



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2012-0122180
(43) 공개일자 2012년11월07일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61L 27/14 (2006.01) A61L 27/54 (2006.01)

A61L 27/34 (2006.01) A61L 27/58 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2011-0040200

(22) 출원일자 2011년04월28일

심사청구일자 2011년04월28일

(71) 출원인

조선대학교산학협력단

광주광역시 동구 서석동 375 조선대학교 내

(72) 발명자

김근형

광주광역시 동구 운림길 27, 빌 101-1302 (운림동, 남해오네뜨)

이형진

전라남도 목포시 북항주택로 20 (산정동)

안승현

광주광역시 동구 밤실로20번길 3-1 (지산동)

(74) 대리인

강성혜

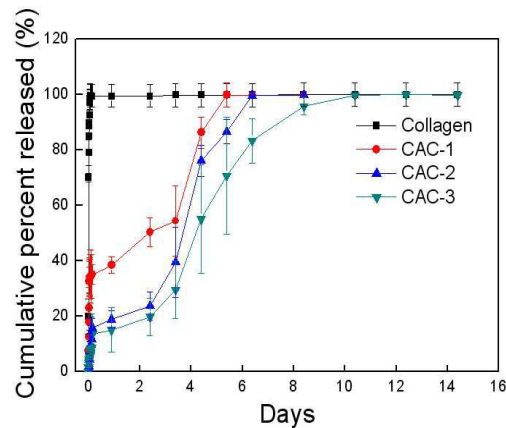
전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 발명의 명칭 약물전달시스템을 포함하는 세포담체

(57) 요약

본 발명은 약물전달시스템을 포함하는 세포담체에 관한 것으로서, 좀더 구체적으로는 3차원 플로터를 이용하여 3차원 격자 형태의 스캐폴드를 제작한 후 이에 약물을 흡수시키고, 생체 적합성 천연 고분자 용액으로 약물이 포함된 스캐폴드를 코팅하여 제조되는 세포담체 및 그 제조방법에 관한 것이다.

대표도 - 도6



특허청구의 범위

청구항 1

- a) 생체 적합성 고분자로 3차원 격자 형태의 스캐폴드를 제조하는 공정;
- b) 상기 제조된 3차원 격자 형태의 스캐폴드를 동결건조시키는 공정;
- c) 상기 동결건조된 스캐폴드를 교차결합시키는 공정;
- d) 교차결합된 스캐폴드를 2차 동결건조시키는 공정;
- e) 2차 동결건조된 스캐폴드에 약물을 흡수시키는 공정;
- f) 약물이 흡수된 스캐폴드에 생체 적합성 천연 고분자를 코팅시키는 공정;
- g) 코팅 후 생체 적합성 천연 고분자를 흡입하는 공정; 및
- h) 건조 공정;을 포함하는 약물전달시스템을 포함하는 세포담체 제조방법.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 생체 적합성 고분자는 폴리아미드(polyimides), 폴리아믹스 산(polyamic acid), 폴리카프로락톤(polycaprolactone), 폴리에테르이미드(polyetherimide), 나일론(nylon), 폴리아라미드(polyaramid), 폴리비닐알코올(polyvinyl alcohol), 폴리비닐피롤리돈(polyvinylpyrrolidone), 폴리벤질글루타메이트(poly-benzyl-glutamate), 폴리페닐렌테레프탈아마이드(polyphenyleneterephthalamide), 폴리아닐린(polyaniline), 폴리아크릴로니트릴(polyacrylonitrile), 폴리에틸렌옥사이드(polyethylene oxide), 폴리스티렌(polystyrene), 셀룰로오스(cellulose), 폴리아크릴레이트(polyacrylate), 폴리메틸메타크릴레이트(polymethylmethacrylate), 폴리락산(polylactic acid; PLA), 폴리글리콜산(polyglycolic acid; PGA), 폴리락산과 폴리글리콜산의 공중합체 (PLGA), 폴리{폴리(에틸렌옥사이드)테레프탈레이트-co-부틸렌테레프탈레이트}(PEOT/PBT), 폴리포스포에스터 (polyphosphoester; PPE), 폴리포스파젠(PPA), 폴리안하이드라이드(Polyanhydride; PA), 폴리오르쏘에스터 {poly(ortho ester; POE)}, 폴리(프로필렌푸마레이트)-디아크릴레이트{poly(propylene fumarate)-diacrylate; PPF-DA} 및 폴리에틸렌글라이콜디아크릴레이트{poly(ethylene glycol) diacrylate; PEG-DA} 중에서 선택된 1종 이상임을 특징으로 하는 방법.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 생체 적합성 천연 고분자는 콜라겐, 알지네이트, 푸코이단 및 키토산 중 선택된 1종 이상임을 특징으로 하는 방법.

청구항 4

제2항에 있어서,

상기 생체 적합성 천연 고분자에는 하이드록시아파타이트 및 β -삼칼슘인산 중 1종 이상이 부가되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 g) 흡입 공정은 30 ~70 kPa의 흡입 압력으로 수행함을 특징으로 하는 방법.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 g) 공정 이후 생체 적합성 천연 고분자의 교차결합 공정이 부가됨을 특징으로 하는 방법.

