



조직공학을 위한 생체모사용 스캐폴드 개발

박 수 아[†]·이 준 희·김 완 두한국기계연구원 나노융합기계연구본부
(2009년 4월 17일 접수, 2009년 5월 4일 수정 및 채택)

Development of Biomimetic Scaffold for Tissue Engineering

Su A Park[†], Jun-Hee Lee, and Wandoo Kim

Nano-Mechanical Systems Research Division, Korea Institute of Machinery & Materials (KIMM)

E-mail : psa@kimm.re.kr

(Received April 17, 2009, Revised & Accepted May 4, 2009)

요약 : 조직공학은 기능을 상실한 인체를 대체하거나 복원하기 위해 인공대체품을 개발하기 위한 중요한 학문이다. 특히, 세포가 자랄 수 있는 지지체 역할을 하는 스캐폴드는 조직공학 연구를 위한 중요한 부분을 차지하고 있다. 그래서, 3차원 조직공학용 스캐폴드 개발을 위한 다양한 제조 방법을 소개하고자 하였다. 스캐폴드의 일반적인 제조방법으로는 염침출법 (solvent-casting particulate-leaching), 염 발포법 (gas foaming/salt leaching), fiber meshes/fiber bonding 법, 상분리법 (phase separation), melt moulding 법, 동결 건조법 (freeze drying)이 있으며, 넓은 표면적을 가진 스캐폴드 개발방법으로 전기방사법이 알려져 있다. 또한, 최근에는 스캐폴드 내부의 균일한 세포의 침투를 유도하기 위해 적당한 공극크기를 조절하고 우수한 공극률을 가진 스캐폴드를 개발하고자 stereo-lithography (SLA), selective laser sintering (SLS), fused deposition modeling (FDM), 및 3D printing (3DP) 와 같은 다양한 solid freeform fabrication (SFF) 기술이 개발되어지고 있다.

ABSTRACT : Tissue engineering is a research field for artificial substitutes to improve or replace biological functions. Scaffolds play a important role in tissue engineering. Scaffold porosity and pore size provide adequate space, nutrient transportation and cell penetration throughout the scaffold structure. Scaffold structure is directly related to fabrication methods. This review will introduce the current technique of 3D scaffold fabrication for tissue engineering. The conventional technique for scaffold fabrication includes salt leaching, gas foaming, fiber bonding, phase separation, melt moulding, and freeze drying. These conventional scaffold fabrication has the limitations of cell penetration and interconnectivity. In this paper, we will present the solid freeform fabrication (SFF) such as stereolithography (SLA), selective laser sintering (SLS), and fused deposition modeling (FDM), and 3D printing (3DP).

Keywords : tissue engineering, scaffold, solid freeform fabrication

I. 서 론

조직공학은 다양한 분야의 생명과학과 공학 기술을 융합하여 생체대용품을 만들어 이식함으로써 사고나 질병에 의해 결손된 우리 몸을 대체 또는 복원하는 것을 목적으로 하고 있는 학문이다. 조직공학에서 중요한 하나의 요소가 인공장기를 구성하고 있는 생체재료로서, 생체적합성이 우수하여야 하며, 독성이 없어야 한다. 이에 더불어, 기계적, 물리적 성질 및 성형가공성이 사용 목적 및 용도에 알맞게 요구되어진다. 또한, 큰 표면적의 부피와 다공성을 가져야 하며, 생분해성을 고려해야 한다. 이러한 세포가 지지하며 자랄 수 있는 지지체 역할을 하는 조직공학용 스캐폴드 개발은 생물학, 공학, 그리고, 의학 등 다학제간 협동연구가 필요하다.

