

펄스 레이저 가공에 의한 마이크로 그루브 패턴이 골 세포 유착에 미치는 영향 분석

하석재^{1,†} · 성시명² · 김혜진²
동서울대학교 미래자동차학과^{1,†}
인하대학교 기계공학과²

Analysis of the Effect of Micro-groove Patterns on Osseointegration using Pulsed Laser Processing

Seok-Jae Ha^{1,†} · Si-Myung Sung² · Hye-Jin Kim²

Department of Automotive Engineering, Dong-Seoul University^{1,†}

Department of Mechanical Engineering, Inha University²

(Received August 28, 2024 / Revised September 24, 2024 / Accepted September 30, 2024)

Abstract: As the demand for biomaterials and medical devices increases due to advancements in medical technology and the rising average lifespan of the population, the importance of surface treatment technology for biometallic materials used in orthopedic implants is highlighted. Achieving stable mechanical attachment between the implant and human bone, specifically bone cell adhesion, is crucial. Without proper adhesion, issues such as inflammation and reduced load-bearing capacity can occur, leading to the need for implant reimplantation. Therefore, this paper focuses on creating a micro-groove pattern using a pulsed nanosecond laser on the surface of a titanium alloy (Ti6Al4V), a biometallic material, to promote cell adhesion. To evaluate the effectiveness of the pattern in enhancing cell adhesion, MG-63 osteoblasts were cultured on the micro-groove patterned surface, and their adhesion and morphological changes were analyzed. This study confirms the potential of laser processing as a surface treatment method for biometallic materials.

Key Words: Cell culture, Cell morphology, Laser surface texturing, Titanium, Osseointegration

1. 서론

생체재료란 신체 조직의 기능을 치환 또는 대체하기 위하여 간헐적 또는 지속적으로 체내 조직과 체액에 노출되는 물질을 의미한다¹⁾. 정형외과용 임플란트는 일반적으로 생체금속재료로 제작되며 생체금속재료에는 스테인리스 강(stainless steel), 코발트-크롬 합금(Co-Cr alloy), 타이타늄/타이타늄 합금(Ti/Ti-based alloy), 마그네슘 합금(Mg-based alloy) 등이 사용되고 있다. 그 중 타이타늄 합금은 우수한 비강도, 피로와 부식에 대한 저항성, 생체 조직과의 친화력을 바탕으로 생체재료 중 가장 많이 사용되

는 재료 중 하나이다²⁾.

생체 의료 장치의 체내 이식 과정에서 골 유착(osseointegration)은 임플란트의 표면과 임플란트가 삽입된 골 사이의 지속적이고 안정적인 기계적 부착 상태를 의미한다³⁾. 골 유착을 충족시키지 못할 경우 임플란트 표면은 임플란트 주변 골 및 기타 조직과 통합되지 않아 임플란트-골 계면 사이에 섬유 조직을 형성시키며 이는 임플란트의 하중 지지력 감소 및 미세 움직임의 유발과 임플란트 표면으로부터 마모 입자의 방출로 인해 임플란트의 수명을 감소시킨다^{4,5)}. 임플란트는 식립된 위치의 주변 골 세포와 통합이 될 수 있는 표면이 요구된다. 이에 따라 생체금속 재료에 SLA(sand blasted and acid etching), Hydroxyapatite coating과 같은 표면처리에 대한 연구들이 수행되어 왔다. 그러나 SLA 표면처

† 교신저자: sjha1103@du.ac.kr

* 본 논문에 대한 저작권은 저자들에게 있으며 CC BY-NC-SA를 만족하는 조건으로 이용할 수 있습니다.

리의 경우 블라스팅된 입자들이 재료 표면에 잔류되어 오염의 문제가 발생되며, HA 코팅은 임플란트 표면과 HA 코팅층 간 낮은 결합력으로 인한 박리(delamination)현상의 위험이 존재한다.

표면처리 공정에 관한 한계를 극복하기 위해 최근 레이저 표면처리가 연구가 진행되고 있다. 레이저 표면처리는 비접촉식 가공 방법으로 재료의 오염이 발생하지 않으며 빠른 가공속도, 선택적 면적에 대한 미소가공이 가능하며 높은 정밀도를 가진다. 레이저 가공은 선택적 면적에 대한 미소가공이 가능하며, 빠른 가공 속도, 비접촉식으로 인한 재료 오염이 적다는 장점을 가진다^{6,7)}. 레이저 가공의 장점을 이용하여 생체 재료 표면 가공에 대한 연구들이 진행되고 있다.