청구항 7

제1항에 있어서,

상기 약물은 파이프록틴, 비트로넥틴, 산성 섬유아세포 성장인자(acidic fibroblast growth factor; aFGF), 염기성 섬유아세포 성장인자(basic fibroblast growth factor; bFGF), 각질세포 성장인자(keratinocyte growth factor; KGF), 혈관내피세포 성장인자(vascular endothelial growth factor; VEGF), 표피세포 성장인자(epidermal growth factor; EGF), 혈소판유래 성장인자-AA(platelet-derived growth factor-AA; PDGF-AA), 혈소판유래 성장인자-AB(platelet-derived growth factor-AB; PDGF-AB), 혈소판유래 성장인자- BB(platelet-derived growth factor-BB; PDGF-BB), 형질전환 성장인자- α (transforming growth factor- α ; TGF-알파), 형질전환 성장인자- β (transforming growth factor- β ; TGF-베타), 인슐린 유사 성장인자(insulin-like growth factor; IGF), 종양괴사 인자(tumor necrosis factor; TNF), 과립 및 대식 세포군체 성장인자(granulocyte-macrophage colony stimulating factor; GM-CSF), 신경세포성장인자(neuronal growth factor; NGF), 헤파린결합 EGF(heparin binding EGF), 인터페론(interferons), 적혈구 조혈인자(erythropoietin), 인터루킨-1(interlukin-1; IL-1), 인터루킨-2(interlukin-2; IL-2), 인터루킨-6(interlukin-6; IL-6), 인터루킨-8(interlukin-8; IL-8), 조직 활성화 펩티드(tissue activating peptides) 및 항생제로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 성분임을 특징으로 하는 방법.

청구항 8

a) 생체 적합성 고분자로 3차원 격자 형태의 스캐폴드를 제조하는 공정;

b) 상기 제조된 3차원 격자 형태의 스캐폴드를 동결건조시키는 공정;

c) 상기 동결건조된 스캐폴드를 교차결합시키는 공정;

d) 교차결합된 스캐폴드를 2차 동결건조시키는 공정;

e) 2차 동결건조된 스캐폴드에 약물을 흡수시키는 공정;

f) 약물이 흡수된 스캐폴드에 생체 적합성 천연 고분자를 코팅시키는 공정;

g) 코팅 후 생체 적합성 천연 고분자를 흡입하는 공정; 및

h) 건조 공정;을 포함하는 약물전달시스템을 포함하는 세포담체 제조방법으로 제조되며,

3차원 격자 형태의 생체 적합성 고분자 스캐폴드에 약물이 흡수되고, 생체 적합성 천연 고분자로 코팅된 것을 특징으로 하는, 약물전달시스템을 포함하는 세포담체.

청구항 9

제8항에 있어서,

상기 생체 적합성 고분자는 폴리이미드(polyimides), 폴리아믹스 산(polyamix acid), 폴리카프로락톤(polycaprolactone), 폴리에테르이미드(polyetherimide), 나일론(nylon), 폴리아라미드(polyaramid), 폴리비

닐알콜(polyvinyl alcohol), 폴리비닐피롤리돈(polyvinylpyrrolidone), 폴리벤질글루타메이트(poly-benzyl-glutamate), 폴리페닐렌테레프탈아마이드(polyphenyleneterephthalamide), 폴리아닐린(polyaniline), 폴리아크릴로나이트릴(polyacrylonitrile), 폴리에틸렌옥사이드(polyethylene oxide), 폴리스티렌(polystyrene), 셀룰로오스(cellulose), 폴리아크릴레이트(polyacrylate), 폴리메틸메타크릴레이트(polymethylmethacrylate), 폴리락산(polylactic acid; PLA), 폴리글리콜산(polyglycolic acid; PGA), 폴리락산과 폴리글리콜산의 공중합체 (PLGA), 폴리{폴리(에틸렌옥사이드)테레프탈레이트-co-부틸렌테레프탈레이트}(PEOT/PBT), 폴리포스포에스터 (polyphosphoester; PPE), 폴리포스파젠(PPA), 폴리안하이드라이드(Polyanhydride; PA), 폴리오르쏘에스터 {poly(ortho ester; POE)}, 폴리(프로필렌푸마레이트)-디아크릴레이트{poly(propylene fumarate)-diacrylate; PPF-DA} 및 폴리에틸렌글라이콜디아크릴레이트{poly(ethylene glycol) diacrylate; PEG-DA} 중에서 선택된 1종 이상임을 특징으로 하는 세포담체.

청구항 10

제8항에 있어서,

상기 생체 적합성 천연 고분자는 콜라겐, 알지네이트, 푸코이단 및 키토산 중 선택된 1종 이상임을 특징으로 하는 세포담체.

청구항 11

제10항에 있어서,

상기 생체 적합성 천연 고분자에는 하이드록시아파타이트 및 β -삼칼슘인산 중 1종 이상이 부가되는 것을 특징으로 하는 세포담체.

청구항 12

제1항에 있어서,

상기 약물은 파이프록틴, 비트로넥틴, 산성 섬유아세포 성장인자(acidic fibroblast growth factor; aFGF), 염기성 섬유아세포 성장인자(basic fibroblast growth factor; bFGF), 각질세포 성장인자(keratinocyte growth factor; KGF), 혈관내피세포 성장인자(vascular endothelial growth factor; VEGF), 표피세포 성장인자(epidermal growth factor; EGF), 혈소판유래 성장인자-AA(platelet-derived growth factor-AA; PDGF-AA), 혈소판유래 성장인자-AB(platelet-derived growth factor-AB; PDGF-AB), 혈소판유래 성장인자-BB(platelet-derived growth factor-BB; PDGF-BB), 형질전환 성장인자- α (transforming growth factor- α ; TGF-알파), 형질전환 성장인자- β (transforming growth factor- β ; TGF-베타), 인슐린 유사 성장인자(insulin-like growth factor; IGF), 종양괴사 인자(tumor necrosis factor; TNF), 과립 및 대식 세포군체 성장인자(granulocyte-macrophage colony stimulating factor; GM-CSF), 신경세포성장인자(neuronal growth factor; NGF), 헤파린결합 EGF(heparin binding EGF), 인터페론(interferons), 적혈구 조혈인자(erythropoietin), 인터루킨-1(interlukin-1; IL-1), 인터루킨-2(interlukin-2; IL-2), 인터루킨-6(interlukin-6; IL-6), 인터루킨-8(interlukin-8; IL-8), 조직 활성화 펩티드(tissue activating peptides) 및 항생제로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 성분임을 특징으로 하는 세포담체.

