

다축 적층 시스템과 실험 계획법을 이용한 3 차원 PCL/PLGA/TCP 바이오 인공지지체 제작

Fabrication of 3D PCL/PLGA/TCP Bio-scaffold using Multi-head Deposition System and Design of Experiment

김종영¹, 윤준진², 박의균², 김신윤³, ✉조동우¹
 Jong Young Kim¹, Jun Jin Yoon², Eui Kyun Park², Shin-Yoon Kim³ and ✉Dong-Woo Cho¹

¹ 포항공과대학교 기계공학과 대학원 (Department of Mechanical Engineering, POSTECH)

² 경북대학교 치의학과 (Department of Pathology and Regenerative Medicine, School of Dentistry, KNU)

³ 경북대학교 정형외과 (Department of Orthopedic Surgery, Kyungpook National University Hospital)

✉ Corresponding author: dwcho@postech.ac.kr, Tel: 054-279-2171

Manuscript received: 2008.8.27 / Revised: 2008.10.16 / Accepted: 2008.10.16

In recent tissue engineering field, it is being reported that the fabrication of 3D scaffolds having high porous and controlled internal/external architectures can give potential contributions in cell adhesion, proliferation and differentiation. To fabricate these scaffolds, various solid free-form fabrication technologies are being applied. The solid free-form fabrication technology has made it possible to fabricate solid free-form 3D microstructures in layer-by-layer manner. In this research, we developed a multi-head deposition system (MHDS) and used design of experiment (DOE) to fabricate 3D scaffold having an optimized internal/external shape. Through the organization of experimental approach using DOE, the fabrication process of scaffold, which is composed of blended poly-caprolactone (PCL), poly-lactic-co-glycolic acid (PLGA) and tricalcium phosphate (TCP), is established to get uniform line width, line height and porosity efficiently. Moreover, the feasibility of application to the tissue engineering of MHDS is demonstrated by human bone marrow stromal cells (hBMSCs) proliferation test.

Key Words: Multi-head Deposition System (다축 적층 시스템), Scaffold (인공지지체), Solid Free-form Fabrication (자유 성형 제작 기술), Tissue Engineering (조직 공학), Design of Experiment (실험계획법)

1. 서론

최근까지 조직 공학(Tissue engineering) 분야는 손상된 인체 조직의 기능을 복원하기 위해 다양한 접근 방식으로 연구를 진행하고 있다.¹ 그 중 자가 이식(Autograft)에 의한 조직 재생 방법은 면역학적이나 치료 측면에서 큰 효과를 가지고 있다. 하지만 이 방식은 환자 본인의 다른 부위에서 추출하기 때문에 추출된 부위가 다시 문제를 일으킬 가

능성을 가지고 있고 추출 가능한 크기 또한 한계를 가지고 있다. 다른 방식으로서 임상에서 다른 개체의 조직을 이용하는 동종이식(Allograft)이 이용되기도 한다. 하지만 이 방법 역시 면역 거부 반응 및 기증자로부터의 질환 전이 등의 문제를 동반할 수 있다. 이에 최근까지 인공 금속물을 손상된 조직 부위에 삽입하는 방법이 주목 받아 왔다. 하지만 이 방식은 조직의 생리화적인 기능을 자연적으로 유도할 수 없을뿐더러 염증에 의한 주

변 조직의 괴사(Necrosis) 등의 문제를 야기하여 반복적인 수술을 요구하고 있다. 이에 최근에 자유 성형 제작(Solid free-form fabrication) 기술을 이용하여 제어된 3 차원 형태의 인공지지체 제작을 통한 조직 재생 기법에 관한 연구가 활발히 시도 되고 있다.^{2,4} 현재 상용화되어 있는 자유 성형 제작 기술에는 마이크로 광 조형 기술(Micro-stereo lithography, MSTL), 열 용해 적층 법(Fused deposition modeling, FDM) 및 3 차원 잉크 제트 법(3D printing, 3DP) 등이 있으며 이러한 기술들을 통해 인공지지체의 내/외부 형상을 완벽히 제어할 수 있다. 따라서, 이러한 가공 기술은 기존의 방식들에 비해 조직 재생을 위한 인공지지체 제조 관점에서 많은 장점을 가지게 된다. 하지만, 상용화된 쾌속 조형 장치도 조직 재생을 위한 3 차원 인공지지체 제조에 한계를 가지고 있다. 예를 들어, MSTL의 경우 광중합이 가능한 생체 재료들이 제한되어 있다. 또한 FDM의 경우 폴리머의 원 소재를 바로 이용할 수 없고 가는 실 형태로 재가공하는 과정이 필수적이다. 3DP 장비의 경우 파우더를 이용하기 때문에 세척 등의 후 공정 과정에서 인공지지체 내부에 남아있는 파우더를 효과적으로 제거하지 못한다.^{5,6}

