



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2013-0051602
(43) 공개일자 2013년05월21일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61L 27/60 (2006.01) A61L 27/22 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2011-0116838
(22) 출원일자 2011년11월10일
심사청구일자 2011년11월10일

(71) 출원인
한림대학교 산학협력단
강원도 춘천시 한림대학길 1, 한림대학교(옥천동)
대한민국(관리부서:농촌진흥청장)
경기 수원시 권선구 서둔동 250
서울대학교산학협력단
서울특별시 관악구 관악로 1 (신림동)
(72) 발명자
박찬흠
강원도 춘천시 승지골길16번길 47, 주공 1006동
1003호 (퇴계동, 뜨란채아파트)
이옥주
강원도 춘천시 삭주로145번길 15, 춘천아파트 10
2동 208호 (후평동)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
배성호, 진수정, 정태훈, 오용수

전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 발명의 명칭 진피 대체용 3차원 실크 나노 섬유막 및 그 제조방법

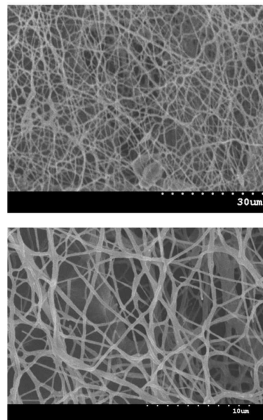
(57) 요약

본 발명은 실크단백질을 이용한 인공 진피 및 그 제조방법에 관한 것으로, 누에고치 또는 견섬유 등에서 세라신을 제거한 후 얻어진 실크단백질(또는 실크피브로인) 또는 실크단백질 복합체를 전기 방사하여 공극의 크기 및 섬유막의 생분해 속도를 조절한 인공 진피 대체용 3차원 실크 나노 섬유막에 대한 것이다.

본 발명의 실크 나노 섬유막은 10 내지 100 μm 범위의 공극의 크기 및 1-3 mm 범위의 두께를 가지며, 결정화 과정에서 생분해 속도가 조절되어 인체 진피와 유사한 구조인 것을 특징으로 한다.

또한, 본 발명에서 제공하는 실크 나노 섬유막은 제조 원가가 저렴하고 인체 감염 질환 등의 문제가 없으며 생체 적합성이 뛰어나 화상 및 미용 기타 의료용 진피 대체물로 사용될 수 있다.

대표도 - 도3



(72) 발명자

이정민

경기도 구리시 원수택로12번길 27, 201호 (수택동)

권해용

경기도 수원시 영통구 망포동 벽산e빌리지아파트
104동 808호

조유영

경기도 용인시 처인구 김량장동 삼환나우빌 102동
1304호

류강선

경기도 수원시 권선구 탑동로58번길 8, 101동 130
8호 (탑동, 삼성아파트)

이광길

경기도 수원시 권선구 탑동 42-1 우방아파트 105동
203호

강석우

경기도 화성시 반송동 79 우남퍼스트빌 350동 190
3호

박영환

서울특별시 강남구 언주로 107, 현대2차아파트 21
1동 301호 (개포동)

김종욱

대구광역시 동구 아양로7길 12, 107동 1504호 (신
암동, 신암뜨란채)

특허청구의 범위

청구항 1

공극의 크기가 10 내지 100 μ m이고, 두께가 1 내지 5mm 인 것을 특징으로 하는 3차원 실크 나노 섬유막.

청구항 2

나노 섬유 원액을 준비하는 공정, 전압을 가하면서 상기 준비된 나노 섬유 원액을 전기 방사시킴과 동시에 염을 첨가하는 공정 및 방사된 나노 섬유막에서 염을 제거하는 공정을 포함하는 것을 특징으로 하는 3차원 실크 나노 피브로인 섬유막의 제조방법.

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 전기 방사와 동시에 염을 첨가하는 공정에서는 전기 방사로부터 형성되는 나노 섬유막에 공급량 및 입자 크기가 조절된 염이 분사되어 공극이 형성되는 것을 특징으로 하는 3차원 실크 나노 피브로인 섬유막의 제조방법.

청구항 4

제2항에서,

상기 염은 염화나트륨, 카보하이드레이트(carbohydrate), 사이토 카인(cytokine) 및 세포 활성 인자로 이루어진 그룹에서 선택되는 1종 이상인 것을 특징으로 하는 3차원 실크 나노 피브로인 섬유막의 제조방법.

청구항 5

제2항에 있어서,

방사된 나노 섬유막의 불용화 처리 공정이 추가로 이루어지는 것을 특징으로 하는 3차원 실크 나노 피브로인 섬유막의 제조방법.