Biggs⁸⁾는 Si 기판에 UV 레이저를 통해 깊이(depth) 330nm, 폭(width) 10 μ m, 25 μ m, 100 μ m의 패턴을 제작하여 가공 폭에 따른 골세포 정렬에 대한 연구를 진행하였다. Cipriano⁹⁾는 타이타늄 표면에 UV 레이저를 이용하여 50 μ m 이하의 폭을 갖는 패턴을 제작하여 패턴 폭에 따라 골 세포 증식 방향성에 대해 분석하였다. 앞선 선행 연구에서는 제작한 패턴 깊이와 폭의 크기가 나노 스케일로 제작되어 패턴 골(valley)부분에 세포 유착이 되지 않는 부분이 발생하였다.

본 논문에서는 생체 금속 재료의 골 세포 유착 향상을 목적으로 세포와 금속 표면 간 접촉면적을 최대화시키기 위해 세포 크기가 안정적으로 자리잡을 수 있는 패턴 폭(width)을 기반으로 가공실험을 수행하였다. 펄스형 나노초 레이저를 이용하여 생체 재료용 타이타늄 합금(Ti6Al4V)의 표면에 패턴링을 수행하였으며, MG-63 유사 골모 세포의 크기를 고려하여 세포 크기의 비례하여 패턴 폭을 조절하여 표면적의 차이를 부여하였다. 제작한 각 패턴에 MG-63 세포를 배양하여 골 세포의 부착과 형상을 분석하였다.

2. 실험 장치 및 패턴 설계

2.1. 레이저 가공 시스템

Fig. 1은 본 논문에서 사용된 레이저 가공 시스템을 나타내며 가공 시스템은 크게 레이저 광원, 광학 모듈과 이송 시스템으로 구성하였다. 실험에 사용된 레이저는 1064nm, 20W Ytterbium Pulsed Fiber Laser

(YLPM-1-4x200-20-20, IPG Photonics)이다. 레이저 제어 모듈은 Galvano scanner(SCANcube 8.5, ScanLab)와 focal length 160.1mm의 f-theta 렌즈(S4LFT0169/126, Sill Optics)로 구성하였다. 하부 이송계는 X, Y, Z 3축 스테이지에 rotary & tilting 2축 스테이지가 결합된 5축 이송시스템을 구성하였다.

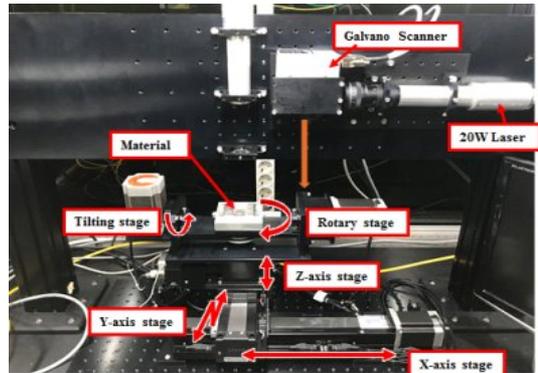


Fig. 1 Configuration of pulsed laser system

본 논문에서 사용된 소재는 Ti6Al4V(Ti grade5)를 사용하였고, 소재의 전처리 는 연삭공정을 통해 소재 평탄도 및 전처리 표면처리를 수행하였다. 레이저 가공 실험에 사용된 모든 소재의 표면거칠기는 3차원 표면 형상측정기(Newview7300, Zygo)를 통해 측정하였고, 사용된 시편의 표면거칠기는 Ra 0.25 μ m 수준으로 나타났다.

2.2. 마이크로 그루브 패턴 설계

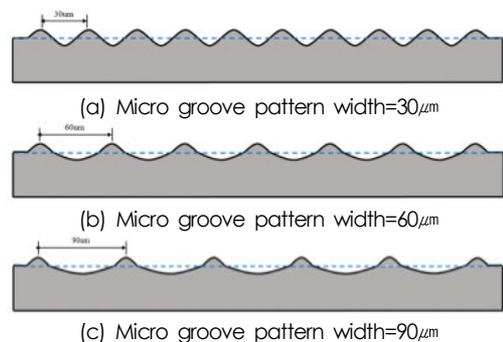


Fig. 2 Concept image of micro groove pattern with different width for cell culture

뼈의 성장에 관여하는 골 세포는 입방체, 원형, 편평한 원통형과 같이 다양한 형태로 존재하며 세포의 성장에 따라 10~200 μ m으로 크기가 다양하다.

