



团 体 标 准

T/CAMDI 143—2025

增材制造 组织工程关节软骨仿生支架及预构体功能评价指南

Additive manufacturing-Guidelines for evaluation of tissue engineering articular cartilage biomimetic scaffolds and their regeneration performance

2025-1-3 发布

2025-1-5 实施

中国医疗器械行业协会 发布

目 次

前言 II

引言 III

1 范围 1

2 规范性引用文件 1

3 术语和定义 1

4 产品设计与组成 2

5. 通用评价方法 3

参考文献 5

前 言

本文件按照 GB/T 1.1-2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》和 GB/T20001.7-2017《标准编写规则 第七部分：指南标准》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由中国医疗器械行业协会增材制造医疗器械专业委员会提出并归口。

本文件归属于中国医疗器械行业协会增材制造医疗器械专业委员会团体标准化技术委员会。

本文件起草单位：上海交通大学医学院附属第九人民医院、上海软馨生物科技有限公司、苏州诺普再生医学有限公司、熠品（贵阳）质量科技有限公司、江苏创健医疗科技有限公司。

本文件主要起草人：王金武、张昌入、刘豫、席光辉、方人来、张仕川。

本文件指导专家：卢秉恒、戴尅戎、王迎军、杨华勇、冷劲松、桑宏勋（组长）、干耀恺（组长）、周广东（组长）、赵德伟、吕维佳、姚天平、徐弢、袁曦、孙剑、董谢平、赵晓丽、郑朋飞、傅德皓、毛远青、袁媛、王富友、余嘉、张爱丽、姚怡飞、马小军、周小军、李华壮、谭颖、李涛。

引 言

关节软骨存在于人体关节表面，主要起支撑、保护和润滑作用。关节软骨修复目前仍是国际公认的临床难题。关节软骨构建难度大、体内再生困难，增材制造组织工程关节软骨仿生支架结合干细胞技术有望实现关节软骨再生，目前 YY/T 0606《组织工程医疗产品》系列标准给出了相关方法，但并未针对组织工程关节软骨的构建及评价形成完善标准。因此本文件是为组织工程关节软骨仿生支架体外构建、理化性质及生物相容性评价及体内功能评价提供参考。本文件描述了体外构建组织工程关节软骨的试验方法，以及对体外构建的组织工程关节软骨的形态学、生物力学和组织学等的测定和评价方法。为组织工程关节软骨支架生产厂商在进行产品的安全性、有效性评价时提供参考，从而提高关节软骨植入物的修复效果，促使组织工程关节软骨再生修复领域安全高效地发展。

增材制造 组织工程关节软骨仿生支架及预构体功能评价指南

1 范围

本文件提供了增材制造组织工程关节软骨仿生支架及预构体功能评价的指导，给出了增材制造组织工程关节软骨仿生支架的理化性质、生物相容性评价、体外培养环境的因素及组织工程关节软骨预构体的体内外功能性评价的建议。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 16886.1 医疗器械生物学评价 第1部分：风险管理过程中的评价与试验

GB/T 16886.2 医疗器械生物学评价 第2部分：动物福利要求

GB/T 16886.14 医疗器械生物学评价 第14部分：陶瓷降解产物的定性与定量

GB/T 16886.16 医疗器械生物学评价 第16部分：降解产物与可沥滤物毒代动力学研究设计

GB/T 36988 组织工程用来源组织操作规范指南

GB/T 9695.23 肉与肉制品 羟脯氨酸含量测定

YY/T 0954 无源外科植入物-I型胶原蛋白植入剂

YY/T 0606.10 组织工程医疗产品 第10部分：修复或再生关节软骨植入物的体内评价指南

YY/T 0606.12 组织工程医疗产品 第12部分：细胞、组织、器官的加工处理指南

YY/T 1616 组织工程医疗器械产品 生物材料支架的性能和测试指南

YY T 1562 组织工程医疗器械产品 生物材料支架细胞活性试验指南

T/CSBM 0029 用于关节软骨组织修复或再生的植入性医疗器械体内评价

T/CMBA 010 用于关节软骨再生的植入物评价规范

ISO 13019:2018 Tissue-engineered medical products - Quantification of sulfated glycosaminoglycans (sGAG) for evaluation of chondrogenesis

