

120054-02

보안 과제(), 일반 과제(O) / 공개(), 비공개(O) 발간등록번호(O)
유용농생명자원산업화 연구개발사업 2021년도 최종보고서

발간등록번호

11-1543000-004027-01

약물탑재가 가능한 콜라겐 포함 반려동물용 골이식재 개발

2022. 03. 31.

주관연구기관 / (주)메드파크
협동연구기관 / 전남대학교 산학협력단

2021

농림식품기술기획평가원
농림축산식품부

농림축산식품부
(전문기관)농림식품기술기획평가원

약물탑재가 가능한 콜라겐 포함 반려동물용 골이식재 개발

최종보고서											보안등급	
											일반[], 보안[]	
중앙행정기관명						사업명						
전문기관명 (해당 시 작성)						내역사업명 (해당 시 작성)						
공고번호						총괄연구개발 식별번호 (해당 시 작성)						
						연구개발과제번호						
기술 분류	국가과학기술 표준분류		1순위	40%	2순위	20%	3순위	20%	4순위	10%	5순위	10%
	농림식품과학기술분류		1순위	50%	2순위	30%	3순위	20%	4순위		5순위	
총괄연구개발명 (해당 시 작성)			국문									
			영문									
연구개발과제명			국문		약물 탑재가 가능한 콜라겐 포함 반려동물용 골이식재 개발							
			영문		Development of bone grafts containing collagen for drug delivery in companion animals							
주관연구개발기관			기관명		주소		사업자등록번호		법인등록번호			
			(주)메드파크		(우)46918 부산시 사상구		853-86-00844		180111-1108520			
연구책임자			성명		박희명		직위		상무이사			
			연락처		직장전화		휴대전화					
			전자우편				국가연구자번호					
연구개발기간			전체		2020. 04. 29 - 2021. 12. 31(1년 9개월)							
			단계 (해당 시 작성)		1단계		2020. 04. 29 - 2021. 12. 31(1년 9개월)					
			n단계		YYYY. MM. DD - YYYY. MM. DD(년 개월)							
연구개발비 (단위: 천원)		정부지원 연구개발비		기관부담 연구개발비		그 외 기관 등의 지원금		합계			연구개발비 외 지원금	
		현금		현금		현금		현금		현금		
총계		528,000		8,000		171,000		536,000		171,000		
1단계		1년차		226,000		8,000		70,000		234,000		
		2년차		302,000		0		101,000		302,000		
n단계		1년차										
		n년차										
공동연구개발기관 등 (해당 시 작성)			기관명		책임자		직위		휴대전화		전자우편	
			전남대학교 산학협력단		김세은		조교수					
위탁연구개발기관												
연구개발기관 외 기관												
연구개발담당자 실무담당자			성명		신경훈		직위		차장			
			연락처		직장전화		휴대전화					
			전자우편				국가연구자번호					

이 최종보고서에 기재된 내용이 사실임을 확인하며, 만약 사실이 아닌 경우 관련 법령 및 규정에 따라 제재처분 등의 불이익도 감수하겠습니다.

2022 년 01 월 24 일

연구책임자: 박희명

주관연구개발기관의 장: 박정복 (직인)
 공동연구개발기관의 장: 민정준 (직인)
 위탁연구개발기관의 장: (직인)

농림축산식품부장관·농림식품기술기획평가원장 귀하



< 요약 문 >

※ 요약문은 5쪽 이내로 작성합니다.

사업명		총괄연구개발 식별번호 (해당 시 작성)					
내역사업명 (해당 시 작성)		연구개발과제번호					
기술 분류	국가과학기술 표준분류	1순위 LC0607	40 %	2순위 LC0505	20 %	3순위 EB0306	20%
	농림식품 과학기술분류	1순위 AB0102	50 %	2순위 CA0105	30 %	3순위 RB0102	20%
총괄연구개발명 (해당 시 작성)							
연구개발과제명		약물 탑재가 가능한 콜라겐 포함 반려동물용 골이식재 개발					
전체 연구개발기간		2020. 04. 29 - 2021. 12. 31(1년 9개월)					
총 연구개발비		총 707,000 천원 (정부지원연구개발비: 528,000천원, 기관부담연구개발비 : 179,000천원, 지방자치단체: 천원, 그 외 지원금: 천원)					
연구개발단계		기초[] 응용[] 개발[<input checked="" type="checkbox"/>] 기타(위 3가지에 해당되지 않는 경우)[]		기술성숙도 (해당 시 기재)		착수시점 기준() 종료시점 목표()	
연구개발과제 유형 (해당 시 작성)							
연구개발과제 특성 (해당 시 작성)							
연구개발 목표 및 내용	최종 목표	<ul style="list-style-type: none"> ○ 주관연구기관 (㈜메드파크): 수의치과 및 정형외과영역에서 사용할 수 있도록 약물 탑재가 가능한 콜라겐이 포함된 다양한 크기의 골이식재를 개발하고, 시술 시 편의성과 기성을 제공하기 위해 동물용 콜라겐 및 셀룰로오스계 생분해성 고분자가 포함된 성형이 가능한 골이식재를 개발하고자 함. ○ 참여기관 (전남대학교): 개발된 다양한 형태의 돼지뼈 유래 골이식재의 사용적합성과 콜라겐 포함 골이식재의 물성 및 생체적합성 평가를 실시하며, 성형이 가능한 콜라겐 포함 골이식재의 생체적합성 및 약물탑재 가능성을 평가함. 					
	전체 내용	<p><1차년도></p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 돼지 유래 골이식재 제조 공정 및 조성 확립 <ul style="list-style-type: none"> - 소형건 및 중형건, 대형건용, 치과용/정형외과용 골이식재 개발 ○ 골이식재에 돼지 유래 콜라겐 코팅 <ul style="list-style-type: none"> - 돼지 피부에서 추출한 콜라겐을 농도별로 골이식재에 처리 ○ 제작된 동물용 골이식재의 사용적합성 평가 ○ 콜라겐 포함 동물용 골이식재의 물성 평가 ○ 콜라겐 포함 동물용 골이식재의 동물 모델 기반 생체적합성 평가 <p><2차년도></p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 약물탑재가 가능한 콜라겐 포함 이종골 이식재의 시제품 제작 ○ 콜라겐 및 셀룰로오스계 생분해성 고분자 포함 골이식재의 시제품 제작 ○ 콜라겐 및 셀룰로오스계 생분해성 고분자 포함 동물용 골이식재의 세포독성 평가 ○ 동물 골결손 모델에서 콜라겐 및 셀룰로오스계 생분해성 고분자 포함 동물용 골이식재의 생체적합성 평가 ○ 개발된 콜라겐 포함 골이식재의 약물탑재 가능성 평가 					
	1단계 (해당 시 작성)	목표					
		내용					
n단계 (해당 시 작성)	목표						
	내용						

연구개발성과	<ul style="list-style-type: none"> ○ 기존 시판되고 있는 돼지뼈 유래 골이식재의 크기를 다양화하여 반려동물용 맞춤형 골이식재 및 시제품 개발 <ul style="list-style-type: none"> - 입자크기가 다른 파우더형 2종, 칩 형태, 블록 형태 포함 총 4종 개발 ○ 약물탑재가 가능한 콜라겐을 포함하는 파우더형 골이식재 및 시제품 개발 ○ 성형이 가능한 콜라겐 및 셀룰로오스 계통 고분자를 포함하는 골이식재 및 시제품 개발 												
연구개발성과 활용계획 및 기대 효과	<ul style="list-style-type: none"> ○ 활용방안 <ul style="list-style-type: none"> - 수의치과 및 정형외과영역에서 사용 가능한 다양한 형태의 반려동물 맞춤형 골이식재 개발 - 노령견이나 소형견과 같이 골재생력이 떨어지는 환자에서 치유력을 증진시킬 수 있는 약물 탑재가 가능한 골이식재 개발 - 개발 제품의 사용화: 국내외 수의학회 및 동물용 의료기기/제약 전시회를 통하여 홍보 ○ 기대효과 <ul style="list-style-type: none"> - 기존 인의용 골이식재를 위한 생체재료 기반의 바이오기술을 융합하여 반려동물에 적용 가능한 골이식재 개발 및 상용화 - 포화된 인의 골이식재 시장에서 새로운 반려동물 시장 진입을 통한 시장 탈피 및 확대, 신시장 개척 - 고기능 신개념 골이식 원천기술을 활용한 응용 기술을 통해 반려동물에서 고차원적 재생의학 치료 가능 - 골이식재 국가 경쟁력 상승 및 국내외 시장 성장을 통한 매출 증대 및 고용 창출 효과 기대 												
연구개발성과의 비공개여부 및 사유	국내외 경쟁업체의 기술유출 방지 및 영업권 보장을 위한 비공개 요청												
연구개발성과의 등록·기탁 건수	논문	특허	보고서 원문	연구 시설·장비	기술 요약 정보	소프트웨어	표준	생명자원		화합물	신품종		
	1	3						생명 정보	생물 자원		정보	실물	
연구시설·장비 종합정보시스템 등록 현황	구입 기관	연구시설·장비명	규격 (모델명)	수량	구입 연월일	구입가격 (천원)	구입처 (전화)	비고 (설치장소)	ZEUS 등록번호				
국문핵심어 (5개 이내)	동물용 의료기기		돼지 유래 골이식재		콜라겐		골이식		약물 전달				
영문핵심어 (5개 이내)	Animal medical device		Porcine-derived bone grafts		Collagen		Bone grafting		Drug delivery				

< 목 차 >

1. 연구개발과제의 개요
2. 연구개발과제의 수행 과정 및 수행내용
3. 연구개발과제의 수행 결과 및 목표 달성 정도
4. 목표 미달 시 원인분석(해당 시 작성)
5. 연구개발성과 및 관련 분야에 대한 기여 정도
6. 연구개발성과의 관리 및 활용 계획

별첨 자료 (참고 문헌 등)

1. 연구개발과제의 개요

1-1. 연구개발의 개요

가. 연구개발 목표

- 본 연구과제는 반려동물(특히 개, 고양이)에서 다발하는 골결손 질환에 맞춤형으로 적용할 수 있는 돼지뼈 유래 골이식재 및 골이식재에 돼지 유래 콜라겐 및 셀룰로오스 고분자를 적용한 제품을 개발하여 기능성 및 사용 용이성 개선을 목표로 함.

현황	<p><사회적></p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ 반려동물 인구수 증가 ✓ 반려동물의 평균 수명 증가와 함께 관련 질병의 증가 ✓ 보호자의 수준 높은 진료 요구 	<p><기술적></p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ 대부분 인의용 골이식재 및 이식방법을 동물에서 그대로 적용 ✓ 반려동물에 특화된 골이식재 제작 기술 부족 ✓ 약물 탑재가 가능한 고기능성 동물용 골이식재의 부재
필요성	<ul style="list-style-type: none"> ✓ 사용 목적에 맞는 다양한 크기 및 형태의 동물용 골이식재가 필요 ✓ 기존 제품들 보다 생체 적합성과 골형성능이 뛰어난 제품의 개발 필요 ✓ 고차원적 재생치료를 가능케할 기능성 골이식재의 개발 필요 	
연구내용	<p>MedPark</p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ 약물 탑재 가능한 콜라겐 포함 반려동물용 골이식재 개발 	<p>전남대학교 CHONNAM NATIONAL UNIVERSITY</p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ 개발 제품의 사용성 및 생체 적합성 / 유효성 평가
최종개발제품	<ul style="list-style-type: none"> ✓ 반려동물 전용 약물 탑재가 가능한 콜라겐 포함 돼지뼈 유래 골이식재 제품 출시 <ul style="list-style-type: none"> ➢ 수의 치과용 파우더 & 칩 타입 골이식재 3종 제작 ➢ 수의 정형외과용 블록 타입 골이식재 제작 ➢ 약물 탑재가 가능한 콜라겐 포함 골이식재 제작 ➢ 콜라겐과 셀룰로오스계 생분해성 고분자가 포함된 골이식재 제작 	

나. 연구개발대상의 배경

1) 현재 사회에서의 반려동물의 위치 및 산업

- 1인 가구와 고령화 가족이 늘어나면서, 애완동물(pet)이 아니라 가족으로 인식하는 반려동물(companion animal) 가구가 점점 확대되고 있음. KB금융지주경영연구소 ‘2017 반려동물 양육 실태 조사’에 따르면, 국내에서 반려동물을 기르는 가구는 전체 가구 30.9%로 약 590만가구로 추정됨.

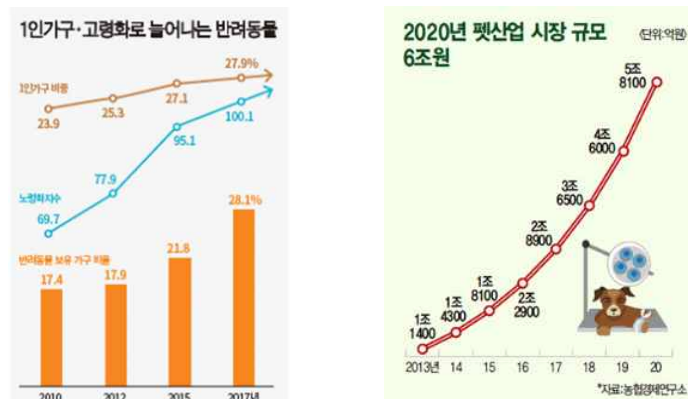


그림 2. 1인가구·고령화로 늘어나는 반려동물과 성장하는 펫산업 시장

(이코노미 조선, 반려동물에 빠진 대한민국, 2018 / 매일경제, 1인가구 시대 '펫코노미' 대세 '상팔자' 반려동물 시장 6조원)

- 소득 수준이 높아지면서 반려동물을 키우는 이들의 보건의료서비스에 대한 수요도 증가하고 있는 추세임. 국내 반려동물 시장 규모는 2012년 9000억원에서 2016년 2조3000억원대로 증가로 이는 5년 만에 두 배 이상 성장세를 보여주고 있음. 2020년까지 6조원에 육박하는 시장이 될 것이라는 관측이 전망됨.

2) 반려동물에서 골이식의 필요성

- 최근 보호자들은 거의 매일 운동이나 산책 등 바깥 활동을 하는 가구가 20.5%가 될 정도로 반려동물과 함께하는 시간이 늘어나고 여가활동을 함께 보낼 수 있는 다양한 운동이나 스포츠 활동이 증가함. 그에 따른 근골격계 부상의 위험성도 증가하고 있음.



그림 3. 반려동물의 운동횟수
(KB금융지주경영연구소 '2017 반려동물 양육 실태 조사')

- 2018년도 한국펫사료협회에 따르면 반려동물의 평균수명이 10세 이상이 2017년 17.3%에서 2018년 18.1%로 높아졌고, 평균연령은 2017년 5.7세에서 2018년 6.1세로 증가함. 노령 반려견이 늘어나면서 이와 관련된 비만, 당뇨병, 암 등의 만성 질환 및 퇴행성 질환과 함께 치은염, 치주 질환 같은 치과질환과 관절질환, 노령견에서 골절 후 회복 장애와 같은 정형외과 질환도 증가하고 있음.



그림 4. 국내 가정에서 사육 중인 주요 반려견종의 평균 연령
(반려동물에 대한 인식 및 양육 현황 조사 한국펫사료협회, 2018)

- 또한, 반려동물이 가족의 일원으로 인식되면서 반려동물 상해나 질병 시 동물병원 진료와 치료, 수술에 적극적으로 요구하는 경우가 늘어나고 있음.
- 현재 수의학의 발전으로 치과 및 정형외과 분야에서 골이식과 같은 높은 수준의 재생의

학적 치료가 증가하고 있으나, 동물 전용의 골이식재가 거의 전무한 실정임. 따라서 대부분의 증례에서 인의용 골이식재나 이식방법을 그대로 사용 중이나 동물의 해부, 생리학적인 특성이 반영되지 않거나 부작용이 있을 수 있어 본 연구에서는 반려동물 맞춤형 골이식재를 개발하려 함.

○ 수의치과진료에 필요한 골이식재

- 미국수의치과협회(American Veterinary Dental Society)에 따르면 3세 이상의 개에서 70-80% 정도가 치주질환을 가지고 있는 것으로 나타났으며, 사람과 유사하게 치주질환이 심해질수록 치조골의 소실 가속화 됨.
- 국내 반려견의 대부분을 차지하는 소형견은 이빨 대비 치조골의 양이 매우 적어 심한 치주질환에서는 하악의 병적골절이 발생할 수 있으며, 이러한 경우는 노령견에서 많이 발생하게 되어 단순히 골이식재 하나로는 치료가 힘들 경우가 많음.
- 또한 골이식이 필요한 부위는 주로 송곳니와 큰 어금니 부분으로, 골소실 부위가 작은 경우에는 인의용 골이식재로 이식 시 실패하는 경우가 생기므로 골소실 부위에 맞춰 이식할 수 있는 다양한 크기의 골이식재가 필요함.
- 그리고 차폐막을 적용하기 힘든 부위에서는 이식 시 흩어지지 않고 일정한 모양을 유지할 수 있는 골이식재가 필요함.



그림 5. 수의치과영역에서 골이식재와 골성장인자를 이식한 증례

○ 수의정형외과 수술에 필요한 골이식재

- 수의정형외과에서 심한 복합 골절 수술이나 골결손 부위가 큰 경우, 골유합 장애로 지연유합 또는 불유합이 있을 때 골이식을 필요로 함.
- 정형외과용으로 사용되는 골이식재는 수의치과영역과 다르게 충분한 강도와 공간유지 능력을 가지고 있는 골이식재 개발을 필요로 함.
- 소형견종을 선호하는 우리나라에서는 요척골 골절이 많이 발생하며, 수술 후 3개월이 지나도 골유합이 잘 되지 않는 유합부전과 관련된 질환들이 많음. 이러한 경우 수술 시 골이식재와 함께 골형성을 증진시킬 수 있는 골형성단백질을 함께 적용해야 하는 경우가 많음.
- 그러나 현재 시판되는 골형성 단백질의 경우 이식 시 주변으로 이탈되는 단점이 있어 골형성 단백질을 효과적으로 전달할 수 있는 방법이 요구됨.

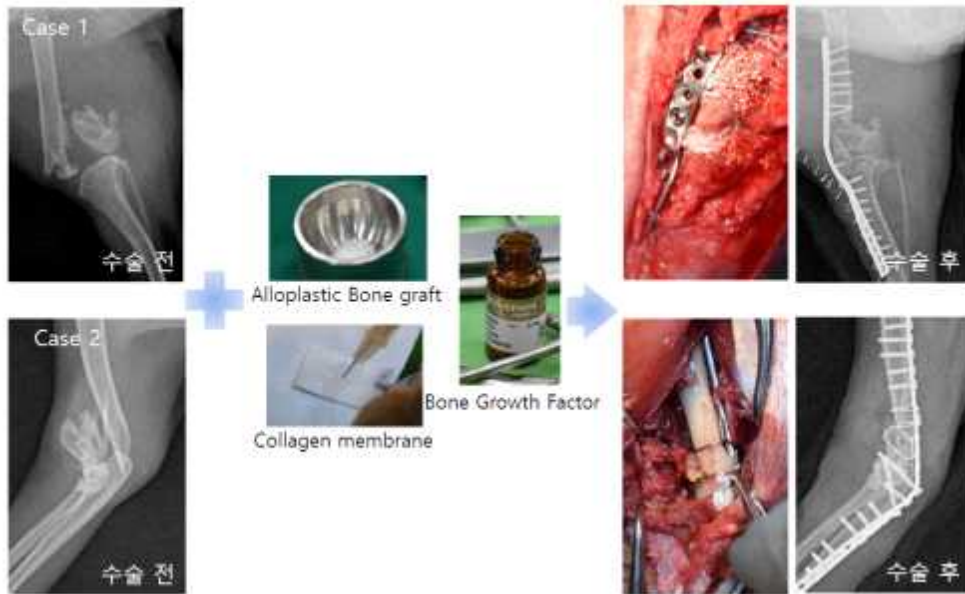


그림 6. 수의정형외과 수술에서 골이식재와 골성장인자 및 콜라겐 차폐막의 적용 케이스

3) 반려동물에서 요구되는 골이식재의 조건

○ 기존 이식재들의 특징

- 현재 골결손 관련 질환의 처치에 적용하는 골이식재에는 gold standard인 자가골 이식재 (autograft), 같은 종의 골에서 유래된 동종골 이식재 (allograft), 소나 돼지 등 다른 종에서 기원한 이종골 이식재 (xenograft), 합성물질을 이용하여 인공적으로 합성한 합성골 이식재 (alloplastic)가 있음.
- 자가골 및 동종골은 생체친화성이 우수한 반면 채취량의 한계 및 공급 제한 등의 문제점을 지니고 있음. 이러한 이유로 합성골의 사용이 증가하고 있으나 생체 적합성의 검증, 분해 속도 조절 및 이물 반응 여부 등에서 완전히 자유롭지 못 함.
- 다른 동물에서 골조직을 채취해 이식하는 이종골은 골조직을 쉽게 구할 수 있는 장점에 불구하고, 골형성 유도 능력이 동종골보다는 낮으며 특히 소에서 추출한 골조직의 경우 광우병 전염에 완전히 자유롭지 못하다는 단점이 있음.

표 1. 골이식재의 종류와 장단점 및 동물에서 적용 시 문제점

골이식재	장 점	단 점	동물에서 적용 시 예상가능한 문제점
자가골 이식재	* Gold standard * 우수한 치유 효과 * 항원-항체반응 없음	* 부가적 수술부위 발생 * 비용증가 * 골채취량 제한적	* 소형견에서의 골채취량 부족 * 노령견에서의 자가골 재생능력 부족
동종골 이식재	* 유전적으로 같은 종으로 치유 능력이 유사 * 부가적 수술부위 없음	* 질병 전염 가능성 * 면역학적 거부반응 * 추출 부위에 따른 효과 상이 * 고비용 및 공급 제한적	* 공간유지능력 부족 * 골치유보다 빠른 흡수
이종골 이식재	* 공급 용이 * 상용화 제품	* 개체간 유전적 이식항원 * 추출 부위에 따른 효과 상이	* 골유도능 부족 (성장인자로 극복 가능)
인공합성 이식재	* 질병전염 가능성 없음 * 다양한 제품화 가능 * 충분한 양 * 비용 저렴	* 다른 이식재에 비해 효과 검증 필요 * 생체 적합성 검증 필요 * 빠른 흡수에 의한 결손 부위 발생우려	* 생체적합성 부족 * 골형성능 부족

○ 반려동물에서 다양한 크기와 형태의 골이식재 필요

- 반려견은 체중에 따라서 크기가 10~20배 이상의 차이가 존재
- 골이식재 적용 시 반려동물의 체중과 적용 부위, 치료 목적에 따라 다양한 입자 크기 및 형태의 골이식재가 요구됨.

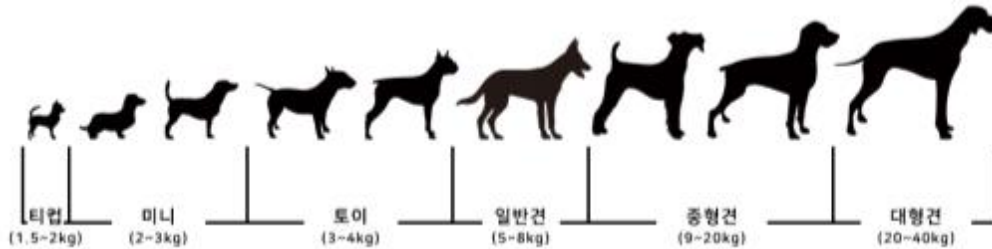


그림 7. 체중별 반려견 크기의 차이 (우리펫)

4) 반려동물에 특화된 돼지뼈 유래 골이식재의 우수성

- 돼지뼈는 소뼈에 비해 상대적으로 광우병과 같은 인수공통전염병(zoonosis)의 감염 위험이 낮음.
- 다공성이 뛰어나 신생골 형성에 효과적이고, 표면의 거칠기(roughness)가 상대적으로 높아 조골세포의 접착, 성장, 증식 및 골융합이 뛰어나.
- 젖음성(wettability)이 뛰어나 이식 후 체액과 혼합이 잘 일어나고 골재생유도 물질인 β -TCP 성분이 자연적으로 존재하고 있음.



그림 8. 돼지뼈 유래 골이식재의 우수성

5) 반려동물용 콜라겐 기반 골이식재 개발 필요성

- 이종골의 일반적인 특성처럼 돼지에서 채취하여 제작된 골이식재도 자가골 및 동종골보다 상대적으로 골형성 정도가 낮음.
- 이러한 단점을 보완하기 위해 콜라겐 가교 결합 기술을 이용하여 하이브리드 골이식재를 개발을 하고자 함. 돼지 유래 콜라겐을 골이식재에 결합시켜 손상된 골조직이 재생 및 치유되는 과정에서 우수한 생체적합성(biocompatibility) 및 생분해성(biodegradability)을 지니게 됨.
- 또한, 현재 수의치과 및 정형외과영역에서도 골성장 인자로 빈번하게 사용되고 있는 골형성단백질(bone morphogenetic protein)을 골이식재에 결합하여 신생골 형성을 더욱 상승시키고자 함.

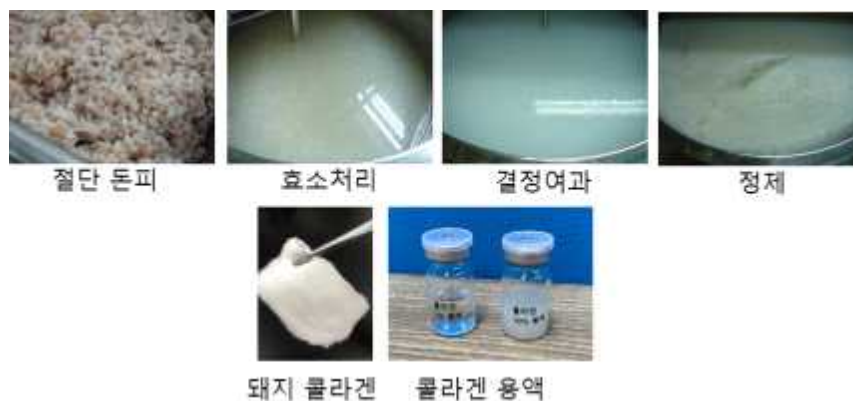


그림 9. 돼지 유래 콜라겐 제조 공정과 콜라겐 원료 및 콜라겐 용액

6) 조작성과 성형을 위한 콜라겐 및 셀룰로오스계 생분해성 고분자의 적용

- 현재의 골이식재들은 saline 등으로 골이식재를 수화시켜 사용하는 경우가 많으나 이식 시 골이식재들이 흩어져 이식 효과가 감소하는 경우가 많으며, 이식 부위에서 삽입재간의 공극(물리적 결합의 저하) 생성을 피할 수 없음.
- 이를 극복하기 위해 콜라겐 및 셀룰로오스계 생분해성 고분자를 첨가하여 성형이 가능한 페이스트나 펄터 타입으로 개발하여 조작성 및 이식의 성공률을 높일 수 있음.

- 첨가제의 양에 따라 형상제어가 가능하며 골결손부 내부까지 충진이 가능하므로 소실이 없고, 골이식재와 첨가제 간의 결합력이 존재하여 일정시간 동안 형상을 유지되므로 더욱 빠른 치유가 가능함.

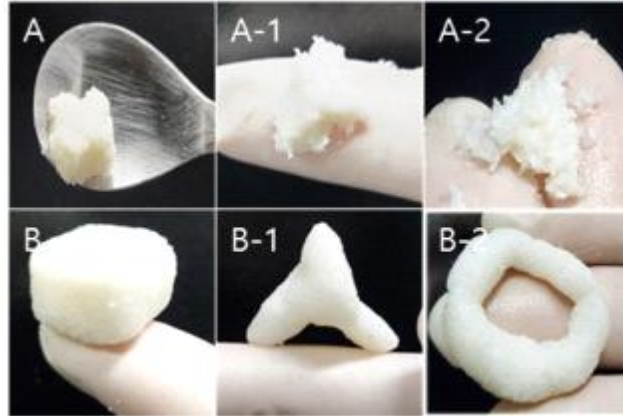


그림 10. A, A-1, A-2; 일반골이식재, B, B-1, B-2; 셀룰로오스계 생분해성 고분자가 첨가된 골이식재

다. 연구개발대상 기술의 개요

○ 연구개발 개요

- 본 연구과제는 반려동물(특히 개, 고양이)에서 다발하는 골결손 질환에 맞춤형으로 적용할 수 있는 돼지뼈 유래 골이식재 및 골이식재에 돼지 유래 콜라겐 및 셀룰로오스 고분자를 적용한 제품을 개발하여 기능성 및 사용 용이도 개선을 목표로 함.



그림 11. 개발 제품 개요

○ 핵심기술

- 돼지 유래 골이식재 제작 기술 : 돼지 등뼈에서 해면골을 추출하여 항원·항체 반응을 일으킬 수 있는 돼지 조직 및 골수 등의 유기물을 제거하고, 열처리 통한 저결정성 하이드록시아파타이트 결정 구조를 갖는 공정을 개발
- 다양한 크기와 형태의 골이식재 제작 기술 : 0.3~0.5 mm, 0.5~1.0 mm 크기의 파우더 타입과 5*5*10 mm³ 블록 타입으로 제작 기술
- 콜라겐 포함 기술 : 약물 탑재가 가능한 콜라겐을 골이식재 표면에 도포하여 골형성능

을 향상시킬 수 있는 기술

- 셀룰로오스계 생분해성 고분자를 적용하여 조작성을 향상할 수 있으며, 약물이 탑재가 가능한 콜라겐을 첨가하여 골형성 및 빠른 치유가 가능한 골이식재 기술

1-2. 연구개발 대상의 국내·외 현황

가. 국내 기술 수준 및 시장 현황

○ 기술현황

- 현재 국내의 경우에는 반려동물용 의료기기 시장규모에 비하여 골이식재 및 콜라겐 제품에 관련업체 및 기술은 미비함.
- 국내 동물용 의료기기 중 생체재료이식용뼈로 인허가를 받은 품목은 총 10개임(19년 5월 기준).
- 현재 베티리젠에서 12개, 제노스에서 2개 제품을 시판중임.

