

生物 3D 打印丝素蛋白研究进展

沈浩斌 郑子豪 刘睿馨 邓皓宇 谢茂彬
广州医科大学 生物医学工程学院, 广东 广州 511436

摘要: 丝素蛋白作为一种天然高分子材料, 凭借其优异的生物相容性、可降解性和力学性能, 在生物 3D 打印领域展现出广泛的应用前景。首先介绍了丝素蛋白使用无机盐、酸/碱或离子液体作为溶剂的 3 种提取方法, 之后概括了生物墨水在挤出打印、立体光刻、数字光处理以及体积生物打印中的最新进展, 最后综述了生物 3D 打印丝素蛋白在组织工程、再生医学、疾病模型和药物筛选等领域的创新应用。综合来看, 丝素蛋白已在生物 3D 打印的材料研发、技术应用及场景拓展层面取得显著成果。尽管仍存在材料性能平衡、打印精度与细胞活性矛盾、标准化缺失等技术瓶颈, 但通过智能材料设计、多技术融合以及跨学科协作, 生物 3D 打印丝素蛋白必将为生物医学事业带来新的突破。

关键词: 丝素蛋白; 生物 3D 打印; 体积生物打印; 生物墨水; 生物医学

中图分类号: TP391.73

文献标志码: A

文章编号: 1004-7093(2025)12-0001-12

Research advances in 3D bioprinting of silk fibroin

Shen Haobin, Zheng Zihao, Liu Ruixin, Deng Haoyu, Xie Maobin

School of Biomedical Engineering, Guangzhou Medical University, Guangzhou 511436, Guangdong, China

Abstract: As a natural polymer, silk fibroin is characterized by excellent biocompatibility, degradability, and mechanical properties; therefore, it is widely regarded as a promising candidate for 3D bioprinting. Firstly, three extraction methods of silk fibroin using inorganic salts, acids/bases, or ionic liquids as solvents were reviewed. Subsequently, the latest progress of silk fibroin as bioink in extrusion printing, stereolithography, digital light processing and volumetric bioprinting technology was summarized. Finally, the innovative applications of 3D bioprinted silk fibroin in fields such as tissue engineering, regenerative medicine, disease models, and drug screening were reviewed. Overall, silk fibroin made significant progress in material development, technical application, and scenario expansion within the field of 3D bioprinting. Although there are still technical bottlenecks such as the balance of material properties, the contradiction between printing accuracy and cell activity, and the lack of standardization, through intelligent material design, multi-technology integration and cross-disciplinary collaboration, the 3D bioprinting of silk fibroin is

基金项目: 2021 年度广东省基础与应用基础研究基金(省企联合基金)(2021A1515220174)

收稿日期: 2025-05-22

作者简介: 沈浩斌, 男, 2004 年生, 在读本科生, 主要研究方向为生物 3D 打印, 2022161019@stu.gzhmu.edu.cn

通信作者: 谢茂彬, 教授, 主要研究方向为生物 3D 打印、生物材料、纳米医学、药物缓释, maobinxie@gzhmu.edu.cn

bound to bring new breakthroughs to the biomedical industry.

Keywords: silk fibroin; 3D bioprinting; volumetric bioprinting; bioink; biomedical

在生物医学材料领域,对兼具良好生物相容性、可降解性以及优异力学性能的材料探索从未停歇。丝素蛋白(silk fibroin, SF),这种源自蚕丝的天然高分子纤维蛋白,逐渐走进了科研人员的视野。蚕丝作为一种天然蛋白质纤维,有着悠久的历史,而丝素蛋白作为蚕丝的主要成分之一,约占蚕丝总质量的70%~80%^[1],主要由甘氨酸、丙氨酸和丝氨酸构成^[2]。丝素蛋白凭借其独特的理化性质和生物相容性^[3],已成为组织工程领域的研究热点。

与此同时,生物3D打印技术作为一项新兴的制造技术,正以前所未有的速度发展,并在生物医学领域展现出巨大的应用潜力。生物3D打印技术的基本原理是将生物材料与活细胞按一定比例混合,形成生物墨水,然后利用精确的3D打印设备,根据预先设计好的三维模型,逐层构建出具有复杂结构的组织或器官模型,为再生医学和个性化医疗提供创新性工具。在应用层面,生物3D打印技术成功制造了皮肤^[4]、肝^[5]、心肌^[6]等功能化人造组织,这对于研究心脏等疾病的发病机制以及修复治疗等具有重要意义。除了在组织工程领域的直接应用,生物3D打印技术还在药物筛选和疾病模型构建等方面发挥着重要作用。

然而,技术瓶颈依然存在。首先是材料性能单一,力学-降解-生物活性之间难以平衡。生物3D打印技术对材料的核心诉求是多性能协同,但传统生物材料常陷入力学强则生物活性弱、降解可控则力学性能差的矛盾,如胶原蛋白生物相容性优异^[7],但压缩模量仅0.01~0.10 MPa^[8],无法满足承重组织的需求;羟基磷灰石的力学强度高^[9](与松质骨接近),但降解缓慢且脆性大,易引发异物反应;合成高分子(如聚乳酸)降解可控,却存在免疫排斥风险。其次是传统支架功能仿生缺失。生物3D打印技术的终极目标是复刻人体组织的结构和功能协同性^[10],但传统支架多停留在形态仿生(如多孔结构),缺乏对组织力学梯度、活性因子缓释、动态响应等功能的模拟,如心肌组织需各向异性力学梯度以支持电传导^[11],但传统支架力学性能均一,无法引导细胞定向排列。

生物3D打印丝素蛋白的优势体现在2个方面:一是生物功能的高度仿生,丝素蛋白可调节力学强度的特性使其可以精准模拟生物组织的力学性能^[12];二是临床转化的可靠性,截至目前,丝素蛋白在全球医学领域已经获得广泛的应用,生物相容性和安全性已经得到市场的验证^[13]。未来,随着个性化医疗需求增加,结合智能响应材料和跨尺度功能整合的技术突破,生物3D打印丝素蛋白有望在复杂器官再生和精准医疗中发挥更重要的作用。

为系统呈现生物3D打印丝素蛋白的研究现状,本文将从3个方面进行阐述。首先聚焦丝素蛋白的提取技术,对比无机盐溶解法、酸/碱溶解法、离子溶液溶解法等不同方式的原理、性能差异及适用场景;其次梳理适用于丝素蛋白的生物3D打印技术,包括挤出打印、立体光刻(SLA)、数字光处理(DLP)及体积生物打印(VBP)等技术的特点、研究进展与应用案例;最后阐述生物3D打印丝素蛋白在医学领域的具体应用,涵盖不同力学性能的组织,以及体外模型构建与药物筛选领域的实践成果,同时分析当前存在的技术挑战并展望未来发展方向。