생체조직공학에서 세포가 자랄 수 있는 지지체 역할을 하는 스캐폴드는 천연고분자재료와 합성고분자재료로 나뉘어 진다. 천연유래 생체재료는 세포외기질과 비슷한 성질을 가지고 있으며, 비교적 우수한 생체적합성을 지니고 있다. 천연유래 고분자로는 알지네이트, 콜라겐, 피브린, 키토산, 실크 등이 널리 알려져 있다. 이에 비해 합성 고분자 재료는 값이 싸며, 분자구조와 분자량을 조절할 수 있어 물리적, 기계적 특성을 조절할 수 있고, 생분해성을 조절할 수 있는 장점을 가지고 있다. 대표적인 합성고분자재료는 PLGA, PGA, PLA, PCL 등이 있다.

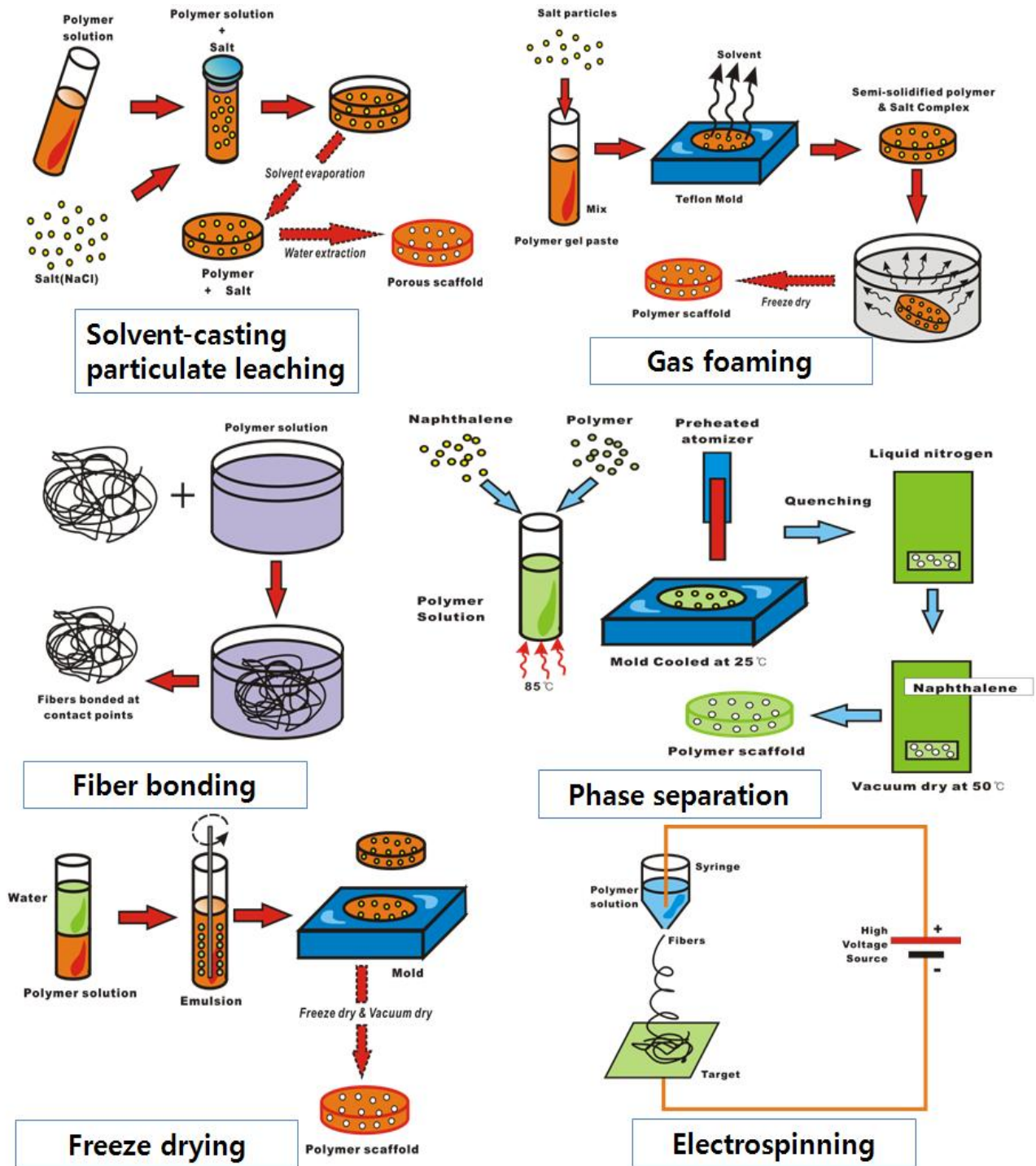


Figure 1. Conventional methods for scaffold fabrication.

1. 조직공학을 위한 일반적인 스캐폴드 제작방법

인체 결손부위의 복원을 위한 인공지지체인 3차원 스캐폴드를 제작하기 위한 일반적으로 알려진 기술은 염침출법

(solvent-casting particulate leaching), 염발포법 (gas foaming/salt leaching), fiber meshes/fiber bonding 법, 상분리법 (phase separation), melt moulding 법, 동결 건조법 (freeze drying)이 있다 (Figure 1).¹ 대표적인 염침출법은 다공성 스캐폴드를 제조하