표 2. 국내 시판 중인 동물용 생체재료 이식용뼈 제품

제품명	구성	형태	업체명
PureFuse	DBM mixed with cancellous bone chips & natural mineral bone chips	Putty	베티리젠
NatraFuse	DBM mixed with cancellous bone chips	Putty	
DynaFuse	DBM (Demineralized Bone Matrix)	Putty	
PureOss	DBM mixed with cancellous bone & natural mineral bone	Powder, Chip, Granule	
NatraOss	DBM mixed with cancellous bone	Powder, Chip, Granule	
DynaOss	Demineralized Bone	Powder, Chip	
HealiOss	Cortical mixed with cancellous bone (Dental use only)	Powder, Chip	
CareOss	cancellous bone	Powder, Chip, Granule	
VegaOss	Cortical bone (Dental use only)	Powder, Chip	
HydrOss	Pure Mineral bone (Calcium phosphate bone) Made of β -TCP & HA & other mineral bone from natural bone of canine	Powder, Chip	
Cancellium	Surface-Demineralized cancellous bone Block	Block bone	
SponZ	Demineralized Compressible Cancellous Sponge bone Block	Sponge block Bone	
OSTEON™ III	Hydroxyapatite(HA) 60% + β -Tricalcium phosphate(β -TCP) 40%	powder	㈜제노스
OSTEON™ III Collagen	OSTEON™ III coated with Type I Collagen	Block bone	

OSTEON 3 Collagen



Microstructure

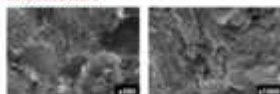


그림12. (주)제노스 사의 OSTEON 3 Collagen(좌)와 베티리젠 사의 NatraFuse(우)

- (주)메드파크는 국내외 인증획득 능력 보유(RA) - 국내 4등급(치과용 골 이식재) 품목

허가, CE, FDA 진행 중 / 실사 완료 (2020년 내 완료 가능)

- 생체재료 개발 완료(콜라겐, HA, 이중골, 창상피복재 등)
- 인의 이중골이식재, 동종골이식재 및 콜라겐 멤브레인 판매 및 수출
- 돼지 피부를 이용한 콜라겐 원료 제작 및 판매 출시 예정
- 글로벌 인허가 (CE, FDA) 기준 시설 및 품질시스템 적용 (ex. 클린룸 10,000 class)
- 벤처기업인증/기술혁신형중소기업(Inno-Biz) 보유
- 골이식재 관련 등록 특허 2개, 출원 4개, PCT 출원 1개 보유

○ 시장현황



그림 13. 반려동물 관련 국내 시장규모

- 농림축산식품부와 산업연구원의 통계 조사에 따르면 국내 반려동물 관련 시장 규모는 2015년 1조 8,000억원에서 2020년 5조 8,000억원으로 확대될 전망이며, 특히 동물용 의약품 판매 현황은 2017년 958억원으로 연평균 22.7%의 성장률을 보임
- 관련 시장 규모의 증가에 따라 동물용 의약품기업 현황은 2015년 178개 업체에서 2019년 403개 업체로 증가하였고, 의약품 품목 허가 현황은 2015년 1,097개에서 2019년 2,555개로 증가하였으며 이 중 정형외과 의약품은 151개 (제조: 91개, 수입: 60개)로 대략 6% 정도 차지함
- 동물용 의약품 시장의 꾸준한 성장세와 보호자들의 고급 진료에 대한 수요가 늘어남에 따라 인체용 의약품 업체에서도 동물용 의약품 시장에 관심과 투자가 늘어나고 있음

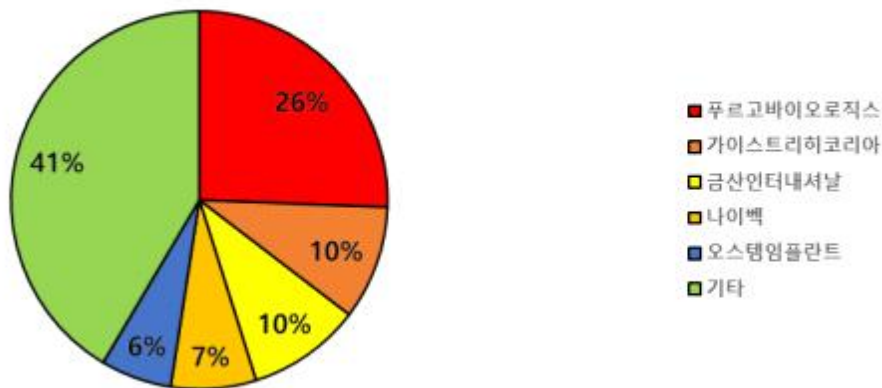


그림 14. 2011~2017년 동물 의약품 연간성장률(CAGR)과 연간 매출액(A), 내수(B), 수출액(C) (강경목 외, 국내 동물용의약품 시장 동향 및 향후 전망, 2019, Journal of Veterinary Clinics)

○ 경쟁기관현황

- 동물용의 경우 현재 베테리젠에서 동종골 관련 제품을 판매하고 있으며 (주)제노스에서 합성골을 제작 판매하고 있음.
- 그 외 현재 인의용 골이식재 국내시장은 16개 회사, 82개의 제품이 출시됨. 제품현황으로는 푸르고바이오로직스가 21개로 26%를 차지하였고, 가이스트리히코리아가 8개군으로 10%를 차지함.

골이식재 회사별 제품현황



<Medicalpie, 2018.04.01., 보험현황기준>

그림 15. 회사별 골이식재 제품현황

- 의료용 콜라겐의 경우, 동물 전용으로 허가된 제품은 없으며, 인의용 제품으로 의료용 콜라겐원료를 직접 제조할 수 있는 기업은 (주)SK바이오랜드, (주)다림티센, 세원셀론텍(주), 테고사이언스(주) 및 (주)메드파크가 있음.



그림 16. 콜라겐을 이용한 의료용품의 예시

○ 지식재산권현황

- 국내의 경우 매년 반려동물 관련 특허는 증가추세에 있으나, 반려동물 의료기기의 관련 특허는 현재 확인되지 않음. 따라서 다음과 같이 동물용 골이식재에도 적용 가능한 인의용 중요 지식재산권 현황은 다음과 같음.

표 3. 인의용 골이식재 지식재산권 현황

특허 출원번호	출원인	발명의 요약
동종골이식재		
	코리아본뱅크	<ul style="list-style-type: none"> • 제목 : 스폰지형 골 이식재 및 이를 제조하는 방법 • 내용 <ul style="list-style-type: none"> - 초음파 공명형상을 이용하여 골조직의 탈지, 탈회, 세척, 멸균 공정을 행하여 스폰지형 골이식재 제조 - 물성을 유지하고, 골형성 유도요소를 보호하고 효과적으로 방출 가능한 보호제 처리
	한스바이오메드	<ul style="list-style-type: none"> • 제목 : 탈회골(DBM)을 포함하는 골 충전재의 제조방법 • 내용 <ul style="list-style-type: none"> - 뼈 조직으로부터 탈회한 골 분말을 사용하여 일정한 형태로 만든 골 충전재인 DBM-스틱을 제조하는 방법 - DBM-스틱은 기존의 DBM 제품보다 DBM함량이 높아 골재생능력이 뛰어나고 사용하기 편리함.
이종골이식재		
	나이백	<ul style="list-style-type: none"> • 제목 : 이종골 유래 골이식재 및 그 제조방법 • 내용 <ul style="list-style-type: none"> - 기존의 이종골 유래 골이식재에 비해 단백질 함량이 낮아 생체적합성이 우수함. - 산성 아미노산으로 표면을 처리함으로써 골세포의 부착능을 증가시킬 수 있으며, 생리활성인자를 도입하여 신생골의 골전도도를 향상시킬 수 있음.
	태산솔루션스	<ul style="list-style-type: none"> • 제목 : 돼지 혹은 소의 해면골을 이용한 일정 부피의 인체 이식용 해면골 제조방법 • 내용 <ul style="list-style-type: none"> - 돼지나 소의 해면골을 취하여 무기물화함으로써 골이식이 필요한 환자들에게 보다 적합하고 안전한 해면골을 적소·적기에 제조·공급할 수 있음.
합성골이식재		
	메가젠임플란트	<ul style="list-style-type: none"> • 제목 : 인산칼슘계 다공성 골 대체재의 제조 방법 및 이에 의하여 제조된 인산칼슘계 다공성 골 대체재 • 내용 <ul style="list-style-type: none"> - 고분자 템플레이트로 하여 제조한 나노 입자와 고분자 혼합용액으로 입자를 제조한 다음, 고온의 열을 가하여 임경이 약 800~1200μm인 입자를 제조하는 것을 특징으로함. - 다공성 마이크로 입자는 약물 담체로서 뿐만 아니라, 우수한 생체활성을 나타내므로 골 형성을 유도하여 골 충전재, 수복재, 지지체 등의 재료로 널리 사용될 수 있음.
	류현승외 8명	<ul style="list-style-type: none"> • 제목 : 망상골형 골이식재 및 그 제조방법 • 내용 <ul style="list-style-type: none"> - 생체 세라믹 분말로 구성되고 3차원적으로 연결된 기공구조를 갖는 망상골형 골이식재 및 그 제조방법 - 종래의 산호를 이용한 골이식재보다 환경보호와 제조단가 측면에서 유리할 뿐만 아니라 망상골형 골이식재의 기공크기를 변화시킬 수 있으며 반복 포함횟수를 조절함으로써 기공율과 강도를 변화시킬 수 있음.
콜라겐 원료		
	전북대학교 산학협력단	<ul style="list-style-type: none"> • 제목 : 축산 부산물로부터의 고순도 콜라겐 추출방법 • 내용 <ul style="list-style-type: none"> - 질병 등으로부터 오염되지 않은 축산 부산물로부터 비 콜라겐 물질

		을 제거하여 고순도 콜라겐을 추출 정제함으로써 의료용 고순도의 콜라겐을 추출하는 방법
	세원셀론텍	<ul style="list-style-type: none"> • 제목 : 연골조직 수복용 콜라겐의 제조 및 사용방법 • 내용 <ul style="list-style-type: none"> - 돼지 피부 조직으로부터 분리한 콜라겐을 무균적으로 주사용기에 충전하여 고농도 콜라겐 용액 주입제를 수득하는 방법 - 생체적합물질인 콜라겐을 연골결손 부위에 외과적 절개 없이 주사침으로 적용부위에 주입 가능한 형태

○ 표준화현황

- ‘의료기기법’에 따르면, 사람이나 동물의 질병을 진단·치료 목적 등으로 사용되는 ‘의료기기’는 ‘식품의약품안전처장’에 의해 그 등급의 분류 및 지정이 이뤄지고 있으며, 이는 ‘보건복지부장관’과 ‘식품의약품안전처장’의 소관 사항이지만, 동물용으로 전용할 것을 목적으로 하는 기기에 관하여는 ‘농림축산식품장관’의 소관 사항임.
- ‘의료기기법’ 제19조, 제46조 및 ‘동물용의약품 등 취급규칙’ 제45조의 규정에 따라 품질에 대한 기준이 필요하다고 인정하는 동물용 의료기기에 대하여 그 적용범위, 형상 또는 구조, 시험규격, 기재사항 등의 기준규격을 정하도록 동물용 의료기기 기준규격 제1조에 규정되어 있음.
- 그러나, 동물의 경우 동물용 골시멘트에 한해서만 규격 및 평가 기준에 대해 ‘동물용 의료기기 기준규격’에서 다루지고 있으며, 골이식재를 포함한 다른 의료기기에 대해서는 인체용 의료기기의 개별기준을 적용하도록 권고되어지고 있음.
- ‘식품의약품안전처 식품의약품안전평가원’에서는 2010년에 인의용 「치과용 골이식재의 물리·화학적 특성 평가가이드라인」과 2018년에 「골조직 재생용 생체활성 지지체의 평가 가이드라인」을 고시하여 임상에서 쓰이는 골이식재가 갖춰야 할 특성에 대한 객관적인 시험 방법 및 평가 기준을 제시하고 있으며, 콜라겐을 기반으로 하는 다양한 의료기기의 개발 및 제조에 있어 시험항목을 포함한 평가 기준에 대해 2019년에 「콜라겐이 함유된 의료기기의 물리·화학적 특성 시험방법 가이드라인」을 고시하였음.

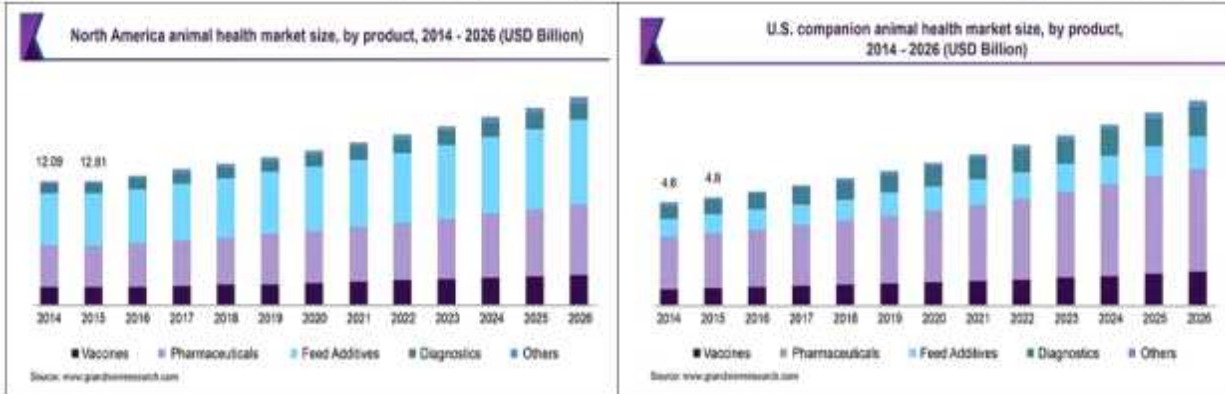
나. 국외 기술 수준 및 시장 현황

○ 시장현황

- 미국 내 동물 헬스케어 시장은 과거 연관된 시장으로 여겨진 농업 분야에 비해 기하급수적으로 성장하고 있으며, 더 이상 밀접한 시장으로 여기기 어려움.
- Grand View Research에 따르면, 글로벌 동물 보건 시장 규모는 ‘18년 447억 4,000만 달러로 2026년까지 연평균 5% 성장할 전망이다.

<북미 동물 헬스 케어 시장 규모>
(단위: 십억 달러)

<美 제품 별 반려 동물 보건 시장 규모>
(달러: 십억 달러)



자료: Grand View Research

자료: Grand View Research

그림 16. 북미의 반려동물관련 시장 규모 <Grand view reserch, 2014>

- 생명 공학 분야 투자가 인간을 넘어 동물로 확장되면서, 동물 헬스 케어 분야는 자본 유입, 디지털 혁신, 유전 및 생명 공학 기술 발전으로 외부 투자자들의 관심이 집중되고 있으며 스타트업이 지속적으로 생겨나고 있음.
- 세계 동물용 의료기기 시장의 1위를 차지하는 미국의 반려동물산업협회 (American Pet Products Association)에 따르면, 2018년 미국 반려동물 시장의 매출액은 721억 달러(약 80조원)를 넘었고, 이 중에서 병원 및 의료서비스에 지출된 금액이 170억 7천만달러(24%)에 해당하는 것으로 나타났음



그림 17. 미국 반려동물시장 지출 금액(단위 : 10억 달러)
미국반려동물산업협회(APPA)

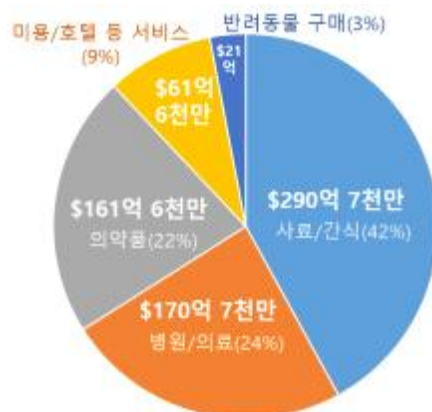


그림 18. 미국 반려동물시장 대표 지출 품목
미국반려동물산업협회(APPA)

○ 기술 및 경쟁기관현황

- BIOMATCAN Ltd. (Fredericton, NB, Canada)에서는 β -TCP와 hydroxyapatite가 1:1 비율로 섞인 합성골 상품(S-VETOSS)을 판매하여 동물 치과와 정형외과에서의 골이식에 적용하고 있음.
- Veterinary Transplant Service, Inc. (Kent, WA, USA)는 세계 최초로 수의 조직 은행(Veterinary Tissue Bank)을 운영하면서, 동물(특히 개) 치과와 정형외과에 쓰이는 동종골(Osteoallograft[®]), 합성골(Synergy[™])과 DBM을 기반으로 한 putty 형태의 상품(Fusion Xpress[™] Bone Putty) 및 주사 가능한 성장 인자 등을 판매하고 있음.
- 대부분의 동물병원에서 골이식은 인의용 제품을 사용하고 있으며, 가장 많이 사용되는 골이식재는 Bio-OSS[®]로 소 뼈 유래로 Geistlich Pharma (Wollhusen, Switzerland)에서 개발됨.
- Geistlich Pharma에서는 Bio-OSS[®]에 돼지 유래 콜라겐이 포함된 Bio-OSS[®] Collagen을 포함하여 흡수성 콜라겐 차폐막인 Bio-Gide[®]도 판매 중임

표 4. 국외 경쟁 기관 현황

제조사	상품명	재질
Keystone Dental, Inc.	Dynagraft II	Demineralized bone allograft
Osteotech, Inc.	Grafton	Demineralized freeze dried bone allograft
Regenerative Technology, Inc.	Regenafil	Demineralized freeze dried bone allograft
Tutogen Medical Co.	Puros	Demineralized freeze dried bone allograft
Bio-TIS	Allotis	Demineralized freeze dried bone allograft
LIFE-NET	Oragraft	Freeze dried bone allograft
Rocky Mountain Tissue Bank	ICB	Freeze dried bone allograft
Geistlich AG	Bio-Oss Bio-Oss Collagen	Bovine-derived bone matrix
ACE Surgical Supply Company Inc	NuOss	Deproteinized bovine bone
Biomet, Inc.	Pro Osteon	Coral-derived hydroxyapatite
NovaBone, LLC	PerioGlass	Bioactive glass
Straumann Holding AG	Emdogain	Enamel matrix derivative (extracted from pig tooth)
Dentsply Inc.	Osteograft	Bovine-derived hydroxyapatite
	Biogran	Bioactive glass
	PepGen P-15	Bovine-derived hydroxyapatite
NIBEC	OCS-B	Bovine-derived bone
	OCS-H	Horse-derived bone
Biomatlant	MBCP	Synthetic Bone/ Hydroxyapatite: β -Tricalcium phosphate = 60:40
Curasan AG	Cerasorb	Synthetic Bone/ β -Tricalcium phosphate

○ 지식재산권현황

- 해외의 경우 매년 반려동물 관련 특허는 증가추세에 있고, 반려동물 의료기기의 관련한 특허는 한정적임. 따라서 다음과 같이 동물용 골이식재에도 적용 가능한 인의용 중요 지식재산권 현황은 다음과 같음.

표 5. 국외 인의용 골이식재 주요기업 및 제품기술 현황

특허 출원번호	출원인	발명의 요약
동종골이식재 (동물)		
	Robert P Lanze William M Kuhlrelber William L Chick	<ul style="list-style-type: none"> • 제목 : Methods of use of uncoated gel powders • 내용 <ul style="list-style-type: none"> - 염증반응이나 거부반응 없는 동물에서 채취한 세포를 이식하는 방법으로 생체적합성을 가지고 있으며 온도 비의존성 겔을 이용하여 캡슐화하여 면역세포로부터 안전하게 이식시킬 수 있는 방법
동종골이식재 (사람)		
	Keyvan Behnam Nanette Forsyth James Russell John Winterbottom Todd Boyee	<ul style="list-style-type: none"> • 제목 : Osteoinductive demineralized Cancellous bone • 내용 <ul style="list-style-type: none"> - 성장인자나 생체활성 물질등의 화학적인 결합처리를 하거나 기계적인 압축, 미세화등의 방법을 통하여 골전도성 갖는 탈회골(DBM)을 제작하는 방법.
이종골이식재		
	Heinz Lussi, Chur; Peter Geistlich	<ul style="list-style-type: none"> • 제목 : Process for preparing high purity bone mineral • 내용 <ul style="list-style-type: none"> - 고순도의 무기질 분을 제작하는 공법에 관한 것으로 소뼈를 60°C의 흐르는 물을 이용하여 암모니아와 1차 아민을 제거하고, 250°C와 600°C의 열처리를 통하여 유기물을 제거하는 공정.
합성골이식재		
	Ping Luo	<ul style="list-style-type: none"> • 제목 : Methods of synthesizing hydroxyapatite powders and bulk materials • 내용 <ul style="list-style-type: none"> - 스프레이 드라이공법을 이용하여 8µm이하의 그레놀 형상의 비다공성 하이드록시아파타이트를 제조하는 방법 - 공정조건에 따라 솔리드형이나 할로우 구조 또는 도넛구조가 제작이 가능하며 균질한 형상의 합성골이식재를 제조할 수 있는 방법
	Shimp, Lawrence Renkma, Peter	<ul style="list-style-type: none"> • 제목 : Spherical hydroxyapatite powders and process for the production thereof • 내용 <ul style="list-style-type: none"> - 바인더 첨가에 따른 미세하고 고밀도의 구형 하이드록시아파타이트 파우더를 제조하는 방법으로 기존의 고상반응법보다 미세한 파우더를 제작할 수 있는 공정.
콜라겐 원료		
	Fredrick H Silver Yasushi P Kato	<ul style="list-style-type: none"> • 제목 : Synthetic collagen orthopaedic structures such as graft, tendons and other structure • 내용 <ul style="list-style-type: none"> - 정형외과에서 보철물이나 이식체를 식립할 때 사용할 수 있는 콜라겐 구조체에 관한 내용으로 생체적합성을 가지며 높은 인장력을 가지고 있어 신체 결합부위와 우수한 접합력을 가진 콜라겐 구조체에 관한 내용임.

○ 표준화현황

- 현재 'EU' 소속 국가에서는 대부분의 동물용 의료기기에 대한 등록제도는 운영되지 않고 있으며, '일본'은 '약사법'에서 동물용 의료기기를 품목별 사전 허가제도로써 관리하

고, ‘일본동물용의약품협회’에서 제정한 규격에 따라 허가하고 품목별 특성을 고려하여 동물용 의료기기 표준을 제시하고 있음.

- ‘미국’에서는 동물용 의약품과 동물용 의료기기를 미국 식품의약국(Food and drug Administration) 산하의 ‘Foods and veterinary Medicine’의 ‘Center for veterinary Medicine (CVM)’이라는 기관에서 함께 관리하고 있으며, 인체용과 달리 동물용 의료 기기에서는 사전 허가 사항[Pre-market Approval, 510(K)]이 요구되지는 않으나, 시판되는 동물용 의료기기에 대해서 미국 내·외에서 발생한 부작용을 전자 서식 의무 보고 제도를 통해 사후 관리 보고를 의무화 함.
- 골이식재와 콜라겐이 함유된 의료기기는 국제표준화기구(International Organization for Standardization, ISO)와 미국재료시험협회(American Society for Testing Materials, ASTM)에서 제시된 규격을 따라 제조 및 평가를 진행하고 있음 (표 6과 7).

표 6. 골이식재 관련 주요 해외 규격

규격 번호	제목
ISO13779-1	Implants for surgery – Hydroxyapatite – Part 1 : Ceramic hydroxyapatite
ISO13779-2	Implants for surgery – Hydroxyapatite – Part 2 : Coatings of hydroxyapatite
ISO13779-3	Implants for surgery – Hydroxyapatite – Part 3 : Chemical analysis and characterization of crystallinity and phase purity
ISO10993-1	Biological evaluation of medical devices – Part 1 : Evaluation and testing within a risk management process
ISO 10993-14	Biological evaluation of medical devices – Part 14: Identification and quantification of degradation products from ceramics
ASTM F1185-03	Standard Specification for Composition of Hydroxylapatite for Surgical Implants
ASTM F1581-08	Standard Specification for Composition of Anorganic Bone for Surgical Implants

표 7. 콜라겐이 함유된 의료기기의 주요 해외 규격

규격 번호	제목
ISO 22442-1	Medical devices utilizing animal tissues and their derivatives – Part 1 : Application of risk management
ISO 22442-2	Medical devices utilizing animal tissues and their derivatives – Part 2 : Controls on sourcing, collection and handling
ISO-22442-3	Medical devices utilizing animal tissues and their derivatives – Part 3 : Validation of the elimination and/or inactivation of viruses and transmissible spongiform encephalopathy (TSE) agents
ASTM F2212-11	Standard Guide for Characterization of Type I Collagen as Starting Material for Surgical Implants and Substrates for Tissue Engineered Medical Products (TEMPs)

2. 연구개발과제의 수행 과정 및 수행 내용

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용	연구결과
1차 년도 (2020)	(주)메드파크	◆ 돼지 유래 골이식재 제조 공정 및 조성 확립	☞ 적용동물에 따른 과립형 및 블록형 이종골 이식재 공정 개발	<ul style="list-style-type: none"> • 인의용 제조공정을 주의용에 맞게 분류방법 도입
		◆ 콜라겐이 포함된 동물용 골이식재의 개발	☞ 이상적인 골이식재 포함 콜라겐 농도 설정	<ul style="list-style-type: none"> • 농도에 따른 콜라겐 코팅 용액 제조공정 개발 • 골이식재 전처리 공정 개발
	전남대학교	◆ 제작된 동물용 골이식재의 사용적합성 평가	☞ 3D 프린팅된 골결손 모델에서 직접 이식 후 조작성 및 용이도 평가	<ul style="list-style-type: none"> • 3D 프린팅 골결손 모델 제작 완료 • 기존 상용화 골이식재에 비해 변형능 및 형태유지능이 뛰어난을 확인
		◆ 콜라겐 포함 동물용 골이식재의 물성 평가	☞ SEM, FT-IR, BET, XRD, Water uptake 검사를 통해 골이식재의 물성 평가	<ul style="list-style-type: none"> • SEM 촬영을 통해 골이식재 표면에 다공성과 콜라겐 확인 • FT-IR 실험을 통해 콜라겐 포함 골이식재에서 Amide I, Amide II 콜라겐 밴드를 확인 • Water uptake 실험을 통해 콜라겐 포함 골이식재에서 수분 흡수성이 더 높음을 확인 • XRD 실험을 통해 콜라겐 포함 골이식재에서 Ca/P ratio의 농도에 따른 차이가 없음을 확인 • BET 실험을 통해 콜라겐 포함 골이식재에서 농도에 따른 비표면적 차이가 없음을 확인
		◆ 콜라겐 포함 동물용 골이식재의 동물 모델 기반 생체적합성 평가	☞ 랫드 두개골 결손 모델(Rat calvarial defect model)에서 제작된 콜라겐 포함 동물용 골이식재를	<ul style="list-style-type: none"> • 랫드 두개골에 직경 8 mm의 골결손을 유발한 후 군별 골이식재를 이식함

			이식하여 4주차, 8주차 군으로 골형성능 비교 평가	<ul style="list-style-type: none"> 4.8 주차 안락사 진행하여 방사선 촬영에서 골이식재의 골형성능 확인 4.8 주차 샘플 Micro CT와 조직검사에서 대조군에 비해 유의적인 신생골 형성 확인 골이식재 간의 유의적인 차이는 보이지 않으나 이식 시 0.5%와 0.75%군에서 지혈의 우수성을 보였으며, 이식 시 이식한 부위에서의 유지능이 우수하였음.
2차 년도 (2021)	(주)메드파크	<ul style="list-style-type: none"> 약물탐재가 가능한 콜라겐 포함 이종골 이식재의 시제품 제작 	약물 탐재가 가능할수 있게 콜라겐과 이종골 이식재 복합재 시제품을 제작	콜라겐 복합재 시제품 제조 완료
		<ul style="list-style-type: none"> 콜라겐과 셀룰로오스계 생분해성 고분자가 포함 이종골 이식재의 시제품 제작 	콜라겐 코팅 골이식재와 셀룰로오스계 고분자가 포함된 이종골 이식재 시제품 제작	콜라겐 및 셀룰로오스 생분해성 고분자 이종골 이식재 시제품을 제작 완료 하였음
	전남대학교	<ul style="list-style-type: none"> 콜라겐 및 셀룰로오스계 생분해성 고분자 포함 동물용 골이식재의 세포독성 평가 	☞ 개발된 콜라겐 및 셀룰로오스계 골이식재의 세포 독성 유무를 판단하기 위하여 in vitro 세포 독성 평가 방법으로 Agar overlay test를 수행	<ul style="list-style-type: none"> 간접 세포독성 평가 3반복 결과 모두 모든 실험군에서 개발된 골이식재의 세포 독성이 없음을 확인함
		<ul style="list-style-type: none"> 콜라겐 포함 동물용 골이식재의 동물 모델 기반 생체적합성 평가 	☞ 랫드 두개골 결손 모델(Rat calvarial defect model)에서 제작된 콜라겐 및 셀룰로오스계 포함 동물용 골이식재를 이식하여 3주차, 6주차 군으로 골형성능 비교 평가	<ul style="list-style-type: none"> 랫드 두개골에 직경 8 mm의 골결손을 유발한 후 군별 골이식재를 이식함 3.6 주차 안락사 진행하여 방사선 촬영에서 골이식재의 골형성능 확인 3, 6주차 샘플 Micro CT와 조직검사에서 대조군에 비해 유의적인 신생골 형성 확인 콜라겐 여부에 다른 유의적인 차이는

				<p>보이지 않으나 이식재 단독 처치군에 비해 rhBMP-2 추가 처치군에서 유의적인 신생골 형성 확인</p> <ul style="list-style-type: none"> 3주차와 6주차 샘플 Micro CT와 조직검사결과 유의적인 신생골 형성 차이는 보이지 않았으나 6주차에서 더 많은 신생골 형성 경향을 확인함. 모든 골이식재 처치군에서 지혈의 우수성을 보였으며, 이식 시 이식한 부위에서의 유지능이 우수하였음.
		<ul style="list-style-type: none"> 개발된 콜라겐 포함 골이식재들의 약물탑재 가능 평가 	<ul style="list-style-type: none"> 골이식재의 골형성 효능을 촉진하기 위한 약물탑재 가능성을 평가하기 위해 골형성 단백질을 사용하여 ELISA test를 수행 	<ul style="list-style-type: none"> 개발된 골이식재에서 1일차에 rhBMP-2 방출량이 최대이며 이후 감소하는 것을 확인함.

