

基于光学相干层析的水凝胶三维打印精准控制研究

王 玲 张烈烈 周青青 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 提出一种基于光学相干层析成像(OCT)技术的水凝胶三维打印精准控制方法,利用 OCT 在线定量评价,通过迭代降低设计与打印间形态差异,提高了水凝胶打印的可控性和稳定性。实验结果显示,该方法能够准确地定量表征水凝胶三维打印支架的结构特征,并基于 OCT 表征结果的相关函数精准控制打印,使得支架平均孔隙尺寸与设计值的偏差从 30%降低到 2%。研究表明 OCT 技术可为组织工程中支架设计与表征、三维生物打印过程控制等提供具有潜力的精准化工具。

关键词 生物医学光子学; 光学相干层析成像; 三维生物打印; 水凝胶支架; 定量优化

中图分类号 TN247

文献标识码 A

doi: 10.3788/CJL201643.0607001

OCT-Based Improvement of Geometrical Controllability of 3D-Bioprinted Porous Hydrogel Scaffolds

Wang Ling Zhang Lielie Zhou Qingqing Xu Ming'en

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

Abstract The aim of this study is to optimize the robustness and controllability of the 3D printed hydrogel scaffolds by iteratively reducing the mismatch between the designed and the as-printed. A feedback loop approach based on optical coherence tomography (OCT) *in vivo* online quantitative evaluation was performed for twice. The experimental results show that OCT has quantitatively characterized the morphological parameters, and the difference correlation analysis based on the characterization of OCT feedback controls the 3D printing process and enables decrease of the mismatch. The mismatch of the averaged pore size of the hydrogel scaffolds has decreased from 30% to 2%. It concludes that OCT can further expand its applications in the field of tissue engineering, and may be a key tool for scaffold design and characterization, 3D bio-printing process control, and so on.

Key words biomedical photonics; optical coherence tomography; 3D bio-printing; hydrogel scaffolds; quantitative optimization

OCIS codes 170.3880; 170.4500; 100.2960

1 引 言

作为组织工程的重要组成部分,支架为细胞生长提供了必要的空间和环境,其化学组成和物理结构会影响细胞的活动,如细胞的粘附、迁移、增殖和分化等^[1]。水凝胶具有良好的生物相容性、可降解性、亲水性以及强大的包裹细胞的能力,因而广泛应用于构建组织工程支架^[2-3]。另一方面,在一些特殊应用领域,如功能性组织器官制造^[4],对支架的多孔形态提出特别严格的限制,即支架的内部结构需要特殊定制以期获得理想的几何、机械及液体传输特性,这些特性对支架局部或整体变化(特征尺寸和形状、体积比等)高度敏感,因而需要一种精确制造技术以提高支架参数的可控性和可重复性。

三维生物打印技术可以无毒且方便地按照预设几何模型制备完全连通的三维结构,已成为制造可细胞

收稿日期: 2015-12-23; **收到修改稿日期:** 2016-03-03

基金项目: 国家自然科学基金(61108083, 81371695)、国家 863 计划(2015AA020303)

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

* **通信联系人.** E-mail: xumingen@hdu.deu.cn

接种/封装的生物支架的良好工具^[5-6]。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与设计关联的可控解决方案。三维纤维沉积和三维生物绘制技术均属于生物三维打印技术,曾成功用于制造形态特性可复制的多孔水凝胶结构^[7]。Wang 等^[8]基于三维纤维沉积技术成功地制备可控孔形和孔尺寸分布的多孔水凝胶/肝细胞复合结构,且打印结构具有良好的可复制性。然而,由于水凝胶特有的溶胀特性及其组成成分的不同,打印结构的形态参数与设计值之间存在明显差异。刘丰等^[3]研究发现明胶/海藻酸钠复合材料在成形过程中会有流涎、过度堆积和孔融合等现象; Shim 等^[9]基于三维生物绘制技术制备水凝胶支架,发现单一成分水凝胶打印的支架机械性能较差,会出现支架支撑的局部断裂。打印结构与在设计在形态参数上存在的显著差异严重影响了水凝胶支架的实际应用,因此研究制备与预期形态参数相匹配的定制结构具有重要意义。

本文提出一种优化水凝胶支架三维打印稳定性和可控性的方法,实现了三维打印水凝胶支架结构的定量表征,基于表征结果反馈支架设计和打印,然后通过迭代的方法降低设计与打印结构之间的形态差异,提高水凝胶支架三维制造的稳定性和可控性。设计和打印了 6 种不同孔隙尺寸的水凝胶支架,采用实验室自制的扫频光学相干层析成像(OCT)系统对打印的水凝胶支架进行成像和结构定量表征,孔隙大小、实体支撑尺寸、孔隙率、支架表面积和体积等参数与原始设计参数进行比较,根据 OCT 定量分析的结构差异反馈指导水凝胶支架的三维打印,验证了 OCT 技术应用于水凝胶三维打印精准控制的可行性。

2 材料和方法

2.1 基于 OCT 的水凝胶三维打印精准控制方法

基于 OCT 的水凝胶三维打印精准控制通过一个包括设计、打印和全面形态定量表征的两次闭环反馈控制网络来实现,如图 1 所示。第一次闭环称为实验组,用来评价水凝胶三维打印过程的内在可控性,完成后将设计与打印的形态差异作为第二次闭环(即生产组)的输入,并反馈控制生产组的设计与打印,以获得预