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

关节软骨 articular cartilage

关节表面的软骨及其下部钙化层。

3.2

生物活性因子 bioactive agents

生长因子、化学药物等可诱导期望的组织或细胞反应的物质。

3.3

生物墨水 bioinks

一种适用于3D打印设备的载体材料或其与生物活性因子、细胞的组合配方。

3.4

软骨再生 cartilage regeneration

具有与天然软骨相似的形态学、组织生物化学和生物力学特性的关节软骨的形成。

3.5

软骨修复 cartilage repair

受损的软骨或其替代物通过细胞增殖和新细胞外基质合成的愈合过程。

3.6

增材制造 additive manufacturing (AM)

以三维模型为基础，通过材料堆积的方式制造链间或实物的工艺。

3.7

增材制造仿生支架 AM mimicking substitutes

指通过增材制造技术在体外构建具有类似天然组织结构和特征的修复体。

3.8

增材制造预构体 AM prefabricated substitutes

通过增材制造技术制备的包含材料、细胞与生物活性因子的预制移植体

4. 产品设计与组成

4.1 材料设计与选择

宜选择与关节软骨机械强度接近的材料，以便植入物临时替代缺损软骨，发挥生理功能。同时，材料具有生物相容性，建议选择能够诱导干细胞分化为软骨细胞且维持软骨细胞表型的材料。应确保材料无对人体有害的物质，且在加工过程中不产生有害物质。

4.2 生物活性因子选择

生物活性因子可来源于动物、人或微生物，起到增强软骨表型维持和分化的作用，一般在支架或预构体构建过程中掺入，或在体外培养过程中加入培养环境。宜说明生物活性因子的来源、种类和使用方式。表1列举了一些常见的生物活性因子。若使用人源的生物活性因子，建议参考GB/T 36988进行。

表 1 常用于构建组织工程软骨支架的生长因子

生长因子家族	家族内具体生长因子
转化生长因子 (Transforming growth factors, TGFs)	TGF-β1、TGF-β3
胰岛素样生长因子 (Insulin-like growth factor, IGFs)	IGF-1
骨形态发生蛋白 (Bone morphogenetic protein, BMPs)	BMP-1、BMP-5、BMP-9、BMP-13、BMP-14
其他	缺氧诱导因子-1α (HIF-1α)、生长分化因子-5 (GDF-5)

4.3 细胞选择

细胞可在预构体构建和植入物体外培养的过程中使用，可参考 GB/T 36988 进行。同时，可按需选择其他细胞，如雪旺细胞、成纤维细胞和内皮细胞等。一般建议选择自体或同种异体细胞，宜参考 YY/T 0606.12 进行。

4.4 支架及预构体结构与增材制造

支架及预构体一般仿照天然软骨结构，包括软骨层和钙化层中其一或全部部分，以实现关节软骨仿生。增材制造所需的三维模型来源包括人工设计、三维扫描结果重建和重建结果的人为调整，建议根据产品需求选择合适的三维模型。增材制造工艺通过特定固化方式将材料按三维模型凝结固化成型得到支

架,其中包括挤出式、喷墨式、光投影式等,所使用的固化源包括但不限于紫外光、红外光、粘结剂、温度等。不同固化方式对应不同增材制造方法,适用于不同材料,且加工精度和质量有区别,建议根据自身需求选择合适的增材制造方法。若在支架构建中涉及生物活性因子,建议选择较温和的增材制造方法,避免生长因子变性。

4.5 预构体体外培养

载细胞预构体经过体外生物反应器培养可形成软骨组织,可使用静态培养(如细胞培养瓶、培养皿等)或动态培养(如灌流式、转瓶式、气升式等)在预构体上培养细胞。推荐使用动态培养方式,可以及时带出培养环境中的代谢废物,模拟体内环境。适当的力学刺激也是一个考虑因素。体外培养操作可参考 YY/T 0606.12 进行。

5. 通用评价方法

5.1 支架理化性质表征

5.1.1 支架物理性质需考虑的因素包括尺寸、孔隙结构(孔隙率,孔径等)、表面形貌、力学性能(压缩性、弯曲性、耐磨性等)、亲水性(水接触角)和溶胀性,如支架涉及其他特定的物理性质,也建议进行相关测试。支架物理性质的测试方法可参考YY/T 1616进行。

