

유화동결 건조방법에 의한 튜브형태의 다공성 PLGA 지지체의 제조

강길선* · 전주형 · 조진철 · 이해방†

한국화학연구소 생체고분자실, *전북대학교 고분자공학과
(1999년 2월 12일 접수)

Fabrication of Tubular Porous PLGA Scaffold by Emulsion Freeze-drying Method

Gilson Khang*, Ju Hyeong Jeon, Jin Cheol Cho, and Hai Bang Lee†

Biomaterials Laboratory, Korea Research Institute of Chemical Technology,
P. O. Box 107, Yusong, Taejeon 305-343, Korea

*Department of Polymer Science and Technology, Chonbuk National University,
664-14, Dukjin Dong 1 Ga, Dukjin Ku, Chonju 561-756, Korea

†e-mail : hblee@pado.kriict.re.kr

(Received February 12, 1999)

요약: 인체조직 중에서 비교적 높은 빈도수를 찾아 볼 수 있는 장기의 형태인 튜브형태의 다공성 poly(L-lactide-co-glycolide) (75:25 by mole ratio of lactide to glycolide, PLGA) 지지체를 세포조직공학에 응용하기 위하여 유화동결 건조법으로 제조하였고 이들의 물성을 수은다공도계, 전자현미경 및 이미지분석으로 특성결정하였다. PLGA 농도 및 물의 양을 조절하여 제조된 PLGA 지지체의 기공도는 90% 이상이었으며 평균 기공크기 범위는 10~30 μm 그리고 가장 큰 것으로는 100 μm 이상의 것도 관찰되었다. 또한 비기공 면적은 27~31 (m^2/g)에 걸쳐 있었으며 기공과 기공사이의 연결은 세포가 성장하기에 적합한 연결된 구조로 확인되었다. 평균 기공크기와 여타의 물성은 PLGA 용액의 농도 및 유화를 생성할 때 첨가되는 물의 양에 의하여 비교적 용이하게 조절되었다. 본 연구의 이러한 결과는 기공의 구조 생성에 있어서 유화 제조시 유화의 안정화보다는 불안정화가 우세하게 기여함을 알 수 있었다.

ABSTRACT: A novel emulsion freeze-drying method for fabrication of tubular porous poly(L-lactide-co-glycolide) (75:25 by mole ratio of lactide to glycolide, PLGA) scaffold has been proposed for the application to tissue engineering. Tubular PLGA scaffolds obtained were characterized by mercury porosimetry, scanning electron microscopy and image analysis. PLGA scaffolds with porosity above 90%, medium pore size ranging from 10 to 30 μm with larger pore diameters greater than 100 μm , and specific pore area in the range of 27 to 31 (m^2/g) were manufactured by varying processing parameters as PLGA concentration and water volume fraction. It was observed that PLGA scaffolds were highly porous with good interconnections between pores for allowing cell adhesion and growth. It was suggested that the mechanism of the formation of pore may be related to emulsion unstability rather than emulsion stability. It might be concluded that this novel scaffolds may be applicable for tubular organ structures to facilitate tissue regeneration or repair in tissue engineering.

Keywords: tubular porous PLGA scaffolds, emulsion freeze-drying, tissue engineering, pore structure.

서 론

인체 장기의 일부가 병들어 기능을 못하게 되면 최종적으로 장기 기증에 의한 이식이 해결 방법이 될 수밖에 없다. 그러나 이러한 장기 기증의 숫자가 극도로 제한적이어서 최근에는 세포조직공학(tissue engineering)에 의한 인체 장기의 재생 연구가 활발히 전개되고 있다. 세포조직공학에 의한 새로운 조직은 체외에서 배양된 세포들과 생체재료의 조합으로 재건된다.^{1,2} 생체재료의 역할은 특정 장기의 세포를 이식할 수 있는 장소와 조직재생으로 유도할 수 있는 장소를 제공하는 것이다.³ 대부분 다공성 지지체(porous scaffold)로 제조되어지는 생체재료는 이식 후에 주위의 조직의 세포들로부터 새로운 조직의 형성을 유도하는 특정한 생물학적 인자들을 전달하는데도 이용된다.⁴ 이러한 지지체를 제조하는데 이용되는 생체재료들은 합성고분자, 무기재료 및 천연재료 등이 사용된다. 이들 중 합성고분자 중에서도 생분해성 고분자는 이식된 세포들의 일시적인 지지체와 이렇게 세포들이 증식과 성장을 할 수 있는 장소를 제공함으로써 세포간질(extracellular matrix, ECM)을 분비할 수 있게 하며 궁극적으로는 완전한 천연 조직 대체물로의 역할을 하게 된다.⁵ 이렇게 생성된 ECM 단백질들(예: 로콜라겐, 글리코사이노글리칸 등)의 우수한 점은 특정 장기의 형태와 성능에 대하여 쉽게 맞출 수 있다는 점이다. 예를 들면 귀모양의 형태를 만들면 물렁뼈세포는 분해성 고분자 위에서 성장하면서 ECM을 배출하고 동시에 귀모양의 형태의 생분해성 고분자는 분해되어 결국에는 물렁뼈만 남게 된다.⁶