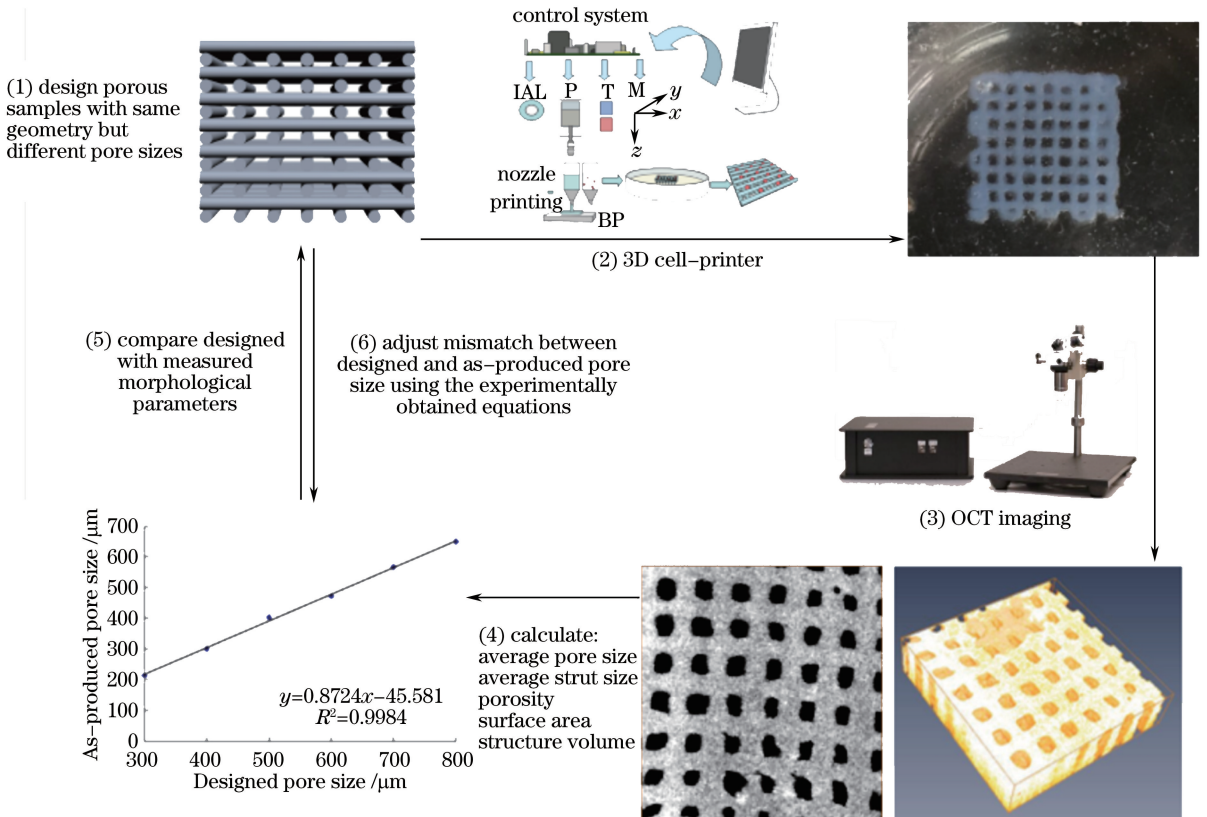


图 1 基于 OCT 的水凝胶三维打印精准控制原理图

Fig. 1 Schematic of precisely controlled 3D-printed porous hydrogel scaffolds based on OCT

设计的制造结构。实验组和生产组打印支架的形态参数均通过基于 OCT 的定量表征技术来测量^[10-11]。

2.2 支架的设计和制造

已证实正交连通的方形孔隙支架为有效的可细胞接种/封装的生物支架^[10]。因此采用 SolidWorks 软件设计了 6 种不同孔隙尺寸的正交连通方形孔隙支架,按照其尺寸的不同分别定义为 po300、po400、po500、po600、po700 和 po800,如图 2 所示,其中 d_2 为支架的孔隙尺寸(PS),po300 表示设计的孔隙尺寸为 300 μm ; d_1 为支架的实体支撑尺寸(StS), d_3 为支架的层厚,两者均设定为 210 μm 。支架的外形均为立方体,尺寸设为 10 mm \times 10 mm \times 4 mm。

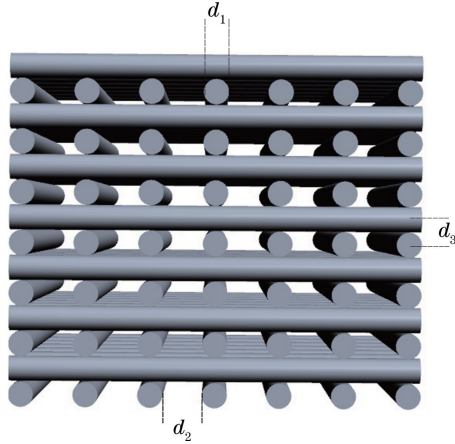


图 2 支架设计展示图

Fig. 2 Design diagram of scaffold structure

表 1 所示为用于 3 类不同评价实验的 6 种预设几何结构的尺寸设计,实验包括 OCT 图像分析实验、重复性实验和迭代分析实验。OCT 图像分析实验是从每种孔隙设计(共 6 种)的支架中分别随机选择 5 个打印样本进行测试,分析样本支架的形态参数实际值与设计值之间的差异;重复性实验是在 5 个不同时间点制备单一 po700 支架,比较各定量参数间的统计差异;迭代分析实验选取 po300,po700 两种尺寸来验证迭代分析方法是否能显著降低实际值与设计值间的不一致。