1 丝素蛋白的提取技术

蚕丝中的丝素蛋白通常被丝胶蛋白所包裹,无法直接应用^[14],故需要通过脱胶、溶解、透析等步骤得到高纯度的丝素蛋白^[15]。常见的丝素提取工艺如图1所示。

1.1 无机盐溶解法

无机盐溶解法通常是先将蚕丝进行脱胶处理,去除丝胶蛋白,然后使用高浓度无机盐溶液溶解脱胶后的蚕丝,得到丝素蛋白溶液^[16],如图1中A所示。常用的无机盐有氯化钙、溴化锂、硫氰酸锂等^[17]。溶解过程一般需要在特定温度和搅拌条件下进行,以促进蚕丝的溶解。溶解后的丝素蛋白溶液可通过透析、过滤等方法进行纯化,去除溶液中的无机盐和其他杂质^[18]。

以最常用的溴化锂溶解法为例,高浓度的溴化锂溶液对于氢键以及肽键有较强的破坏力^[19]。将

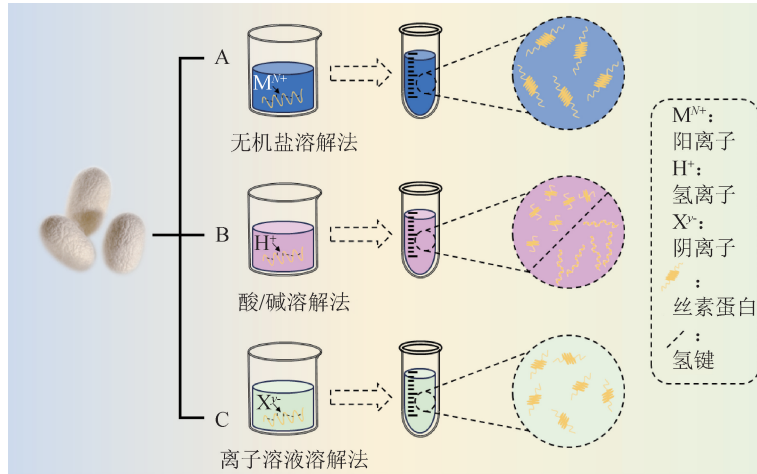


图 1 常见丝素蛋白的提取工艺
Fig. 1 Common extraction techniques for silk fibroin

脱胶后的蚕丝材料浸入 9.3 mol/L 的溴化锂溶液中,在 60~70 °C 条件下搅拌 2~4 h 使其充分溶解。溶解后得到的溶液需经过透析处理,如在去离子水中透析 2~3 d 并及时更换透析液,去除溴化锂等杂质。最后,通过冷冻干燥等方式得到纯净的丝素蛋白固体。此方法溶解效率高,分子量保留完整,但存在一定局限性,如成本上,溴化锂的价格昂贵,且后续需通过透析去除盐分,能耗与时间成本较高。透析不完全时,溴化锂残留会引发细胞毒性,这限制其在医疗领域的应用^[20]。与溴化锂类似,硫氰酸锂也是一种强离液剂,且硫氰酸根离子的离液效应比溴离子更强。它能高效破坏丝素蛋白内的氢键及其疏水作用,使蛋白质可以在室温下溶解^[21]。氯化钙/乙醇/水三元体系则通过钙离子与蛋白质上羧基的相互作用、乙醇对疏水作用的破坏以及水的氢键作用协同工作,有效地溶解丝素蛋白^[22]。

1.2 酸/碱溶解法

将蚕丝置于酸性或碱性溶液中,通过酸/碱破坏 β -折叠结构以提取丝素蛋白,如图 1 中 B 所示。就酸处理而言,常用的酸有甲酸、三氟乙酸等,利用酸的水解作用破坏丝素结构,具有操作简单、成本低的优势^[23],但需平衡降解程度与性能。以甲酸溶解为例,通过质子化和破坏氢键来溶解丝素。加入少量盐酸可以进一步增强甲酸的溶解能力,能够更有效地质子化肽键的含氮基团,从而破坏丝素蛋白内部的氢键网络和晶区结构。甲酸溶解效率高,但可能导致丝素蛋白被过度降解,力学性能下降^[24]。

就碱处理而言,常用的碱性试剂有氢氧化钠、碳酸钠以及碳酸氢钠。以碳酸钠为例,使用质量分数为 0.5% 的碳酸钠溶液脱胶是常用的预处理方式,但强碱条件易破坏丝素蛋白氨基酸序列,降低生物活性。但将碳酸钠溶液与表面活性剂[十二烷基磺酸钠(SDS)]组成的复合体系作为脱胶剂,在 75 °C 的条件下超声处理 10 min,可以实现高效低损脱胶,所得产物具有优异的生物相容性^[25]。乙酸-乙醇复合体系也可实现产品性能优化。研究发现,该体系能够共同促进丝素蛋白快速凝胶,通过溶剂协同作用调控蛋白构象转变,从而实现水凝胶形貌可控与性能提升的双重突破,为软组织工程支架提供新型制备策略^[26]。

总之,酸/碱处理法工艺简单、成本较溴化锂法更低^[27],但生物相容性受 pH 值残留的影响显著,需严格纯化后方能使用^[28]。

1.3 离子溶液溶解法

离子液体指的是全部由离子组成的、没有电中性分子的液体。离子半径越大,离子间的作用力越小,离子化合物的熔点就越低。某些离子化合物的阳离子半径较大,阴离子半径较小,以至于熔点很低,接近室温或低于室温。这样的离子化合物就是离子液体,有着良好的溶解能力。

离子溶液溶解法利用离子液体对蚕丝进行溶解,并通过后续处理得到具有良好性能且绿色环保的丝素蛋白^[29],如图 1 中 C 所示。如 1-丁基-3-甲基咪唑氯盐通过氢键作用温和溶解丝素蛋白,兼具

高效性与环保性。其溶解机制是氯离子作为强氢键受体,能高效攻击丝素蛋白分子链骨架上的酰胺基团和侧链羟基等并形成氢键,从而解离其高度有序的 β -折叠晶区,导致丝素蛋白溶解^[16]。该方法的优势明显,溶解时间可缩短至2~4 h,且降解率可控,可有效避免盐残留^[30],适用于制备高生物相容性凝胶与敷料,内毒素含量为行业标准的1/10,可显著降低过敏风险。值得注意的是,目前对于丝素蛋白力学性能的改善方法,通常是利用有机溶剂诱导二

级结构从无规则卷曲向 β -折叠转变^[31],但经过如此处理的材料生物安全性较差,而利用盐离子体系与液-液相分离效应共同作用,可以实现丝素蛋白的结构以及性能的改善^[14]。

1.4 不同提取方式的对比

丝素蛋白的不同提取方式对其分子量、 β -折叠含量和力学性能等具有显著影响^[24,32-33],表1列举了3种常见的提取方式^[34](无机盐溶解法、酸/碱溶解法、离子溶液溶解法)的具体影响。