세포부착성 실험에서 사용하는 MG-63 유사골모 세포는 성장 초기 직경 10~15 μm 이며 성장을 마친 성숙한 상태인 경우 최대 직경 50~80 μm 크기를 갖는다. Fig. 2는 Ti6Al4V 표면에 레이저 가공에 의한 마이크로 그루브 패턴 형상을 나타낸다. 세포 크기를 고려하여 표면 구조와 세포 간 접촉 면적에 따른 세포 반응을 분석하기 위해 마이크로 그루브 패턴 폭(width)을 세포 크기보다 작은 그루브 패턴 폭, 세포 크기의 그루브 폭, 세포 크기보다 큰 그루브 폭의 세 종류로 구성하였다. 마이크로 그루브 폭에 따른 세포 접촉력을 확인하기 위해 그루브 깊이(depth)는 일정하게 고정시키고 각 그루브 패턴 폭을 30 μm , 60 μm , 90 μm 으로 선정하였다.

3. 그루브 패턴 구현을 위한 레이저 가공 특성

3.1. 레이저 이송 속도에 따른 가공 특성 분석

Table 1 Experimental conditions of line scanning.

Pulse repetition	Scanning velocity	Pulse duration	Laser average power
50kHz	500 mm/s 1,000 mm/s	200 ns	10 ~ 20 W
100kHz			
150kHz			
200kHz			

본 논문에서는 마이크로 그루브 패턴 제작에서 패턴 폭(width) 생성을 위한 가공 변수를 펄스(pulse) 반복률, 레이저 빔 이송 속도를 선정하였고 레이저 평균 출력은 고정하여 실험을 수행하였다. Table 1은 마이크로 그루브 패턴 폭 생성을 위한 가공조건을 나타낸다. Fig. 3-4는 레이저 가공 변수에 따른 마이크로 그루브 패턴의 폭 및 깊이의 변화를 레이저 이송속도에 따라 분류한 그래프를 나타낸다.

Fig. 3과 같이 레이저 빔의 이송속도가 증가하면 마이크로 그루브 폭 크기는 감소한다. 낮은 레이저 이송속도는 펄스 간 중첩률이 상대적으로 증가하기 때문에 소재 표면에 열 에너지가 축적되어 더 넓은 폭이 가공되는 것으로 확인하였다. Fig. 4와 같이 마이크로 그루브 패턴 가공에서는 레이저 펄스들의 중첩을 통해 가공되기 때문에 이송 속도가 증가하면 펄스 간 중첩이 감소하게 되고 이는 표면에 전달되는 열에너지의 감소로 이어지며 결과적으로 낮은 깊이의 그루브 패턴이 형성되는 것을 확인하였다. 따라서 마이크로 그루브 패턴 폭 30 μm , 60 μm , 90

μm 가공하기 위하여 레이저 빔 이송속도 500 mm/s, 펄스 반복률 100 kHz로 선정하였고, 레이저 평균 출력은 10 W로 가공 조건을 선정하였다.

