

Thema

| 조직공학에서의 인공지지체 기술 동향

조 동우 교수
(포항공대 기계공학과)

이 승재 박사과정
(포항공대 기계공학과)

1. 서론

조직공학은 생명 과학과 공학의 기본 개념과 기술을 통합 응용하여 생체 조직의 구조와 기능 사이의 상관 관계를 이해하고 나아가서 생체 조직의 대용품을 만들어 이식함으로써 우리 몸의 기능을 유지, 향상 또는 복원하는 것을 목적으로 하는 응용 학문이다. 조직공학의 이론은 먼저 환자의 몸에서 필요한 조직을 채취하여 세포를 분리한 다음, 분리된 세포를 배양, 증식시켜 생분해성 고분자에 심어 일정기간 체외 배양한 뒤에 이 세포/고분자 구조물을 다시 체내로 이식한다. 이식 후의 세포는 신생혈관이 형성될 때까지는 체액으로부터 산소와 영양분을 공급받다가 인체 내에서 혈관이 자라 들어와 혈액이 공급되면 세포들이 증식, 분화하여 새로운 조직 및 장기를 형성하고 고분자 구조물은 분해되어 없어지게 된다.

이러한 조직공학의 이론적 배경은 선택적 세포이식과 인공기질 개념으로 요약할 수 있다. 선택적 세포이식이란 장기 전체를 이식하기 보다는 필요한 조직을 선택적으로 채취해서 이식하는 것을 말하며, 인공기질이란 채취된 조직세포가 이식되어 3차원적인 생체조직을 만들 수 있는 지지체를 말한다. 이러한 인공 기질은 담체 혹은 인공지지체(Scaffold)라 불리며, 다음과 같은 조건을 충족시켜야 한다. 우선, 재생하고자 하는 생체조직의 형태를 유지 하여야 하고, 배양하고자 하는 세포의 점착과 증식/분화를 효과적으로 유도하며, 높은 생체친화성과 지지체로서의 역할을 다한 후 생체 내에서 안전하게 흡수, 분해되어야 한다.

이러한 이론적 배경을 바탕으로 현재의 생체조직공학은 21세기에 성장 잠재력이 가장 큰 분야로 예상되는 BT산업에서의 기반 기술이지만, 아직은 인체 각 장기의 기능 재현에 한계가 있다. 이의 가장 큰 이유는 생체 내에서 분해되는 조직적합성 생체재료의 한계와 다양한 생체조직으로 분화/성장시킬 수 있는 조직공학 기술이 미비하기 때문이다. 생체조직 재생을 위한 3차원 초정밀 인공지지체 기술 개발에는 다음과 같은 2개의 요소 기술이 필수적이다. 첫 번째로는 특정 조직세포로의 효과적인 분화를 위한 조직재생용 인공지지체 기술이며, 두 번째는 생체조직과 유사한 생체적합성 재료기술이다.

이러한 3차원 인공지지체 기술은 생체재료와 조직공학 기술을 통하여 손상된 조직이나 장기를 재생하는 고도의 기술로서 그 잠재력이 무한하여 미래의 생명과학 및 의료분야를 선도해 나아갈 중요한 핵심 신기술의 하나이다.

하지만 이와 관련된 지금까지의 연구방법은 세포의 배양/분화/증식의 효과를 향상시키기 위한 생물학적인 접근방법과 인공지지체의 성능을 향상시키기 위한 화학적/재료적인 접근 방법으로 국한되어져 왔다.

본 보고서에서는 조직공학에서의 3차원 인공지지체를 개발하기 위한 다양한 연구동향에 대하여 기술하고자 한다.