表1 使用不同丝素提取方法的丝素蛋白性能差异

Tab.1 Performance differences of silk fibroin extracted by various methods

提取方式	分子量/kDa	弹性模量/GPa	主要应用方向	
无机盐溶解法	溴化锂	100~350	1~4	薄膜、纤维、3D 支架、柔性电子 ^[35-39]
	氯化钙-乙醇-水	50~200	0.5~2.0	薄膜、微球 ^[21-22]
	硫氰酸盐	50~150	0.8~3.5	静电纺丝 ^[40]
酸/碱溶解法	甲酸-盐酸	20~70	0.05~0.80	复合纤维、药物载体 ^[28, 41, 42]
	氢氧化钠	5~50	无	化妆品 ^[43]
离子溶液溶解法	1-丁基-3-甲基咪唑氯盐	150~350	0.8~3.0	柔性电子、纳米颗粒 ^[44-45]
	1-烯丙基-3-甲基咪唑高氯酸盐	100~250	0.7~2.8	薄膜 ^[46-47]

2 基于丝素蛋白的生物3D打印技术

SF 具有良好的生物相容性,高拉伸强度,优异的力学性能,可降解性,是用于生物医学领域的可行材料^[48]。使用藻酸盐、胶原蛋白、琼脂糖等材料混合活细胞作为生物墨水^[49]进行生物3D打印,可创建三维组织结构。目前,用于生物3D打印的技术繁多,主要分为挤出打印和光固化打印。光固化打印也分为立体光刻、数字光处理等打印方式。近年来还出现了新兴的体积生物打印,有着更快的打印速度和细胞存活率。不同的打印方式有不同的打印分辨率、打印速度和细胞打印密度^[50]等。光固化打印基于打印机中的光敏生物墨水,依墨水特性加入或不加入光引发剂,再使用不同方式的光进行照射(如逐点照射、逐面照射^[51]),进而形成特定的结构。下面将对这几种常见的生物3D打印技术进行详细介绍。

2.1 挤出打印

挤出打印将生物墨水通过喷嘴挤出,并逐层堆叠形成所需的三维物体^[52],如图2a)所示。这种技术因其成本相对较低、材料选择广泛且操作简便而广受欢迎。

但其分辨率较低,通常在300~500 μm ^[53],因为打印针头直径决定了理论分辨率,而打印针头又需要有足够的直径使材料顺利通过。

挤出打印要求生物墨水在挤出前具有流动性^[54],挤出后能迅速凝胶化以保持结构。SF的自组装凝胶化通常较慢^[55],尤其是在细胞友好的前提下,这限制了打印速度和高分辨率结构的构建,因此需要引入额外的交联机制,如离子交联、光交联、pH值诱导凝胶化等。Lipari等^[56]开发了基于海藻酸钠甲酯、明胶和丝素的混合生物墨水,其中丝素蛋白的加入显著提高了水凝胶的弹性与温度稳定性。该墨水不仅具有良好的打印性能,还能使细胞增殖率在3周内保持在85%以上。

2.2 立体光刻(SLA)

SLA 依赖计算机控制的激光束,通过打印平台上升一个设定层厚,实现逐层堆叠形成打印物。如图2b)所示,打印过程中每层采用点光源,激光束点扫成像,照射光固化生物墨水,逐点成面完成一层打印。其优势在于逐点打印,分辨率可达到500 nm。但打印速度较慢,并且层与层之间存在台阶,导致表面不光滑,且使用紫外或近紫外光源时会对细胞产生损伤。

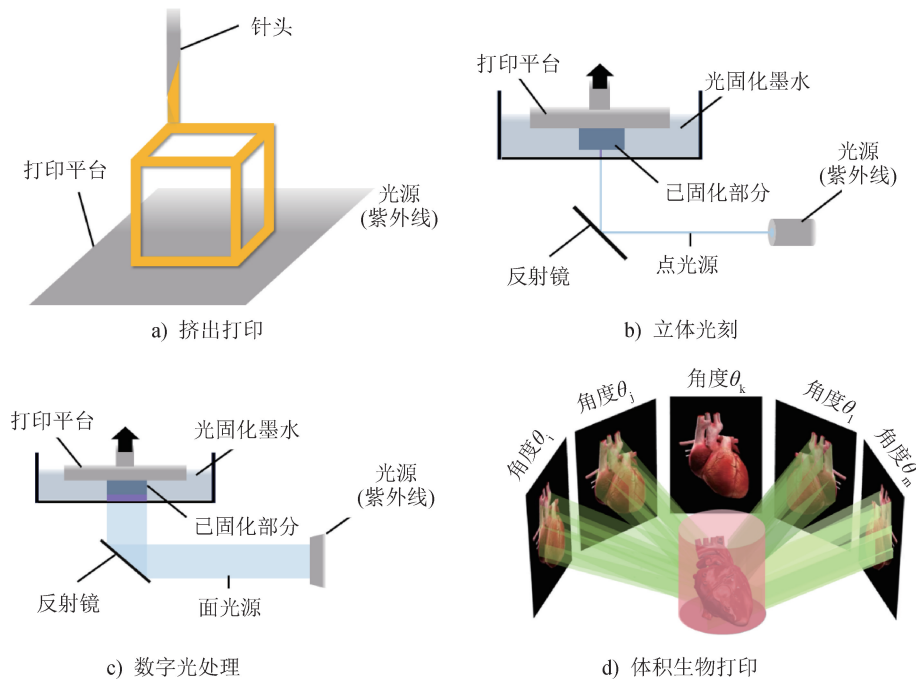


图 2 用于丝素蛋白的生物 3D 打印技术示意

Fig. 2 Schematic of 3D bioprinting technologies for silk fibroin

Zhou 等^[57]利用 SLA 技术在甲基丙烯丝素蛋白 (SiMA) 的基础上,加入了大量介孔生物活性玻璃 (MBG),打印一种仿生双层颅脑贴片来解决创伤性脑损伤。并且研究了质量分数为 10%~20% 的 SiMA 和质量分数为 2.5%~10% 的 MBG 对打印体结构形态、分辨率、力学性能及细胞相容性的影响,筛选出打印体满足天然骨骼结构需求的墨水。使用优选的墨水打印仿生双层颅脑贴片,并通过植入骨髓间充质干细胞 (BMSCs) 验证 BMSCs 细胞增殖及成骨相关蛋白表达。经碱性磷酸酶 (ALP) 活性检测发现,骨髓间充质干细胞的 ALP 活性随 MBG 浓度升高而升高,表明仿生双层颅脑贴片具有良好的细胞相容性且提高了成骨分化潜力。使用小鼠脑损伤模型和大鼠颅骨缺损模型评估仿生双层颅脑贴片的效果,发现在第 12 周,仿生双层颅脑贴片修复的缺陷处相比对照组有更多的骨组织覆盖,表明仿生双层颅脑贴片具有促进颅骨再生的能力,这为创伤性脑损伤的治疗提供了新策略。

2.3 数字光处理 (DLP)

数字光处理打印采用面投影形式,使用紫外光源逐层打印。其原理是将 3D 模型切片分解成多层二维平面,再通过投影仪逐层投影到打印平台上,和平台紧密接触的一层光敏生物墨水发生固化,随

后打印平台抬升,新鲜生物墨水重新填充并接触已固化部分,进而重复操作实现逐层打印,最终形成特定的三维物体^[31],如图 2c) 所示。其优点在于相较于传统挤出打印和 SLA 打印,DLP 打印制备周期明显缩短,打印出的打印体无人工界面,提高了打印体的机械完整性,但缺乏兼具生物相容性和可打印性的墨水^[58]。