이러한 인공지지체 제조 공정을 향상하기 위해 최대 4 개의 적층 헤드를 가지는 다축 적층 시스템을 개발하였다. 다축 적층 시스템은 최소 100 μm 이하의 형상 정밀도를 가지면서 복잡하고 정밀한 미세 부품을 빠르게 제작할 수 있는 쾌속 조형 기술의 하나이다. 본 연구에서 개발된 다축 적층 시스템은 사용 가능한 생체 재료의 제한이 없으며 재료를 재 가공할 필요가 없을뿐더러 자유 형상의 3 차원 형상을 다축 헤드를 이용하여 매우 빠르게 제작할 수 있게 한다. 본 연구에서는 혼합된 PCL/PLGA/TCP 로 구성된 인공지지체를 효과적으로 제작하기 위해 다축 적층 시스템과 실험 계획법을 이용하였다. 외부형상이 7.4 x 7.4 x 3.2 mm³로 제작된 인공지지체는 200 μm 의 선 폭 및 선 높이를 가지고 있으며 내부 공극들이 완벽히 연결되어 있으며 높은 공극률을 가지고 있다. 또한, 기계적 강도 및 세포 증식 평가를 통해 향후 조직 재생에 있어 제작된 인공지지체의 적용 가능성을 평가하였다.

2. 다축 적층 시스템

여러 생체 재료들을 이용한 인공지지체를 제작하기 위해 다축 적층 시스템에서는 6 축의 정밀 모션 제어 파트와 최대 4 축의 온도 및 압력 제어 파트를 가지고 있다. X-Y 축에서는 고해상도와 높은 정밀도를 달성하기 위하여 리니어 모터(Kollmorgen, USA) 및 리니어 엔코더(ST36D, Mitutoyo)가 이용되었다. Z 축의 경우 적층 헤드마다 각 구동 축이 별도로 존재하며 정밀 볼스크류(BNK 0802, THK) 및 AC 서보 모터(SGMAS, Yaskawa)를 이용하여 정밀 모션 제어를 수행하였다. Fig. 1은 다축 적층 시스템의 개략도를 보여 준다.

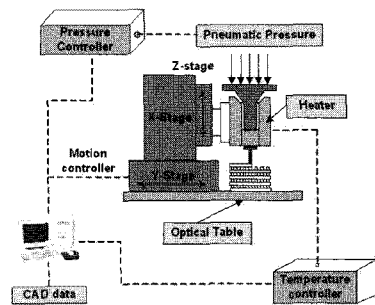


Fig. 1 Schematic diagram of developed MHDS

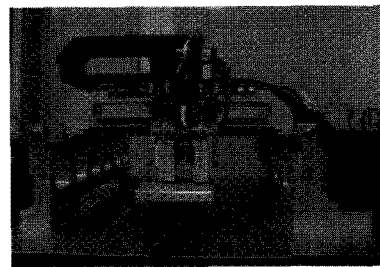


Fig. 2 The image of developed MHDS

이러한 6 개의 구동 축들을 제어하기 위해 본 연구에서는 MEI사에서 제조한 최대 8000Hz의 응답성을 가지는 XMP Synqnet이 이용되었다. 이때 모션 시스템의 전 구동 범위에서의 정밀도(Accuracy)는 $\pm 1.6 \sim 5\mu\text{m}$ 로서 매우 정밀한 위치 제어를 가능하게 하였다. 또한, 모션 제어기의 I/O 출력을 통해 온도와 압력을 제어함으로써 인공지지체 제작을 위한 CAD/CAM 시스템을 구현하였다. Fig. 2는 자체 개발된 정밀 분사 시스템의 제작된 실물을 보여준다. 이 시스템을 통해 본 연구에서는 자유 형상을 갖는 3 차원 인공지지체의 제작 가능성을 탐색하였다.

3. 실험계획법을 이용한 제작 공정 최적화

3.1 PCL/PLGA/TCP 생체 재료

PLGA 는 생분해성 및 높은 생체 적합성으로 인해 다양한 조직 재생에 효과가 있는 것으로 보고되고 있다. 하지만, 낮은 강도로 인해 생체 내의 배양 실험에서 그 형태를 유지하지 못하는 것으로 알려지고 있다. 따라서 본 연구에서는 PLGA 재료에 높은 기계적 강도 및 탄성을 가지는 PCL 및 100nm 나노 입자의 TCP 세라믹을 45/45/10 비율로 섞음으로써 기계적인 강도를 보완하여 3 차원 PCL/PLGA/TCP 인공지지체를 제작하였다. Table 1 은 본 연구에서 이용된 생체 재료들의 물성치를 보여주고 있다. 그리고 Fig. 3 은 혼합된 PCL/PLGA/TCP 재료를 준비하는 과정을 보여주고 있다. 이때 PCL/PLGA/TCP 재료를 10cc 용량의 시린지(Syringe)에 주입한 뒤 재료의 녹는점인 100°C 까지 온도를 높여 약 10 분의 가열 시간을 거치게 되면 충분히 녹은 상태가 되어 적절한 압력, 온도 및 이송 속도 등의 제어를 통해 시린지에 위치한 노즐로부터 직접 원하는 사이즈를 가지는 필라멘트(Filament)를 얻을 수 있다.

