



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0131113
(43) 공개일자 2024년08월30일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61F 2/08 (2006.01) A61L 27/18 (2006.01)
A61L 27/20 (2006.01) A61L 27/24 (2006.01)
A61L 27/56 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61F 2/08 (2013.01)
A61F 2/0811 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2023-0024449

(22) 출원일자 2023년02월23일

심사청구일자 2023년02월23일

(71) 출원인

경희대학교 산학협력단

경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)

성균관대학교산학협력단

경기도 수원시 장안구 서부로 2066 (천천동, 성균관대학교내)

(72) 발명자

이성민

서울시 강남구 압구정로 151 105동 202호

김재윤

경기도 수원시 장안구 서부로 2066, 성균관대학교 제2공학관 25317A

임필선

경기도 수원시 장안구 서부로 2066, 성균관대학교 제2공학관 25416

(74) 대리인

특허법인비엘티

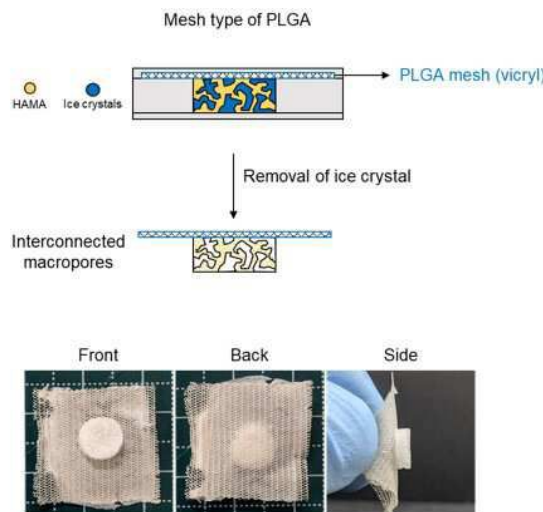
전체 청구항 수 : 총 19 항

(54) 발명의 명칭 히알루론산의 다공성 폴리머에 아텔로콜라겐을 삽입한 힘줄 또는 인대 질환 치료용 지지체

(57) 요약

본 발명은 힘줄 또는 인대 질환의 치료 및 회복을 위해 사용되는 히알루론산의 다공성 폴리머에 아텔로콜라겐을 삽입한 지지체에 관한 것으로, 상기 지지체는 봉합부위에서 장기간 천천히 분비되도록 함으로써 히알루론산 및 아텔로콜라겐의 효능을 향상시키는 시너지 효과가 있고, 기계적 물성이 높아 파열된 힘줄의 봉합부위를 결합시키고 주변세포 재생과정을 위한 미세환경을 제공하여 힘줄 또는 인대 질환의 치료 및 회복을 위해 유용하게 사용될 수 있다.

대표도 - 도3



(52) CPC특허분류

A61L 27/18 (2013.01)
A61L 27/20 (2013.01)
A61L 27/24 (2013.01)
A61L 27/56 (2013.01)
A61F 2002/0847 (2013.01)
A61L 2430/10 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711157990
과제번호	2022R1G1A1011422
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	개인기초연구(과기정통부)
연구과제명	토끼의 회전근 개 만성 파열 모델에서 Hyaluronic acid로 만들어진 다공성 폴리머에 Atelocollagen을 삽입한 지지체의 회전근 개 치유에 대한 효과
기 여 율	45/100
과제수행기관명	경희대학교
연구기간	2022.03.01 ~ 2023.02.28

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711153293
과제번호	2022R1A2B5B02002097
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	개인기초연구(과기정통부)
연구과제명	증강된 항원특이적 면역관용을 유도하는 나노입자 기반 다발성경화증 치료용 백신
개발	
기 여 율	55/100
과제수행기관명	성균관대학교
연구기간	2022.03.01 ~ 2023.02.28

명세서

청구범위

청구항 1

힘줄 또는 인대 손상 및 질환의 치료용 지지체로서,

다공성 히알루론산 동결융해젤;

상기 다공성 히알루론산 동결융해젤의 기공에 함침된 콜라겐; 및

상기 다공성 히알루론산 동결융해젤의 제1 면에 부착된 생흡수성 공중합체 섬유를 포함하는 것을 특징으로 하는, 지지체.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 콜라겐은 콜라겐 1형인 것을 특징으로 하는, 지지체.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 콜라겐은 아텔로콜라겐인 것을 특징으로 하는, 지지체.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 공중합체는 폴리락타이드(PLA); 폴리(락타이드-co-글리콜라이드)(PLGA); 폴리아나하이드라이드(polyanhydride); 폴리오르토에스테르; 폴리(N-(2-하이드록시프로필) 메타크릴아미드); 폴리(dl-락타이드)(DLPLA); 폴리(l-락타이드)(LPLA); 폴리(d-락타이드)(DPLA); 폴리글리콜라이드(PGA); 폴리(다이옥사논)(PDO); 폴리(글리콜라이드-co-트리메틸렌 카르보네이트)(PGA-TMC); 폴리(1-락타이드-co-글리콜라이드)(PGA-LPLA); 폴리(dl-락타이드-co-글리콜라이드)(PGA-DLPLA); 폴리(1-락타이드-co-dl-락타이드)(LPLA-DLPLA); 폴리(글리콜라이드-co-트리메틸렌 카르보네이트-co-다이옥사논)(PDO-PGA-TMC), 폴리(락트산-co-카프로락톤)(PLACL) 및 이들의 혼합물 또는 코폴리머로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상인 것을 특징으로 하는, 지지체.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 공중합체는 폴리(락타이드-co-글리콜라이드)(PLGA)인 것을 특징으로 하는, 지지체.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 힘줄 질환은 아킬레스 건 질환, 슬개건 질환, 외측 상과염, 내측 상과염, 족저 근막염, 회전근개 건 질환, 건활막염, 건병증, 건염, 건초염, 건 손상 및 건 박리로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상이고,

상기 인대 질환은 십자인대 손상, 족관절 인대 손상, 측부인대 손상, 인대 파열, 인대 염좌 및 염증으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상인 것을 특징으로 하는, 지지체.

청구항 7

제1항에 있어서,

상기 지지체는 힘줄 또는 인대의 강화를 수득하는 것을 특징으로 하는, 지지체.

청구항 8

제1항에 있어서,

상기 지지체는 힘줄 또는 인대의 염증을 치료하는 것을 특징으로 하는, 지지체.

청구항 9

제1항에 있어서,

상기 지지체는 힘줄 또는 인대의 재파열을 예방하는 것을 특징으로 하는, 지지체.

청구항 10

i) 히알루론산 및 개시제를 포함하는 용액을 생흡수성 공중합체 섬유를 포함하는 몰드에 넣어 동결융해겔화(Cryogelation)하여 다공성 히알루론산 동결융해겔을 제조하는 단계; 및

ii) 상기 i) 단계의 결과물의 기공에 콜라겐을 담지하는 단계를 포함하는 힘줄 또는 인대 손상 및 질환의 치료용 지지체 제조방법.

청구항 11

제10항에 있어서,

상기 용액 내 히알루론산은 0.1 내지 3 중량%로 포함하는 것을 특징으로 하는, 제조방법.

청구항 12

제10항에 있어서,

상기 다공성 히알루론산 동결융해겔은 메타크릴화 히알루론산 또는 티올화 히알루론산을 전구체로 하는 것을 특징으로 하는, 제조방법.