SF 本身无法直接用于 DLP 打印,因为其缺乏必要的快速光聚合位点。Kim 等^[59]为了使 SF 具备适合 DLP 的打印速度,使用甲基丙烯酸缩水甘油酯 (GMA) 对 SF 进行化学改性制备 SiMA,并研究了不同浓度 SiMA 墨水的微观结构、流动性等,以及打印出物品的分辨率、吸水量等性质,总结出了适合 DLP 的 SiMA 浓度范围。其中,质量分数为 30% 的 SiMA 可打印性最好,能够制造出复杂的器官结构,如心脏、气管、耳朵等,并具有良好的力学强度。最后, Kim 等打印了载人软骨细胞的 SiMA 气管支架,4 周后,使用苏木精和伊红对载人软骨细胞的 SiMA 气管支架进行染色时发现,蛋白多糖和胶原蛋白堆积多于甲基丙烯酰化明胶 (GelMA) 水凝胶,表明 SiMA 为体外软骨细胞的生长和软骨形成提供了极好的环境。

2.4 体积生物打印 (VBP)

体积生物打印 (VBP) 的原理与计算机断层扫描 (CT) 类似, Kelly 等^[60] 基于此开发了计算轴向光刻 (CAL) 的 3D 打印方法, 即将三维模型转化为一组二维图案。与 DLP 不同的是, 二维图案按照不同的角度进行切片, 并通过墨水随切片角度同步旋转实现整体固化, 如图 2d) 所示。不同于传统打印技术的逐点、逐层成型, VBP 曝光后是在整个空间内一次性整体成型的, 速度比逐层打印的方法快数个数量级, 并且适合在既有复杂三维结构周围进行材料打印。但由于 VBP 仍处于早期发展阶段, 可打印的生物墨水十分有限。此外, 由于打印光源的穿透深度有限, 因此打印的物体大小受限。

Xie 等^[61] 研究了未经改性丝素蛋白的 VBP 技术, 建立适配 VBP 技术的丝素蛋白生物墨水体系, 通过系统优化墨水浓度、光引发剂配比及打印参数, 确定了最佳成型方案: 选用质量分数为 2.5% ~ 10.0% 的天然丝素蛋白作为基础原料, 搭配六水合钌 (Ru) 与过硫酸钠 (SPS) 组成光固化体系, 在 3 mW/cm^2 的可见光强度下实现高效聚合。与传统挤出打印相比, 该体积生物打印技术通过动态光图案投射与 Radon 变换算法控制, 实现了仅需 60 s 即可完成整个脑组织模型的一次性整体成型, 打印效率较传统技术提升超过 2 个数量级, 且有效避免了逐层打印导致的层间结合缺陷。并将细胞植入到打印物以及将负载细胞的打印物植入到猪股骨上, 验证了其生物相容性。丝素蛋白用于 VBP 时表现出良好的生物相容性以及打印适应性, 为 VBP 扩展了墨水库。

3 生物 3D 打印丝素蛋白的医学应用

3.1 组织工程与再生医学

人体组织按照质地和结构特点可分为两大类: 软组织和硬组织^[62]。软组织是指人体内质地柔软、结构疏松的组织, 主要包括肌肉、结缔组织、脂肪组织和神经组织等, 其核心特征是高弹性和动态收缩性; 硬组织是指人体内质地坚硬、结构致密的组织, 其核心特征是高硬度和高抗压强度。丝素蛋白因可以通过调节 β -折叠结晶区含量从而调控其力学性能, 调整范围低至 10 kPa ^[55], 高达 5 GPa ^[50], 包含了

软/硬组织对应的力学性能, 被广泛研究并用于组织工程和再生医学领域^[63-64]。

3.1.1 软组织

生物 3D 打印技术能够通过光聚合反应快速固化生物墨水, 从而形成具有复杂几何结构的生物组织, 这种技术特别适合用于制备具有特定形状的软组织支架, 可显著提升材料的仿生性能。有关丝素蛋白力学调控技术的突破^[65] 为未来组织工程提供了关键理论支撑。Valente 等^[66] 通过双光子光刻技术开发了力学梯度可调的丝素水凝胶体系, 其弹性模量可通过改变激光功率实现 $9.6 \sim 47.2 \text{ kPa}$ 的线性调控, 该范围恰好覆盖心肌组织的特征模量 ($10 \sim 50 \text{ kPa}$)。并且该支架引导成纤维细胞定向迁移速度达到 $0.8 \mu\text{m/h}$, 如图 3a) 所示, 这一特性可以帮助形成心肌细胞电传导所需的各向异性结构。数据显示, 该丝素水凝胶支架中的成纤维细胞经 21 d 培养后存活率仍高达 95% 以上, 表明该体系具备长期支持细胞活性的潜力。Choi 等^[67] 则采用 DLP 技术实现全层皮肤模型的血管化软组织支架构建, 通过分层打印表皮-真皮-血管结构, 使血小板内皮细胞黏附分子 (CD31) 阳性血管密度达到 120 条/mm^2 , 如图 3b) 所示。经表皮生长因子处理的试验组创面闭合率较对照组提升 40%, 其机理可能与血管网络促进的营养输送直接相关。

在软组织修复领域, 丝素蛋白具备高生物相容性、可调力学性能和高黏附性等特点^[68-70]。4D 打印技术是在 3D 打印基础上融入时间维度, 通过智能材料在特定环境 (如温度、湿度、磁场) 刺激下自动变形, 实现预设结构功能动态成型的先进制造技术。4D 打印技术赋予丝素蛋白动态重构能力。Kim 等^[15,71] 利用渗透压响应特性制备的气管支架, 可在体液环境中实现支架直径 15% 的自主扩张, 同时支持上皮细胞与软骨细胞共培养, 如图 3c) 所示, 14 d 后细胞存活率大于 90%。这种异质结构打印技术突破了传统贴片力学适配性差的局限, 其形状记忆效应使植入体更贴合复杂解剖结构。Xu 等^[72] 开发的 GelMA-co-SilMA 双网络水凝胶肌肉组织支架, 通过紫外交联形成仿生细胞外基质 (ECM) 拓扑结构, 其抗拉强度达 120 kPa , 断裂伸长率超过 200%。动物试验表明, 该贴片可使炎症因子白细胞介素-6 水平降低 60%, 并通过 14 d 持续缓释成纤维细胞生长因

