

## 4D打印技术的医学应用与展望

党竞医, 朱东泽, 刘鑫成, 孙立国, 张煜坤, 张昭, 范宏斌\*

空军军医大学附属西京医院骨科, 西安 710032

**[摘要]** 4D打印是一项能够在特定刺激下使智能材料发生形变的现代化制造技术, 该技术以计算机学和材料学为支撑点, 将物理学、生物工程和医学等学科与制造业相结合, 并通过逐层添加智能材料的方式制造出三维实体物品。与3D打印相比, 4D打印以功能需求为导向, 智能材料所形成的几何结构在温度、水等特定刺激作用下可发生折叠、弯曲、膨胀或收缩并形成最终结构, 进而实现物品自身性能如硬度、刚度、渗透性等的改变。作为一种数字化智能制造的新方式, 4D打印在医学应用中强调人体组织的动态愈合和再生过程, 能够有效地实现组织自我修复, 完成由结构到功能的仿生, 因此可更加真实地模拟人体微环境的动态演变。该文基于国内外4D打印在医学中应用的最新案例, 分析其潜在的优势与困境, 并对其发展趋势和应用前景进行展望。

**[关键词]** 4D打印; 智能制造; 医学应用

**[中图分类号]** R-1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0577-7402(2021)06-0598-05

**[DOI]** 10.11855/j.issn.0577-7402.2021.06.11

### Medical application and prospect of 4D printing

Dang Jing-Yi, Zhu Dong-Ze, Liu Xin-Cheng, Sun Li-Guo, Zhang Yu-Shen, Zhang Zhao, Fan Hong-Bin\*

Department of Orthopedic Surgery, Xijing Hospital, Air Force Medical University, Xi'an 710032, China

\*Corresponding author, E-mail: fanhb@fmmu.edu.cn

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (31971272), the National Key Research and Development Program (2016YFB1101104), and the Shaanxi Key Research and Development Program (2018ZDXM-SF-075)

**[Abstract]** 4D printing, which distorts smart materials under specific stimulation, is emerging as a kind of modern fabrication technology. Underpinned by computer science and materialogy, 4D printing combines a wide range of disciplines including physics, bioengineering, medicine with manufacturing industry, and creates three-dimensional solid objects by adding smart materials layer by layer. Compared with 3D printing, 4D printing is functional demand-oriented, and the geometric structure formed by intelligent materials folds, bends, expands or shrinks under specific stimuli such as temperature and water, thus realizing the change of the performance of the object itself, such as hardness, stiffness, permeability and so on. 4D printing would serve as a new way of digital intelligent manufacturing, which emphasizes the need to consider the dynamic tissue healing and regeneration processes within human body. In addition, it can effectively realize the self-repair of the tissue and complete the bionics from structure to function, so it more truly simulates the dynamic evolution of human micro-environment. In this review, we collect the latest cases of 4D printing in biomedicines at home and abroad and then the potential advantages and challenges of 4D printing in practical application will be analyzed. Finally, we propose future directions and perspectives to further promote intelligentized 4D bioprinting technology in imitating architectures and function of native human tissues.

**[Key words]** 4D printing; intelligent manufacturing; medical application

3D打印是指在计算机辅助控制下, 采用喷射、挤压、熔融、光固化等方式制造出三维实体物品的过程。与传统的减材成型和组装加工模式不同, 3D打印采用逐层堆积的增材制造方法, 可精

确实实现复杂构件的“自由制造”, 自20世纪80年代首次提出后便受到了广泛关注并得到了迅速发展, 为制造业带来了革命性的变化<sup>[1]</sup>。然而, 3D打印产品与传统机加工产品的几何结构都不会随时间发生形变, 无法充分模拟人体组织的动态演变<sup>[2]</sup>。鉴于此, 为了充分模拟人体组织的动态愈合和再生过程, 研究人员提出4D打印的概念, 有望为其静态局限性提供可能的解决方案, 即将“智能材料”通过3D打印技术制备成初次结构产品, 初次结构可

