(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0021556
(43) 공개일자 2017년02월28일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61L 27/44 (2006.01) *A61F 2/10* (2006.01)
A61L 27/36 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61L 27/44 (2013.01)
A61F 2/105 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2015-0116090
(22) 출원일자 2015년08월18일
심사청구일자 2015년08월18일

(71) 출원인
한림대학교 산학협력단
강원도 춘천시 한림대학길 1, 한림대학교(옥천동)
(72) 발명자
윤현
서울특별시 송파구 양재대로 1218 올림픽선수촌아파트 239동 302호
전욱
서울특별시 노원구 덕릉로71길 30 양지대림아파트 102동 803호
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
진천웅, 조현동, 정종옥

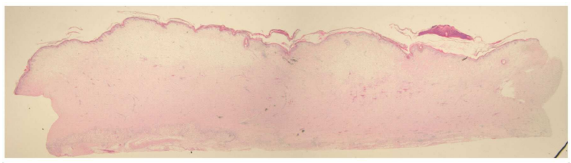
전체 청구항 수 : 총 9 항

(54) 발명의 명칭 **표피 성장인자를 포함하는 콜라겐 메트릭스로 구성된 인공진피 및 이의 제조방법**

(57) 요 약

본 발명은 표피 성장인자 및 콜라겐 메트릭스를 포함하는 인공진피 및 이의 제조 방법에 관한 것이다. 본 발명의 콜라겐을 추출하여 콜라겐 메트릭스를 제조하는 단계; 및 상기 콜라겐 메트릭스에 상피세포 성장인자를 부착하는 단계를 포함하며, 본 발명의 인공진피는 생분해성을 촉진시켜 생체 적합성이 향상된 상처 치유 효과가 있다.

대 표 도 - 도3



(52) CPC특허분류
A61L 27/3604 (2013.01)
A61L 27/3683 (2013.01)
A61L 27/54 (2013.01)

(72) 발명자
김근형
경기도 성남시 분당구 구미로144번길 80 동아아파트 902동 101호

김성포
충청북도 청주시 청원구 오창읍 오창중앙로 64 대원칸타빌A. 502-1204

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 A120942
부처명 보건복지부
연구관리전문기관 한국보건산업진흥원
연구사업명 보건의료기술연구개발사업
연구과제명 총괄 : 화상상처치료를 위한 차세대 바이오인공피부 및 플라즈마 치료 기술 개발 1세부 : 자가유래 섬유아세포, 면역조절세포, 세포이동 촉진 물질 등이 적용된 인공진피 및 동종진피 개발
기 여 율 1/1
주관기관 한림대학교 산학협력단
연구기간 2012.11.01 ~ 2015.10.31

명 세 서

청구범위

청구항 1

표피 성장인자 및 콜라겐 메트릭스를 포함하는 인공진피.

청구항 2

제 1항에 있어서,

상기 콜라겐 메트릭스는,

돼지, 소 및 말로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상으로부터 추출되는 콜라겐으로 이루어진 것을 특징으로 하는 인공진피.

청구항 3

제 1항 또는 제2항에 있어서,

상기 콜라겐 메트릭스는,

비항원성 타입 I 콜라겐으로 이루어진 것을 특징으로 하는 인공진피.

청구항 4

콜라겐을 추출하여 콜라겐 메트릭스를 제조하는 단계; 및

상기 콜라겐 메트릭스에 상피세포 성장인자를 부착하는 단계를 포함하는 인공진피의 제조 방법.

청구항 5

제 4항에 있어서,

상기 콜라겐 메트릭스를 제조하는 단계는,

중성의 용액에 콜라겐 섬유를 분산, 용해 또는 융해 시킨 후 동결 건조하여 상기 콜라겐 메트릭스를 제조하는 것을 특징으로 하는 인공진피의 제조 방법.

청구항 6

제5항에 있어서,

상기 동결 건조는,

상기 콜라겐 메트릭스를 -195 ℃ 내지 0 ℃의 온도에서 동결 후 30 내지 50 시간 동결하고 동결 건조하는 것을 특징으로 하는 인공진피의 제조 방법.

청구항 7

제 5항에 있어서,

상기 콜라겐 메트릭스를 제조하는 단계는,

상기 콜라겐 메트릭스를 아세톤과 알코올을 함유한 용액에 세척하고 고정하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 인공진피의 제조 방법.

