

골 생체조직공학을 위한 복합 세라믹 골 지지체의 제조와 생체역학적 특성

김은석 정종훈

Fabrication and Biomechanical Characteristics of Composite Ceramic Bone Scaffolds for Bone Tissue Engineering

E. S. Kim J. H. Chung

ABSTRACT

Novel porous composite ceramic bone scaffolds composed of biodegradable PHBV(polyhydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate) and TA(toothapatite) have been fabricated for bone tissue engineering by a modified solvent casting and particulate leaching method with salt-contained heat compression technique. The results of this study suggest that the PHBV-TA composite scaffold, especially the scaffold containing 30 weight% of TA may be a good candidate for bone tissue engineering of non-load bearing area in oral and maxillofacial region.

Keywords : Toothapatite ceramic, PHBV, Bone scaffold, Biomechanical characteristics, Bone tissue engineering.

1. 서 론

일반적으로 생체재료중 합성 고분자는 생체조직공학 분야에서 매우 유용한 재료로서 합성이 손쉽게 가능하고, 여러 가지 크기나 모양으로 제작이 가능하며, 화학적, 물리적 성질을 사용 용도에 맞게 조절할 수 있다. 이론적으로는 비독성 분해산물을 방출하는 어떠한 생분해성 고분자들이 조직공학에 사용될 수 있으며, 이러한 용도의 고분자들 중 폴리에스터 계통의 고분자들이 지지체(matrix 혹은 scaffold) 제작에 적합한 것으로 알려져 있다. 현재 조직공학에서 가장 많이 사용되는 합성 고분자는 폴리글리콜산(polyglycolide acid, PGA)과 폴리락트산(polylactide acid, PLA) 그리고 이들의 공중합체인 폴리락트-글리콜산(polylactide-co-glycolide acid, PLGA)이다. 그러나, PGA와 PLGA 들은 너무 빨리 분해되고 작은 다수의 분해산물을 만들기 때문에 염증반응 및 낭종을 일으키는 것과, 분해기간 동안 주변 조직을 산성화시키며, 이러한 성질은 특히 골 조직의 재생에 불리한 영향을 미치는 문제점이 있다(유와 이, 1998).

이러한 고분자 중의 하나인 폴리하이드록시부틸레

이트(PHB) 고분자는 많은 종류의 박테리아에서 에너지 저장원으로서 합성되며 한쪽 말단에는 카르복실기가 부착되어 있고, 다른 말단기에서는 수산화기가 부착되어 있다. 이 고분자의 단점은 매우 부서지기 쉽고, 열 분해가 잘 되며, 가공성이 떨어지기 때문에 그 사용이 제한되어져 왔다. 그러나 특별한 첨가제를 박테리아의 배양시 넣어주면, 하이드록시발레릭산(hydroxyvaleric acid)과 공중합체가 형성되어 PHBV(polyhydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate)의 열가소성 폴리에스터를 생성하여 용융온도의 감소, 결정도의 감소, 탄성율의 증가, 인성의 증가 등 물성의 개선이 이루어진다. 이러한 PHBV는 약물 전달 시스템, 봉합사 그리고 인공피부 등 인공 생체재료로 사용될 수 있다(Lee, 1996, Pouton and Akhtar, 1996, Yamurlu et al., 1999).

또한, 치아는 결정도가 높은 경조직이며 골 보다 무기질 함량이 높다(Ten Cate, 1985). 치아의 무기질 부분은 인회석(apatite) 결정으로 존재하지만, 인산이온은 다른 이온(예를 들면 HPO_4^- , OH^-)으로 대체되거나 Na^+ 나 Mg^{2+} 같은 금속이온들이 사이에 개재된다. 따라서 더 정확하게 표현하면 치아의 무기질은 주성

The authors are Eun-Seok Kim, Assitant Professor, Dept. of Oral and Maxillofacial Surgery, Chungnam National University, Jong Hoon Chung, Professor, Dept. of Biosystems and Agricultural Engineering, Inst. of Ag. Sci. and Tech. Chonnam National University. Corresponding author; J. H. Chung, Professor, Dept. of Biosystems and Agricultural Engineering, Inst. of Ag. Sci. and Tech. Chonnam National University. Korea; E-mail : <jhchung@chonnam.ac.kr>.

분이 수산화인회석과 휘트라키트(whitlockite)로서 구조적으로 다른 치아인회석(toothapatite, TA)이라고 표현해야 하며, 기타의 골 조직 또는 합성 수산화인회석 등의 세라믹과는 다른 생물학적인 특성과 반응성들을 나타낸다(Choung and Kim, 1997). 이러한 치아인회석은 골 대체재로서 유용한 재료이나 분말의 형태이기 때문에 성형이 어렵다는 단점이 있으나, PHBV와 같은 생분해성 고분자와 함께 조직공학의 복합생체재료로서 이용이 가능하다.

골 조직공학에서 골 결손부의 재건은 매우 어려운 분야 중 하나로서 자가골(autogenous)을 이식하는 방법이 가장 좋은 방법이나 그 양이 한정되어 있고, 다른 이차적인 결손부를 만들기 때문에 완전한 방법이라고 볼 수 없다. 그리고, 동종골(allogenic) 이식은 면역학적인 문제들을 완전하게 해결하지 못하였으며, 인공합성 물질은 감염의 우려가 높고 아직까지, 장기간의 결과들이 보고 되지않고 있다(유와 이, 1998). 이와는 별도로, 고분자-세포 구조물에 의한 재건법은 조직공학에서 매우 희망적인 시도로 생각되어지고 있다(Crane et al., 1995, Vacanti et al., 1994). 이러한 합성고분자들은 지지체로 제작되어 세포가 자라고 조직화하는데 도움을 준다. 세포가 그들의 기질들을 분비함에 따라, 고분자가 분해되고 인체로부터 제거되어 결국 완전한 생체조직만 남게 되는 것이 생체조직공학의 목표이다. 이러한 지지체로 사용되는 재료의 조건으로는 지나치게 오랜 기간동안 높은 강도를 유지하거나 빨리 흡수되어 버리는 것을 방지하여 필요한 기간동안 물리적 성질을 유지하는 것이다. 이에 세라믹의 장점을 지니면서 생체흡수성 세라믹 복합체의 개발이 요구되었다.

