

## 水凝胶制备人工角膜研究现状及展望

张彬彬 综述 王雁 审校

南开大学医学院 天津市眼科医院 天津市眼科学与视觉科学重点实验室 天津市眼科研究所, 天津 300020

通信作者: 王雁, Email: wangyan7143@vip.sina.com

**【摘要】** 角膜移植是治疗严重角膜疾病的最终选择方式, 但角膜供体短缺一直是阻碍角膜移植的主要问题, 相对于传统的人工角膜制备方式, 伴随着新材料、新技术、新业态出现的水凝胶为人工角膜的制备提供了可能。水凝胶类似于细胞外基质的等效物, 具有较高的生物相容性、低免疫原性等特点, 已在多个行业得到推广应用。水凝胶作为再生医学的重要材料, 在药物研发、3D 细胞培养、干细胞的研究、3D 打印生物墨水等领域展现出强大的应用前景。可用于水凝胶的材料主要有透明质酸、明胶、海藻酸钠等, 以水凝胶为材料结合不同的 3D 打印技术制备人工角膜已经进行大量的研究并取得了一定的技术和理论突破。本文对水凝胶结合 3D 打印在人工角膜制备方面的研究进展做一综述。

**【关键词】** 水凝胶; 角膜; 3D 打印; 眼科; 组织工程; 生物墨水

DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20201012-00687

### Research status and prospect of hydrogel preparation for artificial cornea

Zhang Binbin, Wang Yan

School of Medicine, Nankai University, Tianjin Eye Hospital, Tianjin Key Lab. of Ophthalmology and Visual Science, Tianjin Eye Institute, Tianjin 300020, China

Corresponding author: Wang Yan, Email: wangyan7143@vip.sina.com

**【Abstract】** Currently, the dominating treatment of corneal blindness is corneal transplantation, but the shortage of corneal donors has been a major problem in corneal transplantation. Compared with the traditional preparation method of artificial cornea, with the emergence of new materials, new technologies and new commercial activities, hydrogel provides a new possibility for the preparation of artificial cornea. Hydrogel is similar to the equivalent of extracellular matrix, with high biocompatibility, low immunogenicity and other characteristics, so it has been popularized and applied in many industries. As an important material of regenerative medicine, hydrogel has shown a strong application prospect in pharmaceutical research, 3D cell culture, stem cell research, 3D printing bio-ink and other fields. The main materials used for generating hydrogels are hyaluronic acid, gelatin, sodium alginate, etc. A lot of researches on using hydrogels as materials combined with different 3D printing technologies to prepare artificial corneas have been carried out and certain technical and theoretical breakthroughs have been made. This article briefly reviewed the research progress of hydrogel combined with 3D printing in the preparation of artificial cornea.

**【Key words】** Hydrogels; Cornea; Printing, three-dimensional; Ophthalmology; Tissue engineering; Bio-ink

DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20201012-00687

角膜与泪膜一起形成眼部外屏障并保护眼部不受外界环境和病原体侵扰, 同时角膜也是眼部重要的屈光介质。角膜化学/热烧伤、单纯疱疹性角膜炎、大泡性角膜病变、角膜溃疡和 Fuchs 角膜内皮营养不良等角膜创伤和疾病都会影响角膜透明度, 甚至造成视力丧失, 是主要的致盲眼病。每年新报道的角膜盲病例超过 150 万例<sup>[1]</sup>, 但由于供体组织短缺和移植手术费用高昂, 可通过角膜移植治疗的不到 5%<sup>[2]</sup>。穿透角膜移植术、前板层角膜移植术、角膜内皮移植术等手术是治疗角膜盲的主

要方式。因角膜移植供体缺乏, 研究者试图通过组织工程学的方法构建人工角膜, 如人造角膜假体、动物脱细胞的角膜组织 (例如猪角膜) 和人羊膜等。用于制造人工角膜的生物材料必须具有与天然角膜相似的物理、生化、生理、生物学特性。水凝胶由于其独特的生物学特性现已成功应用于基于水凝胶的角膜接触镜、抗青光眼药物的输送、缓释型抗血管内皮生长因子药物的输送、玻璃体填充替代物等<sup>[3-7]</sup>。本文就水凝胶结合 3D 打印在人工角膜制备方面的研究进展进行综述。

