(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2011-0122049
(43) 공개일자 2011년11월09일

(51) Int. Cl.
A61L 24/04 (2006.01) *A61L 24/10* (2006.01)
A61F 2/28 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2010-0103874
(22) 출원일자 2010년10월25일
심사청구일자 2010년10월25일
(30) 우선권주장
1020100041353 2010년05월03일 대한민국(KR)

(71) 출원인
한림대학교 산학협력단
강원 춘천시 한림대학길 39 한림대학교
대한민국(농촌진흥청장)
경기 수원시 권선구 서둔동 250번지
(72) 발명자
최수영
강원 춘천시 후평3동 동아아파트 105-706
음원식
강원 춘천시 후평2동 904번지 포스코더샵아파트 112동 802호
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
강성혜

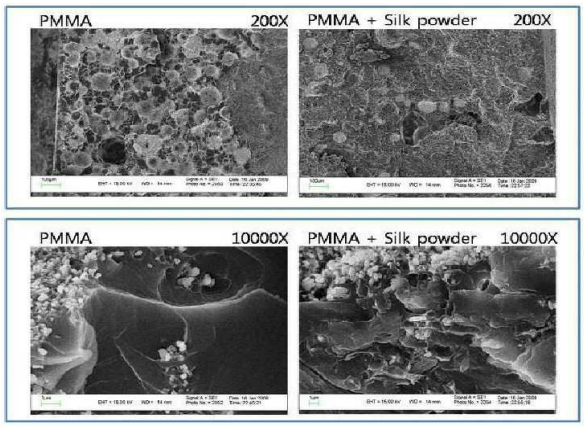
전체 청구항 수 : 총 4 항

(54) 실크 피브로인 가수분해물과 PMMA를 함유하는 생체적합성 골 시멘트 조성물

(57) 요 약

본 발명은 척추압박골절에 대한 척추성형술 등의 용도로 사용되는 생체적합성 골 시멘트 조성물에 관한 것으로서, 가수분해된 실크 피브로인 분말, 아크릴계 고분자, 중합개시제가 함유된 분말부분과, 아크릴 단량체, 중합촉진제, 중합금지제가 함유된 액체부분으로 구성되어 실크 피브로인 가수분해물 제조방법이나 제조된 실크 피브로인 가수분해물과 아크릴계 고분자 및 단량체의 혼합비율에 따라 골절 척추체 주입용 골 시멘트로써의 적정 강도와 생체적합성을 갖추고 더 나아가 실크 피브로인 가수분해물에 따라 골형성을 촉진할 수 있다는 것을 요지로 한다.

대 표 도 - 도4



(72) 발명자

박진서

강원 춘천시 후평3동 동아아파트 105동 1404호

장상호

경기도 용인시 수지구 상현2동 두산위브아파트 804-201

김대원

서울특별시 강남구 대치동 316 은미아파트 19동 103호

조용준

강원도 춘천시 석사동 대우아파트 110-802

조성민

강원도 춘천시 석사동 현진아파트 111-901

신승훈

강원도 춘천시 칠전동 대우아파트 103-503

이광길

경기도 수원시 권선구 탑동 42-1 우방APT 105동 203호

강석우

경기도 화성시 반송동 79 우남퍼스트빌 350동 1903호

권해용

경기도 수원시 영통구 망포동 망포마을현대2차아이파크아파트 201-1601

여주홍

경기도 수원시 영통구 매탄동 주공5단지APT 523동 1203호

조유영

경기도 용인시 처인구 김량장동 삼환나우빌 102동 1304호

우순옥

경기도 수원시 권선구 구운동 890 엘디코오롱아파트 102동 1703호

한상미

충청남도 서산시 인지면 모월리 354

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 PJ007170201004
부처명 농촌진흥청
연구관리전문기관 한림대학교 산학협력단
연구사업명 공동연구사업(바이오그린21사업)
연구과제명 척추체 압박골절용 인공시멘트와 인공 뇌경막 개발
기여율 1/2
주관기관 한림대학교 산학협력단
연구기간 2010.01.01 ~ 2010.12.31이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 PJ007171201002

부처명 농촌진흥청
연구관리전문기관 농촌진흥청
연구사업명 공동연구사업(바이오그린21사업)
연구과제명 실크단백질 복합체를 이용한 인체조직공학용 스케폴드 개발
기여율 1/2
주관기관 국립농업과학원
연구기간 2010.01.01 ~ 2010.12.31

특허청구의 범위

청구항 1

실크 피브로인 가수분해물 분말, 아크릴계 고분자 PMMA, 중합개시제가 함유된 분말 부분; 및

아크릴 단량체, 중합촉진제, 중합금지제가 함유된 유체상 부분;으로 구성되며, 상기 분말 부분과 상기 유체상 부분을 혼합하여 이루어지는 생체적합성 골 시멘트 조성물.

