

불가사리 유래 탄산칼슘을 이용한 HAp 다공성 골 지지체 제조

이서현*, 허소윤*, 황수인*, 이경태*, 홍영기*

*건양대학교 의료신소재학과
20618017@konyang.ac.kr

Preparation of HAp porous bone scaffold using starfish-derived calcium carbonate

Seo-Hyun Lee*, So-Yun Heo*, Su-In, Hwang*,
Gyeong-Tae Lee*, Yung-Ki Hong*

*Dept. of Biomedical Materials, Konyang University

요약

본 논문에서는 해양 폐기물로 지정되어 폐기 처리 비용을 문제 삼는 불가사리를 의료 방안으로 활용하고자 진행되었다. 하이드록시아파타이트 (HAp)는 생체 활성 재료로 생체와의 친화성이 높다. 주 역할은 칼슘 축적을 촉진시켜 골 결손 재생을 담당한다. 불가사리로부터 추출한 탄산칼슘으로 이인산암모늄을 이용해 하이드록시아파타이트를 제작하였고, 이를 이용해 추후 골 지지체로서의 역할도 기대 중이다.

1. 서론

골 이식체는 골 감염, 수술, 외상 및 선천적 기형으로 인해 생긴 골 결손 부위에 신선한 골을 재생시키는 역할을 한다[1, 2]. 골 치료에 사용되는 골 이식체의 종류는 일반적으로 자가 이식, 동종이식, 이종이식, 합성이식으로 분류되지만, 이러한 대체재는 각자의 한계가 존재한다. 예를 들어 자가이식은 이식체인 골조직 내부에 골을 형성하는 세포가 내포되어 있어 신생골을 직접 형성하는 ‘골 형성능’을 가지고 있어 빠른 치유가 가능하다. 또한, 자가 조직을 이식한 것이기 때문에 면역학적 거부반응을 일으키지 않는다[3]. 그러나 자가골을 이용하기 위해서는 추가적인 수술이 필요하며, 이에 따른 통증과 비용이 발생할 수 있다[4, 5]. 동종이식편과 이종이식편은 각각 같은 종의 개체와 인간이 아닌 종의 개체에서 얻은 천연 뼈이다. 이들은 질병 전파와 면역 반응의 위험을 내포하고 있다[6]. 합성이식은 인공적으로 합성된 골 이식체로, 다른 방법에 비해 비용이 효율적이고 면역 반응의 가능성이 낮아 적극적으로 사용되어왔다[7, 8].

수산화인회석(Hydroxyapatite)는 가장 일반적으로 사용되는 합성이식 골 이식체 중 하나이다. 이는 천연 뼈의 주요 무기 성분이며, 조직과 생체 내에서 잘 융합할 수 있기 때문에 생물공학에서의 응용범위가 매우 넓다. 뛰어난 생체 적합성

으로 인해 HAp는 심각한 염증 반응을 일으키지 않는다. 또한, 필수 이온을 방출하여 세포 성장 및 분화를 자극하기 때문에 가장 많이 사용되고 있다[9-13]. 그러나 합성된 HAp는 자연 뼈와 구조적으로 다르기 때문에 이소성 뼈 형성 증가와 같은 부정적인 영향을 미칠 수 있다. 따라서 합성된 HAp가 천연 뼈의 치수와 구성 요소를 모방할 수 있더라도, 자연 뼈의 구조적 특성이 비슷한 것이 매우 중요하다.

해양환경을 고려할 때 해양폐기물의 활용은, 환경에 중요한 해양자원의 활용보다 나올 수 있다. 불가사리는 일반적으로 그물 어업에서 잡히고 해양 환경의 통제 프로그램에 의해 잡히는 해양 폐기물이다. 불가사리 광물은 기공 직경이 수십 마이크로미터인 상호 연결된 미세 기공 구조를 가지고 있다. 과립의 불규칙한 모양은 골 결손에 채워진 후, 과립 사이가 비어 있기 때문에 거대 다공성 구조를 초래할 것이다.

본 논문에서는 해양폐기물인 불가사리에서 추출한 탄산칼슘을 이용하여 HAp 다공성 골 지지체를 제작하는 연구를 진행하였다.

2. 실험 및 방법

2.1 사용 시약

실험에 사용되는 재료는 우선 아무르 불가사리 (*Asterias amurensis*)가 있고, 시약으로는 Sodium hypochlorite (5%=(CP), 9~11%=(CP), DAEJUNG, Korea), D

ammonium phosphate dibasic (98.5%=(EP), DAEJUNG, Korea), Ammonia solution (25~28%=(EP), SAMCHUN, Korea), Polyvinyl alcohol (#500, DAEJUNG, Korea)이 있다.

