(옆면) (앞면)

113043-3

감귤 생분해성 바이오셀룰로오스를 활용한 흡수성치주조직재생유도막 개발

2018

농림축산식품부

기술사업화지원사업 최종보고서

발 간 등 록 번 호
11-1543000-002655-01

감귤 생분해성 바이오셀룰로오스를 활용한 흡수성치주조직재생유도막 개발

최종보고서

2018. 12. 28.

주관연구기관 / 한국원자력연구원

협동연구기관 / 농업회사법인(주)자담

부산대학교 산학협력단

(주)쿠보텍

농 림 축 산 식 품 부

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “감귤 생분해성 바이오셀룰로오스를 활용한 흡수성치주조직재생유도막 개발”(개발기간 : 2013 . 12 . 04 ~ 2018 . 12 . 03)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2018 . 12 . 28 .

주관연구기관명 : 한국원자력연구원 (대표자) 박원필 (인)

협동연구기관명 : 농업회사법인(주)자담 (대표자) 박만용

협동연구기관명 : 부산대학교 산학협력단 (대표자) 윤석영 (인)

협동연구기관명 : (주)쿠보텍 (대표자) 정철웅 (인)

주관연구책임자 : 임윤묵
협동연구책임자 : 박만용
협동연구책임자 : 허중보
협동연구책임자 : 정철웅

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

보고서 요약서

<table>
<tr><td>과제고유번호</td><td>113043-3</td><td>해 당 단 계
연 구 기 간</td><td>2013.12.04.~
2018.12.03</td><td>단 계 구
분</td><td>1/1</td></tr>
<tr><td rowspan="2">연 구 사 업 명</td><td>단 위 사 업</td><td colspan="4">농식품기술개발사업</td></tr>
<tr><td>사 업 명</td><td colspan="4">기술사업화지원사업</td></tr>
<tr><td rowspan="2">연 구 과 제 명</td><td>대 과 제 명</td><td colspan="4">(해당 없음)</td></tr>
<tr><td>세부 과제명</td><td colspan="4">감귤 생분해성 바이오셀룰로오스를 활용한 흡수성치주조직재생유도막 개발</td></tr>
<tr><td rowspan="2">연 구 책 임 자</td><td rowspan="2">임윤묵</td><td>해당단계
참여연구원
수</td><td>총: 16명
내부: 6 명
외부: 10명</td><td>해당단계
연구개발비</td><td>정부: 400,000 천원
민간: 100,000 천원
계: 500,000 천원</td></tr>
<tr><td>총 연구기간
참여연구원
수</td><td>총: 26 명
내부: 8 명
외부: 18 명</td><td>총
연구개발비</td><td>정부: 1,200,000 천원
민간: 334,000 천원
계: 1,534,000 천원</td></tr>
<tr><td>연구기관명 및
소 속 부 서 명</td><td colspan="3">한국원자력연구원/공업환경연구부</td><td colspan="2">참여기업명
농업회사법인(주)자담
부산대학교 산학협력단
(주)쿠보텍</td></tr>
<tr><td>국제공동연구</td><td colspan="3">상대국명:</td><td colspan="2">상대국 연구기관명:</td></tr>
<tr><td>위 탁 연 구</td><td colspan="3">연구기관명:</td><td colspan="2">연구책임자:</td></tr>
</table>

※ 국내외의 기술개발 현황은 연구개발계획서에 기재한 내용으로 갈음

연구개발성과의 보안등급 및 사유	

9대 성과 등록·기탁번호

구분	논문	특허	보고서 원문	연구시설·장비	기술요약 정보	소프트웨어	화합물	생명자원		신품종	
								생명정보	생물자원	정보	실물
등록·기탁번호	8	6									

국가과학기술종합정보시스템에 등록한 연구시설·장비 현황

구입기관	연구시설·장비명	규격 (모델명)	수량	구입연월일	구입가격 (천원)	구입처 (전화)	비고 (설치장소)	NTIS 등록번호

요약

- 박테리아 활용 미세 다공성 나노섬유 바이오셀룰로오스 구조체의 대량 생산 기술을 확보함
- 방사선(감마선, 전자선) 종류와 선량에 따른 바이오셀룰로오스의 생분해성 조절 기술을 확보함
- 방사선 선량에 따른 바이오셀룰로오스의 표면 생체활성화 기술을 확보함
- GMP 기준 생분해성 치주조직재생유도막 제조 및 생물학적 안전성 평가 적합 판정을 취득함
- 전임상/임상 시험을 통한 생분해성 치주조직재생유도막의 안전성 및 유효성 검증을 확보함

보고서 면수

137 쪽

연구의 목적 및 내용	감귤 바이오셀룰로오스의 의료용 대량 배양 공정을 개발하여 이를 대량 생산 시스템 확립 및 설비 기반 구축과 동시에 방사선 기술을 이용하여 바이오셀룰로오스의 생분해성 조절 및 생체적합성 표면처리 공정 시스템 개발하여 전임상 동물 실험 및 임상시험을 통해 성능과 안정성이 검증된 치과용 흡수성치주조직재생유도막 제조기술을 개발하고 이를 실용화함.				
연구개발성과	● 박테리아 활용 미세 다공성 나노섬유 바이오셀룰로오스 구조체의 대량 생산 기술 확보함. ● 방사선(감마선, 전자선) 종류와 선량에 따른 바이오셀룰로오스의 생분해성 조절 기술 확보함. ● 방사선 선량에 따른 바이오셀룰로오스의 표면 생체활성화 기술 확보함. ● GMP 기준 생분해성 치주조직재생유도막 제조 및 생물학적 안전성 평가 적합 판정 취득함. ● 전임상/임상 시험을 통한 생분해성 치주조직재생유도막의 안전성 및 유효성 검증 확보함.				
연구개발성과의 활용계획 (기대효과)	● 방사선 기술을 통해 바이오셀룰로오스의 생분해성 조절과 생체적합성 표면개질 기술은 의료용 원천 소재는 물론 조직 재생용 신소재 개발에 활용할 계획임. ● 또한, 방사선을 이용한 천연물 소재 기반의 생분해성 조절 기술은 대중의 접근성이 용이한 화장품 및 식품 산업 등에 응용될 수 있는 기반 기술로서 활용함. ● 신개념의 기능성 재료 생산 분야의 연구결과를 가속화하기 위해, 본 연구 성과를 적극 활용하여 관련 연구 및 특허 등을 상업화하고 관련기업의 참여를 유도함.				
국문핵심어 (5개 이내)	바이오 셀룰로오스	생분해성	차폐막	생체재료	방사선
영문핵심어 (5개 이내)	Bio-cellulose	Biodegradable	Membrane	Biomaterial	Radiation

※ 국문으로 작성(영문 핵심어 제외)

〈 목 차 〉

1. 연구개발과제의 개요 ····· 6
2. 연구수행 내용 및 결과 ····· 37
3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도 ····· 137
4. 연구결과의 활용 계획 등 ····· 140
붙임. 참고 문헌 ····· 143

<별첨> 주관연구기관의 자체평가의견서

1. 연구개발과제의 개요

1-1. 연구개발 목적

○ 연구 목표

감귤 바이오셀룰로오스의 의료용 대량 배양 공정을 개발하여 이를 대량 생산 시스템 확립 및 설비 기반 구축과 동시에 방사선 기술을 이용하여 바이오셀룰로오스의 생분해성 조절 및 생체적합성 표면처리 공정 시스템 개발하여 전임상 동물 실험 및 임상시험을 통해 성능과 안정성이 검증된 치과용 흡수성치주조직재생유도막 제조기술을 개발하고 이를 실용화함.

○ 개발 대상 기술・제품의 개요

- 본 기술 개발은 감귤을 주원료로 생산된 바이오셀룰로오스를 방사선기술을 활용하여 생분해성 치주조직재생유도막으로 제조 개발하는 것임.
- 이를 위하여 참여 연구 그룹간의 선행 연구를 통해 확보한 의료용 바이오셀룰로오스의 대량 생산 기반 기술을 효율화 및 최적화하고 생분해 처리 기술과 치조골형성 향상과 치은결합조직의 세포유입 차단을 위한 융복합 구조체 개발을 통해 생분해성 생체기능성 치주조직재생유도막의 생체역학적 성능 향상 및 안정성을 확보하는 것임.
- 또한, 전임상 및 임상 시험을 통하여 개발된 바이오셀룰로오스 기반 유도막의 안전성 및 유효성을 검증하고 GMP 설비 구축 및 인허가를 취득하여 수입에 의존하고 있는 흡수성 동물유래(소, 말, 돼지 등) 유도막을 대체하고 국내・ 외 판로를 통한 제품 상용화 추진 및 수입 대체 효과 및 수출로 인한 국내 보건의료산업분야의 활성화에 기여하고자 함.

1-2. 연구개발의 필요성

○ 연구개발의 필요성

- 감귤 폐부산물의 유용 농업자원화에 대한 사회적 요구 급증
- 감귤 바이오셀룰로오스를 단순 식품산업위주에서 **고부가가치 바이오 신소재 개발기술 사업 전환** 필요
- 의료용 동물성 콜라겐 추출물에 대한 의학계의 기피로 **차세대 치과용 차폐막의 천연소재 소스 탐색 및 활용요구 급증**
- 조직공학(재생의학) 기술을 이용한 새로운 생체 신소재 연구개발 활발(경쟁 가속화)
- 단순 화학적 처리에 의한 바이오셀룰로오스의 생분해성을 제고하고 저비용/고효율 방사선기반 바이오셀룰로오스 생분해성 기술개발로 산업화 촉진
- **관련 기반 기술 선점에 따른 국제 경쟁력 강화** 및 기술 수출/수입 대체 효과 기대

○ 개발 대상 기술・제품의 중요성

(1) 개발 대상 기술・제품의 중요성

1) 미생물 발효 바이오셀룰로오스(또는 미생물 셀룰로오스)

◦ 감귤 기반 미생물 발효 바이오셀룰로오스

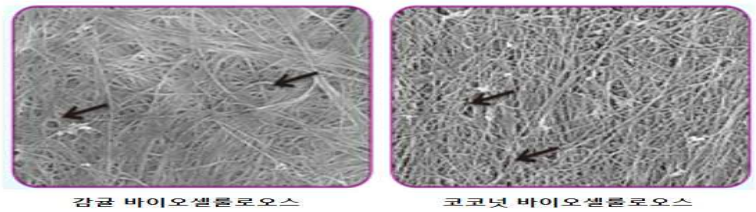
- 매년 과실생산 시 비상품과 및 다양한 형태의 가공 부산물 등이 다량 발생되고 있으나 이용도가 낮고 대부분 폐기되고 있는 실정이므로 이를 이용한 고부가가치 상품 및 대량 소비가 가능한 가공품 개발이 필요함.
- 미생물 발효 바이오셀룰로오스는 hemicellulose, pectin, lignin 그리고 biogenetic product 등을 하뮤하는 식물 셀룰로오스와는 달리 다른 불수물 없이 소량의 에너지와 약품으로 제조할 수 있는 고순도의 셀룰로오스임.
- 미생물 발효 바이오셀룰로오스는 식물 바이오셀룰로오스에 비해 결정화도가 높으며, 섬유 굵기가 약 0.1 미크론 정도의 섬세한 섬유들이 그물 모양으로 엉킨 구조로 되어 있으므로 비표면적이 넓고, 보수율이 높으며, 성형성이 좋고, 인장강도가 우수함.
- 또한 미생물 발효 바이오셀룰로오스는 독성이 낮고 화학적으로 안정하기 때문에 인공혈액용기 및 분리막 등으로 제조하려는 연구가 진행되고 특히 미생물 발효 바이오셀룰로오스는 친환경적인 물질이기 때문에 다양한 분야에 널리 이용될 것으로 기대되고 있음.
- 신소재 창출 연구를 통해 생산된 미생물 발효 바이오셀룰로오스의 의료용 소재로의 다양한 이용방법 개발로 신속한 제품개발 및 산업화 추진 필요
- 뛰어난 흡수성, 친환경적인 특징을 지니는 감귤 미생물 발효 바이오셀룰로오스 기반의 만성 창상 치료효과 입증 및 소재 획득의 경제성을 바탕으로 치과용 흡수성 차폐막 제제로서의 개발을 통한 의료비 절감 목표 달성

◦ 감귤 기반 미생물 발효 바이오셀룰로오스 배양

- 현재 셀룰로오스를 생산하는 균주로는 아세토박터 속(*Acetobacter sp.*), 아그로박테리움 속(*Agrobacterium sp.*), 리조비움 속(*Rhizobium sp.*), 슈도모나스 속(*Pseudonas sp.*) 사르시나(*Sarcina sp.*) 속이 있음, 특히 아세토박터 속(*Acetobacter sp.*) 중에 아세토박터 자이리늄(*Acetobacter xylium*), 아세토박터 파스테우리아누스(*A. pasteurinanus*) 및 아세토박

터 한세니(*A. hansenii*)가 많이 알려져 있음.

- 최근 16S rRNA 염기서열을 이용하여 분자계통분류학적으로 재분류하고 있으며, 순도가 높은 셀룰로스를 생산하는 균주의 특징은 형태학적으로 장간균이고, 내산성력이 강한 세균으로 균체에서 셀룰로오스를 분비하는 것으로 보고되고 있음.
- 종래의 셀룰로오스 생산에서 사용되는 탄소원은 포도당이 가장 대표적이고, 다른 소재로 천연재료 중 감즙 및 감식초, 사과즙, 포도즙, 맥주폐액 및 코코넛 부산물 등이 활용되고 있음. 1997년 7월 감귤류 수입이 전면 개방됨에 따라 제주산 가공용 감귤의 이용률이 2% 이하로 급속히 감소되어 가뭄ㄹ생산과정에서 필연적으로 발생되는 비상품과실(전체 생산량의 10 ~ 15% 내외: 5만톤 이상)의 이용이 매우 어렵게 되어 있음.
- 따라서 이러한 비상품과실을 활용하여 감귤착즙액에서 분리된 신균주의 글루콘아세토박터 속 GEL-SEA623-2균주를 분리하고 분리한 균주를 이용하여 셀룰로오스를 제조하고 있음.
- 감귤 기반 미생물 발효 바이오셀룰로오스는 코코넛 cellulose보다 물리적인 강도가 높으며, 구조적으로 매우 치밀하고 순수한 3차원 망상구조의 미세한 마이크로 피브릴로 구성되어 인장강도가 우수



<감귤 바이오셀룰로오스와 코코넛 바이오셀룰로오스의 표면 분석>

2) 생분해성 치주조직재생유도막(치과용 차폐막)

◦ 초고령화 사회 진입 가속화

- 대한민국 65세 이상 노인인구는 2005년 약 9.1%(약 438만 명)로 2000년에 이미 고령화 사회(7%)에 진입하였고, 2019년 고령사회(14%) 및 2026년 초고령 사회(20%)가 될 것이며 **2050년이면 세계 최고의 고령사회가 될 전망**임.

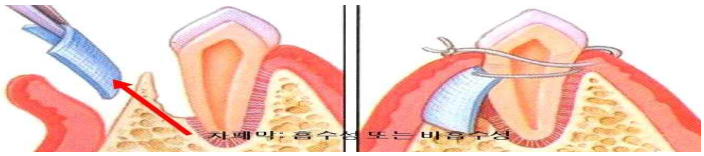
<고령화 사회 진입 속도 및 국가별 고령화 경향>

- 인구 고령화와 더불어 성장해온 치과 의료기기 분야인 치과 임플란트 및 차폐막은 손실된 치아를 복구하는데 효과적인 시술 방식으로서 기존에 실시했던 틀니나 보철방식에서 발생했던 주변 치아 손상의 문제가 발생 하지 않고 탁월한 치료 효과를 보이고 있음.
- 그 중에서 치조골 결손부에 대한 골증대가 필요한 경우, 골이식을 이용한 골유도재생술(Guided bone regeneration, GBR)은 결손된 치조골을 수평적으로나 수직적으로 증대시킬 수 있고, 임플란트 식립 시 발생되는 골열개나 골천공 부위에 차폐막을 이용하여 골을 재

생시킬 수 있음.

◦ 생분해성 치주조직재생유도막으리 활용성 증가

- 치과용 차폐막은 흡수성, 비흡수성으로 나뉠 수 있으며 흡수성 차폐막 중 콜라겐 차폐막(멤브레인)의 사용이 급격히 증가하고 있음.



<치과용 차폐막을 이용한 골유도재생술의 모식도>

- 골유도재생술에 사용되는 흡수성 및 비흡수성 차폐막이 갖추어야 할 조건으로는 인체에 무해하고 조직친화성이 있어야 하며, 치은결합조직의 세포 유입을 차단할 수 있는 세포차단성, 조직유착성, 창상안정성 등이 있어야 하며 골재생에 관여하는 세포가 증식 할 수 있는 재생공간의 확보와 확보된 공간을 유지시킬 수 있는 물리적 성질이 요구됨.
- 비흡수성 차폐막의 경우, 환자의 골치유 기간에 따라 충분한 기간 동안 물리적 강도에 의해 공간 유지가 가능한 티타늄을 많이 사용하지만 시술된 차폐막을 제거하기 위하여 차폐막과 재생된 골을 분리하는 과정이 쉽지 않아 광범위한 2차 수술이 필요함.
- 최근 임상에서 티타늄 차폐막의 사용이 증대되고 있는데 공간유지에 탁월한 효과를 가지고 가격이 저렴하며 생체적합성이 우수하기 때문임. 하지만 창상 안전성, 세포 차단성, 조직유착성 등의 문제로 수술 후 창상이 벌어지는 문제점이 많이 나타나 임상가의 접근이 쉽지 않음.
- 흡수성 차폐막의 경우, 다양한 환자의 상황에 맞게 이식부위에 적합한 크기나 형상의 제작이 용이하며 차폐막 제거를 위한 2차 수술이 필요 없어 많이 사용되고 있는 바이오메쉬(콜라겐) 등이 있지만 체내에서 흡수되는 기간이 한정되어 골재생 기간 동안 동시에 차폐막의 골 재생 유지가 어려운 점과 상피세포의 세포차단성 등과 같은 단점이 있음.

◦ 차세대 융복합형 생분해성 치주조직재생유도막 개발 필요

- 이러한 문제점을 해결하기 위하여 탁월한 세포유입 차단성과 골재생 공간 유지력 및 골재생을 가지는 보강재로 흡수성 복합소재 다중구조 차폐막의 개발을 통하여 시술된 차폐막 제거가 필요 없는 조직친화성, 세포차단성, 조직유착성, 창상안전성이 우수한 생체기능성 차폐막 개발이 필요함.
- 또한, 차폐막 표면에 골격 형성에 관여하는 생체활성인자(bone morphogenetic protein(BMP), Transforming Growth Factor-β(TGF-β))와 세포흡착 단백질(Collagen)을 물리적 및 화학적 방법으로 도입하여 차폐막에 골형성 유도능을 향상시킴.

◦ 해외 유수 기업 및 대학은 콜라겐 차폐막의 단점을 보완하기 위해 집중적 투자가 이루어지고 있으나 국내의 경우 소재개발을 위한 연구투자는 거의 없음.

◦ 현재 전 세계적 골 이식재 시장은 4.5억 달러에 달하고 있으며 앞으로 그 시장은 선형적인 증가를 가져올 것으로 예상됨으로, 골이식재 시장과 더불어 차폐막의 원료개발에 따른 원천 기술의 확보는 추후 거대시장의 외화를 국내로 유입되게 할 수 있는 가장 이상적인 방법임.

1-3. 연구개발 범위

(1) 1 차년도

○ 개발 목표
- ◦ 주관기관 : 한국원자력연구원
- - 방사선을 이용한 바이오셀룰로오스의 생분해성도 조절 및 표면처리 기술 최적화
- ◦ 제 1 협동 : 농업회사법인 (주)자담
- - 치과용 흡수성치주조직재생유도막 바이오셀룰로오스 대량 배양 공정 개발
- ◦ 제 2 협동 : 부산대학교 산학협력단
- - 소형 동물을 이용한 바이오셀룰로오스의 안전성 및 성능평가

○ 주관 기관 : 한국원자력연구원
- ◦ 방사선 기술 이용 바이오셀룰로오스의 생분해성도 및 표면 처리 최적화 조절 연구
- - 방사선 종류(감마선, 전자선)와 선량에 따른 생분해성 조절 평가
- - 방사선 조사 시 담침 용액 종류에 따른 생분해성도 조절 평가
- - 표면 구조 및 물리 화학적 특성 평가
- - 생체 내외의 생분해성 특성 평가
- ◦ 인간 피부 섬유아세포에 대한 생물학적 안전성평가 및 세포 침투율 평가

○ 제 1 협동 : 농업회사법인(주)자담
- ◦ 현재 자사의 감귤 바이오셀룰로오스 제조 기술
- - 균일한 기공 크기와 균일한 물성을 갖는 배양 조건 확립
- ◦ 의료용 소재로 적합한 고품질 감귤 바이오셀룰로오스 배양 기술 확립
- - 대량 생산 공정에 적용할 수 있도록 공정 및 생산 프로세스를 설계
- ◦ 사용 용도에 따라 요구되는 물리적 특성을 부여하여 원료의 가공 및 성형이 용이한 특성을 갖는 배양 조건 확립
- ◦ 기존 콜라겐 차폐막을 대신알 수 있는 차폐막 구조 구현
- ◦ 연계협력을 통한 감귤 바이오셀룰로오스 차폐막의 성능 및 기능 평가
- ◦ 흡수성 치주조직재생 유도막 사업화 기반 구축
- - 의료기기 제조공장(GMP기준) 환경영향평가 및 설계
- - 의료기기 제조공정(GMP기준) 착공
- - Pre Clinical Test(독성시험)실시 후 임상 GMP 인증

◦ 개발내용 및 범위(시스템 구성도)

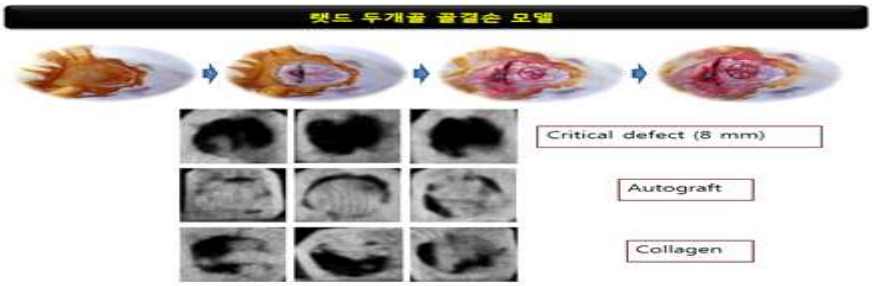
차폐막 제조용 감귤 바이오셀룰로오스 대량 생산 공정 Scale up	→	- 생산 공정 Scale up - 대량배양 생산 구현 - 제품 성능 및 물성에 대한 재현성 확보 - 안전성 검정 및 기능성 검토

→ **차폐막 제조용 바이오셀룰로오스의 대량 생산 공정 확립 (총공정 50%)**

○ 제 2 협동 : 부산대학교 치과대학
- ◦ 랫드 두개골 결손 모델을 이용한 생체안전성 평가

◦ 토끼 두개골 결손 모델을 이용한 생체안전성 평가

- 골결손 동물 모델을 적용하여 차폐막 성능 평가 확립



<랫드 두개골 결손 모델을 이용한 생체안전성 평가>

- 렛드 및 토끼의 두개부에 8 mm trephine bur를 이용하여 원형 결손부를 형성한 후 하이브리드 차폐막을 이식함. 그 후 4주와 8주째에 희생하기 전 랫드에서 이식과 관련하여 발생하는 임상증상이 있는지 관찰함.

◦ 바이오셀룰로오스 차폐막의 동물유효성 평가방법 개발

- 바이오셀룰로오스 차폐막의 소형동물 모델에서 유효성 평가를 위해, 렛드와 토끼를 이용하여 하악 결손 모델을 확립하고, 유효성을 평가함.
- micro CT 분석: 바이오셀룰로오스 차폐막 이식뒤 8주 후에 각 실험군과 대조군의 동물을 micro CT를 촬영하고, 3차원 영상을 확보하여 골질 및 골밀도를 분석함.
- 조직학적 분석: 바이오셀룰로오스 차폐막 이식 뒤 8주 후에 microCT 촬영을 마친 후에, 실험군과 대조군의 동물들을 희생하고, 이식한 부분의 조직을 절개한 후, 조직검사를 통하여 골성장, 골밀도 등을 평가 분석함.

◦ 바이오셀룰로오스 차폐막 개발과 관련하여 동물실험을 통한 유효성 평가는 반드시 이루어 져야함.