청구항 13

제8항에 있어서,

상기 생체 적합성 고분자는 콜라겐임을 특징으로 하는 세포담체.

청구항 14

제8항에 있어서,

상기 생체 적합성 천연 고분자는 알지네이트임을 특징으로 하는 세포담체.

청구항 15

제8항에 있어서,

상기 생체 적합성 천연 고분자 코팅 두께는 0.1~50 μm 임을 특징으로 하는 세포담체.

명세서

기술 분야

[0001] 본 발명은 약물전달시스템을 포함하는 세포담체에 관한 것으로서, 좀더 구체적으로는 3차원 플로터를 이용하여 3차원 격자 형태의 스캐폴드를 제작한 후 이에 약물을 흡수시키고, 생체 적합성 천연 고분자 용액으로 약물이 포함된 스캐폴드를 코팅하여 제조되는 세포담체 및 그 제조방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 삶의 질이 높아지고 인간의 생명연장의 꿈이 현실로 다가오면서 세포 담체를 만들어 이식함으로써 우리 몸의 손상된 조직 및 기능을 유지, 향상 또는 복원하려는 연구가 활발히 진행되고 있다. 이러한 조직 이식과 스캐폴드(Scaffold), 즉 세포담체의 개발은 생체조직 공학의 발전에 따라 세포들이 3차원적으로 부착하고 배양될 수 있는 기능화된 조직을 제공하고 있는데, 이러한 지지체는 세포가 부착, 분화 및 이동 가능하도록 다공화된 구조로 구성되고 있으며, 신체 내의 조직과 공존할 수 있는 생체적합성 물질로 이뤄지며, 세포의 성장과 함께 지지체가 세포로 교체될 수 있도록 생분해적 성질을 갖추고 있어야 한다.

[0003] 최근 생체조직 공학의 발달과 더불어 더욱더 정교하고 조직적으로 세포담체를 제작하기 위한 여러 가지 기계 공학적 기술들이 사용되고 있다. CAD/CAM 기술은 생체내 대체하고자 하는 부분에 대해 필요한 모양으로 만들어지도록 형상의 설계를 용이하게 하고, 원하는 형상의 정보를 직접적으로 얻어내고, 이를 CAD 파일로 변환하여 세포담체 제작에 필요한 구조정보를 얻어내기도 한다. 이후 3D 바이오 플로터라 불리는 정밀한 압출기계 등을 이용해 다양한 생분해성 고분자 재료와 변환된 CAD 파일을 이용해 원하는 세포담체를 제작하게 된다.

[0004] 선행 개발된 천연 생체 고분자 키토산(Chitosan)과 알지네이트(Alginate)를 혼합하여 스펀지 형태로 제작된 세포담체는 두 가지 물질이 서로 혼합되어 제작된 세포담체로서[Chitosan-alginate hybrid scaffold for bone tissue engineering. Zhensheng Li et al, Biomaterials 26, (2005) 3919-3928], 제조 방법이 복잡하고 조직 재생 및 기계적 강도의 한계가 있고 약물 전달 및 항생 역할을 수행하지 못하는 단점이 있다.

[0005] 또한, 공개특허공보 제10-2002-17552호는 중화 키토산 스펀지, 중화 콜라겐 스펀지 또는 콜라겐 코팅된 중화 키토산 스펀지를 포함하여 이루어지는 인공진피와, 이 인공진피에 인체 섬유아세포 또는 각종 생체 활성 인자들이 부가되어 있는 (생)인공진피, 그리고 이들의 제조방법에 관한 것으로서, 산성 키토산 수용액을 동결 건조한 후, 알칼리 용액으로 중화하는 인공진피 제조방법을 제공한다. 그러나, 이와 같이 제조된 인공진피는 스펀지 형태로, 공극이 불규칙적으로 형성되어 내부에 충분한 세포 부착 공간을 확보하기 어렵다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 따라서, 본 발명은 상기와 같은 종래 기술의 문제점을 해결하는 것을 목적으로 한다.

[0007] 또한, 본 발명은 간단한 방법으로 제조 가능하고, 조직 재생이 가능하며, 기계적 강도가 우수한 세포담체를 제공하려는 것을 목적으로 한다.