청구항 13

제10항에 있어서,

상기 공중합체는 폴리락타이드(PLA); 폴리(락타이드-co-글리콜라이드)(PLGA); 폴리안하이드라이드(polyanhydride); 폴리오르토에스테르; 폴리(N-(2-하이드록시프로필) 메타크릴아미드); 폴리(dl-락타이드)(DLPLA); 폴리(l-락타이드)(LPLA); 폴리(d-락타이드)(DPLA); 폴리글리콜라이드(PGA); 폴리(다이옥사논)(PDO); 폴리(글리콜라이드-co-트리메틸렌 카르보네이트)(PGA-TMC); 폴리(l-락타이드-co-글리콜라이드)(PGA-LPLA); 폴리(dl-락타이드-co-글리콜라이드)(PGA-DLPLA); 폴리(l-락타이드-co-dl-락타이드)(LPLA-DLPLA); 폴리

(글리콜라이드-co-트리메틸렌 카르보네이트-co-다이옥사논)(PDO-PGA-TMC), 폴리(락트산-co-카프로락톤)(PLACL) 및 이들의 혼합물 또는 코폴리머로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상인 것을 특징으로 하는, 제조 방법.

청구항 14

제10항에 있어서,

상기 공중합체는 폴리(락타이드-co-글리콜라이드)(PLGA)인 것을 특징으로 하는, 제조방법.

청구항 15

제10항에 있어서,

상기 콜라겐은 콜라겐 1형인 것을 특징으로 하는, 제조방법.

청구항 16

제10항에 있어서,

상기 콜라겐은 아텔로콜라겐인 것을 특징으로 하는, 제조방법.

청구항 17

제10항에 있어서,

상기 동결융해결화는 -20 내지 -40℃에서 15 내지 20시간 동안 수행되는 것을 특징으로 하는, 제조방법.

청구항 18

제10항에 있어서,

상기 공중합체 섬유는 다공성 히알루론산 동결융해겔의 제1 면에만 부착되는 것을 특징으로 하는, 제조방법.

청구항 19

제10항에 있어서,

상기 힘줄 질환은 아킬레스 건 질환, 슬개건 질환, 외측 상과염, 내측 상과염, 족저 근막염, 회전근개 건 질환, 건활막염, 건병증, 건염, 건초염, 건 손상 및 건 박리로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상이고,

상기 인대 질환은 십자인대 손상, 족관절 인대 손상, 측부인대 손상, 인대 파열, 인대 염좌 및 염증으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상인 것을 특징으로 하는, 제조방법.

발명의 설명

기술 분야

본 발명은 히알루론산의 다공성 폴리머에 아텔로콜라겐을 삽입한 힘줄 또는 인대 손상 및 질환 치료용 지지체 및 이의 제조방법에 관한 것이다.

[0001]