청구항 2

청구항 1에 있어서,

상기 실크 피브로인 가수분해물 분말은 분말 부분 중 5-60중량%로 함유됨을 특징으로 하는 조성물.

청구항 3

청구항 1에 있어서,

상기 실크 피브로인 가수분해물 분말은 분자량 0.1~100 kDa임을 특징으로 하는 조성물.

청구항 4

청구항 3에 있어서,

상기 실크 피브로인 가수분해물 분말은 분자량 0.1~50kDa임을 특징으로 하는 조성물.

명 세 서

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 생체 시술시 후골절 등의 부작용을 감소시키고, 생체골과의 탈락 우려가 없으며, 골형성세포의 골세포 분화를 촉진하는 골 시멘트 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 실크 프로테인의 주요성분인 피브로인은 생체 적합성이 뛰어나고 용도가 광범위한 소재이다. 피브로인은 특별한 정제과정을 거치지 않아도 인체에 대한 거부반응이 없다고 알려져 있고 가공방법에 따라 분말, 막, 다공질체, 액상, 고체 형태 등으로 다양하게 성형할 수 있다. 또한 화학적 개질을 통하여 생체재료로서 필요한 성질을 부여하기 용이한 특성이 있다. 이러한 성질을 이용하여 실크 피브로인 자체, 혹은 유무기 복합체 형태로 조직공학용 재료로 활용하고자 하는 연구가 활발히 진행되고 있다. PMMA {Poly(methyl methacrylate)}는 현재 골 시멘트(bone cement)로 널리 사용되고 있는 소재이다. PMMA 골 시멘트는 비교적 부작용이 적고 오랫동안 사용되어 척추체골절 시술용 필러로써 친숙하지만, 적절치 못한 강도로 인한 주변 척추손상, 생체 골조직과의 벽리현상, 재흡수 차단 등 부작용이 지속적으로 부각되고 있어 대체물질 개발이 요구되고 있다.

[0003] 골다공증 환자의 척추압박골절(vertebral compression fractures)은 일반적으로 척추성형술로 치료한다. 이때 골절된 척추체에는 골 시멘트를 주입하는데, PMMA 골 시멘트는 척추에 주입되면 중합, 경화되어 골절을 안정시킨다. 골 시멘트는 주입 직전에 골-시멘트 분말(예컨대 PMMA), 액체 단량체{예컨대 메틸메타크릴레이트(MMA)}, x-선 조영제(예컨대 바륨 설페이트) 및 중합반응 활성제(예컨대 N,N-디메틸-p-톨루이딘)를 혼합하여 유체 혼합물을 형성하여 제조되며, 이 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 알려진 다른 첨가제를 1종 이상 부가하는 것도 가능하다. 위의 성분들은 혼합되면 즉시 중합 반응이 일어나기 때문에 신속하게 작업해야 한다.

[0004] 일반적인 PMMA 골 시멘트의 탄성계수는 약 2-4 GPa이고, 골다공증으로 인한 해면상 뼈의 탄성계수는 0.1-0.5 Gpa이다. 골 시멘트와 뼈 간의 이러한 불합치는 증강된 척추에 인접한 척추에 추후 골절을 일으키게 하는 것으로 알려져 있다. 이 문제를 해결하기 위한 연구가 여러 연구자들에 의하여 진행되고 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 본 발명의 목적은 상기 종래 기술의 문제점을 해결하려는 것으로서, 지나치게 높은 강성도를 나타내는 골 시멘트 대신 생체 적합 강성도를 가진 골 시멘트를 제공하려는 것이다.

[0006]

과제의 해결 수단

[0007] 본 발명에서는 기존에 시술되고 있는 PMMA 골 시멘트의 여러 가지 문제점을 해결하기 위해 PMMA 분말과 각기 다른 실크 피브로인 가수분해물과의 혼합물이 인공뼈가 요구하는 강도 및 생체 적합성을 만족함을 증명하였고, 더 나아가 실크 피브로인의 가공방법과 혼합비율에 따른 골형성세포와의 친화도를 확인하고 작은 분자량의 피브로인 절편의 골형성 능력을 검증하여 생체적합성이 우수하여 생체골에서 탈락되지 않으면서 골형성 세포의 골세포로의 분화를 촉진할 뿐 아니라 적절한 생체역학적 특성을 지닌 실크 피브로인/PMMA 골 시멘트의 상용화 가능성을 제시하였다.

