缘上皮干细胞(human embryonic stem cell derived limbal epithelial stem cells, hESC-LESCs)显示出上皮细胞形态。另外,人脂肪组织衍生干细胞(human adipose tissue derived stem cells, hASCs)因其高度可用性以及分化为角膜上皮细胞的能力已经在体外和体内研究中得到证实^[31,32]。自体hASCs已通过临床试验证实可用于治疗角膜基质疾病^[33]。hASCs还具有优异的免疫调节特性,可减少植入部位发生炎症^[34]及抗瘢痕的特性^[35]。Sorikio等人^[36]运用激光辅助生物打印技术和人类干细胞成功制作三维角膜模拟组织,采用hESC-LESCs打印上皮模拟结构, hASCs用于构建层状基质模拟结构,构建的3D角膜结构表现出良好的机械性能,激光辅助生物打印后没有额外的生物交联。将该基质构建体植入猪角膜器官培养物中,7天后显示出对胶原蛋白I的阳性标记,基质附着于宿主组织, hASCs有从印刷结构迁移的迹象且这两种细胞在印刷后都保持良好的活力。14天后,角膜模拟组织厚度减少到300 μm,但细胞存活、增殖并排列成模拟天然角膜基质的层状组织。此项研究证明了使用人类干细胞通过3D激光辅助生物打印技术打印出角膜模拟组织的可行性,但在机体内的应用需要进一步的体内功能研究。

在生物相容性方面, 3D打印的脱细胞角膜基质也表现优异. 在最近的一项研究中^[37], 3D生物打印的脱细胞胶原移植片被植入5只兔子的角膜基质层, 植入移植片后, 使用光学相干断层扫描(optical coherence tomography, OCT)对兔角膜进行了监测, 每两周获取前节OCT图像和平均幅度扫描图, 以监测植入1个月后的角膜厚度, 通过对深度强度分布图的图像分析, 角膜厚度仅减少了34 μm , 从而确认了其良好的生物相容性.

在2020年的一项研究中^[38], 美国的一个团队设计了一种通过微转移成型串联3D生物打印角膜基质的新颖方法, 通过质量设计技术优化了生物墨水, 并利用G代码以高通量方式复制了组织模型. 为了保持角膜的曲率, 使用立体光刻打印机设计了支撑支架, 该支撑支架可以一次打印6~12个角膜, 从而实现高通量打印. 将人角膜基质细胞整合到优化的生物墨水中, 并打印载有细胞的角膜基质等效物, 印刷的角膜能够保持其结构、完整性和清晰度, 角膜基质细胞在2周内保持较高的生存力(>95%).

人角膜内皮细胞(human corneal endothelial cells, HCECs)在体内几乎不增殖. 但是, Kim等人^[39]采用3D生物打印技术将高表达核糖核酸酶(ribonuclease, RNase)5的HCECs沉积在冻干羊膜(amniotic membrane, AM)上, 制备出RNase5载体转染HCECs的可移植羊膜移植片(R5-Graft), 将其移植到兔角膜内皮缺失模型上, 从移植后2周开始, R5-Graft开始恢复兔角膜的透明性, 第3~4周时, R5-Graft组的角膜中央水肿明显轻于对照组, 角膜内皮表型标志物的体外表达明显升高. 用培养的人脐静脉内皮细胞构建的角膜内皮细胞在体内很容易存活并可作为角膜内皮细胞发挥作用, 高表达RNase5的HCECs可能是获得更高移植细胞密度和增强移植功能的一种选择.

尽管上述生物打印方法是实现角膜再生有前途的方法, 但它们仍需要在合适的动物模型中进行长期的体内评估, 植入后细胞活性以及基质再生能力的证明, 例如无疤痕愈合和新胶原蛋白的产生等. 人类角膜组织工程的主要目标是创造全厚度的人工角膜, 其中复杂基质的重建是最苛刻的部分. 总结到目前为止提出的结果, 没有一种生物打印方法能够满足所有要求.