2. 기술 개발 동향

현재 인공지지체 제작을 위해 사용되고 있는 PLA(Poly-lactic Acid), PGA(Poly-glycolic Acid) 등의 생분해성 생체재료는 염발포법(Gas Foaming/Salt-

leaching), 고압기체 팽창법(High Pressure Gas Expansion), 유화동결건조법(emulsion freeze-drying), 염 침출법(Solvent-casting/Particulate leaching Technique), 상 분리법(Phase Separation) 등으로 만들어진다. 하지만 현재의 제조방법으로는 재연성이 떨어지며 복잡하거나 정밀한 3차원 형태의 구조로 제작하기에는 한계가 있다. 또한 다공성 구조의 제작에 있어서 공극(Pore) 크기 및 공극율(Porosity)을 자유롭게 조절할 수 없으며, 공극들의 상호 연결성(Interconnectivity)이 떨어져 세포의 성장 및 영양분 공급, 인공 지지체 내부로의 확산 및 전달 등의 어려움이 있고 제조시간도 오래 걸린다.

따라서, 최근에는 기존의 생물학적, 화학적, 재료적 접근방법에 한계를 느끼고 기계적인 접근방법을 통하여 이러한 문제들을 해결할 수 있는 새로운 3차원 인공지지체를 개발하려는 연구가 활발히 진행되고 있다.

현재 세계적으로 조직공학의 선도기술을 보유한 연구그룹인 Carnegie Mellon Univ., Drexel Univ.,

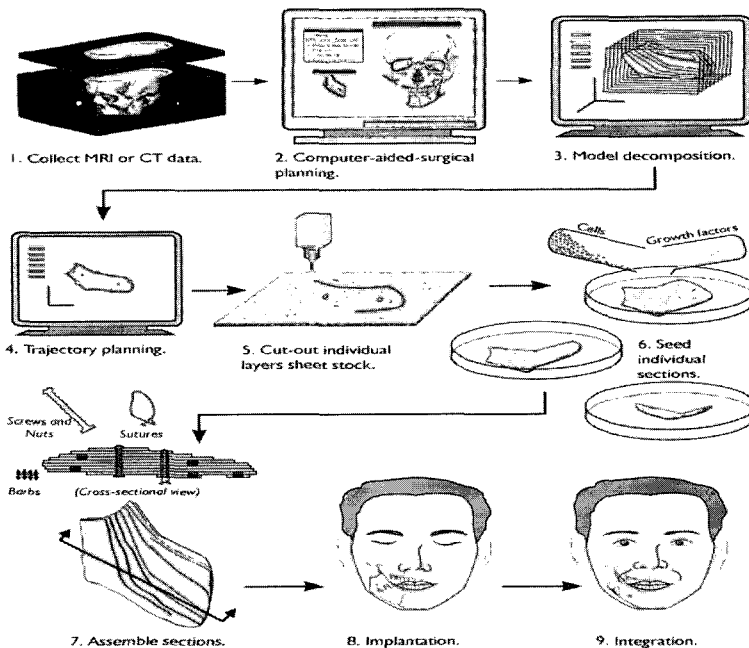


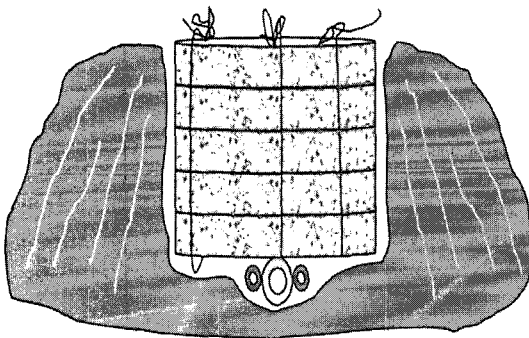
그림 1. Schematic of CAD/CAM scaffold assembly system (CMU - Bone Tissue eng. Website, Dr. L. Weiss).

Twente Univ., Ohio State Univ., 등에서는 기계공학이 주체가 되어 다양한 학문 분야와 함께 유기적으로 연구팀이 구성되어 있으며, RP(Rapid Prototyping) 기술을 이용하여 3차원 인공지지체를 개발하고 있다. 다음은 RP기술을 바탕으로 인공지지체를 개발한 사례를 기술하고자 한다.

그림1은 Carnegie Mellon대학(미국)에서의 CAD/CAM 인공지지체 어셈블리 시스템의 개념도를 보여주고 있다.