청구항 8

제 4항에 있어서,

상기 상피세포 성장인자를 부착하는 단계

상기 표피 성장인자를 동결 건조한 후 상기 콜라겐 메트릭스에 가교 결합으로 부착, 결합 또는 병합하여 부착하는 것을 특징으로 하는 인공진피의 제조 방법.

청구항 9

제 4항에 있어서,

상기 상피세포 성장인자를 부착하는 단계는,

상기 콜라겐 메트릭스에 UV 및 감마선을 조사하는 것을 특징으로 하는 인공진피의 제조 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 표피 성장인자를 포함하는 콜라겐 메트릭스로 구성된 인공진피에 관한 것으로서, 보다 상세하게는 생분해성을 촉진시켜 생체 적합성이 향상된 콜라겐 메트릭스 인공진피 및 이의 제조방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 피부는 표피, 진피 및 피하지방층을 포함한다. 표피는 피부의 상층부로 외부의 유해물질로부터 피부를 보호한다. 표피의 생성 과정에서, 표피 내 상피 세포 성장 인자(Epidermal Growth Factor)는 세포의 이동과 신호전달을 촉진하여, 세포의 분화와 증식 관여한다. 진피는 표피에 영양을 공급하여 표피를 지지하고 외부의 손상으로부터 몸을 보호하는 역할을 한다. 피하지방층은 지방 세포로 구성되며 체온 조절 기능, 피부 탄력성 유지 및 에너지 저장 기능의 역할을 한다. 피부가 표피와 진피가 모두 소실되는 상처를 입은 경우, 피부의 정상화 기능을 대치할 수 있는 세포 유입 지지체 개념의 생체 물질 혹은 천연 고분자를 제공하는 것이 상처 치유에 필수적이다.

[0003] 콜라겐은 피부의 경단백질인 비항원성 타입I으로 포함되고, 다른 단백질에 비해 항원성은 약하고 꿰티드 구조에 존재하며 단단한 지지체로서 구조를 갖는다. 이러한 지지체로서의 역할을 하기 위해, 콜라겐은 메트릭스 구조를 포함하며, 세포의 부착, 뻗음 및 증식을 유도하여 세포 상호작용을 하고 재생과 회복에 도움을 준다. 또한, 콜라겐 메트릭스는 피부 결손 또는 상처 부위에 사용하면 섬유 모세포가 모세혈관으로부터 영양분을 공급받아 메트릭스 내에 침투하여 증식하고 분화한다. 이로 인해, 콜라겐 섬유가 자가 콜라겐의 합성에 의해 형성되어 진피 모양의 조직이 생성된다. 이 조직 자체가 생체에서 진피 조직으로 변화하며 이 메트릭스를 인공 진피라고 한다.

[0004] 현재까지 개발된 인공진피는 콜라겐에 피부 조직세포를 접종 배양시킨 형태, 분사 가능한 젤라틴 형태, 폴리(L-로이신) 스폰지 형태 등이 대표적이다. 이 중 소의 피부에서 채취한 콜라겐으로 제조한 스폰지 형태의 인공피부는 콜라겐 메트릭스의 생분해성이 느리기 때문에, 조직의 생체 적합성에 문제가 있다. 또한, 제조 공정상의 어려움뿐만 아니라 높은 가격으로 인한 상용화에 많은 제약이 따른다.

[0005] 따라서, 콜라겐 메트릭스의 생분해성을 촉진하고 결손 및 상처 부위에 대한 생착율을 증가시켜 생체 적합성이 높은 상처 치유 촉진 효과가 가능한 인공진피가 요구된다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 본 발명은 상기한 바와 같은 여러 가지 문제점들을 해결하기 위하여 안출된 것으로서, 생분해성을 촉진시켜 생체 적합성이 향상된 상처 치유 효과를 가진 콜라겐 메트릭스로 구성된 인공진피 및 이의 제조방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0007] 상기한 기술적 과제를 해결하기 위하여, 본 발명의 인공진피는 표피 성장인자를 포함하는 콜라겐 메트릭스를 포함하는 인공진피는 표피 성장인자 및 콜라겐 메트릭스를 포함한다.

[0008] 본 발명의 일실시예에 따른, 상기 콜라겐 메트릭스는, 돼지, 소 및 말로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상으로부터 추출되는 콜라겐으로 이루어진 것이 바람직하다.

[0009] 본 발명의 일실시예에 따른, 상기 콜라겐 메트릭스는, 비항원성 타입 I 콜라겐으로 이루어지는 것이 바람직하다.