Table 1 Material property of each polymer

	PCL	PLGA
Glass transition temperature	- 60 °C	45 ~ 50 °C
Melting temperature	> 60 °C	> 90 °C
Mole-weight	65,000	50,000 ~ 75,000
Chemical composition	85:15 (lactide:glycolide)	

생체 재료를 이용한 3 차원 인공지지체 제작을 위하여 본 연구에서는 실험 계획법을 이용하여 최소의 실험 계획으로 원하는 선 폭과 선 높이를 가지는 3 차원 인공지지체를 제작하였다. PCL/PLGA/TCP 로 이루어진 3 차원 인공지지체의 실험 계획법을 이용한 제작 공정을 위해 요인 배치 법(Factorial design)을 이용한 스크리닝 실험, 반응 표면 실험법(Response surface method) 및 다중 반응 최적 실험법(Multi-response optimization method)을 적용하였다. 노즐에서 분사되는 폴리머들의 선 폭 및 선 높이의 적층을 위해 X-Y 축 이송 속도, 압력, 온도 및 노즐 사이즈 등의 변수 제어를 통한 적층 특성이 실험 계획법을 통해 분석되었다. 본 연구에서의 통계적인 분석은 미니탭(Minitab)이라는 상용 소프트웨어를 이용하였으며 5%의 신뢰구간 내에서 결정되었다. 실험 계획법을 이용한 제작 공정 목표는 200µm 의 선 폭과 100µm 의 선 높이를 가진 인공지지체를 제작하는 것이다. 이때 주 인자 중 노즐 사이즈는 목표화된 선 폭과 같은 200µm 로 고정된 뒤 나머지 이송 속도, 압력 및 온도 인자들을 변화시키면서 최적 조건을 탐색하였다. 이러한 최적 조건의 탐색을 위하여 중심점이 포함된 스크리닝 실험을 수행하였다.

Table 2 Experimental range of each factor

Condition	Pressure	Temperature	Scan velocity
Minimum	350 kPa	80 °C	2 mm/min
Maximum	650 kPa	100 °C	4 mm/min
Center	500 kPa	90 °C	3 mm/min

Table 2 는 각 인자들의 관심 있는 실험 수준들을 표시하였다. 이때 각 실험들은 실험 순서의 비랜덤화 과정을 통한 편향된 에러의 발생 가능성을 배제하기 위하여 미니탭의 실험 순서를 따라 진행되었다. Table 3 은 상세한 실험 계획 및 측정된 선 폭과 선 높이를 보여주고 있다. 실험은 중심점에서의 3 번의 반복 실험을 포함하여 총 11 회가 진행되었다. 이때 선 폭 및 선 높이는 광학 현미경을 이용하여 측정되었다. Fig. 4 와 5 는 선 폭과 선 높이의 측정 결과에 따른 파레토 차트 플롯(Pareto chart plot) 과 주 효과 플롯(Main effects plot)을 보여주고 있다.

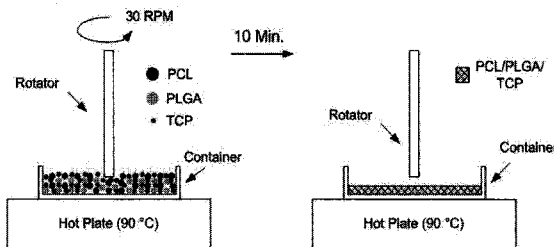
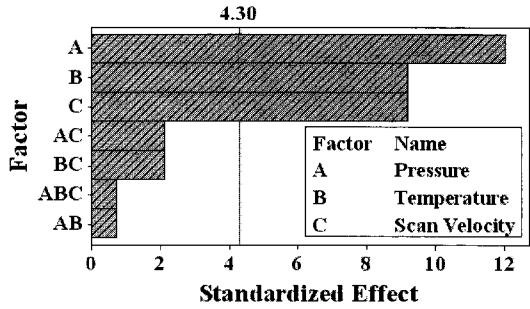


