

골 조직 재생을 위한 복합 공극 패턴을 가진 ZrO₂/BCP/PCL 인공지지체의 실험적 평가[§]

사민우* · 심해리* · 김종영*[†]

* 안동대학교 기계공학과

Experimental Research of ZrO₂/BCP/PCL Scaffold with Complex Pore Pattern for Bone Tissue Regeneration

Min-Woo Sa*, Hae-Ri Shim* and Jong Young Kim*[†]

* Dept. of Mechanical Engineering, Andong Nat'l Univ.

(Received June 25, 2015 ; Revised July 20, 2015 ; Accepted July 23, 2015)

Key Words: Polymer Deposition System(폴리머 적층 시스템), Complex Pore Pattern(복합 공극 패턴), ZrO₂/BCP/PCL(지르코니아/이상인산칼슘/폴리카프로락톤), Scaffold(인공지지체)

초록: 최근 조직 공학 분야에서는 폴리카프로락톤(PCL), 수산화인회석, 삼인산칼슘, 이상인산칼슘(BCP), 지르코니아(Zirconia, ZrO₂) 와 같은 합성 생체폴리머와 생체세라믹 등은 다양한 생체 조직 또는 장기를 재생하는데 필요한 대체재로 사용되고 있다. 따라서, 본 연구의 목적은 골 조직 재생을 위한 혼합된 ZrO₂/BCP/PCL(ZBP) 인공지지체의 특성을 관찰하기 위함이다. 단선 패터닝 실험의 결과를 토대로 내부연결성 있는 공극을 가지고 45°+135° 타입과 격자타입의 새로운 복합 공극 패턴을 가지는 혼합된 ZBP 인공지지체는 폴리머 적층시스템에 의해 성공적으로 제작되었다. 뿐만 아니라 기계적 특성에 대한 ZBP 인공지지체의 효과를 분석하였다. 게다가 MG63 세포에 대한 ZBP 인공지지체의 세포 상호작용은 CCK-8 분석을 이용함으로써 평가되었다.

Abstract: Recently, synthetic biopolymers and bioceramics such as poly (ϵ -caprolactone)(PCL), hydroxyapatite, tricalcium phosphate, biphasic calcium phosphate(BCP), and zirconia have been used as substrates to generate various tissues or organs in tissue engineering. Thus, the purpose of this study was the characterization of ZrO₂/BCP/PCL(ZBP) scaffold for bone tissue regeneration. Based on the result of single-line test, blended 3D ZBP scaffolds with fully interconnected pores and new complex pore pattern of 45°+135°-type and staggered-type were successfully fabricated using a polymer deposition system. Furthermore, the effect of ZBP scaffold on mechanical property was analyzed. In addition, in vitro cell interaction of ZBP scaffold on MG63 cells was evaluated using a cell counting kit-8(CCK-8) assay.

1. 서 론

조직공학(tissue engineering)은 손상된 조직의 기능을 복원하고 대체하고자 생체 적합한 인공지지체(scaffold)를 제작하여 이식함으로써 정상적인 생

체 기능으로 가능하게 하기 위한 다 학제간의 연구를 필요로 하고 있다.^(1,2) 이때 인공지지체의 재료 및 형상은 골 조직 재생에 있어 세포 배양 및 조직 재생 동안에 적절한 기계적 강도를 유지하고 세포의 성장에 중요한 역할을 하고 있다.⁽³⁾ 생체 재료로서 폴리카프로락톤(polycaprolactone, PCL) 폴리머는 열을 가하면 쉽고 빠르게 3 차원 구조물로 제작할 수 있고, 생체 적합성(biocompatibility)과 생분해성(biodegradability) 특성을 지니고 있기 때문

§ 이 논문은 2015년도 대한기계학회 대구경북지회 춘계학술대회(2015. 5. 15., 금오공대) 발표논문임

† Corresponding Author, jykim@anu.ac.kr

© 2015 The Korean Society of Mechanical Engineers

에 골 조직 재생에 주로 이용되고 있다.⁽⁴⁾ 그러나 PCL 은 소수성 표면으로 인해 세포 부착의 어려움이 있고 표면이 매우 매끄러운 특성이 있다. 이런 이유로 골전도성(osteoconductivity)과 골유도성(osteoinductivity)을 증대시키기 위해 골 조직 공학에서는 PCL 에 생체세라믹(bioceramic)을 혼합하여 사용하는 연구가 자주 진행되고 있다. 이러한 PCL 과 생체세라믹의 혼합을 통하여 생체세라믹의 취성과 PCL 의 소수성 특성을 극복할 수 있다고 보고되었다.⁽³⁾ 이전 연구 문헌을 보면, PCL/ β -tricalcium phosphate (β -TCP)^(4,5)와 PCL/hydroxyapatite (HA)^(6,7) 인공지지체를 제작해왔었고, 단일 PCL 보다 좋은 기계적 특성과 세포 증식 특성을 보였다.

