

解放军总医院《ACS Appl. Mater. Interfaces》| 释放治愈能

力：3D 生物打印模拟缺氧以增强间充质干细胞

解放军总医院医学创新研究部付小兵院士、黄沙副研究员团队在《ACS APPLIED MATERIALS & INTERFACES》期刊发表文章 "*Unleashing the Healing Power: 3D Bioprinting Mimics Hypoxia to Supercharge Mesenchymal Stem Cells*"。MSCs 在干细胞疗法中具有重要作用，它们具有多向分化潜能、免疫调节特性以及促进组织再生的潜力。在体内，MSCs 处于低氧微环境中，这种环境对细胞的行为和功能具有深远影响。低氧条件能够稳定低氧诱导因子（HIFs），进而调节细胞的关键过程。此外，低氧还会影响 MSCs 的免疫调节特性，增强其分泌抗炎细胞因子的能力，同时减少促炎细胞因子的分泌。然而，传统的 2D 培养条件会导致其天然低氧微环境缺失，进而可能限制其治疗效果。3D 生物打印技术能够通过将细胞与细胞外基质相结合来重现复杂的生物环境，为组织工程和再生医学带来了变革。目前，尽管 3D 生物打印技术在组织工程领域取得了显著进展，但在准确复制 MSCs 复杂的微环境，尤其是低氧条件方面，仍然面临挑战。该研究优化了基于细胞团聚体（PCA）的生物打印方法，通过调整生物墨水的组成和打印参数，成功模拟了体内低氧微环境，从而显著提高了 MSCs 的治疗能力。具体而言，研究发现打印出的基质能够创造低氧微环境，使 MSCs 产生的几种旁分泌信号分子和免疫调节因子水平显著增加，同时 MSCs 在培养早期展现出增强的干性和增殖能力。

Unleashing the Healing Power: 3D Bioprinting Mimics Hypoxia to Supercharge Mesenchymal Stem Cells

Yuyan Huang,¹ Liting Liang,¹ Yi Kong,¹ Zhao Li, Wei Song, Lin Ding, Jinpeng Du, Mengde Zhang, Chao Zhang, Jianjun Li, Dongzhen Zhu, Qinghua Liu, Yaxin Tan, Yu Feng, Xu Guo, Xiaobing Fu,^{*} and Sha Huang^{*}



Cite This: *ACS Appl. Mater. Interfaces* 2025, 17, 14888–14902



Read Online

WHAT—间充质干细胞（MSCs）是什么？

间充质干细胞（Mesenchymal Stem Cells, MSCs）是具有自我更新和多向分化潜能的成体干细胞，广泛存在于骨髓、脂肪组织、胎盘、脐带血等多种组织中。它们能够分化为骨细胞、软骨细胞、脂肪细胞等多种细胞类型，并具有免疫调节和组织修复功能。MSCs 通过分泌细胞因子和生长因子，促进组织再生和修复，同时具有低免疫原性，能够在体外长期扩增。这些特性使 MSCs 在再生医学和细胞治疗领域展现出巨大潜力，尤其在骨与软骨修复、免疫相关疾病、心脑血管疾病以及神经系统疾病的治疗中具有广泛应用前景。

WHY—MSCs 的优势？

间充质干细胞（MSCs）具有多向分化潜能，能分化为多种细胞类型，包括骨细胞、软骨细胞、脂肪细胞、心肌细胞等，可用于修复和再生多种组织。它们还具有低免疫原性和强大的免疫调节能力，能够抑制炎症反应，调节免疫系统，这使得 MSCs 在治疗自身免疫性疾病如类风湿性关节炎和系统性红斑狼疮等方面具有显著优势。此外，MSCs 能分泌多种生长因子和细胞因子，促进组织修复和再生，刺激周围细胞的修复和再生过程，并促进血管生成，加速伤口愈合。与其他干细胞相比，MSCs 的获取较为容易，来源广泛，包括骨髓、脂肪组织、胎盘、脐带血等，且在体外易于扩增，大大提高了其在临床应用中的可及性。此外，MSCs 的临床应用范围广泛，已被用于治疗骨关节炎、心肌梗死、神经系统疾病