## 1 水凝胶概念

水凝胶最早由 Wichterle 和 Lím 于 1960 年合成,目前接受度最广的是 Peppas 等<sup>[8]</sup>给出的定义,具有以下特征:(1)1 个或多个共聚体反应产生共价键;(2)由肽链聚合引起的物理交联;(3)结合键由氢键或链之间的范德华力相互作用形成;(4)由 2 个或多个大分子链结合在一起形成的结晶。

水凝胶为高度水合的聚合物材料(按质量计>30%的水),其通过聚合物链之间的物理和化学交联来保持结构完整性,通常分为化学和物理凝胶。化学凝胶是指在支链之间通过迈克尔加成反应<sup>[9]</sup>、酶促反应等形式形成始终紧密相连的凝胶网络,是永久和不可逆的。物理凝胶的形成是可逆的,是离子间相互作用、高分子链缠绕、氢键/或疏水作用力相互作用的结果<sup>[10-11]</sup>。水凝胶的形成包括 2 个关键步骤:(1)将细胞外基质(extracellular matrix, ECM)材料溶于蛋白质单体组分中;(2)由温度或酸碱控制的中和作用,以诱导单体分子内键的自发重组,形成均匀的凝胶<sup>[12]</sup>。水凝胶具有理化性质可控、生物相容性好等特点。

## 2 水凝胶的来源

水凝胶来源广泛,可以由天然的材料,如琼脂糖和胶原蛋白组成,也可以由合成聚合物,如聚乙二醇、聚乙烯醇(polyvinyl alcohol, PVA)组成。

### 2.1 透明质酸

透明质酸(hyaluronic acid, HA)也称为透明质酸盐,是 ECM 的主要成分。这种非硫酸化的糖胺聚糖在细胞增生、生长、存活和分化中起关键作用<sup>[13]</sup>。其物理性质,如黏度、弹性、硬度、形状和结构可以通过化学修饰<sup>[14]</sup>。HA 广泛分布在皮肤、软骨和脑等组织中,并且在生长发育、伤口愈合和疾病中起着重要作用<sup>[15]</sup>。Fiorica 等<sup>[16]</sup>首次将 HA 水凝胶与聚天酰胺衍生物[ $\alpha$ ,  $\beta$ -poly(N-2-hydroxyethyl)(2-aminoethylcarbamate)-d, l-aspartamide, PHEA-EDA]化学交联,作为羊膜的替代品,用于递送角膜缘上皮细胞,其结果证明了 HA/PHEA-EDA 水凝胶作为角膜缘干细胞移植载体支架在角膜损伤治疗中的可行性。HA 以其生物降解性、生物相容性、无毒性、非免疫原性等,在骨关节炎手术、眼科手术、整形外科手术、组织工程和药物输送中得到了广泛应用<sup>[17]</sup>。

### 2.2 明胶

明胶具有较好的溶解性、低免疫原性的特点,包含许多促进细胞附着的关键氨基酸-甘氨酸-天冬氨酸序列以及适合细胞重构的基质金属蛋白酶序列表<sup>[18-19]</sup>;但明胶溶液本身对温度敏感,在低温条件下易自发形成凝胶,为了增加明胶的稳定性和提高抗张能力,需要对明胶进行改良,如添加甲基丙烯酸酐。2000 年, Van Den Bulcke 等<sup>[20]</sup>首次报道了应用甲基丙烯酸酐与明胶反应,修饰明胶的氨基侧链,生成甲基丙烯酸酯基明胶(gelatin methacrylate, GELMA),并将 GELMA 溶于水中,以 Irgacure2959 为光引发剂,在紫外线光的照射下发生交联反应,制备出 GELMA 水凝胶。GELMA 水凝胶因其独特的光交联特

性、可控的力学性能以及良好的生物相容性,已成为具有广泛应用前景的生物聚合物材料。

### 2.3 海藻酸钠

海藻酸钠是从褐藻中提取的多糖,常用于细胞包封和组织移植,海藻酸盐被认为是一种生物相容性较好的材料<sup>[21]</sup>,并且可以通过  $Ba^{2+}$ 、 $Zn^{2+}$  或  $Ca^{2+}$  进行离子交联,但如何保持交联前后形态的完整性和增强结构的稳定性是需要考虑的问题, Seok 等<sup>[22]</sup>通过将海藻酸钠和 PVA 混合再进行冻干处理弥补了这一不足。海藻酸钠现已应用于食品、纺织、印刷和制药等多种行业<sup>[23]</sup>。