3. 연구개발과제의 수행 결과 및 목표 달성 정도

1) 연구수행 결과

(1) 정성적 연구개발성과

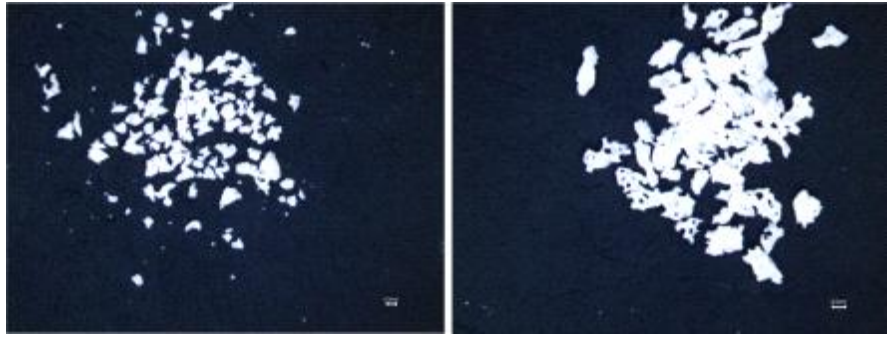
1차년도

○ 돼지 유래 골이식재 제조공정 확립

- 적용동물에 따른 과립형 및 블록형 이중골 이식재 공정 개발
- 인의용 제조공정을 수의용에 막제 분류방법 도입
 - 소동물용 0.3 ~ 0.5 mm, 대동물용 0.5 ~ 1.0mm 파우더 타입
 - 5*5*10 mm³ 블록 타입



[그림1] 돼지 유래 골이식재 제조과정



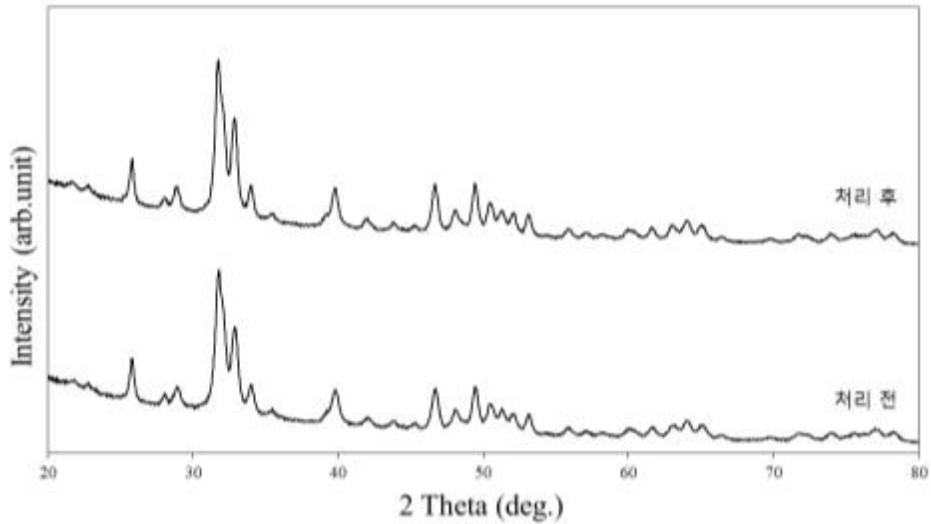
[그림2] 파우더 타입 골이식재



[그림3] 블록 타입 골이식재

- 돼지 유래 골이식재 후처리 공정 적용
 - 제조과정시 생성되는 미세분진 및 다공성 향상을 위한 후처리 공정 적용
 - Autoclave를 이용한 세척공정을 적용
 - 후처리 공정에 따른 성능평가 실시

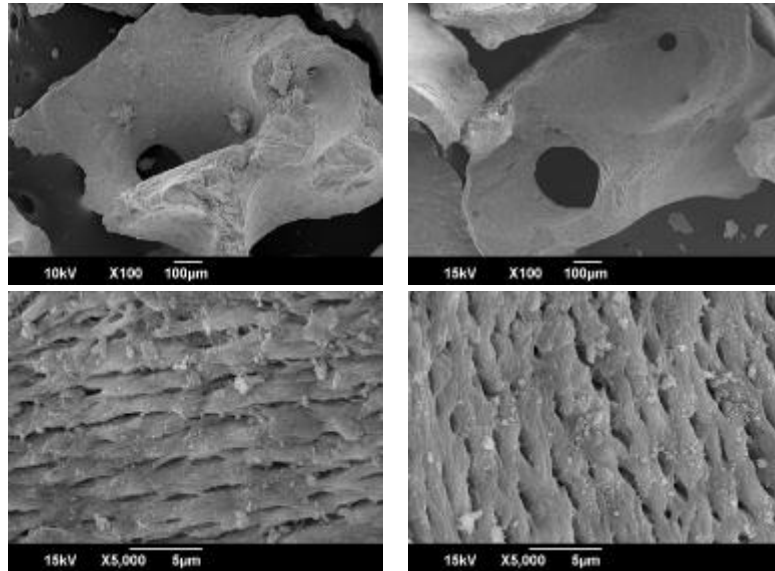
① 결정구조 관찰



[그림4] 후처리 전후 XRD 패턴

- 후처리 공정이 결정화도에는 크게 영향을 주지 않음.

② 표면미세구조관찰



후처리 전

후처리 후

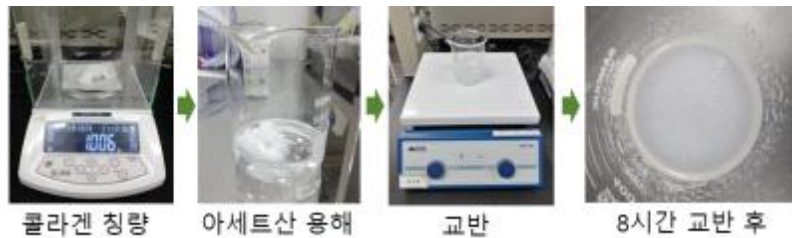
[그림5] 후처리 전후 SEM 촬영 이미지

- 후처리 결과 후처리전 골이식재에 비하여 표면이나 기공입구에 붙어있는 미세분말 등은 발견되지 않았고, 확대 관찰한 결과에서도 마이크로사이즈의 분말이 제거됨을 확인하였음.
- ③ 중금속 시험, 용혈성시험 및 조지방 시험 등을 통하여 기존 제품과 비교 평가한 결과, 문제점은 발견되지 않음.

- 코팅용 콜라겐 원료 제조 공정 확립
 - 돼지 유래 콜라겐 원료 제조 공정 확립
 - 고순도 콜라겐 졸 제조공정 확립



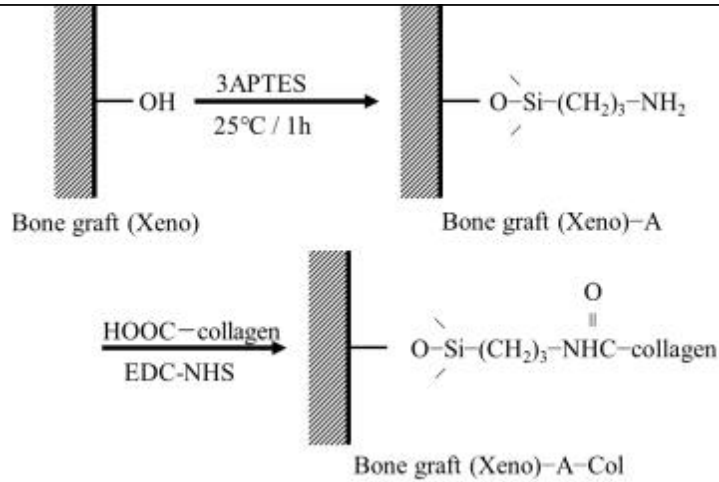
[그림6] 콜라겐 제조공정



[그림7] 콜라겐 졸 제조공정

- 제조된 돼지 유래 콜라겐을 농도에 따라 아세트산에 용해하여 콜라겐이 완전 용해시까지 (8hr) 교반 처리하여 코팅용 콜라겐 졸을 제조하였음.

- 콜라겐 코팅을 위한 골이식재 표면처리
 - 세척처리가 완료된 골이식재 표면에 콜라겐의 부착력을 향상시키기 위하여 코팅하기 전 커플링에이전트처리를 골이식재 표면에 활성화 시킴



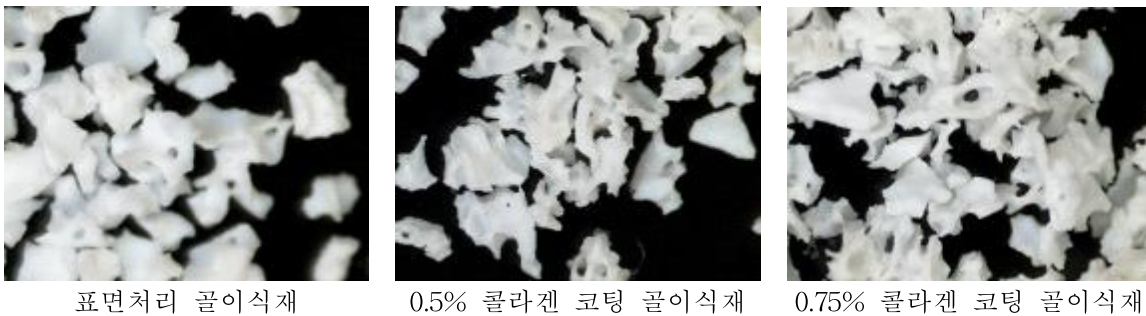
[그림8] Collagen immobilization of bone graft materials

- 콜라겐 코팅 골이식재 개발에 있어 중요 공정인 골이식재 표면처리 공정은 세척처리가 완료된 골이식재 표면에 있는 수산기(OH⁻)에 커플링 에이전트인 3-aminopropyltriethoxymethylsilane (3-APTES)과 반응하여 골이식재 표면에 아미노기 (-NH₂)를 가지게 함.
- 골이식재 표면에 형성된 아미노기가 콜라겐과 공유결합하여 골이식재 표면에 콜라겐을 고정화하게 됨. 이때 3APTES처리에 의해 아미노기를 가지는 골이식재 표면과 콜라겐의 카르복시기는 EDC (1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide)에 의한 활성화방법으로 결합체를 형성하게 됨.



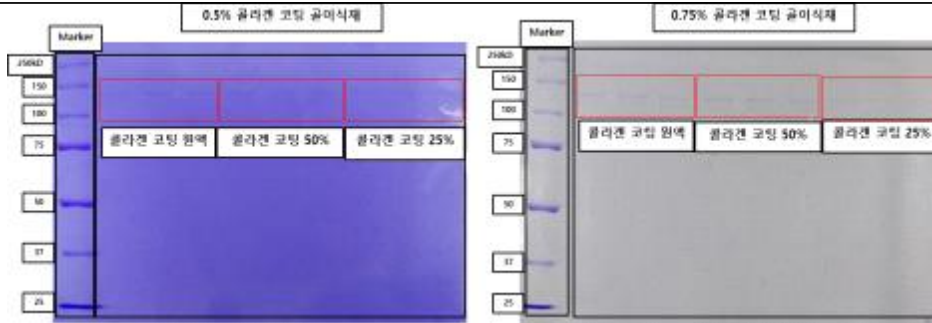
[그림9] 콜라겐 코팅 골이식재 제조과정

- 용해된 콜라겐 용액과 가교용액 표면처리된 골이식재를 혼합침지 후 골이식재만 걸러내어 정제수에 수차례 세척공정을 진행한 다음, 동결건조를 실시



[그림10] 콜라겐 코팅 골이식재 현미경 이미지

- 콜라겐이 코팅된 골이식재 표면에서 얇은 막형태의 콜라겐을 관찰 할 수 있으며, 골이식재의 형상이나 기공에 형상변화 없이 코팅막이 형성된 것을 확인할 수 있음.

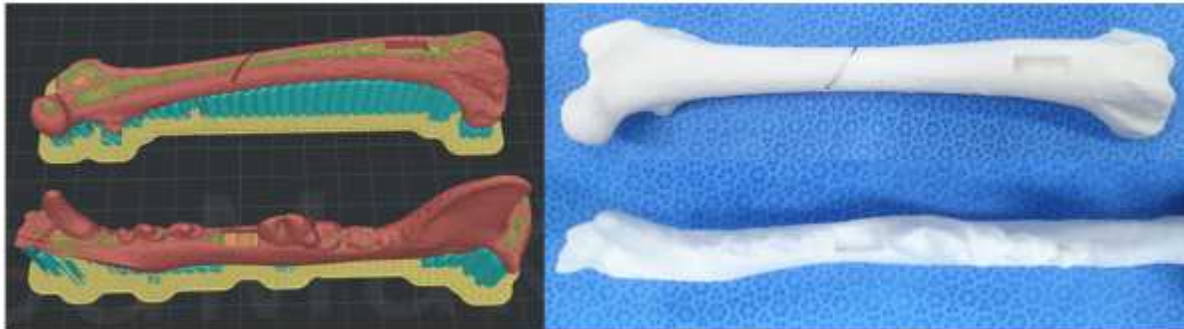


[그림11] 콜라겐 코팅 골이식재의 SDS-PAGE

- 콜라겐 코팅 골이식재에서 콜라겐의 존재를 확인하기 위하여 아세트산용액에 용해시켜 SDS-PAGE를 시행한 결과 2종의 제품 모두에서 150~100kDa 사이에 밴드 두줄이 확인되므로 두 가지 농도 모두 콜라겐 코팅이 이루어진 것을 확인할 수 있었음.

○ 콜라겐 포함 동물용 골이식재의 사용성 평가

- 3D 프린팅 기법을 이용하여 골 소실 모델 형성 후 제작된 골이식재를 적용하여 조작성 및 이식 시 사용적합성 등을 점수 평가함.



[그림12] 3D 프린팅 기법을 사용하여 제작한 턱뼈 및 넓다리뼈 골결손 모델.

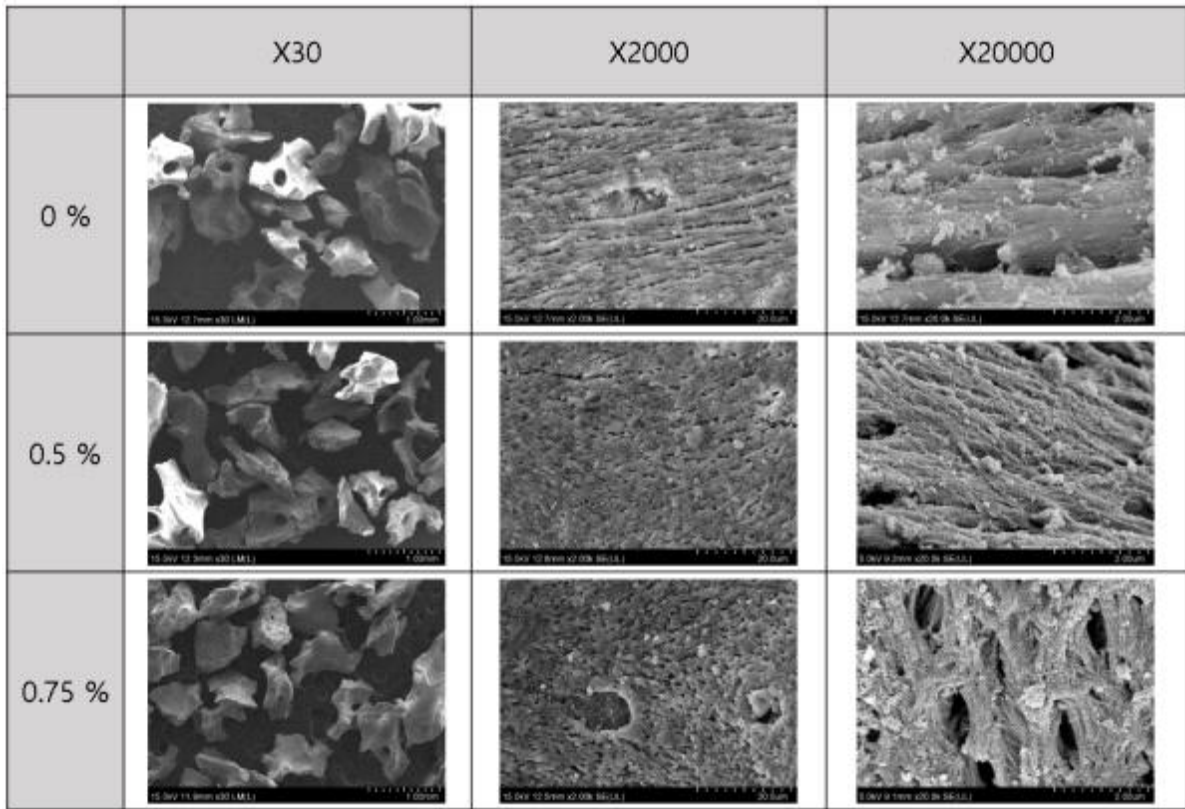
- 기존 상용화 제품과의 정확한 비교를 위해 Carvarial defect와 동일한 직경의 링을 이용하여 조작성 및 이식 시 사용적합성 등을 평가함.
- 총 4가지 항목으로 나누어 사용적합성 점수를 비교 평가함
 - 젖음성: 골이식재와 N/S가 잘 섞이는지 확인
 - 점성: 골이식재를 이식할 때 가루가 날리지 않는지 확인
 - 변형능: 결손부의 크기 및 모양에 맞춰 이식재의 형태 변형이 가능한지 확인
 - 형태 유지능: 이식 후 형태 유지가 잘 되는지 확인

기존제품	0.75% 콜라겐 포함 골이식재	점수 기준
		1: 기존 상용화 제품에 매우 부족함
		2: 기존 상용화 제품에 비해 부족함
		3: 기존 상용화 제품과 유사함
		4: 기존 상용화 제품에 비해 뛰어남
		5: 기존 상용화 제품에 비해 매우 뛰어남

	젖음성	점성	변형능	형태유지능
수의사1	4	3	2	3
수의사2	2	3	4	4
수의사3	2	3	4	3
수의사4	3	3	4	4
수의사5	3	3	4	4
평균	2.8	3	3.6	3.6

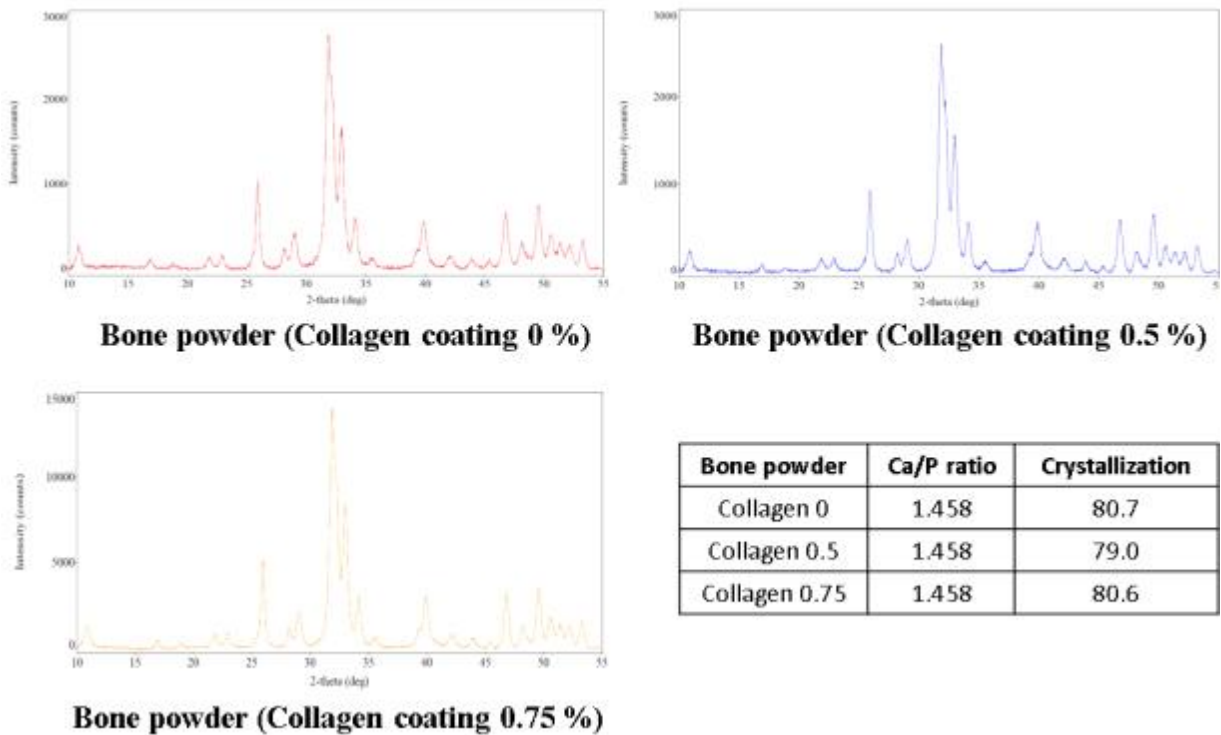
[그림13] 기존 제품과 0.75% 콜라겐 포함 골이식재의 사용성 평가 비교 결과

- 사용성 평가 결과 개발된 골이식재는 기존 제품에 비해 변형능과 형태유지능은 뛰어남을 확인할 수 있었으며 점성은 기존 제품과 동일한 정도임을 확인하였음.
 - 입자 크기는 개발된 골이식재가 기존 제품보다 더 작은 것을 확인할 수 있었고 이로 인해 N/S과의 젖음성 테스트에서 혼합되는 시간이 더 오래걸렸으나, 최종적으로 혼합되는 양은 동일함을 확인하였음.
- 콜라겐 포함 동물용 골이식재의 물성 평가
- 주사전자현미경(FE-SEM) 촬영을 통해 이식재의 형태학적 특징을 확인함.
 - 저배율(X30)에서 골이식재의 다양한 입자 크기와 거친 표면이 관찰되며, X2000배율에서는 다공성을 확인할 수 있음. 고배율(x20,000) 촬영 사진에서 콜라겐 포함 골이식재(0.5 및 0.75%)에서는 콜라겐이 관찰됨.



[그림13] 골이식재의 SEM 촬영 이미지

- X선 회절 분석을 통해 골이식재의 구조 및 결정화도를 분석함. 골이식재에 X선을 조사하여 회절되는 회절각과 강도를 바탕으로 시료에 함유된 결정성 물질의 종류와 양을 확인함.



[그림14] 골이식재의 XRD 시험 결과.

- 분석 결과 콜라겐 농도에 따른 골이식재의 Ca/P ratio 차이는 보이지 않았으며, 결정화도 차이도

보이지 않았음.

- BET 분석을 통해 콜라겐 포함 골이식재의 비표면적 및 기공 크기 분포를 분석함. 시료에 가스를 흡착시켜 시료 표면의 비표면적, 기공의 크기 및 분포를 측정함. 콜라겐 변성이 일어나지 않도록 전처리를 40°C 이하에서 진행함.

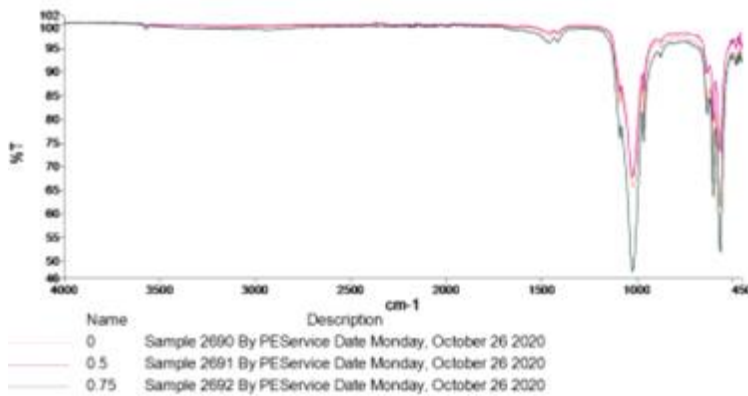
시료명	시험분석항목	시험분석결과	시험분석방법	비고
골이식재(0)	비표면적 (m ² /g)	32.9326	KS L ISO 18757 (KS A 0094)	
골이식재(0.5)		34.3522		
골이식재(0.75)		32.3867		

참고) 1. 가스흡착식 비표면적, 기공분포 측정기 (모델 : Micromeritics ASAP2420)를 이용하여 40°C/4hr 및 1.333Pa(10µmHg)이하 압력으로 전처리 후 질소가스를 사용하여 측정함

[그림15] 골이식재의 BET 분석 결과

- 분석 결과 콜라겐 농도에 따른 골이식재 비표면적의 유의적인 차이는 보이지 않았음.

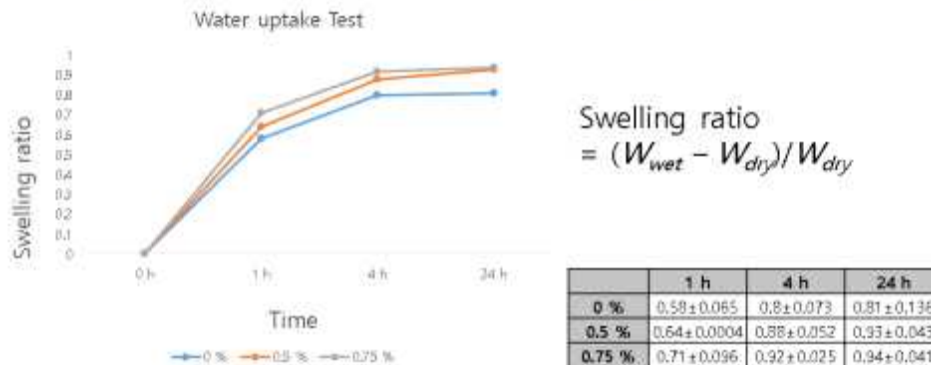
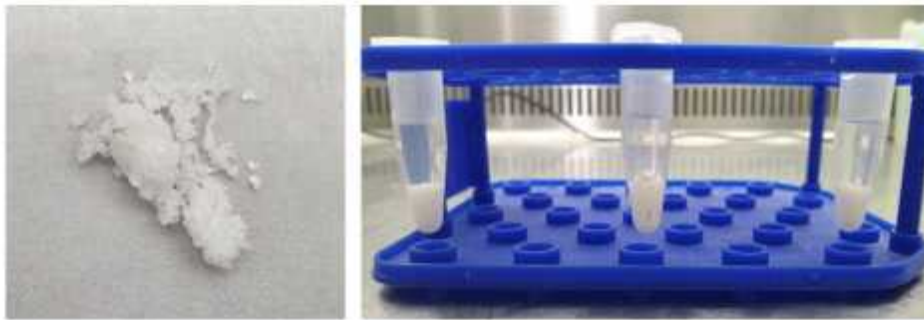
- ATR-FTIR 분석을 통해 콜라겐 포함 골이식재 표면의 화학적 특성을 확인함. 분광계를 사용해 4000-450 cm⁻¹ 범위에서 골이식재에 의한 적외선 복사 흡수를 수집하여 파장과 비교하여 분석함.



[그림16] 골이식재의 ATR-FTIR 분석 결과

- 분석 결과 콜라겐 포함 골이식재에서 Amide I (1638-1646 cm⁻¹), Amide II (1541-1157 cm⁻¹) 콜라겐 밴드가 관찰되었으며, 0.75% 콜라겐 포함 골이식재에서 비교적 뚜렷하게 관찰됨.

- Water uptake Test를 통해 콜라겐 포함 골이식재의 흡수력을 평가함. 골이식재 0.1 g 과 phosphate-buffered saline (PBS) 1 ml을 혼합시켜 37°C, 5% CO₂ 환경에서 1, 3 및 24시간 후 흡수성 평가.



[그림17] 골이식재의 Water uptake Test.

- 필터 페이퍼를 통해 흡수되지 않은 PBS를 제거한 후 골이식재의 무게를 측정, 비교한 결과 콜라겐 포함 골이식재에서 PBS의 흡수가 더 많이 되는 것을 확인.

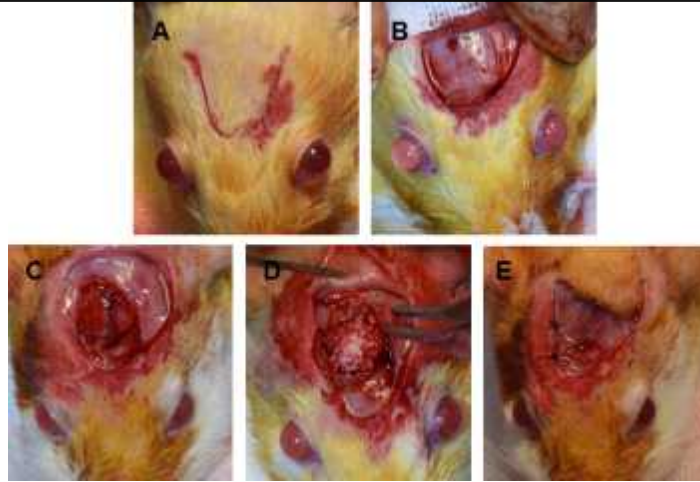
○ 콜라겐 포함 동물용 골이식재의 동물 모델 기반 골형성능 평가

- 랫드 두개골 결손 모델(rat calvarial defect model)에서 제작된 콜라겐 포함 동물용 골이식재를 이식 후 4 및 8주차에 방사선학적 및 조직학적 검사를 통해 생체적합성 및 신생골 형성 정도를 평가함.

[표1] 실험군 설정

4주차 군		8주차군	
Negative control	5	Negative control	5
0% collagen	5	0% collagen	5
0.5% collagen	5	0.5% collagen	5
0.75% collagen	5	0.75% collagen	5

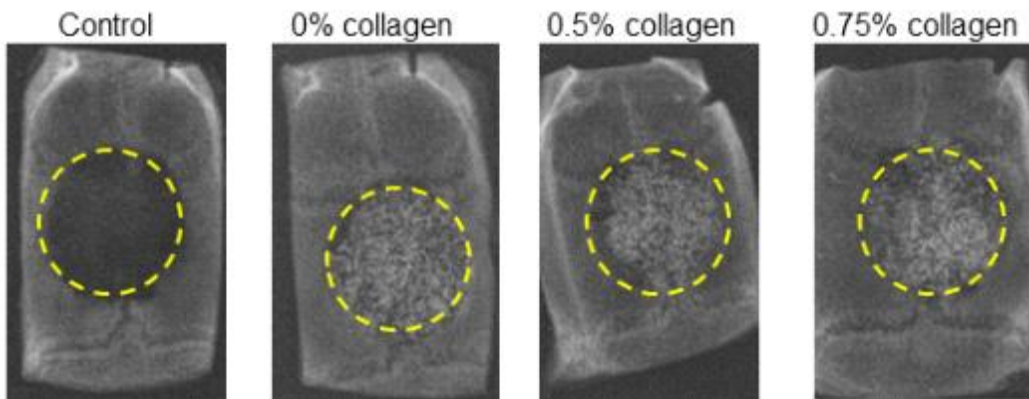
- 실험군은 총 8군으로 4주차에서 음성 대조군 (n=5), 0% 콜라겐 포함 골이식재 (n=5), 0.5% 콜라겐 포함 골이식재 (n=5), 0.75% 콜라겐 포함 골이식재 (n=5), 8주차에서 음성 대조군 (n=5), 0% 콜라겐 포함 골이식재 (n=5), 0.5% 콜라겐 포함 골이식재 (n=5), 0.75% 콜라겐 포함 골이식재 (n=5)으로 구성함.
- 평가방법은 4 및 8주차에 안락사하여 얻은 샘플로 X-ray촬영과 micro CT, 조직학적 평가를 실시하였음.