청구항 6

섬유 원액을 방사하는 방사기,

상기 방사기로부터 방사되는 섬유막을 수집하기 위한 수집기 및

상기 수집기에 수집되는 섬유막에 염을 공급하기 위한 염 공급기를 포함하는 것을 특징으로 하는 섬유막 방사 장치.

청구항 7

제6항에 있어서,

상기 염 공급기에 의해 섬유막에 공급되는 염의 공급량 및 염의 입자 크기가 조절되는 것을 특징으로 하는 섬유막 방사 장치.

명 세 서

기술 분야

[0001]

본 발명은 실크단백질을 이용한 인공 진피 및 그 제조방법에 관한 것으로, 실크단백질(또는 실크피브로인) 또는 실크단백질 복합체를 전기 방사하여 공극의 크기 및 섬유막의 생분해 속도를 조절한 인공 진피 대체용 3차원 실크 나노 섬유막 및 그 제조 방법에 관한 것이다.

배경 기술

- [0002] 신체부분의 연조직 결손 및 화상환자의 진피 결손 부위를 교정하기 위해서 많은 종류의 자가 조직 또는 비자가 조직이 사용되어 왔다.
- [0003] 자가 조직을 이용하는 방법으로서, 연부조직의 결손에 의해 피부의 선천적 또는 후천적 함몰이 있는 경우에 이를 교정해주기 위해 지방이나 진피지방 이식술, 유리피판술 등이 사용되고 있다. 그러나, 이런 방법들은 공여부에 반흔이 생기게 되고, 공여부가 제한된 경우에는 자가 조직을 얻지 못하는 문제가 있다.
- [0004] 한편, 비자가 조직을 이용하기 위해 진피 대체물질로 다양한 재료들이 사용되어 왔지만 아직까지 완전히 적합한 이상적인 물질은 알려져 있지 않다. 현재 인공진피로 Terudermis[®], Integra[®], Pelnac[®], AlloDerm[®] 등이 인체의 진피 이식에 이용되어 진피의 역할을 대신하고 있다.
- [0005] AlloDerm[®]은 사체의 피부를 채취하여 세포성 면역반응의 항원 대상인 표피층과 진피층 내의 세포들을 제거한 후 급속 동결건조로 진피층의 3차원 구조를 유지한 동종진피이다. AlloDerm[®]은 자가이식 다음으로 치료효과가 높아 전층 피부, 비중격, 뇌척수경막 결손창의 재건뿐만 아니라, 함몰 반흔 교정, 반안면 위축 교정, 주름살 제거, 유두 재건, 입술 확대의 미용성형 면에서 그 이용범위가 확대되어 왔다. 그러나, AlloDerm[®]은 공급의 제한과 높은 가격, 감염 및 에이즈와 같은 질병이 전파될 가능성이 있다는 문제점이 아직 해결되지 못한 상태이다.
- [0006] Terudermis[®]는 송아지에서 추출한 atelocollagen을 재섬유화시킨 기질에 섬유모세포의 증식에 효과적인 열변성 atelocollagen을 9:1비율로 혼합하여 동결 건조하여 두께 2mm의 스폰지로 가공한 후, 실리콘막을 부가하여 단시간의 약한 열탈수 가교만을 시행하여 생체적합성을 높인 인공진피이다. Terudermis[®]는 조직결손 부위에서 진피 조직의 대체물로 이용되어 진피조직을 복원한다고 알려져 있으며, 연조직 결손으로 인대와 골이 노출된 경우에도 그 범위가 넓지 않으면 생착이 가능한 것으로 보고되었다. 그러나 AlloDerm[®]과 마찬가지로 높은 가격과 공급의 제한 등의 문제점이 있다.
- [0007] 실크 피브로인은 누에에서 추출하여 제조한 전형적인 자연 고분자 물질로 오랫동안 직물의 섬유소재 및 봉합사와 같은 의·공학 소재로 이용되어 왔다. 실크 피브로인은 생체에 적용할 때 염증 반응을 거의 일으키지 않으면서 섬유모세포나 각질 세포 등에 세포 부착 능력과 증식효과가 뛰어나 생체 적합성이 우수한 인공피부의 소재로서 많은 관심이 모아지고 있다. 또한, 다른 천연 고분자 재료와 달리 실크 피브로인은 곤충을 통하여 순수한 단백질질을 대량으로 쉽게 얻을 수 있으며 생체적합성이 우수하여 특별한 정제과정을 거치지 않아도 인체에 대한 거부 반응이 거의 일어나지 않고 분말, 막, 다공질체 및 겔 등 다양한 형태로 성형할 수 있다는 특징이 있다.
- [0008] 최근 전기 방사한 실크 나노 섬유의 생체 의학 적용 사용에 관한 연구가 활발히 진행되고 있는데, 이는 세포의 기질과 구조적, 물리적으로 비슷한 특성 때문이며, 신체 조직으로부터 다공성 표면의 내부로 세포 부착과 성장을 촉진시키는 좋은 재료로 평가 받고 있다.
- [0009] 그러나 일반적인 전기 방사를 통한 실크 나노 피브로인 섬유막의 경우, 직경 100~800 nm의 섬유가 불규칙하게 망상 구조로 배열된 일종의 부직포로서, 실크 나노 섬유막의 두께는 통상 50~200 μm 의 정도이며 또한 70~80%의 높은 공극도에 공극의 크기는 최대 1 μm 이다.
- [0010] 그러나 실크 나노 피브로인 막의 구조상 나노 섬유간 공극이 작아 섬유아 세포 및 혈관 재생 세포들의 침윤이 어렵다. 실크 나노 피브로인 막의 공극을 세포의 침윤이 용이하게 하기 위해서는 적어도 10~80 μm 의 공극이 필요하다. 그러나 전기 방사법의 의한 실크 나노 섬유막의 경우 전기장에 의한 무질서한 나노 섬유간의 배열로 인해 나노 섬유간의 공극을 늘리는 것이 어렵다. 또한 전기 방사된 나노 섬유막의 두께가 최대 200 μm 정도로 얇아서 실제로 임상에 적용하기 힘들다.
- [0011] 따라서 실크 나노 섬유막의 진피 대체물로 사용하기 위해서는 공극의 크기가 세포의 침윤이 자유로울 수 있도록 10 μm 이상 및 두께는 1mm 이상이 되어야 한다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0012] 상기 문제점을 해결하기 본 발명은 공극의 크기 및 두께가 인체 진피와 유사한 구조로서, 생분해 속도가 조절된 3차원 실크 나노 섬유막을 제공하고자 한다.
- [0013] 또한, 본 발명은 용이하고 간단한 방법으로 인체 진피 대체물로 사용될 수 있는 3차원 실크 나노 섬유막을 제조하는 방법을 제공하고자 한다.
- [0014] 또한, 본 발명은 상기 방법을 실현할 수 있는 실크 나노 섬유막 제조 장치를 제공하고자 한다.