### 2.4 脱细胞生物水凝胶

哺乳动物组织由 300 多种 ECM 蛋白和多种 ECM 修饰酶组成,ECM 结合生长因子和其他 ECM 相关蛋白,介导细胞之间的相互作用和生化信号传递<sup>[24]</sup>。水凝胶所具有的三维结构与 ECM 极为相似,ECM 主要由水、纤维蛋白(如胶原蛋白、弹性蛋白、纤连蛋白和层粘连蛋白)和蛋白聚糖(如 HA 等)组成,是细胞生长微环境的关键组成部分,并形成复杂的三维网络<sup>[25]</sup>。

通过不同的脱细胞方法可以从组织中有效去除细胞核成分,同时保留有益于细胞生长的成分,如生长因子、活性蛋白等,因此脱细胞外基质(decellularized extracellular matrix, DECM)以其独特的组成和结构为细胞提供了一个原生的细胞微环境,适宜细胞生长<sup>[26]</sup>。DECM 凝胶被认为是一种具有潜力的生物材料,既可以单独使用,也可以与组织工程或再生医学领域的其他生物制剂结合使用。

## 3 基于水凝胶用于角膜替代物的探索

人工角膜的合成必须要考虑角膜天然的生物特性,例如生物力学(黏弹性、应力松弛、蠕变和各向异性)、透氧性、透明度以及与宿主细胞的相容性等。由于角膜结构的复杂性,水凝胶人工角膜的设计目前多为板层或局灶性修复植片,如 Shirzaei Sani 等<sup>[27]</sup>设计了一种基于明胶的黏附生物材料—GelCORE(角膜再生凝胶),该凝胶材料暴露于波长 450~550 nm 的可见光后短时间进行光交联。光交联完成后,可以形成牢固黏附于角膜组织的固体透明水凝胶,既可用于伤口的对合,又可用于角膜基质缺损的快速和长期修复。但单独使用明胶材料的不足在于无法提供一个足够的支撑力,以及无法保证在温度变化的情况下保持明胶的性状。为克服这一缺点,Chen 等<sup>[28]</sup>以胶原蛋白和 PVA 为原料制作互穿聚合物网络水凝胶,在一定程度上提高了凝胶的机械能力。为了评价水凝胶植入角膜基质远期的效果,Zheng 等<sup>[29]</sup>以聚乙二醇和聚丙烯酸制备 30~40  $\mu\text{m}$  水凝胶薄片植入兔角膜基质,观察了最长 16 个月的效果,结果表明水凝胶薄片保持了较好的透明性,但其他一些并发症,如角膜上皮缺损、混浊等有待解决。

研究证明,与聚合物材料相比,以 DECM 为材料制备的人工角膜具有更高的透明性,更有利于细胞的增生和生长<sup>[30]</sup>。Uyanıklar 等<sup>[31]</sup>将牛角膜脱细胞化制作成支架材料,再以 GELMA 水凝胶重悬牛角膜基质细胞,与脱细胞支架在不同紫外光强度下交联,评估混合角膜支架材料的透明度和再细胞化的问题,结果显示所得混合角膜材料的透明度有了大幅度提高。Wang

等<sup>[32]</sup>利用脱细胞的猪角膜基质制作水凝胶,并以 1-环己基-2-吗啉乙基碳二亚胺对甲苯磺酸盐和 N-羧基琥珀酰亚胺为交联剂用于兔角膜灶性浅层缺损的修复,术后角膜上皮在 3 d 内完全再生,术后 12 周角膜上皮和基质的厚度恢复,未见明显炎症反应,进一步证明了脱细胞水凝胶作为工程支架用于角膜修复的安全性和有效性。

#### 4 基于凝胶生物墨水的 3D 打印人工角膜

3D 打印也被称为增材制造或快速制造,在过去的十余年中,一些关键专利的到期以及技术进步和成本降低,例如消费者级 3D 打印机的出现为 3D 打印的普及提供了技术支持,推动了 3D 打印在再生医学领域的广泛应用<sup>[33]</sup>,该技术已成功应用于骨科、脊柱外科、颌面外科、神经外科、心脏外科以及其他学科相关科室<sup>[34]</sup>。3D 生物打印的目标是制造支架来修复或替换受损的组织和器官<sup>[35]</sup>。目前,3D 打印形式主要有喷墨、挤出和立体光刻等。

