



## · 专家述评 ·



汤恣，博士，上海中医药大学青年研究员，硕士研究生导师。上海市领军人才（海外）、上海市浦东新区明珠计划菁英人才、国家优秀自费留学生。研究工作聚焦于生物工程与生物制造技术在肿瘤研究和组织工程中的应用。主要研究成果包括成功开发多种光固化生物3D打印技术和装备，建立多种具有高度临床相关性的复杂组织模型和器官模型，开发能够预测药效及解析肿瘤微环境特征的人工智能算法。以第一作者或通信作者在*Cell Research*、*Advanced Materials*、*Molecular Cancer*等权威期刊上发表多篇论文，所开发的生物3D打印肿瘤免疫微环境模型被*Nature*作为肿瘤干细胞研究新工具进行专题报道。参与撰写生物3D打印英文学术专著、组织工程全国统编教材。

## 生物3D打印在肿瘤研究及组织工程中的应用

王梓霏，丁雅卉，李彦，栾鑫，汤恣

上海中医药大学交叉科学研究院，上海 201203

〔摘要〕近年来生物3D打印技术快速发展，已成为肿瘤研究与组织工程领域用于组织构建、机制研究、药物评价及药物递送等研究的重要工具。本综述总结生物3D打印的基本原理及其在肿瘤研究和组织工程中的应用进展。生物3D打印是一种增材制造技术，通过数字控制逐层堆叠生物材料和活细胞以构建复杂的三维组织结构，其核心步骤是设计3D模型、选择合适的生物打印技术和材料、逐层打印、后期培养和功能化处理。在肿瘤研究中，生物3D打印可用于构建模拟肿瘤微环境的复杂模型，揭示肿瘤的发生、发展新机制。传统体外模型如二维细胞培养或动物模型难以准确模拟人类肿瘤的复杂性，而通过生物3D打印技术构建更仿生的3D肿瘤模型，模拟肿瘤细胞与免疫细胞、基质、血管等环境的动态相互作用，能够提供更接近真实肿瘤生长、侵袭及转移的研究平台。此外，生物3D打印为抗癌药物的开发、创新治疗策略的确立和个性化治疗方案的制订提供了创新平台，3D打印肿瘤模型能够提供更贴近临床的实验结果且具备高通量药物筛选的能力，可广泛应用于细胞毒类药物、靶向治疗药物和免疫治疗药物等多种类型的药物评价中；除药物开发外，生物3D打印还为肿瘤辅助治疗提供了新的解决思路。生物3D打印模型和支架，可用于个性化精准治疗，通过高效构建患者细胞构成的个性化3D模型预测患者对药物及放疗的敏感性，可建立局部支架，根据患者具体需求确定合适的药物剂型、剂量等。另外，3D打印支架可用于辅助药物递送，利用3D支架靶向递送药物或减弱药物引起的不良反应，还可辅助局部免疫检查点抑制剂疗法、局部细胞因子疗法、局部癌症疫苗疗法及局部嵌合抗原受体修饰的细胞疗法。在组织工程中，传统的组织修复方法通常难以应对复杂组织的构建需求，而生物3D打印为构建复杂组织结构和实现组织再生提供了全新的思路，骨与软骨、皮肤等结构较为基础且具备较高再生能力的组织和器官已逐渐进入临床实践，肝脏、心脏等复杂器官的修复和重建也已取得一定进展，但尚未实现临床转化。最后，本综述探讨了生物3D打印在上述领域面临的挑战及未来发展方向，以期对相关领域的研究人员提供有价值的参考。

〔关键词〕生物3D打印；肿瘤研究；组织工程；肿瘤微环境；药物筛选

中图分类号：R73-33 文献标志码：A DOI: 10.19401/j.cnki.1007-3639.2024.09.002

**Application of 3D bioprinting in cancer research and tissue engineering** WANG Zifei, DING Yahui, LI Yan, LUAN Xin, TANG Min (Institute of Interdisciplinary Integrative Medicine Research, Shanghai University of

基金项目：国家自然科学基金青年科学基金项目（32301149）。

第一作者：王梓霏（ORCID: 0009-0007-8331-2315），硕士在读。

通信作者：汤恣（ORCID: 0000-0002-6084-1827），博士，青年研究员，E-mail: mit012@shutcm.edu.cn。

Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China)

Correspondence to: TANG Min E-mail: mit012@shutcm.edu.cn

[ **Abstract** ] In recent years, 3D bioprinting technology has developed rapidly, becoming an essential tool in the fields of cancer research, tissue engineering, disease modeling and mechanistic studies. This paper reviewed the fundamental principles of bioprinting technology and its current applications in cancer research and tissue engineering. Bioprinting is an additive manufacturing technology that constructs complex three-dimensional tissue structures by digitally controlling the layer-by-layer deposition of biomaterials and living cells. The core steps of bioprinting include designing a 3D model, selecting appropriate bioprinting techniques and materials, printing layer by layer, followed by post-processing involving cell culture and functionalization. In cancer research, 3D bioprinting can create complex tumor models that simulate the tumor microenvironment, revealing new mechanisms of tumor initiation and progression. Traditional *in vitro* models, such as 2D cell cultures or animal models, often fail to accurately replicate the complexity of human tumors. However, 3D bioprinted tumor models, which mimic the dynamic interactions between tumor cells and their environment such as immune cells, stroma and blood vessels, offer a more biomimetic platform for studying tumor growth, invasion and metastasis. These models provide a research platform that closely mirrors actual tumor behavior. Additionally, Bioprinted models and scaffolds can be leveraged in personalized precision therapies by efficiently constructing patient-specific 3D models from their own cells. These models enable the prediction of patient's sensitivity to drugs and radiotherapy. Additionally, localized scaffolds can be developed to meet individual patient needs, allowing for the formulation of appropriate drug types and dosages. Furthermore, 3D-printed scaffolds can support drug delivery by targeting specific areas, reducing drug-related side effects. They can also be used to facilitate local immunotherapy, cytokine therapy, cancer vaccines, and chimeric antigen receptor cell therapy, enhancing therapeutic outcomes. In tissue engineering, traditional tissue repair methods often struggle to address the complex requirements of constructing intricate tissue structures. 3D bioprinting offers a novel solution by enabling the creation of complex tissue architectures and promoting tissue regeneration. Basic tissues, such as bone, cartilage and skin, which have higher regenerative capacities, are gradually being incorporated into clinical practice. Significant progress has also been made in the repair and reconstruction of more complex organs like the liver and heart, though considerable challenges remain before these advancements can be fully translated into clinical applications. Finally, this paper discussed the current challenges and future directions of 3D bioprinting in these fields, aiming to provide reference for researchers.

[ **Key words** ] 3D bioprinting; Cancer research; Tissue engineering; Tumor microenvironment; Drug screening

生物3D打印是近年来生物医学领域迅速发展的技术，通过精确地打印生物材料和细胞创建功能性组织和器官模型。在肿瘤研究中，生物3D打印可以构建更为逼真的肿瘤微环境（tumor microenvironment, TME）模型，模拟TME对肿瘤发生、发展的影响，为肿瘤机制研究和药物研发提供了新的工具。生物3D打印模型在药物筛选和疗法评估方面展现出显著优势，能够更精确地模拟生物体内环境，从而更准确地评估药物疗效。这一技术不仅为个性化精准治疗提供了强有力的支持，还能通过制造局部支架为各类疗法提供辅助，进一步推动了肿瘤治疗研究的创新和发展。在组织工程中，生物3D打印在各类组织和器官中取得了显著进展，提升了组织修复和再生的效果。本综述通过梳理生物3D打印在肿瘤研究及组织工程中的应用现状，以期对相关领域的研究人员提供有价值的参考。

## 1 生物3D打印

3D打印是一种增材制造技术，通过数字控制逐层添加材料以创建三维物体<sup>[1]</sup>。生物3D打印衍生于3D打印，其基本原理是通过计算机辅助设计目标模型，选择合适的生物墨水及生物打印技术，按照预设的模型打印复杂3D构建体<sup>[2]</sup>。经过数十年发展，生物3D打印从打印不与人体相互作用的医疗器械到植入人体的生物相容性支架，再到利用活细胞打印的具有复杂微生理系统的组织和器官<sup>[3]</sup>。生物3D打印逐渐由打印无活性材料转向活性材料，由强调制造适用性转向功能适用性。

