



**(19) 대한민국특허청(KR)**  
**(12) 등록특허공보(B1)**

(45) 공고일자 2018년08월08일  
 (11) 등록번호 10-1885896  
 (24) 등록일자 2018년07월31일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
 A61L 27/02 (2006.01) A61F 2/28 (2006.01)  
 (21) 출원번호 10-2012-0038409  
 (22) 출원일자 2012년04월13일  
 심사청구일자 2017년03월30일  
 (65) 공개번호 10-2013-0115781  
 (43) 공개일자 2013년10월22일  
 (56) 선행기술조사문헌  
 JP2006522670 A  
 KR1020120010506 A  
 KR100846836 B1  
 KR1020100134306 A

(73) 특허권자  
 한스바이오메드 주식회사  
 서울특별시 송파구 정의로8길 7(문정동)  
 (72) 발명자  
 전성현  
 대전 유성구 유성대로1628번길 64, (전민동)  
 채지화  
 대전 유성구 와룡로136번길 15, 101동 1103호 (봉산동, 하늘바람휴먼시아)  
 (뒷면에 계속)  
 (74) 대리인  
 특허법인이지

전체 청구항 수 : 총 10 항

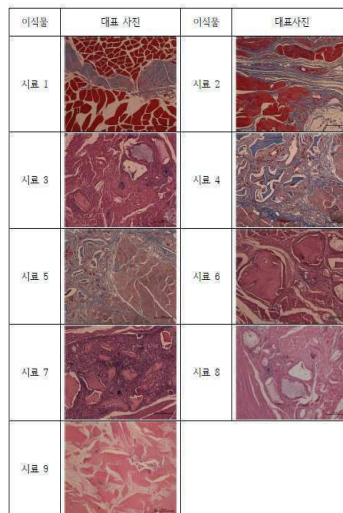
심사관 : 정재철

(54) 발명의 명칭 **인체뼈 유래 무기질을 포함하는 천연 골재생체**

**(57) 요약**

본 발명은 골 손상부위에 적용되는 인체뼈 유래 무기질을 포함하는 천연 골재생체에 관한 것이다. 보다 상세하게는, 뼈 조직의 탈회처리에 의하여 분리된 탈회용액에서 추출한 인체뼈 유래 무기질을 포함하는 천연 골재생체에 관한 것이다. 본 발명에 따른 인체뼈 유래 무기질을 포함하는 골재생체를 인체에 이식할 경우 인체와 가장 가까운 미세환경을 제공해줌으로써 생체 내 거부반응 없이 우수한 골재생촉진 효과를 가져올 수 있다.

**대표도** - 도1



(72) 발명자

**이은정**

대전광역시 대덕구 대덕대로 1520번길 77, 101동  
1201호

**강계원**

대전 유성구 엑스포로339번길 320, 4동 103호 (원  
촌동, 사이언스빌)

**황호찬**

서울특별시 광진구 광나루로56길 29 4동 2702호 (현  
대프라임아파트)

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

뼈 조직의 탈회처리에 의하여 분리된 탈회용액에서 추출한 인체뼈 유래 무기질을 포함하는 천연 골재생체.

#### 청구항 2

제1항에 있어서,

상기 탈회용액에서 추출된 인체뼈 유래 무기질은,

골피질(cortical bone) 1g당 0.3~0.7 노르말농도(N)의 염산 20ml로 탈회하는 단계;

상기 탈회된 뼈분말 회수한 후 잔류된 뼈분말을 제거하기 위해 탈회용액을 여과하는 단계;

상기 여과된 탈회용액 부피의 5~7.5%에 해당하는 4~6몰농도(M)의 수산화나트륨(NaOH)을 사용하여 pH 수치가 7.0~7.5이 될 때까지 중화하는 단계;

상기 중화된 용액을 원심분리 한 후 상등액을 제거하여 침전물을 얻는 단계;

상기 침전물을 증류수로 세척 후 원심분리하는 단계; 및

최종적으로 얻어진 침전물을 동결건조 또는 고온건조(dry oven)하는 단계를 포함하는 방법으로 추출된 것을 특징으로 하는 천연 골재생체.

#### 청구항 3

제2항에 있어서, 상기 무기질은 전체 중량 대비 칼슘은 32~37중량%, 인은 17~19중량%, 철은 0.00065~0.00075중량%, 포타슘은 0.0024~0.0025중량%, 마그네슘은 0.085~0.95중량%, 및 나트륨은 0.13~0.14중량%으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상을 포함하는 것을 특징으로 하는 골재생체.

#### 청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항의 인체뼈 유래 무기질 및 탈회골기질(DBM)을 포함하는 골재생용 페이스트.

#### 청구항 5

제4항에 있어서, 인체뼈 유래 무기질 및 탈회골기질을 9:1 내지 1:9의 비율로 포함하는 골재생용 페이스트.

#### 청구항 6

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항의 인체뼈 유래 무기질을 소결시켜 생성된 다공성 인산칼슘 지지체.

#### 청구항 7

제6항에 있어서, 상기 다공성 인산칼슘 지지체의 표면이 젤라틴으로 코팅된 것을 특징으로 하는 다공성 인산칼슘 지지체.

**청구항 8**

제7항에 있어서, 상기 코팅된 젤라틴은 전체 중량 대비 5~20중량%인 것을 특징으로 하는 다공성 인산칼슘 지지체.

**청구항 9**

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항의 인체뼈 유래 무기질 및 글리세롤을 포함하는 뼈 무기질 블럭.

**청구항 10**

제9항에 있어서, 상기 글리세롤은 전체 중량 대비 15~20중량%인 것을 특징으로 하는 뼈 무기질 블럭.

**발명의 설명**

**기술 분야**

[0001] 본 발명은 골 손상부위에 적용되는 인체뼈 유래 무기질을 포함하는 천연 골재생체에 관한 것이다. 보다 상세하게는, 뼈 조직의 탈회처리에 의하여 분리된 탈회용액에서 추출한 인체뼈 유래 무기질을 포함하는 천연 골재생체에 관한 것이다.

**배경 기술**

[0002] 최근 의료기술의 발달 및 사고, 재해, 골격계 관련 질환에 따른 치료의 증가에 따라 이에 필요한 생체재료의 중요성이 날로 커지고 있다. 생체재료는 의약품을 제외한 인공, 천연 또는 그들의 복합재료로서 인체 내에서 단기 또는 장기간 동안 인체의 조직이나 기관의 기능을 치료, 보강, 대체 또는 회복시키는데 사용되는 재료를 일컫는다.