현재 가장 많이 사용되고 있는 생분해성 고분자 중의 하나는 poly(α -hydroxy acid) 계열의 폴리락타이드(poly lactide, PLA), 폴리글리콜라이드(polyglycolide, PGA) 및 이들의 공중합체 poly(lactide-co-glycolide) (PLGA) 등인데 이 이유는 생분해성 고분자로는 유일하게 미국의 식품의약안전청에서 허가를 받았으며,⁷ 생분해 기간을 자유자재로 조절할 수 있고,⁸ 또한 비교적 좋은 생체적합성을 갖고 있기 때문이다.⁹ 이들 고분자들은 인체 내에서 가수분해 반응에 의하여 최종적으로 이산화탄소와 물로 분해되어 체외로 배출되기 때문에 이 물질이 체내에서 일으키는 여러 가지 부작용을 최소화시킨다.^{10,11}

이들은 흡수성 봉합사,¹² 뼈고정용판, 볼트¹³ 및 서방성 의약제제¹⁴ 등에서 널리 사용되고 있다.

이상적인 지지체가 가져야 할 필수조건들은 생체막 및 인체의 조직과 유사한 세포배양에 필요한 배양액과 세포들의 배설물의 확산에 필요한 다공도, 체내 하중에 견뎌내야 할 충분한 기계적 강도, 세포들의 접착 및 성장이 가능한 표면 화학적 성질, 기공의 마이크로와 마크로적인 구조, 크기 및 형태 등이다.^{1,2,5,15} 섬유아세포가 가장 잘 자라는 기공의 크기는 20 μm 내외,¹⁶ 피부세포 및 물렁뼈세포 등은 20~125 μm ¹⁷ 및 뼈세포는 50~250 μm 인 것으로 보고되고 있다.¹⁸

인체조직 중에서 비교적 높은 빈도수로 찾아 볼 수 있는 장기의 형태로는 튜브형태의 것인데(예: 내장, 혈관, 기관, 요도관 및 뼈)¹⁹ 이들 다공성 지지체를 제조하는 방법은 PGA 부직포,¹⁹ 상분리,²⁰ 용매증발,²¹ 용매캐스팅/염추출법²² 및 CO₂ 팽창법²³ 등으로 사각형의 다공성 지지체를 제조한 후 원하는 크기로 원통형태로 갈아서 맞닿은 부분을 PGA사로 봉합 또는, 용매 등으로 녹여 접합하는 방법 등이다. 그러나 이들 방법은 접합부분의 물성이 변화되는 등의 단점이 생성되며 이들 지지체내에 수용성 약물(항생제, 성장인자 등)을 첨가시킬 수 없다는 점이다. 따라서 본 연구에서는 이들의 단점을 극복하는 새로운 방법으로 튜브형태의 물드를 이용하여 유화동결 건조방법(emulsion freeze-drying method)으로 튜브형태의 다공성 PLGA 지지체를 제조하였고 이들의 물성을 수은다공도계(mercury porosimetry analysis), 전자현미경(scanning electron microscopy, SEM) 및 이미지분석(image analyzer)으로 특성 결정하였다.