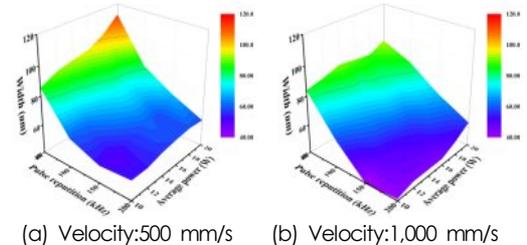


Fig. 3 3D graph of line width for laser machining parameters

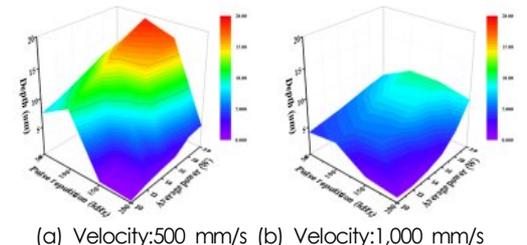


Fig. 4 3D graph of line depth for laser machining parameters

3.2. 레이저 중첩에 따른 가공 특성 분석

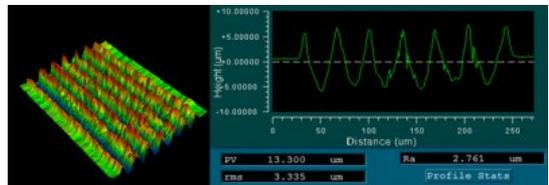


Fig. 5 Surface profile image of single laser path interval

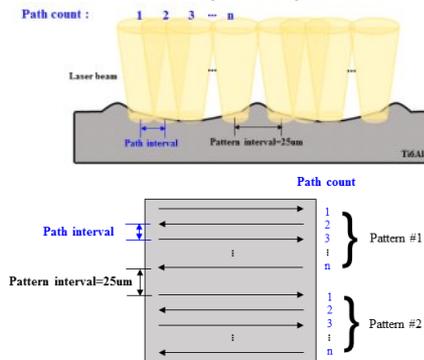


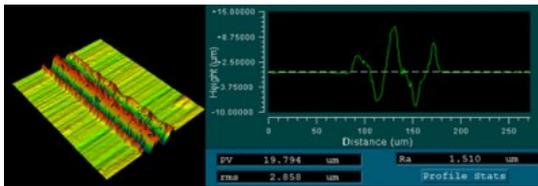
Fig. 6 Schematic image of laser path interval and count

Fig. 5는 단일 레이저 빔에 의한 마이크로 그루브 패턴에 대한 단면 윤곽선 및 가공 표면상태를 나타

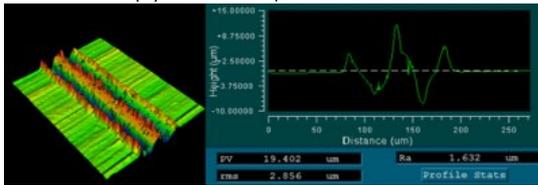
낸다. 레이저 가공 후 패턴 폭 $30\mu\text{m}$ 의 가공 깊이는 $13\mu\text{m}$ 으로 확인하였으며, $60\mu\text{m}$, $90\mu\text{m}$ 패턴 폭을 생성시키기 위해 깊이를 고정하여 가공하였다. 따라서, 단일 레이저 가공 시 최대 $30\mu\text{m}$ 크기를 갖는 패턴을 제작할 수 있는 것을 확인하였다.

Table 2 Experimental conditions of line scanning.

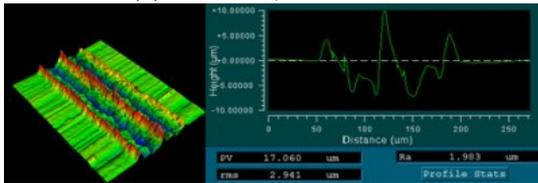
Fixed parameters	Laser average power	10 W
	Pulse repetition	100 kHz
	Scanning velocity	500 mm/s
	Pulse duration	200 ns
Varied parameters	Path interval	5 ~ 10 μm
	Path count	1,3,5 ... n



(a) Number of path count: 2



(b) Number of path count: 3

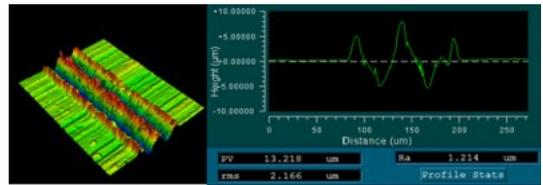


(c) Number of path count: 5

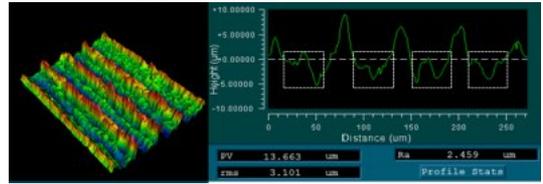
Fig. 7 Surface profile image of laser beam overlap(Path interval: $5\mu\text{m}$)

