

다축 적층 시스템의 개발 및 조직공학용 3차원 인공지지체 제작

Development of multi-head deposition system and fabrication of 3D scaffolds for tissue engineering

*김종영¹, 박의균², 김신윤³, #조동우¹

*J. Y. Kim¹, E. K. Park², S. Y. Kim³, #D. W. Cho(dwcho@postech.ac.kr)¹

¹ 포항공과대학교 기계공학과, ² 경북대학교 치의학과, ³ 경북대학교 의학과

Key words: Multi-head deposition system, Scaffold, Tissue engineering

1. 서론

조직 공학은 선천적 기형이나 사고로 손상된 조직이나 기관을 재생할 수 있는 기술로 주목 받고 있다. 이러한 조직 공학 기술은 세포 생물학, 인공지지체 제작 기술 및 세포의 증식 및 분화를 촉진시키는 생리 활성물질 개발 등이다. 학제간 연구를 근간으로 하고 있다. 이중, 다공성의 3차원 인공지지체 제작에 관한 연구가 세포의 효율적인 증식 및 특정 조직으로의 분화를 위해 활발히 연구되고 있다. 인공지지체를 성공적으로 제작하기 위해 공극 크기, 공극률, 재료, 내/외부 형상, 표면 거칠기, 기계적 강도 및 분해 속도 등이 중요한 인자들로 인식되고 있으며 이렇게 복잡한 요구 조건들을 만족시키기 위해 다양한 방식의 제작 방법들을 이용하고 있다. 그 중 패속 조형 방식을 이용한 인공지지체의 3차원 자유 성형 제작에 관한 연구가 최근 활발히 시도되고 있다. 본 연구에서는 조직 공학으로의 적용을 위해 다축 적층 시스템을 제작하였다. 이 시스템은 4개의 적층 헤드를 이용하여 기존의 방식들보다 빠르게 인공지지체를 제작할 수 있는 장점을 부여한다. 또한, 정밀 모션 제어, 온도 및 압력 제어를 통해 100 μ m 이하의 형상 정밀도를 가진 인공지지체 제작이 가능하다. 이를 통해 PCL (Poly-caprolactone)과 PLGA (Poly-lactic-co-glycolic acid)를 이용하여 인공지지체를 제작하였고 성체 줄기 세포를 이용한 세포의 증식 평가를 수행하였다.

2. 다축 적층 시스템의 개발

다축 적층 시스템의 4개의 각 적층 헤드는 최대 650 kPa, 150 $^{\circ}$ C의 압력 및 온도 제어 기능을 가지고 있어 다양한 생분해성 폴리머를 이용한 인공지지체 제작이 가능하다. Table 1은 정밀 다축 적층 시스템의 개발 사양을 보여준다. X-Y 축은 고해상도와 반복도를 실현하기 위해 리니어 모터 및 리니어 엔코더가 채용되었다. 이때, 레이저 인터페로미터를 통해 얻은 정적 에러를 보상함으로써 $\pm 1\mu$ m의

Table 1 Motion specifications of the system

	X-Axis	Y-Axis	Z-Axis
Number of Axis	1		4
Motor	Linear motor		AC servo motor
Encoder	Linear encoder		Rotary encoder
Working Area	180 X 180 X 50 mm		
Resolution	1.9 nm	1.9 nm	15 nm
Accuracy	$\pm 1.6 \mu$ m	$\pm 2.4 \mu$ m	$\pm 5 \mu$ m
Repeatability	$\pm 0.8 \mu$ m	$\pm 1 \mu$ m	$\pm 1.5 \mu$ m
Max. Velocity	0.5 m/sec	0.5 m/sec	0.1 m/sec
Max. Acceleration	1 G		
Pitch & Yaw	± 20 arc sec		

반복도를 달성하였다. Z 축의 경우 적층헤드 별로 각각 모션 제어를 수행하고 있으며, AC 서보 모터와 정밀 볼 스크류를 이용하여 15nm의 해상도와 $\pm 5\mu$ m의 반복도를 구현하였다. 이때 6축의 모션 제어, 온도 및 압력 제어를 위해 XMP Synqnet 모션 제어기가 이용되었다. Fig. 1은 개발된 다축 적층 장치의 개략도 및 제작된 실물을 보여주고 있다.