실 험

시 료. 단량체인 L-락타이드와 글리콜라이드는 Boehringer-Ingelheim (Germany)에서 구입하였으며, 개시제인 stannous 2-ethylhexanoate는 Wako Chem. Co.의 것을 사용하였다. 툴루엔(Junsei Chem. Co., Japan), 메틸렌클로라이드(MC, Tedia Co. Inc., USA)와 메틸알콜(Junsei Chem. Co., Japan), 유화제인 sorbitan monooleate (Span 80, 덕산제약(주))은 그대로 사용하였다.

PLGA의 합성 및 특성 결정. 75 몰퍼센트 락타이드

와 25 몰퍼센트 글리콜라이드의 혼합물 30 g을 중합관 (30 mm 직경, 35 cm 길이)에 넣고 진공 하에서 60 °C로 2시간 동안 가열하여 수분을 제거한다. 톨루엔에 용해되어 있는 stannous 2-ethylhexanoate를 150 ppm을 취하여 중합관에 가하고 분당 100회전으로 교반하며 온도를 165 °C로 상승시킨 후 4.5시간 동안 반응시킨다. 연한 갈색의 PLGA 공중합체는 MC를 양용매로 과량의 메틸알콜을 난용매로 2회 정제하였으며 진공건조하여 사용 전까지 진공오븐에 보관하였다. 본 중합과정은 전보에 상세히 나타내었다.^{8,9,14}

중합된 PLGA를 특성결정하기 위하여 겔투과 크로마토그래피를 사용하였다. 사용된 기종은 Waters Chromatographs 200이었으며 6 μ m Styragel[®]이 충전된 컬럼의 기공크기는 10⁵, 10⁴, 10³ 및 500 Å 이었다. 사용된 용매는 tetrahydrofuran이었으며 온도, 유량 및 측정체적은 각각 30 °C, 1 mL/min 및 15 μ L이었다. 분자량을 보정하기 위하여 단분산성의 폴리스티렌 표준 물질을 사용하였다. 중합 정제된 PLGA의 분자량 및 분자량 분포는 50000~70000 g/mole 및 1.5~1.9 범위에 있었으며, 재현성은 실험 오차 범위내에서 양호하였다.

튜브형태의 PLGA 다공성 지지체의 제조. 유화동결 건조방법에 의한 지지체 제조 모식도를 Fig. 1에 나타내었다. 우선 원하는 튜브형태의 몰드를 테프론으로 제조한다. 본 연구에서는 내경 4 mm, 외경 8 mm 및 길이 5 cm인 몰드를 제작하였는데 외부 몰드는 테프론으로 2조각으로 하여 분해가 용이하게끔 하였으며, 내부 몰드는 스테인레스봉에 실리콘 고무를 코팅하여 사용하였다(Fig. 2).

우선 PLGA (분자량 : 65000 g/mole, 분자량 분포 : 1.69)를 MC에 임의의 농도로 용해한 후 이들을 적당한 농도로 초순수와 혼합한다. 이들 실험조건은 Table 1에 나타내었다. 두 비혼합상을 유화시키기 위하여 sonicator를 사용하였는데 출력은 10 W, 그리고 30초 동안 유화시켰다. 이 과정에서 유화제의 효과를 살피기 위하여 0.1 v/w%의 Span 80을 혼합하였다. 이 유화액을 재빨리 미리 -198 °C의 액체질소로 냉각시켜 놓은 테플론 몰드에 부어 충분히 급냉시킨 후 30 mTorr 및 -55 °C의 조건에서 동결건조시킨다. 잔류용매인 MC를 충분히 제거시키기 위하여 최소 일주일 이상 건조시킨다.

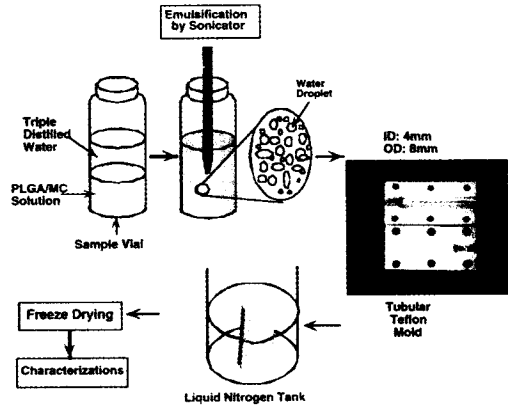


Figure 1. Schematic diagram illustrating of the fabrication process for tubular PLGA scaffolds by emulsion freeze-drying method.