2.2 在视网膜视神经领域中的应用

视网膜神经节细胞是该领域应用3D生物打印技

术的热点. Lorber等人^[40]通过实验证实了应用3D喷墨打印技术, 按照设计的细胞排列方式, 成功打印出大鼠视网膜神经节细胞和神经胶质细胞三维细胞团. 该研究证明了两种类型的成年大鼠视网膜细胞可以通过3D打印机进行细胞混合打印, 而3D打印未对细胞增殖活力产生影响, 且印刷的神经胶质细胞在用作底物时保留了其促进生长的特性, 这为再生医学中印刷中枢神经系统移植开辟了新途径. Kador等人^[41]利用3D热喷墨打印技术, 将视网膜神经节细胞精确打印在静电纺丝支架表面形成复合体, 当将这一复合体置于含有脑源性神经营养因子(brain derived neurotrophic factor, BDNF)和睫状神经营养因子(ciliary neurotrophic factor, CNTF)的培养基中培养后, 视网膜神经节细胞能够持续生长, 并且具有正常的电生理功能, 同时神经节细胞的轴突呈现放射状生长. 该研究表明3D打印技术能够将视网膜细胞精确打印于静电纺丝支架表面, 从而为将来进行人工视网膜模型的设计研究奠定基础, 若将能够降解的水凝胶基质与电纺支架相结合, 利用3D打印精确定位视网膜神经节细胞, 有望模拟视网膜组织, 甚至实现视网膜的移植.

哺乳动物的视网膜包含多个细胞层, 每个细胞层执行一项特定的任务. 视网膜光感受器细胞的培养仍然具有挑战性, 因为在没有视网膜色素上皮(retinal pigment epithelium, RPE)细胞的情况下, 外节的脱落和视觉特异性蛋白的极少表达使它们很容易发生形态变化. 此外, 培养RPE细胞需要特定的Bruch膜模拟底物. 随着在单层RPE上对光感受器细胞进行3D生物打印技术的出现, 重塑视网膜的天然层次成为可能. 为了制造这种分层的视网膜结构, Masaeli等人^[42]提出了一种独特的喷墨打印系统, 用于在生物打印的RPE上精确沉积光感受器细胞层, 生物打印后, 视网膜色素上皮和光感受器细胞均呈现层状结构, 并表达其标志物, 而且还发现相当数量的人血管内皮生长因子(human vascular endothelial growth factor, hVEGF)从打印的RPE层释放出来, 这证实了生物打印后形成了功能性RPE层, 通过透射电子显微镜观察到生物打印细胞的微观结构以及顶端RPE微绒毛对感光细胞外节的吞噬作用. Wang等人^[43]通过3D生物打印透明质酸水凝胶, 并在RPE的支持下, 使视网膜前体细胞共分化为视网膜光感受器细胞, 从而整合物理和化学信号. 由此可见, 使用3D生物打印方法, 有可能建立一个合理的体

外视网膜模型,用于研究一些严重威胁视力的疾病,如老年性黄斑变性和视网膜色素变性等。

视网膜血管疾病的临床治疗,由于药物半衰期短,需要反复玻璃体内注射药物,给患者带来健康和经济负担。在最近的一项研究中^[44],研究者们开发了一种通过3D生物打印制造的载药棒,这一载药植入物可提供两种药物(贝伐珠单抗和地塞米松),通过同轴打印技术使这两种药物在同一位点以不同的动力学释放,将载药棒注入大鼠玻璃体腔,与传统的玻璃体内注射相比,载药棒控制药物的释放并延长了治疗时间,因此,载药棒对抗血管形成的可控和扩展的治疗作用为重重复注射抗hVEGF药物提供了替代选择。

2.3 在眼眶手术填充材料和义眼制作方面的应用

继发于眼恶性肿瘤和严重的眼外伤眼球摘除术后,3D打印可以协助人工眼假体的设计和制造过程,它可以帮助进行复杂的眼假体重建过程。Ruiters等人^[45]提出了首款针对患者定制的眼科假体,该假体是通过3D打印实现的。该研究是基于计算机辅助设计和计算机辅助制造的定制眼用假体制造新方法,这是借助3D打印设计的定制眼用假体的首例。

