



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2021년02월09일

(11) 등록번호 10-2214090

(24) 등록일자 2021년02월03일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61F 2/12 (2006.01) A61F 2/00 (2021.01)  
 A61L 27/14 (2006.01) A61L 27/58 (2006.01)  
 B29C 64/106 (2017.01) B29C 64/209 (2017.01)  
 C08J 5/00 (2006.01) C08K 7/02 (2006.01)  
 C08L 101/16 (2006.01) C08L 67/02 (2006.01)  
 C08L 67/04 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61F 2/12 (2013.01)  
 A61F 2/0077 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2019-0124397

(22) 출원일자 2019년10월08일

심사청구일자 2019년10월08일

(65) 공개번호 10-2020-0120470

(43) 공개일자 2020년10월21일

(30) 우선권주장

1020190043060 2019년04월12일 대한민국(KR)

(56) 선행기술조사문헌

KR1020150084519 A

KR101067827 B1

KR101616345 B1

(73) 특허권자

주식회사 플코스킨

서울특별시 서대문구 연세로 50-1 (426호, 신촌동, 에비슨의생명연구센터)

연세대학교 산학협력단

서울특별시 서대문구 연세로 50 (신촌동, 연세대학교)

(72) 발명자

김민섭

서울특별시 광진구 능동로4길 41, 704동 1203호(자양동, 자양7차현대홈타운)

노태석

서울특별시 서초구 서초중앙로 200, 13동 9 (서초동, 삼풍아파트)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인다나

전체 청구항 수 : 총 17 항

심사관 : 강혜리

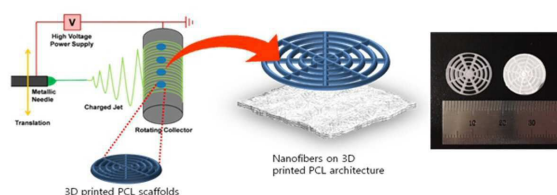
(54) 발명의 명칭 유방 재건술용 무세포동종진피 대체를 위한 3차원 고분자 복합구조체의 개발

## (57) 요약

본 발명은 유방 재건술용 무세포동종진피 대체를 위한 고분자 복합구조체에 관한 것이다.

본 발명에서는 3d 프린팅 기법과 전기방사기법을 활용하여 고분자 복합구조체를 제조하여, 고가이며, 한정된 공급 물량과 품질 유지가 어려웠던 종래의 무세포 동종세포진피 대체를 대체할 수 있다. 또한, 본 발명에 따른 고분자 복합구조체는 봉합사를 이용하여 인체고정이 용이하고, 체내 염증을 유발하지 않으며, 우수한 기계적 물성을 가져 보형물 삽입술과 자가지방 이식술이 결합된 유방 재건수술에 필수적인 의료기기로 활용 가능하다.

## 대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61L 27/14 (2013.01)  
A61L 27/58 (2013.01)  
B29C 64/106 (2017.08)  
B29C 64/209 (2017.08)  
C08J 5/005 (2013.01)  
C08K 7/02 (2013.01)  
C08L 101/16 (2013.01)  
C08L 67/02 (2013.01)  
C08L 67/04 (2013.01)

김기범

서울특별시 강동구 명일로 293, 501동 303호(길동, 삼익파크)

(72) 발명자

백우열

서울특별시 마포구 양화로 45, 102동 3306호(서교동, 메세나폴리스)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1345314013
과제번호	2018R1D1A1B07051132
부처명	교육부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	이공학 개인기초연구지원사업
연구과제명	연부조직재생 및 무세포동종진피 대체를 위한PCL 전기방사 나노 섬유 시트의 개발
기 여 율	25/100
과제수행기관명	연세대학교
연구기간	2018.06.01 ~ 2023.05.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711104977
과제번호	2019M3A9E8022138
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	원천기술개발사업
연구과제명	줄기세포유래 나노입자 코팅 폴리머 스캐폴드를 이용한 조직 재생법
기 여 율	25/100
과제수행기관명	연세대학교
연구기간	2017.04.01 ~ 2021.03.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1425138477
과제번호	S2816285
부처명	중소벤처기업부
과제관리(전문)기관명	한국엔젤투자협회
연구사업명	민간투자주도형 기술창업지원 2019 팀스
연구과제명	자가지방 이식 가능한 유방재건술용 폴리카프로락톤 지지체 개발
기 여 율	50/100
과제수행기관명	연세대학교
연구기간	2017.04.01 ~ 2021.03.31

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

3차원 고분자 복합체; 및

상기 3차원 고분자 복합체의 일면에 형성되는 나노섬유층을 포함하고,

상기 3차원 고분자 복합체 및 나노섬유층은 각각 생분해성 고분자를 포함하며,

상기 3차원 고분자 복합체는 둘 이상의 원형 선(circular line)을 포함하는 원형격자(circular grating) 구조를 가지고, 상기 원형격자의 중심을 기준으로 하나 이상의 직선(straight line)이 방사상(radial shape)으로 배열되어 있는 3차원 고분자 복합구조체.

#### 청구항 2

제 1 항에 있어서,

3차원 고분자 복합구조체의 평균 직경은 10 내지 15 cm인 3차원 고분자 복합구조체.

#### 청구항 3

제 1 항에 있어서,

3차원 고분자 복합구조체의 두께는 1.0 내지 5.0 mm인 3차원 고분자 복합구조체.

#### 청구항 4

제 1 항에 있어서,

생분해성 고분자는 폴리카프로락톤(Polycaprolactone), 폴리락티에씨드(Poly (l-lactic acid)), 폴리글루콜릭에씨드(Poly(glycolic acid)), 폴리락틱-글루콜릭에씨드 공중합체(Poly(lactic-co-glycolic acid)), 폴리락틱-카프로락톤 공중합체(Poly(L-Lactide-co- $\epsilon$ -Caprolactone)) 및 이들의 혼합물로 이루어진 그룹으로부터 선택된 1종 이상을 포함하는 3차원 고분자 복합구조체.

#### 청구항 5

제 1 항에 있어서,

원형격자 구조에서 원형 선은 20 내지 30개 형성되는 것인 3차원 고분자 복합구조체.

#### 청구항 6

제 1 항에 있어서,

원형 선의 단면의 길이는 100 내지 1,000  $\mu\text{m}$ 인 3차원 고분자 복합구조체.

#### 청구항 7

제 1 항에 있어서,  
원형 선 사이의 간격은 500 내지 10,000  $\mu\text{m}$ 인 3차원 고분자 복합구조체.

#### 청구항 8

제 1 항에 있어서,  
원형격자 구조에서 원형격자의 중심을 기준으로 직선이 2 내지 12 개 형성되는 것인 3차원 고분자 복합구조체.

#### 청구항 9

제 8 항에 있어서,  
직선은 짝수 개로 형성되고, 상기 직선은 방사상 대칭으로 배열되는 것인 3차원 고분자 복합구조체.

#### 청구항 10

제 1 항에 있어서,  
직선의 단면의 길이는 100 내지 1,000  $\mu\text{m}$ 인 3차원 고분자 복합구조체.

#### 청구항 11

제 1 항에 있어서,  
나노섬유층을 형성하는 나노섬유의 단면의 평균 입경은 300 내지 600  $\text{nm}$ 인 3차원 고분자 복합구조체.

#### 청구항 12

제 1 항에 있어서,  
3차원 고분자 복합구조체의 투과 강도(puncture strength)는 1.5 Mpa 이상인 3차원 고분자 복합구조체.

#### 청구항 13

제 1 항에 있어서,  
유방 재건을 위한 이식재로 사용되는 3차원 고분자 복합구조체.

#### 청구항 14

(S1) 생분해성 고분자를 포함하는 제 1 고분자 용액을 3d 프린팅하여 3차원 고분자 복합체를 제조하는 단계; 및

(S2) 상기 3차원 고분자 복합체의 일면에 생분해성 고분자를 포함하는 제 2 고분자 용액을 전기방사하여 나노섬유층을 제조하는 단계를 포함하며,

상기 3차원 고분자 복합체는 둘 이상의 원형 선(circular line)을 포함하는 원형격자(circular grating) 구조를 가지고, 상기 원형격자의 중심을 기준으로 하나 이상의 직선(straight line)이 방사상(radial shape)으로 배열되어 있는 3차원 고분자 복합구조체의 제조 방법.

## 청구항 15

제 14 항에 있어서,

제 2 고분자 용액의 용매는 아세톤(acetone), 아세트에씨드(acetic acid), 디클로로메탄(dichloromethane), 클로로포름(chloroform), 디메틸포름아미드(dimethylformamide), 헥사플로로이소프로필알코올(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-isopropanol), 포믹에씨드(formic acid) 또는 이들의 혼합용매인 3차원 고분자 복합구조체의 제조 방법.

## 청구항 16

제 14 항에 있어서,

3d 프린팅에서 노즐 직경은 0.1 내지 0.5 mm이고,

노즐 온도는 80 내지 90℃이며,

토출 압력은 10 내지 100 psi이고

노즐 이동속도는 1 내지 5 mm/s인 3차원 고분자 복합구조체의 제조 방법.