◦ 기존에 동물 유효성 및 성능 평가에 관한 국제 규격

- ISO/TS 22911:2005 Dentistry-Preclinical evaluation of dental implant systems-Animal test methods

◦ 골내이식시험

- 가토 두개골 결손 모델에서의 코팅된 생체활성물질의 골내 이식 평가(4, 8주): 계획
- 가토 두개골 결손모델에서 코팅할 선정물질을 이식하고 12주째 희생시켜 이식주위의 이상병변 여부를 관차랗고 실험기간동안 rat의 이상행동, 체온변화 등을 관찰

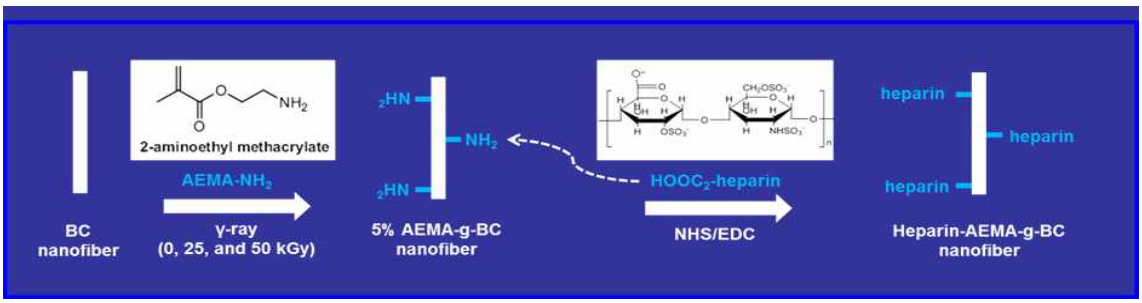
◦ 바이오셀룰로오스 차폐막 골내 식립 평가

- 비글견, 미니피그 등을 이용한 동물모델 개발
- 기존에 본 연구자가 시행하였던 모델들 적용, 추가적인 결손모델 도출
- 희생 및 조직시편 제작/측정/분석 방법 개발: 식립 후 9주째 희생시켜 이식 주위의 이상병변 여부를 관찰하고 실험기간동안 미니돼지의 이상행동, 체온변화 등을 관찰

(2) 2차 년도

○ 개발 목표
◦ 주관기관 : 한국원자력연구원
- 방사선을 이용한 바이오셀룰로오스의 생분해성도 조절 및 표면처리 기술
◦ 제 1 협동 : 농업회사법인 (주)자담
- 치과용 바이오셀룰로오스 대량 배양 공정 체계 확립 및 임상시험용 시제품 제작
◦ 제 2 협동 : 부산대학교 산학협력단
- 대형 동물을 이용한 바이오셀룰로오스의 성능평가 및 임상시험 준비 및 승인
◦ 제 3 협동 : (주)쿠보텍
- 흡수성치주조직재생유도막 대량 생산 체계 구축 및 사업화 기반 구축

○ 주관기관 : 한국원자력연구원
◦ 방사선 기술 이용 바이오셀룰로오스의 생분해성도 및 표면 처리 조절 시스템 구축
- 방사선 종류(감마선, 전자선)와 선량에 따른 일정한 생분해성 조절 공정 구축
- 방사선 조사 시 담침 용액 종류에 따른 일정한 생분해성도 조절 평가
- 표면 구조 및 물리 화학적 특성 평가
- 생체 내외의 생분해성 특성 평가
- 바이오셀룰로오스의 기술가치 평가
◦ 방사선 이용 바이오셀룰로오스의 표면 처리 공정 시스템 구축
- 방사선 기술을 이용한 표면 활성화 처리 기술 개발
- 표면 구조 및 물리 화학적 특성 평가
- 생체 내외의 생분해성 특성 평가



○ 제 1 협동 : 농업회사법인(주)자담
◦ 치과용 바이오셀룰로오스 배양공정 Scale up (대량 생산 배양 공정 개발)
- 기존 실험실 인큐베이터에서 생산하는 바이오셀룰로오스의 배양 조건을 대량 생산이 가능한 공장 배양실에서 생산 배양 배지 온도 조건 동일
◦ 치과용 바이오셀룰로오스의 공극 크기 및 두께 조절 배양 공정 개발
- 차0폐막 기능성(분해능 조절) 부여를 위한 공극 크기 및 두께를 제어할 수 있는 배양 공정 개발
◦ 의료용 소재로 적합한 고품질 감귤 바이오셀룰로오스 배양 기술을 확립하고 이를 대량 생산 공정에 적용할 수 있도록 공정 및 생산 프로세스 체계화
- 바이오셀룰로오스 대량 생산 scale up 완료 후 GMP 생산 수준의 생산 프로세스 체계화 및 효율적 공정 개선

◦ 사용 용도에 따라 요구되는 물리적 특성을 부여하여 원료의 가공 및 성형이 용이한 특성을 갖는 배양 조건 확립

- 흡수성치주조직재생유도막 완제품 생산 시 제품의 가공이 용이한 형태의 바이오셀룰로오스 생산을 위해 원료 형태의 바이오셀룰로오스 size 조절

◦ 실험실 scale에서 제조된 셀룰로오스 배양 공정을 대량 생산 설비에서 구현 재현성 확보

- 바이오셀룰로오스 대량 생산 scale up 후 반복 생산을 실시하여 물성 특성 및 물리화학적 특성을 평가하여 균일한 제품 생산에 대한 재현성 확보

◦ 개발내용 및 범위(시스템 구성도)

1.배양액제조

2.충진

3.배양

4.세척

바이오셀룰로오스 대량생산 체계확립	→	- 바이오셀룰로오스 대량생산 배양 공정 확립 - 대량 배양 설비 구축 - 원료 안정성 확보 Q·C 체계 확립	→	**차폐막 제조용 바이오셀룰로오스의 대량 생산 공정 확립 (총공정 100%)**

◦ 대량 생산 시스템에서 생산된 바이오셀룰로오스 (주)쿠보텍 공급

- 바이오셀룰로오스 대량 생산 후 미생물검사 및 이물질 검사 등 품질관리 절차를 거쳐 최종 전자선 조사(생분해 조절) 전 차폐막 원재료 형태의 바이오셀룰로오스를 (주)쿠보텍에 공급하여 (주)쿠보텍의 GMP 시설하에서 차폐막 완제품 제조

○ 제 2 협동 : 부산대학교 치과대학

◦ 바이오셀룰로오스 차폐막의 중형 동물 전임상 시험 평가

- 개 치조골 결손 모델을 이용한 생체안전성 평가 : 개의 치조골에 3-wall, 4-wall defect를 만들고 골이식재 이식 후 개발된 차폐막을 적용하여 골과 연조직의 차단 역할을 평가하고 생체 안정성을 검증함.

- 개 치아주위 골결손 모델을 이용한 생체안전성 평가 : 차폐막은 치주과적 영역에서 많이 사용됨으로 인위적으로 치아주위에 골 결손부를 만들고 차폐막을 적용해봄으로써 그 성능을 평가할 수 있음.

◦ 생분해성 바이오셀룰로오스 차폐막의 임상시험 계획서 개발

- 시술이 간편하면서도 유효성 변수를 설정하기 쉬운 모델을 적용할 예정
- 발치와 보존술을 이용한 골 증대 및 골 형성 양상을 같은 골이식재(합설골)를 이용하고 바이오셀룰로오스치주재생유도막과 기존의 동물유래 흡수성 콜라겐 멤브레인을 각각 실험군과 대조군으로 선정하여 무작위 시술을 하고 최종적으로 CT를 이용하여 발치와 보존술을 통해 두 군사이의 골 증대 및 골형성량을 평가하고자 함

- 차후 식약처오 임상시험 승인을 위한 협의 시 구체적 모델 및 방법 등이 변경될 수 있음 : 식약처에서 허가해 준다면 차폐막을 적용한 발치와 보존술 시행 후 임플란트 식립을 계획한 환자에 한해 임플란트 식립 시 이식부위의 조직시편을 채득하여 직접적인 비교도 가능 (최근 일부 회사에서 환자의 조직을 채취하여 비교 평가하는 방법이 식야처 허가를 득함)

- 임상시험용 의료기기의 사용목적 (대상질환 또는 적응증)

▸ 대상 질환 : 만성치주염이나 치아파절 등의 원인으로 치아 발거 및 치조골이 결손된 환자를 대상으로 하여 치주재생유도막을 적용하여 골재생 효과 및 치조골 보존 효과를 평가하고자 함.

▸ 피험자의 선정기준· 제외기준· 인원 및 근거

• 선정기준

① 상· 하악 소구치 및 대구치 발치를 해야 하는 성인 (35세~65세) 환자 : 기존에 상품화되어 있는 TCP/HA 합성골을 이용하여 발치창에 골이식을 시행, 대조군은 기존의 동물유래 콜라겐 유도막, 실험군은 본 과제에서 개발된 바이오셀룰로오스 유도막을 적용

② 국소적으로 치조골이 수직적으로 2/1 이하로 흡수된 경우

③ 골이식재 치료에 대한 환자의 동기 부여가 확실한 사람

④ 임상시험 참여에 동의하며 피험자 동의서에 서명한 자

• 제외기준

① 국소적으로 치조골이 수직적으로 1/2 이상 흡수된 경우 같은 심각한 치주염이 있는 사람

② 임산부 또는 시험기간 및 시험 후 1년 동안 임신할 계획이 있는 여성 및 노약자

③ 최근 심근 경색 발작 병력이 있거나 조절되지 않는 출혈성 질환을 가진 사람 혹은 소수술을 할 수 없는 질환을 가진 사람

④ 정신질환 혹은 정신질환이 의심되는 사람

⑤ 골이식재 재료에 과민 반응이 있는 사람

⑥ 기타 윤리적으로 또는 임상시험 결과에 영향을 줄 수 있어 임상시험 책임자가 판단 할 때 임상시험의 참여가 부적절한 사람

◦ 목표 피험자의 수 및 산출 근거

▸ 목표 피험자 수 (증례수)

	시험군	대조군	전체피험자수
무작위배정례수§	42	42	84
우위성검정례수	36	36	72

§: 탈락율 10% 고려

• 본 시험에서는 84명에 대하여 무작위 배정 및 시술을 하고 최소 군당 36명 이상의 시험군과 대조군의 증례를 확보하여 골재생효과의 우월성 평가를 실시할 예정

• 한 증례와 연속되지 않는 발치와는 다른 증례로 분류할 수 있음.

▸ 설정근거 : 본 시험은 감귤 바이오셀룰로오스 치주재생 유도막과 기존 동물유래 콜라겐 밈브레인의 안전성과 골재생 효과를 CT를 이용하여 치조골 높이변화를 측정하여 군간 비교를 하여 실험군의 대조군 대비 우월함 또는 비열등함을 증명하고자 함.

* 아래와 같은 기준으로 표본수를 결정
▷통계적 유의 수준: 0.05(~신뢰수준95%)
▷오차한계: 10% (β=0.10, 검정력 90%)
▷대조군의 크기와 시험군의 크기는 동일하게 함

▶ 무작위 배정 : 각각의 환자(증례)가 어느 군에 속하는지를 임의로 정하지 않고 알 수 없도록 눈가림법을 사용하도록 함. 또한 수술하는 임상의도 알 수 없도록 이중 맹검법을 사용함.

▷무작위 배정표 생성: 피험자는 피험자 선정기준에 적합 시 무작위 배정 프로그램에서 제공하는 할당코드에 의해 가군(시험군) 또는 나군(대조군)으로 배정. 무작위 배정표는 SAS system 이나 여타 통계 프로그램의 randomization program으로 발생된 난수의 순열을 피험자 번호 1번부터 순차적으로 적용시킨 표임. 무작위배정표는 각 시험기관별로 별도로 준비하며 시험군, 대조군 간 비율이 1:1로 배정될 수 있도록 함(예: 1번=가, 2번=나).

▷무작위 배정방법: 임상시험용 의료기기 제조자((주)쿠보텍)는 임상시험용 의료기기의 포장 및 라벨링 시에 무작위 배정표에 따라 시험군 의료기기, 대조군 의료기기를 적절하게 배정, 포장하고 해당 배정번호를 라벨링하여야 함. 연구자는 피험자 선정/제외기준에 적합한 피험자에 대해 임상시험에 참여하는 순서대로 피험자 배정번호가 라벨링된 약제를 피험자에게 공급함으로써 무작위 배정이 이루어짐.

▶ 임상시험기간

● 피험자 모집기간(예정): 4개월

- 최근 6개월간의 부산대학교 치과 병원 내원 환자 중 발치 치료를 받은 환자수의 월별 평균은 약 500명, 그 중 10%이상은 임상시험에 참여하리라 기대하여 모집기간을 2개월로 예정함.

● 유효성 관찰기간: 치주조직재생 유도막 이식 후 3개월

- 피험자가 참여하는 대로 이식수술을 시행하며 모집기간과 시험관찰기간은 중복될 수 있음.

● 자료정리 및 결과보고서 작성기간: CT 판독 및 통계분석기간을 고려하여 4개월로 예정

위의 기간을 합하여 임상시험기간은 식약처의 임상시험 승인 후 11개월로 예정함.

▶ 한국식품의약품안전청에 임상시험계획 승인

- 임상시험 계획승인 신청
- 접수부서 및 처리기간

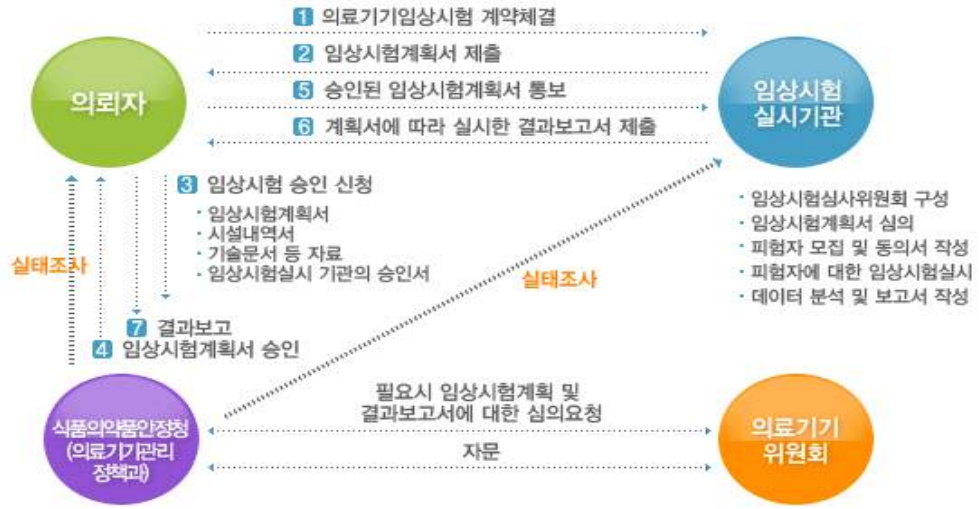
(1) 접수부서: 식품의약품 안전청 종합민원실 및 KFDA 전자민원 창구
(2) 처리기간: 30일 (수수료 없음)

▶ 임상시험을 승인 받기위해 아래 요건을 확림

- 기술문서 작성 및 생물학적 안전성 시험

▶ 임상시험계획서에 포함되어야 할 사항(의료기기법시행규칙 제12조 제2항)

- 임상시험의 명칭
- 임상시험실시관의 명칭 및 소재지



< 의료기기 임상시험 시행 절차>

- 임상시험의 책임자·담당자 및 공동연구자의 성명 및 직명
- 임상시험용 의료기기를 관리하는 관리자의 성명 및 직명
- 임상시험의뢰자의 성명 및 주소
- 임상시험의 목적 및 배경
- 임상시험용 의료기기의 사용목적(대상질환 또는 적응증을 포함)
- 피험자의 선정기준·제외기준·인원 및 그 근거
- 임상시험기간
- 임상시험방법(사용량·사용방법·사용기간·병용요법 등)
- 관찰항목·임상검사항목 및 관찰검사방법
- 예측되는 부작용 및 사용 시 주의사항
- 중지·탈락기준
- 성능의 평가기준
- 평가방법 및 해석방법(통계분석방법에 의함)을 갖추어 준비
- 부작용을 포함한 안전성의 평가기준·평가방법 및 보고방법
- 피험자동의서 서식
- 피해자 보상에 대한 규약
- 임상시험 후 피험자의 진료에 관한 사항
- 피험자의 안전보호에 관한 대책
- 그 밖에 임상시험을 안전하고 과학적으로 실시하기 위하여 필요한 사항

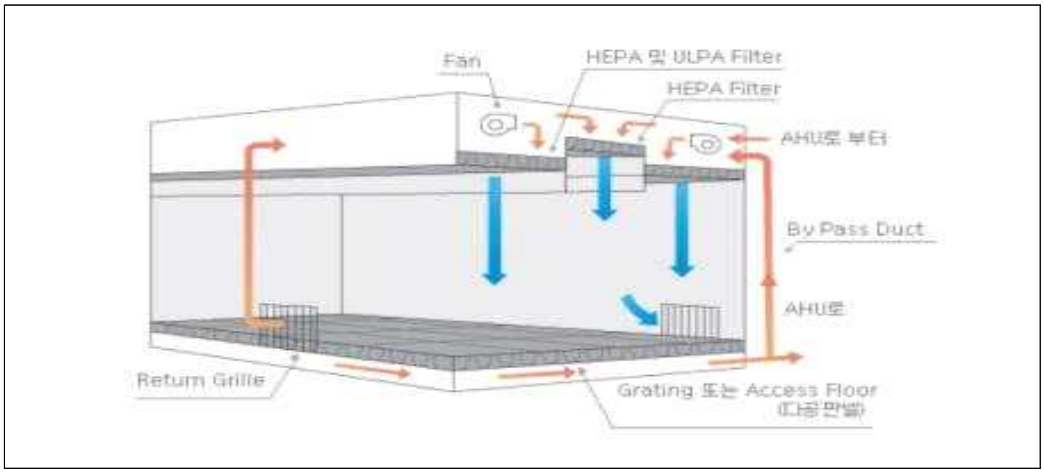
▸ 의료기기 임상시험 지정기관 의료기기임상시험센터에 임상시험계획 승인
- 부산대학교 치과병원은 자체 의료기기임상시험센터가 설립되어 있으며 본 용역연구 책임자는 IRB 위원으로 활동중임으로 필요한 서류 및 절차에 효율성을 극대화 할 수 있음

○ 제 3 협동 : (주)쿠보텍

◦ 임상GMP 인증을 위한 장비 및 설비 구축

- 현재 의료기기 4등급에 해당하는 GMP 및 설비 기준이 미비하여 3차년도에 실시할 임상 시험 승인을 위해 임상 GMP 인증
- 의료기기 4등급 임상 GMP 인증 기준에 만족하는 설비 및 장비 구축

▪ 설비 구축: 공조시설(클린룸) class: 100

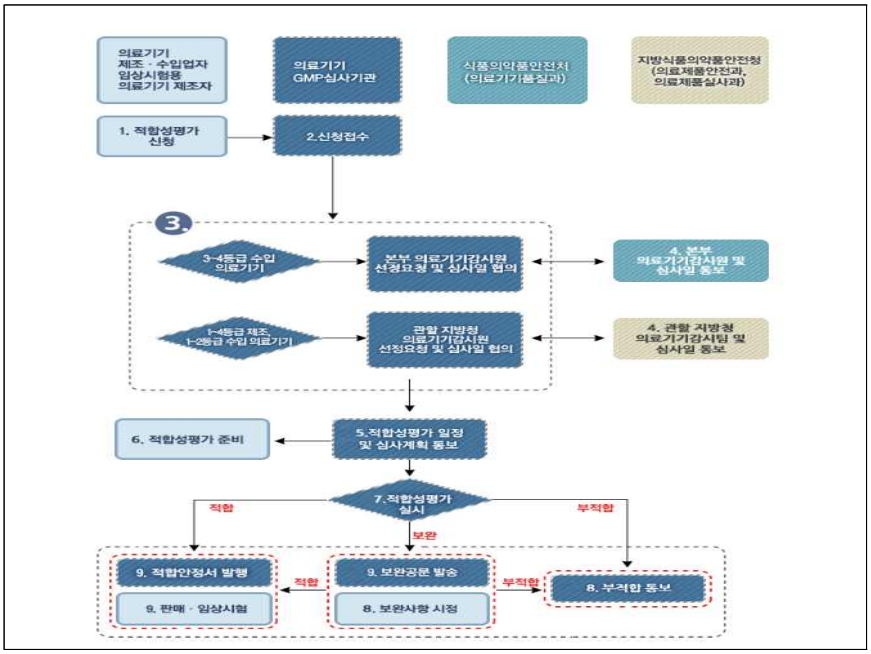


▪ 장비 구축: 초저온 냉동고, 동결건조기, 압축 성형기, 제품 포장기등

동결건조기	유압프레스
초저온 냉동고(Deep Freezer) -80℃	

◦ 임상 GMP 인증

- 임상시험 실시 전 인증



◦ 기술 문서 작성

- 의료기기 국제표준화기술문서(STED) 작성

신청내용 등	심사의뢰서
	기 허가제품과 비교한 자료
국제표준화기술문서	목차
	기기설명 및 제품사양
	표시기재(안)
	설계와 제조정보
	필수원칙 체크리스트
	위험분석과 관리요약
	제품검증 및 유효성확인 요약
첨부자료	목차
	제조공정에 관한 자료
	위험분석 보고서
	제품검증 및 유효성 확인 자료
	참고문헌

◦ 임상시험용 시제품 제작

- 임상 GMP 인증 후 시제품 제작
- (주)자담에서 생산된 바이오셀룰로오스를 전자선 조사를 통해 생분해 조절
- 임상시험 시 사용될 수량 제조(약 1만장)

시제품 제작 형태

제품 제조 프로세싱

(3) 3차년도

○ 개발 목표
- ◦ 주관기관 : 한국원자력연구원
- 방사선을 이용한 바이오셀룰로오스의 생분해성도 조절 시스템 확립
- ◦ 제 1 협동 : 농업회사법인(주)자담
- 치과용 바이오셀룰로오스 대량 배양 공정 체계 확립
- ◦ 제 2 협동 : 부산대학교 산학협력단
- 대형 동물을 이용한 바이오셀룰로오스의 성능평가 후 임상시험 승인 및 진행
- ◦ 제 3 협동 : (주)쿠보텍
- 흡수성치주조직재생유도막 대량 생산 체계 구축 및 사업화 기반 구축

○ 주관기관 : 한국원자력연구원
- ◦ 방사선 기술 이용 바이오셀룰로오스의 생분해성도 및 표면 처리 조절 시스템 확립
- 생물학적 안전성 시험 평가 실시 (시험기관 선정 완료: 한국산업기술시험원)

○ 제 1 협동 : 농업회사법인(주)자담
- ◦ 치과용 바이오셀룰로오스 배양공정 Scale up (대량 생산 배양 공정 개발)
- 기존 실험실 인큐베이터에서 생산하는 바이오셀룰로오스의 배양 조건을 대량 생산이 가능한 공장 배양실에서 생산 배양 배지 및 온도 조건 동일
- ◦ 치과용 바이오셀룰로오스의 공극 크기 및 두께 조절 배양 공정 개발
- 차폐막 기능성(분해능 조절) 부여를 위한 공극 크기 및 두께를 제어할 수 있는 배양 공정 개발
- ◦ 의료용 소재로 적합한 고품질 감귤 바이오셀룰로오스 배양 기술을 확립하고 이를 대량 생산공정에 적용할 수 있도록 공정 및 생산 프로세스 체계화
- 바이오셀룰로오스 대량 생산 scale up 완료 후 GMP 생산 수준의 생산 프로세스 체계화 및 효율적 공정 개선
- ◦ 사용 용도에 따라 요구되는 물리적 특성을 부여하여 원료의 가공 및 성형이 용이한 특성을 갖는 배양 조건 확립
- 흡수성치주조직재생 유도막 완제품 생산 시 제품의 가공이 용이한 형태의 바이오셀룰로오스 생산을 위해 원료 형태의 바이오셀룰로오스 size 조절
- ◦ 실험실 scale에서 제조된 셀룰로오스 배양 공정을 대량 생산 설비에서 구현 재현성 확보
- 바이오셀룰로오스 대량 생산 scale up 후 반복적인 생산을 실시하여 물성 특성 및 물리화학적 특성을 평가하여 균일한 제품 생산에 대한 재현성 확보

○ 개발내용 및 범위*(시스템 구성도)*

1.배양액제조

2.충진

3.배양

4.세척

- 원재료인 감귤 셀룰로오스의 생산 재현성 확보를 위해 (주)자담의 배양실 환경(항온, 항습) 설비 보완을 실시하여 bach 별 생산 평가를 재실시할 계획이며, 대량 배양을 통한 미생물의 생리활성 커트롤이 여의치 않을 경우 인큐베이터에서 소량 다배양을 실시함으로써 생산량 보다는 재현성에 포커싱하여 원료 재현성을 확보할 계획임

◦ 3년차 1/4분기까지는 (주)자담의 배양실 환경(항온, 항습) 설비 보완을 실시하여 원재료인 감귤 셀룰로오스의 표준화된 생산 공정을 확립하며, 한국원자력연구원에서는 방사선 이온화에너지를 활용하여 균일화된 생분해도 조절 기술을 확립하고 (주)쿠보텍에서는 GMP 시설에서의 완제품 생산에 필요한 시설 및 생산 장비 구축을 통해 대량 생산을 확립함.

바이오셀룰로오스 품질 관리 및 차폐막 제조 공정 개발

공정사진	공정도	기간	공정내용
	배합-배양	6일	• 착즙액배지 • ST 균주 • 7~8 mm배양
	수확-세척	1일	• 탈색작업 (이산화염소) • 열수세척 • 증류수세척
	포장	1일	• 포장작업후 테토로트멸균 박스포장 작업 후 발송
	1차방사선조사(GEV)	4~5일 -발송1일 -방사선조사1일 -수신1일	• 200~300 kGy 방사선조사
	세척-메쉬압착-냉동	1일	• 방사선조사한 셀룰로오스확인 후 세척작업 • 스텐메쉬를 이용 압착 후 급속 냉동 작업 (12시간)
	동결건조	1일	• 24~48시간 건조상태 및 제품양에 따라 건조 시간 결정
	압착-성형	1~2일	• 압착 후 1.5cm×2.0cm 크기로 성형
	포장	1일~2일	• 벌크포장 or 1차, 2차, 3차 포장 (내방사선 및 열변이 낮은 포장지 사용)
	2차방사선조사(GEV)	4~5일 -발송1일 -방사선조사1일 -수신1일	• 2차방사선 조사 - 멸균
	제품	20~24일 소요	• 최종 제품까지 20~24일 소요됨

○ 개발내용 및 범위*(시스템 구성도)*

바이오셀룰로오스 대량생산 체계확립	→	- 바이오셀룰로오스 대량생산 배양 공정 확립 - 대량 배양 설비 구축 - 원료 안정성 확보 Q·C 체계 확립	→ **차폐막 제조용 바이오셀룰로오스의 대량 생산 공정 확립 (총공정 100%)**

◦ 대량생산 시스템에서 생산된 바이오셀룰로오스 (주)쿠보텍 공급

- 바이오셀룰로오스 대량 생산 후 미생물검사 및 이물질 검사 등 품질관리 절차를 거쳐 최종 전자선 조사(생분해 조절) 전 차폐막 원재료 형태의 바이오셀룰로오스를 (주)쿠보

텍에 공급하여 (주)쿠보텍의 GMP 시설하에서 차폐막 완제품 제조

○ 제 2 협동 : 부산대학교 산학협력단

◦ 바이오셀룰로오스 차폐막의 대형 동물 전임상 시험 평가(보완 연구 시행)

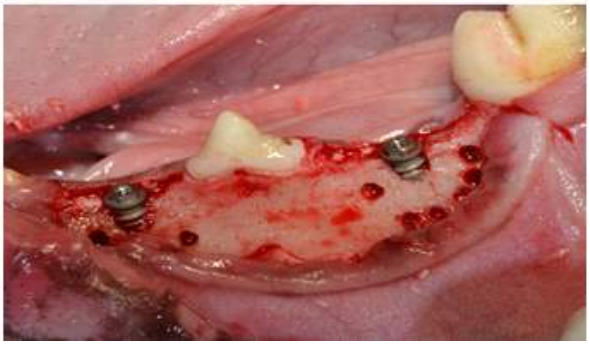
- 대동물의 하악 치조골 결손 모델을 이용한 바이오셀룰로오스의 두께에 따른 평가: 비글견의하악 치조골에 임플란트 식립 후 협측골에 인위적인 defect를 형성하고 골이식재 이식 후 개발된 차폐막을 콜라겐 차폐막보다는 높은 습윤인장강도를 유지할 수 있는 범위 내에서 두께를 달리하여 적용 300 um, 400 um, 500 um의 두께로 각각 적용하여, 조직액 흡수로 인한 부종현상의 정도를 비교, 신생골의 형성과 연조직의 차단 역할을 평가하고 생체 안정성을 검증함

- 대형동물에서의 바이오셀룰로오스 차폐막과 콜라겐 차폐막의 비교평가: 실제임상과 유사한 상황을 재현하기 위해 비글견의 하악 치조골에 임플란트 식립 후 협측골에 인위적인 defect를 형성하고 골이식재 이식 후, 전단계 실험에서 우수한 결과를 나타낸 두께의 바이오셀룰로오스 차폐막과 임상에 주로 사용되고 있는 흡수성 차폐막인 콜라

겐 차폐막을 적용하여 바이오셀룰로오스의 임상 적용 가능성을 평가할 수 있음.

