

# 光学相干层析成像技术用于三维生物打印水凝胶 支架结构的定量评价研究

王 玲 涂 沛 石 然 徐 铭 恩

杭州电子科技大学生命信息与仪器工程学院, 浙江 杭州 310018

**摘要** 三维生物打印水凝胶支架内部结构的无损检测分析,对组织工程支架设计制造和生物功能实现具有重要意义。提出用扫频光学相干层析成像技术(SS-OCT)对三维生物打印的水凝胶支架进行无损成像和定量分析。设计和打印了4种代表性结构的三维水凝胶支架。用高分辨SS-OCT成像系统重建并揭示了支架内部三维结构,识别出打印支架与设计结构的差异以及孔融合、孔变形、通道堵塞等打印缺陷。基于阈值分割和形态操作的自动分析算法,定量表征了支架的孔隙大小及分布、实体支撑尺寸、孔隙率和三维连通性等结构参数。研究证明,OCT技术可以为三维生物打印水凝胶支架的优化设计、过程控制、功能分析提供有力工具。

**关键词** 生物光学; 光学相干层析成像; 三维生物打印; 水凝胶支架; 定量表征

**中图分类号** TN247      **文献标识码** A

**doi:** 10.3788/CJL201542.0804003

## Quantitative Evaluation of Three-Dimensional Bio-Printed Hydrogel Scaffolds by Optical Coherence Tomography

Wang Ling Tu Pei Shi Ran Xu Ming'en

*College of Life Information Science and Instrument Engineering, Hangzhou Dianzi University,  
Hangzhou, Zhejiang 310018, China*

**Abstract** Nondestructive investigation and analysis of the internal structure of three-dimensional (3D) bio-printed hydrogel scaffolds is very important for the design, fabrication, and biological functions of engineered tissue scaffolds. Swept-source optical coherence tomography (SS-OCT) is applied to nondestructive imaging and quantitative analysis of 3D bio-printed hydrogel scaffolds. 3D bio-printing technique is used to produce four representative designed geometries of hydrogel scaffolds. High-resolution SS-OCT visualizes the three-dimensional internal structure of the scaffolds, identifies the difference between the designed model and as-produced construction, and detects the printed defects such as fused pores, deformation of pores, breakages of flow channels. The automatic imaging analysis algorithms are developed to quantitatively characterize the pore size (PS) and its distribution, strut size (StS), volume porosity (VP), and pore interconnectivity (PC). It concludes that OCT may be a key tool for the design optimization, process refinement, function realization of 3D bio-printed hydrogel scaffolds.

**Key words** biotechnology; optical coherence tomography; three-dimensional bio-printing; hydrogel scaffolds; quantitative characterization

**OCIS codes** 170.3880; 170.4500; 170.3130

### 1 引 言

设计和制造满足再生医学性能要求的支架一直是组织工程研究的重点。三维生物打印技术可以无毒且方便地按照预先设计的几何结构制备出完全连通的三维结构,已成为制造可以进行细胞接种或细胞封装

收稿日期: 2015-02-28; 收到修改稿日期: 2015-04-18

基金项目: 国家自然科学基金(61108083,81371695)

作者简介: 王 玲(1980—),女,博士,副教授,主要从事生物医学光学成像方面的研究。E-mail: lingw@hdu.edu.cn

的生物支架的良好工具<sup>[1]</sup>。水凝胶具有良好的生物相容性、可降解性、亲水性以及包裹细胞的强大能力,这使得水凝胶被广泛应用于构建组织工程支架<sup>[2-3]</sup>。水凝胶和三维生物打印技术的结合为开发可细胞接种/封装的组织工程支架提供了一种设计关联的可控解决方案。但水凝胶成分复杂、力学性能差,要三维打印出与设计结构一致的支架尚有许多问题需要解决。支架的力学性能主要由支架的孔形、孔径、孔隙率及连通性等结构参数决定,支架的内部结构特征直接影响着细胞的增殖和分化功能<sup>[4]</sup>。因此,无损深入支架内部进行高分辨成像对支架制造和功能分析具有重要意义。

为避免破坏性的切片检查,多种成像技术被用来检测组织工程支架和组织<sup>[5-9]</sup>。如应用显微计算层析术对骨组织工程支架成像<sup>[6]</sup>。磁共振成像(MRI)技术用于检测组织工程支架移植前的结构和成分,并监测间充质干细胞分化形成组织<sup>[7]</sup>。超声弹性成像可用于描述大块工程组织内的弹性粒子分布<sup>[8]</sup>。但是,这些成像技术用于水凝胶支架成像仍然存在问题。水凝胶的高含水量特点导致显微计算层析术对水凝胶成像时对比度过低,且X射线的高离子性可能损伤细胞。MRI和超声弹性成像的分辨率有限。此外,共焦显微术、多光子显微术(MPM)等光学成像方法也可用于对组织工程支架成像<sup>[9]</sup>,其分辨率高,可以达到亚微米级,缺点在于成像深度有限,如共焦显微术对高散射样品的成像深度大约为100  $\mu\text{m}$ ,MPM的穿透深度也限制在400~500  $\mu\text{m}$ 。光学相干层析成像<sup>[10]</sup>(OCT)是近年来迅速发展起来的实时无损微观成像技术,能够提供样品三维高分辨图像,成像分辨率可以达到1~15  $\mu\text{m}$ ,对高散射样品的成像深度达到数毫米。OCT优越的成像性能在无损检测领域及组织工程领域具有广泛应用前景<sup>[11-15]</sup>。