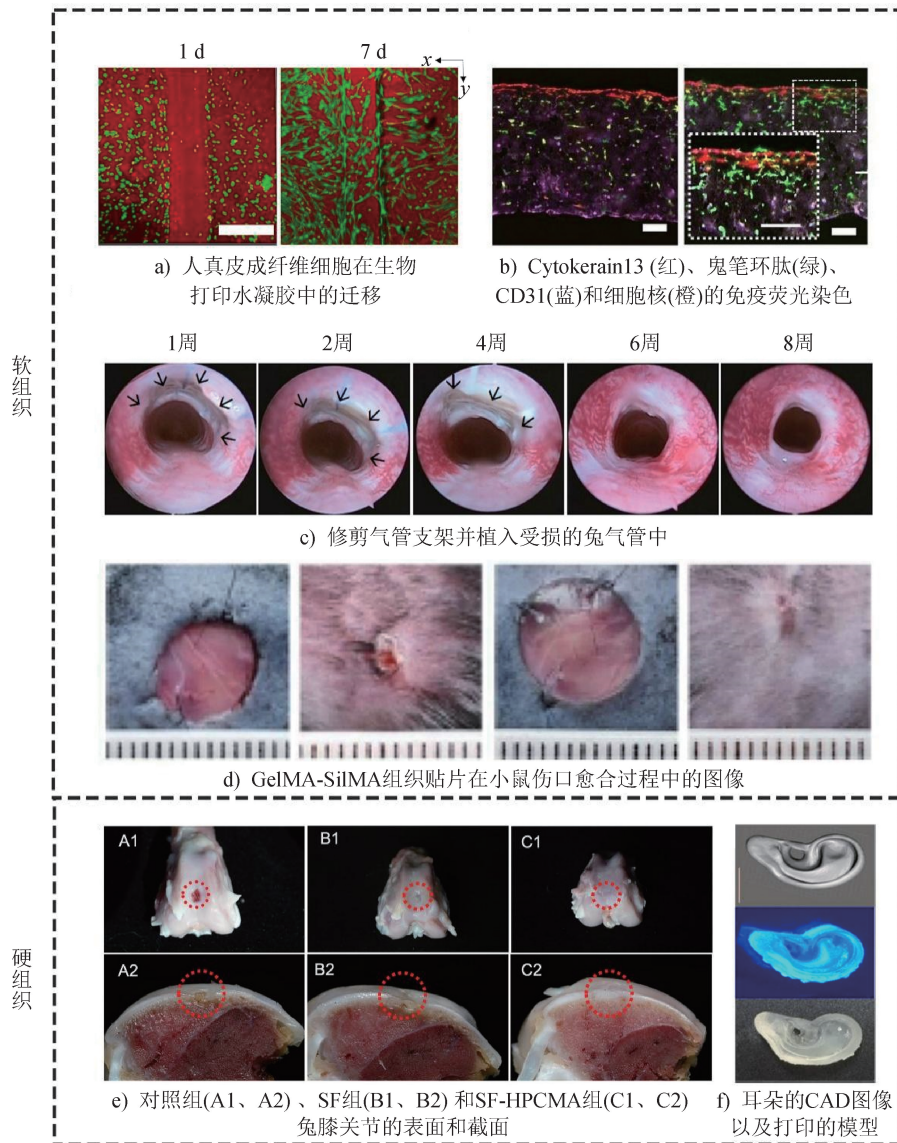


图 3 丝素蛋白在组织工程领域的应用

Fig. 3 Applications of silk fibroin in the field of tissue engineering

子-2 使创面愈合率提高 35%,如图 3d)所示。

目前,软组织修复的主要材料包括透明质酸、胶原蛋白等。这些材料在血管生成方面表现出一定的优势^[73]。相比之下,丝素蛋白因培养过程中弹性模量升高而一定程度上阻碍了血管生成。但通过高精度的 3D 打印,可以提前在丝素蛋白水凝胶中构建出血管网络,从而解决过高弹性模量阻碍血管生成的问题^[73]。

3.1.2 硬组织

丝素蛋白在从无规卷曲或 α -螺旋结构向 β -折叠结构转变时,分子链间通过氢键形成紧密有序的聚集态,材料的力学强度、弹性模量与结构稳定性显

著提升。这种力学特性的质变,使其突破了传统天然生物材料(如胶原蛋白、明胶)力学性能薄弱的局限,能够更好地匹配骨组织修复过程中对支架力学支撑的需求^[61],在骨组织工程中展现出独特优势^[74-75]。

从材料形态来看,丝素蛋白已经以薄膜、水凝胶和复合支架等形式应用于硬组织修复领域。其中,丝素蛋白薄膜凭借制备工艺简单、表面可控性强的特点,可作为骨缺损表面的覆盖层,起到隔绝外界感染、引导细胞黏附的作用;丝素蛋白水凝胶则因高含水量、良好的渗透性及与软组织相似的力学特性,成为软骨修复、骨缺损填充的理想载体,能够为细胞生

长提供接近体内的微环境;而丝素蛋白复合支架(如与羟基磷灰石、磷酸三钙等无机矿物质复合)则通过有机-无机协同作用,进一步优化了材料的骨传导性与力学性能,满足了承重部位骨缺损修复的需求^[74]。

丝素蛋白的力学可调性也在硬组织修复领域展现独特优势^[76]。Yan 等^[77]开发的 SF-甲基丙烯酸羟丙酯(HPCMA)复合支架通过 405 nm 紫外光交联与自组装双机制固化,压缩模量达到 0.5 ~ 2.0 MPa,与松质骨 0.1~2.0 MPa 的力学性能相似。兔关节缺损模型显示,如图 3e)所示,植入 8 周后新生软骨的 II 型胶原表达量提升 3 倍,显微 CT 显示缺损修复率达 85%。Kim 等^[15]突破性采用未改性的丝素蛋白直接打印耳廓软骨,如图 3f)所示,通过 Ru/SPS 引发酪氨酸交联,使压缩模量跨度扩展至 10~1 000 kPa。该支架使软骨细胞增殖率提升 2 倍,碱性磷酸酶活性增加 1.8 倍。Cui 等^[78]开发出压缩模量达 10~15 kPa 的丝素光固化水凝胶,其力学性能可促进人关节软骨细胞增殖和糖胺聚糖(GAG)沉积^[79]。封装在水凝胶中的人关节软骨细胞在软骨形成培养基中培养 5 周后能够分泌 ECM,包括 GAG、I 型胶原、II 型胶原和聚集蛋白聚糖等。且由于 GAG 的沉积,细胞培养 5 周后水凝胶的最终压缩模量提升至(321.7±26.3)kPa,证明了丝素光固化水凝胶在骨临床修复中的潜力。

3.2 体外模型与药物筛选

3.2.1 疾病模型构建

当前,基于丝素蛋白的生物 3D 打印疾病模型构建的研究正朝着“结构仿生-功能模拟-病理还原”的方向发展。研究通过调控丝素蛋白的晶体结构(如 β -折叠含量)、支架拓扑形貌^[71](如孔隙率、孔径分布)及活性因子负载方式^[57],实现对生理微环境或病理微环境的精准复刻,进而解决传统二维细胞培养模型与体内真实环境差异大、动物模型周期长且个体差异显著等问题,为疾病机制研究、靶点筛选及药物有效性验证提供更贴近临床的体外平台。

Choi 等^[67]开发的透明丝素造血模型通过基质刚度优化,通过超声诱导 β -折叠形成,将结晶度从 15%提升至 32%,这一结构优化显著增强了血管内皮生长因子(VEGF)的缓释性能,使 VEGF 缓释效