**[基金项目]** 国家自然科学基金(31971272); 国家重点研发计划(2016YFB1101104); 陕西省重点研发计划(2018ZDXM-SF-075)

**[作者简介]** 党竞医, 硕士研究生, 主要从事骨肉瘤切除与重建方面的研究

**[通信作者]** 范宏斌, E-mail: fanhb@fmmu.edu.cn

按照预先设计的形状在特定条件刺激下发生折叠、弯曲、膨胀或收缩，并形成最终结构。

## 1 4D打印概况

近年来新兴起的智能材料逐渐应用于3D打印，给3D打印技术注入了新的活力。由于智能材料可感知内外部相关刺激并进行适度响应，可在时间轴上产生形变，突破了原有的静态模式，满足了人们对动态结构的需求，故而4D打印是在原有增材制造基础上的进一步发展，即4D打印是在3D打印的基础上增加“时间”这一维度。2013年麻省理工学院的Tibbitts<sup>[3]</sup>在美国TED大会上向与会者首次展示了4D打印技术：他将一根由3D打印制造出的多串绳状PVC复合材料管置于水中，在“水刺激”的作用下复合管发生形变，由绳状缓缓地形成“MIT”字样。由此，4D打印进入了人们的视野，其前瞻性和颠覆性的理念迅速吸引了大量研究者。

## 2 智能材料及其刺激因素

智能材料及其相应的刺激因素是4D打印的关键。近年来，随着新型智能材料及其刺激机制的研究进展，响应体内外环境的4D打印技术在医学领域的应用日益受到关注。

温敏性形状记忆材料是4D打印的经典材料。Miao等<sup>[4]</sup>以大豆油环氧化丙烯酸酯为材料打印出支持人骨髓间充质干细胞生长的温敏性形状记忆支架，平展的样品于37℃下预弯曲成U形，随后降温至-18℃，使其进入临时固定状态；最后将样品重新放置于37℃时，样品可在1 min内完全恢复初始形态，表明该样品不仅具有良好的生物相容性，且可显著提高干细胞的附着和增殖能力。用于治疗支气管软化症的打印支架已成功应用于临床。Zarek等<sup>[5]</sup>以甲基丙烯酸酯化聚己内酯为材料，打印出一种遇热可产生形变的形状记忆气管支架。该支架随着局部温度的升高而扩张，并能很好地贴合人体缺陷的气管。另外，体内微环境的pH值改变也可诱发智能材料产生形变。癌变或炎症部位的酸化、胃肠道pH值的差异使pH响应材料用于抗癌药物的可控释放成为可能。Ramos等<sup>[6]</sup>证实了胶原蛋白和角蛋白的pH响应性，前者在中性pH范围内溶胀度最小，而在弱酸性环境下溶胀度最大；后者在酸性环境下收缩成无序、塌陷的网状结构，而在碱性环境下发生溶胀。天然蛋白质的这种pH响应性已被用于研究药物如阿霉素<sup>[7-8]</sup>、抗生素<sup>[9]</sup>的智能释放，可用于治疗肿瘤及预防感染。酶也是一种常见的刺激因素，采用酶响应材料为载体，可实现药物的精准投递。Hu等<sup>[10]</sup>以肿瘤侵袭时高表达的基质金属蛋

白酶作为触发因子，利用载药水凝胶的酶降解作用，开发了自组装水凝胶载体系统。该系统可通过控制药物在体内按需输送，进而调节与癌症相关的各种细胞行为。另外，将细胞作为材料进行打印是生物制造的革命性突破。Tang等<sup>[11]</sup>将细胞打印成环状结构，利用细胞的自装配特性，形成环状血管移植植物，证实了细胞打印用于血管化组织工程的可行性。

