

文章编号: 1001-3806(2010)06-0761-05

利用激光固化技术制作硬骨骼支架模型

刘福兴¹, 倪翠妍¹, 廖运炫²

(1. 龙华科技大学 工程技术研究所, 桃园 33306; 2. 台湾大学 机械工程学系, 台北 10617)

摘要: 为了使用选择性激光固化技术制作出符合生物兼容性与多孔性之硬骨骼支架, 利用医用陶瓷浆料具有的黏度支撑效果, 制作多孔性的骨骼支架模型; 以扫描电子显微镜观察支架固化、激光烧结以及高温处理后的微观组织结构, 利用原子力显微镜量测出表面粗糙度。结果表明, 医用陶瓷浆料所具有的黏度使支架容易成型, 使用 CO₂ 激光烧结后的微观结构呈固融化状, 经过高温处理后可提高支架之致密性, 使其表面粗糙度有增大的趋势, 有利于类骨母细胞之附着及成长。

关键词: 激光技术; 快速成型; 羟基磷灰石; 骨骼支架

中图分类号: TN249; TG665

文献标识码: A

doi: 10.3969/j.issn.1001-3806.2010.06.012

Fabrication of hard bone scaffold molds using selective laser curing technology

LIU Fwu-hsing¹, NI Tsui-yen¹, LIAO Yunn-shiuan²

(1. Graduate School of Engineering Technology, Lunghwa University of Science and Technology, Taoyuan 33306, Taiwan, China; 2. Department of Mechanical Engineering, National Taiwan University, Taipei 10617, Taiwan, China)

Abstract: In order to fabricate a porous hard bone scaffold mold with biological compatibility, it was made of hydroxyapatite based bioceramic because of the viscosity and support effect of bioceramic slurry. Then the microstructure of the solidified scaffolds after laser sintering and high-temperature post-process was observed with a scanning electron microscope. Furthermore, the surface roughness was measured with an atomic force microscope. The results show that the density and the surface finish of scaffolds can be increased after post process, which is good for the attachment and growth of osteoblast-like cells.

Key words: laser technique; rapid prototyping; hydroxyapatite; bone scaffold

引言

快速成型(rapid prototyping, RP)技术以层加工方式,结合材料科学、激光技术、CAD/CAM 等领域的技术,依造立体图形,可以制作出复杂的3维立体原型。RP技术能够藉所提供的图像或自行设计之复杂3维立体形状,直接制作出高孔隙度与相互连结的内连通孔支架的组织工程(tissue engineering, TE)支架^[1-3]。

组织工程技术是利用人体自身的细胞,藉由体外生物医学材料制作之支架来进行细胞培养及增生。依据医用陶瓷与动物体组织间之生物化学反应,可将生物医学材料分为:近生化惰性陶瓷、表面活性陶瓷及生物可吸收性陶瓷3类;其中表面活性陶瓷包含碳酸钙生物陶瓷,此种陶瓷主要包括磷灰石和磷酸三钙^[4]。

作者研究以选择性激光固化技术(selective laser curing, SLC)为加工基础,使用羟基磷灰石

(hydroxyapatite, HA)搭配 SiO₂ 溶胶,依比例调制出适当的医用陶瓷浆料状原料,制作出符合生物兼容性与多孔性之硬骨骼支架。

1 文献探讨

1.1 快速成型于组织工程之支架应用

快速成型技术制作骨骼支架具备的优点有:直接由医学影像经由软件重建设计出支架、利用 CAD 设计复杂的形状、自动化控制和加工、节省人力时间、不需使用有机溶剂等。RP技术除工程及科学的应用外,现今多数应用在医学上,以制作出义耳、透明齿列矫正器、人工关节等。相较于其它加工方式,如数控加工中心(computerized numerical control, CNC),RP技术具备了应用于制作支架的优势,它可制作出复杂且具有相连通孔的3-D实体^[3,5-6]。

