

· 综 述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2019.19.029

网络首发 <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20190624.1704.014.html>(2019-06-26)

3D 打印技术在抗感染生物材料制作中的研究进展*

车柯达,陈颖 综述 雷玉洁[△] 审校

(昆明医科大学第三附属医院/云南省肿瘤医院胸外科一病区,昆明 650118)

[摘要] 近年来 3D 打印技术在制造业中的兴起正在逐渐改变传统生物材料的制作模式。而生物材料植入人体后病原菌常黏附在植入材料表面形成生物膜导致的材料植入感染,是临床必须面对的问题之一。现就 3D 打印技术制备医用生物材料的现况与其在制作抗感染生物材料中的前景进行综述。

[关键词] 打印,三维;生物相容性材料;抗感染;生物膜;表面特性

[中图分类号] R37 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2019)19-3359-04

Advances in 3D printing technology in the production of anti-infective biomaterials*

CHE Keda, CHEN Ying, LEI Yujie[△]

(The First Department of Thoracic Surgery, the Third Affiliated Hospital of Kunming Medical University/Yunnan Cancer Hospital, Kunming, Yunnan 650118, China)

[Abstract] The rise of 3D printing technology in manufacturing in recent years is gradually changing the production mode of traditional biomaterials. When biomaterials are implanted into human body, the pathogens often adhere to the surface of the implant material to form a biofilm-induced material implantation infection, which is one of the problems that must be faced in clinical practice. This article describes the current state of preparation of medical biomaterials with 3D printing technology and its prospects in the production of anti-infective biomaterials.

[Key words] printing, three-dimensional; biocompatible materials; anti-infection; biofilms; surface properties

3D 打印技术,又称快速成型技术,指在计算机控制下,根据物体的计算机辅助设计(computer aided design, CAD)模型或计算机断层扫描等数据,在精确的 3D 堆积下,按照“分层制造、逐层叠加”的基本原理,使用具有一定可塑性的材料,快速订制各种复杂形状物体的制造方法^[1]。近十五年来 3D 打印技术飞速发展,各类材料均可以作为 3D 打印的原材料如:液态光敏树脂、生物可降解水凝胶、热缩性高分子、塑料、陶瓷、金属粉末及细胞等^[2]。

在临床工作中通常需使用一类能对机体、器官和组织进行诊治、修复、诱导再生或增进其特殊功能的特殊材料,被称为医用生物材料或生物材料。临床常用的生物材料包括:体外循环管道、肿瘤外科修护代替材料、人工关节、各类引流管道、心脏瓣膜、合金材料、各种支架及植入设备等^[3]。

目前临床工作中所使用的生物材料大多采用传

统制造技术如:热熔挤出成型法(hot melt extrusion, HME)、注塑法、模铸法制造,其成品精度差、结构简单,所使用材料较单一。3D 打印技术由于其可快速精确制备各种复杂形状的生物材料,并能对材料的微观结构进行精确控制,以满足不同患者的个性化需要,使得 3D 打印技术在组织工程应用中具有独特的优势^[4-5]。目前组织工程学家正尝试使用活体细胞为原材料使用 3D 打印制作可供移植的组织及器官如:血管、角膜、肾脏、唾液腺等^[6-8]。

生物材料在植入或介入人体后,细菌易在其表面黏附、增殖并形成生物被膜(biofilm, BF)。由于 BF 的保护作用,膜内细菌很难被抗菌药物杀灭,并会不断繁殖和释放出浮游细菌,造成反复感染或恶化,造成生物材料植入感染(biomaterial centered infection, BCI)^[1,9-10]。BF 是造成 BCI 难治的主要原因,一旦发生感染,多数情况下需被迫取出生物材料,或由于机

* 基金项目:云南省科技厅科技计划重点项目(2017FA039);云南省卫生和计划生育委员会医学学科带头人培养计划(D-201641);云南省肿瘤医院博士科研启动基金;云南省科技厅-昆明医科大学联合专项[2017FE468(-214)];云南省应用基础研究(昆医联合专项)[2017FE468(-159)]。

作者简介:车柯达(1992-),在读硕士,主要从事细菌、真菌生物膜研究。△ 通信作者, E-mail: yj-lei@qq.com。

体功能的需要不得不再次植入生物材料。

目前 3D 打印技术可将抗菌材料通过准确三维堆积成特定空间位置达到抗菌效果,或通过控制生物材料表面形貌以减少病原菌的黏附达到抗菌效果。本文就 3D 打印技术制作医用生物材料与抗感染生物材料的现状和前景进行介绍。