## 청구항 17

제 14 항에 있어서,

전기방사에서 인가 전압은 5 내지 20 kv이고,

토출 속도는 0.1 내지 5 ml/hr이며,

주사기와 나노섬유층 포집기까지의 거리는 10 내지 30 cm인 3차원 고분자 복합구조체의 제조 방법.

## 발명의 설명

### 기술 분야

[0001] 본 발명은 유방 재건술용 무세포동종진피의 대체를 위한 3차원 고분자 복합구조체의 개발에 관한 것이다.

### 배경 기술

[0003] 유방 재건술은 유방암 치료를 위해 유방 절제술을 받은 여성환자를 대상으로 원래의 유방형태를 복원해주기 위한 성형수술이다. 한국유방암학회에 따르면, 최근 유방암은 대한민국 30대 여성의 13.5%, 40대 여성의 38.1%에서 발생하는 것으로 보고되고 있다. 이러한 현상은 유방암 검진주기와 진단기술의 발달로 유방암의 조기발견이 늘어나 야기되는 현상으로 보인다. 그러나, 유방암 발생에 따른 유방 절제술에 의한 삶의 질이 떨어져, 유방암 치료 후 대부분의 여성들은 심각한 정신적 고통을 앓고 있는 것으로 보고되고 있다.

[0004] 이러한 여성들의 삶의 질 향상을 위해 시행되는 유방재건술은 종양학적 안전성을 판별한 후, 자가조직 피관술과 실리콘 인공유방 삽입술로 시행되고 있다. 자가조직 피관술의 경우 공여부에 추가적인 흉터가 생기고, 좌우 유방의 비대칭이 발생하며, 수술 후 회복기간이 길다는 단점이 있다. 따라서, 최근에는 근육손상과 같은 부작용이 적고 간편한 실리콘 인공유방 삽입술을 많이 시행하고 있는 추세이다. 그리고, 실리콘 인공유방 삽입술 과정에서, 수술 후 수반되는 부작용과 성형 만족도를 높이기 위해 실리콘 인공유방을 삽입한 후 보형물을 감싸거나 인체에 고정, 봉합 시키기 위해 무세포 동종진피를 사용하고 있다.

[0005] 상기 무세포 동종진피는 해외에서 기증된 사체의 피부에서 얻은 진피조직을 탈세포화 과정을 통해 제조한 진피 재생용 의료기기로서, 다양한 피부손상 치료에 적용할 수 있는 의료기기이다. 상기 무세포 동종진피는 다른 의료기기에 비해 상당히 고가이며, 공급량이 제한적이고, 일정한 품질유지가 힘들다는 단점들이 존재한다. 따라서

유방재건술에 사용되는 무세포 동종진피를 대체할 수 있는 새로운 기술이 필요하다.

[0007] 한편, 전기방사법에 의해 제조되는 고분자 나노섬유 부직포는 1  $\mu\text{m}$  이하의 직경을 가지는 나노섬유들이 얹혀 있는 부직포 형태를 가진다. 상기 나노섬유 부직포는 나노섬유의 고분자 종류에 따라 세포친화도 및 기계적 물성을 조절할 수 있다. 특히, 생체적합성이 뛰어난 고분자를 사용하여 나노섬유 부직포를 제작할 경우, 세포배양용 지지체로 응용이 가능하여 이를 활용한 많은 연구들이 진행되어 왔다. 이러한 생체적합성 고분자로 합성고분자를 사용하며, 상기 합성고분자는 천연고분자와 달리 기계적 물성이 뛰어나고, 분자량이 균일하여 이를 활용한 의료기기 개발 시 품질유지가 용이한 장점이 있다. 특히, 합성고분자 중 폴리카프로락톤은 인체 내에서 당대사에 의해 완전히 흡수되는 생체적합성 고분자로 알려져 있으며, 이를 인체 삽입용 보형물로 많이 이용하고 있다. 하지만, 폴리카프로락톤을 전기방사기법을 활용하여 나노섬유 부직포 형태로 제조할 경우, 500  $\mu\text{m}$  이상의 두께를 가지는 부직포 제조가 힘들며, 봉합사를 이용한 체내 고정이 불가능하다는 한계점이 존재한다.

## 선행기술문헌

### 특허문헌

[0009] (특허문헌 0001) 1. 대한민국 등록특허 제10-1127112호  
(특허문헌 0002) 2. 대한민국 등록특허 제10-1747387호

## 발명의 내용

### 해결하려는 과제

[0010] 본 발명은 전술한 문제를 해결하기 위한 것으로, 종래 유방 재건술에 사용되는 무세포 동종진피를 대체할 수 있는 생체적합성 고분자 복합구조체 형태의 의료기기를 제공하는 것을 목적으로 한다.

### 과제의 해결 수단

[0012] 본 발명은 3차원 고분자 복합체; 및  
[0013] 상기 3차원 고분자 복합체의 일면에 형성되는 나노섬유층을 포함하고,  
[0014] 상기 3차원 고분자 복합체 및 나노섬유층은 각각 생분해성 고분자를 포함하며,  
[0015] 상기 3차원 고분자 복합체는 둘 이상의 원형 선(circular line)을 포함하는 원형격자(circular grating) 구조를 가지고, 상기 원형격자의 중심을 기준으로 하나 이상의 직선(straight line)이 방사상(radial shape)으로 배열되어 있는 3차원 고분자 복합구조체를 제공한다.  
[0017] 본 발명은 또한, (S1) 생분해성 고분자를 포함하는 제 1 고분자 용액을 3d 프린팅하여 3차원 고분자 복합체를 제조하는 단계; 및  
[0018] (S2) 상기 3차원 고분자 복합체의 일면에 생분해성 고분자를 포함하는 제 2 고분자 용액을 전기방사하여 나노섬유층을 제조하는 단계를 포함하며,  
[0019] 상기 3차원 고분자 복합체는 둘 이상의 원형 선(circular line)을 포함하는 원형격자(circular grating) 구조를 가지고, 상기 원형격자의 중심을 기준으로 하나 이상의 직선(straight line)이 방사상(radial shape)으로 배열되어 있는 3차원 고분자 복합구조체의 제조 방법을 제공한다.

### 발명의 효과

[0021] 본 발명에 따른 3차원 고분자 복합구조체는 3d 프린팅 기법과 전기방사기법을 활용하여 제조하여, 고가이며, 한정된 공급 물량과 품질 유지가 어려웠던 종래의 무세포 동종세포진피 대체를 대체할 수 있다.  
[0022] 또한, 본 발명에 따른 3차원 고분자 복합구조체는 봉합사를 이용한 체내 고정이 용이하고, 인공유방 보형물을 감쌀 수 있으며, 체내 염증을 유발하지 않으면서, 우수한 기계적 물성을 가져 유방 재건수술에 필수적인 의료기기로 활용 가능하다.  
[0023] 또한, 본 발명에서는 고분자 복합 구조체의 내부에 자가지방조직을 담지하고 이를 인공유방 보형물과 같이 삽입

하여, 주변 지방조직과 융합을 통해 수술에 따른 부작용을 최소화할 수 있고, 미용/성형 효과를 극대화할 수 있다.