快速成型技术包含利用激光选择扫描感光树脂的激光光固化成形法(stereo lithography apparatus, SLA)、以激光扫描溶解表面粉末材料的激光烧结技术、用喷头型式选择性喷涂树脂黏结剂的3维立体印刷术(three-dimensional printing, 3DP)、以线状材料加热溶解成形的溶解沉积法(fused deposition modeling, FDM)以及使用

作者简介:刘福兴(1965-),男,博士,副教授,主要研究方向为快速成型技术。

E-mail: fhliu@mail.lhu.edu.tw

收稿日期:2009-12-29;收到修改稿日期:2010-04-01

高分子黏结剂混合粉末材料制成薄片的薄片迭层法 (laminated object manufacturing, LOM)^[7]; 其中应用于组织工程之支架的制作方法以 3DP, FDM 与选择性激光烧结成形 (selected laser sintering, SLS) 加工方法居多。SLS 方法使用线扫描方式加工, 能够有效烧结有机粉末材料, 所制作的模型其内部组织可保持纳米结构^[8,9]。

1.2 氢氧基磷灰石特性

1951 年氢氧基磷灰石才被用于整形外科及牙科等生物医学材料领域^[10]。生物医学材料中钙磷酸盐是最常作为骨替代品的陶瓷材料。而人类骨头与牙齿是以无机材料和有机材料结合而成, 其中无机材料中的矿物质大部分为 HA 结晶, 具有生物兼容性和骨传导性, 氢氧基磷灰石在骨头中占有 60% ~ 70%, 牙釉质中占 98%, 当 pH 值大于 4.2 时, 氢氧基磷灰石属稳定相, 若 pH 值小于 4.2, 则为二钙磷酸盐 ($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)^[11-12]。

HA 化学式为 $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, 主要成分为钙 (Ca) 与磷 (P), 与生物骨的硬组织有相近的化学性质。HA 与人体骨头力学性能相比, HA 的断裂韧性比人体骨低, 因此不适合承受负载, 目前仅适用于耳骨及填充骨缺陷等方面^[11]。

HA 与骨骼间的键结是随植入的时间而改变, 植入的初期会形成蜂窝状的造骨细胞, 紧接着界面会形成约 $3\mu\text{m} \sim 5\mu\text{m}$ 的薄膜, 在此界面中可观察到细胞、胶原蛋白以及矿物质。一段时间过后, 键结厚度逐渐缩小到 $0.05\mu\text{m} \sim 0.2\mu\text{m}$, 有相当程度的矿化与动物的骨质相似^[13]。

HA 在医用陶瓷中属于表面生物活性陶瓷, 它具有良好的生物相容性, 结晶度较低, 能够促进骨质的再生, 常被用在人工植入材中, 是发展生物医学材料的主要方向。所以本研究中采用 HA 为材料制作骨骼支架。

2 加工研究

2.1 研究动机与目的

以快速成型技术为加工基础, 制作出组织工程用支架的方法, 如表 1 所示^[14-21]。使用 3DP 系统制作支架, 以 LAM 等人^[22]一文为例, 孔洞尺寸较难控制于 $100\mu\text{m} \sim 200\mu\text{m}$ 之间, 因材料会残留于孔洞中, 使孔洞间较少有互相连结之内连通孔, 具有堵塞之情形产生, 尺寸精确度欠佳; FDM 方式在制作过程中原料需不断加热, 因此在挤出过程中, 会因环境温度低于材料熔点, 使得材料会快速降解硬化, SLS 方式则多数为粉末材料, 只要是粉末状之材料均可使用此加工方式制作出所需之支架, 因此, 材料颗粒大小如远大于孔洞大小, 则会造成未经激光烧结之粉末原料会残留于内部, 不容易清除取出。

许多应用于生物医学组织工程之支架的研究, 多数倾向于快速成型技术做为加工方式, 以此技术控制支架中的孔洞间隙大小及多连通孔的复杂形状。本研究中利用 SLC 技术制作骨骼支架, 以 SLS 系统为加工方法之基础, 观察成品内部微观组织, 及加热到不同温度下之变化。并加以分析其试片经由高温加热后之表面粗糙度, 以确认其适合细胞增生。

