



## 저작자표시 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.
- 이차적 저작물을 작성할 수 있습니다.
- 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#) 

2011년2월  
석사학위 논문

전기유체역학과 압출유동시스템을  
이용한 복합 세포 담체 제작에  
관한 연구

The fabricating method for hybrid scaffold using an  
electro hydrodynamic and dispensing system

조선대학교 대학원  
기계공학과  
안 승 현

2011년 2월

석사학위논문

전기유체역학과 압출유동시스템을  
이용한 복합 세포 담체 제작에  
관한 연구

안 승 현

# 전기유체역학과 압출유동시스템을 이용한 복합 세포 담체 제작에 관한 연구

The fabricating method for hybrid scaffold using an  
electrohydrodynamic and dispensing system

2011년 2월 25일

조선대학교 대학원

기계공학과

안 승 현

# 전기유체역학과 압출유동시스템을 이용한 복합 세포 담체 제작에 관한 연구

The fabricating method for hybrid scaffold using an  
electrohydrodynamic and dispensing system

이 논문을 기계공학 석사학위신청 논문으로 제출함

2011년 2월

조선대학교 대학원

기계공학과

안 승 현

# 안승현의 석사학위논문을 인준함

위원장	박길문	(인)
위원	이행남	(인)
위원	김근형	(인)

2011년 2월

조선대학교 대학원

# 목 차

제1장 서론 .....	1
제1절 조직공학 .....	1
1. 조직공학의 개념과 역사 .....	1
2. 의료용 고분자 .....	4
가. 서론 .....	4
나. 세포담체(scaffold) .....	6
다. 고분자 재료 .....	7
(1) 생분해성 고분자 .....	8
① 천연고분자 .....	8
② 합성고분자 .....	9
(2) 생분해성 고분자의 표면성질 .....	12
(3) 생분해성 고분자의 물리적·기계적 특성 .....	14
① 생분해성고분자 특성 .....	14
② 생분해성고분자 종류 및 기계적 성질 .....	16
라. 금속 재료 .....	17
마. 세라믹 재료 .....	18
3. 조직공학의 분야 및 응용 .....	20
가. 피부 .....	20
나. 심혈관계 .....	21
다. 비뇨기계 .....	22
라. 뼈 및 연골 .....	22
마. 치아 .....	23

**제2절 전기방사(Electrospinning) ..... 24**

1. 전기방사의 원리 ..... 24

2. 나노섬유의 응용 ..... 27

    가. 필터 ..... 27

    나. 의공학 ..... 27

    다. 연골 ..... 28

    라. 약물전달시스템 ..... 28

**제3절 세포담체(scaffold)제작 ..... 29**

1. 서론 ..... 29

2. 3차원 세포담체 제작방법 ..... 31

3. 참고문헌 ..... 33

**제2장 실험 및 방법 ..... 36**

**제1절 전기방사법을 이용한 poly( $\epsilon$ -caprolactone)과Silk fibro  
-in 함유된 나노섬유 제조 공정 ..... 36**

1. 서론 ..... 39

2. 실험재료 및 방법 ..... 39

    가. 장비 구성 ..... 39

    나. Silk powder 제조 ..... 41

    다. PCL/Silk Fibroin 나노섬유 제작 ..... 43

    라. 실험분석 방법 ..... 45

        (1) SEM image ..... 45

        (2) stress-strain curve 측정 ..... 45

(3) FT-IR 측정 .....	46
(4) Water contact angle(WCA)측정 .....	46
(5) 세포배양 .....	46
마. 실험결과 분석 .....	47
(1) SEM 분석 .....	48
(2) stress-strain curve 분석 .....	50
(3) FT-IR 분석 .....	52
(4) WCA 분석 .....	54
(5) 세포배양 분석 .....	56
3. 결론 .....	58

## 제2절 전기방사법을 이용한 Poly( $\epsilon$ -caprolactone)과 SIS(S-mall Intestine Submucosa)가 함유된 나노섬유 제조 공정 .....

59

1. 서론 .....	59
2. 실험 재료 및 방법 .....	60
가. 장비 구성 .....	60
나. SIS power 제조 .....	60
다. PCL/SIS 나노섬유 제작 .....	62
라. 실험분석 방법 .....	64
(1) SEM image .....	64
(2) stress-strain curve 측정 .....	64
(3) FT-IR 측정 .....	65
(4) WCA 측정 .....	65
(5) 세포배양 .....	65
마. 실험결과 분석 .....	66
(1) SEM image 분석 .....	66
(2) stress-strain curve 분석 .....	68
(3) FT-IR 분석 .....	70
(4) WCA 분석 .....	70



(5) 세포배양 분석 .....	72
3. 결론 .....	74

**제3절 전기방사법과 SFF(Solid Free-form Fabricating)  
시스템을 이용한 PCL/SIS/Silk 복합형계층구조 세  
포담체 제조 공정 .....75**

1. 서론 .....	75
2. 실험 재료 및 방법 .....	76
가. 재료 .....	76
나. 장비 구성 .....	76
다. 실험분석 방법 .....	78
(2) SEM image .....	79
(2) FT-IR 측정 .....	79
(3) WCA 측정 .....	79
(4) 세포배양 .....	79
라. 실험결과 분석 .....	80
(1) SEM image 분석 .....	80
(2) FT-IR 분석 .....	82
(3) WCA 분석 .....	84
(4) 세포배양 분석 .....	86
3. 결론 .....	88
4. 참고문헌 .....	89

**제3장 결론 .....93**

감사의 글

## List of figures

Figure 1. Biological materials and physical reactions .....	5
Figure 2. Schematics of droplet .....	13
Figure 3. ensile stress and tensile strain .....	15
Figure 4. General electro-hydrodynamics process .....	26
Figure 5. Schematic of bio-plotting system .....	30
Figure 6. Scaffold Fabrication Techniques .....	32
Figure 7. schematic of electrospinning process .....	40
Figure 8. Silk powder preparation before electrospinning process .....	42
Figure 9. PCL and Silk Fibroin electrospinning .....	44
Figure 10. PCL/Silk Fibroin nanofiber and Silk Fibroin powder SEM image. ....	49
Figure 11. SEM micrographs and size distributions of 8 wt% of PCL/SF. ....	51
Figure 12. FT-IR results of PCL, pure silk and PCL/silk (2, 5 and 8 wt%) .....	53
Figure 13. WCA(Water contact angle) measurement at various times for fibers electrospun from pure PCL and three concentrations of PCL/SF. ....	55
Figure 14. This figure is published in colour in the online edition of this journal, that can be accessed via <a href="http://www.brill.nl/jbs">http://www.brill.nl/jbs</a> .....	57
Figure 15. SIS powder preparation before electrospinning process .....	61
Figure 16. PCL and SIS(Small Intestine Submucosa) electrospinning .....	63
Figure 17. PCL/SIS nanofiber and SIS powder SEM image .....	67
Figure 18. SEM micrographs and size distributions 0.5, 1, 3wt% of PCL/SIS .....	69
Figure 19. WCA(Water contact angle)measurement at various times for fibers electrospun from pure PCL and three concentrations of PCL/SF .....	71
Figure 20. Comparison of cell attachment and proliferation of the pure PCL and biocomposites after cell culturing of 7 days. This figure is published in colour in the online edition of this journal, that can be accessed via. ....	73
Figure 21. Schematic of the hybrid plotting system complemented with a meltplotting and electrospinning system .....	77
Figure 22. Optical images of PCL scaffolds fabricated using (A) a standard plotting system (inset shows the side view of the fabricated scaffold), and (B) the hierarchical 3-D scaffold in which the micro/nanofiber was electrospun with a mixture of 8 wt% of PCL and 8 wt% of SIS, respectively. The fabricated scaffold size was 10 · 10 · 8 mm. ....	81

Figure 23. SEM images of PCL scaffolds fabricated by (a) the standard melt-plotting system and (b) the hierarchical scaffold fabricated using a hybrid technique combining dispensing and electrospinning systems. (c) layered 8 wt% PCL/SIS fiber mat between micro-sized strands and (d) 8 wt% PCL/Silk fibroin mat. The insets show the diameter distributions of the spun fibers. (e) FT-IR results of pure PCL, pure SIS, pure Silk, PCL/SIS (8 wt%), and PCL/Silk (8 wt%)	83
Figure 24. WCA of the layered micro/nanofibers. (A-a~c) Water contact angle measurements at two time points for pure PCL, PCL/SIS (8 wt%) and PCL/Silk (8 wt%) electrospun mats. (B) Comparison of the WCAs of PCL, PCL/SIS and PCL/Silk fiber mats	85
Figure 25. SEM micrographs of bone marrow-derived MSCs attached to 3-D PCL scaffolds fabricated by (a) the normal dispensing system and (b) the hybrid system including biomaterials. (c) MTT assay showing initial cell attachment and proliferation of bone marrow-derived MSCs. PCL, PCL_PCL, PCL_PCL/SIS and PCL_PCL/Silk along the x-axis refer to a normal 3-D scaffold, 3-D hierarchical scaffold with pure PCL fiber mat, 3-D hierarchical scaffold layer with PCL/SIS fiber mat and 3-D hierarchical scaffold layer with PCL/Silk fiber mat, respectively	87

## List of table

Table 1. Biodegradable polymers .....	10
Table 2. Material properties of biodegradable polymers .....	11
Table 3. Material and mechanical properties of biodegradable polymers .....	16

## **Abstract**

### **The fabricating method for hybrid scaffold using an electrohydrodynamic and dispensing system.**

*Ahn SeungHyun*

*Advisor : Prof. Kim Geunhyung Ph.D.  
Department of Mechanical Engineering  
Graduate School of Chosun University*

A hybrid technology that combines a 3D dispensing system and electrospinning processes for a 3D scaffold was used to produce a hierarchical 3D structure consisting of micro-sized polycaprolactone (PCL) strands and micro/nano-sized fibers. The micro/nanofiber biocomposite electrospun with PCL/small intestine submucosa (SIS) (8wt%) and PCL/silk (8wt%) was layered between the dispensed micro-strands. The scaffold including SIS showed higher hydrophilic property than other scaffolds due to the various hydrophilic components in SIS. The 3D hierarchical scaffold having biocomposites exhibited an incredibly enhanced initial cell attachment and proliferation of bone marrow stromal cells relative to normally designed 3D scaffolds.

# 제1장 서론

## 제1절 조직공학

### 1. 조직공학의 개념과 역사

조직공학은 소실되거나 상태이상인 생긴 조직을 보전, 유지, 증진할 수 있는 생물학적 조직치환체를 개발하기 위하여 공학과 의학, 생명과학의 원리를 집합한 연구로 정의할 수 있다.<sup>1-11</sup>

조직공학은 질병이나 상처가 발생하였을 때 어떠한 방식으로 손상된 조직을 치료, 재생시킬 것인지 하는 것이다. 손상된 조직의 기능적, 형태적 재생은 자연적으로 이루어지는 본래 기능적인 역할을 제한하는 회복과는 다르며, 조직공학이라 함은 특정조직의 재생을 촉진시키는 합성, 생물학적 기능에서 다양한 세포들과 성장인자 등을 포함하는 장치들을 제조하는 것을 의미한다.

조직공학에서 조직재생을 위하여 갖추어야 할 중요한 인자는 세포, 조직유도인자 및 생체적합성 매트릭스 또는 세포담체이다. 생체에서 세포를 확보하여 외부에서 조작하는 기술은 세포생물학 분야에서 일상적으로 이용되며 확립된 이론이다. 현재 성장인자(growth factor)를 배양액에 첨가하면 여러 세포를 증식시키는 것이 가능하며, 여러 공학적 기법을 이용하여 대량생산도 가능하게 되었다. 이렇게 생산된 세포는 환경에 따라 그 기능이 변화하는 성질을 내포하고 있고, 이러한 세포를 단순히 신체에 이식하는 것만으론 의도한 기능보다 낮은 치료효과를 얻어내지 못하기 때문에 세포, 조직유도인자, 생체적합성 매트릭스 세포담체를 개별적 또는 혼합하여 공학적인 조직체를 만들게 된다. 이렇게 만들어진 3차원 인공 세포담체를 이용하여 *in vitro* 상태에서 성장한 세포를 이식하여 조직을 재생시키고 기관의 기능을 재활시키는 것에 목적을 두고 있다.

세포 친화적 그리고 생물학적 인자들을 갖는 세포담체들은 조직공학응용에서 품질들을 증진시키는 것으로 나타나며 세포담체들이 재생되는 환경에서 다기능성을 갖는 그리고 간편한 조절이 가능한 방법들이 연구 되고 있다.

세포담체라는 개념의 단어는 결손 된 안면 등 치료를 위한 목적으로 금, 은 등의 재료를 이용하여 세포담체와 유사한 방식으로 잉카고대문명에서 사용된 것을 찾아볼 수 있다.<sup>12</sup>

조직 대체재 또는 이식은 1668년을 기점으로 보고되기 시작하였으며 1893년 한 과학자에 의해 다공성 세포담체에 세포가 서서히 자라 들어가 조직을 재생시키는 임플란트를 만들어 발표하게 되었다.

이후 현재에 이르기까지 한정적으로 세포를 지지할 수 있는 천연 합성재료나 세포생체재료가 생물학적 인자로서 조직 공학적 세포담체로 발전을 거듭하고 있다.<sup>13-20</sup> 이러한 일반적 넓은 의미로서 의학적 응용을 위한 세포담체는 조직치환체, 그래프트, 정교한 기능적 조직을 형성할 수 있는 요소인 단백질과 성장인자의 혼합물을 생성하여 세포의 분화상태에서 유지 또는 성장시킬 수 있는 다공성 세포담체로 볼 수 있다. 세포담체는 조직공학에 응용할 수 있는 생체재료로 조직을 대체 또는 조직재생을 위한 세포담체와 유도할 수 있는 고분자로 되어있는 다공체라고 정의 하고 있다.

생체재료는 조직의 기능을 대체하기 위하여 체내에서 주위 조직과 직접 접촉하며 체액에 노출되는 인공적인 물질로서, 생체의 기능을 치환·대체하기 위하여 사용되는 물질을 의미한다. 생체재료는 어떤 형태로든 인체와 접촉이 이루어지므로 반드시 생물학적으로 적합해야 한다. 일반적으로 의료용으로 사용되는 재료는 인체접촉정도에 따라 3개의 군으로 나누며, 제1급은 인체와 직접 접촉하지 않거나 접촉 시 체액조성에 변화를 주지 않는 것, 제2급은 간헐적 또는 단기간 접촉하는 것, 제3급은 인체 내에 삽입되어 지속적으로 조직과 접촉하는 것으로 구분하고 있으며, 특히 이식체인 제3급 재료는 인체직접적인 접촉이 있어 완전한 안전성이 보장되어야 한다. 이들 재료는 주변 조직과의 반응형태에 따라 이식후 면역반응을 일으키지 않으면서 형태와 구조를 유지하는 생체불활성, 주위조직과 직접 결합하여 생물학적 기능을 제공하는 생체활성 및 이식 후 서서히 체내에서 분해되어 재생하는 자가 조직으로 치환되는

생분해성재료로 나누어 볼 수 있다. 체내에 이식된 생체재료는 크기와 형태가 수복되어야 할 부위와 일치하여야 하며, 재료의 Young's modulus와 같은 기계적 성질도 본래 조직과 가능한 한 본래조직과 같아야 지속적인 인체운동에 의해 유발되는 물리적, 생체적 현상에서 형태를 유지할 수 있다. 또한 인공적으로 제작된 재료는 주위조직과 생물학적 기능장애를 일으킬 수 있는 가능성을 내포하고 있다. 즉, 인공재료와 조직의 접촉이 이루어지는 경계에서는 면역반응이 발생할 수 있는 고 위험 지역이므로, 재료로부터 유출되는 성분에 의한 인체 유해성 여부를 세포독성, 유전독성 등의 *in vitro* 및 동물체내 이식과 같은 *in vivo* 시험이 필요하다. 따라서 생체재료에 대한 임상적용 시험은 사전에 생체 안정성과 생체적합성에 대한 면밀한 시험을 통하여 안전성이 확보되어야 하고 현재 이러한 재료를 이용한 많은 연구들이 진행되고 있다.<sup>21-25</sup>



## 2. 의료용 고분자

### 가. 서론

인간은 시간의 흐름에 의해 노화가 이루어지면서 몸을 구성하는 조직들 또한 시간의 흐름에 의해 노화가 진행되고 진행된 노화에 의해 크게 피부의 탄력을 잃거나 청력, 미각 등의 기능저하나 관절이나 내장기관의 질환을 발생시키게 된다. 이러한 자연의 순리에 의한 장기들의 손상뿐 아니라 교통사고 같은 외부적 여러 요인에 의한 인체의 손실은 많은 시간과 경비가 소요되며, 환자의 고통을 수반하게 된다. 조직공학은 이러한 문제를 해결하기 위한 학문으로서 세포와 생체재료를 이용하여 조직이나 장기를 재구성하여 이식이라는 방법을 통하여 조직이나 장기 등의 기능을 대체하고자하는 인간의 노력의 결과물이다. 이러한 생체재료는 약학, 의학, 고분자공학, 기계공학, 재료공학 등 다양한 학문의 집합체로서 다양한 분야에서 연구 되고 있으며 광범위하게 응용되고 있다.

인간의 체내에서 사용하기 위한 의료용 생체재료의 기본 조건은 생체적합성, 성형가공성, 기계적 또는 물리적 성질 등 여러 조건을 갖추어 사용기간 또는 사용 후에도 인체에 독성이 없고 일정기간 이후 분해되는 생분해성과 안전한 특성이 제일 우선된다. 특정 고분자재료로 제작한 인공장기를 인체 내에 이식시켰을 때 대부분의 경우 생체거부 반응이 일어나고, 이로 인해 인체 내에 부작용이 생기거나, 인공장치 표면에 여러 단백질이나 혈액 구성들이 흡착됨으로써 인공장기의 기능이 시간경과에 따라 저하되거나 더욱 악화 될 수 있다. 따라서 고분자 재료를 인체 내 조직세포들과의 친화성을 갖도록 고분자 표면을 개질하는 연구들이 많이 진행되고 있다.

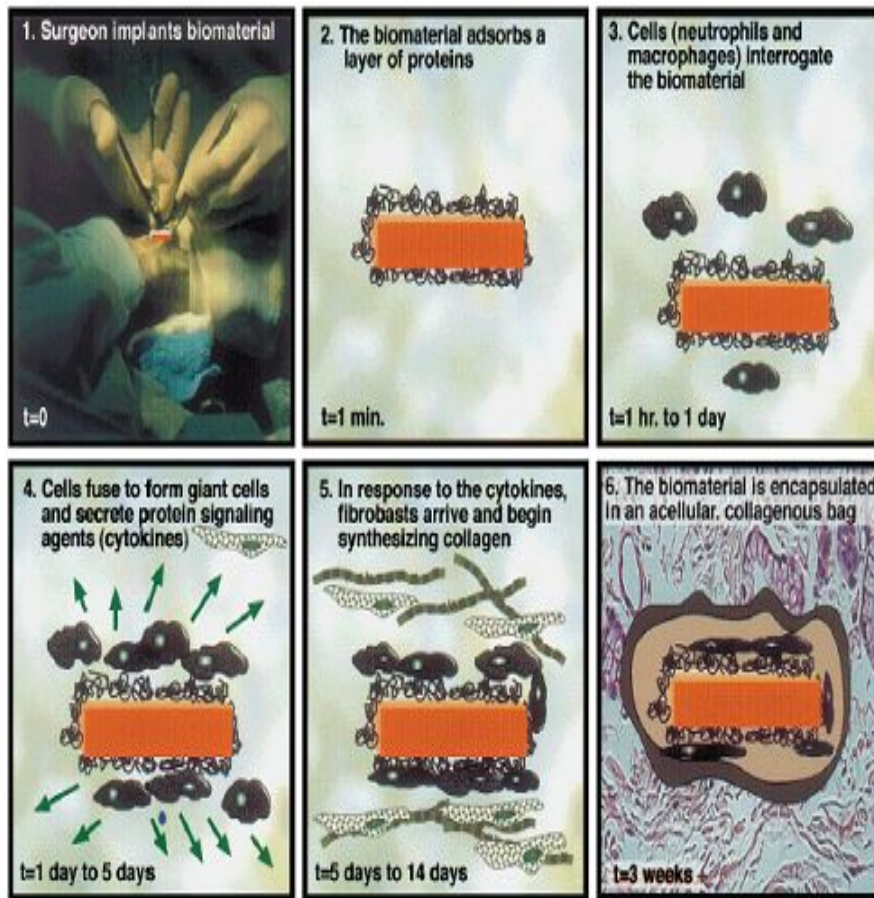


Fig 1. Biological materials and physical reactions. (1) 생체재료의 외과적 이식 (2) 이식된 생체재료의 표면에 단백질 점착 (3) 이식된 재료세포들의 외부 물질로 인식 (4) 대식세포들의 체내 이식물 소화 불가 판단 후 거대세포를 형성, 대항할 수 없다 인식하면 사이토카인과 같은 메신저로 Fibroblast와 같은 다른 세포 활성화 (5) 사이토카인의 영향으로 주위의 Fibroblast 세포는 콜라겐을 합성(6) 체내 이식된 재료 주위에 콜라겐 백 형성.<sup>26</sup>

## 나. 세포담체(scaffold)

생체조직공학에서 매우 중요한 세포담체는 다공성 구조 내에 배양된 세포와 조직 주변의 세포 성장에 중요한 역할을 수행한다. 대부분의 인체 내 세포는 부착되어 성장되는 부착세포로써 만일 부착할 곳이 없으면 세포는 더 이상 성장되지 못하고 사멸된다. 따라서 세포담체는 세포의 부착, 분화, 성장 및 세포 이동에 대한 적합한 환경을 제공해야 한다.

세포담체의 필수조건인 특성은

- 세포부착이 쉬운 구조
- 조직성장 유도분화 및 촉진
- 생체적합성 · 생분해성
- 용이한 제조과정과 원하는 형태로의 전환성
- 큰 표면적의 부피와 큰 다공성
- 기계적강도와 치수 안정성
- 멸균가능성 등이다.

