

## 从微米级角膜结构到分米级心脏模型

## 多尺度浸入式打印实现“大小通吃”

◎实习记者 于紫月

“嗡嗡嗡……”30厘米见方的操作台上，一根3D打印针头扎进透明“果冻”中，针口处不断挤出一根“红线”，在“果冻”中沿着电脑规划好的路线来回移动“作画”。当针头自下而上移动到“果冻”上端时，只要按下暂停键，再将一层新“果冻”叠加到旧“果冻”上面，针头又开始“画”起来。最终，一颗高约6.5厘米的红色心形3D模型被仅有1.27厘米长的小针头精准打印出来。

近日，正在美国内华达大学交流学习的大连理工大学机械工程学院博士生张诚在视频连线中，向记者展示了浸入式生物3D打印技术。

“我们用的‘红线’，是可以模拟细胞外环境的水凝胶生物材料。它有一个很形象的名称，叫‘生物墨水’。”张诚解释，这种利用生物墨水打印生物器官或组织的浸入式打印技术，是生物3D打印的重要分支。

大连理工大学机械工程学院教授赵丹阳告诉记者，以往浸入式生物3D打印技术，只能用小针头打印特别小的生物组织。如今，用小针头也可以制造像心脏这样的分米级大尺寸器官。日前，赵丹阳团队与美国内华达大学雷诺分校教授金翼飞团队等组成的海内外联合研究团队，历经多年持续攻关，提出多尺度浸入式打印(MSEP)策略，实现了“一策多用”和“大小通吃”。相关成果发表在学术期刊《美国国家科学院院刊》上。

## 可支持复杂器官制造

生物3D打印技术基于增材制造原理，以活性细胞、生长因子、生物材料等为主要原料制造生物组织和器官，是再生医学工程领域的重要制造手段。在过去十几年里，生物3D打印技术一直处于快速发展阶段，为医疗、生物学、材料和制造领域带来巨大变革和创新。近年来，较为成熟的生物3D打印技术应用成果频频见报端，其涵盖药物、伤口敷料、器官芯片、药物缓释系统、假肢、人体组织器官模型以及生物机器人等多个医学领域。

“浸入式生物3D打印技术在生物3D打印中扮演重要角色，为制造复杂生物组织和器官提供了关键支持。”作为论文第一作者，张诚谈及浸入式3D打印技术时如数家珍，“传统的方法是利用针头挤出生物墨水，在特定的支持浴材料中将成品打印出来。视频中的透明‘果冻’就是支持浴材料，主要起到辅助支撑作用。”

由于人体器官在身体内部多具有悬空结构，且生物墨水本身较为脆弱，与在空气中直接打印相比，在凝胶态的支持浴材料中打印更能保障打印结构稳定且不易坍塌。

凝胶态是一种特殊的固态形式，果冻、豆腐是日常生活中常见的凝胶态物质。水凝胶是凝胶态物质的一种，因含水量高、与细胞外环境十分相似而被广泛应用于生物制造领域。张诚介绍，支持浴材料通常采用具有良好屈服应力特性的水凝胶。3D打印针头扎入支持浴材料后，由于支持浴材料具有屈服应力特性，在打印针头划过时，材料会变为液态。等针头挤出生物墨水并离开打印位置后，支持浴材料又会重新变为凝胶态，从而将打印墨水牢牢“抓住”，使打印结构保持稳定并保障打印结构精度。



图为利用多尺度浸入式打印策略打印的异质人类眼球结构。受访者供图

## 研发新材料破解瓶颈问题

为什么浸入式生物3D打印技术很难打印分米级及以上的大器官？张诚解释，传统的支持浴材料不能在凝胶态和液态之间随意切换，难以在打印时向打印容器中按需添加支持浴材料。因此，打印前支持浴材料就要“一步到位”，要打印的器官有多高，所需要的支持浴材料就要有多深。随之影响的是针头的长度：打印小器官，短针头即可；打印大器官，就需要长针头。这就像是书法，写簪花小楷时多用纤细秋毫之笔；写擘窠大字时则需用斗笔等。