在个体化眼眶手术填充材料的研究方面,我国研究者也已经开始了初步探索,陈明等人^[46]研究发现47例单纯性眶壁骨折患者在植入三维预成型钛网后均得到比较精确的解剖修复,在临床上可显著改善眼球内陷和复视。尝试通过对比20例手术植入三维计算机技术辅助下预成型钛网患者与20例植入传统预成型钛网患者在眼眶骨折修复术后眶腔容积方面的差异性,认为在三维打印眼眶骨折模型基础上制作的预成型钛网与骨折各缘贴合完整,基本达到了眼眶的解剖学复位,明显优于对照组。在三维打印眼眶骨折模型的基础上制作预成型钛网,有助于提高眼眶骨折的手术效果。

Ruiters等人^[45]通过计算机辅助设计,三维打印制作出更符合患者需要的义眼假体,并将三维打印义眼材料手术植入患者眼眶,真正意义上实现了眼眶个体化治疗。

2.4 在人工晶状体方面的应用

光学镜片的三维印刷在眼科领域具有重要意义,因为它可以促进未来人工晶体光学特征和形状的完全定制。最近的一项研究^[47]证实了使用半透明的柔软材

料来创建3D打印的可折叠人工晶体的可能性,该团队展示了由类聚甲基丙烯酸甲酯的光敏聚合物材料通过光固化3D打印制备的人工晶体复制品,尽管这种双凸透镜显示出可接受的透明度(可见光谱中的平均透光率为75%),但该复制品远达不到当前的临床标准。

3 局限性和挑战

3D生物打印组织或器官模型是一个具有广阔临床应用前景的研究领域,生物打印技术在研究早期阶段就显示出巨大的潜力,许多体内外实验已表明生物打印人造器官的可行性。3D打印技术应用于医学领域的成效相当显著,但同时也伴随着无数的挑战和困难,如3D生物打印技术构建的组织仍然存在强度不足、存活时间短等难题。3D生物打印研究还处于起步阶段,随着工艺学、细胞培养模式及数字化计算机技术的快速发展,将为复杂组织器官再造提供巨大的潜力。随着3D打印技术的进步,可能会逐步解决器官移植面临的供体缺乏、免疫排斥等问题。

目前3D打印技术的应用主要局限于制造结构相对简单、无需复杂供血的组织器官,如人造内耳、皮肤、骨骼等。最主要的问题是大部分人体组织和器官都是有血管系统的,需要得到足够的供血才能保持生物活性和功能性,即使打印出外形上无可挑剔的器官,但其中缺少血液供应,组织和器官就不可能存活。另外,尽管3D生物打印具有高精度与再现性,但打印的器官和功能组织仍然需要“生物黏合剂”逐层装配。目前主要的技术壁垒是要有合适的生物墨水,它应具有良好的生物相容性、适印性和机械强度,以实现生物学功能,需要开发高黏弹性生物墨水,以达到结构体的长期稳定和维持打印后细胞的高存活率。

在眼科领域中,3D打印技术的应用时间不长,尚处于起步阶段,3D打印支架具有吸引力,因为它们具有适合大规模生产的可能性和可控制的生产过程,且可以根据患者的角膜状况和地形图指导下打印个性化的特定于患者的特定结构。目前可用于眼科的三维打印材料种类和性能有限,三维生物材料打印也尚处于探索阶段,仍需要广大眼科研究者进一步深入研究,攻克技术难题,使该技术能够尽早应用于眼科临床工作。尽管如此,研究者们已看到未来使用三维打印技术制作人造眼组织的发展潜力和应用空间^[48],例

如, 利用复合印刷技术精确控制角膜形状, 以实现角膜形状相关功能的控制和重建, 实现个性化的角膜替代品的定制; 微纳米打印技术的研究和开发, 以实现角膜微结构的研究和重建, 从原理上探讨角膜细胞的微结构、新陈代谢、迁移以及角膜功能的作用和意义, 以更好地了解解剖学和角膜生理; 压电喷墨 3D 生物打印技术能够提供眼科手术所需的多功能性、高灵敏度和准确性^[49]; 3D 生物打印还可提供多合一的构建方案, 该方案可为体外角膜快速构建全厚度、全结构的角膜模型, 并提供动物实验以外的解决方案。