[0003] 인간의 선천적, 후천적 골질환에 의한 골 변형 및 외부적인 자극에 의한 손상이 있을 경우 골 결손부위를 수복하기 위해서는 골을 대체할 수 있는 이식재를 환자에게 이식하게 되며, 이때 사용되는 이식재로는 환자 자신의 골인 자가골, 기증시신으로부터 채취하여 멸균 소독하는 과정을 거쳐 가공된 동종골 이식재, 돼지나 소뼈 등으로부터 유래된 이종골 이식재, 칼슘 및 인회석 등을 원료로 한 합성골 이식재 등이 있다.

[0004] 특히 뼈 이식을 통한 뼈의 재건 분야에 있어서는, 자신의 뼈 일부분을 채취하여 이식부분에 이식하는 자가골 이식이 가장 일반적으로 사용되고 있는 방법이다(S. Stevenson, Biology of bone graft, Orthop Clin North Am, 30, 543(1999)). 자가골 이식의 장점은 뼈의 기질뿐만 아니라 뼈형성에 작용하는 살아있는 세포를 그대로 이식 부위에 제공함으로써 뼈생성이 여타의 이식물과 비교할 때 보다 원활하게 일어날 수 있다는 점과, 자신의 뼈 일부분을 사용하기 때문에 면역거부반응에 의한 치료효과의 반감 및 실패확률을 크게 줄일 수 있다는 점이다. 또한, 뼈의 흡수가 거의 없고 피로골절이 적으며 골유도 및 골전도 능력이 뛰어나기 때문에 뼈의 융합과 비후가 신속하게 진행되어 골간의 큰 손실부 재건에 유리하다. 그러나, 이러한 자가골 이식의 장점에도 불구하고, 피시술자의 신체에서 뼈를 채취해야하므로, 환자의 고통 및 외과적 수술에 필히 수반되는 이차감염의 문제가 항상 존재하는 단점이 있다.

[0005] 이러한 단점을 해결하고자 대안으로 제시된 것이 탈회골기질(DBM; Demineralized Bone Matrix)이다. 우수한 골유도 능력을 가진 것으로 알려진 탈회골기질, 즉 탈회과정을 거친 뼈기질은 1889년 Senn이 방부제를 골수염 환자의 인체 내에 주입시키기 위한 일종의 운반체로써 사용하기 시작한 것이 그 시초이다(Senn N (1889) On the healing of aseptic bone cavities by implantation of antiseptic decalcified bone. Am J Med Sci 98:219). 그 후, 임상목적으로 탈회골기질이 실질적으로 가시화된 것은 Urist의 연구를 통해 탈회된 동결건조골에 의해 골형성이 유도되는 것이 관찰된 이후이다(Urist MR. Bone: Formation by autoinduction. Science 1965; 150: 893-9.). 그 후 탈회골기질에 대해 많은 연구가 수행되어 Mulliken과 Glowacki에 이르러서는 비탈회골에 비해 탈회골이 골형성을 유도하는데 있어 보다 더 효과적임이 보고된 바 있다(Mulliken et al, Plast. Reconstr.

Surg., 65: 553-559, 1980 and Glowacki et al, Lancet, 2 May, 1981, 959-962.).

- [0006] 탈회골기질은 골유도 능력뿐만 아니라 골 채취를 위한 부가적인 수술이 필요치 않은 장점을 갖고 있다. 그러나, 탈회골기질은 수용액과 친화성이 떨어지며, 단독으로 이식시 형태유지가 어려운 단점을 갖고 있다. 또한, 특별한 안정화제 또는 담체와 같이 사용되지 않을 경우, 탈회골기질 내에 포함되어 있는 골형성 단백질 (BMP; Bone Morphogenetic Protein)이 생체 내에서 쉽게 퇴화될 수 있는 가능성이 항상 존재하며, 손상부위에 이식할 때 탈회골기질 자체만으로는 이식이 가능하지 않은 단점이 존재한다.
- [0007] 또한, 현재 시판되고 있는 합성뼈 제품(인산칼슘계 뼈충진제)은 인공합성되거나 coralline-derived(산호) 제품이며, 대부분이 단일 성분으로 구성되어 있는바 인체 내에 이식하였을때 골재생 촉진효과를 포함한 온전한 생물학적 기능을 수행하기에 미흡한 점이 있다.
- [0008] 따라서, 손상된 뼈의 재건을 목적으로 탈회골기질을 이용하여 치료를 수행하는 정형외과, 치과, 신경외과 등의 분야에서, 기술이 용이하도록 주입성이 뛰어나며, 이식 후에도 흘러내리지 않도록 생체 내에서 형태를 유지할 수 있는 물리적특징이 매우 중요하다. 또한, 인체와 가장 가까운 미세환경을 제공해줌으로써 이식된 생체 내에서 거부반응을 일으키지 않아 우수한 골재생 능력을 나타낼 수 있도록 하는 것 또한 탈회골기질을 이용한 이식용 재료의 필수요건이다.
- [0009] 탈회골기질을 이용한 이식용 재료의 제조공정에 있어서는 탈회과정 및 멸균공정이 수반된다. 상기 탈회 및 멸균 과정에 있어서, 화학물질의 사용을 최대한 줄여 독성성분에 의한 오염을 최대한 방지하면서도 병원체가 완전히 소거될 수 있도록 함으로써 보다 높은 신뢰도를 갖는 제품 및 공정의 개발이 요구되고 있다.
- [0010] 이와 관련된 종래 기술을 살펴보면 다음과 같다. 한국등록특허 10-0894265에서는 골형성 촉진 펩타이드를 함유하는 주입형 골재생체에 대하여 개시하고 있으며, 한국공개특허 2012-0010506호에서는 탈회골기질을 이용하여 이식된 생체 내에서 거부반응을 감소시킨 골재생체에 대하여 개시하고 있다. 또한, 한국공개특허 2010-0046194호에서는 수산화인산석회 나노결정, 젤라틴 등을 포함하는 성형성 바이오세라믹에 대하여 개시하고 있다.
- [0011] 그러나, 종래의 기술들은 이식용 골재생체를 제조 또는 제조하는 방법에 있어서 합성물질만을 사용하거나 뼈 유래 유기질만을 사용하고 있을뿐, 탈회골기질을 제조하는 과정에 있어서 버려지는 탈회용액으로부터 추출한 인체 뼈 유래 무기질을 포함하는 골재생체를 이식하여 인체와 가장 가까운 미세환경을 제공해줌으로써 생체 내 거부반응 없이 우수한 골재생촉진 효과를 얻는 기술은 전혀 개시하고 있지 않다.