率达到 85%。大鼠皮下植入试验显示,血小板内皮细胞黏附分子(CD31)和血管密度较对照组提升 40%,28 d 累计释放率保持 78%。此外,该体系在造血功能模拟方面表现优异,血小板糖蛋白阳性细胞和血小板前体细胞纯度达到 90%,较传统培养体系提升 40%。集成式光学代谢传感器实时监测显示,患者样本的糖酵解活性降低 40%(细胞外酸化率从 80 mpH/min 降至 48 mpH/min)。且该体系在酸性微环境下的释放速率提高 2.3 倍,表明其在肿瘤等酸性病理环境中具备更强的响应性和靶向性,为血液病机制研究和肿瘤靶向治疗提供了新工具。

上述研究充分体现了丝素蛋白在 3D 打印疾病模型中的多功能性与应用潜力。一方面,通过结构调控(β -折叠含量、结晶度)实现了对生长因子释放行为的精准控制,表明丝素蛋白不仅可作为结构材料,还能作为生物活性分子的可控释放平台。这种“结构-功能一体化”的设计策略,为构建具有生理功能的类组织模型提供了新思路。另一方面,丝素蛋白在血管生成、造血分化及代谢监测等多维度指标上均表现出显著优势,表明其在血液系统疾病模型构建方面具备高度仿生的能力,尤其适用于研究肿瘤微环境、血小板生成障碍等病理过程。

3.2.2 药物筛选

在药物研发领域,传统筛选模型常面临体外预测性差、体内验证成本高及无法模拟个体化病理微环境等痛点^[80]。而生物 3D 打印丝素蛋白凭借可调的力学性能、优异的生物相容性及功能化修饰潜力,能够构建更贴近人体生理/病理状态的类器官模型与微流控芯片,为药物筛选提供更精准的评价平台。荧光丝素材料的出现革新了药物评价体系^[81]。通过对蚕丝后染色处理或对蚕投喂带荧光物质的饲料,将各种有机染料和无机纳米颗粒掺入丝素蛋白中,可以赋予其荧光特性。Kim 等^[59]开发的荧光丝素生物墨水在保持细胞活性的同时,可实现长达 28 d 的稳定荧光信号释放。该材料成功构建了肝癌类器官模型,并通过荧光强度变化定量评估索拉非尼的半数抑制浓度(IC50),较传统四唑盐比色法(MTT)灵敏度提升 30%。此外,光固化丝素蛋白的微流控通道打印精度达 20 μm ,为器官芯片血管网络构建提供了新方案。

4 结论与展望

丝素蛋白凭借其天然可降解性、优异生物相容性与可调力学强度,已成为生物 3D 打印领域极具潜力的通用型墨水基底。本文系统梳理了丝素提取策略,介绍了挤出/光固化/体积生物打印 3 大技术路线的成型机制与最新进展,并结合心肌、软组织、骨修复、血液及神经疾病模型实例,证实其已从“结构模拟”向“功能模拟”过渡中取得实质性突破。然而,现阶段仍面临丝素蛋白的交联度-降解速率-细胞活性三角平衡、光引发剂残留、血管化网络成熟度不足及缺乏统一标准等瓶颈。未来工作应聚焦智能响应墨水设计,实现动态交联与药物按需释放;多技术融合(如 VBP-挤出混合打印),兼顾成型速度与精度;建立符合良好生产规范(GMP)的制备规范与跨实验室验证平台,推动个性化植入与高通量药物筛选的临床转化。随着材料-生物学深度交叉,丝素蛋白生物 3D 打印有望在复杂器官再生与精准医疗中发挥更大作用。

未来,丝素蛋白墨水设计将趋向智能化,如引入 pH 值敏感基团、温度响应性等实现靶向药物释放、动态组织修复等。4D 打印技术与机器学习算法结合,有望实现打印结构的自适应形态调控。同时,光固化技术与其他生物制造技术交叉融合,将提升打印精度和功能性。丝素蛋白光固化打印的临床转化需将材料科学、生物学与临床医学深度协作,开发符合 GMP 标准的生产工艺,在生物学端建立近人体微环境的体外评价模型,在临床端依患者计算机断层扫描/核磁共振(CT/MRI)数据设计个性化打印方案等。此外,随着环保要求提高,丝素蛋白的绿色制备工艺已成研究热点,如离子液体、低毒溶剂体系备受青睐,废弃丝素材料的闭环回收技术也值得探索。



期刊采编平台



中国知网下载

参考文献

[1] KOH L D, CHENG Y, TENG C P, et al. Structures,

mechanical properties and applications of silk fibroin materials[J]. *Progress in Polymer Science*, 2015, 46: 86-110.

[2] SAHOO J K, HASTURK O, FALCUCCI T, et al. Silk chemistry and biomedical material designs[J]. *Nature Reviews Chemistry*, 2023, 7(5): 302-318.

[3] 张萌, 徐岚. 静电纺丝素蛋白基纳米纤维在组织工程中的应用[J]. *产业用纺织品*, 2022, 40(12): 1-8.

[4] DERMAN I D, RIVERA T, GARRIGA CERDA L, et al. Advancements in 3D skin bioprinting: processes, bioinks, applications and sensor integration [J]. *International Journal of Extreme Manufacturing*, 2025, 7(1): 012009.

[5] DENG B, MA Y, HUANG J L, et al. Revitalizing liver function in mice with liver failure through transplantation of 3D-bioprinted liver with expanded primary hepatocytes [J]. *Science Advances*, 2024, 10(23): eado1550.

[6] LEE A, HUDSON A R, SHIWARSKI D J, et al. 3D bioprinting of collagen to rebuild components of the human heart[J]. *Science*, 2019, 365(6452): 482-487.

[7] SORUSHANOVA A, DELGADO L M, WU Z N, et al. The collagen suprafamily: from biosynthesis to advanced biomaterial development [J]. *Advanced Materials*, 2019, 31(1): 1801651.

[8] 张慧君, 罗仓学, 张新申, 等. 胶原蛋白的应用[J]. *皮革科学与工程*, 2003, 13(6): 37-41.

[9] 冯庆玲, 崔福斋, 张伟. 纳米羟基磷灰石/胶原骨修复材料[J]. *中国医学科学院学报*, 2002, 24(2): 124-128.

[10] MATAI I, KAUR G, SEYEDSALEHI A, et al. Progress in 3D bioprinting technology for tissue/organ regenerative engineering [J]. *Biomaterials*, 2020, 226: 119536.

[11] WANG Z H, WANG L, LI T, et al. 3D bioprinting in cardiac tissue engineering[J]. *Theranostics*, 2021, 11(16): 7948-7969.

[12] WANG T, LI Y Q, LIU J, et al. Intraarticularly injectable silk hydrogel microspheres with enhanced mechanical and structural stability to attenuate osteoarthritis[J]. *Biomaterials*, 2022, 286: 121611.

