

## 다공성 3차원 나노섬유 지지체의 특성 및 세포배양능

강은희, 기창석, 김종욱, 임준식, 김현정\*, 박영환

서울대학교 바이오시스템소재학부, \*서울대학교 치과대학

### Physical Properties and Cell Proliferation of Highly Porous Three-dimensional Nanofibrous Scaffold

Eun Hee Gang, Chang Seok Ki, Jong Wook Kim, Jun Sik Im, Hyun Jeong Kim\* and Young Hwan Park

Department of Biosystem and Biomaterials Science, Seoul National University, Seoul, Korea

\*College of Dentistry, Seoul National University, Seoul, Korea

#### 1. 서론

전기방사에 의해 제조된 나노섬유 집합체는 큰 표면적을 지니고 있을 뿐만 아니라 세포의 기질(extracellular matrix)의 콜라겐 나노섬유와 유사한 환경을 제공할 수 있어서 세포 배양시 세포 부착에 매우 유리한 것으로 알려져 있다<sup>1</sup>. 따라서 많은 연구자들이 나노섬유 집합체를 이용하여 조직공학용 지지체(scaffold)로 이용하고자 하는 시도를 하고 있다<sup>2,3</sup>. 그러나 일반적으로 전기방사에 의해 얻어진 나노섬유 집합체는 2차원 형태의 부직포이기 때문에 내부에 세포가 증식할 수 있는 공간이 적고 한정된 형태로 인해 다양한 모양의 조직을 재생하기 위한 지지체로써 이용하기에 한계가 있는 것으로 인식되고 있다. 이와 같은 한계를 극복하고자 본 연구에서는 나노섬유를 이용하여 3차원 구조를 형성하고 세포 증식 및 조직 재생에 적합한 공극 구조를 조절하는 기법을 개발하고 공정 인자가 지지체 구조 및 물리적 성질에 미치는 영향을 살펴보았다.

#### 2. 실험 방법

##### 2.1. 재료

가감고치를 비누소다 정련법을 이용하여 정련하고 전조한 후  $\text{CaCl}_2/\text{H}_2\text{O}/\text{EtOH}$  (mole ratio: 1/8/2)의 혼합용매에 용해 및 투석을 행하였으며 실크 피브로인 수용액을 동결건조하여 스펀지 형태로 얻었다. 공극 형성을 위한  $\text{NaCl}$  입자 분쇄 후 53, 100, 200, 300, 500  $\mu\text{m}$  눈 크기의 채로 걸러서 각각의 크기별로 준비하였다.

##### 2.2. 지지체의 제조

실크 피브로인 스펀지를 포름산에 13%의 농도로 용해한 후 18-20 kV의 전압, 20cm의 방사거리의 조건에서 메탄을 용고욕에 방사하였다. 방사한 실크 나노섬유를 분산시키고  $\text{NaCl}$  입자를 첨가하여 성형 후 동결건조하여 지지체를 제조할 수 있었다. 지지체의 형태안정성을 증가시키기 위하여 글루타알데하이드 증기로 가교처리하고 0.1M의 글라이신용액에 침지 후 PBS를 이용하여 여러 차례 수세한 후 동결건조하였다.

##### 2.3. 지지체의 구조 및 특성

제조한 지지체의 형태학적 구조를 분석하기 위해 주사전자현미경(SEM)을 이용하여 관찰하고 공극

의 크기를 측정하였다. 공극도는 지지체의 부피와 질량을 측정하여 밀도차를 이용하여 계산하였다. 기계적 강도는 건조 및 습윤 상태에의 압축강도를 ASTM F2150 및 D695에 의거하여 측정하였다. 팽윤도는 지지체를 1시간 동안 PBS에 침지 후 부피 증가와 질량 증가를 측정하여 계산하였다.