总之，合适的智能材料是4D打印的首要条件；作为触发因子，刺激因素是实现智能材料形变的关键一环。智能材料与刺激因素相互作用是准确控制形变过程的必要因素。

## 3 4D打印与医学应用

### 3.1 药物递送 靶向载药系统由药物及载体构成，可定向按需输送药物。载体是一种可结合到特定部位并能在刺激条件下释放药物的智能材料。Ghosh等<sup>[12]</sup>以不同溶胀比的聚合物水凝胶为材料，制备出基于自折叠的口服给药装置。该装置由背衬层、可折叠双层和药物包埋的粘结层组成。其中，可折叠双层由聚甲基丙烯酸交联形成的pH敏感层和聚甲基丙烯酸羟乙酯形成的非溶胀层组成，前者与液体接触可发生折叠，显著促进黏液黏附，从而延长药物在靶区停留的时间；后者作为扩散屏障，可减少药物在肠道中的泄露。目前该微型装置已成功应用于动物实验<sup>[12]</sup>。光敏材料的形变可被光刺激精确控制。Gupta等<sup>[13]</sup>利用光敏材料打印出一种用于肿瘤治疗的核-壳结构胶囊，药物可装载于核区，具有纳米表征的等离子棒(AuNRs)装载于壳区。通过特定波长的激光照射可使AuNRs温度升高，间接对核区产生局部破坏，胶囊发生选择性断裂，药物可选择性释放。此外，Zhang等<sup>[14]</sup>将Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>纳米颗粒与聚乙二醇(PEG)组合形成磁响应材料，用于控制多柔比星的释放。Trenfield等<sup>[15]</sup>打印出一种基于琥珀酸的聚合物，可用于药物扑热息痛的递送。

关于药物递送的研究已取得了巨大进展，与传统给药方式相比，智能载药体系能够靶向释放药物，从而减少药物的毒副作用。目前的瓶颈问题是许多体内环境的变化指标(如血脂、血压等)尚未找到相对应的智能材料。因此，4D打印智能材料在药物递送中的研究有待进一步深入开展。

### 3.2 生物支架 目前组织工程已涉及现代临床医学的多个方面。支架是组织工程的重要组成部分，智能材料的4D打印为生物支架的设计和应用开辟了新的路径。Jamal等<sup>[16]</sup>以不同分子量的PEG为材料制备出双层水凝胶支架并对细胞进行封装，利用

不同分子量的PEG层在水中膨胀比的差异实现支架的自动折叠。利用该特性,细胞负载支架可自动弯曲成不同半径的圆柱体。经试验,接种于该支架上的细胞8周后存活率高达90%。Senatov等<sup>[17]</sup>以聚乳酸(PLA)和羟基磷灰石(HA)为材料,打印出一种具有形状记忆功能的多孔骨支架,对其热学性能、力学性能、形状记忆效应进行分析发现,该支架的形状记忆恢复率高达98%,可作为自体植入物用于修复较小的骨缺损。另外,考虑到人体结构的纳米特点,Zhu等<sup>[18]</sup>以石墨烯纳米薄片为材料打印了神经支架模型,石墨烯可从近红外照射中吸收光子,引发支架的自我变形并调节神经干细胞的生物学行为。

智能材料4D打印支架仍面临诸多挑战:(1)打印支架形变的有限性使其无法充分模拟人体微环境的动态演变过程;(2)支架置入引起的宿主炎症反应可影响工程组织的构建且直接干扰种子细胞的主要生物学功能。

**3.3 组织自愈** 自愈是生物体内普遍存在的现象<sup>[19]</sup>。为模拟天然生物材料的自愈特性,近年来研发出了多种能够修复内外部损伤的自愈性聚合物。Lai等<sup>[20]</sup>报道了一种在体温作用下可发生形变的自愈聚合物,并设计了具有永久共价交联和丰富弱氢键的聚合物网,共价交联用于保持原有形状,弱氢键用于产生临时形状。采用这种方法制备的聚合物薄膜在37℃(体温触发)下可从黏性状态转变为弹性状态,且具有优异的力学性能和高效的室温下自愈能力。室温下将样品切割成完全分离的两半,随后将分离的断裂面重新接触,材料断端于25℃下发生愈合并可拉伸到原始长度的200%,移除外力后,由于其形状记忆特性,样品以较小的残余应力恢复到初始长度。此外,功能凝胶与人体软组织的结构功能相似,其固有的损伤后自我修复特性充分地展现了其潜在的应用价值。Dong等<sup>[21]</sup>基于壳聚糖-苯胺四聚体(CS-AT)与聚乙二醇之间的亚胺键合成了导电自愈性水凝胶。该水凝胶的电导率范围与心脏组织相近,提示其在心脏修复中具有潜在的应用价值。CS-AT的氨基基团带有正电荷,具有强大的抗菌能力(尤以大肠埃希菌和金黄色葡萄球菌为著)。上述特性表明水凝胶具有强大的损伤修复能力。然而,水凝胶迅速降解的特性给打印体的完整性带来了挑战,如何延缓其降解速率有待进一步研究。

