(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2014-0055440
(43) 공개일자 2014년05월09일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 9/06 (2006.01) *A61K 47/38* (2006.01)
A61K 47/42 (2006.01) *A61P 17/02* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2012-0122377
(22) 출원일자 2012년10월31일
심사청구일자 2012년10월31일

(71) 출원인
한림대학교 산학협력단
강원도 춘천시 한림대학길 1, 한림대학교(옥천동)
(주)시지바이오
경기 성남시 중원구 갈마치로 244, (상대원동)
(72) 발명자
박찬흠
강원 춘천시 지석로 67, 204동 1302호 (석사동, 현진에버빌2차)
이옥주
강원 춘천시 삭주로145번길 15, 102동 208호 (후평동, 춘천아파트)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
최규팔

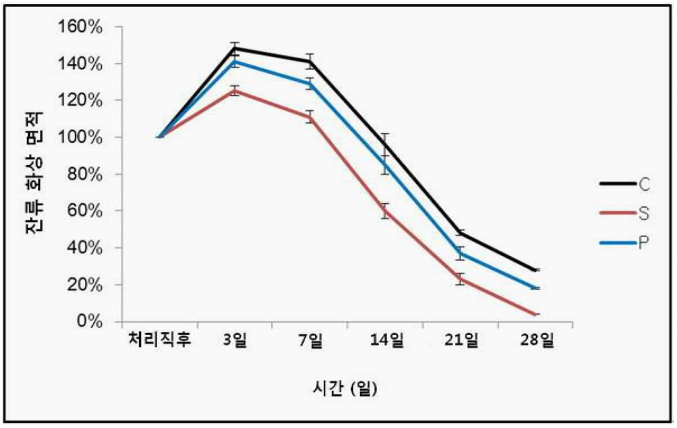
전체 청구항 수 : 총 6 항

(54) 발명의 명칭 **실크 피브로인을 포함하는 화상치료용 하이드로겔조성물**

(57) 요 약

본 발명은 실크 피브로인을 포함하는 화상 치료용 하이드로겔 조성물에 관한 것으로, 보다 상세하게는 누에고치에서 추출한 실크 피브로인, 및 겔화제로서 소듐 카르복시메틸 셀룰로오스 및 제2 겔화제를 사용하여 제조된 화상 치료용 하이드로겔 조성물에 관한 것이다.

대 표 도 - 도4



(72) 발명자

김지희

서울 송파구 백제고분로37가길 16, 1층 2호 (석촌동, 호반빌라)

이정민

경기 구리시 원수택로12번길 27, 201호 (수택동)

주형우

경기 남양주시 도농로 34, 508동 2302호 (도농동, 부영그린타운)

문보미

서울 도봉구 마들로 735-8, 101동 808호 (도봉동, 현대성우아파트)

유현승

경기 용인시 기흥구 구성로 411, 807동 1302호 구성택지개발지구 (청덕동, 물푸레마을호반베르디움 8단지아파트)

최원익

경기 성남시 분당구 내정로166번길 42, 123동 1501호 (수내동, 파크타운삼익아파트)

박희준

서울 강남구 봉은사로57길 33, 3차 301호 (삼성동, 멤버스카운티)

박초희

경기 성남시 중원구 황송로77번길 21, 101동 304호 (금광동, 다솜마을)

서준혁

경기도 성남시 분당구 동판교로 226 봇들마을 4단지 402동1502호

민경단

경기 안양시 만안구 안양천서로 289, 107동 1101호 (안양동, 주공뜨란채)

특허청구의 범위

청구항 1

실크피브로인 0.1 내지 8 중량%, 제1 겔화제로서 소듐 카르복시메틸셀룰로오스 1 내지 5 중량%, 제2 겔화제 0.1 내지 4 중량% 및 잔량의 물을 포함하는 화상 치료용 하이드로겔 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 실크 피브로인이 1 내지 4 중량%로 포함되는 것을 특징으로 하는 화상 치료용 하이드로겔 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 소듐 카르복시메틸 셀룰로오스가 2 내지 4 중량%로 포함되는 것을 특징으로 하는 화상 치료용 하이드로겔 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 제2 겔화제가 알지네이트 금속염, 젤라틴, 키토산, 히알루론산, 펙틴, 폴리아크릴산, 폴리에틸렌글리콜 및 폴리비닐피롤리돈으로 구성되는 그룹으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 화상 치료용 하이드로겔 조성물.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 알지네이트 금속염이 소듐 알지네이트, 포타슘알지네이트 및 칼슘 알지네이트로 이루어지는 그룹으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 화상 치료용 하이드로겔 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 조성물의 점도가 8,000 내지 15,000 cPs인 것을 특징으로 하는 화상 치료용 하이드로겔 조성물.

