

◆특집◆ 기능성 생체 재료의 제작 및 응용

조직공학에서의 임의형상제작 기술의 적용

이승재* 조동우**

Solid Freeform Fabrication Technique in Tissue Engineering

Seung-Jae Lee* and Dong-Woo Cho**

Key Words : Tissue Engineering (조직공학), Solid Freeform Fabrication (임의형상제작 기술), Scaffold (인공지지체), Rapid Prototyping (쾌속조형), Microstereolithography (마이크로 광 조형)

기호설명

- S1= a surface of RVE model that is fixed in the z direction
- S2= a surface on which a uniform displacement is applied
- E_z = effective Young's modulus
- A_{S1}, A_{S2} = the areas of surfaces S1 and S2
- L_z = the dimension of the RVE model in the z direction
- F = reaction force
- σ_R = reaction stress
- D = displacement
- λ = wavelength
- R = Gaussian half-width
- f = focal length
- $W_{o,min}$ = Gaussian half-width at the focal point

1. 서론

조직공학은 생명 과학과 공학의 기본 개념과 기술을 통합 응용하여 생체 조직의 구조와 기능 사이의 상관 관계를 이해하고 나아가서 생체 조직의 대용품을 만들어 이식함으로써 우리 몸의 기능을 유지, 향상 또는 복원하는 것을 목적으로 하는 응용 학문이다.^{1,3} 조직공학의 이론은 먼저 환자의 몸에서 필요한 조직을 채취하여 세포를 분리한 다음, 분리된 세포를 배양, 증식시켜 생분해성 고분자에 심어 일정기간 체외 배양한 뒤에 이 세포/고분자 구조물을 다시 체내로 이식한다. 이식 후의 세포는 신생혈관이 형성될 때까지는 체액으로부터 산소와 영양분을 공급받다가 인체 내에서 혈관이 자라 들어와 혈액이 공급되면 세포들이 증식, 분화하여 새로운 조직 및 장기를 형성하고 고분자 구조물은 분해되어 없어지게 된다.

이러한 조직공학의 이론적 배경은 선택적 세포이식과 인공기질 개념으로 요약할 수 있다. 선택적 세포이식이란 장기 전체를 이식하기 보다는 필요한 조직을 선택적으로 채취해서 이식하는 것을 말하며, 인공기질이란 채취된 조직세포가 이식되어 3 차원적인 생체조직을 만들 수 있는 지지체를 말한다. 이러한 인공 기질은 담체 혹은 인공지지체(scaffold)라 불리며, 다음과 같은 조건을 충족시켜야 한다. 우선, 재생하고자 하는 생체조직의 형태를 유지 하여야 하고, 배양하고자 하는 세포의 점착과 증식/분화를 효과적으로 유도해야 한다.

* 포항공과대학교 대학원 기계공학과
 ** 포항공과대학교 기계공학과
 Tel. (054) 279-2171
 E-mail dwcho@postech.or.kr
 조직공학 특히, 인공지지체를 이용한 생체조직 재생 분야에 관심을 두고 연구활동을 하고 있다.