이러한 어셈블리 시스템에서는 Solid Freeform Fabrication Assembly 방법을 적용하였다. 이 방법은 미리 가공된 얇은 단면층(대략 1 mm 두께)을 적층하여 3차원 구조물을 만들고 이를 생분해 되는 스크류나 너트 혹은 봉합사로 체결한다. 이때 미리 가공된 각각의 단면 층은 최종적으로 조립되기 전에 세포나 성장인자를 미리 주입시켜 생체내에 이식했을 때 인공지지체가 생분해 되면서 조직세포가 성장할 수 있도록 한다. 각 단계별 공정은 다음과 같다.

- 1) Collect Data : MRI 영상으로부터 3차원 생체 조직 형상을 얻는다
- 2) Computer-aided Surgical Planning : 수술을 하기 위해 결함이 있는 부분을 시뮬레이션하고 이를 치료하기 위한 인공뼈의 3차원 CAD 모델을 생성한다.
- 3) Model Decomposition : 인공뼈의 CAD 모델은



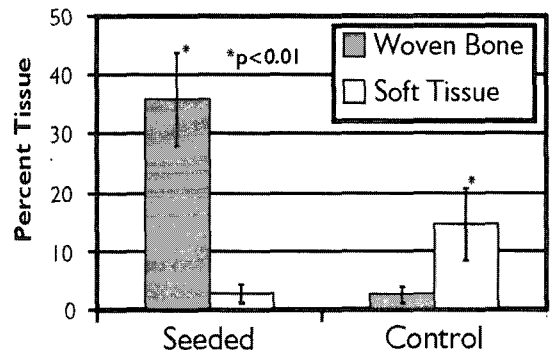
(a) Five(1mm thick × 12mm dia.) layers of assembled composite disc, implanted within rectus abdominus muscle, adjacent to inferior epigastric artery and vein



(b) Assembly structure shown at time of implantation in rabbit model



(c) Explanted seeded group at 8 wks(left) and explanted unseeded control group at 8 wks(right)



(d) The percentage of tissue per section using NIH image

그림 2. In-vivo experiments at a heterotopic site in a rabbit model(CMU).

각각의 단면층을 만들기 위해 슬라이싱(Slicing) 과정을 거친다. 이때 단면층의 두께는 대략 1 mm 정도 내외이다.

- 4) Trajectory Planning : CNC 절삭기로 단면층의 외각 형상을 제작하기 위한 절단 경로를 생성한다.
- 5) Layer Manufacturing : CNC 레이저, Water Jet 또는 밀링머신으로 Sheet 형태로 미리 가공된 인공지지체 재료를 절단한다.
- 6) Cell Seeding/Growth Factors : 각각의 단면층에 세포와 성장인자를 주입 시킨다.
- 7) Assembly : 세포와 성장인자가 포함된 단면층들을 생분해 되는 스크류나 너트 혹은 봉합사로 체결한다.
- 8) Implantation : 조립된 인공지지체를 생체내에 이식한다.

9) Integration : 인공지지체가 생분해되면서 생체 조직이 각각의 단면층으로부터 재생 된다.

이러한 어셈블리 개념을 검증하기 위해 가토를 이용하여 In-vivo 실험을 수행하였다. 그림2는 Bone Marrow Cell을 이용한 실험방법 및 결과를 보여주고 있다. 그림2(c)에서 보듯이 각각의 단면층에 뼈세포 및 성장인자를 포함한 인공지지체에서 재생된 뼈 조직이 인공지지체만 이식한 경우보다 조직재생이 훨씬 잘 되었다.

이를 이용하면서 서로 다른 재료를 이용하여 서로 다른 미세구조물을 제작할 수 있고 여기에 세포의 종류와 성장인자에 따라 다양한 인공 지지체를 개발할 수 있다. 또한 미리 제작된 혈관을 함께 심어 조립한다면 보다 복잡한 구조(뼈, 힘줄, 혈관, 근육등)를 갖는 생체조직도 재생이 가능할 것으로 기대한다.