而生物3D打印的发展离不开生物打印技术和生物墨水的发展。常用的生物打印技术包括基于液滴的生物打印（droplet-based bioprinting, DBB）（如喷墨式生物打印、微阀生物打印及声学生物打印）、基于挤出的生物打印（extrusion-

based bioprinting, EBB)、基于激光的生物打印(laser-based bioprinting, LBB)和基于光聚合原理的生物打印(vat polymerization-based bioprinting, VBB)[如立体光刻(stereolithography apparatus, SLA)、数字光处理(digital light processing, DLP)及双光子聚合(two-photopolymerization, TPP)]等<sup>[4]</sup>。基于常用的生物打印技术又发展出能满足各类应用需求的生物打印技术,如多材料生物打印、微流控打印及悬浮打印等<sup>[3]</sup>。

生物墨水由材料和细胞构成,常用的材料包括天然材料、合成材料或两者混合物,如海藻酸盐、甲基丙烯酰化明胶(gelatin methacryloyl, GelMA)和聚乙二醇等<sup>[3]</sup>。研究通常根据打印技术及所需目标组织的性能要求选择合适的生物墨水,但各研究对生物墨水的基本要求是一致的,都是要求既保持印刷性又具有符合目标组织的生物功能性<sup>[5]</sup>。而新一代的生物墨水具有高机械强度、高细胞相容性和调节细胞功能的能力,利用先进技术突破制造性能和生物性能两者互相制衡的困境,如多材料生物墨水、互穿网络生物墨水和纳米复合生物墨水等<sup>[6]</sup>。

生物3D打印在现代医学中展现出巨大的潜力,其应用范围广泛,涵盖了组织工程、癌症研究、疾病建模、细胞学研究及药物研究等方面<sup>[7]</sup>。随着生物3D打印的快速发展,异质组织体外模型的建立已广泛运用于多种癌症及器官相关疾病的研究中,人工组织和器官已逐渐向临床应用阶段发展。

## 2 生物3D打印肿瘤模型

癌症是全球重大公共卫生问题,全球近1/4的死亡和1/6的非传染性死亡都归咎于癌症<sup>[8]</sup>。癌症病理生理学进程及临床前药物开发的研究大部分都基于体外2D细胞模型和动物模型,然而2D细胞模型缺乏TME中复杂的细胞组成和动态相互作用,而肿瘤异种移植动物模型具有物种差异、成本较高及对治疗反应的有限预测性等局限。这些局限推动了3D模型的发展,3D模型具有更接近肿瘤的复杂环境和结构,包括球形培养3D模型、器官芯片、类器官及生物3D打

印模型等。球形培养通过在非附着表面上培养细胞使其自发聚集形成3D球形结构,该方法操作简单,一定程度上模拟了肿瘤细胞的反应,但球形培养无法再现组织的复杂结构和功能<sup>[7]</sup>。器官芯片是一种利用微流控技术将活细胞培养在微型芯片上的技术,其优点包括可以控制TME条件,能够模拟复杂生理学过程,但器官芯片制作技术复杂,限制了它在药物筛选和大规模生物学研究中的应用<sup>[8]</sup>。类器官由于其高度的生物相关性,应用潜力较高,使用干细胞、原代细胞或肿瘤细胞在特定培养条件下自组织诱导形成具有特异性的细胞结构,能够模仿器官的部分功能和结构。使用患者来源肿瘤细胞建立3D肿瘤类器官模型,能够反映患者肿瘤的异质性和空间分布,适用于疾病模型、个性化医疗和药物筛选等应用<sup>[7]</sup>,但在类器官与TME相互作用的研究中,难以控制类器官共培养的不同类型细胞和基质的位置和作用,且类器官生长条件复杂,需要较长的培养周期。生物3D打印技术能控制细胞位置、密度分布及基质构成,构建出能反映细胞-细胞之间、细胞-基质之间相互作用的3D肿瘤模型,相较于其他3D模型建立方法,生物3D打印能够精确控制复杂细胞的空间分布且制作快速、成本较低,更适用于TME相关的肿瘤研究及高通量筛选。基于生物3D打印模型的研究,一方面可以围绕TME对肿瘤生理学进程的影响进行研究<sup>[9]</sup>;另一方面,肿瘤模型作为相比2D模型更具有临床相关性的体外模型<sup>[10]</sup>,可以应用于药物和疗效的研究,还可以通过打印患者来源组织(patient-derived tissue, PDT)3D模型推动个性化治疗的发展。此外,生物3D打印开发的多功能可植入支架可以辅助化疗、免疫治疗及联合治疗等多种治疗方法,可作为癌症治疗的有效方案。

### 2.1 生物3D打印模拟TME

TME由非细胞组分和细胞组分组成,非细胞组分为细胞外基质(extracellular matrix, ECM),细胞组分主要包括肿瘤细胞和多种非肿瘤细胞如免疫细胞、癌相关成纤维细胞(cancer-associated fibroblasts, CAFs)、血管内皮细胞、周细胞及多种组织驻留细胞<sup>[11]</sup>。TME在癌症的发病机制中发

挥着关键作用，TME的演变及作用主要涉及免疫调节、肿瘤血管生成、基质相关变化及代谢重编程等方面。本文结合TME在癌症发病机制中的作用，根据各类肿瘤模型的TME研究内容将其归纳

为免疫相关、血管化相关（如血管生成和转移）及基质相关（如基质的环境线索变化、CAFs基质重塑）等，各类代表性生物3D打印肿瘤模型见表1。

表1 生物3D打印肿瘤模型

Tab. 1 3D bioprinted cancer model

Cancer type	Primary focus	Bioprinting technique	Bioink or substrate	Cell type	Key outcome
Glioblastoma	Immunity	DLP	GelMA, GMHA	NSCs, astrocytes, GSCs, macrophages	The model simulated the cellular composition, cell density, and matrix stiffness of TME, investigating genetic and morphological changes in the presence and absence of macrophages <sup>[12]</sup>
Cholangiocarcinoma	Immunity	EBB	GelMA	RBE, TECs, TAFs, TAMs	A CCA model was established using 3D bioprinting to explore the potential applications of the immune microenvironment in pathological and drug research <sup>[13]</sup>
Neuroblastoma	Vascularized	EBB	GelMA	NB, HUVECs	Perusable blood vessels were printed using a support bath, simulating a vascularized tumor model <sup>[14]</sup>
Skin squamous cell carcinoma	Vascularized	micro-EBB	Fibrin-collagen hydrogel blend	GFP-HUVECs, fibroblasts, mesenchymal stem cells	The study developed a vascularized 3D-printed bioreactor. First, the PEEK bioreactor was coated with bioink, and vascular structures were bioprinted on top. Spheroids of cancer cells and stromal cells were then placed within the branched vascular structures, allowing for dynamic cultivation <sup>[15]</sup>
Melanoma	Metastasis	EBB	VdECM	HDMECs, HDLECs, HDF, SK-MEL-28	The system recapitulated hallmark events of metastatic melanoma, such as tumor-stroma interactions, melanoma invasion and intravasation <sup>[16]</sup>
Glioblastoma	Stroma	EBB	BdECM,	GBM, HUVECs	The model recapitulated the structural, biochemical, and biophysical properties of the tumor, exploring the impact of mechanical properties of TME on the tumor <sup>[17]</sup>
Breast cancer	Stroma	EBB	Pronova UP LVG Sodium Alginate, gelatin	Breast cancer cell (MCF-7, SKBR3, HCC1143, MDA-MB-231), HMFs, MSCs/SPA, HUVECs	3D bioprinted tumor models of breast cancer cells with different phenotypes exhibit distinct microenvironmental characteristics, and the different stromal cells have varying impacts on the tumors <sup>[18]</sup>
Liver cancer	Highthroughput screening	EBB	Pluronic F127 and sodium alginate	HepG2/C3A	Provide an effective in vitro model for hepatotoxicity testing <sup>[19]</sup>
Lung cancer	Drug screening	PDL	PEO/GelMA	LL/2, A549, NCI-H1975	Compared with 2D cultured lung cancer cells, cells in porous microgel are more similar to those extracted from the existing gold standard: mouse transplanted tumors, in terms of the ROCK-actin pathway <sup>[20]</sup>
Colorectal cancer	Drug screening	EBB	Gelatin	SW480, THP-1, HUVECs	Compared with 3D bioprinted single-cell model (3D printing-S), 3D bioprinted multicellular models (3D printing-M) showed significantly improved expression of tumor-related genes, 3D printing-M group was significantly more resistant to chemotherapy <sup>[21]</sup>

NSCs: Neural stem cells; GSCs: Glioblastoma stem cells; TECs: Tumor-associated endothelial cells; TAFs: Tumor-associated fibroblasts; TAMs: Tumor-associated macrophages; NB: Neuroblastoma; HUVECs: Human umbilical vein endothelial cells; HDMECs: Human dermal microvascular endothelial cells; HDLECs: Human dermal lymphatic endothelial cells; GBM: Glioblastoma; HMFs: Human mammary fibroblasts; MSCs: Mesenchymal stem cells; SPA: Subcutaneous preadipocytes.