본 연구에서는 세라믹이 생체에서 흡수가 안되는 단점과 고분자가 소수성인 단점을 개선하여 세라믹의 장점과 고분자의 장점을 동시에 지니는 세라믹-고분자 복합 물질을 골 대체 물질 및 인체장기나 조직재생의 조직공학(tissue engineering)용 골 지지체(bone scaffold)로 개발하고자 하였다. 이에 치아에서 얻어진 치아인회석과 고분자인 PHBV를 사용하여 표면과 단면에서 균일한 다공성을 유지하면서 높은 결정도를 갖는 새로운 조직공학용 세라믹-고분자 복합 물질을 제조하여 골 지지체를 제조하고자 하였다. 제조된 PHBV-TA 복합 세라믹 골 지지체의 생체역학적 특성과 생체적합성 분석을 위해 표면 및 단면 형

태, 다공성, 친수도, 결정도, 강도, 열적 특성 및 독성을 규명하였다.

2. 재료 및 방법

가. 재료

생체흡수성 고분자 물질로서 PHBV(분자량 690,000, Aldrich, USA)를 선택해 사용하였다. 이때, 생체흡수성 고분자 중의 하나인 PHBV 고분자는 열가소성 폴리에스터로서 하드록시부틸레이트와 하드록시발레레이트(HV)를 혼합하여 제조한 것이고, 하이드록시발레레이트의 함유량은 12 mol%이었다. 이 고분자의 용매로 메틸렌클로라이드(methylene chloride, Oriental Chemical Industry, Korea)를 사용하였다. 골 지지체용 복합 물질을 제조하기 위해 생체흡수성 고분자 물질에 발치된 치아의 치아인회석을 혼합하였다. 치아인회석은 사람으로부터 발치된 치아를 과산화수소수용액으로 혈흔 및 조직 잔사들을 제거하여 -72℃에서 보관하였고, 약 950℃의 온도에서 1시간 동안 열처리하여 유기질을 제거한 후에 약 100 μm 이하의 크기로 미분쇄하였다. 치아인회석의 입자크기는 레이저 입자분석기(laser particle sizer, Analysette 22, Germany)로 분석하였다.

나. 특성 측정방법

조직공학용 복합 물질은 생체흡수성 고분자, 치아인회석 및 용매를 혼합하여 세라믹-고분자 복합 물질로서 제조하였다. 세라믹-고분자 복합 물질은 고분자 10 중량%(wt%), 용매 90 중량%으로 혼합하였고, 치아인회석은 고분자 중량에 대하여 10~40 중량%를 혼합하였다. 또한 세라믹-고분자 복합 물질 제조를 위해 기공형성 수지와 용출지지체로서 200~300 μm의 작은 입자로 소결된 염화나트륨(NaCl)을 PHBV-TA의 혼합용액에 대하여 90 중량%를 혼합하였다. Fig. 1과 같이 고분자, 치아인회석 및 용매가 혼합된 혼합물은 열 가압 과정이 첨가된 용매-주입/입자-침출(solvent-casting/ particulate-leaching) 방법으로 세라믹-고분자 복합 물질로 제조하였다(Lee and Ju, 1999). 이와 같이 치아인회석 세라믹-고분자 복합 물질을 골 대체물질 및 조직공학용 지지체로 사

용하고자 하였다.

1) PHBV-TA 복합 물질의 제조

먼저 PHBV 10 중량%를 메틸렌클로라이드 등의 용매에 첨가하고 용해시켜 1시간 동안 실온에서 혼합하고 균일한 폴리머 용액을 생성한 후, 생성된 혼합물에 0, 10, 20, 30, 40 중량%의 치아인회석(TA)을 각각 첨가하여 5 종류의 PHBV-TA 혼합물을 제조하였다.

2) PHBV-TA 골 지지체의 제조

제조된 PHBV, 치아인회석 및 용매의 5 종류의 혼합물에 기공형성제로서 200~300 μm의 크기를 갖도록 망체(스크린)를 이용하여 분리한 NaCl을 전체 중량의 90%로 첨가하여 지지체를 생성하였다. 생성된 지지체를 실리콘 재질로 제작한 틀에 붓고 NaCl 0.27g을 함유하는 0.15 g/ml 폴리머 용액 0.2 ml로 약 2.5 mm의 두께, 20 mm의 직경을 갖도록 증발 건조하였다. 건조 후에 모든 샘플을 실온에서 24시간동안 진공상태에서 건조하여 남아 있는 용매를 제거하여 디스크 형태로 제작하였다. 이와 같이 제작된 디스크 형태의 시편을 일정량의 NaCl이 내부에 채워져 있는 황동 재질의 틀에 넣고 상판을 덮었다. 이 틀을 20~30 MPa의 압력과 160℃의 온도로 1분간 예열한 후에 50~60 MPa의 압력으로 30초 동안 압착하였다. 그 후 황동재질의 틀에서 NaCl이 과량 함유된 디스크형 시편을 얻었다. 이 시편을 순수로 24시간 동안 세척하여 NaCl을 완전히 제거한 후 다공성의 PHBV-TA

골 지지체를 제조하였다.

3) PHBV-TA 골 지지체의 특성 분석

제조된 PHBV-TA 혼합물질과 골 지지체에 대한 특성으로 TA의 입자크기 및 구성, 지지체 X-ray 회절분석, 표면 및 단면 특성, 다공도, 물접촉각, 친수도, 결정도, 강도, 열적 특성 및 독성을 분석하였다.