Table 1 Comparison of various processing methods

author	processing method	principle	material	pore size/ μm	porosity/%
KIM ^[14]	3DP	bonding	PLGA	45 ~ 150	60
ZELTINGER ^[15]	3DP	bonding	PLA	<38 ~ 150	75, 90
ZEIN ^[16]	FDM	melting	PCL	160 ~ 700	48 ~ 77
KALITA ^[17]	FDM	melting	PP/TCP	150 ~ 200	36 ~ 52
XIONG ^[18]	PEM	melting	PLLA	500	60.30
AUC ^[19]	RPBOD	melting	chitosan/HA	400 ~ 1000	
MA ^[20]	SLS	sintering	TCP/epoxy/nylon	1 ~ 200	39 ~ 55
WILLIAMS ^[21]	SLS	sintering	PCL	1750 ~ 2250	37.5 ~ 55
this study	SLC	melting	HA-sol	1100 ~ 1230	

2.2 研究方法

以自行开发之快速成型机作为本研究之加工设备。原型机示意图如图 1 所示, 系统架构分为激光扫描系统、材料迭层系统和计算机控制系统 3 类。激光扫描系统包含 CO_2 激光机及振镜式 X-Y 激光扫描头, 材料迭层系统包含刮料机构及升降机构, 计算机控制系统与人机接口由 Visual Basic 程序撰写而成。

CO_2 激光光所提供的能量范围大, 只要是粉末状的陶瓷材料均可使用此加工光源做为烧结熔化成形, 激光功率则由激光控制卡控制; 振镜式 X-Y 激光扫描

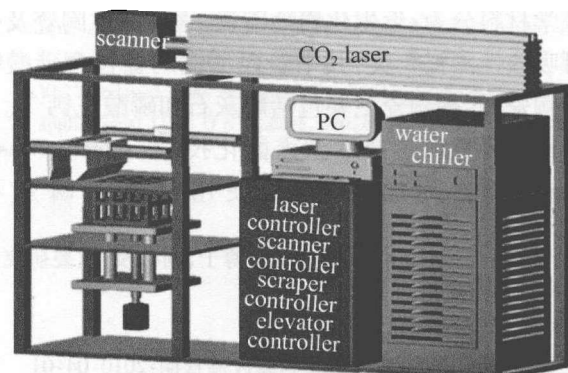


Fig. 1 Schematic of a rapid prototyping machine

头经由扫描控制卡控制激光欲扫描之路径;材料迭层系统经由可编程器控制供料及刮料机构。

2.3 研究步骤

2.3.1 支架设计 使用 Pro/Engineer 绘图软件,绘制 3 维立体支架模型及其内部结构,其图形设计为 0/90° 长条形、网格形两种形式,如图 2 所示。再以切层软件转换为快速成型系统可读取之 STL 文件格式。

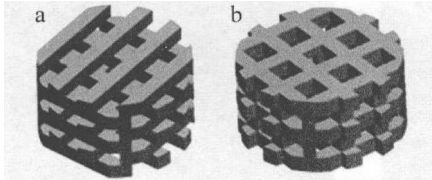


Fig. 2 Schematic of bone scaffold models
a—0/90° rectangular b—grid-shaped

2.3.2 材料调配 依比例将氢氧化磷灰石与 SiO₂ 溶胶混合,并充分搅拌均匀,使其成为黏稠浆料状,以调制出适宜 CO₂ 激光光加热烧结之配方。浆料的比例成分会影响其支架成功率,过于黏稠使支架成型不易,反之,太稀释会使支架容易塌卸;并加以分析其浆料黏稠度随时间的变化。

本研究中使用 SiO₂ 溶胶为浆料之黏结剂,因溶胶具有黏度的性质,与粉末间混和可具有良好的结合力及流动性,使在后处理过程中,能够轻易地将浆料冲洗干净,使孔洞不因清除困难而造成堵塞^[23]。

2.3.3 激光扫描 在人机接口中,设定激光扫描速率、激光频率及激光功率。以 3 种变量来控制支架,并加以观察其相关性。已搅拌均匀之浆料,装置于供料器中,由供料器铺平于工作平台上,如图 3a 所示;再利用刮料器将浆料铺平,形成一薄膜面,如图 3b 所示。