问题随之而来，针头越长，将生物墨水挤出来所需的力就越大。而生物墨水又极其脆弱，针头越长，生物墨水中细胞被破坏的可能性就越大，一不小心就会“鸡飞蛋打”。事实也是如此。记者了解到，目前这项技术仅能打印功能特征尺寸在数百微米到数十毫米之间的组织和器官结构。

“如果能用小针头打印完一层后，再在上面倒入一层支持浴材料，再打印一层，如此实现逐层打印就好了。”论文共同通讯作者金翼飞提出了这样的设想。而要实现这个想法，关键在于研发出一种能够随心所欲进行状态转换的新型支持浴材料。

有材料学专家认为，研发新材料的一种方式就像炒菜不断调整油、盐、酱、醋的比例，找出口味最好的菜谱配方一样，需要不断调整组成材料的种类、比例，从而找出具备优良性能的新材料。当然，这种“炒菜”式研发过程是极其枯燥和漫长的。

经过无数次调整配比和不断重复试验，联合研究团队终于研发出一种刺激响应性支持浴材料。它能够在保持屈服应力特性的同时，随简单的温度变化实现状态转换。“温度低于4摄氏度时，该材料为液体；高于25摄氏度时则为凝胶态。”张诚告诉记者，打印制造时，只需将温度降低，把这种支持浴材料倾倒入打印容器中，随后升温使其变成凝胶态，让针头开始工作；待本层打印完成，倒入下一层低温支持浴材料，再升温继续打印。如此循环，再大的器官都能实现精准打印。

有了关键材料保驾护航，利用浸入式3D打印技术制造器官的瓶颈问题迎刃而解，MSEP策略应运而生。凭借“一策多用”的优势，联合研究团队利用小针头不仅构建了具有微米级特征尺寸的高精度角膜结构、具有毫米级特征尺寸的同质/异质眼球和主动脉瓣膜假体，还打印出具有分米级尺度的全尺寸人类心脏模型。该策略在构建多尺度人体组织和器官方面的潜力被充分验证。

## 最终目标是“形神兼备”

根据国家卫生健康委员会2018年发布的数据，全国每年急需器官移植的大约30万名患者中，仅有约1.6万人能够获得器官捐献。世界卫生组织统计数据发现，全球每年只有不到10%的器官移植需求能得到满足。

巨大的移植器官缺口让更多人将目光转向了动物器官移植。尽管当前已有临床应用案例，但动物器官移植依然面临费用高昂、具有物种间免疫屏障、存在病毒传播风险和伦理问题等重大挑战。而3D打印器官一旦发展成熟，上述问题便有望得到解决。

“MSEP策略显著提升了3D打印器官的打印效率和精度，扩大了可打印尺度范围，有望为人类解决移植器官严重短缺难题尽一份绵薄之力。未来，我们将朝着两个方向努力。短期内，我们希望进一步提高打印速度，并实现载细胞打印，为后续功能化器官打印奠定坚实基础。长期来看，我们将致力于提高打印器官的复杂性，并进一步提升3D打印组织器官与人体天然器官在结构和功能上的相似度。”金翼飞认为，“形似而神更似”一直是人造器官追求的最终目标。

事实上，生物3D打印技术发展至今，始终有几片“乌云”笼罩其上，限制了这项技术造福人类的进程。赵丹阳说，生物材料选择与适应性、打印精度与分辨率、打印效率与成本、组织血管化与生长、打印结构后续的功能化诱导等，均是目前整个生物3D打印领域面临的重要瓶颈。“我们能做的，就是瞄准其中一两个方向，尽己所能攻坚克难、奋楫笃行。”他说。

## 医线传真

## 新模型可预测

## 腹腔镜全子宫切除手术难度

科技日报讯(记者雍黎 通讯员黄琪奥)4月23日，记者从陆军军医大学西南医院获悉，该院妇产科教授王延洲团队与江北院区(陆军第九五八医院)妇产科教授陈胤团队，通过融合术前临床数据与超声影像指标，创造了一种新的列线图模型。该模型可预测腹腔镜全子宫切除手术难度，为术前准备和手术精准实施提供有效临床指导。相关文章日前在《国际科学杂志》发表。