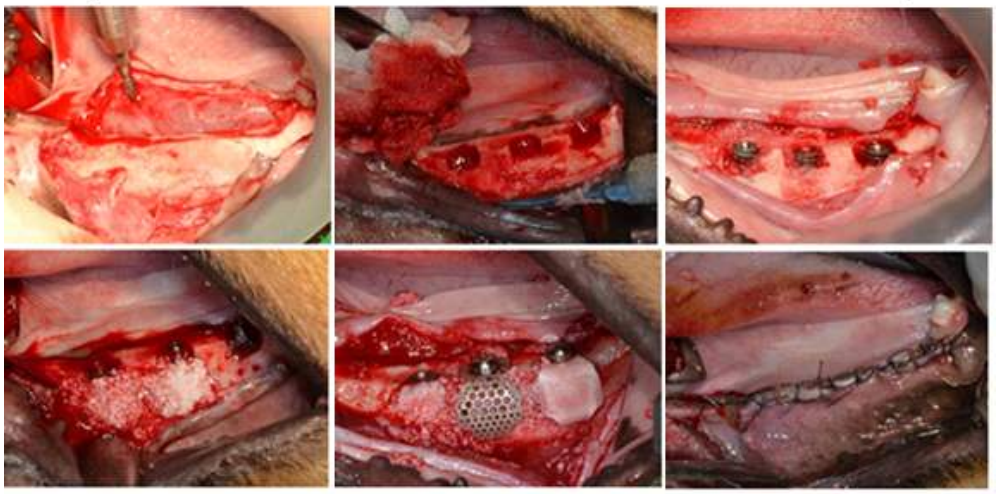
임상에서 골유도 재생술이 필요한 협측골 결손부의 모식도

인체모방 대형 동물 결손 모델

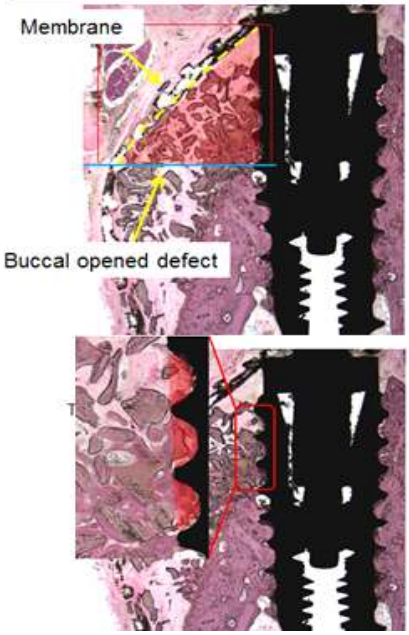


- 바이오셀룰로오스와 흡수성 차폐막, 비흡수성 차폐막의 비교평가: 바이오셀룰로오스 차폐막을 평가하기 위해 임상에서 주로 사용되고 있는 흡수성 차폐막인 콜라겐 차폐막과 비흡수성 차폐막인 티타늄 차폐막을 인체모방 대형 동물 결손부 모델에 적용하여 실험함으로써 바이오셀룰로오스의 임상 적용 가능성을 평가할 수 있음. 비글견의 하악 치조골에 임플란트 식립 후 협측골에 임상상황과 유사하게 협측 부위에 인위적인 defect를 형성하고 골이식재 이식 후, 바이오셀룰로오스 차폐막, 콜라겐 차폐막, 티타늄 차폐막을 각각 적용. 8주 후 희생하여 조직시편제작 및 조직계측학적 분석을 시행. 신생골의 형성고 ㅏ연조직의 차단 역할을 평가하고 생체 안정성을 검증함.

인체모방 대형 동물실험 Surgical procedures



대동물의 신생골의 형성과 성공적인 골유착 평가방법



• New bone area (NB)

$$\frac{\text{area occupied by new bone}}{\text{total area surrounded by membrane, implant and buccal opened defect}} \times 100(\%)$$

• Bone-to implant contact(BIC)

$$\frac{\text{length of the contact with new bone}}{\text{total length of three upper threads}} \times 100(\%)$$

• Intra-thread bone density(ITBD)

$$\frac{\text{area occupied by new bone}}{\text{total area between three upper threads}} \times 100(\%)$$

◦ 임상시험 식약처 허가 및 임상시험 진행

< 임상시험계획서 요약 >

제목	치과용 임플란트 식립부 골결손 환자의 골유도재생술에 사용되는 셀룰로스 치주조직재생유도재를 콜라겐 멤브레인과 비교하여 임플란트 주위 골재생에 대한 안전성과 유효성을 평가하기 위한 전향적, 대조, 대상자 단일눈가림, 무작위 배정, 다기관 임상시험
목적	본 임상시험은 치과용 임플란트 식립 후 골결손이 발생한 환자의 골유도재생술 시 사용되는 셀룰로스 치주조직재생유도재의 안전성과 유효성을 기존에 표준요법으로 사용하고 있는 콜라겐 멤브레인과 비교·평가하기 위한 목적으로 설계되었다.
연구기관/시험책임자	부산대학교치과병원/허중보 교수
의료기기 관리자	부산대학교치과병원/
의뢰자	부산대학교산학협력단
모니터	
대상피험자	임플란트 식립부 골결손 환자
대상자 수	임상시험대상자 수: 총 76명 (마진을 7%로 가정하고 중도탈락율 10% 가정할 때, 군 당 38명)

<table>
<tr><td></td><td>
<table>
<tr><th>참고 논문</th><th>Collagen membrane(대조기기)의
신생골 재생율(%)</th></tr>
<tr><td>Jung et al. Clin. Oral Impl. Res. 20, 2009</td><td>96.4 ± 10</td></tr>
<tr><td>Jung et al. Clin. Oral Impl. Res. 14, 2003</td><td>91 ± 15.1</td></tr>
<tr><td>Ha¨mmerle Clin. Oral Impl. Res. 12, 2001</td><td>86 ± 33</td></tr>
<tr><td>Zitzmann et al. Int Jof Oral & Maxillofacial Impl. 1997</td><td>92 ± NA</td></tr>
</table>

if) 비열등성 마진 = 5 (%)à 각 군당 64명
= 7 (%) à 각 군당 34명
= 10 (%) à 각 군당 17명
</td></tr>
<tr><td>임상
시험기기</td><td>■ 시험기기: 셀룰로스 치주조직재생유도재[제품명]
■ 대조기기: 콜라겐 멤브레인</td></tr>
<tr><td>시험설계</td><td>본 임상시험은 임플란트 식립부 골결손 환자를 대상으로 한 골유도재생술에서 셀룰로스 치주조직재생유도재의 안전성과 유효성을 콜라겐 멤브레인과 대조하여 평가하기 위한 전향적, 대조, 대상자 단일눈가림, 무작위 배정, 다기관 임상시험으로 국내 1개 기관에서 76명의 대상자에 대해 실시할 예정이다.</td></tr>
<tr><td>시험방법</td><td>1. 1개 이상의 치과용 임플란트 식립이 필요한 환자 중 임플란트 식립부 골결손이 발생할 것으로 예측되는 환자는 본 임상시험에 의뢰될 것이다.
2. 자발적으로 동의서에 서명하고 스크리닝을 통해 모든 선정/제외기준을 만족한 환자는 시술일정을 예약한다. 단, 선정기준 중 임플란트 초기고정 및 골결손 발생 여부(선정기준 4항과 5항)에 대한 평가는 임플란트 시술 당일 실시될 것이다.
3. 시술일에 기관의 표준절차에 따라 임플란트 식립을 한 직후, 초기고정 및 치주낭측정기 (Periodontal probe)를 이용한 골결손부 크기 측정 평가를 실시한다.
4. 초기고정에 성공하고 골결손부 높이가 3 mm 이상인 임상시험대상자에 한하여 대상자 등록번호가 부여되고 무작위 배정된다.
☞ 초기고정에 실패 또는 골결손부 높이가 3 mm 미만으로 스크리닝 탈락한 환자는 적절한 대체치료가 제공될 것이다.
5. 등록된 대상자는 무작위 배정된 시험기기 또는 대조기기를 이용한 골유도재생술을 실시한다.
6. 시술이 종료되면 임상시험대상자에게 시술 후 주의사항 및 구강관리법을 교육하고 기관의 표준절차에 따라 항생제 및 진통제 그리고 0.2% Chlorhexidine solution (치은연상치태 조절용, 하루 2회 적용)을 처방한다.</td></tr>
</table>

	7. 임상시험대상자는 시술 후 1, 3, 6개월 시점에 내원하여 안전성 평가 및 구강검진을 받고 필요에 따라 일반적인 치과치료를 받을 수 있다. 8. 시술 후 6개월 시점에 안전성 및 유효성 평가와 함께 골유도재생술에 대한 시술 평가 및 Cover screw를 치유지대주로 교환하기 위한 2차 시술(re-entry)을 실시한다. 2차 시술 시, 점막성골막피판(Mucoperiosteal flap)을 제거 후, 시술일과 동일한 방법으로 골결손부 크기를 측정한다. ☞ 골이식부가 완전히 신생골로 채워지지 않았을 경우 2차 골유도재생술 또는 적절한 대체치료를 받을 수 있다. 9. 추적관찰평가는 시술 후 6개월 시점에 마치고, 이상사례가 발생하지 않았거나 이미 발생한 이상사례가 모두 해소되었다면 임상시험을 종료한다.
임상시험 기간	식품의약품안전처 및 IRB 로부터 임상시험계획승인을 득한 후 피험자모집기간 6개월과 스크리닝 및 추적관찰 기간 6개월을 포함하여 약 12개월이 소요될 것으로 예상하며, 임상시험이 종료 된 후에도 데이터처리, 통계분석, 결과보고서 작성 및 IRB승인을 위해 약 2개월이 추가로 소요될 것으로 예상됨.
선정기준	다음의 선정기준을 모두 만족해야 본 임상시험에 등록될 수 있다. 1. 만 19세 이상의 성인 2. 하악골(mandible) 또는 상악골(maxilla)에 1개 이상의 치아가 상실되어 치과용 임플란트 식립이 필요한 자 3. 임상시험 실기기관에서 발치를 시행한 자 또는 예정된 시술일로 부터 최소 6주 전에 치아를 상실 또는 발치한 자 4. 식립된 임플란트의 초기고정이 성공적으로 이루어진 경우 5. 임플란트 식립부 결손 높이가 3 mm 이상인 경우 6. 전악치주낭탐침지수 (Full Mouth Bleeding on Probing (FMBoP) 및 전악치태지수 (Full Mouth Plaque Index (FMPI)가 모두 25% 이하인 경우 7. 가임 여성의 경우, 임상시험 참여기간(시술 후 6개월 이상) 동안 피임할 것에 동의한 경우 8. 임상시험 참여에 자발적으로 동의하고 시험계획서를 준수할 의지가 있는 자
제외기준	다음의 제외기준에 해당되면 임상시험에 등록될 수 없다. 1. 하루 흡연량이 20 개피를 초과하는 자 2. 제1형 당뇨병(인슐린 의존 당뇨병) 환자 3. 현재 치과치료 및 수술 치료에 대한 일반적인 사용금지사유(General contraindications)가 있는 경우 4. 최근 5년 이내에 악성 종양으로 방사선 또는 항암치료를 받은 적이 있는 경우 5. 현재 임신 중이거나 임상시험기간 중 임신계획이 있는 자

	6. 수유 중인 자 7. 골전환 또는 점막치유에 영향을 주는 약물 또는 치료를 받고 있는 자 ☞ 예를 들어, 골다공증 치료제 등 8. 임플란트 식립부 또는 구강 내 다른 곳에 감염이 있는 경우 9. 면역력이 저하된 자 10. 점막 질환 또는 구강병변을 지닌 자 11. 혈액공급이 원활하지 못한 자 12. 알코올 중독 및 약물 남용의 병력이 있는 자 13. 부적절한 구강위생 및 적절한 구강관리에 대해 동기부여가 되지 않은 경우 14. 현재, 타 임상시험에 참여하고 있는 경우 15. 동일한 임플란트 식립부에 이미 타 비슷한 제품으로 시술받은 적이 있는 경우 16. 임플란트 식립부의 치조골에 각화 조직의 양이 충분하지 않은 경우 (각화 조직의 넓이가 4 mm 미만인 경우) 17. 기타, 연구자의 판단에 따라 본 임상시험 참여가 적합하지 않다고 판단되는 자
유효성 평가변수	**<일차 유효성 평가변수>** ■ 신생골 재생율(%) **<이차 유효성 평가변수>** ■ 임플란트 주위 골결손부(Infrabony defect component) 변화량(mm) ■ 골결손 폭(Defect width) 변화량(mm) ■ 골결손 깊이(Defect Dept) 변화량(mm) ■ 수평두께(Horizontal thickness) 변화량(mm) ■ 삶의 질 설문(Oral Health Impact Profile-14, OHIP-14)
안전성 평가변수	임상시험기간 중 피험자에게 발생한 모든 이상사례
초기 유효성 평가방법 및 기준	***☞ 일차 및 이차 평가변수 모두 시술일(임플란트 식립 직후)과 시술 후 6개월 시점에 그림1의 각 항목에 따른 골결손 정도를 측정하고, 그 값을 이용하여 시술 후 6개월 시점의 각 항목의 골결손 정도 변화율(%) 또는 변화량(mm)을 산출하여 평가한다.*** **<일차 유효성 평가변수>** ■ 신생골 재생율(%) 시술 후 골결손 높이 증가율(%)을 신생골 재생율이라고 정의한다. - 골결손 높이(Defect height): Cylinder shoulder의 윗부분에서부터 임플란트와 접촉하는 골의 가장 윗부분까지의 거리(그림.1a) **<이차 유효성 평가변수>**

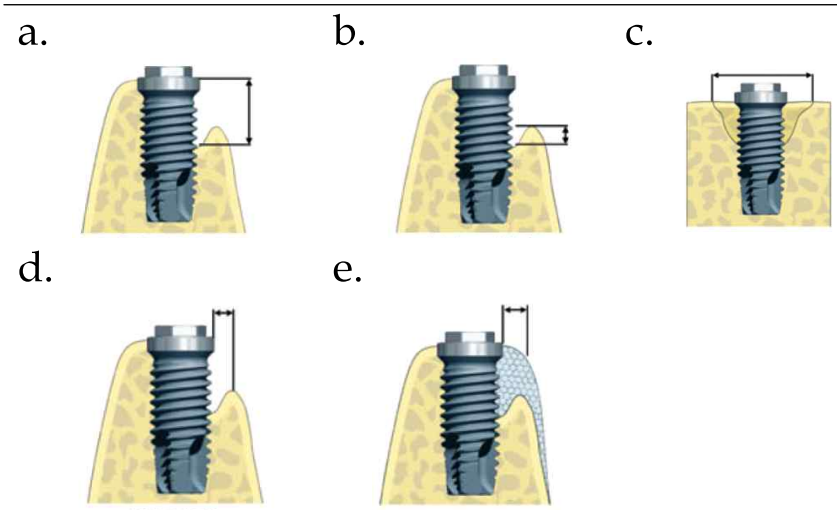
■ 임플란트 주위 골결손부(Infrabony defect component) 변화량(mm)
- Bone crest에서부터 임플란트와 접촉하는 골의 가장 윗부분까지의 거리(그림.1b)

■ 골결손 폭(Defect width) 변화량(mm)
- Bone crest에서부터 임플란트의 긴 축과 수직방향에서 임플란트 표면까지의 거리 (그림.1c)

■ 골결손 깊이(Defect Dept) 변화량(mm)
- 임플란트 Shoulder에서부터 mesio distal bone crest 까지의 거리 (그림.1d)

■ 수평두께(Horizontal thickness) 변화량(mm)
- 골 증대 후 임플란트 Shoulder에서부터 증대한 부분까지의 거리 (그림.1e)

<그림1> 임플란트 주위 골결손부 크기 측정법



(a) 골결손 높이 (b) 임플란트 주위 골결손부 (c) 골결손부 폭
(d) 골결손 깊이 (e) 수평두께

■ 삶의 질 (OHIP-14)

삶의 질은 시술일 임플란트 식립 직후와 시술 후 6개월 시점에 설문지(Oral Health Impact Profile-14, OHIP-14)를 이용하여 대상자가 직접 작성하도록 한다.

- OHIP-14[1]

  OHIP-14 설문지는 Slade에 의해 개발된 구강건강 관련 삶의 질을 측정하는 대표적인 설문 도구로 기능적 제한 2문항, 신체적 동통 2문항, 정신적 불편감 2문항, 신체적 능력저하 2문항, 정신적 능력저하 2문항, 사회적 능력저하 2문항, 사회적 불리 2문항 등 7가지 영

	역 총 14항목으로 구성되어 있다. 본 임상시험에서는 OHIP-14 설문지의 14 문항을 한글로 번역하여 설문조사를 실시한다. • OHIP-14 설문지를 이용한 삶의 질 평가방법 삶의 질 평가는 5점 Likert 척도를 이용하여 '매우 그렇다' 1점, '자주 그렇다' 2점, 가끔 그렇다' 3점, 거의 그렇지 않다' 4점, '전혀 그렇지 않다' 5점으로 기록하며, 점수가 높을수록 구강건강관련 삶의 질이 높음을 의미한다. 7개의 영역에 속한 2문항을 합하여 단일 변수로 변환하며, 7개의 변수는 최소 2점에서 최대 10점까지 분포가 능하다.
안전성 평가 방법 및 기준	안전성 평가는 시술 시부터 임상시험이 종료되는 시점까지 발생한 모든 이상사례에 대해서 다음과 같이 관찰한다. 본 임상시험에서 이상사례는 임상시험 시작 전에 관찰되지 않은 증상이 발생하는 모든 바람직하지 않은 의학적 소견을 이상사례로 분류한다. '14. 부작용을 포함한 안전성의 평가기준, 평가방법 및 보고방법' 항에서 서술된 정의 및 기준에 따라 예측되는 부작용도 이상사례로 분류하며, 이상사례의 정도를 경증, 중등증, 중증으로 분류하고 용어의 사용은 MedDRA의 'Preferred term' 및 'System organ class'를 기준으로 한다.
관찰항목	<임상시험진행일정표> 참고
예상되는 이상사례	1. 통증 2. 불편함 3. Membrane의 노출 4. 연조직 열개 또는 천공 (Soft tissue dehiscence or fenestration) 5. 임플란트 주위 감염 6. 연조직의 퇴축 (Soft tissue recession) 7. delayed or incompleted wound healing

<참고문헌>

1. Slade GD. Derivation and validation of a short-form oral health impact profile. Community Dent Oral Epidemiol 1997;25:284-90.
2. Schneider D et al. A randomized controlled clinical multicenter trial comparing the clinical and histological performance of a new, modified polylactide-co-glycolide acid membrane to an expanded polytetrafluorethylene membrane in guided bone regeneration procedures. Clin Oral Implants Res. 2014 Feb;25(2):150-8
3. Jung RE et al. A randomized, controlled clinical trial to evaluate a new membrane for guided bone regeneration around dental implants. Clin Oral Implants Res. 2009 Feb;20(2):162-8
4. Jung RE et al. Effect of rhBMP-2 on guided bone regeneration in humans A randomized, controlled clinical and histomorphometric study. Clin Oral Implants Res. 2003 Oct;14(5):556-68.

◦ 임상시험 식약처 허가 및 임상시험 진행 일정

- 2차 년도 4/4 분기부터 3차 년도 1/4분기까지 완제품에 대한 생물학적 안전성평가를 완료할 계획이며, 3차 년도 2/4분기부터는 임상시험허가를 식약처로부터 득하여 3차 년도 3/4분기 부터는 부산대학교 치과대학에서 임상시험을 실시할 계획임.

◦ 임상시험 대행 전문 업체 계약에 따른 임상시험계획서 작성 및 임상시험 진행

용역표준계약서

계약번호 제2015-05호

계약자	발 주 처	부산대학교산학협력단
	계 약 상 대 자	· 상호 또는 법인명칭 : ㈜사이넥스 · 사 업 자 등 록 번 호 : 220-86-34919 · 주 소 : 서울특별시 강남구 테헤란로 435(삼성동, 대종빌딩 10층) · 전화번호 : 02-6202-3300 · 대 표 자 : 김 영
계약내용	용 역 명	'셀룰로스 치주조직재생유도재' 에 대한 프로토콜 개발
	계 약 금 액	금일천사백만원정(₩14,000,000)
	총용역부기금액	금일천사백만원정(₩14,000,000)
	계 약 보 증 금	금이백일십만원정(₩2,100,000)
	지 체 상 금 율	1000분의 2.5
	계 약 기 간	2015.07.29. ~ 2015.10.28.
	비 고	선금 70% 지급

부산대학교산학협력단장(계약담당공무원)과 계약상대자는 상호 대등한 입장에서 붙임의 계약문서에 의하여 위 용역에 대한 계약을 체결하고 신의에 따라 성실히 계약상의 의무를 이행할 것을 확약하며, 이 계약의 증거로서 계약서를 작성하여 당사자가 기명날인한 후 각각 1통씩 보관한다.

붙임서류 : 1. 용역입찰유의서 1부
2. 용역계약일반조건 1부
3. 일반용역계약특수조건 1부
4. 과업지시서 1부
5. 산출내역서 1부
6. 청렴계약이행각서 1부.

2015. 07. 29 .

부산대학교산학협력단 계약관 문 한 섭 (인)

계약상대자 : ㈜ 사이넥스 김 영 (인)

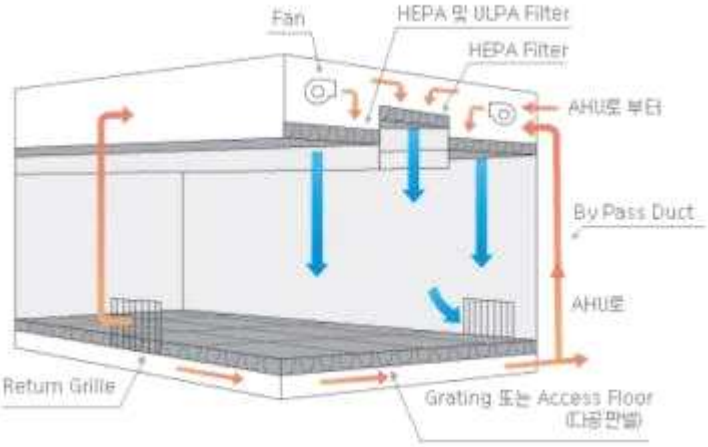
결재	담 당	주 무	과 장	부단장

○ 제 3 협동 : (주)쿠보텍

◦ 임상 GMP 인증을 위한 장비 및 설비 구축

- 현재 의료기기 4등급에 해당하는 GMP 및 설비 기준이 미비하여 3차 년도에 실시할 임상시험 승인을 위해 임상 GMP 인증
- 의료기기 4등급 임상 GMP 인증 기준에 만족하는 설비 및 장비 구축

▪ 설비 구축: 공조시설(클린룸) class: 100

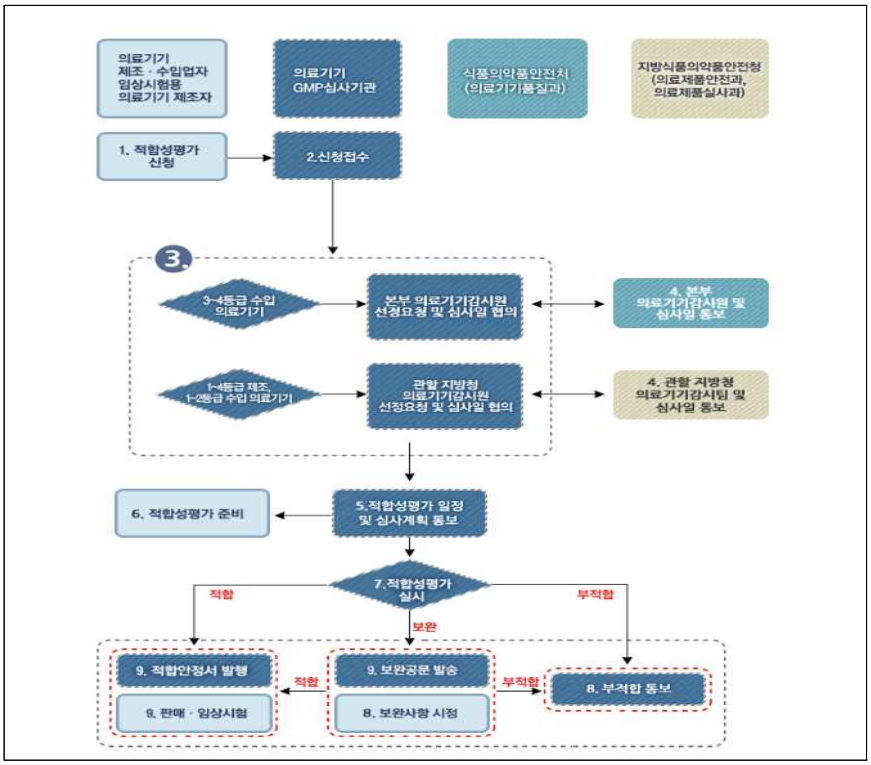


▪ 장비 구축: 초저온 냉동고, 동결건조기, 압축 성형기, 제품 포장기등

동결건조기	유압프레스
초저온 냉동고(Deep Freezer) -80℃	

◦ 임상 GMP 인증

-임상시험 실시 전 인증



◦ 기술 문서 작성

- 의료기기 국제표준화기술문서(STED) 작성

신청내용 등	심사의뢰서
	기 허가제품과 비교한 자료
국제표준화기술문서	목차
	기기설명 및 제품사양
	표시기재(안)
	설계와 제조정보
	필수원칙 체크리스트
	위험분석과 관리요약
	제품검증 및 유효성확인 요약
첨부자료	목차
	제조공정에 관한 자료
	위험분석 보고서
	제품검증 및 유효성 확인 자료
	참고문헌

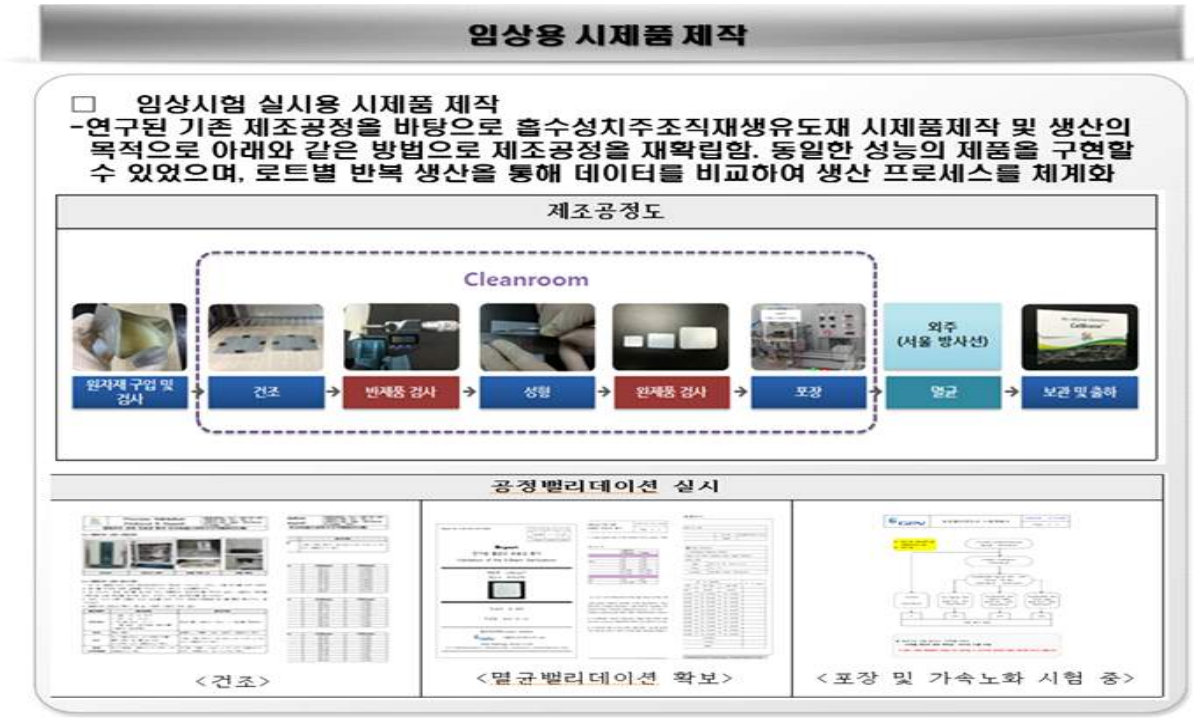
◦ 임상시험용 시제품 제작

- 임상 GMP 인증 후 시제품 제작

- (주)자담에서 생산된 바이오셀룰로오스를 전자선조사를 통해 생분해 조절
- 전자선 조사 후 동결 건조, 압착, 성형, 포장 단계를 거쳐 최종 제품 생산
- 힘상시험 시 사용될 수량 제조(약 1만장)

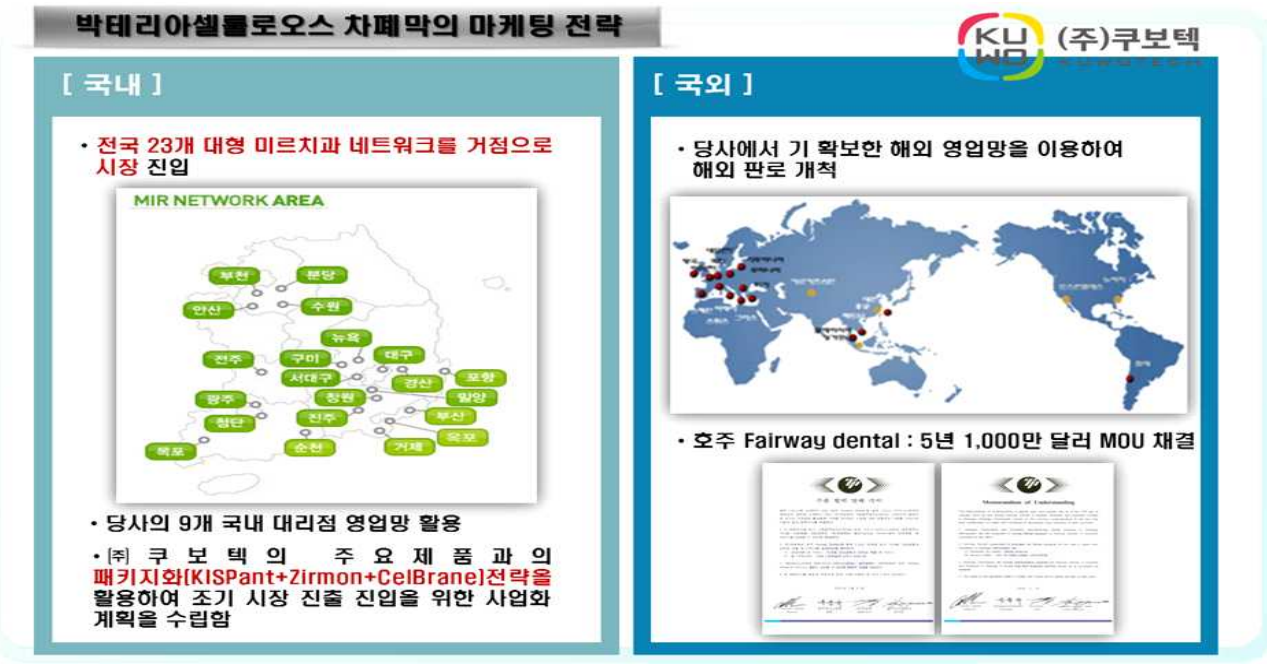
시제품 제작 형태
제품 제조 프로세싱

- 셀룰로오스 차폐막의 동결건조방식 최적화 및 차폐막 디자인에 대한 특허 출원 및 등록을 진행할 계획임.