喷墨式打印分为热挤压和电压式 2 种类型。在热喷墨生物印刷中,将一种可包含细胞的预聚体溶液(称为生物墨水)装入墨盒中,墨盒被放置在由电脑控制的打印头内,打印头内的热量产生的气泡会喷射出少量的墨水滴。液滴的大小可随油墨黏度、脉冲频率和应用温度梯度的变化而改变<sup>[36]</sup>;压电喷墨生物墨水的工作原理是在生物墨水的压电晶体上施加不同的电位,从而产生从喷嘴喷出生物墨水滴所需的压力。喷墨生物印刷的主要优点是其制作速度快和设备的价格低廉<sup>[37]</sup>。

挤压生物打印是喷墨生物印刷的先进版本,使用气动(气压)或机械(螺杆或活塞)系统来分发生物墨水。使用气动(气压)通过连续的空气压力将墨水从喷嘴或针头挤压出来形成连续不断的长丝,因此可以尽可能保证产品的完整性<sup>[38]</sup>。

立体光刻基于液态的光敏树脂,通过光源(例如紫外光或激光)的选择性聚合以产生所需的图案<sup>[39]</sup>。打印过程中光会根据计算机辅助设计(computer aided design, CAD)模型选择性地聚合树脂,新的一层被连续打印在之前的层上,最后一个连续的 3D 打印对象被复制出来。立体光刻技术具有打印速度快、精度高等优点,但每种打印机各有优势和不足,需要权衡考虑。

生物油墨是 3D 生物打印的重要组成部分,对 3D 打印的成功与否至关重要。生物油墨作为印刷材料必须具有一定的特性,如生物相容性(植入后不会引起任何免疫或不良反应)、可打印性(作为打印材料)和坚固性(抵抗环境的物理力量)。但生物墨水的选择还需要考虑包括黏度、屈服应力和动态频率下的响应等一系列因素。水凝胶因其出色的溶胀特性和与组织的相容性而被认为是最有希望的墨水材料<sup>[40]</sup>。

用于 3D 生物打印的生物墨水中通常添加人组织来源或动物来源的细胞,一般选取具有干细胞活性的细胞,如角膜缘上皮干细胞、人类脂肪组织衍生干细胞或角膜来源基质细胞等<sup>[41-43]</sup>,以期能够选择最佳的打印材料,进而提高打印角膜与受体的相容性。3D 打印可以从不同的空间维度构造立体图案,角膜的真实数据,如角膜曲率、大小,可以通过角膜地形图等临床检查设备获取,再通过 CAD 软件建模,最后将图片转化为计

算机可识别的 G 代码文件,通过 3D 生物打印机进行打印。为了尽可能地减小打印过程对细胞的损伤并提高细胞的远期存活率,通常选用喷墨或挤出式打印方式<sup>[44]</sup>。

Isaacson 等<sup>[45]</sup>使用双挤压 3D 生物打印机打印角膜基质结构,验证了以生物墨水为原料打印角膜基质的可行性,还原角膜表面形貌很难由单一的打印机完成,Zhang 等<sup>[46]</sup>的实验充分利用了挤出式打印机和数字光处理打印机的各自优点,以海藻酸钠和 GELMA 分别打印了角膜的中央部分和周边部分,更加准确地模拟了天然角膜的曲率和厚度。Kilic 等<sup>[43]</sup>以负载人角膜基质细胞的 GELMA 水凝胶为材料进行 3D 打印,打印后的角膜替代物具有出色的透明性、足够的机械强度和较高的细胞生存能力,进一步证明了 GELMA 水凝胶与 3D 打印制备人工角膜的可行性和优越性。3D 打印的优势在于批量生产精准制造,Kutleheria 等<sup>[47]</sup>使用预先制作的 6~12 个角膜模具,利用挤出式打印机在模具内进行连续打印,达到了高通量制备人工角膜的目的,不仅保证了打印效果,而且节省了时间。