## 2.2 免疫相关研究

生物3D打印可以模拟肿瘤免疫微环境用于研究免疫和炎症相关行为, 观察免疫细胞和肿瘤细胞的基因表达变化、细胞表型变化和形态变化, 还可以通过分析旁分泌信号观察TME中炎症环境的变化。有研究<sup>[22]</sup>建立了一个包含巨噬细胞的留有空腔的“微型大脑”, 并在空腔中培养胶质母细胞瘤 (glioblastoma, GBM) 细胞, 观察到巨噬细胞向GBM细胞迁移, 并通过比较该模型和GBM患者的基因表达探究了药物处理对巨噬细胞和GBM细胞特异性表达基因的影响, 有助于发现治疗反应监测的生物标志物。Tang等<sup>[12]</sup>建立了含有神经前体细胞、星形胶质细胞、胶质母细胞瘤干细胞 (glioblastoma stem cells, GSCs) 和巨噬细胞的四重培养模型, 发现与巨噬细胞共培养下的GSCs侵袭性增强且巨噬细胞多向M2极化, 通过进行全基因组CRISPR-Cas9失功能筛选获得功能依赖性基因并选择重要基因进行单个基因敲除实验, 这些基因的敲除降低了GSCs的活力。这种筛选方法可以发现新的治疗候选基因, 在未来药物研究中具有重要意义。通过建立免疫相关的肿瘤模型还可以探究免疫相关微环境不同显性表征并运用于后续研究中, 研究人员进一步使用患者GBM细胞建立了PDT模型并对微环境的细胞组成进行分析, 发现了肿瘤组织具有单核细胞和小胶质细胞显性的两类免疫特征, 并建立了GBM细胞与两类髓系细胞的共培养模型, 分析可得单核细胞显性模型微环境中免疫抑制特征更明显, 而小胶质细胞显性模型微环境特征与血管生成、低氧等相关<sup>[23]</sup>。肿瘤模型中免疫细胞的加入为研究免疫微环境提供了平台, 也为免疫治疗药物的研究提供了体外模型。

## 2.3 血管化相关研究

新血管的形成为肿瘤提供了氧气和营养, 是肿瘤生长和转移的关键, 且有研究<sup>[11]</sup>表明, 血管系统与免疫细胞、ECM等成分之间存在相互作用。因此血管化对TME研究至关重要, 生物3D打印模型通过打印多细胞血管化模型探究了TME细胞的表型变化, 将含有人类原代星形胶质细胞、血管周细胞和脑微血管内皮细胞的生物墨水打印为环形的神经血管单元 (neurovascular

unit, NVU) 模型, 在中间接种患者来源的GBM细胞, 建立了含有微血管的NVU-GBM模型, 并鉴定了3D模型下的内皮细胞、星形胶质细胞的细胞表型<sup>[24]</sup>。当前大部分血管化模型多建立微血管而缺乏血管灌注系统, 有研究<sup>[14]</sup>开发了成神经细胞瘤 (neuroblastoma, NB) 的动态灌注培养系统, 使用支撑浴打印了血管几何结构, 将NB球体和人脐静脉内皮细胞 (human umbilical vein endothelial cells, HUVECs) 整合到水凝胶支架中, 使用旋转摇杆以固定速度摇动来模拟动态血管灌注培养, 发现动态培养使两类细胞的迁移行为增加。

生物3D打印模型还可以通过制作可灌注血管结构研究癌细胞的侵袭行为。有研究<sup>[25]</sup>对比了患者来源结直肠癌及其肝转移两类模型的基因表达及药物敏感性, 证明了原发性肿瘤和同一患者的转移瘤具有显著异质性。部分研究建立了血管化的3D打印模型作为探究肿瘤细胞迁移的有力工具<sup>[16]</sup>, 通过打印3个水凝胶腔室, 左侧使用乳腺癌细胞打印, 中间使用HUVECs打印中空血管, 右侧使用骨化细胞打印骨组织建立乳腺癌骨转移模型, 量化了乳腺癌细胞在血管化和非血管化模型中的迁移距离和迁移数量<sup>[10]</sup>。

利用血管化的3D打印肿瘤模型可深入研究肿瘤血管与基质和肿瘤细胞的相互作用, 还可作为研究肿瘤继发性转移的体外模型。当前血管化模型可通过牺牲模版策略、悬浮打印等方式制造, 尽管已有许多血管化肿瘤模型建立成功, 但由于肿瘤血管与各类细胞及基质的复杂作用, 对于多谱系肿瘤模型的研究仍是一个难题。

## 2.4 ECM相关研究

ECM是TME中的一个重要组成部分, 不仅为肿瘤细胞提供物理支持, 还参与多种生物学过程 (如细胞黏附、迁移、增殖和分化)。ECM在肿瘤的发展进程中主要涉及ECM的机械特性改变、细胞信号转导及CAFs参与的ECM重塑等关键过程。3D打印肿瘤模型可以通过改变细胞密度、基质硬度、细胞分布及其他机械特性探究ECM对肿瘤的影响, 有研究<sup>[16]</sup>建立了含有HUVECs的芯片上GBM模型, 使用猪脑的脱细胞基质 (decellularized extracellular matrix,

dECM)模拟正常脑的ECM,通过芯片建立氧浓度梯度,改变ECM的基质内容、多谱系细胞分隔化、低氧梯度来探究环境线索对GBM细胞的影响,总结了不同条件下模型的形态特征改变及药物敏感性变化。3D打印模型可以探究TME细胞间的相互通讯,有研究<sup>[23]</sup>分析了不同免疫特征的GBM细胞与髓系细胞共培养模型与单培养肿瘤细胞模型的上清液中细胞因子的变化,并综合分析了这些变化与功能的相关性。3D打印肿瘤模型也能重现CAFs对ECM重塑的部分影响,有研究<sup>[16]</sup>打印了SK-MEL-28黑色素瘤细胞和人真皮成纤维细胞共培养细胞球,该细胞球中基质金属蛋白酶的分泌增加, $\alpha$ -平滑肌激动蛋白和波形蛋白的表达增加,表明成纤维细胞被激活为CAFs并对ECM的重塑产生影响。另有研究<sup>[18]</sup>观察到加入成纤维细胞后乳腺癌模型胶原蛋白沉积增加及部分基因表达增加等现象,证明利用3D打印肿瘤模型探究CAFs对微环境及肿瘤细胞影响的可行性。另外,该研究建立了4种不同表型的3D打印胰腺癌细胞模型,观察到其组织结构、信号激活均有不同表现,因此可根据微环境变化特征判断肿瘤细胞表型。

综合以上研究,相较于传统单细胞和2D培养模型,3D打印肿瘤模型在对TME的研究方面具有显著优势。目前大部分研究通过改变模型条件进行对比研究,如对比含免疫细胞和不含免疫细胞的模型、血管化和非血管化的模型等模型的形态变化和基因表达变化得到相关结论并进行后续的药物、疗法开发。然而,部分研究中的肿瘤模型在细胞组成、形态、分布及基质内容等方面缺乏仿真性。其次,在研究内容方面仍有一定空白,如对癌症连续进程的研究、肿瘤的代谢特征及TME的动态变化的研究等仍有待加强。