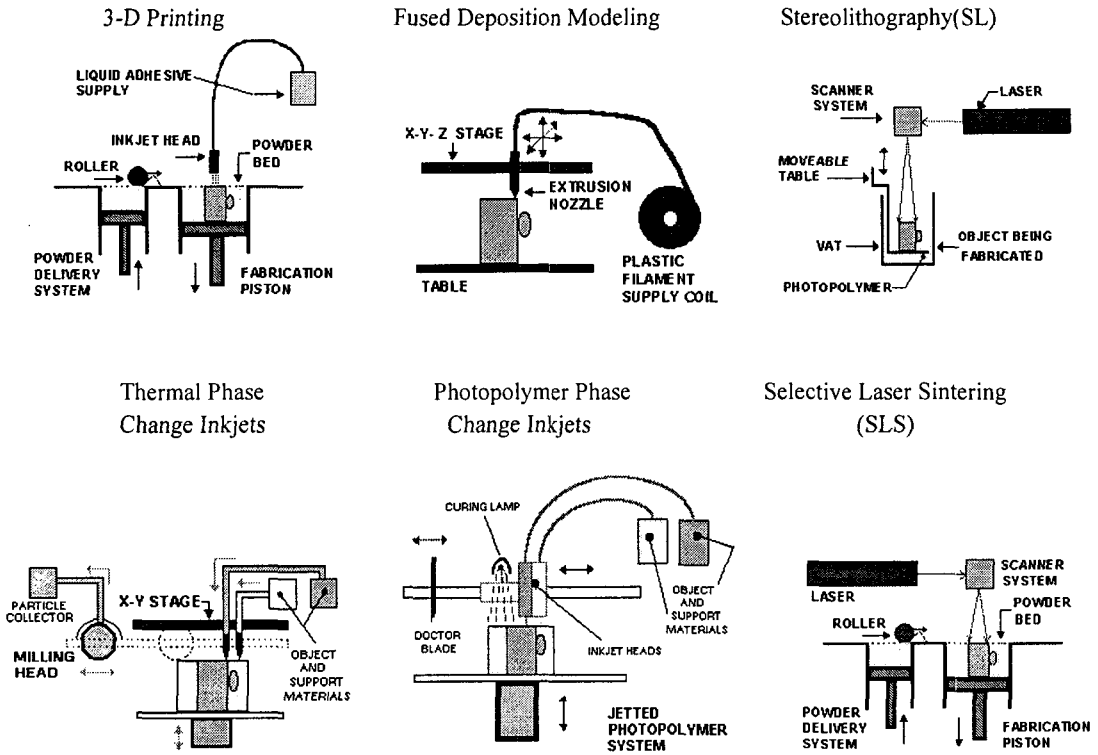


Fig. 1 Schematics of various solid freeform fabrication apparatus. For additional information, refer to <http://home.att.net/~castleisland/>. Reproduced with permission of Grenda from the Worldwide Guide to Rapid Prototyping Web site. Copyright Castle Island Co. All right reserved

즉, 대사산물(metabolites)의 전달이 용이해야 하며, 유기화된 조직 모체의 재구성과 혈관(vasculature)의 확장을 위해 충분한 공간이 내재되어 있어야 한다. 또한, 높은 생체친화성과 지지체로서의 역할을 다한 후 생체 내에서 안전하게 흡수, 분해되어야 한다. 하지만 오늘날 많은 연구자들이 인공지지체에 대한 연구를 진행하고 있지만 아직은 개념적이며 실험적인 수준의 접근이 대부분이며, 상업적으로 이용 가능한 시스템을 명쾌하게 제시하지는 못하고 있는 실정이다.

본 논문에서는 조직공학에서의 3 차원 인공지지체를 제조하기 위한 임의형상제작 기술 (SFF: Solid Freeform Fabrication)에 대하여 기술하고자 하며, 이에 대한 본 연구팀의 다양한 연구내용에 대하여 소개하고자 한다.

2. 장 임의형상제작 기술

일반적으로 임의형상제작(SFF) 기술은 컴퓨터 프로그램에 의해서 겹겹이, 선택적으로 재료를 덧 붙임으로써 부품을 만들어 낸다. SFF 기술의 잠재적인 장점은 세포의 재구성이 쉽도록 구조물의 내부구조를 임의형상으로 제작 가능하며, 혼합재료를 사용할 수 있다는 점이다. 대표적인 SFF 기술의 예를 Fig. 1에 나타내었다.⁴

지금까지 이러한 SFF 기술은 프로토타입의 쾌속 조형에 초점을 맞추어서 개발되었고 상용화되었다. (Table 1) 그러나 최근 들어서, 조직공학을 위한 인공지지체 제조에 이러한 기술들이 사용되기 시작하였다.

SFF 기술은 인공지지체의 구조 (크기, 형태, 내부구조, 방향)를 원하는 형상으로 만들 수 있고,

설계와 재료 구성면에서 다양한 구조물을 제어할 수 있는 유일한 방법으로 알려져 있다. 그런 까닭에 이미지 프로세싱 기술과 함께, 각 환자에 따라서 맞춤 제작이 가능하며 쉽게 자동화될 수 있다. 또한, 성장인자, 세포와 약품 등과 같은 생명에 영향을 미치는 요소들의 첨가가 가능함에 따라, 조직 공학 분야에 있어 새로운 기회를 제공하고 있다.^{5,6}

2.1 3 차원 프린팅 (3DP: Three-dimensional Printing)

인공지지체 제조를 위해 전분 성분을 기본으로 한 고분자 재료를 이용한 3DP 기술이 Lam et al.에 의해 보고된바 있다. Z-corp. 사의 3DP 장비 (Z402)를 사용하여 전분성분의 고분자 재료, 덱스트란 (dextran) 그리고 젤라틴(gelatin)의 혼합물로 원통형의 인공지지체가 제조되었다. 유기용매를 사용하지 않는 대신에 접착제(binder)로써 푸른 염색약이 혼합된 증류수를 사용한다. 인공지지체는 CAD 소프트웨어를 사용하여 설계된다. 그리고 슬라이싱 알고리즘을 사용하여 단면 형상을 얻어낸다. 100℃에서 1 시간 동안 건조시키는 후처리 공정을 통하여 인공지지체의 강도를 증가시켜준다. 그 후에 수축률, 흡수도, 공극률, 그리고 기계적 물성치를 측정한다. 이러한 다공성의 인공지지체는 0.059 ~ 0.102 MPa의 compression stiffness를 가지고 있다고 보고된바 있다.⁷

2.2 용착 조형 공정 (FDM: Fused Deposition Modeling)

FDM 기술은 Hutmacher's group, Wei Sun's group, Woodfield's group 등에서 많은 연구가 이루어져 왔다.⁸⁻¹¹ 공정원리는 선 형태의 생분해성 재료가 가열된 압출 금형과 유사한 노즐의 내부로 이송된다.