1 3D 打印技术制备医用生物材料的现状

3D 打印制作医用植入材料的常用方法为光固化成型(stereolithography apparatus, SLA)、熔融沉积快速成型(fused deposition modeling, FDM)、选择性激光熔化成型(selective laser melting, SLM)和三维喷印成型(3D printing and plotting processing, 3DP)^[11-13]。其主要使用材料包括:丙烯腈-丁二烯-苯乙烯共聚物(acrylonitrile-butadiene-styrene, ABS)、工程塑料、聚乳酸(poly lactic acid, PLA)、光敏树脂和各类金属粉末。

目前可临时植入人体或与皮肤黏膜短间接触的生物材料可通过 3D 打印技术制作,如假体、耳廓支架、助听器、假肢等。其常用原材料为 ABS-M30i、PC-ISO 工程热塑性塑料与 MED 系列刚性速成型光敏材料。HOLMES 等^[14]使用聚乳酸为材料,应用 3D 打印技术制作了心血管植入材料。

PLA 是一种可降解的聚酯类高分子,具有良好的生物相容性^[15],可通过 3D 打印技术制作药物缓释载体、组织工程支架、骨折内固定材料等生物材料长期植入人体。

3D 打印技术在生物医用高分子材料的制备领域仍处于初始阶段,现 3D 打印医用生物材料的研究主要集中在原材料的选择,主要包括材料的生物相容性、机械力学性质及细胞在植入材料内部的黏附生长和分化的机制,尤其是材料与细胞相互作用的机制,但使用 3D 打印技术制作具备抗感染能力的生物材料的相关报道较少。

2 3D 打印制作生物材料的表面形貌与细菌黏附

大量体外研究证明生物材料的表面不同,黏附的细菌种类不同;同种材料采用不同方法制作而成的生物材料表面,同种细菌的附着量也不同^[16-17]。这与材料表面形貌(如结构域)、拓扑结构(如表面粗糙度、平滑度)、疏水性及化学性质相关,同时也与细菌种类的自身特性(如有无鞭毛、分泌聚合物的多少及种类)相关^[18]。当生物材料植入人体后,细菌在生物材料上黏附并最终形成 BF 导致 BCI 是一个复杂的动态过程,与细菌、宿主及生物材料三者之间的相互作用密切相关。

细菌在生物材料上的黏附是形成 BCI 的关键。有研究表明,植入生物材料的表面粗糙度是影响细菌

黏附的重要因素^[19]。扫描电镜研究证实,生物材料表面不平整的地方,如裂沟、刻痕、摩擦较大的区域是病原微生物最先聚集的部位,属于细菌黏附的优势部位,细菌黏附于这些部位后繁殖,最终形成 BF。粗糙的表面可增加微生物的接触面积,为细菌提供附着场所,并产生物理屏蔽效应,微生物一旦接触粗糙的表面可以滞留很长时间。细菌定植在粗糙的材料表面后,可在短时间内形成细菌种类复杂、致病力强的细菌生物膜,导致反复感染及抗菌药物耐药。

目前临床所使用的医用生物材料大多都按照传统的制造技术。传统的生物材料制造技术,无论是机械加工或是用模铸、铸塑、HME 等方法制造的生物材料表面,总会存在着具有较小间距和峰谷的微观几何形状误差,这种特性被称为表面粗糙度。如 HME 虽然能以较低的成本制作大量生物材料,但制作过程容易产生流痕、熔接痕等造成材料表面粗糙度增大, HME 制作的导管经过检测厚度差异可达(0.100±0.025)mm。传统生物材料制造技术且对材料表面粗糙度控制较差,导致其产品表面存在不平滑区域,这些区域为病原菌的早期黏附提供了良好的位点。