[0008] 본 발명은 단량체와 완전히 혼합 가능하고, 따라서 중합 후에 PMMA에 분자적으로 용해되는 물질을 사용하는 것에 기초한다. 그러나 상기 물질의 비반응성으로 인하여, 최종 가교밀도 감소 및/또는 미세 기공성 구조를 가지는 재료를 야기하고, 따라서 재료의 강성도가 감소된다. 재료의 주입(implantation) 및 완전한 중합 후에, 가교저하물질이 점차 체액(body fluid)에 의하여 치환될 수 있다.

[0009] 본 발명자들은 분말상 혼합체에 실크 피브로인 가수분해물을 첨가함으로써 과도한 강도에 의한 주변골의 기계적 손상을 방지할 수 있도록 하였으며, 적당하게 가수분해된 실크 피브로인 가수분해물 분말은 생체 적합성이 뛰어나 PMMA 분말과 고르게 분산된 후 유체상 MMA(methylmetacrylate)와의 혼합을 통해 경화되는데, 이와 같이 제조된 본 발명의 골 시멘트는 미세기공구조에 채워진 실크 피브로인 가수분해물 분말이 생체액에 의해 녹아나오고, 인접 골조직으로부터 생성되는 새로운 생체골에 의해 미세기공구조가 채워짐으로써 경화된 PMMA와 맞물리어 시술 후 피로도의 축적으로 인한 골 시멘트 탈락을 방지할 수 있다. 또한, 본 발명에서는 실크 피브로인 가수분해물 정제방법 및 제조공법에 따라 척추성형술 주입용 인공뼈로서의 적합성에 차이를 보이므로, 목적에 따라 적합한 물성의 골 시멘트를 제조하여 시술할 수 있다.

[0010] 본 발명은 실크 피브로인 가수분해물 분말, 아크릴계 고분자 PMMA, 중합개시제가 함유된 분말 부분; 및

[0011] 아크릴 단량체, 중합촉진제, 중합금지제가 함유된 유체상 부분으로 구성된 생체적합성 골 시멘트 조성물을 제공한다.

[0012] 본 발명은 상기 실크 피브로인 가수분해물 분말이 분말 부분 중 5~60중량%로 함유됨을 특징으로 하는 조성물을 제공한다. 가장 바람직하게는 상기 조성물 중 PMMA : 실크 피브로인 가수분해물 분말: MMA를 각각 6 : 4 : 7.5의 조성으로 형성한다. 실크 피브로인 가수분해물 분말이 상기 중량% 범위일 때 강도가 가장 적합하다. 즉, 실크 피브로인 가수분해물 분말이 너무 적으면 강도가 지나치게 강하여 시술 후 골절 문제가 발생하기 쉽고, 반대로 너무 많으면 강도가 지나치게 약해지는 문제가 발생할 수 있다.

[0013] 본 발명은 상기 실크 피브로인 가수분해물 분말이 분자량 0.1~100 kDa임을 특징으로 하는 조성물을 제공한다. 바람직하게는 상기 실크 피브로인 가수분해물 분말은 분자량 0.1~50 kDa임을 특징으로 한다. 분자량이 지나치게 크면 골형성세포가 골 시멘트로 제조한 디스크에 부착하는 강도가 낮아지는 문제가 발생한다.

[0014] 본 발명에 의하여 제조된 골 시멘트의 특성은 첫째, 강도의 적정성이다. 골 시멘트 강도가 과도하면 주변부 척추체골을 마모시켜 또 다른 골절을 초래할 수 있는데, 본 발명의 골 시멘트 조성물은 척추체골의 강도와 유사한 강도를 가지고 있어 이러한 문제점을 해결하였다. 둘째, 주입되고 경화된 본 발명의 골 시멘트 조성물 중 실크

피브로인 가수분해물이 채워진 부분은 생체액과의 접촉에 의해 가수분해물이 용해되면서 미세 기공(micropore)이 생성되고, 이 미세 기공은 인접한 생체조직에서 새롭게 생성되는 뼈에 의해 치환됨으로써 본 발명의 골 시멘트 조성물과 생체골은 단단히 결합될 수 있으므로 인공뼈와 생체골 간의 탈락을 방지할 수 있다. 셋째, 분말상 실크 피브로인 가수분해물은 골형성 촉진인자의 역할을 하여 주변부로부터 골형성을 유도한다. 넷째, 환자의 골 다공성 정도에 따라 실크 피브로인 가수분해물의 배합 비율을 적정하게 조절하면 골 시멘트의 강도를 감소시켜 인접골의 손상을 최소화할 수 있다. 실크 피브로인 가수분해물과 PMMA, MMA 혼합비율에 따라 5-60%의 분말상 혼합비율과 그에 따른 액체성분 MMA 조성비를 탐색하여 최적의 강도를 유지하게 조절할 수 있다. 바람직하게는 일반적인 경우 실크 피브로인 가수분해물을 40중량% 비율로 혼합하는 것이 가장 적당하다. 다섯째, 실크 피브로인 가수분해물의 첨가는 골 시멘트의 경화 시간을 연장시켜주어 안정된 수술효과를 기대할 수 있다. 여섯째, 실크 피브로인 가수분해물의 첨가로 본 발명의 골 시멘트는 최대중합온도가 저하되어 조직괴사를 방지하는 효과가 있다.