배경 기술

- [0003] 재생의학은 인간의 세포와 조직, 장기를 대체하거나 재생시켜 원래의 기능을 할 수 있도록 복원시키는 의학 분야를 의미한다. 근골격계 질환과 관련된 재생의학은 2019년 45억 7000만 달러에서 연평균 성장률 24.3%로 증가하여, 2024년에는 135억 3000만 달러에 이를 것으로 전망된다. 국내에서도 힘줄의 치유를 향상시키고자 하는 국소 주사제의 활용 등 재생의학에 대한 관심이 높아지고 있다.
- [0004] 힘줄은 통상적으로 근육을 뼈에 연결시키는 섬유상 연결조직의 질긴 띠이다. 힘줄 부상은 일반적으로 힘줄의 염증과 퇴행 또는 약화를 초래하며, 그것들은 궁극적으로 힘줄 파열을 유발한다. 힘줄 치유는 전형적으로 수 개월이 걸리는 길고 복잡한 과정이고, 약 1년 정도의 시간이 지나야 조직은 점차적으로 섬유상으로부터 흉터와 같이 변할 것이다. 이러한 흉터 조직은 힘줄의 감소된 탄성 및 운동성과 증가된 부상 재발의 성향을 초래할 수 있다.
- [0005] 히알루론산(Hyaluronic acid; HA)은 분자량이 100,000~5,000,000 정도가 바람직하나 분자량에 상관없이 사용할 수 있다. 히알루론산은 천연 고분자로써 항염 작용을 하며, 힘줄 치유에 필수적인 섬유연골층(fibrocartilage layer)을 형성하는데 도움을 준다. 또한, 생체 적합성을 가지며, 조직 생성시 세포 이동에 유리하고, 생체 내 효소에 의해 완전히 분해된다.
- [0006] 콜라겐(Collagen)은 동물의 뼈, 연골, 이, 건, 피부 외 물고기의 비늘 등을 구성하는 경단백질로, 교원질이라고도 하며, 섬유상 고체로 존재하고 복잡한 가로무늬 구조로 되어 있다. 콜라겐은 모든 포유동물에서 가장 빈번히 나타나는 구조 단백질이고, 전체 중량의 30% 정도를 차지하고 있는 단백질이다. 콜라겐은 20여가지의 종류가 알려져 있는데 콜라겐 1형(type 1 collagen)이 대부분을 차지하고 있다.
- [0007] 아테로콜라겐(Atelocollagen)은 콜라겐 1형으로, 힘줄의 주성분인 콜라겐 1형을 보충해주어 힘줄의 치유를 돕고 염증을 감소시키는 기능을 한다. 아테로콜라겐은 분자량이 1,000~20,000 정도인 것을 사용하는 것이 바람직하며, 분자량에 상관없이 사용할 수 있다. 조직 생성시 세포 부착에 유리하고, 지지체 제조시 물리적 골격을 유지하게 된다.
- [0008] 그러나, 현재 상품화되어 있는 상기 히알루론산 및/또는 아테로콜라겐 주사제들은 모두 액체형으로, 생리식염수로 관절 안 공간을 넓혀 봉합술을 시행하는 상태에서 주입하는 경우 힘줄 봉합 부위에만 머무르지 않고, 주변부로 흘러내리는 문제점이 있다.
- [0009] 이러한 배경 하에, 본 발명자들은 히알루론산으로 다공성 지지체를 만들고, 그 안에 아테로콜라겐을 삽입하여 봉합부위에서 장기간 천천히 분비되도록 함으로써 상기 히알루론산 및 아테로콜라겐의 효능을 향상시켜 시너지 효과를 확인하고, 상기 기계적 물성이 높은 다공성 지지체는 파열된 힘줄의 봉합부위를 결합시키고 주변세포 재생과정을 위한 미세환경을 제공하여 힘줄 또는 인대 질환의 치료 및 회복 효과가 증대됨을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0011] 본 발명의 목적은 힘줄 또는 인대 손상 및 질환의 치료용 지지체로서, 다공성 히알루론산 동결융해겔; 상기 다공성 히알루론산 동결융해겔의 기공에 함침된 콜라겐; 및 상기 다공성 히알루론산 동결융해겔의 제1 면에 부착된 생흡수성 공중합체 섬유를 포함하는 것을 특징으로 하는, 지지체를 제공하는 것이다.
- [0012] 본 발명의 다른 목적은 i) 히알루론산 및 개시제를 포함하는 용액을 생흡수성 공중합체 섬유를 포함하는 몰드에 넣어 동결융해겔화(Cryogelation)하여 다공성 히알루론산 동결융해겔을 제조하는 단계; 및 ii) 상기 i) 단계의 결과물의 기공에 콜라겐을 담지하는 단계를 포함하는 힘줄 또는 인대 손상 및 질환의 치료용 지지체 제조방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0014] 본 발명의 이점 및 특징, 그리고 그것들을 달성하는 방법은 첨부되는 도면과 함께 상세하게 후술되어 있는 실시예들을 참조하면 명확해질 것이다. 그러나, 본 발명은 이하에서 개시되는 실시예들에 제한되는 것이 아니라 서로 다른 다양한 형태로 구현될 수 있으며, 단지 본 실시예들은 본 발명의 개시가 완전하도록 하고, 본 발명이 속하는 기술 분야의 통상의 기술자에게 본 발명의 범주를 완전하게 알려주기 위해 제공되는 것이며, 본 발명은 청구항의 범주에 의해 정의될 뿐이다.
- [0015] 본 명세서에서 사용된 용어는 실시예들을 설명하기 위한 것이며 본 발명을 제한하고자 하는 것은 아니다. 본 명세서에서, 단수형은 문구에서 특별히 언급하지 않는 한 복수형도 포함한다. 명세서에서 사용되는 "포함한다(comprises)" 및/또는 "포함하는(comprising)"은 언급된 구성요소 외에 하나 이상의 다른 구성요소의 존재 또는 추가를 배제하지 않는다. 명세서 전체에 걸쳐 동일한 도면 부호는 동일한 구성 요소를 지칭하며, "및/또는"은 언급된 구성요소들의 각각 및 하나 이상의 모든 조합을 포함한다. 비록 "제1", "제2" 등이 다양한 구성요소들을 서술하기 위해서 사용되나, 이들 구성요소들은 이들 용어에 의해 제한되지 않음은 물론이다. 이들 용어들은 단지 하나의 구성요소를 다른 구성요소와 구별하기 위하여 사용하는 것이다. 따라서, 이하에서 언급되는 제1 구성요소는 본 발명의 기술적 사상 내에서 제2 구성요소일 수도 있음은 물론이다.
- [0016] 다른 정의가 없다면, 본 명세서에서 사용되는 모든 용어(기술 및 과학적 용어를 포함)는 본 발명이 속하는 기술 분야의 통상의 기술자에게 공통적으로 이해될 수 있는 의미로 사용될 수 있을 것이다. 또한, 일반적으로 사용되는 사전에 정의되어 있는 용어들은 명백하게 특별히 정의되어 있지 않는 한 이상적으로 또는 과도하게 해석되지 않는다.
- [0018] 본 발명은 힘줄 또는 인대 손상 및 질환의 치료용 지지체로서, 다공성 히알루론산 동결융해겔; 상기 다공성 히알루론산 동결융해겔의 기공에 함침된 콜라겐; 및 상기 다공성 히알루론산 동결융해겔의 제1 면에 부착된 생흡수성 공중합체 섬유를 포함하는 것을 특징으로 하는, 지지체를 제공한다.
- [0019] 본 발명은 다공성 히알루론산 동결융해겔 즉, 히알루론산 기반 다공성 동결융해겔(cryogel)을 사용한 힘줄 또는 인대 질환의 치료용 지지체를 제공한다.
- [0020] 본 발명의 히알루론산(Hyaluronic acid; HA)은 β -D-N-아세틸글루코사민과 β -D-글루루론산이 교대로 결합된 직쇄상의 고분자로 분자량이 50,000~10,000,000Da 또는 그 이상인 다당류이다. 상기 히알루론산은 생체 결합조직의 기본물질로, 주로 포유동물의 피부, 관절의 활액, 눈의 초자체액, 탯줄, 혈청, 닭 벼슬 등에 분포해 있으며, 연쇄구균이나 간균류의 혐막 등에도 존재한다. 천연 히알루론산은 분자량에 비례한 다분성이지만, 중간 특이성을 갖지 않으며 또한 조직이나 장기특이성을 갖지 않아, 그 유래에 상관없이 생체에 이식 또는 주입한 경우에 우수한 생체적합성을 나타낸다.
- [0021] 상기 천연 고분자인 히알루론산은 분자량이 100,000~5,000,000 정도가 바람직하나 분자량에 상관없이 사용할 수 있다. 히알루론산은 혼합용액의 70~95% 중량비율로 포함되는 것이 바람직하다. 히알루론산의 함량이 70% 이하이면 제조된 지지체의 물리적 강도가 약해지며, 95% 이상이 되면 혼합 시 다루기에 부적합하다. 상기 히알루론산은 연골의 구성성분의 하나로 생체적합성을 가지며, 조직 생성 시 세포의 이동에 유리하고, 생체 내 효소에 의해 완전 분해된다.
- [0022] 조직 공학 분야에서 스캐폴드는 조직 형성을 지원하는 3차원 다공성 구조를 제공하는데 필수적이다. 상기 스캐폴드는 다음 중 적어도 하나를 제공한다: 세포 부착 및 이동; 세포 및 생화학적 인자의 전달 및 보유; 중요한 세포 영양분과 발현된 산물의 확산; 및 세포 단계의 거동(behavior)을 수정하기 위한 특정 기계적 및 생물학적 영향. 본 발명에서 상기 스캐폴드는 지지체와 혼용되어 기재될 수 있다.
- [0023] 본 발명의 동결융해겔(Cryogels)은 다공성 구조가 매우 다양하고, 다양한 형태를 가지는 재료이다. 상기 동결융해겔은 동결융해겔화(cryotropic gelation) 기술을 사용하여 생산될 수 있다.
- [0024] 본 발명의 동결융해겔화(Cryotropic gelation, Cryogelation or Cryostructuration)는 잠재적으로 겔화할 수 있는 시스템의 동결융해 처리의 결과로 발생하는 특정 유형의 겔 형성을 의미한다. 동결융해겔화의 본질적인 특징은 물과 같은 용매의 강제 결정화이다. 동결융해겔화는 겔화가 온도가 감소할 때 발생하는 냉각 유발 겔화와 구별된다. 동결융해겔화의 전형적인 특징은 상호 연결된 거대 기공 시스템을 생성하는 능력이다. 기공의 크기는 수백 마이크로(microns)만큼 클 수 있다. 상기 동결융해겔(cryogel)은 종종 스펀지와 같은 형태를 가지며, 이는 동일한 전구체로부터 생성되지만 결빙 이상의 온도에서 생성되는 전형적인 연속 단상 겔(monophase gel)과 대조

적이다.