3D 打印技术主要以 ABS、工程塑料、PLA、光敏树脂、合金材料等为基本材料,多采用 SLA 和 FDM 制作,其产品可在 CAD 控制下可对生物材料的表面粗糙度及微观结构进行精确控制。3D 打印技术的精细度决定了其成品表面的粗糙度与机械性能,目前 3D 打印技术在其 CAD 空间制作模型中 x、y、z 空间位点的精确度:z 轴层厚达 16 μm,平面方向即 x、y 方向的精度最低可达 600 dpi,部分研究使用的 3D 打印机精度甚至可达到纳米级别,且可根据植入部位不同而具体调整精度,高精度 3D 打印技术对生物材料表面粗糙度的控制远高于传统生物材料制造技术,能最大程度保证制作的生物材料测评表面的相对平滑,减少细菌黏附的发生。但 CARLEN 等^[20]研究发现玻璃离子和复合树脂制作材料经抛光后表面极性发生改变,有利于蛋白结合和细菌黏附,对于不同材料而言,相对光滑的表面甚至可使细菌更易黏附。

GU 等^[21]使用 3D 打印技术制作的表面具有岛状突起排列形貌的生物材料,可通过减少细菌与生物材料表面接触的面积来减少细菌黏附。PEREZ 等^[22]使用 BCI 常见菌种——表皮葡萄球菌 RP62A、金黄色葡萄球菌 ATCC25904 与表面有间距 400 nm、高度 400 nm 的岛状阵列突起的生物材料共培养,发现与表面光滑的生物材料相比,具备表面岛状阵列突起的生物材料表面细菌黏附较少,不易形成 BF。CHUNG 等^[23]研究证明 BRENNAN 团队开发出的表面具有规律波浪状排列峭突的海洋防污水材料,可在长达 21 d

的时间内抑制金黄色葡萄球菌 BF 的形成。若使用 3D 打印技术制作类似生物材料,可通过 CAD 设计使表面抗菌黏附微图案更加多样,结构更复杂,产品的精度与制作速度更具优势。临床中病原菌大小不一,常见的植入感染致病菌——葡萄球菌大小约为 $0.8\ \mu\text{m}$,而目前市场主流可供医用生物材料制作的 3D 打印机精度最高仅为 $16\ \mu\text{m}$,仅研究级使用的 3D 打印机可达到纳米级别,目前使用 3D 打印技术制作表面间隙为纳米级的小于临床常见致病菌直径以减少细菌与表面接触面积的生物材料,需等待 3D 打印技术的进一步提高。研究在使用 3D 打印技术制作的 16 与 $60\ \mu\text{m}$ 层厚生物材料分别与表皮葡萄球菌共培养后,两种不同层厚的材料表面 BF 形成情况无明显差异,但按照 $60\ \mu\text{m}$ 层厚制作的生物材料表面 BF 更不易被洗脱剂洗脱。

通过 CAD 设计并使用 3D 打印技术制造的表面具有一定微图案的生物材料,不会改变其表面化学成分及组织相容性,相关研究证实在生物材料表面加入一些微图案,能够使生物材料获得一定抗菌能力,同时增强生物材料的组织相容性,获得理想的组织修复效果。DALBY 等^[24]使用聚苯乙烯制作表面存在规律纳米级点阵状突起的生物材料与表面光滑的材料表面相比,细菌的黏附、迁移和分化能力更强,周围组织的愈合也优于表面光滑的生物材料。研究证实与表面纹理杂乱的生物材料相比,表面纹理有序的材料组织相容性更佳,细菌更易黏附于其表面^[10]。

3 3D 打印制作携带抗菌成分的生物材料

在植入生物材料表面添加抗菌成分,可使得生物材料获得一定抗菌能力,这是组织工程中常用的制作抗感染生物材料的方法之一。但使用传统方法将抗菌成分添加至生物材料表面进行抗菌改性,与 3D 打印技术相比,主要存在以下方面的劣势:(1)在制造过程中对加入的抗菌成分进行精确空间分布的能力差;(2)难以避免抗菌物质的活性在加工过程不受高温、氧化、稀释等作用的影响;(3)难以控制抗菌成分的释放时间和释放浓度,难以获得稳定的长期抗菌黏附效果。

PLA 是一种可降解的聚酯类高分子,是 3D 打印所使用的原材料之一。由于其具有良好的生物相容性,降解产物无毒,降解速度可控,可携带抗菌成分,因此成为 3D 打印技术制作抗菌生物材料的理想载体。呋喃妥英(nitrofurantoin, NF)对革兰阳性和阴性菌均有抑制能力,CERNOHORSKA 等^[25]研究表明 NF 对 128 株能形成 BF 的阳性葡萄球菌有杀灭作用,且 NF 熔点较高,能耐受 $200\ ^\circ\text{C}$ 的高温,加工过程中不易变性,是需要通过高温塑形制造生物材料的理