[그림18] 랫드 두개골결손 유발 및 골이식재 이식 방법.

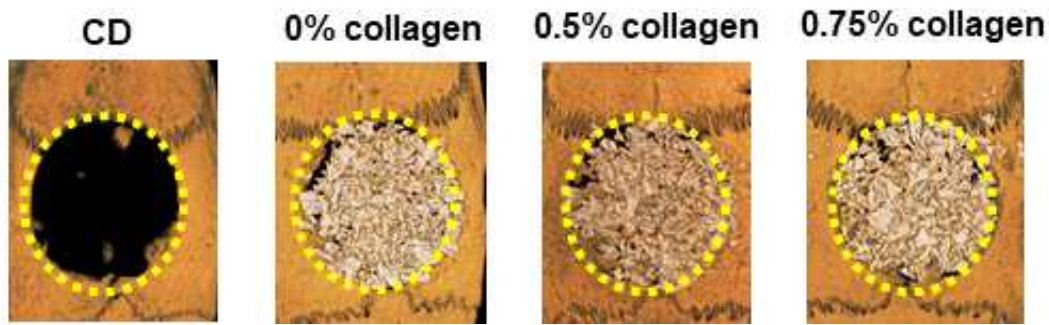
- A. 마취 하에 두피쪽 삭모 및 소독
- B. 15호 blade로 두개골 정중 절개 후 골막 박리.
- C. Surgical micromotor를 이용하여 trephine bur로 직경 8mm의 calvarial defect 형성.
- D. 각 군당 0.03g의 골이식재를 calvarial defect에 이식.
- E. 골이식 후 골막을 4-0 흡수성 봉합사로 봉합, 피부는 3-0 비흡수성 봉합사로 폐쇄함.

- 골이식재 이식 시 0% 콜라겐 포함 골이식재에서는 골결손 부위 안에서 잘 고정되지 않고 흘러지는 모습이 관찰되었으나, 0.5 및 0.75% 콜라겐 포함 골이식재는 혈액과 같이 응고되어 이식부위에서 유지능이 뛰어났음.
- 4주차에 CO₂로 안락사하여 조직채취 후 X-ray를 촬영하였고 10% 중성 포르말린에 고정시켜 Micro CT와 조직학적 평가를 실시하였음.



[그림19] 랫드 골결손 모델에서 군별 4주차 X-ray 촬영 사진

- 골이식 후 4주차 X-ray 촬영 결과 Control 군에서는 골결손 부분에 신생골 형성이 거의 보이지 않음. 골이식군에서는 골이식재가 제자리에 잘 유지되고 있으며 골결손부 경계에서부터 신생골 형성이 되는 것을 확인할 수 있음. 콜라겐 농도별 군 간의 신생골 형성의 차이는 방사선사진상에서 확인되지 않음.

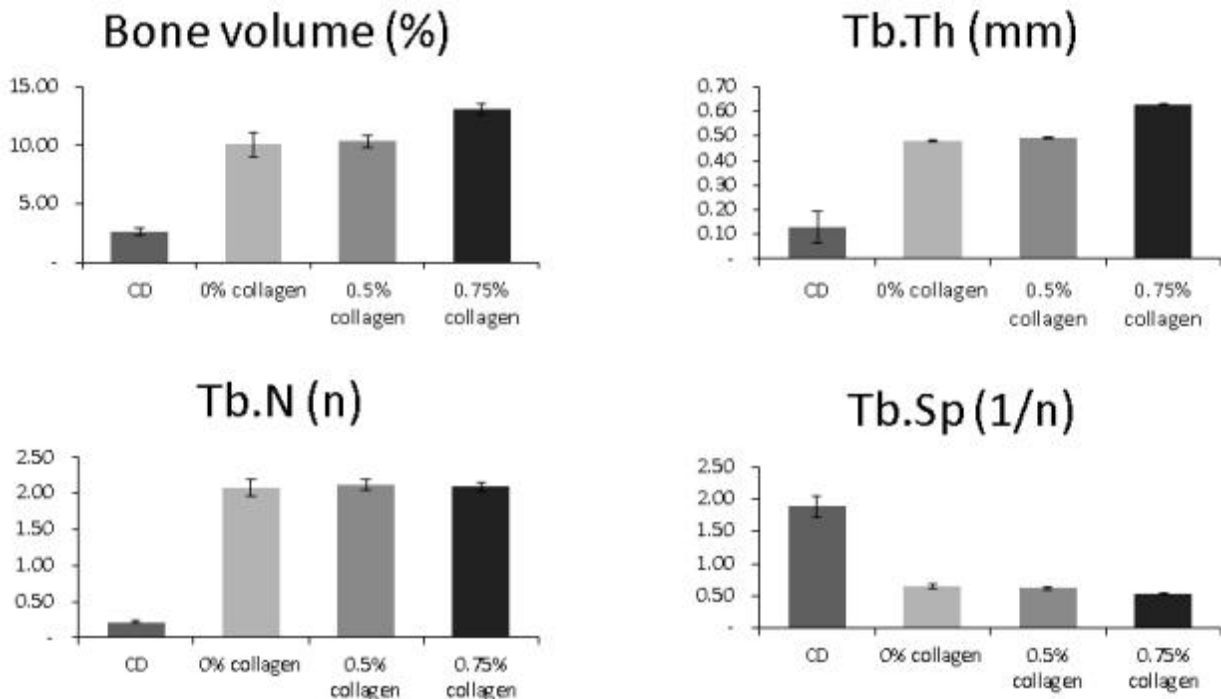


[그림20] 랫드 골결손 모델에서 군별 4주차 Micro-CT 촬영 평가

[표2] 랫드 골결손 모델에서 골이식 후 Micro-CT를 사용하여 실시한 신생골 형성 분석(4주차)

Group	BV(%)	Tb.Th (mm)	Tb.N (n)	Tb.Sp (1/n)
CD	2.60±0.86	0.13±0.20	0.21±0.07	1.88±0.52
0 %	10.10±3.24*	0.48±0.01*	2.07±0.37*	0.66±0.11*
0.5 %	10.34±1.63*	0.49±0.01*	2.12±0.22*	0.62±0.07*
0.75 %	13.09±1.31*	0.63±0.01*	2.09±0.20*	0.53±0.05*

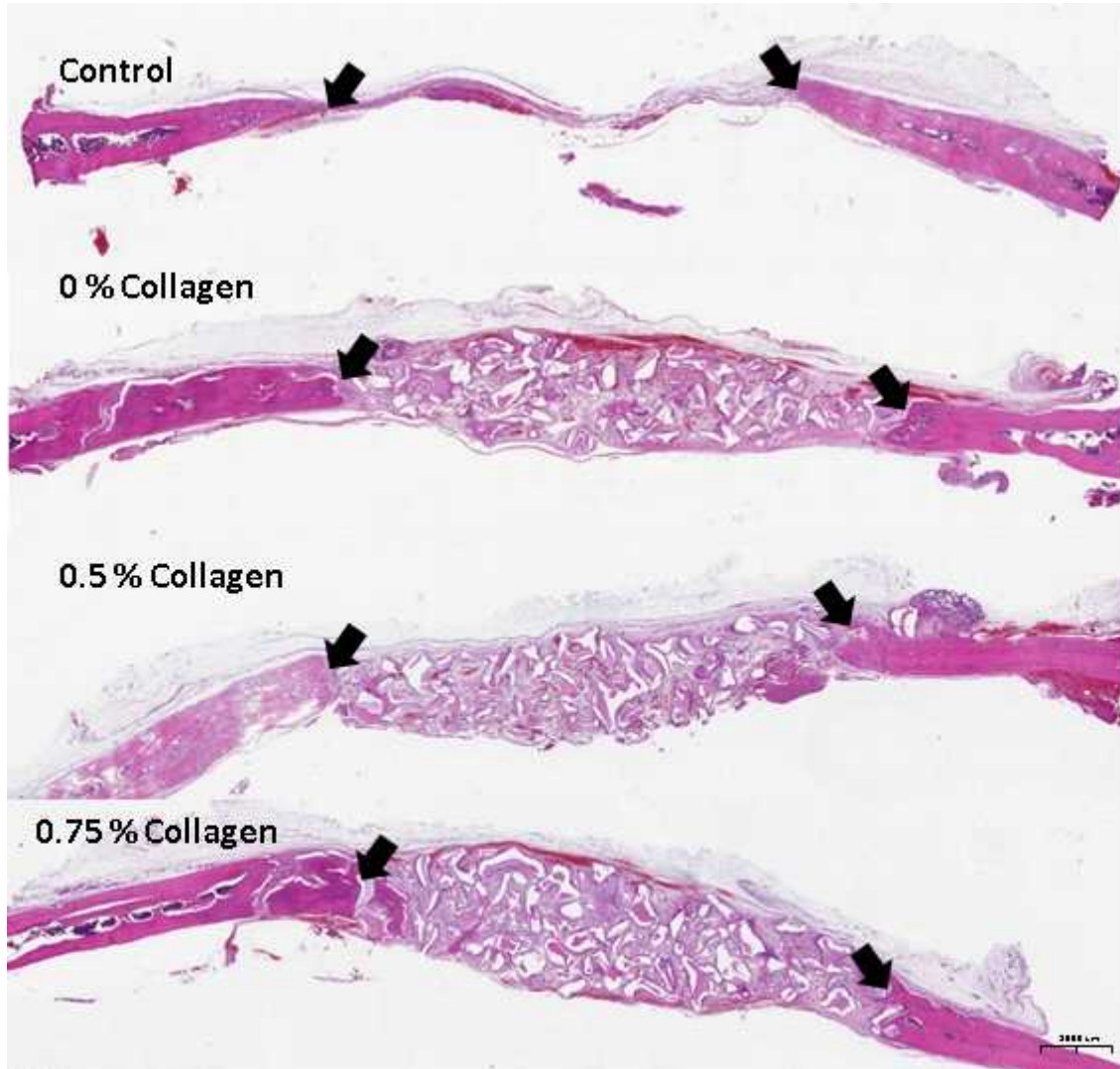
*: 동일 주차의 Control군과 비교하여 $p < 0.01$ 수준에서 유의성 있음.



[그림21] 랫드 골결손 모델에서 골이식 후 Micro-CT를 사용하여 실시한 신생골 형성 분석(4주차)

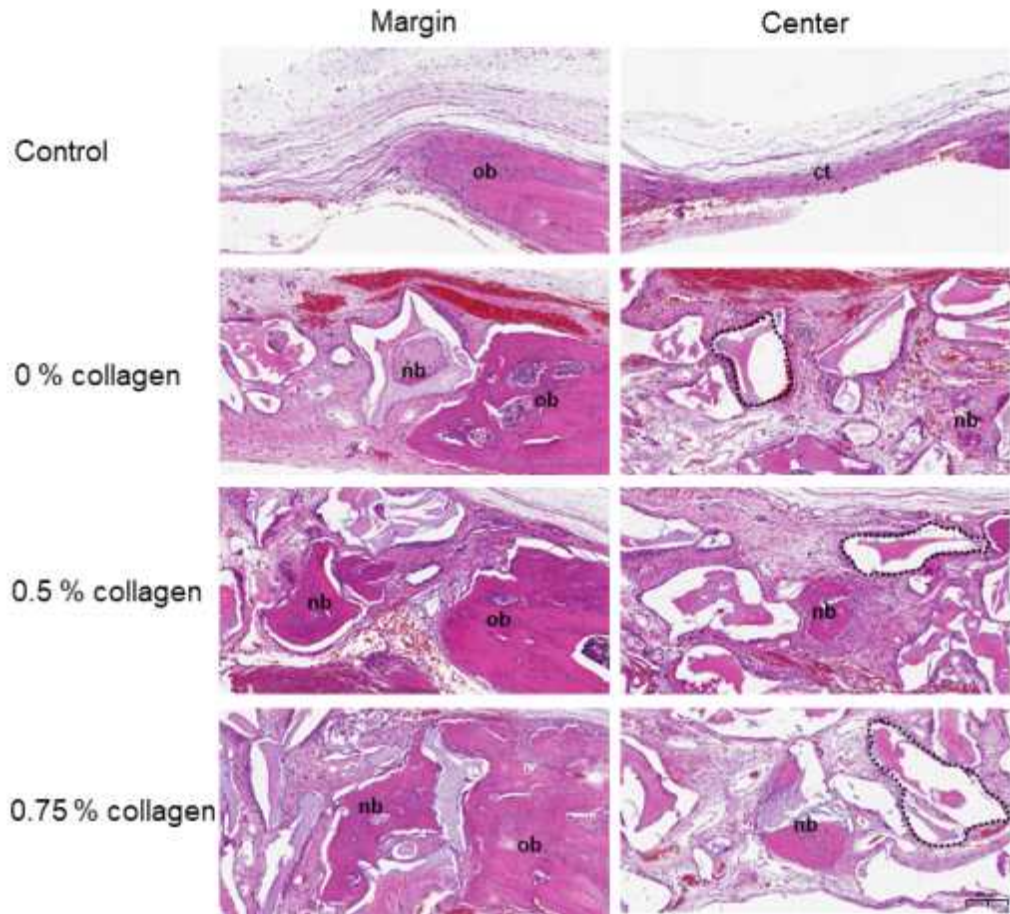
- Micro-CT상에서 측정된 골이식 후 4주차의 퍼센트 골부피(Percent Bone Volume), 골소주 두께(Trabecular thickness), 골소주 수(Trabecular number) 및 골소주 간격(Trabecular separation)의 군 간 분석을 위해 one-way ANOVA (SPSS version 26)를 사용하였으며, Bonferroni 검정법을 이용하여 유의수준 ($P < 0.01$)에서 유의성을 검증함.
- 대조군과 골이식재 이식군 모두에서 퍼센트 골부피, 골소주 두께, 골소주 수, 골소주 간격에서 유의적인 차이($P < 0.01$)가 있었음. 콜라겐 농도별 골이식재에서는 통계적인 차이는 없었으나 0.75% 콜라겐 포함 골이식재에서 신생골 형성이 더 증가하는 경향을 보임.
- 조직학적 평가를 위해 샘플을 중성탈회 과정을 거친 후 Hematoxylin and eosin (H&E) 염색과 Van

Gieson 염색하여 저배율과 고배율에서 골결손부에서의 신생골 형성을 관찰함.



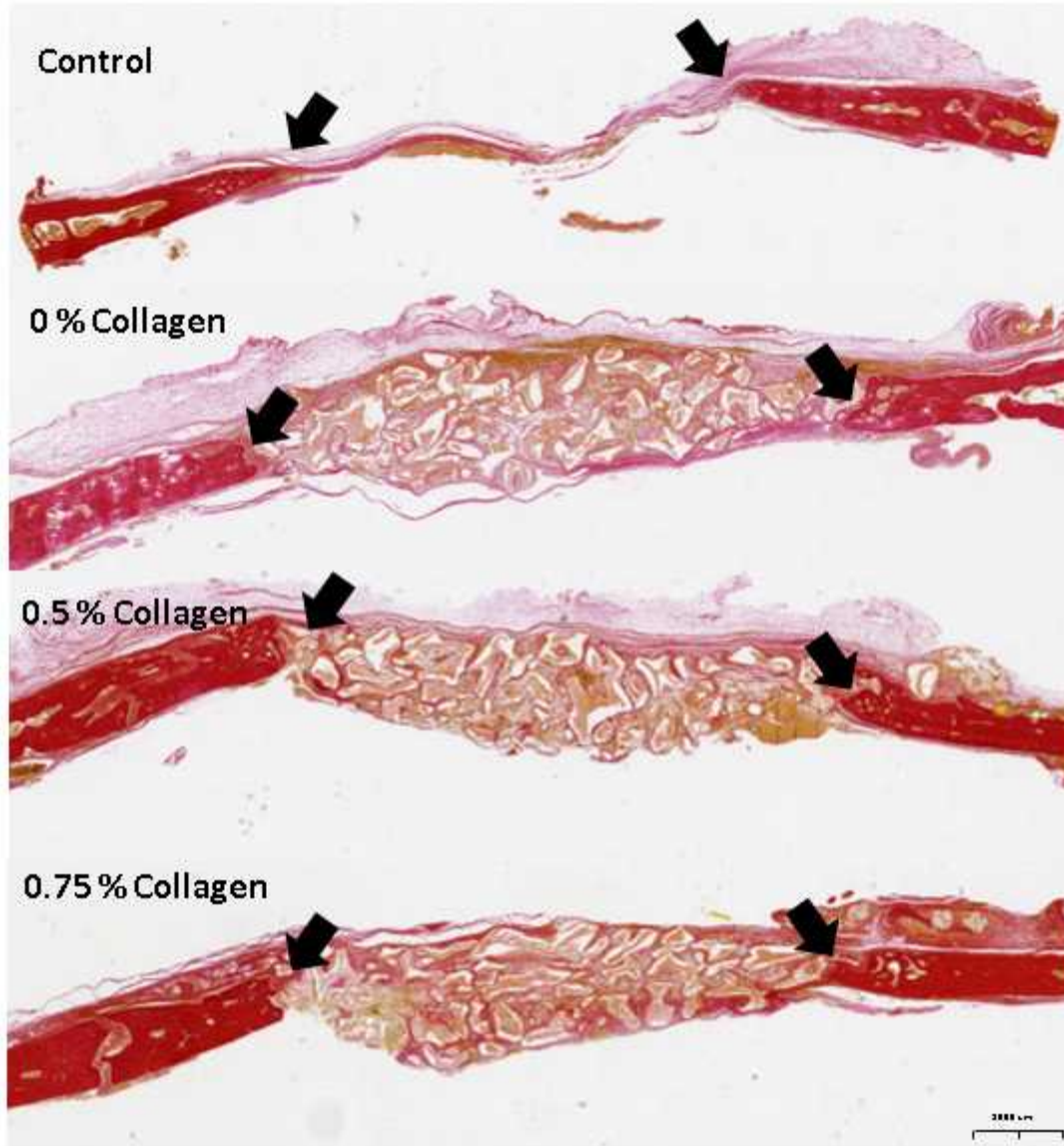
[그림22] 랫드 골결손 모델에서 골이식 후 4주차에서 H&E 염색 후 조직학적 평가(Scale bar=1000 um), (화살표: 골결손 경계부).

- H&E 염색의 저배율 사진에서 Control군에서는 골결손부에 신생골 형성은 거의 없었고 섬유성 결합 조직으로만 채워져 있음. 골이식재 이식군에서는 골결손 경계부부터 신생골 형성이 관찰되며 골이식재 주변으로 결합조직으로 구성되어 있는 것을 관찰할 수 있음.



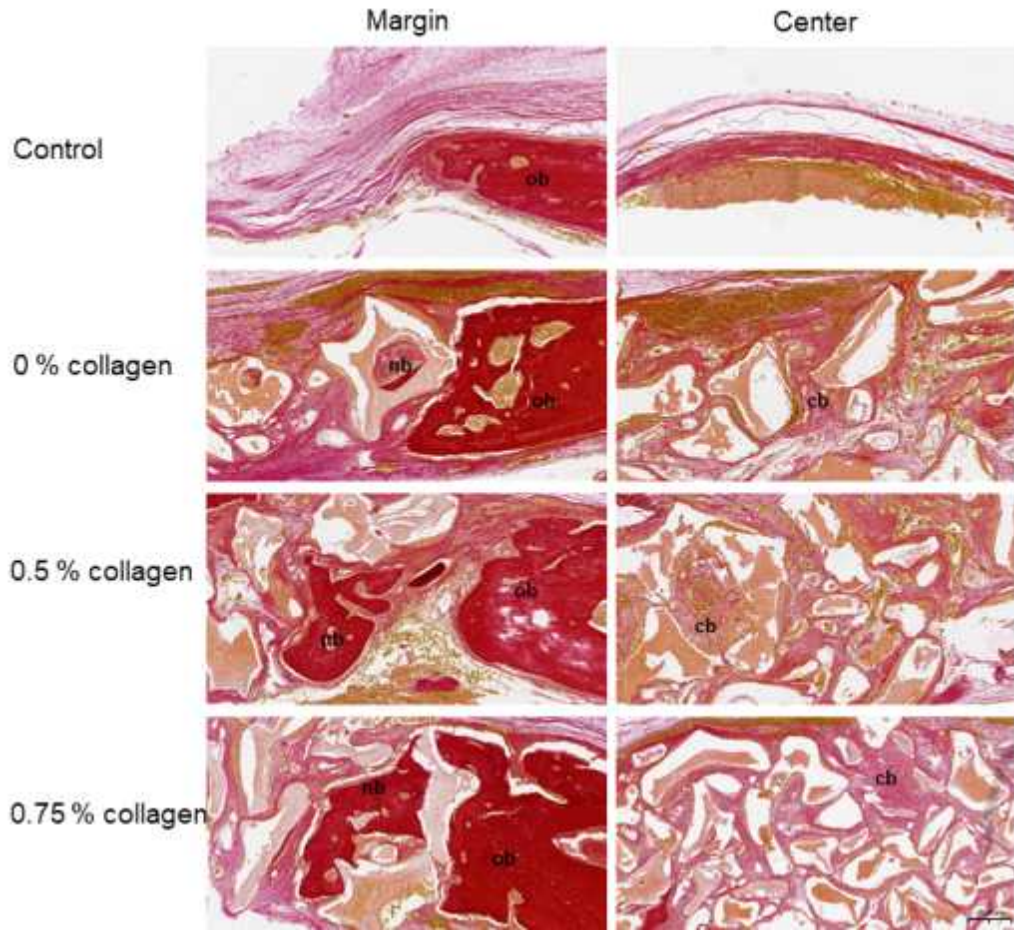
[그림23] 랫드 골결손 모델에서 골이식 후 4주차에서 H&E 염색 후 조직학적 평가(Scale bar= 400 um), (ob: old bone, nb: new bone, ct: connective tissue, 점선: Osteoblast cell lining).

- H&E 염색의 고배율 사진에서 Control군에서는 신생골 형성이 잘 관찰되지 않음. 골이식재 군에서는 골이식재 주변으로 골모세포가 늘어서 있는 것이(Osteoblast cell lining) 관찰되며 골결손부 가장자리와 중앙부분에서 신생골 형성이 관찰됨. 0.75% 콜라겐 포함 골이식재 군에서 0%와 0.5% 콜라겐 포함 골이식재 군보다 더 많은 신생골 형성을 관찰할 수 있었음.



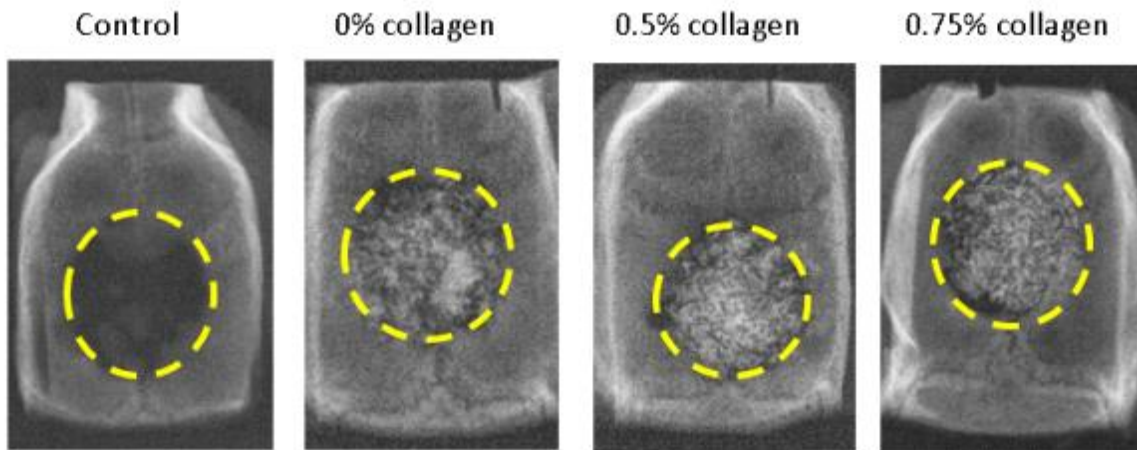
[그림24] 랫드 골결손 모델에서 골이식 후 4주차에서 Van Gieson 염색 후 조직학적 평가(Scale bar=1000um), (화살표: 골결손 경계부).

- Van Gieson염색의 저배율 사진에서 Control군은 골결손 부분에서 얇게 콜라겐이 관찰되며 골이식재 이식군에서는 이식재 사이에 콜라겐이 형성되어 있음을 확인할 수 있음.



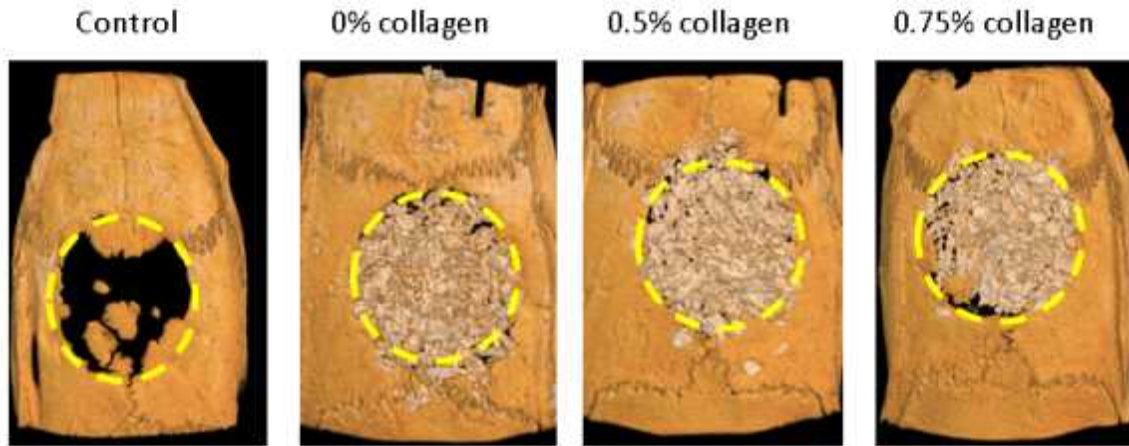
[그림25] 랫드 골결손 모델에서 골이식 후 4주차에서 Van Gieson 염색 후 조직학적 평가(Scale bar=400um), (ob: old bone, nb: new bone, cb: collagen bundle).

- Van Gieson 염색의 고배율 사진에서 골이식재 이식군은 신생골 형성과 골이식재 사이에 많은 collagen bundle을 관찰할 수 있음. 0.75% 콜라겐 포함 골이식재 주변으로 높은 밀도의 collagen이 있는 것을 확인할 수 있음.
- 8주차에 안락사하여 조직채취 후 X-ray를 촬영하였고 10% 중성 포르말린에 고정시켜 Micro CT와 조직학적 평가를 실시하였음.