#### 5 展望

水凝胶作为一种生物相容性良好的组织材料,已经在各个行业得到推广应用,尤其在组织工程领域,更是展示出了其作为生物材料潜在的应用价值。人工角膜的制备是一个精细的系统工程,既要有稳定的支架结构,又要兼顾角膜的生理功能,应用于临床还有一段很长的路要走。但水凝胶与 3D 生物打印的结合为人工角膜的制备提供了现实可能,尤其伴随着智能材料、4D 打印时代的到来,更是为这一目标的实现增添了新的动力。相信随着水凝胶材料不断改进和科技的迅猛发展,其将在组织工程和人工角膜制备领域扮演重要角色,助推人工角膜合成技术的快速发展,真正造福于人类。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] Islam MM, Buznyk O, Reddy JC, et al. Biomaterials-enabled cornea regeneration in patients at high risk for rejection of donor tissue transplantation [J/OL]. NPJ Regen Med, 2018, 3 : 2 [2023-06-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29423280/>. DOI: 10.1038/s41536-017-0038-8.
- [2] Gain P, Jullienne R, He Z, et al. Global survey of corneal transplantation and eye banking [J]. JAMA Ophthalmol, 2016, 134 (2) : 167-173. DOI: 10.1001/jamaophthalmol.2015.4776.
- [3] Childs A, Li H, Lewittes DM, et al. Fabricating customized hydrogel contact lens [J/OL]. Sci Rep, 2016, 6 : 34905 [2023-06-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27748361/>. DOI: 10.1038/srep34905.
- [4] Jung HJ, Abou-Jaoude M, Carbia BE, et al. Glaucoma therapy by extended release of timolol from nanoparticle loaded silicone-hydrogel contact lenses [J]. J Control Release, 2013, 165 (1) : 82-89. DOI: 10.1016/j.jconrel.2012.10.010.
- [5] Seah I, Zhao XX, Lin Q, et al. Response to "Comment on: "Use of biomaterials for sustained delivery of anti-VEGF to treat retinal diseases" [J]. Eye (Lond), 2021, 35 (3) : 1026-1027. DOI: 10.1038/s41433-020-0983-0.
- [6] Feng S, Chen H, Liu Y, et al. A novel vitreous substitute of using a foldable capsular vitreous body injected with polyvinylalcohol hydrogel [J/OL]. Sci Rep, 2013, 3 : 1838 [2023-06-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23670585/>. DOI: 10.1038/srep01838.
- [7] Liu Z, Liow SS, Lai SL, et al. Retinal-detachment repair and vitreous-like-body reformation via a thermogelling polymer endotamponade [J]. Nat Biomed Eng, 2019, 3 (8) : 598-610. DOI: 10.1038/s41551-019-