### 도면의 간단한 설명

- [0025] 도 1은 본 발명의 3차원 고분자 복합구조체의 제조 과정을 나타내는 모식도 및 본 발명의 실시예에서 제조된 3차원 고분자 복합구조체의 사진을 나타낸다.
- 도 2는 본 발명의 실시예에서 제조된 3차원 고분자 복합구조체와 비교예에서 제조된 3차원 고분자 복합체, 실리콘 및 무세포 동종진피(ADM, ALLODERM, Allergan, USA)의 사진을 나타낸다.
- 도 3은 본 발명의 실시예에서 제조된 3차원 고분자 복합구조체의 투과강도를 분석하기 위한 측정 방법 및 계산식을 나타낸다.
- 도 4는 본 발명의 실시예에서 제조된 3차원 고분자 복합구조체 및 비교예에서 제조된 3차원 고분자 복합체, 실리콘 및 무세포 동종진피의 투과강도 측정 결과를 나타낸다.
- 도 5는 본 발명의 실시예에서 제조된 3차원 고분자 복합구조체의 표면 및 45도 틀어진 각도에서의 이미지를 나타낸다.
- 도 6 및 도 7은 본 발명의 실시예에서 제조된 3차원 고분자 복합구조체의 표면에 지방유래 줄기세포를 배양 후 얻은 세포 친화성 평가 결과를 나타낸다.
- 도 8 및 도 9는 본 발명의 실시예에서 제조된 3차원 고분자 복합구조체에서 배양된 지방유래 줄기세포의 지방분화 평가 결과를 나타낸다.
- 도 10은 본 발명의 실시예에서 제조된 3차원 고분자 복합구조체에서 배양된 지방유래 줄기세포의 지방분화도를 qPCR을 통해 분석한 결과를 나타낸다.
- 도 11 및 도 12는 본 발명의 실시예에서 제조된 3차원 고분자 복합구조체에서 배양된 지방유래 줄기세포의 지방분화도를 공초점 형광현미경을 통해 관찰 및 정량한 결과를 나타낸다.
- 도 13 및 도 14은 본 발명의 실시예에서 제조된 3차원 고분자 복합구조체의 생체친화성을 분석하기 위하여, 1 내지 3 주에 걸쳐 SD rat의 등쪽 피하에 상기 3차원 고분자 복합구조체를 실리콘 보형물과 같이 이식하여 얻은 동물실험 결과를 나타낸다.
- 도 15는 본 발명의 실시예에서 제조된 3차원 고분자 복합구조체의 유방보형물 삽입술과 자가지방 이식술에의 동시적용 가능성을 분석하기 위하여, 1 내지 4 주에 걸쳐 rat의 피하에 SD rat의 사타구니에서 채취한 자가지방, 3차원 고분자 복합구조체 및 실리콘 보형물을 같이 이식하여 얻은 동물실험 결과(지방의 활성화 분석 결과)이다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0026] 본 발명은 3차원 고분자 복합체; 및
- [0027] 상기 3차원 고분자 복합체의 일면에 형성되는 나노섬유층을 포함하는 3차원 고분자 복합구조체에 관한 것이다.
- [0028] 본 발명의 실시예에서는 3차원 고분자 복합구조체의 표면형상 및 물리적 특성을 분석하고, 또한 상기 3차원 고분자 복합구조체에 지방유래 줄기세포를 배양한 후 세포와의 친화성 및 지방분화유도능 등을 분석하였다. 이를 통해, 상기 3차원 고분자 복합구조체는 종래의 나노섬유 부직포를 사용했을 경우와 비교하여 향상된 물성을 가지며, 우수한 세포 친화성 및 지방분화유도능을 가짐을 확인하였다. 또한, 3차원 고분자 복합구조체의 보형물 삽입술과 자가지방 이식술이 결합된 유방재건술에의 적용 가능성을 확인하였다.
- [0030] 이하, 본 발명의 3차원 고분자 복합구조체를 보다 상세하게 설명한다.
- [0031] 본 발명에서 3차원 고분자 복합구조체의 평균 직경은 10 내지 15 cm 또는 12 내지 15 cm일 수 있다. 상기 직경 범위에서 사람의 유방 재건을 위한 이식재로 사용시 가슴 보형물을 감쌀 수 있으며, 주변부 근육과 봉합시 기계적 물성을 유지할 수 있다. 본 발명의 실시예에서는 세포실험과 동물실험을 위하여 평균 직경을 1.5 cm로 제작하였다.
- [0032] 또한, 3차원 고분자 복합구조체의 두께는 1.0 내지 5.0 mm 또는 1.5 내지 4.0 mm일 수 있다. 종래의 나노섬유



부직포의 경우 500  $\mu\text{m}$  이상의 두께를 가지는 부직포 제조가 불가능하므로, 봉합사를 이용한 체내 고정이 불가능하였다. 본 발명에서는 상기 두께 범위의 3차원 고분자 복합구조체를 제공하여, 종래의 나노섬유 부직포의 한계점을 극복할 수 있으며, 봉합사를 이용한 체내 고정이 가능하다.

- [0033] 본 발명에서 3차원 고분자 복합체는 후술할 나노섬유층을 지지할 수 있으며, 3차원 고분자 복합구조체에 강도를 부여할 수 있다.
- [0034] 상기 3차원 고분자 복합체는 생분해성 고분자를 포함하며, 구체적으로 생분해성 합성고분자를 포함할 수 있다. 상기 생분해성 합성고분자는 천연고분자와 비교하여 기계적 물성이 우수하며, 분자량이 균일하여 이를 생체내 이식재, 즉, 의료기기로서 적용할 경우 품질 유지가 용이한 장점을 가진다. 또한, 고분자의 종류에 따라 세포친화도 및 기계적 물성을 조절할 수 있다.
- [0035] 일 구체예에서, 상기 생분해성 고분자는 폴리카프로락톤(Polycaprolactone), 폴리락티에씨드(Poly (l-lactic acid)), 폴리글루콜릭에씨드(Poly(glycolic acid)), 폴리락틱-글루콜릭에씨드 공중합체(Poly(lactic-co-glycolic acid)), 폴리락틱-카프로락톤 공중합체(Poly(L-Lactide-co- $\epsilon$ -Caprolactone)) 및 이들의 혼합물로 이루어진 그룹으로부터 선택된 1종 이상을 포함할 수 있으며, 구체적으로 폴리카프로락톤(Polycaprolactone)일 수 있다. 상기 폴리카프로락톤은 인체 내에서 당대사에 의해 완전히 흡수되므로 본 발명의 3차원 고분자 복합구조체에 용이하게 적용될 수 있다.
- [0036] 또한, 일 구체예에서, 상기 생분해성 고분자의 분자량( $M_w$ )은 10,000 내지 100,000 내지 10,000 내지 800,000일 수 있다. 저분자량을 가질 경우 독성을 나타낼 우려가 있고 분해속도가 너무 빨라지므로, 상기 범위의 분자량을 가지는 고분자를 사용하는 것이 좋다.
- [0037] 본 발명에서 3차원 고분자 복합체의 표면, 즉, 나노섬유층이 형성되는 면은 둘 이상의 원형 선(circular line)을 포함하는 원형격자(circular grating) 구조를 가진다. 본 발명에서 "격자(grating) 구조"는 주기적 또는 준주기적 구조를 가지는 무늬를 의미하며, 상기 격자 구조로는 직선격자(liner grating), 원형격자(circular grating), 방사형격자(radial grating), EC 격자(elongated circular grating) 또는 MRP 격자(matched radial parallel grating) 등을 들 수 있다. 그리고, 원형격자(circular grating) 구조는 중심점을 기준으로 둘 이상의 원형 선으로 구성된 무늬를 의미한다. 이때, 원형은 진원에 한정되지 않으며, 타원형 등을 포함하는 각이 없는 모든 형태를 의미할 수 있다. 본 발명에서는 원형격자 구조를 가지는 3차원 고분자 복합체를 사용하여 유방 재건을 위한 이식재로 적용시 가슴보형물을 안정적으로 감쌀 수 있으며, 용도에 알맞은 물성을 부여할 수 있다.
- [0038] 일 구체예에서, 원형격자 구조는 원형 선을 20 내지 30 개 또는 23 내지 27 개 포함할 수 있다. 상기 원형 선의 수는 3차원 고분자 복합구조체가 적용되는 대상의 필요 목적에 따라 적절히 조절될 수 있다. 본 발명의 실시예에서는 세포실험과 동물실험을 위하여 원형 선을 5개로 제작하였다.
- [0039] 일 구체예에서, 원형 선의 단면의 길이는 100 내지 1,000  $\mu\text{m}$  또는 200 내지 500  $\mu\text{m}$ 일 수 있다. 상기 길이가 100  $\mu\text{m}$  미만이면 구조체의 구조를 유지할 수 없으며 강도 등의 물성이 너무 낮아져 이식재료의 사용에 적합하지 않다. 또한, 1,000  $\mu\text{m}$ 를 초과하면 신축성이 저하될 우려가 있다.
- [0040] 일 구체예에서, 둘 이상의 원형 선에서 하나의 원형 선과 이웃하는 원형 선의 간격은 500 내지 10,000  $\mu\text{m}$  또는 500 내지 5,000  $\mu\text{m}$ 일 수 있다. 상기 간격 범위에서 강도와 신축성이 모두 우수하다. 상기 원형 선 사이의 간격이 둘 이상 존재할 경우, 상기 간격들은 동일할 수 있으며, 간격의 오차는 20% 이하, 10% 이하, 또는 5% 이하일 수 있다. 동일한 간격을 가지는 것이 3차원 고분자 복합구조체 전체에 걸쳐 균일한 특성(물성 및 체내에 적용시 세포 반응성)을 가질 수 있다.
- [0041] 본 발명에서, 원형격자는 상기 원형격자의 중심을 기준으로 하나 이상의 직선(straight line)이 방사상(radial shape)으로 배열되어 있을 수 있다. 상기 직선은 고분자 지지체의 구조 유지에 도움을 주며, 강도 및 신축성 등의 물성 조절 역할을 할 수 있다.
- [0042] 일 구체예에서, 상기 직선은 2 내지 12 개, 또는 4 내지 10 개로 형성될 수 있다. 상기 직선은 짝수 개로 형성될 수 있으며, 이때 직선은 방사상 대칭으로 배열될 수 있다. 또한, 상기 직선이  $n$  개 형성될 경우, 상기 방사상으로 형성되는 직선들 사이의 각도는  $360^\circ/n$  도 일 수 있다.
- [0043] 일 구체예에서, 직선의 단면의 길이는 100 내지 1,000  $\mu\text{m}$  또는 200 내지 500  $\mu\text{m}$ 일 수 있다. 상기 길이가 100  $\mu\text{m}$  미만이면 구조체의 구조를 유지할 수 없으며 강도 등의 물성이 너무 낮아져 이식재료의 사용에 적합하지 않다. 또한, 1,000  $\mu\text{m}$ 를 초과하면 신축성이 저하될 우려가 있다.