기 위한 가장 잘 알려져 있는 방법으로서, 혼합하는 염결정 형태에 따라 공극의 형태가 결정되어진다. 그러나, 지지체 내부의 상호연결성이 약하기 때문에 세포의 침투와 배양을 방해할 수 있으며, 두꺼운 지지체의 경우, 염결정의 잔류 문제가 야기되어지고 있다. 염 발포법은 염 침출법과 비슷하나, 유기용매가 완전히 제거되지 않은 겔 상의 생분해성 고분자와 염결정을 이용하여 원하는 형태를 제조할 수 있다. 또한, 높은 압력하에서 CO₂가스를 이용하여 고분자를 팽창시킴으로써 공극을 발생시키는 가스발포법이 있다. Fiber meshes/fiber bonding 법은 무작위적으로 풀어진 봉합사의 가닥들을 열처리하여 삼차원적 형태를 구성한 것으로 매우 높은 공극률과 공극의 크기 및 공극 사이의 상호연결성을 갖추고 있으나, 기계적 강도가 약하다. 상분리법은 생분해성고분자를 유기용매에 용해한 후, 나프탈렌과 같은 승화성이 있는 물질을 혼합하여 용융시킨 후, 승화에 따른 상분리에 의해 스캐폴드를 제조하는 방법이다. Melt moulding 법은 PLGA 파우더와 젤라틴 입자를 테플론 몰드에 넣어 열을 가한 후, 젤라틴은 녹여내는 방법이다. 동결 건조법은 유기용매에 녹인 고분자를 동결 건조에 의해 얼음 결정을 녹여내어 스캐폴드를 제조하였다.

또한, 전기방사법에 의한 섬유상의 스캐폴드는 높은 공극률과 더불어 단위 부피당 최대의 표면적을 지니게 되는데, 이것은 세포를 고밀도로 배양할 수 있는 표면적을 제공하며, 배양 시에도 원활한 물질 교환을 기대할 수 있다.^{2,3}

2. Solid freeform fabrication (SFF)기술을 이용한 스캐폴드 제작방법

인체의 각 부위에 따른 세포의 성장을 위해 요구되어지는 스캐폴드의 공극의 크기는 3차원 스캐폴드의 구조적 조건을 고려해보면, 다음의 Table 1과 같다.

