



(19)대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(51) 。 Int. Cl.

A61F 2/44 (2006.01)
A61F 2/30 (2006.01)
A61F 2/28 (2006.01)
A61F 2/02 (2006.01)

(45) 공고일자 2007년08월01일
(11) 등록번호 10-0744833
(24) 등록일자 2007년07월25일

(21) 출원번호 10-2006-0018402
(22) 출원일자 2006년02월24일
심사청구일자 2006년02월24일

(65) 공개번호
(43) 공개일자

(73) 특허권자 전북대학교산학협력단
전라북도 전주시 덕진구 덕진동 1가 664-14 본부별관 3층

(72) 발명자 강길선
대전광역시 유성구 어은동 99 한빛아파트 119동 404호

박기숙
전북 전주시 덕진구 송천동1가 현대2차 아파트 203동 105호

김순희
전북 전주시 완산구 동서학동 849-21

고종태
전북 전주시 완산구 효자4가 서곡 두산 APT 103-801호

최방실
전북 전주시 덕진구 덕진동1가 1404-35

하현정
전북 전주시 덕진구 반월동 삼오아파트 101동 1701호

고연경
전북 익산시 팔봉동 파인골드빌아파트 202동 701호

윤선중
전북 전주시 완산구 중화산동2가 601-6

(74) 대리인 백남훈
이학수

(56) 선행기술조사문헌
Spine, vol.28(5), pp.446-454.(2003. 03. 31.)

심사관 : 김정태

전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 디스크 세포를 포함한 인공 디스크 및 이를 이용한 조직공학적 디스크의 재생방법

(57) 요약

본 발명은 디스크 중심축을 포함하는 디스크 내부는 수핵세포를 포함하는 생분해성 다공성 지지체로 구성되고, 상기 디스크 내부를 둘러싼 도우넛 형태의 외부는 섬유륜세포를 포함하는 생분해성 다공성 지지체로 구성된 것을 특징으로 하는 인공 디스크와 그 제조방법에 관한 것으로, 디스크를 구성하는 지지체의 내부와 외부가 서로 다른 성분으로 이루어진 인공 디스크를 손상된 디스크 부위에 삽입하여 조직공학적으로 디스크를 재생시키는 것이 가능하도록 한다.

대표도

도 1

특허청구의 범위

청구항 1.

수핵세포를 포함하는 생분해성 다공성 지지체로 이루어진 원판 형태의 디스크 중심축을 포함하는 내부디스크, 및 섬유륜세포를 포함하는 생분해성 다공성 지지체로 이루어진 상기 내부디스크를 둘러싼 도우넛 형태의 외부디스크로 구성된 인공 디스크.

청구항 2.

청구항 1에 있어서,

상기 디스크 내부 또는 외부의 생분해성 다공성 지지체에 천연 또는 합성 생체 재료를 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 인공 디스크.

청구항 3.

청구항 2에 있어서,

상기 천연 또는 합성 생체 재료는 알긴산, 키토산, 키틴, 콜라겐, 라미닌(Laminine), 헤파린, 피브린, 황산 콘드로이친, 히알루론산, 메틸렌폴리에틸렌글라이콜/폴리카프로락톤(MPEG/PCL), 폴록사머(poloxamer), 아가로스, 젤라틴, 소장점막 하조직, 탈미네랄화된 골분 중에서 선택되는 어느 하나 이상의 재료인 것을 특징으로 하는 인공 디스크.

청구항 4.

청구항 1 내지 3 중에서 선택되는 어느 한 항에 있어서,

상기 디스크 내부 또는 외부의 생분해성 다공성 지지체에 성장인자, 텍사메타손, 하이드로코티손, 아스코르빈산 및 비타민 D₃ 중에서 선택되는 어느 하나 이상의 성분을 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 인공 디스크.

청구항 5.

청구항 1에 있어서,

상기 생분해성 수핵세포 및 섬유륜세포는 포유동물의 디스크에서 분리한 것임을 특징으로 하는 인공 디스크.

청구항 6.