[13] SHUAI Y J, ZHENG M D, KUNDU S C, et al. Bioengineered silk protein-based 3D *in vitro* models for tissue engineering and drug development: from silk matrix properties to biomedical applications [J]. *Advanced*

- Healthcare Materials, 2024, 13(28): 2401458.
- [14] MU X, SAHOO J K, CEBE P, et al. Photo-crosslinked silk fibroin for 3D printing [J]. Polymers, 2020, 12(12): 2936.
- [15] KIM S H, HONG H, AJITERU O, et al. 3D bioprinted silk fibroin hydrogels for tissue engineering [J]. Nature Protocols, 2021, 16(12): 5484-5532.
- [16] 解芳, 邵自强. 天然纤维素纤维的溶解机理及纺丝技术发展 [J]. 华北工学院学报, 2002(2): 119-122.
- [17] AMIRIAN J, WYCHOWANIEC J K, AMEL ZENDEHDEL E, et al. Versatile potential of photo-cross-linkable silk fibroin: roadmap from chemical processing toward regenerative medicine and biofabrication applications [J]. Biomacromolecules, 2023, 24(7): 2957-2981.
- [18] MELKE J, MIDHA S, GHOSH S, et al. Silk fibroin as biomaterial for bone tissue engineering [J]. Acta Biomaterialia, 2016, 31: 1-16.
- [19] JANANI G, KUMAR M, CHOUHAN D, et al. Insight into silk-based biomaterials: from physicochemical attributes to recent biomedical applications [J]. ACS Applied Bio Materials, 2019, 2(12): 5460-5491.
- [20] WANG H Y, ZHANG Y, ZHANG M, et al. Functional modification of silk fibroin from silkworms and its application to medical biomaterials: a review [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 259: 129099.
- [21] ZENG D M, PAN J J, WANG Q, et al. Controlling silk fibroin microspheres via molecular weight distribution [J]. Materials Science and Engineering: C, 2015, 50: 226-233.
- [22] 陈佳弘, 江虹锐, 余炼, 等. 丝素蛋白在氯化钙-乙醇-水体系中的溶解行为及其结构的变化 [J]. 现代食品科技, 2017, 33(9): 37-45.
- [23] WANG K, MA Q, ZHOU H T, et al. Review on fabrication and application of regenerated *Bombyx mori* silk fibroin materials [J]. Autex Research Journal, 2023, 23(2): 164-183.
- [24] WANG Q, CHEN Q, YANG Y H, et al. Effect of various dissolution systems on the molecular weight of regenerated silk fibroin [J]. Biomacromolecules, 2013, 14(1): 285-289.
- [25] LI W L, WANG M, MA H L, et al. Stereolithography apparatus and digital light processing-based 3D bioprinting for tissue fabrication [J]. iScience, 2023, 26(2): 106039.
- [26] KAČAREVIĆ Ž P, RIDER P M, ALKILDANI S, et al. An introduction to 3D bioprinting: possibilities, challenges and future aspects [J]. Materials, 2018, 11(11): 2199.
- [27] MA L, DONG W Y, LAI E P, et al. Silk fibroin-based scaffolds for tissue engineering [J]. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 2024, 12: 1381838.
- [28] 黄继伟, 梁苏平, 牛翔宇. 一种混合酸溶解丝素的方法: CN202211165497.3 [P]. [2023-01-10].
- [29] PHILLIPS D M, DRUMMY L F, CONRADY D G, et al. Dissolution and regeneration of *Bombyx mori* silk fibroin using ionic liquids [J]. Journal of the American Chemical Society, 2004, 126(44): 14350-14351.
- [30] HENG H, DENG Q Q, YANG Y P, et al. Recent research progress of ionic liquid dissolving silks for biomedicine and tissue engineering applications [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23(15): 8706.
- [31] NAM J, KIM M. Advances in materials and technologies for digital light processing 3D printing [J]. Nano Convergence, 2024, 11(1): 45.
- [32] AIKMAN E L, ECCLES L E, STOPPEL W L. Native silk fibers: protein sequence and structure influences on thermal and mechanical properties [J]. Biomacromolecules, 2025, 26(4): 2043-2059.
- [33] HUANG L L, SHI J F, ZHOU W, et al. Advances in preparation and properties of regenerated silk fibroin [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24(17): 13153.
- [34] 肖露, 杨旭超, 余卫华, 等. 桑/柞蚕丝不同溶解体系再生丝素蛋白性能研究 [J]. 纺织科技进展, 2017(11): 13-16.
- [35] CHEN J, XU H Y, ZHANG C J, et al. Gradient structure enabled robust silk origami with moisture responsiveness [J]. Chemical Engineering Journal, 2023, 454: 140021.
- [36] YAO Y, ALLARDYCE B J, RAJKHOWA R, et al. Spinning regenerated silk fibers with improved toughness by plasticizing with low molecular weight silk [J]. Biomacromolecules, 2021, 22(2): 788-799.
- [37] ROCKWOOD D N, PREDA R C, YÜCEL T, et al. Materials fabrication from *Bombyx mori* silk fibroin [J]. Nature Protocols, 2011, 6(10): 1612-1631.
- [38] 陈小菊, 沈嘉丽, 张佩华. 疝修补片用再生丝素蛋白