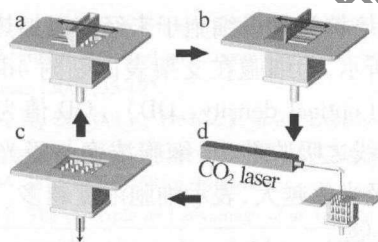


Fig. 3 Schematic of the laser scanning processes

此薄膜面即为激光欲扫描之基准面;本研究之扫描系统是由 25W 的 CO₂ 激光管及振镜式 X-Y 激光扫描头

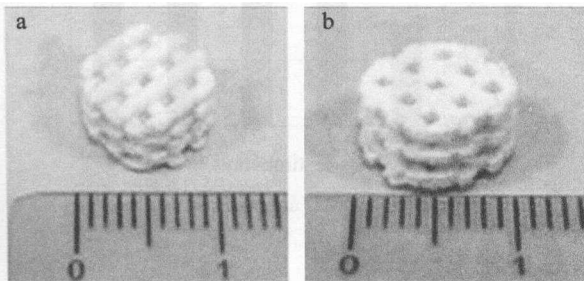


Fig. 4 The finished bone scaffold models
a—0/90° rectangular b—grid-shaped

构成。将支架设计图转换成线段相互重叠之 2 维图形,即形成欲激光扫描之面积,如图 3d 所示;2 维图形经由激光扫描后,Z 轴平台则下降一层,如图 3c 所示,此层厚度为预铺料的厚度,原型机系统默认值设定为每层厚 0.1mm。重复上述步骤,即可堆栈出如图 4 所示的 3 维立体支架结构图。

2.3.4 测试方法与分析 制作 5 片厚 1.5mm × 长 10mm × 宽 10mm 之试片,原料为氢氧化磷灰石混合 SiO₂ 溶胶(质量分数比为 0.25:0.75),测试方法分别为固化、激光烧结,以及高温加热 800℃,1000℃,1200℃,恒温 2h。浆料混合均匀后,置于黏度计中观察其黏稠度对时间的关系性;使用原子力显微镜(atomic force microscope, AFM)测试出表面粗糙度;用扫描式电子显微镜(scanning electron microscope, SEM)观察内部结构。

3 结果与讨论

3.1 医用陶瓷浆料之黏稠度分析

以 HA 与 SiO₂ 溶胶依比例(质量分数比为 0.25:0.75)混合均匀,使用黏度计测试浆料与时间之相互关系。如图 5 所示,浆料随时间的增长,黏度越黏稠;测试之

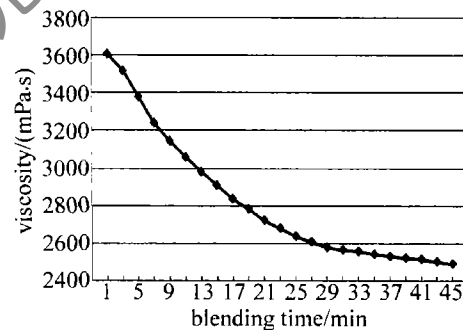


Fig. 5 The relationship between viscosity and blending time

结果,使用 10r/min 为主轴转速,黏度值最大范围可达到约 5999mPa · s。在 25min 开始,黏度值黏稠趋势变缓慢,由此可知黏度从 25min 开始变得更加黏稠,黏度最适宜之稳定范围在 30min ~ 45min,以此稳定范围做为浆料加工之黏稠度。

3.2 骨骼支架模型制作

依照自行设计绘制之支架模型,应用切层软件将其切层为符合原型机读取之 STL 文件格式,将模型层层堆栈使之成为实体支架(见图 4)。图 4a 所示为 0/90° 长条状相互交迭之支架,其支架尺寸为直径 10mm × 高 6mm,孔洞间距约为 1.11mm ~ 1.23mm;图 4b 所示为网格状实体支架,支架尺寸为直径 10mm × 高 5mm,孔洞间距约为 1.14mm ~ 1.2mm。