- [0025] 본 발명의 콜라겐(Collagen)은 동물의 뼈, 연골, 이, 건, 피부 외에 물고기의 비늘 등을 구성하는 경단백질로, 교원질이라고도 하며, 섬유상 고체로 존재하고 전자 현미경으로 관찰하면 복잡한 가로무늬 구조로 되어 있다. 상기 콜라겐은 모든 포유동물에서 가장 빈번하게 나타나는 구조 단백질이고, 전체 중량의 30% 정도를 차지하고 있는 단백질이다. 콜라겐은 현재 20여가지의 종류가 알려져 있는데, 콜라겐 1형이 대부분을 차지하고 있으며, 구조는 약 300 kda의 단량체 단백질이 특정 부위에서 공유결합으로 가교되어 있다. 이에, 콜라겐은 불용성이며 높은 인장강도를 갖는 특징적인 섬유형태를 형성할 수 있다. 구성 아미노산은 글리신, 프롤린, 하이드록시프롤린, 알라닌, 글루탐산 등이며, 그 중에서도 다른 단백질에 존재하지 않는 하이드록시프롤린의 함량이 높은 것이 특징이다.
- [0026] 상기 콜라겐은 3가닥의 폴리펩타이드가 수소결합으로 꼬인 구조를 가지는데, 물, 묶은 산, 묶은 알칼리에 분해되지 않지만 끓이면 한가닥 구조인 젤라틴 형태가 되어 용해될 수 있다. 콜라겐은 젤라틴과는 달라 가운스키지 않아도 적절한 점도를 얻을 수 있으므로 겔화시킬 경우에 제조가 간편하다. 또한, 젤라틴보다 고분자이기 때문에 생체 조직에 보다 가깝고 생리활성이 크며 창상에 사용하는 경우 치유를 촉진시킨다.
- [0027] 본 발명의 콜라겐은 콜라겐 1형일 수 있다.
- [0028] 본 발명의 콜라겐은 아텔로콜라겐(Atelocollagen)일 수 있다. 상기 아텔로콜라겐은 고분자로서 분자량이 1,000~20,000 정도인 것을 사용하는 것이 바람직하며, 분자량에 상관없이 사용할 수 있다. 아텔로콜라겐은 콜라겐의 면역 반응을 일으키는 텔로 부분을 제거하여 체내 면역 반응을 일으키는 요소를 제거하였으며, 조직 생성 시 세포의 부착에 유리하고, 지지체 제조 시 물리적인 골격을 유지할 수 있다.
- [0029] 본 발명의 공중합체는 폴리락타이드(PLA); 폴리(락타이드-co-글리콜라이드)(PLGA); 폴리안하이드라이드(polyanhydride); 폴리오르토에스테르; 폴리(N-(2-하이드록시프로필) 메타크릴아미드); 폴리(dl-락타이드)(DLPLA); 폴리(l-락타이드)(LPLA); 폴리(d-락타이드)(DPLA); 폴리글리콜라이드(PGA); 폴리(다이옥사논)(PDO); 폴리(글리콜라이드-co-트리메틸렌 카르보네이트)(PGA-TMC); 폴리(l-락타이드-co-글리콜라이드)(PGA-LPLA); 폴리(dl-락타이드-co-글리콜라이드)(PGA-DLPLA); 폴리(l-락타이드-co-dl-락타이드)(LPLA-DLPLA); 폴리(글리콜라이드-co-트리메틸렌 카르보네이트-co-다이옥사논)(PDO-PGA-TMC), 폴리(락탄산-co-카프로락톤)(PLACL) 및 이들의 혼합물 또는 코폴리머로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0030] 본 발명의 공중합체는 폴리(락타이드-co-글리콜라이드)(PLGA)일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 상기 공중합체는 다공성 히알루론산 동결융해겔의 제1 면에만 부착되는 것을 특징으로 할 수 있다.
- [0031] 상기 다공성 히알루론산 동결융해겔은 낮은 기계적 물성으로 일반 봉합사 이용시 스캐폴드가 파괴될 수 있으므로, 공중합체 섬유를 사용하였으며, 본 발명의 구체적인 일 실시예에서 PLGA mesh를 사용하였다.
- [0032] 본 발명의 힘줄은 근육을 뼈에 연결시키는 밀접하게 쌓인 콜라겐 섬유의 평행 배열로 구성된 섬유상 조직을 의미한다. 손상된 힘줄의 치유는 느린 과정이고 보통 흔적 형성과 관련되며, 이는 정상적이거나 원래의 힘줄 기능을 재개할 수 없는 결함이 있는 힘줄을 초래할 수 있다.
- [0033] 본 발명의 힘줄 손상은 힘줄의 부분 파열, 완전 파열 또는 변성을 의미한다. 힘줄의 손상은 근육과 관련이 있어 근육의 유연성이 부족한 경우 그 부담이 힘줄에 전달되어 힘줄 손상을 일으킬 수 있다.
- [0034] 본 발명의 힘줄 질환은 과용 또는 노화로 인해 점차적으로 힘줄에 마모가 일어나고, 인열이 일어나 발생하는 힘줄의 만성 장애 또는 손상이거나, 염증이거나, 급성 손상으로 인한 힘줄의 파열 또는 골로부터 힘줄이 분리되어 발생하는 것일 수 있다. 구체적으로, 아킬레스 건 질환, 슬개건 질환, 외측 상과염, 내측 상과염, 족저 근막염, 회전근개 건 질환, 건활막염, 건병증, 건염, 건초염, 건 손상 및 건 박리로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0035] 본 발명의 인대는 뼈와 뼈를 연결하는 결합조직을 말한다.
- [0036] 본 발명의 인대 손상은 인대의 부분 파열, 완전 파열 또는 변성을 의미한다. 인대 손상시 관절의 움직임 축의 이상이 생겨 연골 등 관절내 구조 손상이 발생하고, 관절염으로 진행될 수 있다.
- [0037] 본 발명의 인대 질환은 십자인대 손상, 측관절 인대 손상, 측부인대 손상, 염증, 인대 파열 및 인대 염좌로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

- [0038] 본 발명의 치료는 일반적으로 원하는 약학적 및/또는 생리적 효과를 얻는 것을 의미하기 위해 사용된다. 바람직하게는 그 효과는 힘줄 손상 또는 인대 손상을 부분적으로 또는 완전하게 치료하는 측면에서 효과적이다. 즉, 치료는 단순히 증상의 개선 또는 질병의 마커의 감소뿐 아니라, 치료가 없을 때에도 기대될 수 있을 증상의 진전 또는 악화의 중단 또는 해결을 포함할 수 있다. 유익한 또는 원하는 임상적 결과는 검출가능하거나 그렇지 않거나 하나 또는 그보다 많은 증상(들)의 경감, 질병의 정도의 축소, 질병의 안정화된(즉 악화되지 않은) 상태, 질병 진전의 지연 또는 해결, 질병 상태의 개선 또는 일시적 완화 및 차도(부분적이거나 총체적이거나)를 포함할 수 있으며, 이에 제한되지 않는다.
- [0039] 본 발명의 지지체는 Col1(Collagen 1) 및 Col3(Collagen 3)의 유전자 발현을 증가시킬 수 있다.
- [0040] 본 발명의 구체적인 일 실시예에서, Collagen1, Collagen3의 유전자 발현이 다공성 히알루론산 동결융해겔에 아텔로콜라겐을 동결융해겔의 기공 안에 주입한 지지체를 회전근 개 봉합 부위 위에 봉합한 군에서 가장 높았음을 확인하였다.
- [0041] 상기 지지체는 힘줄 또는 인대의 강성(stiffness)을 증가시킬 수 있다.
- [0042] 본 발명의 구체적인 일 실시예에서, 히알루론산 다공성 폴리머에 아텔로콜라겐을 삽입한 군의 생역학적 결과(강성, stiffness)가 가장 우수함을 확인하였다. 본 발명 지지체의 강성은 30 내지 60 N/mm일 수 있으며, 구체적으로 35 내지 55 N/mm일 수 있으며, 보다 구체적으로 42 N/mm일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0043] 또한, 상기 지지체는 힘줄 또는 인대의 염증을 치료하고, 힘줄 또는 인대의 재파열을 예방하는 것을 특징으로 할 수 있다.
- [0044] 본 발명의 예방은 질환 또는 질병을 보유하고 있다고 진단된 적은 없으나, 힘줄 또는 인대 질환 또는 질병에 걸릴 가능성이 있는 대상체에서 질환 또는 질병의 발생을 억제하는 것을 의미한다.
- [0046] 또한, 본 발명은 i) 히알루론산 및 개시제를 포함하는 용액을 생흡수성 공중합체 섬유를 포함하는 몰드에 넣어 동결융해겔화(Cryogelation)하여 다공성 히알루론산 동결융해겔을 제조하는 단계; 및 ii) 상기 i) 단계의 결과물의 기공에 콜라겐을 담지하는 단계를 포함하는 힘줄 또는 인대 손상 및 질환의 치료용 지지체 제조방법을 제공한다.
- [0047] 본 발명의 히알루론산, 동결융해겔화, 동결융해겔, 공중합체, 콜라겐, 힘줄, 힘줄 손상, 힘줄 질환, 인대, 인대 손상, 인대 질환, 치료 및 지지체는 상기 기재된 바와 같다.
- [0048] 본 발명의 상기 용액 내 히알루론산은 0.1 내지 3 중량%일 수 있으며, 구체적으로 0.5 내지 2 중량%일 수 있고, 보다 구체적으로 1 중량%일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 상기 히알루론산이 용액 내 0.1 중량% 미만일 경우 물성이 현저히 낮아 쉽게 분해될 수 있고, 3 중량% 초과일 경우 다공성의 지지체를 형성하는데 어려울 수 있다.
- [0049] 본 발명의 동결융해겔화는 -20 내지 -40℃에서 15 내지 20시간 동안 수행될 수 있으며, 구체적으로 -20 내지 -30℃에서 16 내지 19시간 동안 수행될 수 있고, 보다 구체적으로 -20℃에서 18시간 동안 수행될 수 있다.
- [0050] 본 발명의 다공성 히알루론산 동결융해겔은 메타크릴화 히알루론산(Hyaluronic Acid Methacrylate; HAMA) 또는 티올화 히알루론산(Thiolated Hyaluronic Acid)을 전구체로 하여 동결융해겔화(cryo-gelation)를 통해 합성될 수 있다.
- [0051] 본 발명의 공중합체는 폴리(락타이드-co-글리콜라이드)(PLGA)일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 상기 공중합체는 다공성 히알루론산 동결융해겔의 제1 면에만 부착되는 것을 특징으로 할 수 있다.
- [0052] 본 발명의 구체적인 일 실시예에서, 상기 다공성 히알루론산 동결융해겔은 낮은 기계적 물성으로 일반 봉합사 이용시 스캐폴드가 파괴될 수 있으므로, PLGA mesh를 사용하였다.
- [0053] 본 발명의 힘줄 질환은 과용 또는 노화로 인해 점차적으로 힘줄에 마모가 일어나고, 인열이 일어나 발생하는 힘줄의 만성 장애 또는 손상이거나, 염증이거나, 급성 손상으로 인한 힘줄의 파열 또는 골로부터 힘줄이 분리되어 발생하는 것일 수 있다. 구체적으로, 아킬레스 건 질환, 슬개건 질환, 외측 상과염, 내측 상과염, 족저 근막염, 회전근개 건 질환, 건활막염, 건병증, 건염, 건초염, 건 손상 및 건 박리로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0054] 본 발명의 인대 질환은 십자인대 손상, 족관절 인대 손상, 측부인대 손상, 염증, 인대 파열 및 인대 염좌로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