表 1 6 种支架样本的几何尺寸(√表示使用该设计)

Table 1 Geometries of 6 designed scaffold samples (√ represents usage of the design)

Design	po300	po400	po500	po600	po700	po800
$d_2/\mu\text{m}$	300	400	500	600	700	800
$d_1/\mu\text{m}$	210	210	210	210	210	210
$d_3/\mu\text{m}$	210	210	210	210	210	210
OCT image analysis ($n=5$)	√	√	√	√	√	√
Repeatability study ($n=5$, 5 times)					√	
Specific design constraint ($n=5$)	√				√	

明胶和海藻酸钠作为天然的生物材料,因其无毒、可降解、与细胞生物相容性良好等优点,是目前广泛采用的支架材料^[3]。因此,采用明胶(质量浓度为 100 g/L)和海藻酸钠(质量浓度为 50 g/L)按照体积比 1:1 均匀混合制成水凝胶生物材料,并按照上述模型通过三生物打印系统根据预设的几何结构改变出丝厚度、孔隙尺寸及孔隙率来制备不同尺寸的多孔水凝胶支架^[5,11]。打印时,将混合均匀的水凝胶材料装入专用的料筒并冷却至 10 $^{\circ}\text{C}$,凝胶状材料在 0.55 MPa 气压驱动下由精密气动喷头挤出,三生物打印系统控制定制的三轴运动平台以 4 mm/s 的 X/Y 打印速度向下逐层沉积打印;打印完成后,使用 CaCl_2 溶液(质量浓度为 50 g/L)进行固化交联,最后采用 DMEM 1640 培养基保存。

2.3 OCT 成像

使用实验室自制的一套扫频光学相干层析成像系统实现三维打印水凝胶支架的扫描成像^[12-14]。该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 的快速扫频激光作为光源,系统实测轴

向分辨率为 $8.9 \mu\text{m}$, 横向分辨率为 $12.4 \mu\text{m}$, 照射到样品上的功率约为 12 mW , 空气中成像深度可达 5 mm , 整个成像范围信噪比高于 110 dB , 对水凝胶支架的穿透深度为 $2 \sim 5 \text{ mm}$ 。为保持水化, 在 OCT 成像过程中, 水凝胶支架完全浸没在培养基内, 多次成像时标记每次扫描部分的位置和方向。通过 OCT 扫描采样, 在不接触样本的情况下获得支架样本不同位置处 $2 \text{ mm} \times 2 \text{ mm} \times 5 \text{ mm}$ ($512 \text{ pixel} \times 512 \text{ pixel} \times 512 \text{ pixel}$) 大小的三维 OCT 图像。

2.4 图像处理与参数量化分析

2.4.1 OCT 图像处理

为了定量评估 OCT 数据并分析支架微结构, 对所得数据通过体绘制算法生成三维 OCT 图像, 提取正面(en face)方向序列图并进行背景去噪、增强优化、中值滤波、阈值分割、图像形态学处理等操作, 提取每层图像中的孔隙结构以便计算 PS 和 StS, 再将此孔隙结构进行三维重建以用于后续基于体图像的分析。

2.4.2 支架结构参数量化分析

PS 和 StS 通过定量分析图像处理后的二维 en face 图像得到, 而孔隙率(VP)、孔隙表面积(PSA)和孔隙体积(PV)是在重建的三维图像上量化分析得出。