**발명의 내용**

**해결하려는 과제**

- [0012] 이와 같은 기술적 배경 하에서, 본 발명자들은 보다 우수한 골재생능력 및 생체적합성을 갖는 골재생체를 개발하기 위하여 예의 노력한 결과 본 발명을 완성하기에 이르렀다.
- [0013] 결국, 본 발명의 목적은 우수한 골재생능력 및 생체적합성을 갖는 인체뼈 유래 무기질을 포함하는 천연 골재생체를 제공하는 데 있다.
- [0014] 본 발명의 다른 목적은 인체뼈 유래 무기질 및 탈회골기질(DBM)을 포함하는 골재생용 페이스트를 제공하는 데 있다.
- [0015] 본 발명의 또 다른 목적은 인체뼈 유래 무기질을 소결시켜 생성된 다공성 인산칼슘 지지체를 제공하는 데 있다.
- [0016] 본 발명의 또 다른 목적은 인체뼈 유래 무기질 및 글리세롤을 포함하는 뼈 무기질 블럭을 제공하는데 있다.

**과제의 해결 수단**

- [0017] 본 발명의 일 측면에 따르면, 뼈 조직의 탈회처리에 의하여 분리된 탈회용액에서 추출한 인체뼈 유래 무기질을 포함하는 천연 골재생체가 제공될 수 있다.
- [0018] 일 실시예에 따르면, 상기 무기질은 골피질(cortical bone) 1g당 0.3~0.7 노르말농도(N)의 염산 10~30ml로 탈회하는 단계; 상기 탈회된 뼈분말 회수한 후 잔류된 뼈분말을 제거하기 위해 탈회용액을 여과하는 단계; 상기 여과된 탈회용액 부피의 5~7.5%에 해당하는 4~6몰농도(M)의 수산화나트륨(NaOH)을 사용하여 pH 수치가 7.0~7.5 이 될 때까지 중화하는 단계; 상기 중화된 용액을 1,500rpm에서 5분간 원심분리한 후 상등액을 제거하여 침전물

을 얻는 단계; 상기 침전물을 증류수로 세척 후 1,500rpm에서 5분간 원심분리하는 것을 5회 반복하는 단계; 및 상기 최종적으로 얻어진 침전물을 동결건조 또는 고온건조(dry oven)하는 단계를 포함하는 방법으로 추출된 것을 특징으로 하는 천연 골재생체가 제공될 수 있다.

- [0019] 일 실시예에 따르면, 상기 무기질은 전체 중량 대비 칼슘은 32~37중량%, 인은 17~19중량%, 철은 0.00065~0.00075중량%, 포타슘은 0.0024~0.0025중량%, 마그네슘은 0.085~0.95중량%, 및 나트륨은 0.13~0.14중량%으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상을 포함할 수 있다.
- [0020] 본 발명의 다른 측면에 따르면, 인체뼈 유래 무기질 및 탈회골기질(DBM)을 포함하는 골재생용 페이스트가 제공될 수 있다.
- [0021] 일 실시예에 따르면, 인체뼈 유래 무기질 및 탈회골기질을 9:1 내지 1:9의 비율로 포함할 수 있다.
- [0022] 본 발명의 또 다른 측면에 따르면, 인체뼈 유래 무기질을 소결시켜 생성된 다공성 인산칼슘 지지체가 제공될 수 있다.
- [0023] 일 실시예에 따르면, 상기 다공성 인산칼슘 지지체의 표면이 젤라틴으로 코팅될 수 있다.
- [0024] 일 실시예에 따르면, 상기 코팅된 젤라틴은 전체 중량 대비 5~20중량%일 수 있다.
- [0025] 본 발명의 또 다른 측면에 따르면, 인체뼈 유래 무기질 및 글리세롤을 포함하는 뼈 무기질 블럭이 제공될 수 있다.
- [0026] 일 실시예에 따르면, 상기 글리세롤은 전체 중량 대비 15~20중량%일 수 있다.

**발명의 효과**

- [0027] 본 발명에 따른 인체뼈 유래 무기질을 포함하는 골재생체를 인체에 이식할 경우 인체와 가장 가까운 미세환경을 제공해줌으로써 생체 내 거부반응 없이 우수한 골재생축진 효과를 가져올 수 있다.

**도면의 간단한 설명**

- [0028] 도 1은 본 발명에 의한 골재생체를 인체 내 이식 8주 후 조직검사 사진이다.
- 도 2는 인체뼈 유래 무기질을 주원료로 한 다공성 인산칼슘 지지체의 사진이다.
- 도 3은 본 발명에 의한 다공성 인산칼슘 지지체와 젤라틴 코팅된 다공성 인산칼슘 지지체의 사진이다.
- 도 4는 젤라틴 농도에 따른 다공성 인산칼슘 지지체 압축 강도의 변화를 나타낸 그래프이다.
- 도 5는 본 발명에 의한 뼈 무기질 블럭의 유연성을 나타낸 사진이다.
- 도 6은 메스로 뼈 무기질 블럭을 절단하는 사진이다.
- 도 7은 생리식염수 내에서 뼈 무기질 블럭의 안정성을 나타낸 사진이다.
- 도 8은 다공성 인산칼슘 지지체의 가공 흐름도이다.
- 도 9는 본 발명에서 사용한 폴리우레탄스폰지의 표면도이다.
- 도 10은 다공성 인산칼슘 지지체의 제조과정을 나타낸 사진이다.
- 도 11은 본 발명에 의한 다공성 인산칼슘 지지체의 제조 과정 단계 중 하나인 소결 단계의 소결온도 및 소결시간 곡선을 나타낸 그래프이다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

- [0029] 이하, 본 발명을 보다 상세하게 설명한다.
- [0030] 본 발명은 인체와 가장 가까운 미세환경을 제공해줌으로써 생체 내 거부반응 없이 우수한 골재생축진 효과를 가져올 수 있는 인체뼈 유래 무기질을 포함하는 천연 골재생체를 제공하는 것을 목적으로 한다.
- [0031] 본 발명의 일 측면에 따르면, 뼈 조직의 탈회처리에 의하여 분리된 탈회용액에서 추출한 인체뼈 유래 무기질을 포함하는 천연 골재생체를 제공하는 것을 목적으로 한다.