β -TCP 는 생체흡수성 재료로서 생체 내에서 용해되어 흡수되는 데 그 분해되는 속도가 매우 빠르다. 그러나 HA 는 용해도가 매우 낮아서 2 가지 재료를 혼합하여 사용하는 이상인산칼슘(biphasic calcium phosphate, BCP) 재료가 정형외과 및 골 조직공학 분야에서 이용되고 있다.⁽⁸⁻¹¹⁾ 이상인산칼슘은 복합재료의 충전 재료로 사용이 되고 있으며, 오랜 시간 동안 뼈가 안정적으로 채워지도록 하는 특성을 잘 지닌 것으로 알려져 있다. 따라서 본 연구에서는 PCL 과 BCP 를 혼합하고자 하였고, 2 가지 재료가 생체 내에서 분해되고 난 후에도 골 조직 재생에 효과적인 특성을 가지도록 지르코니아(Zirconia, ZrO_2)를 추가하여 인공지지체를 제작하는 연구를 수행하였다. ZrO_2 는 지르콘(Zircon)의 화학적 치환으로부터 얻는 무기질 침전물로 용융점이 높고 화학적 안정하다.⁽¹²⁾ 그러므로, ZrO_2 는 생체 안정성과 생체친화성을 가지고 있다. 이로 인해 생체 적합성 평가와 세포 증식 능력이 뛰어나는 것으로 기대한다. 본 연구를 위해 사용된 자유형상 제작(solid free-form fabrication, SFF) 기술 기반 폴리머 적층 시스템(polymer deposition system, PDS)은 4 축 적층 헤드를 이용하여 골 조직 재생을 위한 다양한 인공지지체를 제작할 수 있다.^(13,14) 본 연구에서는 폴리머 적층 시스템을 이용하여 혼합된 ZrO_2 /BCP/PCL(ZBP) 인공지지체를 제작하였다. 인공지지체의 공극 구조는 $45^\circ+135^\circ$ 와 서로 엇갈리게 구조화(staggered type)한 것을 층층이 번갈아가며 쌓아 올렸다. Staggered type 의 패턴은 세포의 유실을 막고 세포의 증식에 유익하며, $45^\circ+135^\circ$ 패턴은 압축강도에 있어 효과적이라고 보고된 바가 있다.^(7,15) MG63 골 세포를 이용하여 제작된 ZBP 인공지지체의 세포 증식 평가를 수행하였고, 또한 골 조직 재생에 적합성을 판단하기 위해 ZBP 인

공지지체의 기계적 특성을 평가하였다.

2. 인공지지체 모델 및 제작

2.1 재료

PCL 은 Sigma-aldrich(MO, USA)로부터 구입되었다. BCP 는 60 % HA 와 40 % β -TCP 가 합성된 것으로서 오스젠(Dae-gu, Korea)으로부터 구입되었다. 평균 입자의 크기는 $\sim 45 \mu\text{m}$ 이다. ZrO_2 는 Sigma-aldrich(MO, USA)로부터 구입되었다. 평균 입자의 크기는 $\sim 100 \text{nm}$ 이다.

2.2 인공지지체 형상

AutoCAD 소프트웨어를 이용하여 공극 패턴을 디자인하고 Pro/Engineer 를 이용하여 3D 인공지지체를 모델링 하였다(Fig. 1). 1~4 층은 $45^\circ+135^\circ$ 구조로 공극 크기는 $200 \mu\text{m}$, 선 폭은 $320 \mu\text{m}$ 로 설계되었다. 5~8 층과 9~12 층은 격자 구조와 서로 엇갈리게 구조화한 패턴으로 공극 크기는 $600 \mu\text{m}$, 선 폭은 $320 \mu\text{m}$ 로 모두 설계되었다. 모든 층의 높이는 $250 \mu\text{m}$ 로 설계되었다.