Fig. 3 Preparation of blended PCL/PLGA/TCP

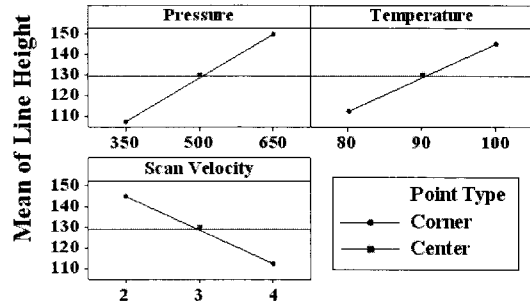
3.2 요인 배치 법을 이용한 스크리닝 실험

Table 3 The detail experimental steps and fabrication result for screening test

Run order	Pressure (kPa)	Temperature (°C)	Scan velocity (mm/min)	Line width (μm)	Line height (μm)
1	350	100	4	150	110
2	650	80	2	250	150
3	500	90	3	190	130
4	500	90	3	185	135
5	350	80	4	115	80
6	650	100	4	220	140
7	650	80	4	170	120
8	650	100	2	360	190
9	350	100	2	220	140
10	500	90	3	195	125
11	350	80	2	200	100



(a) Pareto chart on line height



(b) Main effects plot for line height

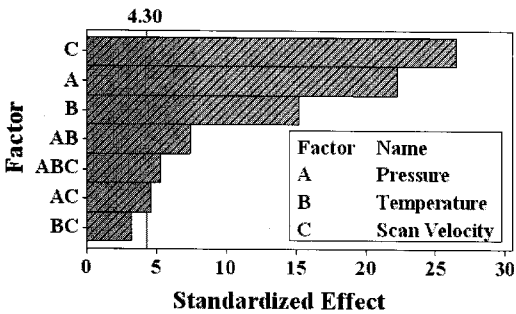
Fig. 5 Pareto chart and main effects plot for line height

파레토 차트는 각각의 인자가 결과에 미치는 영향을 막대 차트로 표현하는 그래프로서 결과에 미치는 주된 인자를 선별할 수 있게 한다. 또한 주 효과 플롯은 결과에 미치는 주된 인자들의 수준 변화에 따른 실험 결과를 파악할 수 있게 한다. 실험 결과 분석을 통해 선 폭과 선 높이는 압력이 높을수록, 온도가 높을수록 그리고 X-Y 축의 이송 속도가 느릴수록 의미 있게 커짐을 알 수 있다. 이를 통해 온도와 압력 그리고 이송 속도가 인공 지지체 제작의 핵심 인자로서의 선 폭과 선 높이에 대하여 주 효과를 가지고 있음을 확인하였다.

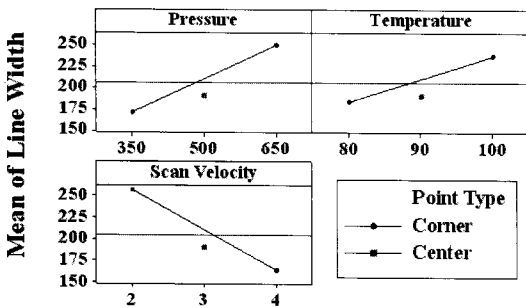
3.3 다중 반응 최적 실험법

반응 표면 분석은 분산 분석이나 요인 배치 실험 등을 통하여 최적 조건을 찾았을 때, 최적 조건 주위에서 입력 변수 X_1, \dots, X_n 이 결과 Y 값과 어떤 관계식을 갖고 있는지 분석해 주는 방법이다. 이를 통해 반응 표면 설계는 최적 반응 값에 근사하도록 식 (1)과 같이 설계될 수 있다. 즉,

$$Y = f(X_n) + g(\text{Noise}) \quad (1)$$



(a) Pareto chart on line width



(b) Main effects plot for line width

Fig. 4 Pareto chart and main effects plot for line width

이때 $f(X_n)$ 은 3 차원 공간 분포에서의 반응 표면으로 불린다. 본 연구에서 반응 표면 분석은 인공지지체 제조 과정에서의 200 μm 선 폭과 100 μm 선 높이를 위한 최적 조건을 탐색하기 위해 수행되었다. 반응 표면 법을 이용함으로써 중심점뿐 아니라 여러 축 점에서의 실험도 포함함으로써 각 목표(선 폭과 선 높이) 및 인자(압력, 온도 및 이송 속도) 사이의 관계식이 최소의 실험 순서를 추가함으로써 탐색될 수 있다. 이때 실험에 이용된 총 횟수는 3 번의 중심점 실험을 포함해서 17 회로서 수행되었다. Table 4 는 반응 표면 법을 이용한 실험 순서 및 공정 결과를 보여주고 있다. 이때 통계적으로 미니탭을 이용하여 평가된 회귀 계수를 통하여 목표 치와 각 인자들 사이에 평가된 관계식을 정량적으로 추정할 수 있다.