等多种疾病，且在临床试验中显示出良好的安全性和耐受性。

HOW—3D 生物打印模拟缺氧以增强间充质干细胞

图 1 展示了通过优化预培养生物墨水和打印参数来制备细胞团聚体 (PCA) 生物打印方法的过程。首先，将不同配方的生物墨水 (1AP、2AP、3AP) 中的细胞进行预培养，观察细胞聚集情况，发现 1AP 条件下的细胞聚集尺寸最大且活性最高。随后，通过流变测试表明，1AP 生物墨水具有良好的剪切变稀行为和适宜的机械稳定性，适合 3D 生物打印。最终，利用优化后的 1AP 生物墨水进行 3D 打印，**形成了具有稳定结构的细胞团聚体生物打印构造。**

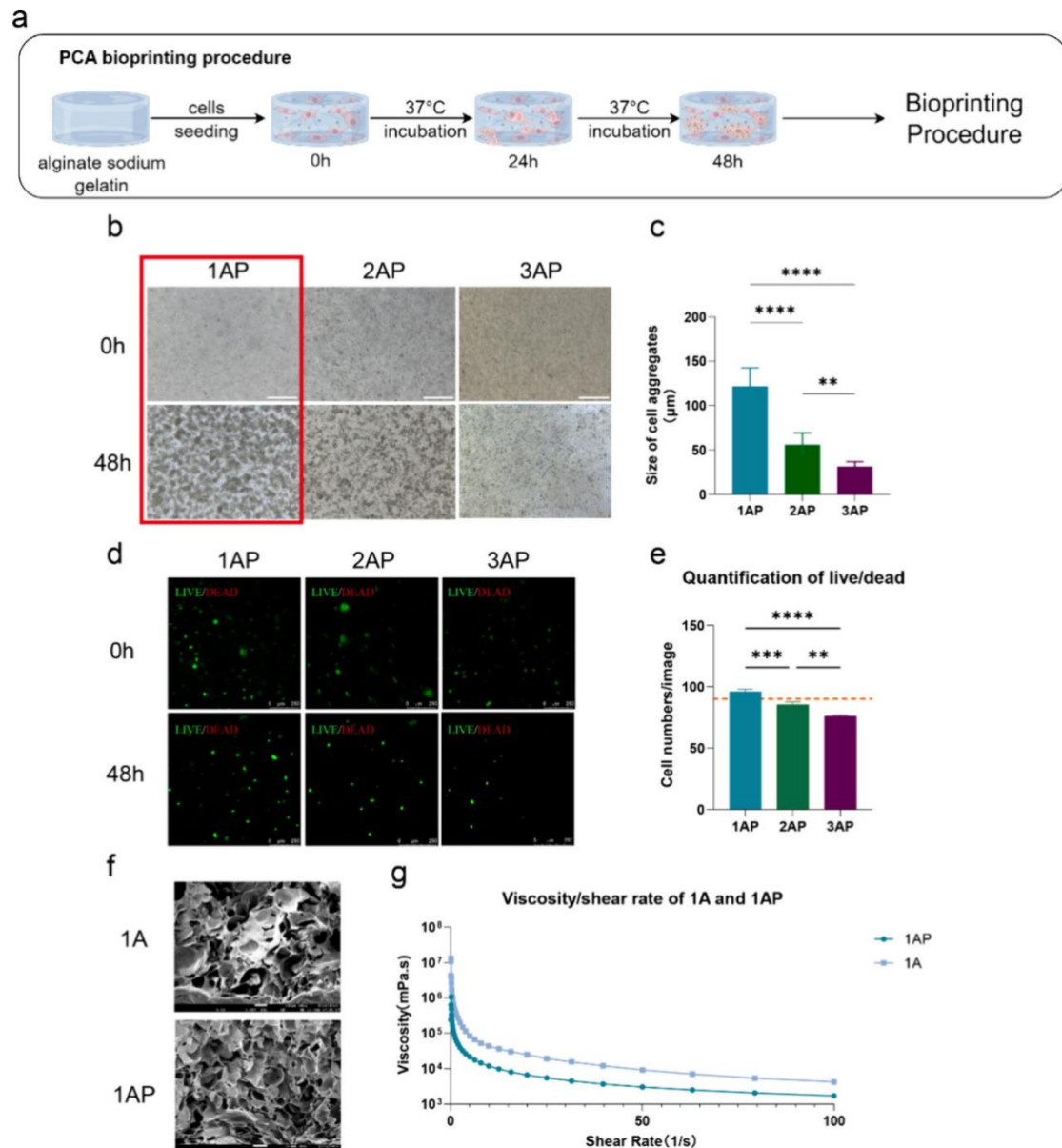


图 1 优化预培养的生物墨水和打印性评估

图 2 通过免疫荧光染色、Transwell 实验和 ELISA 检测等方法，研究了**预培养生物墨水对间充质干细胞（MSCs）免疫调节能力的影响**。结果显示，预培养的生物墨水（1AP）显著降低了 MSCs 中促炎因子（如 IL-6 和 TNF- α ）的表达，同时提高了抗炎因子（如 IL-10）的表达。此外，Transwell 实验表明，预培养的 3D 生物打印结构（3DP）能有效抑制 RAW264.7 巨噬细胞的迁移，进一步证实了其抗炎特性。结果表明，**预培养的生物墨水增强了 MSCs 的免疫调节能力**。