**3.4 器官打印** 将细胞纳入4D打印中,人们创造了更具仿生行为的直接生物打印技术。该技术通过控制不同种类细胞及细胞外基质的分布,构造出与人体高度相似的仿生组织。目前,细胞4D打印技术主要用于模拟制造可供临床移植的组织和器官。

Park等<sup>[22]</sup>使用4D打印技术制备了人工内分泌胰腺(BEAP),由一系列经热刺激而发生自组装的多面体胶囊组成。4D打印技术可将胰腺β细胞封装于多面体胶囊内,通过精确控制胶囊孔径来控制胶囊内外扩散的分子类型。经测定,BEAP能够释放胰岛素,且释放量可通过患者的血糖水平而智能调节。与传统组织工程中将细胞接种于可降解支架相比,该技术克服了细胞难于长入支架深部空间的问题,且构建了有生物活性的材料体系。

尽管细胞打印技术在组织器官重建方面的可行性得到了验证,但由于人体组织器官的复杂性和精确性,该技术仍需克服许多问题:(1)组织器官功能的模拟对细胞的排列方式提出了更高的要求,4D打印空间分辨率有限,尚无法达到对单个细胞的精准控制;(2)智能材料的生物相容性有待进一步提高,细胞4D打印器官移植到人体面临着巨大的挑战。

**3.5 人工血管** 血管是维持组织器官功能的主要通道,通过提供营养、输送氧气、清除废物来支持全身细胞功能。脉管系统的打印是构建复杂组织器官的重要基础,一般认为,质量扩散仅能对100~200 μm范围内的组织提供有效支持<sup>[23]</sup>,在没有血管运输营养物质的条件下,组织器官将无法发挥其特有功能,因此组织器官的血管化是一个迫切需要解决的重要问题。随着科学技术的不断进步,4D血管打印为解决这一挑战提供了新方法。Moysidou等<sup>[24]</sup>将混合于水凝胶中的细胞球体打印成管状血管移植体,管状移植体内的活细胞通过不同的信号分子产生相互联系,并调整细胞球体在基质中的位置。由于细胞的自黏附特性,离散的细胞球体紧密排列呈环状结构,球形颗粒细胞相互融合组装,在细胞因子的激活下打印细胞迅速发生血管化,进而构建组织工程化血管,形成连接一致的管状移植体。值得注意的是,Moysidou等<sup>[24]</sup>仅构建了简单的血管结构,而天然血管包括三层细胞组织(成纤维细胞、平滑肌细胞、内皮细胞),因此,为了进一步构建完整的管壁结构,应同时考虑三种类型的细胞。在血管移植体的管腔中涂覆内皮细胞层是构建完整管壁的常用手段<sup>[25]</sup>。内皮细胞层具有减少血栓形成、防止堵塞的能力,且可确保血管移植体内的血液长期流动。Kolesky等<sup>[26]</sup>将人脐静脉内皮细胞悬液涂覆到管状血管移植体中以促进内皮化,48 h后,在打印移植血管的管腔中成功地形成了融合的人脐静脉内皮细胞层。

近年来,4D打印在人工血管支架材料及构建模式等方面取得了重大突破,打印血管的生物性能逐渐得到优化。然而,人工血管目前仍存在许

多不足,管壁的内皮化对打印技术及实验技术提出了较高的要求,吻合口处的内膜增生及血栓形成一直以来也是制约其成为移植物的核心问题。在构建微血管方面,天然毛细血管和小静脉的内径低至8~20  $\mu\text{m}$ ,因此需要足够的分辨率进行打印,4D打印的精确度不足与管腔通畅率较低使人工血管无法充分模拟人体血管。尽管生物打印技术在人工血管的制造方面表现出良好的生物相容性,但移植材料弹性不匹配、形变限制等问题仍是影响管腔通畅及移植血管长期有效的关键所在。