Table 4 Fabrication result using the response surface method

Run order	Pressure (kPa)	Temperature (°C)	Scan velocity (mm/min)	Line width (μm)	Line height (μm)
1	500	90	3	190	130
2	500	90	3	185	135
3	350	100	2	220	140
4	350	100	4	150	110
5	500	90	4	160	110
6	650	100	2	360	190
7	500	100	3	210	140
8	350	80	2	200	100
9	500	90	2	240	140
10	650	80	2	250	150
11	350	90	3	170	100
12	500	80	3	160	120
13	500	90	3	195	125
14	650	80	4	170	120
15	350	80	4	115	80
16	650	90	3	215	140
17	650	100	4	220	140

실험 계획법을 이용한 결과에 따라서 관심 있는 영역에서의 선 폭과 선 높이는 아래의 식 (2) 및

(3)과 같이 경험적으로 유추될 수 있다. 즉,

$$L_w = 361.802 - 0.726P - 0.354T - 58.84V + 0.0003P^2 + 0.002T^2 + 15.17V^2 + 0.009PT - 0.054PV - 0.563TV \quad (2)$$

$$L_h = 185.819 + 0.493P - 6.719T + 27.715V - 0.0002P^2 + 0.054T^2 + 0.4225V^2 - 0.0008PT - 0.025PV - 0.375TV \quad (3)$$

이때 L_w 는 제작된 선 폭, L_h 는 제작된 선 높이, P 는 인가된 압력, T 는 노즐의 온도, 그리고 V 는 이송 속도를 각각 의미한다. Fig. 6, 7 및 8 은 압력, 온도 및 이송 속도에 따른 선 폭과 선 높이의 그래픽 처리된 그림을 보여준다. 본 실험을 통하여 200 μm 의 선 폭과 100 μm 의 선 높이를 위한 가공 조건이 반응 표면 법을 이용한 실험의 범위 내에 존재함을 알 수 있다. 다중 반응 최적 법은 최적 화할 목표 값이 여러 개 있을 때 이들을 동시에 최적화시키는 방법에 대한 연구이다. 하지만, 본 연구에서는 선 폭과 선 높이를 각각 200 μm 와 100 μm 로 설정하였다. 이때, 선 폭에 대해서는 최적화가 진행되었다라든 선 높이에서는 최적조건과 거리가 먼 경우를 방지하기 위해 다중 반응 최적 기법을 활용하게 된다. 이때 온도, 압력 및 이송 속도에 따른 최적의 선 폭과 선 높이가 미니탭에 있는 다중 반응기법을 활용하여 평가될 수 있다.

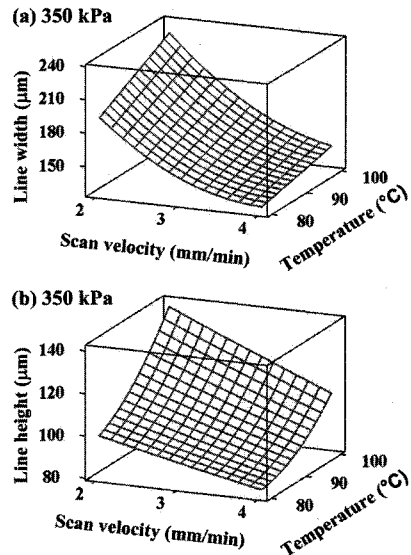


Fig. 6 line width and height under pressure of 350 kPa

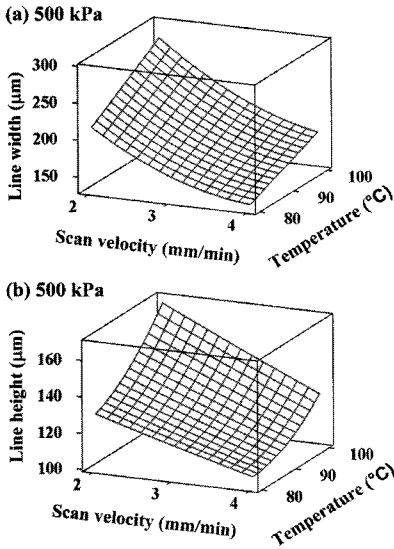


Fig. 7 line width and height under pressure of 500 kPa

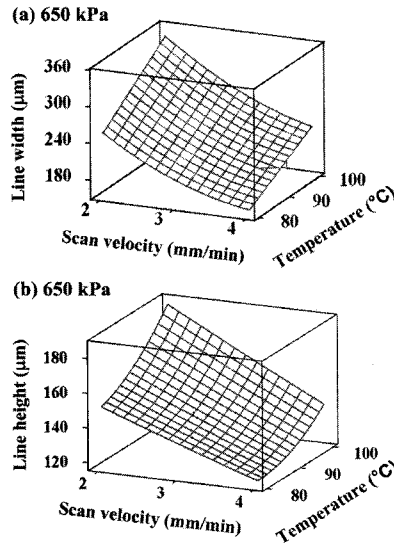


Fig. 8 Line width and height under pressure of 650 kPa

Condition	Optimal value
Pressure	350 kPa
Temperature	83.1 °C
Scan velocity	2.0 mm/min
Line width	198.3 μm
Line height	102.8 μm