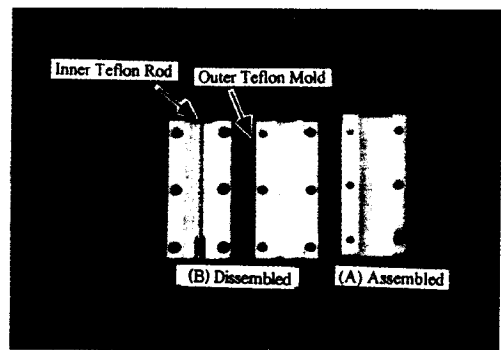


Figure 2. Teflon mold used in this study; (A) assembled and (B) disassembled.

Table 1. Processing Variables for Fabrication of Tubular PLGA Scaffolds

sample No.	PLGA concentration (w/v%)	volume of PLGA solution to water (v/v%)	remark
1	5	70	not formed
2	5	60	"
3	10	70	formed
4	10	60	"
5	20	70	too dense
6	20	60	"

SEM에 의한 기공도의 분석. 유화동결 건조법으로 제조되어진 다공성 PLGA 지지체를 SEM으로 관찰

하였다. 날카로운 면도칼로 측정부위를 $5 \times 5 \times 1$ mm (두께)의 크기로 절단하여 양면테이프를 이용하여 샘플폴더에 고정시킨 후 플라즈마 스퍼터리 (Emscope, Model SC 500K, UK)를 이용하여 200 Å 두께의 백금코팅하여 SEM (Joel Co., Model JSM-840-A, Japan) 사진을 얻었다. 얻어진 각 부위의 SEM 사진을 NIH 1.59 Image 분석 프로그램을 이용하여 기공크기를 측정하였다.

수은다공도계 분석. 다공성 PLGA 지지체의 기공 크기 분포, 비기공 면적, 평균 기공직경 및 다공도를 측정하기 위하여 수은다공도계 (Micromeritics Co., Model AutoPore II 9220, USA)를 이용하였다. 사용된 PLGA 지지체의 질량, 측정수은 체적, 수은압력 및 최대압력은 각각 0.1 g, 6.7~7.3 mL, 3.4 KPa 및 414 MPa이었다. 수은압력 (P)과 기공 반지름 (r)의 관계는 다음의 Washburn 식²⁴

$$r = -2\gamma \cos \theta \cdot P \quad (1)$$

에 의해서 정의된다. 여기서 γ 는 수은 표면장력으로 485 dyne/cm를 사용하였으며 θ 는 수은과 PLGA 표면의 접촉각인데 contact angle goniometer (Model 100-0, Rame-Hart Inc., USA)를 이용하여 실측한 결과 160° 이었다.²⁵⁻²⁷

결과 및 고찰

튜브형태의 다공성 PLGA 지지체를 유화동결 건조방법에 의해서 제조하였다. 조직공학에 응용하기 위하여 가장 중요한 물성중의 하나인 다공성은 PLGA 용액과 물을 혼합하여 제조되는 유화액의 조성변화에 의해 조절할 수 있다. 즉, PLGA 용액의 농도와 PLGA 용액과 물의 혼합비가 다공도 평균 기공크기, 표면체적비 및 기공형태에 대하여 영향을 미친다.

Fig. 3에는 본 연구에 의해서 제작된 튜브형태의 다공성 PLGA를 나타내었다. 외형적인 모습은 물드의 빈공간과 거의 똑같은 튜브형태로 얻어졌으며 수축, 부풀림, 불규칙한 크기의 기공 및 여타 결함이 없는 것으로 관찰되어 본 연구 목적과 잘 부합되는 것으로 나타났다. PLGA의 농도와 PLGA 용액과