近年来,OCT应用于传统组织工程技术制造的支架和组织的研究正逐步开展<sup>[16-21]</sup>。Rey等<sup>[18]</sup>将细胞与凝胶混合,用OCT技术检测了细胞在凝胶材料中的三维和四维迁移。Chen等<sup>[21]</sup>利用OCT对粒子盐析法制备的水凝胶多孔结构进行定量评价。国内曾有报道OCT用于分辨率测试3D打印光敏树脂制作的模拟眼,研究重在OCT分辨率的标定价值<sup>[22]</sup>。这些研究验证了OCT用于水凝胶支架评价的可行性,但由于缺乏凝胶结构的精确制造技术,对生物功能具有重要意义的支架结构的研究比较局限。三维生物打印技术可以预定义水凝胶支架孔的形状、尺寸和内部通道结构,为OCT在这一领域的应用提供了新空间,也为支架内部结构的定量评价带来新问题。因此,必须发展新算法来自动处理大量的OCT序列图像,定量可视化支架内部通道结构,对比设计模型和实际结构差异,表征支架的孔隙大小(PS)和分布、实体支撑尺寸(StS)、孔隙率(VP)和三维连通性(PC)等参数,以便提高三维生物打印支架的可控性和稳定性,更好地预测支架的生物学功能。

本文基于之前开发的三维生物打印平台<sup>[3,23]</sup>,设计和制造了4种预先定义几何尺寸及结构的水凝胶支架,利用扫频光学相干层析成像(SS-OCT)系统实现三维生物打印支架的高分辨成像和结构定量评价。基于图像阈值分割和形态操作开发了自动分析算法来实现支架复杂内部结构的三维可视化,定量表征三维生物打印水凝胶支架的结构参数,分别从二维和三维空间详细比较分析了设计模型和制备支架之间的差异性,初步探讨了打印工艺与支架成型结果之间的关联性。

## 2 支架的设计与制备

采用Solidworks软件设计了4种不同的支架结构,按照孔形和内部流体通道的不同可以定义为T400、R400、T400-LC、R400-LC。其中T代表设计的支架大孔孔形为三角形,R代表设计的孔形为正方形。400代表设计的PS为400  $\mu\text{m}$ ,定义PS为与孔面积等大的圆的直径。支架的StS设定为200  $\mu\text{m}$ 。LC代表支架存在横向通道(LC),若没有横向通道,支架只有纵向通道,且纵向通道与孔形类似;若存在横向通道,对于T400-LC来说,横向通道定义为支架表面以下800  $\mu\text{m}$ 处横向打通沿孔以及与孔成60°夹角的通道,对于R400-LC,横向通道定义为支架表面以下800  $\mu\text{m}$ 处横向打通沿孔和垂直孔方向的通道,所有横向通道为方形柱体,且方形的边长为400  $\mu\text{m}$ 。支架的外形为圆柱体,圆柱直径为10 mm,高为4 mm。

明胶和海藻酸钠<sup>[3]</sup>都是天然生物材料,无毒、可降解,与细胞生物相容性良好,采用明胶和海藻酸钠按照1:1比例均匀混合制成打印用的水凝胶生物墨水,按照上述设计的理论模型制备3D多孔水凝胶支架。支架的制备基于之前开发的三维生物打印平台,如图1所示,该打印机有两个喷头,均采用精密气动喷头,一个喷头装有打印用的生物墨水,一个喷头装雾化交联用对细胞无害的CaCl<sub>2</sub>溶液,三维生物打印机的中心控制系统控制喷头的初始自动定位(IAL)、驱动的气动压力(P)、温度(T)及X/Y/Z三维运动(M)。打印时生物墨水喷射

到成型底板上,  $\text{Ca}^{2+}$ 溶液通过高压气体气化微滴喷出进行固化交联, 三维生物打印平台根据设计的模型自动生成打印路径层层打印出三维结构。

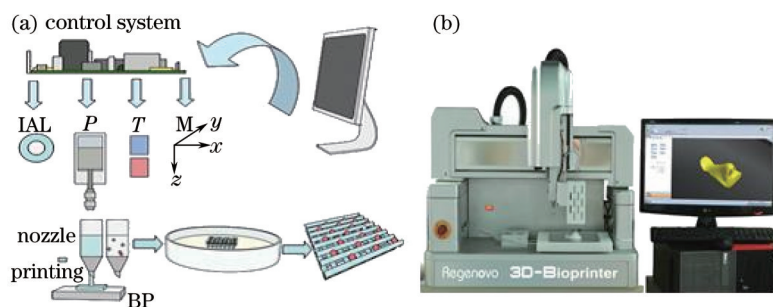


图1 三维生物打印机的(a)原理示意图及(b)实物图

Fig.1 (a) Schematic presentation of the 3D bio-printing system; (b) photograph of 3D bioprinter