Fig. 9 는 다중 반응 최적 기법을 수행한 결과를

보여주고 있다. 따라서 압력, 온도 및 이송 속도에 따른 선 폭, 선 높이의 최적화가 자동적으로 평가 될 수 있다. Table 5 는 목표치의 선 폭과 선 높이를 가공하기 위한 최적 조건을 나타내고 있다. 미니 탭을 이용하여 구한 최적 조건에 기반하여 7.4 x 7.4 x 3.2mm³ 의 외부형상을 가지는 3 차원 인공지 지체가 제작되었다. Fig. 10 은 PCL/PLGA/TCP 재료를 이용하여 제작된 3 차원 인공지 지체의 형상을 보여주고 있다. 패턴의 선 폭은 200±20μm 이며, 선 높이도 2 층으로 중복으로 배치하여 200±20μm 를 유지하였다. 이때 상면에서의 각 층의 공극 크기는 600±20μm 이며 각 패턴은 인공지 지체내로의 세포 생착 특성을 높이기 위해 엇갈리게 배치되었다. 인공지 지체의 공극률은 CAD 모델로부터 평가 된 체적 정보를 토대로 계산될 수 있는데 이 공극률은 약 69.6 %이며 내/외부 구조가 서로 완전히 연결되어 있음을 알 수 있다. 이와 같이 실험 계획법을 적용함으로써 체계적이고 효율적인 자유 성형 제작 방식의 3 차원 인공지 지체 제조 공정이 본 연구를 통해 확립되었다.

Optimal D	Pressure	Temperature	Scan Velocity
Hi	650.0 kPa	100.0 °C	4.0 mm/min
0.53692	[350.0 kPa]	[83.1237 °C]	[2.0 mm/min]
Lo	350.0 kPa	80.0 °C	2.0 mm/min

Line Width Target : 200 μm y = 198.2876 d = 0.65752			
Line Height Target : 100 μm y = 102.8078 d = 0.43844			

Fig. 9 Output windows of response optimization tool

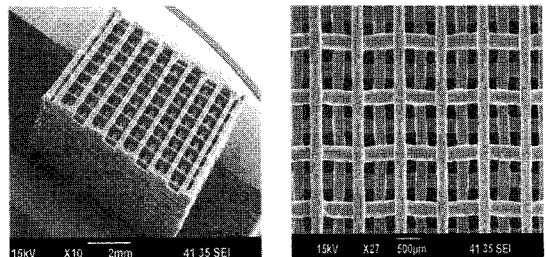


Fig. 10 Fabrication result of PCL/PLGA/TCP scaffold

3.4 기계적 강도 평가

본 연구에서 제작된 인공지 지체의 기계적 강도를 평가하기 위하여 압축 응력과 변형률의 관계를

평가하였다. 이때 정지 압력 조건과 유사한 힘이 인공지지체에 전달되게 하기 위해 크로스 헤드 속도(Cross-head velocity)를 0.6mm/min 으로 설정하였다. Fig. 11 과 Table 6 은 본 연구에서 제작된 인공지지체의 압축 응력과 변형률의 관계를 보여준다. 압축 강도는 3.2 MPa 이고 압축 응력 계수는 51.6 MPa 로서 인간 해면골(Human trabecular bone)의 압축 강도로 알려진 4 ~ 12 Mpa 과 유사한 것으로 평가되었다.⁷⁻⁸

Table 6 Result of mechanical testing

Condition	PCL/PLGA/TCP scaffold
Compressive strength	3.2 MPa
Compressive modulus	51.6 MPa