과제의 해결 수단

- [0015] 본 발명은 공극의 크기가 10 내지 100 μ m이고, 두께가 1 내지 5mm 인 것을 특징으로 하는 3차원 실크 나노 섬유막을 제공한다.
- [0016] 또한, 본 발명은 나노 섬유 원액을 준비하는 공정, 전압을 가하면서 상기 준비된 나노 섬유 원액을 전기 방사시킴과 동시에 염을 첨가하는 공정 및 방사된 나노 섬유막에서 염을 제거하는 공정을 포함하는 것을 특징으로 하는 3차원 실크 나노 섬유막의 제조방법을 제공한다.
- [0017] 바람직하게, 상기 전기 방사과 동시에 염을 첨가하는 공정에서는 전기 방사로부터 형성되는 나노 섬유막에 공급량 및 입자 크기가 조절된 염이 분사되어 공극이 형성된다.
- [0018] 바람직하게, 상기 염은 염화나트륨, 카보하이드레이트(carbohydrate), 사이토 카인(cytokine) 및 세포 활성 인자로 이루어진 그룹에서 선택되는 1종 이상이다.
- [0019] 바람직하게, 상기 3차원 실크 나노 섬유막의 제조방법에는 방사된 나노 섬유막의 불용화 처리 공정이 추가로 포함될 수 있다.
- [0020] 또한, 본 발명은 섬유 원액을 방사하는 방사기, 상기 방사기로부터 방사되는 섬유막을 수집하기 위한 수집기 및 상기 수집기에 수집되는 섬유막에 염을 공급하기 위한 염 공급기를 포함하는 것을 특징으로 하는 섬유막 방사 장치를 제공한다.
- [0021] 바람직하게, 상기 염 공급기에 의해 섬유막에 공급되는 염의 공급량 및 염의 입자 크기가 조절된다.

발명의 효과

- [0022] 본 발명에 의하면 3차원 실크 나노 섬유막의 공극 및 두께를 조절할 수 있어 용도에 따라 바람직한 공극 및 두께를 가지는 인공 진피 대체용 3차원 실크 나노 섬유막을 제공할 수 있다.
- [0023] 또한, 본 발명에 의하면 용이하고 간단한 방법으로 인체 진피 대체용 나노 섬유막을 제조할 수 있어, 제조 비용 및 공정면에서도 유리한 장점이 있다.