虽然 3D 打印首次出现于 30 年前, 然而, 仅在近 5 年

中, 随着 3D 打印的医疗相关对象和设备呈指数增长, 该技术在医疗保健中的实现和使用凸显重要。3D 打印的优点是可以个性化定制, 快速生产, 每个项目的形状和设计都独一无二。生物打印技术的进步在临床应用的可能性正在不断增加。具有生物功能的人工角膜、人工晶状体、人工视网膜, 甚至眼球等器官组织, 未来可以解决供体器官稀缺的难题, 同时由于系自体的组织细胞分化, 可最大程度降低组织排斥反应, 同时满足其终生免疫抑制的需要, 更具备仿生生物功能^[50]。相信 3D 生物打印技术在未来必将推动眼科诊疗技术快速提高和引发材料的新变革, 加快医学和眼科的发展。

参考文献

- Murphy S V, Atala A. 3D bioprinting of tissues and organs. *Nat Biotechnol*, 2014, 32: 773–785
- Holmes B, Bulusu K, Plesniak M, et al. A synergistic approach to the design, fabrication and evaluation of 3D printed micro and nano featured scaffolds for vascularized bone tissue repair. *Nanotechnology*, 2016, 27: 064001
- Mandrycky C, Wang Z, Kim K, et al. 3D bioprinting for engineering complex tissues. *Biotechnol Adv*, 2016, 34: 422–434
- Pinnock C B, Meier E M, Joshi N N, et al. Customizable engineered blood vessels using 3D printed inserts. *Methods*, 2016, 99: 20–27
- Lee V, Singh G, Trasatti J P, et al. Design and fabrication of human skin by three-dimensional bioprinting. *Tissue Eng Part C-Methods*, 2014, 20: 473–484
- Owens C M, Marga F, Forgacs G, et al. Biofabrication and testing of a fully cellular nerve graft. *Biofabrication*, 2013, 5: 045007
- Engelhardt S, Hoch E, Borchers K, et al. Fabrication of 2D protein microstructures and 3D polymer-protein hybrid microstructures by two-photon polymerization. *Biofabrication*, 2011, 3: 025003
- Mannoor M S, Jiang Z, James T, et al. 3D printed bionic ears. *Nano Lett*, 2013, 13: 2634–2639
- Huh D, Torisawa Y, Hamilton G A, et al. Microengineered physiological biomimicry: organs-on-chips. *Lab Chip*, 2012, 12: 2156
- Inzana J A, Olvera D, Fuller S M, et al. 3D printing of composite calcium phosphate and collagen scaffolds for bone regeneration. *Biomaterials*, 2014, 35: 4026–4034
- Ventola C L. Medical applications for 3D printing: current and projected uses. *P&T (Lawrenceville, N.J.)*, 2014, 39: 704–711
- Ni S, Li X, Yang P, et al. Enhanced apatite-forming ability and antibacterial activity of porous anodic alumina embedded with CaO-SiO₂-Ag₂O bioactive materials. *Mater Sci Eng-C*, 2016, 58: 700–708
- Murphy S V, Skardal A, Atala A. Evaluation of hydrogels for bio-printing applications. *J Biomed Mater Res B Appl BioMater*, 2013, 101A: 272–284
- Zhu W, Xu C, Ma B P, et al. Three-dimensional printed scaffolds with gelatin and platelets enhance *in vitro* preosteoblast growth behavior and the sustained-release effect of growth factors. *Chin Med J*, 2016, 129: 2576–2581
- Sterner E, Masuko S, Li G, et al. Fibroblast growth factor-based signaling through synthetic heparan sulfate blocks copolymers studied using high cell density three-dimensional cell printing. *J Biol Chem*, 2014, 289: 9754–9765
- Page H, Flood P, Reynaud E G. Three-dimensional tissue cultures: current trends and beyond. *Cell Tissue Res*, 2013, 352: 123–131
- Kawaguchi Y, Nakano M, Yasuda T, et al. Development of a new technique for pedicle screw and Magerl screw insertion using a 3-dimensional image guide. *Spine*, 2012, 37: 1983–1988
- Huang X, Li F N, Zhang F, et al. An individualized navigation template based on the three-dimensional printing technique: application to the occipital condyle screw insertion (in Chinese). *Chin J Spine Spinal Cord*, 2014, 24: 440–446 [黄轩, 李凤宁, 张帆, 等. 基于三维打印技术的个性化导航模板在枕髁螺钉植入中的应用. 中国脊柱脊髓杂志, 2014, 24: 440–446]