천연 또는 합성 생체재료를 포함하는 생분해성 고분자 용액을 염과 혼합하고, 이를 도우넛 형상의 금형에 채워 성형하고, 건조하여 인공 디스크의 외부 다공성 지지체를 제조하는 단계;

상기 도우넛 형상의 다공성 지지체에 섬유륜세포를 접종하는 단계; 및

상기 섬유륜 세포가 접종된 도우넛 형상의 다공성 지지체를 금형으로 하여 도우넛 내부에 천연 또는 합성 생체재료를 포함하는 생분해성 고분자 용액 및 수핵세포의 현탁액을 채우는 단계를 포함하는 인공 디스크의 제조방법.

청구항 7.

천연 또는 합성 생체재료를 포함하는 생분해성 고분자 용액을 염과 혼합하고, 이를 도우넛 형상의 금형에 채워 성형하고, 건조하여 인공 디스크의 외부 다공성 지지체를 제조하는 단계;

천연 또는 합성 생체재료를 포함하는 생분해성 고분자 용액을 염과 혼합하고, 이를 상기 도우넛 형태의 다공성 지지체의 내부 직경과 동일한 직경의 원관형 금형에 채워 성형하고, 건조하여 인공 디스크의 내부 다공성 지지체를 제조하는 단계;

상기 외부 다공성 지지체에 섬유륜세포를 접종시키고, 상기 내부 다공성 지지체에 수핵세포를 접종시키는 단계; 및

상기 섬유륜세포를 포함하는 외부 다공성 지지체에 수핵세포를 포함하는 내부 다공성 지지체를 끼워 접착하는 단계를 포함하는 인공 디스크의 제조방법.

명세서

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

본 발명은 디스크 세포를 이용한 조직공학적인 디스크 재생방법에 관한 것으로서, 더욱 상세하게는 디스크 조직으로부터 섬유륜 (annulus fibrosus)에서 유래한 섬유륜세포와 수핵 (nucleus pulposus)에서 유래한 수핵세포를 분리배양하여, 지지체의 내·외부가 서로 다른 성분으로 이루어진 복합적 지지체에 파종한 다음 손상된 디스크부위에 삽입하여 조직공학적으로 디스크를 재생시키는 방법으로 기존의 손상된 디스크의 치료방법인 인공 디스크 [Qi-Bin Bao, et al., Biomaterials 17, 1157(1996), US Patent 2,677,369 (1954), US Patent 4,759,769 (1998), US Patent 4,772,287 (1988), US Patent 4,874,389 (1989), US Patent 4,904,260 (1990), US Patent 4,917,704 (1990), US Patent 4,946,378 (1990), US Patent 5,035,716 (1991), US Patent 5,047,055 (1991), US Patent 5,192,326 (1993), US Patent 5,320,644 (1994), US Patent 5,489,308 (1996), US Patent 5,534,028 (1996), US Patent 6,264,695B1 (2001), US Patent 6,280,475B1 (2001)]에 비해 생체 활성이 뛰어나 조직 재생에 유리한 장점을 지닌 디스크세포를 이용한 조직공학적인 디스크의 재생방법에 관한 것이다.

척추 손상에 대한 치료는 현재 슬관절과 고관절 결손 치료들과 거의 유사하게 진행되고 있다. 슬관절과 고관절의 퇴행과 같이 척추 관절의 퇴행은 우선 통증을 유발하며, 그리고 변형이 일어나고, 더욱 진행되면 결국에는 제 기능을 발휘하지 못하는 순으로 발병되고 있다. 초기 발병에 있어서의 치료는 척추 활동력의 개선, 지팡이와 목발 등에 의한 직접적인 척추에

의 하중을 분산, 또는 결쇠와 부목형태의 것으로 외부에서 안정화시키는 등의 방법이 있다. 발병된 척추 관절 부분을 움직일 수 없게 융합하면 비정상적 관절 운동에 의한 염증 반응이 감소된다. 이러한 척추 융합술은 안전감을 제공하고 통증을 감소시키는 효과는 있으나 이웃하는 척추관에서의 하중이 갑자기 집중되어 생체 역학적으로 다시 무리가 가증되는 단점이 있다.