- [0008] 또한, 본 발명은 약물을 생체나 조직에 효율적으로 전달할 수 있는 세포담체를 제공하려는 것을 목적으로 한다.
- [0009] 뿐만 아니라, 본 발명은 별도의 항생제 처리 없이도 세균 감염의 문제가 발생하지 않는 세포담체를 제공하려는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

- [0010] 상기 목적을 달성하기 위하여 본 발명자들은 3차원 플로터를 이용하여 3차원 격자 형태의 세포담체를 제작하였다. 제작된 3차원 격자 형태 세포 담체는 동결건조시킨 후 가교시켰고, 다시 동결건조시킨 다음 약물을 흡수시켰다. 약물이 흡수된 담체에는 생체 적합성 천연 고분자를 코팅하였다. 그 후 공극 구조를 잘 형성시키기 위해 흡입 펌프를 이용하여 코팅된 천연 고분자의 일부를 흡입시킨 다음 건조시켜 본 발명의 약물전달시스템을 포함하는 세포담체를 완성하였다.
- [0011] 이와 같이 제조된 본 발명의 세포담체는 생체 적합성 천연고분자의 코팅 두께를 조절함으로써 세포담체의 기계적 강도를 향상시킬 수 있고, 이식 시 조직이 세포담체의 내부까지 형성되도록 할 수 있으며, 항생제를 투여하지 않고서도 박테리아 및 세균의 감염을 예방할 수 있어 항생제 과잉 사용을 방지할 수 있다.
- [0012] 본 발명은
- [0013] a) 생체 적합성 고분자로 3차원 격자 형태의 스캐폴드를 제조하는 공정;
- [0014] b) 상기 제조된 3차원 격자 형태의 스캐폴드를 동결건조시키는 공정;
- [0015] c) 상기 동결건조된 스캐폴드를 교차결합시키는 공정;
- [0016] d) 교차결합된 스캐폴드를 2차 동결건조시키는 공정;
- [0017] e) 2차 동결건조된 스캐폴드에 약물을 흡수시키는 공정;
- [0018] f) 약물이 흡수된 스캐폴드에 생체 적합성 천연 고분자를 코팅시키는 공정;
- [0019] g) 코팅 후 생체 적합성 천연 고분자를 흡입하는 공정; 및
- [0020] h) 건조 공정;을 포함하는 약물전달시스템을 포함하는 세포담체 제조방법을 제공한다.
- [0021] 본 발명에서 상기 생체 적합성 고분자는 특별한 제한은 없으나, 특히 폴리이미드(polyimides), 폴리아믹스 산(polyamix acid), 폴리카프로락톤(polycarprolactone), 폴리에테리미드(polyetherimide), 나일론(nylon), 폴리아라미드(polyaramid), 폴리비닐알콜(polyvinyl alcohol), 폴리비닐피롤리돈(polyvinylpyrrolidone), 폴리벤질글루타메이트(poly-benzyl-glutamate), 폴리페닐렌테레프탈아마이드(polyphenyleneterephthalamide), 폴리아닐린(polyaniline), 폴리아크릴로니트릴(polyacrylonitrile), 폴리에틸렌옥사이드(polyethylene oxide), 폴리스티렌(polystyrene), 셀룰로오스(cellulose), 폴리아크릴레이트(polyacrylate), 폴리메틸메타크릴레이트(polymethylmethacrylate), 폴리락산(polylactic acid; PLA), 폴리글리콜산(polyglycolic acid; PGA), 폴리락산과 폴리글리콜산의 공중합체(PLGA), 폴리{폴리(에틸렌옥사이드)테레프탈레이트-co-부틸렌테레프탈레이트}(PEOT/PBT), 폴리포스포에스터(polyphosphoester; PPE), 폴리포스파젠(PPA), 폴리안하이드라이드(Polyanhydride; PA), 폴리오르쏘에스터{poly(ortho ester; POE)}, 폴리(프로필렌푸마레이트)-디아크릴레이트{poly(propylene fumarate)-diacrylate; PPF-DA} 및 폴리에틸렌글라이콜디아크릴레이트{poly(ethylene glycol) diacrylate; PEG-DA} 중에서 선택된 1종 이상임을 특징으로 한다.
- [0022] 또한, 본 발명에서 상기 생체 적합성 천연 고분자의 종류에 특별한 제한은 없으나, 특히 콜라겐, 알지네이트, 푸코이단(Fucoidan) 및 키토산과 같이 세포재생능력이 뛰어난 물질 중 선택된 1종 이상임을 특징으로 한다.
- [0023] 또한, 본 발명은 상기 생체 적합성 천연 고분자에 뼈 재생물질인 하이드록시아파타이트 및 β -삼칼슘인산 중 1종 이상을 부가 혼합하여 코팅하는 것을 특징으로 한다. 이와 같은 뼈 재생물질을 부가하는 경우 기계적 강도가 좀더 높아지는 장점이 있다.
- [0024] 또한, 본 발명은 상기 g) 흡입 공정이 30 ~70 kPa의 흡입 압력으로 수행됨을 특징으로 한다. 30 kPa보다 낮은 압력을 가하면 흡입 압력이 낮아 공극 구조를 형성하는데 어려움이 있으며, 코팅이 불규칙하게 이루어졌다. 또

한 흡입 압력이 70 kPa를 넘으면 흡입 압력이 높아 스캐폴드 가닥 및 공극 구조를 훼손시키는 문제가 발생하였다.

[0025] 또한, 본 발명은 상기 g) 공정 이후 생체 적합성 천연 고분자의 교차결합 공정이 부가됨을 특징으로 한다.