2.3 인공지지체 제작 준비

인공지지체를 제작하기 위한 준비 과정은 Fig. 2 에서 보여주고 있다. 혼합된 ZrO_2 (5 wt%)/BCP(5 wt

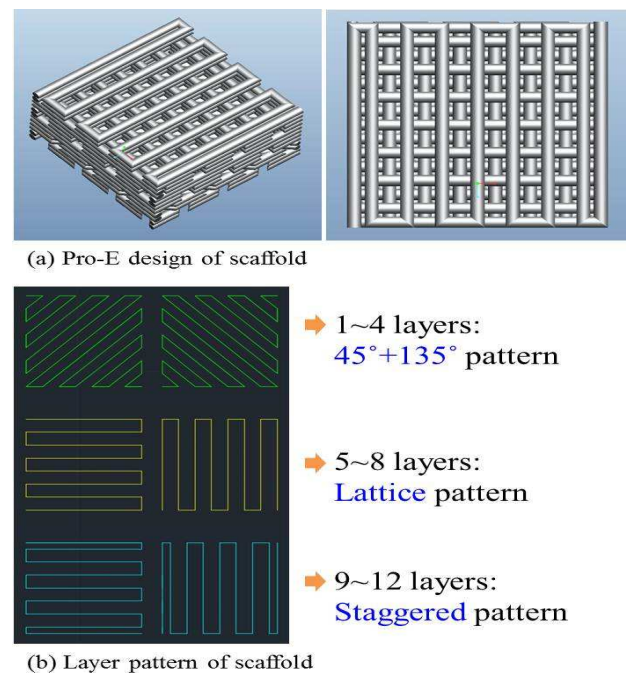


Fig. 1 Images of (a) Pro-E design and (b) layer pattern for scaffold fabrication

)/PCL(90 wt%) 인공지지체를 제작하기 위해 살레 위에 5 wt%의 ZrO₂ 와 5 wt%의 BCP 그리고 90 wt%의 PCL 를 넣고 100°C 의 핫플레이트에서 골 고루 혼합을 하였다. 비교를 위해 ZrO₂ (10 wt%)/PCL(90 wt%) (ZP)와 BCP(10 wt%)/PCL(90 wt%) (BP) 혼합 재료도 준비되었다. 준비된 재료를 10 cc 스틸 시린지에 넣고 350 μm 의 내경 사이즈를 가지는 스틸 노즐을 통해 토출하였다. 이때, 재료의 토출을 위해 사용된 온도는 100°C 이고, 공압은 600 kPa 이었다.

3. 인공지지체 특성

3.1 표면 및 형상 관찰

제작된 인공지지체의 표면 및 형상을 관찰하기 위해 스퍼터링 장치를 통해 Au 코팅을 수행하였다. 그리고 나서 20 kV 의 가속 전압으로 주사전자현미경(scanning electron microscopy, Tescan VEGA II LMU, Czech)을 이용하여 인공지지체를 관찰하였다.

3.2 기계적 특성 실험

인공지지체의 압축 강도 및 압축 탄성계수를 확인하기 위해 압축 시험기(JSV-H1000, JISC, Japan)를 이용하였다. 시험기의 하중 속도는 1 mm/min 으로 설정되었다. 기계적 특성 실험을 위해 사용된 인공지지체의 크기는 6.0 × 6.0 × 3.0 mm³이다. 평균 값을 구하기 위해 인공지지체를 각각 4 개씩 준비하였다. 압축 강도와 압축 탄성계수는 인공지지체의 압축 실험을 수행한 후에 얻어 낸 응력-변형률 곡선을 이용하여 계산하였다.

3.3 세포 증식 실험

제작된 인공지지체의 세포 증식 평가를 위해 human osteosarcoma(MG63) cell line 세포가 준비되었다. 세포 배양액은 DMEM (D-minimum essential medium/high glucose, Hyclone, Logan, UT, USA)에 10% 우태혈청 (Fetal bovin serum, Gibco, Rockville, MD, USA)과 1% 항생제 (Penicillin streptomycin, Sigma-aldrich, St. Louis, USA)를 넣어 사용하였다. 질소 용액에서 보관되어 있는 세포를 100 pi well plate 에서 4 일 동안 37°C, 5% CO₂ 인큐베이터 환경에서 배양하였다. 세포 배양액은 pH 조절을 위해 2 일에 한 번씩 교체되었다. 4 일 동안 충분히 배양된 세포는 0.25% Trypsin-EDTA solution(Gibco, Rockville, MD, USA)을 사용하여 떼어내고 세포의

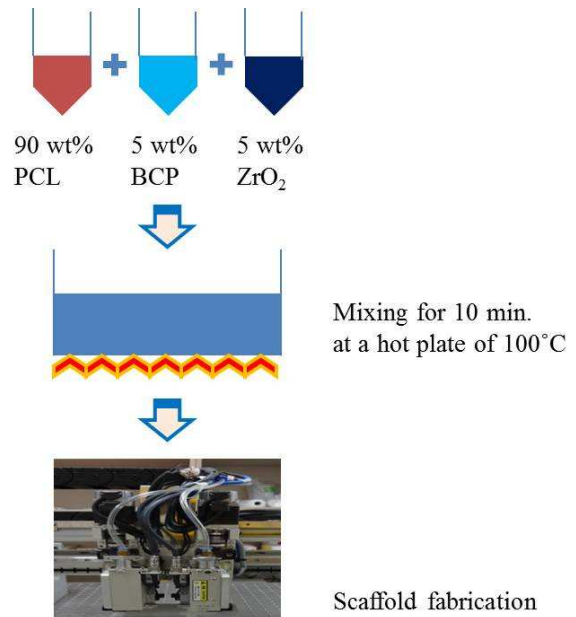


Fig. 2 Schematic diagram of material preparation for ZrO₂(5 wt%)/BCP(5 wt%)/PCL(90 wt%) scaffold fabrication