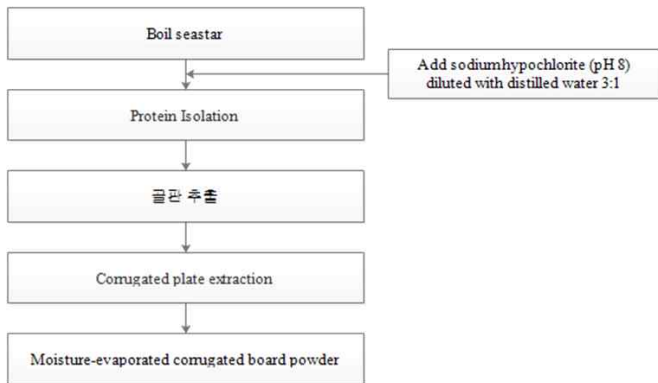
2.2 탄산칼슘 파우더

2.2.1 불가사리 골판 추출

먼저 아무르 불가사리를 해체하여 내장을 제거하였다. 해체한 불가사리를 끓이며 불순물을 제거한 다음, 차아염소산나트륨과 증류수를 1:3 비율로 혼합하여 만든 수용액에 7일 동안 담궈두는 과정을 통해 불가사리의 유기물을 제거하여 순수한 골판을 추출하였다.

2.2.2 탄산칼슘

불순물과 단백질을 제거한 불가사리를 작게 잘라 20시간 동안 건조시킨 후, 믹서기로 갈아 파우더 형태로 만들었다. 제조한 파우더 입자의 균일함을 위해 90 μm 표준체에 거르는 작업을 통해 순수한 탄산칼슘 파우더를 얻었다.

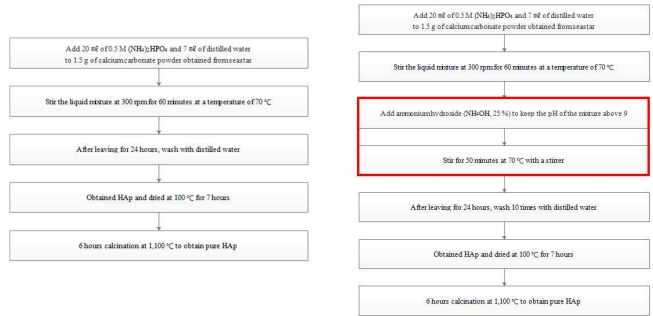


[그림 1] 불가사리 분말 제작 과정

2.3 HAp 파우더 제작

앞서 만든 탄산칼슘 파우더를 HAp로 변환하는 단계에서 핵심적인 시약은 이인산암모늄이다. HAp 자체가 지닌 인산을 제공하는 역할을 본 논문에서는 이인산암모늄이 한다. 실험 과정은 다음과 같다. 만들어진 탄산칼슘 파우더 1.5 g과 0.5 M의 이인산암모늄 수용액 (1.32 g의 이인산암모늄과 20 ml 증류수), 7 ml의 증류수를 혼합하여 70 °C에서 1시간 동안 300 rpm으로 교반한다. 다음으로는 pH를 변수로 두었는데, 하나는 대조군으로 pH를 조절하지 않았고 다른 하나는 수산화암모늄을 이용하여 pH를 9로 유지하였다. pH를 조절할 때는 70 °C에서 1시간 교반이 끝났을 때 수산화암모늄을 사용하여 pH를 조절하였고, 다음 공정도는 동일하게 24시간 동안 침전시켰다. 얻은 침전물을

증류수로 세척하여 7시간 동안 건조시킨 후, 1,100 °C에서 6시간 소성시켜 순수한 HAp 분말을 제작하였다.



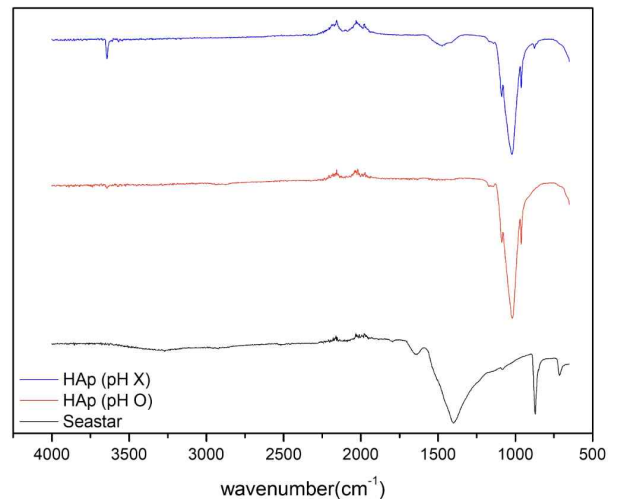
[그림 2] HAp 제조 과정 (왼: pH 조절 X; 오: pH 조절 O)



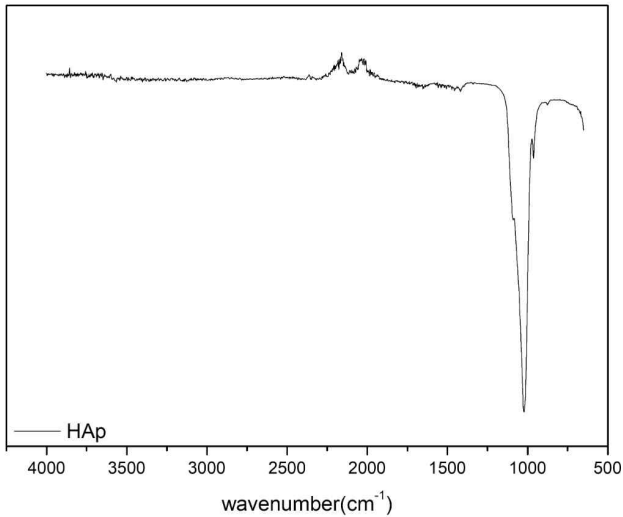
[그림 3] 제조한 HAp 파우더

3. 결과 및 고찰

제작된 HAp의 인산기 결합이 잘 합성됐는지 확인하기 위해 탄산칼슘 파우더와 비교하여 FTIR을 측정했다. 이때 비교를 위해 시중에서 판매되는 HAp도 함께 측정하였다.