### 3 生物3D打印肿瘤模型的药学和临床应用

生物3D打印模型可作为肿瘤药物研发和临床研究的有效平台。相较于传统的2D培养模型呈现出更具有临床相关性的实验结论,且相较于动物模型具有高通量的药物筛选能力,可广泛应用于细胞毒类药物、靶向治疗药物和免疫治疗药物等多种类型的药物评价,并且在辅助临床治疗中也展现出巨大潜力。

#### 3.1 药物研究应用

生物3D打印模型能展现更具有临床相关性的实验结果及更还原的微环境特征,可对不同药物进行筛选和评估,如细胞毒类药物、分子靶向药物及免疫治疗药物等。

对于小分子药物,3D打印肿瘤模型能准确评估模型药物的敏感度并进行候选药物筛选,有研究<sup>[23]</sup>通过建立GBM模型,评估了多种小分子药物、贝伐单抗及T细胞处理下的药物敏感度,结合多算法机器学习预测PDT及多细胞模型的药物反应以筛选疗效较好的候选药物。3D肿瘤模型相较于2D模型更能还原临床用药表现,有研究<sup>[26]</sup>建立了具有基质环境的肝癌细胞3D模型,对多柔比星、木犀草素和顺铂进行耐药性测试,3D微环境模型对比单细胞模型具有更接近临床反应的耐药性。另有研究<sup>[27]</sup>使用MCF-7乳腺癌细胞及其中的CD44阳性细胞建立了普通和药物抗性3D模型,发现模型对喜树碱、紫杉醇具有剂量依赖性,药物抗性的乳腺癌肿瘤球对喜树碱表现出更强的耐药性。

除小分子药物外,不同的3D肿瘤模型还能用于评估分子靶向药物,有研究<sup>[16]</sup>使用含有人类皮肤微血管内皮细胞和淋巴管内皮细胞的生物墨水建立了血管-淋巴集成模型并加入含有成纤维细胞的黑色素瘤细胞球,通过该模型发现BRAF抑制剂与磷脂酰肌醇3-激酶(phosphoinositide 3-kinase, PI3K)抑制剂联合治疗能够显著地抑制黑色素瘤的侵袭和增殖。另有研究<sup>[20]</sup>通过DLP打印技术建立肺癌3D模型,验证了POCK激酶抑制剂处理后肺癌细胞对紫杉醇的敏感度显著增加,而该实验现象在2D培养模型中未能展现。

此外,免疫治疗药物也可以通过生物3D打印建立模型进行评估,有研究<sup>[28]</sup>通过结合生物3D打印、微流控技术构建了一种可控肝癌细胞球大小的3D共培养微流控模型,并将其应用于抗CD147单克隆抗体美妥珠单抗的药效测试。工程化细胞的评估也可以通过生物3D打印实现,有研究<sup>[29]</sup>建立了乳腺癌多细胞模型以研究经过基因工程改造的CD8<sup>+</sup>T细胞对MDA-MB-231乳腺癌细胞的细胞毒性反应,使用5-ARU对模型进行预处理,激活MAIT细胞,培养3 d后工程化的T细胞

有效抑制了肿瘤。

除了能更准确地模拟和表现药物作用外,生物3D打印模型具有成为高通量筛选模型的潜力,EBB的NVU-GBM高通量模型选用环状几何结构能实现约10 min完成96孔板的打印,通过评估模型的面积和圆度重复性确定筛选的一致性<sup>[24]</sup>。

### 3.2 个性化精准治疗

生物3D打印在个性化精准治疗中的应用主要体现在两个方面:一是通过高效构建由患者细胞构成的个性化3D模型,能够用于预测患者药物治疗或放疗的效果,实现临床精准治疗;二是在治疗过程中能够根据患者的具体需求个性化治疗,如个性化进行放疗或药物释放的调整。

在预测临床药物疗效方面,有研究<sup>[25]</sup>通过生物3D打印创建了患者来源的结直肠癌和结直肠癌肝转移模型,3D模型有效地保留了亲本肿瘤生物标志物和突变谱,且模型体外药物敏感性测试存在显著化疗异质性,结直肠癌肝转移模型的药物反应与新辅助化疗的临床结果之间存在显著相关性,表明患者来源的结直肠癌和结直肠癌肝转移模型在个性化化疗预测中具有重要潜力。另一项3D打印脑胶质瘤PDT模型对比同样患者来源的类器官(patient-derived organoids, PDO)模型,与患者肿瘤的相关性更高,较少产生新突变,具有快速高效、高保真度、可重复性高及成本效益高等优点<sup>[23]</sup>。

3D打印肿瘤模型可以进行放疗或联合治疗等多种疗法的评估。有研究<sup>[30]</sup>使用生物3D打印技术制作宫颈癌PDO模型,通过免疫荧光染色验证了PDO模型与原发肿瘤组织在NSUN6和Ki-67免疫染色模式上的一致性,并进行放射敏感性测试,发现NSUN6表达较低的宫颈癌PDO模型对放射线更敏感。另有研究<sup>[31]</sup>使用TPP技术打印与大脑微血管网络类似的支架并在支架上培养HUVECs和GBM细胞,对该模型进行质子辐射治疗实验,发现HUVECs可能诱导GBM细胞的干细胞特性从而增加其放射抗性。此外,有研究<sup>[32]</sup>建立了3D打印骨肉瘤模型以评估硼中子俘获治疗骨肉瘤的效果,通过中子自显影技术测定生物3D打印骨肉瘤模型中的硼浓度以确定疗效。生物3D打印模型还具有作为评估联合治疗的体外模型

的潜力,基于热喷墨打印技术的乳腺癌3D模型评估了乳腺癌细胞在不同的Palbociclib-Letrozole组合药物浓度和放疗条件下的细胞活性和生存率<sup>[33]</sup>。综合以上研究,生物3D打印技术已在药物和疗法的研发及个性化治疗等多个领域展现出强大的应用能力。然而,目前仍需建立对于体外3D模型的标准化评估方法,如制定统一的评价标准、关联方法,以提高3D打印肿瘤模型作为药物筛选模型的特异性、准确性和可靠性<sup>[9]</sup>。

此外,通过3D打印制作患者特异性辐射阻挡体、植入式装置,能够实现精确的靶向治疗和剂量分布,提高辐射传递的一致性,减少对周围健康组织的暴露。3D打印还有助于为患者选定合适的药物剂型、调整剂量并改变剂型的释放曲线,有研究<sup>[34]</sup>使用聚乳酸-羟基乙酸共聚物、聚己内酯和5-氟尿嘧啶的混合物,通过3D打印技术制备药物输送贴片,利用3D打印技术调整贴片的几何形状和药物释放动力学以实现控制治疗剂量和释放。另有研究<sup>[35]</sup>利用3D打印技术制作了聚L-乳酸药物载体,载体可以设计成不同的物理形态,并具有可控的微孔结构,且聚L-乳酸植入物可以同时装载多种抗癌药物,如多柔比星、异环磷酰胺、甲氨蝶呤和顺铂,这种多药联合递送方式可以根据患者的药物敏感性测试和肿瘤特性,实现个性化的药物组合和释放。

### 3.3 药物递送和局部辅助治疗

生物3D打印不仅在建立含细胞的肿瘤模型中已有广泛应用,还适用于建立辅助治疗的局部支架。已有研究<sup>[4]</sup>通过3D打印建立了基于化疗、放疗、免疫治疗及联合治疗等辅助治疗的支架。在化疗中,3D打印能构建出具有特定药物递送能力的支架,有研究<sup>[36]</sup>以咖啡酸化学接枝壳聚糖、纳米粘土和姜黄素纳米粒子为原料,通过3D打印技术合成了用于药物递送的3D打印复合支架(CCNACA)。此外,通过利用支架对药物的吸附性可以减轻化疗引起的不良反应,研究人员使用聚己内酯和聚醚酰亚胺打印了3D多孔支架,通过DNA与聚醚酰亚胺之间的强静电作用进行修饰,赋予支架对多柔比星的特异性吸附能力,以捕获化疗药物,减轻化疗引起的不良反应<sup>[37]</sup>。在联合治疗中,有研究<sup>[38]</sup>打印了一种结合谷胱