가열된 노즐을 통과하는 동안 재료는 용융되며, 이때 노즐의 단면 형상대로 이동하면서 용융재료를 붙이는 방식으로 입체 형상을 제작하는 공정이다. 이러한 공정을 사용하여 생분해성 재료인 PHL {poly(6-hexanolactone[poly (ε-carpro lactone)]} filaments로 인공지지체가 제조되었다. 채널 크기는 160-700 μm, compression stiffness는 4 ~ 77 MPa로 측정되었다. 각각의 단면 층들은 사각형, 벌집형태의 패턴으로 제조할수도 있다. 또한, 섬유아세포 (fibroblast)를 식중하여 성공적으로 성장, 분화시켰고 최종적으로 4 주 후에는 인공지지체의 내부 공극이 세포로 채워지는 것을 확인하였다. 조골세포의 경우에도 비슷한 패턴이 나타남을 확인하였다.⁹

2.3 마이크로 광 조형 공정 (MSL: Micro-stereolithography process)

Fig. 2는 본 연구에서 제작된 마이크로 광 조형 장치의 개략도이다. 광원으로는 파장(λ)이 351.1nm (single line)이고 가우스 반경(R, Gaussian half width)이 0.85mm 인 CW Ar+ 레이저 (Spectra-Physics BeamLok 2065-4S)가 이용되었다. 레이저에서 나온 UV는 mirror와 beam splitter 등으로 구성된 일련의 광학계와 초점렌즈를 통하여 광 경화성 수지위로 주사된다. 식(1)을 이용하여 초점평면에서의 레이저 빔의 가우스 반경($W_{0,min}$)을 계산할 수 있다.

$$W_{0,min} = \frac{f \cdot \lambda}{\pi \cdot R} \tag{1}$$

자외선 레이저 빛을 광 경화성 수지에 주사하여 원하는 형상을 성형하기 위해서는 단면 형상의

Table 1 Solid freeform fabrication methods and companies currently in the field

Method	Company
Stereolithography and selective laser sintering	3D Systems Corporation, Valencia, CA (www.3dsystems.com)
3-D printing (systems)	Z Corporation, Burlington, MA (www.zcorp.com)
3-D printing (biomaterials)	Therics Inc., Princeton, NJ (www.therics.com)
Fused deposition modeling	Stratasys, Inc., Eden Prairie, MN (www.stratasys.com)
Ink jet wax printing	SolidScape, Inc., Merrimack, NH (www.solid-scape.com)
3-D printing/bioplotter	Envisiontec, Gladbeck, Germany (www.envisiontec.de)

성형을 위한 x-y-z 스테이지와 엘리베이터(elevator)가 필요하다. 한 층의 성형은 x-y 스테이지의 구동으로 이루어지며 다음 층의 성형을 위해서 z 축 스테이지를 구동하여 일정한 층 두께를 가진 폴리머 층을 만들어주게 된다. 이때 셔터의 ON/OFF 제어를 통하여 레이저 빛을 차단시킨다. 이는 한 층 성형 후 다른 층으로 이동할 경우와 성형을 하지 않고 경로를 변경할 경우에 사용된다.¹²

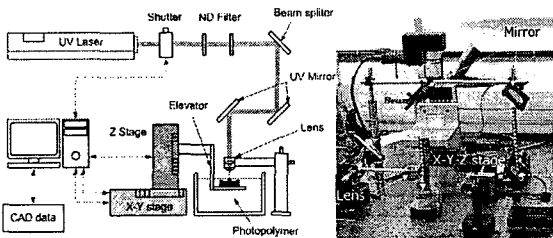


Fig. 2 Schematic drawing of the microstereolithography system

3. 장 마이크로 광 조형 기술

3.1 Computer-simulation of the scaffold

FEM 해석은 다공성 인공지지체에 대한 시뮬레이션을 통하여 기계적 특성을 예측하게 하는 강력한 도구중의 하나이다. 이 방법은 시뮬레이션을 통한 구조적 파괴와 잠재적인 위험 조건에 대한 정보를 주게 된다. 그러나, FEM 을 이용한 접근은 인공지지체와 같은 복잡한 다공성 구조에 적용할 때에는 다소 한계를 가지고 있다. 즉, 다공성 구조의 공극 단위로의 해석을 하기 위해서는 컴퓨터에 많은 계산 부하를 주게 된다. 따라서, 이러한 한계를 극복하며 FEM 시뮬레이션의 장점을 활용하기 위한 RVE (representative volume element) 이론이 소개