[그림26] 랫드 골결손 모델에서 군별 8주차 X-ray 촬영 사진

- 골이식 후 8주차 X-ray 촬영 결과 Control 군에서는 골결손 부분에 신생골 형성이 거의 보이지 않음. 골이식군에서는 골이식재가 제자리에 잘 유지되고 있으며 골결손부 경계에서부터 신생골 형성이 되는 것을 확인할 수 있음. 콜라겐 농도별 군 간의 신생골 형성의 차이는 방사선사진상에서 확인되지

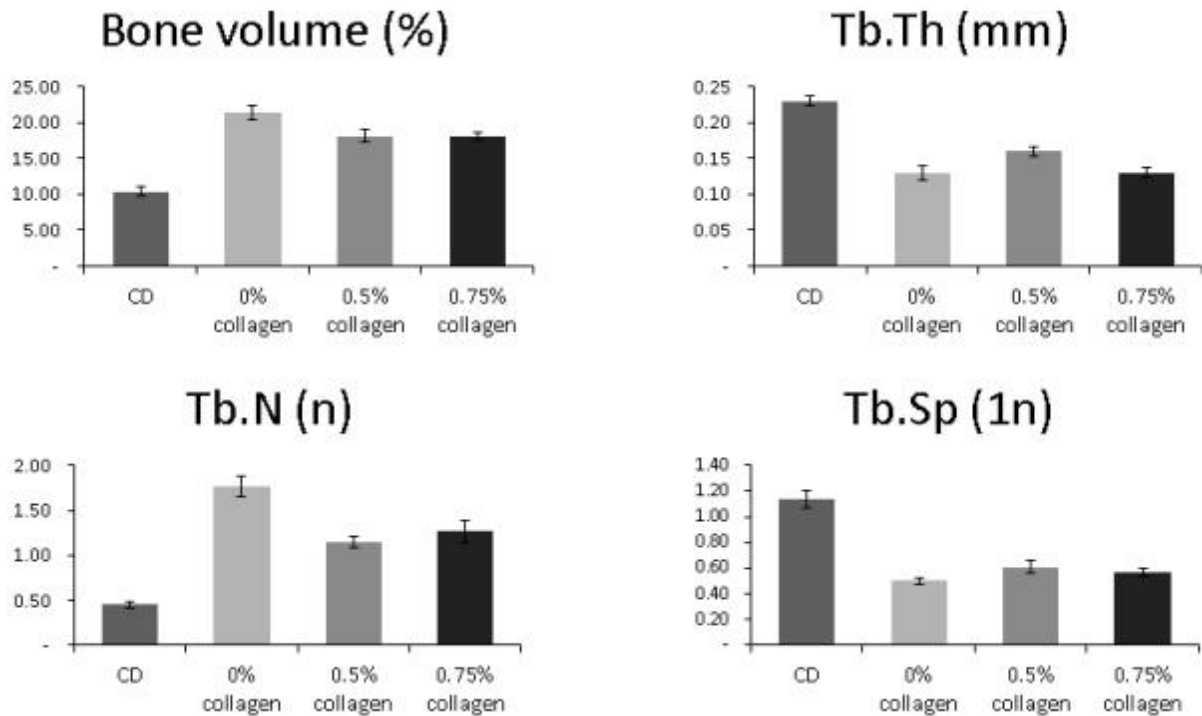


[그림27] 랫드 골결손 모델에서 군별 8주차 Micro-CT 촬영 평가

[표3] 랫드 골결손 모델에서 골이식 후 Micro-CT를 사용하여 실시한 신생골 형성 분석(8주차)

Group	BV(%)	Tb.Th (mm)	Tb.N (n)	Tb.Sp (1/n)
CD	10.40±2.06	0.23±0.02	0.45±0.10	1.14±0.21
0 %	21.43±3.19*	0.13±0.03*	1.77±0.37*	0.50±0.07*
0.5 %	18.14±2.88*	0.16±0.02*	1.15±0.21*	0.61±0.14*
0.75 %	18.03±1.48*	0.13±0.02*	1.27±0.39*	0.57±0.10*

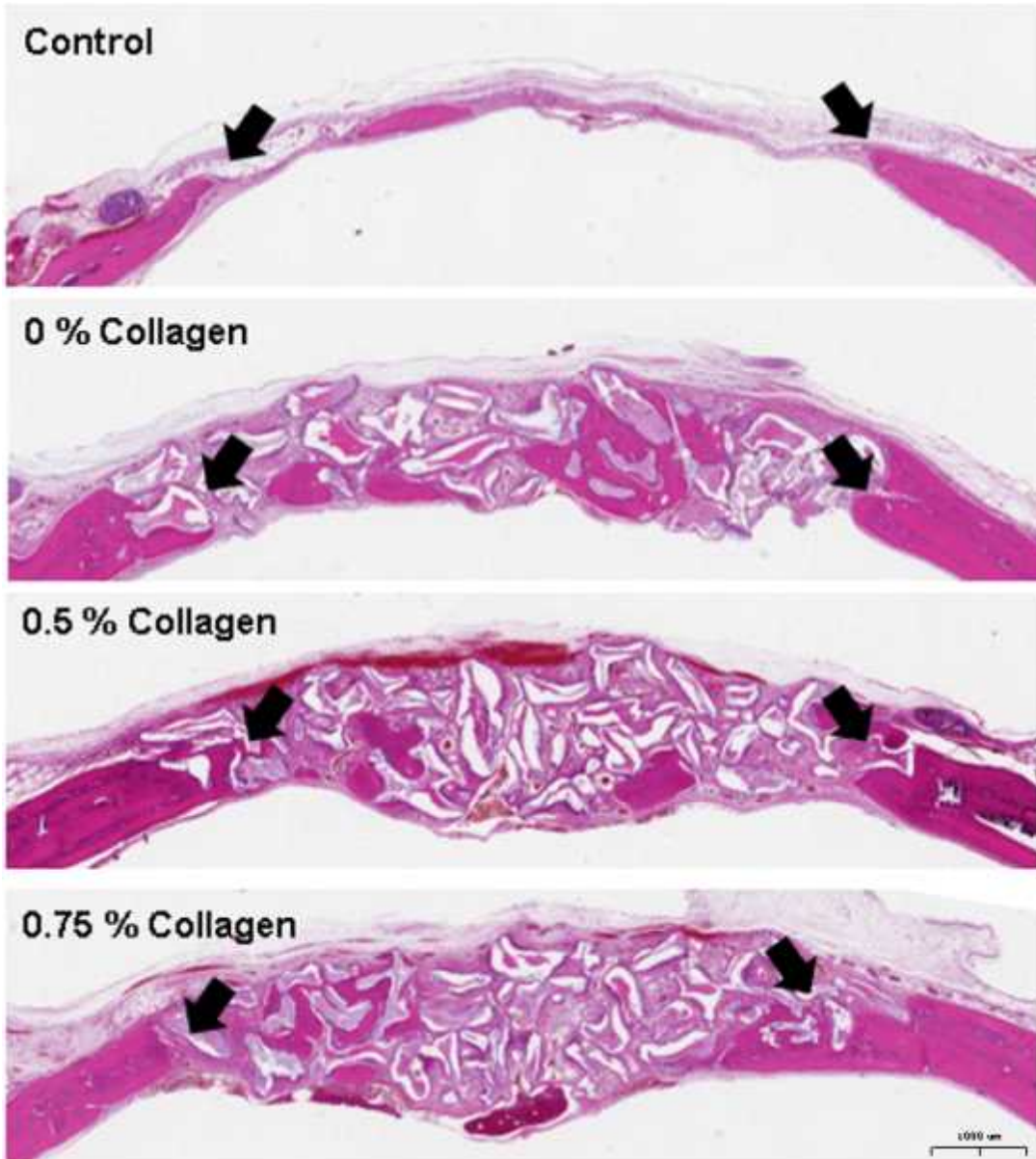
*: 동일 주치의 Control군과 비교하여 p<0.01 수준에서 유의성 있음.



[그림28] 랫드 골결손 모델에서 골이식 후 Micro-CT를 사용하여 실시한 신생골 형성 분석(8주차)

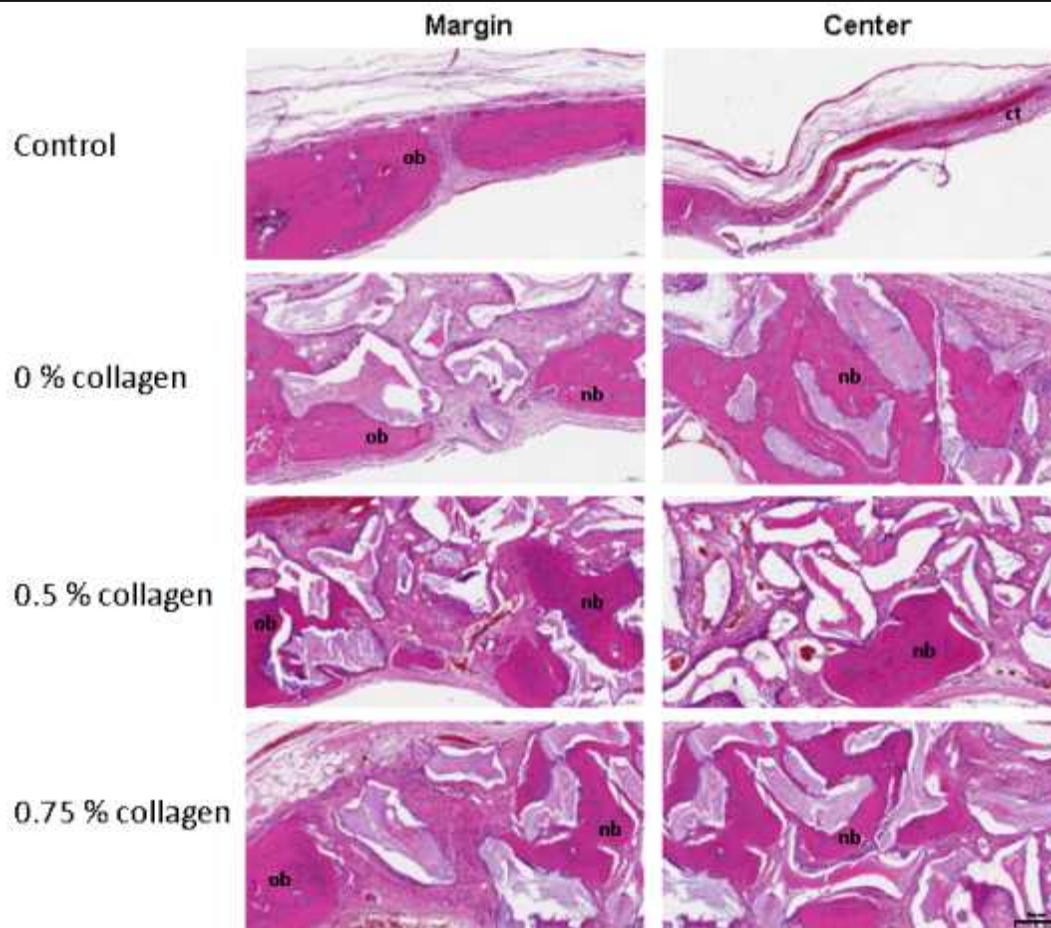
- Micro-CT상에서 측정된 골이식 후 8주치의 퍼센트 골부피(Percent Bone Volume), 골소주 두께 (Trabecular thickness), 골소주 수(Trabecular number) 및 골소주 간격(Trabecular separation)의 군 간 분석을 위해 one-way ANOVA (SPSS version 26)를 사용하였으며, Bonferroni 검정법을 이용하여 유의수준 (P < 0.01)에서 유의성을 검증함.

- 대조군과 콜리식재 이식군 모두에서 퍼센트 골부피, 골소주 두께, 골소주 수, 골소주 간격에 서 유의적인 차이($P < 0.01$)가 있었음. 콜라겐 농도별 콜리식재에서는 통계적인 차이는 보이지 않았음.
- 조직학적 평가를 위해 샘플을 중성탈회 과정을 거친 후 Hematoxylin and eosin (H&E) 염색과 Van Gieson 염색하여 저배율과 고배율에서 골결손부에서의 신생골 형성을 관찰함.



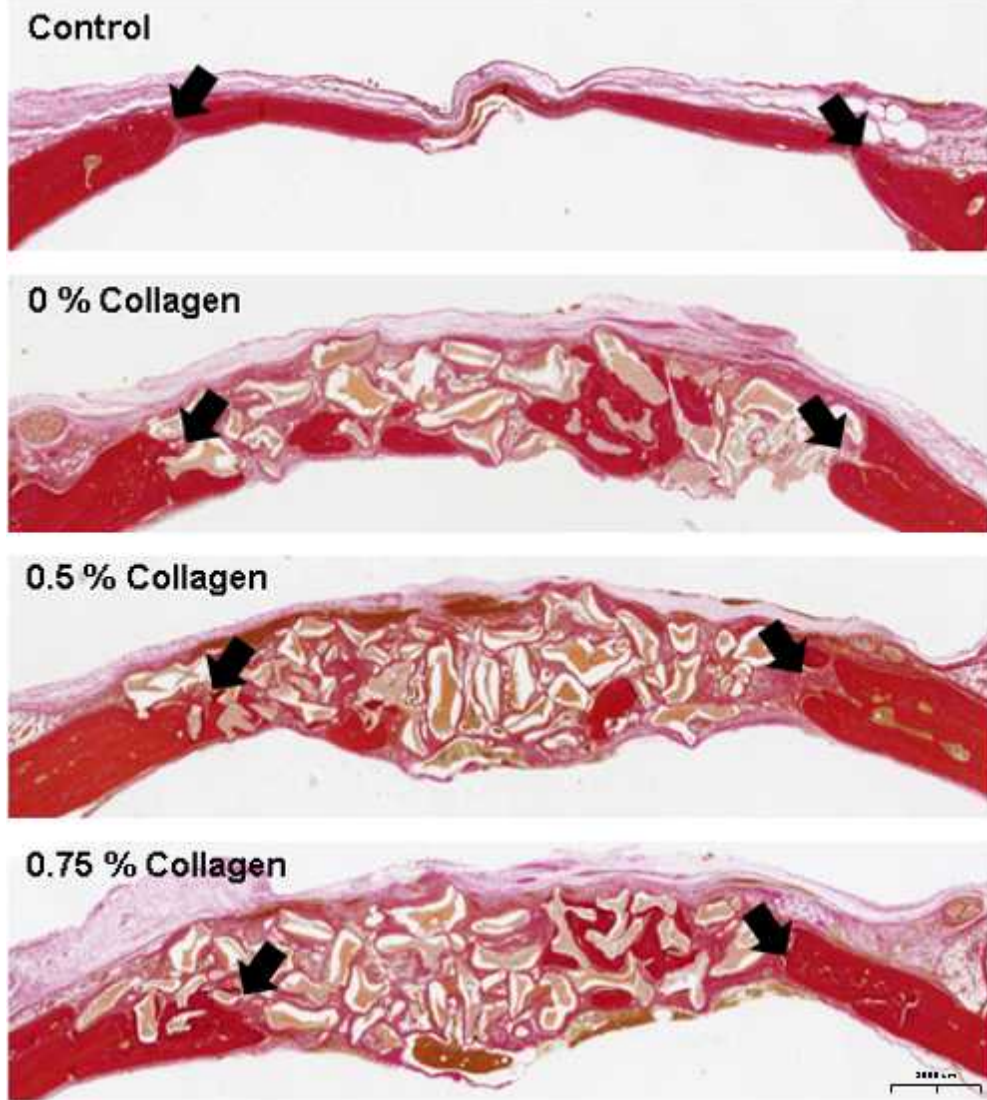
[그림29] 랫드 골결손 모델에서 콜리식 후 8주차에서 H&E 염색 후 조직학적 평가(Scale bar=1000 um), (화살표: 골결손 경계부).

- H&E 염색의 저배율 사진에서 대조군에서는 골결손부에 신생골 형성은 거의 없었고, 섬유성 결합조직으로만 채워져 있음. 콜리식재 이식군에서는 골결손 경계부부터 신생골 형성이 관찰되며 콜리식재 주변으로 결합조직으로 구성되어 있는 것을 관찰할 수 있음.



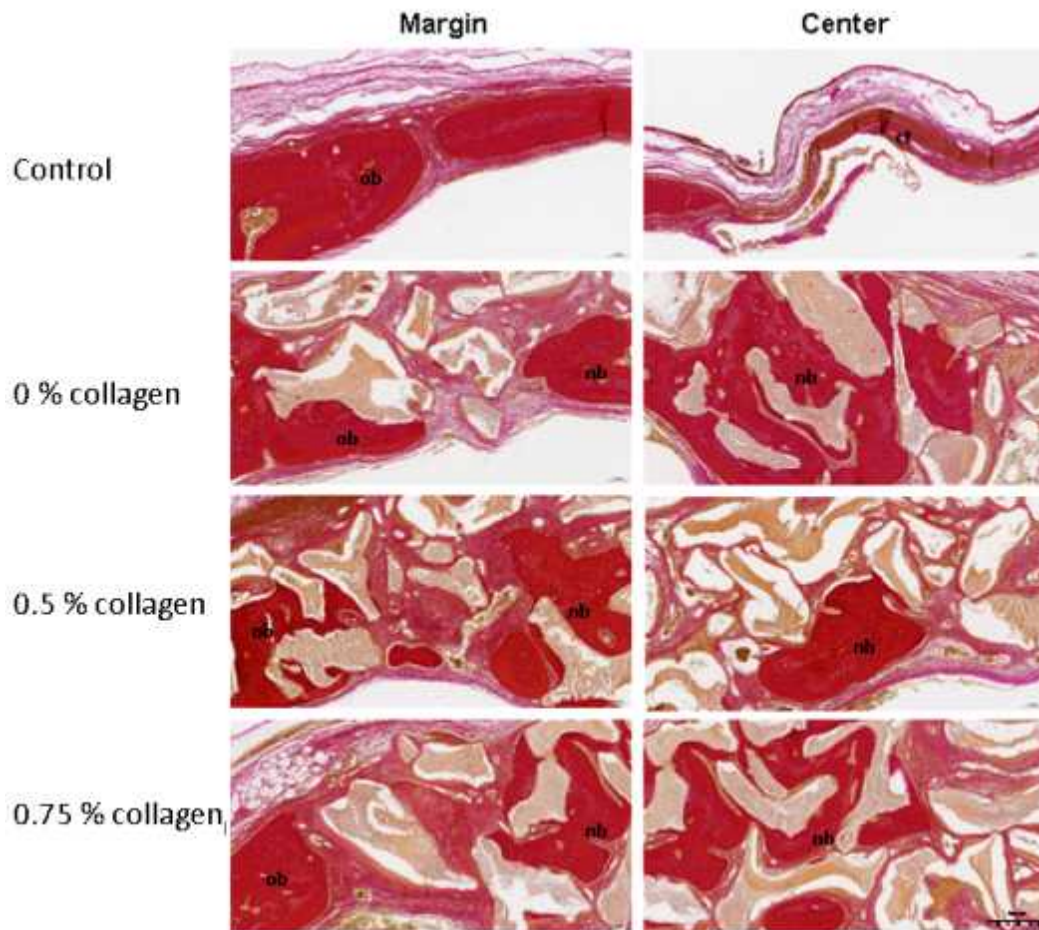
[그림30] 랫드 골결손 모델에서 골이식 후 4주차에서 H&E 염색 후 조직학적 평가(Scale bar= 400 um), (ob: old bone, nb: new bone, ct: connective tissue).

- H&E 염색의 고배율 사진에서 대조군에서는 신생골 형성이 잘 관찰되지 않음. 골이식재 군에서는 골이식재 주변으로 골모세포가 늘어서 있는 것이(Osteoblast cell lining) 관찰되며 골결손부 가장자리와 중앙부분에서 신생골 형성이 관찰됨. 0.75% 콜라겐 포함 골이식재 군에서 0%와 0.5% 콜라겐 포함 골이식재 군보다 더 많은 신생골 형성을 관찰할 수 있었음.



[그림31] 랫드 골결손 모델에서 골이식 후 4주차에서 Van Gieson 염색 후 조직학적 평가(Scale bar= 1000um), (화살표: 골결손 경계부).

- Van Gieson염색의 저배율 사진에서 대조군은 골결손 부분에서 얇게 콜라겐이 관찰되며, 골이식제 이식군에서는 이식재 사이에 콜라겐이 형성되어 있음을 확인할 수 있음.



[그림32] 랫드 골결손 모델에서 골이식 후 8주차에서 Van Gieson 염색 후 조직학적 평가(Scale bar=400um), (ob: old bone, nb: new bone).

- Van Gieson 염색의 고배율 사진에서 골이식재 이식군은 신생골 형성과 골이식재 사이에 많은 콜라겐 다발들을 관찰할 수 있음. 0.75% 콜라겐 포함 골이식재 주변으로 높은 밀도의 콜라겐이 있는 것을 확인할 수 있음.

○ 결론

- 개발된 골이식재의 물성 평가 결과 골이식재의 거친 표면과 다공성을 확인하였으며, 0.5 및 0.75% 콜라겐 포함 골이식재에서 Amide I, Amide II 콜라겐 밴드 확인 및 코팅된 콜라겐을 관찰하였고 PBS와 혼합 시 더 뛰어난 흡수성을 보였음. 실제 골이식재 이식 실험에서 0.75% 콜라겐 포함 골이식재가 혈액을 흡수하여 지혈효과와 이식부위에 유지능력이 뛰어난 것을 확인함. 이를 바탕으로 실제 체내에 이식 시 콜라겐 포함 골이식재가 사용성 및 신생골 형성능력이 뛰어난 것으로 기대됨.

2차년도

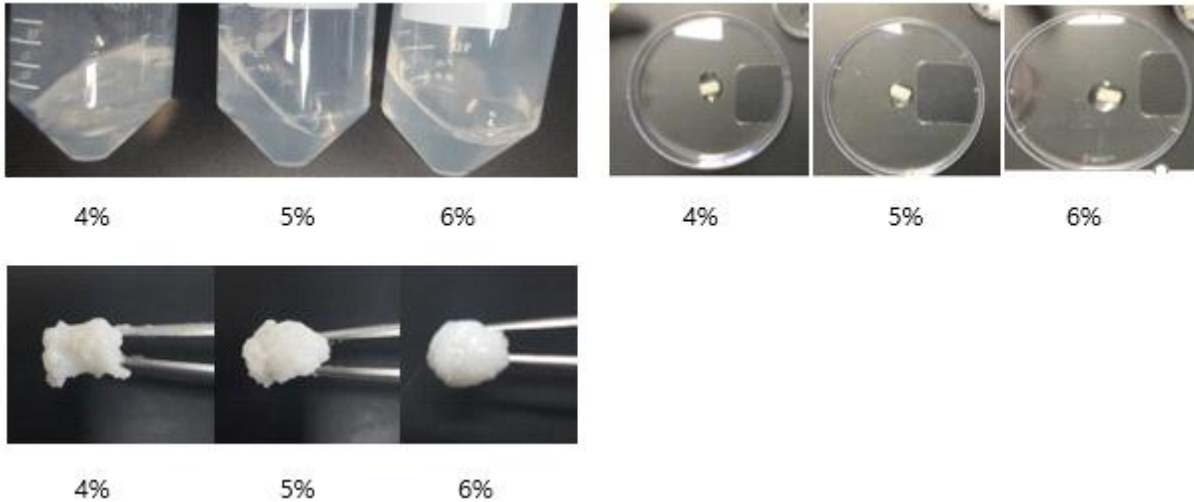
- 약물담재가 가능한 콜라겐 포함 이중골 이식재의 시제품 제작
- 약물 담지가 가능한 다공성을 가진 콜라겐 골이식 복합재 공정 개발



[그림1] 약물담재가 가능한 콜라겐 포함 이중골 이식재 시제품 제작

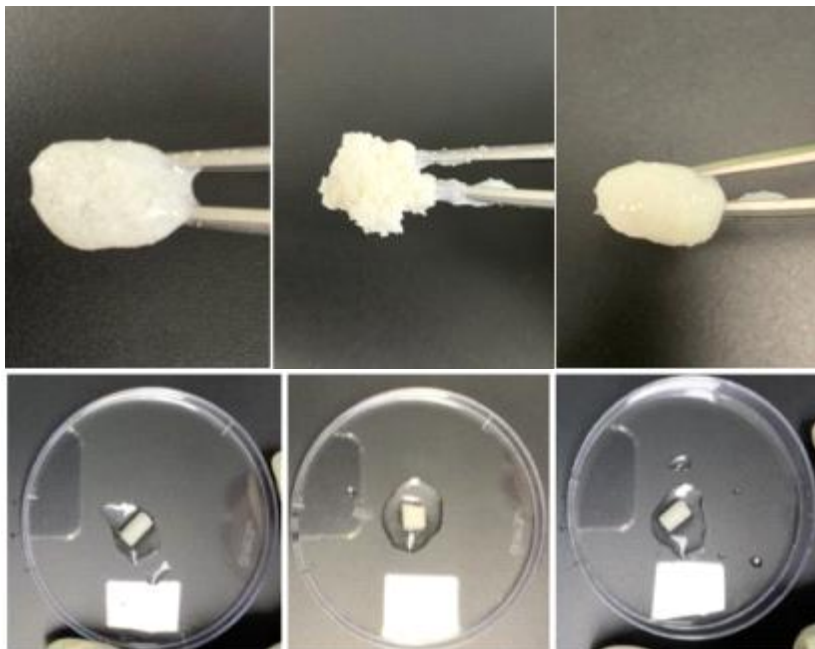
- 제조된 돼지 유래 콜라겐과 이중골 이식재를 콜라겐 농도, 골이식재 혼합 비율, 열가교 시간, 멸균 선량 실험 확인후 최종 시제품을 제조 하였음.

- 약물탑재가 가능한 콜라겐 포함 이중골 이식재 콜라겐 농도 확립
 - 콜라겐 몰드에 주입 가능하며 조작성 및 형태 변형이 일어나지 않는 최적의 콜라겐 농도 확립을 위한 실험 진행
 - 콜라겐 농도가 높을수록 조작성 강도가 올라가며 농도가 낮을수록 형상 유지 어려움 확인
 - 조작성 및 형태 변형 없는 최적 콜라겐 농도 확립



[그림2] 콜라겐 농도에 따른 최적 비율 설정 실험

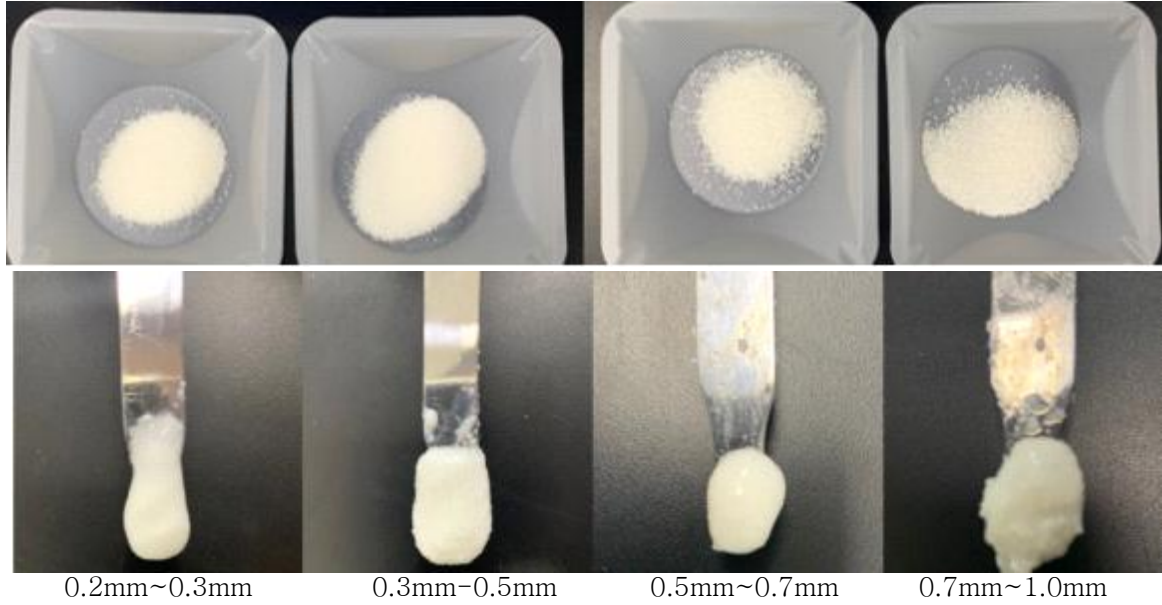
- 콜라겐 골이식재 최적 비율 확립
 - 콜라겐과 골이식재 혼합시 적용되는 최적 혼합 비율 TEST 진행
 - 골이식재의 함량이 증가할수록 흠어지는 양이 많으며 콜라겐 함량 증가할수록 조작성 및 점도 증가
 - 원심 분리후 스파츨러로 골이식재와 콜라겐이 잘 섞이도록 믹싱한후 최적 비율 확인



[그림3] 콜라겐/골이식재 혼합 최적 비율 설정 실험

- 콜라겐 골이식재 최적 Particle size 확정

- 골이식재 particle size(0.1mm ~ 1.0mm)별 최적 particle 선정
- particle 입자가 작을시 osteo integration 어렵고 micro pore 떨어지고 약물 탑재 어려움
- particle 입자 너무 클시 조작성 떨어지며 작 섞이지 않
- 각기 다른 particle size의 몰드에 혼합된 콜라겐 + 골이식재를 예비동결후 열가교/커팅후 수화 Test 진행



[그림4] particle size별 콜라겐+골이식재 조작성 실험

- 멸균 선량에 따른 제품

- 멸균 선량 변화에 따른(감마 멸균) 콜라겐+골이식재 조작성 및 형상 변화 실험
- 멸균 선량이 높을수록 복합재 색상 변화가 크며 수화후 조작성 응집력이 떨어짐



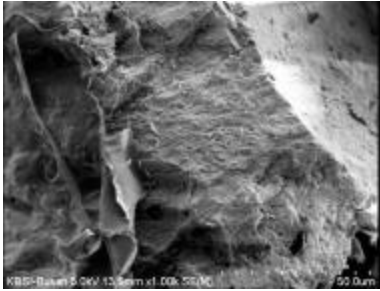
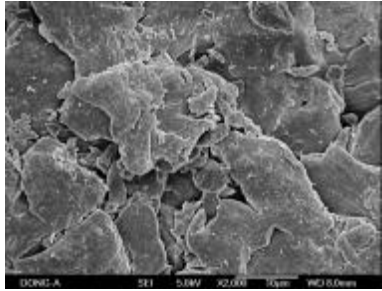



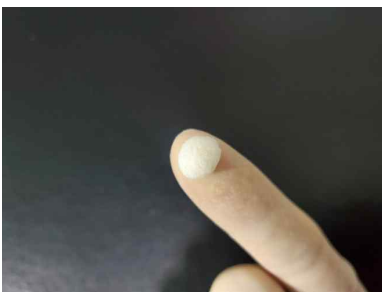
[그림5] 멸균 선량에 따른 콜라겐+골이식재 조작성 실험



[그림6] 최종 약물 탑재가 가능한 콜라겐+골이식재 시제품

- 콜라겐과 셀룰로오스계 생분해성 고분자가 포함 이중골 이식재의 시제품 제작
 - 셀룰로오스계 생분해성 물질 선별 및 골이식재와 최적 혼합 방법 개발
 - 콜라겐 + 골이식재와 셀룰로오스 고분자가 포함된 콜라겐 코팅 골이식재 비교 평가 결과
 - 조작성 및 생체 적합성에서 콜라겐과 셀룰로오스 생분해성 고분자가 포함된 이중골 이식재가 뛰어남

[표 1] 콜라겐 + 골이식재와 셀룰로오스 + 콜라겐코팅 골이식재 장단점 비교

	콜라겐 + 골이식재 콜라겐 + 골이식재	셀룰로오스 +콜라겐 코팅 골이식재 콜라겐 + 셀룰로오스 + 골이식재
주사 전자 현미경 사진		
형상	 	 
장점	상처 재생 및 조직 재생 역할(콜라겐)	뛰어난 조작성 및 생체적합성 빠른 수화
단점	낮은 조작성, 뭉쳐짐 떨어짐	유사 특허 방어 방안 수립 필요

- S1 최적 혼합 비율 도출 제조 공정 확립
 - 셀룰로오스계 생분해성 물질 선별 및 골이식재와 최적 혼합 방법 개발
 - 0.75% 콜라겐 코팅 골이식재와 셀룰로오스 성분을 공정을 통한 혼합시 최적 비율 확립 실험



0.75% 콜라겐 코팅 폴리식재



생분해성 셀룰로오스



콜라겐 포함 셀룰로오스 고분자 폴리식재

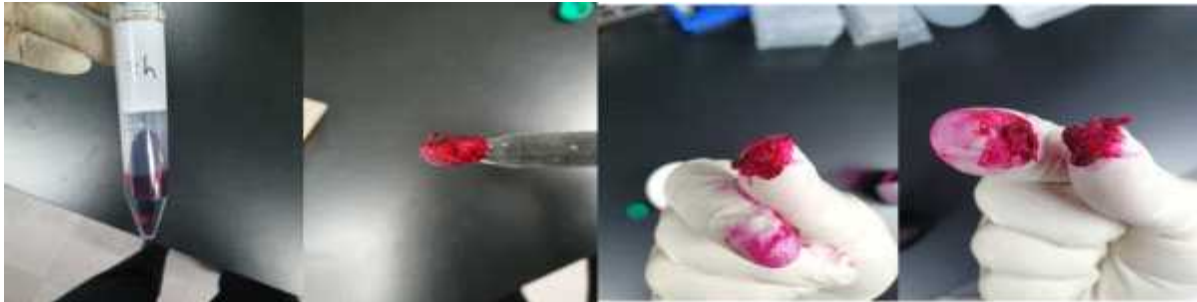
[그림] 콜라겐 과 셀룰로오스 고분자를 포함한 폴리식재 제작 사진

- 셀룰로오스계 생분해성 고분자와 콜라겐 코팅 폴리식재의 형상 유지성 Test
 - 생체 유사 환경(37°C, saline)에서 형상 유지성 Test를 통하여 생체 유사 환경에서 하이드로 젬 형상 유지 가능성을 확인하였음.