수는 0.4% trypan blue stain(Gibco, Rockville, MD, USA)으로 염색한 후에 hemacrometer 를 사용하여 계산되었고 샘플마다 5 × 10⁴ 세포를 파종하였다.

세포를 파종하기 위해 우선적으로 인공지지체는 70% 에탄올에 넣은 다음 자외선 살균되었다. 그리고 PBS 에서 2 회 세척되었고 세포 배양액에서 2 시간 pre-wetting 시켜 주었다. 1, 4, 7, 14 일에 CCK-8 용액을 세포 배양액과 1:10 으로 혼합하고 4 시간 후 450 nm 에서 Microreader(UVM340, Elisa, USA)를 이용하여 흡광도를 측정하였고 세포의 증식 특성을 확인하였다.

4. 결과 및 토론

4.1 인공지지체의 제작 및 공극 구조

제작된 ZBP 인공지지체의 형상 및 공극 패턴은 SEM 사진을 통해 확인되었다(Fig. 3). ZBP 인공지지체의 형상 크기는 6.0 × 6.0 × 3.0 mm³, 선 폭은 320 μm, 그리고 공극은 500 μm (staggered type) 과 200 μm (45° + 135° type)로 측정되었다. 인공지지체를 위에서 봤을 때 바닥 면이 보이지 않게 매우 촘촘하게 제작이 잘 되었다는 것을 확인할 수 있었다. 인공지지체의 공극 크기는 통상적으로 100~350 μm 로 제작되었을 때 세포 증식 및 분화 그리고 골 형성이 잘 된다는 연구 결과가 보고되었다.⁽¹⁶⁾ 그래서 본 연구에서도 그 부분을 중요시

하여 인공지지체의 45°+135° type 을 200 μm 로 제작하였다. 제작된 인공지지체의 표면에 ZrO₂ 와 BCP 가 잘 혼합되어 있는지 확인하였다. EDS 분석 방법을 통해 Zr, Ca, P 성분이 모두 골고루 혼합되어 있는 것을 관찰하였다(Fig. 4). ZBP 인공지지체의 표면은 거칠게 나타났다. 또한 복합 공극 패턴을 제작하였기에 세포의 부착에 도움이 될 것으로 사료되었으며, 세포의 유실을 막는 것에 큰 역할을 했을 것으로 판단되었다. PCL 폴리머에 더 많은 생체세라믹 재료를 혼합하면 세포 증식에 있어 더욱 효과적일 수 있지만 파우더의 양이 많아지면 오히려 압축 강도가 낮아지는 연구 결과가 있어 10%내에서 연구가 이루어졌다.⁽⁵⁾

본 연구에서는 3 차원 인공지지체를 제작하는 방법에 있어 SFF 기술 기반의 PDS 를 이용하였다. 기존의 전통적인 인공지지체 제작법인 가스 발포법,⁽¹⁷⁾ 염 침출법,⁽¹⁸⁾ 스폰지 복제법⁽¹⁹⁾ 등은 제작 시간이 길고 내/외부 형상을 자유롭게 가공하기 힘든 점이 있으며 또한 기계적 강도가 낮은 단점이 있다. 그래서 조직공학 분야에서는 첨가 가공 기술인 열 용해 적층법,⁽²⁰⁾ 레이저 소결법,⁽²¹⁾ 광조형법⁽²²⁾ 등을 이용하여 3 차원 인공지지체를 자유자 재료 제작하는 연구가 활발히 이루어지고 있다.