이러한 특성의 세포담체는 생체적합성, 생분해성, 다공성, 세포유착 등의 성질을 고려해 디자인하여야 한다. 생분해성은 물리적, 기능적으로 세포담체가 분해·흡수되며 새로운 조직으로 대체 되는 것을 말한다. 이때 세포담체가 분해되는 속도와 새로운 조직이 생성 되는 속도가 동일하도록 맞춰주어야 한다. 분해가 너무 빠르면 새로운 조직이 형태를 가질 수 없고, 분해가 너무 느리면 새로 생성되는 기질의 확산을 저하시킨다. 생체적합성은 세포담체의 조건 중 중요한 성질인데 생체 내에서 면역학적 염증반응을 일으키지 말아야 한다. 다공성은 세포담체에 있어서 영양분과 부산물의 순환을 통해 세포의 생존력을 유지하기 위해 충분한 크기와 수가 유지 가능하여야 한다. 세포유착은 세포의 원래 환경을 만들기 위해 필요하다. 세포담체는 다양한 재료를 이용해 제작할 수 있다. 현재 많은 연구 기관 등에서 천연 및 합성 고분자, 생체세라믹 및 고분자-세라믹 복합소재를 사용하여 조직재생용 세포담체 개발에 관한 많은 연구가 진행되고 있다.

## 다. 고분자 재료

고분자(polymer)란 반응성을 가진 저분자(monomer)들이 화학반응을 통하여 매우 긴 사슬을 형성하여 합성된 것으로서 탄소와 산소가 주사슬로 이루어진 일차공유결합물로써 일반적으로 10,000g/mole 이상인 것을 일컫는다. 반응성을 가진 고분자라는 것은 최소한 두 개 이상의 반응기 혹은 이중결합을 가진 단량체만을 말한다. 메탄(CH<sub>4</sub>)과 같은 반응기가 없는 단량체나 물(H<sub>2</sub>O)과 같이 OH와 같이 하나의 반응기만을 가진 단량체는 고분자를 형성할 수 없다.

또한 고분자의 사슬구조에 따라 선형고분자(linear polymer), 가지가 달린 고분자(가지구조 고분자, branched polymer)와 3차원적 구조를 갖는 열경화성 고분자(thermosetting polymer)로 구분될 수 있다. 선형 고분자 및 가지구조 고분자는 열가소성 고분자(thermoplastic polymer)로 형태 가공 후 열을 이용하여 다른 형태로 형태 변형이 가능하다. 그러나 3차원적 구조를 갖는 열경화성 고분자의 경우는 한 번의 가공 후 다시 형태를 변형할 수 없다. 고분자는 원료의 형태에 따라 천연고분자(natural polymer)와 합성고분자(synthetic polymer)로 구분할 수 있다. 천연고분자는 자연 상태의 물질에서 추출하여 얻어낸 고분자로서 알긴산(alginic acid), 콜라겐(collagen) 등의 물질이 있으며 합성고분자는 석유제품으로부터 분리 합성 추출된 물질을 일컫는다. 합성고분자의 경우는 단일고분자(homopolymer)와 공중합체(copolymer)로 구분되며 단일고분자의 경우는 동일한 단량체(monomer) 한 가지만으로 구성된 고분자이며 공중합체의 경우는 2개 이상의 단량체가 혼합되어 합성된 고분자를 말한다. 이러한 고분자는 그 종류, 특성, 가공성 등에 의해 섬유, 필름, 튜브 등 다양한 형태로 가공하여 사용이 가능하며 생체재료로서 사용이 가능하다. 비분해성 고분자의 경우는 주로 손상된 장기나 조직을 대체하기 위해 사용되며 분해성 고분자의 경우는 약물전달용 제제 혹은 세포담체 등에 주로 사용되고 있다. 비분해성 고분자 재료는 주로 인공관절이나 봉합사, 수정체, 스탠트 등의 영구적으로 사용되거나 시술 후 바로 제거될 수 있는 영역에서 사용된다. 비분해성 고분자 역시 각각의 고분자에 의한 특성이 다르기 때문에 특성에 맞게 잘 사용해야 한다. 이러한 고분자에는 폴리올레핀(polyolefins), PMMA (polymethyl methacrylate), 폴리우레탄(polyurethane, PU) 등의 많은 종류가 있다.

## (1) 생분해성 고분자

생체재료로서의 고분자는 조직세포의 성장을 위하여 대부분 다공성세포담체 형태로서 가공하여 사용된다. 이러한 가공된 세포담체는 이식되어지는 환경에 영향을 받기 때문에 여러 필수적인 요건을 갖추어야 하며 그 특성으로는

- 생분해성 및 비독성
- 넓은 표면적을 갖는 상호 연결된 내부 다공성 구조
- 구조적 안정성 및 친수성
- 세포 흡착 기질의 제공
- 낮은 면역 반응성
- 생체 기능성 등을 들 수 있다

조직공학용 세포담체의 특성 중 생분해성은 큰 비중을 차지하고 있으며, 생분해성 고분자를 이용한 세포담체는 세포와 함께 손상된 조직 재생을 위해 이식하는 것이 일반적인 방법이다. 비분해성 고분자(non-degradable polymer)의 경우 손상된 조직의 완전한 재생 후에 조직에 남아 있는 세포담체가 외부 물질(foreign body)로 인식되어 염증반응이 발생할 가능성이 있기 때문에 제거하는 외과적 수술을 동반해야 한다. 또한, 재건된 조직에 세포담체의 제거를 위한<sup>2</sup>차 시술은 재생된 조직에 다시 손상을 가하기 때문에 이러한 과정에 의한 불필요한 시술과 노력 그리고 자원 등을 줄이기 위해서라도 세포의 증식 속도와 유사한 분해 속도를 갖는 조직공학용 세포담체가 필요한 것이다. 생분해성 고분자는 인체 내에서 분해되는 고분자를 칭하며, 고분자를 얻는 방법에 따라 크게 천연 고분자와 합성 고분자로 나눌 수 있다.<sup>27</sup>

### ① 천연고분자

천연고분자는 매우 뛰어난 생체적합성을 갖고 있다. 천연고분자로 만들어진 세포담체는 이식 후 염증 반응이 적고, 생체기능성과 생분해성 등 우수한 특성을 지닌 물질로 종류에는 젤라틴, 콜라겐, 피브린, 알긴산 등이 많이 사용되어지고 있다.<sup>28</sup>

하지만 천연고분자는 기계적강도가 매우 낮고, 가공이 어려운 단점을 가지고 있다.

## ② 합성 고분자

조직공학의 세포담체로는 폴리에스터(poly  $\alpha$ -hydroxy ester)의 중합체 또는 공중합체 등의 생분해성합성 고분자 들이 많이 사용되고, 각 단 분자의 반복 단위로 구성되어 있어 분자량 등의 고분자 특성이 쉽게 조절 가능하며, 기계적 물성이 우수한 장점이 있다. 또한 생체 내에서 가수 분해되거나 효소에 의해 분해되기 때문에 세포담체용 고분자로 각광을 받고 있다.

대표적 합성고분자는 glycolic acid,  $\epsilon$ -caprolactone 등의 중합반응을 통한 합성체로서 다양한 구성 및 몰 비로 중합되며 몰 비, 분자량, 단량체의 구성에 따라 서로 다른 특성과 조직의 특성에 따라 사용자가 원하는 물성을 갖는 고분자를 선택 또는 합성하여 사용할 수 있는 큰 장점을 갖추고 있다.

대표적 고분자재료의 물성은 다음 표에 나타내었다.

Polymer	Physical Characteristics	Potential Clinical Applications
Poly (ester) Poly(glycolic acid) Poly(lactic acid) Poly(caprolactone)	solid-fiber, tube, sponge, screw, etc	cartilage, bone, muscle, nerve, blood vessel, valves, bladder, drug delivery, liver, cardiac tissue
Poly(anhydride)	solid, cross-linked network	bone, drug delivery
Poly(propylene fumarate)	solid, copolymer hydrogel	bone, cardiovascular

Table 1. Biodegradable polymers.<sup>29</sup>

Polymer	Melting Point (°C)	Glass-Transition Temp (°C)	Modulus (Gpa) <sup>a</sup>	Degradation Time (months) <sup>b</sup>
PGA	225~230	35~40	7.0	6 to 12
PLLA	173~178	60~65	2.7	>24
PDLLA	Amorphous	55~60	1.9	12 to 16
PCL	58~63	(-65)~(-60)	0.4	>24
85/15 PLGA	Amorphous	50~55	2.0	5 to 6
75/25 PLGA	Amorphous	50~55	2.0	4 to 5
65/35 PLGA	Amorphous	45~50	2.0	3 to 4
50/50 PLGA	Amorphous	45~50	2.0	1 to 2

Table 2. Material properties of biodegradable polymers.<sup>29</sup>



## (2) 생분해성 고분자의 표면성질

생체재료의 표면은 인체 내에 이식이 되었을 때 조직세포 및 체액과 가장 먼저 접촉을 이루는 부분이기 때문에 생체재료의 화학적 구성 성분과 구조가 중요하다.

액체의 형상이 평형상태가 되면 각 상태에서 표면장력의 합은 0 이 되어야 한다.<sup>30</sup>

$$\gamma_{GS} - \gamma_{LS} - \gamma_{GL} \cos\theta = 0$$

$$\therefore \cos\theta = \frac{\gamma_{GS} - \gamma_{LS}}{\gamma_{GL}}$$

표면장력 ( $\gamma_{GS}, \gamma_{LS}, \gamma_{GL}$ )

$\theta = 0$  (친수성 : hydrophilic, 물에 잘 젖는다)

$0^\circ < \theta < 90^\circ$  (소수적인 특성 부분적인 표면 젖음)

$90^\circ < \theta$  (소수성 : hydrophobic, 물에 젖지 않는다)

그림 2는 표면성질에 대한 모식도이다. 물방울과 표면의 접촉각이 클수록 소수성 표면성질을 갖는다.

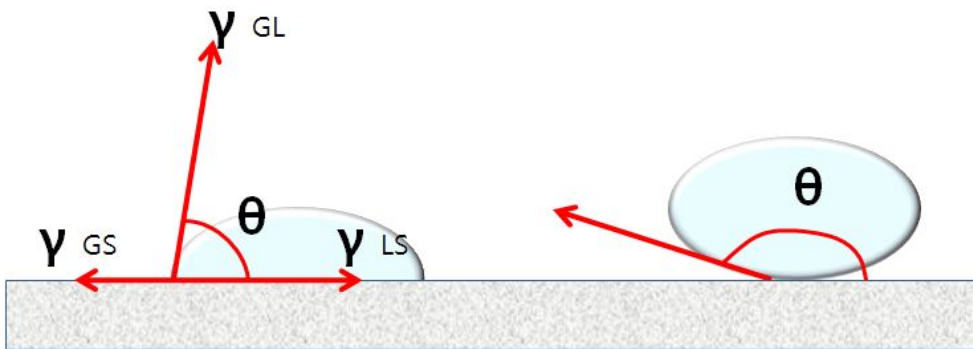


Fig 2. Schematics of droplet.

### (3) 생분해성고분자 물리적 · 기계적 특성

#### ① 생분해성고분자 특성

생체재료로 사용하기 위한 고분자 재료의 가장 기본적인 기계적 특성을 알아내기 위해서는 재료에 응력을 가한 뒤, 이에 따른 변형률을 측정하여 응력-변형 곡선을 구하는 것이 가장 보편적인 방법이다. 재료에 가하는 응력의 유형에 따라 압축, 전단, 굽힘 등에 의한 응력-변형 곡선들이 있다. (그림 3)

· 인장 응력(tensile stress :  $\sigma$ ) : 시편의 변형이 일어나기 이전의 초기단면적 ( $A_0$ )당 가해진 인장력의 크기, ( $\sigma$ )로 표시하며  $\text{kgf/cm}^2$  또는 Pa의 단위

· 인장 변형률(tensile strain :  $\epsilon$ ) : 시편의 원래 표선간 거리( $L_0$ )가 인장력에 의해서 ( $\Delta L$ )만큼의 변화가 생겼다면, 이때의 인장 변형률 또는 신장률 ( $\epsilon$ ) 정 의며, 백분율로 나타낼 수도 있다.

· 항복점(yield point) : 응력-변형 곡선에서 하중의 증가가 없어도 신장률이 증가되기 시작하는 점이다. 이때의 응력을 항복강도(yield strength,  $\sigma$ ), 변형률을 항복신장률(elongation at yield,  $\epsilon$ )이라 부른다.

· 인장 탄성률 (tensile modulus, Young's modulus :  $\text{kg/cm}^2$  or MPa) : 변형률에 대한 응력의 비(인장응력/인장변형률)

· 파단 강도(tensile strength at Break point :  $\text{kg/cm}^2$  or MPa) : 시편이 끊어지는 점에서의 인장강도

· 파단신율(tensile elongation at Break point : %) : 시편이 끊어지는 점에서의 인장신율

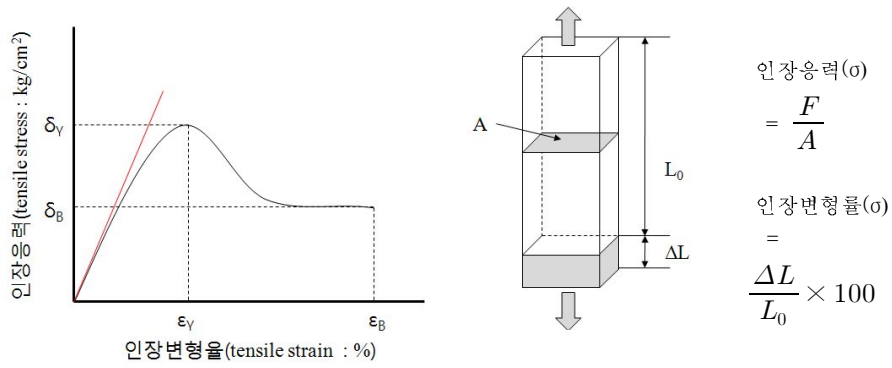


Fig 3. Tensile stress and tensile strain.<sup>31</sup>

용어 정리

$A_0$  : 변형전 시편의 초기 단면적(cm<sup>2</sup>)

$\Delta L$  :  $L_1 - L_0$  (cm)

$L_0$  : 변형전의 표선간 거리(cm)

$L_1$  : 변형후의 표선간 거리(cm)

$\sigma$  : 인장응력(tensile stress) (kgf/cm<sup>2</sup> or MPa)

$\epsilon$  : 인장 변형률(tensile strain) ( $\Delta L/L_0$ )

$E$  : 인장 탄성률, 영률(young's modulus) (kgf/cm<sup>2</sup>)

② 생분해성고분자 종류 및 기계적 성질

표 3은 대표적인 고분자물질의 물성에 대한 표이다.

생분해성고분자	유리전이 온도(Tg)	용융온도 (Tm)	인장강도 (MPa)	탄성률 (MPa)	굴곡률 (MPa)	변형률	
						항복(%)	파단(%)
poly(glycolic acid)(MW50,000)	35	210	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
poly(lactic acids)							
L-PLA(MW50,000)	54	170	28	1200	1400	3.7	6.0
L-PLA(MW100,000)	58	159	50	2700	3000	2.6	3.3
L-PLA(MW300,000)	59	178	48	3000	3250	1.8	2.2
D,L-PLA(MW20,000)	50	.	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
D,L-PLA(MW107,000)	51	.	29	1900	1950	4.0	6.0
D,L-PLA(MW550,000)	53	.	35	2400	2350	3.5	5.0
PLGA 85:15	50~55	.	.	.	.	.	.
PLGA 75:25	50~55	.	.	.	.	.	.
PLGA 65:35	45~50	.	.	.	.	.	.
PLGA 50:50	45~50	.	.	.	.	.	.
Poly-(β-hydroxybutyrate)(MW422,000)	1	171	.	.	.	.	.
Poly-(ε-caprolactone)(MW44,000)	~62	57	36	2500	2850	2.2	2.5
PolyAnhydrides <sup>2</sup>			16	400	500	7.0	80
Ploy(SA-HDA anhydride)(MW142,000)	n/a	49	4	45	n/a	14	85
Poly(ortho esters) <sup>b</sup>							
DETOSU:t-CDM:1,6-HD(MW99,700)	55	.	20	820	950	4.1	220
Polyiminocarbonates <sup>c</sup>							
Poly(BPA iminocarbonate)(MW105,000)	69	.	50	2150	2400	3.5	4.0
Poly(DTH iminocarbonate)(MW103,000)	55	.	40	1630	n/a	3.5	7.0

Table 3. Material and mechanical properties of biodegradable polymers.<sup>30</sup>

## 라. 금속 재료

보통의 금속 결정에서는 각 원자의 가장 바깥쪽 전자가 자유롭게 움직일 수 있는 상태이며, 이 최외각전자를 제외한 나머지 원자는 일정한 거리 및 간격으로 배열되어 있다. 비결정성 금속은 보통의 금속 결정처럼 원자가 규칙적으로 배열하지 않는다.

금속은 일반적으로 고체 상태에서 금속결합을 한다. 금속을 이루는 금속원소는 철(Fe), 구리(Cu), 알루미늄(Al), 니켈(Ni), 티타늄(Ti) 등이 있다. 일반적으로 금속재료는 강도가 강하며 연성이 있고, 결정질 구조를 이루며 대부분 열 및 전기전도체이다. 자유로이 움직이는 전자를 자유전자라고 하며, 음전하여서 외부로부터 전압을 걸어 주면 일정 방향으로 이동하고, 금속의 양끝에 온도 차이가 생길 때 전자는 온도가 높은 곳에서 낮은 곳으로 열전달이 이루어진다. 이는 금속이 전기 및 열을 잘 전달하는 이유이다. 하지만 이러한 자유전자는 규칙적으로 배열된 원자 사이를 움직여 온도가 높아져 원자의 열진동이 심할수록 자유전자의 흐름은 방해받게 된다. 따라서 온도가 높을수록 전기는 이동하기 힘들게 되며, 금속의 전기저항은 온도가 높을수록 증가하게 되는 특성을 갖는다.

재생의학용 금속재료는 손상된 조직의 치료를 목적으로 하기 때문에 생체 친화성의 특성을 가져야 한다. 생체 금속의 경우는 화학적으로 안정적이어야 하며 내 부식성, 비발암성, 무독성 재료가 사용된다. 또한 주로 뼈 이식을 위한 재료로 사용되기 때문에 높은 피로강도가 요구된다. 니켈 합금의 경우는 내산화성을 나타내며 전기적 전도도가 좋으며 내식성을 나타낸다. 티타늄 합금의 경우는 저밀도, 고강도, 낮은 탄성강도의 특성을 보이며 뛰어난 내 부식성, 생체 친화성의 특성으로 인해 생체 이식에 적합하다. 하지만 낮은 내마모성과 가격이 비싼 단점을 보유하고 있다.

## 따. 세라믹 재료

고전적인 의미의 세라믹이란 천연원료광물을 분쇄하여 그대로 사용하는 것이며, 고기능 세라믹(Fine Ceramics, New Ceramics)이란 고 순도로 정제한 원료를 사용하는 것을 말한다. 재료들을 크게 유기재료(Hydrocarbon Products)와 비 유기재료(Non-Hydrocarbon Products)로 구분하며, 재료는 금속과 무기재료(Ceramics)로 나눌 수 있다.

세라믹은 가열과 냉각을 통해 제작된 무기화합물이며 비금속 고체이기 때문에, 일반적으로 이온 또는 공유결합의 여러 가지 형태로 이루어진 무기화합물로서 대부분이 단단하며 배위결합을 하거나 이온 성을 띤 고체에 전하를 가진 결합들이 이루어져 금속결합보다는 좀 더 개방되고 복잡한 결정 구조들이 무기물에 존재한다. 고 순도의 인공 원료를 사용해서 만들어지는 파인세라믹(fine ceramic)은 전자재료, 정밀기계 재료 등 다양한 용도로 사용되고 있다.

세라믹은 금속 재료와 달리 전기전도도가 낮을 뿐 아니라 유기재료와는 달리 고온에서도 잘 견디는 특징을 가지고 있다. 세라믹은 생체 내에서는 불활성의 특징을 나타내며 높은 압축강도를 갖는다. 카본을 이용한 경우 심장 판막과 같은 혈액과 직접적으로 접촉되는 부분에 사용되고 있으며 그 이유는 높은 강도와 혈액 적합성의 특징을 나타내기 때문이다. 생분해성 세라믹 재료로 TCP(tricalcium phosphate)와 Calcium aluminate 등이 있고, 이러한 물질들은 골 재생에 도움을 주기 때문에 주로 골 재생용으로 사용할 수 있다. 또한 Hydroxy apatite(HA)는 인공뼈 및 인공관절 등에 사용될 수 있어 현재는 고분자와 혼합하여 사용되는 방법을 연구되고 있다.

생체 불활성 세라믹으로 알루미나(aluminum oxides,  $Al_2O_3$ )등이 있으며 고 순도의 알루미나는 고경도 및 강도, 저 마찰 성, 내마모성, 내 부식성, 생체적합성 등의 특성이 있으나 가공이 힘든 단점과 깨어질 가능성이 높은 재료이다. 이러한 생체불활성 세라믹의 경우는 뼈, 고관절, 무릎관절 등으로 사용되고 있다.

생체 활성 세라믹은 수산화 아파타이트(Hydroxyapatite(HA),  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ )가 있으며 HA는 뼈의 주성분으로써 뼈 대체물질로 사용되며 다양한 형태로 가공되어 치과, 정형외과 등으로 주로 사용되고 있다.



### 3. 조직공학의 분야 및 응용

인체조직의 재생능력은 복잡하고 특성 있는 조직 구조를 갖추어 조직이 자체적인 재생력을 넘어 큰 손상을 발생 하였을 때 재생하고자 하는 능력이 한정적으로 제한이 된다. 인체 내에 있는 줄기세포에 의해 조직손상 시 재생이 가능하지만 사고나 질병 등 재생 기능의 한계를 벗어나는 일이 생기게 된다. 최근 다양한 질병 및 사고의 증가로 인해 재생력의 한계에 봉착하여 그에 대한 대체품의 필요성이 급증하고 있다. 또한, 생체조직을 효과적으로 대체하거나 이식할 수 있는 기술 개발이 이루어지고 있어 최근에는 조직과 기관을 복원 및 대체하려는 생명과학, 공학 그리고 의과학을 통합 응용하는 생체조직공학으로 발전하고 있다.

조직이나 기관의 복원을 도울 수 있는 생체물질 부터 재료에 이르는 생물학적, 공학적인 기술을 응용하여 생체 조직의 구조와 기능을 연구하여 생체 대용품을 만들어 이식함으로써 기능을 복원, 유지, 향상 하고자 하는 목적을 달성하기 위한 다양한 방법이 연구되고 있다. 이러한 조직공학은 여러분야로 응용이 가능하며 크게 몇 가지로 분류할 수 있다.