想抗菌成分。SANDLER 等^[26]按照 5% 的比例将 NF 添加入 PLA 中,使用 3D 打印技术制作成直径为 $2.4\ \text{cm}$ 、厚 $3.0\ \text{mm}$ 的圆形薄片,同时采用传统的 HME 制作同规格的薄片,并将 NF 镀于薄片表面,分别与金黄色葡萄球菌 ATCC2592 共培养,检测其表面生物膜形成情况。结果显示 3D 打印制作的 PLA-NF 薄片表现出长效、稳定的抗菌能力,而 HME 制作的薄片抗菌能力随着共培养时间延长而迅速降低。

LEE 等^[27-28]将磷酸钙、聚乳酸-羟基乙酸共聚物、利福平、二甲基亚砷按照不同比例混合制成的微流体使用 3D 打印技术植于生物材料表面,形成间距 $100\ \text{nm}$ 、高度 $100\ \text{nm}$ 点状阵列微图案,分别与表皮葡萄球菌株 NJ9709 和小鼠成骨细胞 MC3T3 混合培养。结果提示通过 3D 打印制作的微流体在生物材料表面能够达到长期的抗菌效果,同时对小鼠成骨细胞 MC3T3 的黏附影响不大。DONG 等^[29]使用高分子聚乳酸交酯、纳米羟基磷灰石为抗结核药物载体,使用 3D 打印技术制作骨修复材料,与采用传统方式将抗结核药物覆盖于钛合金材料表面的生物材料相比,3D 打印技术制作的骨修复材料获得了更为持久稳定的抗菌效果。

将具备抗菌活性的成分添加到生物材料表面,无论采用传统制作方法还是 3D 打印方法,由于新成分的添加必将改变材料表面的理化性质,导致生物材料的组织相容性发生变化,3D 打印技术制作的抗感染生物材料较传统方法制作的生物材料虽然能获得较好的抗菌效果,但因可用 3D 打印制作生物材料的原材料较少,其组织相容性未达到长期植入人体标准,使用 3D 打印技术直接制造而不经后期处理的成品尚不能直接作为长期植入材料使用,因此开发具备良好组织相容性的 3D 材料具有重要意义。

3D 打印技术在生物医用高分子材料的制备领域仍处于初始阶段,随着 3D 打印技术精度的提高与 3D 打印材料的开发利用,3D 打印技术必将成为主流的生物材料制作方法。使用 3D 打印技术制作抗感染生物材料的前景广阔,可为临床防治 BCI 提供新思路。

参考文献

- [1] JAMMALAMADAKA U, TAPPA K. Recent advances in biomaterials for 3D printing and tissue engineering[J]. J Funct Biomater, 2018, 9(1): e22.
- [2] 刘中正, 梁岩, 韩涛, 等. 3D 打印技术在临床医学中的应用[J]. 解放军医药杂志, 2016, 28(11): 6-9.
- [3] SITHOLE M N, KUMAR P, DU TOIT L C, et al. A 3D bioprinted in situ conjugated-co-fabricated scaffold for potential bone tissue engineering applications[J]. J Biomed