Table 1 Comparison data of compressive strength and modulus on ZP, BP, and ZBP scaffolds (unit: MPa)

	ZP scaffold	BP scaffold	ZBP scaffold
Compressive Strength	2.3 ± 0.8	3.2 ± 0.6	2.9 ± 0.2
Compressive Modulus	10 ± 2.1	12.7 ± 0.3	11.4 ± 0.3

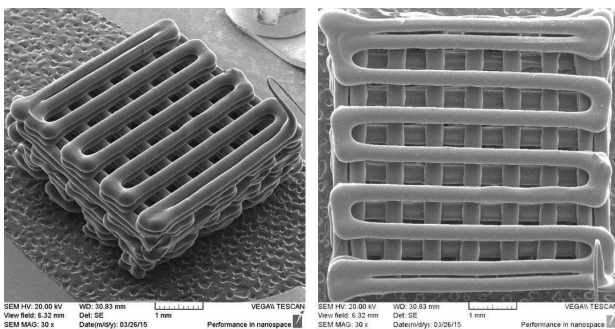


Fig. 3 SEM images of the fabricated ZrO₂(5 wt%)/BCP(5 wt%)/PCL(90 wt%) scaffold

이와 같은 기술은 생체적합성 폴리머와 생분해성 생체세라믹 재료를 혼합하여 빠르고 정밀하게 3 차원 인공지지체를 제작할 수 있는 장점을 가졌다.

4.2 인공지지체의 기계적 특성 평가

ZP, BP, 그리고 ZBP 인공지지체들의 압축 평가에 대한 결과는 Fig. 5 과 Table 1 에서 보여주고 있다. ZP 인공지지체의 압축 강도와 압축 탄성계수는 각각 2.3 ± 0.8 MPa 과 10.0 ± 2.1 MPa 로 확인되었다. 그러나, BP 인공지지체의 압축 강도와 압축 탄성계수는 각각 3.2 ± 0.6 MPa 과 12.7 ± 0.3 MPa 로 확인되었으며, BP 인공지지체가 평균적으로 볼 때 1.1 MPa 더 높은 것을 확인할 수 있었다. ZrO₂ 와 BCP 세라믹 모두 같은 정량으로 혼합되었지만 BCP 세라믹이 PCL 폴리머와 더욱 잘 혼합이 이루어지는 것으로 판단되었다. ZBP 인공지지체의 압축 강도와 압축 탄성계수는 각각 2.9 ± 0.2 MPa 과 11.4 ± 0.3 MPa 로 확인되었고, ZP 인공지지체와 BP 인공지지체의 사이에 있는 결과값을 얻었다. ZrO₂ 와 BCP 세라믹이 PCL 폴리머와 혼합되면서 ZP 인공지지체보다는 압축 강도가 높게 나타났으며 BP 인공지지체보다는 다소 낮은 결과를 나타내었다. 실제 인체 뼈의 압축 강도는

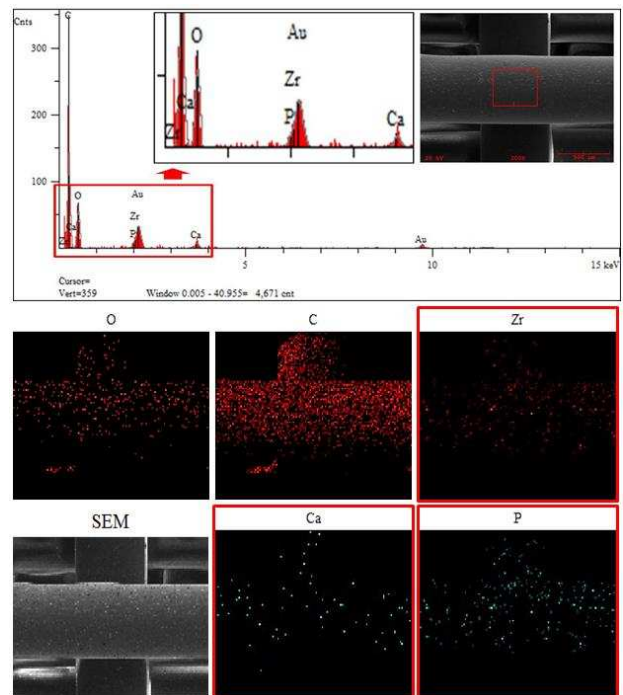


Fig. 4 SEM/EDS analysis images of the fabricated ZrO₂(5 wt%)/BCP(5 wt%)/PCL(90 wt%) scaffold (Detection of Zr, Ca, and P ions using EDS mapping images.)

2~12 MPa 로 보고 되고 있다.^(23,24) 결국, 본 연구에서 제작된 ZP, BP, ZBP 인공지지체의 압축 강도는 모두 골 조직 재생에 적합한 것으로 보였다.

그러나, In-vitro 가 진행될수록 BP 인공지지체는 BCP 속의 β -TCP 성분에 의해 분해되어 인공지지체의 압축 강도가 떨어질 수 있다. 따라서 ZBP 인공지지체는 in-vitro 에서의 시간이 지나면 지날수록 ZrO_2 로 인해 압축 강도가 계속해서 유지될 것이며 세포 증식과 신생 골의 생성에도 지속적으로 관여하여 효과적인 특성을 나타낼 것이라고 판단되었다.