이를 만족하기 위해 많은 스캐폴드 제작 기술이 개발되어지고 있는데, 최근 스캐폴드의 공극크기, 공극률과 공극간 상호연결성을 높여 세포의 침투를 높이고, 영양분 순환이나 산소의 공급을 높이고자 다양한 RP 장비를 이용한 solid freeform fabrication (SFF) 기술이 개발되어지고 있는데, stereolitho-

Table 1. Scaffold pore size

5 μm for neovascularization
5-15 μm for fibroblast ingrowth
20 μm for the ingrowth of hepatocytes
20-125 μm for adult mammalian skin
40-100 μm for osteoid ingrowth
100-350 μm for regeneration of bone
500 μm for fibrovascular tissues for rapid vascularization and survival of cells

graphy (SLA) 방법, selective laser sintering (SLS) 방법, fused deposition modeling (FDM)방법, 3D printing (3DP) 방법, 3D plotting 방법 등이 있다 (Figure 2).^{1,4,5,6}

SLA (Stereo Lithography Apparatus)은 액상의 광경화성 재료 표면에 레이저 광선을 선택적으로 주사하여 주사된 부분이 경화되는 원리를 이용함으로써, 한층의 단면 형상이 생성되면 경화성 재료 용기 받침대를 한층 두께만큼 내리고 다시 레이저 광선을 주사하여 다음층을 생성하여 스캐폴드를 제작하는 방법이다. FDM (Fused Deposition Modelling)방식은 필라멘트 선으로 된 열가소성 물질을 노즐 안에서 가열하여 노즐을 통해 분사시켜 굳힌 후, 한 층이 굳어지면 그 위로 노즐을 이동시킨 후 같은 공정을 통해 다음 층을 생성하는 원리이다. 3DP (Three Dimension Printing)방식은 얇은 분말을 롤러를 이용하여 균일하게 펼친 후 프린터 헤드를 일정 방향으로 이동시키고 결합제를 뿌려 분말 입자를 결합시키는 방식으로, 이와 같은 과정을 반복하여 3차원 구조물을 형성한다.

3D Plotter는 일정한 간격을 단위로 X방향, Y방향으로 이동시켜 플로팅하는 방식으로, 생체조직에 적합한 폴리머를 가진 노즐을 이동시키면서 폴리머 라인을 적층하는 형식이다. 그 중에서 바이오조형기는 3차원 쾌속 조형(Rapid Prototyping -RP)기술을 이용하여 생체기관/조직의 이식에 필요한 스캐폴드의 제작에 쓰이는 장비로서 컴퓨터를 이용하여 설계된 3차원 모델을 현실적인 3차원 형상의 제품으로 만들어낸다. 바이오조형기기술은 바이오조형기 장비 제작에만 관계되는 것이 아니라 재료 기술, 스캐폴드 제작에 적합한 CAD 데이터 생성 기술, 후처리 및 가공 기술 등이 함께 연구되며 발전해왔다.

바이오조형기는 3D Plotter의 일종으로 다른 RP 장비와 다르게 유일하게 세포와 바이오 물질을 직접 사용하여 노즐을 통해 3차원 스캐폴드를 바로 제작할 수 있다.

3. SFF 기술을 이용한 스캐폴드 연구개발 동향

MIT의 Sachs연구팀은 3D printing기술을 적용한 제작법을 제안하였는데, 잉크젯프린트 헤드를 통하여 금속 혹은 세라믹 파우더가 혼합된 용액과 아크릴계열의 공중합된 고분자와 콜로이드상의 실리카 바인더를 통하여 스캐폴드를 제작하였으며, 이러한 적층방식(layer-by-layer construction)을 도입하여 3차원 구조를 형성하였다.

미국 Boston Univ.의 R. A, Giordano와 공동연구자들은 녹말가루, 설탕, 고분자 혹은 접착제 등과 혼합된 파우더 혼합액을 프린팅에 적용하였고, PLA를 이용하여 스캐폴드를 3D 프린팅 방식으로 제작하였다.

싱가폴 국립대학의 C. Lam과 공동연구자들은 3차원 구조의 스캐폴드를 제작하기 위하여 천연고분자(녹말가루, 젤라틴, 텍스트란 등의 혼합물)를 사용하여 3차원 프린팅방식을 이용하였다.