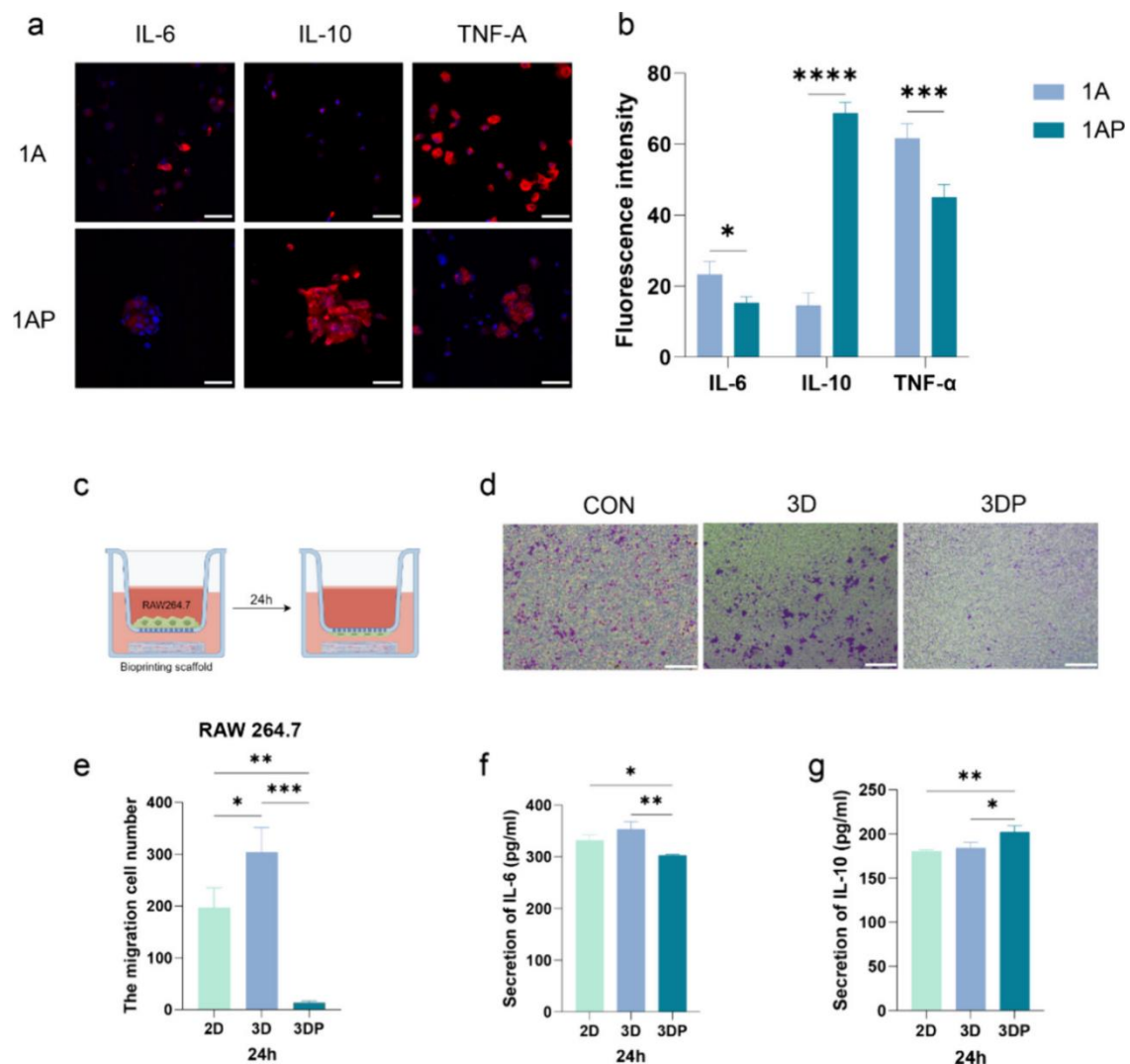


图 2 增强预培养生物墨水中 MSC 的免疫调节能力

图 3 中, 研究者们深入探究了预培养生物墨水(1AP)对间充质干细胞(MSCs)低氧状态和干性的影响。通过免疫荧光染色发现, 1AP 条件下的 MSCs 中低氧标志物 HIF-1 α 和干性标志物 NANOG 的表达水平显著高于传统生物墨水(1A)和 2D 培养的细胞。利用 RT-PCR 技术进一步分析了低氧相关基因 (如 Hif-1 α 、Vegfa、Glut1、Nrf2、Vhl、Epsa1、Egln1 和 Pkm) 的表达情况, 发现 1AP 条件下的 MSCs 显著上调了这些基因的表达, 证实了**预培养生物墨水能够模拟体内低氧微环境**。同时, 干性相关基因 (如 Nanog) 的表达也显著上调, 而自噬相关基因 LC3 的表达则下调, 表明 **MSCs 在低氧环境下维持了较高的干性**。此

外, 纤维化相关基因 TGF- β 1 的表达上调可能暗示细胞在低氧条件下发生了某种程度的纤维化变化。这些详细结果表明, 预培养的生物墨水不仅促进了 MSCs 低氧状态的形成, 还增强了其干性, 为后续的细胞功能研究奠定了基础。