[0010] 상기한 기술적 과제를 해결하기 위하여, 본 발명의 인공진피의 제조 방법은 콜라겐을 추출하여 콜라겐 메트릭스로 제조하는 단계; 및 상기 콜라겐 메트릭스에 상피세포 성장인자를 부착하는 단계를 포함하는 것이 바람직하다.

[0011] 본 발명의 일실시예에 따른, 상기 콜라겐 메트릭스로 제조하는 단계는, 상기 콜라겐 메트릭스는 중성의 용액에 콜라겐 섬유를 분산, 용해 또는 융해 시킨 후 동결 건조하여 제조하는 것이 바람직하다.

[0012] 본 발명의 일실시예에 따른, 상기 동결 건조는, 상기 콜라겐 메트릭스를 -195 ℃ 내지 0 ℃의 온도에서 동결 후 30 내지 50 시간 동결하고 동결 건조하는 것이 바람직하다.

[0013] 본 발명의 일실시예에 따른, 상기 콜라겐 메트릭스로 제조하는 단계는, 상기 콜라겐 메트릭스를 아세톤과 알코올을 함유한 용액에 세척하고 고정하는 단계를 더 포함하는 것이 바람직하다.

[0014] 본 발명의 일실시예에 따른, 상기 상피세포 성장인자를 부착하는 단계는 상기 표피 성장인자를 동결 건조한 후 상기 콜라겐 메트릭스에 가교 결합으로 부착, 결합 또는 병합하여 부착하는 것이 바람직하다.

[0015] 본 발명의 일실시예에 따른, 상기 상피세포 성장인자를 부착하는 단계는, 상기 콜라겐 메트릭스에 UV 및 감마선을 조사하는 것이 바람직하다.

발명의 효과

[0016] 본 발명에 따른 표피 성장인자를 포함한 콜라겐 메트릭스 인공진피 제조방법은 생분해성을 촉진시켜 생체 적합성이 향상된 상처 치유 효과가 있다.

도면의 간단한 설명

[0017] 도 1는 콜라겐 메트릭스로 구성된 인공 진피와 본 발명의 실시예 1에 의한 인공진피의 전층을 피부 결손 부위에 이식 후 4주째 육안 관찰 사진이고,

도 2는 콜라겐 메트릭스로 구성된 인공 진피와 본 발명의 실시예 1에 의한 인공진피의 전층을 피부 결손 부위에 이식 후 8주째 육안 관찰 사진이며,

도 3은 본 발명의 실시예 1에 의한 인공 진피의 전층을 피부 결손 부위에 이식 후 4주째 조직 검사 사진이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0018] 본 발명은 다양한 변경을 가할 수 있고 여러가지 실시예를 가질 수 있는바, 특정 실시예들을 도면에 예시하고 상세한 설명에 상세하게 설명하고자 한다. 그러나, 이는 본 발명을 특정한 실시 형태에 대해 한정하려는 것이 아니며, 본 발명의 사상 및 기술범위에 포함되는 모든 변경, 균등물 내지 대체물을 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

[0019] 제1, 제2 등과 같이 서수를 포함하는 용어는 다양한 구성요소들을 설명하는데 사용될 수 있지만, 해당 구성요소들은 이와 같은 용어들에 의해 한정되지는 않는다. 이 용어들은 하나의 구성요소들을 다른 구성요소로부터 구별하는 목적으로만 사용된다.

[0020] 어떤 구성요소가 다른 구성요소에 '연결되어' 있다거나, 또는 '접속되어' 있다고 언급된 때에는, 그 다른 구성요소에 직접적으로 연결되어 있거나 또는 접속되어 있을 수도 있지만, 중간에 다른 구성요소가 존재할 수도 있다고 이해되어야 할 것이다. 반면에, 어떤 구성요소가 다른 구성요소에 '직접 연결되어' 있다거나, '직접 접속되어' 있다고 언급된 때에는, 중간에 다른 구성요소가 존재하지 않는 것으로 이해되어야 할 것이다.

