(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0002039
(43) 공개일자 2021년01월06일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
B29C 39/26 (2006.01) *A61L 27/24* (2006.01)
A61L 27/38 (2006.01) *A61L 27/60* (2006.01)
B29C 39/00 (2006.01) *B29C 39/02* (2006.01)
B29C 39/12 (2006.01) *C08L 89/00* (2006.01)
C12N 5/071 (2010.01) *C12N 5/077* (2010.01)
B29K 67/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
B29C 39/26 (2013.01)
A61L 27/24 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2020-0078743
(22) 출원일자 2020년06월26일
심사청구일자 없음
(30) 우선권주장
1020190077895 2019년06월28일 대한민국(KR)

(71) 출원인
(주)아모레퍼시픽
서울특별시 용산구 한강대로 100(한강로2가)
울산과학기술원
울산광역시 울주군 언양읍 유니스트길 50
(72) 발명자
민대진
경기도 용인시 기흥구 용구대로 1920 (보라동)
배일홍
경기도 용인시 기흥구 용구대로 1920 (보라동)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
팬코리아특허법인

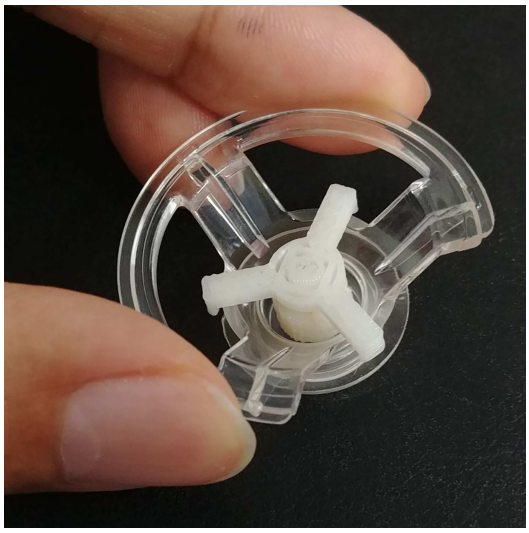
전체 청구항 수 : 총 23 항

(54) 발명의 명칭 **인공피부 주름형성 장치, 이를 이용한 주름진 인공피부 제조방법, 상기 제조방법으로 제조된 주름진 인공피부 및 상기 주름진 인공피부를 이용한 피부 주름 개선 화합물 스크리닝 방법**

(57) 요 약

몰드 고정틀 및 상기 몰드 고정틀에 장착되는 몰드를 포함하고, 상기 몰드는 상기 몰드 고정틀에 장착되는 장착부 및 상기 장착부와 연결된 스탬프를 포함하고, 상기 스탬프는 상기 장착부와 직접 결합된 상면 및 상기 상면과 마주하는 하면을 포함하고, 상기 하면은 하나 이상의 요철부를 포함하는 인공피부 주름형성 장치, 이를 이용한 주름진 인공피부 제조방법, 상기 제조방법으로 제조된 주름진 인공피부 및 상기 주름진 인공피부를 이용한 피부 주름 개선 화합물 스크리닝 방법을 제공한다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A61L 27/3804 (2013.01)
A61L 27/3813 (2013.01)
A61L 27/60 (2013.01)
B29C 39/003 (2013.01)
B29C 39/026 (2013.01)
B29C 39/123 (2020.08)
C08L 89/00 (2013.01)
C12N 5/0629 (2013.01)
B29K 2067/046 (2013.01)

(72) 발명자
손의동
경기도 용인시 기흥구 용구대로 1920(보라동)
이성훈
경기도 용인시 기흥구 용구대로 1920 (보라동)
김형준
경기도 용인시 기흥구 용구대로 1920 (보라동)
박원석
경기도 용인시 기흥구 용구대로 1920(보라동)
정웅규
울산광역시 울주군 언양읍 유니스트길 50
안유진
울산광역시 울주군 언양읍 유니스트길 50

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	HP20C0032
과제번호	1465031434
부처명	보건복지부
과제관리(전문)기관명	한국보건산업진흥원
연구사업명	피부과학 응용소재 · 선도기술개발
연구과제명	피부주름 모사 인공피부를 이용한 항노화평가법 개발
기 여 율	1/1
과제수행기관명	㈜아모레퍼시픽, 울산과학기술원(UNIST)
연구기간	2020.04.01~2022.12.31

명 세 서

청구범위

청구항 1

몰드 고정틀 및 상기 몰드 고정틀에 장착되는 몰드를 포함하고,

상기 몰드는 상기 몰드 고정틀에 장착되는 장착부 및 상기 장착부와 연결된 스탬프를 포함하고,

상기 스탬프는 상기 장착부와 직접 결합된 상면 및 상기 상면과 마주하는 하면을 포함하고,

상기 하면은 하나 이상의 요철부를 포함하는

인공피부 주름형성 장치.

청구항 2

제1항에서,

상기 스탬프는 3㎜ 내지 12㎜의 폭을 가지는 인공피부 주름형성 장치.

청구항 3

제1항에서,

상기 요철부는 삼각형 형상을 가지는 인공피부 주름형성 장치.

청구항 4

제3항에서,

상기 스탬프의 하면은 1개 이상의 삼각형 형상의 요철부를 포함하고, 상기 삼각형 형상의 요철부의 폭 및 길이는 서로 동일한 인공피부 주름형성 장치.

청구항 5

제3항에서,

상기 스탬프의 하면은 1개 이상의 삼각형 형상의 요철부를 포함하고, 상기 삼각형 형상의 요철부의 폭 및 길이는 서로 상이한 인공피부 주름형성 장치.

청구항 6

제3항에서,

상기 스탬프는 하기 수학식 1을 만족시키는 인공피부 주름형성 장치:

[수학식 1]

$(w + h) \times 2 \leq S \leq (w + h) \times 5$

상기 수학식 1에서,

S는 스탬프의 폭이고,

w는 상기 스탬프의 하면에 포함된 요철부의 평균폭이고,

h는 상기 스탬프의 하면에 포함된 요철부의 평균길이이다.

청구항 7

제3항에서,

상기 스탬프의 하면은 1개 이상의 요철부를 포함하면서, 상기 스탬프는 하기 수학식 2를 만족시키는 인공피부 주름형성 장치:

[수학식 2]

$G \times 2 < S$

상기 수학식 2에서,

S는 스탬프의 폭이고,

G는 상기 스탬프의 하면에 포함된 1개 이상의 요철부 간 평균거리이다.

청구항 8

제1항에서,

상기 요철부는 반원 형상을 가지는 인공피부 주름형성 장치.

청구항 9

제8항에서,

상기 스탬프의 하면은 1개 이상의 반원 형상의 요철부를 포함하고, 상기 반원 형상의 요철부의 폭 및 길이는 서로 동일한 인공피부 주름형성 장치.

청구항 10

제8항에서,

상기 스탬프의 하면은 1개 이상의 반원 형상의 요철부를 포함하고, 상기 반원 형상의 요철부의 폭 및 길이는 서로 상이한 인공피부 주름형성 장치.

청구항 11

제8항에서,

상기 스탬프의 하면은 1개 이상의 요철부를 포함하면서, 상기 스탬프는 하기 수학식 3을 만족시키는 인공피부 주름형성 장치:

[수학식 3]

$w \times 24 < S < w \times 45$

상기 수학식 3에서,

S는 스탬프의 폭이고,

w는 상기 스탬프의 하면에 포함된 요철부의 평균폭이다.

청구항 12

제1항에서,

상기 하면은 3개 이상의 요철부를 포함하고,

상기 요철부는 제1 요철부, 제2 요철부 및 제3 요철부로 구성되며,

상기 제1 요철부 및 제3 요철부는 그 폭 및 길이가 서로 동일하고,

상기 제2 요철부의 폭은 상기 제1 요철부의 폭보다 두껍고,

상기 제2 요철부의 길이는 상기 제1 요철부의 길이보다 길고,

상기 제2 요철부는 상기 제1 요철부 및 제3 요철부 사이에 위치하는 인공피부 주름형성 장치.

청구항 13

제1항에서,

상기 인공피부 주름형성 장치는 상기 몰드 고정틀이 견착되는 견착장치를 더 포함하는 인공피부 주름형성 장치.

청구항 14

제1항에서,

상기 몰드 고정틀 및 몰드는 각각 독립적으로 아크릴로니트릴-부타디엔-스티렌(ABS) 수지 또는 폴리락트산(PLA) 수지로 제조되는 인공피부 주름형성 장치.

청구항 15

견착장치에 콜라겐 및 섬유아세포를 포함하는 인공 진피 혼합물을 투입하는 단계;

상기 혼합물이 굳기 전에 상기 인공피부 주름형성 장치의 요철부가 상기 굳지 않은 혼합물에 닿도록 스탬핑하는 단계;

상기 혼합물을 굳혀 주름진 인공 진피층을 형성하는 단계; 및

상기 주름진 인공 진피층 상에 표피층을 형성하는 단계

를 포함하는 주름진 인공피부 제조방법.

청구항 16

제15항에서,

상기 견착장치에 상기 인공 진피 혼합물을 투입하는 단계에서, 상기 인공 진피 혼합물은 400㎕ 내지 800㎕의 부피로 투입되는 주름진 인공피부 제조방법.

청구항 17

제15항에서,

상기 혼합물을 굳혀 주름진 인공 진피층을 형성하는 단계는 상기 스탬핑 후 세포배양용 인큐베이터에서 1시간 내지 5시간 동안 상기 혼합물을 방치하는 단계인 주름진 인공피부 제조방법.

청구항 18

제15항에서,

상기 주름진 인공피부 제조방법은 상기 인공 진피층을 형성하는 단계 이후, 상기 표피층을 형성하기 전에, 상기 인공 진피층 상에 섬유아세포 배양 배지를 넣고 배양하는 단계를 더 포함하는 주름진 인공피부 제조방법.

청구항 19

제15항에서,

상기 표피층을 형성하는 단계는 상기 주름진 인공 진피층 상에 각질형성세포를 시딩(seeding)하고, 이를 각질형성세포 배양 배지에서 배양하는 단계; 및 상기 배양 후, 이를 표피층 생성 배지에서 배양하는 단계를 포함하는 주름진 인공피부 제조방법.

청구항 20

제19항에서,

상기 각질형성세포 배양 배지에서 배양하는 단계는 1일 내지 3일 동안 실시하는 주름진 인공피부 제조방법.

청구항 21

제19항에서,

상기 표피층 생성 배지에서 배양하는 단계는 상기 표피층 생성 배지에서 공기에 노출시키지 않고 배양한 후, 이

를 다시 공기에 노출시켜 배양하는 단계인 주름진 인공피부 제조방법.

청구항 22

제15항의 제조방법으로 제조된 주름진 인공피부.

청구항 23

제22항의 주름진 인공피부에 화합물을 처리하는 단계 및

상기 화합물 처리 후 시간이 지남에 따라 상기 인공피부 내 주름이 없어지는지 여부를 확인하는 단계

를 포함하는 피부 주름 개선 화합물 스크리닝 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 기재는 인공피부 주름형성 장치, 이를 이용한 주름진 인공피부 제조방법, 상기 제조방법으로 제조된 주름진 인공피부 및 상기 주름진 인공피부를 이용한 피부 주름 개선 화합물 스크리닝 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 피부는 신체의 외부를 덮고 있는 기관으로 바깥쪽에서부터 표피, 진피 및 피하지방층의 세 개의 층으로 구성되어 있다. 표피는 중층 편평상피의 각질형성세포가 대부분을 차지하고 있다. 콜라겐 섬유와 탄력 섬유와 같은 기질 단백질로 이루어진 진피는 표피 아래에 위치하며, 진피에는 혈관, 신경, 땀샘 등이 있다. 피하지방층은 지방세포로 구성되어 있다. 피부는 상기와 같은 다양한 세포들과 구성물질들이 상호작용하여 그 형태를 유지하며 체온 조절과 외부 환경에 대한 장벽으로의 기능 등 다양한 기능을 나타낸다.

[0003] 인공피부(artificial skin)는 피부세포와 피부 구성물질인 콜라겐, 엘라스틴 등을 이용하여 3차원적으로 상기와 같은 피부를 재구성한 것으로서, 살아있는 섬유아세포와 각질형성세포로 구성되어 실제 피부와 유사한 구조적, 기능적 특성을 나타내기 때문에 피부 모사체(skin equivalent 또는 reconstructed skin)라고도 불린다. 인공피부는 화상, 외상 등 손상을 입은 피부의 대체(영구생착형) 또는 재생(일시 피복형)을 위해 이용될 뿐만 아니라, 피부 생리연구, 피부 자극 평가, 피부 효능평가 등 다양한 영역에서 이용되고 있다.

[0004] 그러나, 인공피부는 실제피부와 달리 진피층과 표피층 간 경계면(dermal-epidermal junction; DEJ)이 평평한 구조를 가지기에, 인공피부만을 가지고 항노화 실험 등을 진행하는 데 한계가 있었다. 실제피부는 진피층과 표피층 간 경계면이 평평하지 않고 굴곡져있기 때문이다.

[0005] 안타깝게도 아직까지 피부의 굴곡이나 주름을 모사한 인공피부를 제조하는 방법에 대해서는 많은 연구가 활발하게 이루어지지 않고 있으며, 이는 현재 시중에서 판매되고 있는 다양한 주름개선 화장품들이 실제 광고되는 내용에 비해 주름개선 효과가 크게 떨어지는 하나의 원인이 된다.

[0006] 이에 본 발명자들은 오랜 연구 끝에, 현재까지 보고된 적 없는 새로운 주름진 인공피부를 제조할 수 있는 장치를 개발하여, 이를 이용하여 주름진 인공피부를 제조하기에 이르렀으며, 이를 통해 피부주름 개선 물질을 용이하게 스크리닝할 수 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 현재까지의 인공피부 모델의 변형은 주로 세포를 바꾸거나 특정한 물질을 첨가 또는 제거하는 세포생물학적인 방법들에 의존하고 있으며, 이러한 방법들은 인공피부를 구성하는 진피층과 표피층 간 경계면의 구조를 주름지게 변화시키는 것은 아니기에, 현재까지의 인공피부 모델 실험결과를 그대로 실제피부에 적용하기에는 여러 측면에서 한계를 지니고 있다. 일 구현예는 인공피부가 실제피부와 같이 주름을 가지도록 하기 위한 인공피부 주름형성 장치를 제공하기 위한 것이다.

[0008] 다른 일 구현예는 상기 인공피부 주름형성 장치를 이용한 주름진 인공피부 제조방법을 제공하기 위한 것이다.

[0009] 또 다른 일 구현예는 상기 제조방법으로 제조된 주름진 인공피부를 제공하기 위한 것이다.

[0010] 또 다른 일 구현예는 상기 주름진 인공피부를 이용하여 피부주름 개선 화합물을 스크리닝하는 방법을 제공하기 위한 것이다.

과제의 해결 수단

[0011] 일 구현예에 따르면, 몰드 고정틀 및 상기 몰드 고정틀에 장착되는 몰드를 포함하고, 상기 몰드는 상기 몰드 고정틀에 장착되는 장착부 및 상기 장착부와 연결된 스탬프를 포함하고, 상기 스탬프는 상기 장착부와 직접 결합된 상면 및 상기 상면과 마주하는 하면을 포함하고, 상기 하면은 하나 이상의 요철부를 포함하는 인공피부 주름 형성 장치를 제공한다.

[0012] 상기 스탬프는 3㎜ 내지 12㎜의 폭을 가질 수 있다.

[0013] 상기 요철부는 삼각형 형상을 가질 수 있다.

[0014] 상기 스탬프의 하면은 1개 이상의 삼각형 형상의 요철부를 포함하고, 상기 삼각형 형상의 요철부의 폭 및 길이는 서로 동일하거나 상이할 수 있다.

[0015] 상기 삼각형 형상의 요철부를 포함하는 스탬프는 하기 수학식 1을 만족시킬 수 있다.