甘肽耗竭诱导的铁死亡和光热增强的化学动力疗法的新型3D打印水凝胶支架,用以有效地抑制肝癌切除术后的肿瘤复发。

3D打印还可以制造局部支架辅助局部免疫检查点疗法、局部细胞因子疗法、局部癌症疫苗疗法及局部嵌合抗原受体(chimeric antigen receptor, CAR)修饰的细胞疗法等治疗<sup>[39]</sup>。生物3D打印技术在辅助治疗局部支架的构建中展示出巨大的潜力,通过特定的设计优化治疗过程,从而提高疗效。

3D打印可以辅助评估免疫检查点抑制剂疗法的疗效,有研究<sup>[40]</sup>开发了一种免疫治疗高通量观察室(iHOC)平台用于测试程序性死亡蛋白-1(programmed death-1, PD-1)抗体对程序性死亡蛋白配体-1(programmed death ligand-1, PD-L1)阳性癌细胞和T细胞相互作用的效应,并通过定量检测生物标志物来评估免疫检查点抑制剂疗法的疗效。另有研究<sup>[41]</sup>开发了一种用于递送PD-1抗体的微针从而将PD-1抗体浓缩在肿瘤组织中,而3D打印在快速定制微针阵列和药物递送方面具有优势。

对于局部细胞疗法,有研究<sup>[42]</sup>使用3D打印技术设计了载有卵清蛋白和CpG寡核苷酸的微针,疫苗诱导了Th1型免疫反应相关细胞因子(如干扰素- $\gamma$ 、肿瘤坏死因子- $\alpha$ 和白细胞介素-2等)的分泌,以增强免疫反应。3D打印的水凝胶包裹蛋白质和细胞因子可以缓慢释放,实现局部药物浓度富集。

基于3D打印的快速制造和精确成型可以实现癌症疫苗的大规模生产和个性化设计。有研究<sup>[43]</sup>通过建立具有多孔结构并装载了免疫调节剂的3D支架用于癌症疫苗的递送,该支架能招募大量免疫细胞,赋予其与真实淋巴器官相似的功能,从而形成“人工三级淋巴结构”,作为促进体液免疫和细胞免疫反应的位点。另有研究<sup>[44]</sup>通过3D打印载有树突状细胞(dendritic cells, DCs)和过表达PD-1的肿瘤细胞囊泡(PD-1-cellular vesicles, PD-1-CVs)的GelMA制造3D支架,相较于普通水凝胶3D支架可显著提高DCs在细胞培养7 d后的存活率,且从支架中释放到淋巴结的DCs比例增加了大约4倍,PD-1-CVs能刺激

DCs成熟并阻断PD-L1,协同增强DC介导的抗肿瘤免疫。除利用3D多孔支架辅助疫苗发挥作用,还能结合光动力疗法进行局部免疫激活,有研究<sup>[45]</sup>开发了一种基于Fmoc-KCRGDK-苯硼酸的水凝胶疫苗,将氧化的自体肿瘤细胞与聚乙烯亚胺-氯化物e6结合,在近红外光的激活下,Ce6会产生光动力疗法的效果,能够杀死肿瘤细胞并激活免疫系统。

生物3D打印可以作为优化CAR修饰免疫治疗的局部辅助工具,有研究<sup>[45]</sup>通过生物3D打印技术制备了含有自然杀伤(natural killer, NK)细胞的微孔或宏孔水凝胶,将zEGFR-CAR-NK细胞在水凝胶中培养,显示出更强的细胞毒性和细胞因子释放,表明水凝胶具有增强NK细胞抗肿瘤的潜力。生物3D打印还可以变化模型条件来模拟和探究体内的机械、生化环境对疗效的影响,有研究<sup>[46]</sup>将GD2-CAR-T细胞在硬度不同的基质中培养,发现较硬的模型更符合肿瘤的病理学条件且对该疗法表现出抵抗性,并设计了热激启动子驱动的热诱导CAR-T细胞,加热后表现出增强的基质渗透能力和肿瘤细胞杀伤效果。

#### 4 生物3D打印的组织工程研究

组织工程是一门通过结合细胞、材料和工程方法来制造体外组织的学科,用于修复或替代受损组织和器官,生物3D打印是该领域的前沿技术。目前骨与软骨、皮肤等组织和器官的生物打印快速发展,已逐渐迈入了临床应用阶段;而心脏、肝脏等复杂器官在临床上仍面临着物理仿生和生物功能方面的巨大障碍<sup>[3]</sup>,部分生物3D打印组织工程应用研究见表2。

##### 4.1 基础组织工程

骨与软骨、皮肤的3D打印技术在组织工程中具有相对简单的结构需求,且已经在临床应用或临床转化阶段取得了一定进展。这些组织在结构上较为基础,具备较高的再生能力,因此其临床转化潜力较大。

近年来3D打印骨移植物已逐步成功应用于临床手术中。美国Dimension Inx公司的3D打印合成骨移植材料—CMFlex已于2022年12月获得美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准,已用于首批患者的临床治疗。临床

表2 生物3D打印组织工程应用

Tab. 2 Application of 3D bioprinting tissue engineering

Organ/tissue type	Function	Bioprinting technique	Bioink or substrate	Cell type	Key outcome
Full-thickness skin model	Skin regeneration	EBB	Fibrinogen	keratinocytes, melanocytes, fibroblasts, FDPCs, DMECs, adipocytes	This study simulated a three-layered skin structure composed of the epidermis, dermis, and subcutaneous tissue. This approach promotes skin regeneration at the injury site and achieves non-fibrotic wound healing <sup>[47]</sup>
Osteochondral tissue	Osteochondral tissue repair	DLP	HAMA, GelMA	hADSCs	The bilayer structure design combines the characteristics of osteogenesis and chondrogenesis, effectively mimicking the natural bilayer structure of bone and cartilage tissues, thereby promising better tissue repair outcomes <sup>[48]</sup>
Bone organoids	Bone tissue generation	DLP	GelMA/AlgMA/HAP	BMSCs	This study conducted large-scale 3D bioprinting of bone organoids. In vivo, these bioprinted bone organoids effectively guided osteogenesis, mineralization, cell layer formation, plasticity, and remodeling <sup>[49]</sup>
Human cardiac models	Engineer components of the human heart at various scales	FRESH	Collagen	C2C12, VEGFs	The study presents a method to 3D-bioprint collagen using FRESH to engineer components of the human heart at various scales, from capillaries to the full organ <sup>[50]</sup>
Vascularized mini-liver	Liver regeneration and increases in cell proliferation	EBB	External ink (sodium alginate, gelatin fibrinogen) and an internal ink (gelatin, hyaluronic acid sodium salt, thrombin)	hASCs, HUVECs	The 3D bioprinted vascularized mini-liver, after inducing hepatocyte differentiation in vitro, shows enhanced liver function. Upon subcutaneous implantation, this mini-liver effectively improves liver regeneration in two ALF animal models <sup>[51]</sup>
Alveolar model	Simulating a vascularized alveolar model	SLATE	Photocurable hydrogels, food dyes	RBCs, HUVECs, Hepatocytes, hMSCs, Lung Fibroblasts, Epithelial-like Cells	Creating three-dimensional biomaterials with complex vascular networks capable of simulating the fluid transport and biochemical properties of real organs. Mathematical space-filling and fractal topology algorithms were used to design a 3D model that mimics alveolar morphology and oxygen delivery <sup>[52]</sup>
Cerebral cortical tissue	Personalized implantation treatments	DBB	Matrigel	hiPSCs	The study induces hiPSCs to DNs and UNs, using a droplet printing technique to fabricate tissues comprising simplified cerebral cortical columns and implanting the printed single-layer cortical tissue into brain explants <sup>[53]</sup>
Intestinal model	Simulating an intestinal model with a finger-like villus structure	EBB	Collagen, SIS	HUVECs, Caco-2	In vitro cellular activities demonstrated that the proposed cell-laden collagen/dECM villus structure generates a more meaningful epithelium layer mimicking the intestinal structure, compared with the pure cell-laden collagen villus structure having similar villus geometry. This dECM-based 3D villus model will be helpful in obtaining a more realistic physiological small-intestine model <sup>[54]</sup>
Kidney organoid	Evaluation of nephrotoxicity of new drugs	EBB	Cell paste	iPSC	3D bioprinted kidney organoids exhibit morphological and structural similarities to manually prepared kidney organoids. Drug response tests were conducted, and the impact of the initial cell micro-aggregates used in 3D bioprinting on the final organoids was investigated <sup>[55]</sup>

FRESH: Freedom reversible embedding of suspended hydrogels; SLATE: StereoLithographic apparatus for tissue engineering; iPSC: Induced pluripotent stem cell.