3.3 微观结构分析

混合均匀之浆料,置于室温下使其浆料固化,未经

激光烧结的固化表面层,大部分含有氢氧基磷灰石颗粒;以激光扫描速率 85mm/s、激光功率 24.5W、激光频率 10kHz 激光烧结浆料后,未经高温加热之试片,如图 6a 所示,经由激光烧结之 HA/sol 形成固熔化状态,表面含有氢氧基磷灰石颗粒;应用高温炉加热到 800℃,如图

6b 所示,HA/sol 产生局部致密化,周围多处依然为固熔化状态,表面尚有氢氧基磷灰石颗粒;当试片再加热到 1200℃时,如图 6c 所示,支架表面结构缜密且表面细孔均匀分布。高温加热后之支架,因其结构变得致密化,能使强度增强,改善支架之机械性质。

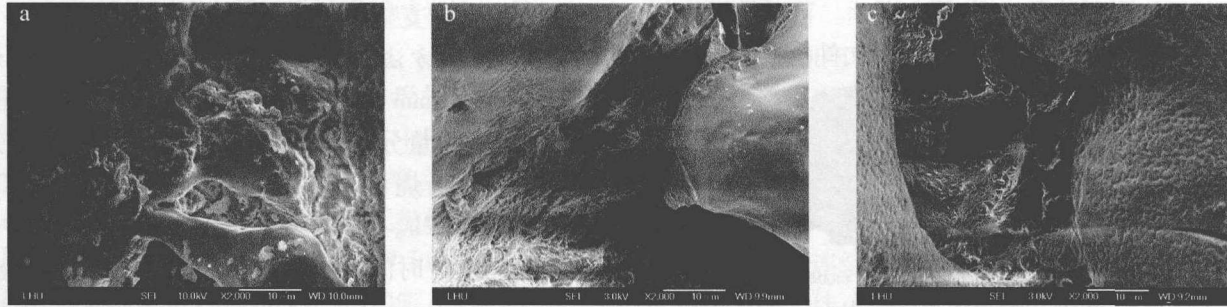


Fig. 6 The SEM micrographs of HA-sol

a—before high-temperature heating b—heating at 800℃ c—heating at 1200℃

3.4 表面粗糙度分析

使用原子力显微镜,测试出加热到 800℃,1000℃ 以及 1200℃ 之试片的表面粗糙度,其表面粗糙度如表 2 所示。

高温加热后之试片,因温度之不同,其表面粗糙度亦有所不同,当受热温度越高,其表面粗糙度越大,由图 7 所示之表面形态图可知,加热 1200℃ 之试片(见图 7c)表面较加热 800℃ 之试片(见图 7a)均质致

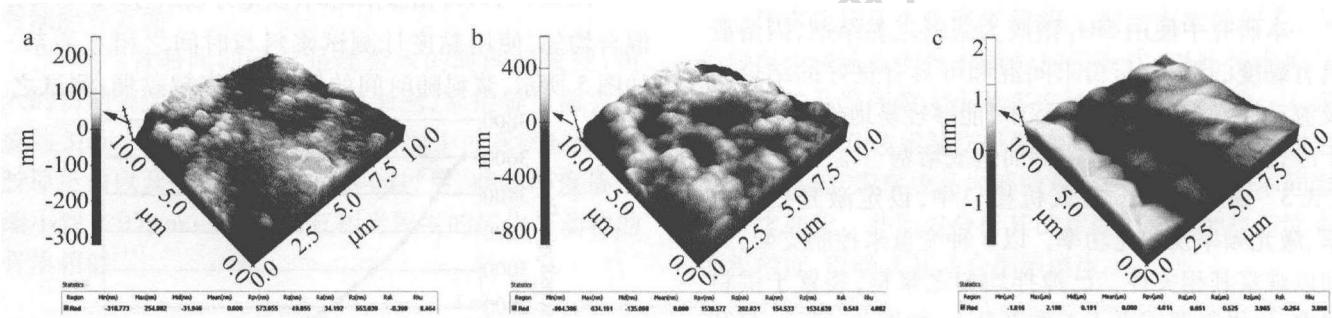


Fig. 7 The AFM surface image of HA-sol

a—heating at 800℃ b—heating at 1000℃ c—heating at 1200℃

Table 2 The surface roughness of HA-sol specimens

temperature/℃	root mean square roughness R_q /nm	average roughness R_a /nm
800	49.855	34.192
1000	202.831	154.533
1200	651	525