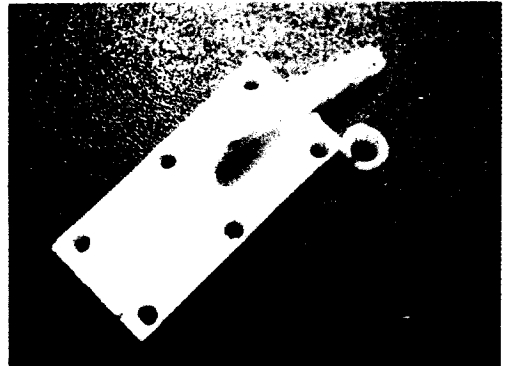
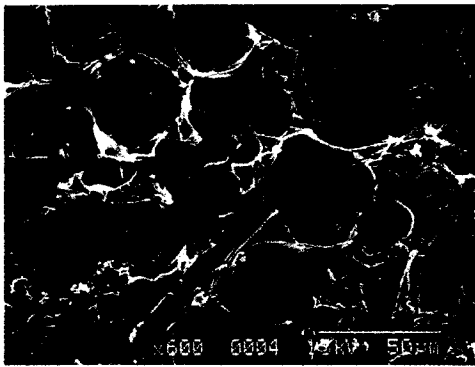


Figure 3. Fabricated tubular PLGA scaffolds.

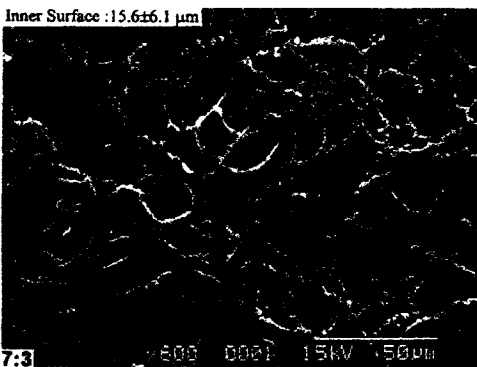
물의 체적비에 따른 다공성 지지체의 생성여부 결과를 Table 1에 나타내었다. Sample No. 1, 2, 5 및 6에서는 다공성 지지체가 생성되지 않음을 나타내고 있다. No. 1, 2인 경우에는 PLGA 용액의 농도가 너무 낮아서 가루형태의 것이 생성된 반면 No. 5, 6의 경우에는 PLGA 용액의 농도가 너무 높아서 닫힌 셀 (closed cell) 형태의 것이 얻어져 본 연구의 목적에 부합되지 않는 것으로 나타났다.

Fig. 4에는 No. 3인 지지체의 전자현미경 사진으로서 (A)는 단면도, (B)는 내면 실리콘 몰드쪽의 접촉면, (C)는 외면 테플론 몰드쪽의 접촉면을 나타내었고 이들을 image analyser로 분석한 결과, 다공성 PLGA 지지체의 평균 기공크기는 15.8 ± 8.2 , 15.6 ± 6.1 및 $18.4 \pm 7.31 \mu\text{m}$ 로 측정되었다. 전체적인 기공의 모양은 기공과 기공 사이의 연결이 양호하고 대부분이 열린 셀 구조를 하고 있는 것으로 나타났다. 비록 평균 기공크기가 약 $15 \mu\text{m}$ 내외라고 하더라도 큰 것은 $50 \sim 100 \mu\text{m}$ 이상인 것도 관찰되고 있다. 단면의 기공형태에 비하여 몰드 내외에 접촉되는 면에서는 기공의 형태가 약간은 눌린 듯한 모양이 얻어졌지만 세포배양시에 조직세포가 성장하여 내부로 이행하는 데는 문제가 없을 것으로 예측되었다.

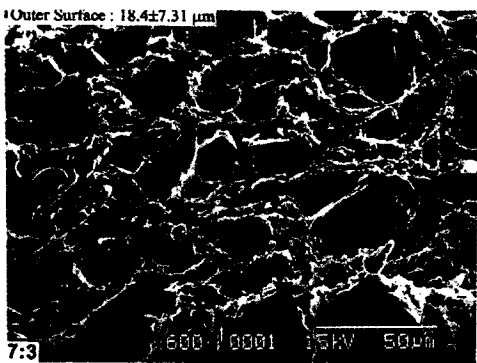
Table 2에는 Nos. 3과 4의 수은다공도계 측정 결과를 나타내었다. SEM 사진 결과와 마찬가지로 본 유화동결 건조방법에 의해서 제조된 튜브형태의 PLGA 지지체는 높은 기공도와 여러 가지 크기를 갖는 기공과 그리고 높은 표면체적비를 가지고 있는 것으로 나타났다. 두 지지체 sample의 평균 기공도는 94~96%에 걸쳐 있고, 평균 기공크기는 14.1 및 $20.94 \mu\text{m}$, 그리



(a)



(b)



(c)

Figure 4. SEM microphotographs of tubular PLGA scaffolds as sample No. 3; (a) cross section, (b) inner surface contacted with silicon side, and (c) outer surface contacted with Teflon side.