上骨支架的治疗策略，其一是使支架在体内稳固存在，作为缺损骨组织的直接替代物，如使用高性能材料聚醚醚酮制造了3D打印植入物以替代缺损的颅骨；其二是采用可降解材料制成骨支架以促进骨组织的自然再生，随后逐渐降解最终被新生的健康骨组织替代，实现了从治疗到自愈的过渡，有研究<sup>[56]</sup>使用聚己内酯制造可降解支架，该支架能够控制释放大铁胺，以促进血管生成和成骨，适用于临床转化治疗节段性骨缺损。尽管3D打印骨移植物取得了显著进展，但提高支架的机械性能和韧性，特别是模仿骨骼的多层次结构和自我修复能力，仍然是当前研究的重点，未来工作可通过更先进的制造技术及生物启发等方法制造更高性能的骨支架。

软骨再生研究与骨组织再生有许多相似之处，通过生物3D打印构建功能性软骨组织用于替代受损或退化的天然软骨。有研究<sup>[57]</sup>通过在海藻酸盐生物墨水添加软骨ECM，增强间充质干细胞软骨生成的能力，从而制造出具有仿生机械性能的复合构建软骨组织。另有研究<sup>[58]</sup>开发了基于冷水鱼皮明胶的支架，模拟了软骨网络结构，允许软骨细胞黏附、增殖和相互通讯以维持软骨细胞的功能。当前对软骨组织工程的研究主要集中在开发3D打印材料上，例如，智能水凝胶与4D打印技术在软骨修复中的应用正在迅速发展<sup>[59]</sup>。

生物3D打印皮肤也取得了显著进展，包括全层皮肤模型、毛发诱导模型和血管化模型的构建，这些模型不仅模拟了皮肤的复杂结构，还具备更接近天然皮肤的功能，可用于皮肤的修复和重建<sup>[60]</sup>。有研究<sup>[61]</sup>使用GelMA与人类表皮角质形成细胞系作为表皮层，dECM与成纤维细胞作为真皮层，GelMA和HUVECs作为血管网络构建了全厚功能性皮肤模型（full-thickness functional skin model, FSM），异种体内移植后，FSM至少可以维持1周的细胞活性，并促进伤口愈合和上皮化，刺激真皮ECM分泌和血管生成，提高伤口愈合质量。另一方面，利用生物3D打印制造的皮肤模型可以作为致敏性及药敏性评估平台，有研究<sup>[62]</sup>在transwell系统中3D打印出“三明治型”皮肤结构，其中人工基底膜在一

侧支撑着仿生表皮层，另一侧是打印的预血管化真皮层，并加入了巨噬细胞，该模型能有效地区分皮肤刺激性和非刺激性物质。另有研究<sup>[63]</sup>通过调整模拟皮肤模型中的黑色素大小、聚集程度和浓度表现不同紫外线敏感度的肤色及其光学特性。尽管3D打印皮肤组织工程取得了显著进展，但仍面临一些挑战，大部分皮肤模型未能充分引入复杂的皮肤附属结构，对模型的组织血管化技术、长期培养策略、生物墨水开发、多细胞整合及干细胞潜能的研究有待进一步发展。

#### 4.2 复杂实体器官

心脏和肝脏是高度复杂的实体器官，涉及多种细胞类型，功能复杂且结构精密，因此在3D打印组织工程中应用的难度较大。这些器官距离实现临床转化还有较长距离，主要挑战集中在功能模拟、细胞整合和血管化等方面。

心脏组织工程旨在修复受损或患病的血管、心脏瓣膜、心肌和其他缺陷。当前，心脏组织工程领域已取得了显著进步，包括心脏贴片、心脏组织及功能性心脏器官。心脏贴片用于修复或替换患病的心脏组织，并在一定程度上恢复心脏功能。有研究<sup>[64]</sup>证明了个性化和大规模生产心脏贴片的可行性，使用两类生物墨水进行了适用于患者的特异性心脏贴片及适用于大规模心脏贴片的打印。心脏组织的体外制备比生物打印心脏贴片更复杂，需要对多种细胞类型进行有序排列，组织还必须具有自主收缩的电起搏<sup>[65]</sup>。已有研究<sup>[66]</sup>在支撑浴中使用生物3D打印诱导性多能干细胞（induced pluripotent stem cell, iPSC）衍生的心肌细胞，形成厘米级尺寸的功能性环状和心室形状的心脏组织，为药物筛选提供了新的模型。另有研究<sup>[50]</sup>开发了一种名为“自由形态可逆嵌入悬浮水凝胶（freedom reversible embedding of suspended hydrogels, FRESH）”的生物打印方法，使用FRESH技术3D打印的心脏能够准确复制患者特定的解剖结构及一定的心脏功能性，成功打印了成人尺寸的三叶心脏瓣膜、新生儿规模的胶原心脏和人类心室模型。尽管心脏组织工程取得了一系列重大进展，但生物打印功能齐全且结构全面的人类心脏仍未完成。

生物3D打印肝脏组织工程在近年来也取得

了显著进展, 逐步从实验室研究向实际应用迈进。有研究<sup>[51]</sup>已打印出具有基本结构和部分功能的微型肝脏组织, 使用人类脂肪来源的间充质基质细胞制造不同大小的多细胞球团, 并通过3D同轴打印将细胞球与六边形图案化的HUVECs进行共培养, 制造出具有血管化的肝小叶样结构。此外, 生物3D打印的肝细胞构建物可以作为评估药物诱导的肝毒性反应的有效工具, 并且可能作为动物模型的体外替代方法。对于完整肝组织模型, 未来可能通过将小型组织构建块(如内皮化的肝组织聚集体)组装成更大的复杂组织结构<sup>[2]</sup>。然而, 实现功能完整的肝脏替代物仍面临诸多挑战, 对于肝脏脉管结构的构建距离临床应用仍有较长距离, 打印后细胞功能的维持也是一大挑战, 需克服细胞出现去分化或功能丧失等问题。

综上所述, 近年来生物3D打印在组织工程领域的应用取得了显著进展, 目前已成功实现了骨与软骨、皮肤等多种组织和器官的打印, 为再生医学和个性化医疗提供了新的可能。然而, 生物3D打印在临床应用中仍面临诸多挑战。例如, 如何确保打印出的组织在体内的长期存活和功能特性, 如何实现大规模的组织生产, 如何克服生物材料的局限性。未来仍需开发更先进的生物打印技术和材料, 进行更贴近临床的研发以推动生物3D打印组织工程向实际应用的转化。

## 5 总结与展望

生物3D打印技术在肿瘤研究和组织工程方面已取得显著进展。在肿瘤研究中, 生物3D打印主要通过建立肿瘤模型来描绘TME中的关键参数, 如免疫反应、血管生成、ECM的机械和生化环境变化等。3D肿瘤模型可以作为体外平台, 用于研究药物和评估治疗方法的有效性, 另外, 利用生物3D打印精细控制的性能可制作辅助药物递送或治疗的支架以辅助局部治疗。未来, 模块化打印、多器官系统及原位或体内生物打印的开发有望成为生物3D打印组织工程迈向临床的突破口。生物3D打印可通过开发新型生物墨水, 如具有生物活性的生物墨水更好地模拟肿瘤的病理生理学环境, 通过结合微流控技术或采用响应外部刺激的智能水凝胶进行生物3D打印建立模拟体内动态

微环境的3D打印模型, 利用智能生物传感器进行实时监测和反馈可进一步研究肿瘤发生、发展机制及其治疗手段<sup>[67]</sup>, 这些创新将为更精确的肿瘤研究和更有效的个性化治疗提供新的工具和方法。