발명의 효과

[0015] 본 발명의 골 시멘트 조성물은 골 시멘트의 강성도를 적절한 수준으로 낮춤으로써 척추나 골 증강 시술 이후 인접한 척추나 골이 골절되는 위험을 낮추어 준다.

[0016] 본 발명의 골 시멘트 조성물은 생체골과의 탈락 문제를 방지할 수 있다.

[0017] 본 발명의 골 시멘트 조성물은 골형성세포의 골세포로의 분화를 촉진한다.

도면의 간단한 설명

[0018] 도 1은 실크 피브로인 가수분해물 분말 함량에 따른 압축강도 변화를 나타내는 그래프이다.

도 2는 ISO 5833표준에 의한 시편 주형

도 3은 압축강도 및 세포부착율 측정을 위해 성형된 실크/PMMA시편

도 4는 PMMA/실크 피브로인 가수분해물 복합 경화체의 미세구조를 나타내는 주사전자현미경 사진이다.

도 5는 실크 피브로인 가수분해물 가공방법에 따른 압축항복강도의 차이(건조PMMA 시편 100% 기준)를 나타내는 그래프이다.

도 6은 C3H10T1/2 세포에서 실크 펩타이드 가수분해물이 골형성세포 분화에 미치는 영향을 나타낸 사진이다.

도 7은 실크 피브로인 존재 및 실크 피브로인 가수분해 정도에 따른 골형성세포 부착도 시험 결과를 나타낸 그래프이다.

도 8은 실크 피브로인 가수분해물 함량에 따른 PMMA 골 시멘트 디스크 경화시간을 측정한 결과 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0019] 이하, 실시예를 들어 본 발명의 구성을 좀 더 구체적으로 살펴 본다. 그러나, 본 발명의 범위가 실시예의 기재 범위로 한정되는 것이 아님은 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 자명하다.

[0020] **<실시예 1: 실크 피브로인 가수분해물 분말 제조>**

[0021] 정선한 누에고치는 마르세이유 비누(Marseilles soap, 섬유의 0.5중량%) 및 탄산나트륨(섬유의 0.3중량%) 함유 용액으로 100℃에서 한 시간 동안 두 번 세척하여 세리신을 제거하였다. 세리신이 제거된 실크가 얻어지면, 이를 증류수로 세척하였고, 이어 실크 피브로인을 6N의 염산으로 5시간 동안 용해시켰다. 산 분해는 수산화나트륨을 가하여 중지시켰다. 전기투석 시스템(Acilyzer-02, Astom, Tokyo, Japan)을 이용하여 잔류하는 염을 제거하였다. 얻어진 실크 피브로인 가수분해물의 분자량은 0.1 내지 100.0 kDa이었다.

[0022] **<실시예 1-1: 실크 피브로인 스폰지 제조>**

[0023] 정선한 누에고치는 마르세이유 비누(Marseilles soap, 섬유의 0.5중량%) 및 탄산나트륨(섬유의 0.3중량%) 함유 용액으로 100℃에서 한 시간 동안 두 번 세척하여 세리신을 제거하여 정련된 실크솜을 제조하였다. 실크솜은 염화칼슘, 에탄올, 물 혼합 용매로 3시간 동안 용해하여 중성염이 포함되어 있는 실크 용액을 제조하였다. 실크용액에 포함되어 있는 중성염을 제거하기 위하여 반투막을 이용하여 증류수로 3일간 투석한 후 동결건조하여 실크 스폰지를 제조하였다.

[0024] **<실시예 2: 실크 피브로인 가수분해물 분말 함량에 따른 압축강도 변화>**

[0025] 척추성형술에 일반적으로 사용되고 있는 PMMA 시멘트 EXOLENT SPINE™과 실크 피브로인 가수분해물 분말을 각기 다른 혼합비로 분말상으로 만들어 유체상 부분과 유효 혼합비에 따라 고르게 섞고 경화시켜 압축강도를 측정하였다.