가) 치아인회석의 입자크기 및 구성

지지체의 TA의 입자크기와 균일도는 레이저입자분석기로 분석하였고, TA의 성분 분석을 위해 X-ray 회절분석기(X-ray diffractometer, JBX-8030, JEOL, Japan)가 사용되었다. TA의 회절 스펙트럼을 0.05°간격으로 분당 2.5°의 주사속도에서 2θ가 10°로부터 80°까지 기록하였다.

나) 골 지지체의 표면 및 단면 특성

골 지지체의 표면과 단면 특성은 주사전자현미경(scanning electron microscopy, SEM, SN550, Hitachi, Japan)으로 분석하였다. 제조된 PHBV-TA 복합 지지체의 표면을 액체질소에서 냉각후 파절시켜 금으로 코팅한 후 주사전자현미경을 이용하여 20 kV에서 측정하였다.

다) 골 지지체의 다공도

골 지지체의 다공성은 수은 함유 다공도 측정기(Autopore III 9420 porosimeter, Micromeritics, Norcross, USA)를 이용하여 지지체의 다공도를 분석하였고, 이

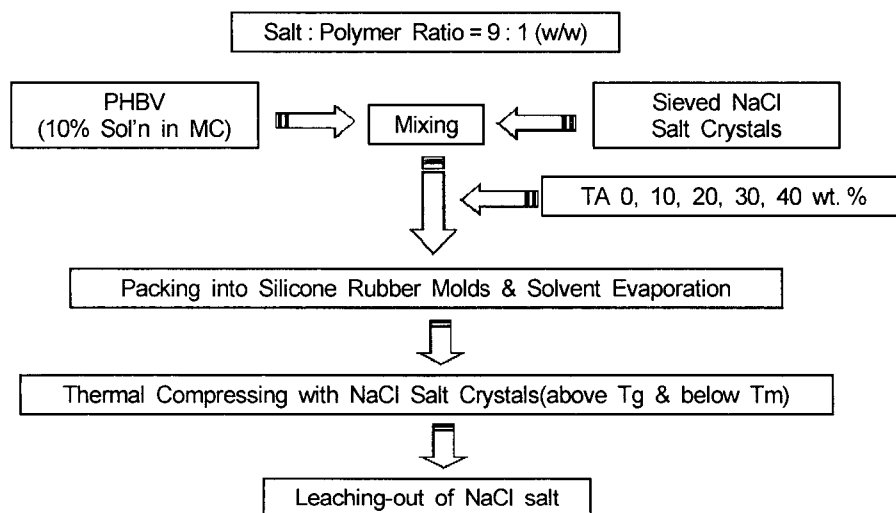


Fig. 1 Flow chart of a modified solvent casting/praticulate leaching method with heat compression.

때 최소 주입 압력은 3.45 kPa, 최대 주입 압력은 192.71 kPa로 설정하였다. 기공의 크기는 7.7~430 μm 범위에서 측정 가능하였다.

라) 골 지지체의 물 접촉각 및 친수성

골 지지체의 TA 함량에 따른 친수화도를 측정하기 위해서 물 접촉각을 측정하였다(Joschek et al., 2000). TA 입자의 표면 접촉각은 측정하기 힘들기 때문에 지지체를 얇게 필름으로 만든 후 180℃의 열을 가하고 100 MPa의 압력으로 압축하였다. TA 함량별로 지지체들의 물 접촉각을 현미경이 부착된 고니오미터(goniometer-microscope)를 사용하여 5회 반복 측정하였다. 또한, 지지체의 친수성을 평가하기 위해 빨간 수성잉크를 지지체 표면위에 떨어뜨려 그 흡수도를 관찰하였으며, PLLA 지지체와 비교 시험하였다.

마) 골 지지체의 강도

인장강도 시험을 위해 각각의 PHBV-TA 복합 지지체를 가압사출 방법을 통해 ASTM 규격(D638-90, type V)에 맞는 3.18×9.53×3.2mm의 시편으로 제작하였다. 이때, 분자량의 감소를 최소화하기 위해 틀(mould)의 온도를 약 170℃, 용기(barrel)의 온도를 약 100℃로 설정하였다. 다이내모미터(dynamometer, series IX Automated Material Testing System, Instron, USA)을 이용하여 인장강도를 측정하였으며, 측정기에는 50kg의 로드셀을 설치하였고, cross-head 속도는 1mm/min로 하였다. 또한, 지지체 자체의 이축 인장특성을 측정하기 위해 이축 인장시험기(UTM tensile testing machine, AG-5000G, Shimadzu, Japan)를 사용하였으며, cross-head 속도는 1 mm/min로 하였다.

바) 복합물질의 열특성 분석

복합물질의 유리전이온도, 용점, 결정도 등의 열특성을 분석하기 위해 시차주사열량계(differential scanning calorimeter, DSC 2910, TA instrument, USA)를 사용하였다. 가루형태의 복합물질들은 -50℃의 질소 상태에서 10℃/min의 속도로 220℃까지 가열하였고, -40℃/min의 속도로 냉각하였다.

사) 골 지지체의 독성검사

골 지지체의 독성검사를 위해 L-929 포유류 섬유세포를 60mm 크기의 판에 배양하였다. 배양액을 제

거한 후 5 ml의 0.7% agarose overlay medium을 도포하였다. Agarose가 굳은 후 음성 대조군 표본과 실험군 표본을 각각 준비된 배양판에 위치시킨 후 37℃의 온도로 24 시간 동안 배양기에서 배양하였다. 표본을 제거한 후 3 ml의 0.01% neutral red로 염색(vital staining)한 후 30분 동안 추가로 배양하였다. 배양 medium을 제거하고 독성정도를 표본 주위의 염색약의 탈색정도와 살아있는 세포와 죽은 세포의 경계에서 현미경 하의 세포 형태를 측정함으로써 평가하였다. Zone index는 세포가 죽어 염색약이 탈색된 부위의 면적을 측정하여 결정하며, lysis index는 위상차현미경(phase contrast microscope)으로 세포가 죽은 정도를 관찰함으로써 결정하였다. 독성지수(response index)는 zone index/lysis index의 형태로 나타낸다. Zone index와 lysis index의 기준은 Table 1과 같다.