명 세 서

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 실크 피브로인을 포함하는 화상 치료용 하이드로겔조성물에 관한 것으로, 보다 상세하게는 누에고치에서 추출한 실크 피브로인, 제1 겔화제로서 소듐 카르복시메틸 셀룰로오스 및 제2 겔화제를 포함하는 화상 치료용 하이드로겔 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 화상은 주로 열에 의해 피부에 생긴 손상을 의미하는 것으로, 조직 손상의 깊이에 따라 1도, 2도 및 3도 화상으로 구분된다.

[0003] 진피층 화상은 혈류 손상(저혈량증, 부종), 감염, 표면 건조, 삼출액 생성, 기계적 또는 화학적 외상, 패혈증, 과다한 대사작용, 동반 질환 등과 같은 여러 가지 국소적 또는 전신적 요인이 작용한다. 따라서 치료 전략을 세우는 것이 상처 치유에 중요한 역할을 한다. 전통적인 방법으로는 괴사 조직이나 가피, 이물질 등을 제거하고 충분히 세척한 후 실버 설파다이아진 (silver sulfadiazine, Silvadine™, Flamazine™)을 도포하고 거즈를 올린 다음 폐쇄 드레싱을 시행한다. 그러나 상기 방법은 치유 기간을 연장시킬 수 있고 거즈 교환시 심한 통증과 외상을 유발한다. 또 다른 방법으로 파라핀 거즈 등이 사용된다. 화상 치료의 주된 필요조건은 쉽게 이용할 수 있으면서 통증을 줄여주고 치유를 증진시키면서 감염으로부터 예방할 수 있고 열과 수분 손실을 막을 수 있어야 한다. 또한, 움직임에 불편함이 없어야 되며 알레르기 반응을 유발하지 않아야 하고, 화상의 표피화가 진행되는 동안 상처에 잘 부착될 수 있어야 한다.

[0004] 이와 함께 화상 치료에 있어 무엇보다도 중요한 것은 화상이 나은 후에 흉터 및 구축이 적어야 한다. 그러나 아

직까지 화상 치료 효과가 뛰어나면서 흉터 및 구축이 적은 화상 치료용 제제의 개발이 미미한 상태로 이에 대한 개발이 강하게 요구되고 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 따라서 본 발명은 화상 치유를 촉진시키고, 열과 수분의 손실을 차단하면서, 조직의 손상 없이 제거가 쉬우며, 치유 후 흉터 및 구축이 적은 실크 피브로인 함유 화상 치료용 조성물을 제공하는 것을 그 기술적 과제로 한다.

과제의 해결 수단

[0006] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 실크피브로인 0.1 내지 8 중량%, 제1 겔화제로서 소듐 카르복시메틸 셀룰로오스 1 내지 5 중량%, 제2 겔화제 0.1 내지 4 중량% 및 잔량의 물을 포함하는 화상 치료용 하이드로겔조성물을 제공한다.

[0007] 이하에서 본 발명을 상세하게 설명한다.

[0008] 본 발명의 화상 치료용 하이드로겔 조성물은 실크 피브로인을 함유한다. 실크 피브로인은 누에고치로부터 정련 과정을 거쳐 얻을 수 있고, 실크 피브로인의 정련 과정은 누에고치 또는 견섬유에서 세라신을 제거한 후 얻어진 실크단백질 또는 실크단백질 복합체 용액을 탈염 및 건조하여 얻을 수 있다. 여기에서, 상기 실크단백질 또는 실크단백질 복합체 용액은 브롬화리듐(LiBr), 염화리듐($LiCl_2$), 염화아연($ZnCl_2$) 또는 염화칼슘($CaCl_2$) 중 적어도 하나의 화합물 또는 이를 포함한 에탄올 수용액으로 이루어진 차오트로픽(chaotropic) 염을 사용하여 용해하는 것이 바람직하다.

[0009] 본 발명의 화상 치료용 하이드로겔 조성물에서 실크 피브로인은 0.1 내지 8 중량%, 더 바람직하게는 0.5 내지 6 중량%, 더 바람직하게는 1 내지 4 중량%가 포함된다. 본 발명에서 실크 피브로인이 0.1 중량% 미만으로 포함될 경우에는 그 효과가 미미할 수 있고, 8 중량%를 초과하여 포함되더라도 투입에 따른 상승효과가 적기 때문에 경제상 바람직하지 않다.

[0010] 본 발명의 화상 치료용 하이드로겔 조성물은 제1 겔화제로서 소듐 카르복시메틸 셀룰로오스(sodium carboxymethyl cellulose)를 포함한다. 본 발명의 화상 치료용 하이드로겔 조성물에서 소듐 카르복시메틸 셀룰로오스는 1 내지 5 중량%, 더 바람직하게는 2 내지 4 중량%가 포함된다. 본 발명에서 소듐 카르복시메틸 셀룰로오스가 1 중량% 미만으로 포함될 경우 점도가 낮아 화상부위에서 점착되지 않고 흘러내릴 수 있고, 5 중량%를 초과하여 포함될 경우 점도가 높아 성형이 어려워질 수 있다.