**利益冲突声明:** 所有作者均声明不存在利益冲突。

### 作者贡献声明:

王梓霏: 文献收集和汇总, 文章撰写和校对;

丁雅卉: 文献收集和汇总, 文章撰写;

李彦: 文献收集和汇总, 文章撰写;

栾鑫: 文章审阅, 修改审校;

汤恣: 文章选题构思, 修改审校。

## [参 考 文 献]

- [1] MURPHY S V, DE COPPI P, ATALA A. Opportunities and challenges of translational 3D bioprinting [J]. *Nat Biomed Eng*, 2020, 4(4): 370–380.
- [2] MURPHY S V, ATALA A. 3D bioprinting of tissues and organs [J]. *Nat Biotechnol*, 2014, 32(8): 773–785.
- [3] FANG Y, GUO Y, LIU T, et al. Advances in 3D bioprinting [J]. *Chin J Mech Eng: Addit Manuf Front*, 2022, 1(1): 100011.
- [4] RUCHIKA, BHARDWAJ N, YADAV S K, et al. Recent advances in 3D bioprinting for cancer research: from precision models to personalized therapies [J]. *Drug Discov Today*, 2024, 29(4): 103924.
- [5] MALDA J, VISSER J, MELCHELS F P, et al. 25th anniversary article: engineering hydrogels for biofabrication [J]. *Adv Mater*, 2013, 25(36): 5011–5028.
- [6] CHIMENE D, LENNOX K K, KAUNAS R R, et al. Advanced bioinks for 3D printing: a materials science perspective [J]. *Ann Biomed Eng*, 2016, 44(6): 2090–2102.
- [7] GU Z M, FU J Z, LIN H, et al. Development of 3D bioprinting: from printing methods to biomedical applications [J]. *Asian J Pharm Sci*, 2020, 15(5): 529–557.
- [8] BRAY F, LAVERSANNE M, SUNG H, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2024, 74(3): 229–263.
- [9] SHARMA R, RESTAN PEREZ M, DA SILVA V A, et al. 3D bioprinting complex models of cancer [J]. *Biomater Sci*, 2023, 11(10): 3414–3430.
- [10] CHENG S N, LI Y X, YU C G, et al. 3D bioprinted tumor–vessel–bone co–culture scaffold for breast cancer bone metastasis modeling and drug testing [J]. *Chem Eng J*, 2023, 476: 146685.

- [ 11 ] DE VISSER K E, JOYCE J A. The evolving tumor microenvironment: from cancer initiation to metastatic outgrowth [ J ] . *Cancer Cell*, 2023, 41(3): 374–403.
- [ 12 ] TANG M, XIE Q, GIMPLE R C, et al. Three-dimensional bioprinted glioblastoma microenvironments model cellular dependencies and immune interactions [ J ] . *Cell Res*, 2020, 30(10): 833–853.
- [ 13 ] LI C C, JIN B, SUN H, et al. Exploring the function of stromal cells in cholangiocarcinoma by three-dimensional bioprinting immune microenvironment model [ J ] . *Front Immunol*, 2022, 13: 941289.
- [ 14 ] NING L Q, SHIM J, TOMOV M L, et al. A 3D bioprinted *in vitro* model of neuroblastoma recapitulates dynamic tumor–endothelial cell interactions contributing to solid tumor aggressive behavior [ J ] . *Adv Sci*, 2022, 9(23): e2200244.
- [ 15 ] LORENZI F D, HANSEN N, THEEK B, et al. Engineering mesoscopic 3D tumor models with a self-organizing vascularized matrix [ J ] . *Adv Mater*, 2024, 36(5): e2303196.
- [ 16 ] CHO W W, AHN M, KIM B S, et al. Blood–lymphatic integrated system with heterogeneous melanoma spheroids via in-bath three-dimensional bioprinting for modelling of combinational targeted therapy [ J ] . *Adv Sci*, 2022, 9(29): e2202093.
- [ 17 ] YI H G, JEONG Y H, KIM Y, et al. A bioprinted human-glioblastoma-on-a-chip for the identification of patient-specific responses to chemoradiotherapy [ J ] . *Nat Biomed Eng*, 2019, 3(7): 509–519.
- [ 18 ] LANGER E M, ALLEN-PETERSEN B L, KING S M, et al. Modeling tumor phenotypes *in vitro* with three-dimensional bioprinting [ J ] . *Cell Rep*, 2019, 26(3): 608–623.e6.
- [ 19 ] GORI M, GIANNITELLI S M, TORRE M, et al. Biofabrication of hepatic constructs by 3D bioprinting of a cell-laden thermogel: an effective tool to assess drug-induced hepatotoxic response [ J ] . *Adv Healthc Mater*, 2020, 9(21): e2001163.
- [ 20 ] HU Q P, LIU X, LIU H F, et al. 3D printed porous microgel for lung cancer cells culture *in vitro* [ J ] . *Mater Des*, 2021, 210: 110079.
- [ 21 ] WANG P P, SUN L J, LI C C, et al. Study on drug screening multicellular model for colorectal cancer constructed by three-dimensional bioprinting technology [ J ] . *Int J Bioprint*, 2023, 9(3): 694.
- [ 22 ] HEINRICH M A, BANSAL R, LAMMERS T, et al. 3D-bioprinted mini-brain: a glioblastoma model to study cellular interactions and therapeutics [ J ] . *Adv Mater*, 2019, 31(14): e1806590.
- [ 23 ] TANG M, JIANG S, HUANG X M, et al. Integration of 3D bioprinting and multi-algorithm machine learning identified glioma susceptibilities and microenvironment characteristics [ J ] . *Cell Discov*, 2024, 10(1): 39.
- [ 24 ] TUNG Y T, CHEN Y C, DERR K, et al. A 3D bioprinted human neurovascular unit model of glioblastoma tumor growth [ J ] . *Adv Healthc Mater*, 2024, 13(15): e2302831.
- [ 25 ] SUN H, SUN L J, KE X D, et al. Prediction of clinical precision chemotherapy by patient-derived 3D bioprinting models of colorectal cancer and its liver metastases [ J ] . *Adv Sci*, 2024, 11(2): e2304460.
- [ 26 ] WANG X Y, YANG X N, LIU Z X, et al. 3D bioprinting of an *in vitro* hepatoma microenvironment model: establishment, evaluation, and anticancer drug testing [ J ] . *Acta Biomater*, 2024, 185: 173–189.
- [ 27 ] HONG S, SONG J M. 3D bioprinted drug-resistant breast cancer spheroids for quantitative *in situ* evaluation of drug resistance [ J ] . *Acta Biomater*, 2022, 138: 228–239.
- [ 28 ] LI Y, ZHANG T, PANG Y, et al. 3D bioprinting of hepatoma cells and application with microfluidics for pharmacodynamic test of metuzumab [ J ] . *Biofabrication*, 2019, 11(3): 034102.
- [ 29 ] DEY M, KIM M H, NAGAMINE M, et al. Biofabrication of 3D breast cancer models for dissecting the cytotoxic response of human T cells expressing engineered MAIT cell receptors [ J ] . *Biofabrication*, 2022, 14(4): 044105.
- [ 30 ] YU M, NI M D, XU F, et al. NSUN6-mediated 5-methylcytosine modification of NDRG1 mRNA promotes radioresistance in cervical cancer [ J ] . *Mol Cancer*, 2024, 23(1): 139.
- [ 31 ] AKOLAWALA Q, KEUNING F, ROVITUSO M, et al. Microvessels-like 3D scaffolds for studying the proton radiobiology of glioblastoma–endothelial cells co-culture models [ J ] . *Adv Healthc Mater*, 2024, 13(6): e2302988.
- [ 32 ] DELGROSSO E, SCOCOZZA F, CANSOLINO L, et al. 3D bioprinted osteosarcoma model for experimental boron neutron capture therapy (BNCT) applications: preliminary assessment [ J ] . *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 2023, 111(8): 1571–1580.
- [ 33 ] CAMPBELL A, GUTIERREZ D A, KNIGHT C, et al. Novel combinatorial strategy using thermal inkjet bioprinting, chemotherapy, and radiation on human breast cancer cells; an in-vitro cell viability assessment [ J ] . *Materials*, 2021, 14(24): 7864.
- [ 34 ] YI H G, CHOI Y J, KANG K S, et al. A 3D-printed local drug delivery patch for pancreatic cancer growth suppression [ J ] . *J Control Release*, 2016, 238: 231–241.
- [ 35 ] WANG Y H, SUN L, MEI Z G, et al. 3D printed biodegradable implants as an individualized drug delivery system for local chemotherapy of osteosarcoma [ J ] . *Mater Des*, 2020, 186: 108336.
- [ 36 ] SU Y, LIU Y Q, HU X Y, et al. Caffeic acid-grafted chitosan/sodium alginate/nanoclay-based multifunctional 3D-printed hybrid scaffolds for local drug release therapy after breast cancer surgery [ J ] . *Carbohydr Polym*, 2024, 324: 121441.
- [ 37 ] ZHANG X H, HUANG H F, LANG X, et al. A 3D-printed PCL/PEI/DNA bioactive scaffold for chemotherapy drug capture *in vivo* [ J ] . *Int J Biol Macromol*, 2023, 236: 123942.
- [ 38 ] DANG W T, CHEN W C, JU E G, et al. 3D printed hydrogel scaffolds combining glutathione depletion-induced ferroptosis and photothermia-augmented chemodynamic therapy for efficiently inhibiting postoperative tumor recurrence [ J ] . *J*