#### 가. 피부

인체 세포를 포함한 조직 공학 제품(tissue engineering medical products)으로 가장 먼저 임상에 적용되었다. 초기 인공피부는 콜라겐이나 glycosaminoglycan 과 같은 세포 기질을 이용한 개발이 시도된 바 있다.<sup>32</sup>

세포 기질을 이용 한다는 것은 세포가 없는 얇은 막 형태로 체액의 증발로 인한 소실을 막아 피부에 콜라겐 등으로 인하여 새로운 혈관과 결합 조직의 재생을 유도하는 방식 이었다.

콜라겐 스펀지 / 실리콘막(Terudermis®/Terumo Co), 콜라겐 스펀지/GAG /실리콘막(Integra®/ Integra Life Sciences), 키토산/ 콜라겐 스펀지(BASTM/Modern Tissue Technologies) 등이 나와 있고, 그 외에 동종 진피로는 타인의 탈 표피

화된 진피(AlloDerm®/LifeCell Corporation, Cymetra®/microsized alloDerm)등이 있고 이중 진피로는 동결 건조된 돼지 진피층으로 Alloask® D/ 대봉 약품공업 등이 있다.

최근에는 과거 기술의 바탕으로 환자 자신의 세포를 이용하는 방법을 사용하고 있다. 피부의 각층을 구성하는 세포를 채취하여 그 수를 증가시킨 후 적절한 합성고분자 또는 합성고원질 등에 부착하여 조직을 형성한 뒤 다시 환자에게 이식하는 방법으로 자가 세포를 이용하기 때문에 거부 반응도 없고 피부의 크기를 크게 할 수 있는 장점이 있어 임상에 사용되고 있다. 이렇게 복합적 3 차원 조직배양을 통해 임상에 적용하기 쉬운 배양 기술로 진전 되고 있다.

## 나. 심혈관계

인공 혈관, 심장 판막, 인공 심장 등을 들 수 있다. 이러한 혈관의 대부분의 질병은 폐쇄성 질환이며 혹은 유전적 섬유질 형성장애, 대동맥류, 대동맥 박리증, 외부 손상 등이 있다.

인공혈관은 손상된 말단 조직의 혈류 공급 대체가 가능 하였으나 모세혈관의 경우 막혀 버리는 문제점을 가지고 있어 이를 해결하기 위하여 혈관 내피 세포를 인공혈관에 부착시켜 생체 기능을 복원하고 혈류의 흐름을 증가시키는 방법들이 연구되고 있다. 혈관 이식술은 혈관의 문합수기를 발표한 이래 계속 발달되어 왔는데 대부분의 경우가 동맥경화에 의한 폐쇄성 질환이며 대동맥류, 대동맥 박리증, 외부손상 등으로 혈관이식술을 요하는 경우도 있다. 대동맥의 치환은 대동맥류에 의한 경우가 대부분이고 자가 혈관을 이용한 치환이나 우회로 조성술 등은 어렵다. 또한, 사용 가능한 범위가 제한적이기 때문에 반복수술을 요하는 경우, 선행된 혈관질환을 앓았던 경우처럼 자가 혈관의 이식이 어렵거나 불가능한 경우에는 환자의 생명이나 삶의 질의 향상을 위해 동종혈관이나 인조혈관 등의 자가 혈관의 대용이 요구되고 있다.

심장의 경우 심장 판막 질환에 대하여 손상된 판막을 대체할 수 있도록 인공 생체 조직으로 만든 판막이 연구 중이고 심근 경색 등 심장 근육 손상 시

심장 근육은 재생을 하지 않으므로 골격근에 있는 증식 가능한 세포를 심장 근육에 이식하는 방법이 개발 중이다.

## 다. 비뇨기계

최근에는 질병으로 인해 사용할 수 없는 신체의 각 기관을 인공적으로 만든 물질로 교체하여 그 기능을 회복시키는 연구가 성공되면서 비뇨기과 영역에서도 조직공학을 이용한 여러 치료방법이 제시되고 있다. 조직공학을 이용하여 생체를 재건하기 위해서는 재건하고자 하는 조직의 세포와 폴리머 세포 담체가 필요하다. 비뇨기과 영역 중에서 요관을 일부 대체할 방법으로 조직공학을 이용한 방법을 시도하는 등 많은 연구가 진행되고 있다.

## 라. 뼈 및 연골

뼈나 연골의 재생은 손상부위의 고정을 통하여 치유시키기 위한 의도로 발전되어 오면서 세라믹, 금속 등의 인공 재료를 사용한 치료법으로 진행되어왔다.<sup>33</sup> 이후에는 생체적합성이 우수한 바이오-세라믹과 보합재료들을 통하여 조직세포를 자극하여 더 빠르게 복원 가능하도록 개량하는 연구가 진행되고 있으며, 골전도 매체로써 세라믹, 콜라겐 생분해성 폴리머가 있고, 골유도 성장 인자들로써 골 형성 단백(BMP), 기타 골형성 인자, 중배엽 줄기 세포의 이용 등이 있다. 연골조직은 인체 중에서도 아주 독특한 조직으로써 혈관이 없고, 신경 또한 없으며 또한 재생이 잘 일어나지 않는다는 점이 특징이다. 사고 또는 연골 및 연골 하 뼈조직의 피사 등에 의한 질병은 매우 보편적인 것 중의 하나이며 이들 질병을 고칠 목적으로 임상이 진행되었으나 아직까지도 완벽한 치료법이 없는 것은 사실이다. 이러한 질병의 근본적인 원인은 성별, 나이별, 인종별, 병변부위별, 병변크기, 병변깊이 등 병변종류에 따라 치료되는 연골의 치료이력이 모두 다르기 때문이다. 이는 연골 하 뼈까지 절삭, 골막 또는 연골막 등으로 상처부위의 표면을 치료, 연골 화를 촉진시키는 성장인자의 투여, 자가 연골을 체외에서 배양하여 상처부위에 넣는 방법 등으로 많은 발전이 이루어지고 있으며, 이를 바탕으로 환자 자신의 연골 세포와 생분해성 고분자를

이용하여 대체하는 조직공학적인 접근 방법이 함께 연구되고 있다.

#### 따. 치아

치주조직의 손상 시에는 최근 발달한 약물 전달 기법을 이용하여 세포 성장인자나 항생제를 지속적으로 투여하여 조직의 재생을 유도하고 감염을 예방하는 방법이 있다. 최근에는 치아를 구성하는 세포와 생분해성 고분자를 이용하여 치주인대, 골 등의 조직 재생도 시도하고 있다.<sup>34</sup>

이와 비슷한 방법으로 조직공학은 많은 곳에서 응용 및 활용 되고 있으며 또한, 많은 연구가 활발히 진행되고 있다.

## 제2절 전기방사(Electrospinning)

### 1. 전기방사의 원리

16세기 말 William Gilbert에 의해 작은 물방울에 정·전기적 전하가 영향을 주어 cone 형태의 모양으로 변하고 결국 cone의 끝부분에서 작은 방울이 방출되어 나가는 것이 관측되었고, 이것이 최초의 전기분무(electrospraying)이다.

흔히 전기방사는 전기유체역학(EHD, Electro-hydrodynamics), 전기유동역학(electro-fluid-dynamics) 혹은 전기동역학(electrokinetics)로 알려져 있으며 전기적 전하의 유동과 관련된 역학이다. 즉, 이온 입자의 이동, 입자들 정전기적 영향의 관계 등에 관련되어 연구하는 학문이다. 전기유체 역학에는 많은 부분이 있지만 전기영도(electrophoresis), 전기방사(electrospinning)등의 분야가 포함된다. 전기유체역학은 고전압에서 발생하는 전기장을 이용하여 액체 상태인 재료를 이동시켜 마이크로/나노 사이즈의 섬유나 비드를 생성 시킬 수 있다.<sup>35-38</sup>

전기방사기술은 1934년과 1944년 사이에 독일 공학자 Formals가 정전기력을 이용한 고분자 필라멘트 생산기술에 관한 특허를 출원한 이후 1970년대부터 본격적인 연구가 시작되었다. 2000년 이후, 전기방사 공정 자체에 대한 이론적 해석과 모사에 관하여 활발히 연구되고 있다.<sup>39-45</sup>

전기방사는 필라멘트를 얻는 조작을 뜻하는 spinning과 섬유 형성을 제어하는데 사용되는 정전기력(electrostatic force)이 결합된 용어로서, 나노 섬유(Nano fiber)를 제작하는 전기방사의 원리는 점도는 1 ~ 200 poise 정도의 충분한 점도를 갖는 고분자를 고전압이 걸린 모세관 노즐 팁(nozzle tip)을 통해, 고분자 물질의 속도를 제어하여 용액을 모세관 노즐 끝부분으로 통과시키면 용액은 고전압의 전기장으로 인하여 많은 전하를 갖는 이온용액을 만들어 방출하게 된다. 즉, 용액상의 양이온들은 표면에 축적되며 표적(target) 방향으로 이동이 이루어지며 테일러 콘(Taylor cone)을 형성하는 것이다. 이때 전기적 반발력이 표면장력보다 강해지면 전하를 띤 고분자용액이 Taylor cone과 표적 쪽으로 이

동하면서 정·전기력에 의해 나노섬유가 흔들리는 whipping zone을 형성한다. 이렇게 축적된 액체들은 전기력이 표면장력에 영향을 주어 증가하게 되고, 이온 물방울들은 모세관의 노즐 끝부분을 통과하며 만들어진 나노 크기 분사 물 들 은 전기적으로 초래된 굴곡 불안정성(bending instabilities)을 거쳐서 전기적 ground 처리되어있는 표적으로 이동 나노섬유로 만들어지게 된다.

이렇게 제작된 나노섬유는 직경이 약 20 nm ~ 1 $\mu$ m 사이의 섬유로서 부피에 비해 표면적이 크기 때문에 필터로 사용하였을 때 탁월한 여과 효과를 볼 수 있다. 또한, 호흡성이 있어 세균 등의 침투를 막는 보호복, 약물전달시스템 등 다양한 분야에서 활용될 수 있다.<sup>46-47</sup>

일반적으로 나노섬유는 전기방사기술에 의해서만 제조가 가능하며, 섬유 형성 과정에서 전기장과 유체 불안정성으로 섬유에 수반하여 형성되는 비드 형태의 결점을 발생시키고, 섬유 형성이 불규칙적으로 배열 및 굵기 등의 조절이 어렵다.

그림 4는 이러한 전기유체역학에 관한 모식도이다.

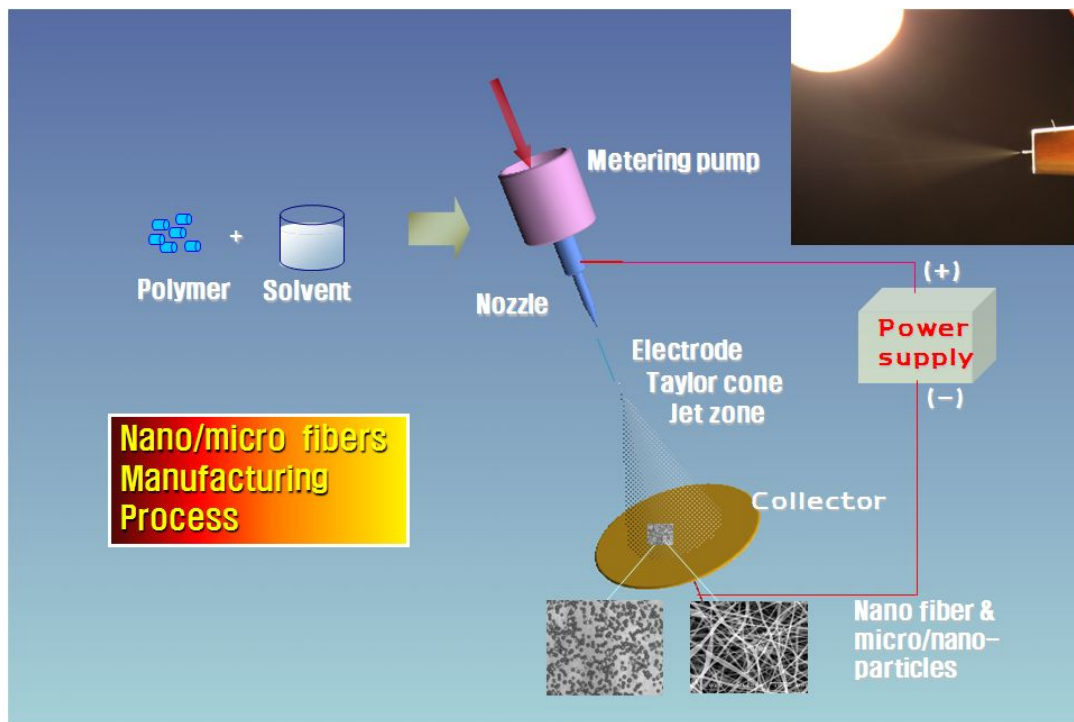


Fig 4. General electro-hydrodynamics process.

## 2. 나노섬유의 응용

나노섬유는 직경이 작고 표면적이 넓은 장점을 가지고 있다. 이러한 구조는 조직이 재생되는 과정에서 세포담체의 역할을 훌륭히 소화해낼 수 있으며 세포의 증식 및 부착에 도움이 된다. 따라서 이러한 다공성/다 표면적의 3차원적 구조는 조직공학용 세포담체로써 이용가치가 높다.

### 가. 필터

전기방사에 의해 나노단위로 구조 제어된 필터는 유해 물질을 분별하여 제거 가능하고, 나노섬유 기술이 확립되면서 구조적으로 결합이 적은 섬유를 제조할 수 있다. 나노섬유는 비표면적이 크기 때문에 나노섬유와 매트릭스 고분자의 계면 구조제어 및 매트릭스 내부의 나노섬유 분산 제어로 종래의 복합재료에 비해 우수한 초경량, 고강도의 재료가 실현 가능하다. 또한 환경산업용으로 이용되는 예로써 농업용 다기능 비닐, 수 처리 필터, 에어필터 등이 있다. 수 처리 필터와 에어 필터는 환경오염 문제와 결합되며, 앞으로 큰 수요를 가지는 분야이다.

### 나. 의공학

생체의 구조 조직은 바이오 나노섬유를 기본으로 구성되어 단층 구조화함에 따라 확장, 압축, 굴곡 등 여러 가지 변형적 조직을 형성하고 있다. 나노섬유 기술은 바이오칩, 바이오센서, 바이오 필터 등에 응용된다. 나노 코팅과 나노 패브릭 기술은 바이오칩과 바이오센서에 응용함에 따라 균일한 박막의 다공성 구조를 얻을 수 있고, 미생물을 고정화 하면, 반응성이 높고 처리 효율이 좋은 바이오 필터가 된다. 나노 크기의 다공성 마이크로 패브릭은 바이러스나 유해 미생물의 침입은 막고 영양소는 투과시키는 재생 의료용으로 활용되고 있다.<sup>48</sup>



## 다. 연골

연골은 다른 조직이나 장기와는 달리 혈관, 신경 및 임파조직 등이 없다. 따라서 연골 손상 후에도 염증 반응이 발생하지 않으며 회복과 세포의 보충이 어려워 손상된 연골의 재생 및 회복은 제한성을 갖는다. 이런 특성으로 인해 많은 연구자들이 *in vitro*에서 세포담체를 이용하여 연골재생과 관련해 전기방사법에 의해 제작된 나노섬유를 연골 재생에 응용하는 연구가 진행 중이다.<sup>49</sup>

## 라. 약물전달시스템

일반적으로 약물은 크기가 작으면 작을수록 잘 흡수 된다. 나노섬유를 이용하여 약물전달에 이용하는 것은 나노섬유의 크기가 매우 작고 표면적이 크기 때문이다. Kenway는 tetracycline hydrochloride의 약물전달을 실험하였고, Ignatious는 전기 방사된 나노 섬유를 이용하여 우리가 원하는 시간에 순간적으로 약물투여를 할 수 있음을 보였다.<sup>50-51</sup>

연구결과 생분해성 고분자로 제작된 나노섬유는 넓은 표면적을 가지고 있기 때문에 외부로부터의 보호를 할 수 있으며 동시에 효과적인 약물 전달 기능까지 수행 할 수 있는 것으로 확인되었다. 그러나 나노섬유를 이용한 약물 전달방법은 초기 연구단계에 있어 많은 연구가 진행 중에 있다.

### 제3절 세포담체(scaffold) 제작

#### 1. 서론

최근의 세포 재생 공학 분야에서는 인체의 조직을 모사하거나 세포들을 배양시킬 수 있는 세포담체(Scaffold)를 이용하여 인체 조직들을 대체 하고자하는 연구가 많이 진행 되고 있다. 사람의 인체에는 부유 세포와 부착되어 성장할 수 있는 부착세포로 구성되어 있고, 그 중 부착세포는 세포들이 부착될 수 없으면 성장을 하지 못하고 죽게 된다.<sup>52</sup>

이에 대해 현재 바이오-플로팅 시스템을 이용하여 원하는 형상의 세포담체 외형을 제작 하고, 내부는 세포들이 침투 할 수 있는 다공정의 구조를 갖추어 부착 세포들이 성장할 수 있는 환경을 제공 시간이 경과함에 따라 세포의 증식을 돕는 구조물을 갖추고 있다. 이는 신체부위와 대등한기계적 강도를 갖고 있어야 하고, 원하는 모양의 제작이 용이하여야 한다. 또한, 높은 공극률 (porosity)과 넓은 표면적을 가지고 균일하게 연결되어 세포들이 증식할 수 있는 통로로 구성되어야 한다. 인체조직을 대신 하여야 하기 때문에 체내 거부 반응 없이 생체친화적인 물질이어야 하고, 분해된 성분들의 체내 흡수 (bioabsorbable)와 세포가 증식됨에 따른 생분해(biodegradable)가 가능한 구조물의 세포 대체능력에 문제가 없어야한다. 이러한 세포담체 제작에는 생체 고분자 재료 중 PCL(poly-ε - caprolactone)을 많이 사용하고 있다. PCL특성은 낮은 용융점을 가지며 기계적 성형이 용이하며 일정 수준 이상의 기계적 강도를 가지고 있고, 독성이 없는 생체 친화적인 재료로서 체내에서 가수분해와 효소 활동 등에 의해 분해되어 이산화탄소와 물의 형태로 배출되는 특성을 지니고 있다. PCL을 이용하여 제작하는 세포담체는 화학적 방법인 염침출법 (salt-leaching process)과 3D 프린팅법등이 사용하고 있다.

그림5는 일반적인 바이오-플로터의 모식도이다.

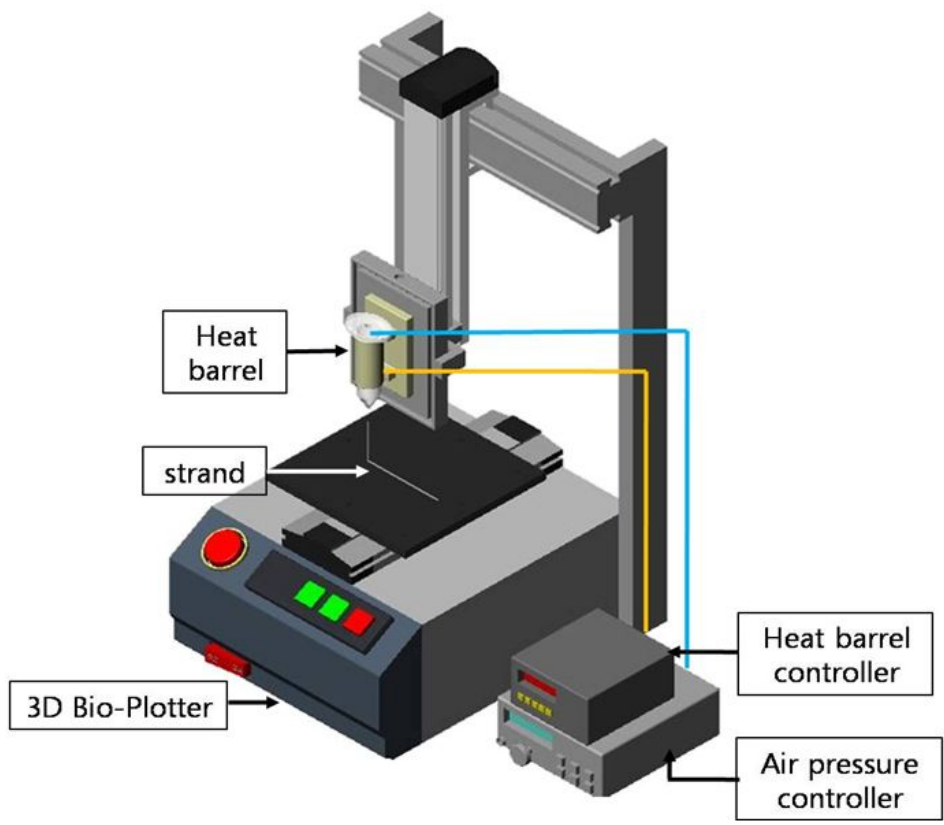


Fig 5. Schematic of bio-plotting system.