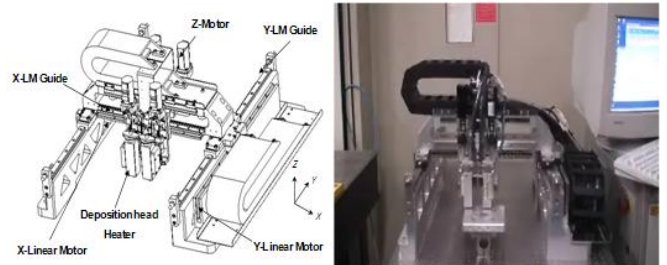


Fig. 1 Developed precision multi-head deposition system

3. PCL 과 PLGA 인공지지체 제작

본 연구에서 이용한 인공지지체의 재료들은 FDA (Food and Drug Administration) 승인 허가된 PCL 과 PLGA 이다. 이들 재료는 생분해성 특성을 가지고 있으며 각기 고유한 녹는점까지 가열하여 유동성을 확보한 뒤 고압을 이용해 필라멘트 형태로 재 가공된다. Table 2는 본 연구에서 이용된 재료들의 특성을 보여준다. 3차원 인공지지체를 제작하기 위해 우선적으로 고려해야 할 목표는 각 패턴의 선폭 및 선 높이의 제어이다. 본 연구에서는 반복적인 실험을 통해 폴리머의 녹는점 및 점도 등을 고려하여 각 재료별 온도, 압력 및 노즐 사이즈를 고정시켰다.

Table 2 Material property of each component

	PCL	PLGA
Glass transition temperature	- 60 $^{\circ}$ C	45 ~ 50 $^{\circ}$ C
Melting temperature	> 60 $^{\circ}$ C	> 100 $^{\circ}$ C
Mole-weight	65,000	50,000 ~ 75,000
Chemical composition	-	85:15 (lactide:glycolide)

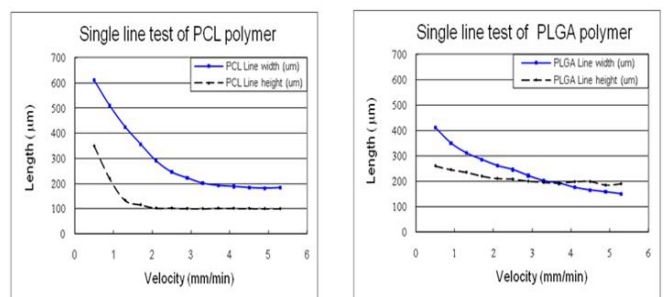


Fig. 2 Result of single line test PCL and PLGA

Table 3 Process condition for single line test

	PCL	PLGA
Nozzle size	260 μm	
Pneumatic pressure	450 kPa	250kPa
Temperature	80 °C	130 °C
Scan velocity	0.5 ~ 5.3 mm/min	
Z contact offset	300 μm	

본 연구에서는 X-Y 속도만을 변수로 설정하여 선폭 및 선 높이의 변화를 평가하였다. 이때 노즐 내경 사이즈는 260μm 를 선택하였다. Table 3 은 본 실험에서 이용된 공정 인자들을 보여주고 있다. Fig. 2 는 0.5 ~ 5.3 mm/min 의 이송 속도 변화에 따른 선 폭 및 선 높이의 관계를 보여주고 있다. 속도가 증가함에 따라 선폭과 선 높이는 줄어드는 경향을 가지고 있음을 확인하였다. 여기서 얻어진 정보를 토대로 200μm 선 폭과 선 높이를 가지는 3 차원 인공지지체를 제작하였다. Fig. 3 및 Fig. 4 은 본 연구에서 제작된 3 차원 인공지지체의 그림을 보여 준다. 외부 형상의 사이즈는 3.4 x 3.4 x 3.2mm 이며 내부의 공극들은 서로 완벽히 연결되어 있으며 공극률은 약 47%로 제작되었다. 또한 내부 선폭 및 선 높이는 ± 200μm 로서 비교적 잘 제작되었음을 확인하였다.