본 논문에서는 마이크로 그루브 패턴 폭(width) $60\mu\text{m}$, $90\mu\text{m}$ 크기를 갖는 패턴 가공을 위해서는 레이저 빔의 패스를 중첩시켜야 한다. Fig. 6에서와 같이 마이크로 그루브 패턴을 제작하기 위해서 레이저 빔 패스(path) 간격과 중첩되는 패스 수에 따른 가공 형상 분석을 수행하였다. Table 2는 레이저 빔 패스 중첩 가공에 관한 가공조건을 나타낸다. 레이저 빔 중첩 가공 실험에서는 패스 간격은 각 $5\mu\text{m}$ 간격으로 설정하였다. 패스 수는 최대 패턴 폭 $90\mu\text{m}$ 크기까지 가공을 진행하고 패턴 폭이 초과하면 실험을

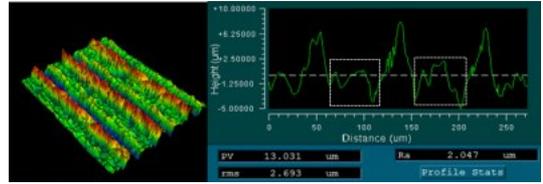
중단하였다. Fig. 7은 레이저 빔 가공 패스 간격 $5\mu\text{m}$ 일 때 형성된 가공 표면의 이미지와 가공 표면의 단면 윤곽선을 나타낸다. 가공된 그루브 깊이는 최대 약 $19\mu\text{m}$ 이며, 레이저 빔 패스 간격에 의해 표면에 가해지는 열 에너지 중첩이 발생되어 깊이가 증가한 것으로 판단된다. 또한 레이저 빔 중첩 수가 증가함에 따라 깊이는 감소하지만 가공 폭이 증가되는 것을 확인하였다.



(a) Number of path count: 2



(b) Number of path count: 3



(c) Number of path count: 5

Fig. 8 Surface profile image of laser beam overlap(Path interval: $10\mu\text{m}$)

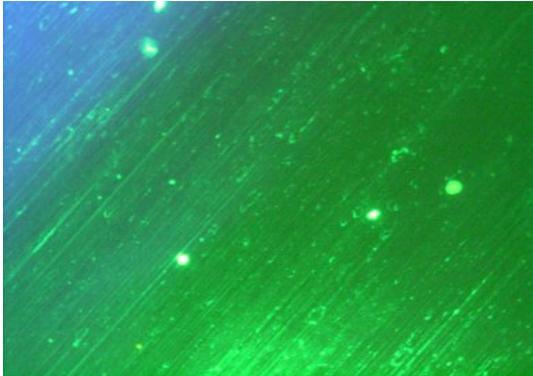
Fig. 8은 레이저 빔 중첩 간격 $10\mu\text{m}$ 일 때 형성된 가공 표면 이미지와 표면의 단면 윤곽선을 나타낸다. 가공된 그루브 깊이는 약 $13\mu\text{m}$ 이며, 앞선 그루브 패턴 폭 $30\mu\text{m}$ 와 동일한 가공 깊이를 갖는 것을 확인하였다. 레이저 빔 가공 패스 수가 3회 일 때 패턴 폭 $60\mu\text{m}$, 5회 일 때 패턴 폭 $90\mu\text{m}$ 가 형성되는 것을 확인하였다.

4. 그루브 패턴의 골 세포 유착 평가

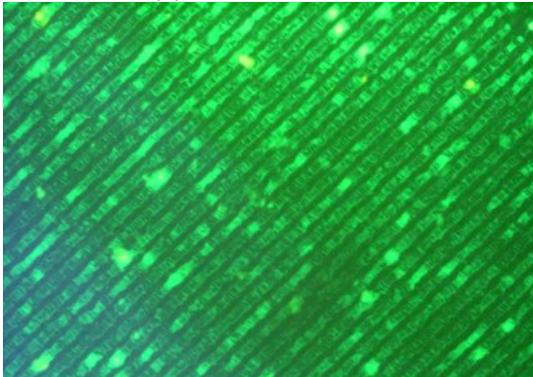
레이저 가공을 통한 마이크로 그루브 패턴에 대한 골 세포 유착을 평가하기 위해 인간의 골모세포와 유사한 특성을 가진 MG-63 유사 골모세포를 사용하였다. 본 논문에서는 세포 부착성 확인을 위해

형광 현미경을 사용하여 세포 부착을 확인하였다.