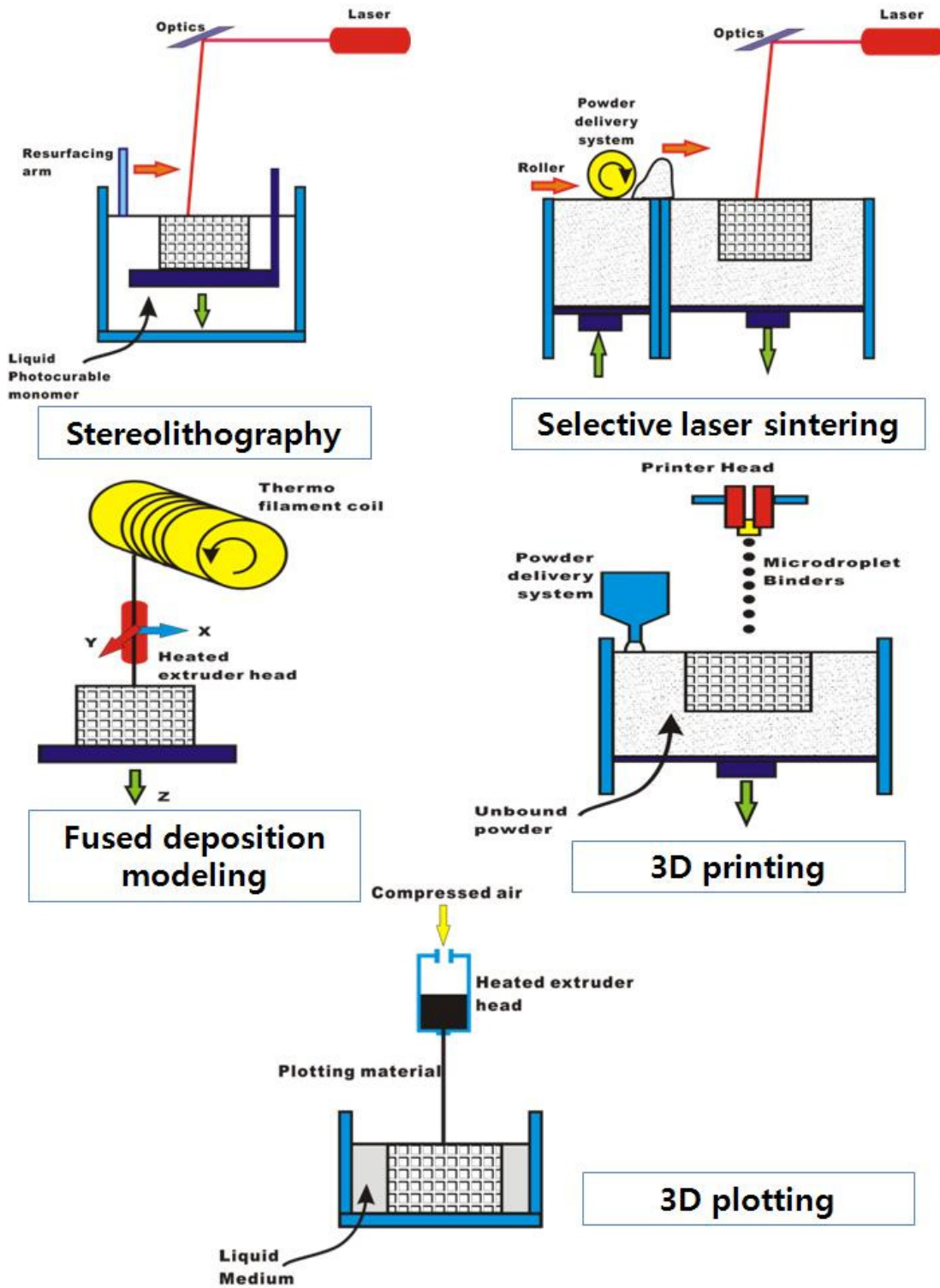


Figure 2. Solid freeform fabrication (SFF) for scaffold fabrication.