## 2. 3차원세포담체 제작 방법

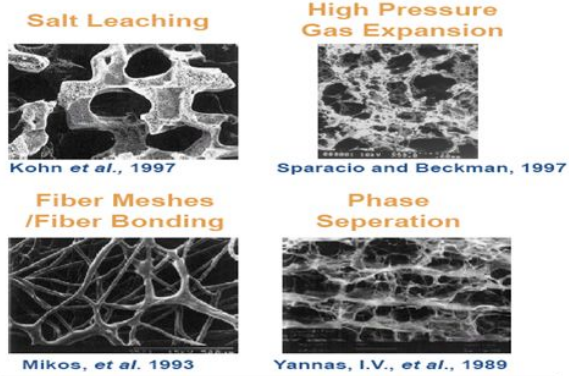
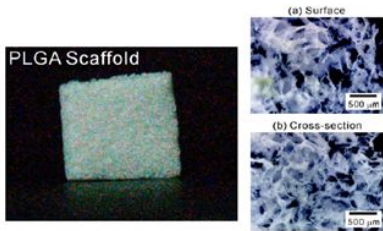
PCL을 이용하여 제작하는 세포담체는 화학적 방법인 염침출법(salt-leaching process)과 3D 프린팅법등이 사용하고 있다. 염침출법은 어느 정도의 공극 분포를 가지며 높은 공극률을 가지고 있다. 그러나 염 침출법의 구조는 구조 자체가 sponge 형태로 기계적 강도가 약하고 공극들이 서로 interconnected한 구조를 이루지 못하는 단점을 가지고 있다. 이러한 구조는 세포들이 표면에 seeding되어 어느 정도 자라고 침투가 진행되면 세포사이의 공간이 새로 증식된 세포들로 채워지게 되어 산소나 영양분들이 차단되어 penetration depth를 형성하며 더 이상 자라지 못하는 세포증식에 문제점을 가지고 있다. 3D 프린팅법과 바이오플로팅(bio-plotting)법의 경우 영양소와 세포의 이동통로로 이용될 수 있는 연결성 구조를 제공하는 세포담체로서 3D 프린팅 법은 powder mixture 등의 재료로 롤러를 이용하여 한 층 씩 쌓아가는 방법이고 바이오 플로팅 법은 점도를 가진 재료를 미세한 노즐을 통한 압출 방식으로 그려내는 방법이다. 두 가지 방법모두 공극들의 연결이 잘되어있다. 그러나 기계적 강도를 살펴보면 여러 부분에서 3D 프린팅 방식이 바이오 플로팅 방식보다 낮은 값을 나타낸다. 이러한 차이는 결국 세포의 증식에서도 바이오플로팅 방식이 우월한 결과를 보여준다. 바이오 플로팅 시스템에 의한 세포담체의 제작은 고분자 재료의 민감한 특성인 온도와 세포담체 조건에 의해 좌우 되는데, 온도변화에 따른 니들에서의 swelling 현상이나, plotting 속도에 따른 strand의 diameter 변화와 이들이 layer thickness 변화에 미치는 영향 등을 고려하여 제작 하여야 한다.

여러 세포담체 제작방법에 관하여 그림 6에 나타내었다.

❖ Conventional techniques

- Gas foaming
- Freeze drying
- Solvent casting and particulate leaching
- Fiber bonding
- Electrospinning

Ex.) Salt-leached PLGA



Type	3D Printing	Stereolithography	Fused Deposition Modelling	3D Plotter
Schematic figure				
Working principle	Ink jet printing technology	Polymerization by UV laser beam	Extrusion	Extrusion by compressed air
Axis control	x- and y-axis	x- and y-axis	x- and y-axis	x- y- z-axis
Reaction material	-binder -polymer powder	-photocurable monomer	-polymeric material	-plotting medium -liquid medium
z-axis control	elevator	elevator	elevator	head
Research group	Bredt <i>et al.</i> , 1998	Hull, 1990	Scott, 1991	Landers <i>et al.</i> , 2000

Fig 6. Scaffold Fabrication Techniques.<sup>47</sup>

### 3. 참고 문헌

1. HJ Ha, SH Kim, SJ Yoon, et al., *Polymer(Korea)*, 32, 26 (2008)
2. G Khang, SK Kim, KD Hong, et al., *Tissue Eng. Regen. Med.* 1(2), 136 (2004)
3. SJ Lee, I Lee, YM Lee, et al., *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* 15(8), 1003 (2004)
4. JW Jang, KS Park, SH Kim, et al., *Tissue Eng. Regen. Med.* 2(1), 34 (2005)
5. G Khang, EJ Kim, SH Kim, et al., *Tissue Eng. Regen. Med.* 2(1), 20 (2005)
6. G Khang, KD Hong, SH Kim, et al., *Tissue Eng. Regen. Med.* 2(3), 264 (2005)
7. G Khang, SJ Lee, MS Kim, et al., 2nd Ed. Edited by S. Webster, John & Wiley Press, NY, 366-383 (2006)
8. HB Lee, MS Kim, G Khang et al., Taylor & Fransis, NY. 1-20 (2006)
9. G Khang, MS Kim, BH Min, et al., *Tissue Eng. Regen. Med.* 3(4), 376 (2006)
10. SH Kim, SJ Yun, JW Jang, et al., *Polymer(Korea)*, 30(1), 14 (2006)
11. R Langer, JP Vacanti, *Tissue engineering Science*, 260, 920 (1993)
12. A Sanan, SJ Haines, *Repairing holes in the head: A history of cranioplasty, Neurosurgery*, 40, 588 (1997)
13. JJ van Meekeren, *Observationes Medico-Chirurgicae*, Amsterdam (1682)
14. A Barth, *Arch Klin Chir*, 46, 409 (1893)
15. B van der Lei, CR Wildevuur, P Nieuwenhuis, et al., *Arch Klin Chir*, 46, 409 (1893)
16. JP Vacanti, MA Morse, WM Saltzman, et al., *J. Pediatr. Surg.* 23, 3 (1988)
17. KR. Stone, WG Rodkey, R Webber, et al., *Am. J. Sports Med.* 20, 104 (1992)
18. BM Wu, SW Borland, RA Giordano, et al., *J. Control Rel.* 40, 77 (1996)
19. XJ Yu, GP Dillon, RV Bellamkonda, *Tissue Eng.* 5, 291 (1999)
20. KE Healy, A Rezanian, RA Stile, *Bioartif Organs II: Technol. Med. Mater.* 875, 24 (1999).
21. Aboubakar M, Puisieux F, et al., *J. Biomed. Mater. Res.* 47: 568, (1999)
22. Asselineau D, Bernhard B, Bailly D: Darmon, *Exp. Cell Res.* 159: 536, (1985)
23. Atherton E, Sheppard RC: IRL Press, Oxford, England, 1989
24. Barritt GJ, Oxford, England, (1992)

25. Beesley JE, Oxford, England, (1993)
26. Gastner DG, Ratner BD, Surface Science, 500, 42 (2002)
27. A. G. Mikos and J. S. Temenoff, Electronic Journal of Biotechnology, 3, 1 (2000)
28. Y. L. Cui, X. Hou, A. D. Qi, X. H. Wang, H. Wang, K. Y. Cai, Y. Ji Yin, and K. De Yao, J. Biomed. Mater. Res. 66, 770 (2003)
29. J. C. Middleton and A. J. Tipton, Medical Plastics and Biomaterials Magazine, Mar. 30 (1998)
30. 생체조직공학의 개념과 응용, 유지 이일우, 고려의학 (1998)
31. SI재료역학, 이환우, 박용걸, 정재강, 차용훈 공역, 인터비전 (2004)
32. E. Bell, P. Ehrich, D.J. Buttle, T. Nakatsuji, Science 221, 1052-1054 (1981)
33. M. Murai, S. Sato, R. Koshi, K. Yokoyama, K. Ikeda, M. Narukawa, T. Takayama, N. Yoshinuma, K. Ito, J. Oral Science, 47, 209-217 (2005)
34. D.J. Mooney, C. Powell, J. Piana, B. Rutherford, Biotechnol. Prog. 12, 865 - 868 (1996)
35. H. Okuda, & A. J. Kelly, 3, 2191-2196 (1996)
36. M. Sato, H. Takahashi, M. Awazu, & T. Ohshima, Journal of Electrostatics, 46, 171-176 (1999)
37. O. V. Salata, P. J. Hull, & P. J. Dobson, Advanced Materials, 9, 413-417 (1997)
38. S. Hartwig, E. Fadi, European Journal of Pharmaceutical Sciences, 19, 443-455 (2003)
39. A. Formhals, US Patent, 1, 975, 504 (1934)
40. G. I. Taylor, Proceedings of Royal Society of London, A280, 383 (1964)
41. D. H. Reneker, A. L. Yarine, H. Fong, S. Koombhongse, Journal of Applied Physics, 87, 9, 4531-4547 (2000)
42. J. Doshi, D. H. Reneker, J. Electrostatics, 35, 151-160 (1995)
43. H. Fong, I. Chun, D. H. Reneker, Polymer, 40, 16, 4585 (1999)
44. J. M. Deizel, J. Kleinmeyer, D. Harris, N. C. B. Tan, Polymer, 42, 261 (2001)
45. M. M. Hohman, M. Shin, G. C. Rutledge, M. P. Brenner. Physics of Fluids, 13, 2201-2201 (2001)

46. G. T. Kim, Y. C. Ahn, J. K. Lee, N. Kattamuri, C. M. Sung, *ILASS-Korea*, 8, 2, 31-37 (2003)
47. H. Yoon, G. H. Kim, W. D. Kim, *Polymer (Korea)*, 32, 4, 1-6 (2008)
48. Kaji Keisuke, 'Nano Fiber Technology is Developing Advanced Industry' by Tatsuya Hongu (2004)
49. H. J. JIN, J. Chen, V. Karageorgiou, G. H. Altman, D. L. Kaplan, *Biomaterials*, 25, 1089 (2004)
50. E. R. Kenawy, G. L. Bowlin, K. Mansfield, J. Layman, D. G. Simpson, E. H. Sanders, et al., *Journal of Controlled Release*, 81, 57-64 (2002)
51. F. Ignatious, J. M. Baldoni, PCT/US01/02399 (2001)
52. G. H. Kim , *Polymer(Korea)*, 32, 458-464 (1994)



## 제2장 실험 및 방법

### 제1절 전기방사법을 이용한 poly( $\epsilon$ -caprolactone)과 Silk fibroin 함유된 나노섬유 제조 공정.

#### 1. 서론

최근의 세포 재생 공학 분야에서는 인체의 조직을 모사하거나 세포들을 배양시킬 수 있는 세포담체(Scaffold)를 이용하여 인체 조직들을 대체 하고자하는 연구가 많이 진행 되고 있다. 이에 대해 현재 바이오-플로팅 시스템을 이용하여 원하는 형상의 세포담체 외형을 제작 하고, 내부는 세포들이 침투 할 수 있는 다공질의 구조를 갖추어 부착 세포들이 성장할 수 있는 환경을 제공, 시간이 경과함에 따라 세포의 증식을 돕는 구조를 갖는 세포담체가 대두되고 있다. 또한 나노섬유를 제작하는 방법이 구체화되고 발전하면서 나노섬유 또한 세포담체로서 원활한 역할을 수행하고 있다. 흔히 전기방사는 전기유체역학(EHD, Electro-hydrodynamics)등으로 알려져 있으며 전기적 전하의 유동과 관련된 역학이다. 전기유체 역학에는 많은 부분이 있지만 전기영도(electrophoresis), 전기방사(electrospinning)등의 분야가 포함된다. 전기유체역학은 고전압에서 발생하는 전기장을 이용하여 액체 상태인 재료를 이동시켜 마이크로/나노 사이즈의 섬유나 비드를 생성 시킬 수 있다.<sup>1-4</sup>

전기방사는 필라멘트를 얻는 조작을 뜻하는 spinning과 섬유형성을 제어하는데 사용되는 정전기력(electrostatic force)이 결합된 용어로서, 나노 섬유(Nano fiber)를 제작하는 전기방사의 원리는 점도는 1 ~ 200 poise 정도의 충분한 점도를 갖는 고분자를 고전압이 걸린 모세관 노즐 팁(nozzle tip)을 통해, 고분자 물질의 속도를 제어하여 용액을 모세관 노즐 끝부분으로 통과시키면 용액은 고전압의 전기장으로 인하여 많은 전하를 갖는 이온용액을 만들어 방출하게 된다. 즉, 용액상의 양이온들은 표면에 축적되며 표적(target) 방향으로 이동이

이루어지며 테일러 콘(Taylor cone)을 형성하는 것이다. 이때 전기적 반발력이 표면장력보다 강해지면 전하를 띤 고분자용액이 Taylor cone과 표적 쪽으로 이동하면서 정·전기력에 의해 나노섬유가 흔들리는 whipping zone을 형성한다. 이렇게 축적된 액체들은 전기력이 표면장력에 영향을 주어 증가하게 되고, 이온 물방울들은 모세관의 노즐 끝부분을 통과하며 만들어진 나노 크기 분사 물 들은 전기적으로 초래된 굴곡 불안정성(bending instabilities)을 거쳐서 전기적 ground 처리되어있는 표적으로 이동하는 원리로 나노섬유가 만들어지게 된다.

일반적으로 나노섬유는 전기방사기술에 의해서만 제조가 가능하며, 섬유 형성 과정에서 전기장과 유체 불안정성으로 섬유에 수반하여 형성되는 비드 형태의 결점을 발생시키고, 섬유형성이 불규칙적으로 배열 및 굵기 등의 조절이 어렵다.<sup>5</sup> 이러한 나노섬유의 불균일한 제조 특성을 극복하기 위하여 본 연구에서는 보조전극 및 콜렉터의 회전수를 조절함으로써 나노섬유의 굵기를 조절할 수 있었으며 비교적 일정한 굵기를 만들 수 있었다.

전기방사기법에 최근 누에실크의 단백질 중 하나인 피브로인(fibroin)에 관심이 집중되고 연구가 활발히 진행되면서 이러한 피브로인을 이용하여 silk나노섬유를 제작하였다.

실크란 누에를 포함한 곤충에 의해 만들어지는 전형적인 섬유상 단백질(fibrous protein)로 천연 생체 고분자이다. 한 개의 고치는 약 1,000 ~ 1,300 m의 가늘고 긴 섬유로 이루어져있는데, 실크 한 가닥의 지름은 대략 10 ~ 25  $\mu\text{m}$  이고, 길이는 300 ~ 1200 m에 이른다. 누에실크는 피브로인(fibroin)과 세리신(sericin)이라는 두 종류의 단백질로 구성되어 있으며 두 가닥의 피브로인을 세리신이 둘러싸고 있다.<sup>6-9</sup>

실크 피브로인은 생체적합성 및 혈액적합성이 우수하고 산소 및 수분투과성, 생분해성 등의 특성을 가지고 있으므로 생체재료 분야에서 합성고분자 재료의 대체물질로의 활용이 가능하다. 또한 세포 인식기능을 가지고 있다고 알려져 있는 Arg-Gly-Asp(RGD) tripeptide를 실크 피브로인이 일부 가지고 있어 세포의 부착과 증식을 촉진한다.<sup>10-17</sup>

우수한 특성을 가지는 실크 피브로인을 전기 방사 공정을 통하여 생체재료 분야에 응용하기 위해서는 수용액 형태로 제조되어 세포담체 및 필름, 섬유 등으로 제작된다. 그러나 안정성 및 점도가 낮아 응집현상 및 겔 등이 형성되고 강도 및 크기 등이 불 균일 하고 배열성이 떨어지는 단점이 있다. 따라서 본 연구에서는 실크 피브로인 수용액의 단점을 극복하고자 실크 피브로인을 마이크로 단위의 가루로 제작하여 생체적합성고분자인 poly( $\epsilon$ -caprolactone) (PCL)과 혼합 후 실크 피브로인 혼합고분자 용액을 2 wt%, 5wt%, 8 wt%로 각각 제조 하였다. 전기방사공정을 거쳐 제작된 실크 피브로인 마이크로/나노 섬유를 순수한 PCL로 제작된 마이크로/나노섬유와 비교 분석하였다. 실크피브로인의 혼합고분자용액으로 제작된 마이크로/나노 섬유는 순수한 PCL로 제작된 마이크로/나노섬유 보다 배열성이 증가하고 strain-stress curve 및 initial cell attachment의 실험 결과 우수성을 보였다.

## 2. 실험 재료 및 방법

본 연구에서는 Poly caprolactone(PCL, Mw=80,000, Aldrich)를 재료로 사용하였으며, 용매로는 DMF(N,N-dimethyl formamide, junsei Chemical co.)와 MC(methylene chloride, Junsei Chemical co.)를 1:4의 비율로 혼합하여 사용하였다.

순수한 실크 피브로인을 얻기 위하여 Bombyx mori silk를 0.02M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 용액에 20분간 가열 후 실크 피브로인의 보호를 위하여 최대한 빠른 시간 안에 sericin을 물로 씻어 내어 제거 후 9.3M LiBr 용액에 넣어 60℃에서 5시간 동안 가열 하였다. 또한 dialysis로 30 ℃에서 3일간 투석하여 원심분리 후 실크 피브로인 용액을 추출하였다.<sup>18-21</sup>

추출된 실크 피브로인 용액을 -76 ℃에서 3일간 동결건조기(SFDSM06; Samwon)로 동결건조 하여 실크 피브로인 파우더를 얻은 후 Freezer mill을 이용하여 파우더로 만들었다. fig 1은 제조된 실크 피브로인 파우더의 SEM 사진이다. 2 μm 이하의 실크 피브로인 파우더를 얻기 위해 25 μm의 sieve를 이용하여 파우더를 반복하여 걸러 내었다.

본 연구에서의 전기 방사를 위한 고분자 용액은 17 wt% PCL, 66.4 wt% MC 와 16.6 wt% DMF [MC : DMF=4 : 1]에 실크 피브로인 가루를 첨가하여 , 8wt% PCL/실크 피브로인 혼합 고분자 용액을 제조하였다.<sup>22</sup>

### 가. 장비 구성

나노섬유를 제작하기 위한 전기방사장치의 구성 요소는 고전압 공급 장치 (high voltage power supply, HVPS, SHV200 40 kV / 5 mA, Converttech), 시린지 펌프(syringe pump, model 781100, KDScience), 노즐(nozzle)은 20G를 사용하였고 콜렉터(collector)는 13.4 m/s, 노즐과 콜렉터 사이의 간격은 120mm를 고정하였다.

그림 7은 전기방사 시스템에 관한 모식도 이다.

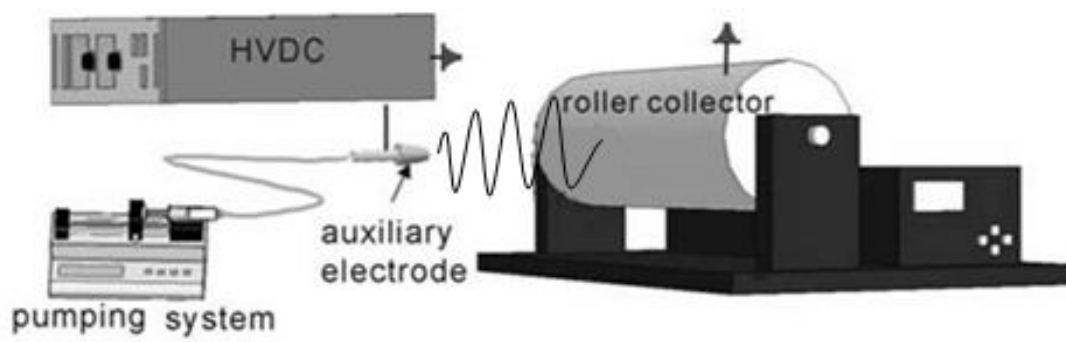


Fig 7. schematic of electrospinning process.

## 나. Silk powder 제조<sup>24</sup>

Silk fibroin powder를 제작하는 공정은, 누에를 잘게 자른 다음, 탄산나트륨에 넣고 30분간 가열을 시킨다. 그리고 Silk fibroin의 보호를 위해 빠른 시간 안에 흐르는 물로 세척하여 sericin을 제거 하고 deep freezer에 보관 후 동결 건조 시킨다. 다음 공정으로 Freezer mill을 이용하여 powder를 제작한다.

그림 8 Silk fibroin powder를 제작하는 공정이다.<sup>22</sup>

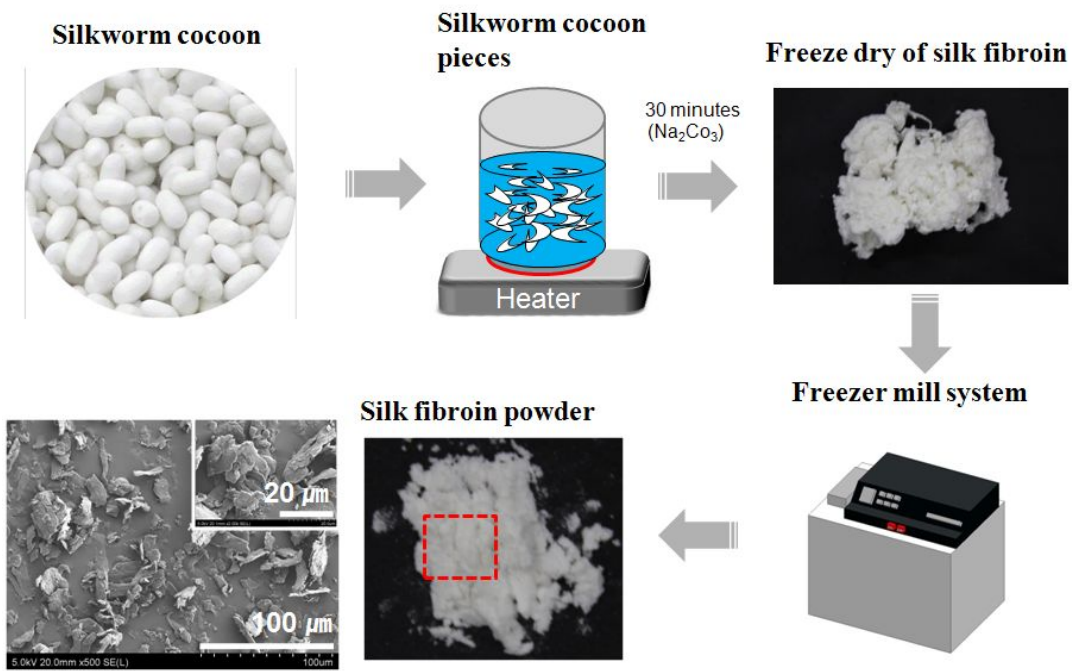


Fig 8. Silk powder preparation before electrospinning process.