Fig. 9(a)와 같이 관찰된 MG-63 세포는 대부분 구형(spherical)의 형태로 표면 전체에 불규칙하게 분산된 상태로 부착되어 있는 것을 확인할 수 있다. Fig. 9(b)는 패턴 폭 30 μm 로 가공된 패턴을 나타내며 Fig. 9(a)와 같이 패턴이 없는 표면과 동일하게 골 세포가 부착된 것을 확인할 수 있다. 세포는 그루브 패턴의 골 부분에 대부분 부착되었으며 부착된 세포의 크기는 약 10~20 μm 의 크기로 관찰되었다.



(a) Pattern width: None



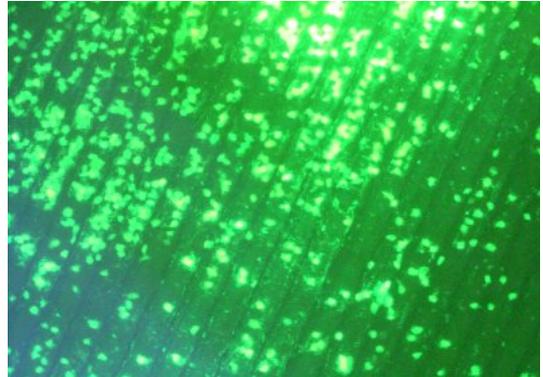
(b) Pattern width: 30 μm

Fig. 9 Image of cell morphology according to laser pattern size

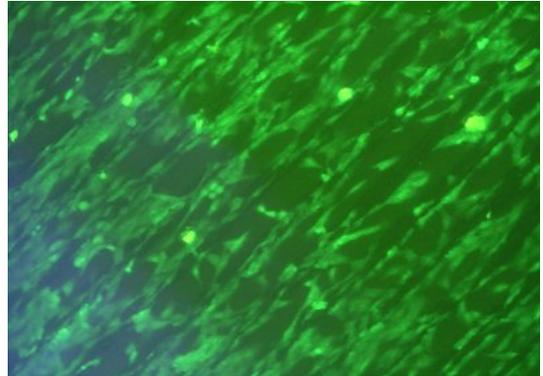
Fig. 10(a)는 마이크로 그루브 패턴 폭 60 μm 로 가공된 형상에 2개 이상의 골 세포가 서로 접촉되어 길게 늘어진 형태를 확인할 수 있었다. Fig. 10(a)는 마이크로 그루브 패턴 폭 90 μm 로 가공된 형상에 골 세포가 넓고 얇은 형태로 확산되어 패턴 형상 표면에 접촉되어 있는 것을 확인할 수 있었다.

Fig. 10(b)와 같이 구형의 형태로 그루브 패턴 표면에 접촉되어 있는 세포에 비해 패턴 표면과 세포

간 접촉 면적의 증가로 안정적인 세포 유착이 이루어진 것으로 확인할 수 있다. 또한 확산된 골 세포들은 서로 간 접촉을 형성하며 집합체를 이루는 형태를 확인할 수 있었다.



(a) Pattern width: 60 μm



(b) Pattern width: 90 μm

Fig. 10 Image of cell morphology according to laser pattern size

4. 결론 및 토의

본 연구에서는 생체 재료용 금속 재료 표면에 골 세포 유착 향상을 목적으로 펄스형 나노초 레이저 시스템을 이용하여 타이타늄 합금(Ti6Al4V) 표면에 마이크로 패터닝을 위한 레이저 가공 변수 선정과 선정된 가공 조건을 통한 그루브 패턴을 제작하였고 제작한 패턴 형상에 MG-63 유사 골모 세포를 배양하여 골 세포 유착을 평가하여 다음과 같은 결론을 도출하였다.

1) 세포 크기를 고려하여 마이크로 그루브 패턴 폭(width)은 30 μm , 60 μm , 90 μm 선정하였고, 패턴 형성을 위해 레이저 빔 스캔 실험을 진행하여 레이저 평

균 출력 10W, 펄스 반복률 100kHz, 이송속도 500 mm/s로 선정하였다.

2) 마이크로 그루브 패턴 폭을 증가시키기 위해 레이저 빔 간 중첩 가공을 수행하였으며 레이저 빔 패스 간격을 10 μ m로 도출하였고, 레이저 빔 패스의 수는 패스 수 3일 때 60 μ m, 패스 수 5일 때 90 μ m 크기를 갖는 패턴을 제작할 수 있었다.