[0021] 본 출원에서 사용한 용어는 단지 특정한 실시예를 설명하기 위해 사용된 것으로, 본 발명을 한정하려는 의도가 아니다. 단수의 표현은 문맥상 명백하게 다르게 뜻하지 않는 한, 복수의 표현을 포함한다. 본 출원에서, '포함한다' 또는 '가지다' 등의 용어는 명세서상에 기재된 특징, 숫자, 단계, 동작, 구성요소, 부품 또는 이들을 조합한 것이 존재함을 지정하려는 것이지, 하나 또는 그 이상의 다른 특징들이나 숫자, 단계, 동작, 구성요소, 부품 또는 이들을 조합한 것들의 존재 또는 부가 가능성을 미리 배제하지 않는 것으로 이해되어야 한다.

[0022] 이하, 첨부된 도면을 참조하여 본 발명에 따른 바람직한 실시예를 상세히 설명한다.

[0023] 본 발명의 일실시예에 따른, 표피 성장인자를 포함하는 콜라겐 메트릭스로 구성된 인공진피는 표피 성장인자와 콜라겐 메트릭스을 포함한다

[0024] 표피 성장인자는 펩티드성 세포 증식인자로서 표피 세포의 증식을 촉진 한다. 표피 성장인자는 콜라겐 메트릭스의 생분해성을 촉진시키므로 생착율을 증가시킬 수 있다. 본 발명에서 표피 성장인자는 50 ng/㎠ 내지 100 ng/㎠의 농도로 콜라겐 메트릭스 분산액에 용해시킨 후, 가교 결합으로 부착, 결합 또는 병합하여 제조될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0025] 콜라겐 메트릭스는 결합조직의 주성분으로 피부의 지지체로서 역할을 하며, 세포의 부착, 뻗음 및 증식에 관여한다. 콜라겐 메트릭스는 비항원성의 세포 외기질 고분자인 타입I 콜라겐 메트릭스일 수 있다. 또한, 콜라겐 메트릭스는 피부의 결손 및 상처부위에 작용하여 증식하고 분화함으로써 상처 치유의 효과가 있다.

[0026] 본 발명의 일실시예에 따른, 표피 성장인자를 포함하는 콜라겐 메트릭스로 구성된 인공진피의 제조 방법은 콜라겐을 추출하여 콜라겐 메트릭스로 제조하는 단계 및 상기 콜라겐 메트릭스에 상피세포 성장인자를 부착하는 단계를 포함한다. 본 발명은 콜라겐으로만 구성된 메트릭스에 표피 성장인자를 포함하여 사용함에 따라 생착율의 촉진으로 인한 효과적인 상처치유가 가능하다. 본 발명에 의해 제조된 콜라겐 메트릭스는 상처부위 이식 또는 자가 동종의 세포 이식에 대한 지지체로서 사용 할 수 있다.

[0027] 콜라겐을 추출하여 콜라겐 메트릭스로 제조하는 단계는 중성의 용액에 콜라겐 섬유를 분산, 용해 또는 융해 시킨 후 동결 건조하여 콜라겐 메트릭스를 제조한다. 콜라겐 메트릭스를 중성의 용액에 콜라겐 섬유를 분산, 용해 또는 융해 시키면 콜라겐 메트릭스의 조직의 결속력이 증가하여 경고한 콜라겐 메트릭스로 제조 할 수 있다. 콜라겐 메트릭스를 동결건조 하는 단계는 콜라겐 메트릭스를 냉동고의 온도 -195 ℃ 내지 0 ℃에서 동결 후 30 내지 50 시간 동결 하고 동결 건조 할 수 있다. 또한 콜라겐 메트릭스를 제조하는 단계는 아세톤과 알코올을 함유한 용액에 세척하고 고정 하는 단계를 더 포함할 수 있다. 동결 건조한 콜라겐 메트릭스는 0.25% 글루타르알데하이드(GAD)를 처리 하고, 90% 아세톤에 33mM의 1,3-카보디이미드(carbodiimide)와 6mM의 하이드록시숙신이미드(N-hydroxysuccinimide)가 용해된 용액을 처리하며, 40% 알코올에 33mM의 1,3-카보디이미드(carbodiimide)와 6mM의 하이드록시숙신이미드(N-hydroxysuccinimide)가 용해된 용액을 처리함으로써, 세척하고 고정할 수 있다.

[0028] 또한 본 발명의 콜라겐 메트릭스는 돼지, 소 및 말로부터 적어도 하나 이상 선택 되어 추출된 콜라겐 메트릭스로 구성된 인공진피를 포함할 수 있다.