### 3 OCT成像

三维生物打印的水凝胶支架的成像采用之前开发的一套高速高分辨SS-OCT系统<sup>[24]</sup>。系统采用中心波长为1310 nm, 扫频范围为120 nm, 扫描频率为50 kHz的快速扫频激光为光源, 系统实测轴向分辨率为9.7  $\mu\text{m}$ , 横向分辨率为9.6  $\mu\text{m}$ , 照射到样品上的功率为12 mW左右, 空气中成像深度可达5 mm, 在整个成像范围信噪比高于100 dB, 对于水凝胶支架的穿透深度在2~5 mm。OCT成像过程中, 为保持水化和无菌, 水凝胶支架浸没在培养液中, 多次扫描时, 对每次成像, 标记每个扫描部分的位置和方向。通过OCT的二维扫描采样, 在不接触的情况下获得支架样品不同位置5 mm×5 mm×5 mm(512 pixel×512 pixel×512 pixel)的三维OCT图像。假定水凝胶材料和孔的折射率相同,  $n=1.33$ , 则每个体素对应的几何尺寸为700.2  $\mu\text{m}^3$ 。

### 4 OCT图像处理

OCT采集一系列XZ横断面图像, 通过体绘制算法生成三维OCT图像, 从3D图像中提取正前面(en face)XY方向序列图, 对en face序列图经过增强优化、中值滤波、阈值分割、形态开闭操作等处理提取出每层图像中的孔结构以便计算出PS和StS, 再将此孔结构进行三维重建以方便后续基于体图像的分析。图像处理流程如图2所示, 其中图2(a)代表原始的en face图像, 通过第一步的增强优化, 调整图像对比度、亮度和 $\gamma$ 值以增强孔隙区域与支撑部分的对比度, 从而生成图2(b); 对图2(b)采用5×5中值滤波器进行低通滤波, 以减少背景散斑噪声, 获得图2(c); 图2(c)经强度阈值分割得到孔和实体的二值化图像, 图2(d)中孔隙区域的像素值 $I=1$ , 其他支撑部分则是 $I=0$ 。可以看到图2(d)中某些孔区域内存在黑点, 对图2(d)进行形态闭操作, 以平滑目标物边界而不改变其面积, 填充目标内的细小空洞, 得到图2(e)。

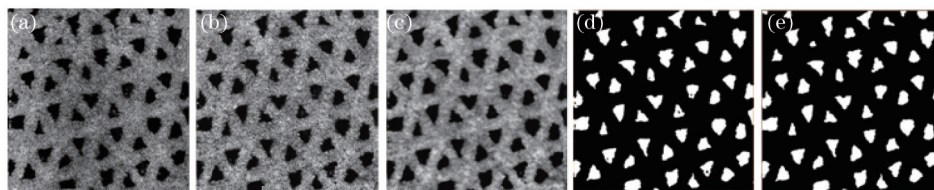


图2 OCT图像处理基本流程

Fig.2 Sequential processing of images obtained by OCT for quantitative analysis of 3D bio-printed hydrogel scaffolds

### 5 支架形态学参数的定量分析

PS和StS是通过分割处理后的二维en face图像来定量分析的, VP和PC通过处理后再重建的三维图像来定量分析。针对4种设计的几何支架, 每种结构至少三维打印出7个样品, 然后自动定量分析PS、VP和PC。StS是通过标尺手动测量的, 随机选取每个样本中相应的10处支撑, 通过标尺手动测量得到。

根据PS定义, 使用平面的等效直径来测量PS, 表达式为

$$S_p = 2 \times \sqrt{A/\pi}, \quad (1)$$

式中  $A$  代表孔的平面面积,根据分割图像的形态学定义,孔的平面面积近似为目标孔  $X$  中的像素之和:

$$A(X) = \sum_{i,j} g(x_i, y_j), \quad (2)$$

式中像素若在目标孔  $X$  中,则  $g(x_i, y_j) = 1$ , 否则  $g(x_i, y_j) = 0$ 。

孔隙率是指材料内部的孔隙体积 ( $V_{\text{pore}}$ ) 占总体积 ( $V_{\text{total}}$ ) 的百分率,表达式为

$$V_p = \frac{V_{\text{pore}}}{V_{\text{total}}} \times 100\%, \quad (3)$$

式中孔隙体积和总体积都是通过对3D分割的OCT图像进行自动定量分析得到,以像素数量的形式呈现。

连通孔隙是指与空气相通的孔隙部分,所以PC定义为连通孔隙体积 ( $V_{\text{accessible}}$ ) 在支架总体积中所占的百分比,表达式为

$$V_c = \frac{V_{\text{accessible}}}{V_{\text{total}}} \times 100\%. \quad (4)$$

基于增强、滤波、分割后三维重建的3D OCT图像,采用Matlab中一个3D标记函数bwlabeledn来自动识别标记3D结构中空间连通区域与非连通区域,在标记后,标记块可从这个复杂的水凝胶内部网络结构中选择和提取相互连通的区域,每一个区域可能分别代表的是一个完整的孔隙、部分孔隙或者不连通的孔隙。