[0016] [수학식 1]

[0017] $(w + h) \times 2 \leq S \leq (w + h) \times 5$

[0018] 상기 수학식 1에서,

[0019] S는 스탬프의 폭이고,

[0020] w는 상기 스탬프의 하면에 포함된 요철부의 평균폭이고,

[0021] h는 상기 스탬프의 하면에 포함된 요철부의 평균길이이다.

[0022] 상기 스탬프의 하면은 1개 이상의 삼각형 형상의 요철부를 포함하면서, 상기 스탬프는 하기 수학식 2를 만족시킬 수 있다.

[0023] [수학식 2]

[0024] $G \times 2 < S$

[0025] 상기 수학식 2에서,

[0026] S는 스탬프의 폭이고,

[0027] G는 상기 스탬프의 하면에 포함된 1개 이상의 요철부 간 평균거리이다.

[0028] 상기 요철부는 반원 형상을 가질 수 있다.

[0029] 상기 스탬프의 하면은 1개 이상의 반원 형상의 요철부를 포함하고, 상기 반원 형상의 요철부의 폭 및 길이는 서로 동일하거나 상이할 수 있다.

[0030] 상기 스탬프의 하면은 1개 이상의 반원 형상의 요철부를 포함하면서, 상기 스탬프는 하기 수학식 3을 만족시킬 수 있다.

[0031] [수학식 3]

[0032] $w \times 24 < S < w \times 45$

[0033] 상기 수학식 3에서,

[0034] S는 스탬프의 폭이고,

[0035] w는 상기 스탬프의 하면에 포함된 요철부의 평균폭이다.

[0036] 상기 스탬프를 구성하는 하면은 3개 이상의 요철부를 포함하고, 상기 요철부는 제1 요철부, 제2 요철부 및 제3 요철부로 구성되며, 상기 제1 요철부 및 제3 요철부는 그 폭 및 길이가 서로 동일하고, 상기 제2 요철부의 폭은

상기 제1 요철부의 폭보다 두껍고, 상기 제2 요철부의 길이는 상기 제1 요철부의 길이보다 길고, 상기 제2 요철부는 상기 제1 요철부 및 제3 요철부 사이에 위치할 수 있다.

[0037] 상기 인공피부 주름형성 장치는 상기 몰드 고정틀이 견착되는 견착장치를 더 포함할 수 있다.

[0038] 상기 몰드 고정틀 및 몰드는 각각 독립적으로 아크릴로니트릴-부타디엔-스티렌(ABS) 수지 또는 폴리락트산(PLA) 수지로 제조될 수 있다.

[0039] 다른 일 구현예에 따르면, 견착장치에 콜라겐 및 섬유아세포를 포함하는 인공 진피 혼합물을 투입하는 단계; 상기 혼합물이 굳기 전에 상기 인공피부 주름형성 장치의 요철부가 상기 굳지 않은 혼합물에 닿도록 스탬핑하는 단계; 상기 혼합물을 굳혀 주름진 인공 진피층을 형성하는 단계; 및 상기 주름진 인공 진피층 상에 표피층을 형성하는 단계를 포함하는 주름진 인공피부 제조방법을 제공한다.

[0040] 상기 견착장치에 상기 인공 진피 혼합물을 투입하는 단계에서, 상기 인공 진피 혼합물은 400㎕ 내지 800㎕의 부피로 투입될 수 있다.

[0041] 상기 혼합물을 굳혀 주름진 인공 진피층을 형성하는 단계는 상기 스탬핑 후 세포배양용 인큐베이터에서 1시간 내지 5시간 동안 상기 혼합물을 방치하는 단계일 수 있다.

[0042] 상기 인공 진피층을 형성하는 단계 이후, 상기 표피층을 형성하기 전에, 상기 인공 진피층 상에 섬유아세포 배양 배지를 넣고 배양하는 단계를 더 포함할 수 있다.

[0043] 상기 표피층을 형성하는 단계는 상기 주름진 인공 진피층 상에 각질형성세포를 시딩(seeding)하고, 이를 각질형성세포 배양 배지에서 배양하는 단계; 및 상기 배양 후, 이를 표피층 생성 배지에서 배양하는 단계를 포함할 수 있다.

[0044] 상기 주름진 인공 진피층 상에 각질형성세포를 시딩(seeding)한 후에는 이를 각질형성세포 배양 배지에서 배양하는 단계는 1일 내지 3일 동안 실시할 수 있다.

[0045] 상기 표피층 생성 배지에서 배양하는 단계는 상기 표피층 생성 배지에서 공기에 노출시키지 않고 배양한 후, 이를 다시 공기에 노출시켜 배양하는 단계일 수 있다.

[0046] 또 다른 일 구현예에 따르면, 상기 주름진 인공피부 제조방법으로 제조된 주름진 인공피부를 제공한다.

[0047] 또 다른 일 구현예에 따르면, 상기 주름진 인공피부에 화합물을 처리하는 단계 및 상기 화합물 처리 후 시간이 지남에 따라 상기 인공피부 내 주름이 없어지는지 여부를 확인하는 단계를 포함하는 피부 주름 개선 화합물 스크리닝 방법을 제공한다.

발명의 효과

[0048] 일 구현예에 따른 인공피부 주름형성 장치를 이용하면 진피층과 표피층 간 경계면에 주름을 가진 실제피부와 가장 유사한 형태의 주름진 인공피부를 제조할 수 있다. 그리고, 상기 주름진 인공피부는 실제피부와 매우 유사한 형태를 가지기에, 이를 이용하여 피부주름 개선 화합물을 용이하게 스크리닝할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0049] 도 1 및 도 2는 각각 독립적으로 일 구현예에 따른 인공피부 주름형성 장치(견착장치에 견착된 인공피부 주름형성 장치)의 사진이다.

도 3은 일 구현예에 따른 인공피부 주름형성 장치를 구성하는 몰드 고정틀의 사진이다.

도 4는 일 구현예에 따른 인공피부 주름형성 장치(몰드 고정틀 및 이에 장착된 몰드)의 사진이다.

도 5는 견착장치에 주름지지 않은 인공 진피층을 담지한 후, 인공피부 주름형성 장치로 스탬핑하여 인공 진피층에 주름을 형성시키는 모습을 나타낸 사진이다.

도 6, 도 10, 도 16, 도 24 및 도 35는 각각 독립적으로 일 구현예에 따른 인공피부 주름형성 장치를 구성하는 몰드의 스탬프 단면도이다.

도 7은 도 6의 단면을 가지는 스탬프를 포함하는 몰드를 이용하여 제조된 주름진 인공피부(실시예 1) 사진이다.

도 8은 도 7의 붉은색 박스를 확대(x10)한 공초점레이저주사현미경(CLS microscope; confocal laser scanning

microscope) 사진이다.

도 9는 도 6의 단면을 가지는 스탬프를 포함하는 몰드를 이용하여 제조된 주름진 인공피부 단면의 광간섭단층촬영(OCT; Optical Coherence Tomography) 사진이다.

도 11은 도 10의 단면을 가지는 스탬프를 포함하는 몰드를 이용하여 제조된 주름진 인공피부(실시예 2) 사진이다.

도 12는 도 11의 붉은색 박스를 확대(x10)한 공초점레이저주사현미경(CLS microscope; confocal laser scanning microscope) 사진이다.

도 13은 도 10의 단면을 가지는 스탬프를 포함하는 몰드를 이용하여 제조된 주름진 인공피부 단면의 광간섭단층촬영(OCT; Optical Coherence Tomography) 사진이다.

도 14는 진피층과 표피층 간 경계면이 평평한 종래인공피부(비교예 1) 사진이다.

도 15는 도 14의 붉은색 박스를 확대(x10)한 공초점레이저주사현미경(CLS microscope; confocal laser scanning microscope) 사진이다.

도 17은 도 16의 단면을 가지는 스탬프를 포함하는 몰드를 이용하여 제조된 주름진 인공피부(실시예 3) 사진이다.

도 18은 도 16의 단면을 가지는 스탬프를 포함하는 몰드를 이용하여 제조된 주름진 인공피부 단면의 광간섭단층촬영(OCT; Optical Coherence Tomography) 사진이다.

도 19는 도 17의 주름진 인공피부에 주름개선 물질로 잘 알려진 레티노산을 처리한 후의 사진이다.

도 20은 조 19의 단면을 가지는 스탬프를 포함하는 몰드를 이용하여 제조된 주름진 인공피부 단면의 광간섭단층촬영(OCT; Optical Coherence Tomography) 사진이다.

도 21은 실제피부를 H&E 조직 염색한 후의 그 단면을 나타낸 현미경 사진이다.

도 22는 종래 인공피부를 H&E 조직 염색한 후의 그 단면을 나타낸 현미경 사진이다.

도 23은 주름진 인공 진피층을 형성하는 단계를 나타낸 모식도이다.

도 25 내지 도 33은 각각 실시예 4 내지 실시예 12에 따른 주름진 인공피부 사진이다.

도 35는 도 34의 단면을 가지는 스탬프를 포함하는 몰드를 이용하여 제조된 주름진 인공피부에 특정 화합물을 처리하여, 상기 화합물이 피부 주름 개선 효능이 있는지 여부를 스크리닝하는 방법을 나타낸 모식도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0050] 이하, 본 발명의 구현예에 대하여 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있도록 상세히 설명한다. 그러나 본 발명은 여러 가지 상이한 형태로 구현될 수 있으며 여기에서 설명하는 구현예에 한정되지 않는다.

[0051] 본 명세서에서 "인공피부(artificial skin)"라 함은 피부세포와 피부 구성물질인 콜라겐 등을 이용하여 3차원적으로 피부를 재구성한 것을 의미하며, 실제 피부와 유사한 구조적, 기능적 특성을 나타내는 고분자 복합체라면 모두 포함하는 최광의의 의미이다.

[0052] 본 명세서에서 "스탬핑"이라 함은 인공피부 주름형성 장치의 요철부가 인공 진피층 등의 모사층에 닿도록 힘을 가하는 작업을 의미할 수 있으며, 상기 힘을 가한 후 다시 상기 인공피부 주름형성 장치를 제거하는 작업은 포함하지 않을 수 있다.

[0053] 본 명세서에서 층, 막, 영역, 판 등의 부분이 다른 부분 "위에" 있다고 할 때, 이는 다른 부분 "바로 위에" 있는 경우뿐만 아니라 그 중간에 또 다른 부분이 있는 경우도 포함한다. 반대로 어떤 부분이 다른 부분 "바로 위에" 있다고 할 때에는 중간에 다른 부분이 없는 것을 뜻한다.

[0054] 이하 일 구현예에 따른 인공피부 주름형성 장치에 관하여 설명한다.

[0055] 실제피부는 표피층과 진피층 간 경계면이 평평하지 않고 굴곡진 주름을 가지는데(도 21의 붉은색 점선으로 표시된 원 참조), 종래 인공피부는 표피층과 진피층 간 경계면이 평평하여(도 22의 붉은색 화살표 참조), 실제피부

와 종래 인공피부는 그 형태가 상이한 바, 인공피부로 실험한 결과를 그대로 실제피부에 적용시키는 데 무리가 있었다. 실제로 인공피부 실험결과를 통해 피부주름 개선에 효과가 있다고 판단된 대부분의 물질들은 실제로는 피부주름 개선 효과가 크지 않으며, 이는 표피층과 진피층 간 경계면이 평평한 인공피부는 주름을 거의 가지지 않기에, 피부주름 개선 효과를 판단하기에 적절한 모델이 되지 못하기 때문이다.

[0056] 종래 인공피부 모델로는 실제 피부의 주름개선 효과를 용이하게 확인할 수 없다고 하여도 화장품 동물실험 금지법에 따라 동물실험을 실시할 수 있는 것도 아니기에, 현재까지 주름개선 물질에 대한 연구를 하는 연구원들 입장에서는 실제 피부에 대한 주름개선 효과를 용이하게 예측하기 어려운 문제가 있었다.

[0057] 또한, 상기와 같은 문제점을 해결하기 위해 종래 인공피부를 스트레칭함으로써, 종래 인공피부에 주름을 형성시키는 기술이 소개되기도 하였으나, 이는 스트레칭 조건에 따라 주름이 형성되는 모양이 그때마다 달라서, 원하는 형상의 주름진 인공피부를 제조하는 것이 불가했으며, 무엇보다도 스트레칭에 의해서는 종래 인공피부에 주름을 용이하게 형성하는 것이 쉽지 않다는 문제점이 있다.

[0058] 그러나, 일 구현예에 따른 인공피부 주름형성 장치는 스트레칭 방식이 아닌 스탬핑 방식으로 주름을 형성하기에, 이미 제조된 인공피부에 후속작업으로 주름형성을 하는 것이 아니라, 인공피부 제조 초기 단계에서부터 주름을 형성시키는 단계를 실시할 수 있고, 스탬핑되는 모양이나 형태를 얼마든지 용이하게 변경할 수 있기에, 원하는 형태의 주름을 가지는 인공피부를 대량으로 용이하게 생산할 수 있다.

[0059] 일 구현예에 따른 인공피부 주름형성 장치는 몰드 고정틀 및 상기 몰드 고정틀에 장착되는 몰드를 포함하고, 상기 몰드는 상기 몰드 고정틀에 장착되는 장착부 및 상기 장착부와 연결된 스탬프를 포함하고, 상기 스탬프는 상기 장착부와 직접 결합된 상면 및 상기 상면과 마주하는 하면을 포함하고, 상기 하면은 하나 이상의 요철부를 포함한다.

[0060] 도 3은 상기 몰드 고정틀의 사진을 나타낸 것이며, 상기 몰드 고정틀의 가운데 구멍에 몰드의 장착부를 삽입하여(도 4 참조), 몰드와 몰드 고정틀로 구성된 인공피부 주름형성 장치를 제조할 수 있다. 이와 같은 형태를 가진 인공피부 주름형성 장치는 상기 몰드의 장착부을 잡아당기거나 밀어서 높이조절을 할 수 있으며, 상기 장착부를 스탬프 방향으로 밀어줌으로써 인공피부에 주름을 형성시킬 수 있다.

[0061] 보다 구체적으로, 일 구현예에 따른 인공피부 주름형성 장치는 상기 몰드 고정틀이 견착되는 견착장치를 더 포함할 수 있는데(도 1 및 도 2 참조), 이 때 상기 견착장치 내에는 인공피부, 구체적으로 인공 진피층이 담지되어 있을 수 있다. 즉, 상기 견착장치 내에 인공 진피층을 담지시킨 후, 상기 견착장치에 상기 몰드와 몰드 고정틀로 구성된 인공피부 주름형성 장치의 몰드 고정틀을 견착시켜 상기 인공피부 주름형성 장치를 고정시킨 후, 상기 몰드의 장착부를 잡아당기거나 밀어서 높이를 조절한 후, 상기 몰드의 장착부를 인공 진피층이 담지된 방향으로 밀어줌으로써, 인공 진피층 내에 원하는 형태의 주름을 용이하게 형성시킬 수 있다. (도 5 참조) 예컨대, 상기 견착장치로는 corning사에서 판매하는 Transwell® 등을 사용할 수 있으나, 상기 견착장치의 종류가 반드시 이에 한정되는 것은 아니다.

[0062] 예컨대, 상기 스탬프는 3㎜ 내지 12㎜의 폭을 가질 수 있다. 상기 스탬프의 폭이 3㎜ 미만인 경우 상기 스탬프 내에 요철부를 형성시키기가 어려우며, 스탬핑 시 스탬프 주변으로 인공 진피 혼합물을 구성하는 콜라겐이 삐져나오는 현상이 발생할 수 있어 바람직하지 않으며, 상기 스탬프의 폭이 12㎜ 초과인 경우 견착장치 내부로 스탬프가 수월하게 삽입되지 않아 원하는 높이에서 스탬핑이 안되고, 이는 인공 진피층 내에 미세한 주름을 형성시키기 어렵게 하여 바람직하지 않을 수 있다.