孔隙尺寸是指支架相邻支撑部分的间距, 可表示为

$$P_s = 2 \times \min_{\forall b \in B} [\text{dist.}(b, s)], \quad (1)$$

式中 b 为孔隙边界, s 为孔隙骨架。

实体支撑尺寸是指相邻孔隙 I 、 J 边缘间的最短距离, 可表示为

$$S_s(b) = \min_{\forall b \in I} [\text{dist.}(I, J)]. \quad (2)$$

孔隙率是指支架内部的孔隙体积 V_{pore} 占支架总体积 V_{total} 的百分率, 可表示为

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

式中 V_{pore} 和 V_{total} 均通过量化分析三维重建后的 OCT 图像得到, 以像素数量的形式呈现。

孔隙表面积和孔隙体积分别表示孔隙部分的像素表面积值之和与体积值之和, 可表示为

$$P_{\text{SA}} = \sum_{i,j,k} g(x_i, y_j, z_k), \quad (4)$$

$$P_V = \sum_{i,j,k} I(x_i, y_j, z_k), \quad (5)$$

式中 $g(x_i, y_j, z_k)$ 和 $I(x_i, y_j, z_k)$ 分别为 (x_i, y_j, z_k) 的像素表面积和体积。

上述定量分析基于对多个样本($n=5$)的测量, 使用方差分析法进行统计分析, 当数据差异性为 $p < 0.05$ 时认为有效。

3 结果与讨论

3.1 水凝胶支架打印

3.1.1 支架的打印与成像

预设几何结构的三维水凝胶支架使用三维生物打印技术成功制备, 结果如图 3 所示。图 3 中 A1~A6、B1~B6 分别为支架浸渍在酒精内的宏观图和光学显微图, 可以看出不同孔隙尺寸的细微差异。组图 C、D、E、F 给出了不同结构样本的 OCT 图像, 从横截面 OCT 图像(XZ、YZ、XY)可以看出 OCT 对高含水量水凝胶支架的成像深度可达 $2 \sim 4 \text{ mm}$ 。其中 C1~C6 为 XZ 方向 OCT 横截面图像; D1~D6 为 YZ 方向 OCT 横截面图像, E1~E6 为 YZ 方向 OCT 横截面图像, F1~F6 为相应的体绘制三维可视图。从这些二维 OCT 图像中, 可清晰地分辨水凝胶区域(灰白部分)和孔隙区域(黑色部分)。

从横截面 OCT 图像可看出, po300 和 po400 水凝胶支架的部分区域出现断裂现象, 此类打印缺陷主要由预设孔隙尺寸过小、喷头精度不高使得喷头在挤压水凝胶时出丝不均匀或断丝引起。随着预设尺寸的增大, 这种现象也会相应减少(如 po500、po600、po700、po800)。此外, 观察支架的体绘制三维图像, 可以发现三维生物打印的水凝胶支架内部存在通道堵塞、独立通道盲端等立体缺陷。

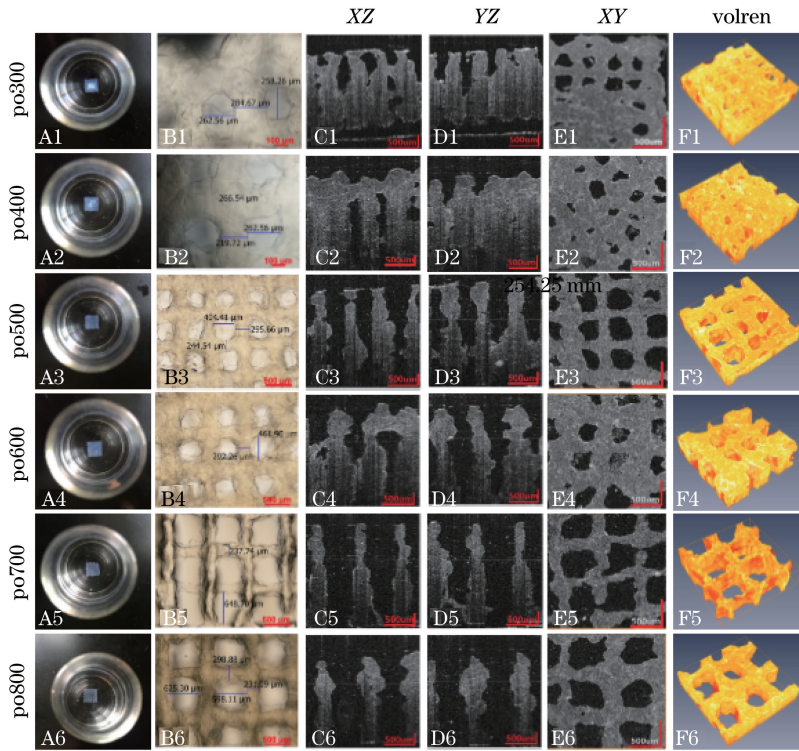


图 3 6 种不同几何尺寸水凝胶支架的宏观图(A)、显微图(B)、OCT 图像(C、D、E)和体绘制图(F)

Fig. 3 Macrographs (A), micrographs (B), OCT images (C, D, E) and volume rendering images (F) of the 6 hydrogel scaffolds with different geometries

3.1.2 支架形态参数定量表征

基于采集的 OCT 图像定量分析支架的三维形态参数,包括 PS、StS、VP、PSA、PV,结果如表 2 所示。PS、StS 分布如图 4 所示。所有定量表征结果均基于 6 个几何结构重复打印 5 次的样品测量分析所得。5 个量化参数设计值与实测形态参数间的比较结果如图 5 所示。

图 5 以直方图的形式给出 5 个支架样本的算术平均值。其中黑色和灰色直方柱分别代表预设值和实际值,直方图上方的百分数表示预设值与实际值差值的绝对值占预设值的百分比。可以看出,PS、StS、VP、

表 2 三维形态参数

Table 2 3D morphological parameters

Parameter	po300	po400	po500	po600	po700	po800
PS / μm	213.2 ± 14.6	300.0 ± 13.6	402.9 ± 22.2	472.5 ± 23.4	566.7 ± 34.2	649.9 ± 28.8
StS / μm	253.6 ± 2.3	249.9 ± 2.5	251.1 ± 2.9	249.5 ± 2.4	250.1 ± 3.1	250.3 ± 3.5
VP /%	18.9 ± 0.8	20.3 ± 0.8	22.0 ± 0.9	22.9 ± 1.0	24.6 ± 1.0	26.4 ± 1.1
PSA / mm^2	9.3 ± 0.4	8.2 ± 0.3	7.6 ± 0.3	6.5 ± 0.3	6.0 ± 0.2	5.0 ± 0.2
PV / mm^3	0.48 ± 0.02	0.46 ± 0.02	0.44 ± 0.02	0.42 ± 0.02	0.42 ± 0.02	0.40 ± 0.01