- 19 Chen Q, Mangadlao J D, Wallat J, et al. 3D printing biocompatible polyurethane/poly(lactic acid)/graphene oxide nanocomposites: anisotropic properties. [ACS Appl Mater Interfaces](#), 2017, 9: 4015–4023
- 20 Hernández-Córdova R, Mathew D A, Balint R, et al. Indirect three-dimensional printing: a method for fabricating polyurethane-urea based cardiac scaffolds. [J Biomed Mater Res B Appl BioMater](#), 2016, 104: 1912–1921
- 21 Xiong Y, Qian C, Sun J. Fabrication of porous titanium implants by three-dimensional printing and sintering at different temperatures. [Dent Mater J](#), 2012, 31: 815–820
- 22 Pei P, Qi X, Du X, et al. Three-dimensional printing of tricalcium silicate/mesoporous bioactive glass cement scaffolds for bone regeneration. [J Mater Chem B](#), 2016, 4: 7452–7463
- 23 Kim Y B, Lee H, Kim G H. Strategy to achieve highly porous/biocompatible macroscale cell blocks, using a collagen/genipin-bioink and an optimal 3D printing process. [ACS Appl Mater Interfaces](#), 2016, 8: 32230–32240
- 24 Gaetani R, Feyen D A M, Verhage V, et al. Epicardial application of cardiac progenitor cells in a 3D-printed gelatin/hyaluronic acid patch preserves cardiac function after myocardial infarction. [Biomaterials](#), 2015, 61: 339–348
- 25 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: 49–62
- 26 Wu Z, Su X, Xu Y, et al. Bioprinting three-dimensional cell-laden tissue constructs with controllable degradation. [Sci Rep](#), 2016, 6: 24474
- 27 Isaacson A, Swioklo S, Connon C J. 3D bioprinting of a corneal stroma equivalent. [Exp Eye Res](#), 2018, 173: 188–193
- 28 Duarte Campos D F, Rohde M, Ross M, et al. Corneal bioprinting utilizing collagen-based bioinks and primary human keratocytes. [J Biomed Mater Res B Appl BioMater](#), 2019, 107: 1945–1953
- 29 He B, Wang J, Xie M, et al. 3D printed biomimetic epithelium/stroma bilayer hydrogel implant for corneal regeneration. [Bioactive Mater](#), 2022, 17: 234–247
- 30 Zhang B, Xue Q, Hu H Y, et al. Integrated 3D bioprinting-based geometry-control strategy for fabricating corneal substitutes. [J Zhejiang Univ Sci B](#), 2019, 20: 945–959
- 31 Du Y, Roh D S, Funderburgh M L, et al. Adipose-derived stem cells differentiate to keratocytes *in vitro*. [Molecular Vision](#), 2010, 16: 2680–2689
- 32 Arnalich-Montiel F, Pastor S, Blazquez-Martinez A, et al. Adipose-derived stem cells are a source for cell therapy of the corneal stroma. [Stem Cells](#), 2008, 26: 570–579
- 33 Alió Del Barrio J L, El Zarif M, de Miguel M P, et al. Cellular therapy with human autologous adipose-derived adult stem cells for advanced keratoconus. [Cornea](#), 2017, 36: 952–960
- 34 Patrikoski M, Sivula J, Huhtala H, et al. Different culture conditions modulate the immunological properties of adipose stem cells. [Stem Cells Transl Med](#), 2014, 3: 1220–1230
- 35 Wang L, Hu L, Zhou X, et al. Exosomes secreted by human adipose mesenchymal stem cells promote scarless cutaneous repair by regulating extracellular matrix remodelling. [Sci Rep](#), 2017, 7: 13321
- 36 Sorkio A, Koch L, Koivusalo L, et al. Human stem cell based corneal tissue mimicking structures using laser-assisted 3D bioprinting and functional bioinks. [Biomaterials](#), 2018, 171: 57–71
- 37 Park J, Lee K P, Kim H, et al. Biocompatibility evaluation of bioprinted decellularized collagen sheet implanted in vivo cornea using swept-source optical coherence tomography. [J Biophotonics](#), 2019, 12: e201900098
- 38 Kutlehria S, Dinh T C, Bagde A, et al. High-throughput 3D bioprinting of corneal stromal equivalents. [J Biomed Mater Res](#), 2020, 108: 2981–2994
- 39 Kim K W, Lee S J, Park S H, et al. *Ex vivo* functionality of 3D bioprinted corneal endothelium engineered with ribonuclease 5-overexpressing human corneal endothelial cells. [Adv Healthcare Mater](#), 2018, 7: 1800398
- 40 Lorber B, Hsiao W K, Hutchings I M, et al. Adult rat retinal ganglion cells and glia can be printed by piezoelectric inkjet printing. [Biofabrication](#), 2014, 6: 015001
- 41 Kador K E, Grogan S P, Dorthé E W, et al. Control of retinal ganglion cell positioning and neurite growth: combining 3D printing with radial electrospun scaffolds. [Tissue Eng Part A](#), 2016, 22: 286–294
- 42 Masaeli E, Forster V, Picaud S, et al. Tissue engineering of retina through high resolution 3-dimensional inkjet bioprinting. [Biofabrication](#), 2020, 12: 025006
- 43 Wang P, Li X, Zhu W, et al. 3D bioprinting of hydrogels for retina cell culturing. [Bioprinting](#), 2018, 12: e00029