- [0032] 본 발명에서 사용되는 용어 "탈회골기질(DBM; Demineralized Bone Matrix)"은 반투명하고 유연한 고무형태의 물질로서 골 성장을 촉진하는 골 형성 단백질(BMP; Bone Morphogenetic Protein)이 내재되어 있다. 이러한 단백질은 염산, 구연산 등 산에 의해서도 그 본연의 구조가 변형되지 않기 때문에 탈회처리 후 남겨진 DBM은 BMP을 포함하여 골 형성을 촉진할 수 있는 좋은 이식재의 원료가 되며, 이러한 DBM은 멸균과 소독만 하여 면역거부반응 인자를 제거한 동종골에 비해 골형성능이 뛰어나다.
- [0033] 본 발명에서 사용되는 용어 "탈회(탈미네랄, 탈염; 이하 탈회라 칭함)처리"는 칼슘 등의 무기질을 포함하는 생체 조직에서 킬레이트제 등을 사용하여 무기질을 추출하는 것을 의미하며, 뼈 조직으로부터 탈회골기질(DBM)을 분리해낸 후 남아있는 "탈회용액"에는 인체뼈를 구성하고 있는 인산칼슘 등의 무기질 성분이 다량 포함되어 있다.
- [0034] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 상기 탈회용액에서 추출된 인체뼈 유래 무기질은, 골피질(cortical bone) 1g당 0.3~0.7 노르말농도(N), 바람직하게는 0.5 노르말농도의 염산 10~30ml, 바람직하게는 20ml로 탈회하는 단계; 상기 탈회된 뼈분말 회수한 후 잔류된 뼈분말을 제거하기 위해 탈회용액을 여과하는 단계; 상기 여과된 탈회용액 부피의 5~7.5%에 해당하는 4~6몰농도(M), 바람직하게는 5몰농도의 수산화나트륨(NaOH)을 사용하여 pH 수치가 7.0~7.5이 될 때까지 중화하는 단계; 상기 중화된 용액을 1,500rpm에서 5분간 원심분리 한 후 상등액을 제거하여 침전물을 얻는 단계; 상기 침전물을 증류수로 세척 후 1,500rpm에서 5분간 원심분리하는 것을 5회 반복하는 단계; 및 상기 최종적으로 얻어진 침전물을 동결건조 또는 고온건조(dry oven)하는 단계에 의하여 제공될 수 있다.
- [0035] 뼈 조직을 탈회하기 위해서 여러 가지 방법이 사용될 수 있다. 탈회는 염산, EDTA(ethylenediaminetetraacetic acid), 포름산(formic acid), 시트르산(citric acid), 아세트산(acetic acid), 질산(nitric acid), 아질산(nitrous acid) 등 다양한 산성 용액을 사용함으로써 가능하다.
- [0036] 산성용액으로 탈회처리를 마친 탈회골기질(DBM)과 분리된 탈회용액의 pH는 산성을 띄고 있으므로 이를 인체내 pH 농도인 pH 7까지 중화시켜야 한다. 간단하게는 수산화나트륨(NaOH)을 사용하여 pH를 올릴 수 있으며 인산완충용액(phosphate buffered saline), 시중에 판매되는 생리식염수, 0.9% 염화나트륨 용액, 멸균 증류수 등을 사용해 여러번 세척하거나 탈회 반응 중인 산성용액에 첨가하여 사용할 수 있다.
- [0037] 인체뼈에서 유래했다는 것은 뼈 조직의 탈회처리에 의하여 탈회골기질을 분리해낸 후 남아있는 탈회용액에서 분리되었다는 의미이며, 이에 의하여 탈회용액에서 유기질 성분인 DBM 뿐만 아니라 무기질 성분까지 분리 및 이용할 수 있기 때문에 기증된 뼈조직의 활용도를 월등히 높일 수 있다.
- [0038] 상기 "인체뼈 유래 무기질"은 인산칼슘염 뿐만 아니라 철, 포타슘, 마그네슘, 나트륨 및 이들의 혼합물 등 필수 원소들을 포함하며, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0039] 다음 표 1에서 보는 바와 같이, 본 발명의 인체뼈 유래 무기질의 성분을 정밀분석한 결과, 칼슘 및 인의 함량은 기존 수산화인회석(hydroxyapatite)이나 트리칼슘포스페이트(TCP; Tricalcium phosphate)와 유사하며, 뼈를 구성한 나트륨 및 마그네슘 등 다른 금속 성분도 포함되어 있었다.

**표 1**

[0040] 칼슘, 인, 철분, 포타슘, 마그네슘, 나트륨 및 중금속의 비율

시료	Ca (%)	P (%)	Fe (mg/kg)	K (mg/kg)	Mg (mg/kg)	Na (mg/kg)	중금속 As Cd Hg Pb
수산화인회석 (시판, 순도 99%)	34.4	18.5	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
트리칼슘포스페이트 (시판, 순도 99%)	36.4	17.6	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
인체뼈 유래 무기질	33.3	18.4	7.14	24.8	892	1370	N.D

[0041] (N.D : 미검출)

[0042] 현재 시판되고 있는 합성뼈 제품(인산칼슘계 뼈충진제)은 인공합성되거나 coralline-derived(산호) 제품이며,

대부분이 단일 성분으로 구성되어 있는바 인체 내에 이식하였을때 골재생 촉진효과를 포함한 온전한 생물학적 기능을 수행하기에 미흡한 점이 있다. 그러나, 본 발명의 인체뼈 유래 무기질을 인체 내에 이식해졌을 때 인체와 가장 가까운 미세환경을 제공해줌으로써 생체 내 거부반응 없이 우수한 골재생촉진 효과를 가져올 수 있다.