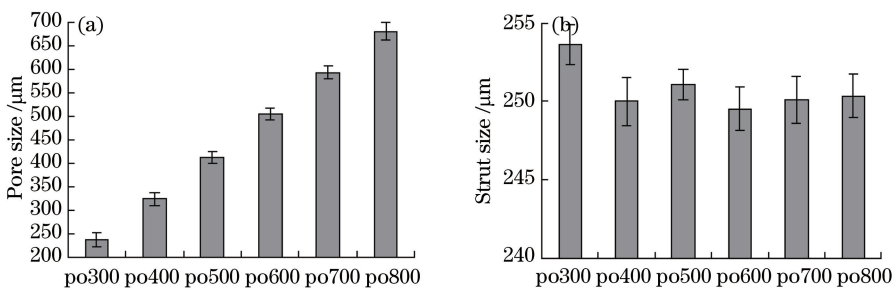


图 4 6 种预设尺寸水凝胶支架的 PS、StS 的均值及方差(95%置信区间)

Fig. 4 Mean and variance of PS and StS of 6 different 3D-bioprinted hydrogel scaffolds ($n=5$, 95% confidence interval)

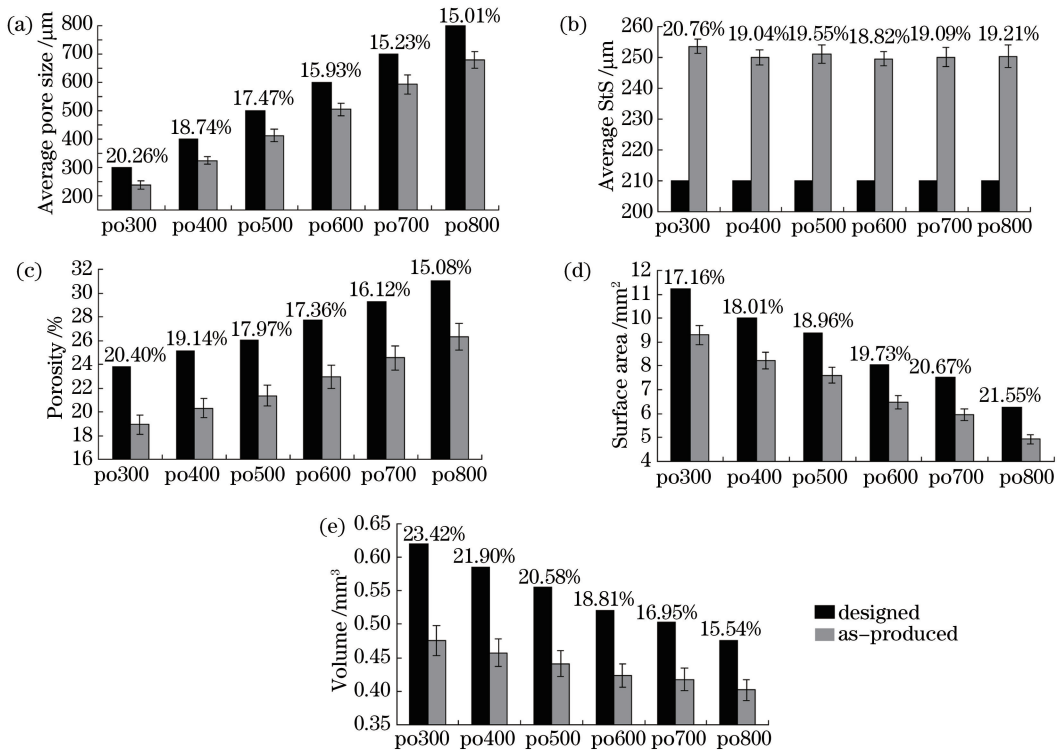


图 5 5 个量化参数的对比分析结果。(a) 实际孔隙尺寸；(b) 实体支撑尺寸；(c) 孔隙率；(d) 孔隙表面积；(e) 孔隙体积
Fig. 5 Comparison results of 5 parameters. (a) Average pore size; (b) strut size; (c) porosity; (d) surface area; (e) structure volume

PSA、PV 的差值区间分别为 15%~20%、18%~21%、15%~20%、17%~21% 和 15%~23%，说明预设值和实际值差异较大。

从图 4 可看出 6 种支架的实际 PS 值均小于预设值，而实际 StS 值则相对稳定，但大于预设尺寸。此外，从图 5 可以看出只有 StS 值比预设值大，而实际 PS、VP、PSA、PV 值均偏小，表明 StS 的量化差异引起了其他 4 个形态参数的差异。导致 StS 增加并引起其他形态特性不匹配的原因如下。

1) 打印喷头针孔内直径定义了支架的支撑尺寸，但支架交联过程以及水凝胶固有的平衡溶胀效应都会导致实际支撑尺寸的增加。另一方面，水凝胶材料的粘弹性、打印时的 XY 方向行进速度、喷头推动气压、喷头以及打印平台温度等参数的设置均会影响出丝直径。图 6(a)中喷头温度为 10 °C，推动气压为 0.55 MPa，XY 方向打印速度为 4 mm/s 时，喷头的出丝直径为 301.4 μm。提高打印速度可以减小出丝直径，但是速度过快容易断丝。