上述定量分析都是对多组样本进行测量的,针对得出的测量结果使用方差分析法实现统计分析,数据差异性为  $p < 0.05$  时认为有效。

## 6 结果与讨论

### 6.1 水凝胶支架的制备和OCT成像

预设定义几何结构的3D明胶/海藻酸钠水凝胶支架用三维生物打印技术成功制备,图3所示为不同设计结构支架的显微图,可以看出支架有无侧向通道在显微图中很难看出差别。图4所示为4种不同结构支架样品的OCT图像,从OCT图像横截面( $XZ$ 、 $YZ$ )可以看出OCT对于高散射水凝胶支架的穿透深度可以达到2~4 mm。其中图4的A1~A4代表 $XZ$ 方向OCT横断面图像,B1~B4为 $YZ$ 方向的横断面图像,C1~C4为 $XY$ 方向的en-face表面OCT图像,D1~D4为en face表面以下800  $\mu\text{m}$ 的OCT图像。这些二维OCT图像显示了水凝胶区域(灰白部分)和孔隙区域(黑色部分)。

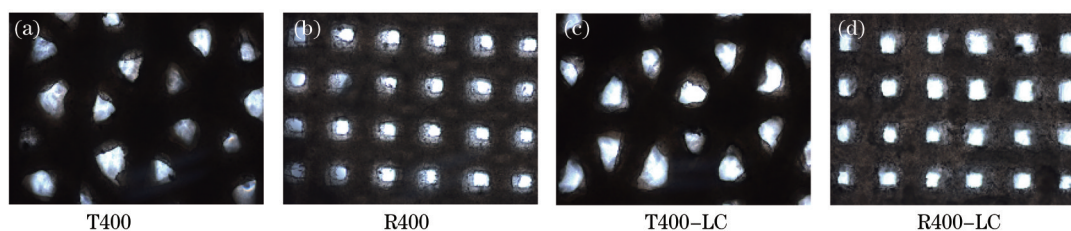


图3 4种不同几何设计三维生物打印的明胶/海藻酸钠水凝胶支架的相差显微图

Fig.3 Phase-contrast microscopy images of 3D-bioprinted gelatin/sodium alginate hydrogel scaffolds for 4 different geometries

对比图4中图像C1和C2,C3和C4可以看出支架有无横向通道,表面图像差别较小,而从 $XZ$ 、 $YZ$ 以及内部800  $\mu\text{m}$ 处的en face图像可以清楚看出同样孔形设计,存在通道与否支架内部结构存在明显差异。从不同截面的OCT图像也可以定性分析不同支架的孔隙形状、孔隙尺寸及位置,对比C1~C4和D1~D4,可以看出同一个支架在不同深度(表面以及表面以下800  $\mu\text{m}$ )出现孔隙尺寸、形状和位置的一些变化,当有横向通道时,在设计有横向通道的地方,D2和D4相比D1和D2出现较大通道连通,并且可以清楚看出T400-RL、R400-LC的通道方向与设计一致,沿着表面孔的方向。同时通过A2、A4和B2、B4也可以清楚地看到T400-LC和R400-LC支架因横向通道的设计而存在的横向孔。另一方面通过二维OCT图像,也可以发现三维生物打印水凝胶支架存在的一些平面缺陷,如横向通道的存在会导致表面孔的皱缩情况明显(图4中图像C2),出现孔隙融合现象(图4中图像D1),以及未定义孔的存在(图4中图像C1和C3)和一些内部孔的堵塞(图4中图像D4)。

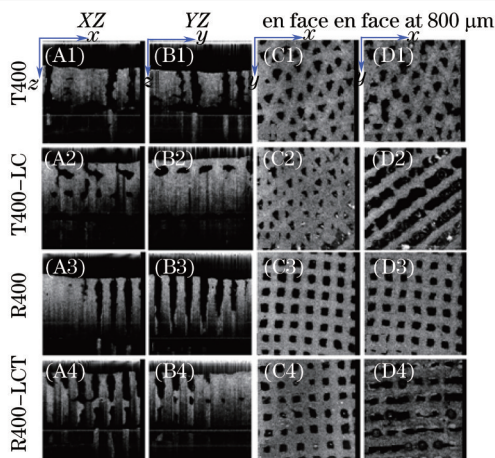


图4 4种不同几何设计的三维生物打印明胶/海藻酸钠水凝胶支架的二维OCT图像

Fig.4 Two-dimensional OCT images of 3D-bioprinted gelatin/sodium alginate hydrogel scaffolds for 4 different geometries

### 6.2 支架三维支撑结构和内部复杂的流体网络通道

图5所示为4种不同几何设计的三维生物打印明胶/海藻酸钠水凝胶支架的OCT三维图像,直观展示了支架的三维支撑结构,其中A1代表T400,A2代表T400-LC,B1代表R400,B2代表R400-LC。由于OCT对不同支架的穿透深度存在差异,为统一起见,仅截取了支架0~2.5 mm厚的图像来重建三维支架支撑结构。从不同设计支架的三维OCT图像中可以看出孔形的变化以及横向通道在支架外围的开孔。对比A1和A2可以看出,T400比T400-LC的孔更接近设计的三角形,说明内部存在横向通道引起三维生物打印孔的变形和塌陷,这从直观显微的角度证明了水凝胶力学性能差的特点,提示横向通道设计需做特殊处理。对比B1和B2可以看出,R400和R400-LC表面孔形差异不大,但是从B2可以看到部分横向通道在外围的开孔。由于水凝胶基质的不透明性,从图5仍然很难看出支架的内部流体网络结构。