영국 맨체스터 대학 Material Science Center의 Brian Derby 연구팀은 콜라겐 스캐폴드를 만들기 위하여 사용된 공정에서 SFF 기술 및 임계점 건조 기술을 사용하여 몰드를 제작하였

다. 제작될 몰드의 CAD 파일이 개발되어지고, 몰드는 위상 변화 (Phase Change) 잉크 제트 프린터를 사용하여 제작되었다. 독일의 Envisiontec사 연구팀에서는 세계 최초의 상용 판매

되는 바이오조형기를 개발하였으며, 이는 조직공학과 약물 전달계의 응용분야를 위해 개발된 3차원 형상 자동배분장치로서, 1999년 독일 프라이버그 재료연구소에서 개발되어 Envisontec사에 의해 상용화되었다.

미국 Drexel Univ.의 Wei Sun 연구팀은 스캐폴드 및 조직공학 분야에서 기계공학 기반으로 가장 활발하게 연구하고 있는 팀 중 하나로서, 관련 세부 기술로는 스캐폴드 제작용 장비기술, 스캐폴드 패턴 설계기술, 스캐폴드 모델링 기술 등이 있다. Extruder를 이용한 스캐폴드 제작을 위해 Fused Deposition Modeling (FDM) 방식과 유사한 Mini Extruder Deposition (MED) 방식을 자체 개발하였다. 스캐폴드 제작 공정은 CAD 모델을 STL 파일로 변환하고, 시스템 초기화 및 공정변수를 설정하여, 온도 및 스테이지 제어를 통해 스캐폴드를 제작하게 된다.

Wei Sun 연구팀의 또 다른 스캐폴드 제작 시스템으로 PCL 재료를 용융시켜서 토출하는 PED와는 달리 바이오폴리머 용액과 세포를 동시에 프린팅할 수 있는 시스템을 개발하였다. 일반적인 SFF 공정은 솔벤트, 고압, 고온, 후처리 공정 등을 사용함으로써 생체 물질에 손상을 줄 수 있으나, 개발되어진 공정은 생체 적합성이 좋고, 실온에서 이루어지며, 저압을 사용함으로써 세포의 손상을 최소화할 수 있다. 생체재료 공급 시스템은 점성이 다른 하이드로겔을 프린팅할 수 있도록 다른 종류와 크기로 된 다중분사 노즐로 구성하였다. 생체재료를 이용한 스캐폴드를 제작하기 위해, CaCl₂ 용액이 한 레이어 두께 만큼 담긴 통에 알긴산(Alginate) 하이드로겔을 프린팅하여 3차원 형상을 만들어냈다.

최근, MUSC (Medical University of South Carolina)의 Bioprinting research center에 있는 Vladimir 연구팀은 Bioprinting 기술을 개발 하였는데, 잉크 카트리지에 세포액들로 가득 채운 다음, 점도, 전기저항과 프린팅 액체의 온도를 조절하는 시스템을 개발하여 3차원 구조를 만들기 위해 Thermo-reversible gel (열-가역 젤)을 사용했으며, 바로 조직이나 장기를 만들어 내기 위해 동맥, 모세관, 정맥의 완전한 네트워크를 프린팅하여 기관을 살리도록 하고 있다.

4. 생체모사용 스캐폴드 개발

국내에서는 한국기계연구원에서 용융 타입의 바이오플로팅 장비를 개발하여 연구가 활발히 진행되어지고 있다. 이러한 장비를 이용하여 사고나 질병에 의해 소실된 인체부위를 원상태의 인체와 유사하게 모사하기 위해 스캐폴드를 제작할 수 있다. CT와 같은 영상시스템을 이용하여 소실부부위의 이미지를 얻어낸 후, 이미지 파일을 이용하여 플로팅 장비에서 생체모사체용 스캐폴드를 만들어낼 수 있다 (Figure 3).