## 다. PCL/Silk Fibroin 나노섬유 제작

전기 방사를 위한 고분자 용액은 17 wt% PCL, 66.4 wt% MC 와 16.6 wt% DMF [MC : DMF=4 : 1]에 실크 피브로인 가루를 첨가하여 , 8wt% PCL/실크 피브로인 혼합 고분자 용액을 제조하여 방사하였다. 그림 9는 Poly( $\epsilon$ -caprolactone)과 Silk Fibroin을 혼합하여 실제 방사하는 사진이다. 노즐과 컬렉터(collector) 사이의 거리는 120mm 떨어진 곳에 있으며, 노즐은 보조전극으로부터 4 mm 돌출시켜 고전압을 걸어주어 전기장에 의해 방사를 하였다. 전기방사 시 혼합 고분자용액에 대하여 노즐에 가한 고전압, 거리, 시간 등은 동일한 조건에 의하여 전기방사 하였다. 전기방사 장치의 구성요소로 고전압 전원 공급 장치(high voltage power supply, HVPS, SHV200 40kV/5mA, Convertech), 실린지 펌프(syringe pump, model 781100, KD Science), 컬렉터, 보조전극(auxiliary electrode), 노즐을 이용하였다. 전기방사의 고전압은 18 kV로 설정하였으며, 제조된 혼합 고분자용액은 20 G의 노즐을 장착한 20 mL 주사기에 넣은 후 실린지 펌프를 이용하여 2 mL/h의 속도로 주입하여 전기방사 하였다. 또한 컬렉터의 회전속도는 13.4 m/s (1300 rpm)로 고정하였다. 제작된 나노섬유 거동을 카메라를 이용하여 사진을 찍었으며 거동 영역 및 길이를 분석하였다. 나노섬유의 직경을 측정하기 위하여 sputter coater (E-1030, Hitachi)로 60 mA에서 5분 동안 코팅, 7 nm의 백금 코팅을 하였으며 주사전자현미경(SEM, S-4800, Hitachi)을 이용하여 5 kV의 빔으로 관찰하였다.



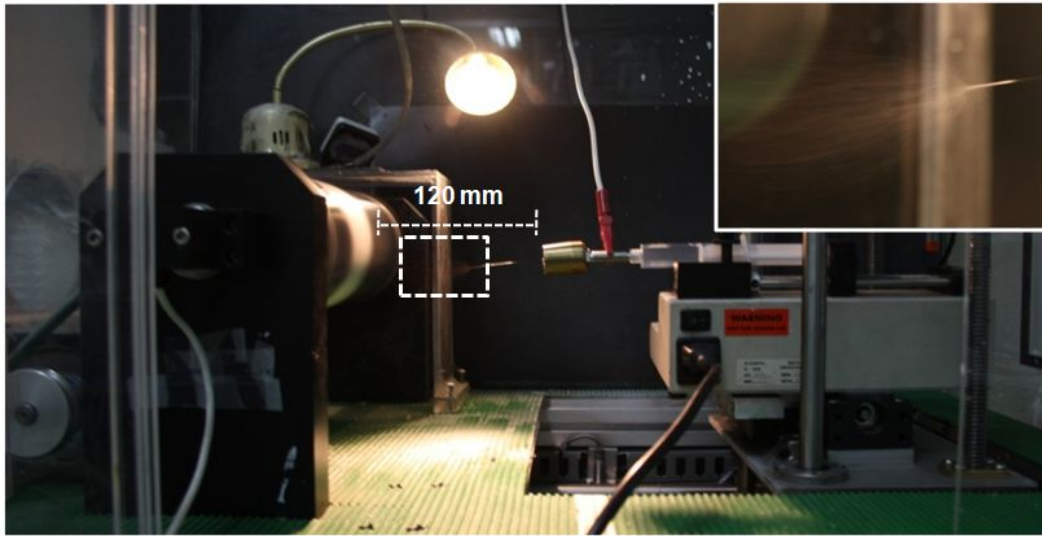


Fig 9. PCL and Silk Fibroin electrospinning.

## 라. 실험 분석방법

전기 방사된 나노섬유의 stress-strain curve를 측정하기 위하여 나노섬유의 시편을 가로 × 세로 각각 5 mm × 15 mm로 만들었으며 현미경(BXFM-32, Olympus)을 이용하여 100배 관찰 후 두께를 측정하였고, UTM(TOPTAC 2000, 캐미랩)을 이용하여 stress-strain curve를 측정하였다. Silk fibroin의 함량을 알아보기 위하여 Fourier transform infrared (FT-IR), spectrometer (Model 6700; Nicolet)을 이용하여 파장 400 - 4000  $\text{cm}^{-1}$  에서 측정하였다. 또한 나노섬유의 접촉각(water contact angle)을 분석하기 위하여 지름이 14mm인 펀칭(punching)을 이용하여 시편을 제작 후 pipette로 10  $\mu\text{m}$ 의 물방울을 나노섬유 매트에 떨어뜨려 카메라를 이용하여 사진을 찍은 후 접촉각을 분석하였다.

### (1) SEM image

방사공정을 통해 얻어진 Poly( $\epsilon$ -caprolactone) and Silk Fibroin 나노섬유의 직경을 측정하기 위하여 sputter coater (E-1030, Hitachi)로 60 mA에서 5분 동안 코팅, 7 nm의 백금 코팅을 하였으며 주사전자현미경(SEM, S-4800, Hitachi)을 이용하여 5 kV의 빔으로 1000배에서 관찰하였다.

### (2) stress-strain curve 측정

제작된 나노섬유의 stress-strain curve를 도시화를 위해 나노섬유를 제작하였다. 컬렉터의 회전 속도 13.4 m/s이며 순수한 PCL로 제작된 나노섬유와 실크피브로인 2 wt%로 제작된 나노섬유를 비교하였다. 시편은 UTM(TOPTAC 2000, 캐미랩)기기를 이용하여 컬렉터의 회전방향을 기준으로 직사각형 형태(5 x 15 mm)를 만든 후 상온 30  $^{\circ}\text{C}$ 에서 컬렉터의 회전방향과 일치하게 0.5 mm./s의 속도로 인장력을 가하여 측정하였다.

### (3) FT-IR 측정

제작된 나노섬유의 실크피브로인 함유량을 알아보기 위해 순수한 PCL 매트와 실크피브로인 파우더 그리고 8 wt% 혼합고분자용액으로 제조된 나노섬유 매트를 FT-IR(Fourier transform infrared)로 측정하였다.

### (4) Water contact angle(WCA, 이하통칭) 측정

일반적으로 조직재생 세포담체는 In vivo 및 In vitro 에서 친수성의 특성을 가짐으로서 세포친화성 및 세포의 초기 부착률을 증가시키고 조직 재생을 증진 시킨다고 알려져 있다.<sup>23</sup>

제작된 나노섬유 매트의 친수성을 알아보기 위해 WCA(Water contact angle)을 측정하였다.

### (5) 세포배양

본 연구에서 사용된 세포는 Osteoblast(Human Mesenchymal stem cell, Dr. Youngho Kho, Hallym Medical University) (HMCs)를 사용하였으며, 세포의 생육 배지는 DMEM (Dulbecco's modified Eagle's medium, GEMINI BIO-PRODUCTS) 과 10%의 FBS(Fetal bovine serum), 1%의 PS(Penicillin/streptomycin)을 혼합하여 사용하였다. 이렇게 배양된 세포를 1% Trypsin-EDTA(GIBCO, invirogen)을 사용하여  $1 \times 10^5$  의 세포를 띄어내어 에탄올 및 UV멸균 처리된 순수한 PCL 나노섬유 매트와 8 wt% 실크피브로인 파우더가 함유된 나노섬유 매트에 뿌려 37 °C, 5 % CO<sub>2</sub> 인큐베이터에 24시간 동안 배양하였다. 또한 나노섬유 매트에서의 세포 배양을 확인하기 위해 MTT(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide) assay (Cell Proliferation Kit I; Boehringer-Mannheim)을 사용하여 Spectrophotometer(EL 800, BioTeK) Wave number 570 nm에서 OD(optical density)값을 측정하였다.

## 마. 실험결과 분석

일반적으로 나노섬유는 전기방사공정에 의해 제조가 되어왔으며, 고분자 용액의 전기 전도성 및 표면장력, 혼합고분자 용액에 함유되어 있는 고분자 입자에 의해 가해지는 전기장의 불안정성으로 인하여 나노섬유의 형성이 불규칙적으로 이루어져 왔고, 또한 나노섬유의 배향성 및 굽기 등의 조절이 어려운 것으로 알려져 왔다. 안정한 전기방사공정을 구현하기 위해서는 기본적으로 노즐 끝에 생성되는 테일러 콘과 초기 방사젯(initial jets)의 안정성이 중요한 역할을 하고 있다. 본 연구에서는 이를 보완하여 일정한 방향으로 안정적인 용액방사를 하기 위해 전기장의 집중화를 유도 할 수 있는 콘 타입의 보조전극을 노즐부에 장착 하였다. 순수한 PCL 고분자 용액을 이용하여 방사한 하였을 때 노즐 팁에서 방출된 initial jet의 길이 측정결과 5.74 cm였고, PCL/Silk fibroin 8 wt% 혼합 고분자 용액을 이용하여 방사한 것은 동일한 거리에서의 initial jet의 길이 측정결과 0.81 cm였다. 순수한 PCL 고분자 용액과 Silk fibroin이 혼합된 고분자 용액의 initial jet의 길이 차이는 PCL 고분자 용액에 Silk fibroin이 혼합됨으로 인하여 Silk fibroin의 물성에 의한 영향으로 예상된다. 혼합고분자용액의 실크 피브로인 함량이 증가함으로 인해 혼합고분자용액의 전기전도성은 증가하고 표면장력은 감소하는 것을 확인 할 수 있었다.

영향은 Fridrikh 등이 정리한

$$d_t \propto (\gamma)^{\frac{1}{3}} \left( \frac{1}{\ln \kappa} \right)^{\frac{1}{3}}$$

수식에 의해 정리될 수 있다.

다음 식에서  $\gamma$  는 표면장력,  $\kappa$  는 노즐에서 초기방사 젯의 길이이다.<sup>24</sup>

이론적인 내용에 근거하여 전기방사공정 시 나노섬유 방사 젯의 길이 차이는 실크 피브로인의 물성에 의한 영향으로 직경 및 배열이 달라짐을 확인할 수 있었다.

(1) SEM image 분석

그림10 은 주사전자현미경(SEM, S-4800, Hitachi)을 이용하여 15 kV의 빔으로 1000배에서 제조된 실크 피브로인 파우더와 나노섬유의 SEM 사진이다.

SEM image에서 볼 수 있듯이 섬유에 Silk powder가 함유 되어 있는 것을 확인 하였다.

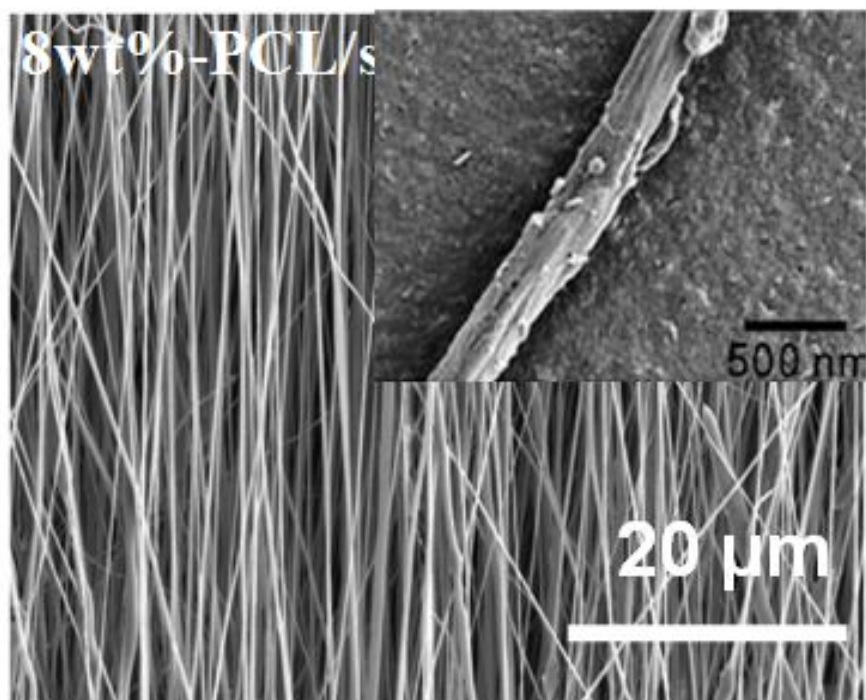


Fig 10. PCL/Silk Fibroin nanofiber and Silk Fibroin powder SEM image.

## (2) stress-strain curve 분석

제작된 나노섬유의 stress-strain curve 도시화를 위해 나노섬유를 제작하였다. 그림 11-A는 나노섬유의 배열성을 알아보기 위하여 2wt%, 5wt%, 8wt%의 나노섬유를 제작 SEM사진을 분석하여 컬렉터의 회전 방향과 일치할 때의 각도를 90°로 설정하여 나노섬유가 분포되어 있는 각도를 측정한 후 FWHM(Full width at half maximum)을 도출 하였다.

그 결과 FWHM 값이 38로 가장 좋은 결과를 도출한 비율은 8 wt%의 혼합 고분자용액으로 제작된 나노섬유였다. 특히 이러한 배열성은 실크피브로인이 많이 혼합 될수록 얻을 수 있음을 확인할 수 있었다.

그림 11-B는 (UTM(TOPTAC 2000, 캐미랩)기기를 이용하여 컬렉터의 회전 방향을 기준으로 직사각형 형태(5 x 15 mm)를 만든 후 상온 30 °C에서 컬렉터의 회전방향과 일치하게 0.5 mm./s의 속도로 인장력을 가하여 측정하였다. 결과적으로 나노섬유의 기계적 특성은 순수한 PCL로 제작된 나노 섬유보다 Silk fibroin이 함유되어 제작된 나노섬유의 탄성계수 값이 증가하는 것으로 관측 되었다.

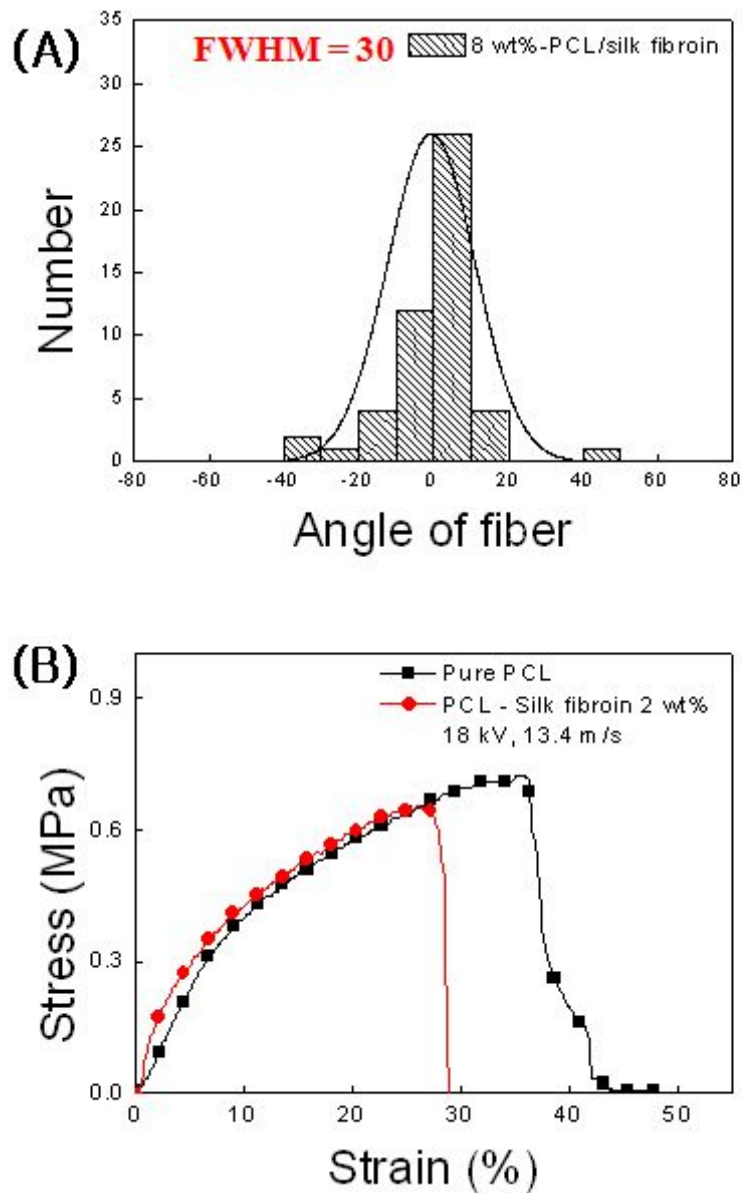


Fig 11. SEM micrographs and size distributions of 8 wt% of PCL/SF. (A) FWHM as a function of various SF concentrations in biocomposites. (B) Stress - train curves of PCL and PCL/SF (8 wt%) at a stretching rate of 0.5mm/s for rolling collector speeds of 13.4 m/s. The table shows the tensile properties of PCL and biocomposite (8 wt% of SF in PCL).



### (3) FT-IR 측정

제작된 나노섬유의 실크피브로인 함유량을 알아보기 위해 순수한 PCL 매트와 실크피브로인 파우더 그리고 8 wt% 혼합고분자용액으로 제조된 나노섬유 매트를 FT-IR(Fourier transform infrared)로 측정하였다.

순수한 PCL 매트와 실크피브로인 파우더 그리고 각각 2, 5와 8 wt% 혼합고분자용액으로 제조된 나노섬유 매트를 FT-IR로 측정한 그 결과 1600에서 1700  $\text{cm}^{-1}$  사이의 파장에서 실크피브로인의 함유를 확인할 수 있었다. 순수한 실크피브로인 파우더는 1637  $\text{cm}^{-1}$  파장에서 피크가 확인되었고, 혼합고분자용액으로 제조된 나노섬유 매트는 1623  $\text{cm}^{-1}$  파장에서 실크피브로인의 피크가 확인되었다. 이러한 이유는 나노섬유 매트의 메탄올 전처리 과정에서 피크가 이동한 것으로 예상된다. 또한 실크피브로인의 함유량이 증가할수록 1623  $\text{cm}^{-1}$  파장에서 피크가 증가하는 것을 확인 하였다.

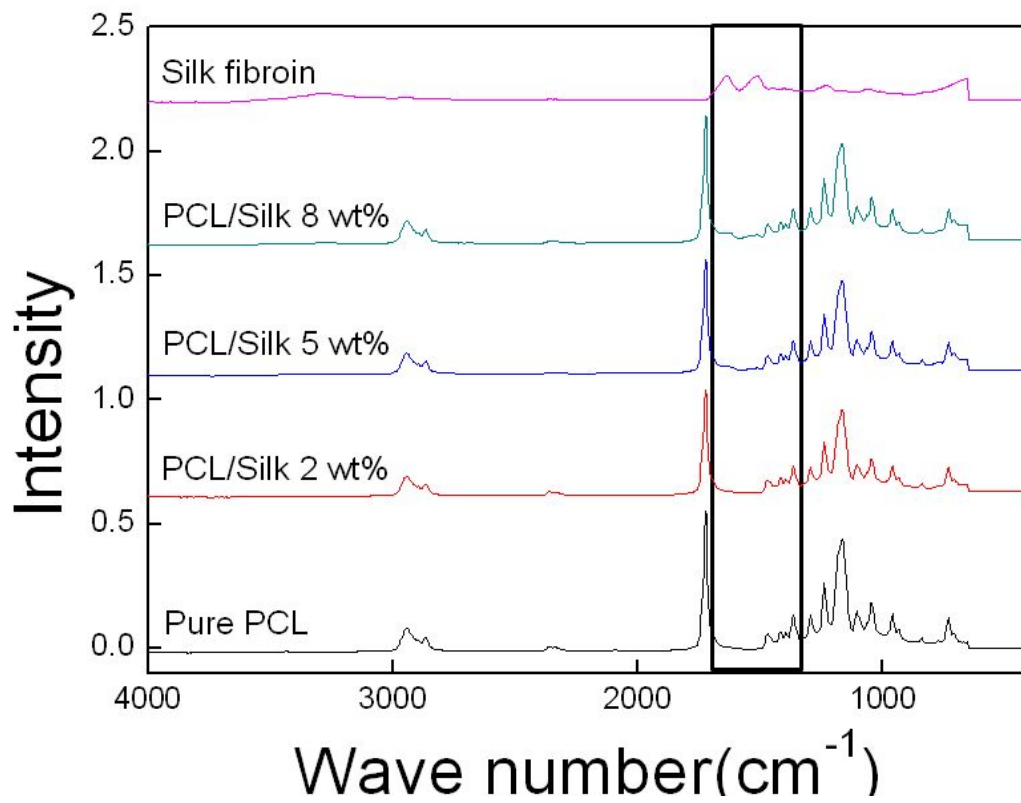
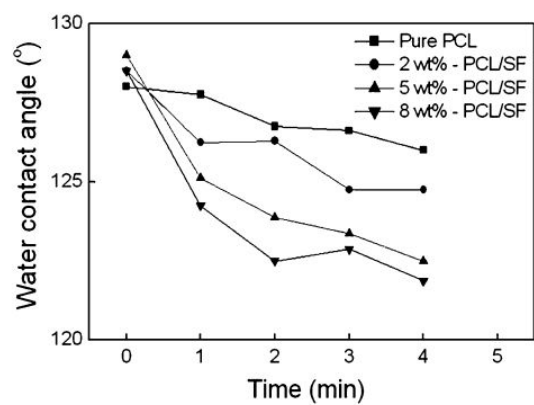


Fig 12. FT-IR results of PCL, pure silk and PCL/silk (2, 5 and 8 wt%).

#### (4) Water contact angle 측정

일반적으로 조직재생 세포담체는 *In vivo* 및 *In vitro* 에서 친수성의 특성을 가짐으로서 세포친화성 및 세포의 초기 부착률을 증가시키고 조직 재생을 증진 시킨다고 알려져 있다.<sup>26</sup>

전기 방사하여 제작된 나노섬유 매트와 친수성을 알아보기 위해 WCA (Water contact angle)를 측정하였다. 그림 13은 시간 경과에 따른 변화를 볼 수 있다. 그 결과 물방울을 매트에 떨어뜨리고 4 분후의 순수한 PCL 매트와 접촉각은  $126 \pm 1.4^\circ$  , 실크피브로인이 함유된 8 wt%의 혼합고분자용액의 매트는  $121 \pm 2.6^\circ$  였다. 또한 실크피브로인의 첨가량이 증가할수록 나노섬유 매트와 접촉각이 낮아지는 현상을 알 수 있었다. 이는 실크 피브로인 파우더가 PCL과 혼합하였을 때 수분흡수성에 기인함을 알 수 있었고 Cell culture시 실크 피브로인 파우더의 함유량이 높을수록 세포의 초기 부착률(Initial cell attachment)이 증가함을 예측할 수 있었다.



Sample type	PCL	PCL/2 wt%_SF	PCL/5 wt%_SF	PCL/8 wt%_SF
WCA after 4 min (°)	126.7 ± 1.38	124.8 ± 1.54	122.5 ± 2.55	121.8 ± 2.66

Fig 13. WCA(Water contact angle) measurement at various times for fibers electrospun from pure PCL and three concentrations of PCL/SF.