4.3 인공지지체의 세포 증식 평가

생체적합성 평가에서, 14 일 동안의 인공지지체

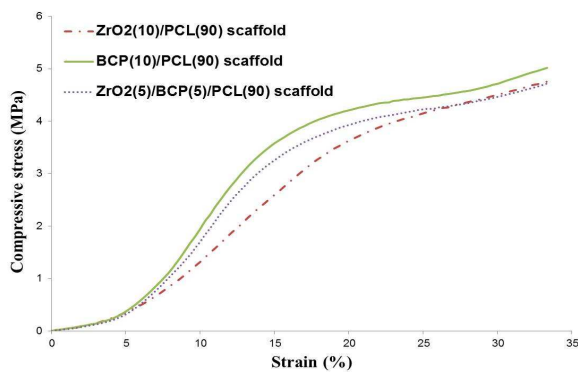


Fig. 5 stress-strain results of the fabricated scaffolds

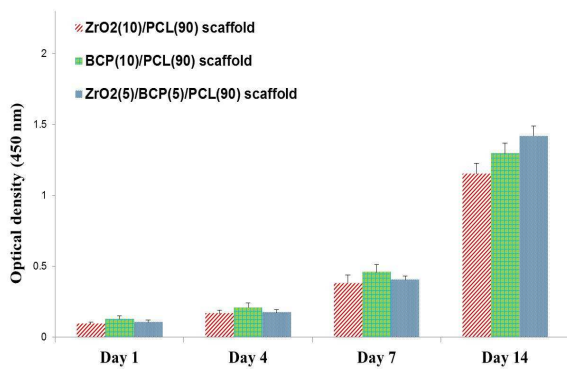


Fig. 6 Cell proliferation result of the fabricated scaffolds

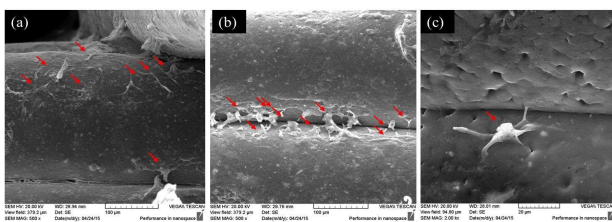


Fig. 7 SEM images of cells attached on the ZBP scaffold (a: attached cells on upper surface; b: attached cells on layer surface; c: proliferating cell)

상에 배양된 MG63 세포의 증식 결과를 확인하기 위해 CCK-8 분석을 수행하였다. 세포 증식에 대한 결과는 1, 4, 7 그리고 14 일차에 동일한 실험방법으로 각각 평가되었다.

Fig. 6 은 ZP, BP, 그리고 ZBP 인공지지체들의 세포 증식 결과를 보여준다. 7 일차까지 모든 인공지지체의 세포 증식 결과는 비슷하게 나타났고, 1, 4, 7 일차로 기간이 지날수록 세포 증식이 계속해서 진행되는 것을 확인하였다. 14 일차에서, ZBP 인공지지체가 ZP 와 BP 인공지지체들보다 평균적으로 높은 세포 증식 값을 보였지만 큰 차이를 보이지는 않았다. ZrO_2 는 생체불활성 바이오세라믹 재료로 생체친화성이 뛰어나다고 보고 되었다. 세포가 부착된 ZBP 인공지지체에서 혼합되어 있는 BCP 와 ZrO_2 가 표면 밖으로 드러나고 그로 인해 세포 증식이 더욱 활발히 이루어지는 것으로 사료되었다.

Fig. 7 은 ZBP 인공지지체상에 세포가 증식한 후에 MG63 세포가 부착된 SEM 사진을 보여주고 있다. 부착된 세포를 관찰하기 위해 인공지지체의 단면을 잘라서 확인하였다. 증식된 MG63 세포는 14 일 동안 ZBP 인공지지체 상에 그 일부 표면을 덮은 세포들끼리 서로 접촉하고 있는 상태의 융합성(confluent)을 띄고 있었다. Figs. 7(a) and (b)의 SEM 사진을 통해 살펴보면, 세포가 ZBP 인공지지체의 선과 선 사이에 겹쳐지는 부분이나 표면이 거친 곳에 잘 부착되어 증식하는 것을 알 수 있었다. 또한 Fig. 7(c)에서 보면, 세포가 증식하면서 세포 핵 주변으로 길게 뻗어나는 발과 같이 나타나는 사상위족(filopodium)이 형성되어 있는 것을 확인할 수 있었다.