- [0044] 또한, 일 구체예에서, 3차원 고분자 복합체의 평균 직경은 10 내지 15  $\mu\text{m}$ 일 수 있으며, 상기 값은 3차원 고분자 복합구조체와 동일할 수 있다.
- [0045] 또한, 3차원 고분자 복합체의 두께는 0.5 내지 10  $\mu\text{m}$ 일 수 있다. 상기 두께 범위에서 이식재료의 물성을 보유할 수 있으며, 나노섬유층의 안정적인 형성 및 부착이 가능하다.
- [0046] 본 발명에서 나노섬유층은 3차원 고분자 복합체의 일면에 형성된다.
- [0047] 상기 나노섬유층은 생분해성 고분자를 포함하고, 구체적으로 생분해성 합성고분자일 수 있으며, 폴리카프로락톤(Polycaprolactone), 폴리락티드(Poly (l-lactic acid)), 폴리글리콜릭에씨드(Poly(glycolic acid)), 폴리락티드-글리콜릭에씨드공중합체(Poly(lactic-co-glycolic acid)), 폴리락티드-카프로락톤 공중합체(Poly(L-Lactide-co- $\epsilon$ -Caprolactone)) 및 이들의 혼합물로 이루어진 그룹으로부터 선택된 1종 이상을 포함할 수 있다. 본 발명에서는 생분해성 고분자로 3차원 고분자 복합체에 포함되는 생분해성 고분자와 동일한 고분자를 사용할 수 있으며, 이를 통해 나노섬유층과 3차원 고분자 복합체와의 부착성 또는 접합성을 향상시킬 수 있다.
- [0048] 일 구체예에서, 나노섬유층의 직경은 전술한 3차원 고분자 복합구조체의 직경 및 3차원 고분자 복합체의 직경과 동일할 수 있다. 또한, 나노섬유층의 두께는 100  $\mu\text{m}$  내지 500  $\mu\text{m}$ 일 수 있다. 상기 두께 범위에서 유방 재건을 위한 이식재료로서 용이하게 사용할 수 있으며, 세포 반응성이 매우 우수하다.
- [0049] 또한, 일 구체예에서, 나노섬유층을 형성하는 나노섬유의 단면의 평균직경은 300 내지 600  $\mu\text{m}$ 일 수 있다. 즉, 나노섬유층은 평균직경이 300 내지 600  $\mu\text{m}$ 인 나노섬유들이 얹혀 있는 부직포 형태를 가진다.
- [0050] 또한, 본 발명에 따른 3차원 고분자 복합구조체는 지방조직을 포함할 수 있다. 일 구체예에서, 상기 지방조직은 나노섬유층이 형성되지 않은 3차원 고분자 복합체의 일면에 위치할 수 있다. 상기 지방조직은 3차원 고분자 복합구조체와 함께 체내에 이식되어, 상기 이식된 지방조직의 활성을 유지시키며, 주변 조직과의 친화성이 우수하고, 염증반응이 없다. 또한, 유방 재건에 사용되는 가슴 보형물의 이동 및 하중을 견딜 수 있다.
- [0051] 본 발명에 의해 제조된 3차원 고분자 복합구조체는 체내 이식재료로서 사용할 수 있으며, 구체적으로 유방 재건을 위한 이식재료로서 의료기기로 사용할 수 있다.
- [0052] 생분해성 고분자를 사용한 의료기기는 1) 체내 삽입시 염증유발이 없어야 하며, 2) 주변 지방조직과의 생체적합성 및 용착이 우수해야 하고, 3) 가슴 보형물을 감싸거나 주변부 근육과 봉합시 기계적 물성을 유지해야 한다. 본 발명에 따른 3차원 고분자 복합구조체는 상기 조건을 모두 만족하여, 의료기기로써 용이하게 사용할 수 있다.
- [0053] 일 구체예에서, 3차원 고분자 복합구조체가 유방 재건을 위한 이식재료로 사용될 경우, 상기 3차원 고분자 복합구조체의 나노섬유층이 가슴 보형물과 맞닿을 수 있다.
- [0054] 일 구체예에서, 3차원 고분자 복합구조체의 투과 강도(puncture strength)는 1.5 Mpa 이상 또는 1.7 MPa 이상일 수 있다. 상기 범위에서 강도 및 신축성이 모두 우수하여 생체 이식재료로 용이하게 적용할 수 있다. 이때, 투과 강도는 Texture analyser(TA XT Plus, UK)를 이용하여 측정된 값을 나타낸다.
- [0055] 또한, 본 발명에서는 3차원 고분자 복합구조체를 인체에 고정하기 위한 추가의 구성을 추가로 포함할 수 있다.
- [0056] 또한, 본 발명에 따른 3차원 고분자 복합구조체는 전술한 유방 재건을 위한 이식재 외에 미용/성형의 목적으로 인체 국소부위에 전달/고정을 위한 용도로 적용될 수 있다.
- [0058] 또한, 본 발명은 전술한 3차원 고분자 복합구조체의 제조 방법에 관한 것이다.
- [0059] 본 발명의 제조 방법은 (S1) 생분해성 고분자를 포함하는 제 1 고분자 용액을 3d 프린팅하여 3차원 고분자 복합체를 제조하는 단계; 및
- [0060] (S2) 상기 3차원 고분자 복합체의 일면에 생분해성 고분자를 포함하는 제 2 고분자 용액을 전기방사하여 나노섬유층을 제조하는 단계를 포함한다.
- [0062] 본 발명에서 (S1) 단계는 생분해성 고분자를 포함하는 제 1 고분자 용액을 3d 프린팅하여 3차원 고분자 복합체를 제조하는 단계이다.
- [0063] 상기 단계를 통해 둘 이상의 원형 선을 포함하는 원형격자 구조를 가지고, 상기 원형격자의 중심을 기준으로 하나 이상의 직선이 방사상으로 배열되어 있는 3차원 고분자 복합구조체를 제조할 수 있다. 상기 원형격자 구조는

3차원 고분자 복합구조체에서 전술한 원형격자일 수 있다.

[0064] 일 구체예에서, 제 1 고분자 용액은 별도의 용매를 사용하지 않고 제 1 고분자를 열에 의해 액상으로 제조하여 사용할 수 있다.

[0065] 일 구체예에서, 3d 프린팅은 당업계에서 일반적으로 사용하는 방법을 제한없이 사용할 수 있다.

[0066] 구체적으로 3d 프린팅 시, 노즐에서 필라멘트가 토출되며, 상기 필라멘트는 미리 설정된 구조에 따라 3차원 고분자 복합체로 제작될 수 있다. 즉, 상기 3차원 고분자 복합체는 필라멘트의 적층체이다. 상기 필라멘트의 적층수에 따라 3차원 고분자 복합체의 높이가 결정될 수 있으며, 목적하는 물성치 및 적용 용도에 따라 적층 횟수를 결정할 수 있다.

[0067] 또한, 제조하고자 하는 3차원 고분자 복합체의 형상 및 사이즈에 따라 3d 프린팅 조건을 적절히 조절할 수 있는데, 예를 들어, 노즐 직경은 0.1 내지 0.5 mm일 수 있고, 노즐 온도는 80 내지 90℃일 수 있으며, 토출 압력은 10 내지 100 psi 또는 50 내지 100 psi일 수 있고, 노즐 이동속도는 1 내지 5 mm/s 또는 2 내지 5 mm/s일 수 있다. 상기 범위에서 목적하는 물성을 가지는 3차원 고분자 복합체 및 복합구조체를 제조할 수 있다.

[0068] 본 발명에서 (S2) 단계는 상기 (S1) 단계에서 제조된 3차원 고분자 복합체의 일면에 생분해성 고분자를 포함하는 제 2 고분자 용액을 전기방사하여 나노섬유층을 제조하는 단계이다.

[0069] 일 구체예에서, 제 2 고분자 용액의 용매는 아세톤(acetone), 아세트에씨드(acetic acid), 디클로로메탄(dichloromethane), 클로로포름(chloroform), 디메틸포름아미드(dimethylformamide), 헥사플로로이소프로필알코올(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-isopropanol), 포믹에씨드(formic acid) 또는 이들의 혼합용매일 수 있다.

[0070] 일 구체예에서, 전기방사는 당업계에서 일반적으로 사용하는 방법을 제한없이 사용할 수 있다.

[0071] 일 구체예에서, 제조하고자 하는 나노섬유층의 두께 및 나노섬유의 직경에 따라 전기방사 조건, 즉 인가 전압, 고분자 용액의 농도 및 토출 속도 등을 적절히 조절할 수 있으며, 예를 들어, 인가 전압은 5 내지 20 kV 또는 10 내지 15 kV일 수 있고, 토출 속도는 0.1 내지 5 ml/hr 또는 0.5 내지 2 ml/hr일 수 있으며, 주사기와 나노섬유층 포집기까지의 거리는 10 내지 30 cm일 수 있다.

[0072] 상기 단계를 통해 3차원 고분자 복합체의 일면에 나노섬유층이 형성되며(3차원 고분자 복합구조체 제조), 상기 3차원 고분자 복합체 및 나노섬유층은 우수한 부착성 및 접착성을 가질 수 있다.