도면의 간단한 설명

- [0024] 도 1은 전기 방사과 동시에 염을 첨가하는 전기 방사 장치의 개략도이다.
- 도 2는 전기 방사된 3차원 실크 섬유막 및 결정화된 3차원 실크 섬유막의 육안 사진이다.
- 도 3은 3차원 실크 섬유막의 1000배 및 5000배 SEM 사진이다.
- 도 4는 3차원 실크 섬유막의 창상 치유 효과 실험 결과를 나타낸 사진이다.
- 도 5는 Masson's trichrome 염색 처리하여 각각 40 및 200 배율로 촬영된 3차원 실크 섬유막 사진이다.
- 도 6은 창상이 유발된 부위 패치 후 4주 경과된 3차원 실크 섬유막의 SEM 사진이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0025] 본 발명은 공극의 크기가 10 내지 100 μ m 이고, 두께가 1 내지 5mm 인 것을 특징으로 하는 3차원 실크 나노 섬유막을 제공한다. 상기 나노 섬유막은 인체 진피와 유사한 구조로서 인체 진피를 대체할 수 있다. 또한, 본 발명의 나노 섬유막은 결정화 과정에서 생분해 속도가 조절될 수 있다.
- [0026] 상기 제시된 공극의 크기 및 두께를 가지는 실크 나노 섬유막은 본 발명에서 제시하는 방법 및 상기 방법에 이용되는 장치에 의해 가능하게 달성될 수 있다. 아울러, 상기 과정에서 생분해 속도가 조절될 수 있다.
- [0027] 본 발명의 실크 나노 섬유막은 인체 진피를 대체하기에 충분한 공극의 크기 및 두께를 제공하므로, 연조직 결손 및 화상환자의 진피 결손의 치유에 유용하게 사용될 수 있다.
- [0028] 본 발명의 인공 진피 대체용 3차원 실크 나노 섬유막은, 나노 섬유 원액을 준비하는 공정, 전압을 가하면서 상기 준비된 나노 섬유 원액을 전기 방사시킴과 동시에 염을 첨가하는 공정 및 방사된 나노 섬유막에서 염을 제거하는 공정으로부터 제조될 수 있다.
- [0029] 상기 전기 방사와 동시에 염을 첨가하는 공정에서는, 전기 방사를 위한 장치에 염의 공급량 및 입자 크기를 조절하여 공급할 수 있는 염 공급기를 구비하여, 전기 방사에 의해 섬유막이 형성됨과 동시에 상기 섬유막에 자동적으로 염이 공급되도록 한다. 공급된 염은 방사된 섬유막에 공극을 형성한다.
- [0030] 섬유막의 형성과 동시에 섬유막 사이에 염에 의한 공극 형성이 이루어지므로, 본 발명에 의해 제조되는 섬유막에는 충분한 크기와 비율의 공극이 형성될 수 있다. 또한, 이때 사용되는 염의 종류, 양 및 입자의 크기를 다양하게 변화시킴으로써 다양한 크기와 비율의 공극을 갖는 3차원 나노 섬유막을 제조할 수 있다.
- [0031] 특히, 입자 크기가 큰 염을 사용하는 경우에는 나노 섬유막 사이의 공극이 커지고, 이에 따라 섬유막의 두께도 증가하게 된다.
- [0032] 그러므로, 본 발명에서는 상기 전기 방사와 동시에 염을 첨가하는 공정에 의해 충분한 공극 및 섬유막 두께를 가지며, 또한 그 조절이 가능한 실크 나노 섬유막을 제조할 수 있다.
- [0033] 한편, 방사된 나노 섬유막에 대해서는 불용화 처리 공정이 추가적으로 수행될 수 있다. 본 발명에서는 메탄올, 에탄올, 프로판올로 처리하거나, 또는 수화 과정을 통해 결정화 처리를 함으로써 나노 섬유막 불용화 처리를 한다.
- [0034] 각 단계에 대해 구체적으로 설명한다.
- [0035] 1) 나노 섬유 원액의 준비
- [0036] 누에고치(Bombyx mori)로부터 세리신 단백질 및 불순물 등을 제거한다. 이를 위해 탄산나트륨 등의 염기성 수용액에 넣고 가열한 후 증류수로 세척하는 과정을 거친다. 상기 과정을 거친 실크 피브로인을 브롬화리튬 등의 염용액에 넣고 용해시킨다.
- [0037] 그런다음, 상기 용액으로부터 이온 성분을 제거하기 위해 증류수로 투석한다. 투석 시간은 36 내지 72시간으로 한다.
- [0038] 다음으로, 투석된 실크 피브로인 용액에 실크 피브로인의 물성 개선을 위해 폴리머를 첨가한다. 예를 들면, 실크 피브로인 용액의 점도 및 방사성을 증가시키기 위해 폴리에틸렌글리콜(polyethylene glycol)을 첨가하여 실크 피브로인/폴리에틸렌글리콜 수용액을 제조한다.
- [0039] 이때 첨가되는 폴리머와 실크 피브로인의 중량비는 1:4 내지 1:5로 한다.
- [0040] 이때 물성 변화를 위해 기타 폴리머(폴리비닐알코올(polyvinly alcohol), 폴리플루오린화 비닐리덴(polyvinylidene fluoride) 등)을 첨가 할 수 있다.
- [0041] 2) 전기 방사와 동시에 염을 첨가하는 공정
- [0042] 제조된 실크 피브로인/폴리머 수용액을 전기 방사시킴과 동시에 염을 첨가하기 위해 일 실시예로서 도 1에 도시된 장치를 이용하여 방사한다. 그러나, 본 공정은 상기 장치에 의해 한정적으로 이루어지는 것이 아니라, 전기