◦ 마케팅 전략

- 제 2 협동 부산대학교 허중보 교수와 제 3 협동(주)쿠보텍 정출웅 대표는 국내 치과병원 전문의로 구성된 NABI-TECH 회원으로 활동하고 있으며, (주)쿠보텍에서 개발하는 제품의 임상을 의뢰하여 결과를 공유함으로써, 제품의 신뢰성 확보와 기술적인 자문 및 마케팅 전략 수립



2. 연구수행 내용 및 결과

○ 년도별 연구 내용

1차년도	o 치과용 흡수성치주조직재생유도막 바이오셀룰로오스 대량 배양 공정 개발 o 방사선을 이용한 바이오셀룰로오스의 생분해성도 조절 및 표면처리 기술 최적화 o 소형 동물을 이용한 바이오셀룰로오스의 안전성 및 성능 평가
2차년도	o 치과용 바이오셀룰로오스 대량 배양 공정 체계 확립 및 임상시험용 시제품 제작 o 방사선을 이용한 바이오셀룰로오스의 생분해성 조절 및 표면처리 기술 시스템 구축 o 대형 동물을 이용한 바이오셀룰로오스의 성능 평가 및 임상시험 준비 및 승인
3차년도	o 치과용 바이오셀룰로오스의 사업화 구축에 따른 제품 판매 및 마케팅 o 방사선 이용 바이오셀룰로오스 차폐막의 생분해성 및 멸균 공정 확립 및 응용 연구 o 치과용 바이오셀룰로오스 차폐막의 임상 시험 결과 도출 및 품목허가 취득

1. 년도별 연구개발의 목표 및 연구개발 수행내용

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	달성도 (%)	연구개발 수행내용
1차 년도 (2014)	<주관기관> 한국원자력연구원 감귤 생분해성 바이오셀룰로오스를 활용한 흡수성치주조직재생유도막 개발	방사선 기술 이용 바이오셀룰로오스의 생분해성도 최적화 조절	100	방사선 이용 조건에 따른 바이오셀룰로오스의 생분해성도 평가
		방사선 기술 이용 바이오셀룰로오스의 표면 처리 조절	100	생분해성 바이오셀룰로오스의 기능성기 표면처리에 따른 생체적합성 평가
	<제1협동> (주)자담 흡수성치주조직재생유도막 개발을 위한 감귤바이오셀룰로오스의 대량배양 공정 개발 및 사업화 기반 구축	치과용 바이오셀룰로오스 대량 배양 공정 개발	100	치과용 차폐막 제조용 감귤 바이오셀룰로오스의 공극 크기 및 두께 조절 배양 공정 개발
		흡수성 치주조직재생유도막 사업화 기반 구축	100	임상시험 실시를 위한 임상 GMP 인증 컨설팅 및 생물학적 안정성 시험 진행
	<제2협동> 부산대학교 소형 동물을 이용한 바이오셀룰로오스의 안전성 및 성능평가	소형동물을 이용한 바이오셀룰로오스의 안전성 및 성능 평가	100	생체 내 바이오셀룰로오스의 분해조절능 평가 및 소형 동물 전임상 시험 평가

구분 (연도)	세부과제명		세부연구목표	달성도 (%)	연구개발 수행내용
2차 년도 (2015)	<주관기관> 한국원자력 연구원	감귤 생분해성 바이오셀룰로오스를 활용한 흡수성치주조직재생유도막 개발	• 방사선 기술 이용 바이오셀룰로오스의 생분해성 조절 시스템 구축	100	• 방사선 실험 조건(방사선 종류, 선량)에 따른 바이오셀룰로오스의 생분해성도 공정 시스템 구축
			• 방사선 기술 이용 바이오셀룰로오스의 표면처리 조절 시스템 구축	100	• 방사선 기술 이용 무기물 및 생체기능성 물질 도입 바이오셀룰로오스의 표면 활성화 조절 연구
	<제1협동> (주)자담	흡수성치주조직재생유도막 개발을 위한 감귤바이오셀룰로오스의 대량 배양 공정 개발	• 치과용 차폐막 제조용 감귤바이오셀룰로오스 대량 배양 공정 체계 확립	100	• 치과용 차폐막 제조용 바이오셀룰로오스 대량 생산 공정 확립 (GMP기준)
	<제2협동> 부산대학교 산학협력단	소형 동물을 이용한 바이오셀룰로오스의 안전성 및 성능평가	• 바이오셀룰로오스 차폐막의 중형 동물 전임상 시험 평가	100	• 생체 내 바이오셀룰로오스의 분해조절능 평가 및 중형 동물 전임상 시험 평가 • 대동물을 이용한 결손부 모델을 개발하고 바이오셀룰로오스의 안정성 및 성능 평가
			• 생분해성 바이오셀룰로오스 차폐막의 임상시험 계획	100	• 임상 적응증 개발 및 임상시험 연구계획서 작성 • 임상시험 준비 완료 및 식약처로부터 임상시험 승인 • 부산대학교 치과병원 IRB 신청 및 임상시험 허가
	<제3협동> (주)쿠보텍	• 흡수성치주조직재생유도막 대량 생산 체계 구축 및 사업화 기반 구축	• 임상GMP 인증을 위한 설비 구축	100	• 임상GMP 설비 기준 설비 및 장비 구축
			• 임상GMP 인증	100	• 임상시험 실시용 시제품 제작
			• 임상시험용 시제품 제작	100	• 임상시험 허가를 위한 제품 기술문서 작성

구분 (연도)	세부과제명		세부연구목표	달성도 (%)	연구개발 수행내용
3차 년도 (2016)	<주관기관> 한국원자력 연구원	감귤 생분해성 바이오셀룰로오스를 활용한 흡수성치주조직재생유도막 개발	• 방사선 기술 이용 바이오셀룰로오스의 생물학적 안전성 시험 평가 확립	100	• 바이오셀룰로오스 차폐막의 생물학적 안전성 시험 및 임상 시험 지원 (제2협동/제3협동 결과 공유)
	<제1협동> (주)자담	흡수성치주조직재생유도막 개발을 위한 감귤바이오셀룰로오스의 대량 배양 공정 개발	• 치과용 차폐막 제조용 감귤바이오셀룰로오스 공급	100	• 치과용 차폐막 제조용 바이오셀룰로오스 공급 및 품질관리 확립
	<제2협동> 부산대학교 산학협력단	소형 동물을 이용한 바이오셀룰로오스의 안전성 및 성능평가	• 생분해성 바이오셀룰로오스 차폐막의 임상시험 진행	100	• 생분해성 바이오셀룰로오스 차폐막의 임상시험 진행
	<제3협동> (주)쿠보텍	• 흡수성치주조직재생유도막 대량 생산 체계 구축 및 사업화 기반 구축	• 임상시험용 시제품 제작 • 바이오셀룰로오스 차폐막의 임상시험 관리 및 제품화	100	• 임상GMP 설비 기준 설비 및 장비 구축 • 임상시험 실시를 시제품 제작 • 임상시험 허가를 위한 제품 기술문서 작성

가. 연구범위 및 연구수행 방법

- 1차년도 -

연 구 범 위		연구수행방법 (이론적·실험적 접근방법)	구체적인 내용
주관기관	방사선을 이용한 생분해성도 조절 및 표면처리 기술 최적화	방사선 기술 이용 바이오셀룰로오스의 생분해성 조절 확립	• 방사선 종류 및 선량 변화 • 표면 구조 및 물리화학적 특성 평가 • *jn vitro*와 *in vivo* 생분해성 평가
		방사선 기술 이용 바이오셀룰로오스의 표면처리 기술 확립	• 표면 구조 및 물리화학적 특성 평가 • *jn vitro* 생체적합성 평가
제1협동	치과용 흡수성 치주조직재생유도막 바이오셀룰로오스 대량 배양 공정 개발	의료용 바이오셀룰로오스의 배양 조건 확립	• 균일한 생산 공정 및 성능 평가 • 표면 구조 및 물리화학적 특성 평가
		흡수성 치주조직재생 유도막 사업화 기반 구축	• 임상 GMP인증 관련 컨설팅 • 생물학적 안전성 실험 평가 의뢰
제2협동	소형 동물을 이용한 바이오셀룰로오스의 안전성 및 성능 평가	골결손 동물 모델을 이용한 치과용 차폐막 성능 평가	• 두개골 결손 모델 골내이식시험 • 차폐막 성능평가 확립

- 2차년도 -

연 구 범 위		연구수행방법 (이론적·실험적 접근방법)	구체적인 내용
주관기관	방사선을 이용한 생분해성도 조절 및 표면처리 기술 최적화	방사선 기술 이용 바이오셀룰로오스의 생분해성 조절 확립	• 방사선 종류 및 선량 변화 • 표면 구조 및 물리화학적 특성 평가 • *jn vitro*와 *in vivo* 생분해성 평가
		방사선 기술 이용 바이오셀룰로오스의 표면처리 기술 확립	• 표면 구조 및 물리화학적 특성 평가 • *jn vitro* 생체적합성 평가
제1협동	치과용 흡수성 치주조직재생유도막 바이오셀룰로오스 대량 배양 공정 개발	의료용 바이오셀룰로오스의 배양 조건 확립	• 균일한 생산 공정 및 성능 평가 • 표면 구조 및 물리화학적 특성 평가
제2협동	소형 동물을 이용한 바이오셀룰로오스의 안전성 및 성능 평가	바이오셀룰로오스 차폐막의 중형 동물 전임상 시험 평가	• 두개골 결손 모델 골내이식시험 • 차폐막 성능평가 확립
제3협동	흡수성치주조직재생유도막 대량 생산 체계 구축 및 사업화 기반 구축	임상GMP 인증을 위한 설비 구축 및 시제품 제작	• 임상GMP 설비 기준 설비 및 장비 구축

- 3차년도 -

연 구 범 위		연구수행방법 (이론적·실험적 접근방법)	구체적인 내용
주관기관	방사선 기술 이용 바이오셀룰로오스의 생물학적 안전성 시험 평가 확립	방사선 기술 이용 바이오셀룰로오스의 생물학적 안전성 시험 평가 확립	• 바이오셀룰로오스의 생물학적 안전성 시험 평가 진행
제1협동	치과용 흡수성 치주조직재생유도막 바이오셀룰로오스 대량 배양 공정 개발	의료용 바이오셀룰로오스의 공급	• 균일한 생산 공정 확립 및 재료 공급
제2협동	소형 동물을 이용한 바이오셀룰로오스의 안전성 및 성능 평가	바이오셀룰로오스 차폐막의 임상시험 진행	• 임상시험 진행 • 임상 시험 성능평가
제3협동	흡수성치주조직재생유도막 대량 생산 체계 구축 및 사업화 기반 구축	임상GMP 인증 관리 및 제품화	• 임상시험용 시제품 제작 • 임상시험 허가 기술문서 작성

나. 세부연구수행 결과

(1) 주관 기관 (한국원자력연구원)

○ 1차 년도 연구수행 결과

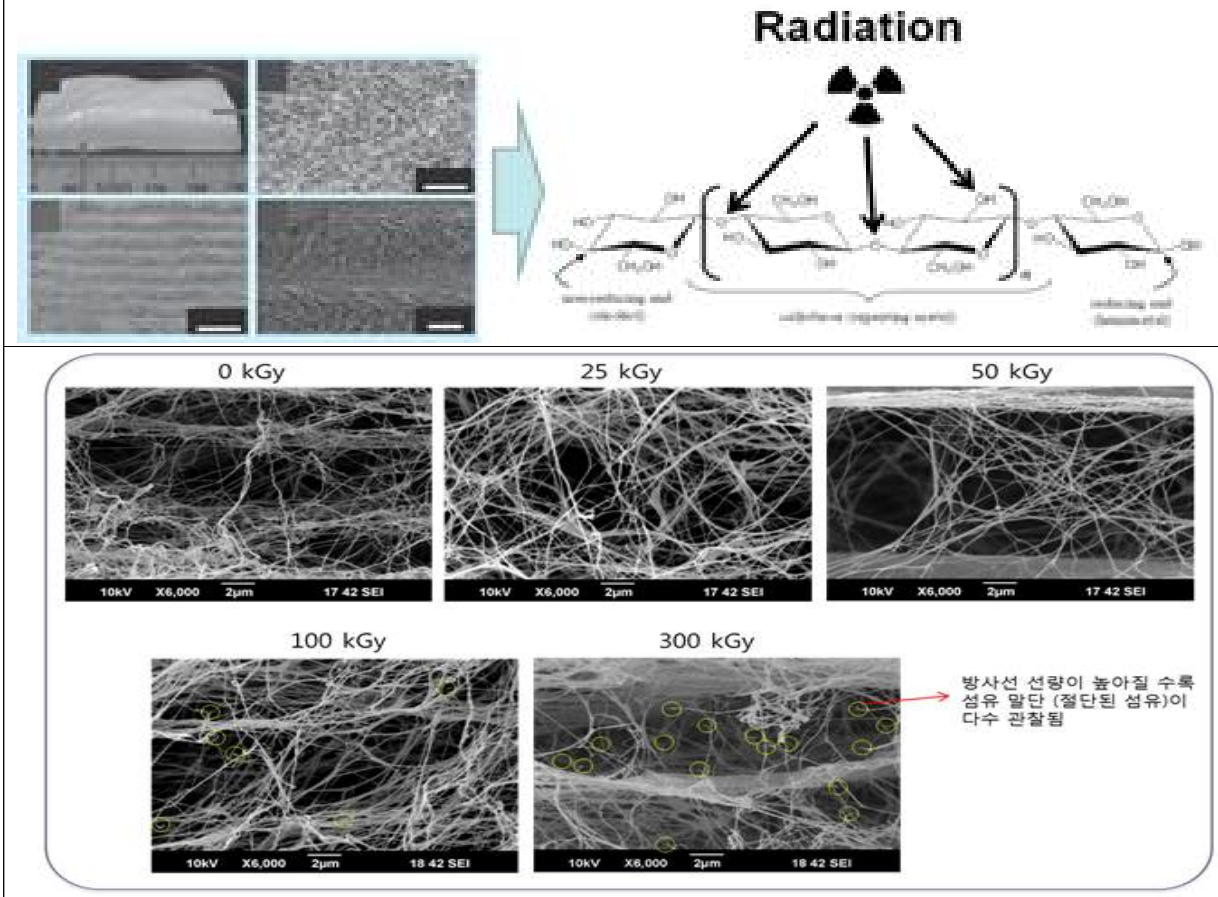
본 세부과제의 1차년도 연구목표는 방사선을 이용한 바이오셀룰로오스의 생분해성도 조절 및 표면처리 기술 개발로서, 본 연구에서는 방사선의 선량 변화에 따른 생분해성 조절이 가능한 치과용 흡수성치주조직재생유도막을 제조할 수 있는 획기적인 '방사선 이온화에너지 기반 생분해성 조절 기술'을 개발 하였고, 또한, 방사선 기술을 이용하여 구조적인 차폐막 기능과 동시에 골형성단백질의 서방출이 가능한 헤파린 도입된 바이오셀룰로오스 차폐막을 개발 하였고, 관련 연구내용을 의료공학 분야 SCI저널에 출판하였음.

(가) 방사선 이용 바이오셀룰로오스의 생분해성 조절 확립

◦ 방사선 이용 바이오셀룰로오스의 구조적 특성변화 분석

- 방사선 조사 시 이온화에너지에 의해 형성되는 자유 라디칼이 바이오셀룰로오스의 분자 중합체를 형성하는 결합구조가 파괴되어 저분자호 시키는데, 감마선 선량이 증가될수록 바이오셀룰로오스 나노섬유의 공극이 증가되면서 섬유 망상구조가 끊어지는 현상이 일어나는 것을 관찰함

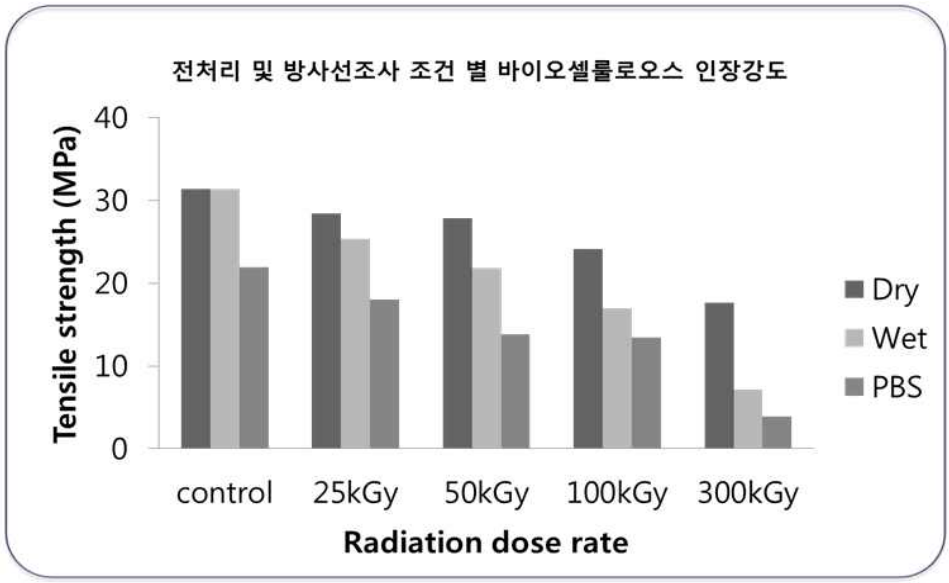
방사선 선량에 따른 박테리아 셀룰로오스의 구조적 특성 평가



◦ 방사선 이용 바이오셀룰로오스의 기계적 특성 평가

- 방사선 조사 시 선량 및 담침용액 종류에 따른 바이오셀룰로오스의 기계적 물성 평가에서는 선량이 증가 할수록 기계적 물성이 감소되는 것을 확인할 수 있었으며, 방사선 조사 시 바이오셀룰로오스 담침용액들 중 PBS에 담침했을 경우 가장 큰 기계적 물성 감소가 일어나는 것을 관찰할 수 있었음.

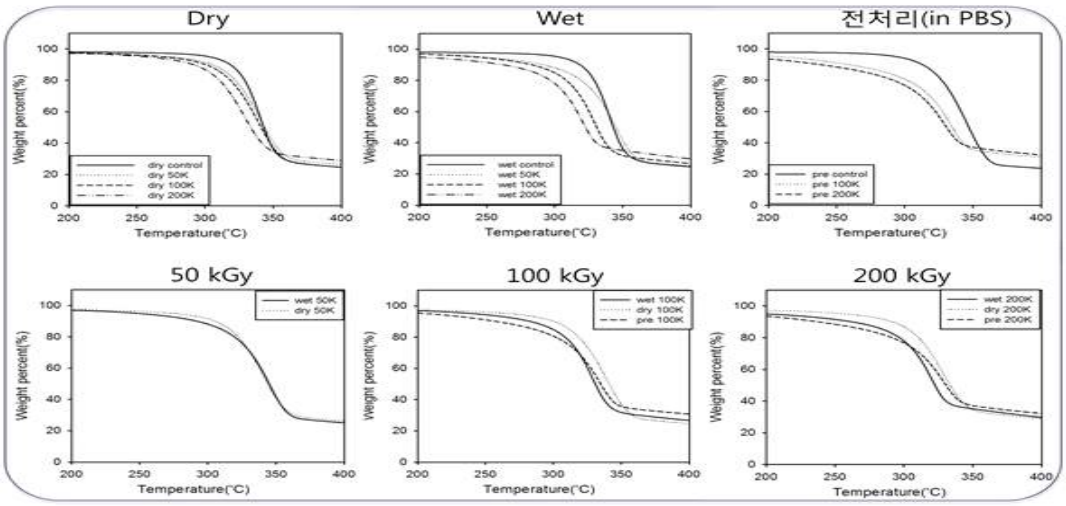
방사선 선량에 따른 박테리아 셀룰로오스의 구조적 특성 평가



◦ 방사선 이용 바이오셀룰로오스의 열적 특성 평가

- 방사선 조사 시 선량 및 담침용액 종류에 따른 바이오셀룰로오스의 열적 물성 평가에서는 선량이 증가 할수록 열적안전성이 감소되는 것을 확인할 수 있었음.

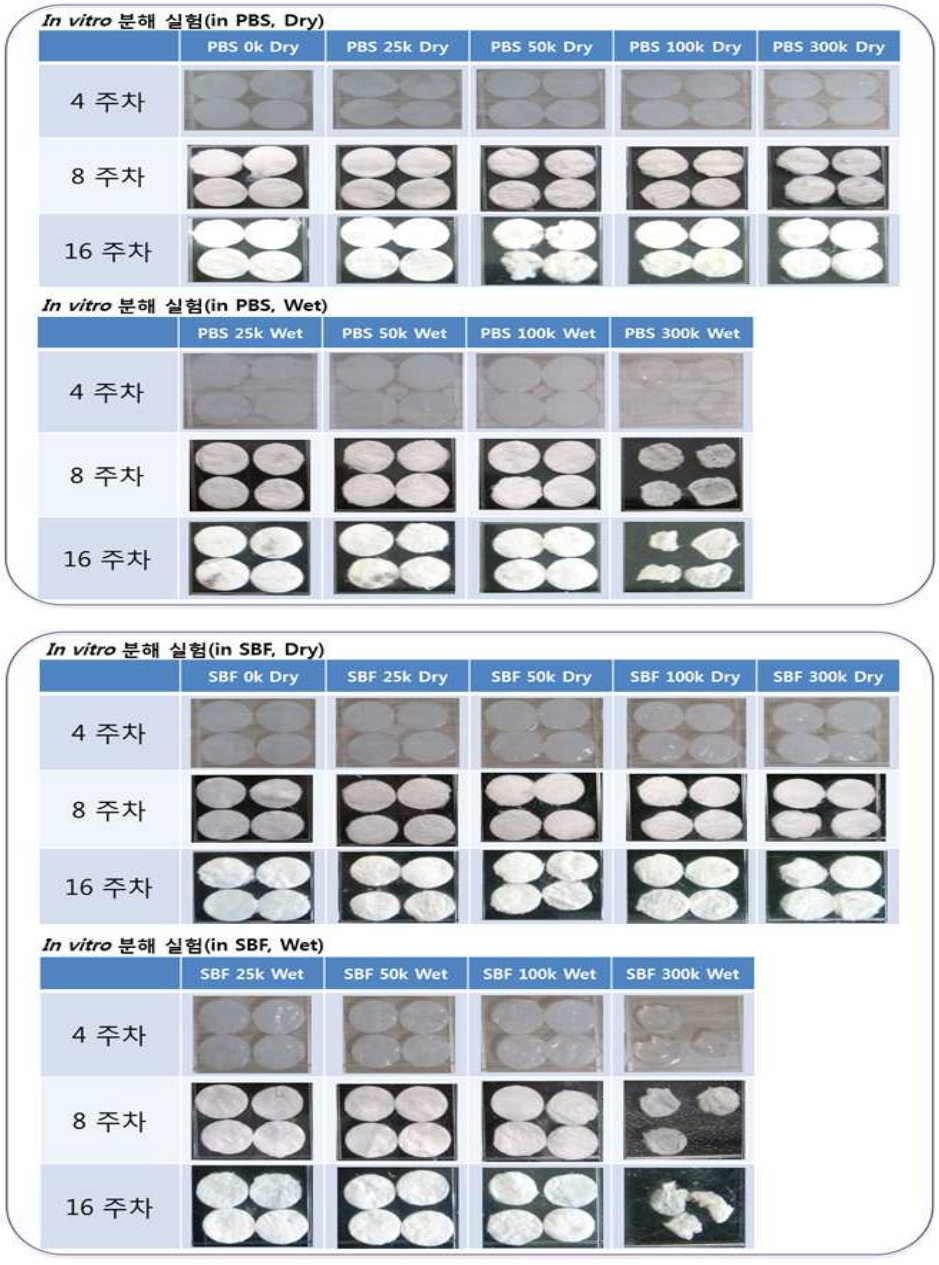
방사선 선량에 따른 박테리아 셀룰로오스의 열적 특성 평가



◦ 방사선 이용 바이오셀룰로오스의 생체외 생분해성 평가

- 방사선 조사 시 건조 및 습윤 상태에서 바이오셀룰로오스의 생체외 분해성 평가에서는 건조 상태에서는 선량이 증가 하더라도 형태변화는 없었지만, 습윤 상태에서 조사된 바이오셀룰로오스는 시간이 지날수록 형태가 감소되는 것을 관찰하였음. 특히, SBF 용액에 담침된 바이오셀룰로오스는 형태 감소가 뚜렷하게 감소되는 것을 확인하였음.