### 3. 결과 및 고찰

제조된 3차원 나노섬유 지지체는 내부에 많은 공극을 지니고 있음을 확인할 수 있었다. 공극은 서로 연결된 구조를 이루고 있어서 세포 배양 시 세포의 증식에 효과적일 것으로 생각된다. 공극의 크기는 첨가된 NaCl 입자의 크기가 증가할수록 점차 증가하여 단면지름(equilibrium circular diameter) 200-900  $\mu\text{m}$  범위에서 자유롭게 조절할 수 있음을 확인하였다. 지지체의 공극도는 첨가된 NaCl의 입자의 양이 증가할수록 증가하는 경향을 나타내었는데 최소 60%에서 최대 95% 까지 조절할 수 있었다. 그러나 첨가된 NaCl 입자의 양이 동일한 경우 크기에 관계없이 공극도는 거의 일정한 값을 나타내었다. 지지체의 압축강도는 변형률 10%일 때의 응력을 기준으로 측정하였다. 첨가된 NaCl의 입자의 양이 증가할수록, 즉 공극도가 증가할수록 압축강도는 50-1 kPa 범위에서 감소하는 경향을 나타내었다. 이것은 공극도가 증가함에 따라 내부 구조의 치밀도가 낮아진 결과에 의한 것으로 생각된다. 첨가된 입자의 양이 일정하고 크기가 다른 경우에는 입자가 클수록 강도값이 낮아지는 경향이 관찰되었으나 상대적으로 변화의 정도는 적은 것으로 확인되었다. 팽윤도는 부피 및 질량의 증가량을 측정하여 구하였는데 습윤상태인 경우 지지체는 첨가된 입자의 크기에 관계 없이 약 40%의 체적 증가를 나타내었다. 질량의 경우 건조 상태의 지지체 자체 질량에 비해 약 8-12 배 질량의 물을 흡수하는 것으로 나타났다. 이러한 습윤 상태의 높은 팽윤도는 비교적 친수성 고분자인 실크 피브로인 자체의 팽윤 및 지지체 내부의 무수한 공극이 큰 부피의 물을 함유할 수 있기 때문인 것으로 생각된다.

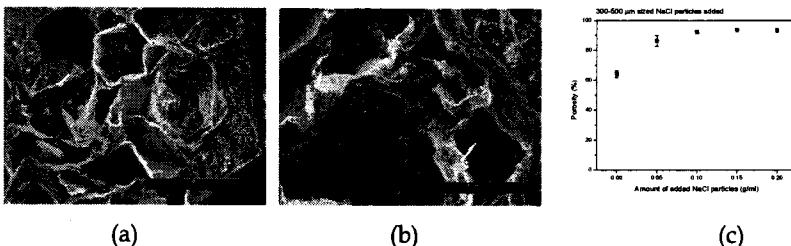


Fig. 1 3차원 나노섬유 지지체(a) 및 나노섬유 지지체의 공극 구조 (b), 입자의 첨가량에 따른 공극도 변화(c).

### 4. 결론

전기방사에 의해 제조된 실크 피브로인 나노섬유를 이용하여 3차원 지지체를 제조하는 과정에서 공극의 크기와 공극도를 조절하고 이에 따른 지지체의 물리적 특성을 살펴본 결과 공극 구조와 지지체 특성 상호간의 관계를 알 수 있었다. 이를 통해 우수한 조직공학용 나노섬유 지지체를 개발할 수 있을 것으로 기대된다.

### 감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 바이오그린21사업(과제번호:20050401034685)의 지원에 의해 이루어진 것임.

### 5. 참고문헌

- C. T. Laurencin, A. M. A. Ambrosio, M. D. Borden, *Annu Rev Biomed Eng*, **46**, 1 (1999).
- R. Chen, J. A. Hunt, *J MATER CHEM*, **17**, 3974 (2007).
- N. L. Nerurkar, D. M. Elliott, R. L. Mauck, *J ORTHOP RES*, **25**, 1018 (2007).