## (5) 세포배양

본 연구에서 사용된 세포는 Osteoblast(Human Mesenchymal stem cell, Dr. Youngho Kho, Hallym Medical University) (HMCs)를 사용하였으며, 세포의 생육 배지는 DMEM (Dulbecco's modified Eagle's medium, GEMINI BIO-PRODUCTS) 과 10%의 FBS(Fetal bovine serum), 1%의 PS(Penicillin/streptomycin)을 혼합하여 사용하였다. 이렇게 배양된 세포를 1% Trypsin-EDTA(GIBCO, invirogen)을 사용하여  $1 \times 10^5$  의 세포를 띄어내어 에탄올 및 UV멸균 처리된 순수한 PCL 나노섬유 매트와 8 wt% 실크피브로인 파우더가 함유된 나노섬유 매트에 뿌려 37 °C, 5 % CO<sub>2</sub> 인큐베이터에 24시간 동안 배양하였다. 또한 나노섬유 매트에서의 세포 배양을 확인하기 위해 MTT(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide) assay (Cell Proliferation Kit I; Boehringer-Mannheim)을 사용하여 Spectrophotometer(EL 800, BioTeK) Wave number 570 nm에서 OD(optical density)값을 측정하였다.

그림 14는 순수한 PCL 나노섬유매트와 실크피브로인 파우더가 함유된 나노섬유매트의 세포 거동을 측정한 결과이다. 나노섬유매트의 초기 부착률을 알아보기 위해 세포를 24시간 배양 후 MTT assay한 결과이고 14-B는 매트에 세포를 7일 동안 배양하여 팔로이딘으로 액틴 처리하여 세포 염색 관찰한 결과이다. 그 결과 실크피브로인 파우더의 함유량이 높을수록 세포의 초기 부착률이 증가하는 것을 확인할 수 있었다.

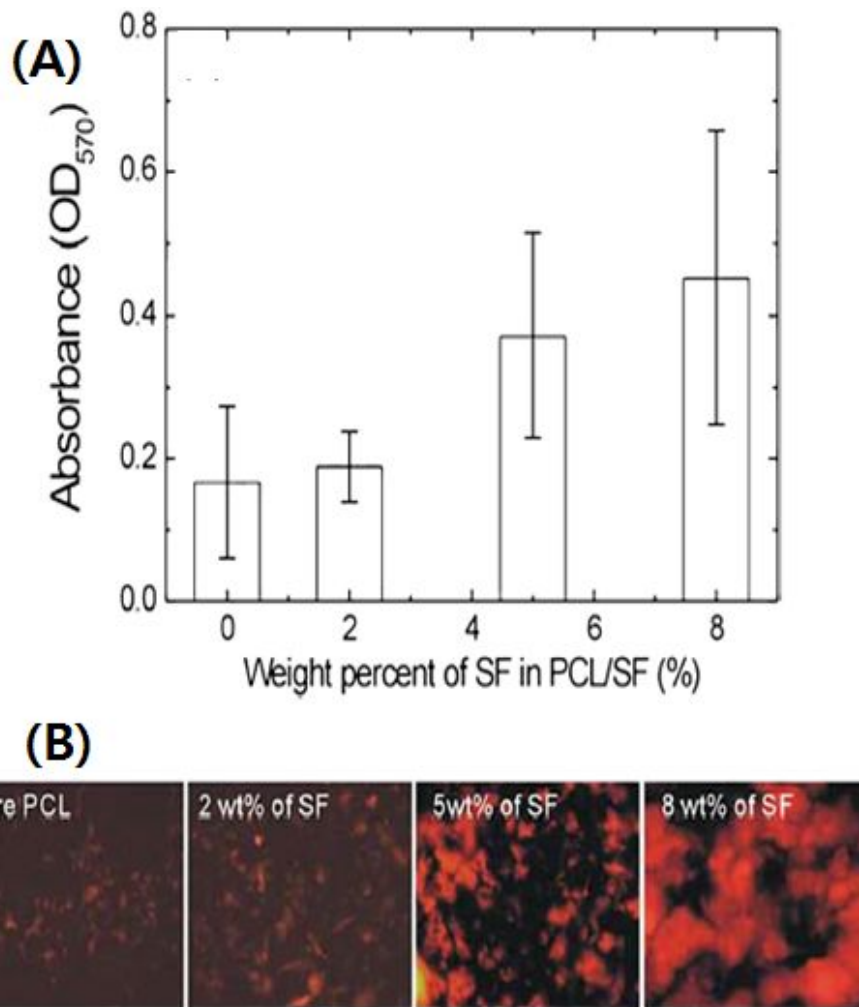


Fig 14. (a) Initial cell attachment of bone-marrow-derived MSC seeded on electrospun PCL and various biocomposites. (b) Comparison of cell attachment and proliferation of the pure PCL and biocomposites after cell culturing of 7 days. This figure is published in colour in the online edition of this journal, that can be accessed via <http://www.brill.nl/jbs>.

### 3. 결 론

실험 결과 나노섬유제작에 있어 실크 피브로인의 함유량 조절과 PCL 고분자 용액에 컬렉터의 회전 속도 제어로 인하여 나노섬유의 배열성 및 기계적강도가 증가하는 것을 확인하였고, 초기 세포 부착률 또한 증가하였다. 따라서 생체적합성과 기계적 특성을 가지고 있는 실크피브로인 파우더를 전기방사기법을 이용하여 나노섬유를 제조한다면 다양한 분야에서 활용 또한 가능할 것으로 사료 된다.

## 제2절 전기방사법을 이용한 Poly( $\epsilon$ -caprolactone)과 SIS(Small Intestine Submucosa)가 함유된 나노섬유 제조 공정.

### 1. 서론

일반적으로 세포담체(scaffold), 세포(cell), 담체 내 성장인자(growth factors)는 조직재생에 아주 중요한 요소로 알려져 있다. PCL/SIS 나노섬유는 생분해성이며, 생체 적합성 고분자인 PCL과 콜라겐 type I, III 형으로 구성되어 있고 다양한 성장인자를 함유하고 있는 SIS(small intestine submucosa)를 이용하여 나노섬유를 제작하였다. 또한 제작된 나노섬유에 대하여 기계적, 생물학적 실험을 하였다.

SIS를 파우더 형태로 가공하기 위하여 돼지의 소장에서 지방조직, 치밀층, 점막, 근육층을 제거하여 세척 및 멸균처리를 하고 동결건조 후 동결분쇄기를 사용하여 파우더 형태로 가공하였다.<sup>35</sup>

점막하층의 파우더로 가공이 이루어진 SIS는 뛰어난 수분흡수 기능과 대부분의 세포성분이 제거되었기 때문에 면역학적 거부반응을 보이지 않으며 다양한 성장인자를 함유하고 있어 조직재생 분야에서 많은 연구가 진행되어지고 있다.<sup>36-37</sup>

여러 기능을 갖는 SIS의 성분과 생체적합성은 세포담체의 기능적인 측면에 있어서 향상을 유도할 수 있는 물질로 사료된다.



## 2. 실험 재료 및 방법

본 연구에서 사용된 전기 방사를 위한 고분자 용액은 17 wt% PCL, 66.4 wt% MC 와 16.6 wt% DMF [MC : DMF=4 : 1]에 SIS 파우더 가루를 첨가하여, 0.5, 1, 3wt% PCL/SIS(Small Intestine Submucosa)혼합 고분자 용액을 제조하였다.

노즐과 컬렉터(collector) 사이의 거리는 150mm 떨어진 곳에 있으며, 노즐은 보조전극으로부터 4 mm 돌출시켜 고전압을 걸어주어 전기장에 의해 방사를 하였다. 전기 방사 시 혼합 고분자용액에 대하여 노즐에 가한 고전압, 거리, 시간 등은 동일한 조건에 의하여 전기방사 하여 사진으로 거동을 관측 하였다.

### 가. 장비 구성

나노섬유를 제작하기 위한 전기방사장치의 구성 요소는 앞장의 장비구성과 동일하게 사용하였다.

### 나. SIS powder 제조<sup>27-34</sup>

SIS powder를 제작하는 공정은 돼지의 소장에서 지방조직, 치밀층, 점막, 근육층을 제거하여 세척 및 멸균처리를 하고 동결건조 후 동결분쇄기를 사용하여 파우더 형태로 가공하였다.

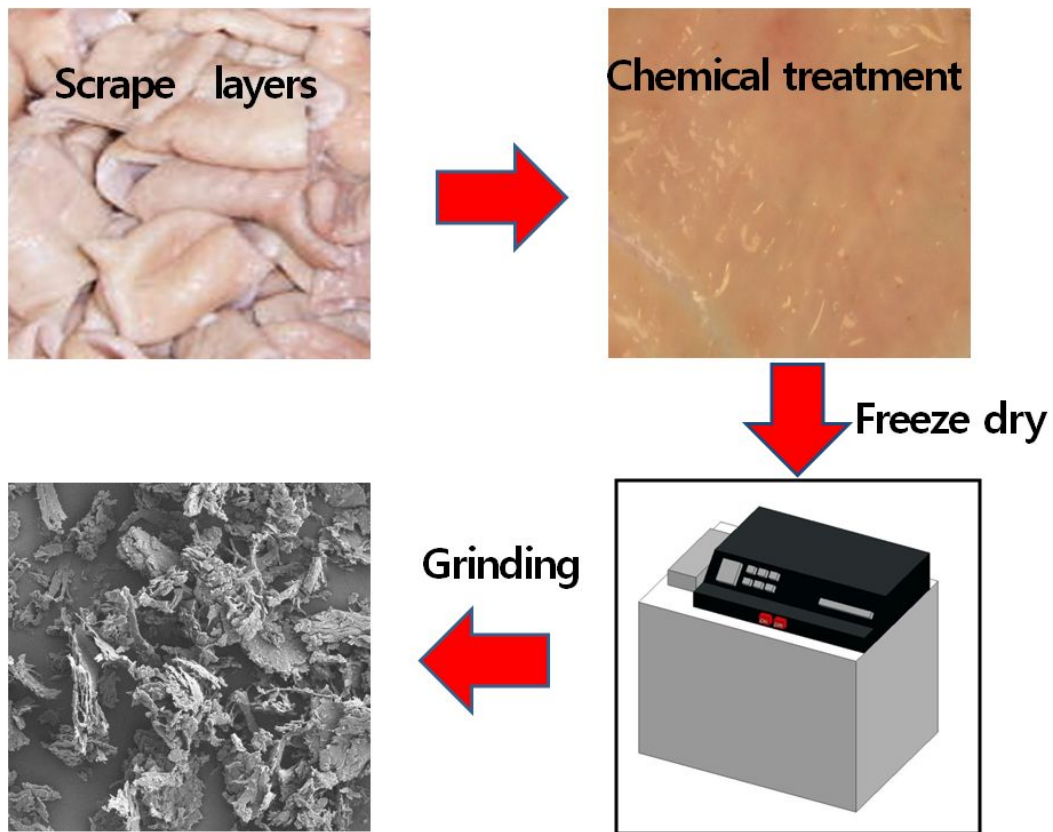


Fig 15. SIS powder preparation before electrospinning process.

## 다. Poly( $\epsilon$ -caprolactone) and SIS 나노섬유 제작

전기 방사를 위한 고분자 용액은 17 wt% PCL, 66.4 wt% MC 와 16.6 wt% DMF [MC : DMF=4 : 1]에 SIS 파우더 가루를 첨가하여, 0.5, 1, 3wt% PCL/SIS(Small Intestine Submucosa)혼합 고분자 용액을 제조하여 방사하였다.

노즐과 컬렉터(collector) 사이의 거리는 150mm 떨어진 곳에 있으며, 노즐은 보조전극으로부터 4 mm 돌출시켜 고전압을 걸어주어 전기장에 의해 방사를 하였다. 전기 방사 시 혼합 고분자용액에 대하여 노즐에 가한 고전압, 거리, 시간 등은 동일한 조건에 의하여 전기방사 하여 사진으로 거동을 관측 하였다. 이하 실험방법은 앞 장의 실험과 동일하게 진행하였다.

그림 16은 전기방사장치를 사용하여 PCL/SIS 나노섬유 제작공정의 실 사진이다.

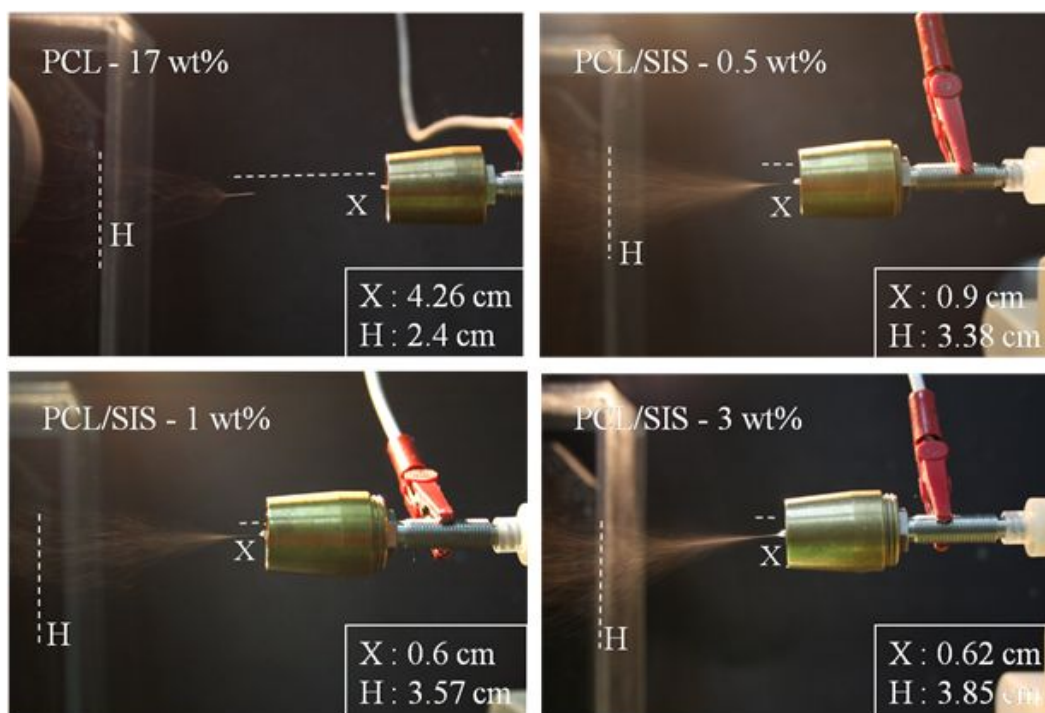


Fig 16. PCL and SIS(Small Intestine Submucosa) electrospinning.

## 라. 실험 분석방법

전기 방사된 나노섬유의 stress-strain curve를 측정하기 위하여 나노섬유의 시편을 가로 × 세로 각각 5 mm × 15 mm로 만들었으며 현미경(BXFM-32, Olympus)을 이용하여 100배 관찰 후 두께를 측정하였고, UTM(TOPTAC 2000, 캐미랩)을 이용하여 stress-strain curve를 측정하였다. SIS(Small Intestine Submucosa)의 함량을 알아보기 위하여 Fourier transform infrared (FT-IR), spectrometer (Model 6700; Nicolet)을 이용하여 파장 400 - 4000  $\text{cm}^{-1}$  에서 측정하였다. 또한 나노섬유의 접촉각(water contact angle)을 분석하기 위하여 지름이 14mm인 펀칭(punching)을 이용하여 시편을 제작 후 pipette로 10  $\mu\text{m}$ 의 물방울을 나노섬유 매트에 떨어뜨려 카메라를 이용하여 사진을 찍은 후 접촉각을 분석하였다. 이하 앞장의 실험과 동일하게 진행 하였다.

### (1) SEM image

방사공정을 통해 얻어진 Poly( $\epsilon$ -caprolactone) and SIS(Small Intestine Submucosa) 나노섬유의 직경을 측정하기 위하여 sputter coater (E-1030, Hitachi)로 60 mA에서 5분 동안 코팅, 7 nm의 백금 코팅을 하였으며 주사전자현미경(SEM, S-4800, Hitachi)을 이용하여 5 kV의 빔으로 1000배에서 관찰하였다.

이하 앞장의 실험과 동일하게 진행 하였다.

### (2) stress-strain curve 측정

제작된 나노섬유의 stress-strain curve를 도시화를 위해 나노섬유를 제작하였다. 컬렉터의 회전 속도 13.4 m/s(1300rpm)이며 순수한 PCL로 제작된 나노섬유와 SIS파우더 0.5, 1, 3wt%로 제작된 나노섬유를 비교하였다. 시편은 UTM(TOPTAC 2000, 캐미랩)기기를 이용하여 컬렉터의 회전방향을 기준으로 직사각형 형태(5 x 15 mm)를 만든 후 상온 30  $^{\circ}\text{C}$ 에서 컬렉터의 회전방향과 일치하게 0.5 mm/s의 속도로 인장력을 가하여 측정하였다. 이하 앞장의 실험과 동일하게 진행 하였다.

### (3) FT-IR 측정

제작된 나노섬유의 실크피브로인 함유량을 알아보기 위해 순수한 PCL 매트와 SIS파우더 그리고 0.5, 1, 3wt% 혼합고분자용액으로 제조된 나노섬유 매트를 FT-IR (Fourier transform infrared)로 측정하였다. 이하 앞장의 실험과 동일하게 진행 하였다.

### (4) WCA 측정

전기 방사하여 제작된 나노섬유 매트의 친수성을 알아보기 위해 WCA(Water contact angle)을 측정하였다. 이하 앞장의 실험과 동일하게 진행 하였다.

### (5) 세포배양

본 연구에서 사용된 세포는 PC-12cell을 사용하였으며, 세포의 생육배지는 DMEM (Dulbecco's modified Eagle's medium, GEMINI BIO-PRODUCTS)과 10%의 FBS(Fetal bovine serum), 1%의 PS(Penicillin/streptomycin)을 혼합하여 사용하였다. 이하 앞장의 실험과 동일하게 진행 하였다.

## 마. 실험결과 분석

### (1) SEM image

그림17 은 주사전자현미경(SEM, S-4800, Hitachi)을 이용하여 15 kV의 빔으로 제조된 SIS 파우더와 나노섬유의 SEM 사진이다.

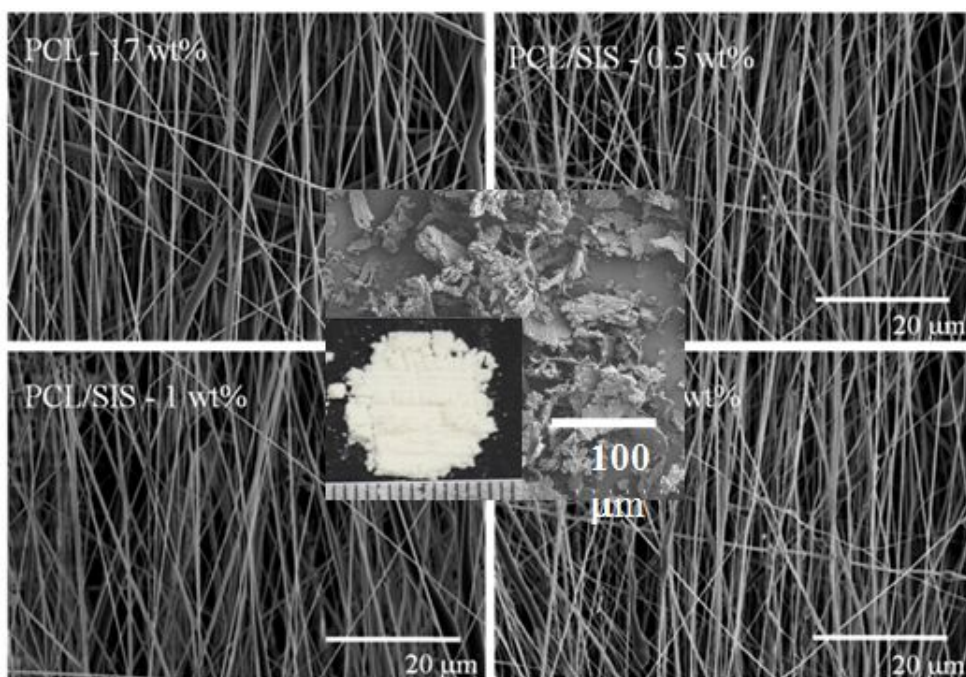


Fig 17. PCL/SIS nanofiber and SIS powder SEM image.



## (2) stress-strain curve를 측정

그림 18-A는 나노섬유의 배열성을 알아보기 위하여 0.5wt%, 1wt%, 3wt%의 나노섬유를 제작 SEM사진을 분석하여 컬렉터의 회전 방향과 일치할 때의 각도를 90°로 설정하여 나노섬유가 분포되어 있는 각도를 측정한 후 FWHM(Full width at half maximum)을 도출 하였다.

그 결과 FWHM 값이 40로 가장 좋은 결과를 도출한 비율은 3 wt%의 혼합 고분자용액으로 제작된 나노섬유였다. 특히 이러한 배열성은 SIS과우더가 많이 혼합 될수록 얻을 수 있음을 확인할 수 있었다.

그림 18-B는 UTM(TOPTAC 2000, 캐미랩)기기를 이용하여 컬렉터의 회전 방향을 기준으로 직사각형 형태(5 x 15 mm)를 만든 후 상온 30 °C에서 컬렉터의 회전방향과 일치하게 0.5 mm./s의 속도로 인장력을 가하여 측정하였다. 결과적으로 나노섬유의 기계적 특성은 순수한 PCL로 제작된 나노 섬유보다 SIS가 함유되어 제작된 나노섬유의 탄성계수 값이 증가하는 것으로 관측 되었다.