방사선 선량에 따른 박테리아 셀룰로오스의 생체외 생분해성 평가

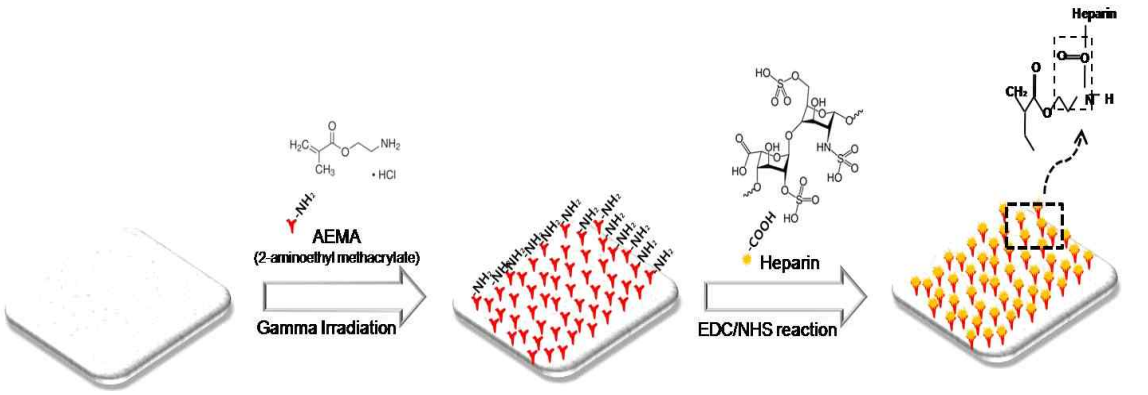


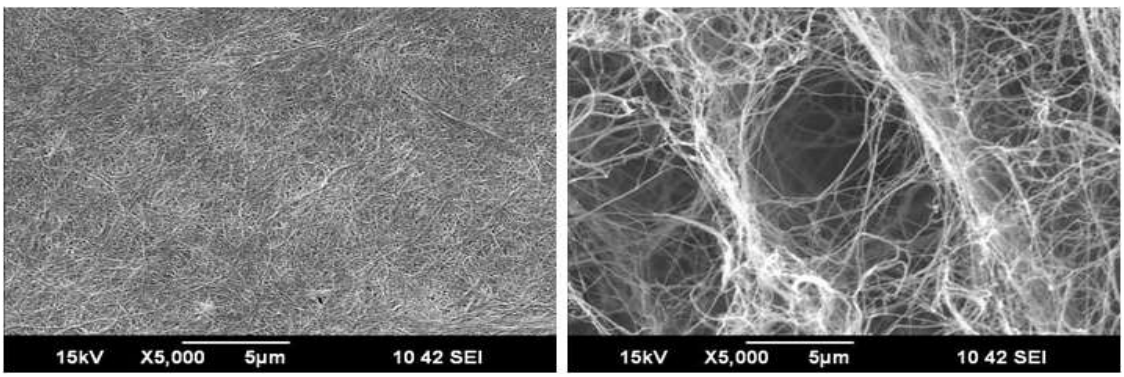
(나) 방사선 이용 바이오셀룰로오스의 성장인자 방출용 표면 처리 기술 확립

◦ 방사선 이용 바이오셀룰로오스의 헤파린 표면 처리 기술 개발

- (방사선 이용 heparin이 도입된 박테리아 셀룰로오스 차폐막 개발) 골재생 유도 지지체 개발을 위해 박테리아 셀룰로오스에 heparin을 효과적으로 도입할 수 있도록 감마선을 이용하여 2-aminoehyl methacrylate(AEMA)를 박테리아 셀룰로오스 표면에 도입하여 아민 그룹을 생성하고, EDC/NHS 반응을 이용하여 heparin을 추가로 도입하는 기술을 확립하였음. 특히 박테리아 셀룰로오스에 BMP-2를 결합하여 안정된 골형성을 유도할수 있도록 하였음.

헤파린이 도입된 박테리아 셀룰로오스의 골조직공학용 지지체로서의 개발



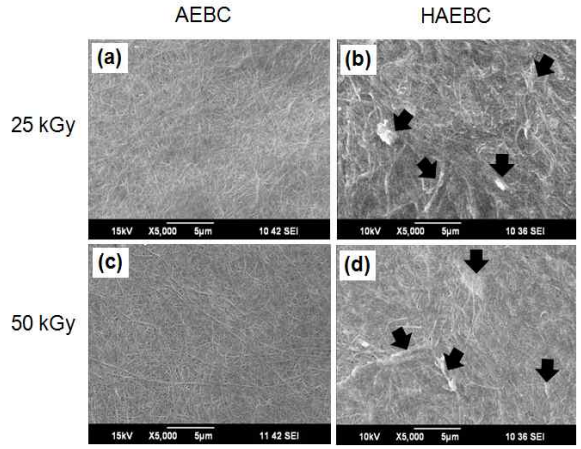


◦ 방사선 이용 heparin이 도입된 박테리아 셀룰로오스의 특성분석

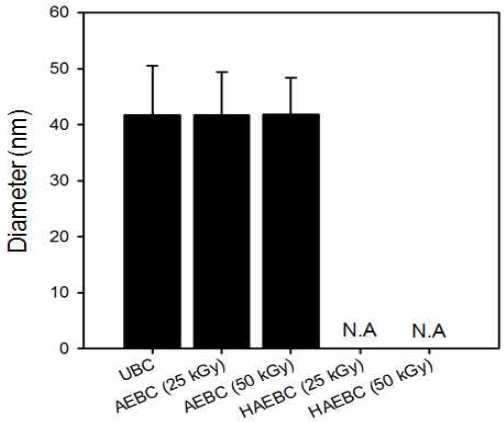
- (heparin이 도입된 박테리아셀룰로오스 표면 구조 평가) heparin과 AEMA가 도입된 박테리아셀룰로오스의 조사선량에 따른 3차원 다공성 구조 및 heparin 도입 여부를 주사전자 현미경 (SEM)을 통해 확인하고, image J프로그램을 이용하여 섬유의 직경을 분석하고 평가함.

heparin이 도입된 박테리아 셀룰로오스 표면 구조 분석

주사 전자 현미경 (SEM)



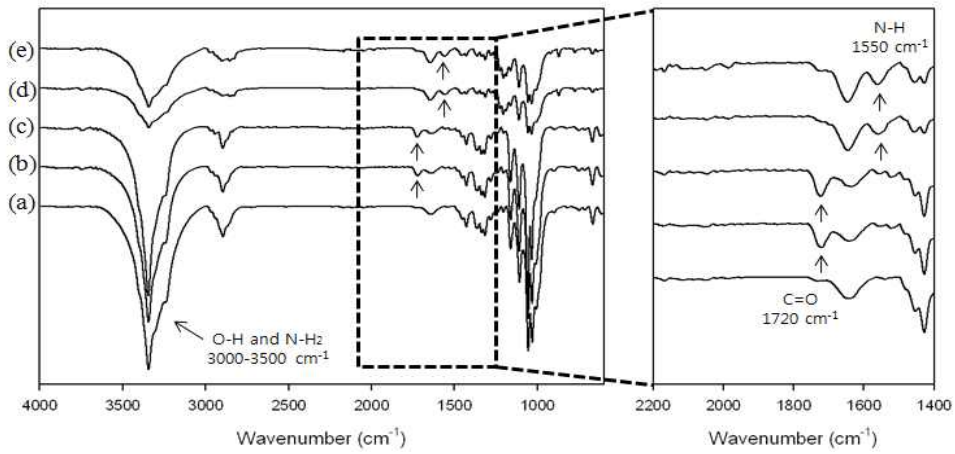
섬유 직경 분석 그래프



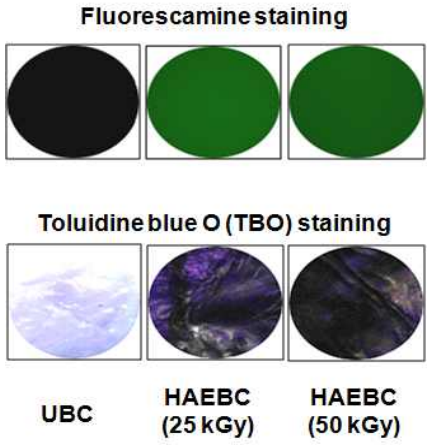
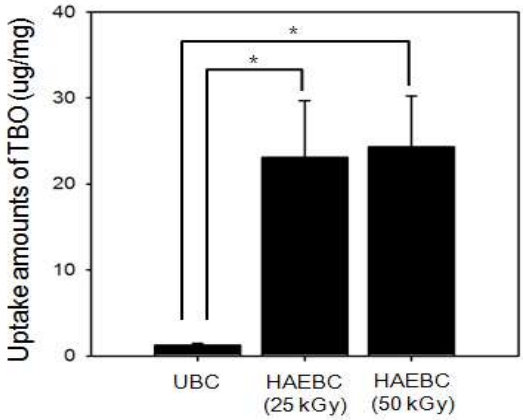
◦ heparin이 도입된 박테리아셀룰로오스 화학적 구조 평가

- heparin과 AEMA가 도입된 박테리아셀룰로오스의 화학적 구조를 확인하기 위해 감쇠 전반사 적외선 분광분석기(ATR-FTIR)을 이용하여 확인함. 또한 AEMA가 도입된 박테리아셀룰로오스의 아민그룹을 확인하기 위해 fluorescamine 염색을 하였으며, heparin이 도입된 박테리아 셀룰로오스의 카르복실 그룹을 확인하기 위해 Toluidine blue O(TBO) 염색을하고 정량하여 성공적으로 heparin과 AEMA의 도입을 증명함.

감쇠 전반사 적외선 분광 (ATR-FTIR) 분석

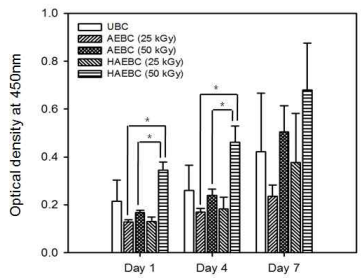
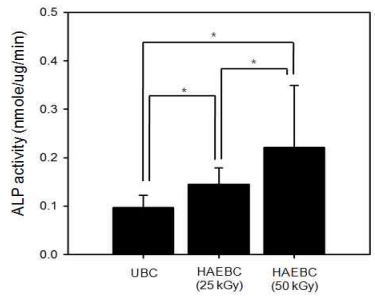
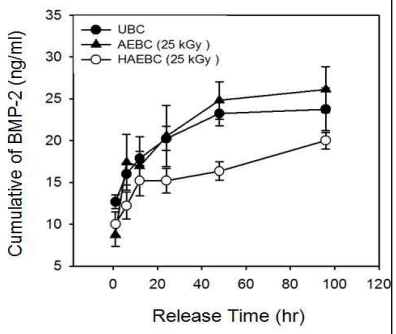


(a) Unmodified BC, (b) AEMA grafted BC at 2 5kGy, (c) AEMA grafted BC at 50 kGy, (d) Heparin immobilized AEMA-BC at 25 kGy, and (e) Heparin immobilized AEMA-BC at 50 kGy

Fluorescamine 및 Toluidine blue O (TBO) 염색	Toluidine blue O (TBO) 정량
	

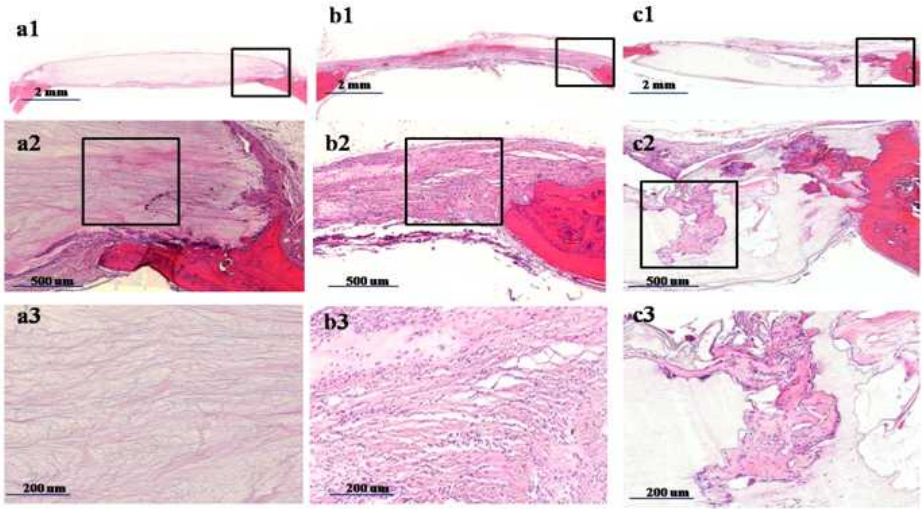
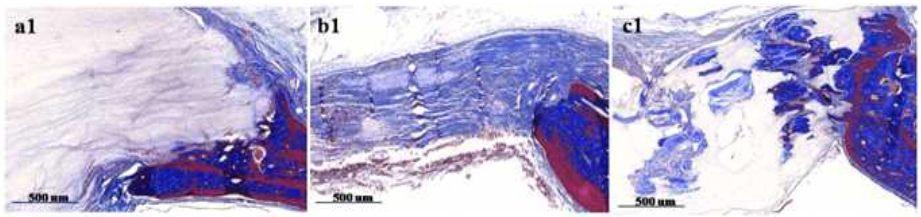
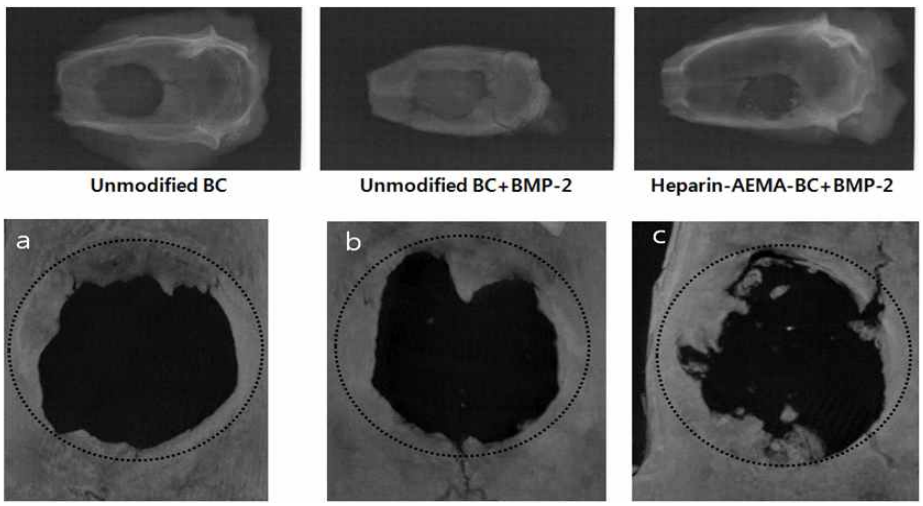
◦ 방사선 이용 heparin이 도입된 박테리아셀룰로오스의 *In vitro* 평가

- (*In vitro* 및 약물 방출 평가) CCK-8 assay를 이용하여 heparin이 도입된 박테리아세룰로오스의 hMSC의 증식률을 확인하고, 세포의 분화 정도를 alkaline phosphatase(ALP) activity를 이용하여 평가함. 또한 약물방출 평가를 통해 시간에 따른 방출되는 약물의 양을 평가함.

세포 배양 및 약물 방출 분석		
CCK-8 assay	ALP activity	Release test
		

◦ 방사선 이용 heparin이 도입된 박테리아셀룰로오스의 *In vivo* 평가

- (*In vivo* 평가) 효과적이고 안정적인 골재생 유도를 위해 heparin이 도입된 박테리아셀룰로오스에 BMP-2를 결합하여 SD rat의 두개골에 이식함. 이를 평가하기 위해 H&E staining, Masson trichrome staining, Micro CT 3D image를 이용하여 골재생 여부를 평가함.

생체 내 (In vivo) 실험	
H & E staining	 (a)Unmodified BC, (b)Unmodified BC+BMP-2, (c)Heparin-AEMA-BC+BMP-2
Masson trichro me staining	 (a)Unmodified BC, (b)Unmodified BC+BMP-2, (c)Heparin-AEMA-BC+BMP-2
Micro CT 3D images	 (a)Unmodified BC, (b)Unmodified BC+BMP-2, (c)Heparin-AEMA-BC+BMP-2

○ 2차 년도 연구수행 결과

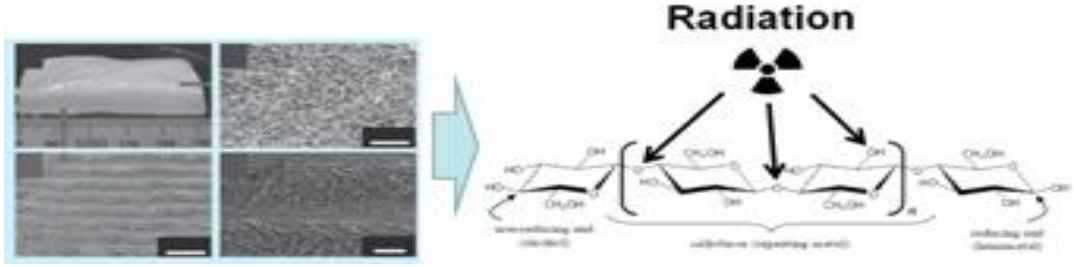
본 세부과제의 2차년도 연구목표는 방사선을 이용한 바이오셀룰로오스의 생분해성도 조절 및 표면처리 기술 개발로서, 본 연구에서는 방사선의 선량 변화에 따른 생분해성 조절이 가능한 치과용 흡수성치주조직재생유도막을 제조할 수 있는 획기적인 '방사선 이온화에너지 기반 생분해성 조절 기술'을 개발 하였고, 또한, 방사선 기술을 이용하여 구조적인 차폐막 기능과 동시에 골형성단백질의 서방출이 가능한 헤파린 도입된 바이오셀룰로오스 차폐막을 개발 하였고, 관련 연구내용을 의료공학 분야 SCI저널에 출판하였음.

(가) 방사선 이용 바이오셀룰로오스의 생분해성 조절 확립

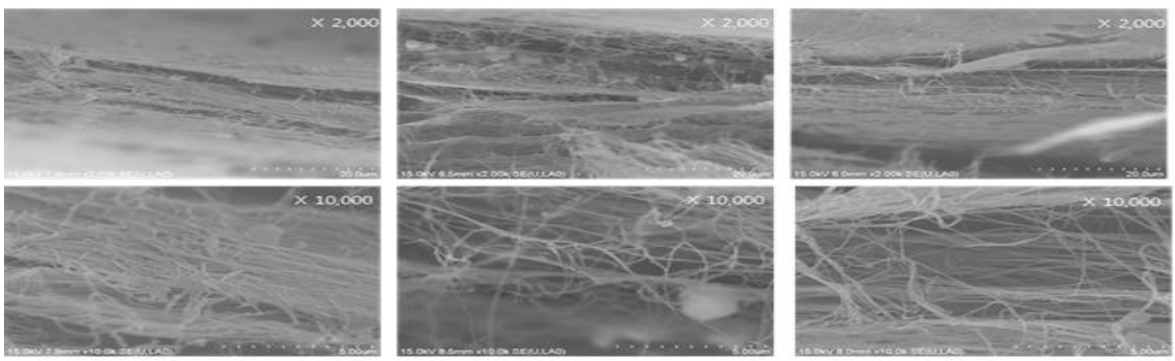
◦ 방사선 이용 바이오셀룰로오스의 구조적 특성 변화 분석

- 바이오셀룰로오스의 미세구조를 관찰한 결과 바이오셀룰로오스의 미세구조는 셀룰로오스 섬유다발의 밀도가 높은 층이 적층되어 있으며 층 사이로 층을 이루는 셀룰로오스 섬유다발 보다 낮은 밀도의 셀룰로오스 섬유들로 연결되어 있는 것을 확인할 수 있다. 방사선 조사 선량이 높아질수록 층간 거리와 셀룰로오스 섬유 사이의 공간이 확장되는 것을 확인할 수 있다. 또한 방사선 조사 조건에 의한 구조 차이를 확인 한 결과 **건조 < 증류수 담침 < PBS 담침**의 조건 순으로 층간 거리와 셀룰로오스 섬유 사이의 공간이 확장되는 것을 확인할 수 있다. 따라서 방사선 조사 조건 및 방사선 선량에 따라 바이오셀룰로오스의 미세 구조를 제어할 수 있고 이러한 구조적 변화는 바이오세룰로오스의 기계적 강도 및 물성에 영향을 미칠 것으로 사료됨.

방사선 선량에 따른 박테리아 셀룰로오스의 구조적 특성 평가

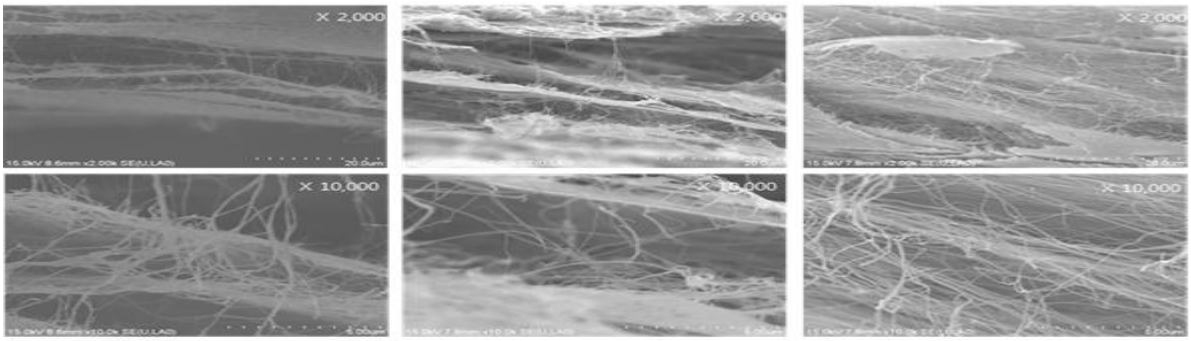


방사선 조사전 바이오셀룰로오스 차폐막의 담침 용액별 단면구조



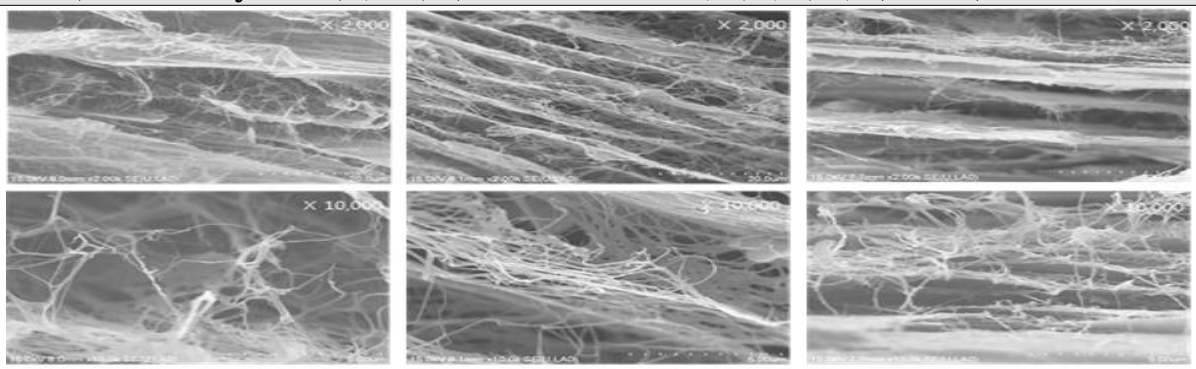
건조 상태 조사(0 kGy) PBS 담침 조사(0 kGy) 증류수 담침 조사(0 kGy)

방사선 (25kGy) 조사후 바이오셀룰로오스 차폐막의 담침 용액별 단면구조



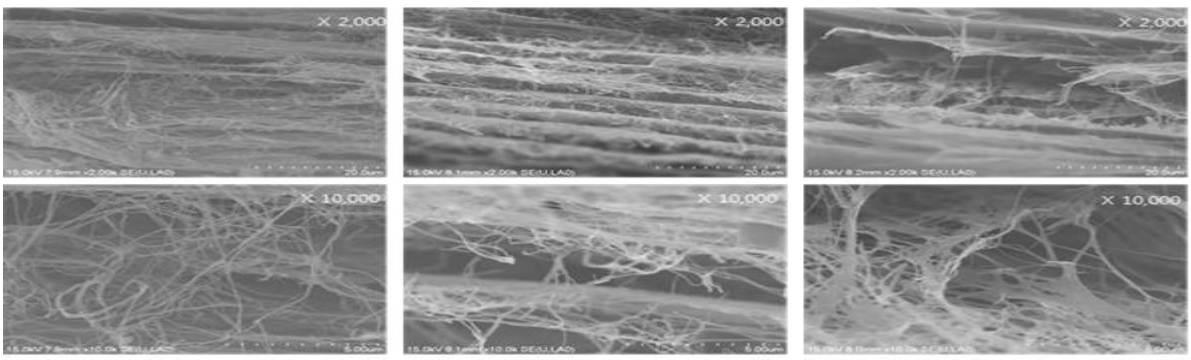
건조 상태 조사(25 kGy) PBS 담침 조사(25 kGy) 증류수 담침 조사(25 kGy)

방사선 (50kGy) 조사후 바이오셀룰로오스 차폐막의 담침 용액별 단면구조



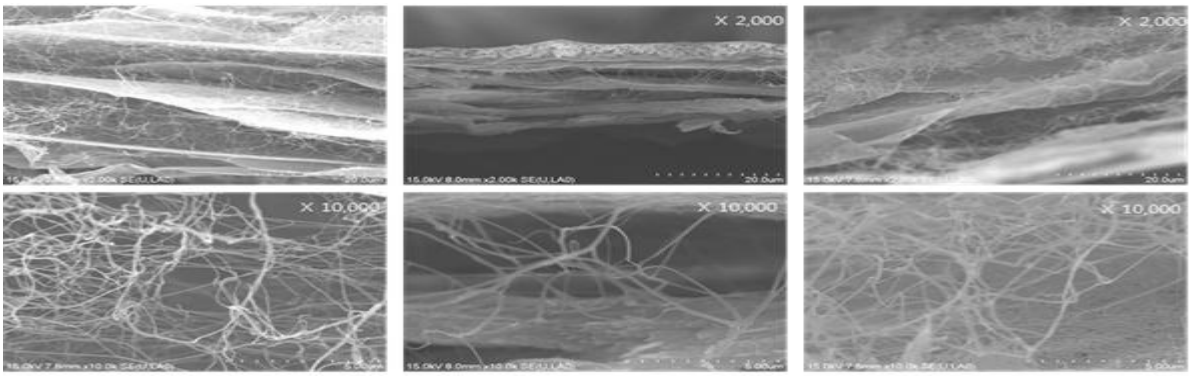
건조 상태 조사(50 kGy) PBS 담침 조사(50 kGy) 증류수 담침 조사(50 kGy)