Table 1 Index Criteria A: Zone index criteria, B: Lysis index criteria

A: Zone Index criteria		B: Lysis index criteria	
Index	Description of Zone	Index	Description of Zone
0	No detectable zone	0	No observable lysis
1	limited to the sample	1	Up to 20% of zone
2	≤0.5 cm extension	2	20~40% of zone
3	≤1 cm extension	3	40~60% of zone
4	≥1 cm extension	4	60~80% of zone
5	entire plate	5	over 80% of lysis

3. 결과 및 고찰

가. 치아인회석의 입자크기 및 구성

사용된 치아인회석의 평균 입자크기는 41.34±27.62 μm이었고, 이들 중 미세입자는 2~4.5 μm, 큰입자들은 30~100 μm에서 분포하였다. X-ray 회절분석 결과, 치아인회석의 결정도는 매우 높았고 그것의 주요 성분의 약 95%는 수산화인회석(hydroxyapatite, HA)와 휘트라키투이트였다. 그러나 그 회절분석 결과에서는 그들의 성분비는 알 수 없었다.

나. 골 지지체의 표면특성 및 다공도

주사전자현미경을 이용해 TA 함량에 따라 분석한

지지체 표면의 형태는 Fig. 2와 같았고, 지지체 단면의 형태는 Fig. 3과 같았다. 전자현미경 분석결과 지지체 세공들은 치아인회석의 함량과는 관계없이 세공의 크기는 유사하였으며, 크기는 약 200 μm 로써 모두 균일하였고 서로 연결되어 있는 열린 세공 형태이었고, 외부 표면에도 세공들이 잘 형성되어 있었다.

또한, 수은 함입 다공도 측정기를 이용하여 지지체의 다공도를 분석하여 부피당 다공도를 총 주입 수은 양을 통해 계산하여 Table 2에 나타내었다. 지지체에서 치아인회석의 함량이 증가함에 따라 밀도가 증가하고, 다공도는 약간씩 감소하였으나, 전체적으로 약 80~88%의 높은 다공도를 유지하였다.

Table 2 Total pore area and porosity of PHBV-Toothapatite scaffolds

Polymer concentration	Ratio (wt%)	Total pore area (m^2/g)	Density (g/mL)	Porosity (%)
10 wt%	PHBV/TA : 100/0	0.26	0.13	84.07 \pm 2.35
10 wt%	PHBV/TA : 90/10	0.29	0.16	85.37 \pm 1.65
10 wt%	PHBV/TA : 80/20	0.24	0.19	84.04 \pm 3.23
10 wt%	PHBV/TA : 70/30	0.20	0.21	83.49 \pm 2.61
10 wt%	PHBV/TA : 60/40	0.19	0.25	81.18 \pm 3.12

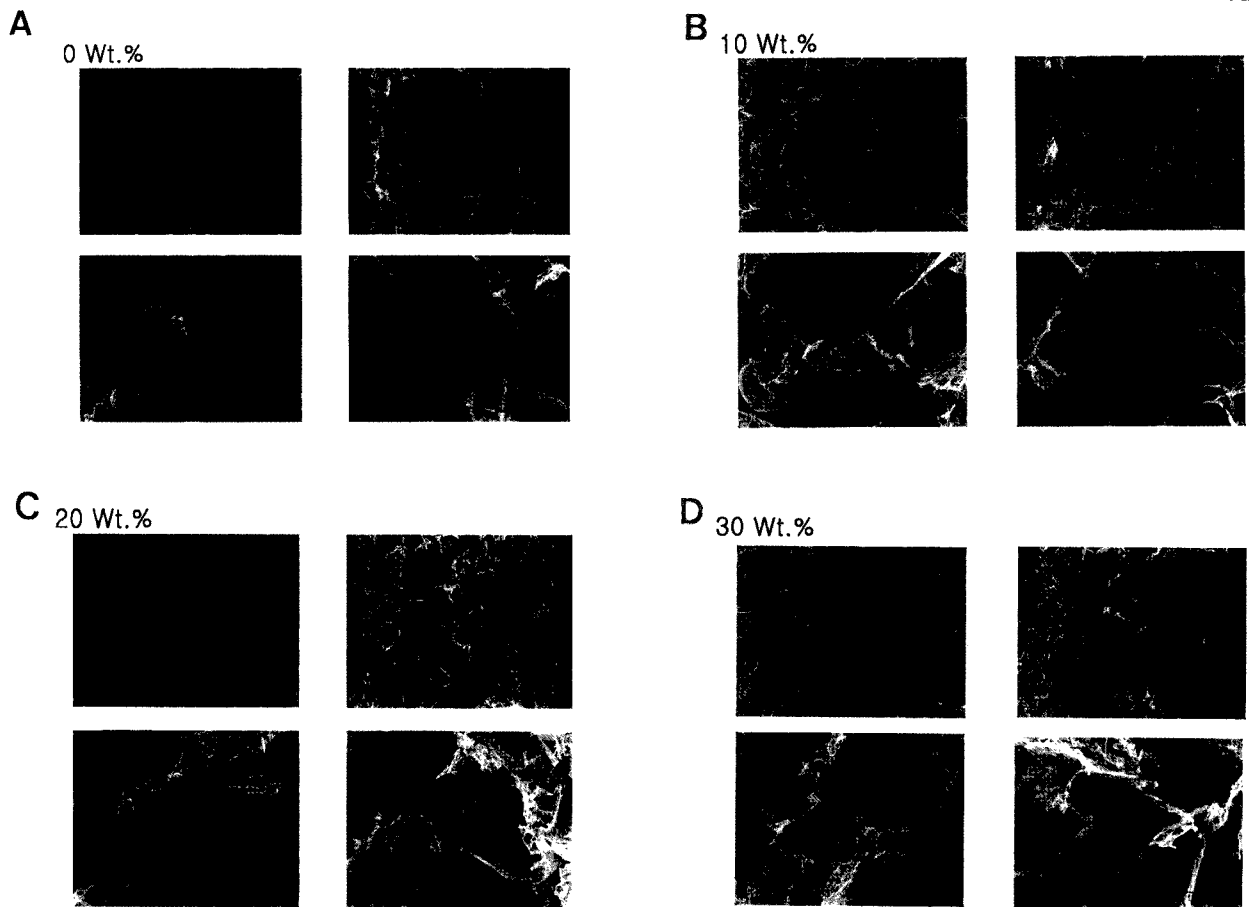


Fig. 2 Surface view of a PHBV-Toothapatite scaffold with TA of 0 wt%, 10 wt%, 20 wt% , and 30 wt% by SEM(upper : x 50, lower : x 300 in each photo).