방사와 함께 염이 첨가되는 공정을 실현할 수 있는 어떠한 장치에 의해서라도 이루어질 수 있다.

[0043] 나노 섬유 원액을 주사기에 담고 송출펌프를 이용하여 토출한다. 이때 주사기 바늘에 전극을 연결하여 직류전원 장치로 정전압을 가한다. 형성된 실크 나노 섬유를 회전형 드럼 표면에 수집한다.

[0044] 상기 방사 과정에서 회전형 드럼의 상부에 구비된 염 공급기로부터 전기 방사와 동시에 염이 드럼에 분사되도록 한다. 이때 공급되는 염은 물 또는 에탄올, 메탄올 등 물과 혼합될 수 있는 용매에 용해되는 분말 형태의 모든 염으로, 예를 들면, 염화나트륨(NaCl), 카보하이드레이트(carbohydrate) 등을 사용할 수 있다. 또한, 사이토 카인(cytokine)이나 세포 활성 인자 등을 사용할 수 있다.

[0045] 한편, 염의 공급량 및 입자의 크기는 염 공급기에서 조절될 수 있다. 즉 염 공급기에는 염 입자의 크기를 조절하여 공급하기 위하여 염 배출구라는 크기 조절이 가능한 구멍이 있고, 이에 따라 섬유막 방사시 염 입자의 크기 및 공급량을 조절하여 염을 공급할 수 있다. 따라서, 본 발명에서는 전기 방사되는 섬유 원액의 종류에 따라 다양한 종류 및 입자 크기의 염을 섬유막의 공극 형성에 이용할 수 있으며, 이에 따라 섬유막의 공극 크기 및 밀도를 조절할 수 있다.

[0046] 회전형 드럼 표면에 전기방사와 함께 염의 도포가 진행된 결과, 실크 피브로인 나노 섬유막 사이로 염이 분포하게 되므로, 추후 염을 제거한 후 나노 섬유막에 공극이 형성될 공간이 형성되는 것이다. 이렇게 얻어지는 3차원 실크 피브로인 나노 섬유막은 염의 입자 크기 및 공급량에 따라 1-5mm 의 두께로 적층이 가능하다.

[0047] 3) 나노 섬유막의 불용화 처리 및 염 제거

[0048] 전기 방사 직후의 나노 섬유막은 강도가 약하고 습기에 매우 취약하므로 바람직하게 불용화 처리 공정을 거친다. 이를 위해 방사된 실크 피브로인 나노 섬유막을 재결정화한다. 이러한 불용화 처리 과정에서 실크 피브로인 나노 섬유막의 생분해성을 조절할 수 있다.

[0049] 본 발명에서는 집적장치인 드럼 표면으로부터 나노 섬유막을 떼어낸 후, 실크 피브로인 나노 섬유막의 불용화를 위해 결정화 과정으로 메탄올, 에탄올, 프로판올 처리 또는 수화 과정을 통해 결정화를 시행한다. 이후 결정화된 나노 섬유막을 증류수에 2일간 침수하여 염을 제거한다. 염이 제거된 실크 피브로인 나노 섬유막을 동결 건조하여 3차원 실크 피브로인 나노 섬유막의 제조를 완성한다.

[0050] 이하 실시예를 통해 본 발명을 설명한다. 그러나, 이는 발명의 이해를 용이하게 하기 위한 것일 뿐, 본 발명이 이에 한정되는 것으로 여겨져서는 안된다.

[0051] 실시예

[0052] 1) 나노 섬유 원액의 제조

[0053] 누에고치(Bombyx mori)를 0.02 M의 탄산나트륨 수용액에 넣고 100 °C에서 30분 동안 가열하여 세리신 단백질 및 불순물 등을 제거하고 증류수로 세척하여 순수한 실크 피브로인을 얻었다.