2) 支撑结构以 90°构建，而以同一角度构建支架结构会导致支撑厚度的增加和支撑形状的波浪化，如图 6(b)、(c)所示。Xu 等^[5]基于低温沉积技术成功打印了细胞负载支架，也观察到同角度打印会造成支撑结构不平整、向一侧倾斜的现象。

3) 海藻酸钠与明胶的配比不同也会影响水凝胶材料的机械强度。水凝胶材料机械强度低会引起孔的坍塌。Billiet 等^[15]发现明胶水凝胶材料质量浓度低于 100 g/L 时会导致支架的整体坍塌，质量浓度低于 200 g/L 时会引起局部坍塌。图 6(d)所示为实验中水凝胶材料明胶质量浓度低于 100 g/L 时支架表面孔的坍塌情况，其中左上和中下孔隙已被材料覆盖。

无论是基于商用生物三维打印机还是其他实验室快速成型设备构建水凝胶支架，同样可观测到类似现象。事实上，Khalil 等^[16]发现因水凝胶材料的溶胀特性导致支架的支撑部分直径(250 μm)大于喷头直径(210 μm)，且支架边缘部分的横截面直径(310 μm)大于支架支撑直径，使得支架整体呈凹形。Wang 等^[7]利用光学显微镜发现打印支架的孔尺寸小于设计值。Billiet 等^[15]全面研究了水凝胶材料粘弹性、喷头推动气压、XY 打印速度、喷头类型和直径、温度控制等参数对出丝直径的影响。上述文献都是基于二维显微成

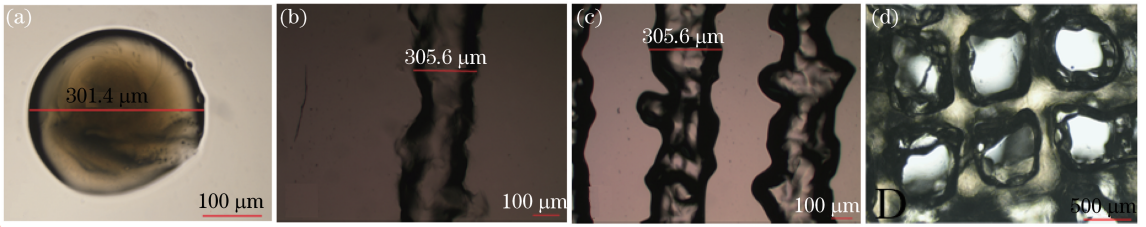


图 6 (a) 水凝胶单点显微图; (b) 水凝胶单一丝线显微图; (c) 水凝胶支撑部分显微图; (d) 单层支架显微图
 Fig. 6 (a) Microscopic image of single-point hydrogel; (b) microscopic image of single-thread hydrogel;
 (c) microscopic image of supporting portion of hydrogel; (d) microscopic image of single-layer bracket

像的测量, 仅能测量打印多孔结构的表面形态。基于三维 OCT 的高分辨率成像, 可以计算出打印多孔结构的孔隙率、表面积、结构体积以及孔尺寸、支撑厚度的分布情况, 如图 4 所示。

3.1.3 基于 OCT 图像分析确定生物三维打印技术的打印精度和可控性

不同研究小组发现同一批三维打印水凝胶支架的几何差异比较低, 设计与制造的支架特性具有良好的相关性, 可以基于相关性调整差异^[5,7,15-16]。然而, 目前尚无关于相同设计、不同时间打印结构的批间变化的分析研究。

利用 OCT 成像分析验证三维生物打印结构的可重复性。同一尺寸(po700)在 5 个时间点打印, 测量每个时间点的孔隙尺寸, 统计最大值、最小值之间的差异, 测试结果如图 7 所示。图中显示 batch4 和 batch5 之间的差值最大, 为 13 μm, 符合实验对打印机的时间可控性要求。

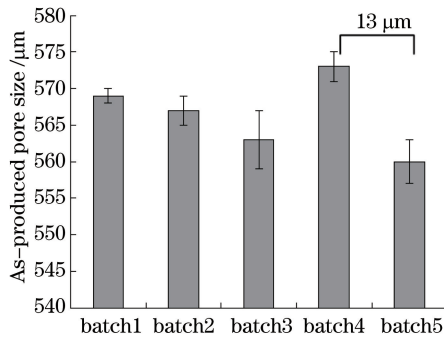


图 7 重复性实验孔隙尺寸结果

Fig. 7 Results of average pore size in repeatability experiments

因而, 可认为三维生物打印过程相对时间变化是精确可控的。图 8 所示为打印支架的实际 PS、VP、PSA、PV 值与设计 PS 值的相关性, 经验相关分析结果呈现良好的线性相关性, 表明打印支架的孔径、孔隙率、表面积、体积与设计的孔径有较好的线性关系。采用一阶线性函数拟合, 所得经验相关函数可以作为再次打印的输入函数来反馈调整支架的设计。