개발되어지고 있는 바이오플로팅 장비는 스캐폴드 제작에 있어 유기용매를 사용하지 않는다는 장점을 가지고 있으며,

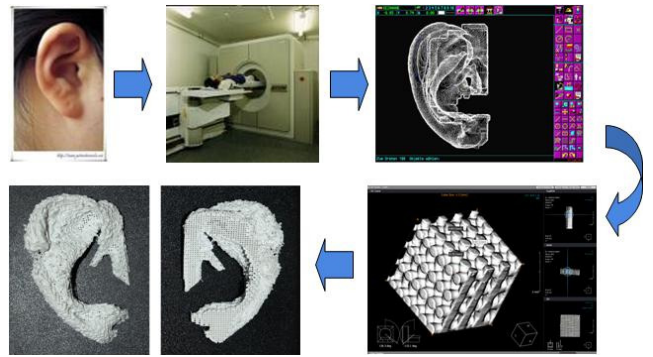


Figure 3. Plotting process for scaffold fabrication.

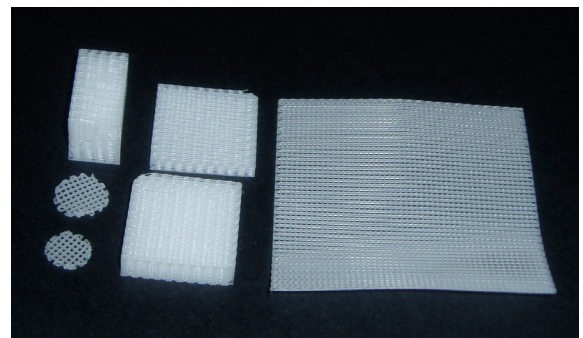


Figure 4. PCL scaffold by bioplotting system.

스캐폴드를 이루는 스트랜드 가닥의 성질을 속도, 압력, 온도에 따라 조절 가능하여 다양한 패턴을 가진 스캐폴드 제작이 가능하다. 또한, 지지체의 형태와 크기를 고려하여 Figure 4와 같이 다양한 용도의 스캐폴드가 제작될 수 있다.

바이오플로팅 시스템에 의해 제작되어진 스캐폴드와 일반적인 스캐폴드 제작방법인 염침출법으로 제작되어진 스캐폴드를 이용하여 세포 배양 실험을 비교한 결과, 플로팅된 스캐폴드가 염침출법 스캐폴드에 비해 스트랜드 간격 사이로 세포가 고루 부착되어 있는 양상을 나타냈다. 또한, 스캐폴드 내부를 관찰한 결과, 플로팅된 스캐폴드의 스트랜드 가닥 사이로 세포의 부착이 관찰되었으나, 염침출법 스캐폴드에는 세포의 침투가 약해 부착정도가 거의 나타나지 않았다. 플로팅된 스캐폴드는 내부연결구조가 우수하여 세포의 침투를 유도하였고, 영양분이나 배지의 공급도 원활하게 제공하였을 것이다 (Figure 5).

이러한 내부연결구조성이 뛰어난 플로팅된 스캐폴드를 이용하여 세포 부착력을 높이기 위해 전기방사법을 이용하여, 플로팅 기법과 전기방사법의 융합공정을 개발하여 초기 세포 부착력을 향상시켰다 (Figure 6).

또한, 세포플로팅 장비를 개발하고자 알지네이트 하이드로겔과 세포를 혼합하여 플로팅함으로써 인공장기와 유사한 스캐폴드를 만들어 내기 위한 연구를 진행중에 있다.