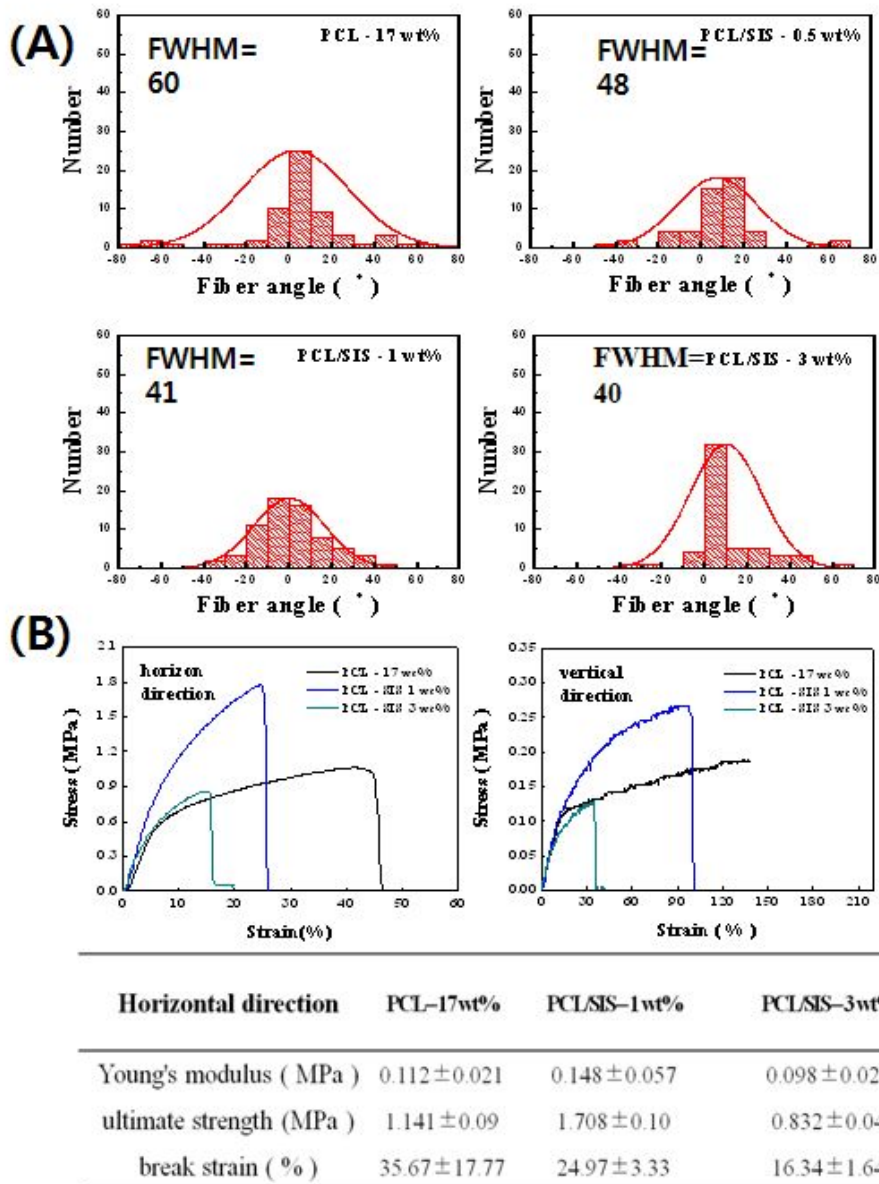


Fig 18. SEM micrographs and size distributions 0.5, 1, 3wt% of PCL/SIS. (A) FWHM as a function of various SIS concentrations in biocomposites. (B) Stress - strain curves of PCL and PCL/SIS (0.5, 1, 3 wt%) at a stretching rate of 0.5mm/s for rolling collector speeds of 13.4 m/s. The table shows the tensile properties of PCL and biocomposite.

### (3) FT-IR 측정

제작된 나노섬유의 실크피브로인 함유량을 알아보기 위해 순수한 PCL 매트와 SIS파우더 그리고 0.5, 1, 3 wt% 혼합고분자용액으로 제조된 나노섬유 매트를 FT-IR(Fourier transform infrared)로 측정 하였다.

이하 앞장의 실험과 동일하게 진행 하였다.

### (4) Water contact angle 측정

전기 방사하여 제작된 나노섬유 매트의 친수성을 알아보기 위해 WCA (Water contact angle)을 측정하였다. 그림 19는 시간 경과에 따른 변화를 볼 수 있다. 그 결과 물방울을 매트에 떨어뜨리고 4 분후의 순수한 PCL 매트의 접촉각은  $126 \pm 1.4^\circ$  , SIS파우더가 함유된 3wt%의 혼합고분자용액의 매트는  $83 \pm 1.4^\circ$  였다. 또한 SIS의 첨가량이 증가할수록 나노섬유 매트의 접촉각이 낮아지는 현상을 알 수 있었다. 이는 SIS 파우더가 PCL과 혼합하였을 때 수분흡수성에 기인함을 알 수 있었고 Cell culture시 SIS파우더의 함유량이 높을수록 세포의 초기 부착률(Initial cell attachment)을 예상할 수 있다.

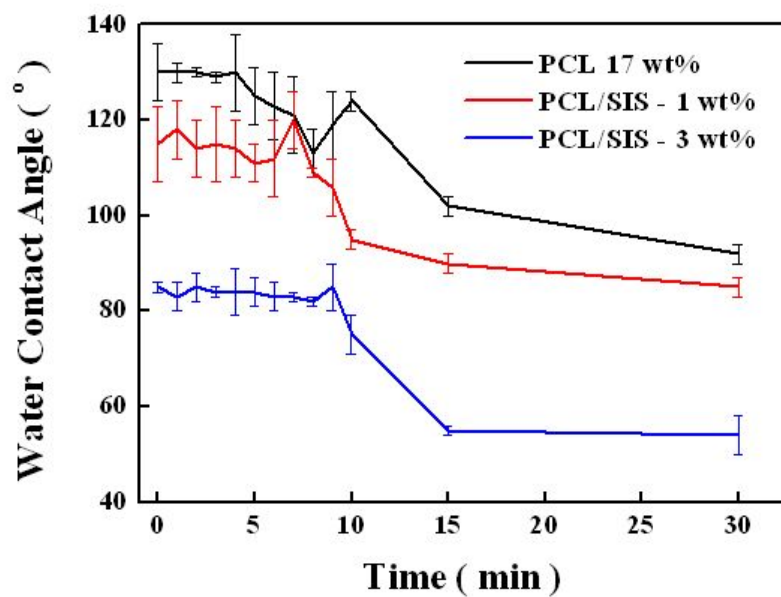


Fig 19. WCA(Water contact angle) measurement at various times for fibers electrospun from pure PCL and three concentrations of PCL/SF.

##### (5) 세포배양

본 연구에서 사용된 세포는 PC-12cells를 사용하였으며, 세포의 생육배지는 DMEM (Dulbecco's modified Eagle's medium, GEMINI BIO-PRODUCTS)과 10%의 FBS(Fetal bovine serum), 1%의 PS(Penicillin/streptomycin)을 혼합하여 사용하였다. 이하 실험방법은 앞 장과 동일하다.

그림 20은 SIS의 초기 부착률을 알아보기 위해 세포를 24시간 배양 후 MTT assay한 결과이고 매트에 세포를 7일 동안 배양하여 팔로이딘으로 액틴 처리하여 세포 염색 관찰한 결과이다. SIS함유량이 증가함에 따른 세포 초기 부착률을 확인하기 위해 SIS함유량을 2, 5, 8wt% 증가시킨 매트를 만들어 실험하였다. 그 결과 SIS과우더의 함유량이 높을수록 세포 번식률이 증가하였고 이는 세포의 초기 부착률이 증가하는 것으로 사료된다.

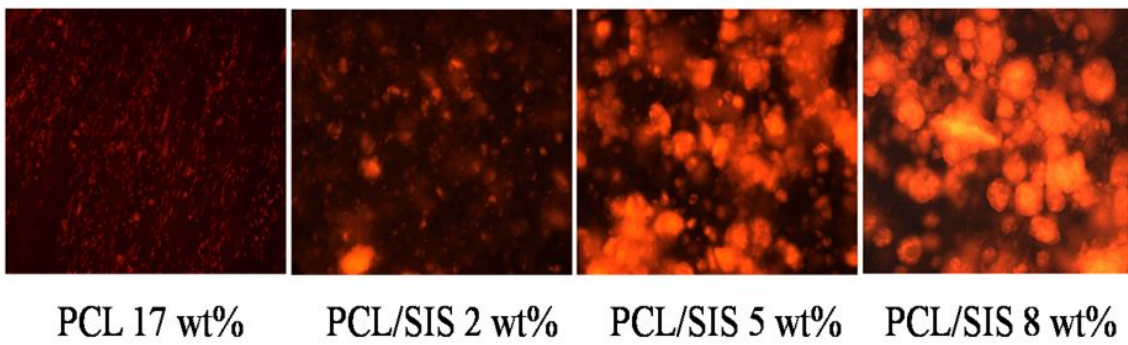


Fig 20. Comparison of cell attachment and proliferation of the pure PCL and biocomposites after cell culturing of 7 days. This figure is published in colour in the online edition of this journal, that can be accessed via.

### 3. 결 론

실험 결과 나노섬유제작에 있어 실크 피브로인의 함유량 조절과 PCL 고분자 용액에 컬렉터의 회전 속도 제어로 인하여 나노섬유의 배열성 및 기계적강도가 증가하는 것을 확인하였고, 초기 세포 부착률 또한 증가하였다. 따라서 생체적합성과 기계적 특성을 가지고 있는 실크피브로인 파우더를 전기방사기법을 이용하여 나노섬유를 제조한다면 다양한 분야에서 활용 또한 가능할 것으로 사료 된다.

### 제3절 전기방사법과 SFF(Solid Free-form Fabricating)을 이용한 PCL/SIS/Silk 복합형계층구조 세포담체 제조 공정.

#### 1. 서론

인체의 조직을 모사하거나 세포들을 배양시킬 수 있는 세포담체(Scaffold)를 이용하여 인체 조직들을 대체 하고자하는 연구가 많이 진행 되고 있다.

세포담체의 필요 요소는

- 재료의 생체적합성
- 생분해성 물질
- 세포증식에 도움을 줄 수 있는 3차원적 다공성 입체구조
- 체내 이식 후 그 구조를 유지할 수 있도록 적절한 강도
- 세포의 성장을 촉진하기 위해 넓은 표면적
- 세포의 부착률 및 성장을 증가시키는 구조
- 세포담체 내 세포이동(migration) 및 세포성장을 위한 크기 및 구조
- 자유로운 형상구조 제작 가능

세포간 물질(cytokine, growth factor, etc.)이나 에너지 교환(nutrient, gas, etc.) 등 여러 요소들을 위한 충분한 공간을 가지고 있어야 한다. 또한 세포담체의 이식 후 감염, 면역반응 등의 문제점을 해결하기 위한 방법으로 세포담체에 항생제 등 약물을 포함하는 세포담체에 관한 연구가 수행되고 있다.

본 연구에서는 PCL 세포담체에 PCL/Silk/SIS 나노섬유를 결합하여 세포의 초기 부착율을 높여주고자 하였으며 또한 세포의 생존율을 높여주기 위해 다공성구조의 3차원 세포담체를 제작할 수 있는 시스템을 구축 하고자 하였다.



## 2. 실험 재료 및 방법

### 가. 재료

본 연구에 사용된 PCL(poly caprolactone) 합성 고분자는 일반적으로 널리 사용되는 poly ester 계열의 고분자로서 생분해성, 생체적합성의 특성을 나타낸다. 또한 생체 내에서 면역거부반응이 나타나지 않기 때문에 일반적으로 널리 사용된다. 세포의 부착율과 기계적 강도를 증가시키기 위하여 PCL/Silk/SIS 고분자 용액은 8wt%로 고정하여 사용하였다.

PCL( $M_w$  80,000)과 앞 장의 실험에서 보여준 PCL/Silk/SIS 나노섬유를 결합하여 세포담체를 제작하였다.<sup>40-41</sup>

### 나. 장비 구성

전기방사를 위한 장비는 고전압장비(SHV300RD-50K; Convertech), 실린지 펌프(KDS 230; KD Scientific, Holliston, MA, USA), 주사기, 보조전극 및 노즐을 사용하였으며 세포담체를 제작하기 위한 장비는 압출요동시스템의 한 분야인 SFF법의 바이오플러터(DTR3-331S-EX, Buchun, South Korea, 다사로봇)를 사용하였다.(그림 21) 고분자를 용융시키기 위해 heating barrel과 heating controller를 고분자를 토출시키기 위해 pressure controller를 사용하였다.

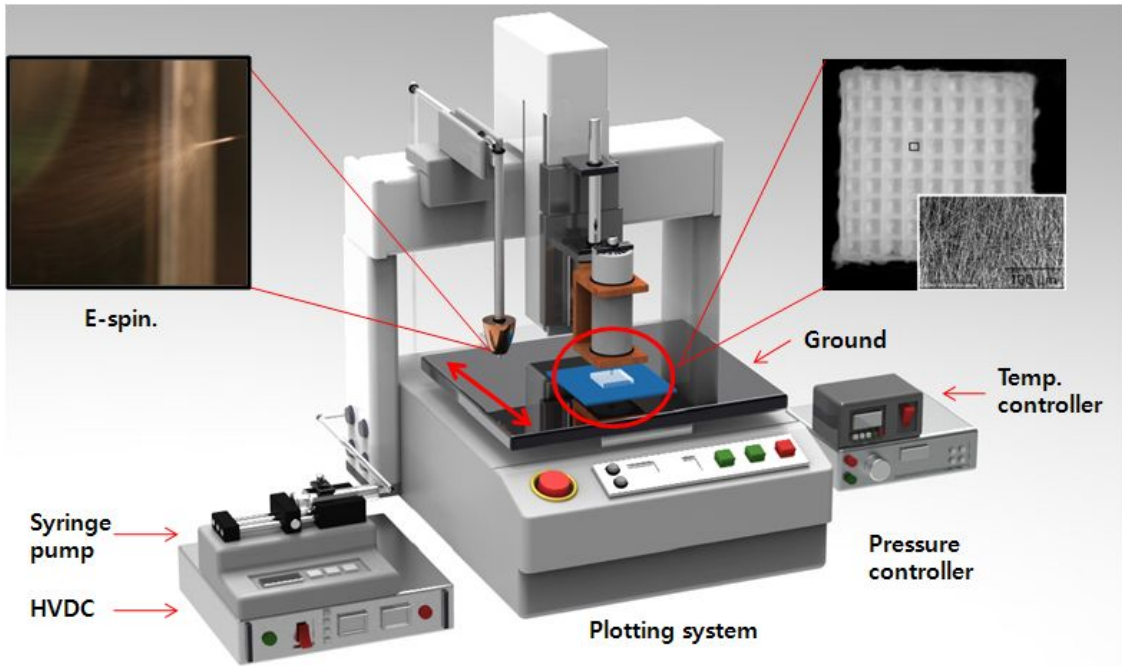


Fig 21. Schematic of the hybrid plotting system complemented with a meltplotting and electrospinning system.

## 다. 실험 분석방법

전기방사를 위한 고분자 용액의 혼합, 방법 및 비율은 앞장에 실험 방법과 동일하게 진행하였고, 용액의 농도를 8wt%로 고정하여 제조하였다. 고분자 용액은 16G blunt end type의 노즐을 장착한 20ml 주사기에 고분자 용액을 담아 실린지 펌프를 이용하여 용액을 3ml/h로 토출하며 고전압 장비를 이용하였다. 제조된 고분자용액에 인가된 전기장의 세기는  $1.8\text{kV} \cdot \text{cm}^{-1}$  그리고 유속은  $3\text{ ml} \cdot \text{h}^{-1}$ 로 제어하였고, 용액의 전도성은 PCL/Silk/SIS 각각 0.8, 1.42,  $3.54\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$ 였다. 또한 테일러 콘을 제어하기 위하여 본 연구에서는 두께 0.2mm 둘레 18.5mm의 원뿔모양의 보조전극을 사용하였다.<sup>42</sup>

세포담체를 제작하기 위한 PCL의 녹는점(melting point)은  $60^\circ\text{C}$ 이지만 제작을 위해서는  $100^\circ\text{C}$ 로 heating barrel을 가열하여 melt-plotting을 하였다. plotting을 시작하기 전,  $100^\circ\text{C}$ 에서 30분간 충분히 예열시킨 후 세포담체를 제작하였다. 이때 PCL의 점도는  $100^\circ\text{C}$ ,  $100\text{rad} \cdot \text{s}^{-1}$ 에서  $4 \times 10^4$  poise로 측정되었다. plotting 과정 중에 노즐의 이송 속도는  $7\text{ mm/sec}$ 로 이동하였으며 용융된 PCL은  $650 \pm 10\text{ kPa}$ 의 압력으로 토출시켰으며 plotter 노즐의 크기는  $250\ \mu\text{m}$ 를 사용하였으며 제작된 PCL strand의 굵기는  $220 \sim 260\ \mu\text{m}$ 로 제작되었다.

기공 크기는 가닥과 가닥사이의 거리로 정의 하였다.

세포담체의 다공성( $\emptyset$ )에 관한 방정식은

$$\emptyset = 1 - \frac{M}{(\rho \cdot h \cdot s)}$$

- $\rho$  는 PCL의 밀도이며 PCL의 밀도는  $1.145\text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$ 이다.
- $h$  는 세포담체의 두께이다.
- $s$  는 세포담체의 표면적 즉, 표면 전체의 넓이 이다.

### (1) SEM image

방사공정을 통해 얻어진 PCL/Silk/SIS가 들어간 세포담체는  $10 \cdot 10 \cdot 5\text{mm}^3$  크기로 제작하였다. 나노섬유의 직경을 측정하기 위하여 sputter coater (E-1030, Hitachi)로 60 mA에서 5분 동안 코팅, 7 nm의 백금 코팅을 하였으며 주사전자현미경(SEM, S-4800, Hitachi)을 이용하여 15 kV의 빔으로 배율을 조절하여 관찰하였다.

### (2) FT-IR 측정

제작된 나노섬유의 실크피브로인 함유량을 알아보기 위해 순수한 PCL 매트와 실크피브로인 파우더 그리고 8 wt% 혼합고분자용액으로 제조된 나노섬유 매트를 FT-IR(Fourier transform infrared)로 측정하였다.

### (3) Water contact angle 측정

In vivo 및 In vitro 에서 친수성의 특성을 가짐으로서 세포친화성 및 세포의 초기 부착률을 증가시키고 조직 재생을 증진 시킨다고 알려져 있다.<sup>43</sup>

나노섬유 매트의 친수성을 알아보기 위해 WCA(Water contact angle)을 측정하였다.

### (4) 세포배양

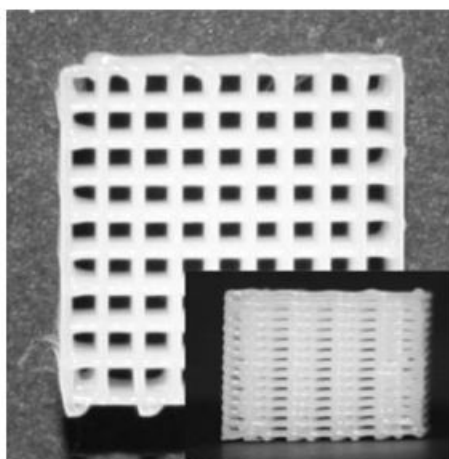
본 연구에서 사용된 세포는 MSCs(Bone marrow-derived rat cells, Dr. Youngho Kho, Hallym Medical University)를 사용하였으며, 이하 실험은 앞 장의 실험과 동일하게 진행하였다.

## 라. 실험결과 분석

### (1) SEM image

방사공정과 용융플로팅을 통하여 얻어진 세포담체를 확인한 결과 담체 내부에 섬유 형태의 PCL/Silk/SIS가 들어간 세포담체가 제작됨을 확인하였다. 22-A는 PCL만을 사용한 기존방식의 세포담체의 모습이며 22-B는 본 연구에서 사용한 복합형 제작방식을 통한 계층구조의 세포담체 모습이다.

**(A) Normal 3D scaffold**



**(B) hierarchical 3D scaffold**

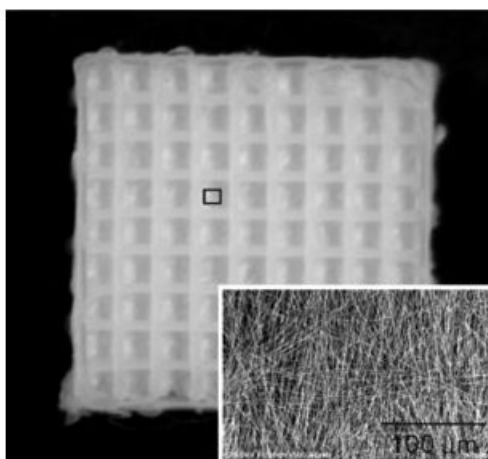


Fig 22. Optical images of PCL scaffolds fabricated using (A) a standard plotting system (inset shows the side view of the fabricated scaffold), and (B) the hierarchical 3-D scaffold in which the micro/nanofiber was electrospun with a mixture of 8 wt% of PCL and 8 wt% of SIS, respectively. The fabricated scaffold size was 10 · 10 · 8 mm.

## (2) FT-IR 측정

순수한 PCL 세포담체와 PCL용액에 각각 녹아있는 PCL(Silk/SIS) 세포담체를 FT-IR로 측정한 그 결과 앞장에서 보여준 구간에서의 피크가 확인되었다.

그림 23-A는 기존방식의 순수한 PCL세포담체이며 23-B, C, D는 복합형 방식으로 제작된 세포담체이다.

23-B는 PCL섬유가 들어간 계층구조의 세포담체이고, 23-C는 PCL용액에 SIS가 함유된 섬유이다. 그리고 23-D는 PCL용액에 Silk fibroin이 함유되었으며 23-E는 각각의 FT-IR을 측정하여 도시화한 것이다.