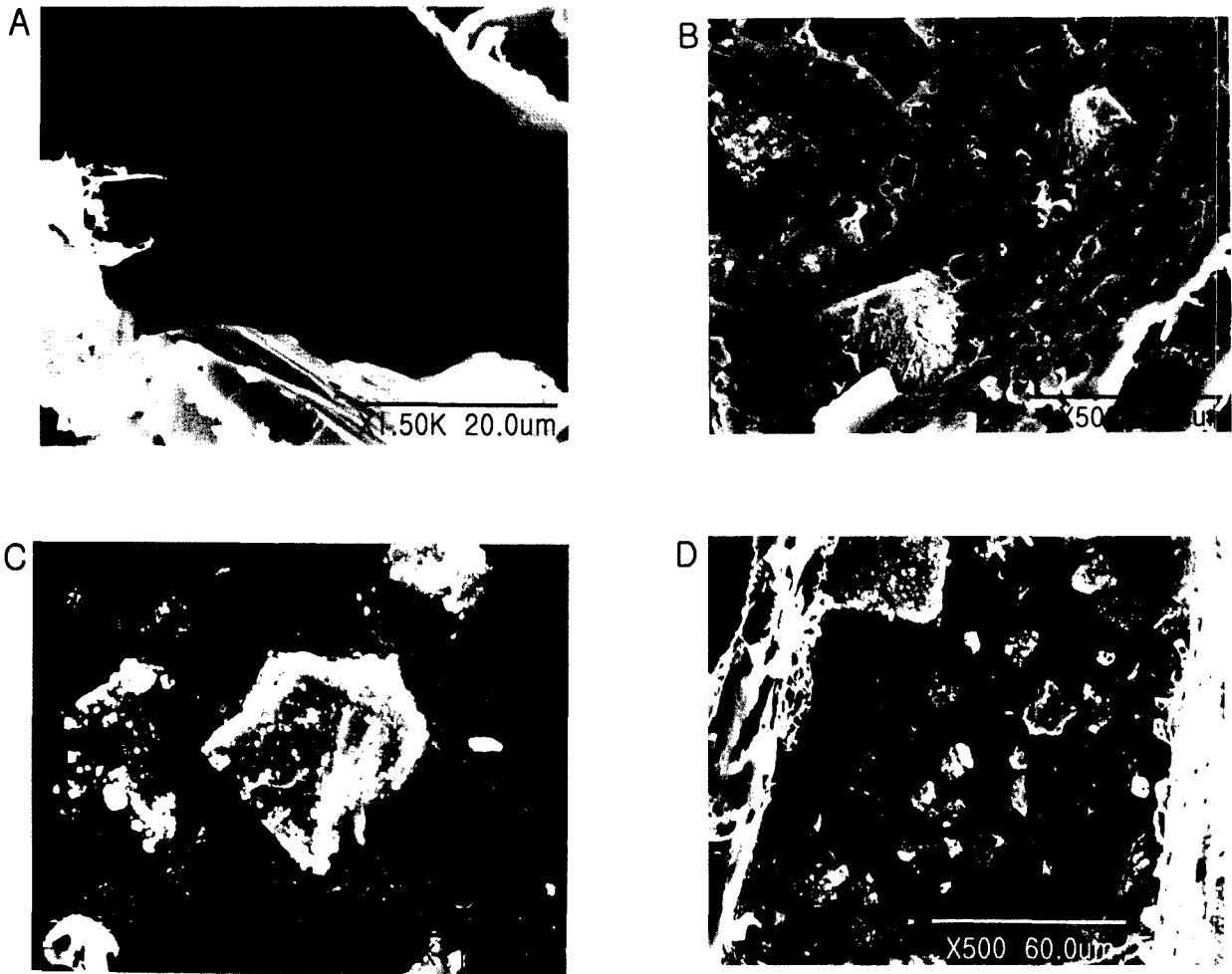


Fig. 3 Cross-section view of a PHBV-Toothapatite scaffold with TA of 0 wt%, 10 wt%, 20 wt%, and 30 wt% by SEM.

다. 골 지지체의 물접촉각과 친수성

PHBV-TA 복합 지지체에서 치아인회석의 함량이 0, 10, 20, 30, 40 중량%에 따른 친수화 정도를 비교하기 위해 PHBV-치아인회석 복합 지지체의 시편에 물방울을 점적한 후 goniometer-microscope을 이용하여 물 접촉각을 분석한 결과, Fig. 4와 같았다. 물 접촉각은 치아인회석의 함량이 증가함에 따라 점차 감소하였다. PHBV의 물 접촉각은 약 70° 이상인 PLLA의 물 접촉각보다 낮게 나타났다. 또한 지지체의 친수화도를 평가하기 위해 수성잉크를 40 중량%의 치아인회석을 함유하는 PHBV-TA 지지체위에 점적한 후 이의 흡수정도를 측정하였다. 이때, 대조군으로 PLLA 지지체와, PHBV 지지체를 사용하였다. 측정결과, Fig. 5에 나타난 바와 같이, 대조군으로 사용된

PLLA 지지체는 전혀 수성잉크를 흡수할 수 없었으며, PHBV-TA 복합 지지체는 PHBV 지지체에 비하여 높은 수분 흡수도를 보였다.