5. 결론

복합 공극 패턴을 가진 생체폴리머와 생체세라믹 재료가 혼합된 ZP, BP, 그리고 ZBP 인공지지체는 SFF 기반 PDS 에 의해 성공적으로 제작되었다. 이와 같은 방법으로 제작된 인공지지체는 전통적인 인공지지체 제작에 방식에 비해 쉽고 빠르며 그리고 정밀하게 인공지지체를 제작할 수 있는 장점을 가지고 있다. 따라서 골 조직 재생 시장에 발 빠르게 대처할 수 있을 것으로 예상된다. 생체폴리머인 PCL 에 BCP, ZrO_2 와 같은 생체세라믹을 넣은 것은 이번 연구에서 처음 시도되었고, 골 조직 재생에 있어 생체적합성과 압축 강도에서 좋은 효과가 있는 것으로 평가되었다. ZBP 인공지지체의 압축 강도는 2.9 ± 0.2 MPa 로서 실제 인체

의 해면골에 적합한 것으로 판단되었고, 생체 적합성 평가는 MG63 세포를 이용한 CCK-8 결과를 통해 ZBP 인공지지체가 ZP 와 BP 인공지지체에 비해 세포 증식이 좋은 것으로 평가되었다. 앞으로 생체폴리머와 생체세라믹 등으로 혼합된 인공지지체의 제작 및 평가에 대한 연구가 더욱 활발히 이루어질 것으로 예상된다.

후 기

이 논문은 2014 학년도 안동대학교 국제학술교류보조금에 의하여 연구되었음.

참고문헌 (References)

- (1) Wang, H. J. and van Blitterswijk, C. A., 2010, "The Role of Three-Dimensional Polymeric Scaffold Configuration on the Uniformity of Connective Tissue Formation by Adipose Stromal Cells," *BioMaterials*, Vol. 31, pp. 4322~4329.
- (2) Thavornyutikarn, B., Chantarapanich, N., Sitthiseripratip, K., Thouas, G. and Chen, Q., 2014, "Bone Tissue Engineering Scaffolding: Computer-Aided Scaffolding Techniques," *Prog. Biomater.*, Vol. 3, No. 26, pp. 1~42.
- (3) Lu, L., Zhang, Q., Wootton, D., Chiou, R., Li, D., Lu, B., Lelkes, P. and Zhou, J., 2012, "Biocompatibility and Biodegradation Studies of PCL/TCP Bone Tissue Scaffold Fabricated by Structural Porogen Method," *J. Mater. Sci: Mater. Med.*, Vol. 23, pp. 2217~2226.
- (4) Shor, L., Güçeri, S., Chang, R., Gordon, J., Kang, Q., Hartsock, L., An, Y. and Sun, W., 2009, "Precision Extruding Deposition (PED) Fabrication of Polycaprolactone (PCL) Scaffold for Bone Tissue Engineering," *Biofabrication*, 015003.
- (5) Ha, S. W. and Kim, J. Y., 2014, "Fabrication of Blended PCL/TCP Scaffolds by Mixture Ratio of TCP Using Polymer Deposition System," *J. Korean Soc. Precis. Eng.*, Vol. 31, No. 9, pp. 791~797.
- (6) Heo, S. J., Kim, S. E., Wei, J., Hyun, Y. T., Yun, H. S., Kim, D. H., Shin, J. W. and Shin, J. W., 2009, "Fabrication and Characterization of Novel Nano- and Micro-HA/PCL Composite Scaffolds Using a Modified Rapid Prototyping Process," *J. Biomed Mater. Res. Part A*, Vol. 89A, pp. 108~116.
- (7) Park, S. A., Lee, S. H. and Kim, W. D., 2011, "Fabrication of Porous Polycaprolactone/Hydroxyapatite (PCL/HA) Blend Scaffolds Using a 3D Plotting System for Bone Tissue Engineering," *Bioprocess. Eng.*, Vol. 34, No. 4, pp. 505~513.
- (8) Kwak, K. A., Jyoti, A. and Song, H. Y., 2014, "In Vitro and in Vivo Studies of Three Dimensional Porous Composites of Biphasic Calcium Phosphate/poly Caprolactone: Effect of Bio-Functionalization for Bone Tissue Engineering," *Applied Surface Science*, Vol. 301, pp. 307~314.
- (9) Kim, D. H., Kim, K. L., Chun, H. H., Kim, T. W., Park, H. C. and Yoon S. Y., 2014, "In vitro Biodegradable and Mechanical Performance of Biphasic Calcium Phosphate Porous Scaffolds with Unidirectional Macro-Pore Structure," *Ceram. Int.*, Vol. 40, pp. 8293~8300.
- (10) Gao, C., Yang, B., Hu, H., Liu, J., Shuai, C. and Peng, S., 2013, "Enhanced Sintering Ability of Biphasic Calcium Phosphate by Polymers Used for Bone Scaffold Fabrication," *Mater. Sci. Eng., C*, Vol. 33, pp. 3802~3810.
- (11) Descamps, M., Biolet, L., Moreau, G., Tricoteaux, A., Lu, J., Leriche, A., Lardot, V. and Cambier, F., 2013, "Processing and Properties of Biphasic Calcium Phosphates Bioceramics Obtained by Pressureless sintering and hot isostatic pressing," *J. Eur. Ceram. Soc.*, Vol. 33, pp. 1263~1270.
- (12) Jung, G. I., Kim, J. S., Choi, J. H. and Jun, J. H., 2010, "The Trend and Prospect of Biomaterials in the Biomedical Engineering Field," *KIC News*, Vol. 13, No. 6, pp. 18~31.
- (13) Sa, M. W. and Kim, J. Y., 2013, "Effect of various blending ratios on the cell characteristics of PCL and PLGA scaffolds fabricated by polymer deposition System," *Int. J. Prec. Eng. Manuf.*, Vol. 14, No. 4, pp. 649~655.
- (14) Sa, M. W. and Kim, J. Y., 2013, "Design of Multi-Scaffold Fabrication System for Various 3D Scaffolds," *J. Mech. Sci. Tech.*, Vol. 27, No. 10, pp. 2961~2966.
- (15) Lee, J. S., Cha, H. D., Shim, J. H., Jung, J. W., Kim, J. Y. and Cho, D. W., 2012, "Effect of Pore Architecture and Stacking Direction on Mechanical Properties of Solid Freeform Fabrication-Based Scaffold for Bone Tissue Engineering," *J. Biomed. Mater. Res. Part A*, Vol. 100A, pp. 1846~1853.
- (16) Kim, K. B., Yeatts, A., Dean, D. and J. P. Fisher, 2010, "Stereolithographic Bone Scaffold Design Parameters: Osteogenic Differentiation and Signal Expression," *Tissue Eng. B*, Vol. 16, pp. 523~539.
- (17) Kim, H. J., Park, I. K., Kim, J. H., Cho, C. S. and Kim, M. S., 2012, "Gas Foaming Fabrication of Porous Biphasic Calcium Phosphate for Bone Regeneration," *Tissue Eng. Regen. Med.*, Vol. 9, No. 2, pp. 63~68.
- (18) Guo, H., Su, J., Wei, J., Kong, H., Liu, C., 2009, "Biocompatibility and Osteogenicity of Degradable Ca-Deficient Hydroxyapatite Scaffolds from Calcium