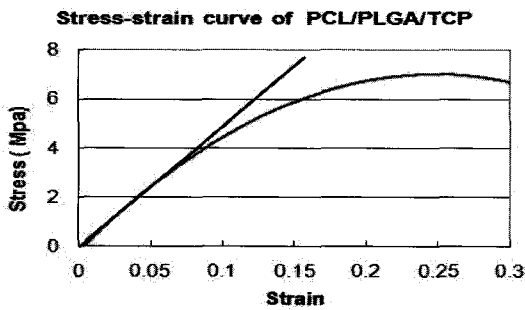


Fig. 11 Stress-strain relationship of PCL/PLGA/TCP

4. 인공지지체의 세포 증식 평가

4.1 hBMSCs 의 분리 및 배양

골 관절염 치료를 위한 인공관절 치환 수술 시 환자의 동의 하에 골수를 채취하였다. 골수로부터 Histopaque® (Sigma, St Louis, MO)을 사용한 원심분리 법으로 골수간엽줄기세포(hBMSCs)를 분리하였다. 분리한 골수간엽줄기세포를 10% 우혈청(Gibco, Grand island, NY) 및 항생제를 첨가한 α-MEM 배양액으로 37 °C, 5 % CO₂ 농도에서 배양하였다. 3 차원 구조의 PCL/PLGA/TCP 인공지지체를 멸균하기 위하여 0.22µm 필터로 여과한 50% 에탄올에 6 시간 동안 4°C 에서 교반하며 침지하였다. 이후 멸균한 증류수로 3 회, PBS 로 2 회 인공지지체를 세척 후, 사용 전까지 우혈청 함유 세포 배양액에 침지하여 냉장하였다. 분리한 인간골수간엽줄기세포를 4x10⁶ cell/ml 의 농도로 세포 현탁액을 준비하였다.

인공지지체에 세포 현탁액 50 µl 을 주입하여 2x10⁵ 개의 세포를 인공지지체에 접종하고 6 well culture plate 로 옮겨 4 시간 동안 37 °C, 5% CO₂ 농도에 노출한 뒤 4ml 우혈청 세포 배양액을 첨가하여 배양하였다. 세포 증식 평가를 위해 4 개의 3 차원 인공지지체를 실험 군의 표본으로 이용하였다.

4.2 hBMSCs 증식 특성

3 차원 인공지지체 내에서의 골수간엽줄기세포의 증식 특성을 조사하였다. 세포의 증식은 Cell Counting Kit-8(CCK-8, Dojindo, Japan)을 이용하여, 각 세포 배양 3, 7, 10, 15 일째에 생존한 세포의 개수를 확인하였다. 우혈청 세포배양액에 CCK-8 용액을 1:10 으로 희석하여 4 시간 동안 세포 배양 후 상층액의 흡광도를 450 nm 에서 측정하였다. 세포 및 인공지지체는 PBS 로 세척 후 새로운 세포 배양액으로 배양하였다. 골수간엽줄기세포의 형태 관찰을 위해서 SEM 을 이용하였다.

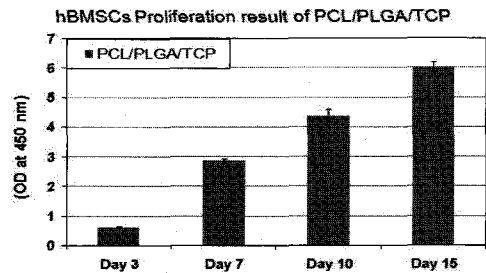


Fig. 12 Cell proliferation result of fabricated 3D scaffold

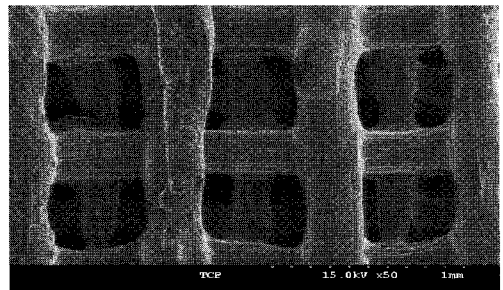


Fig. 13 SEM image of proliferated PCL/PLGA/TCP Scaffold after 15 days

Fig. 12 는 CCK-8 을 이용한 세포 증식 결과의 OD(Optical density) 값을 나타내고 있으며 배양 시간에 따라 골수간엽줄기세포의 지속적인 증식을 확인하였다 (P < 0.05). Fig. 13 은 각 인공지지체에서 배

양된 세포의 주사전자현미경 사진으로 PCL/PLGA/TCP 인공지지체 내에 많은 수의 세포와 기타 ECM 분비물이 관찰되었다. 본 증식 평가를 통해서 제작된 인공지지체의 세포 적합성이 확인되었다.

5. 결론

본 연구에서는 자체 개발된 다축 적층 시스템과 실험 계획법을 이용하여 제어된 내/외부 형상을 가진 3 차원 인공지지체를 제작하였으며 기계적 강도 및 세포 증식 평가를 통해 조직 공학으로의 적용 가능성을 검증하였다. 본 연구로부터 얻은 결론을 요약하면 다음과 같다.

1) 최소 100 μ m 의 형상 정밀도를 가지면서 복잡하고 정밀한 미세 구조물을 제작할 수 있도록 다축 적층 시스템을 개발하였다. 다축 적층 시스템은 사용 가능한 생체 재료의 제한이 없고 재료를 재 가공할 필요가 없으며 설치된 다축 헤드를 이용하여 기존의 쾌속 조형 장치들에 비해 정밀하고 빠르게 인공지지체를 제작할 수 있게 한다.