발명의 효과

[0056] 본 발명은 힘줄 또는 인대 질환의 치료 및 회복을 위해 사용되는 히알루론산의 다공성 폴리머에 아텔로콜라겐을 삽입한 지지체를 제공하며, 본 발명의 지지체는 봉합부위에서 장기간 천천히 분비되도록 함으로써 상기 히알루론산 및 아텔로콜라겐의 효능을 향상시켜 시너지 효과가 있고, 상기 기계적 물성이 높은 다공성 지지체는 파열된 힘줄의 봉합부위를 결합시키고 주변세포 재생과정을 위한 미세환경을 제공하여 힘줄 또는 인대 질환의 치료 및 회복을 위해 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0058] 도 1은 다공성 히알루론산 동결융해겔의 제조과정을 나타낸 도이다.
 도 2는 압축에 대한 기계적 안정성을 가지는 다공성 스캐폴드의 특성을 나타낸 도이다.
 도 3은 PLGA mesh가 한쪽 면에 고정된 다공성 히알루론산 동결융해겔의 제조과정 및 제조된 동결융해겔을 나타낸 도이다.
 도 4는 다공성 히알루론산 동결융해겔의 빈 공간에 아텔로콜라겐을 담지시켜 제조된 히알루론산/아텔로콜라겐 지지체를 나타낸 도이다.
 도 5는 동결융해겔의 거대기공에 로딩된 아텔로콜라겐의 안정성을 나타낸 도이다.
 도 6은 대면적으로 제조된 다공성 히알루론산 동결융해겔의 빈 공간(기공)에 아텔로콜라겐을 담지시킨 히알루론산/아텔로콜라겐 지지체를 나타낸 도이다.
 도 7은 아텔로콜라겐이 담지된 다공성 히알루론산 지지체의 형태를 나타낸 도이다.
 도 8은 토끼의 회전근 개 파열 모델로서 극상건을 골 부착부로부터 완전히 절개한 후 봉합을 수행한 것을 나타낸 도이다.
 도 9는 콜라겐 섬유 연속성 및 평행성을 마운 삼색 염색 및 사프란인 O 염색을 통해 확인한 도이다.
 도 10은 히알루론산 다공성 폴리머에 아텔로콜라겐을 삽입한 실험군의 생역학적 결과(강성, stiffness)를 나타낸 도이다(1군은 생리식염수 0.5cc 주입한 후 봉합한 것이고, 2군은 다공성 히알루론산 동결융해겔만을 회전근 개 봉합 부위 위에 봉합한 것이고, 3군은 아텔로콜라겐만을 주입한 후 봉합한 군이고, 4군은 다공성 히알루론산 동결융해겔에 아텔로콜라겐을 동결융해겔의 기공 안에 주입한 히알루론산/아텔로콜라겐 지지체를 회전근 개 봉합 부위 위에 봉합한 것임).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0059] 이하, 본 발명의 내용을 하기의 실시예 및 실험예를 통해 더욱 상세히 설명하고자 한다. 다만, 본 발명의 권리 범위가 하기 실시예 및 실험예에만 한정되는 것은 아니고, 이와 등가의 기술적 사상의 변형까지를 포함한다.

[0061] 실시예 1. 다공성 지지체(스캐폴드)의 제작

[0062] 1-1. 히알루론산 및 아텔로콜라겐 준비

[0063] 히알루론산은 N-아세틸글루코사민과 글루쿠론산으로 이루어진 고분자 화합물로 연골 형성에 대한 효과가 있는 물질로 시그마 알드리치(Sigma-aldrich)의 히알루론산나트륨염(hyaluronic acid sodium salt)을 사용하였다.

[0064] 아텔로콜라겐은 돼지의 콜라겐 1형에서 과민반응을 일으키는 항원성 물질인 양 끝단의 텔로펩타이드를 잘라 얻은 교원질 성분으로 국내에서 시판되고 있는 유바이오시스㈜의 텐도리젠(Tendoregen)을 사용하였다.

[0066] **1-2. 다공성 히알루론산 동결융해겔의 제조**

[0067] 다공성 히알루론산 동결융해겔은 메타크릴화 히알루론산(Hyaluronic Acid Methacrylate; HAMA)을 전구체로 하여 동결융해겔화(cryo-gelation)를 통해 합성하였다. 즉, 18시간 동안 -20°C 에서 0.4wt% 암모늄 퍼옥시디설페이트(APS) 및 0.1wt% N,N',N'-테트라메틸에틸렌디아민(TEMED)을 개시제로 사용하여 물의 어는 점 이하의 낮은 온도에서 자유라디칼 중합에 의한 동결융해 중합과정(cryo-polymerization)을 통해 메타크릴화 히알루론산의 동결융해겔화를 수행하였다. 동결융해겔은 압축력을 제거한 후 형태를 회복할 수 있어, 압축에 대한 기계적 안정성을 나타낸다. 그러나 붕합에는 적합하지 않다.

[0068] 이에, 동결융해중합과정에서 형성된 얼음 결정(ice crystal)을 제거하여 거대다공성(macroporous) 구조를 가지게 하였다(도 1). 이는 기공들이 모두 연결된 상호연결된 구조(interconnected structure)로 탄성 및 회복력을 지니고 있어, 점도(viscosity)가 매우 높은 아텔로콜라겐의 담지 및 방출에 적합한 물성을 지니고 있다(도 2).

[0069] 그러나, 상기 다공성 히알루론산 동결융해겔만 적용할 경우 붕합시 스캐폴드가 쉽게 파괴될 수 있다. 이러한 문제점을 해결하기 위해 PLGA mesh가 제1 면에 고정된 다공성 히알루론산 동결융해겔을 제조하였다(도 3). 즉, 1 wt% 메타크릴화 히알루론산 및 개시제를 포함하는 용액을 동결융해겔화하고, PLGA mesh를 한쪽 면에 부착하여 히알루론산 기반 다공성 동결융해겔을 제조하였다.