Twente 대학(네덜란드)에서는 3D Deposition Fabrication 방법을 사용하여 그물망 구조의 인공지지체를 개발하였다. 그림 3은 다공성의 3차원 인공지지체를 제작하기 위한 Fiber Deposition 장치를 나타낸다. 이 장치는 크게 5부분으로 구성되어 있다.

- (1) Thermostatically Controlled Heating Jacket;
- (2) Syringe 펌프와 노즐로 구성된 Molten Co-polymer Dispensing Unit;
- (3) Molten Co-polymer의 유동을 발생시키는

- Force-controlled Plunger;
- (4) x-y-z table을 구동하기 위한 Stepper motor;
- (5) Fiber Deposition Path를 생성시키도록 PC와 x-y-z Motor Drive를 연결해주는 Positional Control Unit이다.

전체적인 인공지지체의 치수 및 Deposit된 Fiber 사이의 간격, Fiber 층의 개수, 스테이지의 속도 등은 자체 제작된 소프트웨어에 의해 제어된다. 각각의 층은 지그재그 경로로 성형이 되며 0°-90° 패턴으로 반복하여 성형함으로써 공극의 크기를 조절할 수 있고 공극간의 상호연결성이 100%가 될 수 있다(그림4).

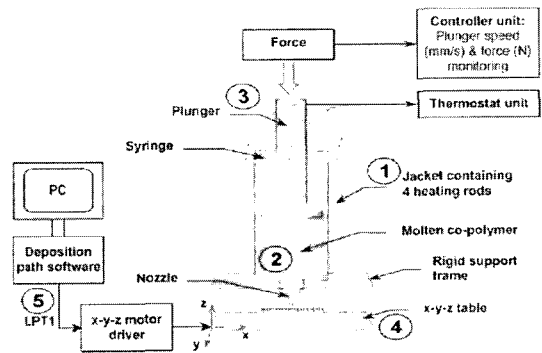


그림 3. The 3D deposition device(Twente Univ.).

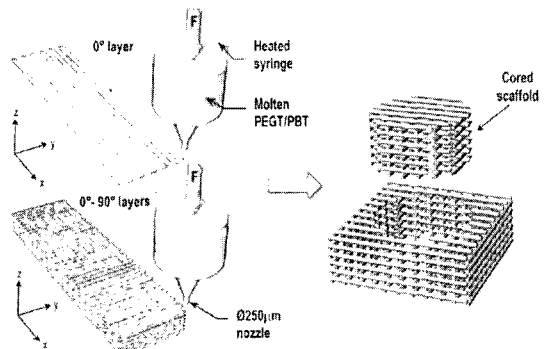


그림 4. 3D deposition process where Ø250um PEGT/PBT fibers are successively laid down in a computer controlled pattern (0°-90° orientation shown). Scaffolds are subsequently cored from the deposited bulk material(Twente Univ.).

그림 5는 다양한 크기의 공극과 Fiber 간격을 갖도록 제작된 3차원 인공지지체를 보여주고 있다. 이렇게 제작된 인공지지체의 성능을 평가하기 위해서 6개월 된 송아지의 무릎 관절에서 Chondrocyte를 채취한 뒤 In-vitro에서 Dynamic 배양한 후에 Nude Mice에 이식하여 무릎연골이 형성되는지 실험하였다.

그림6은 In-vitro 및 In Vivo에서 시간에 따라 Chondrocyte의 배양되는 결과를 보여주고 있다.

Drexel 대학(미국)에서는 Precision Extruding Deposition(PED)방법을 사용하여 100 um ~ 200 um 크기의 공극을 가지는 3차원 인공지지체를 개발하였다. 그림 7은 개발된PED 시스템의 개략도이다. 일반적인 FDM(Fused Deposition Method) 시스템과 비교하였을 때 이 시스템이 가지는 가장 큰 차이점은 인공지지체의 재료를 Filament로 만들기 위한 준비과정 없이 직접 Deposit이 가능하도록 한 것이다.