2) 실험 계획법을 적용함으로써 200 μ m 의 선 폭 및 100 μ m 의 선 높이를 가지는 인공지지체 제작 공정 조건을 탐색하였다. 요인 배치법을 이용한 스크리닝 실험을 통해 온도와 압력 그리고 이송 속도가 인공지지체 제작의 핵심 인자로서의 선 폭과 선 높이에 대하여 주 효과를 가지고 있음을 확인하였다. 또한 다중 반응 최적 실험법을 통해 목표 치와 각 인자들 사이에 평가된 관계식을 추정하였다. 이때 목표화된 200 μ m 의 선 폭과 100 μ m 의 선 높이를 제작하기 위한 공정조건은 350kPa 의 압력, 83.1 $^{\circ}$ C 의 온도 및 2.0mm/min 의 이송 속도임을 확인하였다.

3) PLGA 의 낮은 기계적 강도를 보완하기 위해 높은 기계적 강도 및 탄성을 가지는 PCL 및 TCP 를 활용함으로써 PCL/PLGA/TCP 재료로 구성된 3 차원 생분해성 인공지지체를 제작하였다. 이때 평가된 기계적 압축 강도는 3.2MPa 이며 압축 응력 계수는 51.6MPa 로서 인간 해면골의 압축 강도로서 알려진 4~12MPa 과 유사함을 확인하였다.

4) 제작된 3 차원 인공지지체의 조직공학으로의 적용 가능성을 탐색하기 위해 hBMSCs 을 이용한 세포 적합성 평가를 수행하였다. CCK-8 을 이용한 세포 증식 결과를 통해 인공지지체내에서 배양 시간에 따른 세포의 지속적인 증식을 확인하였다. 또한 주사전자현미경 사진을 통해 인공지지체내에

많은 수의 세포 및 ECM 분비물을 확인하여 제작된 인공지지체의 세포 적합성을 검증하였다.

향후 개발된 PCL/PLGA/TCP 인공지지체를 이용하여 hBMSCs 의 골조직으로의 분화 가능성을 평가할 예정이다.

후 기

이 논문은 2008 년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국과학재단의 지원을 받아 수행한 연구임(No. R0A-2005-000-10042-0 & No. M1064 602 0003-07N4602-00310).

참고문헌

1. Marra, K. G., Szem, J. W., Kumta, P. N., DiMilla, P. A. and Weiss, L. E., "In vitro analysis of biodegradable polymer blend/hydroxyl apatite composites for bone tissue engineering," J. of Biomedical Materials Research, Vol. 47, No. 3, pp. 324-335, 1999.
2. Yang, D. -Y., Lim, T. W., Son, Y., Kong, H. -J., Lee, K. -S., Kim, D. -P. and Park, S. H., "Additive process using femto-second laser for manufacturing three-dimensional nano/micro-structures," International Journal of Precision Engineering and Manufacturing, Vol. 8, No. 4, pp. 63-69, 2007.
3. Hutmacher, D. W., Schantz, T., Zein, I., Ng, K. W., Teoh, S. H. and Tan, K. C., "Mechanical properties and cell cultural response of polycaprolactone scaffolds designed and fabricated via fused deposition modeling," J. of Biomedical Materials Research Part A, Vol. 55, Issue 2, pp. 203-216, 2001.
4. Lee, S. -J., Kang, H. -W., Kang, T. -Y., Kim, B., Lim, G., Rhie, J. -W. and Cho, D. -W., "Development of a scaffold fabrication system using an axiomatic approach," J. Micromech. Microeng., Vol. 17, No. 1, pp. 147-153, 2007.
5. Wang, F., Shor, L., Darling, A., Khilil, S., Sun, W., Gucer, S. and Lau, A., "Precision extruding deposition and characterization of cellular poly-caprolactone tissue scaffolds," Rapid Prototyping Journal, Vol. 10, No. 1, pp. 42-49, 2004.
6. Hutmacher, D. W., Sittinger, M. and Risbud, M. V., "Scaffold-based tissue engineering: rationale for computer-aided design and solid free-form fabrication

- systems,” *Trends Biotechnol*, Vol. 22, No. 7, pp. 354-362, 2004.
7. Goldstein, S. A., “The mechanical properties of trabecular bone: dependence on anatomic location and function,” *J. of Biomechanics*, Vol. 20, No. 11-12, pp. 1055-1061, 1987.
 8. Rezwan, K., Chen, Q. Z., Blaker, J. J. and Boccaccini, A. R., “Biodegradable and bioactive porous polymer/inorganic composite scaffolds for bone tissue engineering,” *Biomaterials*, Vol. 27, Issue 18, pp. 3413-3431, 2006.