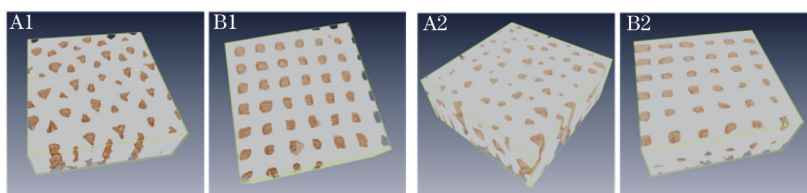


图5 4种不同几何设计的三维生物打印水凝胶支架的三维OCT图像(成像范围 $X \times Y \times Z, 5 \text{ mm} \times 5 \text{ mm} \times 2.5 \text{ mm}$ )。

A1: T400; B1: R400; A2: T400-LC; B2: R400-LC

Fig.5 3D OCT images of 3D-bioprinted hydrogel scaffolds for 4 different geometries (imaging field  $X \times Y \times Z, 5 \text{ mm} \times 5 \text{ mm} \times 2.5 \text{ mm}$ ).

A1: T400; B1: R400; A2: T400-LC; B2: R400-LC

支架的内部流体网络结构影响着支架中细胞、营养物质和排泄产物的进出<sup>[25-26]</sup>,重建支架的内部流体网络结构对于预测支架的内部流体动力学功能非常重要。将孔和支架支撑的灰度定义取反,得到4种支架内部复杂的流体网络结构,如图6所示。可以看出对所有三维生物打印支架,纵向通道的长度即为支架的厚度。从图6中同样可以看到三维生物打印水凝胶支架的缺陷,如打印出的T400支架出现内部孔横向连通(图6中图像A1),这种内部横向孔连通缺陷可能是打印过程流涎引起的孔融合,三维图像直观提示需要通过控制打印的明胶/海藻酸钠材料的流变性来减少这种打印缺陷。打印出的T400-LC支架出现了一些独立通道,即与外界空气不连通的孔隙(图6中图像A2),这种独立通道会影响打印支架的连通性,而这种独立通道在二维图像中很难发现,独立通道缺陷可能与打印路径、打印喷头直径、喷头温度等打印条件密切相关。打印的R400-LC支架的横向通道出现很多断裂的地方(图6中图像B2),这种横向通道的断裂实际上是可以预见的,因为四边形相对不稳定,水凝胶力学性能较差,四边形加同样柱形通道设计更容易出现孔塌陷和通道断裂的问题。R400支架由于打印路径相对简单,与设计结构符合较好,仅出现纵向通道横截面显微变化的问题,这种问题会表现为孔尺寸的变化。支架内部三维流体网络的重建不仅可以用于分析支架实际的流体动力学功能,还可以用于分析打印支架的立体缺陷,指导三维打印过程。

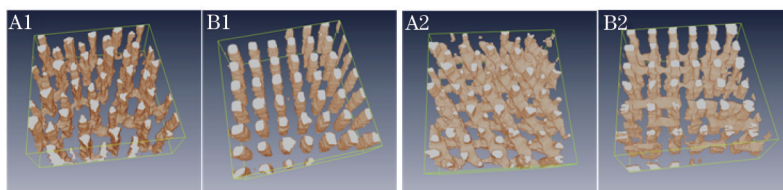


图6 4种不同几何设计的三维生物打印水凝胶支架的内部流体网络重建图

Fig.6 Internal flow channel networks of the four different 3D-bioprinted hydrogel scaffolds acquired from OCT images

### 6.3 PS, StS 及其分布

测得三维打印出的4种设计明胶/海藻酸钠水凝胶支架的PS、StS的均值及方差如图7所示。T400, T400-LC, R400, R400-LC的StS分别为 $331.9 \pm 6.8$ ,  $342.9 \pm 7.1$ ,  $331.4 \pm 8.2$ ,  $335.8 \pm 7.6$ , 单位为 $\mu\text{m}$ 。可以看出不管怎样的孔隙形状和有无侧向通道, 支架的支撑尺寸相对稳定, 且在 $330 \mu\text{m}$ 附近。T400, T400-LC, R400, R400-LC的PS分别为 $321.6 \pm 64.0$ ,  $278.1 \pm 70.3$ ,  $362.9 \pm 31.8$ ,  $327.0 \pm 51.6$ , 单位为 $\mu\text{m}$ , 可以看出不同设计结构打印出支架的PS都小于设计值, 且同一种设计结构的PS差别较大, 均值和设计值的差别超过 $50 \mu\text{m}$ , 存在横向通道结构的PS差别尤其大。测量的PS均值小于设计值, 实际是打印过程中及打印后水凝胶发生膨胀导致孔空间变小引起的。但方差很大的原因需要进一步分析PS的分布特征。