[0026] 또한, 본 발명에서 상기 스캐폴드에 흡수시키는 약물의 종류에 특별한 제한은 없으나, 바람직하게는 상기 약물이 파이프록틴, 비트록틴, 산성 섬유아세포 성장인자(acidic fibroblast growth factor; aFGF), 염기성 섬유아세포 성장인자(basic fibroblast growth factor; bFGF), 각질세포 성장인자(keratinocyte growth factor; KGF), 혈관내피세포 성장인자(vascular endothelial growth factor; VEGF), 표피세포 성장인자(epidermal growth factor; EGF), 혈소판유래 성장인자-AA(platelet-derived growth factor-AA; PDGF-AA), 혈소판유래 성장인자-AB(platelet-derived growth factor-AB; PDGF-AB), 혈소판유래 성장인자- BB(platelet-derived growth factor-BB; PDGF-BB), 형질전환 성장인자- α (transforming growth factor- α ; TGF-알파), 형질전환 성장인자- β (transforming growth factor- β ; TGF-베타), 인슐린 유사 성장인자(insulin-like growth factor; IGF), 종양괴사 인자(tumor necrosis factor; TNF), 과립 및 대식 세포군체 성장인자(granulocyte-macrophage colony stimulating factor; GM-CSF), 신경세포성장인자(neuronal growth factor; NGF), 헤파린결합 EGF(heparin binding EGF), 인터페론(interferons), 적혈구 조혈인자(erythropoietin), 인터루킨-1(interlukin-1; IL-1), 인터루킨-2(interlukin-2; IL-2), 인터루킨-6(interlukin-6; IL-6), 인터루킨-8(interlukin-8; IL-8), 조직 활성화 펩티드(tissue activating peptides) 및 항생제로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 성분임을 특징으로 한다.

[0027] 뿐만 아니라, 본 발명은 상기와 같은 방법으로 제조되며, 3차원 격자 형태의 생체 적합성 고분자 스캐폴드에 약물이 흡수되고, 생체 적합성 천연 고분자로 코팅된, 약물전달시스템을 포함하는 세포담체를 제공한다.

[0028] 또한, 본 발명은 상기 세포담체의 코팅두께에 특별한 제한은 없으나, 바람직하게는 0.1~50 μ m임을 특징으로 한다. 코팅 두께가 하한보다 얇으면 강도 개선 효과나 약물 서방 배출 기능이 미미하며, 상한보다 두꺼울 경우에는 공극이 작아져 세포 성장 공간이 충분하지 않고, 약물이 지나치게 천천히 배출되는 문제점이 발생할 수 있다.

[0029] 본 발명의 일 실시예에 의한 약물전달시스템을 포함하는 세포담체 제작방법은 도 1에 도시되어 있다.

[0030] 본 발명의 방법에 의하여 제조된 세포담체 시료 CAC-1, CAC-2 및 CAC-3에 대하여 기계적 강도를 측정한 결과 코팅 농도가 높아 코팅 두께가 두꺼워질수록 강도가 증가함을 확인할 수 있었다 (도 5).

[0031] 또한, 본 발명의 방법에 의하여 제조된 세포담체 시료 CAC-1, CAC-2 및 CAC-3에 대하여 수축률을 시험한 결과, 도 4와 같이 코팅 용액의 농도가 높아지면 공극 크기와 가닥 크기의 수축률이 더 커졌다.

[0032] 본 발명의 방법에 의하여 제조된 세포담체 시료 CAC-1, CAC-2 및 CAC-3과 생체 적합성 천연 고분자를 코팅하지 않고 약물을 흡수시킨 콜라겐 스캐폴드 시료에 대하여 약물 방출거동을 실험한 결과, 도 6과 같이 코팅 농도가 높을수록 즉, 코팅 두께가 두꺼워질수록 약물이 오랫동안 서서히 방출됨을 알 수 있었다 (도 6).

발명의 효과

[0033] 본 발명의 방법에 의하여 제조된 세포담체는 3차원 격자 형태 스캐폴드를 기본으로 하여 약물을 흡수시키고, 생체 적합성 천연 고분자 용액으로 코팅하므로 코팅 용액의 농도를 조절함으로써 코팅 두께 조절이 가능하고, 코팅 두께에 따라 세포담체의 기계적 강도를 조절할 수 있다.

[0034] 또한, 본 발명의 방법에 의하여 제조된 세포담체는 코팅 두께 조절에 따라 약물 방출 정도를 조절할 수 있다.

[0035] 또한, 본 발명의 방법에 의하여 제조된 세포담체는 3차원 격자 형태를 기본으로 하여 제조되므로 세포담체 전체에 균일하게 세포가 정착하여 증식, 성장할 수 있으므로 종래의 스폰지 형태 세포담체와 비교할 때 기계적 강도가 강하고, 조직 재생이 더 활발하게 일어날 수 있으며, 조직 재생시 필요한 성장인자 등의 약물을 별도로 처리하지 않아도 된다.

[0036] 본 발명의 방법에 의하여 제조된 세포담체는 뼈나 피부 등 다양한 조직의 치료, 재생 용도 등으로 이용할 수 있다.

[0037]

도면의 간단한 설명

[0038]

도 1은 본 발명의 일 실시예에 의한 약물전달시스템을 포함하는 세포담체 제작 방법을 나타내는 모식도이다.

도 2는 콜라겐 3차원 스캐폴드의 SEM 사진이다.

도 3은 본 발명의 일 실시예에 의한 약물전달시스템을 포함하는 세포담체 즉, 격자형 콜라겐 3차원 스캐폴드에 약물을 흡수시키고 알지네이트로 코팅한 세포담체의 SEM 사진이다.

도 4는 본 발명의 일 실시예에 의하여 제작된 약물전달시스템을 포함하는 세포담체의 수축율을 나타내는 그래프이다. 하얀 막대는 공극의 수축율을 나타내며, 빗금친 막대는 가닥의 수축율을 나타낸다.