- 44 Won J Y, Kim J, Gao G, et al. 3D printing of drug-loaded multi-shell rods for local delivery of bevacizumab and dexamethasone: a synergetic therapy for retinal vascular diseases. *Acta Biomater*, 2020, 116: 174–185
- 45 Ruiters S, Sun Y, de Jong S, et al. Computer-aided design and three-dimensional printing in the manufacturing of an ocular prosthesis. *Br J Ophthalmol*, 2016, 100: 879–881
- 46 Chen M, Chai G R, Wang M, et al. Clinical use of AO three-dimensionally preformed titanium mesh plates for orbital fractures (in Chinese). *Int Eye Sci*, 2015, 15: 112–116 [陈明, 柴广睿, 王梦, 等. 应用AO三维预成型钛网治疗眼眶骨折的临床研究. *国际眼科杂志*, 2015, 15: 112–116]
- 47 Debellemanière G, Flores M, Montard M, et al. Three-dimensional printing of optical lenses and ophthalmic surgery: challenges and perspectives. *J Refract Surg*, 2016, 32: 201–204
- 48 Huang W, Zhang X. 3D printing: print the future of ophthalmology. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2014, 55: 5380
- 49 Hoehne J L, Carlström R, Dernowsek J, et al. Piezoelectric 3D bioprinting for ophthalmological applications: process development and viability analysis of the technology. *Biomed Phys Eng Express*, 2020, 6: 035021
- 50 Zhang X, Zhang Y. Tissue engineering applications of three-dimensional bioprinting. *Cell Biochem Biophys*, 2015, 72: 777–782

3D bioprinting technology and its latest application in ophthalmology

YANG Fang^{1,2}, WANG Yan^{2,3,4} & ZHAO XinHeng^{3,4}

¹ Department of Ophthalmology, Shiyan Renmin Hospital, Hubei University of Medicine, Shiyan 442000, China;

² Clinical College of Ophthalmology, Tianjin Medical University, Tianjin 300020, China;

³ Tianjin Eye Hospital, Tianjin 300020, China;

⁴ Tianjin Key Lab of Ophthalmology and Visual Science, Tianjin 300020, China

3D bio-printing technology is an emerging technology in recent years, which is driven by digital three-dimensional model and based on a certain additive manufacturing principle, positioning and assembling biological materials and cell units to form medical devices, engineered tissues, artificial organs and other products. Its emergence may solve the shortage of organs for transplant and thus prolong the life of patients or improve their quality of life. In the field of ophthalmology, it is expected to construct eyeball refractive system components through “bio-printing”, which has great development prospects in the field of ophthalmology. This paper briefly introduces 3D bioprinting technology and its latest application in ophthalmology. We will report the current research progress and future development trend, aiming to improve the understanding of ophthalmology doctors and related fields on 3D bioprinting in the application of ophthalmology, so as to accelerate the development and application of 3D bioprinting.

3D bioprinting, ophthalmology, artificial cornea, artificial retina, artificial lens

doi: [10.1360/SSV-2021-0038](https://doi.org/10.1360/SSV-2021-0038)