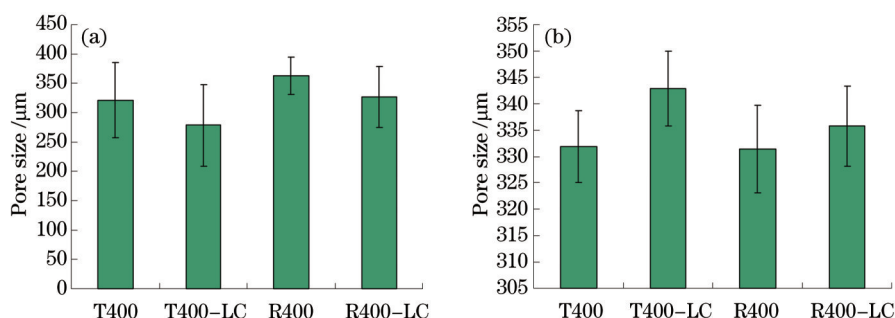


图7 4种设计结构三维生物打印水凝胶支架的均值及方差(95%置信区间)。(a) PS; (b) StS

Fig.7 Average and variance of four different 3D-bioprinted hydrogel scaffolds measured by 2D en face OCT images ( $n=7$ ) (error bars represent 95% confidence intervals). (a) PS; (b) StS

不同设计结构的三维生物打印水凝胶支架的孔径分布分析结果如图8所示。可以看出所有设计结构的三维生物打印支架的孔径分布都是不均衡的, 并且存在一个明显的峰值, 对于T400和R400, PS分布图中的峰值大小与设计的一致, 而T400-LC和R400-LC的峰值小于设计值, 这种PS分布特性的差异可能是带横

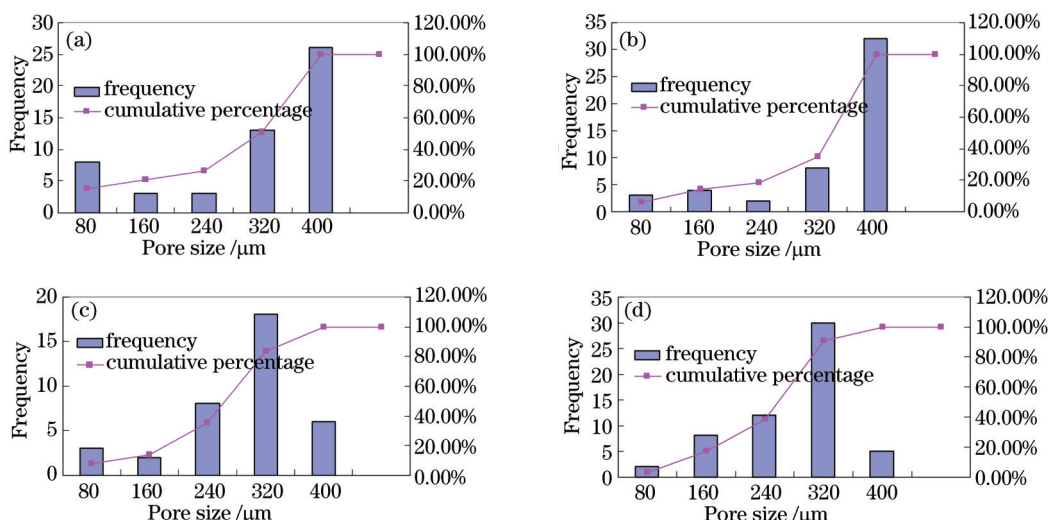


图8 4种设计结构的三维生物打印水凝胶支架的PS分布

Fig.8 PS distribution assessed by 2D en face OCT image analysis of the four different 3D-bioprinted scaffolds ( $n=7$ )

向通道支架的刚性下降诱导支架孔坍塌引起的。进一步分析图 8(a)、(c)和图 8(b)、(d)可以看出,没有横向通道的支架孔径偏离设计值的情况较少[图 8(a)、(b)],大多数分布在设计尺寸的周围,但是含横向通道支架的孔径 80%以上偏离设计值,且小于设计值[图 8(c)、(d)],这种孔径分布特性的变化说明横向通道的存在更容易引起支架整体机械性能的下降,也更可能导致孔的堵塞和皱缩。

#### 6.4 VP 和 PC 的量化

支架的孔隙允许营养物质、氧气和废弃物的运输,细胞的迁移和增殖以及血管化<sup>[21]</sup>,对于功能组织的形成而言,孔隙率是一个重要的因素,对 4 种不同结构支架的 VP 的分析结果如图 9 所示。T400, T400-LC, R400, R400-LC 的 VP(单位为%)分别为  $18.52 \pm 4.29$ ,  $27.33 \pm 5.45$ ,  $23.87 \pm 4.52$ ,  $25.04 \pm 6.68$ ,可以看出横向通道的设计可以提高支架的孔隙率。4 种结构的理论值分别为 23.3%, 30.5%, 25.0%, 32.8%, 实际值均小于理论值。从 PS 降低和 StS 升高可以也预见打印出水凝胶支架的 VP 小于理论值。