3.2 验证设计限制反馈的有效性

为了验证获取的经验相关函数是否可按照设计的形态特性打印多孔结构, 重新设计平均孔隙尺寸为 300 μm 和 700 μm 的多孔结构打印过程, 并各自重复打印 5 次。以第一次支架打印的形态差异为输入, 结合图 8 的迭代分析, 进行第二次支架打印, 再次打印后的成像结果如图 9 所示。对比 po300 和 po700 支架前后两次打印的 OCT 图像(图 3 中 C1、D1、E1、C5、D5、E5 和图 9 中 A1~A3、B1~B3), 可以看出后者图像(XZ 面、YZ 面)水凝胶灰色区域的横截面柱高度一致且无粘连, XY 面(图 9 中 A3、B3)表面较平滑且保持了正方形的孔隙形状, 孔隙尺寸更接近期望值。同时对比分析前后体绘制三维重建图(图 3 中 F1、F5 和图 9 中 A4、B4), 分析可知改进后打印支架孔隙部分和实体支撑部分的形状与预设形状一致, 没有出现相邻孔隙的粘连或堵塞。

根据经验相关函数并优化三维打印工艺后再次制备支架 po300 和 po700, 图 10 对比分析了支架定量参数。可以看出, 与第一次打印相比, 改进后打印支架的测量值与预设值间的差异明显缩小, 变化范围为

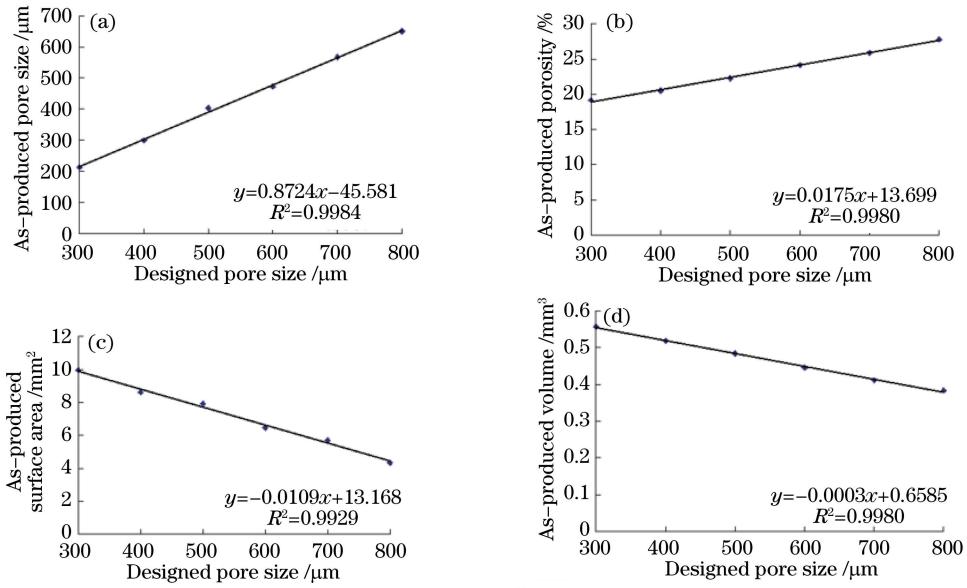


图 8 利用 OCT 图像分析得到的各参数与 6 个不同预设孔隙尺寸的相关函数。

(a)实际孔隙尺寸；(b)实际孔隙率；(c)实际孔隙表面积；(d)实际孔隙体积

Fig. 8 Correlation between morphological parameters and designed pore sizes obtained by OCT image analysis.

(a) As-produced pore size; (b) as-produced porosity; (c) as-produced surface area; (d) as-produced structure volume