- Phosphate Cement for Bone Tissue Engineering,” *Acta Biomater.*, Vol. 5, No. 1, pp. 268~278.
- (19) Tripathi, G. and Basu, B., 2012, “A porous Hydroxyapatite Scaffold for Bone Tissue Engineering: Physico-Mechanical and Biological Evaluations,” *Ceramics Inter.*, Vol. 38, No. 1, pp. 341~349.
- (20) Shim, J. H., Moon, T. S., Yun, M. J., Jeon, Y. C., Jeong C. M., Cho, D. W. and Huh, J. B., 2012, “Stimulation of Healing Within a Rabbit Calvarial Defect by a PCL/PLGA Scaffold Blended with TCP Using Solid Freeform Fabrication Technology,” *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, Vol. 23, No. 12, p. 2993~3002.
- (21) Shuai, C., Gao, C. and Nie, Y., Hu, H., Zhou, Y. and Peng, S., 2011, “Structure and Properties of Nano-Hydroxyapatite Scaffolds for Bone Tissue Engineering with a Selective Laser Sintering System,” *Nanotechnol.*, Vol. 22, No. 28, 285703.
- (22) Seol, Y. J., Park, D. Y., Park, J. Y., Kim, S. W., Park, S. J. and Cho, D. W., 2013, “A New Method of Fabricating Robust Freeform 3D Ceramic Scaffolds for Bone Tissue Regeneration,” *Biotechnol. Bioeng.*, Vol. 110, No. 5, pp. 1444~1455.
- (23) Tripathi, G. and Basu, B., 2012, “A Porous Hydroxyapatite Scaffold for Bone Tissue Engineering Physic-Mechanical and Biological Evaluations,” *Ceram. Inter.*, Vol. 38, pp. 341~349.
- (24) Vorndran, E., Klarner, M., Klammert, U., Grover, L. M., Patel, S., Barralet, J. E. and Gbureck, U., 2008, “3D Powder Printing of β -Tricalcium Phosphate Ceramics Using Different Strategies,” *Adv. Eng. Mater.*, Vol. 10, pp. 67~71.