되고 있다.¹³ 이러한 RVE 이론은 마이크로 스케일에서의 세부 구조에 대한 디지털 이미지를 이용한 RVE 기반의 균질화 작업을 통한 생체 조직의 시뮬레이션에도 이용되고 있다.¹⁴ 그러나, 이러한 다양한 적용에도 불구하고 3 차원 인공지지체 디자인의 정밀한 해석에 중점을 둔 연구는 아직 미비한 실정이다. 따라서, 본 연구의 목적은 FEM 시뮬레이션을 활용하여, 가공 전에 인공지지체의 기계적 특성에 대한 정밀한 분석을 가능하게 하기 위한 RVE 모델의 향상에 있다.

3.1.1 Model building

조직 재생을 위한 인공지지체의 macro/micro 구조는 매우 중요한 역할을 한다. 예를 들어, 뼈의 재생을 위한 최적의 공극 크기는 약 100~350 μm 로 알려져 있다.¹⁴ 이를 고려하여, 본 연구에서는 세포의 생착, 노폐물 및 영양분 교환을 위하여 공극의 상호연결성을 지닌 4×4×4 mm 크기에 균일한 공극을 지니고 있는 3 차원 인공지지체를 고려하였다. Fig. 3 에서 보는 것처럼, 하나의 모델에는 균일한 많은 수의 공극이 인공지지체 내에 존재한다. RVE 이론에 따라, 여기에서 적절한 선의 두께를 가진 단위 공극으로써 정의된 단위 RVE 모델은 전체 모델에 균일하게 분포되어 있다. RVE 모델 구축 과정에서, Unigraphic 소프트웨어를 이용하여 모두 24 개의 RVE 모델과 4 개의 인공지지체 모델이 만들어졌다. 다양한 수의 단위 RVE 모델을 가진 모델들이 본 연구를 위하여 고려되었다. 각각의 RVE 모델은 Table 2 에서 보는 바와 같이 x-y-z 방향에서의 단위 모델 숫자에 의하여 구분 되었다.

Table 2 RVE models

RVE model	Unit cell	2×2×3	3×3×2	3×3×3	3×3×4	4×4×4
RVE shape						
Number of unit models in x, y, z directions	X: 1 Y: 1 Z: 1	2 2 3	3 3 2	3 3 3	3 3 4	4 4 4

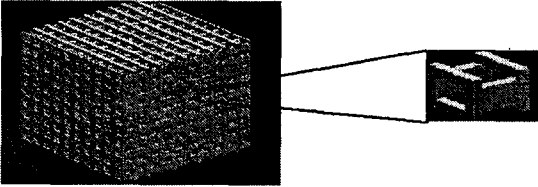


Fig. 3 Whole model and unit RVE model

3.1.2 FEM analysis and comparison

디자인된 모델의 탄성 계수를 계산하기 위하여, 본 연구에서는 탄성 이론을 바탕으로 한 FEM (ANSYS 10.0)이 이용되었다. 주어진 구조물에 대하여, 상용화된 수치인 SL5180 (Huntsman International, Salt Lake City, UT)의 물성이 시뮬레이션 과정에서 이용되었다. 그리고 나서, 적절한 조각화 작업을 통하여 필요로 하는 계산 node 를 만들어냈다. 이러한 모델에 적용된 경계선 조건은 Fig. 4 에서 보는 바와 같다. 표면 S1 은 z 방향으로 고정되어 있고, 균일한 변형($d = 0.001$) 조건이 S2 에 적용되었다.

유효 탄성 계수 E_z 는 다음 식(2)를 통하여 구할 수 있다.

$$E_z = \frac{\sigma_z}{\epsilon_z} = \frac{A_{S2}}{d} = 1000 \times \frac{F \cdot L_z}{A_{S2}} \quad (2)$$

단, A_{S1} 과 A_{S2} 는 각각 표면 S1 과 S2 의 넓이, L_z 는 z 방향으로 RVE 모델의 길이, F 와 σ_R 은 반발력과 이미 식(3)에 정의된 표면 S2 에서의 변형에 의하여 생성된 S1 표면상에서의 응력을 나타낸다.

$$F = \int_{S2} \sigma_R dA \quad (3)$$

경계 조건의 적용 하면, 모델에 필요로 하는 기계적 변형이 발생하게 된다. Fig. 5 는 180 μm 공극 크기에서 가지는 몇몇 모델에서의 변형률을 보여주고 있다.