[0026] 속성경화용 방사선비투과(radiopaque) EXOLENT SPINE™ 아크릴 골 시멘트는 9.2g의 유체상(fluid phase) 중에 99%(w/w) 메틸메타크릴레이트(MMA), 활성제(중합촉진제)로서 0.9%(w/w) N,N-디메틸-p-톨루이딘, 안정화제(중합금지제)로서 0.1%(w/w) 75ppm 하이드로퀴논으로 구성되고, 20g의 분말상 고체에는 고분자 분말로써 69.0%(w/w) PMMA, 중합개시제인 2.0%(w/w)의 벤조일 퍼옥사이드, 방사선 비투과 제제(radiopaque agent)로서 29%(w/w) 바륨 설페이트로 구성되어 있다.

[0027] 상기 분말상 고체 중 고분자 분말을 실크 피브로인 가수분해물 분말과 일정 혼합비에 따라 치환하여 유체상과 혼합하여 페이스트를 만들고 ISO 5833에 준하는 도구와 방법에 따라 압축 항복강도를 측정하였다. 기계적 테스트용 시료를 제조하기 위하여, 페이스트를 실린더형 스테인레스 스틸 주형(mold)에 충전하고 경화된 실린더를 주형으로부터 제거하여 Instron 만능 측정기를 사용하여 측정하고 그 값을 기록·비교하였다(KISO 5833 표준을 따름).

[0028] **<실시예 3: PMMA/실크 피브로인 가수분해물 복합 경화체의 미세구조>**

[0029] 실시예 1에서 제조된 주형을 이용하여 경화시킨 각각의 시료를 파쇄면이 노출되도록 절단하고 높이 1㎜ 미만의 원형 기둥으로 가공하여 증류수에서 6일간 방치하고 수분을 제거한 뒤 주사전자현미경으로 관찰하기 위해 플래티늄 코팅을 하고 분석하였다.

[0030] 결과는 도 4와 같다. 실크 피브로인 가수분해물 분말이 함유된 경화체는 PMMA 단독에 의한 경화체에 비해 미세기공 구조가 발달한 것이 관찰되었고 이 미세기공구조는 실크 피브로인이 차지하고 있었던 부분이며, 경화시킨 후 6일간 증류수에 담가 놓아 수용성인 가수분해 실크피브로인이 녹아 나온 부분이다. 이 미세기공부분에 생체골의 치환이 이루어짐으로써 PMMA 근접조직부분의 결합이 더욱 단단하게 이루어져 피로축적에 의한 탈락을 방지할 수 있다.

[0031] **<실시예 4: 실크 피브로인 가수분해 정도에 따른 기계적 특성>**

[0032] 대체로 실크 피브로인 가수분해물을 분말로 만든 시료는 재료가 혼합된 직후 주사기 바늘을 이용해 주입하기 용이한 상태를 유지한 반면 스폰지 타입으로 제조된 시료는 주사기 바늘을 통과하기 힘든 성상을 보였고, 표 1의 압축항복강도에서도 차이를 나타내었다.

[0033] 실크 피브로인 가수분해물 분말의 제조 방법은 통상 알려진 방법에 의해 시도되었으며 분자량은 산분해 시간 및 온도의 증감에 의해 조정하였다.

표 1

[0034]

시료 # **(실크 피브로인 가수분해물)**	시료 상태	분자량	바늘로 주입 가능 여부	골형성세포의 디스크에 부착 여부
#1	분말	50K	0	+++

#2	분말	<1K	O	+++++
#4	분말	<1K	O	++++
#5	분말	50K	X	++
#6	분말	50K	O	++++
#7	스폰지	100K	X	+
#8	스폰지	50K	X	+
#9	스폰지	50K	X	++
#10	스폰지	50K	X	-
#11	스폰지	100K	O	-
#12	스폰지	50K	X	-
#13	스폰지	50K	X	-
#14	스폰지	50K	X	-
#15	스폰지	50K	X	-
#16	스폰지	60K	X	-
#17	스폰지	50K	X	-
#18	분말	50K	O	+++++

[0035] **<실시예 5: 실크 피브로인 가수분해물 가공방법에 따른 압축항복강도의 차이(건조PMMA 시편 100% 기준)>**

[0036] PMMA 분말, 실크 피브로인 가수분해물 분말 그리고 MMA의 조성비를 비교군으로 10:0:7.7, 대조군으로 6:4:7로 유지하면서 각각의 실크 피브로인의 종류를 달리하여 위와 동일한 방법으로 압축항복강도를 측정하였다.