“以往对手术难度的评估，大多仅限于按手术名称进行分类，而忽视了病情差异带来的手术难易程度变化。困难的手术往往需要经验丰富的医生参与，以降低严重并发症风险。”王延洲介绍。

全子宫切除术是一项妇科常见手术，全球每年约有600万人接受该手术。腹腔镜全子宫切除术因其微创优势而广受妇科医生推崇。在我国，腹腔镜手术属于技术难度相对较高的三级手术，存在术中打开腹膜、以及泌尿道、肠道损伤并发生症等风险，会对患者健康造成威胁。因此，如何在术前准确预知手术难度，选择合适的手术方案，成为医学界面临的问题。

“我们以西南医院和江北院区(陆军第九五八医院)的患者资料为基础，利用多变量逻辑回归分析方法，对这些患者的术前临床数据和超声影像指标进行分析，确定了手术难度的独立预测因子，构建了一张列线图。”王延洲说，构建列线图后，他们对列线图进行了严格的内外验证。

研究发现，该图能根据子宫重量、盆腔手术史、是否存在子宫肌瘤以及年度子宫切除量等因素，准确识别高危患者，有效预测腹腔镜全子宫切除术的难度，为医生术前决策提供准确指导。

王延洲说，团队此次开发的列线图，不仅有效预测腹腔镜全子宫切除术的手术难度，为术前规划、患者咨询提供有力工具，还能进一步优化外科手术培训。未来，团队将启动一项多中心、前瞻性临床研究，进一步验证和完善预测模型，通过扩大样本量和囊括更多医疗数据，提升模型的泛化能力和实际应用效果，使其更加贴合临床需要，最终实现降低手术风险、缩短恢复时间、减少并发症的目标。

慢性药物性肝损伤  
治疗优化方案出炉

科技日报讯(记者张强 通讯员戴欣)药物性肝损伤是全球关注度最高的药源性疾病之一。4月23日记者获悉，解放军总医院第五医学中心肝病医学部和病理科教授邹正升、赵景民、纪冬团队，与第一医学中心消化内科医学部肝脏疾病科组成药物性肝损伤临床科研团队，经过严格的随机对照试验研究，推出36周短程优化激素治疗方案，成功将慢性药物性肝损伤患者的激素治疗疗程缩短12周。研究成果近日在《肝脏国际》杂志在线发表。

解放军总医院第五医学中心相关数据显示，药物性肝损伤住院患者人数呈逐年上升趋势，其中有8%—25%的患者进展为慢性药物性肝损伤。这些患者长期面临疾病困扰，且常规治疗效果不好，病情反复发作甚至引起肝硬化或肝衰竭。

国内外多部指南提到，使用糖皮质激素治疗慢性药物性肝损伤可能获得疗效，但一直缺少明确的治疗方案及高质量循证医学证据。

此前，研究团队已摸索出48周激素递减治疗方案，经过严格临床试验证实安全有效。而激素治疗疗程越短，越能降低潜在不良反应，且更易使患者坚持服药。如何安全有效地将激素治疗疗程缩短，成为研究团队重点探索的目标。

为此，研究团队从庞大的肝病数据库中总结了临床数据及诊疗经验，对使用糖皮质激素治疗的时间进行优化，设计了36周优化治疗方案组与48周治疗方案组进行非劣效性比较的随机对照试验研究。其中，36周优化治疗方案组前24周的治疗方案与48周治疗方案组相同，保证了抗炎疗效。从第25周起，36周优化治疗方案组的激素剂量开始减量更为积极，最终达到缩短疗程的目的。优化方案在保证同等疗效及低复发率的同时，减少了激素潜在不良反应，并提高了慢性药物性肝损伤患者治疗的依从性。