[0073] 또한, 본 발명에서는 (S2) 단계에서 제조된 3차원 고분자 복합구조체에 지방조직을 담지하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 상기 지방조직은 3차원 고분자 복합구조체의 나노섬유층이 형성되지 않은 3차원 고분자 복합체 상에 담지할 수 있다.

[0074] 상기 단계에서 지방조직은 지방흡입술에 의해 채취한 것일 수 있다. 상기 지방조직을 담지하여, 체내에 이식될 경우 이식된 지방조직의 활성을 유지시키며, 주변조직과의 친화성 우수하며, 염증반응을 줄일 수 있다.

[0076] 하기 실시예를 통하여 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기로 한다. 그러나, 본 발명의 범주는 하기 실시예에 한정되는 것이 아니며 첨부된 특허청구범위에 기재된 사항에 의해 도출되는 기술적 사항을 벗어나지 않는 범위 내에서 다양한 변형, 수정 또는 응용이 가능하다는 것을 당업자는 이해할 수 있을 것이다.

## [0078] 실시예

### [0079] 실시예 1. 3차원 고분자 복합구조체의 제조

#### [0080] (1) 3d 프린팅을 이용한 3차원 고분자 복합체 제조

[0081] 3d 프린터(Biobot사, USA)를 사용하여 3차원(3d) 고분자 복합체를 제조하였다.

[0082] 고분자로 폴리카프로락톤(Polycaprolactone, sigma aldrich, USA)을 사용하였으며, 노즐 직경 0.1~0.5 mm, 노즐 온도 80~90℃, 토출 압력 50~100 psi, 노즐 이동속도 2~5 mm/s의 조건에서 도 1과 같은 구조를 가지는 3차원 고분자 복합체를 제조하였다. 상기 제조된 3차원 고분자 복합체는 원형격자의 중심을 기준으로 8개의 직선이 방사상으로 형성된 구조(직선들 사이의 각도 45°)를 가졌다.

[0083] 상기 제조한 3차원 고분자 복합체를 약 30분 동안 70% 에탄올로 세척하여 이물질을 제거하고, 건조하였다.

#### [0085] (2) 전기방사법을 사용한 3차원 고분자 복합구조체 제작

- [0086] 전술한 (1)에서 3d 프린팅으로 제조한 3차원 고분자 복합체의 한쪽면에 도 1과 같이 전기방사방법으로 폴리카프로락톤 나노섬유를 포집 및 접착 하여, 3차원 고분자 복합구조체를 제작하였다.
- [0087] 구체적으로, 폴리카프로락톤 6 중량%를 헥사플로로이소프로필알코올((1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-isopropanol, TCI, Japan)에 녹여 고분자 용액을 준비하였다. 그 후, 인가 전압 12 kv, 토출 속도 1ml/hr 및 주사기와 나노섬유층 포집기까지의 거리 10-20 cm의 조건으로 고분자 용액을 3차원 고분자 복합체에 전기방사하여 3차원 고분자 복합구조체를 제조하였다.
- [0088] 상온에서 12시간 건조하여 잔류 용매를 제거하고, 이후 추가적으로 70% 에탄올 용액을 사용하여 6 시간 동안 이 물질을 제거하였다.
- [0089] 상기 제조된 3차원 고분자 복합구조체의 표면형상, 물리적 특성, 세포 반응성 및 지방분화유도능을 평가하였고, 동물실험을 통해 생체친화성 및 유방 재건술로의 적용 가능성을 분석하였다.
- [0091] **비교예 1. 3d 프린팅을 이용한 3차원 고분자 복합체 제조**
- [0092] 실시예 1의 (1)의 방법을 이용해 3차원 고분자 복합체를 제조하였다.
- [0093] 이때, 3차원 고분자 복합체는 원형격자의 중심을 기준으로 각각 4개의 직선(직선들 사이의 각도  $90^{\circ}$  ), 6개의 직선(직선들 사이의 각도  $60^{\circ}$  ) 및 8개의 직선(직선들 사이의 각도  $45^{\circ}$  )를 가졌다. 이들을 각각 3D PCL( $90^{\circ}$  ), 3D PCL( $60^{\circ}$  ), 3D PCL ( $45^{\circ}$  )로 표현하였으며, 비교군으로 사용하였다.
- [0095] **비교예 2. 전기방사방법을 사용한 폴리카프로락톤 나노섬유 제조**
- [0096] 실시예 1의 (2)의 전기방사 방법으로 폴리카프로락톤 나노섬유를 제조하였다.
- [0098] **비교예 3. 가슴보형물 모사를 위한 실리콘 필름 제조**
- [0099] 가슴보형물의 원료인 실리콘(Polydimethylsiloxane, SYLGARD® 184 SILICONE ELASTOMER, Dow Corning, USA)을 경화제와 10:1의 무게비로 혼합하고,  $60^{\circ}\text{C}$ 의 온도에서 12시간 동안 열중합시켜 실리콘 필름을 제조하였다.
- [0101] **비교예 4. 무세포 동종진피**
- [0102] 시판용 무세포 동종진피(ALLODERM, Allergan, USA)를 사용하였다.
- [0104] **실험예. 3차원 고분자 복합구조체 특성분석**
- [0105] **(1) 3차원 고분자 복합구조체의 물리적 특성 분석**
- [0106] 3차원 고분자 복합구조체의 물리적 특성을 분석하기 위해, 투과강도 측정을 실시하였다.
- [0107] 이를 위해, 도 2에 나타난 바와 같이, 실시예 1에서 제조된 3차원 고분자 복합구조체(3D PCL/NFs 또는 3D PCL ( $45^{\circ}$  )/NFs), 비교예 1에서 제조된 3차원 고분자 복합체(3D PCL( $90^{\circ}$  ), 3D PCL( $60^{\circ}$  ), 3D PCL ( $45^{\circ}$  )), 비교예 2에서 제조된 폴리카프로락톤 나노섬유(PCL NFs), 비교예 3에서 제조된 실리콘 필름(Silicone) 및 비교예 4의 무세포 동종진피(ADM)를 각각의 그룹으로 하고, 각 그룹별로 5 개의 시료를 대상으로 Texture analyser(TA XT Plus, UK)를 이용하여 투과강도를 측정하였다.
- [0108] 상기 투과강도 측정 방법 및 계산식은 도 3과 같다.
- [0109] 상기 측정 결과를 도 4 및 하기 표 1에 나타내었다.

표 1

	Max Force (N)	Displacement (mm)	Puncture Strength (MPa)	Elongation (%)
Silicone film	21.06±1.29	3.83±1.15	1.12±0.08	43.57±3.74
Acellular dermal matrix	23.18±3.95	2.76±1.34	1.32±0.25	31.45±5.91
3D PCL (90°)	14.79±3.57	6.17±2.74	0.71±0.19	85.49±9.14
3D PCL (60°)	16.01±4.63	5.85±1.87	0.86±0.16	81.25±6.79
3D PCL (45°)	28.26±3.41	7.91±1.51	1.46±0.14	115.28±10.14
3D PCL(45°)/NFs	33.51±2.61	6.34±0.91	1.71±0.11	118.15±8.15
PCL NFs	7.65±1.91	6.91±1.15	0.39±0.04	93.84±4.65

[0111]

[0113] 도 4 및 표 1에 나타난 바와 같이, 비교예 2의 폴리카프로락톤 나노섬유(PCL NFs)는 약 0.4 MPa의 투과강도가 측정된 반면, 비교예 1의 3차원 고분자 복합체는 직선의 수가 증가할수록 투과강도가 2 배에서 3 배 증가된 것을 확인할 수 있다.

[0114] 또한, 동일한 수의 직선을 가지는 실시예 1의 3차원 고분자 복합구조체(3D PCL/NFs) 및 3D PCL (45°)를 비교하면, 나노섬유를 추가로 접합시킨 실시예가 약 17% 이상 물리적 물성이 증가한 것을 확인할 수 있었다.

[0115] 특히, 현재 시판 중인 무세포 동종진피를 생리식염수에 적신 후 투과강도를 측정한 결과 실리콘에 비해 약 63%에 해당되는 투과강도를 보인 반면, 본 발명의 3차원 고분자 복합구조체는 실리콘 보다 약 150% 이상의 증가된 투과 강도를 보였다. 이를 통해 본 발명의 3차원 고분자 복합구조체가 가슴보형물을 물리적으로 지지할 수 있는 적합한 물성을 가지는 것을 확인할 수 있었다.

### [0117] (2) 3차원 고분자 복합구조체의 미세 형상 분석

[0118] 실시예 1에서 제조된 3차원 고분자 복합구조체의 형상을 분석하기 위해, 전자현미경(GeminiSEM 500, ZEISS, Germany)을 사용하여 상부, 하부, 45도 틀어진 측면 이미지를 도 5와 같이 촬영하였다. 상기 도 5에서 (A) 내지 (C)는 상부, (D) 내지 (F)는 하부 및 (G) 내지 (I)는 측면 이미지이다.