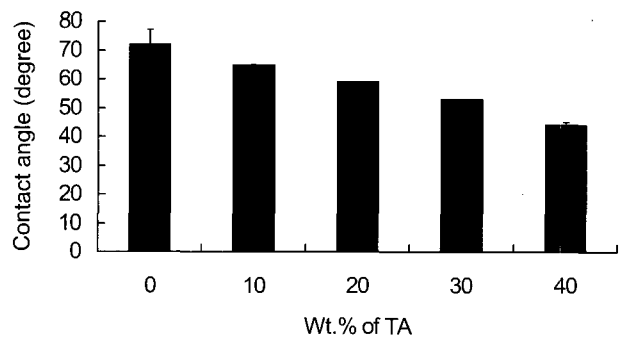


Fig. 4 Water contact angles θ (degree) on sheets of PHBV-TA composites with different toothapatite(TA) contents(measured and calculated).

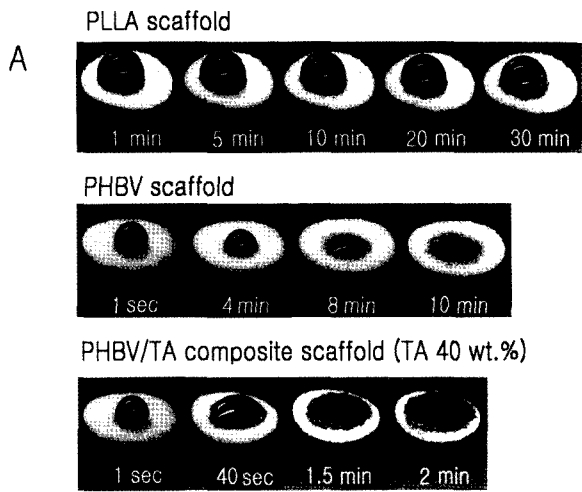


Fig. 5 Comparison of the hydrophilic property among a PLLA scaffold, a PHBV scaffold, and a PHBV-Toothapatite scaffold(TA 40 wt%).

라. 골 지지체의 결정도

치아인회석이 PHBV 고분자에 미치는 영향을 평가하기 위해 X-선 회절 분석을 시행하였다. 0, 10, 20, 30, 40 중량%의 치아인회석을 혼합한 복합 지지체를 X-선 회절 분석한 결과를 Fig. 6에 나타내었다. 그림에서 순수한 PHBV 중합체의 경우는 분자구조의 주기성이 반복단위(repeat unit)의 존재에 의하여 특징지워지는 것처럼, 그 결정의 주기성은 반복거리에 의해 결정된다. 그림 좌측에서 처럼, 치아인회석의 함량이 증가할수록 회절 봉우리의 폭이

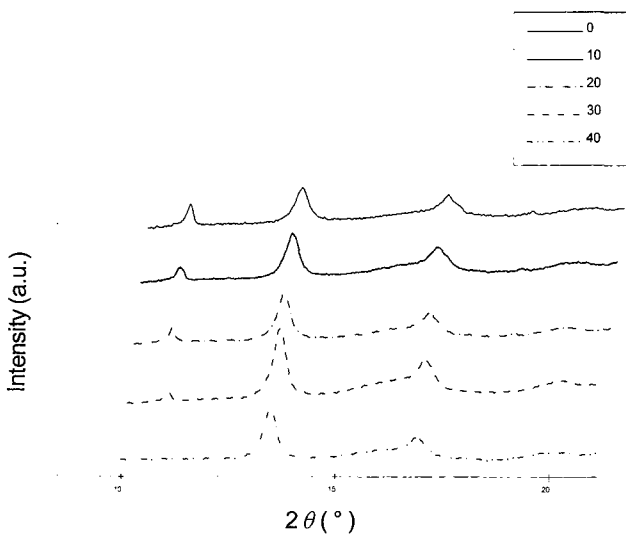


Fig. 6 X-ray diffraction of PHBV-Toothapatite scaffolds according to TA(wt%).

넓어지면서 결정구조내의 불규칙성을 나타내며, PHBV 지지체의 결정도는 감소하였다. 이것은 치아 인회석이 무정형의 형태이기 때문에 PHBV의 결정도를 낮추게 하여 PHBV의 깨지는 특성이 감소할 것으로 사료되었다.

마. 골 지지체 강도 측정

각각의 PHBV-TA 복합 지지체를 가압사출 방법을 통해 시편으로 제작한 후 다이내모미터(dynamometer)을 이용하여 치아인회석의 농도에 따른 지지체들의 최대인장강도와 영률을 분석한 결과는 Fig. 7 및 Fig. 8과 같았다. 치아인회석의 함량에 따른 영률(Young's modulus, 탄성계수)와 최대장력은 치아인회석의 함량이 증가할수록 영률은 증가하였고 최대장력은 감소하였다.

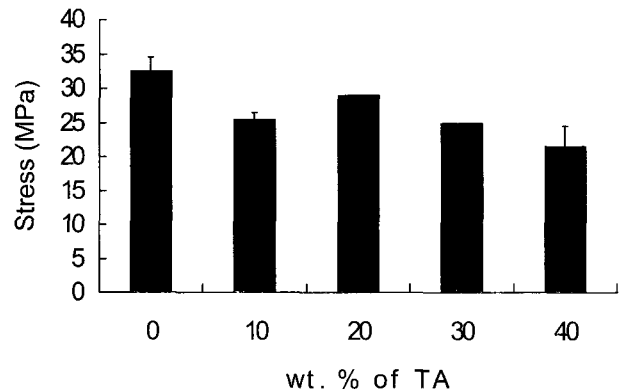


Fig. 7 The variation in maximum tensile strength of PHBV-TA composite with toothapatite(TA) contents.