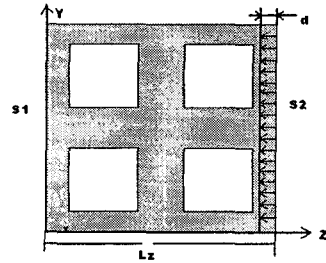


Fig. 4 The loading boundary condition for the RVE

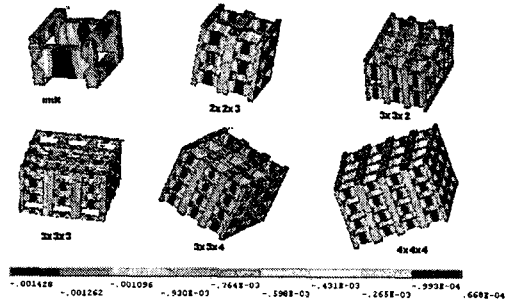


Fig. 5 Strain deformation of various RVE models

3.1.3 Calculation results

제시된 RVE 모델의 해석 후, 위에 소개된 계산 과정이 각각의 인공지지체 모델에 적용되었다. 각각의 모델에 대하여, 유효 탄성 계수가 FEM 시뮬레이션 결과로부터 구해졌다. 공극의 크기와 유효 탄성계수 사이의 관계를 나타내는 그래프가 Fig. 6 이다. 그림에서 볼 수 있는 것처럼, z 방향으로 같은 숫자의 단위 RVE 모델을 가진 모델들의 경우 비슷한 유효 탄성 계수 값의 결과를 보여주고 있다. Table 2 에서 제시된 것 중, 3×3×4 와 4×4×4 모델의 탄성 계수는 전체 모델과 비교할 때 최소의 오차를 가졌으며, 반면에 단위 RVE 모델은 가장 큰 오차를 보여주었다. 그 외에도, 인공지지체의 공극 크기가 증가할 때, 모든 경우에서 그 유효 탄성 계수가 감소하는 것을 볼 수 있다.

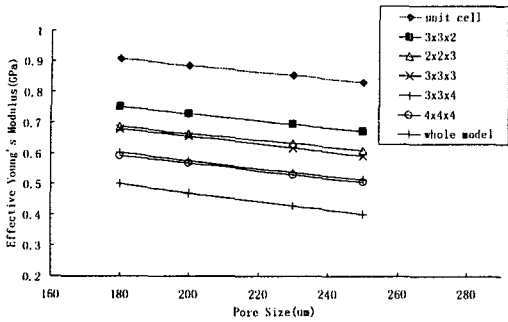


Fig. 6 Simulation results of RVE models for 3-D scaffold

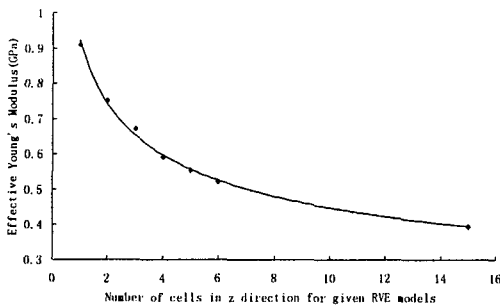


Fig. 7 The length effect in the z-direction

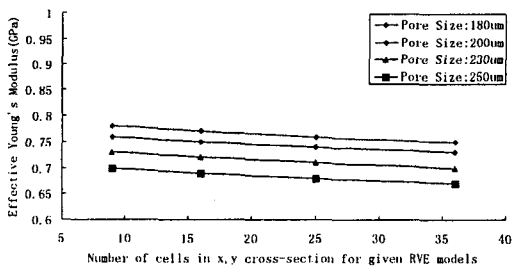


Fig. 8 The area effect in the x-y cross section

3.2.3 차원 인공지지체의 구조적 영향

세포가 잘 부착, 성장하기 위해서는 특정한 조건을 갖춘 3 차원 환경이 매우 중요하다. 이를 위해 인공지지체의 구조적 형태에 따라 세포의 생착 특성을 확인하고자 하였다. Type A 의 인공지지체 (SL5180, TMC/TMP)는 x 방향으로 일정간격의 선들을 성형하고 다음 층에서는 90° 회전한 y 방향으로 선들을 성형하여 적층한 구조이다(Fig. 9(a)). Type B 의 인공지지체는 한 층의 패턴이 격자구조를 갖도록 하면서 이들 패턴을 엇갈리게 배열하여 적층한 구조이다(Fig. 9(b)). 이렇게 제작된 인공지지체에 연골세포를 식종하여 배양된 생착 결과는 Fig. 10 에 나타나 있다. Fig. 9(a)는 Type A 의 인공지지체에