고 표면적적비는 27.96 및 30.35 (m^2/g)로 나타났다. Sample Nos. 3과 4를 비교해 볼 때 모든 수치가 sample No. 3보다는 sample No. 4가 큰 것으로

Table 2. Results of Average Porosities, Median Pore Sizes, and Specific Pore Areas of Sample Nos. 3 and 4

sample No.	average porosity (%)	median pore size (μm)	specific pore area (m^2/g)
3	94	14.1	27.962
4	96	20.94	31.351

나타났는데 이는 PLGA 용액의 농도가 10% 감소되어 이들 수치가 증가한 것으로 판단된다. 이들 수는 다공도계 측정 결과를 image analyser 분석 결과와 비교를 해보면 수은다공도계 측정 결과가 1~4 μm 정도 적게 나온 이유는 첫 번째로, 측정중에 수은의 높은 압력으로 압축되었기 때문에 초기에 PLGA 지지체 샘플이 압축되었을 가능성과, 두 번째로 열린 셀구조이기는 하나 기공과 기공사이에 연결된 면 (interconnection)의 조그마한 여러 기공들을 수은이 침투하면서 실측되기 때문이며 이러한 사실은 기공크기 분포도 (Fig. 5)에서 0.1 μm 이하의 것에도 나타나 있고 SEM 사진에서도 또한 실측된다.²⁵

Fig. 5에는 수은다공도계를 이용한 기공크기 분포를 보여주고 있다. Sample No. 4의 대부분을 차지하고 있는 기공크기는 20~30 μm 인 반면 sample No. 3은 10~20 μm 인 것으로 나타났다. 또한 100 μm 이상의 것도 측정되고 있다. 기공크기를 조절하는 주 변수는 위에서도 설명되었듯이, PLGA 농도와 물과의 비로서 결정되며 또한 중요한 변수로는 PLGA 용액과 물간에 혼합되었을 때 유화된 용액의 안정성에도 큰 영향을 받는다. Whang 등은²⁸ 두 용액의 혼합시에 호모게나이저로 혼합하였는데 이들 지지체의 평균 기공크기는 15~35 μm 이었으며 큰 것으로는 300 μm 이상의 것도 존재한다고 보고하였다. 그러나 본 연구에서는 호모게나이저보다도 강력한 sonicator를 사용함으로써 각 유화상태의 크기가 더욱 미세하게 형성된 것으로 생각된다. 이러한 유화상태는 열역학적으로 불안정 상태이므로 항상 침전과 응집 현상이 일어날 수 있다. 유화상태의 안정성을 지배하는 물리적 인자로는 계면자유에너지,²⁹ 상대점도 변화량,³⁰ 중력,³¹ 분산입자의 확산계수, 침전을 방해하는 자유에너지 배리어 및 입자간의 정전기 반발력 등이³² 생각될 수 있다. 본 연구에서 생성된 유화를 안정시키기 위하여 0.1 v/w%의 Span 80 유화제를 사용

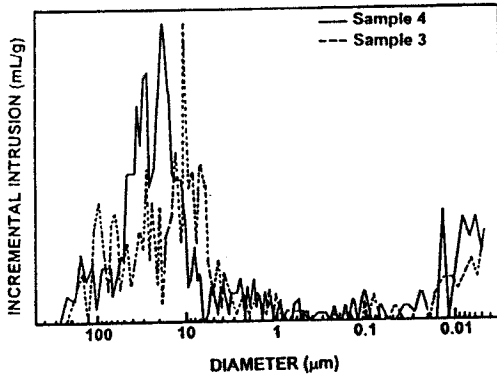


Figure 5. Pore size distributions of sample Nos. 3 and 4.