[그림2] 셀룰로오스계 생분해성 고분자가 포함 콜라겐 코팅 폴리식재의 형상 유지성 Test 사진

- 젖음성 Test
 - 형상 조형 후 시간이 흐름에 따른 점성 유지 및 내부 수분 담지성 test를 진행하였고, 시간에 따른 하이드로 젬 점성 변화와 수분 담지성 변화를 확인하였음

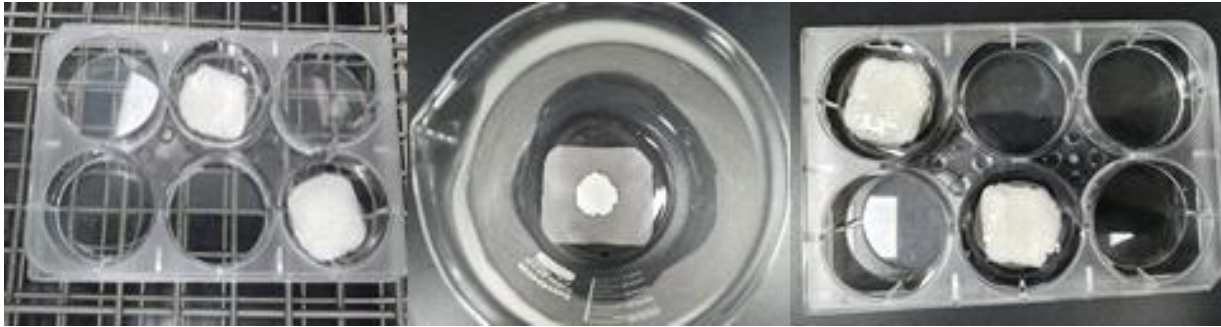


[그림3] 내부 수분 담지성 Test 사진



[그림4] 점성 변화 Test 사진

- 셀룰로오스계 생분해성 고분자 포함 콜라겐 코팅 골이식재 용해 및 혼합 Test
 - 셀룰로오스계 생분해성 고분자 포함 콜라겐 코팅 골이식재의 혼합 유무 및 용해 test
중량비에 따른 혼합 방법 및 용해도 확인



[그림5] 점성 변화 Test 사진

(4) 중량부 변화에 따른 용해도 실험

- 콜라겐 코팅 골이식재 기준 중량을 생분해성 셀룰로오스 고분자 중량부를 0.15배에서 5배까지 투입하여 수화를 진행
- 수화된 골이식재 샘플을 PBS를 넣은 시약병에 넣고 시간이 지남에 따라 파우더만 수득.
- 수득된 파우더를 동결건조 후 무게 측정.
- 최초 무게 대비 감소량 그래프 작성 (X축 : 시간, Y축 : 무게비(%), 각각 중량부 당 개별 그래프 작성).

[표 2] 셀룰로오스 고분자 중량부 변화에 따른 용해도 실험 결과

중량부	0시간	1시간	3시간	6시간	12시간	24시간	48시간
0.1	100%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
0.2	100%	15%	3%	0%	0%	0%	0%
0.3	100%	62%	55%	50%	39%	29%	11%
0.4	100%	64%	60%	54%	43%	31%	14%
0.6	100%	80%	70%	58%	48%	33%	20%
0.8	100%	85%	78%	71%	58%	44%	22%
1.2	100%	93%	88%	82%	67%	57%	30%
1.5	100%	94%	89%	87%	73%	68%	35%
2	100%	95%	90%	88%	75%	73%	42%
3	100%	99%	94%	92%	81%	75%	50%
4	100%	99%	96%	93%	85%	78%	60%
5	100%	100%	98%	95%	88%	81%	70%
6	100%	100%	100%	100%	99%	99%	98%

- 중량부 0.2이하에서는 1시간 이상 침지 결과 형상을 유지할 수 없을 정도로 셀룰로오스 고분자가 용해되었으며, 중량부 0.3 이상부터는 형상을 일정하게 유지하면서 시간에 흐름에 따라 서서히 용해됨을 관찰할 수 있었음.

(5) 생분해성 고분자 셀룰로오스 중량부 변화에 따른 유지성 실험

- 골이식재 기준 중량에 S1 첨가제 중량부를 0.15배에서 5배까지 투입하여 수화진행.
- 수화된 S1 골이식재 샘플을 구 형태로 조형한 뒤 단축 측정.
- Push-pull gauge로 형상 파괴 진행.
- 형상이 파괴될 때 최대 피크 힘 (N) 기록.
- 최대 피크 힘의 절반이 될 때까지 힘을 가한 후 단축 변화량을 측정.
- 누르는 힘에 단축 변화량을 측정.

[표 3] 형상유지성 실험 결과

중량부	x축(mm)	y축(mm)	파괴시 힘 (kgf)	변형 후 y축	파괴 후 단축비율	비고 (N)
0.1	8.32	8.18	1.04	3.53	43.15%	10.18
0.2	8.85	8.56	1.37	3.61	42.17%	13.39
0.3	8.72	8.53	2.32	3.63	42.56%	22.69
0.4	10.43	10.31	2.43	3.65	35.40%	23.84
0.6	10.08	9.39	3.36	4.01	42.71%	32.93
0.8	12.27	11.32	2.95	4.36	38.52%	28.94
1.2	11.48	10.65	3.36	4.80	45.07%	32.90
1.5	12.88	12.60	3.06	5.36	42.54%	30.01
2	13.15	13.03	3.45	6.42	49.27%	33.80
3	16.50	14.90	3.55	9.45	63.42%	34.75
4	17.43	17.03	2.63	10.58	62.13%	25.74
5	18.51	18.11	1.89	11.15	61.57%	18.52
6	19.10	18.47	1.33	12.10	65.51%	13.08

- 용해도와 마찬가지로 중량부 0.2 이하에서는 Push-pull gauge에서 가하는 힘이 20N 이하에서 형상 변형이 일어났으며, 중량부 5 이상에서도 20N 이하에 힘에서 변형이 되는 것을 확인

(6) 생분해성 셀룰로오스 고분자 콜라겐 골이식재 접착성 실험

- 치아 모형 틀을 준비하고 치아 모형 부위를 결손 부위로 임의로 지정함.
- 수화된 골이식재 샘플을 결손 부위에 이식.
- 피딩백 공급 용기를 통하여 blood(20cc/hr)를 결손부위에 투입.
- 시간 변화에 따른 접착 지속력 측정.

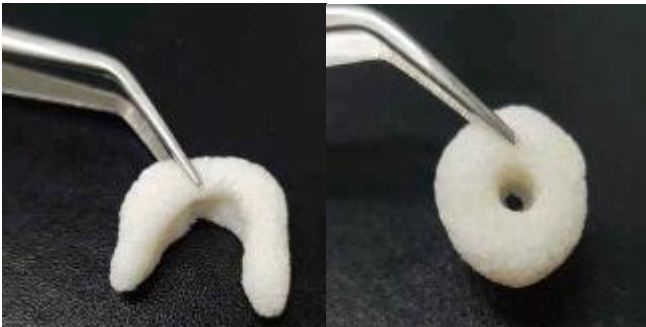


그림 6. 골이식재 접착성 실험

[표 4] 콜라겐 및 셀룰로오스 혼합 골이식재 접착성 실험 결과

순서	골이식재(%)	셀룰로오스 고분자 함유량 (%)	골이식재 부피 (cc)	셀룰로오스 고분자 부피 (cc)	골이식재 중량 (g)	셀룰로오스 고분자겔 중량 (g)	접착 시간 (초)
1	90	10	0.3	0.03	0.3	0.02	불가
2	80	20		0.08		0.05	불가
3	70	30		0.13		0.09	5분이상
4	60	40		0.2		0.13	5분이상
5	50	50		0.3		0.19	5분이상
6	40	60		0.45		0.29	5분이상
7	30	70		0.7		0.46	5분이상
8	20	80		1.2		0.78	5분이상
9	10	90		2.7		1.77	5분이상

- 콜라겐 코팅 셀룰로오스 혼합 골이식재 접착성은 실제 임상 시 이식 후 봉합 소요시간이 5분정도 소요됨을 고려하여 적용하였으며 20%이상에서 모두 5분 이상의 접착성을 보여 주었음. 셀룰로오스를 첨가하지 않은 이식재의 경우 상악 모형틀에 blood를 투입 직후 접착되지 않고 흘러내리는 것을 확인하였음.



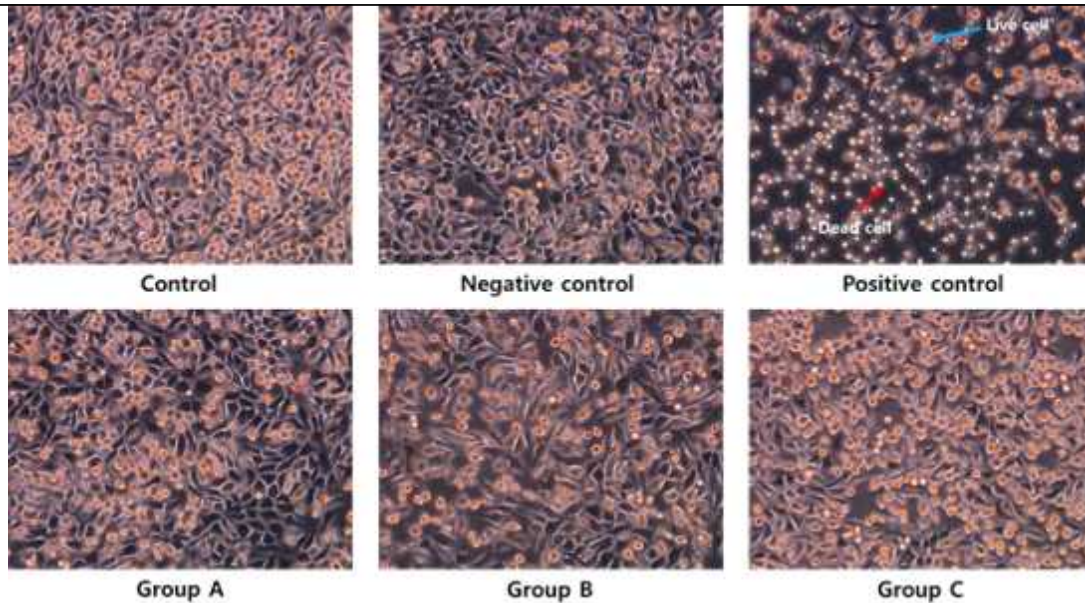
[그림7] 콜라겐과 셀룰로오스 고분자 포함 골이식재 시제품 사진

○ 콜라겐 및 셀룰로오스계 생분해성 고분자 포함 동물용 골이식재의 세포독성 평가

- 제작된 콜라겐 및 셀룰로오스계 생분해성 고분자 포함 동물용 골이식재의 세포독성을 평가하기 위해 L929 세포주를 사용하여 agar overlay test를 수행하여 neutral red 염색을 통해 살아있는 세포를 확인하였음..

[표4] 세포독성 평가 실험군 설정

Control(= 용출액)	MEM media + 10% FBS + 1% antibiotics + 4 mM L-glutamine
Negative control	High density polyethylene film
Positive control	Polyurethane film containing 0.1 % diethyldithiocarbamate (ZDEC)
Group A	골이식재
Group B	골이식재 + cellulose N%
Group C	골이식재 + cellulose N% + collagen 0.75%

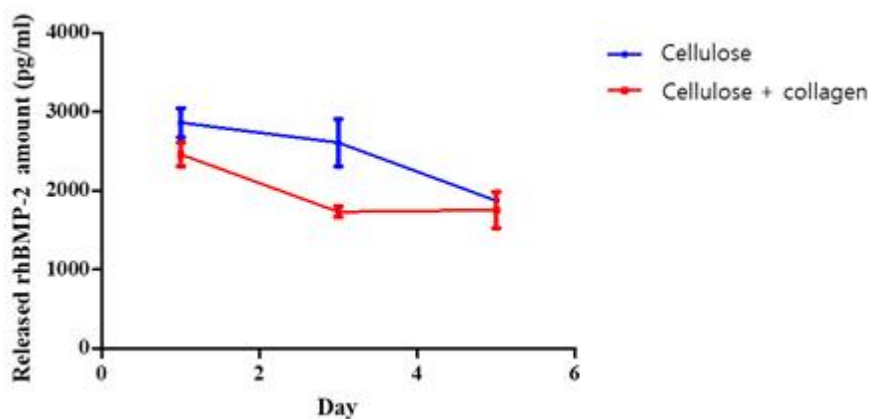


[그림33] L929 세포의 neutral red 염색 사진

- 세포독성 평가를 위한 실험은 control(= 용출액), 음성 대조군, 양성 대조군, 골이식재, 셀룰로오스 포함 골이식재, 셀룰로오스 및 0.75% 콜라겐 포함 골이식재로 구성함(표4).
- 골이식재의 세포독성을 평가하기 위해 용출액을 사용하여 음성 대조군 및 양성 대조군은 0.1 g/ml, Group A, B, C는 0.2 g/ml 기준으로 37°C, 5% CO₂ 인큐베이터에서 24 시간동안 용출하였음.
- 양성 대조군에서만 neutral red가 염색되지 않은 세포(dead cell)가 관찰되었으며, Group A, B, C에서는 음성 대조군과 control과 비교하였을 때 차이를 보이지 않았기에 세포독성이 없음을 확인하였음.

○ 개발된 콜라겐 포함 골이식재들의 약물 탑재 가능성 평가

- *In vivo* 실험 조건과 동일하게 셀룰로오스, 셀룰로오스 + 콜라겐이 탑재된 골이식재에 rhBMP-2를 흡수시킨 후 phosphate-buffered saline (PBS)를 첨가하여 PBS 용액으로 방출된 rhBMP-2의 값을 enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 방법을 활용하여 검출하였음.



[그림34] rhBMP-2 ELISA 결과 그래프

- 셀룰로오스 및 셀룰로오스+콜라겐을 포함하는 골이식재 모두 1일차에 rhBMP-2 방출량이 최대이며, 시간이 지날수록 rhBMP-2 방출량이 감소하는 것을 확인함.

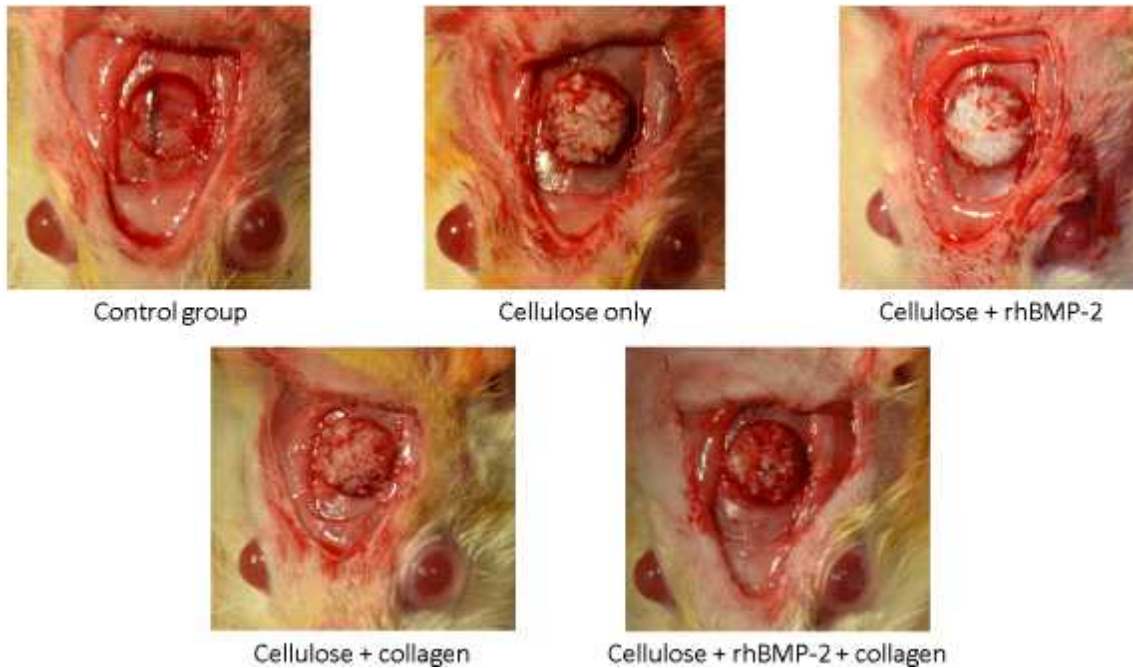
○ 콜라겐 포함 동물용 골이식재의 동물 모델 기반 생체적합성 평가

- 랫드 두개골 결손 모델(rat calvarial defect model)에서 제작된 콜라겐 및 셀룰로오스계 생분해성 고분자 포함 동물용 골이식재를 이식 후 3 및 6주차에 방사선학적 및 조직학적 검사를 통해 생체적합성 및 신생골 형성 정도를 평가함.

[표5] 실험군 설정

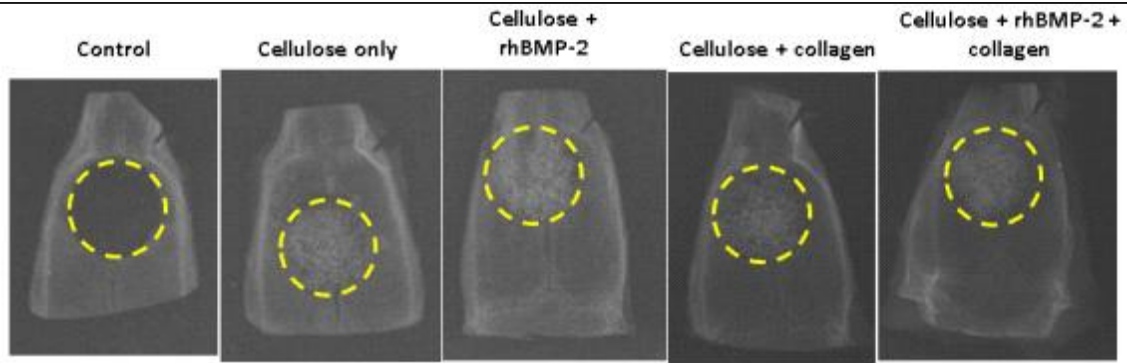
3주차군		6주차군	
Negative control	5	Negative control	5
Cellulose only	5	Cellulose only	5
Cellulose + rhBMP-2	5	Cellulose + rhBMP-2	5
Cellulose + collagen	5	Cellulose + collagen	5
Cellulose + rhBMP-2 + collagen	5	Cellulose + rhBMP-2 + collagen	5

- 실험군은 총 10군으로 3주차에서 음성 대조군 (n=5), 셀룰로오스 포함 골이식재 (n=5), 셀룰로오스 포함 골이식재+rhBMP-2 (n=5), 셀룰로오스 및 0.75% 콜라겐 포함 골이식재 (n=5), 셀룰로오스 및 0.75% 콜라겐 포함 골이식재+rhBMP-2 (n=5), 6주차에서 음성 대조군 (n=5), 셀룰로오스 포함 골이식재 (n=5), 셀룰로오스 포함 골이식재+rhBMP-2 (n=5), 셀룰로오스 및 0.75% 콜라겐 포함 골이식재 (n=5), 셀룰로오스 및 0.75% 콜라겐 포함 골이식재+rhBMP-2 (n=5)로 구성함.
- 평가방법은 3 및 6주차에 안락사하여 얻은 샘플로 X-ray촬영과 Micro CT, 조직학적 평가를 실시하였음.



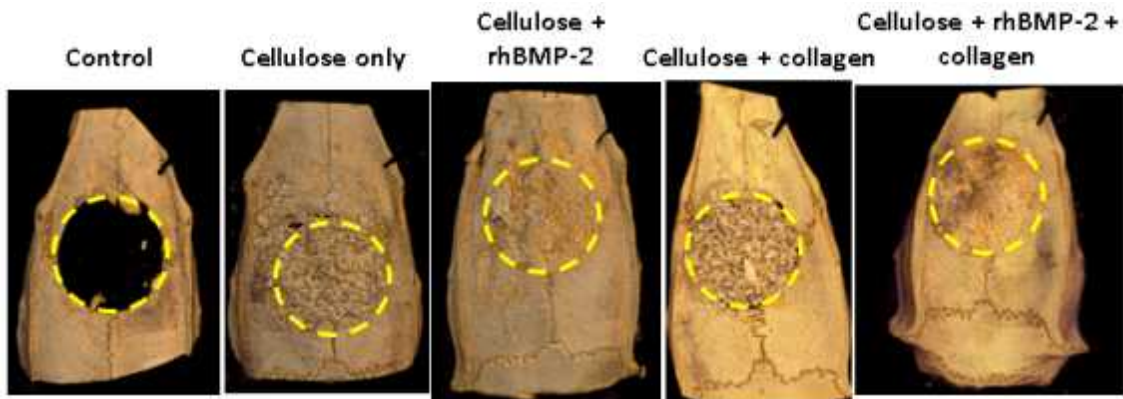
[그림33] 랫드 두개골결손 유발 및 골이식재 이식.

- 골이식재 이식 시 모든 골이식재에서 혈액과 같이 응고되어 이식부위에서의 유지능이 떨어났음.
- 3주차에 안락사하여 조직채취 후 X-ray를 촬영하였고, 10% 중성 포르말린에 고정시켜 Micro CT와 조직학적 평가를 실시하였음.



[그림34] 랫드 골결손 모델에서 군별 3주차 X-ray 촬영 사진

- 골이식 후 3주차 X-ray 촬영 결과 대조군에서는 골결손 부분에 신생골 형성이 거의 보이지 않음. 골이식재 단독 처리군에서는 골이식재가 제자리에 잘 유지되고 있으며, 골결손부 경계에서부터 신생골 형성이 되는 것을 확인할 수 있음. 골이식재+ rhBMP-2 처리 군에서는 골이식재 단독 처리군에 비해 신생골 형성이 뛰어나며 골재생이 거의 완료된 것을 확인함.

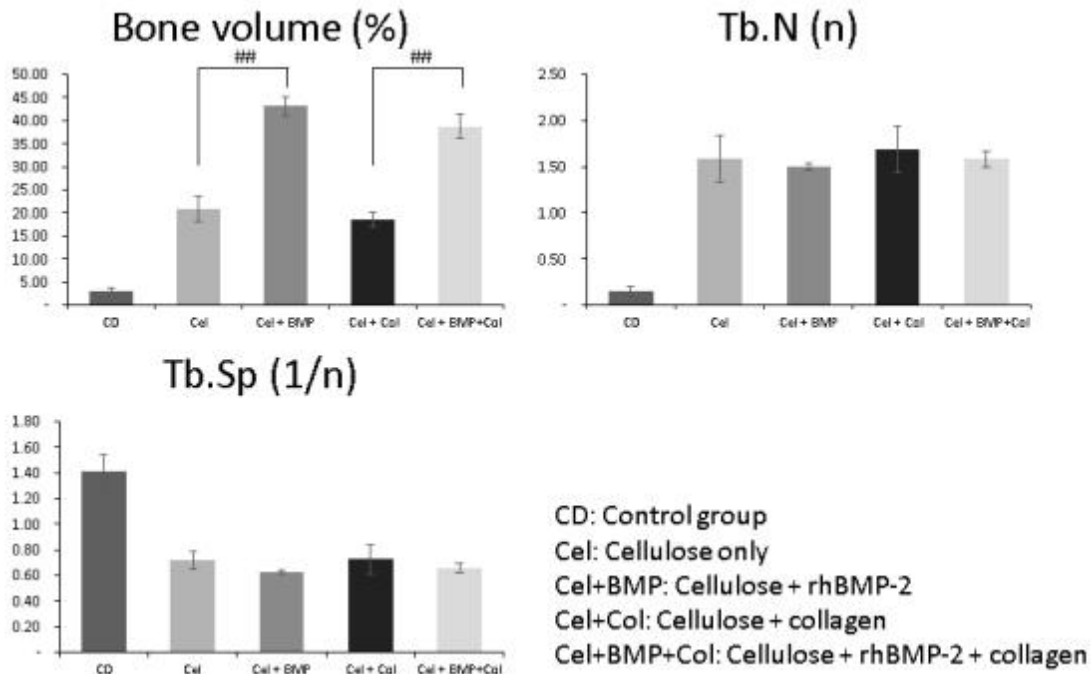


[그림35] 랫드 골결손 모델에서 군별 3주차 Micro-CT 촬영 평가

[표5] 랫드 골결손 모델에서 골이식 후 Micro-CT를 사용하여 실시한 신생골 형성 분석(3주차)

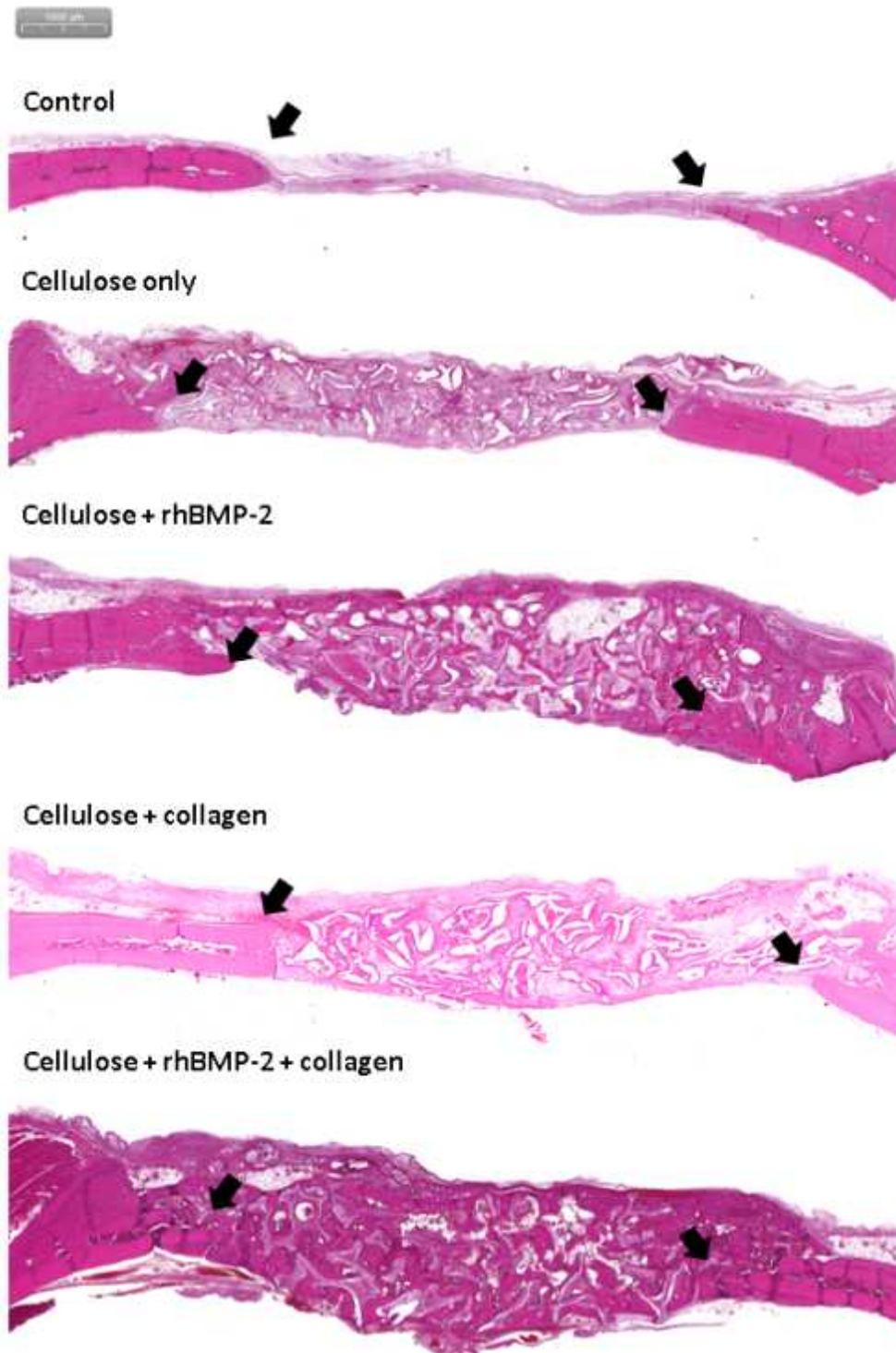
Group	BV(%)	Tb.N (n)	Tb.Sp (1/n)
CD	2.88±0.977	0.15±0.045	1.41±0.134
Cellulose	20.74±2.678*	1.59±0.247*	0.72±0.067*
Cellulose+rhBMP-2	43.15±2.077*	1.50±0.035*	0.63±0.018*
Cellulose+collagen	18.50±1.583*	1.69±0.254*	0.73±0.117*
Cellulose+rhBMP-2+collagen	38.71.37±2.559*	1.58±0.089*	0.66±0.035*

*: 동일 주차의 대조군과 비교하여 p<0.01 수준에서 유의성 있음.