- Nanobiotechnology, 2022, 20(1): 266.
- [ 39 ] SHANG Q, DONG Y B, SU Y, et al. Local scaffold-assisted delivery of immunotherapeutic agents for improved cancer immunotherapy [ J ] . *Adv Drug Deliv Rev*, 2022, 185: 114308.
- [ 40 ] JIANG X, REN L, TEBON P, et al. Cancer-on-a-chip for modeling immune checkpoint inhibitor and tumor interactions [ J ] . *Small*, 2021, 17(7): e2004282.
- [ 41 ] LI R, ZHANG L, JIANG X B, et al. 3D-printed microneedle arrays for drug delivery [ J ] . *J Control Release*, 2022, 350: 933–948.
- [ 42 ] CAUDILL C, PERRY J L, ILIADIS K, et al. Transdermal vaccination via 3D-printed microneedles induces potent humoral and cellular immunity [ J ] . *Proc Natl Acad Sci USA*, 2021, 118(39): e2102595118.
- [ 43 ] ZHANG Y, XU J L, FEI Z Y, et al. 3D printing scaffold vaccine for antitumor immunity [ J ] . *Adv Mater*, 2021, 33(48): e2106768.
- [ 44 ] XU Y, ZHU W, WU J, et al. 3D-printed dendritic cell vaccines for post-surgery cancer immunotherapy [ J ] . *Adv Funct Mater*, 2024: 2400507.
- [ 45 ] HUA J F, WU P, GAN L, et al. Current strategies for tumor photodynamic therapy combined with immunotherapy [ J ] . *Front Oncol*, 2021, 11: 738323.
- [ 46 ] TANG M, QU Y J, HE P X, et al. Heat-inducible CAR-T overcomes adverse mechanical tumor microenvironment in a 3D bioprinted glioblastoma model [ J ] . *Mater Today Bio*, 2024, 26: 101077.
- [ 47 ] JORGENSEN A M, GORKUN A, MAHAJAN N, et al. Multicellular bioprinted skin facilitates human-like skin architecture *in vivo* [ J ] . *Sci Transl Med*, 2023, 15(716): ead7547.
- [ 48 ] LEE C Y, NEDUNCHEZIAN S, LIN S Y, et al. Bilayer osteochondral graft in rabbit xenogeneic transplantation model comprising sintered 3D-printed bioceramic and human adipose-derived stem cells laden biohydrogel [ J ] . *J Biol Eng*, 2023, 17(1): 74.
- [ 49 ] WANG J, WU Y, LI G F, et al. Engineering large-scale self-mineralizing bone organoids with bone matrix-inspired hydroxyapatite hybrid bioinks [ J ] . *Adv Mater*, 2024, 36(30): e2309875.
- [ 50 ] LEE A, HUDSON A R, SHIWARSKI D J, et al. 3D bioprinting of collagen to rebuild components of the human heart [ J ] . *Science*, 2019, 365(6452): 482–487.
- [ 51 ] ZHANG J B, CHEN X D, CHAI Y R, et al. 3D printing of a vascularized mini-liver based on the size-dependent functional enhancements of cell spheroids for rescue of liver failure [ J ] . *Adv Sci*, 2024, 11(17): e2309899.
- [ 52 ] 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.
- [ 53 ] JIN Y C, MIKHAILOVA E, LEI M, et al. Integration of 3D-printed cerebral cortical tissue into an *ex vivo* lesioned brain slice [ J ] . *Nat Commun*, 2023, 14(1): 5986.
- [ 54 ] KIM W, KIM G H. An intestinal model with a finger-like villus structure fabricated using a bioprinting process and collagen/SIS-based cell-laden bioink [ J ] . *Theranostics*, 2020, 10(6): 2495–2508.
- [ 55 ] HALE L J, HOWDEN S E, PHIPSON B, et al. 3D organoid-derived human glomeruli for personalised podocyte disease modelling and drug screening [ J ] . *Nat Commun*, 2018, 9(1): 5167.
- [ 56 ] YAN Y F, CHEN H, ZHANG H B, et al. Vascularized 3D printed scaffolds for promoting bone regeneration [ J ] . *Biomaterials*, 2019, 190/191: 97–110.
- [ 57 ] RATHAN S, DEJOB L, SCHIPANI R, et al. Fiber reinforced cartilage ECM functionalized bioinks for functional cartilage tissue engineering [ J ] . *Adv Healthc Mater*, 2019, 8(7): e1801501.
- [ 58 ] MAIHEMUTI A, ZHANG H, LIN X, et al. 3D-printed fish gelatin scaffolds for cartilage tissue engineering [ J ] . *Bioact Mater*, 2023, 26: 77–87.
- [ 59 ] YANG X, LI S, REN Y, et al. 3D printed hydrogel for articular cartilage regeneration [ J ] . *Compos Part B Eng*, 2022, 237: 109863.
- [ 60 ] KANG M S, JANG J, JO H J, et al. Advances and innovations of 3D bioprinting skin [ J ] . *Biomolecules*, 2022, 13(1): 55.
- [ 61 ] JIN R H, CUI Y C, CHEN H J, et al. Three-dimensional bioprinting of a full-thickness functional skin model using acellular dermal matrix and gelatin methacrylamide bioink [ J ] . *Acta Biomater*, 2021, 131: 248–261.
- [ 62 ] BHAR B, DAS E, MANIKUMAR K, et al. 3D bioprinted human skin model recapitulating native-like tissue maturation and immunocompetence as an advanced platform for skin sensitization assessment [ J ] . *Adv Healthc Mater*, 2024, 13(15): e2303312.
- [ 63 ] YIM W, ZHOU J J, SASI L, et al. 3D-bioprinted phantom with human skin phototypes for biomedical optics [ J ] . *Adv Mater*, 2023, 35(30): e2305227.
- [ 64 ] NOOR N, SHAPIRA A, EDRI R, et al. 3D printing of personalized thick and perfusable cardiac patches and hearts [ J ] . *Adv Sci*, 2019, 6(11): 1900344.
- [ 65 ] ALONZO M, ANILKUMAR S, ROMAN B, et al. 3D Bioprinting of cardiac tissue and cardiac stem cell therapy [ J ] . *Transl Res*, 2019, 211: 64–83.
- [ 66 ] ESSER T U, ANSPACH A, MUENZEBROCK K A, et al. Direct 3D-bioprinting of hiPSC-derived cardiomyocytes to generate functional cardiac tissues [ J ] . *Adv Mater*, 2023, 35(52): e2305911.
- [ 67 ] FALLERT L, URIGOITIA-ASUA A, CIPITRIA A, et al. Dynamic 3D *in vitro* lung models: applications of inorganic nanoparticles for model development and characterization [ J ] . *Nanoscale*, 2024, 16(23): 10880–10900.

(收稿日期: 2024-07-30 修回日期: 2024-09-14)

(责任编辑: 李广涛)