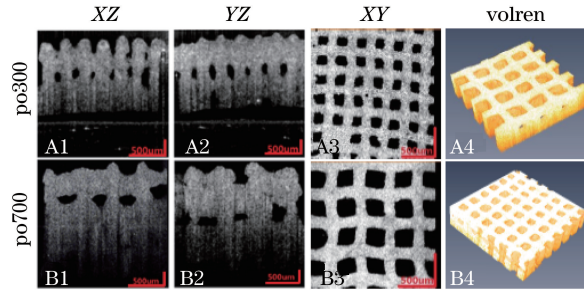


图 9 第二次支架打印的成像结果

Fig. 9 OCT images of reprinted scaffold structures

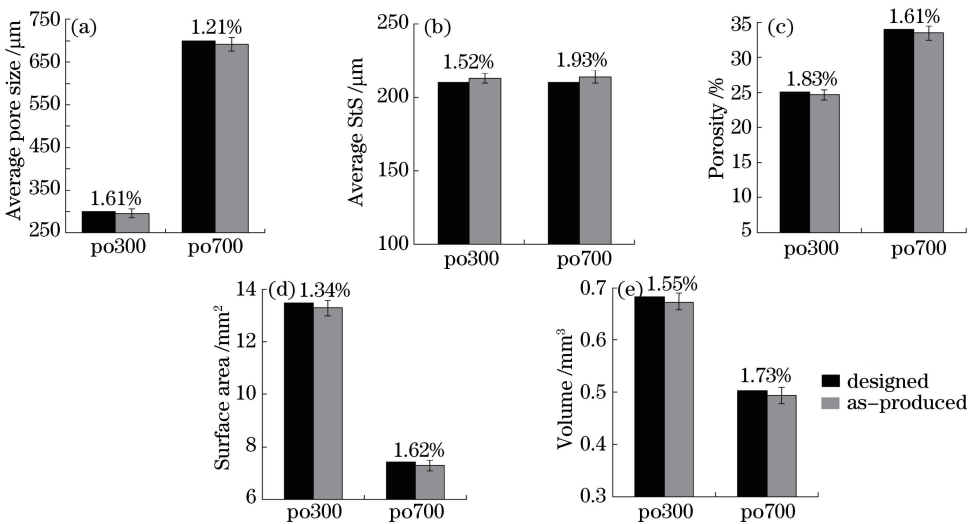


图 10 迭代改进后再次打印支架的参数对比分析。(a) 孔隙尺寸；(b) 实体支撑尺寸；
(c) 孔隙率；(d) 孔隙表面积；(e) 孔隙体积

Fig. 10 Parameter analysis for reprinted scaffolds after improvement. (a) Average pore size; (b) strut size; (c) porosity; (d) surface area; (e) volume

1%~2%,充分证明该方法能有效降低水凝胶支架平均孔隙尺寸的不一致。

4 结 论

提出了一种精准控制三维生物打印水凝胶支架几何机构的方法,并验证了该方法的可行性。用三维生物打印技术制备了6种不同孔隙尺寸的水凝胶支架;基于三维OCT图像分析技术,显示了三维生物打印明胶/海藻酸钠水凝胶支架制造与设计间显著的形态差异;分析得到打印支架孔径、孔隙率、表面积、孔体积与设计孔径间的经验相关函数,函数表现出较好的线性关系,证明利用经验相关函数预测和精准控制打印是可行的。该方法是优化支架设计、定量控制三维生物打印过程的有力工具,为改进三维生物打印技术、精准控制三维生物打印过程提供了理论和技术支持,对推动功能性人工组织器官的制造具有参考价值。

参 考 文 献

- van Bael S, Chai Y C, Truscetto S, *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 Biomaterials*, 2012, 8(7): 2824-2834.
- Billiet T, Vandenhaute M, Schelfhout J, *et al.*. A review of trends and limitations in hydrogel-rapid prototyping for tissue engineering[J]. *Biomaterials*, 2012, 33(26): 6020-6041.
- Liu Feng, Zhang Renji, Yan Yongnian, *et al.*. Rapid prototyping of gelatin/sodium alginate tissue engineering scaffolds[J]. *Journal of Tsinghua University (Science and Technology)*, 2006, 46(8): 1357-1360.
刘 丰, 张人佶, 颜永年, 等. 明胶/海藻酸钠组织工程支架的快速成型[J]. *清华大学学报(自然科学版)*, 2006, 46(8): 1357-1360.
- Mironov V, Kasyanov V, Markwald R R. Organ printing: From bioprinter to organ biofabrication line[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2011, 22(5): 667-673.
- Xu M E, Wang X H, Yan Y N, *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(22): 3868-3877.
- Yan Y N, Wang X H, Pan Y, *et al.*. Fabrication of viable tissue-engineered constructs with 3D cell-assembly technique[J]. *Biomaterials*, 2005, 26(29): 5864-5871.
- Fedorovich N E, Dewijn J R, Verbout A J, *et al.*. Three-dimensional fiber deposition of cell-laden, viable, patterned constructs for bone tissue printing[J]. *Tissue Engineering Part A*, 2008, 14(1): 127-133.
- Wang X H, Yan Y N Y, Pan Y, *et al.*. Generation of three-dimensional hepatocyte/gelatin structures with rapid prototyping system[J]. *Tissue Engineering*, 2006, 12(1): 83-90.
- Shim J H, Kim J Y, Park M, *et al.*. Development of a hybrid scaffold with synthetic biomaterials and hydrogel using solid freeform fabrication technology[J]. *Biomaterials*, 2011, 3(3): 034102.
- Wang Ling, Tu Pei, Shi Ran, *et al.*. Quantitative evaluation of three-dimensional bio-printed hydrogel scaffolds by optical coherence tomography[J]. *Chinese J Lasers*, 2015, 42(8): 0804003.
王 玲, 涂 沛, 石 然, 等. 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[J]. *中国激光*, 2015, 42(8): 0804003.
- Xu M E, Li Y, Suo H, *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.
- 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的高速三维扫描光学相干层析成像系统[J]. *中国激光*, 2014, 41(7): 0704001.
- Appel A A, Anastasio M A, Larson J C, *et al.*. Imaging challenges in biomaterials and tissue engineering [J]. *Biomaterials*, 2013, 34(28): 6615-6630.
- Guo Xin, Wang Xiangzhao, Bu Peng, *et al.*. Effects of scattering on spectral shape and depth resolution in Fourier domain optical coherence tomography[J]. *Acta Optica Sinica*, 2014, 34(1): 0117001.
郭 昕, 王向朝, 步 鹏, 等. 样品散射对频域光学相干层析成像光谱形状和深度分辨率的影响[J]. *光学学报*, 2014,

34(1): 0117001.

- 15 Billiet T, Gevaert E, Schryver T D, *et al.*. The 3D printing of gelatin methacrylamide cell-laden tissue-engineered constructs with high cell viability[J]. *Biomaterials*, 2014, 35(1): 49-62.
- 16 Khalil S, Nam J, Sun W. Multi-nozzle deposition for construction of 3D biopolymer tissue scaffolds [J]. *Rapid Prototyping Journal*, 2005, 11(1): 9-17.