[0119] 상기 도 5에 나타난 바와 같이, 3차원 고분자 복합구조체는 나노섬유와 3차원 고분자 복합체가 결합된 것을 확인할 수 있다. 상기 상부와 하부의 2 곳을 특정하여 10,000배의 배율로 촬영한 본 결과, 전기방사법에 의해 형성된 폴리카프로락톤 나노섬유를 관찰할 수 있으며, 나노섬유의 직경은 300 내지 600 nm인 것을 확인할 수 있다(도 5 (A) 내지 (F)).

[0120] 또한, 45도 틀어진 측면 이미지를 보면, 3차원 고분자 복합구조체의 접합을 확인할 수 있다. 구체적으로, 다공성의 폴리카프로락톤 나노섬유는 3차원 고분자 복합체에 안정적으로 잘 부착되어 있는 것을 확인할 수 있다(도 5 (G) 내지 (I)).

### [0122] (3) 3차원 고분자 복합구조체의 세포 반응성 평가

[0123] 3차원 고분자 복합구조체의 세포 영향을 분석하기 위해, 실시예 1 및 비교예 1의 샘플 표면에 지방유래 줄기세포(Adipose tissue-derived stem cells)를 배양하여 세포의 반응성을 평가하였다.

[0124] 구체적으로, Tissue culture plate(TCP, Corning, USA)의 바닥면에 유방보형물을 모사한 의료용 실리콘 필름(비교예 3, silicone)을 고정시킨 후, 실시예 1의 3차원 고분자 복합구조체(3D PCL(45°)/NFs) 및 비교예 1의 3차원 고분자 복합체(3D PCL(45°))를 놓고 각각 5000 개의 지방유래 줄기세포(ADSCs, 계대수: 4번, Lonza, USA)를 배양하였다. 이후 7 일간에 걸쳐 각 샘플이 지방유래 중간엽 줄기세포에 미치는 영향을 Cell counting kit(CCK-8, Dojindo Molecular Technologies, JAPAN)와 공초점형광현미경 (LSM700, Zeiss, Germany)을 이용하여 분석하였다. 이때, 세포배양배지로 Dulbecco's Modified Eagle Medium(DMEM, low glucose, Invitrogen, USA)에 10 v/v% Fetal bovine serum(FBS, Welgene, Korea)와 1 v/v% antibiotics(Welgene, Korea)가 혼합된 배지를



사용하였고, 37℃에서 5% 농도의 이산화탄소의 조건에서 세포를 배양하였으며, 배양 시작 후 1, 4, 7 일에 걸쳐 세포를 관찰 및 분석하였다.

[0125] 또한, 비교군으로 TCP 또는 실리콘 필름 상에 지방유래 줄기세포를 배양하였다.

[0127] 상기 분석 결과를 도 6 및 도 7에 나타내었다.

[0128] 상기 도 6에 나타난 바와 같이, 배양초기 1 일차에는 TCP에 배양된 지방유래 줄기세포의 활성도와 비교하여 실리콘 필름과 실시예 1 및 비교예 1의 샘플에 배양된 세포의 활성도는 약 30% 정도로, 실리콘 필름과 실시예 1의 3차원 고분자 복합구조체(3d PCL(45°)/NFs on silicone) 및 비교예 1의 3차원 고분자 복합체(3d PCL(45°) on silicone) 사이에는 통계적으로 차이를 발견할 수 없었다. 이러한 경향은 배양 7일차까지 유지되었다.

[0129] 또한, 도 7에 나타난 바와 같이, 실리콘 필름과 실시예 1의 3차원 고분자 복합구조체(3d PCL(45°)/NFs) 및 비교예 1의 3차원 고분자 복합체(3d PCL(45°)) 간에 유사한 세포친화성을 가지는 것을 확인할 수 있다.

#### [0131] (4) 3차원 고분자 복합구조체의 지방분화 유도능 평가

[0132] 3차원 고분자 복합구조체의 세포 영향을 분석하기 위해, 샘플 표면에 지방유래 줄기세포(Adipose tissue-derived stem cells)를 2주 간 배양하여 지방분화능을 평가하였다.

[0133] 구체적으로, TCPs와 TCPs 바닥면에 실리콘 필름을 고정시킨 후, 실시예 1의 3차원 고분자 복합구조체(3D PCL(45°)/NFs) 및 비교예 1의 3차원 고분자 복합체(3D PCL(45°))를 각각 위치시키고, 각각 5000개의 지방유래 줄기세포를 배양하였다. 세포의 안정적인 부착을 위해 1일 간 세포증식용 배지(StemPro® MSC SFM XenoFree, Thermo, USA)에서 세포 배양 후 14일 동안 지방분화배지(StemPro Adipogenesis Differentiation Kit, Thermo, USA)에서 배양하였다.

[0134] 또한, 비교군으로 TCP 또는 실리콘 필름 상에 지방유래 줄기세포를 배양하였다.

[0136] 상기 샘플들의 지방분화능을 비교분석하여 도8, 도9, 도10, 도11 및 도12에 나타내었다.

[0137] 먼저, 도 8은 지방유래 줄기세포의 지방분화유도 7일 차와 14일 차에 각각 Oil Red O 염색을 통해 지방분화 정도를 관찰한 결과를 나타낸다. 상기 도 8에 나타난 바와 같이, 지방분화유도 7일 차까지는 각 그룹간 지방분화능의 차이를 관찰할 수 없었다. 그러나, 14일 차에는 TCPs보다 실리콘 필름과 3D PCL(45°)에서 배양된 지방유래 줄기세포가 세포의 숫자는 적지만, 지방으로의 분화가 월등히 많은 것을 확인할 수 있다.

[0138] 이러한 결과를 정량적으로 살펴보면, 도 9에 나타난 바와 같이, 지방분화 유도 후 2주 간의 배양기간 동안 모든 그룹에서 세포가 약 40% 감소하는 것을 확인할 수 있으며, TCPs에 배양된 지방유래 줄기세포의 숫자가 다른 그룹에 비해 높은 것을 확인할 수 있다. 하지만, Oil Red O를 통해 지방분화도를 분석해보면, 지방유래 줄기세포의 숫자가 줄어들지만, TCPs에 비해 실리콘 필름과 3D PCL(45°) 및 3D PCL(45°)/NFs에서 배양된 세포의 지방분화능이 약 300% 이상 높았다. 특히, 나노섬유가 결합된 3D PCL(45°)/NFs에서 배양된 세포의 지방분화능은 TCPs그룹보다 400%이상 증가하는 것을 확인하였으며, 이를 통해, 나노섬유의 나노구조가 지방유래 줄기세포의 지방분화능을 활발하게 유도하는 것을 확인할 수 있다.

[0140] 한편, 도 10은 각각의 샘플에서 배양된 지방유래 줄기세포의 지방분화능을 mRNA 수준에서 상대적으로 분석하기 위한, quantitative polymerase chain reaction(qPCR, StepOnePlus Real-time PCR system, USA) 결과를 나타낸다.

[0141] 이를 위해, 지방분화유도를 마친 지방유래 줄기세포를 Trizol reagent(sigma, USA)를 처리하여 RNA를 추출하였다. 추출된 RNA를 AccuPower® CycleScript RT Premix(Bioneer, Korea)를 이용하여 안정된 cDNA를 합성후 지방분화시 발현되는 유전자인 Lipoprotein lipase(LPL), Fatty acid binding protein 4(FABP4), CCAAT/enhancer-binding protein alpha(CEBP-a), sterol regulatory element-binding protein 1(SREBP-1)의 primer를 정량하기 위해 Power SYBR Green PCR Master Mix(Applied biosystem by life, USA)를 이용하여 PCR을 진행하였다.

[0142] 도 10에 나타난 바와 같이, mature adipocyte에서 발현되는 LPL과 CEBP-a는 TCPs 그룹 대비 3D PCL(45°) 및 3D PCL(45°)/NFs에서 각각 300%와 500% 이상 높은 것을 확인할 수 있다.

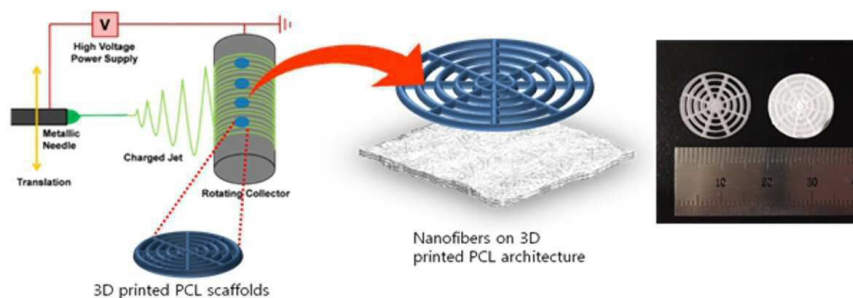
[0143]

[0144] 또한, 각각의 샘플에서 14일간 배양된 지방유래 줄기세포의 지방분화능을 형광현미경을 이용하여 분석하기 위해 형광시료(Nucle: Blue, Actin filament: Red, lipid: green)로 염색 후 분화도를 비교/분석하였다.