[0011] 본 발명의 화상 치료용 하이드로겔 조성물은 제2 겔화제를 포함한다. 본 발명에서 제2 겔화제는, 바람직하게는 알지네이트 금속염, 젤라틴(gelatin), 키토산(chitosan), 히알루론산(hyaluronic acid), 펙틴(pectin), 폴리아크릴산(polyacrylic acid), 폴리에틸렌글리콜(polyethylene glycol) 또는 폴리비닐피롤리돈(polyvinyl pyrrolidone)이다. 본 발명에서 알지네이트 금속염은 바람직하게는 소듐 알지네이트, 포타슘 알지네이트 또는 칼슘 알지네이트이다. 본 발명의 화상 치료용 하이드로겔 조성물에서 제2 겔화제는 0.1 내지 4 중량%, 더 바람직하게는 0.1 내지 3 중량%가 포함된다. 본 발명에서 제2 겔화제가 0.1 중량% 미만으로 포함될 경우 겔 형성에 문제가 있을 수 있고, 4 중량%를 초과하여 포함될 경우 점도가 높아져 드레싱시 도포에 어려움이 있을 수 있다.

[0012] 본 발명의 화상 치료용 하이드로겔 조성물은 상기 성분 이외에 잔량의 물, 예컨대 83 내지 98.8 중량%의 물을 포함한다.

[0013] 본 발명의 화상 치료용 하이드로겔 조성물은 바람직하게는 점도 범위는 8,000 내지 15,000 cPs의 점도를

갖는다. 본 발명에서 조성물의 점도가 8,000 cPs 미만인 경우 흐름성이 있어 드레싱에 어려움이 있을 수 있고, 15,000 cPs 이상인 경우 펴짐성이 없어 화상부위에 드레싱이 힘들 수 있다.

발명의 효과

[0014] 본 발명의 화상 치료용 하이드로겔 조성물은 통증의 경감, 2차 감염의 예방, 열과 수분의 손실 방지 등의 화상 치료 효과가 뛰어나고, 특히 화상 부위에 흉터 및 구축을 적게 남기며, 조직의 손상 없이 용이하게 제거가 가능하다.

도면의 간단한 설명

[0015] 도 1은 세포 독성 검사인 MTT 실험 결과를 나타낸 그래프이다(C: 대조군, S: 실시예군).

도 2는 쥐 등에 2도 화상을 유발하고, 이를 드레싱한 다음 촬영한 사진이다.

도 3은 쥐 등에 2도 화상 유발 후 치유 과정으로 화상 상태를 육안적으로 관찰한 사진이다(C: 관찰한 대조군, S: 실시예군, P: 비교예군).

도 4는 화상 치료 과정에서 화상의 크기 변화를 관찰한 결과를 나타낸 그래프이다(C: 대조군, S: 실시예군, P: 비교예군).

도 5는 화상 치료 과정 중 각 기간별로 채취한 조직을 H&E 염색 후 관찰한 사진이다(C: 대조군, S: 실시예군, P: 비교예군).

도 6은 화상 치료 과정 중 각 기간별로 채취한 조직에서 콜라겐 침착 정도를 확인하기 위해 Masson's trichrome 염색 후 관찰한 사진이다(C: 대조군, S: 실시예군, P: 비교예군).

도 7은 화상 치료 과정 중 각 기간별로 채취한 조직에서 TGF-beta, PDGF 및 bFGF의 발현 정도를 RT-PCR로 측정한 결과를 나타낸 그래프이다(con: 대조군, silk: 실시예군, purilon: 비교예군).

도 8은 화상 치료 과정 중 각 기간별로 채취한 조직에서 IL-1 alpha, IL-1 beta 및 IL-6의 발현 정도를 RT-PCR로 측정한 결과를 나타낸 그래프이다(con: 대조군, silk: 실시예군, purilon: 비교예군).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0016] 이하에서 본 발명을 실시예에 의하여 구체적으로 설명한다. 다만 실시예는 본 발명의 이해를 돕기 위하여 예시하는 것일 뿐 이에 의하여 본 발명의 범위가 제한되는 것은 아니다.

[0017] **실시예**

[0018] 누에고치로부터 실크 피브로인을 추출하여 화상치료용 하이드로겔 타입의 연고제를 다음의 단계에 따라 제조하였다.