#### 4 总结与展望

4D打印技术是一项革命性的实用工具,可使智能材料在独特的仿生学基础上实现复杂构件的自由形变,并强调在设计生物医学设备时考虑人体动态的组织愈合和再生过程<sup>[27]</sup>。然而,4D打印是在材料学、生物学、机械学和计算机学等学科基础上发展起来的交叉融合技术,受到相关学科发展的影响与制约。

目前,4D打印技术存在的主要问题包括:(1)现有的智能材料仅可进行简单的形变,而人体组织结构的形变过程常复杂多样,如血管适应性收缩、胃肠蠕动、心脏搏动等,因此器官组织工程修复对支架形变的复杂度提出了更高的要求;(2)3D打印制造条件与智能材料性能的匹配需要进一步研究,目前尚缺乏复杂智能材料构件的有效制造方法;(3)多种智能材料在指定区域的精确沉积需要更高分辨率的打印设备,这是精确变形和对多种刺激反应的必要条件;(4)在以智能材料为支架的4D打印中,当打印支架发生变形后,其内的细胞活性降低甚至死亡,尤其是以pH值变化和紫外线为响应刺激时这一问题更为突出,因此如何提高4D支架上细胞的存活率是未来研究面临的严峻问题<sup>[28]</sup>。

总之,4D打印技术为生物医学打开了一扇探索新型组织工程技术的窗口,但目前尚处于起步阶段,面临着许多未知的挑战。随着对智能材料的不断挖掘和响应机制的不断明确,相信4D打印的应用前景必将非常广阔。

#### 【参考文献】

- [1] Yan ZW, Li SF, Li A, *et al.* Research progress in application of 3D bio-printing technology in tissue engineering and organ transplantation[J]. *J Jilin Univ (Med Ed)*, 2019, 45(1): 197-201. [闫志文,李硕峰,李傲,等. 3D生物打印技术在组织工程和器官移植中应用的研究进展[J]. *吉林大学学报(医学版)*, 2019, 45(1): 197-201.]
- [2] Lui YS, Sow WT, Tan LP, *et al.* 4D printing and stimuli-responsive materials in biomedical aspects[J]. *Acta Biomater*, 2019, 92: 19-36.
- [3] Tibbitts S. 4D printing: Multi-material shape change[J]. *Architectural Design*, 2014, 84 (1): 116-121.
- [4] Miao S, Zhu W, Castro NJ, *et al.* 4D printing smart biomedical scaffolds with novel soybean oil epoxidized acrylate[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 27226.
- [5] Zarek M, Mansour N, Shapira S, *et al.* 4D printing of shape memory-based personalized endoluminal medical devices[J]. *Macromol Rapid Commun*, 2017, 38(2). doi:10.1002/marc.201600628.
- [6] Ramos MLP, González JA, Fabian L, *et al.* Sustainable and smart keratin hydrogel with pH-sensitive swelling and enhanced mechanical properties[J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2017, 78: 619-626.
- [7] Li Y, Zhi X, Lin J, *et al.* Preparation and characterization of DOX loaded keratin nanoparticles for pH/GSH dual responsive release[J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2017, 73: 189-197.
- [8] Anandhakumar S, Krishnamoorthy G, Ramkumar KM, *et al.* Preparation of collagen peptide functionalized chitosan nanoparticles by ionic gelation method: An effective carrier system for encapsulation and release of doxorubicin for cancer drug delivery[J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2017, 70(Pt 1): 378-385.
- [9] Villanueva ME, Cuestas ML, Pérez CJ, *et al.* Smart release of antimicrobial ZnO nanoplates from a pH-responsive keratin hydrogel[J]. *J Colloid Interface Sci*, 2019, 536: 372-380.
- [10] Hu Q, Katti PS, Gu Z. Enzyme-responsive nanomaterials for controlled drug delivery[J]. *Nanoscale*, 2014, 6(21): 12273-12286.
- [11] Tang M, Rich JN, Chen S. Biomaterials and 3D bioprinting strategies to model glioblastoma and the blood-brain barrier[J]. *Adv Mater*, 2021, 33(5): e2004776.
- [12] Ghosh A, Li L, Xu L, *et al.* Gastrointestinal-resident, shape-changing microdevices extend drug release *in vivo*[J]. *Sci Adv*, 2020, 6(44): eabb4133.
- [13] Gupta MK, Meng F, Johnson BN, *et al.* 3D printed programmable release capsules[J]. *Nano Lett*, 2015, 15(8): 5321-5329.
- [14] Zhang Q, Liu J, Yuan K, *et al.* A multi-controlled drug delivery system based on magnetic mesoporous Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles and a phase change material for cancer thermochemo-therapy[J]. *Nanotechnology*, 2017, 28(40): 405101.
- [15] Trenfield SJ, Awad A, Madla CM, *et al.* Shaping the future: Recent advances of 3D printing in drug delivery and healthcare[J]. *Expert Opin Drug Deliv*, 2019, 16(10): 1081-1094.
- [16] Jamal M, Kadam SS, Xiao R, *et al.* Bio-origami hydrogel scaffolds composed of photocrosslinked PEG bilayers[J]. *Adv Healthc Mater*, 2013, 2(8): 1142-1150.
- [17] Senatov FS, Niaza KV, Zadorozhnyy MY, *et al.* Mechanical properties and shape memory effect of 3D-printed PLA-based porous scaffolds[J]. *J Mech Behav Biomed Mater*, 2016, 57: 139-148.
- [18] Zhu W, Webster TJ, Zhang LG. 4D printing smart biosystems for nanomedicine[J]. *Nanomedicine (Lond)*, 2019, 14(13): 1643-1645.
- [19] Abdollahzadeh M, van der Zwaag S, Garia SJ. Self-healing corrosion-protective sol-gel coatings based on extrinsic and intrinsic healing App-roaches[M]//Hager DM, van der Zwaag S, Schubert U. *Self-healing Materials*. New York: Springer, 2016:

