

## 마이크로 광 조형 기술로 제작된 3 차원 인공지지체의 구조적 형태에 따른 연골세포의 생착 특성

이승재\*(포항공대 대학원 기계공학과), 김병(포항공대 대학원 기계공학과),  
임근배(포항공대 기계공학과), 김성원(가톨릭의대 이비인후과), 이종원(가톨릭의대 성형외과),  
조동우(포항공대 기계공학과)

### Characteristics of chondrocytes adhesion depends on geometric of 3-dimensional scaffolds fabricated by micro-stereolithography

S.-J. Lee(Mechanical Eng. Dept., POSTECH) , B. Kim(Mechanical Eng. Dept., POSTECH), G. Lim(Mechanical Eng. Dept., POSTECH), S.-W. Kim(Otolaryngology-HNS Dept., The Catholic Univ. of Korea), J.-w. Rhie (Plastic Surgery Dept., The Catholic Univ. of Korea) and D.-W. Cho(Mechanical Eng. Dept., POSTECH)

#### ABSTRACT

Understanding chondrocyte behavior inside complex, three-dimensional environments with controlled patterning of geometrical factors would provide significant insights into the basic biology of tissue regenerations. One of the fundamental limitations in studying such behavior has been the inability to fabricate controlled 3D structures. To overcome this problem, we have developed a three-dimensional microfabrication system. This system allows fabrication of predesigned internal architectures and pore size by stacking up the photopolymerized materials. Photopolymer SL5180 was used as the material for 3D scaffolds. The results demonstrate that controllable and reproducible inner-architecture can be fabricated. Chondrocytes harvested from human nasal septum were cultured in two kinds of 3D scaffolds to observe cell adhesion behavior. Such 3D scaffolds might provide effective key factors to study cell behavior in complex environments and could eventually lead to optimum design of scaffolds in various tissue regenerations such as cartilage, bone, etc. in a near future.

**Key Words** : Tissue engineering (조직공학), Chondrocyte (연골세포), Scaffold (인공지지체), Micro-stereolithography (마이크로 광 조형), Cartilage (연골)

#### 1. 서론

연골조직은 인체 중에서도 아주 독특한 조직으로써 혈관이 없고, 신경 또한 없으며 또한 재생이 잘 일어나지 않는다는 점이 특징이다. 사고 또는 연골 및 연골하뼈조직의 피사 등에 의한 질병은 매우 보편적인 것 중의 하나로써 이들 질병을 고칠 목적으로 지난 100 여 년부터 구체적인 입상이 실시되었으나 아직까지도 완벽한 치료법이 없는 것이 사실이다. 이의 근본적인 원인은 성별, 나이별, 인종별, 병변부위별, 병변크기, 병변깊이, 병변체적, 병변표면적 및 병변종류에 따라 치료되는 연골의 치료이력이 모두 다르기 때문이다.<sup>1</sup>

조직공학<sup>2</sup>을 이용한 인공연골의 개발시에 특히 사람에게 적용되는 경우에는 다량의 세포가 필수적이다. 그러나 분리된 사람의 연골세포의 배양은 in vitro 에서는 대량으로 배양이 힘들며, 인체 내와 같은 환경이 아닐 경우 관절연골이 섬유연골로 대부분 변환되게 된다. 따라서 조직공학적 인공연골의

연구시에는 선택된 세포-인공지지체 시스템의 최적 조건 연구가 필히 수행되어야 한다. 이러한 연구를 위해서는 우선 연골세포가 인공지지체에 잘 생착 되도록 해야 하며, 3 차원 인공지지체의 형상에 따른 생착 특성 분석이 필수적이다.

본 논문에서는 연골조직 재생을 위한 최적의 3 차원 인공지지체 개발에 필요한 연골세포의 생착 특성에 대하여 기술하고자 한다.

#### 2. 3 차원 인공지지체 설계 및 제작

마이크로 광 조형(micro-stereolithography) 기술은 초점된 레이저 빔을 광 경화성 고분자 표면에 주사하여 일정 두께의 단층 형상을 만든 후, 이를 적층하여 3 차원 형상을 제작하는 것이다.<sup>3</sup> 이러한 마이크로 광 조형 기술을 이용하여 3 차원 인공지지체를 설계하고 제작하였다(Fig. 1). Type A 의 인공지지체는 x 방향으로 일정간격의 선들을 성형하고 다음 층에서는 90° 회전한 y 방향으로 선들을 성형하여

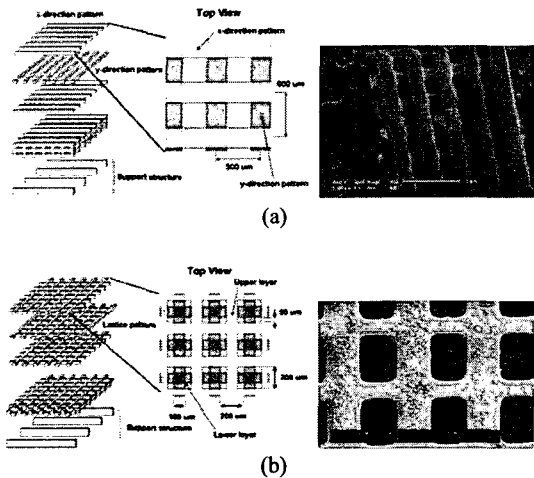


Fig. 1 Schematic drawing of 3D scaffold design and SEM images; (a) 3D scaffold Type A and (b) 3D scaffold Type B