척추통증이 (1) 전통적 진찰 방법에 의한 뚜렷한 디스크 증상, (2) 방사선과 영상 검사 소견 시 신경 압박이 뚜렷한 경우 및 (3) 환자의 움직임이 불안정하여 그리고 일상적인 운동의 생리학적 하중에 의하여 신경 부분이 직접적으로 손상되던지 그러할 경우가 농후한 경우 같은 증상이 나타날 때는 수술을 진행하게 된다. 퇴화된 척추의 수술 기법에는 신경부분에 압박을 주는 요소인 디스크, 돌출되어 나온 뼈 또는 인대 부분의 감압술, 인접한 두 척추뼈의 융합 또는 합체 등으로 이루어진다. 이러한 방법으로 병변부위를 제거한 다음 생리학적 운동성이나, 생체역학적 기능을 위해 인공 디스크를 삽입하게 되는데 크게 (1) 전체 디스크 치환체 [US Patent 2,677,369 (1954), US Patent 4,759,769 (1998), US Patent 4,772,287 (1988), US Patent 4,874,389 (1989), US Patent 4,904,260 (1990), US Patent 4,917,704 (1990), US Patent 4,946,378 (1990), US Patent 5,035,716 (1991), US Patent 5,320,644 (1994)]와 (2) 수핵 (nucleus pulposus) [US Patent 5,047,055 (1991), US Patent 5,192,326 (1993), US Patent 5,489,308 (1996), US Patent 5,534,028 (1996), US Patent 6,264,695B1 (2001), US Patent 6,280,475B1 (2001)]을 대체하는 두 가지 형태의 이식물을 삽입하게 된다.

현재 인공 디스크 치환체를 사용되는 재료로는 금속 생체적합성 합금인 스테인레스강, 티타늄합금, 및 코발트-크롬(Co-Cr) 합금 등이 이에 해당된다. 또한 폴리우레탄이나 실리콘 탄성체와 같은 고분자 역시 기본물성이 천연 디스크 조직과 유사한 장점으로 인해 사용되고 있으며 이외에도 폴리에틸렌이나 에폭시수지 등의 고분자와 칼슘나이트라이드나 세라믹, 또는 이들의 복합한 것 등의 재료가 사용되고 있다. 최근에는 전체를 이식하는 인공디스크와 비교하여 수술적으로 좀 더 덜 침습적이며, 섬유륜 자체의 천연섬유가 가지고 있는 생리학적 물성을 그대로 사용할 수 있는 장점을 지닌 수핵을 대체하는 부분이식물이 제안되었지만 수술방법과 조건이 까다로운 단점을 가지고 있다. 현재 임상에서 가장 많이 쓰이는 인공디스크로는 스테피 디스크(Steffee disc), 링크 에스비 카르테(Link SB Carte) 및 휴 모델(Hou model)이 있는데, 수술비가 약 6백만원 이상의 고가이고 재 시술이 거의 불가능하며, 결국은 이 임플란트 재료가 생체활성도가 없기 때문에 응용에 한계점을 보이고 있다. 따라서 최근에는 조직공학적인 바이오 디스크의 개발에 관심이 고조되고 있다.

한편, 본 발명자들은 기존의 단점을 해결하는 고분자 용액과 물로 이루어진 유화동결건조방법에 의한 다공성?생분해성 인공장치 및 이의 제조방법이 제안된 바 있다[대한민국 특허 제 201,874호]. 그러나 대한민국 특허 제 201,874호에 따른 제조방법의 경우, 사용된 합성 생분해성 고분자의 표면 성질이 소수성이어서 생분해성 고분자 담체에 배양액과 세포들이 스며들지 않고 성장이 되지 않는 단점이 있었다. 또한, 상기한 생분해성 고분자 담체에 여러 가지 성장인자들의 사이토카인류를 함유시키게 되면 혈관형성, 신경세포형성 등의 제반 성질이 현저히 상승되는 효과는 얻을 수 있었으나 생리활성물질들이 변성하고 제조과정 중에 물 및 여타 용매가 미리 흘러나와 본연의 기능이 없어지는 등의 단점이 있다. 더욱이 성장인자나 사이토카인류의 가격이 매우 고가이기 때문에 이를 이용하게 될 경우 많은 경제적인 부담을 가져야 한다.