[0037] 시료 #1의 실크 피브로인 가수분해물 분자량은 대체로 50~60K 정도에 해당하고, 시료 #2는 1K 미만, 시료 #11은 100K에 해당하는 순수 실크 피브로인 가수분해물을 분말화하여 사용하였다.

[0038] 가수분해 정도에 따라 분자량이 각기 다른 실크 피브로인 가수분해물 분말은 건조한 상태의 시편과 증류수에 방치하였던 시편 모두 압축항복강도의 감소율의 차이를 보였으며, 특히 분자량이 작을수록 건조한 상태와 습한 상태의 압축항복강도 차이가 크게 나타났다(도 5). 이로부터 실크 피브로인 가수분해물의 분자량에 따라 동일한 조성비임에도 불구하고 압축강도의 차이가 있음을 알 수 있고, 분자량이 작을수록 증류수에 대한 용해도가 높아 다른 샘플에 비해 건조상태 시편과 증류수 방치 시편 간에 차이가 크다고 분석할 수 있다.

[0039] **<실시예 6: 생체조직과의 결합능>**

[0040] 각각의 실크 피브로인 가수분해물을 40%(w/w)의 혼합비로 경화시킨 PMMA 골 시멘트 디스크를 에틸렌옥사이드 가스를 이용하여 멸균한 다음 24-웰 플레이트에 넣고 C3H10T1/2 세포를 2×10^5개 시딩하여 48시간 동안 배양하였다. 각 디스크에 부착된 세포의 수를 상대적으로 측정하기 위하여 MTT 어세이를 수행하였다.

[0041] 가수분해된 정도에 따른 골형성세포의 부착도를 알아보는 실험에서도 온전한 실크 피브로인은 분자량 500 ~ 1000 정도의 절편으로 가수분해된 실크 피브로인이 혼합되어 제조된 PMMA 디스크보다 상대적으로 적은 세포 부착율을 보이고 최종 세포 증식 정도에서도 차이를 보였다. 참고로 실크 피브로인이 배제된 상태의 PMMA 디스크에서는 골형성세포의 부착율이 현저히 떨어지는 양상을 보여 실크 피브로인 가수분해물의 혼합이 아크릴계 고분자의 생체조직과의 결합능력을 향상시킴을 알 수 있었다(도 7).

[0042] **<실시예 7: C3H10T1/2 세포에서 실크 펩타이드 가수분해물이 골형성세포 분화에 미치는 영향>**

[0043] 가수분해된 실크 피브로인 펩타이드를 함유한 골 시멘트 조성물에 따른 골형성세포의 분화도를 측정하는 실험을 수행하였다. 골세포로의 분화능력이 있는 C3H10T1/2 중간엽 줄기세포에 각기 다른 종류의 실크 피브로인 가수분해물을 농도별로 4주간 처리한 후 알칼린 포스파타제(alkaline posphatase)의 발현 및 활성도를 측정하였다. 실시예 4에서 인공뼈의 기계적 특성을 만족하고 수용성으로 나타난 두가지 실크 피브로인 시료에 대해 위 실험을 수행한 결과 상대적으로 분자량이 작은 실크 피브로인 시료가 C3H10T1/2 세포의 분화를 현저하게 증가시켰다(도 6).

[0044] **<실시예 8: 실크 피브로인 농도와 경화시간의 관계>**

[0045] 실크 피브로인 가수분해물을 각각 0%, 30%, 40%, 50% 함유하도록 PMMA 골 시멘트 디스크를 제조하면서 경화시간을 측정하였다. 그 결과를 도 8에 나타내었다.

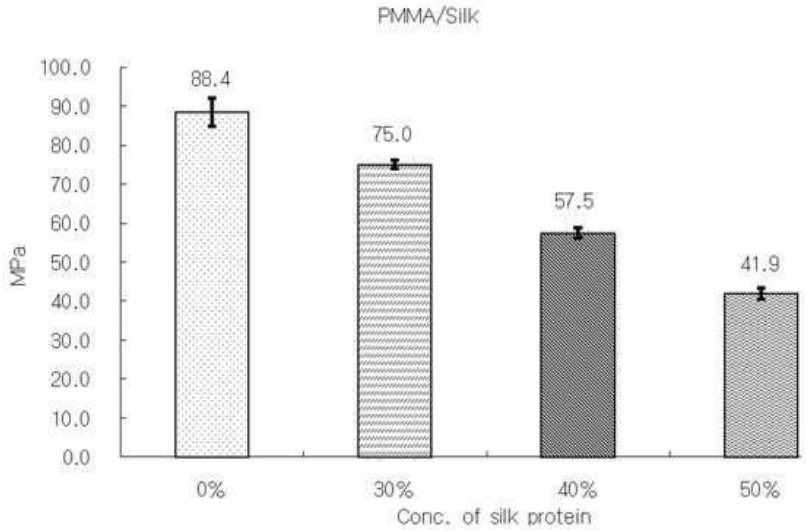
[0046] 실크 피브로인 가수분해물 농도가 높아질수록 경화시간이 연장되며, 50% 실크 피브로인 농도의 디스크는 약 25분이 경과하여 경화됨을 확인하였다.