인공지지체를 만들기 위해 생분해성 재료인 PCL을 사용하여 4가지 패턴을 제작하였다. 그림 8은 인공지지체 패턴에 관련된 정의를 설명한 것이다. 그림 9는 두 가지 패턴으로 설계된 인공지지체의 실제 제작되어진 결과이다. 노즐의 경로를 제어함으로써 다양한 형상의 패턴을 성형할 수 있다.

그림 10은 제작된 인공지지체의 생체적합성을 검증하기 위해 수행된 생물학적 실험 결과이다. (a)는

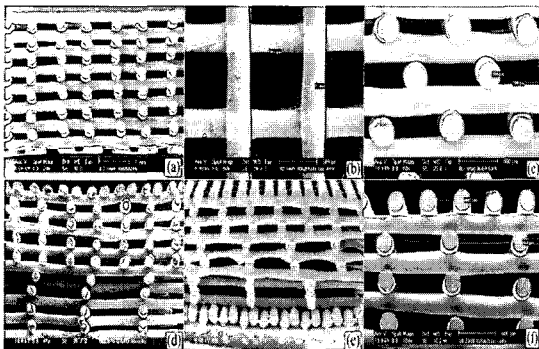


그림 5. SEM sections of 3D deposited scaffolds with varying fiber deposition geometries(Twente Univ.).

다른 구조의 인공지지체에서 세포수의 차이를 측정하고자 한 것이며, (b)는 인공지지체 표면에서 세포의 분포 및 특성을 확인하고자 한 것이다.

또한 일본의 Nagoya 대학에서는 FDM방법을 적용하여 PLA, PGA, PLGA로 수십 um 급의 3차원 생분해성 구조물을 제작할 수 있는 마이크로 제조시스템을 보고한 바 있다. 이외에도 RP 기술을 적용하여 인공지지체를 개발하고자 하는 연구가 최근 들어 활발하게 진행되고 있는 실정이다.

이와 같이 연골, 뼈, 간 등의 생체조직을 재생하기 위해서는 세포의 점착과 분화가 원활히 이루어질 수 있는 최대의 공극률과 상호연결성이 우수한 공극 구

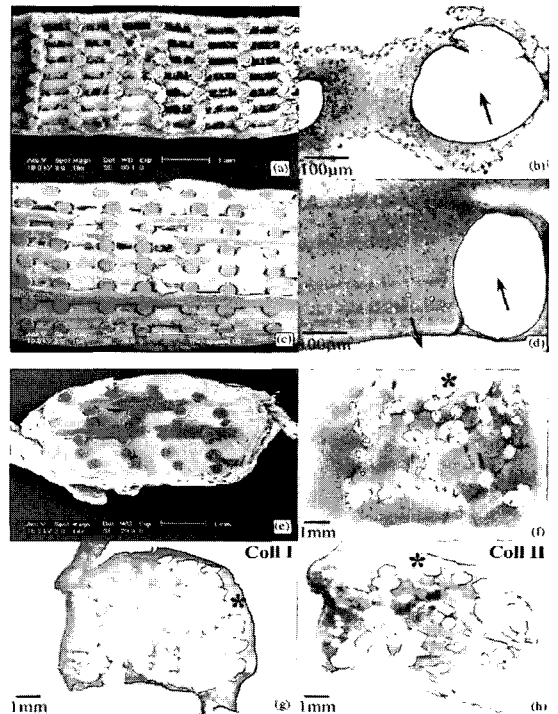


그림 6. SEM(a, c, e), safranin-O stained(b, d, f), and collagen type-I and type-II immunohistochemistry sections(g, h) of 3D-deposited scaffolds following(a, b) 3 days dynamic seeding of bovine articular chondrocytes; (c, d, g, h) 21 days dynamic culture in vitro; (e, f) 21 days implantation in nude mice(Twente Univ.).