- 0382-7.
- [8] Peppas NA, Bures P, Leobandung W, et al. Hydrogels in pharmaceutical formulations [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2000, 50(1): 27-46. DOI: 10.1016/S0939-6411(00)00090-4.
- [9] Fu Y, Kao WJ. In situ forming poly (ethylene glycol)-based hydrogels via thiol-maleimide Michael-type addition [J]. *J Biomed Mater Res A*, 2011, 98(2): 201-211. DOI: 10.1002/jbm.a.33106.
- [10] Van Vlierberghe S, Dubruel P, Schacht E. Biopolymer-based hydrogels as scaffolds for tissue engineering applications; a review [J]. *Biomacromolecules*, 2011, 12(5): 1387-1408. DOI: 10.1021/bm200083n.
- [11] Drury JL, Mooney DJ. Hydrogels for tissue engineering: scaffold design variables and applications [J]. *Biomaterials*, 2003, 24(24): 4337-4351. DOI: 10.1016/S0142-9612(03)00340-5.
- [12] Saldin LT, Cramer MC, Velankar SS, et al. Extracellular matrix hydrogels from decellularized tissues; structure and function [J]. *Acta Biomater*, 2017, 49: 1-15. DOI: 10.1016/j.actbio.2016.11.068.
- [13] Yazdani M, Shahdadar A, Jackson CJ, et al. Hyaluronan-based hydrogel scaffolds for limbal stem cell transplantation; a review [J/OL]. *Cells*, 2019, 8(3): 245 [2023-06-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30875861/>. DOI: 10.3390/cells8030245.
- [14] Burdick JA, Prestwich GD. Hyaluronic acid hydrogels for biomedical applications [J]. *Adv Mater*, 2011, 23(12): H41-56. DOI: 10.1002/adma.201003963.
- [15] Fraser JR, Laurent TC, Laurent UB. Hyaluronan: its nature, distribution, functions and turnover [J]. *J Intern Med*, 1997, 242(1): 27-33. DOI: 10.1046/j.1365-2796.1997.00170.x.
- [16] Fiorica C, Senior RA, Pitarresi G, et al. Biocompatible hydrogels based on hyaluronic acid cross-linked with a polyaspartamide derivative as delivery systems for epithelial limbal cells [J]. *Int J Pharm*, 2011, 414(1-2): 104-111. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2011.05.002.
- [17] Sudha PN, Rose MH. Beneficial effects of hyaluronic acid [J]. *Adv Food Nutr Res*, 2014, 72: 137-176. DOI: 10.1016/B978-0-12-800269-8.00009-9.
- [18] Liu Y, Chan-Park MB. A biomimetic hydrogel based on methacrylated dextran-graft-lysine and gelatin for 3D smooth muscle cell culture [J]. *Biomaterials*, 2010, 31(6): 1158-1170. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2009.10.040.
- [19] Van den Steen PE, Dubois B, Nelissen I, et al. Biochemistry and molecular biology of gelatinase B or matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) [J]. *Crit Rev Biochem Mol Biol*, 2002, 37(6): 375-536. DOI: 10.1080/10409230290771546.
- [20] Van Den Bulecke AI, Bogdanov B, De Rooze N, et al. Structural and rheological properties of methacrylamide modified gelatin hydrogels [J]. *Biomacromolecules*, 2000, 1(1): 31-38. DOI: 10.1021/bm990017d.
- [21] Wright B, Cave RA, Cook JP, et al. Enhanced viability of corneal epithelial cells for efficient transport/storage using a structurally modified calcium alginate hydrogel [J]. *Regen Med*, 2012, 7(3): 295-307. DOI: 10.2217/rme.12.7.
- [22] Seok JM, Oh SH, Sang JL, et al. Fabrication and characterization of 3D scaffolds made from blends of sodium alginate and poly (vinyl alcohol) [J]. *Mater Today Commun*, 2019, 19: 56-61. DOI: 10.1016/j.mtcomm.2018.09.013.
- [23] Augst AD, Kong HJ, Mooney DJ. Alginate hydrogels as biomaterials [J]. *Macromol Biosci*, 2006, 6(8): 623-633. DOI: 10.1002/mabi.200600069.
- [24] Hynes RO, Naba A. Overview of the matrisome—an inventory of extracellular matrix constituents and functions [J/OL]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2012, 4(1): a004903 [2023-06-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21937732/>. DOI: 10.1101/cshperspect.a004903.
- [25] Marchand M, Monnot C, Muller L, et al. Extracellular matrix scaffolding in angiogenesis and capillary homeostasis [J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2019, 89: 147-156. DOI: 10.1016/j.semedb.2018.08.007.
- [26] Taylor DA, Sampaio LC, Ferdous Z, et al. Decellularized matrices in regenerative medicine [J]. *Acta Biomater*, 2018, 74: 74-89. DOI: 10.1016/j.actbio.2018.04.044.
- [27] Shirzaei Sani E, Kheirkhah A, Rana D, et al. Sutureless repair of corneal injuries using naturally derived bioadhesive hydrogels [J/OL]. *Sci Adv*, 2019, 5(3): eaav1281 [2023-06-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30906864/>. DOI: 10.1126/sciadv.aav1281.