- [0043] 본 발명에서 사용되는 용어 "골재생재"는 그 형태와 상관없이 이식의 대상이 되는 골손상부위의 형태와 반드시 일치할 필요는 없고, 유사한 형태로 성형이 가공한 정도의 상태이면 족하다. 그러나, 필요에 따라서는 이식 대상의 골손상부위의 형태를 미리 파악하여 이에 맞는 모양을 제조할 수도 있으며, 다양한 상황에 일반적으로 적용될 수 있도록 막의 구조 또는 띠의 구조 등으로 미리 형상화시킨 것일 수도 있다.
- [0044] 이를 위해서는 상기의 골재생재의 성형성을 증가시키기 위한 다양한 재료가 더 첨가될 수 있다. 즉, 생체적합성이 뛰어난 선형의 소재, 튜브형의 소재, 입자형의 소재 및 부정형의 소재 등이 더 첨가되어 상기 골재생재의 물리적 특성을 향상시킬 수 있다. 이러한 형태의 소재들은 콜라겐, 카르복시메틸셀룰로오스(CMC; Carboxymethylcellulose) 또는 동물 유래 젤라틴 등의 소재로부터 선택될 수 있으며, 이식 대상에 면역반응을 유발하지 않는다면 특별한 제한은 없다.
- [0045] 본 발명의 다른 측면에 따르면, 인체뼈 유래 무기질에 탈회골기질(DBM)을 더 포함하는 골재생용 페이스트를 제공될 수 있다.
- [0046] 인산칼슘계열 뼈 촉진제는 골전도능(osteinduction)을 가지고 있고, 동종뼈 이식재 DBM은 골유도능이 우수하다고 알려져 있다. 본 발명은 인산칼슘을 주성분으로 하는 인체뼈 유래 무기질 및 탈회골기질을 포함하는 골재생용 페이스트로서 골전도능 및 골유도능을 동시에 갖추고 있다. 뿐만 아니라 인체뼈 유래 무기질에는 합성 인산칼슘에 비해 뼈가 형성될 때 필요로 하는 모든 무기질을 가지고 있기 때문에 일반 합성 인산칼슘 골재생재보다 우수한 골재생 촉진효과를 가지고 있다.
- [0047] 본 발명의 일 실시예에 따르면 상기 인체뼈 유래 무기질과 탈회골기질을 9:1 내지 1:9의 비율로 포함할 수 있다.
- [0048] 본 발명의 또 다른 측면에 따르면, 인체뼈 유래 무기질을 소결시켜 생성된 다공성 인산칼슘 지지체가 제공될 수 있다.
- [0049] 상기 "다공성 인산칼슘 지지체"란 무기물 및 유기물 성분의 복합화를 통해 천연골의 구조와 유사하게 만든 소재로서, 천연골의 미세구조 크기, 성분 및 조성이 유사하여 골재생 기능을 향상시킬 수 있으며, 표면에 노출될 시 골재생 세포의 부착을 촉진시키는 단백질인 비트로넥틴(vitronectin) 및 피브로넥틴(fibronectin)의 부착을 유도할 수 있어 골재생에 필수적으로 사용되고 있는 소재이다.
- [0050] 상기 다공성 인산칼슘 지지체를 인체에 이식할 경우 인체와 가장 가까운 미세환경을 제공해줌으로써 생체 내 거부반응 없이 우수한 골재생촉진 효과를 가져올 수 있다.
- [0051] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 상기 다공성 인산칼슘 지지체의 표면이 젤라틴으로 코팅될 수 있다.
- [0052] 상기 "젤라틴"은 시술하고자하는 대상물과 다른 종(species)으로부터 유래된 것도 무방하나, 같은 종일 경우에는 보다 높은 골재생효과 및 골재생 후의 형태유지 효과를 기대할 수 있다. 인간에게 시술하고자 하는 경우에는 인체로부터 유래한 젤라틴인 것이 생체적합성을 증가시키는 측면에서 바람직하다.
- [0053] 도 2의 인체뼈 유래 무기질을 주성분으로 하는 다공성 인산칼슘 지지체는 기존 다공성 합성인산칼슘 지지체에 비하여 더 좋은 골재생 촉진효과를 가지고 있다.
- [0054] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 상기 코팅된 젤라틴은 전체 중량 대비 5~20중량%일 수 있다.
- [0055] 도 3에서 보는 바와 같이, 다공성 인산칼슘 지지체를 젤라틴으로 코팅함으로써 지지체의 표면 구조의 점착성(stickiness)을 증가시켜 세포와 세포 사이의 상호작용을 극대화하여 다공성 인산칼슘 지지체가 더 용이하게 부착할 수 있게 하는바, 더 우수한 골재생 촉진효과를 얻을 수 있다.
- [0056] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 상기 젤라틴의 농도는 전체 중량 대비 5 내지 20중량%일 수 있다.
- [0057] 도 4에서 보는바와 같이, 다공성 인산칼슘 지지체를 코팅하는 젤라틴의 농도를 조절함으로써 지지체의 압축 강도를 조절할 수 있는바, 임상시술시 사용의 편의성을 더 증가시킬 수 있다. 다만, 지나치게 높은 압축 강도는 물질의 경도를 증가시켜 인장력을 가할 경우 다공성 인산칼슘 지지체가 신장되지 않고 깨어질 수 있는바 젤라틴의 농도는 전체 중량 대비 5~20중량%가 바람직하다.



[0058] 본 발명의 또 다른 측면에 따르면, 인체뼈유래 무기질 및 글리세롤을 포함하는 뼈무기질 블록이 제공될 수 있다.

[0059] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 상기 글리세롤은 전체 중량 대비 15~20중량%일 수 있다.

[0060] 상기 보습제는 뼈 무기질 블록의 제품 보관 및 사용하는 동안 건조되는 것을 방지하기 위하여 사용되며, 전체 블록의 중량 대비 15~20중량% 더 포함하여 제공될 수 있다. 20중량%를 초과하여 첨가될 경우에는 무기질 블록의 강도가 낮아지고 연성이 높아져 유연성 및 형태유지가 어려울 수 있어 바람직하지 않다.

[0061] 뼈 무기질 블록의 성분 비율은 다음 표 2, 3과 같다.

**표 2**

제품 성분 비율

[0062]

성분	비율
AlloHa powder (인체뼈유래 무기질 가루)	40%
캐리어	60%

**표 3**

캐리어 성분 비율

[0063]

성분	비율
돼지 젤라틴 (porcine gelatin)	20%
글리세롤 (glycerol)	30%
생리식염수	50%

[0064] 도 5에서 보는 바와 같이, 본 발명에 의한 뼈 무기질 블록은 유연성이 좋은 하얀색 스틱 모양으로 힘을 가하면 모양이 변형되고 힘을 없애면 다시 원래 모양으로 돌아가는 탄성을 가지고 있다. 또한, 도 6에서 보는 바와 같이, 연성도 가지고 있어 필요시 수술용 메스나 가위로 환자의 시술 부위 크기에 맞게 가공한 후 사용할 수 있다는 장점도 있다.