한편, 본 발명자들의 대한민국 특허 제 482,651호는 경제적이며 생체활성을 갖는 조직공학용 천연/합성 하이브리드 담체 및 이의 제조방법으로 합성 고분자 재료의 소수성을 천연 재료인 소장점막조직과 골분을 이용하여 해결하였을 뿐만 아니라, 생리활성물질을 과량 함유하고 있어 조직재생에 용이하여 인공장기의 제조에 적합하였다. 그러나 기존의 담체의 장점에도 불구하고 디스크 조직의 경우 수핵과 섬유륜의 특성이 달라 새로운 담체의 제조가 필요한 실정이다.

발명이 이루고자 하는 기술적 과제

본 발명은 디스크 중심축을 포함하는 디스크 내부는 수핵세포를 포함하는 생분해성 다공성 지지체로 구성되고, 상기 디스크 내부를 둘러싼 도우넛 형태의 외부는 섬유륜 세포를 포함하는 생분해성 다공성 지지체로 구성된 것을 특징으로 하는 인공 디스크를 제공한다.

또한 본 발명은 인공 디스크의 내부와 외부의 생분해성 다공성 지지체를 별도로 제조하고, 각각에 수핵세포와 섬유륜세포를 구별하여 포함시키는 과정을 포함하는 인공 디스크의 제조방법을 제공한다.

또한 본 발명의 인공 디스크 또는 상기 제조방법으로 만들어진 인공 디스크를 손상된 디스크 부위에 삽입하여 조직공학적으로 디스크를 재생시키는 방법을 제공한다.

발명의 구성

본 발명은 전체 디스크를 치환하는 인공 디스크로서 디스크 중심축을 포함하는 디스크 내부는 수핵세포를 포함하는 생분해성 다공성 지지체로 구성되고, 상기 디스크 내부를 둘러싼 도우넛 형태의 외부는 섬유륜 세포를 포함하는 생분해성 다공성 지지체로 구성된 것을 특징으로 한다.

또한 본 발명은 인공 디스크의 제조를 위하여 천연 또는 합성 생체재료를 포함하는 생분해성 고분자 용액을 염과 혼합하고, 이를 도우넛 형상의 금형에 채워 성형하고, 건조하여 인공 디스크의 외부 다공성 지지체를 제조하는 단계; 상기 도우넛 형상의 다공성 지지체에 섬유륜세포를 접종하는 단계; 및 상기 섬유륜 세포가 접종된 도우넛 형상의 다공성 지지체를 금형으로 하여 도우넛 내부에 천연 또는 합성 생체재료를 포함하는 생분해성 고분자 용액 및 수핵세포의 현탁액을 채우는 단계를 포함하는 것을 특징으로 한다.

또한 본 발명은 인공 디스크의 제조를 위하여 천연 또는 합성 생체재료를 포함하는 생분해성 고분자 용액을 염과 혼합하고, 이를 도우넛 형상의 금형에 채워 성형하고, 건조하여 인공 디스크의 외부 다공성 지지체를 제조하는 단계; 천연 또는 합성 생체재료를 포함하는 생분해성 고분자 용액을 염과 혼합하고, 이를 상기 도우넛 형태의 다공성 지지체의 내부 직경과 동일한 직경의 원판형 금형에 채워 성형하고, 건조하여 인공 디스크의 내부 다공성 지지체를 제조하는 단계; 상기 외부 다공성 지지체에 섬유륜세포를 접종시키고, 상기 내부 다공성 지지체에 수핵세포를 접종시키는 단계; 및 상기 섬유륜세포를 포함하는 외부 다공성 지지체에 수핵세포를 포함하는 내부 다공성 지지체를 끼워 접착하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 한다.

이와 같은 본 발명을 더욱 상세히 설명하면 다음과 같다.

본 발명은 도 1과 같이 인공 디스크를 구성하는 원판을 내부(a)와 외부(b)로 구분하여 각각에 적합한 성분을 포함하는 별개의 생분해성 다공성 지지체로 이루어진 인공 디스크이다.