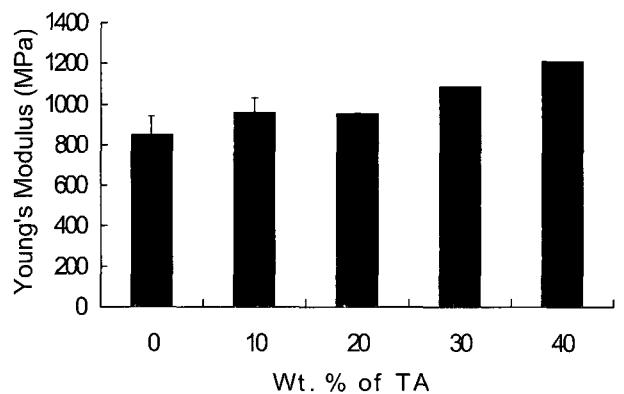


Fig. 8 The variation in Young's modulus(tensile) of PHBV-TA composite with toothapatite(TA) contents.

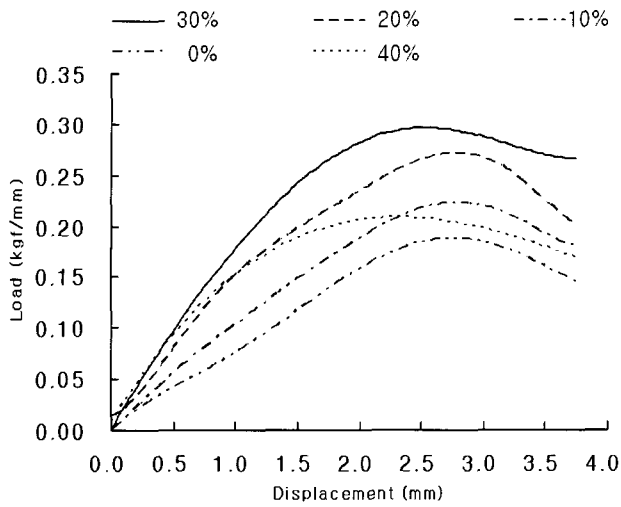


Fig. 9 Load-displacement curve of biaxial tensile test of the PHBV-TA composite scaffold.

또한 복합지지체 자체의 물리적 성질을 비교하기 위한 이축인장강도 실험에서는 Fig. 9와 같이 거리별 하중의 관계에서 30 중량%의 치아인회석을 함유하는 복합 지지체에서는 평균 장력이 증가하였으나, 40 중량%를 함유하는 복합 지지체에서는 오히려 감소함을 알 수 있다.

바. 복합물질의 열적 특성

치아인회석 함량에 따른 복합물질의 열중량 변화 기록도(thermogram)는 Fig. 10과 같았다. 치아인회석 함량이 증가할수록 복합물질의 유리전이온도(glass

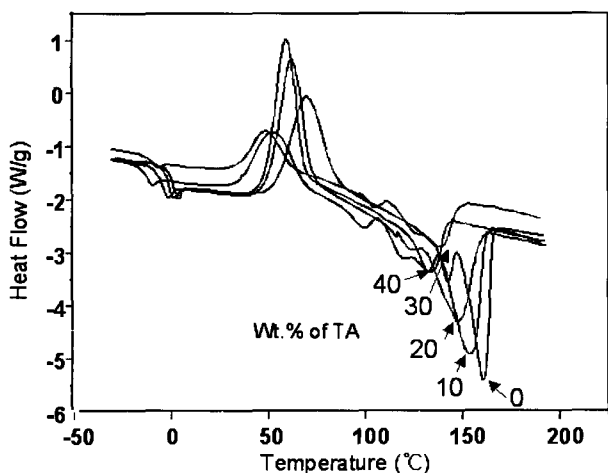


Fig. 10 Differential scanning calorimeter thermogram of the PHBV and the PHBV-TA blends.(TA: toothapatite)

transition temperature, T_g)와 용점(melting temperature, T_m)은 그림에서 왼쪽으로 이동되며 둘 다 점차 감소하는 경향을 보였다. 순수한 PHBV만의 유리전이온도와 용점은 각각 약 70°C 와 약 165°C 이었으나, PHBV 고분자에 세라믹 물질인 치아인회석을 첨가할수록 PHBV 공중합체의 화학적 결합이 약해져 이들 온도는 감소하였다. 치아인회석 함량이 40 중량%인 복합 물질의 경우에 유리전이온도와 용점은 각각 약 50°C 와 약 130°C 로 감소하였다. 즉 PHBV-TA 복합물질이 고무상태로 되는 유리전이온도는 약 $50\sim 70^\circ\text{C}$, 복합 물질의 결정영역이 용융되는 용점은 약 $130\sim 165^\circ\text{C}$ 를 나타내었다.

사. 골 지지체의 독성검사

독성정도를 표본 주위의 염색약의 탈색정도와 살아있는 세포와 죽은 세포의 경계에서 현미경 하의 세포 형태를 측정함으로써 평가한 결과, 모든 지지체의 표본의 독성지수는 0/0(zone index/lysis index)으로 나타나 무독성 즉 생체적합한 지지체인 것으로 판명되었다.

아. PHBV-TA 골 지지체의 종합적 평가

본 연구에서 개발한 세라믹-고분자 복합 물질은 인체의 조직인 치아를 재이용하고 역시 생체흡수성 고분자인 PHBV를 이용하여 생체에 무독성이며 생체 흡수성이고, 조직공학용 지지체에 적합한 다공성을 유지하며, 전처리 없이도 수분 흡수도가 우수하고, 정밀한 형태를 만들 수 있는 세라믹 장점과 고분자 장점을 지닌 물질적 특성을 갖고 있었다. 또한 본 세라믹-고분자 복합 물질은, 종래의 고분자 지지체들이 갖고 있는 단점인 외부표면과 내부의 다공성이 다른점을 개선한 특징, 즉 본 복합물질은 물질의 외부나 내부의 다공성이 균일하게 할 수 있다는 점과 형상을 용이하게 제작할 수 있는 물질적 특성이 있어, 조직공학적 지지체 제작에 용이한 특성이 있었다. 또한 본 세라믹-고분자 복합 지지체는 인체의 일부 성분인 치아에서 얻어진 치아인회석을 사용하기 때문에 골 대체물이나 재생물질로서 이용할 수 있고 조직공학용 골 재생 지지체로서도 이용가능하

며, 인체 조직에서의 부작용을 최소화할 수 있는 이 점을 가지고 있었다.