[0063] 예컨대, 상기 요철부는 다양한 형상, 예컨대 삼각형, 사각형, 오각형, 육각형 등의 다각형 또는 반원 형상을 가질 수 있으며, 상기 다양한 형상을 가지는 요철부가 2개 이상 상기 스탬프의 하면에 포함될 경우, 상기 요철부는 서로 동일한 폭과 길이를 가질 수도 있고, 서로 상이한 폭과 길이를 가질 수도 있다.

[0064] 한편, 상기 요철부의 모양에 따라 상기 스탬프의 하면에 포함되는 요철부가 특정 파라미터를 만족시켜야 인공 진피층 상에 주름을 용이하게 형성시킬 수 있다.

[0065] 구체적으로, 상기 요철부가 삼각형 형상을 가질 경우, 상기 스탬프는 하기 수학식 1을 만족시킬 수 있다.

[0066] [수학식 1]

[0067] $(w + h) \times 2 \leq S \leq (w + h) \times 5$

[0068] 상기 수학식 1에서,

[0069] S는 스탬프의 폭이고,

[0070] w는 상기 스탬프의 하면에 포함된 요철부의 평균폭이고,

[0071] h는 상기 스탬프의 하면에 포함된 요철부의 평균길이이다.

[0072] 보다 구체적으로, 상기 요철부가 삼각형 형상을 가지면서, 상기 스탬프의 폭(S)이 10㎛ 이상, 예컨대 10㎛ 내지 12㎛일 경우, 상기 스탬프는 하기 수학식 1-1을 만족시킬 수 있다.

[0073] [수학식 1-1]

[0074] $(w + h) \times 2.2 \leq S \leq (w + h) \times 4$

[0075] 상기 수학식 1-1에서,

[0076] S는 스탬프의 폭이고,

[0077] w는 상기 스탬프의 하면에 포함된 요철부의 평균폭이고,

[0078] h는 상기 스탬프의 하면에 포함된 요철부의 평균길이이다.

[0079] 삼각형 형상의 요철부를 포함하는 스탬프가 상기 수학식 1을 만족시킬 경우 또는 삼각형 형상의 요철부를 포함하고 10㎛ 이상의 폭을 가지는 스탬프가 상기 수학식 1-1을 만족시킬 경우, 상기 스탬프는 용이하게 인공 진피층 상에 주름을 형성시킬 수 있을 뿐만 아니라, 미세한 주름 형상까지 재현할 수 있다.

[0080] 또한, 상기 요철부가 삼각형 형상을 가질 경우, 상기 스탬프는 하면에 1개 이상, 예컨대 2개 이상의 요철부를 포함하면서, 동시에 하기 수학식 2를 만족시킬 수 있다.

[0081] [수학식 2]

[0082] $G \times 2 < S$

[0083] 상기 수학식 2에서,

[0084] S는 스탬프의 폭이고,

[0085] G는 상기 스탬프의 하면에 포함된 1개 이상, 예컨대 2개 이상의 요철부 간 평균거리이다.

[0086] 삼각형 형상의 요철부를 포함하는 스탬프가 상기 수학식 2를 만족키실 경우, 상기 스탬프는 여러 개의 요철부를 포함할 수 있어, 보다 다양한 형태의 주름 형상을 인공 진피층 상에 형성시킬 수 있다.

[0087] 한편, 상기 요철부가 삼각형 형상이 아닌 반원 형상을 가질 경우, 상기 스탬프는 하면에 1개 이상, 예컨대 2개 이상의 반원 형상의 요철부를 포함하면서, 동시에 하기 수학식 3을 만족시킬 수 있다.

[0088] [수학식 3]

[0089] $w \times 24 < S < w \times 45$

[0090] 상기 수학식 3에서,

[0091] S는 스탬프의 폭이고,

[0092] w는 상기 스탬프의 하면에 포함된 요철부의 평균폭이다.

[0093] 요철부가 삼각형과 같은 다각형 형상이 아닌 둥근 반원 형상일 경우 상기 스탬프는 여러 개의 요철부를 하면에 포함하는 것이 인공 진피층에 주름을 형성하기가 용이할 수 있다. 예컨대, 상기 스탬프의 폭과 반원 형상의 요철부의 평균폭 간 관계가 상기 수학식 3을 만족시키는 경우, 요철부가 다각형 형상인 경우와 동등한 수준으로 미세하면서도 다양한 주름을 인공 진피층에 재현시킬 수 있다.

[0094] 예컨대, 상기 스탬프를 구성하는 하면은 3개 이상의 요철부를 포함하고, 상기 요철부는 제1 요철부, 제2 요철부 및 제3 요철부로 구성되며, 상기 제1 요철부 및 제3 요철부는 그 폭 및 길이가 서로 동일하고, 상기 제2 요철부의 폭은 상기 제1 요철부의 폭보다 두껍고, 상기 제2 요철부의 길이는 상기 제1 요철부의 길이보다 길고, 상기 제2 요철부는 상기 제1 요철부 및 제3 요철부 사이에 위치할 수 있다(도 35 참조). 이 경우, 실제 인간피부와 매우 유사한 형태의 주름을 인공피부에 형성시킬 수 있으며, 상기 제1 요철부, 제2 요철부 및 제3 요철부를 포함하는 하면을 가지는 스탬프를 가지는 인공피부 주름형성 장치를 이용하여 제조된 주름진 인공피부에 피부 주

름 개선 화합물을 처리하였을 때, 제1 요철부 및 제3 요철부에 의해 형성된 주름을 없어지고, 제2 요철부에 의해 형성된 주름만이 남아있게 되는 바, 피부 주름 개선 화합물을 스크리닝하는데 매우 유용할 수 있다(도 36 참조). 구체적으로, 피부 주름 개선 효능이 있는 화합물로 '상기 제1 요철부, 제2 요철부 및 제3 요철부를 포함하는 하면을 가지는 스탬프를 가지는 인공피부 주름형성 장치를 이용하여 제조된 주름진 인공피부'를 처리할 경우, 상기 제1 요철부 및 제3 요철부에 의해 형성된 주름은 그 패임이 깊이 않아 쉽게 복원(주름 펴짐)되나, 제2 요철부에 의해 형성된 주름은 그 패임이 깊어 쉽게 복원되지 않을 것인 바, 제1 요철부 및 제3 요철부에 의해 형성된 주름의 복원 정도와 제2 요철부에 의해 형성된 주름의 복원 정도를 비교함으로써, 처리된 특정 화합물이 피부 주름 개선 효능을 가지는지 여부를 쉽게 스크리닝할 수 있다.

[0095] 예컨대, 상기 몰드 고정틀 및 몰드는 각각 독립적으로 아크릴로니트릴-부타디엔-스티렌(ABS) 수지 또는 폴리락트산(PLA) 수지로 제조될 수 있다. 상기 몰드 고정틀 및 몰드가 상기 종류의 수지로 제조되는 경우 인공 진피층에 직접 닿는 경우에도 인공 진피층을 오염시키지 않으면서 미세한 주름까지 재현하는 것이 용이할 수 있다. 나아가, 상기 종류의 수지는 3D 프린터로도 제조가 가능한 소재로서, 일 구현예에 따른 인공피부 주름형성 장치를 저렴한 가격으로 대량 생산하는 것이 가능할 수 있다.

[0096] 다른 일 구현예에 따른 주름진 인공피부 제조방법은 견착장치에 콜라겐 및 섬유아세포를 포함하는 인공 진피 혼합물을 투입하는 단계; 상기 혼합물이 굳기 전에 상기 인공피부 주름형성 장치의 요철부가 상기 굳지 않은 혼합물에 닿도록 스탬핑하는 단계; 상기 혼합물을 굳혀 주름진 인공 진피층을 형성하는 단계; 및 상기 주름진 인공 진피층 상에 표피층을 형성하는 단계를 포함한다.

[0097] 진피층(dermis)은 연결 조직으로 이루어진 표피 밑의 피부 층으로, 완충작용을 하여 신체를 압력과 장력(stress and strain)으로부터 보호한다. 진피층은 기저막(basement membrane)을 통해 표피와 단단히 연결되어 있다. 진피층은 그 구조에 내재해 있는 혈관, 신경 등의 다양한 부속물들을 지지해주는 기질을 공급한다.

[0098] 상기 인공 진피층은 실제 피부와의 인체 상관성의 관점에서 섬유아세포 및 콜라겐을 혼합한 재료를 사용하여 형성할 수 있다. 상기 인공 진피층은 1층 또는 2층 이상으로 구성할 수 있으며, 예컨대 포함할 수 있으며, 콜라겐을 함유하는 제1 진피층 및 섬유아세포를 함유하는 제2 진피층으로 나누어 구성될 수도 있고, 콜라겐 및 섬유아세포를 함유하는 단일의 진피 모사층으로 구성될 수도 있다. 이 경우 인공피부의 진피 수축 현상을 더 완화할 수 있다.

[0099] 상기 제1 진피층은 콜라겐을 함유할 수 있으며, 엘라스틴(Elastin), 키토산(Chitosan), 글리코사미노글루칸(GAGs; glycosaminoglycans), 히알루론산(HA; hyaluronic acid)과 같은 진피를 구성하는 세포외기질(extracellular matrix)을 더 함유할 수 있다.

[0100] 상기 제2 진피층은 상기 제1 진피층의 상부에 위치할 수 있으며, 섬유아세포를 함유하고, 엘라스틴(Elastin), 키토산(Chitosan), 글리코사미노글루칸(GAGs; glycosaminoglycans), 히알루론산(HA; hyaluronic acid)과 같은 진피를 구성하는 세포외기질(extracellular matrix)을 더 함유할 수 있다.

[0101] 상기 단일의 인공 진피층은 콜라겐 및 섬유아세포를 함유할 수 있으며, 상기 콜라겐 및 섬유아세포는 전술한 바와 같다.

[0102] 사용되는 콜라겐은 소 기원, 레트 꼬리로부터 또는 어류로부터, 또는 천연 콜라겐 또는 유전 공학에 의해 생성된 콜라겐 중 임의의 다른 기원의 콜라겐일 수 있는데, 이는 섬유아세포의 존재 하에서 수축할 수 있다.

[0103] 인공 진피층의 두께는 일반적으로 0.05 cm 이상, 특히 대략 0.05 cm 내지 2 cm 이지만, 본 발명에 따른 인공피부의 유리한 특성에 손상을 주지 않는 한 증가 또는 감소될 수 있다.

[0104] 상기 견착장치에 상기 인공 진피 혼합물을 투입하는 단계에서, 상기 인공 진피 혼합물은 400㎕ 내지 800㎕의 부피로 투입될 수 있다. 상기 인공 진피 혼합물을 상기 부피 범위로 투입하여야 인공 진피층 내에 스탬핑된 주름이 견고하게 생성될 수 있다.

[0105] 상기 콜라겐 및 섬유아세포를 포함하는 인공 진피 혼합물을 견착장치에 투입하면 시간이 지남에 따라 상기 인공 진피 혼합물이 굳게 되는데(gelation), 상기 혼합물이 굳기 전에 바로 스탬핑하여 주름을 형성시켜야 한다. 이후, 상기 혼합물을 굳혀 주름진 인공 진피층을 형성하게 된다. 예컨대, 상기 스탬핑 후 세포배양용 인큐베이터(37℃, 5% CO_2)에서 1시간 내지 5시간 동안 상기 스탬핑된 혼합물을 방치함으로써, 상기 혼합물을 굳혀 주름진 인공 진피층을 형성할 수 있다. 구체적으로, 상기 스탬핑된 혼합물이라 함은, 스탬프가 상기 혼합물 내에 스탬핑되어 있는 상태의 혼합물(주름형성 장치의 요철부가 상기 혼합물에 닿아 있는 상태의 혼합물)을 의미할 수 있

다. 상기 스탬핑된 혼합물이 굳어 겔화가 완료되면, 상기 주름형성 장치를 제거함으로써 주름진 인공 진피층을 얻을 수 있다.

[0106] 상기 인공 진피층을 형성하는 단계 이후, 상기 표피층을 형성하기 전에, 상기 인공 진피층 상에 섬유아세포 배양 배지(M106, Gibco)를 넣고 배양, 예컨대 약 5일 내지 9일, 약 6일 내지 약 8일, 또는 약 7일 정도 배양하는 단계를 더 포함할 수 있다. 상기 표피층을 형성하기 전에, 상기 인공 진피층 상에 섬유아세포 배양 배지를 넣고 배양함으로써, 인공 진피층을 더욱 안정화시킬 수 있다.

[0107] 상기와 같이 인공 진피층이 형성되면 그 위에 각질형성세포를 적용한 후 배양하는 단계를 거친다. 즉, 상기 인공 진피층 위에 각질형성세포를 얹고 배양함으로써 상기 인공 진피층 위에 인공 표피층을 형성하게 된다. 상기 각질형성세포(keratinocyte)는 표피층 세포의 약 80% 내지 90%를 구성하며 표피층의 가장 깊은 층인 기저층에서의 유사분열을 통해 형성된 후 피부 표면을 향해 상층으로 올라온다.

[0108] 여기서 사용되는 각질형성세포는 예컨대 인간으로부터 유래한 각질형성세포일 수 있다. 상기 각질형성세포는 상용되는 어떠한 각질세포라도 사용될 수 있으며, 인간으로부터 직접 분리 또는 분리된 후 배양된 각질형성세포뿐만 아니라 다른 세포로부터 유도된 각질형성세포도 사용 가능하다. 상업적으로 입수 가능한 인간 각질형성세포로는 Lonza 에서 제공하는 NHEK-Neo, Pooled(Neonatal Normal Human Epidermal Keratinocytes, Pooled: 제품번호 00192906, 조직 취득 번호 P867, 백인들), NHEK-Neo(제품번호 00192907, 조직 취득 번호: 20647, 백인), NHEK-Adult(제품번호 00192627, 조직 취득 번호: 21155, 백인), NHEK-Neo(제품번호 00192907, 조직 취득 번호: 18080, 흑인)를 들 수 있다. 그리고 Thermo Fisher에서 제공하는 HEKn (Human Epidermal keratinocytes, neonatal: 제품번호 C0015C, 조직 취득 번호 1781129, 백인), HEKn(제품번호 C0015C, 조직 취득 번호 1803827, 흑인)을 들 수 있다. 각질형성세포가 기저막(base membrane)에 붙어서 증식하는 성질을 유지하기 위해서, 디쉬는 0.1% 내지 0.2% 젤라틴 혹은 0.1 mg/ml 내지 0.2 mg/ml 콜라겐 타입 IV으로 코팅해서 사용하는 것이 바람직하다. 상기 세포는 35℃ 내지 37℃, 5% 내지 10% CO_2 인큐베이터에서 배양될 수 있으며 약 70% 내지 80% 의 밀도가 되었을 때 계대 배양을 할 수 있다.

[0109] 상기 각질형성세포는 예컨대 시딩(seeding)에 의해 상기 인공 진피층 위에 적용될 수 있으며, 배양 기간은 예컨대 1일 내지 4일, 1일 내지 3일, 또는 1일 내지 2일일 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다.

[0110] 상기 각질형성세포의 적용 및 배양 단계를 거친 후 인공 표피층 생성 배지에서 배양하는 단계를 거친다.

[0111] 여기서, "인공 표피층 생성 배지"는 인공피부에서 인공 표피층을 생성하기 위한 배지를 의미하며, 이는 당업계에 공지된 어떤 배지라도 사용될 수 있다. 예컨대, 상기 인공 표피층 생성 배지는 소 뇌하수체 추출물(Bovine Pitutary Extract, BPE), 인간의 상피성장인자(human epidermal growth factor, hEGF), 소의 인슐린(bovine Insulin), 하이드로코티손(Hydrocortisone), 및 젠타마이신 및 암포테리신-B(GA-1000 (Gentamicin, Amphotericin-B))을 포함하는 배지일 수 있다. 또한, 상기 성분에 에피네프린(Epinephrine) 및 트랜스페린(Transferrin)이 더 포함된 배지일 수도 있다. 상기 배지의 상업적 입수 가능한 예로서 CnT-3D-PR (CellnTEC 사)를 들 수 있다.