[그림 4] 수산화암모늄이 첨가되지 않은 HAp (맨 위); 수산화암모늄이 첨가된 HAp (중간); 탄산칼슘 파우더 (맨 밑)



[그림 5] 시중에서 판매되는 HAp

그림 4에서 탄산칼슘 파우더의 broad한 peak (1430 cm^{-1})의 CO_3^{2-} 는 소성 이후 사라지는 모습을 볼 수 있다. 제작된 HAp 경우, 시중에서 판매되는 HAp의 스펙트럼이 비슷하게 나온 것이 확인되었다. 수산화암모늄이 첨가되지 않은 HAp에서는 1022 cm^{-1} , 수산화암모늄이 첨가된 HAp에서는 1020 cm^{-1} , 시중 HAp에선 1023 cm^{-1} 로 PO_4^{3-} peak가 나타났다.

4. 결론

본 논문에서는 불가사리에서 탄산칼슘을 추출하여 기존의 합성이식 골 이식재인 HAp를 합성하는 실험을 진행하였다. 실험 결과 불가사리에서 추출한 탄산칼슘으로 HAp의 합성이 성공하였음을 FTIR peak값을 통해 확인하였다. 추가적인 물성 실험을 통해 제작한 HAp의 골 지지체로서의 성능을 확인할 것이다.

참고문헌

[1] Lee JH, Yi GS, Lee JW, Kim DJ. Physicochemical characterization of porcine bone-derived grafting material and comparison with bovine xenografts for dental applications. *J Periodontal Implant Sci.* 2017;47(6):388 - 401.
 [2] Sohn H-S, Oh J-K. Review of bone graft and bone substitutes with an emphasis on fracture surgeries. *Biomater Res.* 2019;23(1):9.
 [3] Shin SY, Rios HF, Giannobile WV, Oh TJ. Periodontal regeneration: current therapies: current therapies. *Stem Cell Biol Tissue Eng Dent Sci.* 2015:459-69.
 [4] Wang W, Yeung KWK. Bone grafts and biomaterials substitutes for bone defect repair: a review. *Bioact Mater.* 2017;2(4):224 - 47.

[5] Yi M-H, Lee J-E, Kim C-B, Lee K-W, Lee K-H. Locally controlled diffusive release of bone morphogenetic Protein-2 using micropatterned gelatin methacrylate hydrogel carriers. *Biochip J.* 2020;14(4):405 - 20.
 [6] Samsell B, Softic D, Qin X, McLean J, Sohoni P, Gonzales K, et al. Preservation of allograft bone using a glycerol solution: a compilation of original preclinical research. *Biomater Res.* 2019;23(1):5.
 [7] Peled ZM, Warren AG, Johnston P, Yaremchuk MJ. The use of alloplastic materials in rhinoplasty surgery: A meta-analysis. *Plast Reconstr Surg.* 2008; 121:85e - 92e.
 [8] Chung C-H, Kim Y-K, Lee J-S, Jung U-W, Pang E-K, Choi S-H. Rapid bone regeneration by Escherichia coli-derived recombinant human bone morphogenetic protein-2 loaded on a hydroxyapatite carrier in the rabbit calvarial defect model. *Biomater Res.* 2015;19(1):7.
 [9] Biggemann J, Müller P, Köllner D, Simon S, Hoffmann P, Heik P, et al. Hierarchical surface texturing of hydroxyapatite ceramics: influence on the adhesive bonding strength of polymeric polycaprolactone. *J Funct Biomater.* 2020;11(4):73.
 [10] Hong M-H, Kim S-M, Kim K-M, Lee Y-K. Development and in vitro assays of porous calcium polyphosphate granules. *Ceram Int.* 2013;39(5):4991 - 7.
 [11] Cheng H, Chabok R, Guan X, Chawla A, Li Y, Khademhosseini A, et al. Synergistic interplay between the two major bone minerals, hydroxyapatite and whitlockite nanoparticles, for osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells. *Acta Biomater.* 2018;69:342 - 51.
 [12] Sistanipour E, Meshkini A, Oveisi H. Catechin-conjugated mesoporous hydroxyapatite nanoparticle: a novel nano-antioxidant with enhanced osteogenic property. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2018;169:329 - 39.
 [13] Salamanca E, Hsu C-C, Huang H-M, Teng N-C, Lin C-T, Pan Y-H, et al. Bone regeneration using a porcine bone substitute collagen composite in vitro and in vivo. *Sci Rep.* 2018;9(1):984.