방사선 (100kGy) 조사후 바이오셀룰로오스 차폐막의 담침 용액별 단면구조



건조 상태 조사(100 kGy) PBS 담침 조사(100 kGy) 증류수 담침 조사(100 kGy)

방사선 (300kGy) 조사후 바이오셀룰로오스 차폐막의 담침 용액별 단면구조

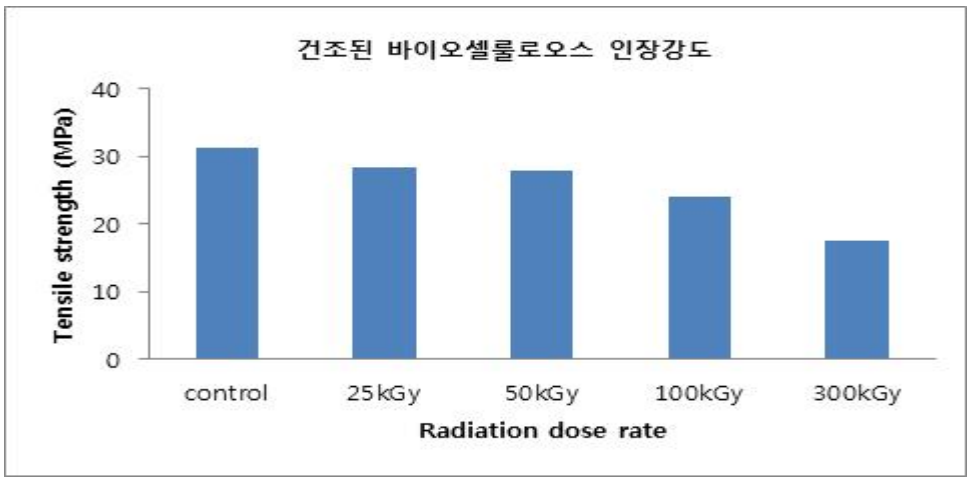


건조 상태 조사(100 kGy) PBS 담침 조사(100 kGy) 증류수 담침 조사(100 kGy)

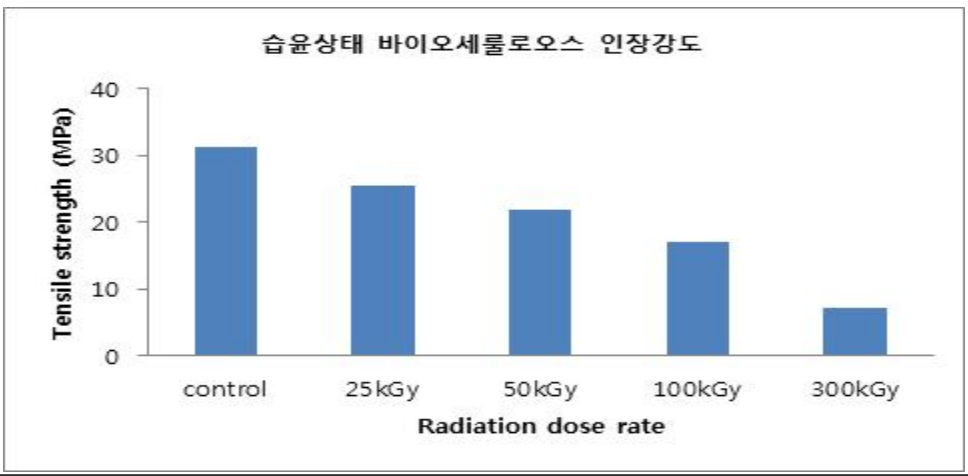
◦ 방사선 이용 바이오셀룰로오스의 기계적 특성 평가

- 상기 미세구조분석(SEM)을 통해 바이오셀룰로오스의 미세구조를 확인한 결과 방사선 조사 조건 및 방사선 조사 선량에 따른 구조적 변화를 확인할 수 있었으므로 기계적 강도 평가를 실시하여 구조적 변화에 뜨른 바이오셀룰로오스의 물성 평가를 실시하였다. 방사선 조사 선량이 증가할수록 박테리아셀룰로오스의 인장강도는 감소하는 것을 확인할 수 있다. 또한 방사선 조사 조건에 따른 인장강도 측정 결과에서 볼 수 있듯이 **건조 < 증류수 담침 <PBS 담침**의 조건 순으로 물성 변화가 큰 것을 확인할 수 있음. 따라서 바이오셀룰로오스의 미세구조 분석(SEM) 결과와 마찬가지로 증류수와 PBS에 담침한 상태로 방사선 조사를 실시하였을 때 방사선 조사 선량이 높아질수록 바이오셀룰로오스의 물성 변화가 큰 것을 확인할 수 있다. 이러한 결과는 방사선 조사 시 PBS와 증류수 침지로 인해 셀룰로오스의 가수분해를 유도하는 요인이 되었으며, 방사선 조사의 의해 polysaccharide의 분자량이 감소한다는 연구[10] 결과를 통해 유추해 볼 때, 방사선 조사 선량이 높아지면서 셀룰로오스의 분자량이 감소되어 물성이 저하된 것으로 사료됨.

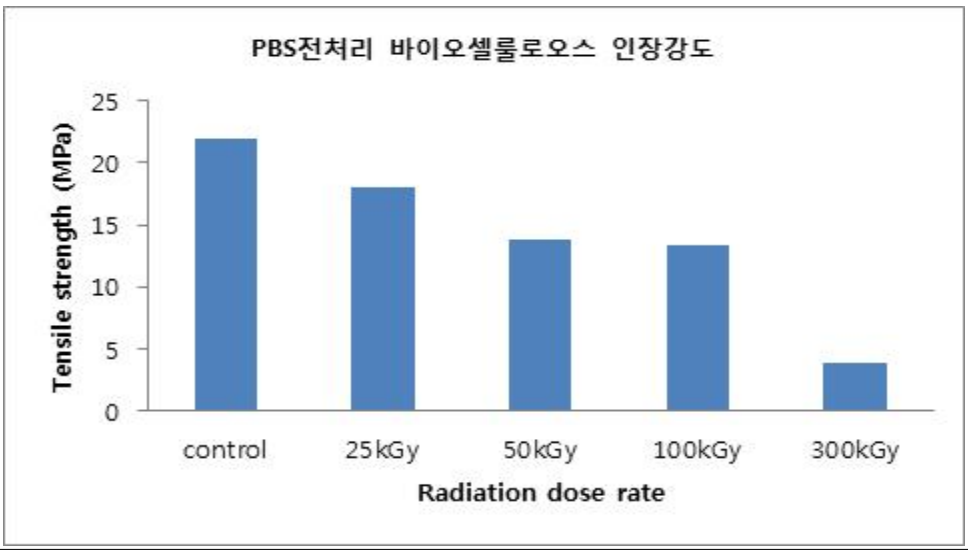
방사선 조사 선량별 건조된 바이오셀룰로오스 차폐막의 인장강도



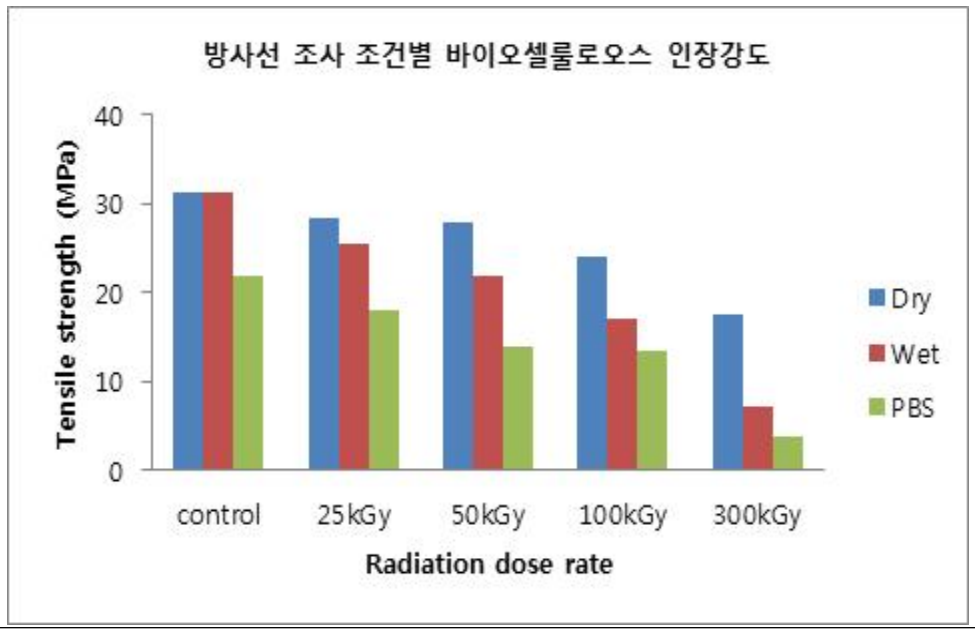
방사선 조사 선량별 증류수 함유 바이오셀룰로오스 차폐막의 인장강도



방사선 조사 선량별 PBS 함유 바이오셀룰로오스 차폐막의 인장강도



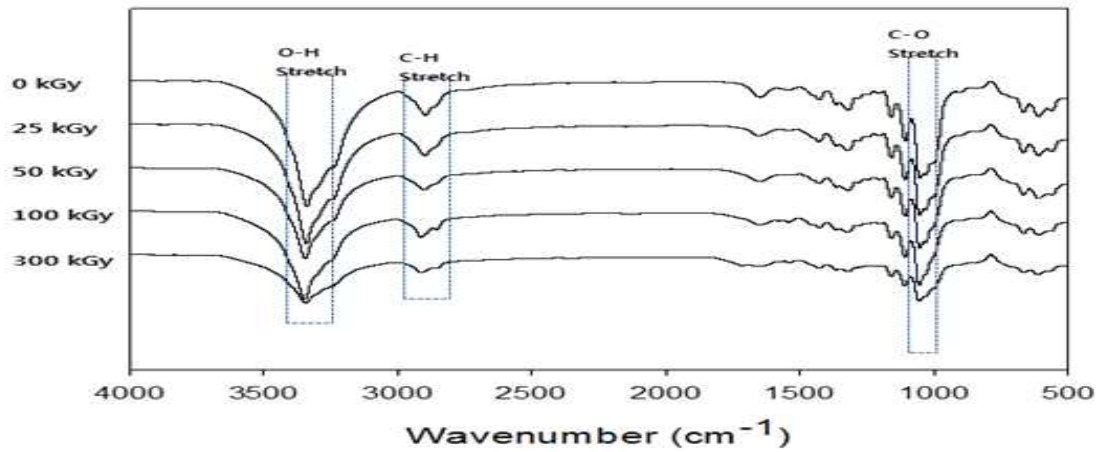
방사선 조사 선량별/담침액별 바이오셀룰로오스 차폐막의 인장강도



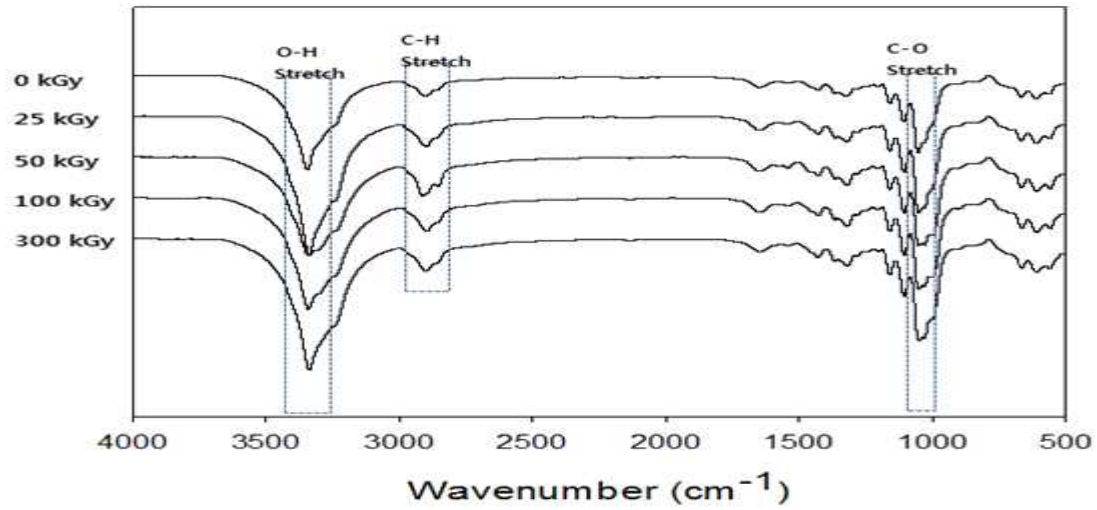
◦ 방사선 이용 무기룸 코팅 바이오셀룰로오스(BC) 표면의 화학적 특성 평가

- 하이드록실 아파타이트(HA)가 코팅 된 BC의 화학적 표면 특성을 ATR-FTIR을 이용하여 분석을 하였다. 그림 2에서 보는 바와 같이 3400 cm^{-1}에서 BC 의 -OH stretching 피크와 2900 cm^{-1} 에서 C-H stretching 피크가 나타나며 전자선을 조사한 이후에도 크게 변하지 않는 것을 확인 할 수 있다. 반면 SBF 용액에 의해 HA가 코팅된 BC의 경우 HA 코팅에 의해 -OH stretching 피크가 감소하는 것을 확인 할 수 있으며, HA의 PO_4^{3-} bending 피크를 1105, 1028, 600 cm^{-1}에서 확인 할 수 있으므로 BC에 HA가 코팅 된 것을 확인 할 수 있음.

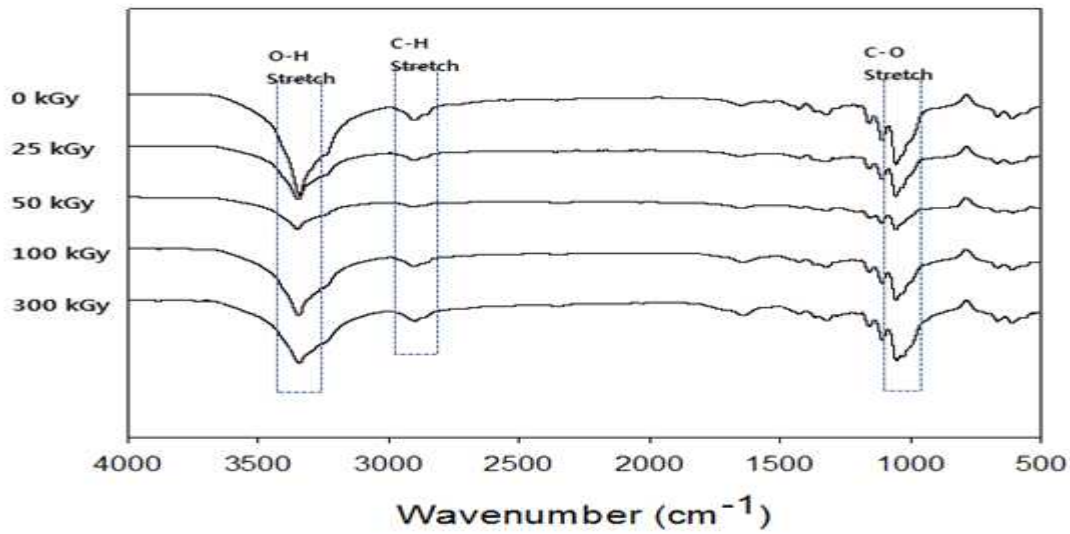
방사선 조사시 건조상태의 바이오셀룰로오스 표면의 화학적 특성 분석



방사선 조사시 증류수에 침지한 바이오셀룰로오스 표면의 화학적 특성 분석



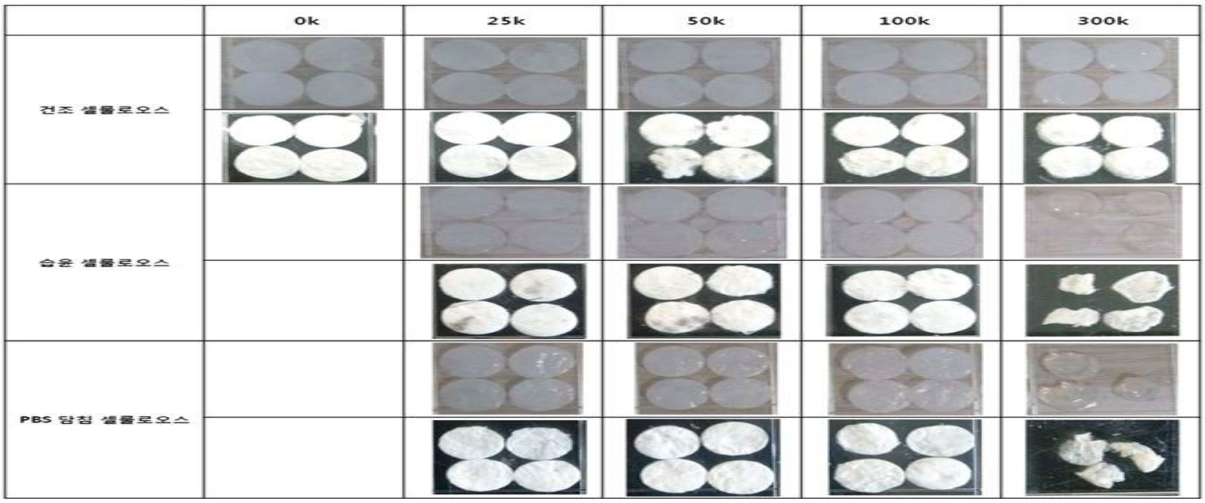
방사선 조사시 PBS 용액 바이오셀룰로오스 표면의 화학적 특성 분석

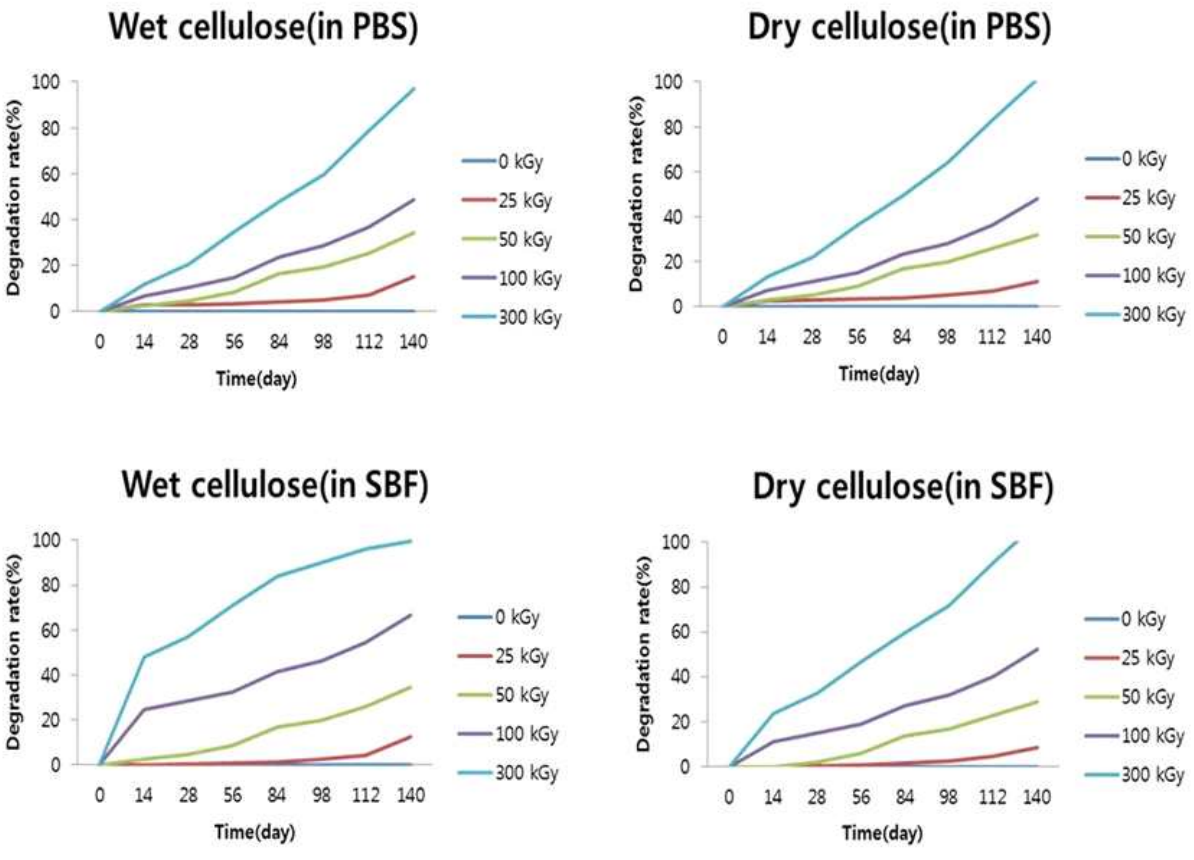


◦ 방사선 이용 바이오셀룰로오스의 생체외 생분해성 평가

- 방사선 조사시 건조 및 습윤 상태에서 바이오셀룰오로스의 생체외 분해성 평가에서는 건조 상태에서는 선량이 증가 하더라도 형태변화는 없었지만, 습윤 상태에서 조사된 바이오셀룰로오스는 시간이 지날수록 형태가 감소되는 것을 관찰하였음. 특히, PBS용액보다 SBF용액에 담침된 바이오셀룰로오스가 형태 감소 및 무게 변화가 뚜렷하게 감소되는 것을 확인하였음.

방사선 선량에 따른 박테리아 셀룰로오스의 생체외 생분해성 평가



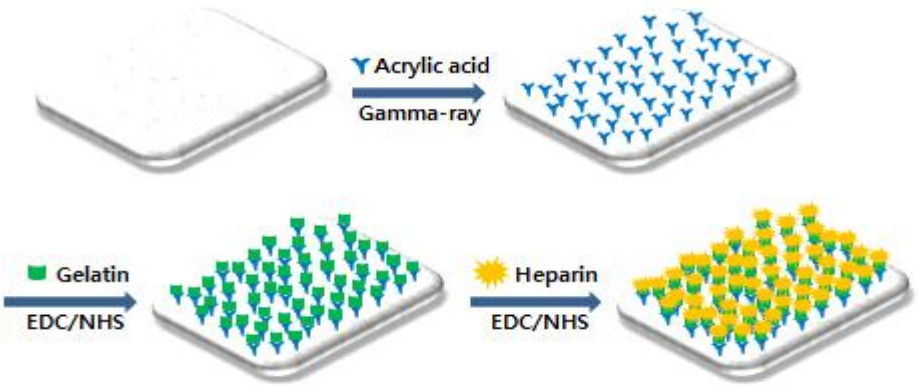


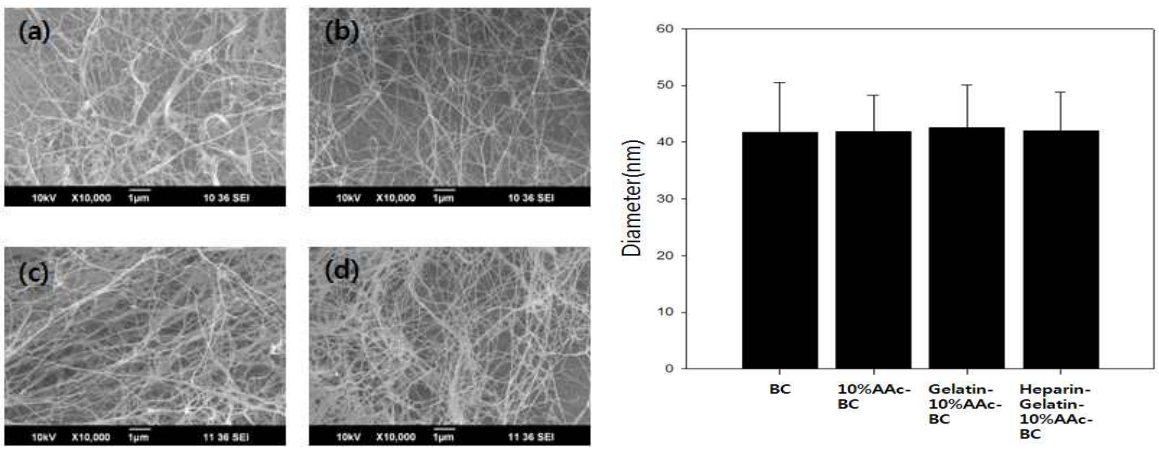
(나) 방사선 이용 바이오셀룰로오스의 성장인자 방출용 표면 처리 기술 확립

◦ 방사선 이용 바이오셀룰로오스의 헤파린 표면 처리 기술 확립

- Gluconacetobacter hansenii TL-2C에 의해 30℃에서 14일간 배양되어 제조된 BC 나노섬유를 동결 건조하여 표면에 방사선을 조사하여 AAc를 도입 하고 gelatin과 heparin을 도입하여 전자현미경으로 관찰하였다. 전자현미경 사진에서 보이는 바와 같이 표면에 아무 처리도 하지 않은 BC (a)와 감마선을 이용하여 AAc를 도입한 AAc-BC (b) AAc-BC 나노섬유에 EDC/NHS 반응을 이용하여 gelatin을 도입시킨 gelatin-AAc-BC (c) AAc-BC 나노섬유에 gelatin 도입 후 추가로 heparin을 도입시킨 heparin-gelatin-AAc-BC (d) 의 표면은 개질 전의 BC 나노섬유와 동일한 다공성 나노섬유 형태를 유지하며 약 40nm의 섬유로 이루어져 있는 것을 확인 할 수 있다. 하지만 섬유의 직경을 측정한 결과 도입된 AAc와 gelatin 그리고 heparin은 전체적인 나노섬유의 직경에 영향을 미치지 않았다. 방사선 조사 기술을 이용한 방법에서는 구조적인 변화 없이 아주 얇은 두께의 개질 방법에 우수하다는 것을 확인하였음.