[0112] 예컨대, 상기 표피층을 형성하는 단계는 상기 주름진 인공 진피층 상에 각질형성세포를 시딩(seeding)하고, 이를 각질형성세포 배양 배지에서 배양하는 단계; 및 상기 배양 후, 이를 표피층 생성 배지에서 배양하는 단계를 포함할 수 있다.

[0113] 상기 주름진 인공 진피층 상에 각질형성세포를 시딩(seeding)한 후에는 이를 각질형성세포 배양 배지(EpiLife, Gibco)에서 배양하는 단계는 1일 내지 3일 동안 실시할 수 있다.

[0114] 상기 표피층 생성 배지에서 배양하는 단계는 상기 표피층 생성 배지(CnT-3D-PR, CellnTEC)에서 1일 내지 2일 동안 공기에 노출시키지 않고 배양한 후, 이를 다시 공기에 노출시켜 13일 내지 15일 동안 배양하는 단계일 수 있다. 상기와 같이 인공 진피층 형성 단계를 공기에 노출된 상태에서 진행할 경우, 이미 주름이 형성된 인공 진피층 상에 어떠한 형태 변화를 일으키지 않으면서 인공 표피층이 잘 형성될 수 있다. 또한, 상기 표피층 배양 과정에서 자연스러운 조직 수축이 발생되어, 실제 피부와 매우 유사한 주름을 가지는 인공피부의 제조가 가능할 수 있다.

[0115] 즉, 일 구현예에 따른 인공피부 주름형성 장치를 사용하여 주름진 인공피부를 제조하기 위해서는, 전술한 인공피부 주름형성 장치를 구성하는 스탬프 하면에 포함된 요철부의 모양 및 상기 모양에 따른 특정 파라미터 충족 여부, 인공 진피층의 담지 부피량(또는 콜라겐 담지 부피량) 및 인공 표피층 형성 시 공기 중에 노출시켜 배양

하는지 여부에 따라 주름진 인공피부가 원하는 형태로 잘 제조가 될 수 있다. 즉, 단순히 인공피부 주름형성 장치를 구성하는 스탬프의 모양만이 중요한 게 아니라, 상기 스탬프의 모양과 함께 인공 진피층 담지 부피량과 인공 표피층 형성 조건 등도 최종적으로 제조되는 주름진 인공피부의 형태에 중요한 영향을 끼칠 수 있다.

[0116] 또 다른 구현예에 따르면, 전술한 주름진 인공피부 제조방법으로 제조된 주름진 인공피부를 제공한다.

[0117] 또 다른 일 구현예에 따르면, 전술한 주름진 인공피부를 이용한 피부 주름 개선용 화합물의 스크리닝 방법을 제공한다. 예컨대, 상기 피부 주름 개선 화합물 스크리닝 방법은 주름진 인공피부에 화합물을 처리하는 단계 및 상기 화합물 처리 후 시간이 지남에 따라 상기 인공피부 내 주름이 없어지는지 여부를 확인하는 단계를 포함한다.

[0119] 이하 실시예를 통하여 상술한 본 발명의 구현예를 보다 상세하게 설명한다. 다만 하기의 실시예는 단지 설명의 목적을 위한 것이며 본 발명의 범위를 제한하는 것은 아니다.

[0121] **인공피부 주름형성 장치 제조**

[0122] 제조예 1

[0123] ABS 수지를 3D 프린터로 성형(Printed by Fortus 250mc, Stratasys)하여, 도 6에 기재된 그림과 동일한 구조를 가지는 스탬프를 포함하는 인공피부 주름형성 장치를 제조하였다.

[0124] 제조예 2

[0125] ABS 수지를 3D 프린터로 성형(Printed by Fortus 250mc, Stratasys)하여, 도 10에 기재된 그림과 동일한 구조를 가지는 스탬프를 포함하는 인공피부 주름형성 장치를 제조하였다.

[0126] 제조예 3

[0127] ABS 수지를 3D 프린터로 성형(Printed by Fortus 250mc, Stratasys)하여, 도 16에 기재된 그림과 동일한 구조를 가지는 스탬프를 포함하는 인공피부 주름형성 장치를 제조하였다.

[0128] 제조예 1 내지 제조예 3에 따른 인공피부 주름형성 장치를 구성하는 스탬프의 형상은 하기 표 1과 같다.

표 1

[0129] (단위: mm)

	제조예 1	제조예 2	제조예 3
스탬프의 폭(S)	10	10	12
요철부의 평균폭(w)	1	2	1
요철부의 평균길이(h)	2.325	2.5	3
요철부 간 평균거리(G)	0	0	2

[0130] 제조예 4

[0131] ABS 수지를 3D 프린터로 성형(Printed by Fortus 250mc, Stratasys)하여, 하기 표 2 및 도 24에 기재된 그림과 동일한 구조를 가지는 스탬프를 포함하는 인공피부 주름형성 장치를 제조하였다.

[0132] 제조예 5 내지 제조예 12

[0133] 인공피부 주름형성 장치를 구성하는 스탬프 형상을 하기 표 2 내지 표 4에 기재된 수치대로 한 것을 제외하고는 제조예 4와 동일하게 하여 인공피부 주름형성 장치를 제조하였다.

표 2

[0134] (단위: mm)

	제조예 4	제조예 5	제조예 6
스탬프의 폭(S)	6	8	7

요철부의 평균폭(w)	0.25	0.25	0.25
요철부의 평균길이(h)	1	2	3
요철부 간 평균거리(G)	0	0	0

표 3

[0135] (단위: ㎜)

	제조예 7	제조예 8	제조예 9
스탬프의 폭(S)	3	8	7
요철부의 평균폭(w)	0.5	0.5	0.5
요철부의 평균길이(h)	1	2	3
요철부 간 평균거리(G)	0	0	0

표 4

[0136] (단위: ㎜)

	제조예 10	제조예 11	제조예 12
스탬프의 폭(S)	8	8	8
요철부의 평균폭(w)	1	1	1
요철부의 평균길이(h)	1	2	3
요철부 간 평균거리(G)	0	0	0

[0137] **주름진 인공피부 제조**

[0138] 실시예 1

[0139] Transwell® (Corning사)에 콜라겐(Nutragen, Advanced Biomatrix사) 및 섬유아세포(NDFn, ThermoFisher사)의 혼합물을 600㎕ 부피량으로 담지한 후, 제조예 1의 인공피부 주름형성 장치를 상기 Transwell® (Corning)에 견착시킨 후, 상기 인공피부 주름형성 장치를 구성하는 스탬프가 상기 인공 진피층에 닿도록 스탬핑하였다. 세포 배양용 37℃, 5% CO_2 인큐베이터에서 상기 스탬프가 혼합물에 닿아 있는 상태 그대로 2시간 동안 방치하여 상기 혼합물을 굳힌 후(겔화), 상기 인공피부 주름형성 장치를 제거하여 주름진 인공 진피층을 제조하였다. 이 후, 상기 인공 진피층 상에 섬유아세포 배양 배지(M106, Gibco)를 넣고 7일 간 배양하여 인공 진피층을 안정화시켰다. 다음으로, 상기 인공 진피층 상에 각질형성세포(HEKn, ThermoFisher사)를 시딩(seeding)하고, 각질형성세포 배양 배지(EpiLife, Gibco)에서 1일 간 배양한 후, 표피층 생성 배지(CnT-3D-PR, (CellnTEC)에서 1일 간 배양하고, 이어서 동일한 표피층 생성 배지에서 14일 간 공기 중에서 노출시킨 상태로 배양하여 인공 표피층을 형성함으로써, 주름진 인공피부를 제조하였고, 이를 도 7에 나타내었다.

[0140] 실시예 2

[0141] 제조예 1의 인공피부 주름형성 장치 대신 제조예 2의 인공피부 주름형성 장치를 사용한 것을 제외하고는, 실시예 1과 동일하게 하여, 주름진 인공피부를 제조하였고, 이를 도 11에 나타내었다.

[0142] 실시예 3

[0143] 제조예 1의 인공피부 주름형성 장치 대신 제조예 3의 인공피부 주름형성 장치를 사용한 것을 제외하고는, 실시예 1과 동일하게 하여, 주름진 인공피부를 제조하였고, 이를 도 17에 나타내었다.

[0144] 실시예 4

[0145] Transwell® (Corning사)에 콜라겐(Nutragen, Advanced Biomatrix사) 및 섬유아세포(NDFn, ThermoFisher사)의 혼합물을 600㎕ 부피량으로 담지한 후, 제조예 4의 인공피부 주름형성 장치를 상기 Transwell® (Corning)에 견착시킨 후, 상기 인공피부 주름형성 장치를 구성하는 스탬프가 상기 인공 진피층에 닿도록 스탬핑하였다. 세포 배양용 37℃, 5% CO_2 인큐베이터에서 상기 스탬프가 혼합물에 닿아 있는 상태 그대로 2시간 동안 방치하여 상기

혼합물을 굳힌 후(겔화), 상기 인공피부 주름형성 장치를 제거하여 주름진 인공 진피층을 제조하였다. 이 후, 상기 인공 진피층 상에 섬유아세포 배양 배지(M106,Gibco)를 넣고 7일 간 배양하여 인공 진피층을 안정화시켜, 주름진 인공피부 진피층을 제조하였고, 이를 도 25에 나타내었다.

[0146] 실시예 5

[0147] 제조예 4의 인공피부 주름형성 장치 대신 제조예 5의 인공피부 주름형성 장치를 사용한 것을 제외하고는, 실시예 4와 동일하게 하여, 주름진 인공피부 진피층을 제조하였고, 이를 도 26에 나타내었다.

[0148] 실시예 6

[0149] 제조예 4의 인공피부 주름형성 장치 대신 제조예 6의 인공피부 주름형성 장치를 사용한 것을 제외하고는, 실시예 4와 동일하게 하여, 주름진 인공피부 진피층을 제조하였고, 이를 도 27에 나타내었다.

[0150] 실시예 7

[0151] 제조예 4의 인공피부 주름형성 장치 대신 제조예 7의 인공피부 주름형성 장치를 사용한 것을 제외하고는, 실시예 4와 동일하게 하여, 주름진 인공피부 진피층을 제조하였고, 이를 도 28에 나타내었다.

[0152] 실시예 8

[0153] 제조예 4의 인공피부 주름형성 장치 대신 제조예 8의 인공피부 주름형성 장치를 사용한 것을 제외하고는, 실시예 4와 동일하게 하여, 주름진 인공피부 진피층을 제조하였고, 이를 도 29에 나타내었다.

[0154] 실시예 9

[0155] 제조예 4의 인공피부 주름형성 장치 대신 제조예 9의 인공피부 주름형성 장치를 사용한 것을 제외하고는, 실시예 4와 동일하게 하여, 주름진 인공피부 진피층을 제조하였고, 이를 도 30에 나타내었다.

[0156] 실시예 10

[0157] 제조예 4의 인공피부 주름형성 장치 대신 제조예 10의 인공피부 주름형성 장치를 사용한 것을 제외하고는, 실시예 4와 동일하게 하여, 주름진 인공피부 진피층을 제조하였고, 이를 도 31에 나타내었다.

[0158] 실시예 11

[0159] 제조예 4의 인공피부 주름형성 장치 대신 제조예 11의 인공피부 주름형성 장치를 사용한 것을 제외하고는, 실시예 4와 동일하게 하여, 주름진 인공피부 진피층을 제조하였고, 이를 도 32에 나타내었다.

[0160] 실시예 12

[0161] 제조예 4의 인공피부 주름형성 장치 대신 제조예 12의 인공피부 주름형성 장치를 사용한 것을 제외하고는, 실시예 4와 동일하게 하여, 주름진 인공피부 진피층을 제조하였고, 이를 도 33에 나타내었다.

[0162] 비교예 1

[0163] 인공피부 주름형성 장치를 사용하지 않은 것을 제외하고는, 실시예 1과 동일하게 하여, 주름지지 않은 인공피부를 제조하였고, 이를 도 14에 나타내었다.

[0165] **평가 1-1: 육안을 통한 주름여부 확인**

[0166] 실시예 1 내지 실시예 12 및 비교예 1의 인공피부(또는 인공피부 진피층)에 주름이 형성되었는지 여부를 육안으로 확인하였다(도 7, 도 11, 도 14, 도 17 및 도 25 내지 도 33 참조). 이로부터, 실시예 1 내지 실시예 12의 인공피부(또는 인공피부 진피층)는 비교예 1의 인공피부에 비해 패임이 발생된 것을 알 수 있으며, 따라서 일 구현예에 따른 인공피부 주름형성 장치를 이용하여 주름진 인공피부(또는 인공피부 진피층)를 얻을 수 있음을 확인할 수 있다. 구체적으로, 일 구현예에 따른 인공피부 주름형성 장치를 구성하는 스탬프의 폭, 상기 스탬프의 하면에 포함된 요철부의 폭 및 길이에 따라 실제 인간피부와 유사한 주름진 인공피부를 구현할 수 있는지 여부가 결정됨을 유추할 수 있다. 보다 구체적으로, 상기 수학식 1을 만족시키는 스탬프를 하면에 포함하는 인공피부 주름형성 장치는 상기 수학식 1을 불만족시키는 스탬프를 하면에 포함하는 인공피부 주름형성 장치에 비해 실제 인간피부와 유사한 주름진 인공피부의 구현이 보다 용이함을 알 수 있다. 실시예 4 및 실시예 7의 경우 인공피부에 패임이 발생하기는 하나 그 정도가 미미하여 실제 인간피부에 존재하는 주름처럼 보이지 않고, 실시예

6, 실시예 9 및 실시예 12는 패임이 너무 깊어 실제 인간피부에 존재하는 주름처럼 보이지 않음을 알 수 있다.

[0168] **평가 1-2: OCT 단면 이미지를 통한 주름여부 확인**

[0169] 실시예 1, 실시예 2 및 비교예 1의 인공피부를 공초점레이저주사현미경(CLS microscope; confocal laser scanning microscope; LSM 710, Zeiss)를 사용하여 이미지를 촬영하여 그 결과를 하기 도 8, 도 12 및 도 15에 나타내었다. 또한, 실시예 1 내지 실시예 3의 인공피부를 광간섭단층촬영(OCT; Optical Coherence Tomography)하여 OCT 단면 이미지를 얻었고, 그 결과를 하기 도 9, 도 13 및 도 18에 나타내었다.

[0170] 상기 도 8, 도 9, 도 12, 도 13, 도 15 및 도 18로부터, 실시예 1 내지 실시예 3의 인공피부는 주름이 형성되어 있음을 확인할 수 있으나, 비교예 1의 인공피부는 주름이 형성되어 있지 않음을 확인할 수 있다.