[0054] 추출한 실크 피브로인을 9.3 M 브롬화리튬 용액에 60 °C에서 4시간 동안 용해시켰다. 용액을 48시간 동안 증류수로 투석하여 브롬화리튬 이온을 제거하고 순수한 실크 피브로인 수용액을 얻었다.

[0055] 제조된 약 8중량%의 실크 피브로인 수용액의 점도와 방사성을 증가시키기 위하여 분자량이 900,000인 폴리에틸렌글리콜(polyethylene glycol)을 첨가하여 실크 피브로인/폴리에틸렌글리콜 수용액을 제조하였다. 이때 첨가된 폴리에틸렌글리콜과 실크 피브로인의 중량비는 약 1:4 로 했다.

[0056] 2) 전기 방사와 동시에 염을 첨가하는 공정

[0057] 제조된 실크 피브로인/폴리에틸렌글리콜 수용액을 도1에 도시된 장비를 사용하여 전기 방사시켰다.

[0058] 나노 섬유 원액을 주사기에 담고 송출펌프를 이용하여 0.5ml/hr의 속도로 토출했다. 이때 주사기 바늘에 전극을

연결하여 직류전원장치로 15kv의 정전압을 가하여 회전형 드럼 표면에 실크 나노 섬유를 수집했다.

[0059] 이때 회전형 드럼의 상부에 위치하는 염 공급기의 reservoir에 분말 상의 염화나트륨(NaCl, 입자크기: 180-120 μm) 9g을 채우고, 전기 방사와 동시에 염 공급기로부터 드럼에 균일하게 염을 분사하여 실크 피브로인 나노 섬유막 (1 μm x 80 cm x 20cm)에 염이 함유되도록 하였다.

[0060] 이렇게 전기 방사 및 염의 분사를 동시에 수행함으로써 형성된 나노 섬유막과 이를 동결 건조시킨 것의 단면을 촬영하였다. 촬영 결과를 도 2에 나타내었다.

[0061] 3) 나노섬유 막의 불용화 처리 및 염 제거

[0062] 전기 방사된 나노 섬유막 드럼 표면으로부터 떼어낸 후, 메탄올, 에탄올, 프로판올 처리 또는 수화 과정을 이용하여 결정화를 시행한다. 이렇게 얻어진 나노 섬유막을 증류수에 2일간 침수시켰다. 다음으로, 실크 피브로인 나노 섬유막을 동결 건조하여 3차원 실크 피브로인 나노 섬유막을 제조하였다.

[0063] 실크 피브로인 나노 섬유막의 촬영

[0064] 상기 제조된 나노 섬유막에 형성된 공극 구조를 확인하기 위하여 1000 배 및 5000배의 주사 전자 현미경 촬영을 하였다.

[0065] 도 3의 사진을 보면 섬유막 사이 사이로 수십 μm 크기의 공극이 잘 형성되어 있음을 확인할 수 있다.

[0066] 실크 피브로인 나노 섬유막에 대한 평가

[0067] 1) 창상 치유 효과

[0068] 상기 실시예에서 제조된 3차원 인공 진피 대체용 3차원 나노 섬유막의 생체적합성 및 인공 진피 대체물로 가능성을 확인하기 위해, 진피 제거로부터 유발된 창상이 실크 나노 피브로인 막과 자기 진피에 의해 감소되어가는 양상을 비교하는 실험을 하였다.

[0069] 실험동물로는 쥐를 사용하였으며, 등 부위의 두 군데를 조직 가위와 핀셋을 사용하여 1 X 2 cm 크기의 진피를 제거하여 창상을 유발하였다. 창상 부위에 맞는 3차원 실크 피브로인 나노 섬유막을 절단하여 덮었다. 대조군으로는 자가 진피를 이용하였다.

[0070] 창상 유발 후 1, 2, 4주째에 창상 부위의 변화를 기간별로 관찰하였다. 결과를 도4에 나타내었다. 사진의 위쪽이 실크 피브로인 나노 섬유막을 사용한 것이며, 아래쪽이 자가 진피를 사용한 것이다.

[0071] 창상 재생 기간 중 대조군인 자가 진피에 비해 실크 나노 피브로인 막에서 창상 면적의 감소 현상이 적게 나타나지만 실크 나노 피브로인 막에서의 창상 치유 효과를 확인할 수 있었다. 특히, 4주 후에는 실크 나노 피브로인 막에서의 창상 면적이 눈에 띄게 감소하는 것을 확인하였다.