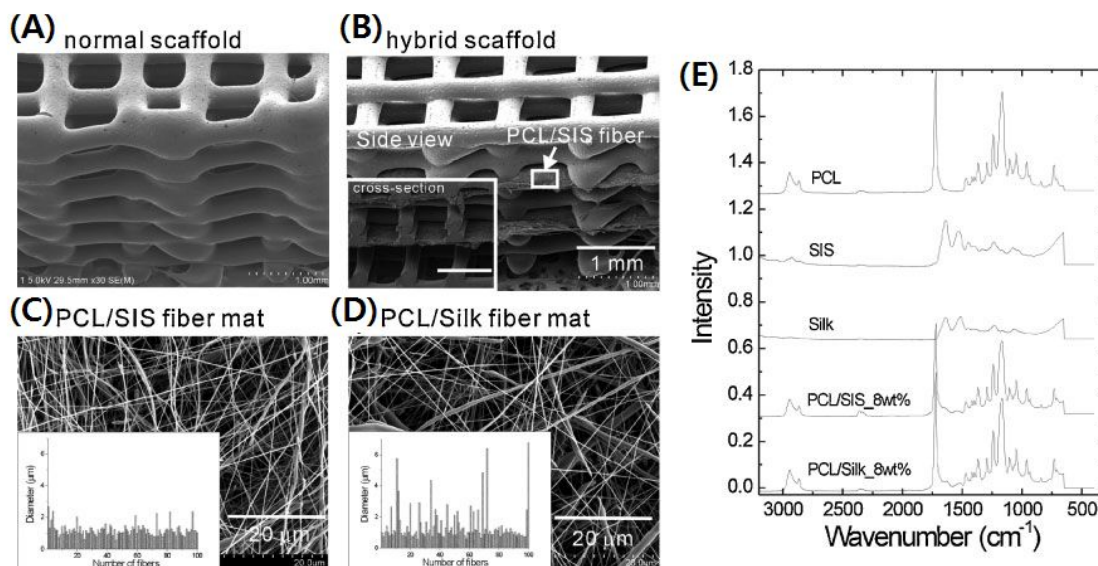


Fig 23. SEM images of PCL scaffolds fabricated by (a) the standard melt-plotting system and (b) the hierarchical scaffold fabricated using a hybrid technique combining dispensing and electrospinning systems. (c) layered 8 wt% PCL/SIS fiber mat between micro-sized strands and (d) 8 wt% PCL/Silk fibroin mat. The insets show the diameter distributions of the spun fibers. (e) FT-IR results of pure PCL, pure SIS, pure Silk, PCL/SIS (8 wt%), and PCL/Silk (8 wt%).



### (3) Water contact angle 측정

In vivo 및 In vitro 에서 친수성의 특성을 가짐으로서 세포친화성 및 세포의 초기 부착률을 증가시키고 조직 재생을 증진 시킨다고 알려져 있다.<sup>42</sup>

나노섬유 매트릭스의 친수성을 알아보기 위해 WCA(Water contact angle)을 시간 변화에 따라 측정 도시화 하였다. 그림 24-A(a~c)는 시간변화에 따른 물방울들의 변화 과정이며 24-B는 이러한 변화과정을 각각의 조건에 따라 도시화한 그래프이다.

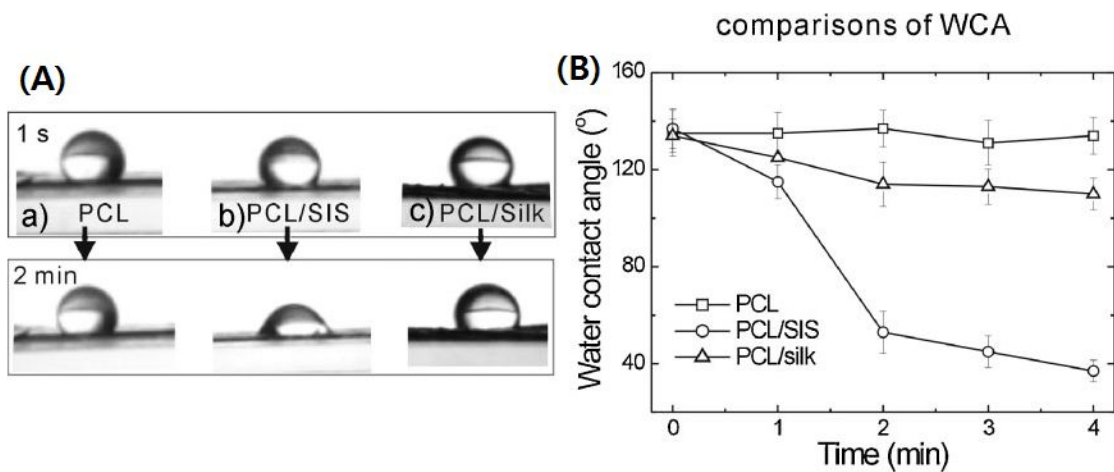


Fig 24. WCA of the layered micro/nanofibers. (A-a~c) Water contact angle measurements at two time points for pure PCL, PCL/SIS (8 wt%) and PCL/Silk (8 wt%) electrospun mats. (B) Comparison of the WCAs of PCL, PCL/SIS and PCL/Silk fiber mats.

#### (4) 세포배양

일반적인 방법의 세포담체와 복합형 계층구조의 세포담체를 이용하여 앞서 언급한 MSCs cells을 사용하여 앞장의 방식으로 세포배양에 대한 실험한 결과 복합형 방식의 계층구조 세포담체에서 더욱 뛰어난 세포배양이 이루어 졌음을 확인하였고 이는 각각의 섬유가 초기세포 부착률을 높여주며 세포배양에 있어 좋은 환경을 제공하는 것으로 사료된다.

그림 25-A는 기존방식의 세포담체에서 세포를 배양하였고, 25-B는 복합형방식으로 제작된 세포담체에서의 세포를 배양한 모습이다. 25-C는 이러한 MTT assay 실험을 통해 얻어진 결과물을 바탕으로 도시화 한 그래프이다.

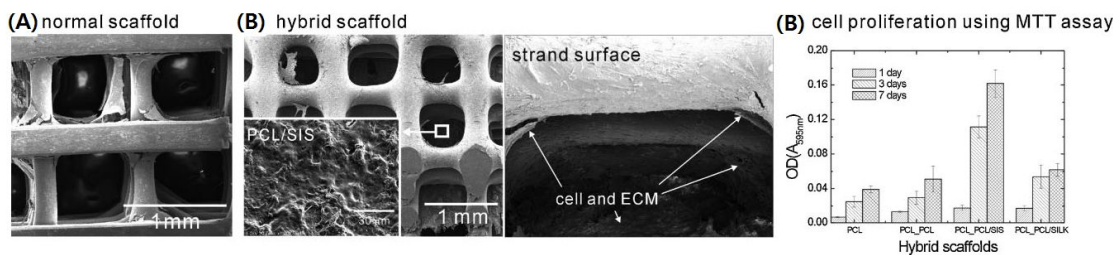


Fig 25. SEM micrographs of bone marrow-derived MSCs attached to 3-D PCL scaffolds fabricated by (a) the normal dispensing system and (b) the hybrid system including biomaterials. (c) MTT assay showing initial cell attachment and proliferation of bone marrow-derived MSCs. PCL, PCL\_PCL, PCL\_PCL/SIS and PCL\_PCL/Silk along the x-axis refer to a normal 3-D scaffold, 3-D hierarchical scaffold with pure PCL fiber mat, 3-D hierarchical scaffold layer with PCL/SIS fiber mat and 3-D hierarchical scaffold layer with PCL/Silk fiber mat, respectively.

### 3. 결론

본 연구에서는 기존의 3D 세포담체 제작기법을 개선한 시스템을 구축하고자 하였다. 이러한 생각 다변화를 통하여 기존방식의 시스템에 전기유체역학의 한분야인 electrospinning공정을 도입하여 3차원 세포담체를 제작하는 시스템을 구축 할 수 있었다.

복합형 계층 구조를 갖는 세포담체의 제작은 천연물질 중 하나인 Silk fibroin과 SIS를 이용하여 성공적인 세포담체의 계층화를 이룰 수 있었다.<sup>42-52</sup>

마이크로 영역의 3차원 계층구조 세포담체는 다양한 연구진행이 가능하며 높은 친수성 및 초기세포 부착율과 MSCs를 확산 시키는 것을 확인하였고, 특히 SIS는 다양한 구성성분을 함유해 세포와 계층구조 세포담체 사이의 상호작용에 훨씬 더 긍정적인 것으로 사료된다.<sup>53-61</sup>

본 연구는 새로운 생체적합성재료 보급이 이루어질 경우 고품질의 3차원 세포담체 개발이 가능할 것으로 예상된다.

#### 4. 참 고 문 헌

1. H. Okuda, & A. J. Kelly, *Physics of Plasmas*, 3, 2191-2196 (1996)
2. M. Sato, H. Takahashi, M. Awazu, & T. Ohshima, *Journal of Electrostatics*, 46, 171-176 (1999)
3. O. V. Salata, P. J. Hull, & P. J. Dobson, *Advanced Materials*, 9, 413-417 (1997)
4. S. Hartwig, E. Fadi, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 19, 443-455 (2003)
5. A. F. Spivak, Y. A. Dzenis, D. H. Reneker, *Mechanics Research communications*, 27, 1, 37-42 (2000)
6. W. H. Park, *Polymer Science and Technology*, 16, 5 (2005)
7. B. M. Moo, G. Lee, S. H. Kim, Y. S. Nam, T. S. Lee, and W. H. Park, *Biomaterials*, 25 1289-1297 (2004)
8. Kaplan D, Adams WW, Farmer B, Viney C, editors. *ACS Symposium series 554*. Washington, DC: ACS; (1994)
9. M. Li, W. Tao, S. Lua, and S. Kuga, *int. J. Biol. Macromol.* 32, 159 (2003)
10. Haifeng. L, Zigang. G, Yue. W, Siew. L. T, Vallaya. S, James C. H. Goh, *Journal of Biomaterials Research Part B: Applied Biomaterials*, 82B: 129-138 (2007)
11. Domotor E, Sipos I, Kittel A, Abbott NJ, *Neurochem Int.* 33, 473-478 (1998)
12. Hautanen A, Gailit J, Mann DM, Ruoslahti E, *J. Biol. Chem.* 264, 1437-1422 (1989)
13. S. W. Chun, *Fiber Technology and Industry*, 12, 2 (2008)
14. A. Formhals, *US Patent*, 1, 975, 504 (1934)
15. G. I. Taylor, *Proceedings of Royal Society of London*, A280, 383 (1964)
16. D. H. Reneker, A. L. Yarine, H. Fong, S. Koombhongse, *Journal of Applied Physics*, 87, 9, 4531-4547 (2000)
17. J. Doshi, D. H. Reneker, *J. Electrostatics*, 35, 151-160 (1995)
18. H. J. Kim, U. J. Kim, H. S. Kim, C. Li, M. Wada, G.G. Leisk, D.L. Kaplan, *Bone*, 42, 1226-1234 (2008)
19. U.J. Kim, J. Park, H. J. Kim, M. Wada, D.L. Kaplan, *Biomaterials*, 26, 2775-85

(2005)

20. H. J. Jin, J. Chen, V. Karageorgiou, G. H. Altman, and D. L. Kaplan, *Biomaterials*, 25, 1039-1047 (2004)
21. S. Sofia, M. B. McCarthy, G. Gronowicz, D. L. Kaplan, *J. Biomed. Mater. Res.* 54, 139-48 (2001)
22. Hyeongjin Lee, GeunHyun Kim *Journal of Biomaterials Science*, 21 1687 - 1699 (2010)
23. K. Rezwani, Q. Z. Chen, J. J. Blaker and A. R. Boccaccini, *Biomaterials*, 26, 3413 (2006)
24. S. V. Fridrikh, J. H. Yu, M. P. Brenner and G. C. Rutledge, *Phys. Rev. Lett.* 90, 144502 (2003)
25. K. Rezwani, Q. Z. Chen, J. J. Blaker and A. R. Boccaccini, *Biomaterials*, 26, 3413 (2006)
26. Hye Won Shin, Seon Hwa Kim, Ji Wook Jang, Moon Suk Kim, Sun Hang Cho, Hai Bang Lee, GilSon Khang, *Polymer (Korea)*, 28, 2, 194-200 (2004)
27. G. H. Kim, J. G. Son, S. A. Park, W. D. Kim, *Macromol. Rapid Commun.* 29, 1577 (2008)
28. G. H. Kim, J. G. Son, *Appl. Phys. A*, 94, 781 (2009)
29. Y. P. Jiao, F. Z. Cui, *Biomed. Mater.* 2, R24 (2007)
30. J. Hodde, *Tissue Eng.* 8, 295 (2002)
31. S. L. Voytik-Harbin, A. O. Brightman, M. R. Kraine, B. Waisner, S. F. Badylak, *J. Cell Biochem.* 67, 478 (1997)
32. C. Androjna, R. K. Spragg, K. A. Derwin, *Tissue Eng.* 13, 233 (2007)
33. S. F. Badylak, G. C. Lantz, A. Coffey, L. A. Geddes, *J. Surg. Res.* 47, 74 (1989)
34. M. S. Kim, K. D. Hong, H. W. Shin, S. H. Kim, S. H. Kim, M. S. Lee, W. Y. Jang, G. Khang, H. B. Lee, *Int. J. Biol. Macromol.* 36 (2005)
35. Hye Won Shin, Seon Hwa Kim, Ji Wook Jang, Moon Suk Kim, Sun Hang Cho, Hai Bang Lee, GilSon Khang, *polymer (Korea)*, 28, 2, 194-200 (2004)
36. BP Kropp, EY Cheng, *J. Urol.* 14, 59 (2000)
37. EN Lamme, HJ de Vries, H van Veen, et al., *J. Histochem. Cytochem.* 44, 1311

(1996)

39. 홍순기, 윤현, 이형진, 이행남, 박길문, 김근형, KSME, R1001 (2009)
40. U. J. Kim, J. Park, C. Li, H. J. Jin, R. Valluzzi, D. L. Kaplan, *Biomacromol.* 5, 786 (2004)
41. J. Hodde, *Tissue Eng.* 8, 295 (2002)
42. G. H. Kim, *J. Polym. Sci. ; Part B: Polym. Phys.* 44, 1426 (2006)
43. K. Rezwani, Q. Z. Chen, J. J. Blaker and A. R. Boccaccini, *Biomaterials*, 26, 3413 (2006)
44. G. H. Kim, J. G. Son, S. A. Park, W. D. Kim, *Macromol. Rapid Commun.* 29, 1577 (2008)
45. G. H. Kim, J. G. Son, *Appl. Phys. A.* 94, 781 (2009)
46. Y. P. Jiao, F. Z. Cui, *Biomed. Mater.* 2, R24 (2007)
47. J. Hodde, *Tissue Eng.* 8, 295 (2002)
48. S. L. Voytik-Harbin, A. O. Brightman, M. R. Kraine, B. Waisner, S. F. Badylak, *J. Cell. Biochem.* 67, 478 (1997)
49. C. Androjna, R. K. Spragg, K. A. Derwin, *Tissue Eng.* 13, 233 (2007)
50. S. F. Badylak, G. C. Lantz, A. Coffey, L. A. Geddes, *J. Surg. Res.* 47, 74 (1989)
51. M. S. Kim, K. D. Hong, H. W. Shin, S. H. Kim, S. H. Kim, M. S. Lee, W. Y. Jang, G. Khang, H. B. Lee, *Int. J. Biol. Macromol.* 36 (2005)
52. Hyeongjin Lee, GeunHyun Kim *Journal of Biomaterials Science*, 21, 1687 - 1699 (2010)
53. K. Rezwani, Q. Z. Chen, J. J. Blaker, A. R. Boccaccini, *Biomaterials*, 26, 3413 (2006)
54. N. T. Dai, M. K. Yeh, D. D. Liu, E. F. Adams, C. H. Chiang, C. Y. Yen, C. M. Shih, H. K. Sytwu, T. M. Chen, H. J. Wang, M. R. Williamson, A. G. A. Coombes, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 329, 905 (2005)
55. K. Fujihara, M. Kotaki, S. Ramakrishna, *Biomaterials*, 26, 4139 (2005)
56. M. S. Kim, H. H. Ahn, Y. N. Shin, M. H. Cho, G. Khang, H. B. Lee, *Biomaterials*, 28, 5137 (2007)
57. D. W. Huttmacher, T. Schantz, I. Zein, K. W. Ng, S. H. Teoh, K. C. Tan, *J. Biomed. Mater. Res.* 55, 203 (2001)



58. T. B. F. Woodfield, J. Malda, J. de Wijn, F. Peters, J. Riesle, C. A. van Blitterswijk, *Biomaterials*, 25, 4149 (2004)
59. P. D. Dalton, T. Woodfield, D. W. Hutmacher, *Biomaterials*, 30, 701 (2009)
60. R. Landers, U. Hubner, R. Schmelzeisen, R. Mulhaupt, *Biomaterials*, 23, 4437 (2002)
61. R. Mulhaupt, R. Landers, Y. Thomann, *Eur. Cells Mater.* 6 (Suppl. 1), 12 (2003)

## 제3장 결론

인체에 가해진 손상된 조직의 기능적 형태적 재생은 자연적으로 이루어지는 본래의 구조와 기능의 역할을 제한하는 회복과는 다르다. 조직공학이라 함은 특정조직의 재생을 촉진시키는 합성, 생물학적 기능에서 다양한 세포들과 성장인자 등을 포함하는 장치들을 제조하는 것을 의미한다. 이렇게 만들어진 3차원 인공 세포담체를 이용하여 *in vitro* 상태에서 성장한 세포를 이식하여 조직을 재생시키고 기관의 기능을 재활시키는 것에 목적을 두고 있다.

일반적 넓은 의미로서 조직재생을 위한 세포담체는 조직치환체, 그래프트, 정교한 기능적 조직을 형성할 수 있는 요소인 단백질과 성장인자의 혼합물을 생성하여 세포의 분화상태에서 유지 또는 성장시킬 수 있는 다공성 세포담체로 볼 수 있다. 세포담체는 조직공학에 응용할 수 있는 생체재료로 조직을 대체 또는 조직재생을 위한 세포담체와 유도할 수 있는 고분자로 되어있는 다공체라고 정의 하고 있다.

생체재료는 조직의 기능을 대체하기 위하여 체내에서 간헐적 또는 지속적으로 주위 조직과 직접 접촉하며 체액에 노출되는 인공적인 물질로서, 생체의 기능을 치환, 대체하기 위하여 사용되는 물질을 의미한다. 이러한 생체재료는 어떤 형태로든 인체와 접촉이 이루어지므로 반드시 생물학적으로 적합해야 한다.

본 연구에서는 조직공학을 접목시켜 새로운 구조 형태인 복합적계층구조의 세포담체를 제작할 수 있는 시스템을 구축하고자 하는 목적으로 연구를 진행하였고, 사용된 공정으로 전기유체역학(EHD, Electro-hydrodynamics), 전기유동역학(electro-fluid-dynamics) 혹은 전기동역학(electrokinetics)로 알려진 전기방사공법은 전기적 전하의 유동과 관련된 역학이다. 또한 압출유동시스템의 한 분야인 SFF(Solid Free-form Fabricating)을 이용한 PCL/SIS/Silk 나노섬유가 함유된 세포담체 제조 공정을 구축하였고, 이러한 목적을 토대로 우선순위로 Silk fibroin과 SIS 나노섬유를 제작하여 세포배양 실험을 토대로 가능성을 유추하였

고 그 결과 Silk/SIS 나노섬유의 세포배양성이 우수함을 확인하였다.

Silk/SIS 나노섬유 실험 결과물을 바탕으로 PCL 세포담체를 계층화를 시도하였다. 계층화의 시도는 PCL로만 이루어진 세포담체는 소수성 특징을 갖는 PCL세포담체의 특징으로 인한 세포들의 초기부착 및 생존율이 낮아지는 문제를 해결하고 또한, 마이크로 영역의 3차원 계층구조 세포담체는 다양한 연구 진행이 가능하며 높은 친수성 및 초기세포 부착율을 보이는 나노섬유를 결합하여 이상적인 세포담체로서의 기능을 확립할 수 있었다. 특히 Silk와SIS는 다양한 구성성분을 함유해 세포와 계층구조 세포담체 사이의 상호작용에 훨씬 더 긍정적인 것으로 사료되며 본 연구는 새로운 생체적합성재료 보급이 이루어질 경우 고품질의 3차원 세포담체 개발이 가능한 시스템이 될 것으로 예상된다.

## 감사의 글

실험실에 들어와 이런저런 일을 진행한지가 벌써 3년이란 시간이 흘러 이렇게 졸업 논문을 작성하고 감사의 글을 적어 내려가는 '2010년12월 어느 날' 참 신기하고 어색 하기도한 많은 생각을 하게 하는 오늘입니다.

교수님께서 2008년 초에 처음 부임하셔서 유체시스템설계 과목을 개설하셨고 그 과목을 수강하면서 이런 학문도 있구나 라는 생각을 하며 실험과 병합된 발표수업이 참신하고 또 이런 바쁘게 하는 과목을 4학년에 배정하신 분을 원망 아닌 원망도 해가면서 수업을 듣고 여름 방학 기간에 어쩌면 흐르듯 들어와 버린 실험실에서 취업이 아닌 대학원까지 진학을 결심하게 만든 매력이 넘치는 공간이었기에 이렇게 졸업논문을 작성하게 만드는 원동력 이었던 거 같습니다.

부족한 저를 학문의 길로 인도 하셔서 교수님의 지도아래 어려운 그리고 정말 생소한 영어논문 한편과 아무것도 없는 연구실에서 시작한 대학원 생활의 처음은 청소부터 시작해서 어느덧 번듯한 연구실이 되고 이렇게 성장하기 까지 항상 격려해주시고 가르쳐 주시면서 가이드해주시는 우리 멋진 지도교수님이신 김근형 교수님과 필요한건 다 가져가라 하셨던 박길문 교수님, 이행남 교수님의 은혜에 깊은 감사드립니다. 그리고 처음 함께한 현이형, 지금은 다른 곳에 있는 민석이형, 몸이 안 좋아 휴학 중인 호준이, 항상 막내로 생활했던 묵묵히 자기일 하는 착하디착한 형진이 다들 고생 많이 했고 고맙습니다. 그리고 나중에 들어와 고생하다 중간에 나가게 된 석진이 선임으로서 잘 챙겨 주지 못해 미안하고 대학원 들어온 엉뚱한 순기, 아직은 학부생인 규현이, 명구, 용복이 다들 조그만 더 노력하고 또 노력하면 앞으로 더 넓은 길이 펼쳐질 태니 BNF Lab. 인원들 전부 항상 힘내고 항상 감사합니다.

끝으로 정말 제가 힘들 때 좋은 말씀 해주시고 격려해주시면서 응원해주신 김근형 교수님 원하시는 만큼의 성과를 보여드려야 하는데 개인사정이란 핑계로 이리저리 곁돌기만 해서 죄송 하구요 성에 안차는 저를 이끌어 주시느라 정말 고생 하셨습니다. 그리고 건강이 안 좋아진 어머니 우리 임 여사님 사랑하구요 다들 꼭 건강하고 앞날에 축복이 있기를 간절한 마음으로 기원하겠습니다.