서 배양한 연골세포이며, (b)는 Type B 에서 배양한 결과이다. (a)의 경우 공극들이 수직으로 연결되어 있어 연골세포들이 인공지지체에 부착되기 전에 바닥 면으로 흘러내리는 현상이 발생했다. 따라서 배양 결과에서도 인공지지체 내부보다 인공지지체 표면에 연골세포가 생착되어 자란 것을 볼 수 있다. 하지만 (b)의 경우처럼 격자구조의 패턴들이 서로 엇갈리게 배열된 구조에서는 연골세포들이 공극 안에 잘 머물러 있게 되어 (a) 경우보다 세포의 생착이 잘 이루어져서 자라는 것을 확인할 수 있었다. 결국, 3 차원 구조라도 공극의 배열 또는 공극의 연결성 같은 구조적 형태가 달라지게 되면 세포의 부착 및 배양에 여러 가지 영향을 주는 것을 확인하였다.¹⁵

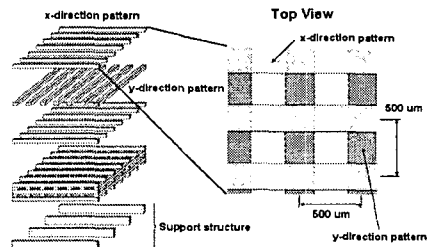


Fig. 9(a) Design configuration of the Type A scaffold

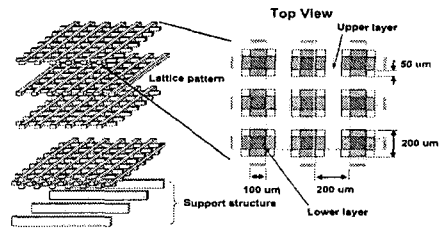


Fig. 9(b) Design configuration of Type B scaffold

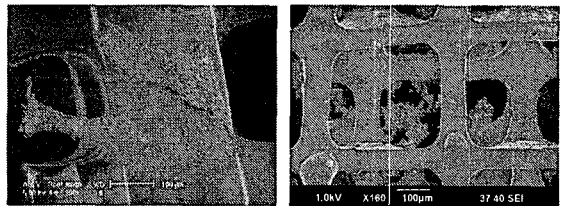


Fig. 10 SEM images of chondrocyte adhesion on a Type A scaffold 2 weeks after seeding with plasma treatment for 3 min (left) and on a Type B scaffold 1 week after seeding with no plasma treatment (right)

3.3 PPF/DEF 인공지지체

최근, 여러 종류의 생분해성 재료에 대한 개발이 진행되고 있다. 여러 재료 중 PPF {poly(propylene fumarate), 폴리 프로필렌 퓨머레이트}는 주목 받는 물질 중의 하나이며, 이 물질은 1988 년 Sanderson 에 의하여 디에틸 퓨머레이트 (diethyl fumarate)와 프로필렌 글리콜(propylene glycol) 및 촉매를 이용한 에스테르화 반응에 의하여 합성되었다¹⁶. 합성된 PPF 는 에틸 퓨머레이트 (diethyl fumarate)와 프로필렌 글리콜(propylene glycol)으로 분해되며, 이 분해된 두 물질은 생체 적합한 물질이다. 또한 합성된 PPF 는 인간의 해면골의 기계적 특성과 유사하다는 연구가 보고되었다¹⁷.

본 연구에서는 Gerhart 및 그의 연구진에 의해 연구된 방법인 응축 반응을 통하여 PPF 를 합성하였다. 합성된 PPF 의 점성은 매우 높기 때문에 마이크로 광 조형 기술을 이용하여 삼차원 구조물을 제작하기 어려운 단점이 있다. 따라서, DEF(diethyl fumarate, 디에틸 퓨머레이트)를 첨가하여 수지의 점성을 낮춤으로 이 문제를 해결하였다. 이후, 광경화 반응을 일으키기 위하여 수지에 광개시제(DMPA)를 혼합하였다. 마이크로 광 조형 장치를 이용하여 3 차원 인공지지체를 설계하고 제작하였다 (Fig. 11).

본 실험에서 사용된 세포는 연골세포(chondrocytes)로서, 먼저 인공지지체를 70%의 에탄올로 세척한 후, 에탄올과 UV 광원으로 멸균한 후 세포 배양을 실시하였다. 세포를 지지체에 식종 후 1 주일과 4 주일 뒤에 세포의 성장을 관찰하였다.