[0072] 2) 교원질(콜라겐) 침착

[0073] 실크 피브로인에 의한 창상 재생 기간 동안의 교원질의 침착 정도를 확인하기 위해 조직 검사를 실시하였다.

[0074] 이를 위해 상기 창상 패치 후 4주 경과된 3차원 실크 피브로인 나노 섬유막을 Masson's trichrome 염색 처리하여 각각 40 및 200 배율로 촬영하였다(도 5).

[0075] 상기 도면으로부터 나노 섬유막 내로 혈관 침투 및 콜라겐 침착을 확인할 수 있었다.

[0076] 3) 생분해성

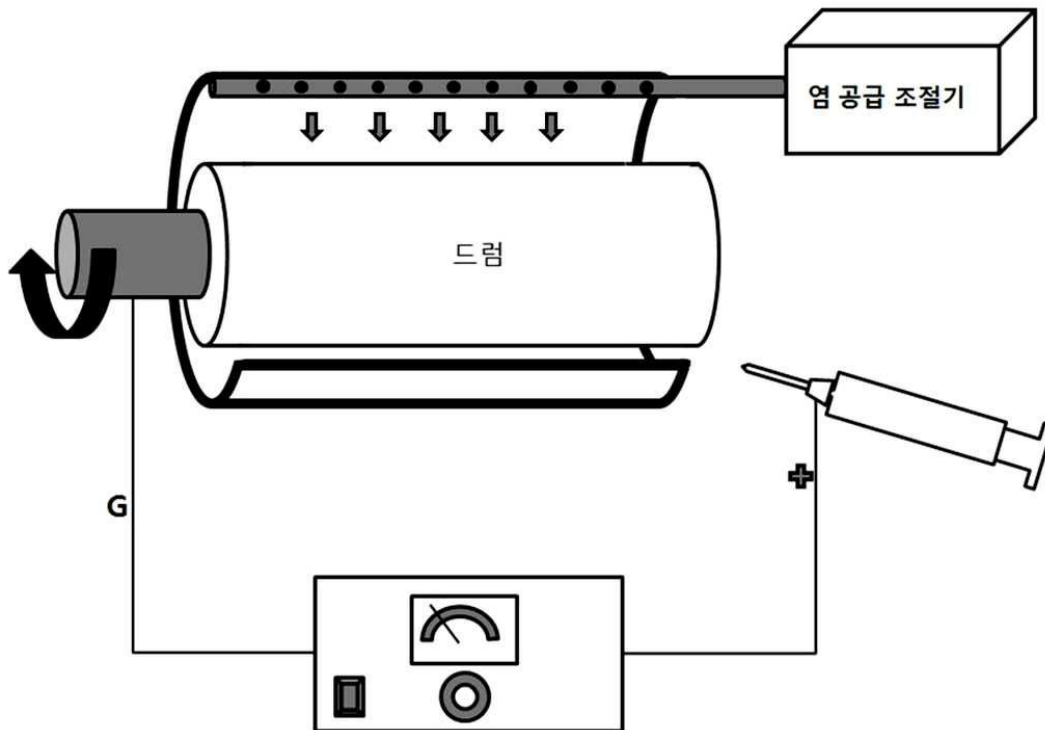
[0077] 실크 나노 섬유막의 생분해성을 확인하기 위해 주사 전자 현미경(SEM) 촬영하였다. 상기 창상 패치 후 4주 경과된 3차원 실크 피브로인 나노 섬유막에 대한 SEM 촬영 결과를 도 6에 나타내었다.

[0078] 이로부터 생분해가 진행되고 있음이 확인되었다.

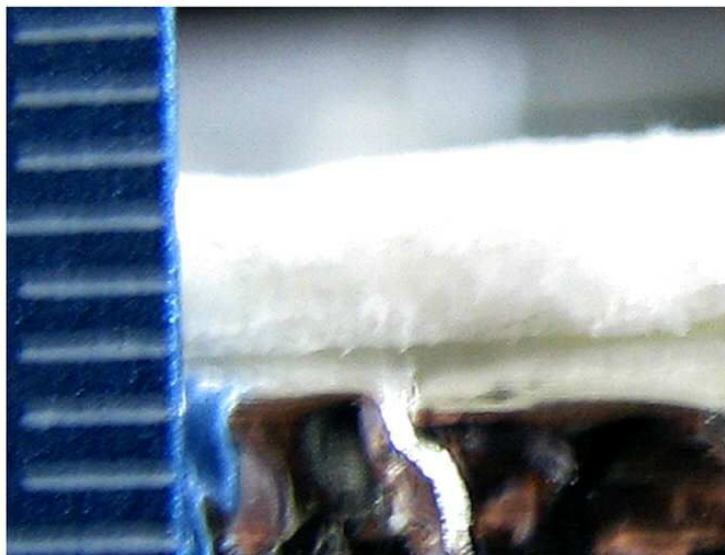
[0079] 상기 결과로부터 본 발명의 3차원 실크 피브로인 나노 섬유막은 창상 치유 효과가 뛰어나고, 섬유막 사이로 혈액 및 콜라겐이 잘 침착되며, 궁극적으로 생분해되는 것임을 확인할 수 있다. 따라서, 본 발명의 실크 나노 섬유막은 인공 진피 대체물로 활용될 수 있다.