[0019] (1) 누에고치 정련과정

[0020] 누에고치(*Bombyx mori*)를 0.02 M의 탄산나트륨 수용액에 넣고 100℃에서 30분 동안 가열하여 세리신 단백질 및 불순물 등을 제거한 다음 증류수로 세척하여 순수한 실크 피브로인을 얻었다.

[0021] 추출한 실크 피브로인을 9.3 M 브롬화리튬 용액에 60℃에서 4시간 동안 용해시켰다. 얻어진 약 8 중량% 실크 피브로인 용액을 48시간 동안 증류수로 투석하여 브롬화리튬 이온을 제거하여 약 3.7 중량%의 순수한 실크 피브로인 수용액을 제조하였다.

[0022] (2) 소듐 카르복시메틸 셀룰로오스 6 중량% 및 칼슘 알지네이트 1 중량%를 물에 용해하여 겔화제를 제조하였다.

[0023] (3) 겔화제와 실크 피브로인 수용액을 각각 멸균하였다.

[0024] (4) 상기 (3)의 겔화제와 실크 피브로인 수용액을 1:1의 비율로 혼합하여 실크 피브로인 1.85 중량%, 소듐 카르복시메틸 셀룰로오스 3 중량% 및 칼슘 알지네이트 0.5 중량%의 하이드로겔을 제조하였다.

[0025] **비교예**

[0026] 비교 제품으로 Coloplast사의 Puliron 겔을 사용하였다.

[0027] **실험예 1: 세포독성 MTT 실험**

[0028] 본 발명 조성물의 세포독성을 알아보기 위하여 MTT 실험을 수행하였다.

[0029] 3T3-L1 pre-adipocytes를 10% 우태아혈청(fetal bovine serum, FBS), 100 unit/㎖ 페니실린 및 100 ㎍/㎖ 스트렙토마이신이 함유된 Dulbecco's Modified Eagle's Medium(DMEM)을 이용하여, 37℃, 5% CO_2 인큐베이터에서 배양하였다. 세포가 70-80% confluent된 상태에서 분화유도물질인 덱사메타손(dexamethasone), 피오글리타존(pioglitazone), IBMX(3-isobutyl-1-methyxanthin), 인슐린 및 FBS를 함유한 DMEM으로 pre-differentiation한 후 인슐린, 피오글리타존 및 FBS를 첨가한 DMEM으로 differentiation 시켰다. Differentiation 후 10% FBS와 인슐린을 함유한 성장 배지로 지방을 성숙시켜 실험에 사용하였다. 시료는 디메틸설폭사이드(DMSO)에 녹인 후 최종 농도를 10 ㎍/㎖로 처리하였다.

[0030] 96 well plate에 각 well 당 1×10^4개의 pre-adipocytes를 넣고, 각 샘플을 처리한 후 24시간 동안 37℃, 5% CO_2 인큐베이터에서 배양하였다. 24시간 경과 후 MTT(in phosphate buffered saline, final concentration: 0.4 ㎍/㎖)을 처리하여 4시간 동안 배양한 후 생성된 포마잔(formazan) 결정을 DMSO:EtOH(1:1)로 용해시켜 microplate reader(SUNRISE, TECAN, Austria)로 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 세포생존율은 대조군의 흡광도 값에 대한 시료처리군의 흡광도 값의 비로 나타내었고, 그 결과를 도 1에 나타내었다.

[0031] 도 1에서 볼 수 있듯이, 본 발명의 조성물은 드레싱제로 사용하기에 합당한 세포 적합성을 보였다.

[0032] **실험예 2: 화상 치유 효과 동물 실험**

[0033] 본 발명 조성물의 화상치료 효과를 확인하기 위하여 동물 실험을 진행하였다.

[0034] 총 21마리의 쥐(rat)를 기간(6시간, 1일, 3일, 7일, 14일, 21일 및 28일)별로 3마리씩 분배한 다음, 쥐 등에 2도 화상(60℃, 15초)을 3군데 1 × 1.5 ㎝의 크기로 유도한 후에 대조군(거즈(gauze)), 실시예군(실크 피브로인 함유 하이드로겔) 및 비교예군(Purilon 겔)으로 나누어 드레싱하였다(도 2).

[0035] 드레싱 후 6시간, 1일, 3일, 7일, 14일, 21일 및 28일에 육안적 소견 및 화상 치유 면적 변화를 각각 도 3 및 도 4에 나타내었다.

[0036] 육안 관찰 결과 화상 치유 기간 중 대조군인 거즈에 비해 본 발명이 조성물에서 7일 이후부터 화상 면적이 감소하는 현상을 볼 수 있었다. 특히 3일 이후에는 대조군 및 비교예군에 비해 실시예군에서 화상 면적이 뚜렷이 감소하는 것을 확인하였다.