상기 원판 내부 또는 외부의 생분해성 다공성 지지체 제조를 위한 생분해성 고분자는 본 기술분야에서 널리 알려져 있는 것으로 원판 내부 및 외부가 각기 다른 것을 사용하거나 혹은 동일한 것을 사용할 수도 있다. 이러한 생분해성 고분자로는 예를 들어 폴리락타이드, 폴릴리콜리드, 폴리(락티드-글리콜리드)공중합체, 폴리카프로락톤, 폴리오쏘에스터, 폴리이미노카보네이트, 폴리안하이드라이드(poly(SA-HDA)anhydride), 폴리에틸글루타메이트, 폴리디옥사논 등을 사용할 수 있다.

또한 상기 생분해성 다공성 지지체 제조를 위해 생분해성 고분자 이외에 천연 또는 합성 생체재료를 추가로 사용하는 것이 바람직하다. 상기 천연 또는 합성 생체 재료로는 알긴산, 키토산, 키틴, 콜라겐, 라미닌(laminine), 헤파린, 피브린, 황산 콘드로이친, 히알루론산, 메틸렌폴리에틸렌글라이콜/폴리카프로락톤(MPEG/PCL), 폴록사머(poloxamer), 아가로스, 젤라틴, 소장점막하조직, 탈미네랄화된 골분 등이 바람직하다.

또한 상기 생분해성 다공성 지지체 제조를 위해 변환성장인자(transforming growth factor, TGF), 인슐린유사 성장인자(IGF), 염기성 섬유아세포 성장인자(bFGF), 골형성유도인자(BMP) 등의 성장인자 및/또는 텍사메타손, 하이드로코티손, 아스코르빈산, 비타민 D₃ 등의 약물을 하나 이상 추가로 사용하는 것이 바람직하다.

상기 내부 원판을 구성하는 지지체에는 수핵세포를 포함시키고, 외부 원판을 구성하는 지지체에는 섬유륜세포를 포함시켜야 한다. 상기 수핵세포 및 섬유륜세포는 포유동물의 디스크 조직의 수핵부분과 섬유륜부분에서 각각 분리하거나, 디스크 조직으로부터 각각 수핵세포와 섬유륜세포를 순수 분리, 배양하여 사용한다. 상기 포유동물의 디스크 조직은 인간의 디스크 조직 또는 인간을 제외한 포유동물, 예를 들어 소, 돼지, 토끼, 쥐 등의 디스크 조직을 사용하는 것이 가능하다.

본 발명의 인공 디스크 제조방법을 보다 구체적으로 설명하면 다음과 같다.

- 1) 천연 또는 합성 생체재료를 포함하는 생분해성 고분자 용액(용매로 1.5~30 (w/v)%)을 염과 1:4~1:16의 중량비로 혼합하고, 이를 도우넛 형상의 금형에 채워 성형하고, 건조하여 인공 디스크의 외부 다공성 지지체를 제조하는 단계;
- 2) 상기 도우넛 형상의 다공성 지지체에 섬유륜세포를 접종하는 단계; 및
- 3) 상기 섬유륜세포가 접종된 도우넛 형상의 다공성 지지체를 금형으로 하여 도우넛 내부에 천연 또는 합성 생체재료를 포함하는 생분해성 고분자 용액 및 수핵세포의 현탁액을 채우는 단계로 이루어진다.

상기 1)의 용액에 임의로 성장인자나 약물을 분산시키는 단계를 포함시킬 수 있다.

또한 상기 3)단계 대신에 천연 또는 합성 생체재료를 포함하는 생분해성 고분자 용액을 염과 혼합하고, 이를 상기 도우넛 형태의 다공성 지지체의 내부 직경과 동일한 직경의 원판형 금형에 채워 성형하고, 건조하여 인공 디스크의 내부 다공성 지지체를 제조하는 단계; 이러한 내부 다공성 지지체에 수핵세포를 접종시키는 단계; 및 상기 2)의 섬유류세포를 포함하는 외부 다공성 지지체에 수핵세포를 포함하는 내부 다공성 지지체를 끼워 접착하는 단계로 이루어질 수도 있다.

천연 또는 합성 생체재료는 먼저 생분해성 고분자 용액과 균일하게 혼합되게 하기 위하여 고운 분말상으로 준비한다. 지지체를 제조할 때 다공을 형성시키기 위한 염의 크기는 직경 100 ~ 600 μm 가 바람직하다.