도 5는 본 발명의 일 실시예에 의하여 제작된 약물전달시스템을 포함하는 세포담체의 기계적 강도를 측정한 결과를 그래프로 나타낸 것이다.

도 6은 본 발명의 일 실시예에 의하여 제작된 약물전달시스템을 포함하는 세포담체의 약물방출거동을 측정한 결과를 그래프로 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0039]

아래에서는 실시예를 들어 본 발명의 구성을 좀더 자세히 설명한다. 그러나, 본 발명의 범위가 실시예의 기재범위 내로 한정되는 것이 아님은 본 발명이 속하는 기술분야에서 보통의 지식을 가진 자에게 자명하다.

[0040]

<극저온 3차원 플로팅 시스템을 이용한 콜라겐 스캐폴드 제조>

[0041]

극저온 3차원 플로팅 시스템은 3차원 로봇 (DTR3-2210-T-SG, DASA Robot, South Korea)과 분배 시스템 (AD-3000C, Ugin-tech, South Korea) 및 극저온 제조판재로 구성된다. 극저온 냉동 시스템은 두 개의 컴프레서와 스테이지의 온도를 낮추는 순환 실리콘 오일 및 순환 펌프로 구성된다. 스테이지의 온도는 컴프레서를 조절함으로써 $\pm 3^{\circ}\text{C}$ 의 오차 이내로 유지된다. 스테이지의 습기를 제거하기 위하여 질소가스가 지속적으로 제거된다. 이 공정에서 노즐 내의 콜라겐 용액이 얼기 쉬우므로 플로팅 시스템의 콜라겐 용액은 25°C 로 가열하였고, 노즐 팁은 스테이지로부터 온도 전도를 최소화하기 위하여 실리콘 고무로 코팅하였다.

[0042]

본 실시예에서는 콜라겐 타입-I (Matrxen-PSP; Bioland, South Korea)을 재료로 이용하여 3차원 스캐폴드를 제작하였다. 내경 $300\ \mu\text{m}$ 노즐을 이용하여 콜라겐 용액 토출 압력 150 kPa, 플로팅 속도 17 mm/s로 3차원 격자 형태의 세포담체를 제작하였다. 스캐폴드는 $20 \times 20 \times 2\ \text{mm}^3$ 로 디자인되었다.

[0043]

제작된 스캐폴드는 동결건조기(SFDSM06; Samwon, South Korea)를 이용하여 -76°C 에서 3일간 동결건조하였고, 동결 건조된 콜라겐 스캐폴드는 가교 (Cross-linking)를 위해 일반적으로 콜라겐 가교에 사용되는 80% 에탄올에 용해시킨 EDC {1-ethyl-(3-(3-dimethylaminopropyl) + carbodiimide hydrochloride} 용액에 혼합하여 세 시간 동안 가교하였다. 그 후 위의 조건과 동일하게 2차 동결건조하였다.

[0044]

2차 동결건조된 콜라겐 스캐폴드는 크기는 3차원 격자 형태를 나타내며, 각 격자를 이루는 가닥은 다공 형태를 나타냄으로써 수분을 흡수하기에 적당한 구조적 특성을 가지고 있다.

[0045]

<약물 흡수시킨 세포담체 제조 단계>

[0046]

이에 일반적으로 연구에서 약물 대신 사용되는 로다민-B (Rhodamine-B; SIGMA-ALDRICH)라는 빨간색을 띠는 화학 물질을 PBS (Phosphate Buffered Saline)에 혼합하여 콜라겐 스캐폴드에 흡수시켰다.

[0047]

<코팅 단계>

[0048]

약물을 흡수시킨 스캐폴드는 NaOH (DUKSAN PURE CHEMICALS CO. LTD. KOREA)와 3차 증류수를 혼합하여 각각 다른 농도로 제작된 알지네이트 용액을 약물 흡수된 콜라겐 스캐폴드의 표면에 도포하여 코팅하여 세포담체를

제작하고, 각각을 CAC-1, CAC-2, CAC-3으로 명명하였다 (1, 2, 3 순서대로 알지네이트 농도가 높아짐).

[0049] 알지네이트 용액은 각각 5 wt% ("CAC-1"이라 함), 10 wt% ("CAC-2"라 함) 및 20 wt% ("CAC-3"이라 함)로 제조하였고, 알지네이트 1: NaOH 3의 중량 비율로 각 용액을 제조하였다.

[0050] 그 후 알지네이트가 코팅된 세포담체의 공극 구조를 확보하기 위해 60 kPa의 압력으로 흡입 (Suction)하였다.

[0051] 흡입 단계를 거친 세포담체는 일반적으로 알지네이트의 가교로 사용되는 CaCl_2 (SIGMA-ALDRICH)를 3차 증류수에 1 wt%의 용액으로 만들어 5분간 가교하였다.

[0052] 가교된 세포담체를 클린벤치에서 48h 공기 중 건조시켜 최종적으로 약물전달시스템이 포함된 세포담체를 제작하였다.

[0053] <기계적 강도 측정>

[0054] 각각의 시료 CAC-1, CAC-2, CAC-3을 5x10x1.3 mm의 크기로 제작한 후 UTM (Universal tensile machine, Top-tech 2000, Chemilab, South Korea)을 이용하여 0.5 mm/s의 인장 속도를 가하여 인장 강도를 측정하였다.