[0047] 위와 같은 실시예를 통하여 복합재료로 사용되는 실크 피브로인 가수분해물이 제조방법에 따라 PMMA/실크 피브로인 가수분해물을 함유하는 골 시멘트의 물리적, 기계적 특성을 만족할 뿐만 아니라 인접 생체골로부터 골형성 세포의 분화를 촉진하여 새로운 뼈의 생성을 유도하는 역할을 동시에 수행함을 입증하였다.

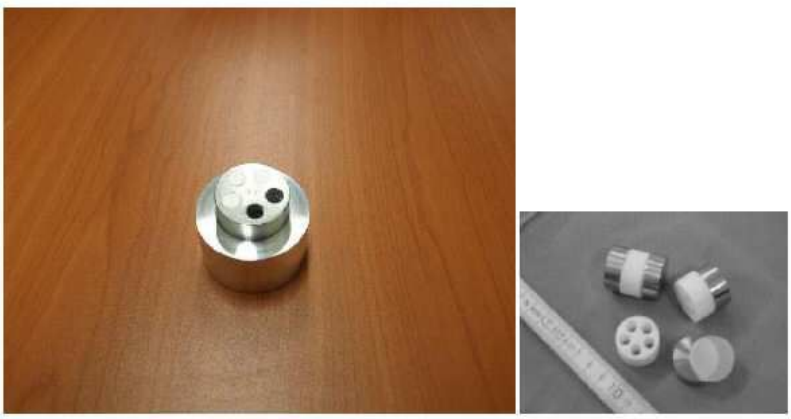
[0048] 본 특허는 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호: PJ007170201004)의 지원에 의해 이루어진 것임