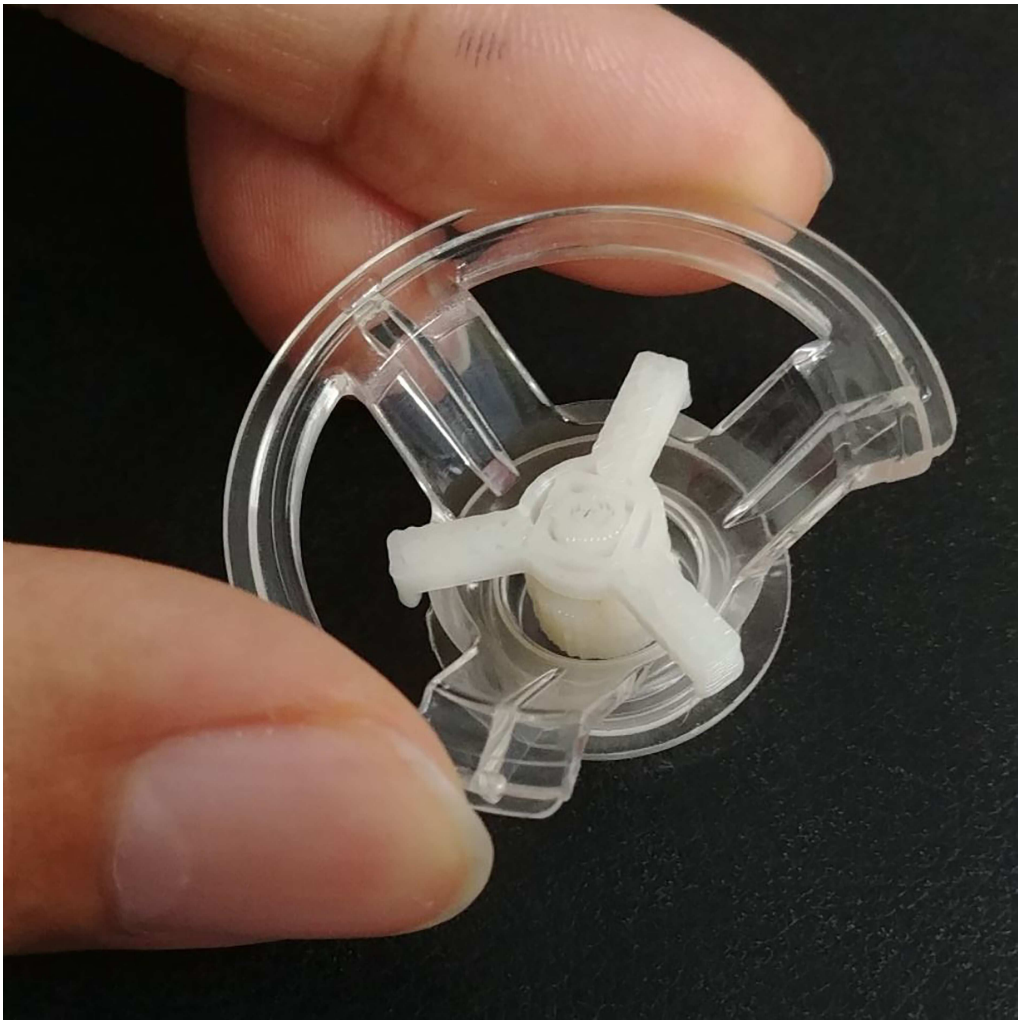
[0172] **평가 2: 주름 개선 물질 스크리닝 가부 확인**

[0173] 실시예 3의 주름진 인공피부에 주름개선 물질로 잘 알려져 있는 레티노산을 처리한 후, 실제로 상기 인공피부의 주름이 개선되는지 여부를 확인하였다. 도 19는 실시예 3의 주름진 인공피부에 레티노산 처리한 후의 사진이며, 도 20은 주름진 인공피부에 레티노산 처리한 후의 OCT 단면 이미지인데, 도 18 및 도 19로부터 레티노산이 주름진 인공피부의 주름을 확실하게 개선시켰음을 확인할 수 있었다. 따라서, 상기 레티노산 대신 다른 피부 주름 개선 효과를 가진다고 판단되는 후보물질을 사용함으로써, 주름 개선에 효과가 있는지 여부를 용이하게 스크리닝할 수 있다.

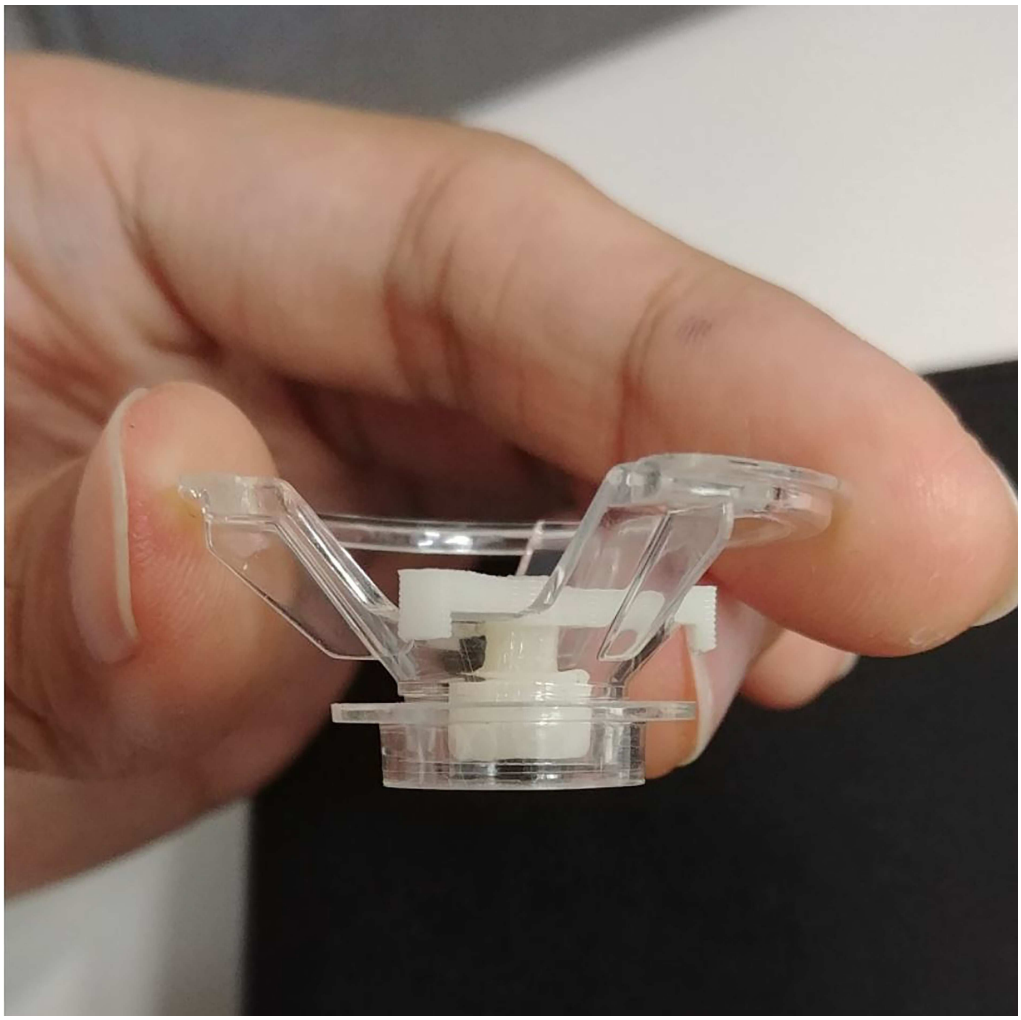
[0175] 이상에서 본 발명의 바람직한 실시예들에 대하여 상세하게 설명하였지만 본 발명의 권리 범위는 이에 한정되는 것은 아니고 다음의 청구 범위에서 정의하고 있는 본 발명의 기본 개념을 이용한 당업자의 여러 변형 및 개량 형태 또한 본 발명의 권리 범위에 속하는 것이다.