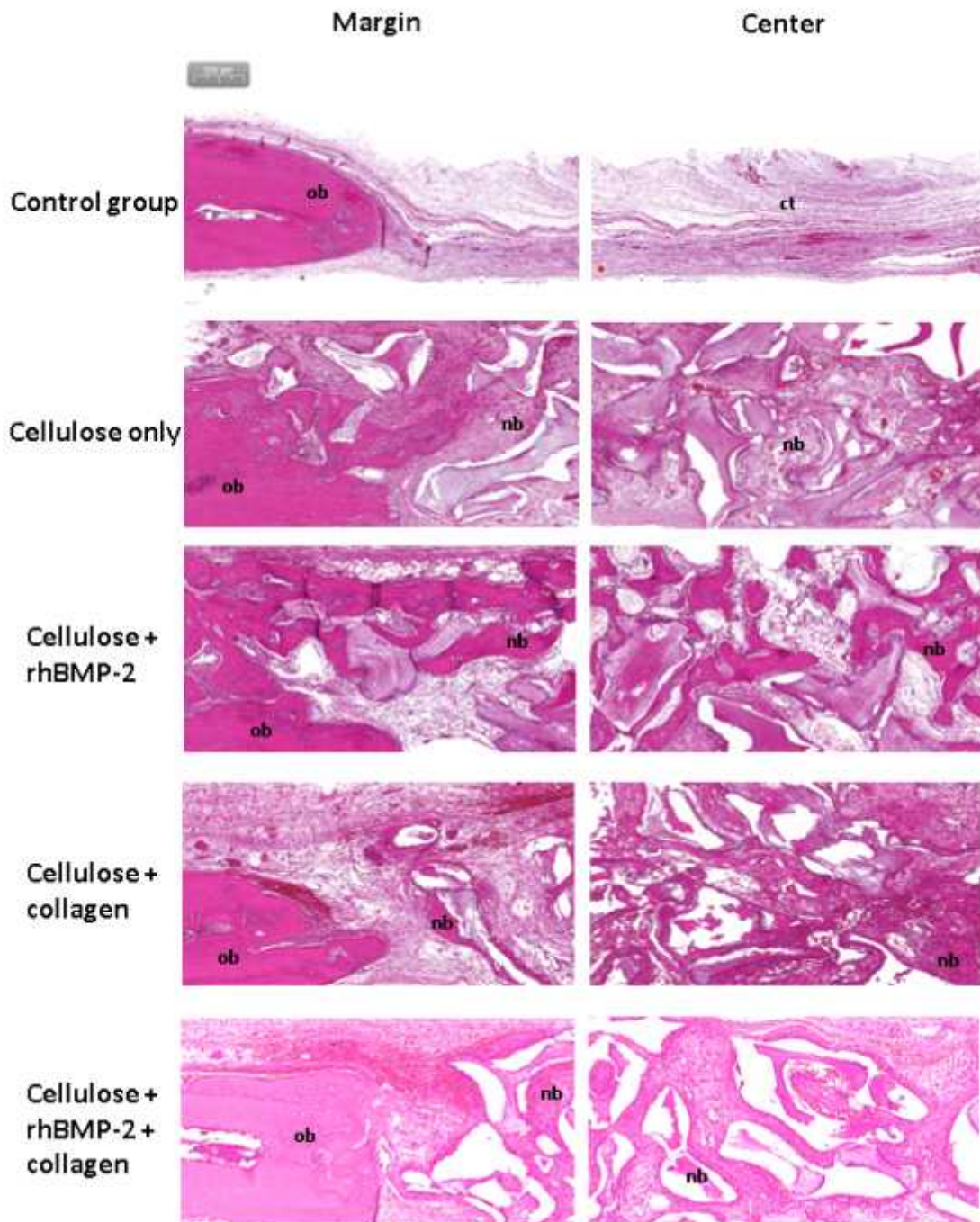
[그림35] 랫드 골결손 모델에서 골이식 후 Micro-CT를 사용하여 실시한 신생골 형성 분석(3주차)
 ##: 두 군의 비교시 $p < 0.01$ 수준에서 유의성 있음.

- Micro-CT상에서 측정된 골이식 후 4주차의 퍼센트 골부피(Percent Bone Volume), 골소주 수 (Trabecular number) 및 골소주 간격(Trabecular separation)의 군 간 분석을 위해 one-way ANOVA (SPSS version 26)를 사용하였으며, Bonferroni 검정법을 이용하여 유의수준 ($P < 0.01$)에서 유의성을 검증함.
- 대조군과 골이식재 이식군 모두에서 퍼센트 골부피, 골소주 수, 골소주 간격에서 유의적인 차이 ($P < 0.01$)가 있었음. 또한 골이식재 단독 처치군과 골이식재+ rhBMP-2 처치군의 비교시 퍼센트 골부피에서 유의적인 차이($P < 0.01$)가 있었음. 콜라겐 포함 여부에서는 통계적인 차이는 보이지 않았음.
- 조직학적 평가를 위해 샘플을 중성탈회 과정을 거친 후 Hematoxylin and eosin (H&E) 염색과 Van Gieson 염색하여 저배율과 고배율에서 골결손부에서의 신생골 형성을 관찰함.



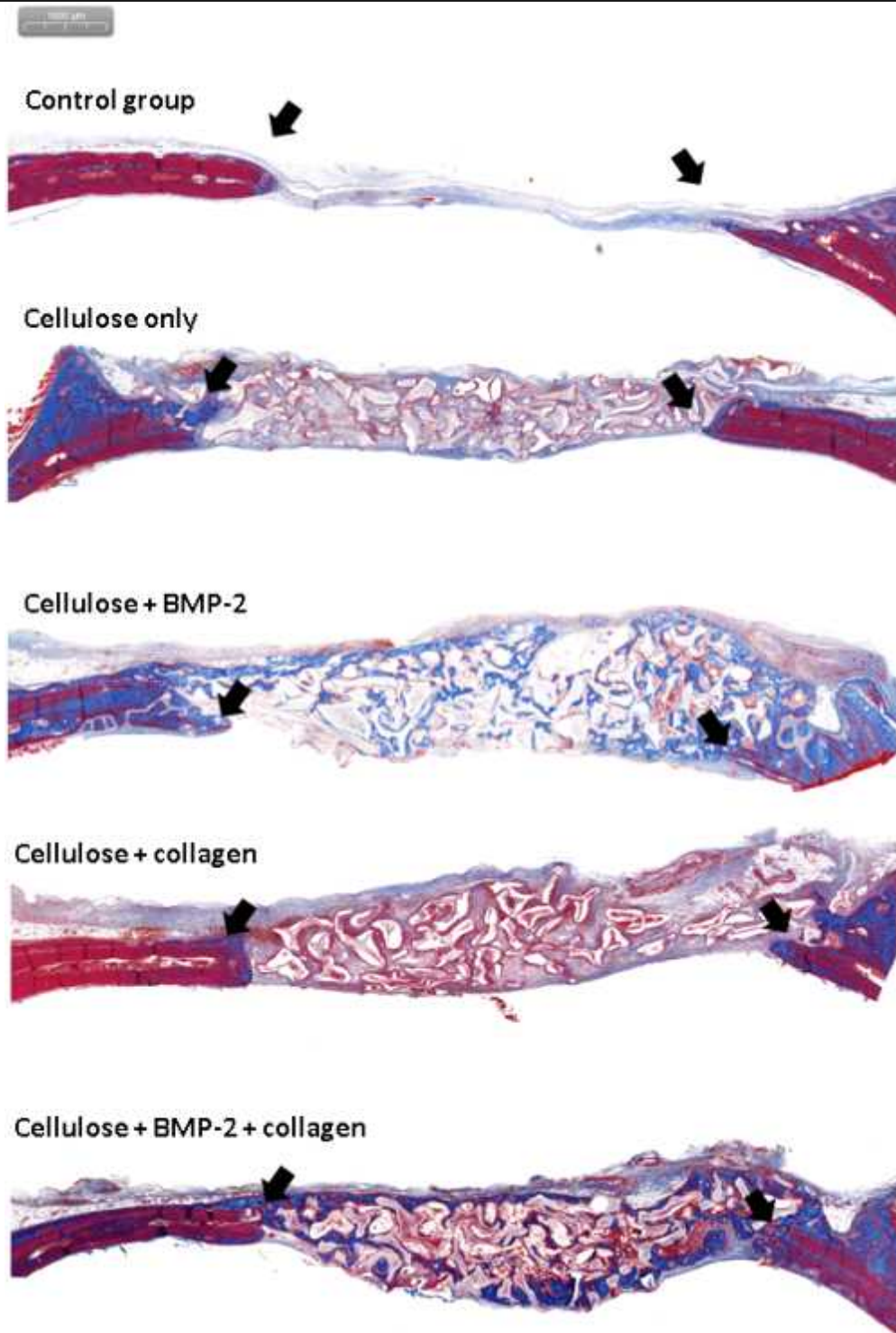
[그림36] 랫드 골결손 모델에서 골이식 후 3주차에서 H&E 염색 후 조직학적 평가(Scale bar=1000 um), (화살표: 골결손 경계부).

- H&E 염색의 저배율 사진에서 대조군에서는 골결손부에 신생골 형성은 거의 없었고, 섬유성 결합조직으로만 채워져 있음. 골이식재 단독 이식군에서는 골결손 경계부부터 신생골 형성이 관찰되며 골이식재 주변으로 결합조직으로 구성되어 있는 것을 관찰할 수 있음. 골이식재+rhBMP-2 처리군에서 역시 골결손 경계부부터 신생골 형성이 관찰되며 결손 중앙 부위까지 밀도 높게 신생골이 형성된 것을 관찰할 수 있음.



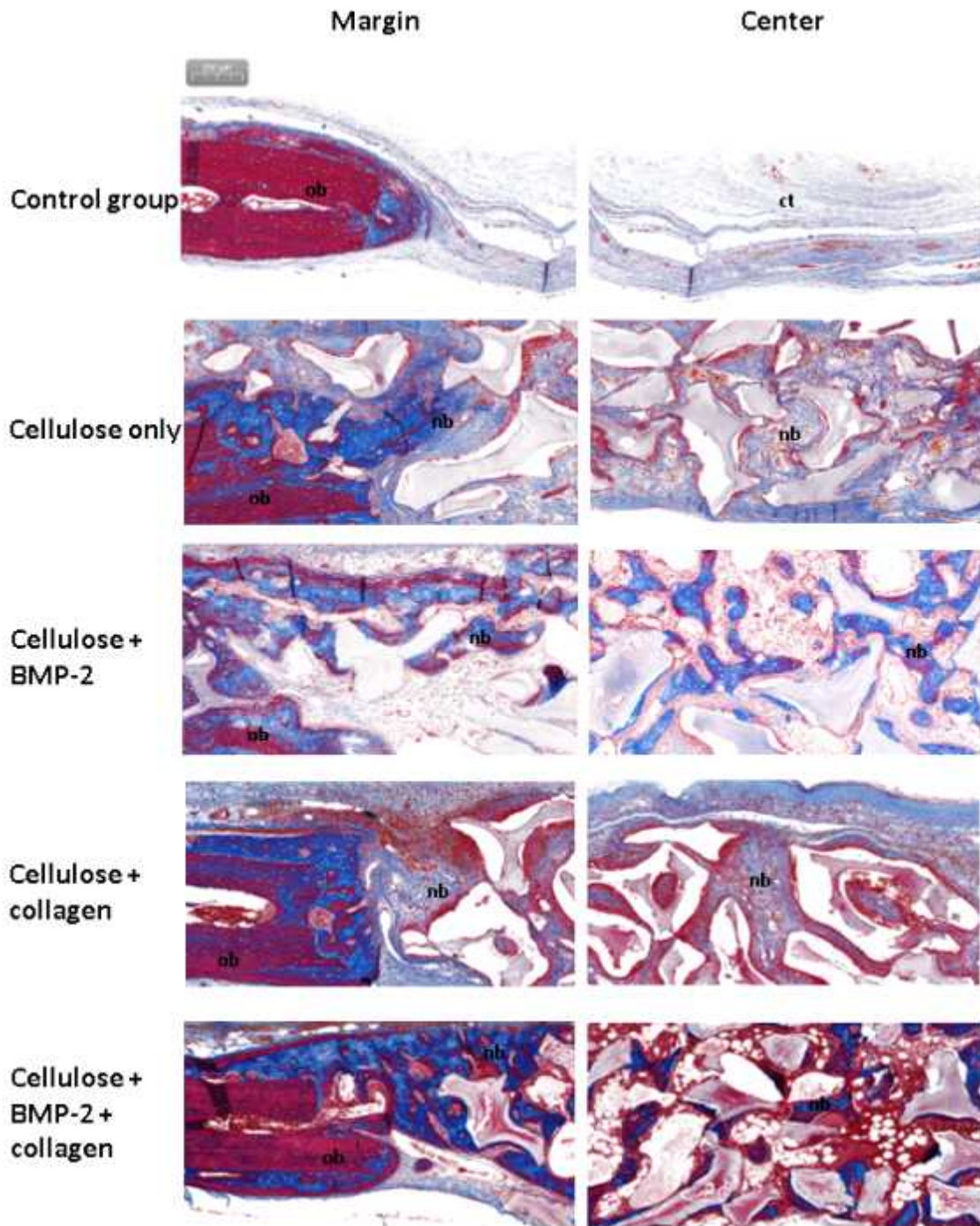
[그림37] 랫드 골결손 모델에서 골이식 후 3주차에서 H&E 염색 후 조직학적 평가(Scale bar= 200 um), (ob: old bone, nb: new bone, ct: connective tissue).

- H&E 염색의 고배율 사진에서 대조군에서는 신생골 형성이 잘 관찰되지 않음. 골이식재 단독 이식군에서는 결손부 가장자리와 중앙부분에서 신생골 형성이 관찰됨. 골이식재+rhBMP-2 처리군에서 역시 골결손 경계부 및 결손 중앙부위에 신생골 형성이 관찰되며 골이식재 단독군에 비해 높은 밀도로 신생골이 형성된 것을 관찰할 수 있음.



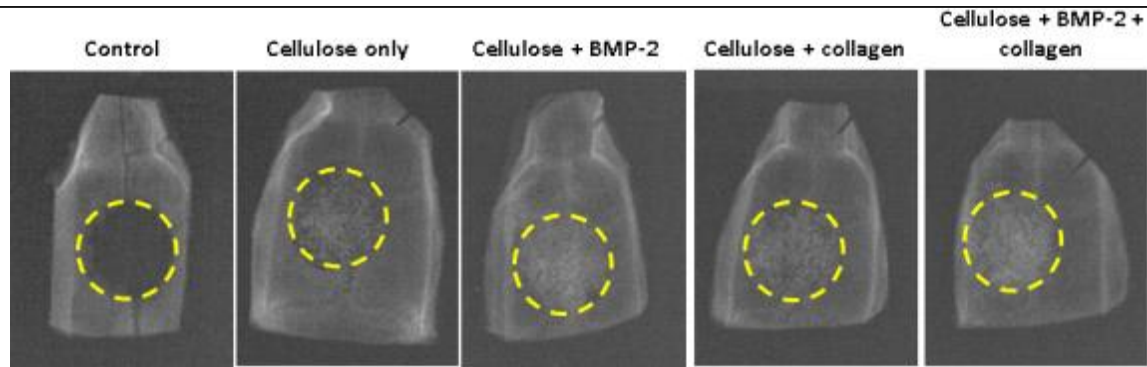
[그림38] 랫드 골결손 모델에서 골이식 후 3주차에서 Masson`s trichrome 염색 후 조직학적 평가(Scale bar= 1000um), (화살표: 골결손 경계부).

- Masson`s trichrome염색의 저배율 사진에서 대조군은 골결손 부분에서 얇게 콜라겐이 관찰되며 골 이식재 이식군에서는 이식재 사이에 콜라겐 및 신생골이 형성되어 있음을 확인할 수 있음.



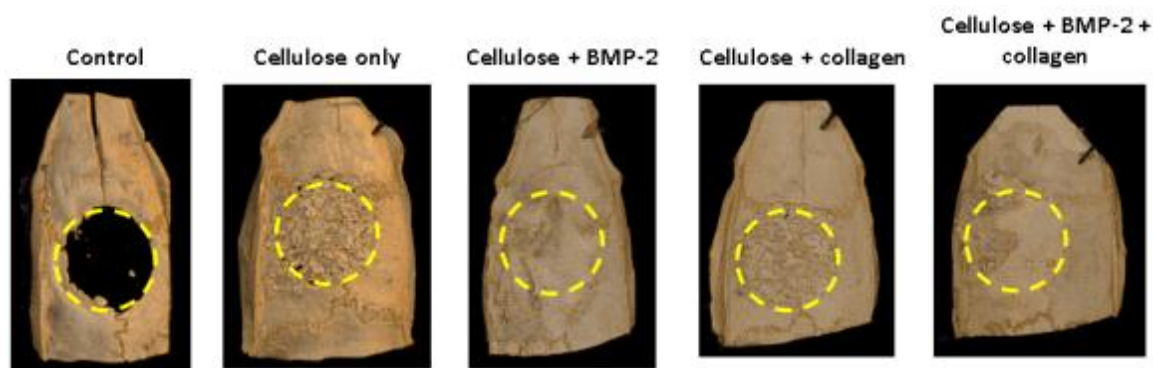
[그림39] 랫드 골결손 모델에서 골이식 후 3주차에서 Masson`s trichrome 염색 후 조직학적 평가(Scale bar= 200um), (ob: old bone, nb: new bone).

- Masson`s trichrome염색의 고배율 사진에서 골이식재 단독 이식군 및 골이식재+ rhBMP-2 처리군에서 역시 골결손 경계부 및 결손 중앙부위에 신생골 형성이 관찰되며 rhBMP-2 처리군에서 더 성숙한 골 형성을 관찰할 수 있음.
- 6주차에 안락사하여 조직채취 후 X-ray를 촬영하였고 10% 중성 포르말린에 고정시켜 Micro CT와 조직학적 평가를 실시하였음.



[그림40] 랫드 골결손 모델에서 군별 3주차 X-ray 촬영 사진

- 골이식 후 6주차 X-ray 촬영 결과 Control 군에서는 골결손 부분에 신생골 형성이 거의 보이지 않음. 골이식재 단독 처리군에서는 골이식재가 제자리에 잘 유지되고 있으며 골결손부 경계에서부터 신생골 형성이 되는 것을 확인할 수 있음. 골이식재+rhBMP-2 처리 군에서는 골이식재 단독 처리군에 비해 신생골 형성이 뛰어나며 골재생이 거의 완료된 것을 확인함.

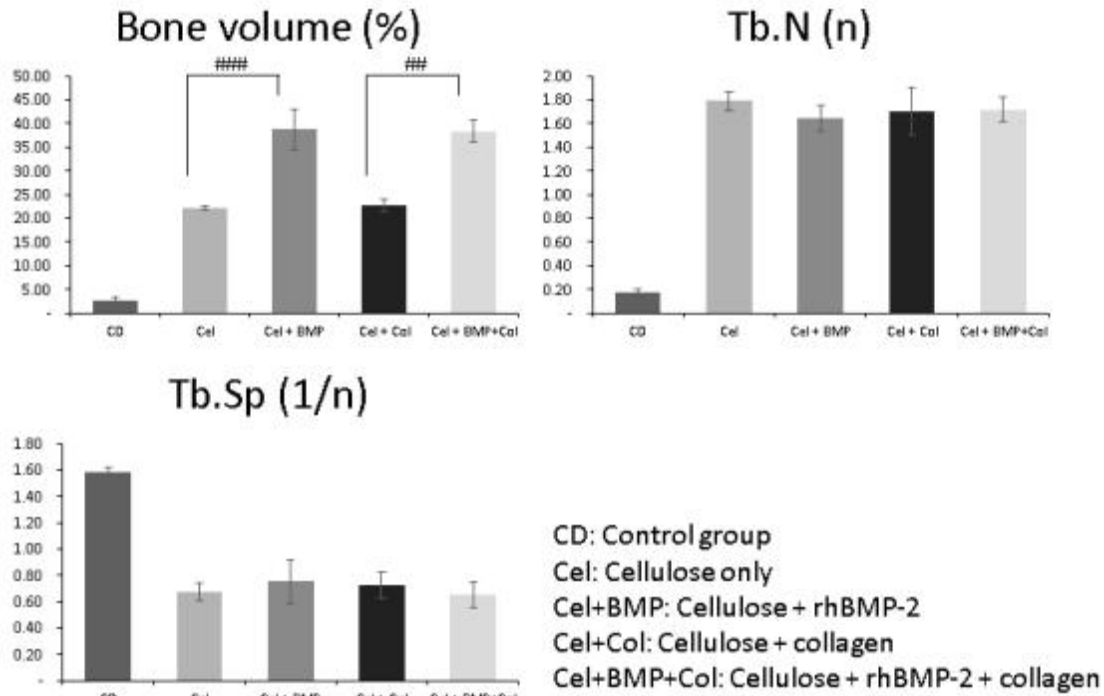


[그림41] 랫드 골결손 모델에서 군별 3주차 Micro-CT 촬영 평가

[표6] 랫드 골결손 모델에서 골이식 후 Micro-CT를 사용하여 실시한 신생골 형성 분석(6주차)

Group	BV(%)	Tb.N (n)	Tb.Sp (1/n)
CD	2.73±0.533	0.17±0.028	1.58±0.036
Cellulose	22.27±0.437*	1.79±0.081*	0.67±0.065*
Cellulose+rhBMP-2	38.73±4.423*	1.65±0.111*	0.75±0.167*
Cellulose+collagen	22.74±1.389*	1.70±0.199*	0.73±0.097*
Cellulose+rhBMP-2+collagen	38.41±2.23*	1.72±0.1*	0.65±0.097*

*: 동일 주차의 대조군과 비교하여 $p < 0.01$ 수준에서 유의성 있음.

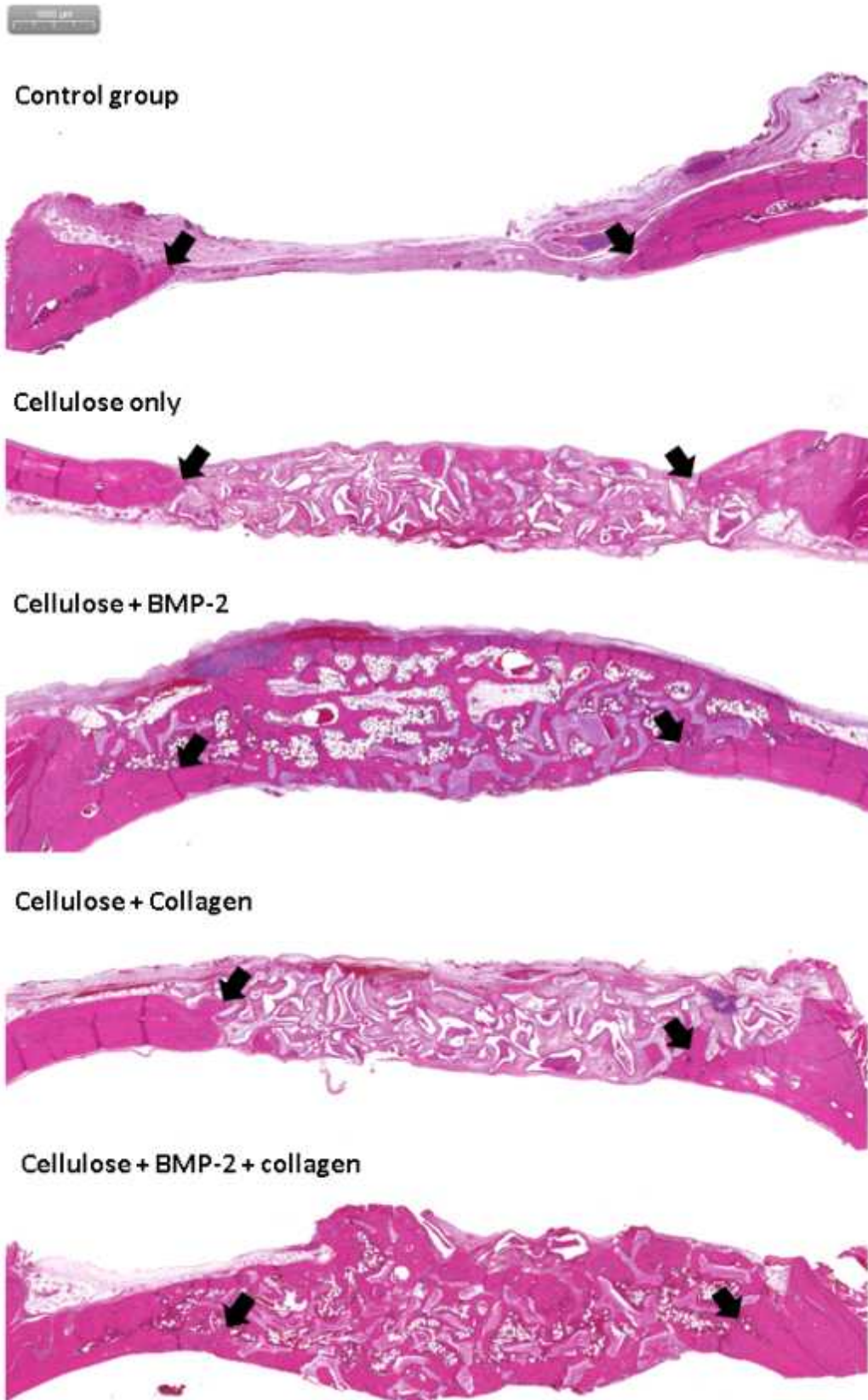


[그림41] 랫드 골결손 모델에서 골이식 후 Micro-CT를 사용하여 실시한 신생골 형성 분석(6주차)

##: 두 군의 비교시 $p < 0.01$ 수준에서 유의성 있음.

###: 두 군의 비교시 $p < 0.001$ 수준에서 유의성 있음.

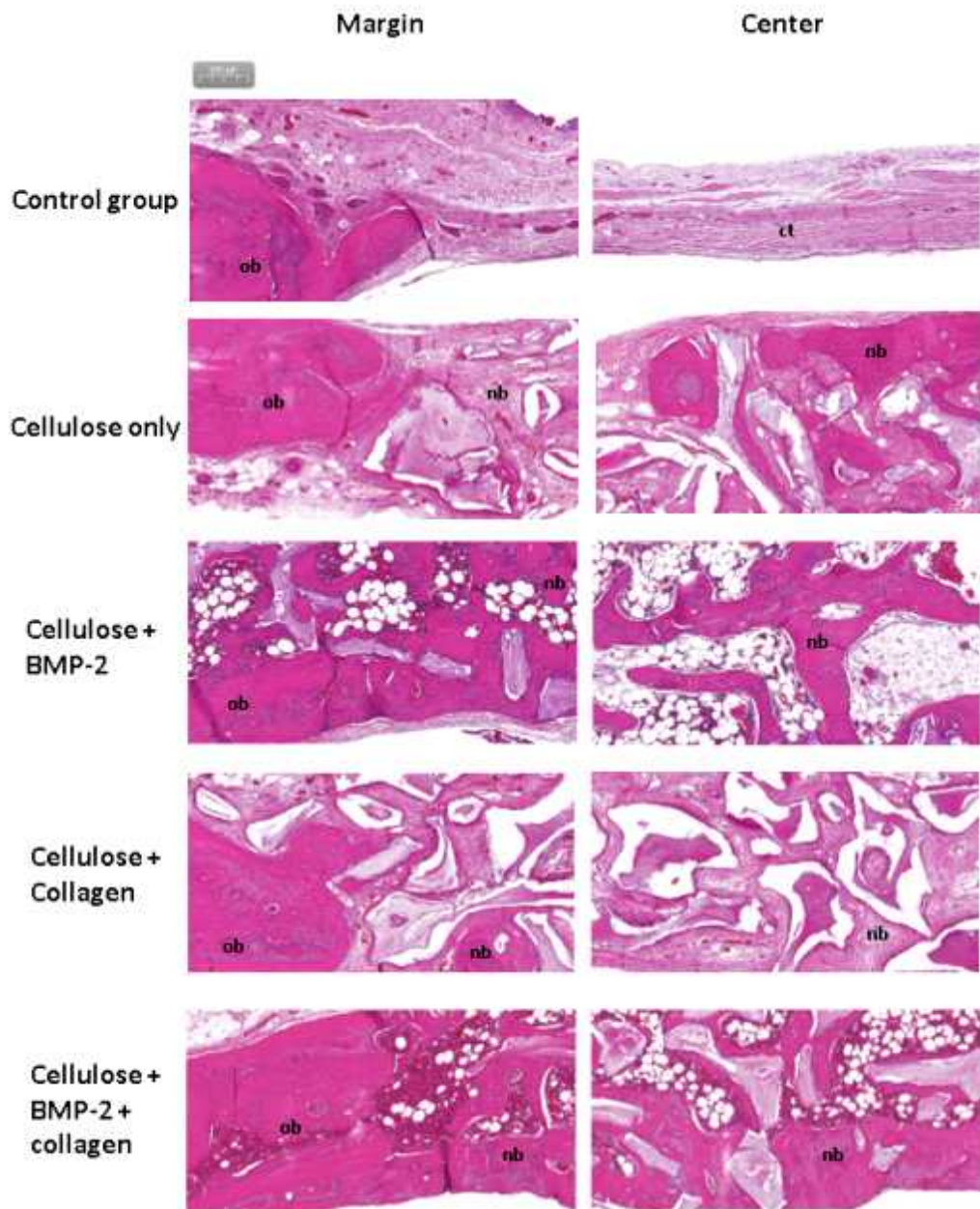
- Micro-CT상에서 측정된 골이식 후 4주차의 퍼센트 골부피(Percent Bone Volume), 골소주 수 (Trabecular number) 및 골소주 간격(Trabecular separation)의 군 간 분석을 위해 one-way ANOVA (SPSS version 26)를 사용하였으며, Bonferroni 검정법을 이용하여 유의수준 ($P < 0.01$)에서 유의성을 검증함.
- 대조군과 골이식재 이식군 모두에서 퍼센트 골부피, 골소주 수, 골소주 간격에서 유의적인 차이 ($P < 0.01$)가 있었음. 또한 골이식재 단독 처치군과 골이식재+rhBMP-2 처치군의 비교 시 퍼센트 골부피에서 유의적인 차이($P < 0.01$)가 있었음. 콜라겐 포함 여부에서는 통계적인 차이는 보이지 않았음.
- 조직학적 평가를 위해 샘플을 중성탈회 과정을 거친 후 Hematoxylin and eosin (H&E) 염색과 Van Gieson 염색하여 저배율과 고배율에서 골결손부에서의 신생골 형성을 관찰함.



[그림42] 랫드 골결손 모델에서 골이식 후 6주차에서 H&E 염색 후 조직학적 평가(Scale bar=1000 um), (화살표: 골결손 경계부).