도면

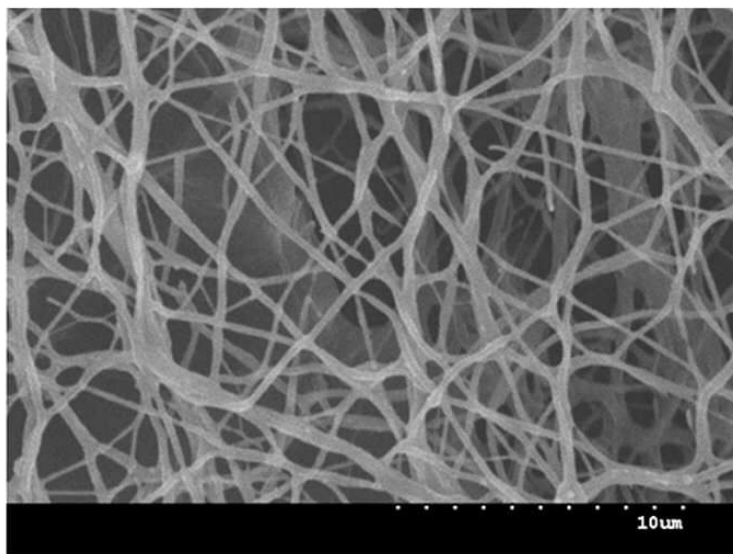
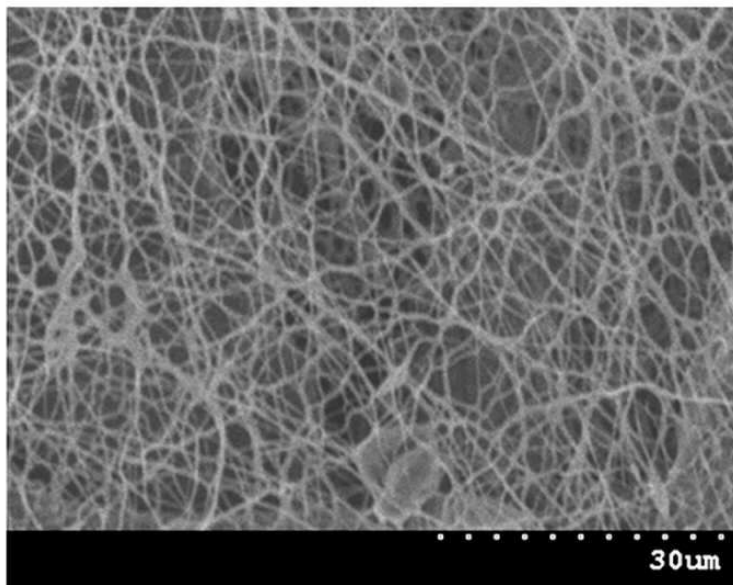
도면1



도면2



도면3



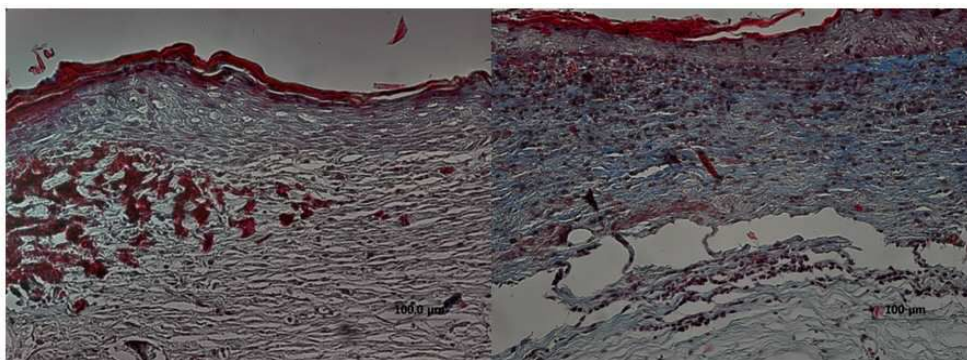
도면4



1W

4W

도면5



x 40

x 200

도면6