또한 상기 고분자 용액과 염의 혼합비가 1:4 질량비 미만일 경우에는 다공도가 40% 미만으로 떨어져 세포가 침투하기 어렵고, 1:16을 초과하면 지지체의 물성이 급격히 떨어지는 단점이 있다. 본 발명의 다공성 지지체 제조를 위해 사용가능한 염의 종류는 인체에 무해하고, 물에 쉽게 용해되며, 일정한 크기를 갖는 것으로, 발포성 염인 탄산수소나트륨, 탄산나트륨, 탄산수소암모늄, 탄산암모늄, 탄산수소칼륨, 탄산칼슘 및 이들의 혼합물과 비발포성 염인 염화나트륨, 염화바륨 등이 모두 사용가능하고다.

이하, 실시예에 의거하여 본 발명을 더욱 상세하게 설명하나, 하기 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것이며 본 발명을 한정하는 것은 아니다.

실시예 1

생분해성 고분자인 폴리(락티드-글리콜리드)공중합체(poly(lactide-co-glycolide), PLGA) 1 중량부에 디클로로메탄 4 중량부를 혼합하여 고분자 용액을 만들고 여기에 다시 소장점막하조직의 분말을 20 (w/v)%로 혼합하여 도우넛 형상의 금형에 넣고 가압하여 디스크 외부 지지체를 제조하였다. 이 지지체를 상온에서 건조시킨 후 3차 초순수 증류수를 이용하여 염추출을 시행한 다음 동결건조하고, 에틸렌 옥시드(ethylene oxide) 가스로 멸균하였다. 도 2와 같은 디스크 조직에서 유래한 섬유류세포(도 3의 AP, 농도 4×10^3 개/ μL) 50 μL 를 멸균된 지지체에 접종하여, 37°C, CO₂ 배양기에 배양하였다.

MPEG/PCL을 인산염완충염수(PBS)에 20 (w/v)% 용액으로 준비하고 여기에 2×10^3 개/ μL 의 수핵세포(도 3의 NP) 20 μL 를 현탁시킨 다음 앞서 준비한 섬유류세포를 접종한 도우넛 형상의 지지체의 내부를 채워 도 1의 모식도 및 도 4의 사진과 같은 조직공학용 디스크를 제조하였다.

실시예 2

PLGA 1 중량부에 디클로로메탄 4 중량부를 혼합하여 고분자 용액을 만들고 여기에 다시 소장점막하조직의 분말을 20 (w/v)%로 혼합하여 도우넛 형상의 금형에 넣고 가압하여 디스크 외부 지지체를 제조하였다. 디스크 내부 지지체는 PLGA 1 중량부에 디클로로메탄 4 중량부를 혼합한 고분자 용액에 탈미네랄화된 골분을 20 (w/v)%로 혼합하여 도우넛 형상의 내부 직경에 맞는 크기의 원판 형태의 금형에 넣고 가압하여 제조하였다. 상기 제조된 디스크 내부 및 외부 지지체를 각각 상온에서 건조시키고 3차 초순수 증류수를 이용하여 염추출을 시행한 다음 동결건조하고, 에틸렌 옥시드(ethylene oxide) 가스로 멸균하였다. 상기 멸균된 디스크 외부 지지체에는 섬유류세포(도 3의 AP, 농도 4×10^3 개/ μL) 50 μL 를 접종하였고, 내부 지지체에는 2×10^3 개/ μL 의 수핵세포(도 3의 NP) 20 μL 를 접종하여 각각 37°C, CO₂ 배양기에 배양하였다.

상기 섬유류 세포가 접종된 외부 지지체의 도우넛 형상의 가운데에 수핵세포가 접종된 내부 지지체를 끼워 도 1의 모식도 및 도 5의 사진과 같은 조직공학용 디스크를 제조하였다. 이 때 외부 지지체의 내경은 내부 지지체의 직경에 비해 약간 커서 두 지지체 사이에 약간의 공극이 있으나 떨어지지 않고 이 공극은 피브린 글루(glue)로 점착시켰다.