[0065] 도 7에서 보는 바와 같이, 본 발명에 의한 뼈 무기질 블록은 생리식염수 내에서 24시간동안 관찰한 결과 용해되거나 풀어지는 현상이 관찰되지 않았다. 즉, 본 발명에 의한 뼈 무기질 블록은 젤라틴이 높은 농도로 포함되어 있기 때문에 수용액 상에서도 용해되어 쉽게 흩어지지 않아 치과시술 등 출혈이 심한 경우에 매우 적합한 제품이다.

[0066] 이하, 실시예에 의하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐 본 발명의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

**[0067] 탈회용액에서의 인체 뼈 유래 무기질의 추출공정**

[0068] 골피질(cortical bone) 10g, 0.5노르말농도(N) 염산 200ml를 실온에서 교반하면서 2시간 탈회처리하였다. 탈회용액을 회수하고, 탈회된 뼈분말은 회수한 후 DBM 가공공정대로 DBM을 가공하여 다른 용도로 사용한다. 잔류된 미세한 뼈분말을 제거하기 위해 탈회용액을 여과한다. (정성여과지; Wet Strengthened Grades, Grade 91, 10um) 마그네틱바(Magnetic bar)를 돌린 상태에서 5몰농도(M)의 수산화나트륨(NaOH)을 서서히 첨가하면서 수시로 pH 수치를 확인하며, pH가 7.0~7.5일 때 중화과정을 멈춘다. (탈회용액 부피의 5~7.5%의 수산화나트륨이 소요되며, 이는 탈회용액의 pH에 따라 달라질 수 있음) 중화된 용액을 1,500rpm에서 5분간 원심분리한 후 상등액을 제거하고 증류수로 5번 세척한다. (1,500rpm, 5분씩 원심분리) 최종적으로 얻어진 잔류물을 동결건조 또는 고온건조(dry oven)한다.

[0069] **실시예 1. 탈회골기질 및 인체뼈 유래 무기질의 비율에 따른 골재생 효과**

[0070] 골전도능을 가진 인체뼈 유래 인산칼슘 및 골유도능을 가진 탈회골기질의 최적비율을 찾기 위하여 하기 표 4 및 5와 같이 시료를 제조한 후 nude rat 근육에 이식하고, 8주 경과 후 조직검사로 새로운 뼈의 형성을 관찰하였다. (muscle pouch 실험)

**표 4**

구성성분

[0071]

성분	함량
인체뼈유래무기질	1~30%
인체탈회골	1~30%
3% CMC	70%

[0072] 3% 카르복시메틸셀룰로오즈(CMC; carboxylmethyl cellulose)의 제조방법 : 70cc 생리식염수, 30cc 글리세롤, 3gram CMC

**표 5**

1 gram의 시료 제조시 각 성분의 무게

[0073]

이식물	유효 성분			캐리어 함량
	인체뼈유래무기질 함량	인체탈회골 함량	두가지 성분의 비율	
시료 1	0.30	0	10:0	0.7
시료 2	0.27	0.03	9:1	0.7
시료 3	0.24	0.06	8:2	0.7
시료 4	0.18	0.12	6:4	0.7
시료 5	0.15	0.15	5:5	0.7
시료 6	0.12	0.18	4:6	0.7
시료 7	0.06	0.24	2:8	0.7
시료 8	0.03	0.27	1:9	0.7
시료 9	0	0.30	0:10	0.7

[0074] 도 1과 표 7에서 보는 바와 같이, 인체뼈 유래 무기질만 포함하는 시료 1에서는 파골세포의 침윤 현상은 관찰되었으나, 뚜렷한 골형성은 관찰되지 않았다.

[0075] 파골세포(osteoclast)는 골 흡수를 조절하는 세포로서, 골조직이 골격기능을 유지하기 위한 골성분의 파괴와 재생 과정에 필수적인 세포이다. 상기 침윤 현상이란 파골세포로의 인체뼈 유래 무기질 흡수되는 것을 말하며, 이에 의하여 골아세포(osteoblast)에 의한 골형성을 촉진하게 된다.

[0076] 다만, 시료 1에서는 인체탈회골이 포함되어 있지 않아 골형성이 진행되지 않았다.

[0077] 또다른 단순성분 시료인 시료 9는 인체뼈 유래 무기질이 포함되어 있지 않으나, 어느 정도의 골재생을 촉진하였다.

[0078] 본 발명에 해당되는 인체뼈 유래 무기질 및 인체탈회골을 1:9 내지 9:1의 비율로 혼합하여 만든 시료인 시료 2 내지 시료 8번을 이식한 결과, 시료 3 내지 시료 8번에서 시료 1 및 시료 9보다 월등한 골(bone) 및 연골(cartilage) 재생 촉진효과를 확인할 수 있었다.

[0079] 즉, 인체뼈 유래 무기질 및 인체탈회골은 단독으로 사용하는 것보다, 적당한 비율로 혼합하여 사용하였을 때 시너지 효과를 가져올 수 있어 더 좋은 치료효과를 나타냈다.

[0080] 골재생정도에 대한 평가 기준은 하기 표 6에 기재된 바와 같으며, 이에 의한 골재생 정도의 평가 결과는 하기 표 7에 기재된 바와 같다.