[0037] **실험예 2-1: 조직학적 관찰(H&E 염색 및 Masson's trichrome 염색)**

[0038] 드레싱 후 1일, 3일, 7일, 14일, 21일 및 28일에 기간별로 쥐를 희생하여 화상 부위 및 주변 조직을 채취한 후 조직학적 변화를 관찰하기 위해 H&E 염색을 다음과 같이 실행하였다.

[0039] (1) 채취한 조직의 파라핀블록을 4 ㎛ 두께로 박절한 후 건조시켜 파라핀 절편을 제작하였다.

[0040] (2) 탈파라핀 과정을 위해 자일렌에서 5분간 3번, 100% 에탄올에서 2분간 3번, 90% 에탄올에서 1분간 1번, 80% 에탄올에서 1분간 1번, 70% 에탄올에서 1분간 1번 반응시킨 후, 흐르는 물에 10분간 세척하였다.

[0041] (3) 헤마토자일린(hematoxylin) 염색액에 10분간 반응시킨 후 흐르는 물에 3분간 세척하고, 에오신(eosin) 염색액에 10분간 반응시킨 후 흐르는 물에 에오신 염색액이 나오지 않을 때까지 세척하였다. 70% 에탄올에 1초간 10번, 80% 에탄올에 1초간 10번, 90% 에탄올에 1초간 10번, 100% 에탄올에 1분간 2번, 자일렌에 3분간 3번 반응시킨 후, 마운팅 용액으로 마운팅하였다.

[0042] 도 5로부터 볼 수 있듯이, 화상 후 1 일차에서는 2도 화상에 준하는 조직학적 소견으로 열상으로 괴사된 조직의 깊이(검은색 양측 막힌 선)가 각 군간의 커다란 차이점이 보이지 않았으나, 3 일차에서는 실시예군에서 진피 부분의 재생이 뛰어나 대조군 및 비교예군에 비해 열상으로 괴사된 부위(검은색 양측 막힌 선)가 줄어든 것을 확인할 수 있었다. 7 일차에는 3군 모두에서 진피 및 상피 재생 과정을 확인 할 수 있었나 3 일차와 마찬가지로 실시예군에서 대조군 및 비교예군에 비해 높은 재생 효과를 확인할 수 있었다(검은색 양측 막힌 선의 길이). 14 일차에 대조군은 상피화가 완벽하게 이루어지지 않은 상태로 가피(crust) 및 부분 상피화가 있는 상태이었으나(하얀색 화살표), 실시예군 및 비교예군은 새로운 상피층이 형성되어 정상적인 상피에서 볼 수 있는 케라틴을 확인할 수 있었다(검은색 화살표).

[0043] 21 일차에 실시예군 및 비교예군에서는 정상 상피 조직으로 재생되어 케라틴 분비 소견을 보였으나(검은색 화살표), 대조군은 이에 비해 부분 상피 재생 소견 및 가피 소견을 보였다(하얀색 화살표). 28 일차에는 대조군에서는 상피층이 과성장(overgrowth) 소견을 보였으며(하얀색 화살표), 실시예군 및 비교예군에서는 비교적 완벽한 상피 및 진피 재생 소견을 보였고, 특히 실시예군의 경우 진피 부분의 재생 소견상 비교적 일정한 배열을 보여 흉터가 적은 소견을 나타내었다(검은색 화살표). 또한 같은 기간에 콜라겐 침착 및 배열을 확인 위해 Masson's trichrome 염색을 한 결과, 실시예군의 경우 대조군 및 비교예군에 비해 비교적 일정한 콜라겐 배열 소견을 확인할 수 있었으며(검은색 양측 막힌 선) 이는 실시예군이 화상 후 흉터가 적다는 것을 나타내었다.

[0044] **실험예 2-2: RT(real time)-PCR에 의한 유전자 발현 확인**

[0045] 화상 치유 과정에 관여하는 성장인자의 변화를 확인하고자 조직 재생에 관여하는 성장 인자인 TGF-beta(transforming growth factor beta), PDGF(platelet-derived growth factor) 및 bFGF(basic fibroblast growth factor)의 발현 정도를 RT(real time)-PCR로 확인하였다.

[0046] 각 유전자의 프라이머(primer)는 NCBI에 등록된 서열로부터 제작하여 PCR product 200 bp 미만으로 제작하였다. PCR은 변성(denaturation) 95℃, 20초, 결합(annealing) 50℃, 20초 및 중합반응(extention) 72℃, 20초의 조건으로 40 cycles을 수행하였다.

[0047] 측정 결과를 도 7에 나타내었다.

[0048] TGF-beta, PDGF, bFGF와 같은 조직 재생에 관여하는 성장 인자는 조직 손상의 심한 정도에 따라 초기에 증가하는데 초기에 과도한 증가는 흉터를 만들게 한다. 이와 관련하여, 실시예군의 경우 초기에 이와 같은 성장인자를 대조군 및 비교예군에 비해 억제하는 소견을 보이나 화상 치유 후기(21일)에는 증가하는 소견을 보였다. 이로써 실시예군이 화상 치유 과정에서 가장 중요한 흉터 억제 효과를 나타냄을 알 수 있었다.