헤파린이 도입된 박테리아 셀룰로오스의 골조직공학용 지지체로서의 개발



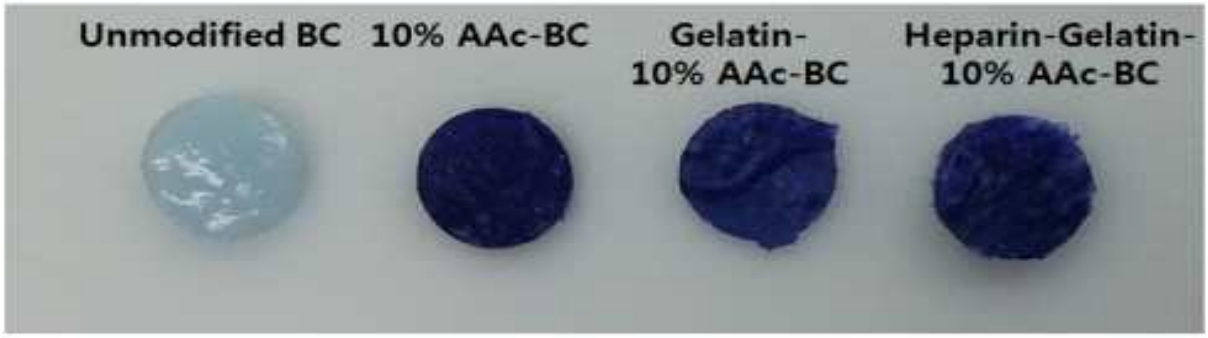


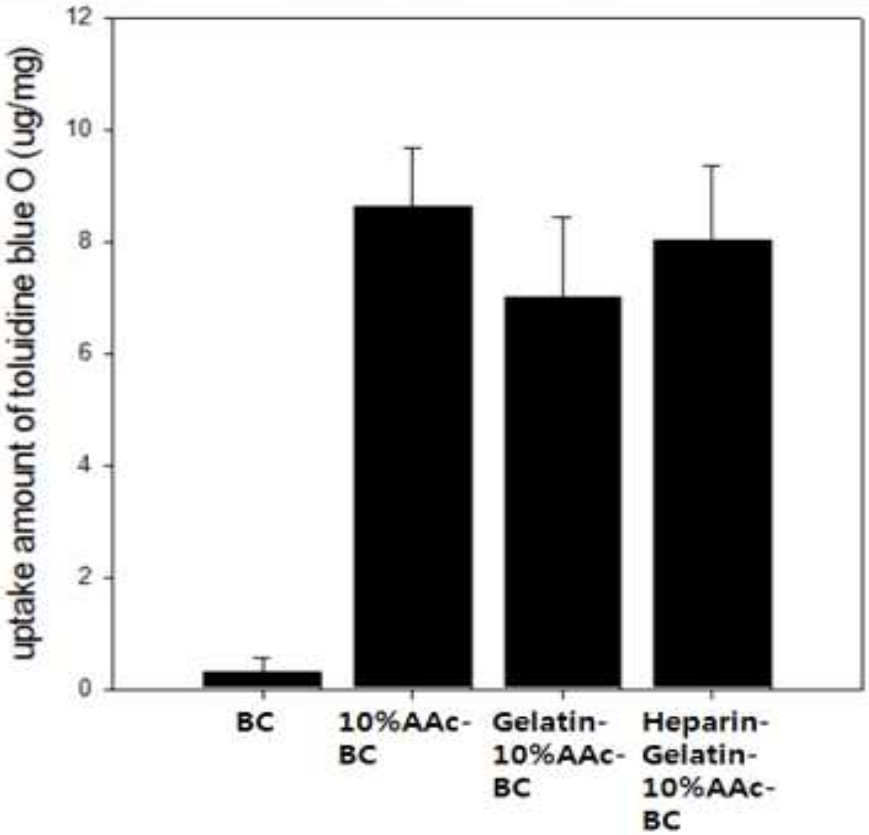
◦ 방사선 이용 heparin이 도입된 박테리아 세룰르로오스의 특성분석

- BC 나노섬유에 도입된 AAc와 반응하는 TBO를 UV-visible spectrometer(630nm)로 확인하였다. BC 나노섬유는 AAc이 도입되지 않았기 때문에 푸른색 염색이 되지 않은 반면, AAc-BC 나노섬유는 AAc가 도입이 되어 카르복실 그룹을 지니고 있기 때문에

카르복실 그룹과 반응하는 TBO가 염색이 되어 푸른색을 보였다. 또한 BC와 AAc-BC 나노섬유에 염색된 TBO양은 각각 0.0195±0.1384, 6.3827±0.7710(μg mg^{-1})으로 측정되었으며, AAc-BC 나노섬유는 BC 나노섬유에 카르복실 그룹을 가진 AAc가 균일하게 방사선을 이용하여 결합되었다는 것을 확인할 수 있다. 이러한 결과는 이전에 PLCL 나노섬유와 필름에 AAc를 결합한 결과와 같다는 것을 확인 할 수 있음.

헤파린이 도입된 박테리아 셀룰로오스의 Toluidine blue O(TBO) 염색 및 정량 결과

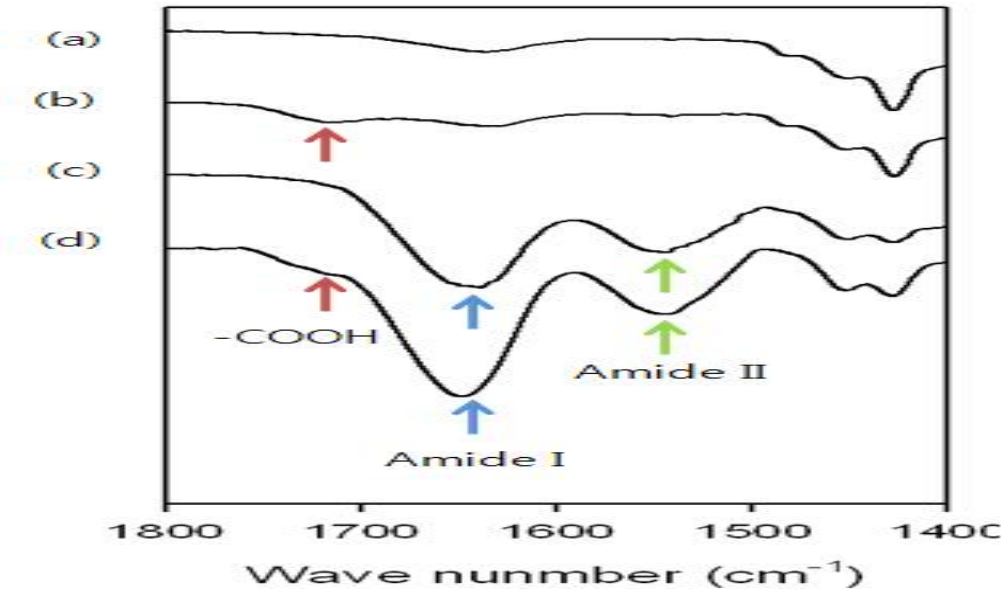




- BC 나노섬유의 표면특성의 변화를 분석한 ATR-FTIR 그래프이다. AAc-BC 나노섬유의 AAc가 지니고 있는 카르복실 그룹을 확인한 결과 카르복실 그룹의 피크인 1,720 cm^{-1}에서 확인하여 AAc가 도입이 되었다는 결과를 확인 할 수 있었다. 또한 Gelatin을 도입시킨 Gelatin-AAc-BC 나노섬유는 1,650 cm^{-1}, 1,550 cm^{-1}에서 amide(Ⅰ), amide(Ⅱ) 피크가 확인되어 AAc-BC 나노섬유에 Gelatin이 추가로 도입이 되었다는 결과를 확인 할 수 있었다 . Gelatin-AAc-BC 나노섬유에 heparin을 추가로 도입한 Heparin-gelatin-AAc-BC 나노섬유에서도 amide(Ⅰ), amide(Ⅱ) 피크가 확인 되었으며,

heparin의 카르복실 그룹도 확인 할 수 있었다. 이러한 결과를 바탕으로 BC 나노섬유에 감마선을 이용하여 AAc를 도입 하고 EDC/NHS 반응을 이용하여 gelatin과 heparin을 성공적으로 도입하였음을 확인할 수 있음.

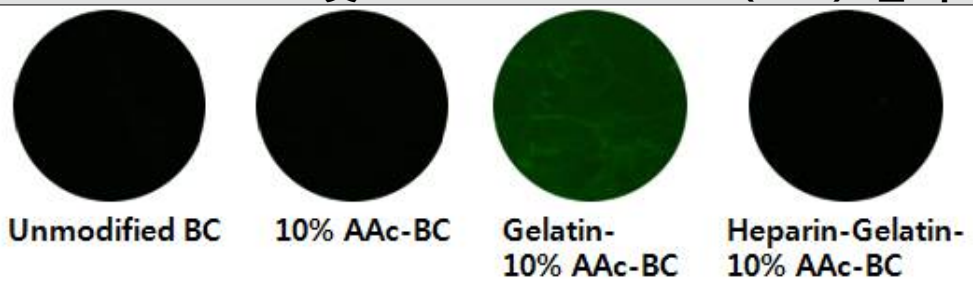
감쇠 전반사 적외선 분광 (ATR-FTIR) 분석



ATR-FTIR spectra of BC(a), 5% AAc-BC(b), gelatin-5% AAc-BC(c), heparin-gelatin-AAc-BC(d) nanofivers.

- AAc-BC 나노섬유에 도입된 gelatin은 fluorescamine으로 gelatin에 있는 아민 그룹을 염색하여 광학 현미경으로 확인하였다. Fluorescamine은 아민그룹과 반응하여 녹색형광을 나타낸다. BC, AAc-BC, Heparin-gelatin-AAc-BC 나노섬유는 아민그룹이 존재하지 않기 때문에 녹색형광이 나타나지 않는 반면 Gelatin-AAc-BC 나노섬유에서 gelatin이 아민그룹을 가지고 있기 때문에 녹색형광이 나타나는 것을 확인 할 수 있어서 gelatin이 도입되어 있는 것을 확인 할 수 있었음.

Fluorescamine 및 Toluidine blue O (TBO) 염색

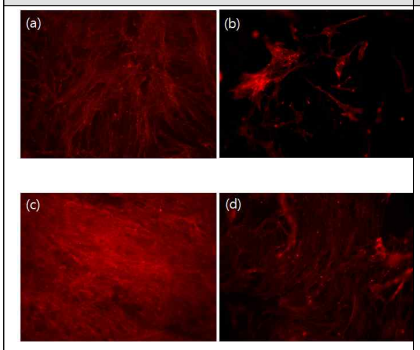
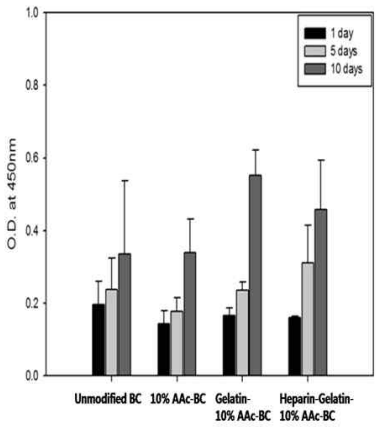
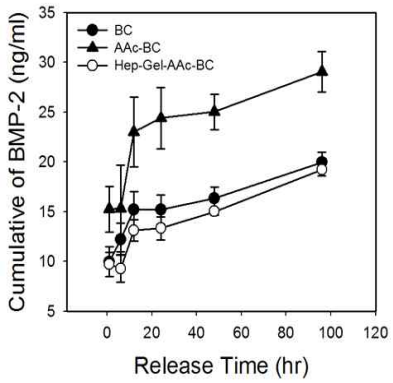


◦ 방사선 이용 heparin이 도입된 박테리아 셀룰로오스의 In vitro 평가

- 지지체 표면에 증식한 세포의 증식을 관찰하기 위해서 세포 접종 8일 후 형광현미경으로 관찰한 결과dhk 같이 아무 처리도 하지 않은 박테리아셀룰로오스 지지체보다 AAc와 gelatin, heparin에 의해 표면이 개질된 지지체에서 세포 부착 및 증식이 잘 이루어지고 있음을 관찰할 수 있었다. 특히 형광현미경 분석결과에서는 gelatin-AAc-BC 지지

체 표면에서 세포가 가장 많이 부착되고 증식되고 있음을 확인할 수 있었으나 heparin-gelatin-AAc-BC 지지체에서 오히려 세포의 부착이 gelatin-AAc-BC 지지체보다 낮아졌음을 확인하였는데 이는 heparin의 도입으로 인해 세포부착 리간드가 감소되어 세포의 부착을 방해하는 요소가 되었을 것으로 사료됨.

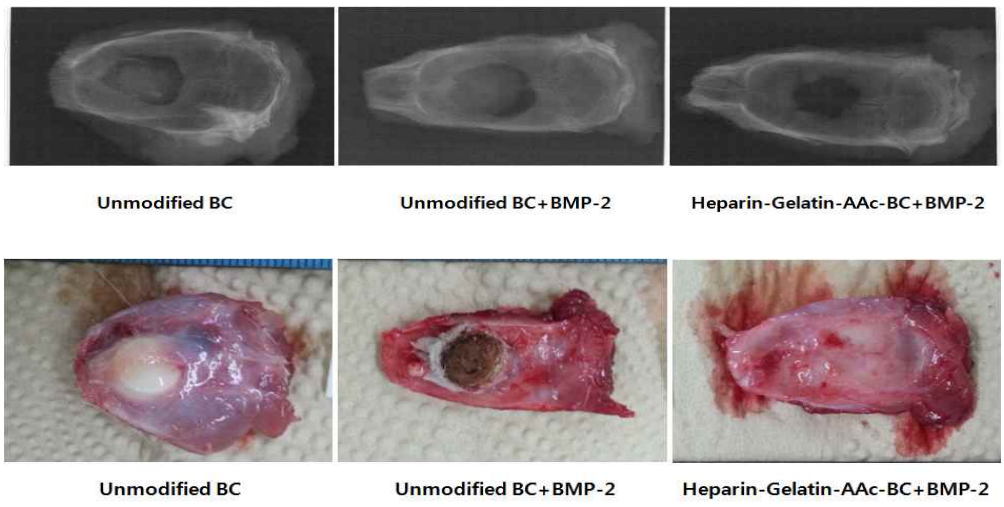
세포 배양 및 약물 방출 분석

F-actin staining	CCK-8 assay	Release test
 Fluorescent images of spreading hMSC onto unmodified BC (a), AAc-BC (b), gelatin-AAc-BC (c), heparin-gelatin-AAc-BC(d).		

◦ 방사선 이용 heparin이 도입된 박테리아 셀룰로오스의 In vivo 평가

- 골이식 후 8주째에 실험동물(SD rat)을 희생시키고 대퇴골을 채취하여 X-ray 분석을 실시하였다. 분석결과 대조군에 비해 heparin과 gelatin이 도입된 차폐막에서 유의적으로 높은 골재생이 관찰되었음.

Fluorescamine 및 Toluidine blue O (TBO) 염색



○ 3차 년도 연구수행 결과

본 세부과제의 3차년도 연구목표는 방사선을 이용한 바이오셀룰로오스의 생물학적 안저성 시험 평가 개발로서, 본 연구에서는 방사선에 따른 생분해성 조절이 가능한 치과용 흡수성치주조직재생유도막을 제조하였고, 관련 연구내용을 의료공학 분야 SCI저널 출판 및 KTL에서 생물학적 안전성 시험을 통해 적합 판정을 받았음.

(가) 방사선 이용 바이오셀룰로오스 차폐막 제조 및 생물학적 안전성 시험

◦ 방사선 이용 바이오셀룰로오스의 생물학적 안전성 시험 진행

- 임상 시험 진행을 위한 방사선 이용 바이오셀룰로오스의 생물학적 안전성 시험 항목 중 세포독성시험, 피내반응시험, 감작성시점, 급성독성시험, 발열성시험, 유전독성시험, 유(AMES Test), 유전독성시험(소핵시험), 13주 피하이식 아만성독성시험 등 8개 항목에 대한 시험 결과 적합 판정을 받음.

ktl 한국산업기술시험원 Korea Testing Laboratory

시험 · 검사성적서

(105) 면중 (1) 면

발행번호		제 16-002325-03-1 호	접수번호	제 16-002325-03 호
검사 완료일		2016-07-04	접수 연월일	2016-06-30
제품명(모델명)		CB-1520	제조(수입)일 (제조번호)	2015-12-03 (CB-0505-F1203)
유형 · 재질 · 품목명		흡수성치주조직재생유도재	유통(품질유지)기한	제조일로부터 2년
의뢰자	성 명	김종경	업체명	한국원자력연구원
	소재지	대전광역시 유성구 대덕대로 989번길 111(덕진동) (전화번호:063-570-3065 팩스번호:042-861-7340 전자우편:ymlim71@kaeri.re.kr)		
제조원	업체명	(주)쿠보텍		
	제조국	대한민국		
	소재지	광주광역시 북구 첨단벤처소로 37번길 50		
제조 의뢰원	업체명	한국원자력연구원		
	제조국	대한민국		
	소재지	전라북도 정읍시 금구길 29		
시험 · 검사 목적	식품 등, 축산물	[ ] 수입검사 [ ] 검사명령검사 [ ] 수거검사 [ ] 자가품질위탁검사 [ ] 기타( )		
	의약품	[ ] 수입검사 [ ] 검사명령검사 [ ] 품질검사 [ ] 기타( )		
	한약	[ ] 수입검사 [ ] 검사명령검사 [ ] 품질검사 [ ] 기타( )		
	의료기기	[ ] 검사명령검사 [ ] 수거검사 [V] 제조 · 수입품목허가(신고)용검사 [ ] 품질검사 [ ] 기 타 ( )		
	화장품	[ ] 검사명령검사 [ ] 품질검사 [ ] 기타( )		
시험기준		신청자 시험기준에 의함		

시험 · 검사 항목 및 결과(후면참조)

종합판정 : 적합 시험검사원 : 이종찬 시험검사책임자 : 공석경

※ 위 판정은 의뢰된 시험 · 검사 항목만을 대상으로 한 것입니다.
※ 지면이 부족한 경우 시험 · 검사 항목 및 결과란은 별지로 작성 가능합니다.
※ 검사결과를 광고하거나 용기 · 포장 등에 표시할 때에는 시험 · 검사성적서 전체 내용을 모두 표시하여야 합니다.
※ 본 성적서의 시험결과는 상기 신청자로부터 제공된 시험품에만 적용되며, 본원의 사전 서면승인 없이는 본 성적서의 전부 혹은 일부를 복사하여 사용할 수 없음.

「식품 · 의약품분야 시험 · 검사 등에 관한 법률」 제11조제2항 및 같은 법 시행규칙 제12조제4항제1호에 따라 위와 같이 시험 · 검사성적서를 발급합니다.

2016년 07월 04일

붙임 : 시험항목별 시험검사결과 1부.

한국산업기술시험원장

FP601-02-08 08389 서울특별시 구로구 디지털로26길 87 http://www.ktl.re.kr

관련절 (번호)	시험 · 검사 항목 및 기준	시험·검사결과 및 비고	판 정 P F N/A
생물학적 안전성에 관한 시험			
1	**세포독성시험 (MEM Elution Test)** ISO 10993-5:2009, Tests for in vitro cytotoxicity에 따라 시험할 때, 기준에 적합하여야 한다.	[첨부 1] 참조	(V) ( ) ( )
2	**피내반응시험** ISO 10993-10:2010, 6.4 Animal intracutaneous (intradermal) reactivity test항에 따라 시험할 때, 기준에 적합하여야 한다.	[첨부 2] 참조	(V) ( ) ( )
3	**감작성시험** ISO 10993-10:2010, 7.5 Guinea pig maximization test (GPMT)에 따라 시험할 때, 기준에 적합하여야 한다.	[첨부 3] 참조	(V) ( ) ( )
4	**급성독성시험** ISO 10993-11:2006, 5 Acute systemic toxicity 항에 따라 시험할 때, 기준에 적합하여야 한다.	[첨부 4] 참조	(V) ( ) ( )
5	**발열성시험** ISO 10993-11:2006 Annex F. Information on material-mediated pyrogens & USP <151> Pyrogen Test & 식품의약품안전처 고시 제 2014-194호, 대한민국약전 [별표 5] 일반시험법 15. 발열성물질시험법 항에 따라 시험할 때, 기준에 적합하여야 한다.	[첨부 5] 참조	(V) ( ) ( )
6	**유전독성시험(AMES Test)** ISO 10993-3:2014, 5.2.2 Test battery & OECD Guideline 471:1997 & ISO/TR 10993-33:2015, 6 Bacterial reverse mutation assay에 따라 시험할 때, 기준에 적합하여야 한다.	[첨부 6] 참조	(V) ( ) ( )
7	**유전독성시험(소핵시험)** ISO10993-3:2014, 5.2.2 Test battery & ISO/TR 10993-33:2015, 10 In vivo mammalian erythrocyte micronucleus test 에 따라 시험할 때, 기준에 적합하여야 한다.	[첨부 7] 참조	(V) ( ) ( )
8	**13주 피하이식 아만성독성시험** ISO 10993-11 : 2006 Tests for systemic toxicity & ISO 10993-6 : 2007 Tests for local effects after implantation에 따라 피하에 13주간 이식하여 시험할 때, 기준에 적합하여야 하며 이식부위의 조직병리학적 결과는 Slight irritant 이하여야 한다. 또한 대조물질과 비교하였을 때, 시험물질에 의한 것이라고 의심되는 유의할만한 전신적 독성변화는 관찰되지 않아야 한다.	[첨부 8] 참조	(V) ( ) ( )

P:적합, F:부적합, N/A:해당무

(2) 제 1 협동 ((주)자담)

○ 1차 년도 연구수행 결과

본 협동과제의 1차년도 연구목표는 감귤 바이오셀룰로오스의 의료용 대량 배양 공정을 개발하여 이를 대량 생산화 할 수 있는 체계를 확립하고 흡수성 치주조직재생유도막의 사업화를 위해 의료기기생산에 적합한 설비 및 기반 구축으로서, 본 1차년도 연구에서는 의료용 바이오셀룰로오스의 대량 생산에 적합한 배양 배지 조성과 조건을 확립하여 국내 특허 등록을 완료하였으며 (국내 특허 등록 10-1425586 최적의 탄소원을 이용한 글루콘아세토박터 속 KCG326 균주에 의한 박테리아셀룰로오스의 제조방법, 국내 특허 등록 10-1435582 최적의 배지 조성을 이용한 글루콘아세토박터 속 KCG326 균주에 의한 박테리아셀룰로오스의 제조 방법, 국내 특허 10-1435580 최적의 탄소원과 질소원을 이용한 글루콘아세토박터 속 KCG326 균주에 의한 박테리아셀룰로오스의 제조 방법) 흡수성치주조직재생유도막 대량 생산 공정 개발 및 공정 관리, 제품 Q·C 체계를 확립하였으며, 임상시험 평가를 위한 제품의 생물학적 안전성에 대한 시험 평가를 실시하여 제품의 안전성을 확보하였음. 또한 바이오셀룰로오스를 원료 형태로 화장품 및 식품 원재료로 판매하여 본 과제 수행에 따른 직·간접 매출 약 6,000만원의 매출 성과를 달성함.

특 허 증
CERTIFICATE OF PATENT

특 허 제 10-1435586 호 (PATENT NUMBER)
출원번호 (APPLICATION NUMBER) 제 2012-0137111 호
출 원 일 (FILING DATE:YY/MM/DD) 2012년 11월 29일
등 록 일 (REGISTRATION DATE:YY/MM/DD) 2014년 08월 22일

발명의명칭 (TITLE OF THE INVENTION)
최적의 탄소원을 이용한 글루콘아세토박터 속 KCG326 균주에 의한 박테리아 셀룰로오스의 제조 방법

특허권자 (PATENTEE)
등록사항란에 기재

발명자 (INVENTOR)
등록사항란에 기재

위의 발명은 「특허법」에 따라 특허등록원부에 등록되었음을 증명합니다.
(THIS IS TO CERTIFY THAT THE PATENT IS REGISTERED ON THE REGISTER OF THE KOREAN INTELLECTUAL PROPERTY OFFICE.)
2014년 08월 22일

특허청장 김 영

특 허 증
CERTIFICATE OF PATENT

특 허 제 10-1435582 호 (PATENT NUMBER)
출원번호 (APPLICATION NUMBER) 제 2012-0137119 호
출 원 일 (FILING DATE:YY/MM/DD) 2012년 11월 29일
등 록 일 (REGISTRATION DATE:YY/MM/DD) 2014년 08월 22일

발명의명칭 (TITLE OF THE INVENTION)
최적의 배지 조성을 이용한 글루콘아세토박터 속 KCG326 균주에 의한 박테리아 셀룰로오스의 제조 방법

특허권자 (PATENTEE)
등록사항란에 기재

발명자 (INVENTOR)
등록사항란에 기재

위의 발명은 「특허법」에 따라 특허등록원부에 등록되었음을 증명합니다.
(THIS IS TO CERTIFY THAT THE PATENT IS REGISTERED ON THE REGISTER OF THE KOREAN INTELLECTUAL PROPERTY OFFICE.)
2014년 08월 22일

특허청장 김 영

특 허 증
CERTIFICATE OF PATENT

특 허 제 10-1435580 호 (PATENT NUMBER)
출원번호 (APPLICATION NUMBER) 제 2012-0137123 호
출 원 일 (FILING DATE:YY/MM/DD) 2012년 11월 29일
등 록 일 (REGISTRATION DATE:YY/MM/DD) 2014년 08월 22일

발명의명칭 (TITLE OF THE INVENTION)
최적의 탄소원과 질소원을 이용한 글루콘아세토박터 속 KCG326 균주에 의한 박테리아 셀룰로오스의 제조 방법

특허권자 (PATENTEE)
등록사항란에 기재

발명자 (INVENTOR)
등록사항란에 기재

위의 발명은 「특허법」에 따라 특허등록원부에 등록되었음을 증명합니다.
(THIS IS TO CERTIFY THAT THE PATENT IS REGISTERED ON THE REGISTER OF THE KOREAN INTELLECTUAL PROPERTY OFFICE.)
2014년 08월 22일

특허청장 김 영

(가) 치과용 바이오셀룰로오스 대량 배양 공정 개발

① 바이오셀룰로오스 대량 배양 및 재현성 확보

◦ 바이오셀룰로오스 대량 배양을 연속적으로 실시하여 제품의 공극 및 두께, 물성 특성이 균일한 공정 조건 확립과 생산 단계에서의 품질 관리를 통해 제품의 안정적 생산 공정을 확립하였음

㈎ 바이오셀룰로오스 배양 배지 조성에 따른 생산성 및 물성 특성 평가

- 치과용 바이오세룰로오스 대량 배양을 위해 배양 배지에 첨가하는 원료에 따른 생산성 및 생산된 제품의 특성 비교 평가

㈏ 탄소원 함량 조절에 의한 바이오셀룰로오스 생산 수율 및 특성 평가

- 탄소원(Yeast extract, 주정, 초산)의 함량에 따른 수율 및 특성 평가 실시 결과 아래 표와 같이 Yeast extract 및 주정고 초산의 함량을 각각 120, 450, 600 kg 첨가하였을 경우 가장 높은 생산 수율을 확인할 수 있었으나 생산된 세룰로오스의 표면 및 두께의 불균일한 문제 발생

	1차 생산	2차 생산	3차 생산
정제수(kg)	112.6	112.6	112.6
감귤착즙액(kg)	4800	4800	4800
포도당(kg)	2400	2400	2400
Yeast extract(kg)	90	120	90
주정(kg)	450	600	90
초산(kg)	450	600	450
생산 수율(%)	50.6	74.8	64.7
물성 특성	셀룰로오스 표면 및 두께 불균일	1차 생산 조건에 비해 수율은 증가 표면 및 두께 불균일	2차 생산 조건에 비해 수율 감소 표면 및 두께 불균일

㈐ 탄소원을 제외한 감귤 착즙액 및 정백당 포도당의 첨가량에 따른 바이오셀룰로오스 생산 수율 및 특성 평가

	1차 생산	2차 생산
착즙액(%)	10.0	4
정백당(%)	5.0	0
포도당(%)	4.0	2
정제수	80.9	91.9
Yeast extract(%)	0.1	0.1
주정(%)	1.0	1.0
초산(%)	1.0	1.0
생산 수율(%)	100	98
물성 특성	모든 배양 트레이에서 바이오셀룰로오스의 형성이 원활히 이루어졌으며, 셀룰로오스 표면 및 두께가 균일함	비교적 양호한 생산 수율을 확인할 수 있었으나 두께 및 표면의 불균일에 의한 불량 증가

㈑ 바이오셀룰로오스 배양 시 온도조건에 따른 생산 수율 및 특성 평가

- 대량 배양 시설(배양실)에서의 온도를 조절하여 설정된 온도(28, 30 ℃)에 따른 생산 수율 및 특성 평가 결과 아래 표와 같이 온도 변화에 따른 생산 수율 및 특성 변화는 큰 차이를 보이지 않음.