3) 제작한 마이크로 그루브 패턴에 MG-63 유사 골모 세포를 배양하여 레이저 패턴이 없는 표면의 경우 세포가 구형 형태로 부착되어 있었으며, 패턴 폭(width)이 증가할수록 구형 형태에서 확산 형태로 세포 유착 형상이 원활히 진행되었음을 확인하였다.

후기

본 연구는 2023년도 동서울대학교 연구지원센터의 지원에 의하여 연구되었음.

참고문헌

- 1) Kiradzhyska, Denitsa D, and Rositsa D Mantcheva. "Overview of Biocompatible Materials and Their Use in Medicine." *Folia medica* vol. 61, 1, pp. 34-40, 2019.
- 2) M. Geetha, A.K. Singh, R. Asokamani, A.K. Gogia, "Ti based biomaterials, the ultimate choice for orthopaedic implants - A review", *Progress in Materials Science*, Volume 54, Issue 3, pp. 397-425, 2009.
- 3) Kulkarni, Mukta, Mazare, Anca, Schmuki, Patrik, "Biomaterial Surface Modification Of Titanium and Titanium Alloys for Medical Applications", *Nanomedicine*, pp. 111-136, 2014.
- 4) N.S. Manam, W.S.W. Harun, D.N.A. Shri, S.A.C. Ghani, T. Kurniawan, M.H. Ismail, M.H.I. Ibrahim, "Study of corrosion in biocompatible metals for implants: A review", *Journal of Alloys and Compounds*, Vol. 701, pp. 698-715, 2017.
- 5) Gao X., Fraulob M., Haïat G., "Biomechanical behaviours of the bone-implant interface: a review." *Journal of the Royal Society, Interface* vol. 16(156), 2019.
- 6) Rasheed Sarvar, "Comparison of micro-holes produced by micro-EDM with laser machining", *International Journal of Science and Modern Engineering*, vol. 1(3), pp.14-18, 2013.
- 7) Ozdemir M., H. Sadikoglu, "A new and emerging technology: Laser-induced surface modification of polymers", *Trends in Food Science and Technology* 9, pp. 159-167, 1998.
- 8) Biggs, M. J., Richards, R. G., McFarlane, S., Wilkinson, C. D., Oreffo, R. O., Dalby, M. J, "Adhesion formation of primary human osteoblasts and the functional response of mesenchymal stem cells to 330nm deep microgrooves", *Journal of the Royal Society, Interface*, vol. 5(27), pp. 1231-1242, 2008.
- 9) Cipriano, A. F., De Howitt, N., Gott, S. C., Miller, C., Rao, M. P., Liu, H, "Bone marrow stromal cell adhesion and morphology on micro- and sub-micropatterned titanium. *Journal of biomedical nanotechnology*", vol. 10(4), pp. 660 - 668, 2014.
- 10) J. R. Park, H. J. Kim, J. Y. Park, S. M. Sung, S. Y. Hong, and K. H. Song, "A study on the injection mold with superhydrophobic surface properties using nanosecond laser machining", *Design & Manufacturing*, Vol.17, No.33, pp.48-54, 2023.
- 11) T. H. Park, H. S. Lee, H. J. Lee, and T. Y. Hwang, "Controlled surface functionalities of metals using femtosecond laser-induced nano- and micro scale surface structures", *Design & Manufacturing*, Vol.17, No.02, pp.55-61, 2023.

저자 소개

하석재 (Seok-Jae Ha)



- 2010년 2월: 인하대학교 기계공학과 (공학석사)
- 2015년 8월: 인하대학교 기계공학과 (공학박사)
- 2021년 9월~현재: 동서울대학교 미래자동차학과, 교수

< 관심분야 >

레이저 가공, 진동제어, 스마트팩토리

성시명 (Si-Myung Sung)



- 2016년 2월: 한양대학교 기계공학과 (공학석사)
- 2017년 12월~현재: 한국폴리텍대학 스마트금형과 교수
- 2021년 8월~현재: 인하대학교 기계공학과 박사과정

< 관심분야 >

프레스 금형, 판재 성형, 공정모니터링

김혜진 (Hye-Jin Kim)



- 2022년 8월: 인천대학교 산업경영공학과 (공학석사)
- 2023년 2월~현재: 정성애듀테크 소속
- 2023년 3월~현재: 인하대학교 기계공학과 박사과정

< 관심분야 >

플라스틱 금형, 소프트웨어 개발, 성형 해석, 3D 프린팅