- 纳米纤维膜的制备与性能探讨[J]. 国际纺织导报, 2021, 49(11): 12-15.
- [39] 谢玉龙, 范苏娜, 张耀鹏. 丝素蛋白/氯化钙复合忆阻器的性能调控及突触可塑性模拟[J]. 东华大学学报(自然科学版), 2025, 51(1): 15-21.
- [40] 徐梅, 左保齐. 再生蓖麻蚕丝素蛋白静电纺丝的结构研究[J]. 丝绸, 2008, 45(3): 16-18.
- [41] HU Y L, YU J, LIU L, et al. Preparation of natural amphoteric silk nanofibers by acid hydrolysis [J]. Journal of Materials Chemistry B, 2019, 7 (9): 1450-1459.
- [42] 翁敏仪, 王志伟, 宁晚娥, 等. 湿气处理对丝素蛋白甲酸溶液盐析法制备支架材料的影响[J]. 丝绸, 2025, 62(4): 54-64.
- [43] 李淋倍, 郑祚福, 林海涛. 超声辅助低浓度碱溶液溶解丝素的研究[J]. 轻纺工业与技术, 2021, 50(4): 1-3.
- [44] XU Z J, HE Z, HUANG J N, et al. Flexible, biocompatible, degradable silk fibroin based display[J]. Chemical Engineering Journal, 2023, 464: 142477.
- [45] YAN S Q, WANG Q S, TARIQ Z, et al. Facile preparation of bioactive silk fibroin/hyaluronic acid hydrogels [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 118: 775-782.
- [46] 朱海霖, 冯新星, 陈建勇, 等. 丝素蛋白在室温离子液体中的溶解与再生性能研究 [J]. 功能材料, 2008, 39(10): 1710-1713.
- [47] RIVERA-GALLETI A, GOUGH C R, KALEEM F, et al. Silk-cellulose acetate biocomposite materials regenerated from ionic liquid[J]. Polymers, 2021, 13(17): 2911.
- [48] LUJERDEAN C, BACI G M, CUCU A A, et al. The contribution of silk fibroin in biomedical engineering [J]. Insects, 2022, 13(3): 286.
- [49] PRABHAKARAN P, PALANIYANDI T, KANAGAVALLI B, et al. Prospect and retrospect of 3D bio-printing[J]. Acta Histochemica, 2022, 124(7): 151932.
- [50] 古孝雪, 于晶, 杨明英, 等. 丝素蛋白 3D 打印在生物医学领域中的应用[J]. 化学进展, 2022, 34(6): 1359-1368.
- [51] SUN Y, YU K, NIE J, et al. Modeling the printability of photocuring and strength adjustable hydrogel bioink during projection-based 3D bioprinting[J]. Biofabrication, 2021, 13(3): 035032.
- [52] BROWN N C, AMES D C, MUELLER J. Multimaterial extrusion 3D printing printheads [J]. Nature Reviews Materials, 2025, 10(11): 807-825.
- [53] TISATO S, VERA G, SONG Q C, et al. Additive manufacturing of multi-material and hollow structures by embedded extrusion-volumetric printing [J]. Nature Communications, 2025, 16: 6730.
- [54] KAFRASHIAN Z, BRÜCK S, ROGIN P, et al. Segmented, side-emitting hydrogel optical fibers for multimaterial extrusion printing [J]. Advanced Materials, 2025, 37(4): 2309166.
- [55] 李晓茹. 丝素蛋白在生物医用材料中的应用[J]. 产业用纺织品, 2018, 36(4): 7-11.
- [56] LIPARI S, SACCO P, MARSICH E, et al. Silk fibroin-enriched bioink promotes cell proliferation in 3D-bioprinted constructs[J]. Gels, 2024, 10(7): 469.
- [57] ZHOU L M, LIU H L, ZHANG B R, et al. A novel 3D-printed bi-layer cranial-brain patch promotes brain injury repair and bone tissue regeneration[J]. Advanced Functional Materials, 2024, 34(18): 2314330.
- [58] AGOSTINACCHIO F, MU X, DIRÈ S, et al. *In situ* 3D printing: opportunities with silk inks [J]. Trends in Biotechnology, 2021, 39(7): 719-730.
- [59] KIM S H, YEON Y K, LEE J M, et al. Precisely printable and biocompatible silk fibroin bioink for digital light processing 3D printing[J]. Nature Communications, 2018, 9: 1620.
- [60] KELLY B E, BHATTACHARYA I, HEIDARI H, et al. Volumetric additive manufacturing via tomographic reconstruction [J]. Science, 2019, 363 (6431): 1075-1079.
- [61] XIE M B, LIAN L M, MU X, et al. Volumetric additive manufacturing of pristine silk-based (bio)inks [J]. Nature Communications, 2023, 14: 210.
- [62] URSCHEL J D, SCOTT P G, WILLIAMS H T. The effect of mechanical stress on soft and hard tissue repair: a review[J]. British Journal of Plastic Surgery, 1988, 41(2): 182-186.
- [63] ZHENG H Y, ZUO B Q. Functional silk fibroin hydrogels: preparation, properties and applications[J]. Journal of Materials Chemistry B, 2021, 9 (5): 1238-1258.
- [64] BUCCIARELLI A, MOTTA A. Use of *Bombyx mori* silk fibroin in tissue engineering: from cocoons to medical devices, challenges, and future perspectives [J]. Biomaterials Advances, 2022, 139: 212982.
- [65] MU X, FITZPATRICK V, KAPLAN D L. From silk

- spinning to 3D printing: polymer manufacturing using directed hierarchical molecular assembly[J]. *Advanced Healthcare Materials*, 2020, 9(15): 1901552.
- [66] VALENTE F, HEPBURN M S, CHEN J Y, et al. Bioprinting silk fibroin using two-photon lithography enables control over the physico-chemical material properties and cellular response[J]. *Bioprinting*, 2022, 25: e00183.
- [67] CHOI K Y, AJITERU O, HONG H, et al. A digital light processing 3D-printed artificial skin model and full-thickness wound models using silk fibroin bioink [J]. *Acta Biomaterialia*, 2023, 164: 159-174.
- [68] 于成龙, 秦金桥, 美国平, 等. 高、低相对分子质量再生丝素蛋白改性丝素纤维人工血管材料的探究[J]. *产业用纺织品*, 2022, 40(1): 22-32.
- [69] 陈刘彬, 冯裕胜, 孙玮玮, 等. 丝素蛋白搭载中药复方覆膜肠道支架的制备与性能研究[J]. *产业用纺织品*, 2024, 42(6): 1-10.
- [70] SEMMLER L, NAGHILOU A, MILLESI F, et al. Silk-in-silk nerve guidance conduits enhance regeneration in a rat sciatic nerve injury model [J]. *Advanced Healthcare Materials*, 2023, 12(11): 2203237.
- [71] KIM S H, SEO Y B, YEON Y K, et al. 4D-bioprinted silk hydrogels for tissue engineering[J]. *Biomaterials*, 2020, 260: 120281.
- [72] XU L, ZHANG Z Q, JORGENSEN A M, et al. Bioprinting a skin patch with dual-crosslinked gelatin (GelMA) and silk fibroin (SilMA): an approach to accelerating cutaneous wound healing [J]. *Materials Today Bio*, 2023, 18: 100550.
- [73] YU X J. Application of hydrogels in cardiac regeneration [J]. *Cardiology and Therapy*, 2023, 12(4): 637-674.
- [74] GUO L Q, LIANG Z H, YANG L, et al. The role of natural polymers in bone tissue engineering[J]. *Journal of Controlled Release*, 2021, 338: 571-582.
- [75] ZHOU Z Y, CUI J, WU S L, et al. Silk fibroin-based biomaterials for cartilage/osteocondral repair [J]. *Theranostics*, 2022, 12(11): 5103-5124.
- [76] PAN X H, LI R, LI W Y, et al. Silk fibroin hydrogel adhesive enables sealed-tight reconstruction of meniscus tears[J]. *Nature Communications*, 2024, 15: 2651.
- [77] YAN K, ZHANG X, LIU Y, et al. 3D-bioprinted silk fibroin-hydroxypropyl cellulose methacrylate porous scaffold with optimized performance for repairing articular cartilage defects [J]. *Materials & Design*, 2023, 225: 111531.
- [78] CUI X L, SOLIMAN B G, ALCALA-OROZCO C R, et al. Rapid photocrosslinking of silk hydrogels with high cell density and enhanced shape fidelity[J]. *Advanced Healthcare Materials*, 2020, 9(4): 1901667.
- [79] WANG T Y, LAI J H, HAN L H, et al. Modulating stem cell - chondrocyte interactions for cartilage repair using combinatorial extracellular matrix-containing hydrogels[J]. *Journal of Materials Chemistry B*, 2016, 4(47): 7641-7650.
- [80] DRIEHUIS E, KRETZSCHMAR K, CLEVERS H. Establishment of patient-derived cancer organoids for drug-screening applications [J]. *Nature Protocols*, 2020, 15(10): 3380-3409.
- [81] FAN S N, ZHENG X T, ZHAN Q, et al. Super-strong and intrinsically fluorescent silkworm silk from carbon nanodots feeding [J]. *Nano-Micro Letters*, 2019, 11(1): 75.

恭祝广大读者元旦快乐

欢迎投稿《产业用纺织品》《国际纺织导报》