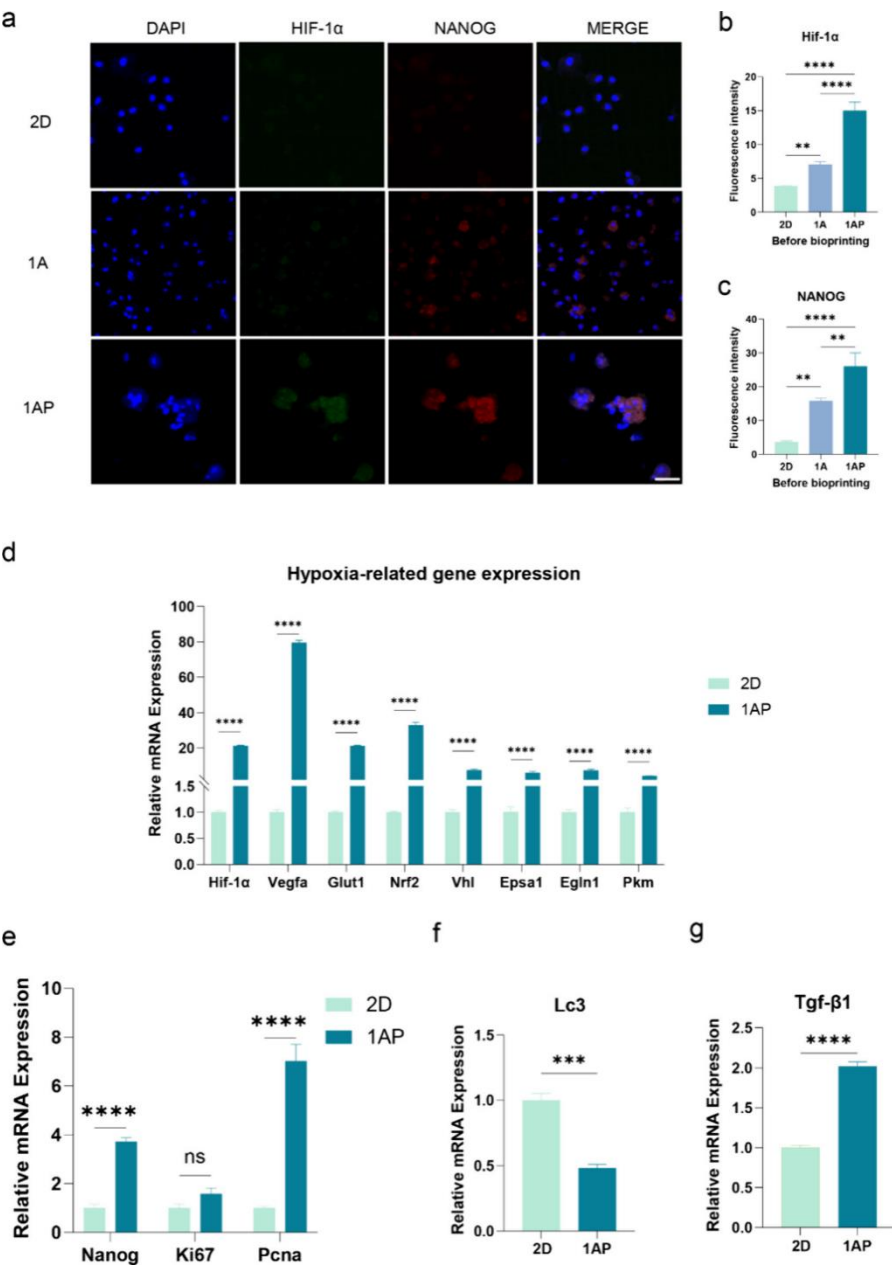


图 3 生物打印前预培养生物墨水 (1AP) 中的缺氧生态位、干性和增殖

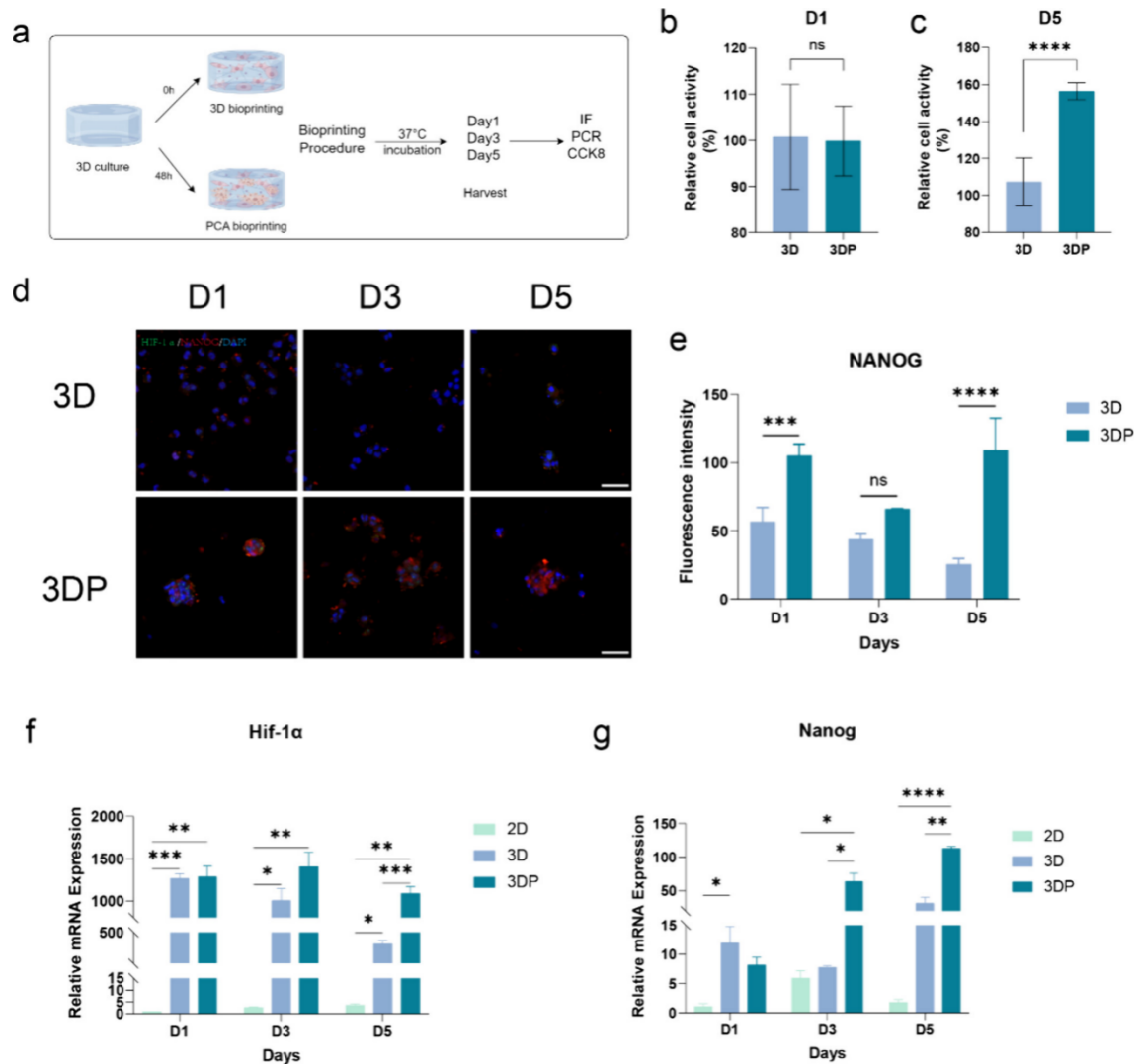


图 4 评估三维培养细胞活性、增殖和基因表达

图 4 通过一系列实验，包括细胞活性检测（CCK-8 实验）、免疫荧光染色和基因表达分析（RT-qPCR），评估了间充质干细胞（MSCs）在 3D 和 3DP（预培养的 3D 生物打印）条件下培养 1、3 和 5 天后的细胞活性、增殖和干性状态。结果表明，3DP 组在培养第 5 天显示出更高的细胞活性，并且在第 1 天和第 5 天，3DP 组的 RNA 浓度和细胞数量显著高于 3D 组。免疫荧光染色显示，3DP 组的细胞在培养第 1 天表现出更高的 HIF-1α（低氧标志物）和 NANOG（干性标志物）的表达水平。基因表达分析进一步揭示了 3DP 组在培养第 1 天高表达增殖相关基因（如 Ki67 和 PcnA），并在整个培养期间持续表达低氧相关基因（如