- Mater Res A, 2018, 106(5): 1311-1321.
- [4] DERAKHSHANFAR S, MBELECK R, XU K, et al. 3D bioprinting for biomedical devices and tissue engineering: a review of recent trends and advances[J]. *Bioact Mater*, 2018, 3(2): 144-156.
- [5] SCHACHT K, JUNGST T, SCHWEINLIN M, et al. Bio-fabrication of cell-loaded 3D spider silk constructs[J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2015, 54(9): 2816-2820.
- [6] CHIS H N, WU B M. Recent advances in 3D printing of biomaterials[J]. *J Biol Eng*, 2015, 9: 4.
- [7] DO A V, KHORSAND B, GEARY S M, et al. 3D printing of scaffolds for tissue regeneration applications[J]. *Adv Healthc Mater*, 2015, 4(12): 1742-1762.
- [8] PARK J H, JANG J, LEE J S, et al. Three-dimensional printing of tissue/organ analogues containing living cells[J]. *Ann Biomed Eng*, 2017, 45(1): 180-194.
- [9] CHEN Y, WANG X Y, HUANG Y C, et al. Study on the Structure of candida albicans-staphylococcus epidermidis mixed species biofilm on polyvinyl chloride biomaterial[J]. *Cell Biochem Biophys*, 2015, 73(2): 461-468.
- [10] JAMES G A, BOEGLI L, HANCOCK J, et al. Bacterial adhesion and biofilm formation on textured breast implant shell materials[J]. *Aesthetic Plast Surg*, 2019, 43(2): 490-497.
- [11] YANG Y, CHU L, YANG S, et al. Dual-functional 3D-printed composite scaffold for inhibiting bacterial infection and promoting bone regeneration in infected bone defect models[J]. *Acta Biomaterialia*, 2018, 79(1): 265-275.
- [12] 孙慕松, 宫俊霞, 宋文植. 3D 打印技术在生物医学领域的应用[J]. *世界复合医学*, 2015, 1(2): 115-119.
- [13] 陈绍军, 叶旋, 钟燕辉. 3D 打印技术在生物医用高分子材料制备领域的应用进展[J]. *广东化工*, 2018, 45(4): 123-124.
- [14] 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[J]. *Nanotechnology*, 2016, 27(6): 64001.
- [15] 程磊, 金健. 聚乳酸及其聚合物在医学领域中的应用现状[J]. *成都医学院学报*, 2018, 13(4): 521-524.
- [16] ALAM F, BALANI K. Adhesion force of staphylococcus aureus on various biomaterial surfaces[J]. *J Mech Behav Biomed Mater*, 2017, 65(1): 872-880.
- [17] ZIMMERLI W, SENDI P. Orthopaedic biofilm infections[J]. *APMIS*, 2017, 125(4): 353-364.
- [18] AL-AHMAD A, WIEAMANN-AL-AHMAD M, FACKLER A, et al. In vivo study of the initial bacterial adhesion on different implant materials[J]. *Arch Oral Biol*, 2013, 58(9): 1139-1147.
- [19] 陈鹏, 李波, 彭智, 等. 不同植入材料对表皮葡萄球菌和结核杆菌黏附和生物膜形成的影响[J]. *现代生物医学进展*, 2017, 17(33): 6446-6449.
- [20] CARLEN A, NIKDEL K, WENNERBERG A, et al. Surface characteristics and in vitro biofilm formation on glass ionomer and composite resin[J]. *Biomaterials*, 2001, 22(5): 481-487.
- [21] GU Y, CHEN X, LEE J H, et al. Inkjet printed antibiotic and calcium-eluting bioresorbable nanocomposite micropatterns for orthopedic implants[J]. *Acta Biomaterialia*, 2012, 8(1): 424-431.
- [22] PEREZ TANOIRA R, HAN X, SOININEN A, et al. Competitive colonization of prosthetic surfaces by staphylococcus aureus and human cells[J]. *J Biomed Mater Res A*, 2017, 105(1): 62-72.
- [23] CHUNG K K, SCHUMACHER J F, SAMPSON E M, et al. Impact of engineered surface microtopography on biofilm formation of Staphylococcus aureus[J]. *Biointerphases*, 2007, 2(2): 89-94.
- [24] DALBY M J, YARWOOD S J, RIEHLE M O, et al. Increasing fibroblast response to materials using nanotopography: morphological and genetic measurements of cell response to 13-nm-high polymer demixed islands[J]. *Exp Cell Res*, 2002, 276(1): 1-9.
- [25] CERNOHORSKA L, VOTAVA M. Antibiotic resistance and biofilm formation in Staphylococcus saprophyticus strains isolated from urine[J]. *Epidemiol Mikrobiol Imunol*, 2010, 59(2): 88-91.
- [26] SANDLER N, SALMELA I, FALLARERO A, et al. Towards fabrication of 3D printed medical devices to prevent biofilm formation[J]. *Int J Pharm*, 2014, 469(1): 62-64.
- [27] LEE J H, WANG H, KAPLAN J B, et al. Microfluidic approach to create three-dimensional tissue models for biofilm-related infection of orthopaedic implants[J]. *Tissue Eng Part C Methods*, 2010, 17(1): 39-48.
- [28] LEE J H, GU Y, WANG H, et al. Microfluidic 3D bone tissue model for high-throughput evaluation of wound-healing and infection-preventing biomaterials[J]. *Biomaterials*, 2012, 33(4): 999-1006.
- [29] DONG J, ZHANG S, LIU H, et al. Novel alternative therapy for spinal tuberculosis during surgery: reconstructing with anti-tuberculosis bioactivity implants[J]. *Expert Opin Drug Deliv*, 2014, 11(3): 299-305.