도면

도면1



도면2



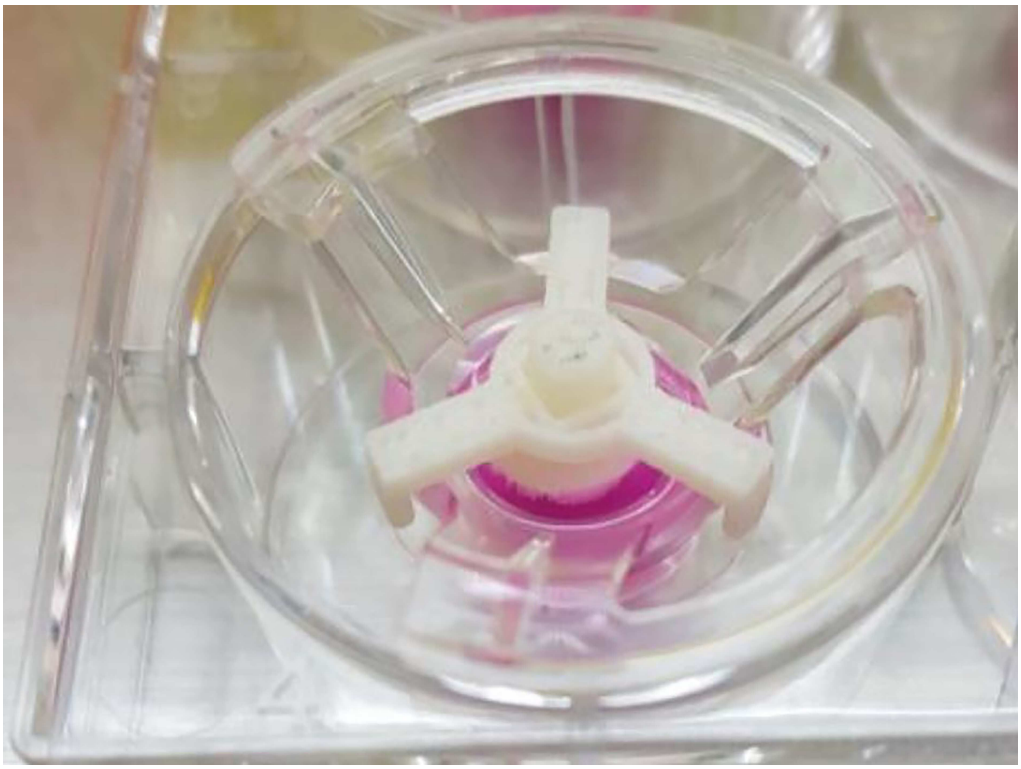
도면3



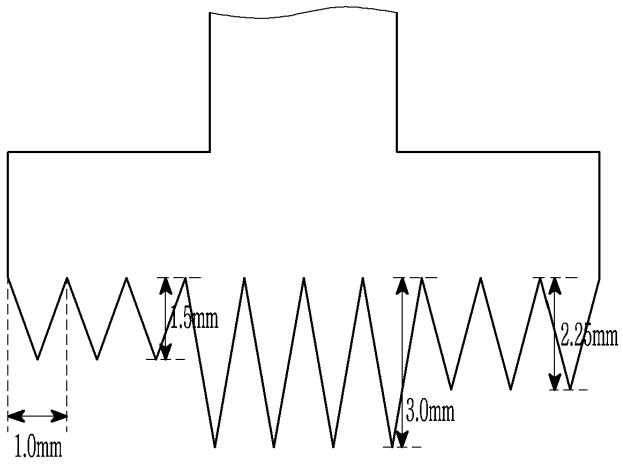
도면4



도면5



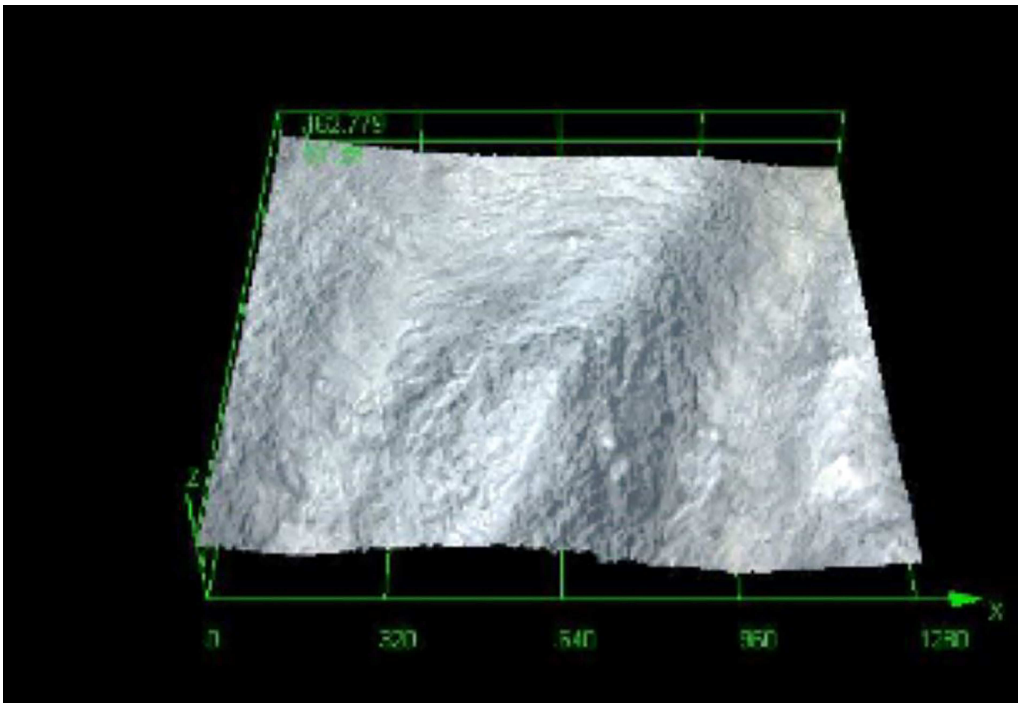
도면6



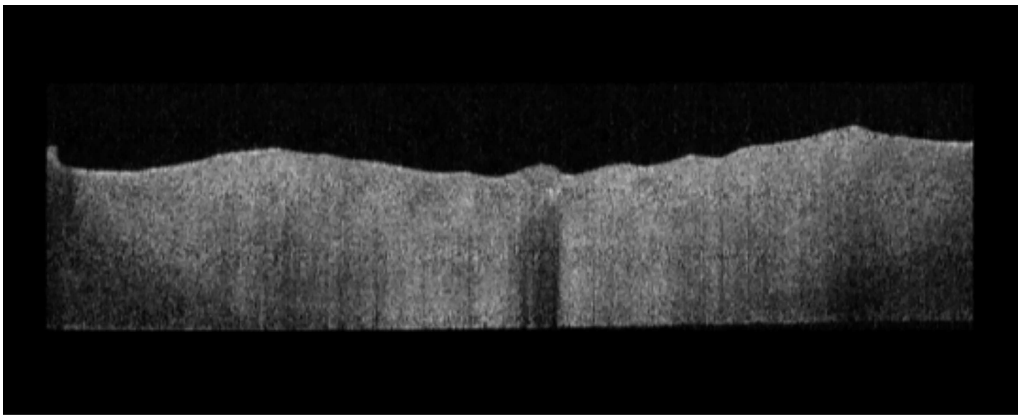
도면7



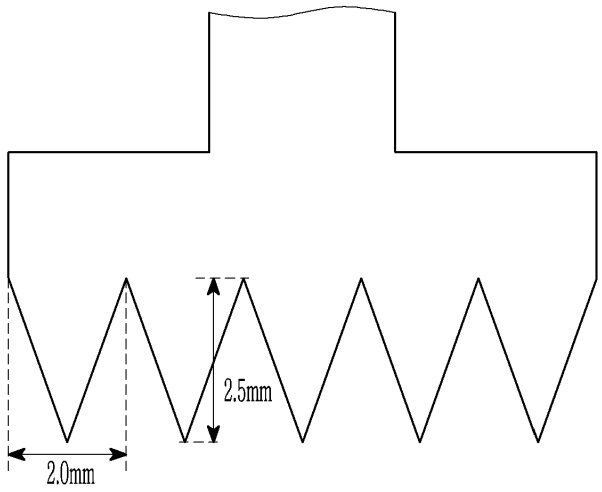
도면8



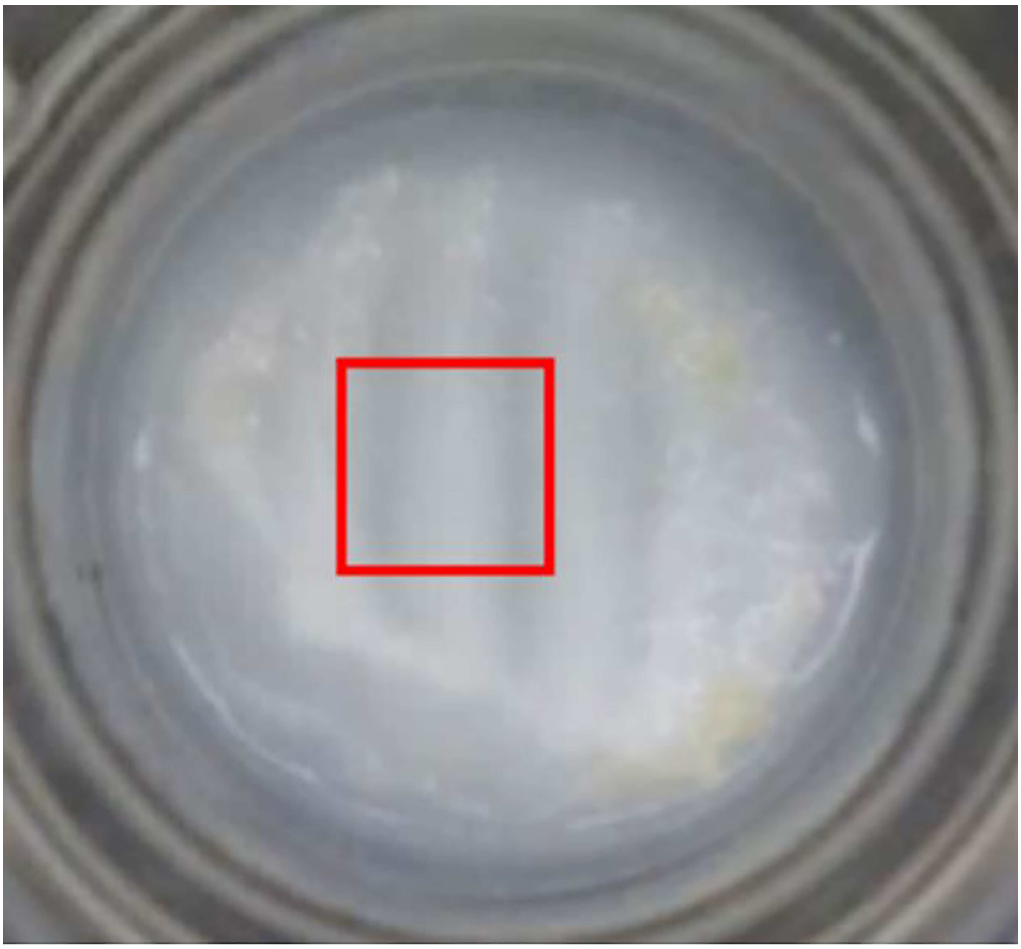
도면9



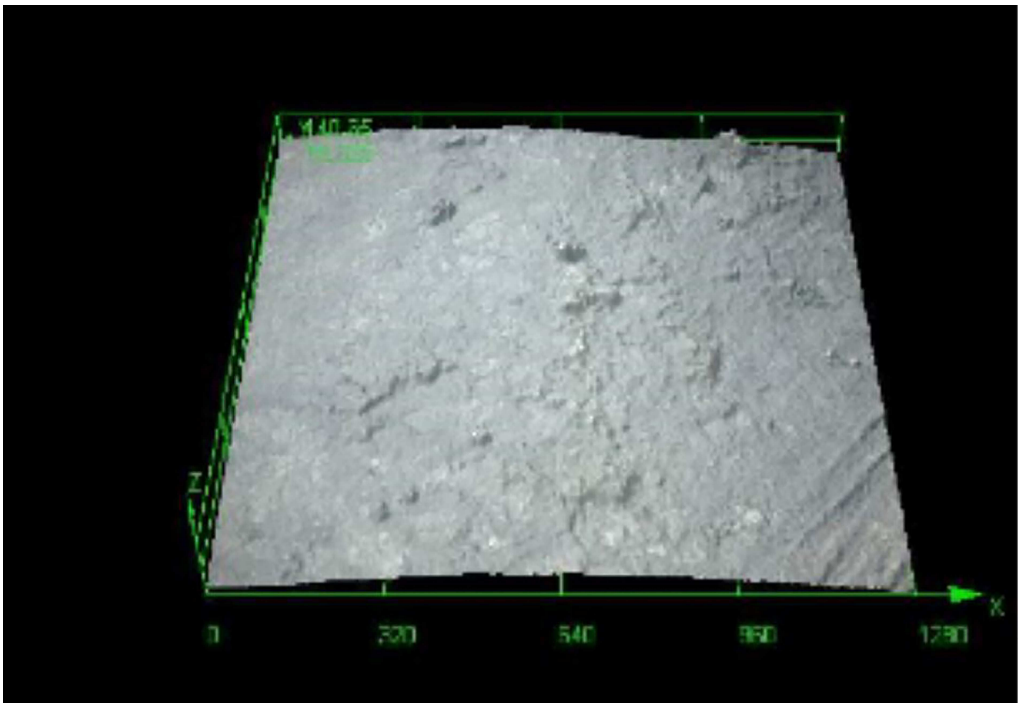
도면10



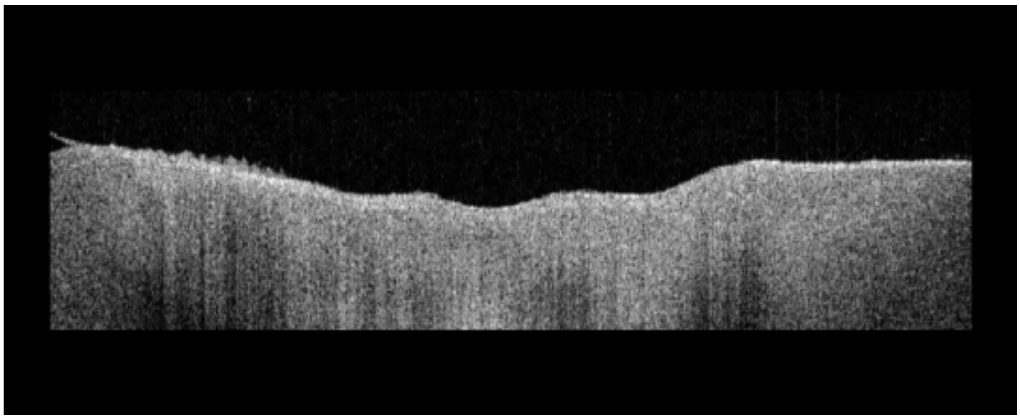
도면11



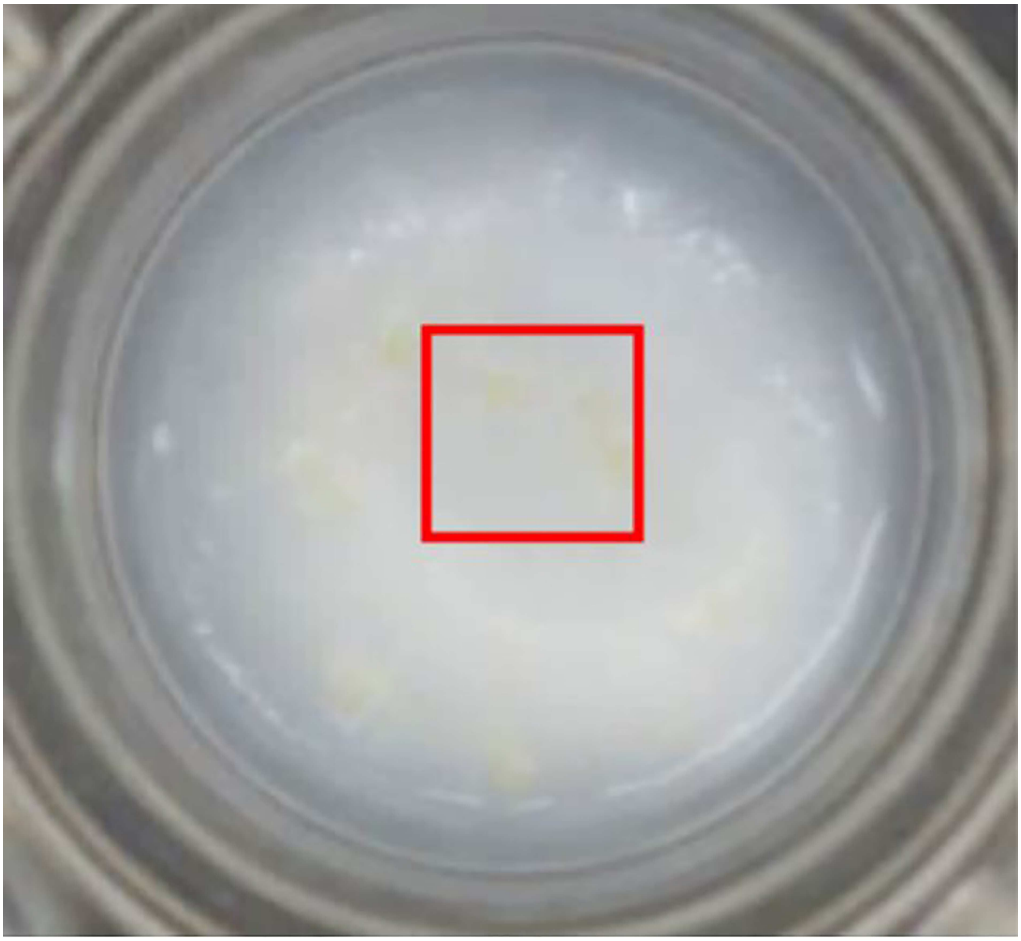
도면12



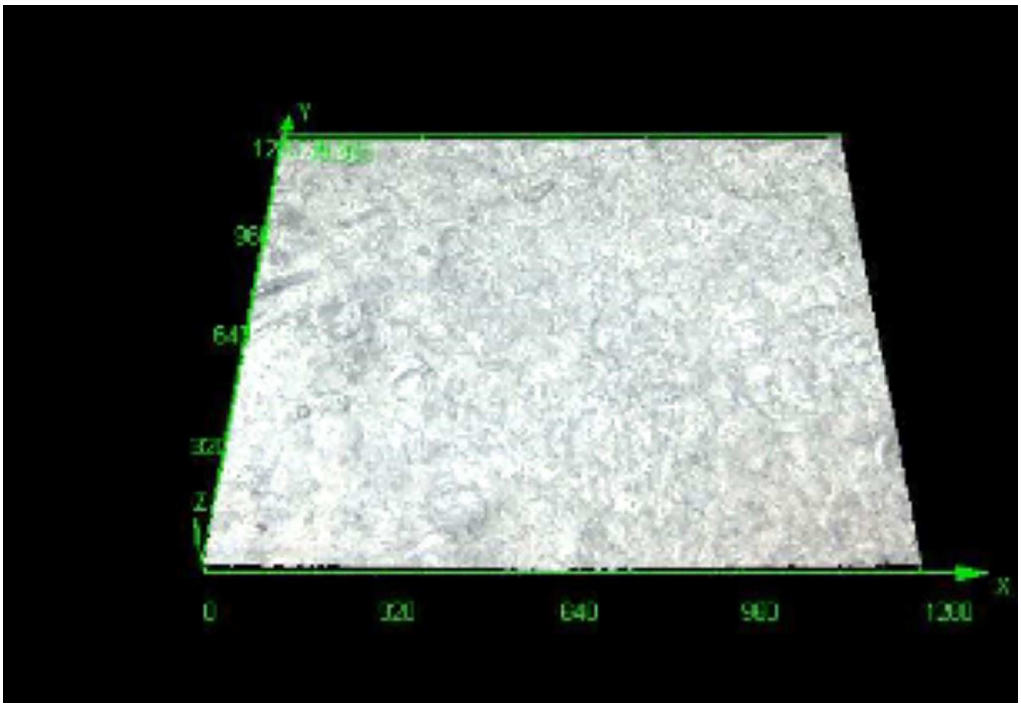