- a) 支架宜形态完整并和设计结构尺寸一致;
- b) 支架的孔隙率与设计结构相差不超过10%;
- c) 支架宜亲水性良好。

5.1.2 支架化学性质需考虑的因素,包括组分、组分比例、微量元素、降解速率、降解产物和表面化学特征,如支架涉及其他特定的化学性质,也建议进行相关测试。支架化学性质的测试方法可参考YY/T 1616进行。

5.1.3 对于可降解产品,应该检测降解速率和降解产物,测试方法可参考 GB/T 16886.14 和 GB/T 16886.16 进行。

5.2 生物相容性测试

5.2.1 按 GB/T 16886.1 推荐的方法对支架和预构体进行相关生物相容性评价,结果应无不可接受的生物学危害。

5.3 预构体体外评价

5.3.1 种子细胞和生物活性因子是预构体的重要组成部分,对于预构体的性能具有决定性作用,需建立评价体系。

5.3.2 宜对细胞的来源、种类、密度与分布等细胞学性能建立相应检测方法并分析。增材制造过程对细胞存在不利影响,应检测细胞存活情况,细胞活性可参考YY/T 1562进行。

5.3.3 宜说明预构体构建过程中加入的生物活性因子浓度及检测生物活性因子在预构体中的终浓度,评价生物活性因子的释放行为,建立相应检测方法并定量分析。

5.3.4 体外软骨再生

5.3.4.1 需对预构体中细胞能否分化为软骨细胞进行评价,组织工程关节软骨预构体的体外软骨再生的评价可参考 T/CMBA 010 进行。

5.3.4.2 建议参考ISO 13019检测糖胺聚糖(GAG)含量。

5.3.4.3 羟脯氨酸在II型胶原中大量存在,检测羟脯氨酸浓度可体现II型胶原浓度,建议参考YY/T 0954进行检测。

5.3.4.4 建议对软骨细胞、II型胶原、GAG进行组织学染色分析，并按设计计划进行其他结构的染色，观察软骨及钙化层的特征结构。

5.4 组织工程关节软骨仿生支架及预构体体内安全性和有效性评价

5.4.1 可参考 T/CSBM 0029 及 YY/T 1616 开展临床前动物试验研究。

5.4.2 模型选择

5.4.2.1 使用动物进行体内实验需满足动物福利及伦理的要求，可参考 GB/T 16886.2 进行。

5.4.2.2 关节软骨损伤常见于膝、髋、踝和肩等关节，常见缺损部位包括股骨髁、滑车沟、胫骨平台、肩关节盂唇，通常选用较大体型的动物模型进行关节软骨体内性能评价，如兔、犬、猪、山羊等动物作为实验动物。

5.4.3 生物安全性及降解性能评价可参考 GB/T 16886 进行测试。

5.4.4 组织工程关节软骨预构体体内再生功能评价可参考 YY/T 0606.10 进行。

5.5 体内再生关节软骨生物力学评价

5.5.1 组织工程关节软骨及其预构体起到替代受损关节软骨的作用，体内再生关节软骨的生物力学性能需匹配天然关节软骨。

5.5.2 建议测试的生物力学性质包括抗压强度、弹性模量、聚集模量、动态刚度、泊松比和渗透性，测试方法可参考 YY/T 0606.10 以及 T/CSBM 0029 进行。

注：周期性加载-卸载频率为 1 Hz。

5.5.3 不同部位关节的关节软骨生物力学性能存在差异，应用部位不同时，需重新评估体内再生关节软骨的生物力学性质是否接近此部位的天然关节软骨。

参考文献

- [1] Mei Q, Rao J, Bei H P, et al. 3D Bioprinting Photo-Crosslinkable Hydrogels for Bone and Cartilage Repair[J]. International Journal of Bioprinting, 2021, 7(3): 367.
- [2] Matai I, Kaur G, Seyedsalehi A, et al. Progress in 3D bioprinting technology for tissue/organ regenerative engineering[J]. Biomaterials, 2020, 226: 119536.
- [3] Daly A C, Freeman F E, Gonzalez-Fernandez T, et al. 3D Bioprinting for Cartilage and Osteochondral Tissue Engineering[J]. Advanced Healthcare Materials, 2017, 6(22): 1700298.
- [4] Mandrycky C, Wang Z, Kim K, et al. 3D bioprinting for engineering complex tissues[J]. Biotechnology Advances, 2016, 34(4): 422-434.
-