密化。表面粗糙度与骨整合有密切之关系,粗糙面大小影响着蛋白质可吸附的程度、促进细胞附着分子的附着、骨母细胞活性增加的多寡等。由 DELIGIANI^[24] 等人研究骨髓细胞,发现细胞经过 0.5h 和 2h 贴附后,粗糙度越大的表面,细胞贴附数目越多。由此可知,本研究所制作出之支架,经过高温加热后,其表面粗糙度之 R_a 值可达到 525nm,相较之下,已具有细胞附着能力。

3.5 细胞活性分析

骨母细胞为骨髓中的骨细胞增生分化而成,位于硬骨组织表面,有缝隙联结构造,可与邻近的造骨细胞

互相连结。培植类骨母细胞于未经高温加热试片之结果,如图 8 所示,为细胞在支架表面贴附 4d 后之光学密度吸光值(optical density, OD)。OD 值为单位距离的物质对光线之吸收能力,细胞浓度与吸光值成正比关系,即当吸光值越大,表示细胞浓度越多。

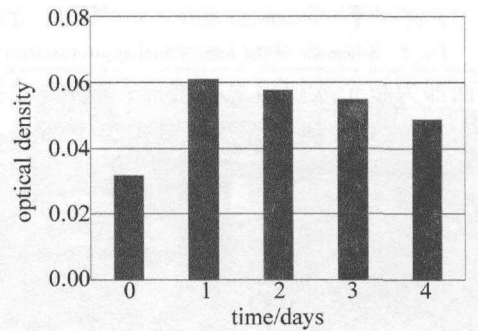


Fig. 8 OD of cells after four-day culture

4 结论

以选择性激光固化技术制作之支架,成型性相较

于其它制造过程较为简易,使用 SiO₂ 溶胶为黏结剂,因其特性使得成品孔洞不造成堵塞。由 SEM 显示出 HA 与 silica 具有互相融合之结合力,经由 CO₂ 激光烧结过后,因材料对激光的吸收率大,使得微观结构多处为固融化状态,但其致密性有待加强;经加热至 1200℃ 时,其微观结构已均匀的致密化,使支架机械性质加强。

AFM 显示出,试片加热至 1200℃ 具有较高的致密性,且使表面粗糙度增高,可使细胞贴附于表面之数目越多。由实验结果显示,所研究的 SLC 技术,可制作出组织工程用之支架模型,其孔洞范围有待缩小符合细胞培植增生之尺寸,而且经由 OD 值验证,本加工方法具有细胞附着增生之成效。