표 6

골재생정도 평가 기준

[0081]

골재생등급	골재생정도
0	골형성 없음
1	새로운 골형성위한 1~25%의 골결절(nodule) 형성
2	새로운 골형성위한 25~50%의 골결절(nodule) 형성
3	새로운 골형성위한 50~75%의 골결절(nodule) 형성
4	새로운 골형성위한 75% 이상의 골결절(nodule) 형성

표 7

이식 8주 후 조직검사 결과

[0082]

이식물	동물번호	실험결과	
		골재생정도	골재생등급
시료 1	1	골형성 없음	0
	2	과골세포의 침윤현상은 존재하나 골형성 없음	0
	3	과골세포의 침윤현상은 존재하나 골형성 없음	0
시료 2	4	1~25%의 골결절 형성	1
	5	골형성 없음	0
	6	1~25%의 골결절 형성	1
시료 3	7	25~50%의 골결절 형성	2
	8	25~50%의 골결절 형성	2
	9	1~25%의 골결절 형성	1
시료 4	10	25~50%의 골결절 형성	2
	11	75% 이상의 골결절(nodule) 형성 및 연골형성	4
	12	75% 이상의 골결절(nodule) 형성	3
시료 5	13	75% 이상의 골결절(nodule) 형성	3
	14	25~50% 이상의 골결절(nodule) 형성	2
	15	75% 이상의 골결절(nodule) 형성	3
시료 6	16	75% 이상의 골결절(nodule) 형성	3
	17	75% 이상의 골결절(nodule) 형성	3
	18	25~50% 이상의 골결절(nodule) 형성	2
시료 7	19	25~50% 이상의 골결절(nodule) 형성	2
	20	25~50% 이상의 골결절(nodule) 형성	2
	21	75% 이상의 골결절(nodule) 형성	3
시료 8	22	25~50% 이상의 골결절(nodule) 형성	2
	23	25~50% 이상의 골결절(nodule) 형성	2
	24	25~50% 이상의 골결절(nodule) 형성	2
시료 9	25	1~25%의 골결절 형성	1
	26	1~25%의 골결절 형성	1
	27	25~50% 이상의 골결절(nodule) 형성	2

[0083]

**실시예2. 탈회골기질 및 인체뼈 유래 무기질의 비율에 따른 인체내 잔류 효과**

[0084]

다음 표 8에서 보는 바와 같이, 시료 1 내지 시료 9를 이식하여 8주 후 잔류된 이식물의 부피를 측정된 결과, 단순성분으로 구성된 시료 1과 시료 9의 골재생제의 잔류량은 각각 63.3%와 60%로 측정되었다. 이에 비하여, 두 가지 성분으로 제조한 시료 2 내지 시료 8의 잔류량은 최소 66.7%에서 최대 90.0%로 관찰되었으며, 단일성분으로 구성된 골재생제보다 인체내 부피 유지 정도가 더 높음을 확인할 수 있다.

[0085]

좋은 골재생제로 작용하려면 인체 내에서 오래 잔류되어야만 꾸준히 인체를 자극하여 새로운 뼈의 형성을 촉진할 수 있다. 따라서 잔류량 측정 실험에서도 단일 성분 재생제보다 두 가지 성분으로 구성된 시료 2 내지 시료 8이 더 우수한 것을 확인할 수 있다.

**표 8**

이식 8주 후 잔류된 골재생체의 부피 유지정도

이식물	이식물 부피	이식 8주 후 이식재 부피	부피 유지 정도
캐리어	0.30cc	0	0%
시료 1	0.30cc	0.19cc	63.3%
시료 2	0.30cc	0.20cc	66.7%
시료 3	0.30cc	0.24cc	80.0%
시료 4	0.30cc	0.26cc	86.7%
시료 5	0.30cc	0.25cc	83.3%
시료 6	0.30cc	0.27cc	90.0%
시료 7	0.30cc	0.22cc	73.3%
시료 8	0.30cc	0.22cc	73.3%
시료 9	0.30cc	0.18cc	60.0%

**[0087] 인체 뼈 유래 무기질로부터 다공성 인산칼슘 지지체를 제조하는 방법**

**[0088]** 도 8에서 보는 바와 같이 다공성 인산칼슘 지지체의 가공 흐름도는 다음과 같다. 먼저 인체 뼈 유래 인산칼슘 가루를 고착제(binder), 가소제(plasticizer), 분산제(dispersant) 및 첨가제로 혼합하여 슬러리를 만든 후 다공성 구조를 가진 폴리우레탄 스폰지에 담지시킨다. 인산칼슘 슬러리를 흡수한 폴리우레탄스폰지가 완전히 건조되면 우선 1차, 2차 열처리를 통해서 첨가제 및 폴리우레탄 스폰지를 제거하고, 3차 열처리를 통해서 인산칼슘가루를 소결하여 다공성 구조를 가진 인산칼슘지지체를 제조한다.

**[0089]** 상기 폴리우레탄스폰지는 다공성 인산칼슘 블록 제조시의 기본 골자로 사용한다. 도 9에서 보는 바와 같이 스폰지의 가공크기는 다양하지만 본 연구에서는 35ppi(pores per inch), 45ppi 및 65ppi의 스폰지를 사용하였다. 스폰지는 1cm×1cm×1cm의 크기로 가공하였고, 사용하기 전에는 초음파분해기(sonicator)로 세척한 후 건조하였다.

**[0090]** 스폰지블록을 인산칼슘 슬러리에 넣은 후 슬러리가 스폰지에 잘 스며들어가도록 스폰지블록을 반복해서 눌러주며, 스폰지가 슬러리를 충분히 흡수하면 블록을 꺼내 표면에 묻어있는 슬러리를 거즈로 닦아 제거한다. 스폰지블록을 실온에서 12시간 이상 방치하여 완전히 건조시킨다.


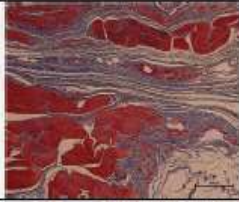



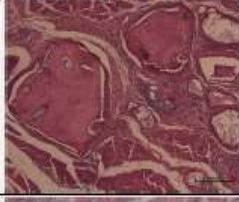

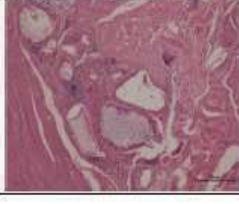

**[0091]** 스폰지블록의 폴리우레탄스폰지를 제거하기 위해서 전기로로 열처리한다. 우선 낮은 온도(250℃~650℃)에서 약 5시간 처리하면 여러가지 첨가제 및 고분자인 폴리우레탄스폰지는 완전히 분해되어 없어지고 인산칼슘성분만 남게 된다. 남은 인산칼슘 입자를 단단한 구조로 변화시키기 위해 높은 온도인 1250℃에서 2시간 소결한다. 소결 온도 및 소결시간 곡선은 도 10에 나타나 있다. 도 11에서 보는 바와 같이 이와 같은 공정으로 가공하면 최종적으로 다공성 구조를 갖는 인산칼슘 지지체를 제조할 수 있다.