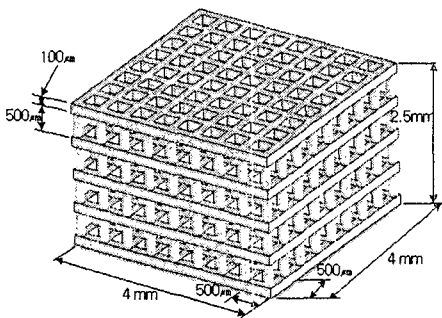


Fig. 11(a) Design of PPF/DEF scaffold

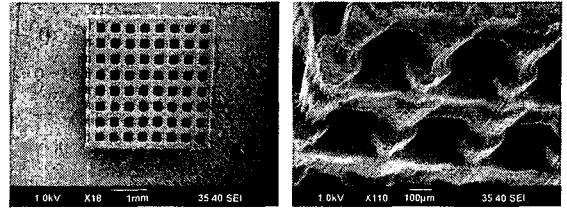


Fig. 11(b) SEM images of fabricated PPF/DEF scaffold

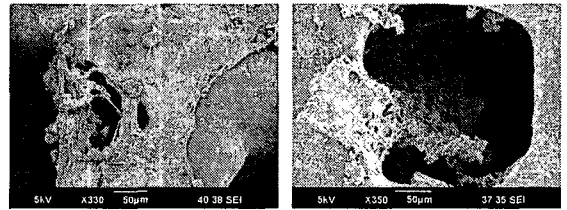


Fig. 12 SEM images of chondrocyte adhesion on PPF/DEF scaffold 1 week (left) and 4 weeks (right) after seeding

Fig. 12 의 사진에서 보듯이, 세포가 지지체에 잘 부착되어 자라고 있음을 확인하였다. 하지만, 4 주 후의 결과를 보면, 세포의 생장이 처음 1 주일에 비하여 상대적으로 크게 증가하지는 않았지만 지지체 내부로 세포가 자란 것을 확인할 수 있었다. 이러한 결과들은 제작된 인공지지체로 세포 배양이 가능함을 보여주는 것이다.

3.4 HA-나노 분말 인공지지체

조직공학은 심각한 골조직 결함을 갖고 있는 환자의 치료에도 관심을 가져왔다.¹⁸ 본 연구에서는 마이크로-광 조형 기술을 주형 기술에 적용하여 골조직 재생용 인공지지체를 개발하였다. 인공지지체의 재료로는 500nm 입자 크기의 하이드록시아파타이트(hydroxyapatite)¹⁹ 나노 분말을 이용하였다.

우선, STL 정보파일로 변환된 형상 정보를 바탕으로 마이크로 광 조형 기술을 이용하여 인공지지체 주형을 성형하였다. 그리고, 하이드록시아파타이트 나노 분말을 인공지지체 주형에 주입하고 소결 (1,100°C, 2h) 과정을 통해 주형을 제거하면 최종적으로 하이드록시아파타이트 인공지지체를 얻을 수 있다. Fig. 13 은 하이드록시아파타이트 나노 분말 인공지지체의 제조공정을 나타낸다. 인공지지체의 제조공정을 간단히 하기 위해, 규칙적인 공극의 크기와 선폴을 갖는 격자구조의 형상으로 설계하였다. 하이드록시아파타이트 인공지지체의

실제 크기는 약 4.2×4.2mm, 내부 공극의 크기는 350 μm 이고 선폭은 250 μm 이다. 소결로 (furnace)는 고분자로 된 주형을 제거하고 순수한 하이드록시아파타이트 인공지지체를 얻기 위하여 사용하였다. 소결 후 얻어진 하이드록시아파타이트 인공지지체의 최종형상은 Fig. 14 에 나타나있다.

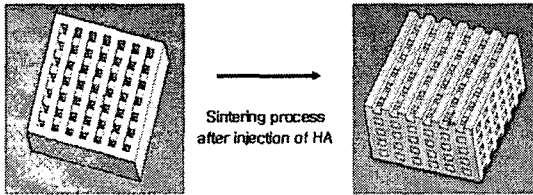


Fig. 13 HA scaffold structure after injecting HA powder

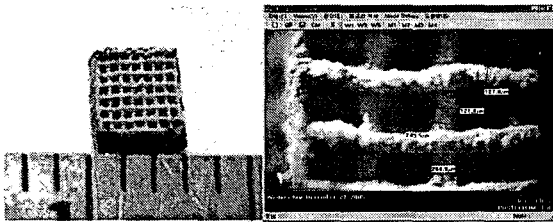


Fig. 14 Images of HA scaffold after sintering process

4. 결론

기존의 제조방법에 의해 제작된 인공지지체는 다공성 구조체가 지닌 확산의 제한 때문에 일정 두께 이상의 조직을 재생하기에는 부적합하다. 하지만 SFF 시스템은 산소와 영양분을 인공지지체 내부로 깊이 전달할 수 있도록 내부 미세구조를 조절할 수 있으므로 이러한 기존의 문제점을 해결할 수 있다. 몇몇의 시스템들은 합성 및 천연 생분해성 고분자 재료와 세라믹, 하이드로젤을 이용한 인공지지체 제조에 성공적으로 사용되고 있다. 또한 조직공학에서 손상된 조직을 보다 효과적으로 대체하기 위해서는 인공지지체의 최적설계가 필요하다. SFF 시스템은 이를 가능하게 할 잠재력을 충분히 가지고 있다고 본다.