비교예

PLGA 1 중량부에 디클로로메탄 4 중량부를 혼합하여 고분자 용액을 만들고 여기에 다시 소장점막하조직의 분말을 20 (w/v)%로 혼합하여 원판형의 금형에 넣고 가압하여 단일 구조로 된 디스크 지지체를 제조하였다. 상기 제조된 디스크 지지체를 상온에서 건조시키고 3차 초순수 증류수를 이용하여 염추출을 시행한 다음 동결건조하고, 에틸렌 옥시드

(ethylene oxide) 가스로 멸균한 후, 디스크의 중앙(내부)에는 2×10^3 개/ μl 의 수핵세포(도 3의 NP) 20 μl 를, 주변부(외부)에는 둘레를 따라 고르게 섬유원세포(도 3의 AP, 농도 4×10^3 개/ μl) 50 μl 를 접종하여 37°C, CO₂ 배양기에 배양하여 도 6의 사진과 같은 조직공학용 디스크를 제조하였다.

시험예 1: 모폴로지 관찰

상기 실시예 1과 2와 비교예에서 제조한 조직공학용 디스크를 이식하기 전의 모습을 육안관찰한 것을 도 4, 도 5 및 도 6에 나타내었으며, 실시예 1과 2에서 제조한 조직공학용 디스크를 누드마우스의 등쪽 피하에 이식 후 2주 및 3주 후의 세포를 접종한 인공 디스크를 누드마우스에서 적출하여 도 7 및 도 8에 나타내었다.

본 발명의 인공 디스크는 금속과 합성재료로만 이루어진 기존의 인공 디스크에 비해 인체의 조직과 매우 유사한 조직을 형성하여, 생체활성이 뛰어나며, 인체와 융합이 매우 잘 되는 장점을 가지고 있어 조직 재생에 있어 유리함을 알 수 있었다.

시험예 2: X 선 관찰

상기 실시예 1 및 비교예에서 제조한 조직공학용 디스크를 토끼의 요추에 넣어 6주 후에 X 선 촬영한 모습을 도 9에 나타내었다. 사진에서 샴(Sham)은 디스크에 수술과 동일한 과정을 거치지만 디스크를 제거하지 않는 거짓수술을 한 경우이며, 블랭크(Blank)의 경우는 디스크를 빼낸 후 지지체를 이식하지 않은 경우로 X선 사진상에서 두 부위의 갭(Gap)이 서로 다른 것을 확인할 수 있다. 비교예를 이식한 경우에서도 블랭크(Blank)의 경우와 유사한 갭을 형성하는 것으로 보아 그 효과 역시 미미하다고 판별되나, 반면에 실시예 1을 이식한 경우 샴(Sham) 혹은 정상 디스크와 비슷한 갭을 유지함을 확인함으로써 본 발명에서 제조한 인공 디스크가 디스크 재생에 효율적임을 증명하고 있다.

발명의 효과

이상에서 상술한 바와 같이, 본 발명의 인공 디스크로 손상된 디스크 조직을 치환한 경우 기존의 인공 디스크 치환체에 비해 생체활성이 높고 생체모방성을 지녀 조직재생에 훨씬 도움이 되었으며 육안관찰 및 X-ray 관찰을 통하여 본 발명에 따른 복합형 지지체가 실제 디스크 조직과 유사한 조직을 형성함을 확인할 수 있어, 조직공학용 디스크용 지지체로서 우수한 특성을 보이는 장점을 지니고 있다.

도면의 간단한 설명

도 1은 디스크 내부와 외부가 서로 다른 성분으로 이루어진 디스크용 복합 지지체의 모식도이다. (a)는 인공 디스크를 구성하는 원판을 내부, (b)는 외부(b)이다.

도 2는 8주령된 토끼의 요추부 디스크 조직의 모습이다.

도 3은 토끼의 디스크로부터 분리배양된 디스크 세포의 단층 배양 모습이다.

도 4는 실시예 1에서 제조된 인공 디스크의 이식 전 모습이다.

도 5는 실시예 2에서 제조된 인공 디스크의 이식 전 모습이다.

도 6은 비교예에서 제조된 인공 디스크의 이식 전 모습이다.