**[0092]** 본 발명에 따른 탈회골기질(DBM;Deminerlized Bone Matrux)을 가공한 후 남아있는 탈회용액에서 분리해낸 인체 뼈 유래 탈회골기질 및 무기질을 포함하는 골재생체를 인체에 이식할 경우 인체와 가장 가까운 미세환경을 제공해줌으로써 생체 내 거부반응 없이 우수한 골재생축진 효과를 가져올 수 있다.

**[0093]** 이상으로 본 발명 내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서, 이러한 구체적 기술은 단지 바람직한 실시 양태일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백할 것이다. 따라서 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면

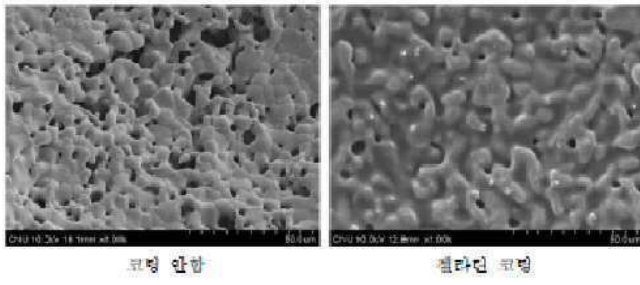
도면1

이식물	대표 사진	이식물	대표사진
시료 1		시료 2	
시료 3		시료 4	
시료 5		시료 6	
시료 7		시료 8	
시료 9			

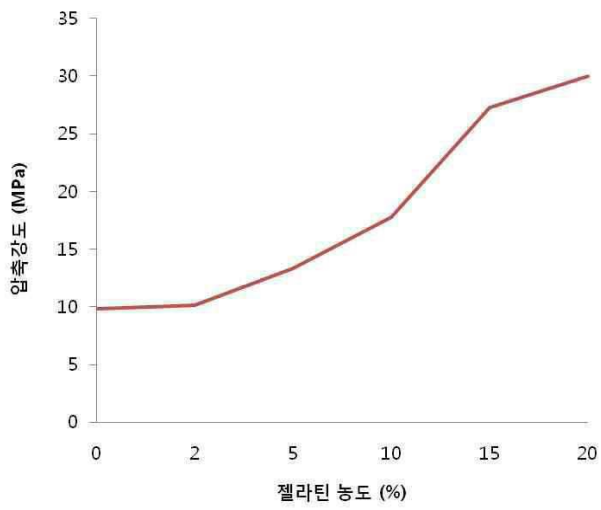
도면2



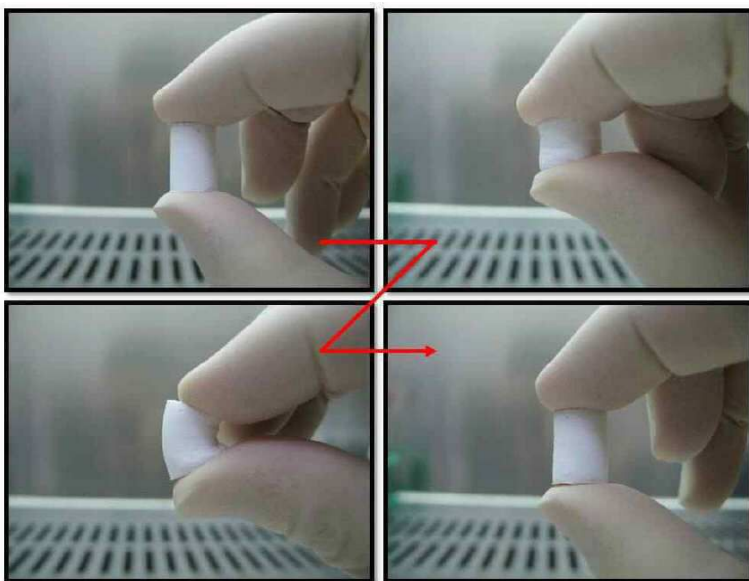
도면3



도면4



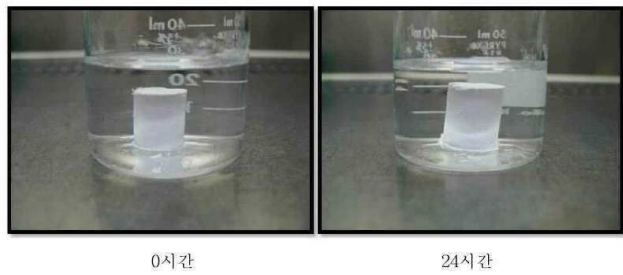
도면5



도면6



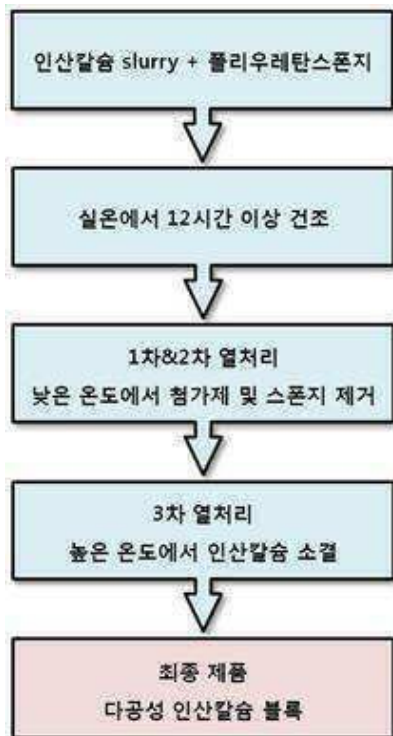
도면7



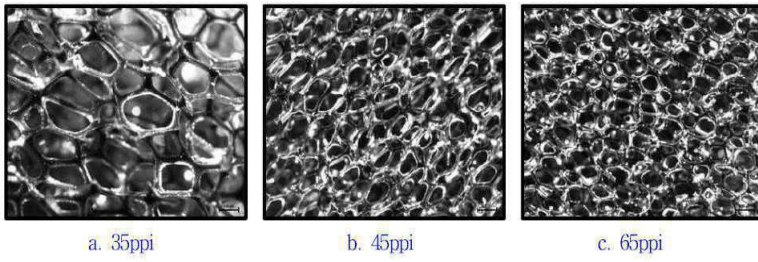
0시간

24시간

도면8



도면9



도면10



a. 스폰지 세척 및 건조



b. Slurry 제조



c. 스폰지에 담지



d. 담지된 스폰지 건조



e. 전기로로 소결



f. 다공성 인산칼슘 블록



도면11