[0049] 특히, 21일째 실시예군에서 발현이 증가하는 것을 확인하였는데, 이 시기는 콜라겐 합성의 증가 및 조직 재배열이 일어나는 시기여서 상기 성장인자의 발현을 증가시킴으로써 흉터 없이 화상을 치유하는 것으로 생각된다.

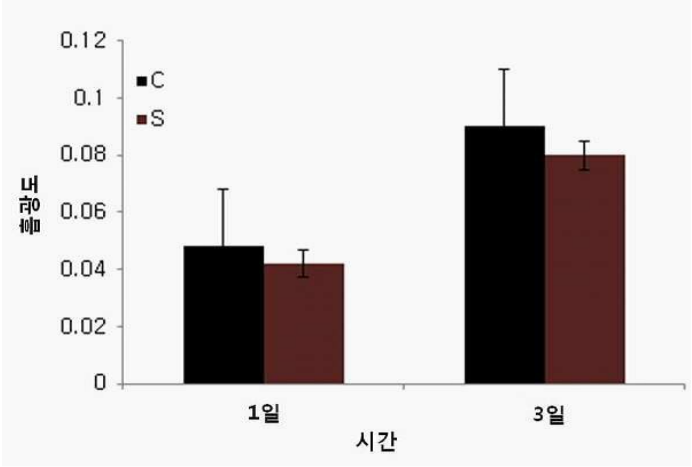
[0050] 또한, 화상 치유 과정에 관여하는 사이토카인의 변화를 확인하기 위하여 창상 염증 유발 인자인 IL(interleukin)-1 alpha, IL-1 beta 및 IL-6의 발현 정도를 RT-PCR로 확인하였다.

[0051] 각 유전자의 primer는 NCBI에 등록된 서열로부터 제작하여 PCR product 200 bp 미만으로 제작하였다. PCR은 변성 95℃, 20초, 결합 50℃, 20초 및 중합반응 72℃, 20초의 조건으로 40 cycles을 수행하였다.

[0052] 그 결과를 도 8에 나타내었다. 도 8에서 볼 수 있듯이, 실시예군의 경우 대조군 및 비교예군에 비해 초기에 이와 같은 염증세포 유발 인자의 발현을 감소시켜, 후기 화상 치유시 흉터를 적게 하는 효과를 나타내는 것으로 파악되었다.