[0071] **1-3. 다공성 동결융해겔에 아텔로콜라겐 담지**

[0072] 아텔로콜라겐 및 히알루론산의 단순 혼합이 아닌, 다공성 히알루론산 동결융해겔의 빈 공간(기공)에 아텔로콜라겐을 담지시켜 히알루론산/아텔로콜라겐 지지체를 제조하였다. 기포가 없으면 거대기공(macropores)이 아텔로콜라겐으로 잘 채워져있음을 나타내고, 기포는 지지체의 빈 구멍을 나타낸다(도 4).

[0073] 증류수에 히알루론산 동결융해겔/아텔로콜라겐을 강하게 흔들고 10초 동안 초음파 처리한 후 결과를 보면, 동결융해겔의 거대기공에 로딩된 아텔로콜라겐의 안정성을 확인할 수 있다(도 5). 아텔로콜라겐이 다공성 히알루론산 스캐폴드의 기공 내부에 안정적으로 탑재(load)되어 흔들어도 아텔로콜라겐이 외부로 떨어져나가거나 방출되지 않는 것을 확인할 수 있고, 이와 대조적으로 아텔로콜라겐을 스캐폴드 표면에 단순히 얹어놓은 형태 또는 표면에 눌러놓은 형태인 경우 탑재가 제대로 되지 않아 다 떨어져 나가는 것을 알 수 있다.

[0074] 이는 대면적으로도 제조될 수 있으며, 구체적으로 65mm x 65mm x 6mm로 제작될 수 있다(도 6).

[0075] 상기 실시예 1-1 내지 1-3의 결과 제조된 아텔로콜라겐이 담지된 히알루론산 동결융해겔은 도 7과 같으며, 70% 에탄올 처리로 멸균된 히알루론산 동결융해겔에 아텔로콜라겐 담지 직후 및 PBS에 삽입된 것을 나타낸다(도 7).

[0077] **실시예 2. 동물의 수를 산출한 통계학적 근거**

[0078] 총 4군으로 나누어 실험하였다. 4군을 붕합 후 12주째 적출하여 조직학적, 생역학적 검사를 시행하였다. 최대 파열 강도의 유의한 차이를 보이는 실험 동물의 수는 최대 파열 강도의 평균 90N, 표준편차 40N, α error=0.05, β error=0.2, 탈락율 25%로 한 검정력 분석(power analysis)을 통해 각 군마다 8마리로 총 32마리로 실험을 수행하였다.

[0080] **실시예 3. 동물 실험**

[0081] 실험 토끼를 알파산(Alfaxan) 5mg/kg IM와 자일라진(xylazine) 5-10mg/kg IM 투여 후 전신 마취시킨 후, 양측 견관절 부에 면도를 시행한 후 항생제를 근주하고 수술대에 복와위로 위치시켰다. 피부 소독을 시행하고, 소독된 방포로 수술부만 노출시키고 견관절의 외측에 3cm의 측방 절개를 가하였다. 이후 극상건을 노출시키고, 상완골 대 결절 부착 부위를 확인하였다.

[0082] 양측지 극상건의 전 너비를 메스로 대 결절로부터 예리하게 분리시키고, 어떠한 건 및 섬유 연골 조직도 대 결절에 붙어있지 않도록 완전히 절개하였다. 만성 회전근 개 파열 모델을 만들기 위해 붕합은 파열 모델을 만든 후 6주가 지난 후에 행하였다. 대 결절 부위에 골 경유 붕합법으로 골 터널을 뚫고 각 터널에 2가닥의 붕합사를 통과시켜 극상근의 붕합술을 수행하였다(도 8).

[0083] 봉합술을 수행하면서 하기 실험에 맞추어 해당 물질을 주입하였다. 이후, 피부를 봉합하고 수술 후 항생제를 1회 주입한 후, 자유롭게 활동하도록 사육하였다. 수술 후 2일간 통증 조절을 위해 진통제를 피하 주사하였다. 수술 후 3일간 NSAIDs인 케토프로펜(Ketoprofen)을 1-3mg/kg으로 1M 주사하였다. 1일 2회 주사하였으며, 필요시 1-2회 추가 주사하여 통증을 최소화하고자 하였다. 넥칼라(neck collar)를 착용시켜 수술 부위를 뜯거나 핏지 않도록 하였고, 그 외 자유롭게 활동하고 물과 음식을 먹을 수 있도록 사육하였다.

[0084] 본 발명에서 동물 실험을 통해 다공성 히알루론산 동결융해겔에 아텔로콜라겐을 동결융해겔의 기공 안으로 주입한 지지체의 회전근 개 치유에 대한 효과를 분석하고자 하였다. 파열을 만든 후 6주가 지난 만성 회전근 개 파열 모델에 1군은 생리식염수 0.5cc 주입한 후 봉합하였다. 2군은 다공성 히알루론산 동결융해겔만을 회전근 개 봉합 부위 위에 봉합하였다. 3군은 아텔로콜라겐만을 주입한 후 봉합하였다. 4군은 다공성 히알루론산 동결융해겔에 아텔로콜라겐을 동결융해겔의 기공 안에 주입한 지지체를 회전근 개 봉합 부위 위에 봉합하였다.

[0086] 실시예 4. 수술 후 평가

[0087] 봉합 후 12주째에 모든 군에 관하여 동일한 방법으로 알파산 5mg/kg 1M와 자일라진 5-10mg/kg 1M 투여 후에 전신마취한 후 염화칼륨 2mmol/kg을 정맥 투여하여 안락사시켰다.

[0088] 절개 부위로 박리해 들어가 양측 지 극상근을 노출시키고, 양측지의 극상근을 포함하여 상완골의 5cm 원위부까지 적출하였다. 우측 힘줄의 일부 조직을 채취하여 건의 유전자 발현(gene expression)을 확인하기 위해 동결튜브(cryotube)에 넣은 후 즉시 액체 질소에 넣어 동결시킨다.

[0089] 이후 남아있는 우측지 극상근을 골-건 결합부에서 1cm 근위부를 횡으로 절개하여 조직학적 검사를 위해 10% 완충 포르말린(buffered formalin, pH 7.4)에 고정시키고, 파라핀(paraffin)에 포매하였다. 좌측지는 생역학적 검사를 수행하였다. 근-건 결합부에서 5cm 근위부를 횡으로 절개하였고, 상완골의 5cm 원위부를 횡으로 절개하였다.

[0090] 생역학적 인장 강도를 측정하는 기계로 만능 재료 시험기(Shimadzu, AGS-X)를 사용하였고, 근육 및 건을 상부 지그에 강하게 고정시키고, 상완골은 하부 고정 장치에 강하게 고정시켜 인장시 조직이 미끄러지지 않도록 한 상태로 측정하였다.

[0092] 실험예 1. 근육 및 건의 유전자 발현 측정

[0093] 모든 군에서 봉합 후 12주째 적출할 때 우측지에서 일부 힘줄을 채취하여 콜라겐 I과 III에서 발현되는 Col1, Col3과, 힘줄 형성시 발현되는 Sderaxis, 연골 형성시 발현되는 sox9, 아그레칸(aggrecan), 및 뼈 형성시 발현되는 BMP-2의 유전자 발현을 확인하였다.

[0094] RNeasy Mini Kit를 사용하여 조직에서 RNA를 추출한 후 cDNA의 합성 및 증폭을 하며, 마지막으로 qRT-PCR: Power SYBR®를 사용하여 실시간 중합효소연쇄반응(real time PCR)으로 각 RNA의 발현을 확인하였다.

[0095] 그 결과, Collagen1, Collagen3의 유전자 발현이 다공성 히알루론산 동결융해겔의 기공에 아텔로콜라겐이 주입된 지지체를 회전근 개 봉합 부위 위에 봉합한 4군에서 가장 높았음을 확인하였다(표 1).