조를 가진 다공성의 3차원 인공지지체의 제조가 필요하다. 이는 세포의 정착에 필요한 표면적을 제공할 뿐만 아니라 세포외기질(ECM, Extracellular Matrix)의 재생을 위한 공간의 확보, 그리고 체외 배양에서 원활한 산소와 영양소의 공급을 위한 효과적인 물질 전달을 위하여 필요하다. 이와 아울러 생체 내 분해시 분해특성과 기계적 물성이 우수한 생체 재료의 개발과 이를 이용한 3차원 다공성 인공지지체 제작에 대한 새로운 방안이 제시되어야 할 것이다.

3. 결론

조직공학에서 인공지지체의 역할은 매우 중요하다

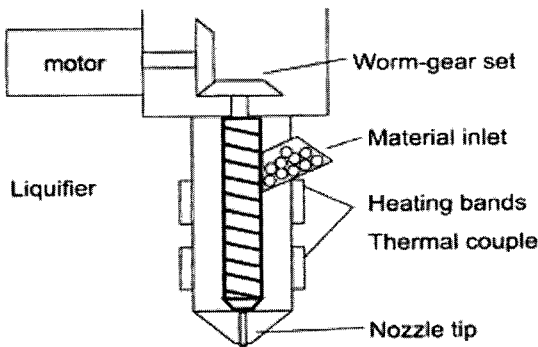


그림 7. Schematic of material miniextruder (Drexel Univ.).

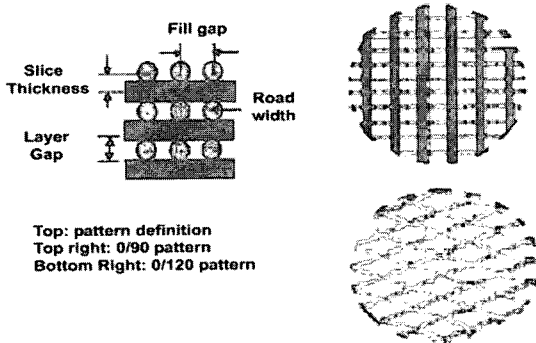
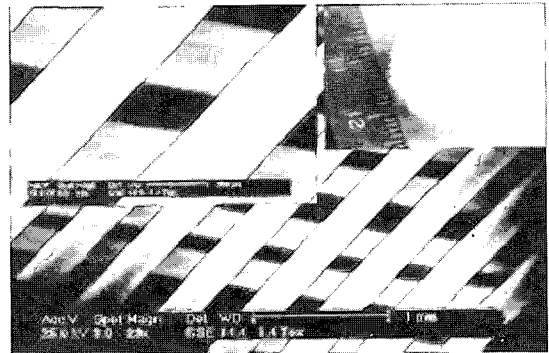
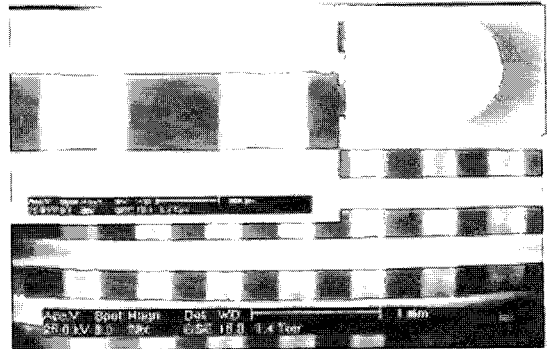


그림 8. Definition of scaffold layout pattern (Drexel Univ.).

다. 지금까지 많은 인공지지체 연구가 진행되어왔지만 앞으로는 공학적 지식을 바탕으로 새로운 기술을

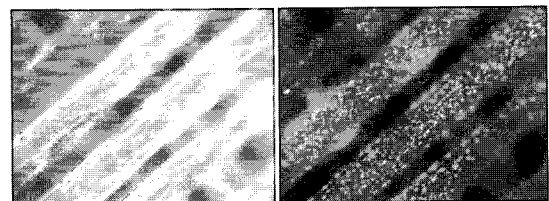


(a) 0°/120° layout pattern



(b) 0°/90° layout pattern

그림 9. SEM image scaffold with different layout pattern.