Hif-1 α 、Glut1 和 Nrf2)。这些结果表明，预培养的 3D 生物打印条件（3DP）能够更好地维持和促进 MSCs 的干性和增殖能力。

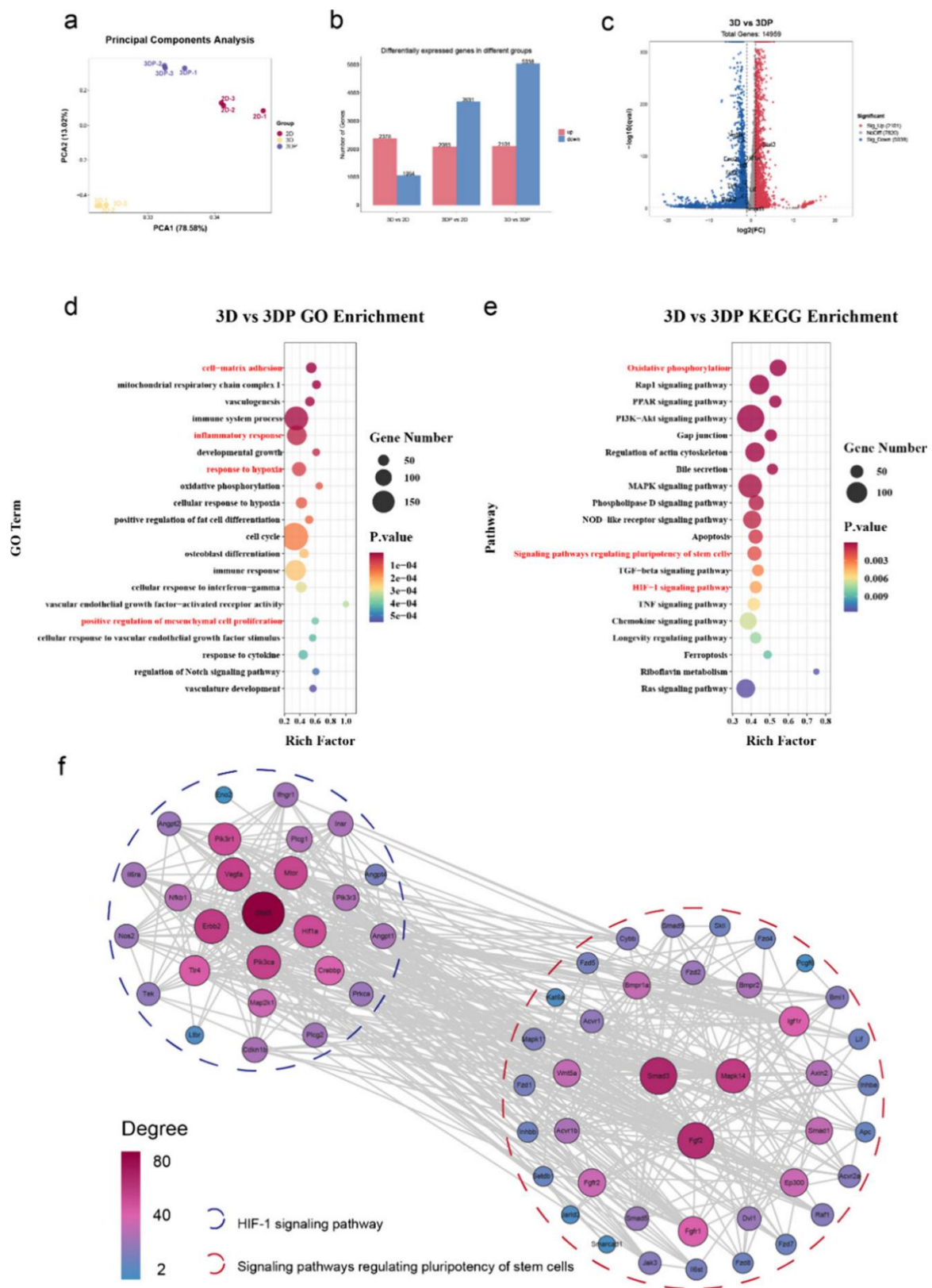


图 5 转录组学分析三维培养细胞

图 5 中, 研究者们对在 3D 和 3DP (预培养的 3D 生物打印) 条件下培养 1 天的间充质干细胞 (MSCs) 进行了 RNA 测序分析, 通过主成分分析 (PCA) 和差异表达基因 (DEGs) 分析, 发现 3DP 组与 3D 组之间存在显著的基因表达差异, 表明预培养的生物打印方法能够显著影响细胞的基因表达模式。火山图显示, 与低氧相关的基因 (如 Hif-1 α 、Vegfa 等) 在 3DP 组中显著上调, 表明 3DP 条件诱导了细胞的低氧相关基因表达。基因本体 (GO) 富集分析和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路分析揭示了 3DP 组中与细胞-基质粘附、免疫反应、低氧应答以及间充质细胞增殖正向调控相关的通路。此外, 蛋白质-蛋白质相互作用 (PPI) 网络分析揭示了 3DP 组中与低氧和干细胞多能性相关的关键基因。这些结果表明, **预培养的生物打印方法通过模拟低氧微环境, 显著影响了细胞的生物学过程和信号通路。**

图 6 通过对比不同条件下的间充质干细胞 (MSCs) 培养环境 (如常规 3D 培养、预培养 3D 生物打印 3DP 以及低氧条件下的 3D 培养 hy-3D 和预培养低氧条件下的 3DP 培养 hy-3DP), 分析了低氧条件对 MSCs 干性和增殖能力的影响。实验结果显示, 在低氧条件下培养的 MSCs (如 hy-3DP 组), HIF-1 α 和 NANOG 的表达水平出现显著变化, 表明低氧条件可以调节 MSCs 的干性指标。进一步的基因本体 (GO) 和 KEGG 通路分析揭示了低氧条件下细胞的代谢和活性变化, 其中 hy-3DP 组表现出与线粒体功能、细胞周期和翻译过程相关的基因表达上调, 表明**低氧条件下的预培养生物打印能够显著影响细胞的代谢和活性, 增强细胞的适应性和功能。**