도면

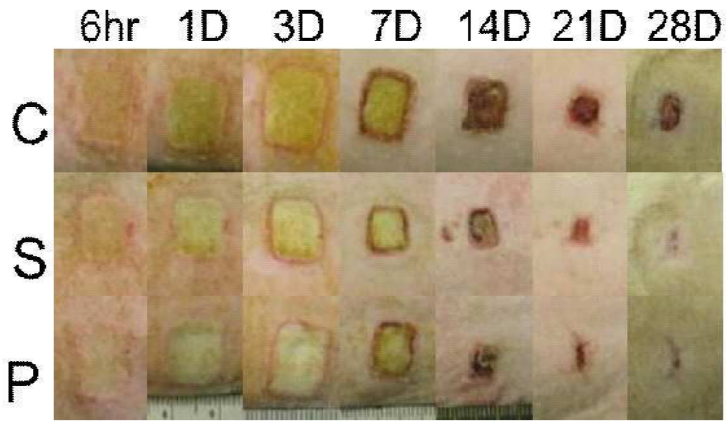
도면1



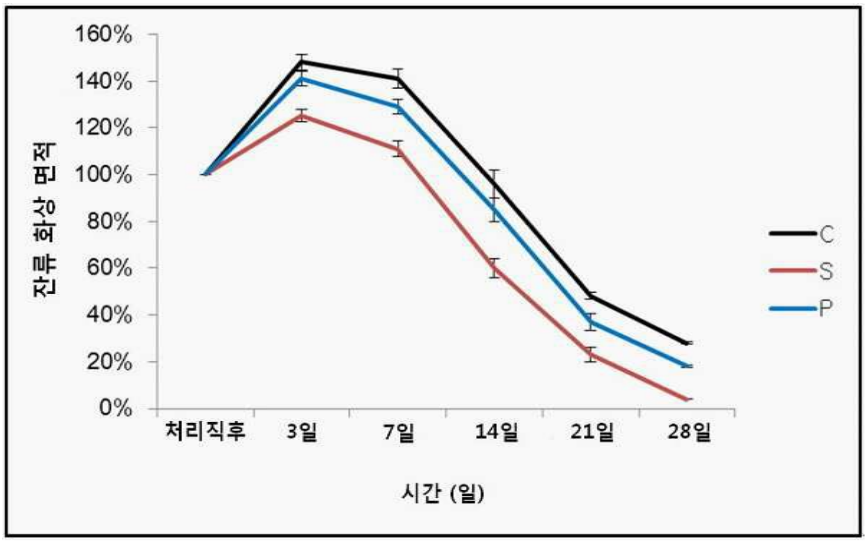
도면2



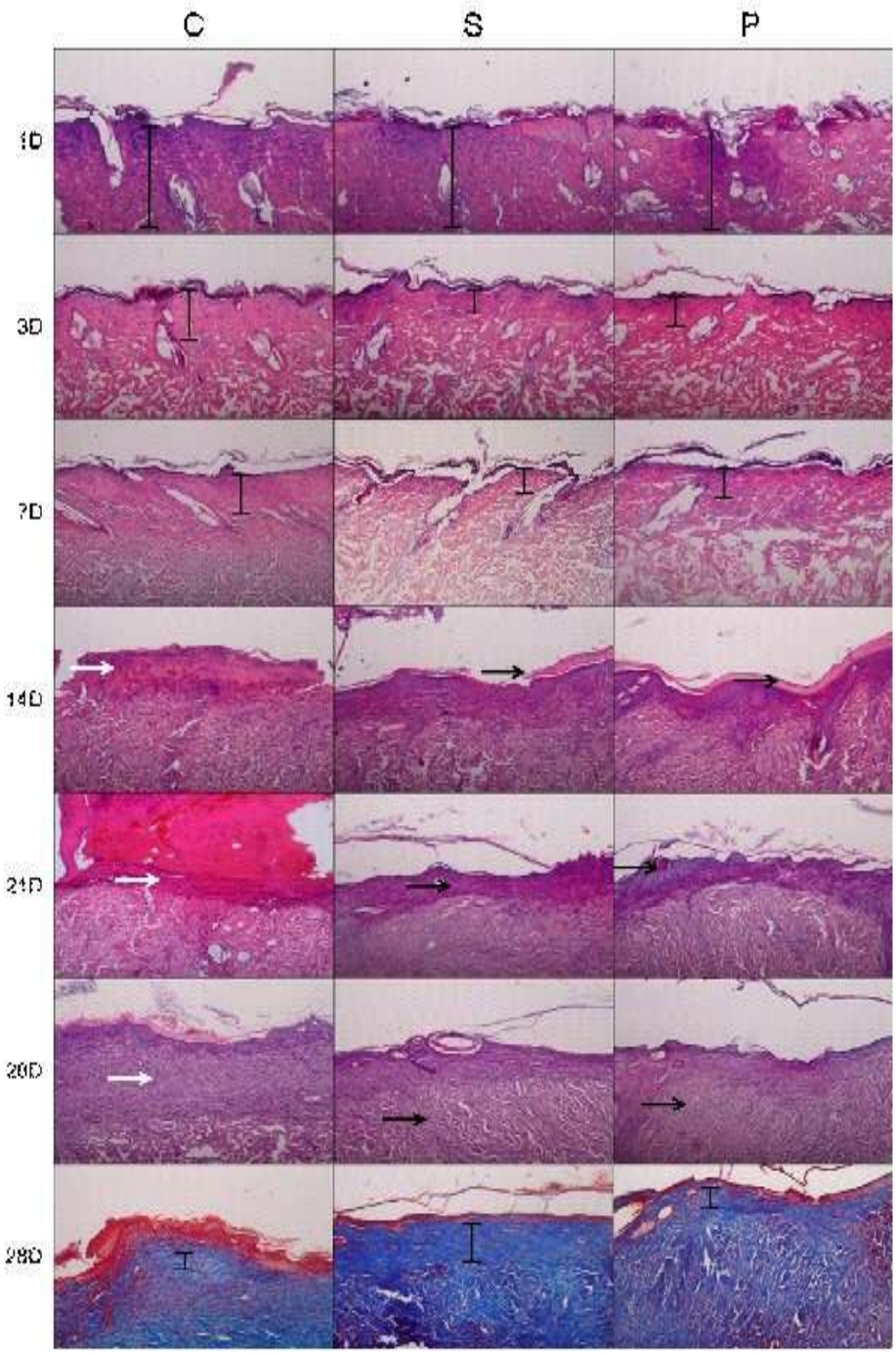
도면3



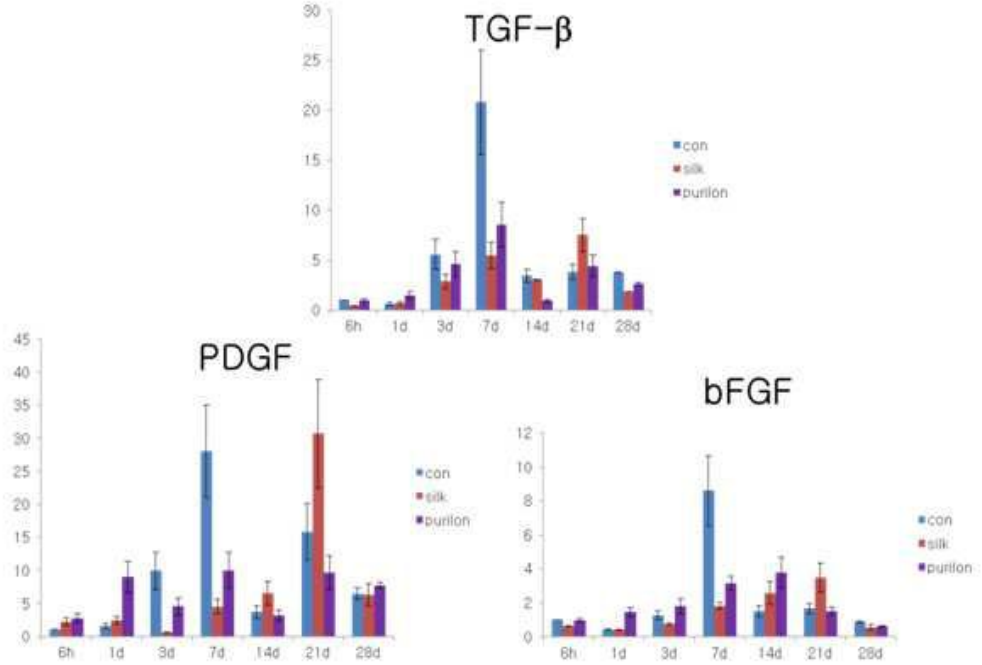
도면4


160%
140%
120%
100%
80%
60%
40%
20%
0%
잔류 화상 면적