도면

도면1



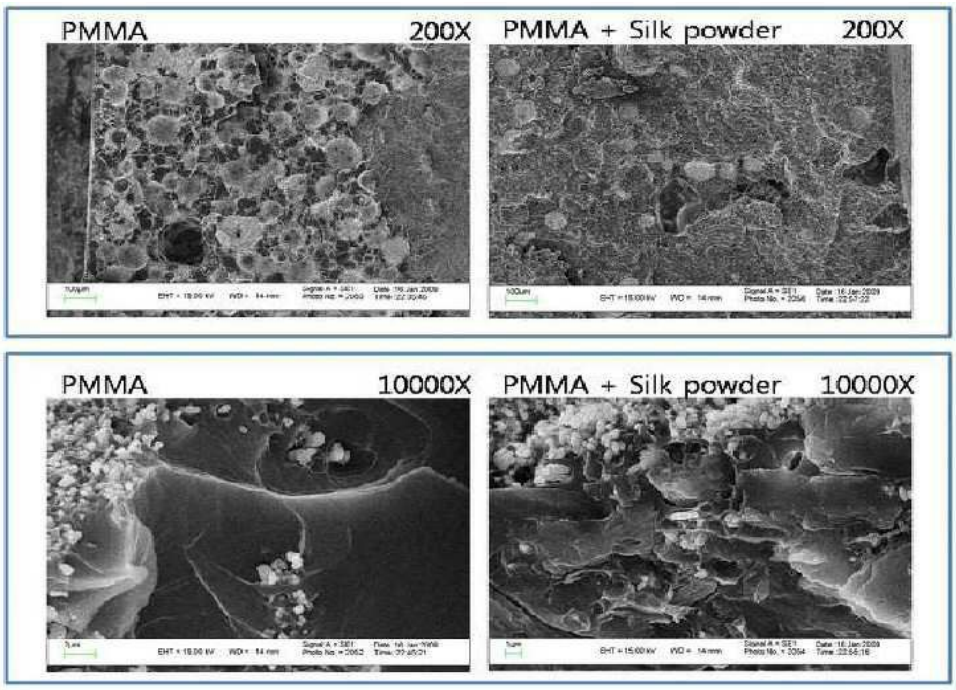
도면2



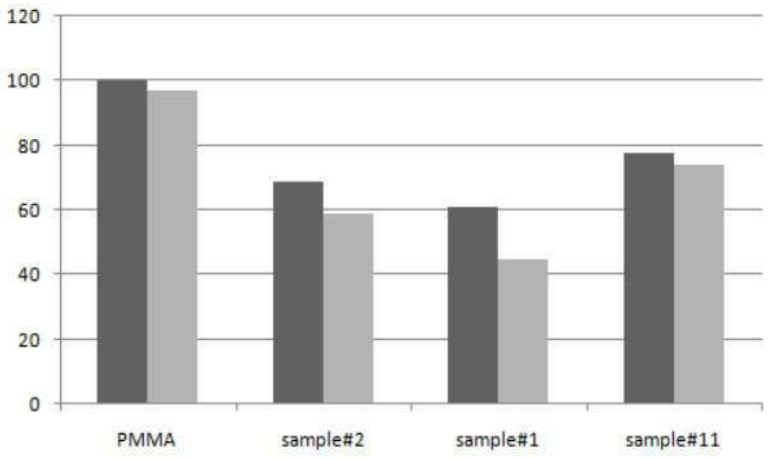
도면3



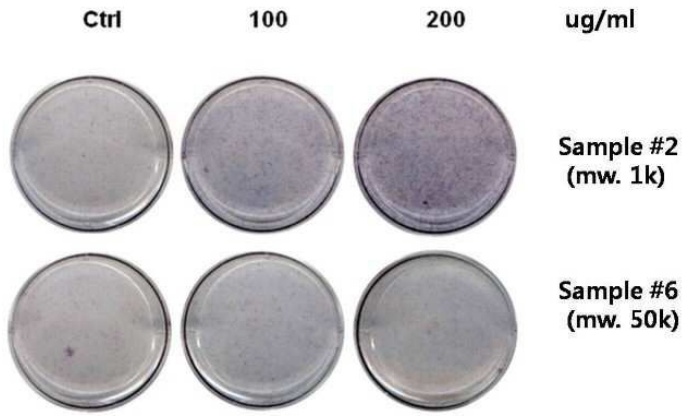
도면4


PMMA
200X
PMMA + Silk powder
200X
PMMA
10000X
PMMA + Silk powder
10000X

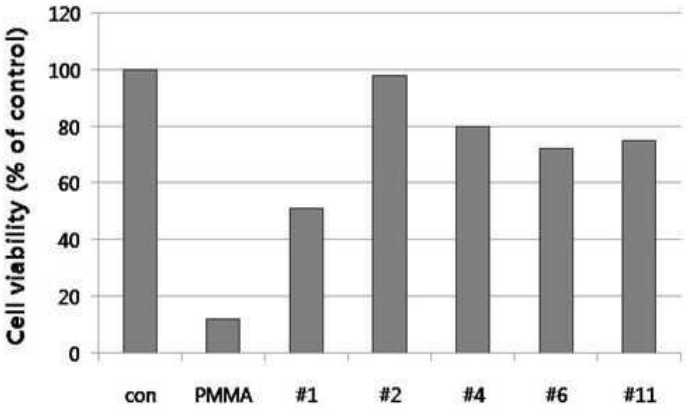
도면5


120
100
80
60
40
20
0
PMMA
sample#2
sample#1
sample#11

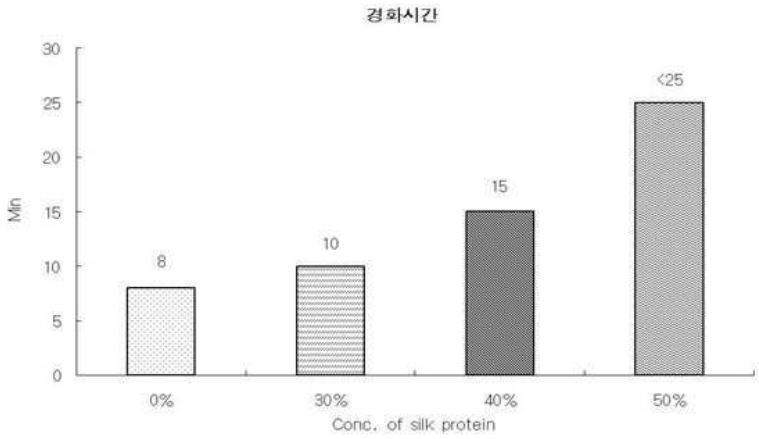
도면6


Ctrl
100
200
ug/ml
Sample #2
(mw. 1k)
Sample #6
(mw. 50k)

도면7


Cell viability (% of control)
120
100
80
60
40
20
0
con
PMMA
#1
#2
#4
#6
#11

도면8


경화시간
Mn
30
25
20
15
10
5
0
8
10
15
<25
0%
30%
40%
50%
Conc. of silk protein