[0055] <약물 방출거동 측정>

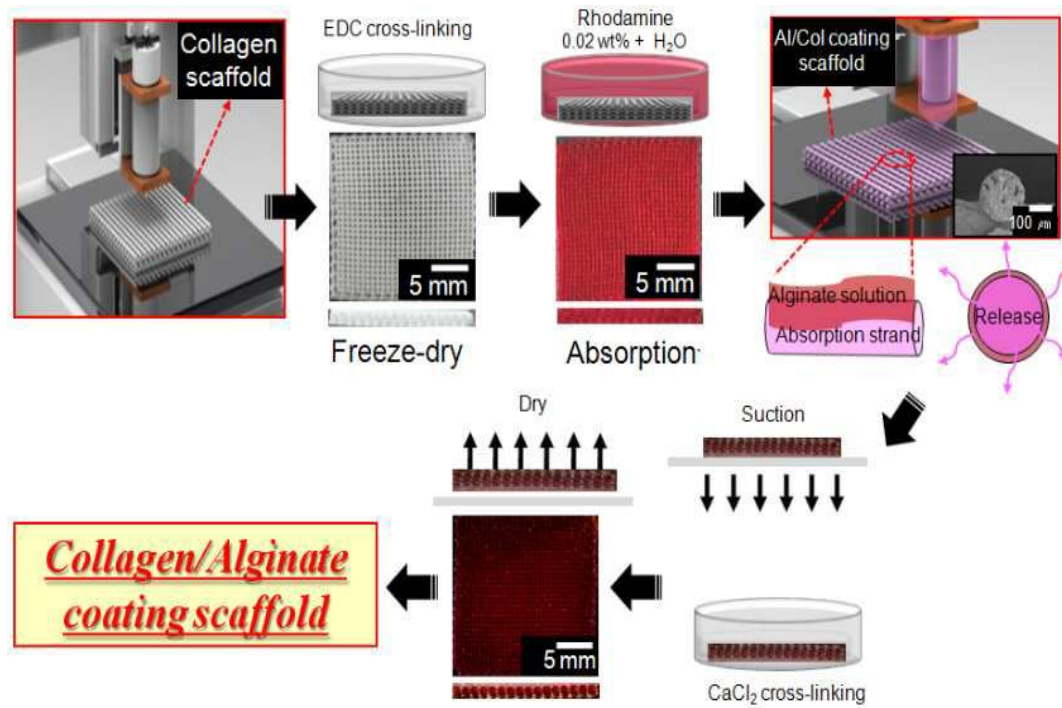
[0056] 15 ml 코니칼 튜브에 삼차증류수 10 ml를 채운 후 5x5x1.3 mm의 크기로 제작한 CAC-1, CAC-2, CAC-3 시료를 넣어 약물이 흘러나오는 것을 UV/VIS 분광광도계 (Optizen 2120UV, Mecasys Co., Ltd., 한국)를 이용하여 543 nm에서 측정하였다.

[0057] <수축율 측정>

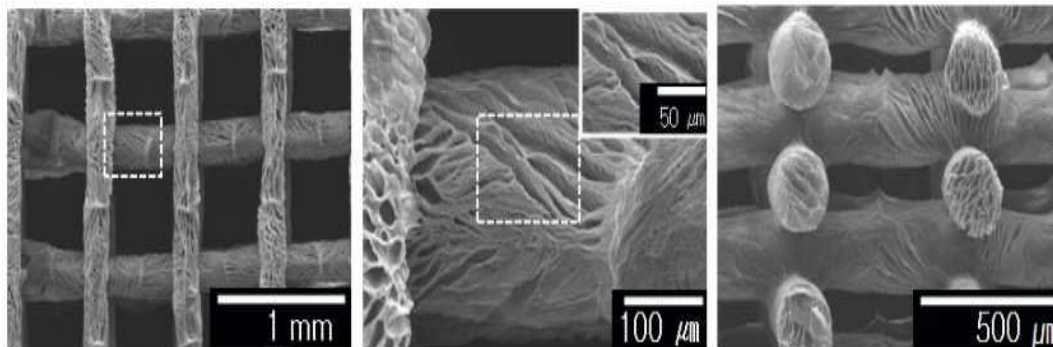
[0058] 각 콜라겐 스캐폴드에 다른 농도의 알지네이트 용액을 코팅하고 1 wt%의 CaCl_2 를 이용하여 가교한 다음 24h 동안 건조시켰다. 각 시료 (CAC-1, CAC-2, CAC-3)의 공극과 가닥이 수축되는 정도를 광학현미경 (BAXFM-32, Olympus)으로 관찰하여 코팅 전의 콜라겐 스캐폴드를 기준으로 비교하여 백분율로 계산하였다.