도면13



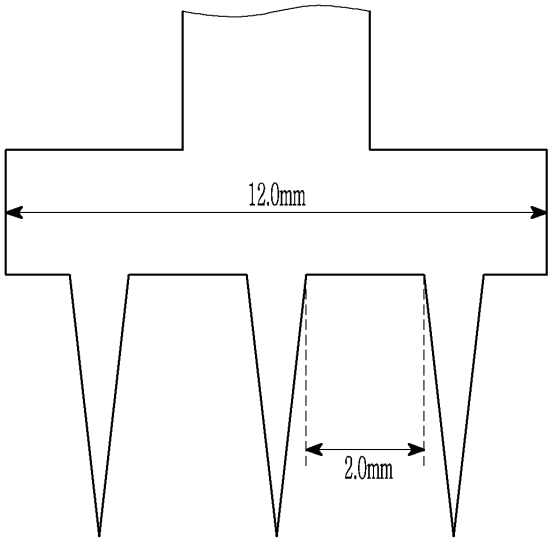
도면14



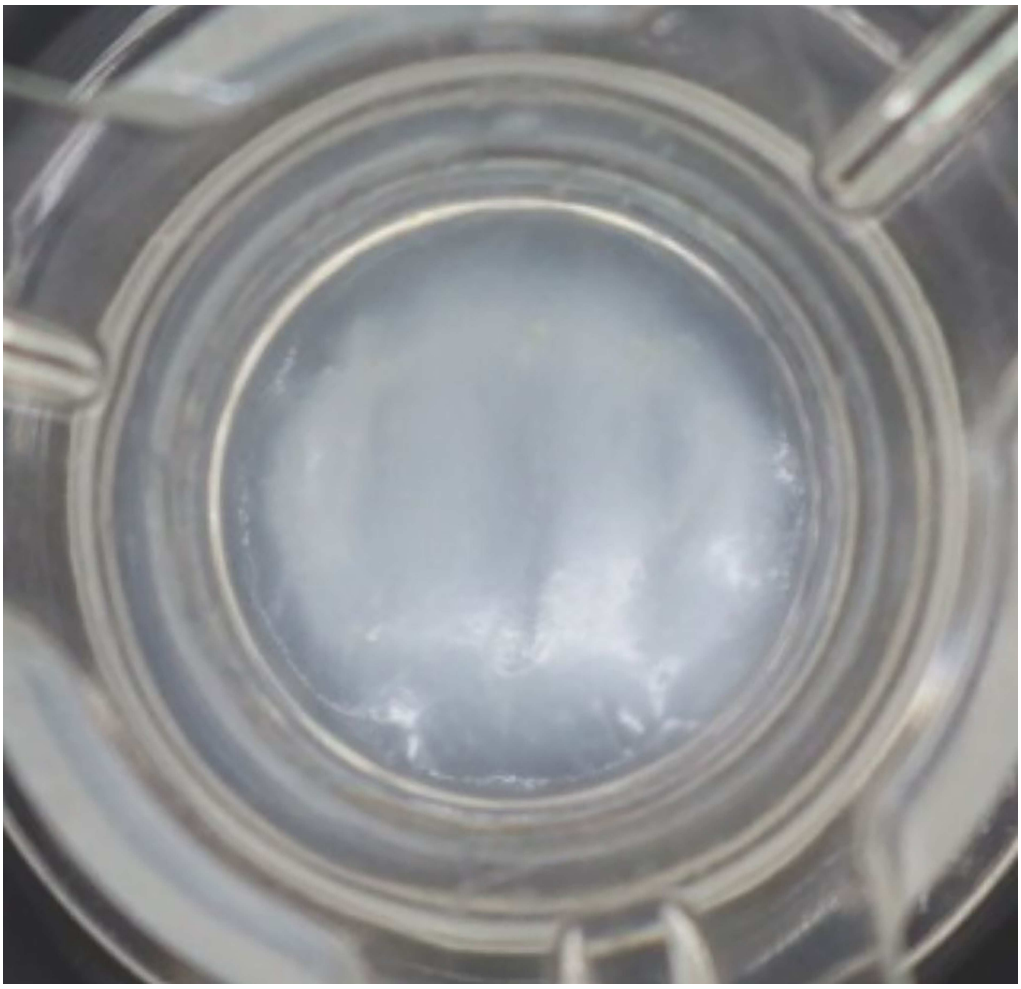
도면15



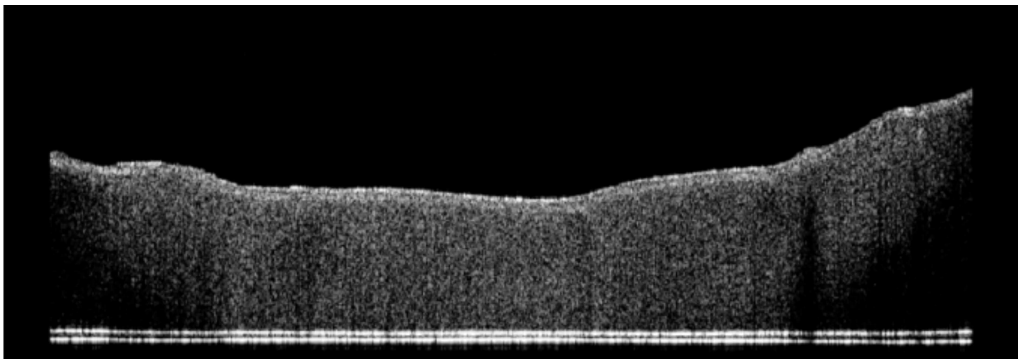
도면16



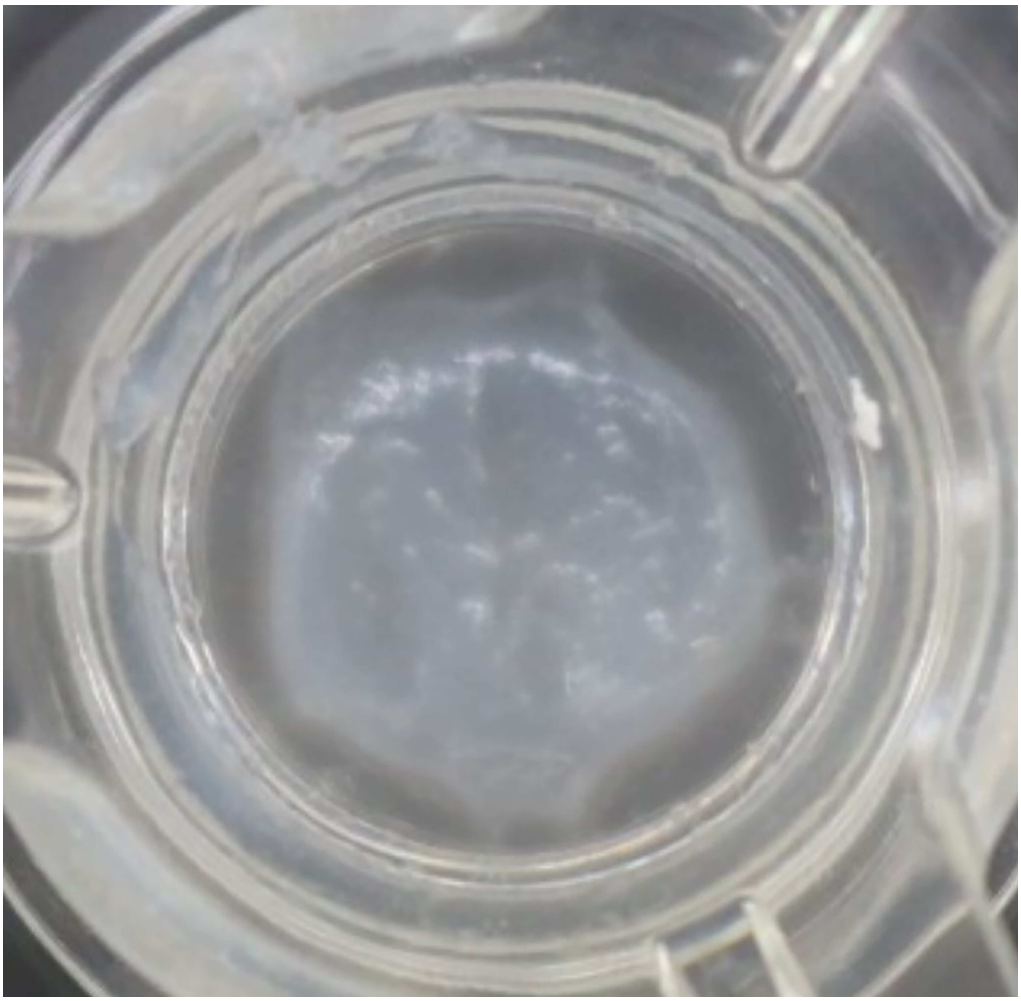
도면17



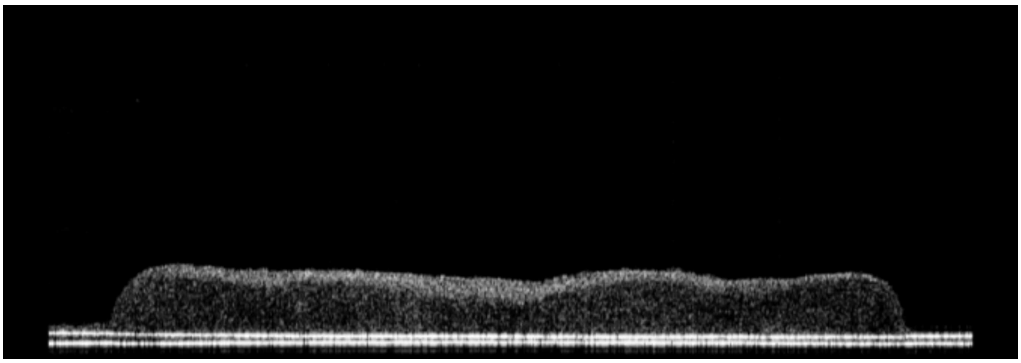
도면18



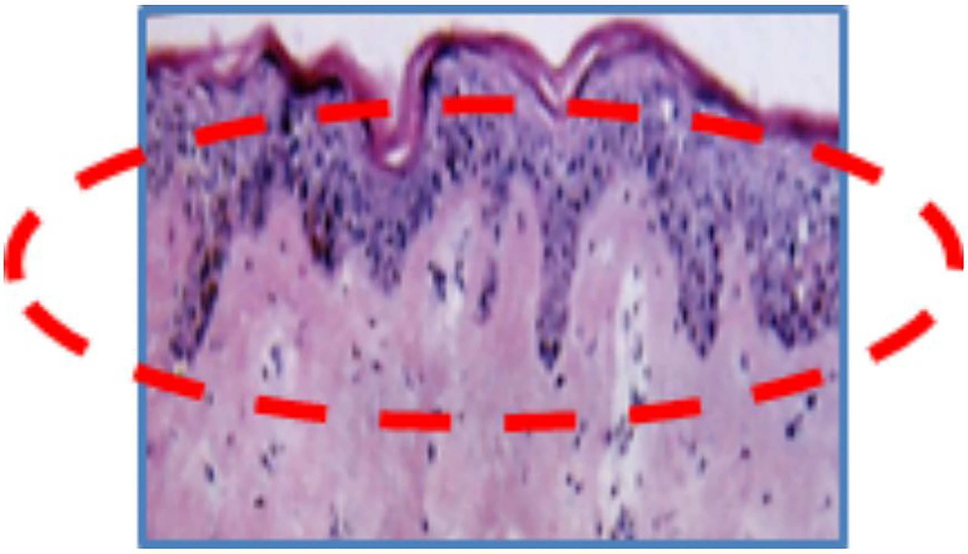
도면19



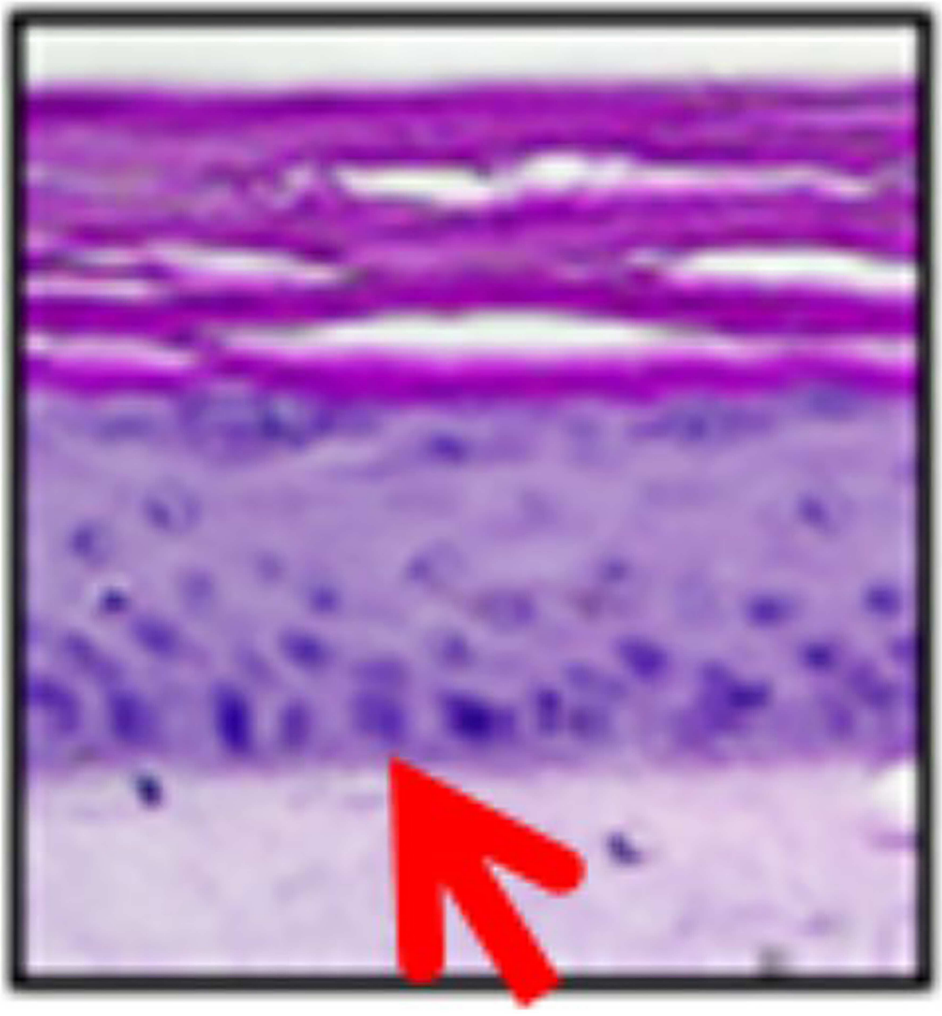
도면20



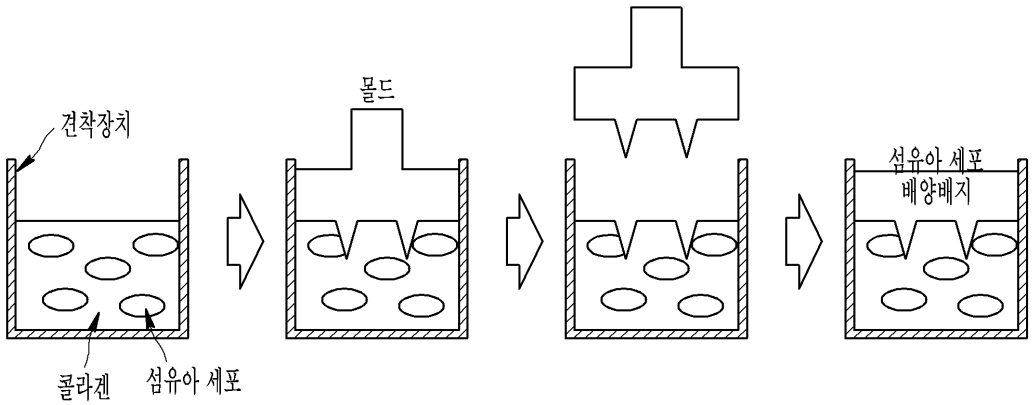
도면21



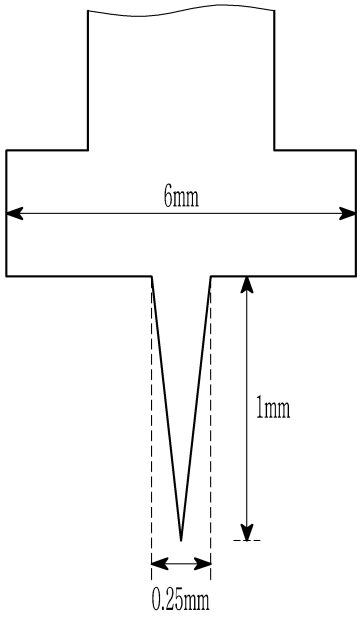
도면22



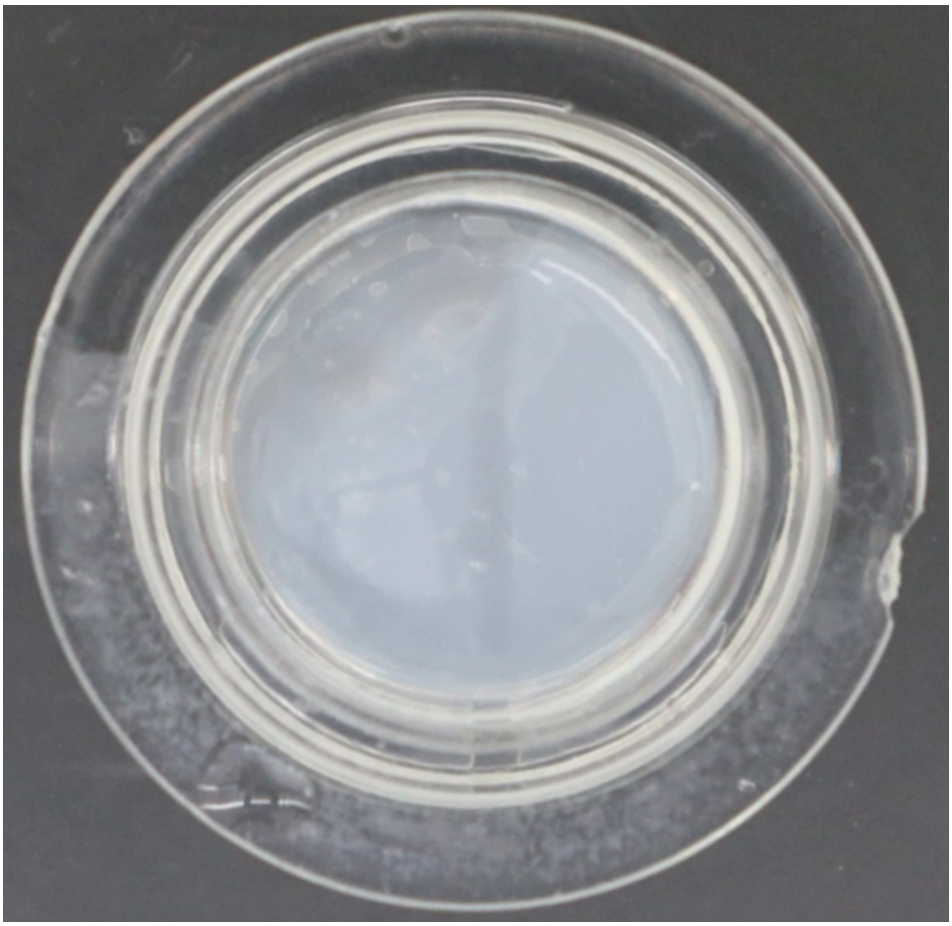