(a)

(b)

그림 10. Results of preliminary biological experiments; (a) Alamar Blue cytofluorimetry provides data on the number of cells in a given volume, (b) nuclear staining causes the nuclear membrane to fluoresce(Drexel Univ.).

접목하여 다양한 생체조직의 재생을 위한 연구가 계속해서 진행 되어야 한다. 이러한 기술의 응용은 기계공학과 같은 타분야에서 각광받는 기술이 생체조직공학 에서도 병용될 수 있다는 중요한 예가 되겠다. 이와 같이 앞으로의 인공지능기술은 세포 생물학이나 분자생물학, 고분자 공학의 지식뿐만 아니라 기계, 전자, 컴퓨터의 기술까지 필요로 하는 다학제 복합 연구분야이다. 또한, 임상 의사들의 생체 내에서의 적합성과 장기간에 걸친 이식으로 인한 조직의 반응, 면역학적 적합성, 염증 등의 생체현상을 검증 하고 재생된 조직의 생체기능에 대한 검토가 필수적이다.

따라서 새로운 제조 공정의 개발과 더불어 다양한 연구 분야의 전문가들이 생체조직공학 분야에서 서로 협력한다면 훌륭한 연구 성과 및 해당분야의 발전에 크게 기여할 것으로 기대 된다.

참고 문헌

[1] 박태관, 윤준진, “생분해성 고분자를 이용한 다공성 구조 지지체”, 고분자과학과 기술 제10권 제6호, p. 722, 1999.

[2] F. Wang, L. Shor, A. Darling, S. Khalil, W. Sun, S. Guceri and A. Lau, “Precision extruding deposition and characterization of cellular poly-e0carprolactone tissue scaffolds”, Raped Prototyping Journal, Vol. 10, No. 1, p. 42, 2004.

[3] <http://www.mem.drexel.edu/cate/>

[4] <http://www2.cs.cmu.edu/People/tissue/>

[5] Hutmacher DW., “ Scaffolds in tissue engineering bone and cartilage”, Biomaterials 21(24), p. 2529, 2000.

[6] Ikuta, K.; Yamada, A.; Niikura, F., “Three-dimensional microfabrication system for biodegradable polymers -complicated and non-toxic microstructures with high-resolution for implantable devices”, Micro-Nanomechatronics and Human Science, 2004 and The Fourth Symposium Micro-

Nanomechatronics for Information-Based Society, Proceedings of the 2004 International Symposium on Oct. 31-Nov. 3, p. 1, 2004.

[7] T.B.F. Woodfield, J. Malda, J. de Wijn, F.Peters, J. Riesle, and C.A. van Blitterswijk, “Design of porous scaffolds for cartilage tissue engineering using a three-dimensional fiber-deposition technique”, Biomaterials 25, p.4149, 2004.

[8] J. Malda, T.B.F. Woodfield, F. van der Vloodt, C. Wilsong, D.E. Martensc, J. Tramperc, C.A. van Blitterswijk, and J. Rieslea, “The effect of PEGT/PBT scaffold architecture on the composition of tissue engineered cartilage”, Biomaterials 26, p. 63, 2005.

저자약력



성명 : 조 동우

- ◆ 학 력
 - 1980년 서울대 기계설계학과 공학사
 - 1982년 서울대 대학원 기계설계학과 공학석사
 - 1986년 Univ. of WisconsinMadison, 기계공학과 공학박사

◆ 경 력

- 1987년 ~ 1988년 Robotics Institute, Carnegie Mellon Univ., 방문교수
- 1996년 ~ 1996년 Univ. of British Columbia, 기계공학과 방문교수
- 1986년 ~ 현 재 포항공과대 기계공학과 교수



성명 : 이 승재

- ◆ 학 력
 - 2000년 국민대 기계공학과 공학사
 - 2002년 포항공과대 대학원 기계공학과 공학석사
 - 현 재 포항공과대 대학원 기계공학과 박사과정