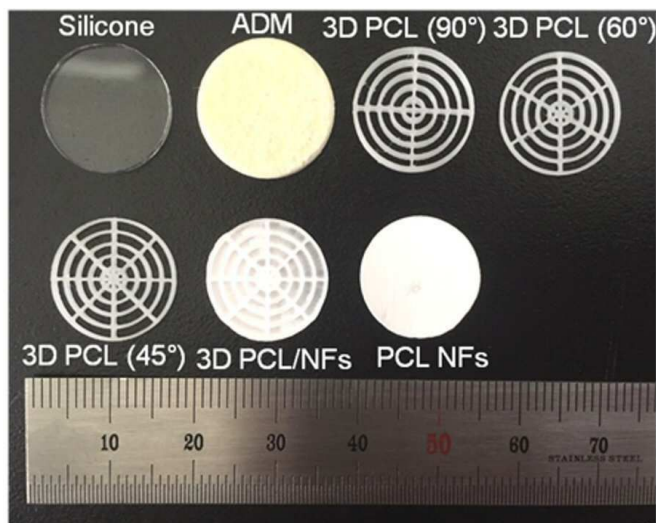
- [0145] 도 11에 나타난 바와 같이, TCPs보다 실리콘 필름, 3D PCL(45°) 및 3D PCL(45°)/NFs에서 배양된 지방유래 줄기세포가 형성한 Lipid가 많은 것을 확인할 수 있다. 특히, 나노섬유가 접합된 3D PCL(45°)/NFs가 가장 많은 Lipid를 형성하였다. 또한 이를 정량적으로 분석한 도 12에 나타난 바와 같이, TCPs 대비 PCL(45°)/NFs 그룹이 약 100% 가량 Lipid의 양이 많은 것을 확인할 수 있으며, 이를 통해, 나노섬유의 존재가 지방유래 줄기세포의 지방분화를 효과적으로 유도하는 것을 확인할 수 있다.
- [0147] (5) 동물실험을 통한 3차원 고분자 복합구조체의 생체 안전성 평가
- [0148] 3차원 고분자 복합구조체의 생체 안전성을 분석하기 위해, 동물실험용 유방보형물(Hans Biomed, Korea)(이하, Silicone)과 실시예 1의 3차원 고분자 복합구조체(3D PCL(45°)/NFs) 및 비교예 1의 3차원 고분자 복합체(3D PCL(45°))를 각각 SD rat(6주령, 숫컷, Orient Bio, Korea)의 등쪽에 삽입하고, 1주, 3주 간격으로 안락사를 통해 얻은 조직을 H&E 염색을 수행하였다.
- [0150] 그 결과를 도 13에 나타내었다.
- [0151] 상기 도 13에 나타난 바와 같이, 1주 차와 3주 차에 걸쳐 동물실험용 유방보형물만을 삽입한 그룹(Silicone)과 3D PCL(45°) 또는 3D PCL(45°)/NFs를 같이 삽입한 동물군 모두 이식 주변부로 염증반응은 관찰되지 않았다.
- [0152] 삽입한 보형물 주변으로 형성된 capsule의 두께를 측정한 결과, 도 14에 나타난 바와 같이, 1주 및 3주 차에 각 그룹간의 capsule 두께의 차이를 관찰할 수 없었다. 이러한 동물 실험결과로 미루어 볼 때 본 발명에 따른 3차원 고분자 복합구조체는 실리콘 유방보형물 대비 유사한 생체안전성 결과를 보이는 것을 확인할 수 있다.
- [0154] (6) 동물실험을 통한 3차원 고분자 복합구조체의 유방 재건술에의 적용 가능성 평가
- [0155] 3차원 고분자 복합구조체의 보형물 삽입술(즉, 실리콘 보형물 삽입술)과 자가지방 이식술이 결합된 유방 재건술에의 적용 가능성을 평가하였다. 즉, 실리콘 보형물 삽입술 및 자가지방 이식술의 동시 적용 가능성을 평가하였다.
- [0156] SD rat(8주령, 숫컷)의 사타구니에서 채취한 3g (그램)의 지방을 (5)에서 사용한 동물실험용 유방보형물(Silicone)과 실시예 1의 3차원 고분자 복합구조체(3D PCL(45°)/NFs) 및 비교예 1의 3차원 고분자 복합체(3D PCL(45°))에 각각 1g씩 나누어 SD rat의 등쪽에 삽입하고, 1주, 4주 간격으로 안락사를 통해 얻은 조직을 H&E 염색을 수행하였다.
- [0158] 그 결과를 도 15에 나타내었다.
- [0159] 상기 도 15에 나타난 바와 같이, 1주 차에는 동물실험용 유방보형물만을 삽입한 그룹(Silicone)과 3D PCL(45°) 또는 3D PCL(45°)/NFs를 같이 삽입한 모든 그룹에서 이식한 자가지방의 활성화 차이가 없었다. 4주 차에는 유방보형물과 3D PCL(45°)/NFs를 같이 삽입한 동물군에서만 지방의 형태를 유지하며 활성도를 유지하는 것을 확인할 수 있었다.
- [0160] 이를 통해 본 발명의 통한 3차원 고분자 복합구조체가 유방 재건술에 적용 가능함을 확인할 수 있다.