- 185-218. [https://doi.org/10.1007/12\\_2015\\_339](https://doi.org/10.1007/12_2015_339).
- [20] Lai HY, Wang HQ, Lai JC, *et al.* A self-healing and shape memory polymer that functions at body temperature[J]. *Molecules*, 2019, 24(18): 3224.
- [21] Dong R, Zhao X, Guo B, *et al.* Self-healing conductive injectable hydrogels with antibacterial activity as cell delivery carrier for cardiac cell therapy[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2016, 8(27): 17138-17150.
- [22] Park J, Kalinin YV, Kadam S, *et al.* Design for a lithographically patterned bioartificial endocrine pancreas[J]. *Artif Organs*, 2013, 37(12): 1059-1067.
- [23] Diaz-Gomez L, Elizondo ME, Koons GL, *et al.* Fiber engraving for bioink bioprinting within 3D printed tissue engineering scaffolds[J]. *Bioprinting*, 2020, 18: e00076.
- [24] Moysidou CM, Barberio C, Owens RM. Advances in engineering human tissue models[J]. *Front Bioeng Biotechnol*, 2021, 8: 620962.
- [25] Ji S, Guvendiren M. Complex 3D bioprinting methods[J]. *APL Bioeng*, 2021, 5(1): 011508.
- [26] Kolesky DB, Truby RL, Gladman AS, *et al.* 3D bioprinting of vascularized, heterogeneous cell-laden tissue constructs[J]. *Adv Mater*, 2014, 26(19): 3124-3130.
- [27] Piedade AP. 4D printing: The shape-morphing in additive manufacturing[J]. *J Funct Biomater*, 2019, 10(1): 9.
- [28] Kruse CR, Singh M, Targosinski S, *et al.* The effect of pH on cell viability, cell migration, cell proliferation, wound closure, and wound reepithelialization: *In vitro* and *in vivo* study[J]. *Wound Repair Regen*, 2017, 25(2): 260-269.

(收稿日期: 2020-12-11; 修回日期: 2021-04-06)

(责任编辑: 纪方方)