参 考 文 献

- [1] COOPER K G. Rapid prototyping technology: selection and application, mechanical engineering [M]. New York: Marcel Dekker, 2001:1-4.
- [2] JACOBS P F. Rapid prototyping & manufacturing fundamentals of stereo-lithography[M]. New York: Society of Manufacturing Engineers,1992:381-416.
- [3] HUANG J P. Using FCDM system for fabricating tissue engineering scaffolds[D]. Taipei: Central University, 2005:5-14(in Chinese).
- [4] HULBERT S F, BOKROS J C, HENCH L L, *et al.* Ceramics in clinical applications, past, present and future[M]. Amsterdam: Elsevier Science Publishers,1987:3-27.
- [5] CHIANG Y W. Application of porous poly(L-lactide)/hydroxyapatite composites as bioabsorbable materials: preparation and its properties [D]. Taipei: Taipei Medical University Institutional Repository, 2000: 1-12(in Chinese).
- [6] PENG R Sh, WANG J B, YAO Q Zh. Application study of rapid prototyping manufacturing in medical[J]. Chinese Journal of Lasers, 2005, 29(3):87-88(in Chinese).
- [7] CHUA C K, LEONG K F, LIM C S. Rapid prototyping: principles and applications[M]. 2nd ed. Singapore: World Scientific Publishing Company,2003:35-193.
- [8] ZHANG J H, ZHAO J F, TIAN Z J, *et al.* Experimental research of selective laser sintering of nano-Al₂O₃ [J]. Chinese Journal of Lasers,2004,28(5):455-458(in Chinese).
- [9] ZHU L Q. The principle and advantage of an innovative line scanning SLS RP system[J]. Chinese Journal of Lasers,2002,22(3):305-308(in Chinese).
- [10] CHAI C S, BEN-NISSAN B. Bioactive nanocrystalline sol-gel hydroxyapatite coating[J]. Journal of Materials Science: Materials in Medicine,1999,10(8):465-469.
- [11] SUN J S, TSUANG Y H, LIAO C J, *et al.* The effects of calcium phosphate particles on the growth of osteoblasts[J]. Journal of Biomedical Materials Research,1997,37(3):324-334(in Chinese).
- [12] RATNER B D, HOFFMAN A S, SCHOEN F J, *et al.* Biomaterials science-an introduction to materials in medicine[M]. San Diego: Academic Press, 1996: 105-118.
- [13] de GROOT K. Bioceramics of calcium phosphate [M]. Florida: CRC Press, 1983: 79-97.
- [14] KIM S S, UTSUNOMIYA H, KOSKI J A, *et al.* Survival and function of hepatocytes on a novel three-dimensional synthetic biodegradable polymer scaffold with an intrinsic network of channels[J]. Annals of Surgery,1998,228(1):8-13.
- [15] ZELTINGER J, SHERWOOD J K, GRAHAM D A, *et al.* Effect of pore size and void fraction on cellular adhesion, proliferation, and matrix deposition[J]. Tissue Engineering,2001,7(5):557-572.
- [16] ZEIN I, DIETMAR W H, KIM Ch T, *et al.* Fused deposition modeling of novel scaffold architectures for tissue engineering applications [J]. Biomaterials,2002,23(4):1169-1185.
- [17] KALITA S J, BOSE S, HOSICK H L, *et al.* Development of controlled porosity polymer-ceramic composite scaffolds via fused deposition modeling [J]. Materials Science and Engineering, 2003, C23(5):611-620.
- [18] XIONG Zh, YAN Y N, WANG Sh G, *et al.* Fabrication of porous scaffolds for bone tissue engineering via low-temperature deposition [J]. Scripta Materialia, 2002, 11(7):771-776.
- [19] AUG T H, SULTANA F S A, HUTMACHER D W, *et al.* Fabrication of 3-D chitosan-hydroxyapatite scaffolds using a robotic dispensing system[J]. Materials Science and Engineering,2002, C20(1/2):35-42.
- [20] MA B G, LIN L L, HUANG X X, *et al.* Bone tissue engineering using β-tricalcium phosphate scaffolds fabricated via selective laser sintering [J]. International Federation for Information Processing, 2006,207:710-716.
- [21] WILLIAMS J M, ADEWUNMI A, SCHEK R M, *et al.* Bone tissue engineering using polycaprolactone scaffold fabricated via selective laser sintering[J]. Biomaterials,2005,26(23):4817-4827.
- [22] LAM C X F, MO X M, TEOH S H, *et al.* Scaffold development using 3-D printing with a starch-based polymer[J]. Materials Science and Engineering,2002, C20(1/2):49-56.
- [23] LIU F H. Method and equipment of forming porous bio-ceramic bone scaffold: Taiwan,098135507 [P]. 2009(in Chinese).
- [24] DELIGIANNI D D, KATSALA N D, KOUTSOUKOS P G, *et al.* Effect of surface roughness of hydroxyapatite on human bone marrow cell adhesion, proliferation, differentiation and detachment strength [J]. Biomaterials, 2001, 22(1):87-96.