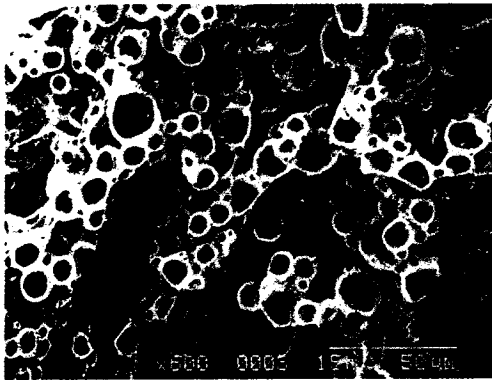


Figure 6. SEM microphotograph of tubular PLGA scaffolds which is stabilized by 0.1 v/wt% of Span 80 as an emulsifier.

하여 완전하게 유화한 다음 동결건조한 후의 SEM 사진을 Fig. 6에 나타내었다. 유화는 유화제에 의하여 안정화된 반면 기공의 크기가 대부분이 약 5 μm 이하로 나타나 있어 세포가 자라나기 위한 크기의 기공이 얻어지지 않음을 볼 수 있어서 본 연구에서는 유화의 안정화보다는 불안정화가 PLGA 지지체로 제조되는데 있어서 우선하게 기여함을 알 수 있다.

결 론

본 연구에서는 인체조직 중에서 비교적 높은 빈도수로 찾아 볼 수 있는 장기의 형태인 튜브형태의 다공성 PLGA 지지체를 세포조직공학에 응용하기 위하여 유화동결 건조법으로 제조하였다. 본 제조 방법

에 의하여 제조된 PLGA 지지체의 기공도는 90% 이상이었으며 기공의 크기는 10~30 μm 그리고 가장 큰 것으로는 100 μm 이상의 것도 관찰되었다. 또한 비기공 면적은 27~31 (m²/g)에 걸쳐 있었으며 기공과 기공사이의 연결은 세포가 성장하기에 적합한 연결된 구조를 가지고 있었다. 평균 기공크기와 여타의 물성은 PLGA 용액의 농도와 유화를 생성할 때 첨가되는 물의 양에 의해서 조절되었으며, 10%의 PLGA 농도에서 물의 양이 많음으로 기공이 큰 것을 얻을 수 있었다.

본 방법에 의하여 제조된 PLGA 지지체는 좋은 물성을 나타내며 비교적 용이하게 제조할 수 있다. 다공도와 기공의 크기가 PGA 부직포에 비하면 적은 수치이지만 비기공 면적이 크다는 장점이 있다.²² 또한 본 방법은 소금용해방법 (salt leaching)과 같이 물에 용해시키는 과정이 없이 바로 동결건조시킴으로 수용성 의약품-성장인자, 항생제 및 생체활성 의약품-을 PLGA 지지체 내에 분산시킨 뒤 서방화시켜 조직에도 성장의 활성화 및 유도 등을 자극시킬 수 있는 장점도 가지고 있다. 본 방법에 의하여 제조된 지지체는 두꺼운 두께 (약 1 cm 이상)의 지지체도 제조할 수 있으며, 물드의 상태에 따라서 복잡한 인체 장기의 형상을 자유자재로 제작하여 조직재생과 재건에 유용하게 사용할 수 있다.

현재 이들의 기공도에 따른 생분해성의 영향, 생분해에 따른 기계적 강도의 감소, 표면처리 및 *in vivo* 동물실험 등이 수행중이다.

감사의 글: 본 연구는 보건복지부 (Grant No. ; HMP-97-E-0016) 및 과학기술처 (Grant No. ; 97-N1-02-05-A-02)의 지원으로 이루어졌으므로 이에 감사드립니다. 또한 실험을 도와준 이상진, 송석범군께도 심심한 사의를 표합니다.

참 고 문 헌

1. R. Langer and J. P. Vacanti, *Science*, **260**, 920 (1993).
2. G. Khang and J. H. Lee, "The Properties of Biomaterials", in "Tissue Engineering: Concepts and Applications", eds. by J. J. Yoo and I. Lee, chap. 4, Korea Med. Pub. Co., Seoul, 1998.