- [28] Chen F, Le P, Lai K, et al. Simultaneous interpenetrating polymer network of collagen and hyaluronic acid as an in situ-forming corneal defect filler [J]. *Chem Mater*, 2020, 32(12): 5208-5216. DOI: 10.1021/acs.chemmater.0c01307.
- [29] Zheng LL, Vanchinathan V, Dalal R, et al. Biocompatibility of poly (ethylene glycol) and poly (acrylic acid) interpenetrating network hydrogel by intrastromal implantation in rabbit cornea [J]. *J Biomed Mater Res A*, 2015, 103(10): 3157-3165. DOI: 10.1002/jbm.a.35453.
- [30] Ahearn M, Lynch AP. Early observation of extracellular matrix-derived hydrogels for corneal stroma regeneration [J]. *Tissue Eng Part C Methods*, 2015, 21(10): 1059-1069. DOI: 10.1089/ten.TEC.2015.0008.
- [31] Uyanıklı M, Günel G, Tevlek A, et al. Hybrid cornea; cell laden hydrogel incorporated decellularized matrix [J]. *ACS Biomater Sci Eng*, 2020, 6(1): 122-133. DOI: 10.1021/acsbiomaterials.9b01286.
- [32] Wang F, Shi W, Li H, et al. Decellularized porcine cornea-derived hydrogels for the regeneration of epithelium and stroma in focal corneal defects [J]. *Ocul Surf*, 2020, 18(4): 748-760. DOI: 10.1016/j.jtos.2020.07.020.
- [33] Do AV, Khorsand B, Geary SM, et al. 3D printing of scaffolds for tissue regeneration applications [J]. *Adv Healthc Mater*, 2015, 4(12): 1742-1762. DOI: 10.1002/adhm.201500168.
- [34] Tack P, Victor J, Gemmel P, et al. 3D-printing techniques in a medical setting: a systematic literature review [J/OL]. *Biomed Eng Online*, 2016, 15(1): 115 [2023-06-13]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27769304/>. DOI: 10.1186/s12938-016-0236-4.
- [35] Gungor-Ozkerim PS, Inci I, Zhang YS, et al. Biointerfaces for 3D bioprinting: an overview [J]. *Biomater Sci*, 2018, 6(5): 915-946. DOI: 10.1039/c7bm00765e.
- [36] Cui X, Boland T, Lima DD, et al. Thermal inkjet printing in tissue engineering and regenerative medicine [J]. *Recent Pat Drug Deliv Formul*, 2012, 6(2): 149-155. DOI: 10.2174/187221112800672949.
- [37] Murphy SV, Atala A. 3D bioprinting of tissues and organs [J]. *Nat Biotechnol*, 2014, 32(8): 773-785. DOI: 10.1038/nbt.2958.
- [38] Knowlton S, Anand S, Shah T, et al. Bioprinting for neural tissue engineering [J]. *Trends Neurosci*, 2018, 41(1): 31-46. DOI: 10.1016/j.tins.2017.11.001.
- [39] Mondschein RJ, Kanitkar A, Williams CB, et al. Polymer structure-property requirements for stereolithographic 3D printing of soft tissue engineering scaffolds [J]. *Biomaterials*, 2017, 140: 170-188. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2017.06.005.
- [40] Huang Q, Zou Y, Arno MC, et al. Hydrogel scaffolds for differentiation of adipose-derived stem cells [J]. *Chem Soc Rev*, 2017, 46(20): 6255-6275. DOI: 10.1039/c6cs00052e.
- [41] Sorkio A, Koch L, Koivusalo L, et al. Human stem cell based corneal tissue mimicking structures using laser-assisted 3D bioprinting and functional bioinks [J]. *Biomaterials*, 2018, 171: 57-71. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2018.04.034.
- [42] Ulag S, Ilhan E, Sahin A, et al. 3D printed artificial cornea for corneal stromal transplantation [J/OL]. *Eur Polym J*, 2020, 133: 109744 [2023-06-13]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0014305720301518>. DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2020.109744.
- [43] Kilic Bektas C, Hasirci V. Cell loaded 3D bioprinted GelMA hydrogels for corneal stroma engineering [J]. *Biomater Sci*, 2019, 8(1): 438-449. DOI: 10.1039/c9bm01236b.
- [44] Kim H, Jang J, Park J, et al. Shear-induced alignment of collagen fibrils using 3D cell printing for corneal stroma tissue engineering [J/OL]. *Biofabrication*, 2019, 11(3): 035017 [2023-06-13]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30995622/>. DOI: 10.1088/1758-5090/ab1a8b.
- [45] Isaacson A, Swioklo S, Cannon CJ. 3D bioprinting of a corneal stroma equivalent [J]. *Exp Eye Res*, 2018, 173: 188-193. DOI: 10.1016/j.exer.2018.05.010.
- [46] Zhang B, Xue Q, Hu HY, et al. Integrated 3D bioprinting-based geometry-control strategy for fabricating corneal substitutes [J]. *J Zhejiang Univ Sci B*, 2019, 20(12): 945-959. DOI: 10.1631/jzus.B1900190.
- [47] Kutlehria S, Dinh TC, Bagde A, et al. High-throughput 3D bioprinting of corneal stromal equivalents [J]. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 2020, 108(7): 2981-2994. DOI: 10.1002/jbm.b.34628.

(收稿日期:2023-07-10 修回日期:2024-01-02)

(本文编辑:刘艳 施晓萌)