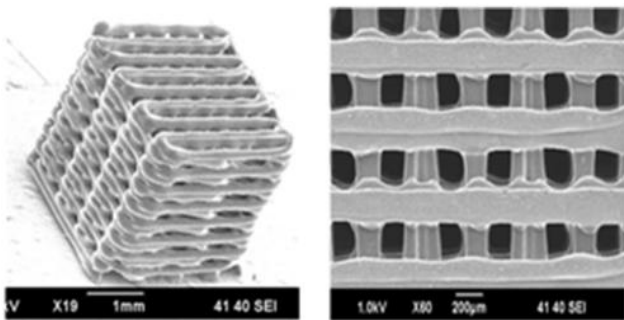


Fig. 3 PCL scaffold having 200μm pore size

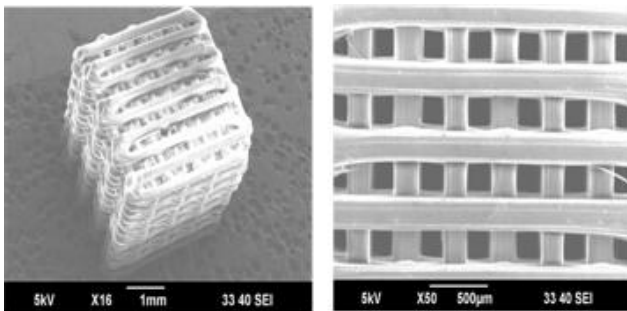


Fig. 4 PLGA scaffold having 200μm pore size

4. 인공지지체의 세포적합성 평가

제작된 3 차원 인공지지체의 세포 적합성을 평가하기 위해 본 연구에서는 성체 줄기 세포를 이용하여 인공지지체내에서의 증식 효과를 실험하였다. 인공지지체 재료의 효과를 비교하기 위해 1 주일의 세포 배양 기간 후 MTT 평가를 실시하여 흡광도(파장 570nm)를 관측하여 세포의 증식 효과를 평가하였다. 인공지지체를 세척하기 위해 70%의 에탄올에 1 시간 정도 담근 뒤에 48 well plate 에 인공지지체를 삽입하였다. 그 후 1 x 10⁵ 개의 세포를 500 μl 의 미디어와 함께 well plate 에 주입하였다. 37°C 의 온도와 5%의 이산화 탄소가 주입되는 세포 배양기 (Incubator)에 넣은 후

1 일, 4 일, 7 일 뒤의 세포 증식 결과를 평가하였다.

Table 4 및 Fig. 5 는 MTT 평가 후 측정된 흡광도(Optical density, OD)를 나타낸다. 두 인공지지체 모두 시간이 경과함에 따라 증식 효과가 있음을 확인하였고, 특히 PLGA 인공지지체의 경우 더 우수한 세포 적합성이 확인되었다. 이와 같이 PLGA 인공지지체의 세포 증식 효과가 더 우수한 이유는 PCL 보다 더 친수성(Hydrophilicity)을 가지기 때문으로 추측된다. 하지만, 세포 배양 도중 인공지지체가 낮은 강도를 가지면서 그 형상을 유지하지 못하게 되는 문제를 확인하였다. 본 연구를 통해 개발된 다축 분사장치의 조직공학 의로의 적용가능성이 검증되었다. 향후 PLGA 인공지지체의 강도를 향상시키는 연구를 수행할 예정이다.

Table 4 Cell proliferation result of PCL and PLGA scaffold

	1 Day	4 Days	7 Days
PCL	0.31 ± 0.09	0.66 ± 0.16	1.28 ± 0.15
PLGA	0.58 ± 0.02	1.07 ± 0.20	1.90 ± 0.17

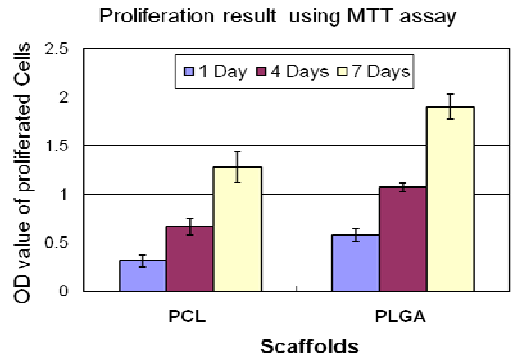


Fig. 5 Cell proliferation result of PCL and PLGA scaffolds

5. 결론

본 연구에서는 최소 100 μm 이하의 형상 정밀도를 가지면서 복잡하고 정밀한 미세 부품을 빠르게 제작할 수 있는 다축 적층 시스템을 개발하였다. 그리고 FDA 승인을 받은 바이오 소재 중 PCL 과 PLGA 을 이용하여 외부 사이즈가 3.4 x 3.4 x 3.2mm 이면서 공극률이 약 47%인 3 차원 인공지지체를 제작하였다. 세포 적합성 실험을 통해 개발된 다축 적층 장치의 조직 공학으로의 적용 가능성을 검증하였다.

후기

이 논문은 2008 년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국과학재단의 지원을 받아 수행한 연구임(No. R0A-2005-000-10042-0 & No. M1064602 0003-06N4602-00310).

참고문헌

1. D.W. Hutmacher, M. Sittinger and M. V. Risbud, "Scaffold-based tissue engineering: rationale for computer-aided design and solid free-form fabrication systems," Trends in Biotechnology, **22**, 7, 354-362, 2004.
2. Seung-Jae Lee, Hyun-Wook Kang, Tae-yeun Kang, Byung Kim, Geunbae Lim, Jong-Won Rhie and Dong-Woo Cho, "Development of a scaffold fabrication system using an axiomatic approach," Journal of Micromechanics and Microengineering, **17**, 147-153, 2007.