도면23



도면24



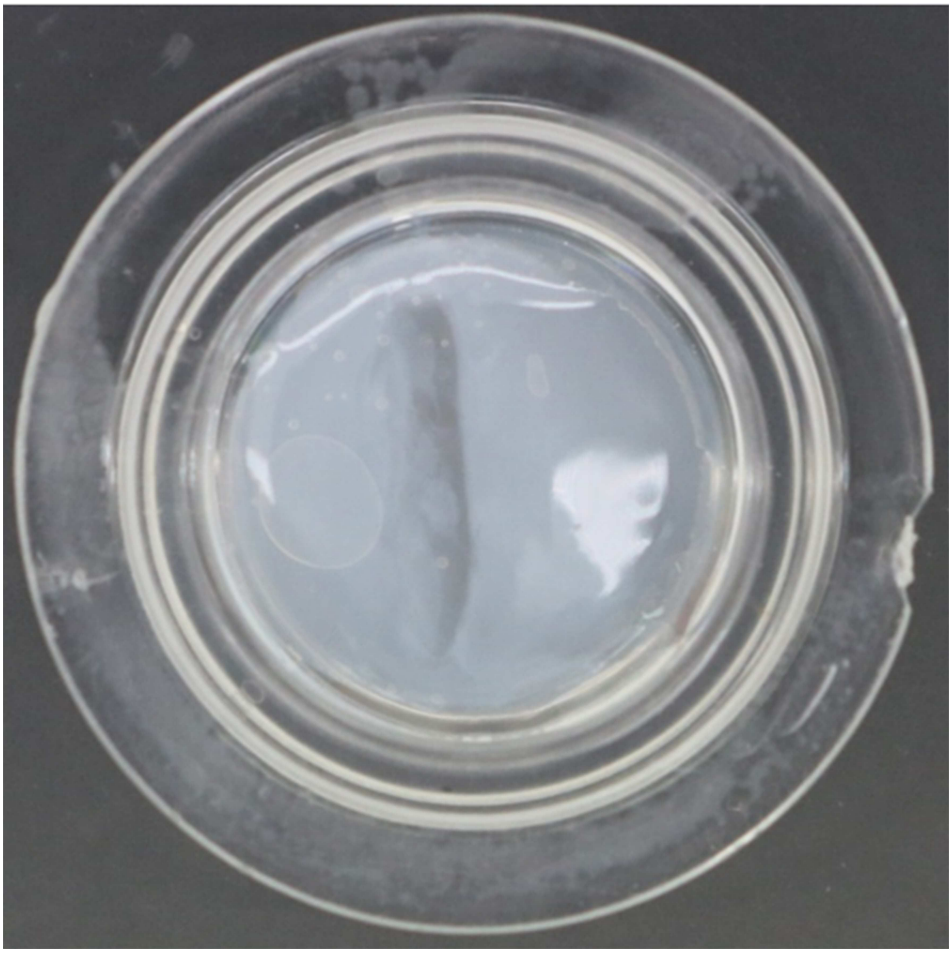
도면25



도면26



도면27



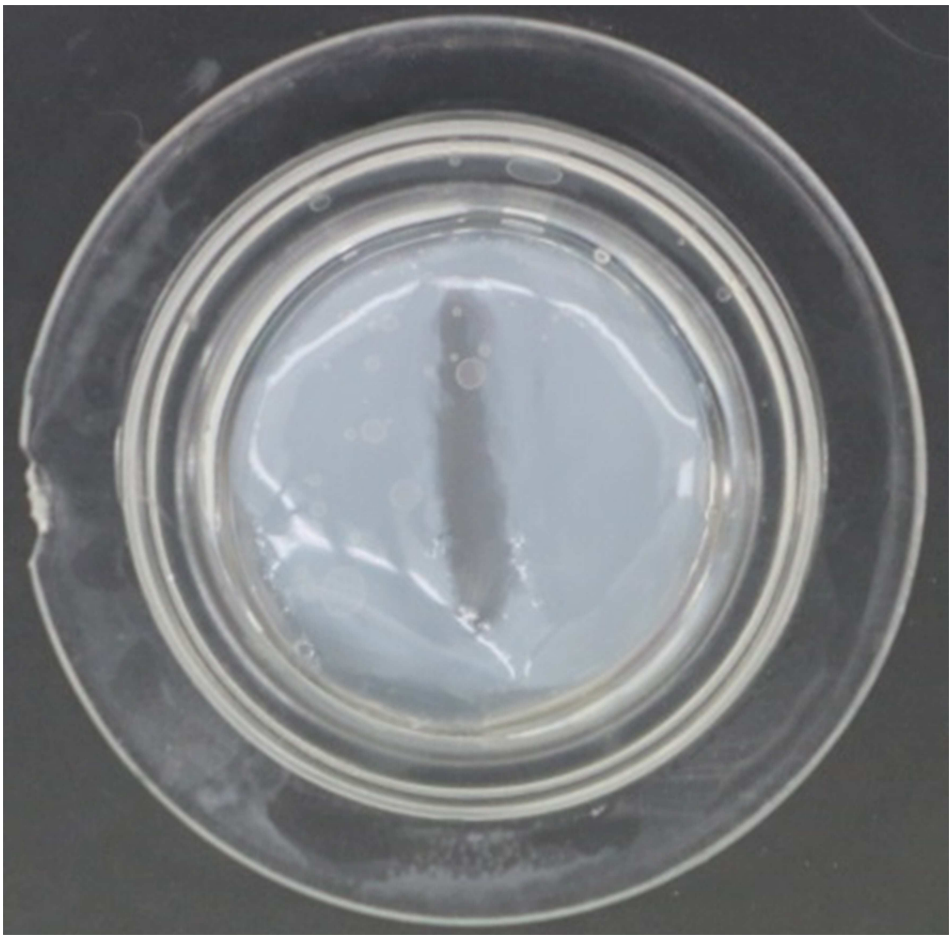
도면28



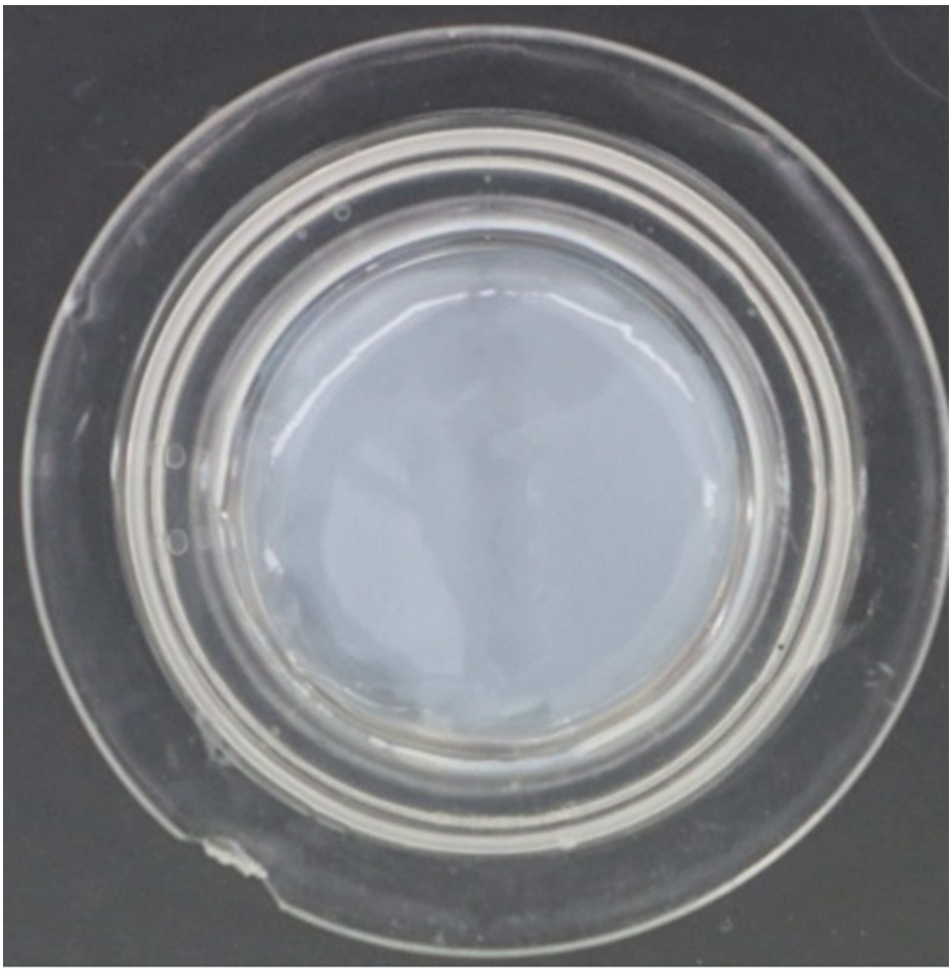
도면29



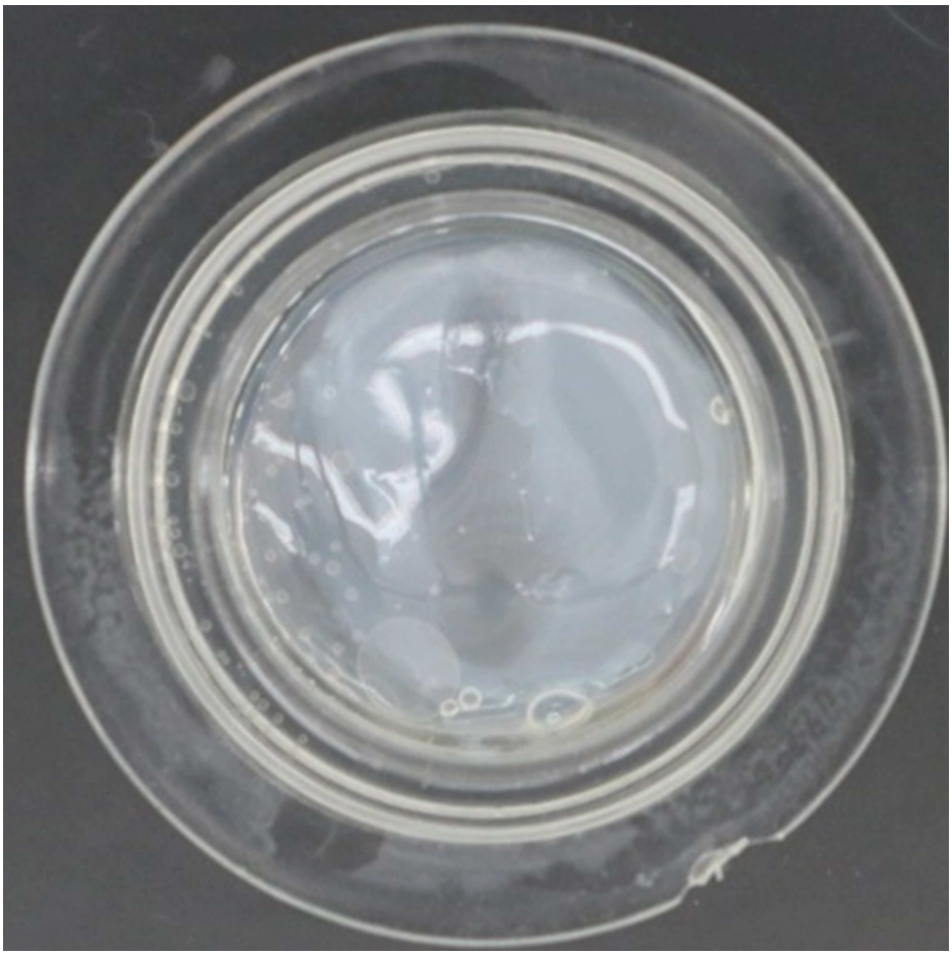
도면30



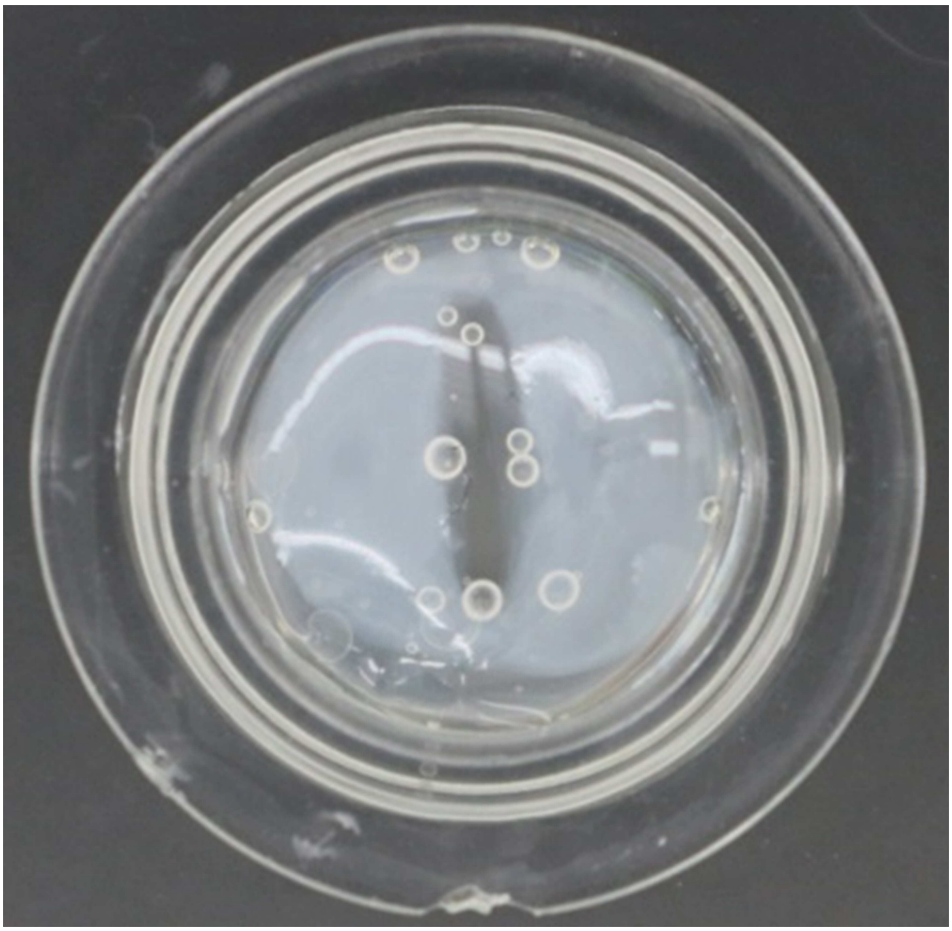
도면31



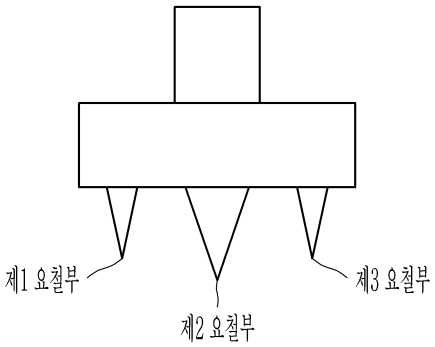
도면32



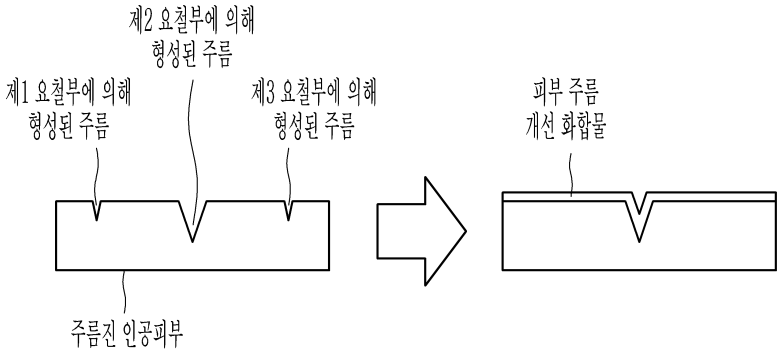
도면33



도면34



도면35


제2 요철부에 의해
형성된 주름
제1 요철부에 의해
형성된 주름
제3 요철부에 의해
형성된 주름
피부 주름
개선 화합물
주름진 인공피부