## 도면

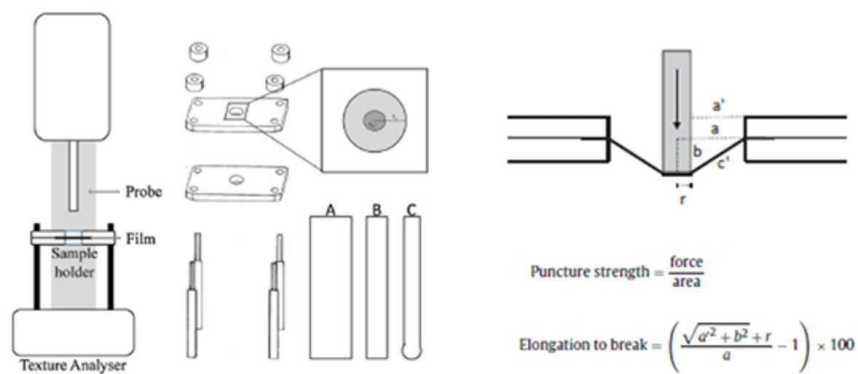
### 도면1



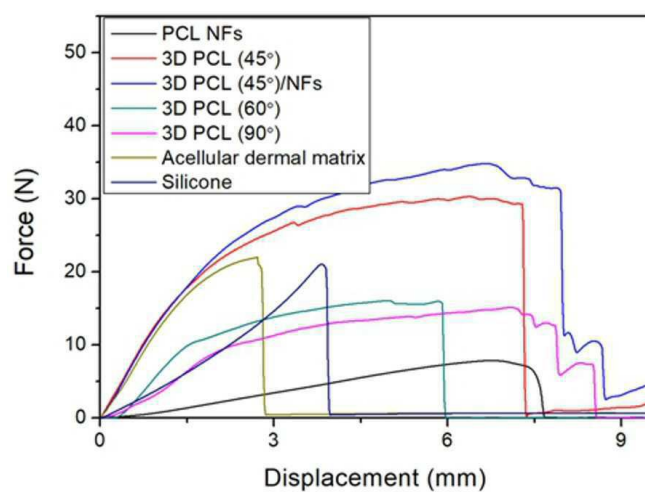
도면2



도면3

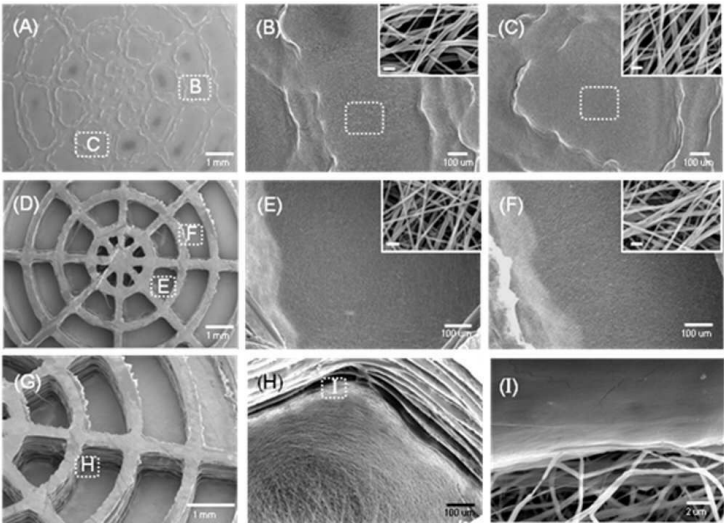


도면4

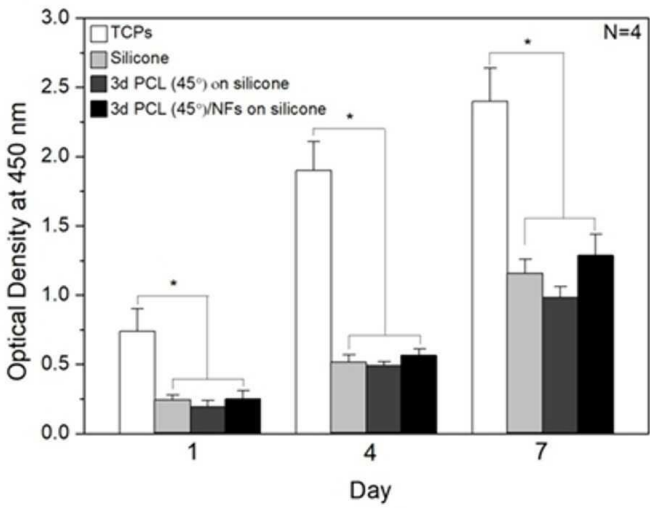




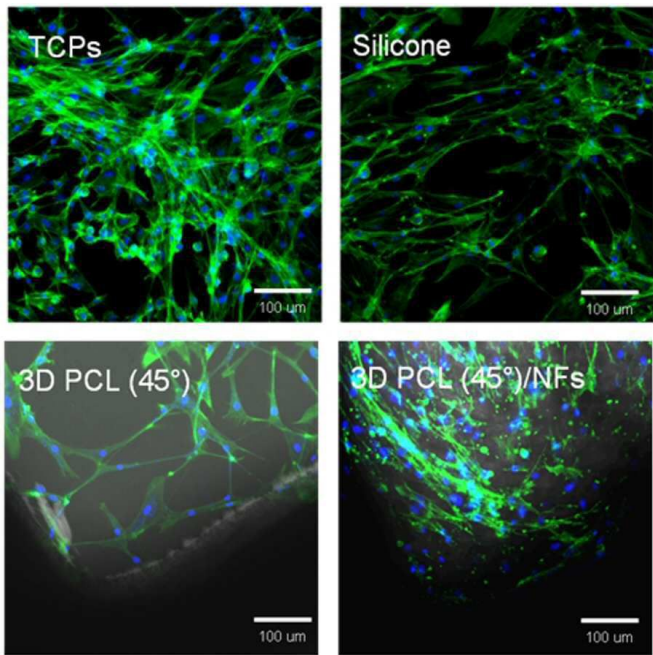
도면5



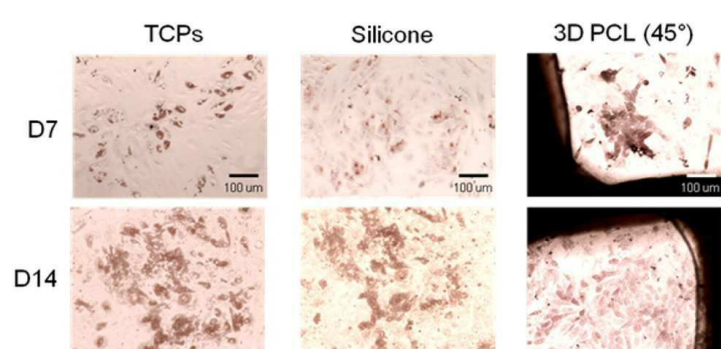
도면6



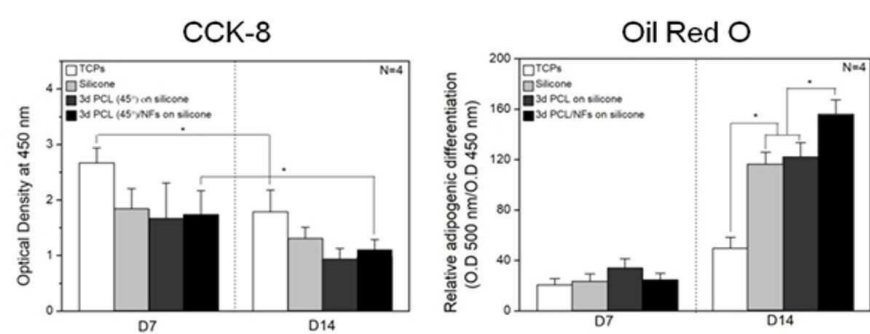
도면7



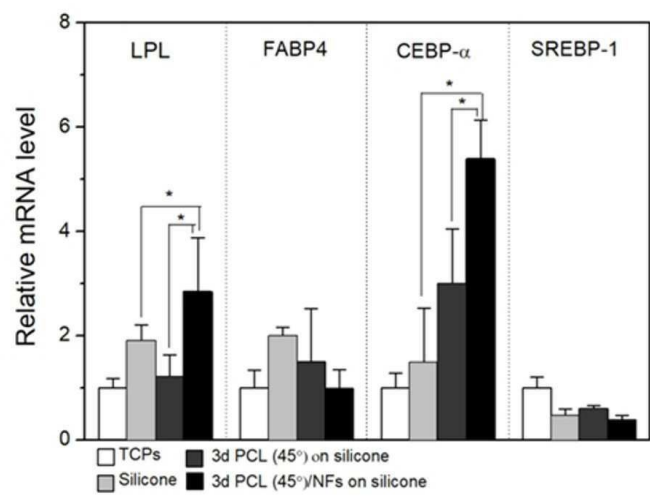
도면8



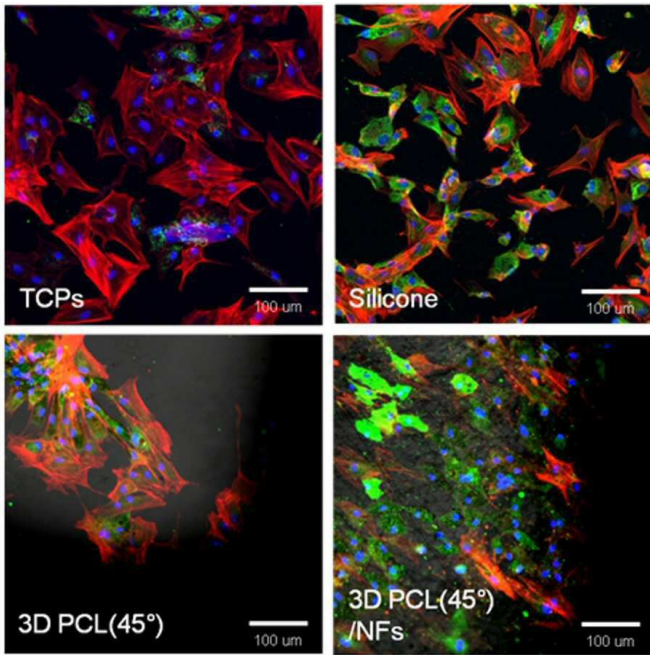
도면9



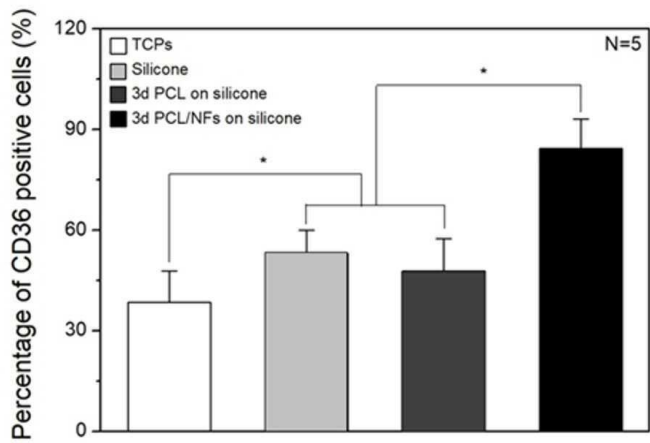
도면10



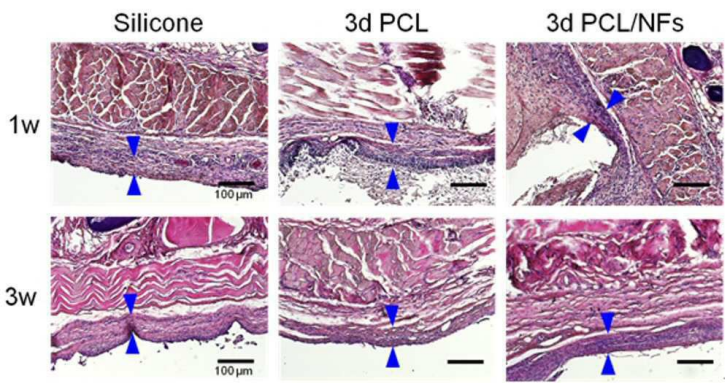
도면11



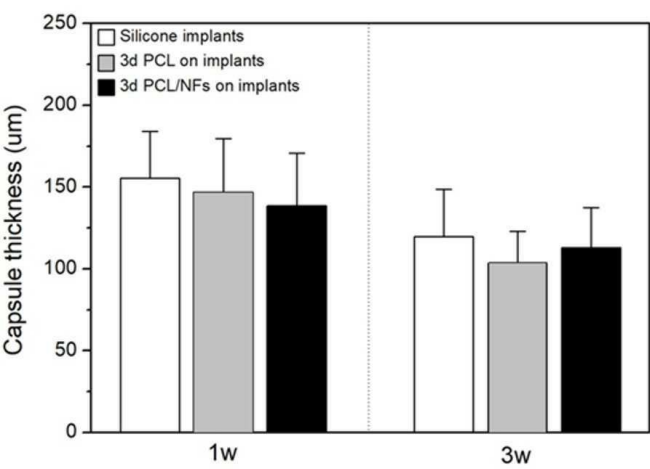
도면12



도면13



도면14



도면15