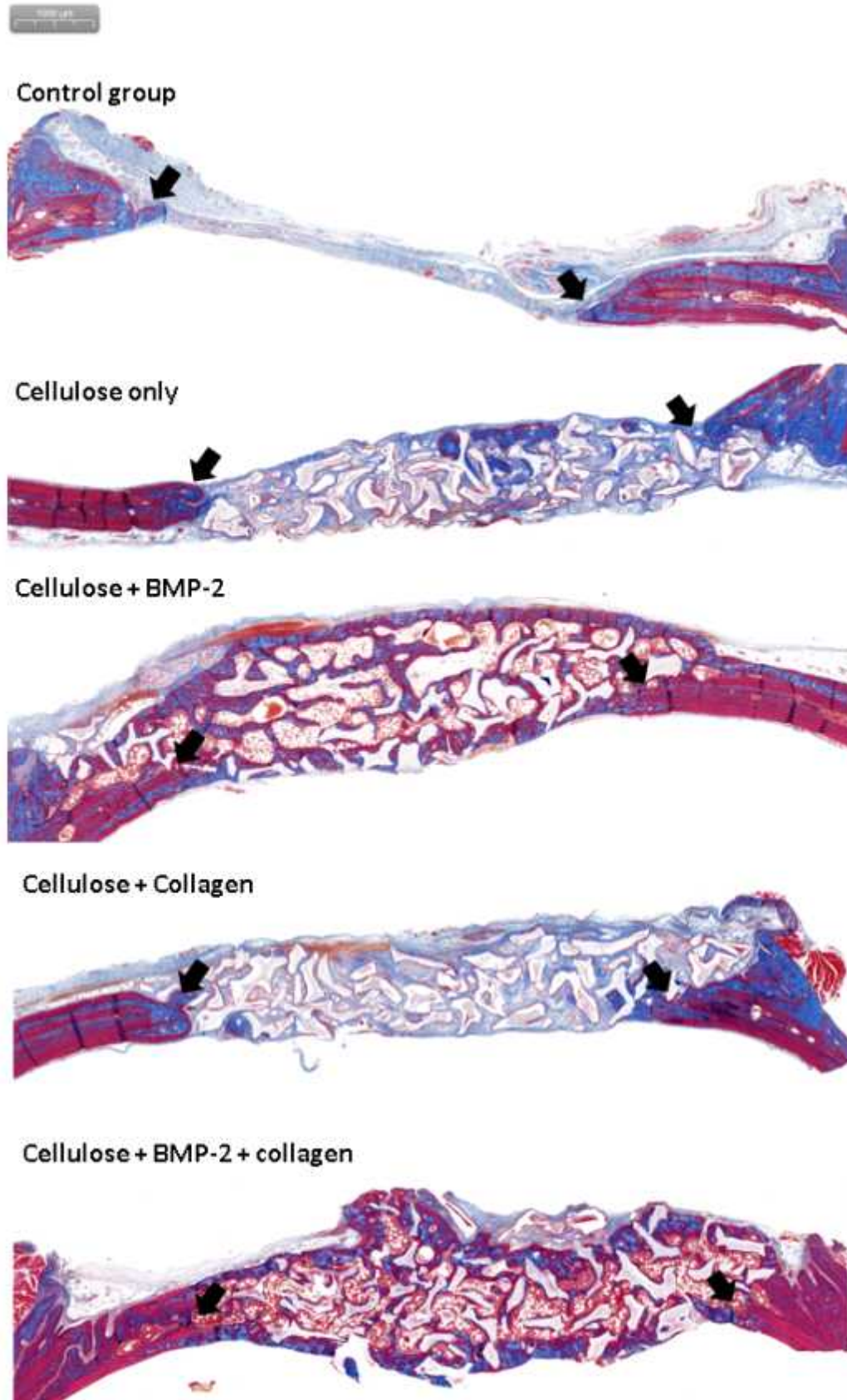
- H&E 염색의 저배율 사진에서 대조군에서는 골결손부에 신생골 형성은 거의 없었고 섬유성 결합조직으로만 채워져 있음. 골이식재 단독 이식군에서는 골결손 경계부부터 신생골 형성이 관찰되며 골이식재 주변으로 결합조직으로 구성되어 있는 것을 관찰할 수 있음. 골이식재+rhBMP-2 처리군에서 역시 골결손 경계부부터 신생골 형성이 관찰되며 결손 중앙 부위까지 밀도 높게 신생골이 형성된 것

을 관찰할 수 있음.



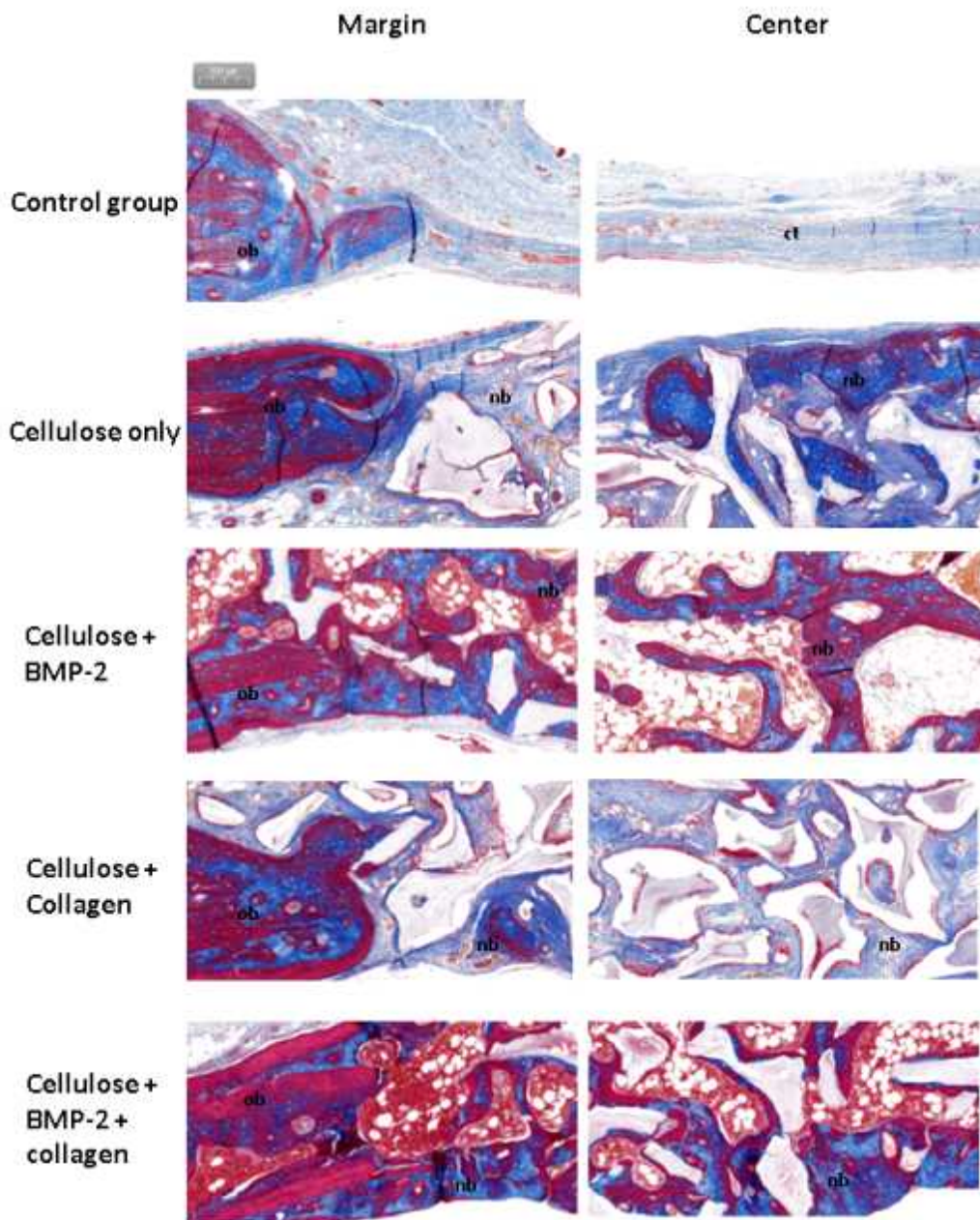
[그림 43] 랫드 골결손 모델에서 골이식 후 6주차에서 H&E 염색 후 조직학적 평가(Scale bar= 200 um), (ob: old bone, nb: new bone, ct: connective tissue).

- H&E 염색의 고배율 사진에서 대조군에서는 신생골 형성이 잘 관찰되지 않음. 골이식재 단독 이식군에서는 결손부 가장자리와 중앙부에서 신생골 형성이 관찰됨. 골이식재+ rhBMP-2 처리군에서 역시 골결손 경계부 및 결손 중앙부위에 신생골 형성이 관찰되며 골이식재 단독군에 비해 밀도 높게 신생골이 형성된 것을 관찰할 수 있음.



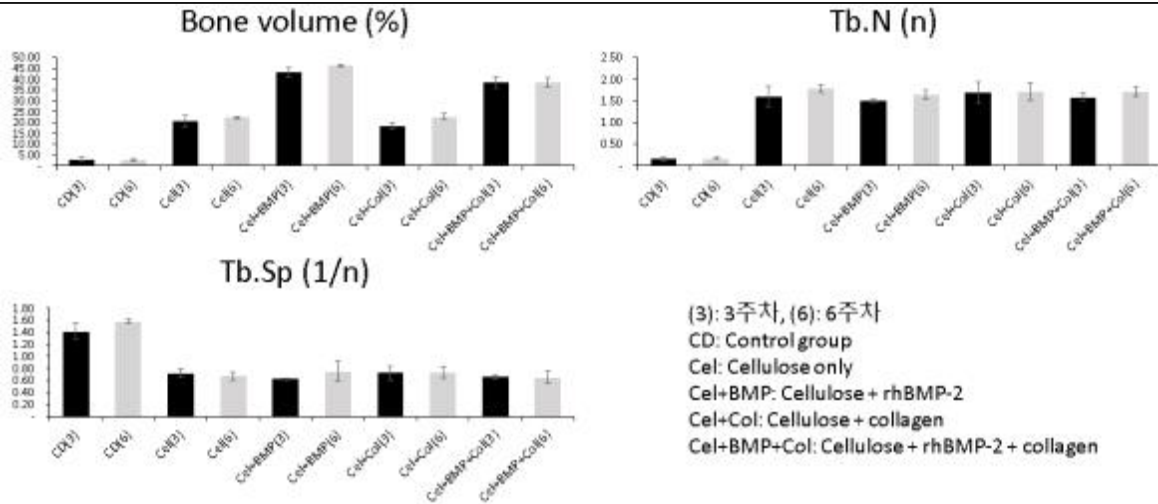
[그림44] 랫드 골결손 모델에서 골이식 후 6주차에서 Masson`s trichrome 염색 후 조직학적 평가(Scale bar= 1000um), (화살표: 골결손 경계부).

- Masson`s trichrome염색의 저배율 사진에서 대조군은 골결손 부분에서 얇게 콜라겐이 관찰되며 골 이식제 이식군에서는 이식제 사이에 콜라겐 및 신생골이 형성되어 있음을 확인할 수 있음.



[그림45] 랫드 골결손 모델에서 골이식 후 6주차에서 Masson`s trichrome 염색 후 조직학적 평가(Scale bar= 200um), (ob: old bone, nb: new bone).

- Masson`s trichrome염색의 고배율 사진에서 골이식재 단독 이식군 및 골이식재+ rhBMP-2 처리군에서 역시 골결손 경계부 및 결손 중앙부위에 신생골 형성이 관찰되며 rhBMP-2 처리군에서 더 많은 성숙골 형성을 관찰할 수 있음.
- 3주차와 6주차 군의 Micro-CT상에서 측정된 퍼센트 골부피(Percent Bone Volume), 골소주 수 (Trabecular number) 및 골소주 간격(Trabecular separation)의 비교 분석을 위해 one-way ANOVA (SPSS version 26)를 사용하였으며, Bonferroni 검정법을 이용하여 유의수준 ($P < 0.01$)에서 유의성을 검증함.



[그림46] 랫드 골결손 모델에서 골이식 후 Micro-CT를 사용하여 실시한 신생골 형성 분석(3주차 vs 6주차)

- 3주차군과 6주차군에서 퍼센트 골부피에서는 6주차군이 조금 더 높은 경향을 보였으나 유의적인 차이는 보이지 않았음. 골소주 수, 골소주 간격에서는 두 군간의 유의적인 차이를 보이지 않았음.

○ 결론

- 개발된 셀룰로오스 기반 골이식재의 세포독성평가 결과 골이식재에서 세포독성이 없음을 확인하였음. 실제 골이식재 이식 실험에서 모든 골이식재가 혈액을 흡수하여 지혈효과와 이식부위에 유지능력이 뛰어난 것을 확인함. 특히 셀룰로오스 및 셀룰로오스+콜라겐 골이식재와 함께 hBMP-2를 이식하였을 때 뛰어난 신생골 형성을 보여주었음. 이를 바탕으로 실제 체내 이식 시 콜라겐 및 셀룰로오스계 생분해성 고분자 포함 동물용 골이식재가 사용성 및 신생골 형성능력을 촉진시킬 것으로 기대되며, rhBMP-2등의 약물 탑재 능력을 통해 신생골 형성을 더 촉진시킬 수 있을 것으로 예상됨.

(2) 정량적 연구개발성과(해당 시 작성하며, 연구개발과제의 특성에 따라 수정이 가능합니다)

< 정량적 연구개발성과표 >

(단위 : 건, 천원)

성과지표명	연도		1단계 (2020~2021)	n단계 (YYYY~YYYY)	계	가중치 (%)
	전담기관 등록·기탁 지표 ¹⁾	논문	목표(단계별)	1		1
실적(누적)			1		1	
학술발표		목표(단계별)	1		1	
		실적(누적)	1		1	25
특허출원		목표(단계별)	2		2	
		실적(누적)	3		3	25
특허등록	목표(단계별)	1		1		
	실적(누적)	1		1	25	
연구개발과제 특성 반영 지표 ²⁾	고용창출	목표(단계별)	6		6	
		실적(누적)	25		25	25
	목표(단계별)					
계						100

< 연구개발성과 성능지표 >

평가 항목 (주요성능 ¹⁾)	단위	전체 항목에서 차지하는 비중 ²⁾ (%)	세계 최고		연구개발 전 국내 성능수준	연구개발 목표치		목표설정 근거
			보유국/보유기관	성능수준	성능수준	1단계 (2020~2021)	n단계 (YYYY~YYYY)	
1 Bone Volume	%	25	스위스/가히스트리히	20%	-	22		세계최고 성능수준의 등등 이상
2 세포 독성	독성 없음	25	스위스/가히스트리히	독성 없음	-	독성 없음		
3 TB.N	n	25	스위스/가히스트리히	1.5	-	1.6		
4 TB.SP	1/n	25	스위스/가히스트리히	0.7		0.7		

* 1) 정밀도, 인장강도, 내충격성, 작동전압, 응답시간 등 기술적 성능판단기준이 되는 것을 의미합니다.

* 2) 비중은 각 구성성능 사양의 최종목표에 대한 상대적 중요도를 말하며 합계는 100%이어야 합니다.

(3) 세부 정량적 연구개발성과(해당되는 항목만 선택하여 작성하되, 증빙자료를 별도 첨부해야 합니다)

[과학적 성과]

논문(국내외 전문 학술지) 게재

번호	논문명	학술지명	주저자명	호	국명	발행기관	SCIE 여부 (SCIE/비SCIE)	게재일	등록번호 (ISSN)	기여율
1	Treatment of two Asiatic black bears (Ursus thibetanus) with severe injuries and their subsequent release into the wild: a case report	BMV Veterinary Research	정동형, 장광식	17(1)	영국	BioMed Central	SCI	2021.3.20	1745-6148	50%

국내 및 국제 학술회의 발표

번호	회의 명칭	발표자	발표 일시	장소	국명
1	2020 주계임상수의학회	박혜지	2020.11.21	온라인 발표	대한민국
2	2021 KALAS International Symposium	양의신, 조현민	2021.04.16	포스터 발표	대한민국

기술 요약 정보

연도	기술명	요약 내용	기술 완성도	등록 번호	활용 여부	미활용사유	연구개발기관 외 활용여부	허용방식

보고서 원문

연도	보고서 구분	발간일	등록 번호

생명자원(생물자원, 생명정보)/화합물

번호	생명자원(생물자원, 생명정보)/화합물 명	등록/기탁 번호	등록/기탁 기관	발생 연도

[기술적 성과]

지식재산권(특허, 실용신안, 의장, 디자인, 상표, 규격, 신제품, 프로그램)

번호	지식재산권 등 명칭 (건별 각각 기재)	국명	출원				등록			기여율	활용 여부
			출원인	출원일	출원 번호	등록 번호	등록인	등록일	등록 번호		
1	골 이식재 조성물 및 골 이식재 제조방법		(주)메드파크							20	
2	골 이식재 조성물, 이의 제조 방법 및 골 이식재 조성물 키트		(주)메드파크							20	
3	골 이식재 조성물		(주)메드파크							20	
4	BONE GRAFT COMPOSITION, PREPARATION METHOD THEREFOR AND BONE GRAFT COMPOSITION KIT	골이식용 조성물, 그 제조방법 및 골이식용 조성물 키트					(주)메드파크 박정복			20	

○ 지식재산권 활용 유형

※ 활용의 경우 현재 활용 유형에 √ 표시, 미활용의 경우 향후 활용 예정 유형에 √ 표시합니다(최대 3개 중복선택 가능).

번호	제품화	방어	전용실시	통상실시	무상실시	매매/양도	상호실시	담보대출	투자	기타
	√									

저작권(소프트웨어, 서적 등)

번호	저작권명	창작일	저작자명	등록일	등록 번호	저작권자명	기여율

신기술 지정

번호	명칭	출원일	고시일	보호 기간	지정 번호

기술 및 제품 인증

번호	인증 분야	인증 기관	인증 내용		인증 획득일	국가명
			인증명	인증 번호		

표준화

○ 국내표준

번호	인증구분 ¹⁾	인증어부 ²⁾	표준명	표준인증기구명	제안주체	표준종류 ³⁾	제안/인증일자

* 1) 한국산업규격(KS) 표준, 단체규격 등에서 해당하는 사항을 기재합니다.

* 2) 제안 또는 인증 중 해당하는 사항을 기재합니다.

* 3) 신규 또는 개정 중 해당하는 사항을 기재합니다.

○ 국제표준

번호	표준화단계구분 ¹	표준명	표준기구명 ²	표준분과명	의장단 활동여부	표준특허 추진여부	표준개발 방식 ³	제안자	표준화 번호	제안일자

* 1」 국제표준 단계 중 신규 작업항목 제안(NP), 국제표준초안(WD), 위원회안(CD), 국제표준안(DIS), 최종국제표준안(FDIS), 국제표준(IS) 중 해당하는 사항을 기재합니다.

* 2」 국제표준화기구(ISO), 국제전기기술위원회(IEC), 공동기술위원회1(JTC1) 중 해당하는 사항을 기재합니다.

* 3」 국제표준(IS), 기술시방서(TS), 기술보고서(TR), 공개활용규격(PAS), 기타 중 해당하는 사항을 기재합니다.

[경제적 성과]

□ 시제품 제작

번호	시제품명	출시/제작일	제작 업체명	설치 장소	이용 분야	사업화 소요 기간	인증기관 (해당 시)	인증일 (해당 시)
1	콜라겐과 셀룰로오스계 생분해성 고분자가 포함된 이종골 이식재의 시제품 제작	21/4월	메드파크		수의학과 정형학과			

□ 기술 실시(이전)

번호	기술 이전 유형	기술 실시 계약명	기술 실시 대상 기관	기술 실시 발생일	기술료 (해당 연도 발생액)	누적 징수 현황

* 내부 자금, 신용 대출, 담보 대출, 투자 유치, 기타 등

□ 사업화 투자실적

번호	추가 연구개발 투자	설비 투자	기타 투자	합계	투자 자금 성격*

□ 사업화 현황

번호	사업화 방식 ¹	사업화 형태 ²	지역 ³	사업화명	내용	업체명	매출액		매출 발생 연도	기술 수명
							국내 (천원)	국외 (달러)		
1										

* 1」 기술이전 또는 자기실시

* 2」 신제품 개발, 기존 제품 개선, 신공정 개발, 기존 공정 개선 등

* 3」 국내 또는 국외

□ 매출 실적(누적)

사업화명	발생 연도	매출액		합계	산정 방법
		국내(천원)	국외(달러)		
합계					

□ 사업화 계획 및 무역 수치 개선 효과

성과				
사업화 계획	사업화 소요기간(년)	3		
	소요예산(천원)	20,000,000		
	예상 매출규모(천원)	현재까지	3년 후	5년 후
		-	10,000,000	20,000,000
	시장 점유율	단위(%)	현재까지	3년 후
국내			20%	40%
국외			10%	20%
향후 관련기술, 제품을 응용한 타 모델, 제품 개발계획		성장인자를 탑재한 고분자 셀룰로오스 수의/정형 골이식재		
무역 수치 개선 효과(천원)	수입대체(내수)	현재	3년 후	5년 후
			30,000,000	60,000,000
	수출		70,000,000	140,000,000

□ 고용 창출

순번	사업화명	사업화 업체	고용창출 인원(명)		합계
			2020년	2021년	
1	유용 농생명자원 산업화 기술개발	(주)메드파크	20	5	25
합계			20	5	25

□ 고용 효과

구분		고용 효과(명)	
고용 효과	개발 전	연구인력	11명
		생산인력	
	개발 후	연구인력	12명
		생산인력	

□ 비용 절감(누적)

순번	사업화명	발생연도	산정 방법	비용 절감액(천원)
합계				

□ 경제적 파급 효과

(단위: 천원/년)

구분	사업화명	수입 대체	수출 증대	매출 증대	생산성 향상	고용 창출 (인력 양성 수)	기타
해당 연도							
기대 목표							

□ 산업 지원(기술지도)

순번	내용	기간	참석 대상	장소	인원

기술 무역

(단위: 천원)

번호	계약 연월	계약 기술명	계약 업체명	계약업체 국가	기 정수액	총 계약액	해당 연도 정수액	향후 예정액	수출/수입

[사회적 성과]

법령 반영

번호	구분 (법률/시행령)	활용 구분 (제정/개정)	명 칭	해당 조항	시행일	관리 부처	제정/개정 내용

정책활용 내용

번호	구분 (제안/채택)	정책명	관련 기관 (담당 부서)	활용 연도	채택 내용

설계 기준/설명서(시방서)/지침/안내서에 반영

번호	구분 (설계 기준/설명서/지침/안내서)	활용 구분 (신규/개선)	설계 기준/설명서/ 지침/안내서 명칭	반영일	반영 내용

전문 연구 인력 양성

번호	분류	기준 연도	현황														
			학위별				성별		지역별								
			박사	석사	학사	기타	남	여	수도권	충청권	영남권	호남권	기타				

산업 기술 인력 양성

번호	프로그램명	프로그램 내용	교육 기관	교육 개최 횟수	총 교육 시간	총 교육 인원

다른 국가연구개발사업에의 활용

번호	중양행정기관명	사업명	연구개발과제명	연구책임자	연구개발비

국제화 협력성과

번호	구분 (유치/파견)	기간	국가	학위	전공	내용

홍보 실적

번호	홍보 유형	매체명	제목	홍보일

□ 포상 및 수상 실적

번호	종류	포상명	포상 내용	포상 대상	포상일	포상 기관
1		고용우수기업 인증서	고용우수기업 인증	메드파크	2021.07.29	부산광역시
2		우수기업인 인증서	우수기업인	메드파크	2021.12.24	부산광역시
3		수출유망중소기업 지정증	치과용골이식재	메드파크	2021.01.01	중소벤처 기업부

[인프라 성과]

□ 연구시설·장비

구축기관	연구시설/ 연구장비명	규격 (모델명)	개발여부 (○/×)	연구시설·장비 종합정보시스템* 등록여부	연구시설·장비 종합정보시스템* 등록번호	구축일자 (YY.MM.DD)	구축비용 (천원)	비고 (설치 장소)

* 「과학기술기초법 시행령」 제42조제4항제2호에 따른 연구시설·장비 종합정보시스템을 의미합니다.

[그 밖의 성과](해당 시 작성합니다)

(4) 계획하지 않은 성과 및 관련 분야 기여사항(해당 시 작성합니다)

<참고 1> 연구성과 실적 증빙자료 예시

성과유형	첨부자료 예시
연구논문	논문 사본(저자, 초록, 사사표기)을 확인할 수 있는 부분 포함, 연구개발과제별 중복 첨부 불가)
지식재산권	산업재산권 등록증(또는 출원서) 사본(발명인, 발명의 명칭, 연구개발과제 출처 포함)
제품개발(시제품)	제품개발사진 등 시제품 개발 관련 증빙자료
기술이전	기술이전 계약서, 기술실시 계약서, 기술료 입금 내역서 등
사업화 (상품출시, 공정개발)	사업화된 제품사진, 매출액 증빙서류(세금계산서, 납품계약서 등 매출 확인가능 내부 회계자료) 등
품목허가	미국 식품의약국(FDA) / 식품의약품안전처(MFDS) 허가서
임상시험실시	임상시험계획(IND) 승인서

<참고 2> 국가연구개발혁신법 시행령 제33조제4항 및 별표 4에 따른 연구개발성과의 등록·기탁 대상과 범위

구분	대상	등록 및 기탁 범위
등록	논문	국내외 학술단체에서 발간하는 학술(대회)지에 수록된 학술 논문(전자원문 포함)
	특허	국내외에 출원 또는 등록된 특허정보
	보고서원문	연구개발 연차보고서, 단계보고서 및 최종보고서의 원문
	연구시설·장비	국가연구개발사업을 통하여 취득한 3천만 원 이상 (부가가치세, 부대비용 포함) 연구시설·장비 또는 공동활용이 가능한 모든 연구시설·장비
	기술요약정보	연차보고, 단계보고 및 최종보고가 완료된 연구개발성과의 기술을 요약한 정보
	생명자원 중 생명정보	서열·발현정보 등 유전체정보, 서열·구조·상호작용 등 단백질체정보, 유전자(DNA)칩·단백질칩 등 발현체 정보 및 그 밖의 생명정보
	소프트웨어	창작된 소프트웨어 및 등록에 필요한 관련 정보
	표준	「국가표준기본법」 제3조에 따른 국가표준, 국제표준으로 채택된 공식 표준정보[소관 기술위원회를 포함한 공식 국제표준화기구(ISO, IEC, ITU)가 공인한 단체 또는 사실표준화기구에서 채택한 표준정보를 포함한다]
기탁	생명자원 중 생물자원	세균, 곰팡이, 바이러스 등 미생물자원, 인간 또는 동물의 세포·수정란 등 동물자원, 식물세포·조직 등 식물자원, DNA, RNA, 플라스미드 등 유전체자원 및 그 밖의 생물자원
	화합물	합성 또는 천연물에서 추출한 유기화합물 및 관련 정보
	신품종	생물자원 중 국내외에 출원 또는 등록된 농업용 신품종 및 관련 정보

210mm×297mm[(백상지(80g/m²) 또는 중질지(80g/m²)]

(22쪽 중 12쪽)

2) 목표 달성 수준

추진 목표	달성 내용	달성도(%)
○ 주관연구기관 (㈜메드파크): 수의치과 및 정형외과영역에서 사용할 수 있도록 약물 탑재가 가능한 콜라겐이 포함된 다양한 크기의 골이식재를 개발하고, 시술 시 편의성과 기능성을 제공하기 위해 동물용 콜라겐 및 셀룰로오스계 생분해성 고분자가 포함된 성형이 가능한 골이식재를 개발하고자 함.	○ 골이식재 제조 공정 및 조성 확립 완료	○ 100
	○ 골라겐 코팅 골이식재 개발 완료	○ 100
○ 참여기관 (전남대학교): 개발된 다양한 형태의 돼지뼈 유래 골이식재의 사용적합성과 콜라겐 포함 골이식재의 물성 및 생체적합성 평가를 실시하며, 성형이 가능한 콜라겐 포함 골이식재의 생체적합성 및 약물탑재 가능성을 평가함.	○ 콜라겐 포함 이종골 이식 복합재 시제품 제작 완료	○ 100
	○ 셀룰로오스 포함 콜라겐 골이식재 시제품 제작 완료	○ 100
	○ 사용적합성 평가 완료	○ 100
	○ 콜라겐 포함 동물용 골이식재의 물성 평가 결과 양호	○ 100
	○ 콜라겐 포함 동물용 골이식재의 동물 모델 기반 생체적합성 평가 결과 생체 적합성과 신생골 형성능 양호	○ 100
	○ 콜라겐 및 셀룰로오스계 생분해성 고분자 포함 골 이식재의 세포독성 평가 결과 세포 독성 없음	○ 100
	○ 동물 골결손 모델에서 콜라겐 및 셀룰로오스계 생분해성 고분자 포함 골이식재의 생체적합성 평가 결과 생체 적합성 및 신생골 형성능 양호	○ 100
	○ 개발된 콜라겐 포함 골이식재의 약물탑재 가능성 평가 결과 약물 탑재 가능성 확인 완료	○ 100

4. 목표 미달 시 원인분석(해당 시 작성합니다)

1) 목표 미달 원인(사유) 자체분석 내용

2) 자체 보완활동

3) 연구개발 과정의 성실성

210mm×297mm[(백상지(80g/m²) 또는 중질지(80g/m²)

(22쪽 중 13쪽)

5. 연구개발성과의 관련 분야에 대한 기여 정도

6. 연구개발성과의 관리 및 활용 계획

< 연구개발성과 활용계획표 >

구분(정량 및 정성적 성과 항목)		연구개발 종료 후 5년 이내	
국외논문	SCIE	1	
	비SCIE		
	계	1	
국내논문	SCIE		
	비SCIE		
	계	1	
특허출원	국내	3	
	국외		
	계		
특허등록	국내	1	
	국외		
	계	1	
인력양성	학사		
	석사		
	박사		
	계		
사업화	상품출시	2	
	기술이전		
	공정개발		
제품개발	시제품개발		
비임상시험 실시			
임상시험 실시 (IND 승인)	의약품	1상	
		2상	
		3상	
	의료기기		
진료지침개발			
신의료기술개발			
성과홍보			
포상 및 수상실적			
정성적 성과 주요 내용			

< 별첨 자료 >

중앙행정기관 요구사항	별첨 자료
1.	1) 자체평가의견서
	2) 연구성과 활용계획서
2.	1)
	2)

증빙서류 #1 (고용우수기업 인증서)

증빙서류 #2 (우수기업인 인증서)

증빙서류 #3 (수출유망중소기업지정증)

증빙서류 #4 연구개발 인력현황(2020.05.15.)

증빙서류 #5 연구개발 인력현황(2021.11.22.)

[뒷면지]

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 연구개발사업 유용 농생명자원 산업화 기술개발 연구개발과제 최종보고서이다.
2. 이 연구개발내용을 대외적으로 발표할 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 유용 농생명자원 산업화 기술개발 연구개발사업의 결과임을 밝혀야 한다.
3. 국가과학기술 기밀 유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 안 된다.