## 促进蚊媒黄病毒

## 感染与传播新机制揭示

科技日报讯(记者华凌)4月23日，记者从清华大学获悉，该校基础医学院教授团队揭示了蚊媒黄病毒基于一种进化保守机制，使病毒实现高效率感染。该研究工作为阻断蚊媒黄病毒感染和传播提供了潜在治疗靶点。相关研究论文日前在《美国国家科学院院刊》发表。

蚊媒黄病毒包括登革病毒、寨卡病毒、乙型脑炎病毒等。蚊媒黄病毒的基因组先被翻译成一条多聚蛋白，再被切割成结构蛋白和非结构蛋白。大多数非结构蛋白滞留在细胞内，随着时间推移发生积累并产生严重毒性，这影响了病毒高效率复制。至今，相关研究者对积累的多余非结构蛋白被清除的机制尚不清楚。

“我们筛选到一种位于细胞内质网的关键蛋白，它能促进蚊媒黄病毒在蚊媒媒介和哺乳动物宿主中感染。”程功说，蚊媒黄病毒非结构蛋白4A(NS4A)在细胞中的积累，可以抑制病毒多聚蛋白在内质网的加工与表达，进而抑制病毒感染过程。而他们筛选到的这种关键蛋白能与NS4A结合并将其降解，避免NS4A过度积累，最终促进病毒感染。

程功介绍，在前人的研究中，科学家已筛选出一种该关键蛋白的小分子抑制剂。科研人员发现，这个小分子能抑制登革病毒在埃及伊蚊和小鼠上的感染，同时抑制病毒完成“宿主—蚊虫”的传播周期，大幅降低蚊虫感染率。由此表明，这个小分子是一种潜在抗病毒候选药物分子。以上研究为蚊媒黄病毒感染防治提供了全新药物靶点。

## 追踪关键细胞起源 找到肺病治疗靶点

◎洪恒飞 朱恒志 本报记者 江耘

肺泡是肺部气体交换的主要部位，正常成年人的肺脏中有数亿个肺泡。当疾病引发肺泡受损时，需要新生肺泡上皮干细胞才能修复。新生肺泡上皮干细胞从何而来？能否人为调控并用于疾病治疗？

近日，国际学术期刊《细胞》在线发表了中国科学院大学杭州高等研究院生命与健康科学学院、中国科学院分子细胞科学卓越创新中心研究员周斌课题组的最新成果。研究通过开发一系列细胞示踪新技术，发现了成体肺脏中新生肺泡上皮干细胞的再生起源，为特发性肺纤维化、肺炎、慢性阻塞性肺疾病等肺脏疾病的临床治疗提供了新治疗靶点和重要研究基础。

## 两个“关键词”检索目标细胞

如果将呼吸系统比作一棵树，气管就

是树干，支气管则是树枝。细支气管末端的肺泡就像树梢上的花，其中不同类型的上皮细胞暗藏玄机。

肺泡上皮主要由I型肺泡上皮细胞和II型肺泡上皮细胞构成，分别起到指挥气体交换和维持肺泡结构稳定的作用。II型肺泡上皮细胞是肺泡上皮主要干细胞，在肺脏受损后，它不仅可以自我增殖，还可以转化成I型肺泡上皮细胞。

“II型肺泡上皮细胞衰老和减少，可能会造成肺部纤维化、慢性阻塞性肺疾病等。”周斌说，关于II型肺泡上皮细胞的起源有多种说法。有研究认为，I型肺泡上皮细胞也能转化成II型。还有研究认为，在细支气管中的棒状细胞与细支气管和肺泡交界处的支气管肺泡干细胞，都可以逐渐迁移到肺泡组织中，形成II型肺泡上皮细胞。