후 기

본 연구는 국가지정연구실 사업 (Grant M10500000042) 의 지원을 받아 수행되었으며, 이에 관계자 여러분께 감사의 말씀을 드립니다.

참고문헌

1. Shalak, R. and Fox, CF., "Tissue engineering," New York, pp.26-29, 1988.
2. Langer, R. and Vacanti, JP., "Tissue engineering," Science, Vol. 260, pp.920-926, 1993.
3. Patrick, CW., Mikos, AG. and McIntrie, LV., "Frontiers in tissue engineering," Oxford, pp.3-11, 1998.
4. Wei, S., Yongnian, Y., Feng, L. and Myron, S., "Biomanufacturing: A US-China national science foundation-sponsored workshop," Tissue Engineering, Vol. 12, No.5, pp.1169-1181, 2006.
5. Hutmacher, DW., "Scaffold design and fabrication technologies for engineering tissue-state of art and future perspectives," J Biomat Sci-Polym Ed, Vol. 12, No.1, pp.107-104, 2001.
6. Pham, DT. And Dimov, SS., "Rapid Manufacturing: the Technologies and Applications of Rapid Prototyping and Rapid Tooling," London, pp.19-42, 2000.
7. Lam, CXF., Mo, XM., Teoh, SH. and Hutmacher, DW., "Scaffold development using 3D printing with a starch-based polymer," Mater. Sci. Eng. C, Vol. 20, pp.49-56, 2002.
8. Zein, I., Hutmacher, DW., Tan, KC. and Teoh, SH., "Fused deposition modeling of novel scaffold architectures for tissue engineering applications," Biomaterials, Vol. 23, pp.1169-1185, 2002.
9. Hutmacher, D. W., Schantz, T., Zein, I., Ng, K. W., Teoh, S. H. and Tan, K. C., "Mechanical properties and cell cultural response of polycaprolactone scaffolds designed and fabricated via fused deposition modeling," J. of Biomed, Mater. Res., Vol. 55, pp.203-216, 2001.
10. Woodfield, T.B.F., Malda, J. J., Wijn, de Peters, F., Riesle, J. and Blitterswijk, C.A. van, "Design of porous scaffolds for cartilage tissue engineering using a three-dimensional fiber-deposition technique," Biomaterials, Vol. 25, pp.4149-4161, 2004.
11. Malda, J., Woodfield, T.B.F., Vloodt, F., Wilsong, C., Martensc, D.E., Tramperc, J., Blitterswijk, C.A. and Rieslea, J., "The effect of PEGT/PBT scaffold

- architecture on the composition of tissue engineered cartilage,” *Biomaterials*, Vol. 26, pp.63-72, 2005.
12. Lee, I.H. and Cho, D.-W., “An Investigation on Photo-polymer Solidification Considering Laser Irradiation Energy in Micro-stereolithography,” *Microsystem Technologies*, Vol. 10, No.8-9, pp.592-598, 2004.
 13. Hollister, S.J. and Kikuchi, N., “Homogenization theory and digital imaging: A basis for studying the mechanics and design principles of bone tissue,” *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 43, pp.586-596, 2005.
 14. Fang, Z. and Wei, S., “Computer-aided characterization for effective mechanical properties of porous tissue scaffold,” *Computer-aided design*, Vol. 37, pp.65-72, 2005.
 15. Lee, S.J., Kim, B., Lee, J.S., Kim, S.W., Kim, M.S., Kim, J.S., Lim, G. and Cho, D.W., “Three-dimensional Microfabrication System for Scaffold in Tissue Engineering,” *Key Engineering Materials*, Vols. 326-328, pp.723-726, 2006.
 16. Domb, A.J., Kost, J. and Wiseman, D.M., “Handbook of Biodegradable Polymers,” Harwood Academic Publishers, 1997.
 17. Fisher, J.P., Dean, D. and Mikos, A.G., “Photocrosslinking characteristics and mechanical properties of diethyl fumarate/poly(propylene fumarate) biomaterials,” *Biomaterials*, Vol. 23, pp.4333-4343, 2002.
 18. Cooke, M.N., Fisher, J.P., Dean, D., Rimanc, C. and Mikos, A.G., “Use of stereolithography to Manufacture Critical-Sized 3D Biodegradable Scaffolds for Bone Ingrowth,” *J Biomed Mater Res Part B*, Vol. 68, pp.65-69, 2003.
 19. Chu, T.M.G., Hallogan, J.W., Hollister, S.J. and Feinberg, S.E., “Hydroxyapatite implants with designed internal architecture,” *J Mater Science: Materials in Medicine*, Vol. 12, pp.471-478, 2001.