3. J. P. Vacanti, M. A. Morse, W. M. Saltzman, A. J. Domb, A. Perez-Atayde, and R. Langer, *J. Pediatr. Surg.*, **23**, 3 (1998).
4. C. A. Vacanti, R. Langer, B. Schloo, and J. P. Vacanti, *Plast. Reconstr. Surg.*, **88**, 753 (1991).
5. L. G. Cima, J. P. Vacanti, D. Ingber, D. Mooney, and R. Langer, *J. Biomech. Eng.*, **113**, 143 (1991).
6. R. Langer, L. G. Cima, J. A. Tamada, and E. Wintermantel, *Biomaterials*, **11**, 738 (1990).
7. S. J. Holland, B. J. Tighe, and P. L. Gould, *J. Controlled Release*, **4**, 155 (1986).
8. G. Khang, J. H. Jeon, J. W. Lee, S. C. Cho, and H. B. Lee, *Bio-Med. Mater. Eng.*, **7**, 357 (1997).
9. G. Khang, S. J. Lee, J. H. Lee, Y. S. Kim, and H. B. Lee, *Bio-Med. Mater. Eng.*, to appear (1999).
10. D. F. Williams and E. Mort, *J. Bioeng.*, **1**, 231 (1997).
11. O. Bostaman, *J. Bone Joint Surg.*, **73A**(1), 148 (1991).
12. J. P. Singhal, H. Singh, and A. R. Ray, *Rev. Macromol. Chem. Phys.*, **C28**, 475 (1988).
13. O. J. Hollinger and J. P. Schmitz, *J. Oral Maxillofac. Surg.*, **45**, 594 (1987).
14. G. Khang, J. C. Cho, J. W. Lee, J. M. Rhee, and H. B. Lee, *Bio-Med. Mater. Eng.*, **9**, to appear (1999).
15. D. J. Mooney, L. Cima, and R. Langer, *Mater. Res. Soc. Symp. Proc.*, **252**, 345 (1992).
16. J. Klawitter and S. Hulbert, *J. Biomed. Mater. Res. Symp.*, **2**(1), 161 (1983).
17. I. V. Yannas, E. Lee, D. P. Orgill, E. M. Skrabat, and G. F. Murghy, *Proc. Nat'l Acad. Sci., USA*, **86**(3), 933 (1989).
18. M. Spector, M. J. Michon, W. H. Smarook, and G. T. Kwiatkowski, *J. Biomed. Mater. Res.*, **12**, 655 (1978).
19. D. J. Mooney, C. Breuer, K. McNamara, J. P. Vacanti, and R. Langer, *Tissue Eng.*, **1**(2), 107 (1995).
20. J. H. Aubert and R. L. Clough, *Polymer*, **26**, 2047 (1985).
21. S. Gogleswski and A. J. Pennings, *Makromol. Chem. Rapid Commun.*, **4**, 675 (1983).
22. L. E. Freed, J. C. Marquis, A. Nohria, J. Emmanuel, A. G. Mikos, and R. Langer, *J. Biomed. Mater. Res.*, **11**, 27 (1993).
23. D. J. Mooney, D. F. Baldwin, N. P. Sub, J. P. Vacanti, and R. Langer, *Biomaterials*, **17**, 1417 (1996).
24. H. L. Ritter and L. C. Drake, *Ind. Eng. Chem.*, **17**, 782 (1945).
25. D. M. Smith, D. W. Hua, and W. L. Earl, *MRS Bull.*, **XIX**(4), 44 (1994).
26. A. G. Mikos, G. Sarakinos, S. M. Leite, J. P. Vacanti, and R. Langer, *Biomaterials*, **14**(5), 323 (1993).
27. H. E. Healy, B. Lorn, and P. E. Hockberger, *Biotechnol. Bioeng.*, **43**, 792 (1994).
28. K. Whang, C. H. Thomas, K. E. Healy, and G. Nuber, *Polymer*, **36**, 837 (1995).
29. A. W. Adamson, "Physical Chemistry of Surfaces", p. 525, John Wiley, New York, 1990.
30. D. H. Everett, "Basic Principles of Colloid Science", p. 115, The Royal Society of Chemistry, London, 1989.
31. L. L. Schramm, *Adv. Chem. Ser.*, **1**, 231 (1992).
32. D. H. Everett, "Basic Principles of Colloid Science", p. 130, The Royal Society of Chemistry, London, 1989.