周斌解释，这些关于II型肺泡上皮细胞起源的研究发现，都基于单个基因标记的细胞示踪技术。这项技术就是将单重组酶系统设计到小鼠基因组上，追踪肺脏

中某一上皮细胞类型，观察它的命运转变，研究其子代细胞的增殖和分化情况。

研究发现，之前追踪I型肺泡上皮细胞和棒状细胞的单基因标记技术，都存在对靶细胞标记精准度低的问题。“比如Cre-loxP重组酶系统，不仅会标记I型肺泡上皮细胞，也会少量标记棒状细胞和支气管肺泡干细胞，乃至II型肺泡上皮细胞。”周斌告诉记者，标记不精准，会干扰最终的研究结果，导致这些发现一直存在科学争议。

“简单来说，用单个基因标记，就像是在搜索引擎中输入一个关键词。如果同时用两个关键词去搜索，得到的信息就是分别用两个关键词单独检索的信息的交集，结果肯定会更加准确。”周斌说。

2017年，周斌课题组首次开发出双基因标记介导的细胞示踪技术。此后，课题组持续精选可用于标记细胞的“关键词”，开发了一系列细胞示踪技术。相比单个基因标记，新技术大大提高了对目标细胞标记精准度。

## 找到调控细胞“变身”信号通路

究竟是哪种细胞在肺泡受损时转变为II型肺泡上皮细胞，参与维持肺泡结构的稳定？如果明确具体对象和机制，科研人员在应对肺部疾病时就能掌握更多主动权。

在此次研究中，课题组准确追踪了棒状细胞、支气管肺泡干细胞、I型和II型肺泡上皮细胞，为它们打上特异性标记。结合小鼠肺脏损伤模型，他们发现，II型

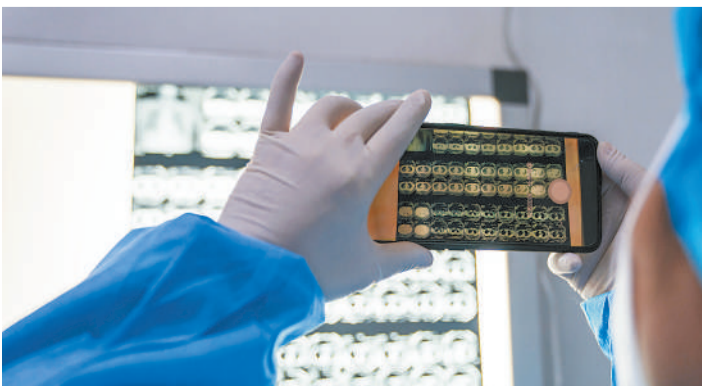
肺泡上皮细胞除了自我增殖外，还来源于支气管肺泡干细胞和棒状细胞，而不会来源于I型肺泡上皮细胞，解决了相关研究领域多年的争议。

“我们对标记的细胞进行体外分选、单细胞测序之后，观察了它们内部信号通路的变化。”论文共同第一作者、中国科学院大学杭州高等研究院生命与健康科学学院副研究员刘扩介绍，他们观察到其中有条Notch信号通路，在细胞转变过程中反应明显。

论文共同第一作者、中国科学院分子细胞卓越中心博士生刘子鑫说，这些细胞中，每个细胞能测出2000到3000个基因，细胞通路很复杂，一个基因可能参与多条通路。课题组优先筛选了100条通路，再从中选出Notch信号通路，在小鼠体内对Notch信号通路进行了敲除对比试验，验证它的功能。

课题组创新性发现了棒状细胞和支气管肺泡干细胞在向II型肺泡上皮细胞转变的过程中，具有不同的细胞分化路径，并受Notch信号通路调控。Notch信号通路被抑制后，会减少棒状细胞向II型肺泡上皮细胞转化，反之则会促进支气管肺泡干细胞向II型肺泡上皮细胞转化。

“双基因标记介导的细胞示踪技术可以广泛用于器官发育和再生研究，为发育生物学、再生医学、遗传学等众多领域研究提供了新技术方法。”周斌说，未来或许能通过特定药物刺激Notch信号通路，控制支气管肺泡干细胞转化，维持肺泡功能，从而治疗肺脏疾病。



医务人员正在看患者的肺部CT片。  
视觉中国供图