[0029] 콜라겐 메트릭스에 표피 성장 성장인자를 부착하는 단계는 UV 및 감마선 조사 처리를 통해 성장 인자를 가교 결합으로 부착하고 동결 건조한다. 콜라겐 메트릭스에 표피 성장인자를 가교결합으로 부착하고 동결 건조하면 콜

라겐 메트릭스의 생분해성을 늦춰서 생착율이 촉진되므로 상처 치유에 효과적이다. 또한, 표피 성장 인자를 부착한 콜라겐 메트릭스는 아세톤과 알코올을 함유한 용액에 세척하고 고정 하는 단계를 포함할 수 있다. 표피 성장인자를 50 ng/㎠ 내지 100 ng/㎠의 농도로 콜라겐 메트릭스 분산액에 용해시킬 수 있다. 또한, 표피 성장인자는 콜라겐 메트릭스에 UV 및 감마선 조사 처리를 이용한 화학적 가교 결합 방법으로 표피 성장인자를 콜라겐 메트릭스에 결합시킬 수 있다.

[0030] 발명의 다른 일실시예에 따른, 표피 성장인자를 포함하는 콜라겐 메트릭스로 구성된 인공진피는 피부 결손 모델을 이용한 상처 부위 이식에 대한 지지체로서의 기능을 포함할 수 있다. 콜라겐 메트릭스의 지지체로서의 기능은 세포의 재생과 회복에 도움을 준다. 본 발명에서는 돼지의 등에 피부 결손 부위를 유도한 후 콜라겐 인공진피를 이식하여 1주, 2주, 1개월 동안 생착율과 구축 정도를 비교한다.

[0031] 본 발명은 하기의 실시예에 의하여 보다 더 잘 이해될 수 있으며, 하기의 실시예는 본 발명의 예시 목적을 위한 것이며, 첨부된 특허청구범위에 의하여 한정되는 보호범위를 제한하고자 하는 것은 아니다.

[0032] [실시예 1]

[0033] 표피 성장인자를 포함하는 콜라겐 메트릭스의 제조 예시

[0034] 콜라겐 메트릭스(Matrixen-PSC, 바이오랜드)를 pH 7.0의 정제수에 농도 1%로 분산시켜 제조한다. 표피 성장 인자를 50 ng/㎠ 내지 100 ng/㎠의 농도로 콜라겐 섬유 분산액에 용해 시킨다. 냉도고의 온도 -196 ℃ 내지 0 ℃에서 동결 후 30 내지 50시간 동결건조 시킨다. 건조된 상기 콜라겐 메트릭스를 90% 아세톤에 33mM의 1,3-카보디이미드(carbodiimide)와 6mM의 하이드록시숙신이미드(N-hydroxysuccinimide)가 용해된 용액에 2 내지 6 시간 담근다. 식염수와 정제수로 충분히 세척 한다. 냉동고의 온도 -196 ℃ 내지 0 ℃에서 동결 후 30 내지 50 시간 이상 동결 건조하여 표피 성장 인자가 포함된 콜라겐 인공진피를 제조한다.

[0035] [실시예 2]

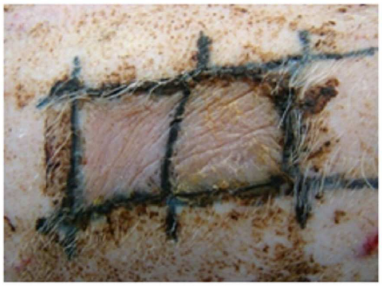
[0036] 돼지의 전층 피부 결손 모델을 이용한 이식 시험의 예시

[0037] 본 발명의 효과를 확인하기 위하여 돼지의 등에 3x3cm의 전층 피부 결손 부위을 유도한다. 본 발명의 인공진피와 사용화된 콜라겐으로만 구성된 인공진피를 이식한다. 이식 후 1주, 2주, 1개월 동안에 생착율과 구축 정도를 비교한다. 조직 생검을 통해, H&E (Hematoxyline & eosin) 염색을 실시하여 인공진피내로의 세포 진입 정도를 관찰한다.

[0038] 이상에서 본 발명에 따른 실시예들이 설명되었으나, 이는 예시적인 것에 불과하며, 당해 분야에서 통상적 지식을 가진 자라면 이로부터 다양한 변형 및 균등한 범위의 실시예가 가능하다는 점을 이해할 것이다. 따라서, 본 발명의 진정한 기술적 보호 범위는 다음의 특허청구범위에 의해서 정해져야 할 것이다.

도면

도면1



도면2



도면3