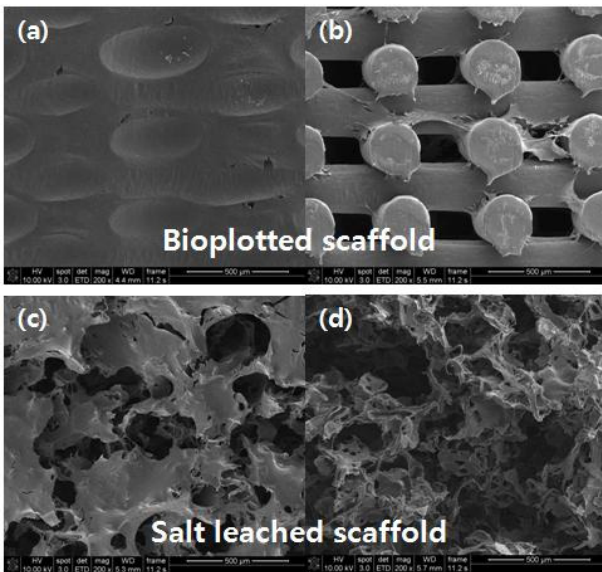


Figure 5. SEM images of chondrocytes on scaffolds (8 weeks), (a) and (c): side views, (b) and (d): sectional views.

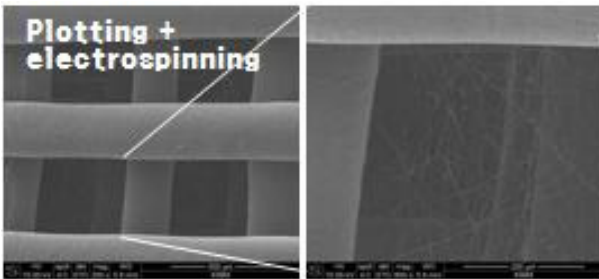


Figure 6. Plotting/spinning process for micro/nano scale-scaffold fabrication.

II. 결 론

조직공학을 위한 지지체의 개발은 생체적합성, 생분해성, 독성, 기계적, 구조적 특성을 고려하여 인체에 적합한 스캐폴드 개발이 진행되어야 한다. 현재, 일반적인 스캐폴드 제작 방법을 이용하여 만들어진 지지체는 다양한 인체 부위의 기계적 구조적 성질을 고려하여 연구되어 지고 있다. SFF기술의 경우, 과거 공업적 활용에 많이 쓰였지만, 스캐폴드 개발과 같이 의학분야, 생명분야에 이용됨으로써 다학제간 연구를 기대할 수 있으며, 고가의 임플란트나 스캐폴드를 대체할 수 있을 것이다.

향후, 세포플로팅 장비를 개발하여 세포와 생체재료를 동시에 제작함으로써 인공장기 개발에 도움을 줄 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. E. Sacholos and J. T. Czernuszka, "Making tissue engineering scaffolds work. Review on the application of solid freeform fabrication technology to the production of tissue engineering scaffolds", *Euro. Cells Mater.*, **5**, 29 (2003).
2. W. E. Teo and S. Ramakrishna, "A review on electrospinning design and nanofibre assemblies", *Nanotechnology*, **17**, R89 (2006).
3. S. A. Park, K. E. Park, H. Yoon, J. G. Son, T. J. Min, and G. H. Kim, "Apparatus for preparing electrospun nanofibers: designing an electrospinning process for nanofiber fabrication", *Polym. Inter.*, **56**, 1361 (2007).
4. S. J. Hollister, "Porous scaffold design for tissue engineering", *Nature Mater.*, **4**, 518 (2005).
5. X. Wang, Y. Yan, and R. Zhang, "Rapid prototyping as a tool for manufacturing bioartificial livers", *TRENDS in Biotech.*, **25**, 505 (2007).
6. N.E. Fedorovich, J. Dewijn, A.J. Verbout, J. Alblas, and W. J. A. Dhert, "Three-Dimensional Fiber Deposition of Cell-Laden, Viable, Patterned Constructs for Bone Tissue Printing", *Tissue Eng.*, **14**, 127 (2008).