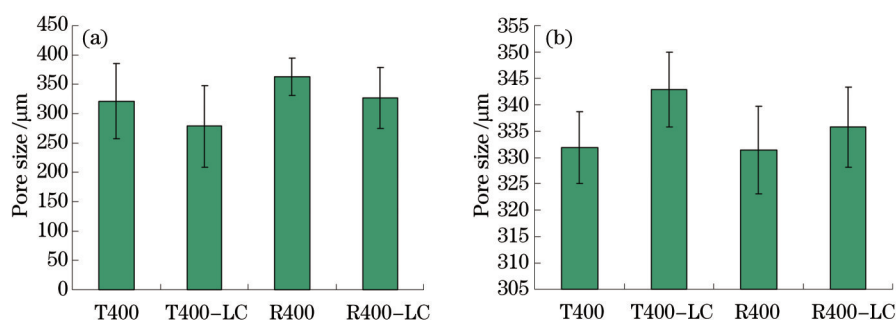


图 9 4 种设计结构的三维生物打印水凝胶支架的 VP 均值及方差

Fig.9 Mean and variance of VP of the four different 3D-bioprinted hydrogel scaffolds measured by 3D OCT images (n=7)

支架的连通性与细胞接种后的迁移路径、支架中营养和废物扩散路径有关<sup>[21]</sup>。从定量分析方法说明可知,支架的连通性定义为与空气接通区域的占有率,4 种设计结构打印出水凝胶支架的连通性分析结果如图 10 所示,连通性的分析结果表明三维生物打印技术制备的任何结构类型支架的连通性都较高,连通性范围从 97%到接近 100%。

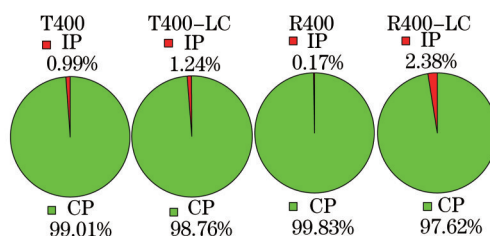


图 10 4 种设计结构的三维生物打印水凝胶支架的 PC, IP 代表支架中非连通区域体积, CP 代表支架中连通区域体积

Fig.10 PC of the four different 3D-bioprinted hydrogel scaffolds measured by 3D OCT images, IP denotes isolated pores, CP denotes connected pores

## 7 结 论

基于三维生物打印技术制备了 4 种代表性几何结构的明胶/海藻酸钠水凝胶支架,包括两种不同的孔形(三角形和四边形)以及两种不同流体通道网络(仅纵向通道和横纵向通道连通)。3D SS-OCT 用来无损高速地获取支架高分辨图像,后续的增强、滤波、分割及体绘制等图像处理重建了支架复杂内部结构和相互连通通道网络,定性定位地识别了三维打印缺陷及设计模型和实际结构间的差异性,可以为后续三维打印明胶/海藻酸钠水凝胶材料提供工艺优化指导。自动图像分析方法定量表征了打印支架的 PS、StS、VP、PC 以及 PS 的分布。基于 3D OCT 图像采集和分析来评价三维打印水凝胶支架的方法有助于理解三维打印条件对结构参数的影响,从而为提高三维打印水凝胶支架精度提供一种有效反馈控制方法。该方法可能是支架优化设计、生物三维打印过程精密控制的有利工具。下一步工作将扩大 OCT 成像范围,以便可以探测三维生物打印水凝胶支架全貌,研究支架参数和生物学功能之间的关联性,为最终成功制造出功能化的生物工程组织奠定基础。