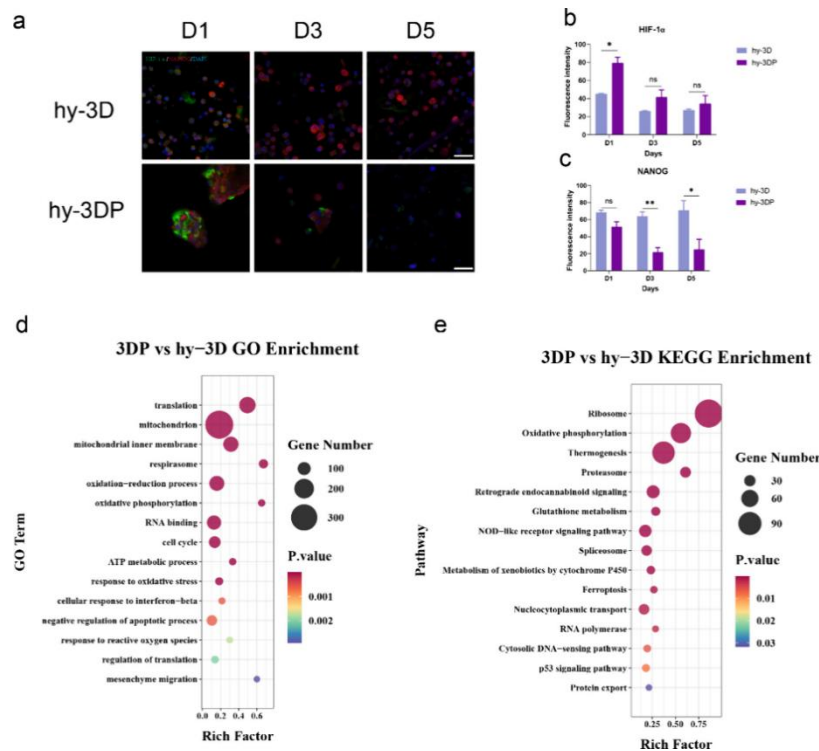


图 6 影响氧不足关于 MSC 增殖和干性在三维-生物打印结构

结论：本文通过优化 3D 生物打印技术，成功模拟了间充质干细胞（MSCs）的体内低氧微环境，显著增强了 MSCs 的干性和免疫调节能力。研究发现，使用预培养细胞团聚体（PCA）生物打印方法能够在打印后的早期阶段为 MSCs 创造一个低氧环境，激活低氧信号通路，促进细胞增殖、维持干性，并调节免疫反应。RNA 测序分析进一步证实了低氧信号通路的激活对维持 MSCs 特性至关重要。这些发现为利用 3D 生物打印技术开发基于 MSCs 的再生医学疗法提供了重要见解，并为临床应用奠定了基础。

文章来源: <https://doi.org/10.1021/acsami.4c20131>



公司介绍

绿钥生物科技以无接触、超快速**体积生物打印技术**为核心的创新型生物科技企业，提供生物打印解决方案，包括：打印服务、打印设备、生物墨水材料、技术支持等。

国内首台**体积生物打印机**

基于反CT投影的原理

优势：可见光打印、常温、**无接触、超快速**(10-120 s)、细胞存活率高(**>95%**)、分辨率(50-300 μm)。

应用场景：3D打印、类器官、组织工程、再生医学、药物筛选、药物载体、骨科植入物等。

联系方式

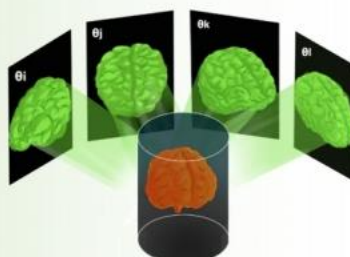
电话：13690748667

网址：www.greenkey-3d.com

邮箱：greenkey@greenkey-3d.com



打印设备



打印原理



打印成品