적층한 구조이다. Type B의 인공지지체는 한 층의 패턴이 격자구조를 갖도록 하면서 이들 패턴을 엇갈리게 배열하여 적층한 구조이다. 일반적으로 조직공학에서 사용되는 인공지지체는 생분해성 재료를 사용하지만 본 연구에서는 마이크로 광 조형 기술의 적용 가능성과 인공 지지체의 구조적 영향에 따른 세포의 배양 특성을 보고자 하였기 때문에 상용화된 수지를 사용하였다.

### 3. 연골세포의 배양 및 생착 특성

연골세포(chondrocyte)는 인체의 비중격(nasal septum) 성형술 시행 중 제거되는 잉여 연골로부터 환자의 동의 하에 분리되었다. 추출된 잉여 연골 조각을 0.1% 콜라겐 분해 효소(collagenase type II)를 이용하여 분해하였다. 분해된 연골세포는 인공지지체의 부피와 같은 양의 10% FBS DMEM에 농축하여 식종하였고, 10ng/ml의 TGFβ1, IGF1가 포함된 10% FBS DMEM을 부어주어 세포를 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 인큐베이터에서 배양하였다. 배지는 2~3일에 한번씩 갈아주었다.

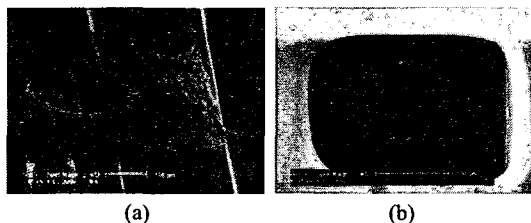


Fig. 2 Comparison of characteristics of chondrocyte adhesion on the two types of 3D scaffolds; (a) Type A and (b) Type B

인공지지체에 식종하여 배양된 연골세포의 생착 결과는 Fig. 2에 나타나 있다. Fig. 2(a)는 Type A의 인공지지체에서 배양한 연골세포이며, (b)는 Type B에서 배양한 결과이다. (a)의 경우 공극들이 수직으로 연결되어 있어 연골세포들이 인공지지체에 부착되기 전에 바닥 면으로 흘러내리는 현상이 발생했다. 따라서 배양 결과에서도 인공지지체 내부보다 인공지지체 표면에 연골세포가 생착되어 자란 것을 볼 수 있다. 하지만 (b)의 경우처럼 격자구조의 패턴들이 서로 엇갈리게 배열된 구조에서는 연골세포들이 공극 안에 잘 머물러 있게 되어 (a) 경우보다 세포의 생착이 잘 이루어져서 자라는 것을 확인할 수 있었다. 결국, 3차원 구조라도 공극의 배열 또는 공극의 연결성 같은 구조적 형태가 달라지게 되면 세포의 부착 및 배양에 여러 가지 영향을 주는 것을 확인하였다.

### 5. 결론

본 논문에서는 연골조직 재생을 위한 3차원 인공지지체 개발을 위해 마이크로 광 조형 기술을 적용하였고 3차원 구조를 가진 인공지지체를 제작하였다. 또한 연골 세포의 생착 특성을 비교하기 위해 2가지 종류의 3차원 구조의 지지체를 제작하였다. 이를 이용하여 인공지지체의 구조적 형태에 따라서 연골세포의 생착 특성이 달라지게 되는 것을 확인하였다. 즉, 세포가 잘 부착, 성장 하기 위해서는 특정한 조건을 갖춘 3차원 환경이 매우 중요하다는 것을 확인하였다. 이를 토대로 다양한 공극의 크기와 형태, 공극간의 연결성을 조절하면 최적의 인공지지체 설계 조건 및 배양 조건을 확립할 수 있을 것으로 기대한다. 향후 생분해성 고분자 재료를 이용하여 체내에 이식 가능한 3차원 인공지지체 제작에 관한 연구가 진행될 예정이다.

### 후 기

본 연구는 과학기술부 특정연구개발 사업인 국가 지정연구실 사업의 연구비 지원을 받아 수행되었으며, 이에 관계자 여러분께 감사드립니다.

### 참고문헌

1. 강길선, "연골", 생체재료와 조직공학, 전남의대 보건연구정보 센터(<http://jjang.richis.org>)
2. R. P. Lanza, R. Langer, W. L. Chick, "Principles of Tissue Engineering", Academic Press, New York, 1997.
3. I. H. Lee, D. -W. Cho, "An Investigation on Photopolymer Solidification Considering Laser Irradiation Energy in Micro-stereolithography", *Microsystem Technologies*, Vol. 10, No. 8-9, pp. 592-598, 2004.