표 1

	Group 1	Group 2	Group 3	Group 4	P value
Collagen1	1.1±0.6	1.0±0.3	1.2±0.7	1.3±0.9	0.947
Collagen3	1.3±0.9	1.2±0.8	1.3±1.0	1.3±0.9	0.971
SOX	1.1±0.4	1.0±0.3	1.2±0.6	1.1±0.5	0.750
SCX	1.1±0.5	1.0±0.4	1.1±0.4	1.1±0.4	0.976

[0096]

[0098] 이는 회전근 개 파열에 대한 본 발명의 히알루론산/아텔로콜라겐 지지체를 이용한 부분 봉합은 매우 효과적임을 시사한다.

[0100] **실험예 2. 조직학적 분석**

[0101] 모든 군에서 봉합 후 12주째 적출할 때 우측지를 적출하여 골-건 접합부를 조직학적으로 분석하였다. H&E 염색(staining), 마손 삼색 염색(Masson trichrome staining), 사프란인 O 염색(Safranin O staining)을 수행하였다.

[0102] 골-건 접합부의 콜라겐 배열에 관하여 100배 배율 하에서 현미경(Olympus BX51, Olympus, Tokyo, Japan)으로 관찰하였으며, AxioVision v. 4.4(Carl Zeiss) 프로그램을 사용하여 이미지를 캡처한 후 혈관질(vascularity), 세포질(cellularity), 콜라겐 섬유 연속성(collagen fiber continuity), 힘줄-뼈 경계면(tendon to bone interface)에 평행한 섬유의 비율을 측정하였다.

[0103] 콜라겐 섬유(collagen fiber)는 마손 삼색 염색에서 청색(blue color)으로 염색되어 연속성(continuity) 및 평행성(parallel)을 확인하였다. 또한, 사프란인 O 염색을 통하여 섬유연골이 형성된 것을 확인하였다(도 9).

[0105] **실험예 3. 생역학적 인장강도 측정**

[0106] 생역학적인 인장강도를 측정하는 기계로 만능 재료 시험기(Shimadzu, AGS-X)를 사용하였고, 근육 및 건을 상부 지그에 강하게 고정시키고, 상완골은 하부 고정 장치에 강하게 고정하여 인장시 조직이 미끄러지지 않도록 하였다.

[0107] 건은 원래의 해부학적 방향에 따라 인장되며, 초기 5N에서 최대 50N까지 15N/s의 부하 속도로 전처리(preconditioning)를 수행한 후, 5N의 전부하(preload), 1mm/s의 속도로 인장강도가 40% 떨어지는 순간까지 측정하였다.

[0108] 파열시 최대 부하 및 강도 등의 데이터는 컴퓨터에 연결된 데이터 측정 시스템(data acquisition system)을 통해 자동적으로 저장되었다.

[0109] 결과 변수는 하기와 같다: i) 인장 실험에 의한 파열 부위 및 모드(suture pullout 또는 tendon mid substance tear), ii) 파열시의 최대 부하(maximal load at failure), iii) 힘줄의 강성(Stiffness).

[0110] 그 결과, 히알루론산 다공성 폴리머에 아텔로콜라겐을 삽입한 4군의 생역학적 결과(강성, stiffness)가 가장 우수함을 확인하였다(표 2 및 도 10).

표 2

	Group 1 (n = 6)	Group 2 (n = 6)	Group 3 (n = 7)	Group 4 (n = 8)	P value
Load to failure (N)	138.6±38.7	164.5±49.5	158.4±76.1	191.3±101.4	0.762
Load to failure (N/kg)	28.3±7.7	36.6±13.2	37.8±18.7	46.6±26.3	0.538
Stiffness (N/mm)	22.8±6.9	21.5±3.9	31.2±10.8	42.2±7.5	0.005

[0111]

[0113] **실험예 4. 통계 및 분석**

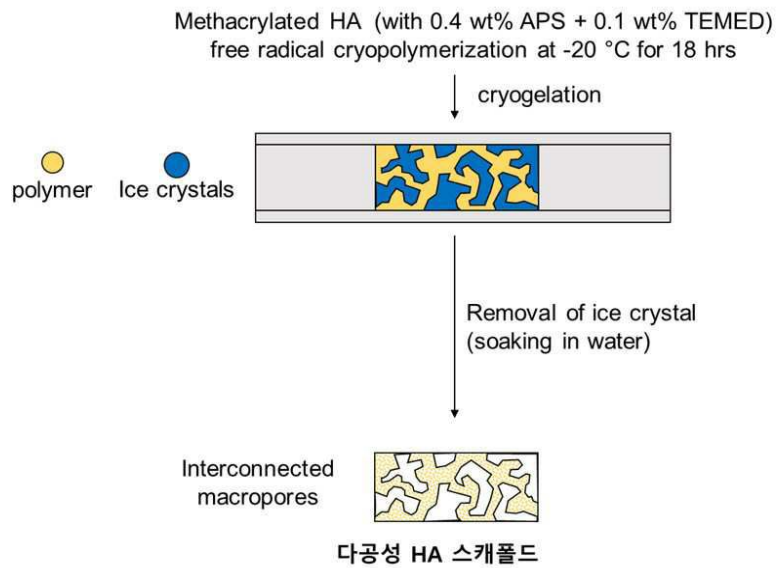
[0114] 결과치가 연속치인 변수에 대해 크루스칼 월리스 검정(Kruskal-Wallis test), 사후 만-휘트니 검정(post-hoc Mann-Whitney test)을 이용하여 유전자 발현 분석, 조직학적 검사, 생역학적 최대 파열 부하 및 강성의 차이가 각 군에 있는지 분석하였다. 결과치가 비연속 변수인 파열 부위 및 모드는 피셔정확검정(Fisher's exact test)으로 각 군간을 비교하였다. 모든 통계적 분석은 SPSS 프로그램(version 15.0, SPSS Inc., Chicago, IL)을 이용하여, P 값이 0.05 이하인 경우를 통계적으로 유의하다고 보았다.

[0116] 이상, 첨부된 도면을 참조로 하여 본 발명의 실시예를 설명하였지만, 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 기술자는 본 발명이 그 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 실시될 수 있다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로, 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며, 제한적이

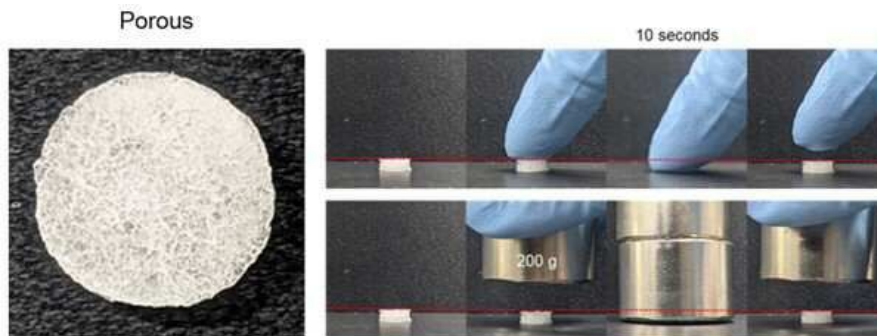
아닌 것으로 이해해야만 한다.