- 1 S Wüst, R Müller, S Hofmann. 3D bioprinting of complex channels—effects of material, orientation, geometry, and cell embedding [J]. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 2014, 103(8): 2558–2570.
- 2 T Billiet, M Vandenhaute, J Shelfhout, *et al.*. A review of trends and limitations in hydrogel rapid prototyping for tissue engineering [J]. *Biomaterials*, 2012, 33(26): 6020–6041.
- 3 M Xu, X Wang, Y Yan, *et al.*. An cell-assembly derived physiological 3D model of the metabolic syndrome, based on adipose-derived stromal cells and a gelatin/alginate/fibrinogen matrix[J]. *Biomaterials*, 2010, 31(14): 3868–3877.
- 4 S Van Bael, Y C Chai, S Truscetto, *et al.*. The effect of pore geometry on the *in vitro* biological behavior of human periosteum-derived cells seeded on selective laser-melted Ti6Al4V bone scaffolds[J]. *Acta Biomaterialia*, 2012, 8(7): 2824–2834.
- 5 A A Appel, M A Anastasio, J C Larson, *et al.*. Imaging challenges in biomaterials and tissue engineering[J]. *Biomaterials*, 2013, 34(28): 6615–6630.
- 6 S Yue, P D Lee, G Poolagasundarampillai, *et al.*. Synchrotron X-ray microtomography for assessment of bone tissue scaffolds[J]. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 2010, 21(3): 847–853.
- 7 C Lalande, S Miraux, S M Derkaoui, *et al.*. Magnetic resonance imaging tracking of human adipose derived stromal cells within three-dimensional scaffolds for bone tissue engineering[J]. *Journal of European Cells and Materials*, 2011, 21: 341–354.
- 8 D Liu, E S Ebbini. Viscoelastic property measurement in thin tissue constructs using ultrasound[J]. *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics and Frequency Control*, 2008, 55(2): 368–383.
- 9 E Liu, M D Treiser, P A Johnson, *et al.*. Quantitative biorelevant profiling of material microstructure within 3D porous scaffolds via multiphoton fluorescence microscopy[J]. *Journal of Biomedical Materials Research Part B*, 2007, 82(2): 284–297.
- 10 J Fujimoto, W Drexler. Introduction to optical coherence tomography[M]. //W Drexler, J G Fujimoto (Eds.) *Optical Coherence Tomography: Technology and Applications*. New York: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2008: 1–45.
- 11 M J J Liu, S M Chou, C K Chua, *et al.*. The development of silk fibroin scaffolds using an indirect rapid prototyping approach: Morphological analysis and cell growth monitoring by spectral-domain optical coherence tomography[J]. *Medical Engineering & Physics*, 2013, 35(2): 253–262.
- 12 Yan Xin, Dong Junqing, Li Qinghui, *et al.*. Preliminary research in section structure characteristics of ancient glaze based on OCT technology[J]. *Chinese J Lasers*, 2014, 41(9): 0908001.  
严 鑫, 董俊卿, 李青会, 等. 基于OCT技术对古代瓷釉断面结构特征的初步研究[J]. *中国激光*, 2014, 41(9): 0908001.
- 13 Su Ya, Meng Zhuo, Wang Longzhi, *et al.*. Correlation analysis and calibration of noninvasive blood glucose monitoring *in vivo* with optical coherence tomography[J]. *Chinese J Lasers*, 2014, 41(7): 0704002.  
苏 亚, 孟 卓, 王龙志, 等. 光学相干层析无创血糖检测中相关性分析及标定[J]. *中国激光*, 2014, 41(7): 0704002.
- 14 Ding Zhihua, Zhao Chen, Bao Wen, *et al.*. Advances in Doppler optical coherence tomography[J]. *Laser & Optoelectronics Progress*, 2013, 50(8): 080005.  
丁志华, 赵 晨, 鲍 文, 等. 多普勒光学相干层析成像研究进展[J]. *激光与光电子学进展*, 2013, 50(8): 080005.
- 15 Liao Jiuling, Gao Wanrong. A method of improving signal-to-noise ratio in spectrally encoded microscopy[J]. *Acta Optica Sinica*, 2015, 35(3): 0317001.  
廖九零, 高万荣. 一种提高频谱编码成像技术信噪比的方法[J]. *光学学报*, 2015, 35(3): 0317001.
- 16 K Zheng, M A Rupnick, B Liu, *et al.*. Three dimensional OCT in the engineering of tissue constructs: A potentially powerful tool for assessing optimal scaffold structure[J]. *The Open Tissue Engineering & Regenerative Medicine Journal*, 2009, 2: 8–13.
- 17 S J Matcher. Practical aspects of OCT imaging in tissue engineering[M]. //3D Cell Culture. New York: Humana Press, 2011: 261–280.
- 18 X Liang, B W Graf, S A Boppart. Imaging engineered tissues using structural and functional optical coherence tomography[J]. *Journal of Biophotonics*, 2009, 2(11): 643–655.
- 19 D Levitz, M T Hinds, N Choudhury, *et al.*. Quantitative characterization of developing collagen gels using optical coherence tomography [J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2010, 15(2): 026019.
- 20 S M Rey, B Povazay, B Hofer, *et al.*. Three- and four-dimensional visualization of cell migration using optical coherence tomography [J]. *Journal of Biophotonics*, 2009, 2(6–7): 370–379.
- 21 C-W Chen, M W Betz, J P Fisher, *et al.*. Macroporous hydrogel scaffolds and their characterization by optical coherence tomography [J]. *Tissue Engineering Part C*, 2010, 17(1): 101–112.
- 22 Hu Zhixiong, Liu Wenli, Hong Baoyu, *et al.*. A physical model eye with 3D resolution test targets for optical coherence tomography



- [J]. *Opto-Electronic Engineering*, 2014, 41(12): 28-32.
- 胡志雄, 刘文丽, 洪宝玉, 等. 光学相干层析成像三维分辨率测试模拟眼[J]. *光电工程*, 2014, 41(12): 28-32.
- 23 M Xu, Y Li, H Suo, *et al.*. Fabricating a pearl/PLGA composite scaffold by the low-temperature deposition manufacturing technique for bone tissue engineering[J]. *Biofabrication*, 2010, 2(2): 025002.
- 24 Wang Ling, Zhu Hailong, Tu Pei, *et al.*. High-speed three-dimensional swept source optical coherence tomography system based on LabVIEW[J]. *Chinese J Lasers*, 2014, 41(7): 0704001.
- 王 玲, 朱海龙, 涂 沛, 等. 基于 LabVIEW 的高速三维扫频光学相干层析成像系统[J]. *中国激光*, 2014, 41(7): 0704001.
- 25 H Huang, S Oizumi, N Kojima, *et al.*. Avidin-biotin binding-based cell seeding and perfusion culture of liver-derived cells in a porous scaffold with a three-dimensional interconnected flow-channel network[J]. *Biomaterials*, 2007, 28(26): 3815-3823.
- 26 H Seyednejad, D Gawlitta, R V Kuiper, *et al.*. *In vivo* biocompatibility and biodegradation of 3D-printed porous scaffolds based on a hydroxyl-functionalized poly( $\epsilon$ -caprolactone)[J]. *Biomaterials*, 2012, 33(17): 4309-4318.

栏目编辑: 吴秀娟