4. 요약 및 결론

치아에서 얻어진 치아인회석과 고분자인 PHBV를 사용하여 표면과 단면에서 균일한 다공성을 유지하면서 높은 결정도를 갖는 조직공학용 세라믹-고분자 복합 물질을 제조한 후 골 지지체를 제조하였다. 제조된 PHBV-TA 복합 골 지지체의 생체역학적 특성으로 표면 형태, 다공성, 친수도, 결정도, 강도, 열적 특성 및 독성을 규명하였다.

(1) SEM 분석결과 지지체 세공들은 치아인회석의 함량과는 관계없이 세공의 크기는 유사하였으며, 크기는 약 200 μm 로서 모두 균일하고 서로 연결되어 있는 열린 세공 형태이었고, 외부 표면에도 세공들이 잘 형성되어 있었다. 지지체의 다공도 및 밀도를 분석한 결과, 지지체에서 치아인회석의 함량이 증가함에 따라 밀도가 증가하였고, 다공도는 약간씩 감소하였으나, 전체적으로 약 80~88%의 높은 다공도를 유지하였다.

(2) PHBV-TA 복합 지지체에서 치아인회석의 함량이 0, 10, 20, 30, 40 중량%에 따른 친수화 정도를 비교하기 위해 물 접촉각을 분석한 결과, 물 접촉각은 치아인회석의 함량이 증가함에 따라 점차 감소하였다. 또한 지지체의 친수화도를 평가하기 위해 수성잉크를 40 중량%의 치아인회석을 함유하는 PHBV-TA 지지체위에 점적한 후 이의 흡수정도를 측정된 결과, 대조군으로 사용된 PLLA 지지체는 전혀 수성잉크를 흡수할 수 없었으며, PHBV-TA 복합 지지체는 PHBV 지지체에 비하여 높은 수분 흡수도를 보였다.

(3) 치아인회석이 PHBV 고분자에 미치는 영향을 평가하기 위해 0, 10, 20, 30, 40 중량%의 치아인회석을 혼합한 복합 지지체를 X-선 회절 분석한 결과, 치아인회석의 함량이 증가할수록 PHBV의 결정도는 감소하였다.

(4) ASTM 규격에 따라 head speed 1mm/min에서, 치아인회석의 함량에 따른 골 지지체의 영률(Young's modulus) 최대장력을 분석한 결과, 치아인회석의 함량이 증가할수록 영률은 증가하였고 최대장력은 감소하였다. 또한 복합지지체 자체의 물리적 성질을 비

교하기 위해 이축인장강도 실험에서는 거리별 하중의 관계에서 30 중량%의 치아인회석을 함유하는 복합 지지체에서는 평균 장력이 증가하였으나, 40 중량%를 함유하는 복합 지지체에서는 오히려 감소함을 알 수 있었다.

(5) 열량계(DSC)의 열중량 변화기록도(thermograms)에서 TA 함량이 증가할수록 복합물질의 유리전이온도(T_g)와 용점(T_m)은 둘 다 점차 감소하는 경향을 보였다.

(6) 지지체의 독성 실험을 위해 L-929 포유류 섬유세포를 이용하였다. 지지체의 독성 정도를 표본 주위의 염색약의 탈색정도와 살아있는 세포와 죽은 세포의 경계에서 현미경 하의 세포 형태를 측정함으로써 평가한 결과, 모든 표본에서 zone index/lysis index가 0/0으로 무독성을 나타내었다.

(7) 발치된 치아를 재이용해 개발한 세라믹-고분자 복합 물질은 무독성이고 조직공학용 지지체에 적합한 다공성을 유지하며, 전처리 없이도 수분 흡수도가 우수하고, 정밀한 형태를 만들 수 있는 세라믹 장점과 고분자 장점을 지닌 물질적 특성을 갖고 있었다.

참고 문헌

1. 유지, 이일우. 1998. 생체조직공학 - 개념과 응용 -. 고려의학. p. 109-152.
2. Crane, G., S. Ishaug and A. Mikos. 1995. Bone tissue engineering. Nat. Med. 1(12):1322-1324.
3. Vacanti C. and J. Vacanti. 1994. Bone and cartilage reconstruction with tissue engineering approaches. Otolaryngol Clin. N. Am. 27(1):263-276.
4. Lee, S. Y. 1996. Plastic bacteria: Progress and prospects of polyhydroxyalkanoate production in bacteria. Trends Biotechnol. 14:431-438.
5. Pouton, C. W. and S. Akhtar. 1996. Biosynthesis polyhydroxyalkanoates and their potential in drug delivery. Adv. Drug Del. Rev. 18:133-162.
6. Yamurlu M. F., F. Korusuz, I. Gürsel, P. Korkusuz, Örs Ü and V. Hasirci. 1995. Sulbactam-cefoperazone polyhydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate(PHBV) local antibiotic delivery system: *In vivo* effectiveness and biocompatibility in the treatment of im-

- plant-related experimental osteomyelitis. *J Biomed. Mater. Res.* 46:494-503.
7. Ten Cate, A. R. 1985. *Oral Histology: Development, Structure, and Function*, 2nd ed. New York, C.V. Mosby company. p. 130-135.
 8. Choung, P. H. and E. S. Kim. 1997. Toothapatite as a bone substitute: An experimental study and clinical applications. *J Kor. Dent. Ass.* 35:180-188.
 9. Lee, J. H. and Y. M. Ju. 1999. Preparation of biodegradable polymer scaffold with uniform 3-dimensional porosity for tissue engineering. Korea patent application. No. 99-12325.
 10. Joschek, S. B., R. Nies, R. Krotz and A. Göpferich. 2000. Chemical and physicochemical characterization of porous hydroxyapatite ceramics made of natural bone. *Biomaterials* 21:1645-1658.