도면

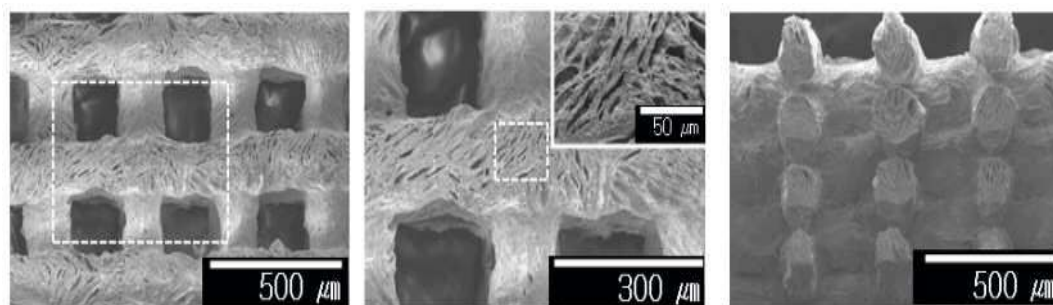
도면1



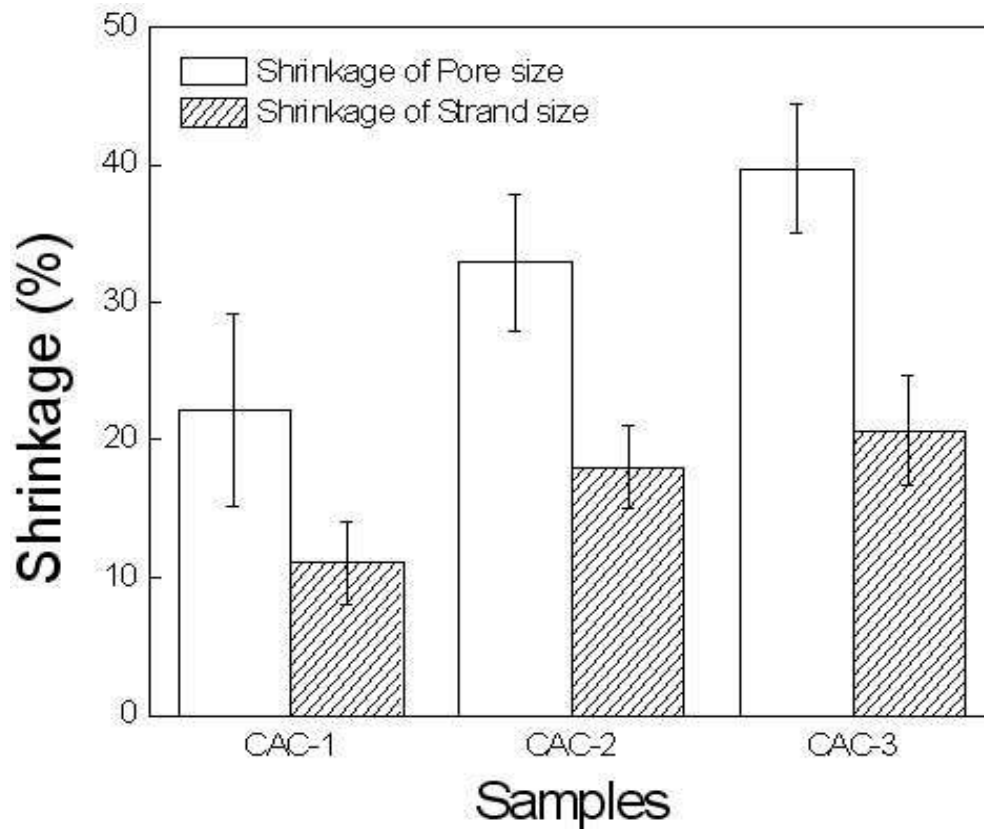
도면2



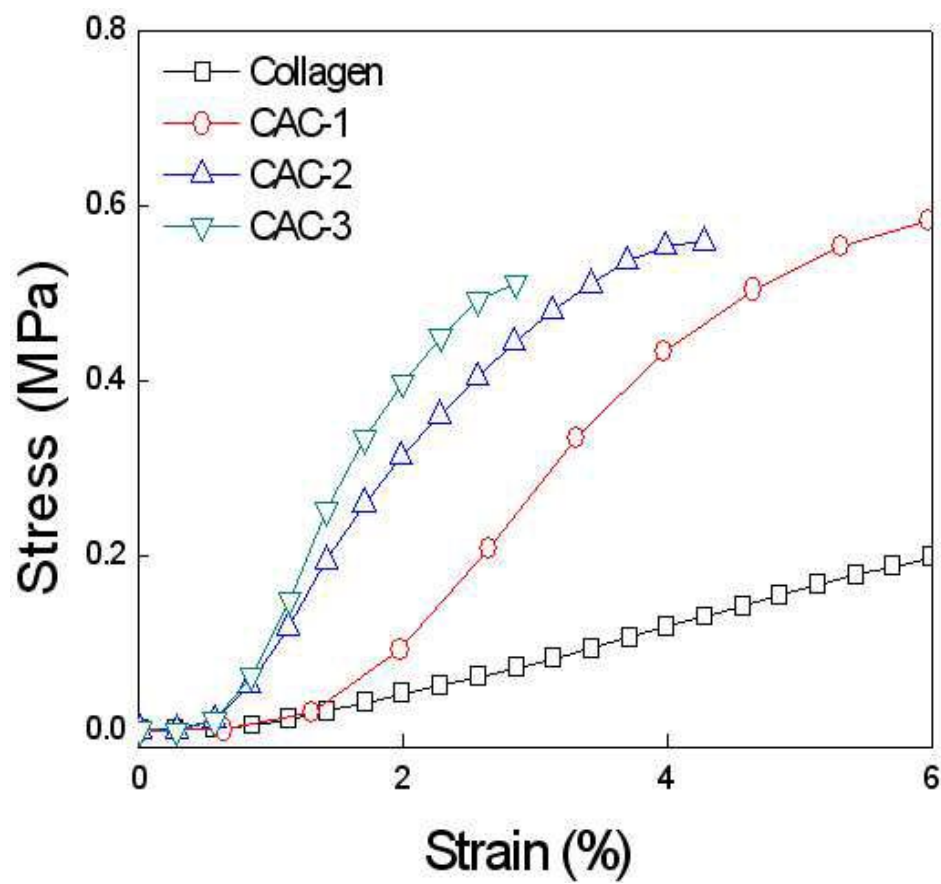
도면3



도면4



도면5



도면6