도면

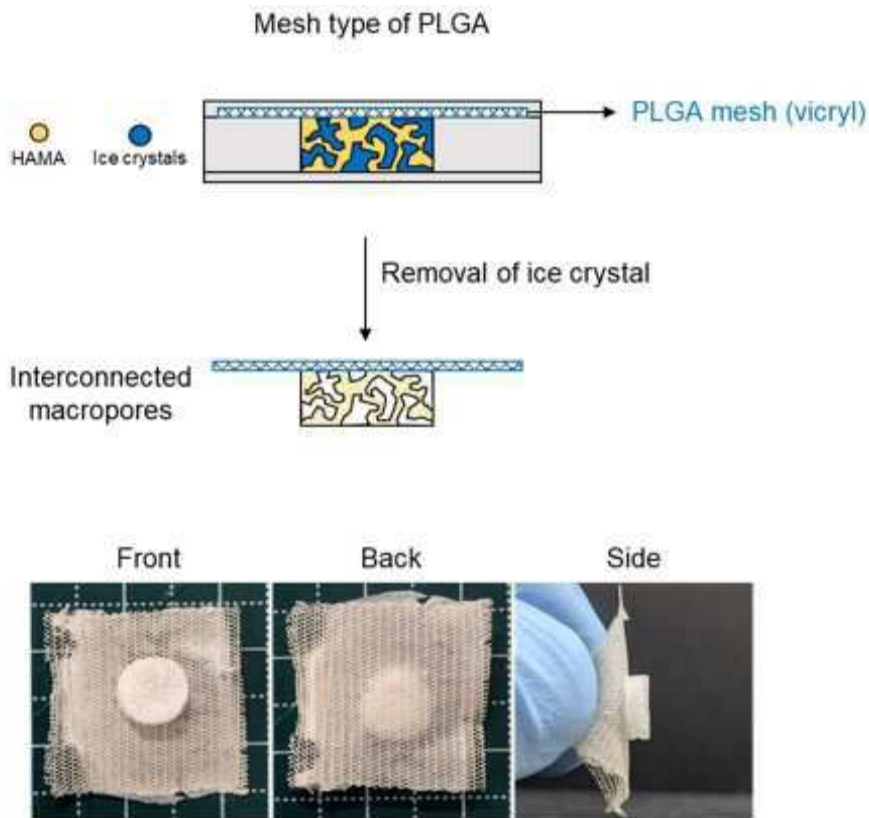
도면1



도면2



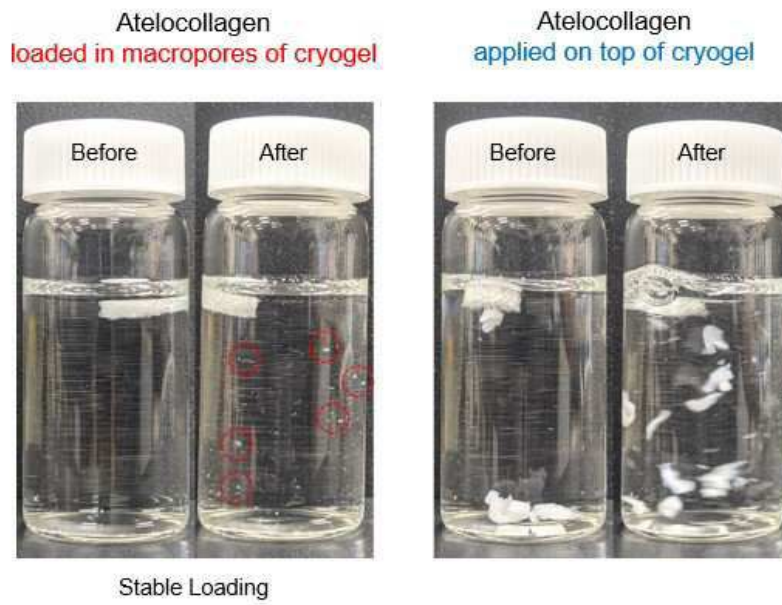
도면3



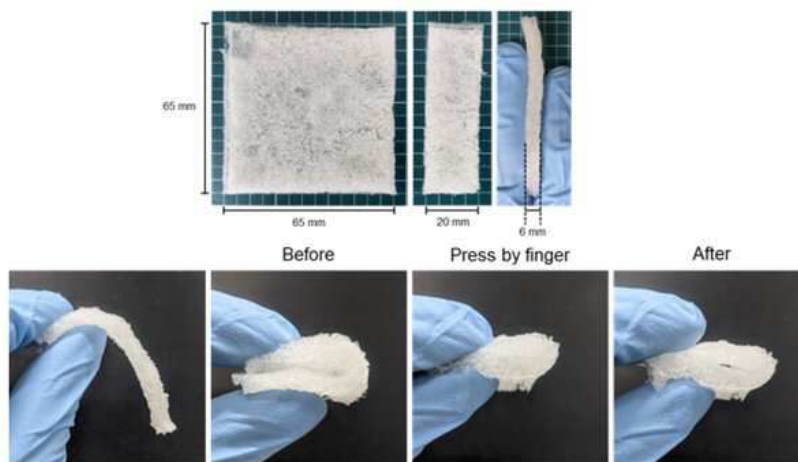
도면4



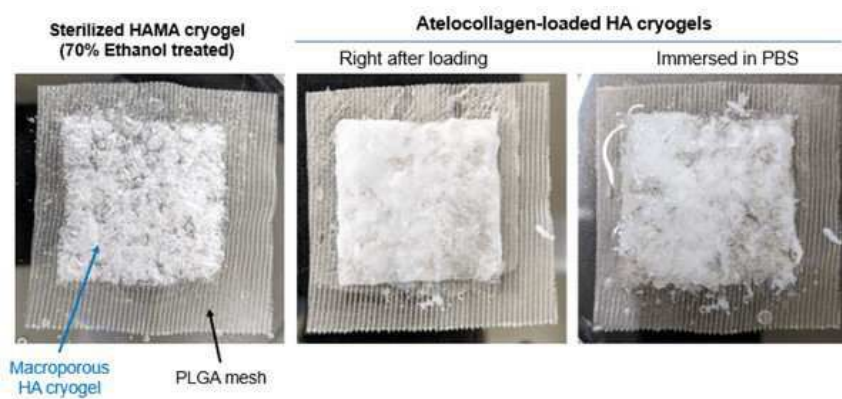
도면5



도면6



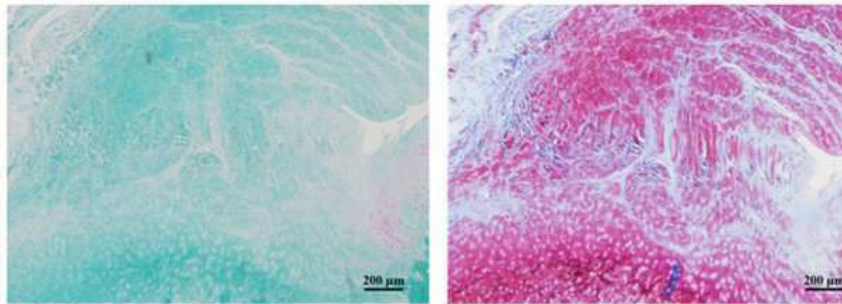
도면7



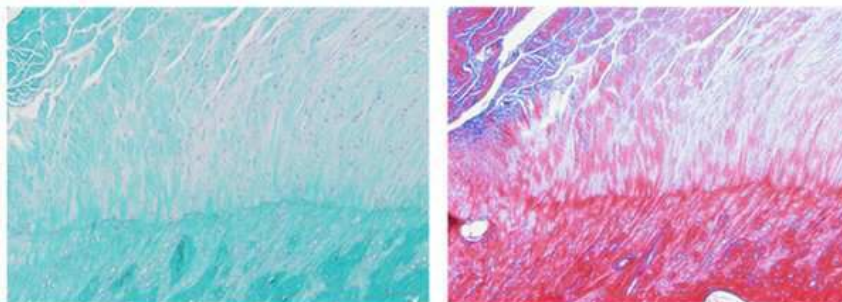
도면8



도면9



Saline을 넣은 군은 Collagen 방향이 일정하지 않으며 엉성하게 이루어져 있다.



다공성 동결융해겔에 아텔로콜라겐을 담지한 스캐폴드를 넣은 군은 Collagen 방향이 일정하게 평행을 이루고 있는 것을 확인할 수 있다.

도면10