처리직후
3일
7일
14일
21일
28일
시간 (일)
C
S
P

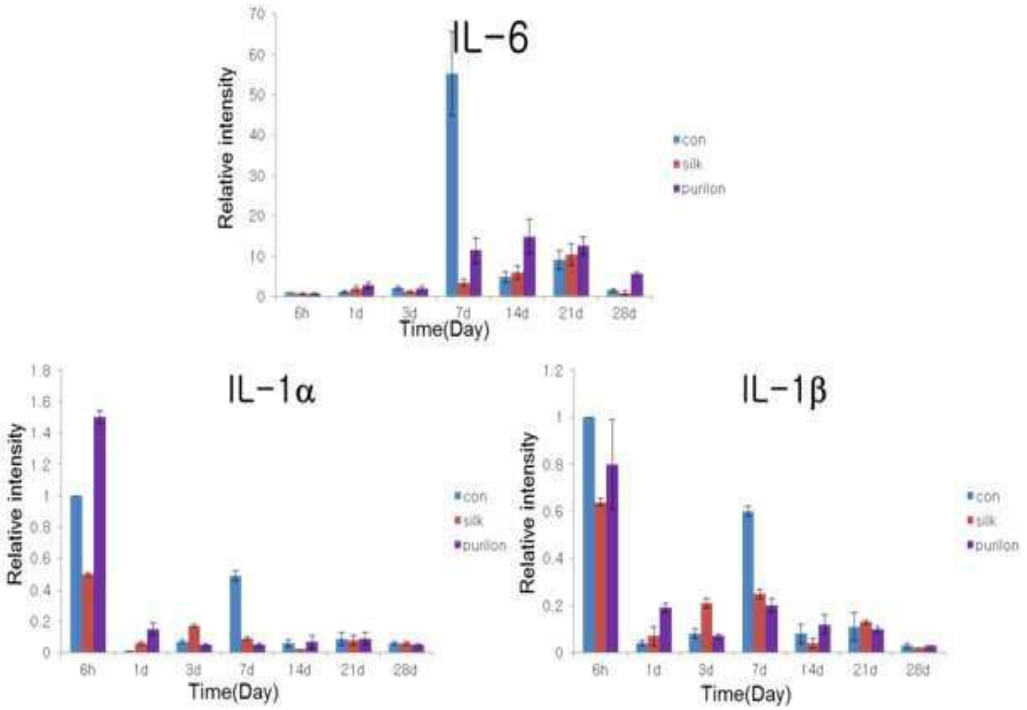
도면5



도면6


TGF-β
PDGF
bFGF
con
silk
purilon
6h
1d
3d
7d
14d
21d
28d

도면7


IL-6
IL-1α
IL-1β
Relative intensity
Time(Day)
con
silk
purilon
6h
1d
3d
7d
14d
21d
28d