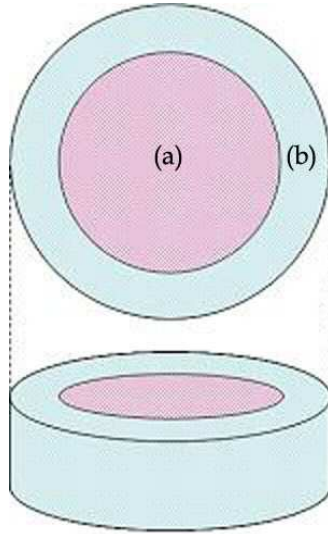
도 7은 실시예 1에서 제조된 인공 디스크의 이식 2주(상), 3주(하) 후의 모습이다.

도 8은 실시예 2에서 제조된 인공 디스크의 이식 2주(상), 3주(하) 후의 모습이다.

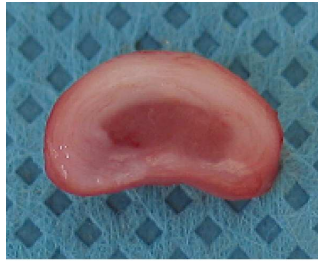
도 9는 실시예 1 및 비교예에서 제조된 인공 디스크를 토끼의 요추부에 이식 6주 후의 X선 촬영사진이다.

도면

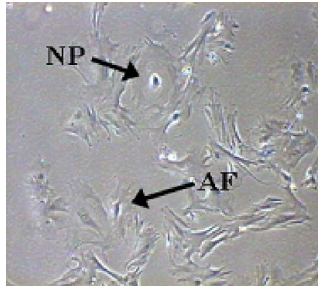
도면1



도면2



도면3



도면4



도면5



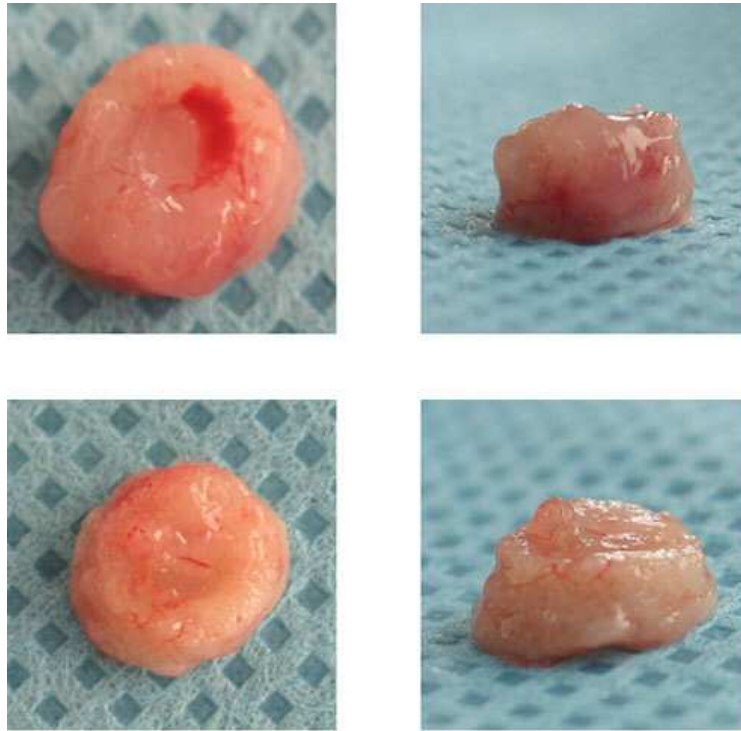
도면6



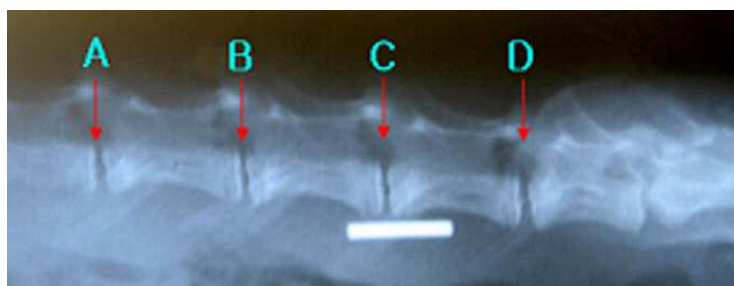
도면7



도면8



도면9



A: Sham
B: Blank
C: 비교예
D: 실시예