	1차 생산(28℃)	2차 생산(30℃)
착즙액(%)	10.0	10.0
정백당(%)	5.0	5.0

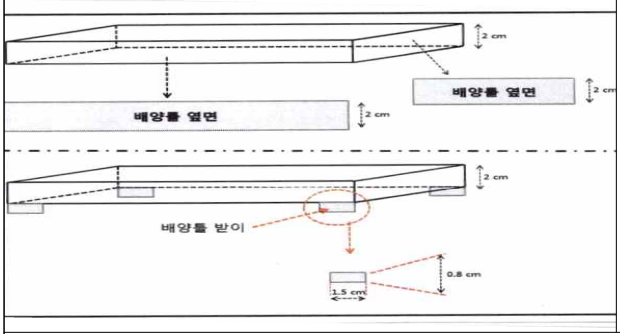
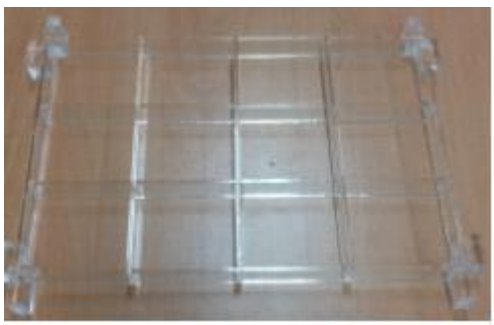
포도당(%)	4.0	4.0
정제수	80.9	80.9
Yeast extract(%)	0.1	0.1
주정(%)	1.0	1.0
초산(%)	1.0	1.0
생산 수율(%)	100	98
물성 특성	모든 배양 트레이에서 바이오셀룰로오스의 형성이 원활히 이루어졌으며, 셀룰로오스 표면 및 두께가 균일함	28℃와 거의 유사한 수율을 나타냄 표면 특성 및 두께 균일함

② 바이오셀룰로오스 대량 배양 트레이 개발 및 생산성 평가

◦ 바이오셀룰로오스 대량 배양을 통한 생산성 향상을 위해 배양 트레이를 제작하였으며 제작한 배양 트레이의 시험 배양을 통해 생산성을 평가함.

㈎ 대량 생산용 배양 트레이 제작 및 생산 수율 평가

- 바이오셀룰로오스의 대량 배양을 위해 생산 수율 및 공정 효율성을 감안하여 배양 트레이를 설계하였으며 설계 제작 후 셀룰로오스의 배양을 실시한 결과 생산성 향상 및 공정 효율성이 높아짐. 또한 표면 및 두께가 균일하게 생산됨.

배양 트레이 설계	배양 트레이 제작
	

1개의 배양트레이에서 6 × 6 cm 크기의 바이오세룰로오스를 12개 배양할 수 있음. 1개의 바이오셀룰로오스는 총 12개의 차폐막 제조 가능하며 배양 트레이에서 총 생산할 수 있는 차폐막의 수는 총 144개임

대량 생산용 배양 트레이 생산 바이오셀룰로오스 사진	

㈏ 최적 배양배지 조성과 배양 온도에서의 반복 생산에 대한 재현성 평가

- 총 4회 반복 생산을 통해 최적 배지와 온도 조건에서 배양한 결과 동일한 품질의 바이오셀룰로오스를 생산함. 바이오셀룰로오스의 대량 생산 공정 확립 완료

1차 생산(07월 05일)	2차 생산(07월 17일)	3차 생산(08월 05일)	4차 생산(08월 16일)
두께: 7mm ± 0.5mm 무게: 60g ± 5g 표면특성: 균일	두께: 7mm ± 0.5mm 무게: 60g ± 5g 표면특성: 균일	두께: 7mm ± 0.5mm 무게: 60g ± 5g 표면특성: 균일	두께: 7mm ± 0.5mm 무게: 60g ± 5g 표면특성: 균일

(나) 바이오셀룰로오스 대량 배양 트레이 개발 및 생산성 평가

◦ 바이오셀룰로오스 생산에 따른 품질관리 및 흡수성치주조직재생유도재 완제품 제조 공정 개발을 통해 시험 평가용 샘플 제작

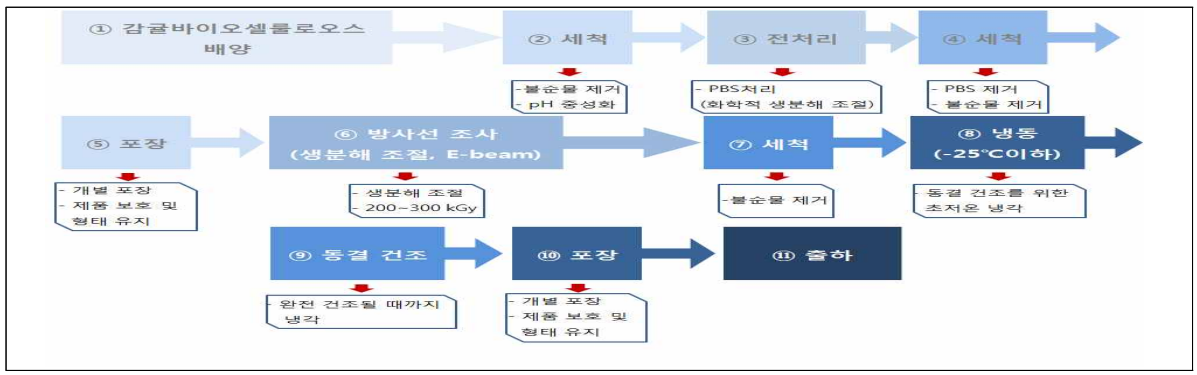
① 바이오셀룰로오스 품질관리(미생물 검사)

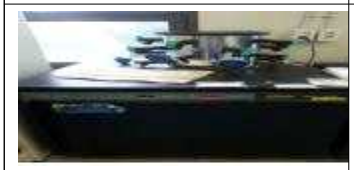
- 바이오셀룰로오스 대량 생산 후 생산된 셀룰로오스에 대한 미생물 검사(미생물한도 시험의 기준 및 시험방법) 실시하여 품질관리 실시
- 시험샘플: 바이오셀룰로오스(레토르트 멸균(120 ℃, 30 min)

시험균	합격 기준	배지
생균	100(fulg(ml))	Tryptone soy Agar
진균	10(fulg(ml))	Potato Dextrose Agar
대장균	음성	Maconkey Agar
살모넬라균	음성	XLD Agar
녹농균	음성	Cetrimide Agar
황색포도상구균	음성	Vogel Johnson Agar

② 흡수성치주조직재생유도막 제조 공정 개발

- 총 11단계의 제조 공정을 거쳐 최종 제품인 흡수성치주조직재생유도막을 제조하였으며, 하기 차폐막 제조 공정에 따라 제조된 차폐막에 대한 물성 평가 및 동물 실험용 시험 샘플로 사용함.



공정사진	공정도	기간	공정내용
	배합-배양	6일	* 착즙액배지 * ST 균주 * 7~8 mm배양
	수확-세척	1일	* 탈색작업 (이산화염소) * 열수세척 * 증류수세척
	포장	1일	* 포장작업후 레토르트멸균 박스포장 작업 후 발송
	1차방사선조사 (GEV)	4~5일 -발송2일 -방사선 조사1일 -수신2일	* 200~300 kGy 방사선조사
	세척-메쉬압착-냉동	1일	* 방사선조사한 셀룰로오스확인 후 세척작업 * 스텐메쉬를 이용 압착 후 급속 냉동작업 (12시간)
	**동결건조**	1일	* 24~48시간 건조상태 및 제품 양에 따라 건조 시간 결정
	압착-성형	1~2일	* 압착 후 1.5cmX2.0cm 크기로 성형
	포장	1일~2일	* 벌크포장 or 1차, 2차, 3차 포장(내방사선 및 열변이 낮은 포장지 사용)
	2차방사선조사 (GEV)	4~5일 -발송2일 -방사선조사1일 -수신2일	* 2차방사선 조사 - 멸균
	제품	20~24일 소요	* 최종 제품까지 20~24일 소요됨

(다) 임상시험 실시를 위한 임상 GMP 인증 컨설팅 및 생물학적 안전성 시험 진행

◦ 3차년도부터 시행될 임상시험 및 임상 시험용 시제품 제작을 위해 GMP 인증 컨설팅 업체(이레경영컨설팅)로부터 임상 GMP 인증에 대한 컨설팅을 의뢰하였으나 계획이 변경되어 인증 절차는 실시하지 못함. 2차년도부터 (주)쿠보텍의 과제 참여로 임상 GMP 인증은 (주)쿠보텍에서 실시할 계획임. 임상시험 전 제품의 안전성 확보 및 임상 시험 승인을 받기 위해 생물학적 안전성 평사를 공인 시험기관인 한국화학융합시험연구원(KTR)에 의뢰하여 시험 평가 실시 중.

① 임상 GMP 컨설팅 견적서

eR 이레경영컨설팅
e-Re Management Consulting

전 화 : 02) 959-9004
팩 스 : 02) 959-9005

서울시 노원구 월계동 635-4 그랑디 오피스텔 615호 홈페이지 : www.erms.co.kr

견 적 서 (임상GMP)

지도일정

2014년 02월 05일(유효기간 발행일로부터 30일)

구분	2 주	4 주	6 주	8 주	지도내용
1 단계	기술문서				기술문서 작성 / 제품진단
2 단계		회사표준 수립			GMP 요구사항 강의 회사표준 수립
3 단계			개발서류 준비		개발서류 작성
4 단계				임상GMP	임상GMP 신청 / 인증심사 실시 심사후 인증서는 약 3주 소요됨

소요예산

제 안 내 용		비 고
업 체 명	(주)자담	1) 결재조건(현금지급, 부가세 별도) 착수시 40%, 심사신청시 40% 인증서 수령시 20% 지급 2) 회사 직원의 적극적인 협조가 필수적인 사항이며, 제품 개발 담당자의 참여가 필수적인 사항임. 3) 지도를 위하여 방문하는 교통비 및 숙박비 포함 금액임(약 6~8회). 4) GMP 심사비 150만원과 심사원 교통비는 별도임.
컨설팅 범위	임상GMP 인증	
컨설팅 제품	흡수성치주조직재생유도막 [C23030.01 4등급]	
컨 설 팅 비	8,000,000 원	
교통비등	1,600,000 원	
합 계 금 액	**9,600,000 원**	

(주)이레경영컨설팅 대표 직인생략

② 생물학적 안전성 시험 의뢰서 및 견적서

- 총 7개 항목의 생물학적 안전성 검사 의뢰 (KTR)
- 시험 평가 결과는 10월 말 완료

견적서	시험 의뢰서

견적서

KTR 한국화학융합시험연구원

150-038 서울특별시 영등포구 영등포동 8가 88-2
8Ga, 88-2, Yeongdungpo-Dong, Yeongdungpo-Gu, Seoul, 150-038, KOREA
www.ktr.or.kr

받으실 : 이레경영컨설팅	
보냄 : 의료기술팀 이상수	Tel: 02-2164-0182 Fax: 02-2069-2976
날짜 : 2014년 07월 07일	전체매수(표지포함) : 1 매

제목 : 흡수성치주조직재생유도재 견적입니다.

1. 귀사의 무궁한 발전을 기원합니다.
2. 귀사에서 문의하신 내용에 대하여 아래와 같이 알려드리오니 참고하시기 바랍니다.
3. 항목별 금액 및 시료수량

시 험 항 목	수 수 료 (원)	시험기간	시료량 (1mL)	비 고
급성독성	1,000,000	21 일	8 g (240㎠)	ISO 10993-11
세포독성	1,200,000	25 일	4 g (120㎠)	ISO 10993-5
감작성	4,400,000	50 일	18 g (600㎠)	ISO 10993-10
피내반응	600,000	25 일	4 g (120㎠)	ISO 10993-10
발열성	1,000,000	25 일	18 g (600㎠)	USP 29
유전독성 (복귀돌연변이)	1,800,000	35 일	2 g (60㎠)	ISO 10993-3
유전독성 (소핵시험)	5,000,000	45 일	2 g (60㎠)	ISO 10993-3
소 계	15,000,000			
VAT	1,500,000			
합 계	16,500,000			

가. 한국화학융합시험연구원 (등록번호 : 107-82-14534)
나. 기술문서(시험규격) 등의 자료변경에 따라 수수료가 변경될 수 있음.

한국화학융합시험연구원

시험 의뢰서

KTR 의료기기시험의뢰서

MT K 8326

결재: 담당 팀장 센터장 / 전결

상 담 ID : 4249414
신 청 일 자 : 2014-09-01
발 급 일 자 : 2014-10-20
처 리 부 서 : 의료용품팀
성적서구분 : 한글
시 료 처 리 : 반환
성적서발송 : 택배용역보고서

한글 / 반환 / 택배

주 소 : 제주특별자치도 서귀포시 토평공단로139번길 39 (토평동)
대 표 자 : 박만용
전 화 번 호 :
팩스번호 :
메 일 주 소 : happy-asj@hanmail.net
휴대번호 : 010-4126-8978
성적서표기업체 : 농업회사법인 (주)자담
무서명성명 : / 안상준
계산서발급업체 : 농업회사법인 (주)자담
계산서담당자 : 이수미 / love39s@hanmail.net / 010-3424-7044

품 목 명 : 흡수성치주조직재생유도재

시험항목	배정 부서명	신청시료	수수료
세포독성시험(용출법)	의료바이오팀	바이오셀룰로오스	1,200,000
피내반응시험	의료용품팀	바이오셀룰로오스	600,000
피부감작성시험(극대화법)	의료용품팀	바이오셀룰로오스	4,400,000
급성독성시험	의료용품팀	바이오셀룰로오스	1,000,000
발열성시험	의료용품팀	바이오셀룰로오스	1,000,000
유전독성시험(미생물복귀돌연변이)	의료바이오팀	바이오셀룰로오스	1,800,000
유전독성시험(소핵시험)	의료바이오팀	바이오셀룰로오스	5,000,000
항 목 계			15,000,000
할인율 및 할인료	0 %		0
항목계(할인료 제외)			15,000,000
기 본 료			0
시 편 료			0
추가 성적서 요금 및 매수		0	0
우 송 료			0

청구 2014. 09. 01.

합 계 : 15,000,000 부가세 (10 %) 1,500,000 총 합 계 : 16,500,000

결제안내: 은행명 국민은행 예금주 한국화학융합시험연구원 입금금액 (VAT포함) 16,500,000
계좌번호 373-01-0022-641 입금확인 및 계산서 문의 ☎ 02)2164-0066
※ 시험은 입금 확인 후 진행되며, 회사명으로 입금해주시기 바랍니다.

정보사항: 제조회사 / 상품명코기 / 주의사항 / 기타 특이사항 및 변경사항

우편발송주소 : 「우:697-860」 「제주특별자치도 서귀포시 토평공단로139번길 39 (토평동)」 「농업회사법인 (주)자담 (박만용) 귀하

상 담 자 : 이상수 서명(인)

○ 2차 년도 연구수행 결과

연구목표는 흡수성치주조직재생유도막 개발을 위한 감귤바이오셀룰로오스의 대량배양 공정 개발로 치과용 차폐막 제조용 감귤바이오셀룰로오스 대량 배양 공정 개발 및 확립과 감귤 바이오세룰로오스 대량 배양 설비 구축, 바이오셀룰로오스 원료 안정성 확보 및 품질관리 체계확립을 통해 흡수성치주조직재생유도막 원료의 안정적 생산을 목표로 함 본 2차년도 연구에서는 흡수성치주조직재생유도막 원료인 바이오셀룰로오스의 대량 생산 체계 확립과 대량 생산 설비를 구축하였으며, 대량 생산 설비에서 생산된 바이오셀룰로오스의 품질 관리 체계 확립하여 안정적인 생산 시스템 구축을 완료함.

(가). 치과용 차폐막 제조용 감귤바이오셀룰로오스 대량 배양 공정 개발 및 확립

◦ 치과용 바이오셀룰로오스의 공극 크기 및 두께 조절 배양 공정 개발

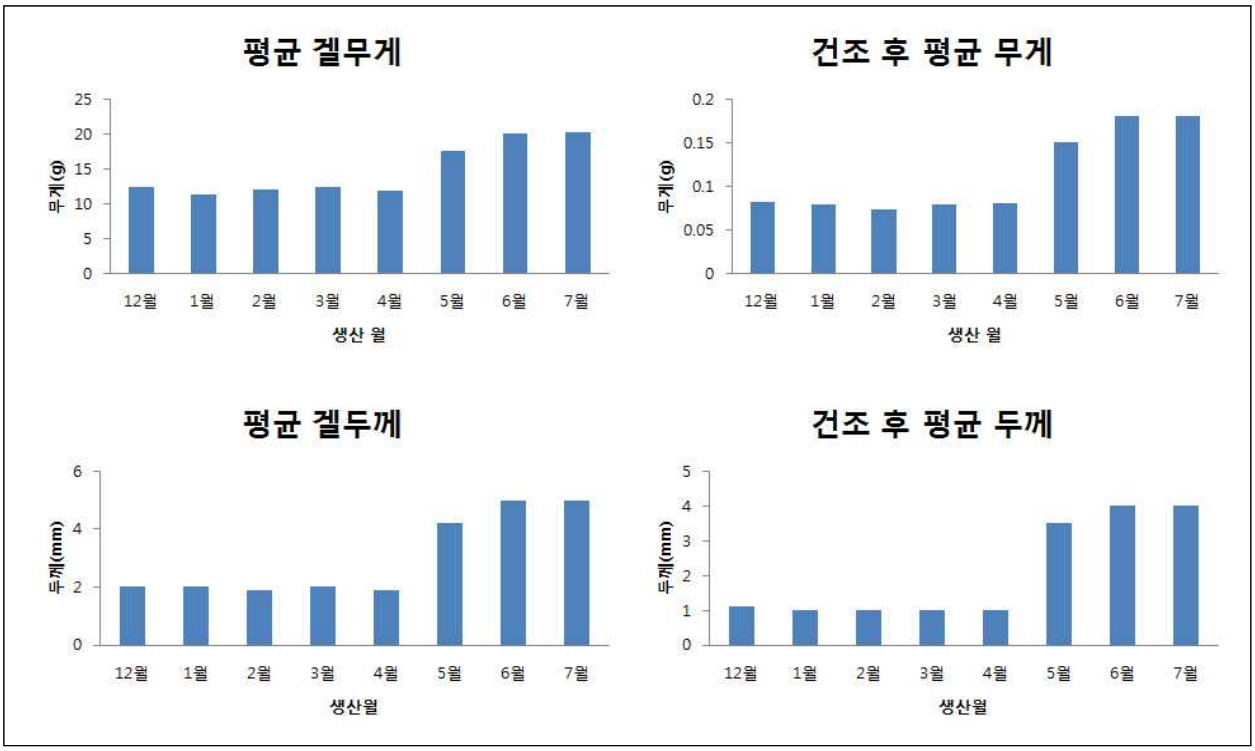
- 1차년도 연구과제 수행의 결과인 셀룰로오스 생산 최적 배지 조건을 바탕으로 동일한 배양 조건하에서 대량 생산 설비에 적용하여 반복 생산 후 결과 비교
- 원료로 사용되는 감귤 바이오셀룰로오스는 본과제의 제 1 협동 (주)자담에서 **2010년 농촌진흥청 국립원예특작과학원의 특허 10-1137766** '감귤 착즙액에서 분리된 신규의 글루콘아세토박터 속 gel-SEA 623-2 균주 및 이를 이용한 셀룰로오스 겔의 제조방법'에 대한 통상 실시권을 획득하였으며, **(주)자담에서는 지속적인 R&D를 통해 2014년 특허 10-1477229** '감귤 부산물을 이용한 박테리아 셀룰로오스의 제조방법'에 대한 특허를 등록하여 원재료 사용에 대한 법적 근거 확보됨

바이오셀룰로오스 생산 공정

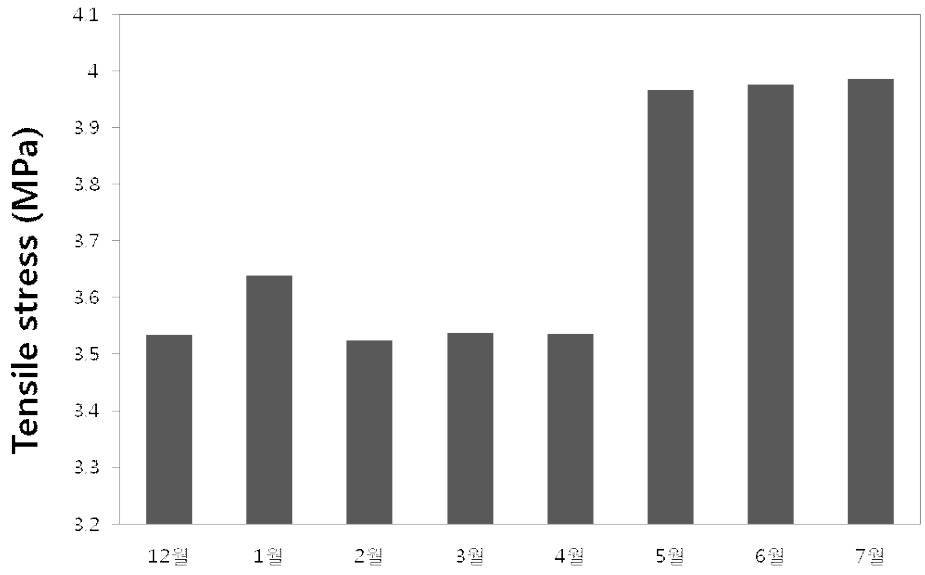
바이오셀룰로오스 최적 배지 조성표

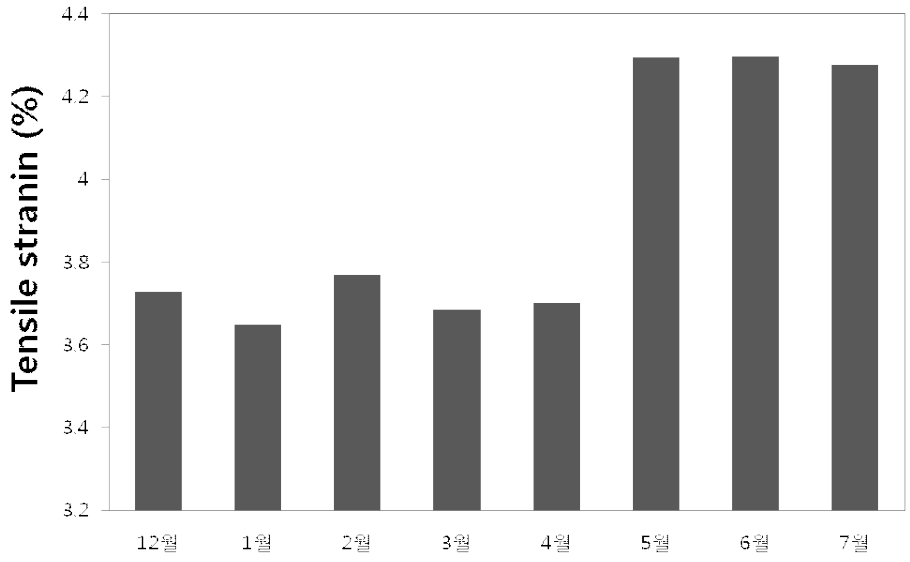
배지 성분	함량
착즙액(%)	10.0
정백당(%)	5.0
포도당(%)	4.0
정제수	80.9
Yeast extract(%)	0.1
주정(%)	1.0
초산(%)	1.0
합 계(%)	100
배양 조건	배양실 온도 범위: 28±2 ℃

- 바이오셀룰로오스 생산 batch 별 무게 및 두께 비교: 본 실험은 월별로 생산된 바이오셀룰로오스의 무게 및 두께를 측정하여 재현성 평가를 실시한 실험으로 셀룰로오스 배양일수에 따라 그 두께와 무게가 변화되는 것을 알 수 있었으며, 동일한 배양기간에는 거의 동일한 두께와 무게를 보임. 12 ~ 4 월까지 배양 일수는 5일이었으나 5월 생산부터는 배양 일을 총 8일로 연장하여 셀룰로오스 두께가 두꺼워짐 7월 이후 생산부터는 동일한 조건으로 배양



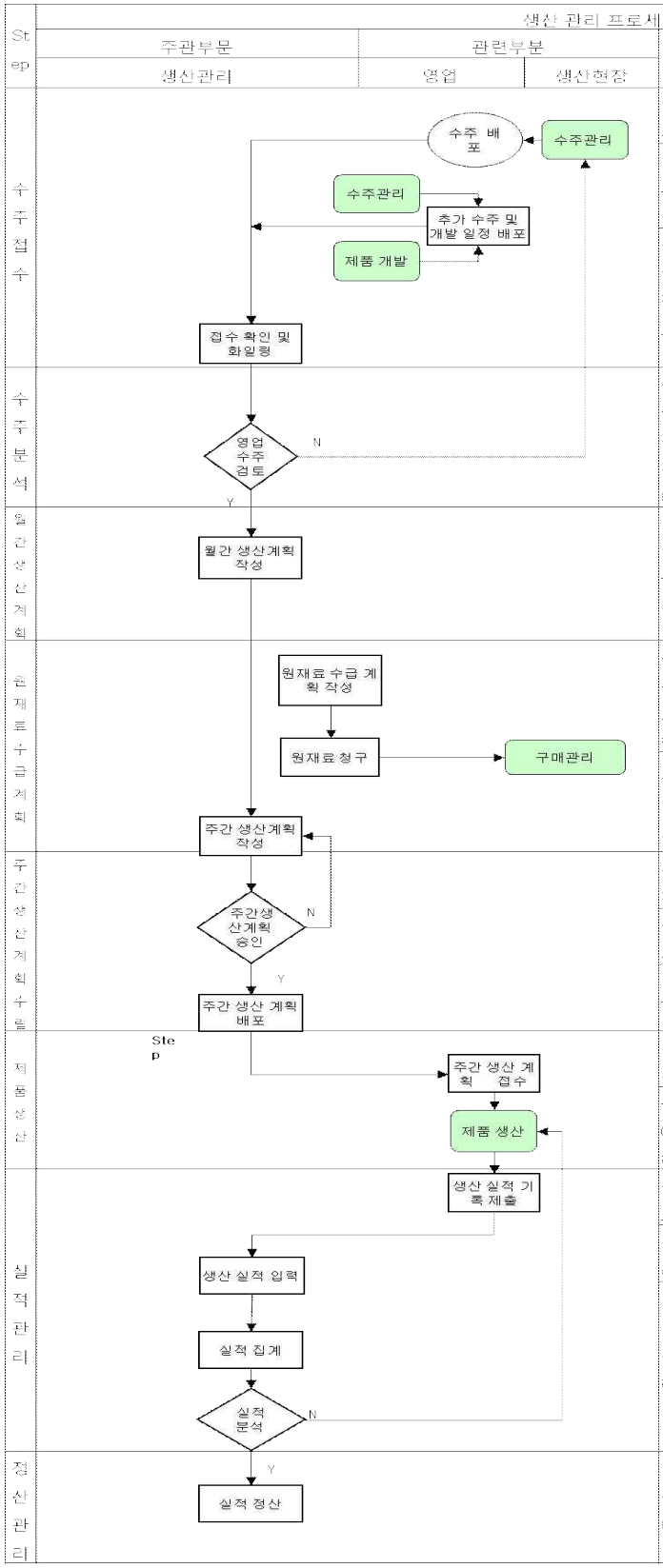
- 생산일별 바이오셀룰로오스 인장강도 비교 : 본 실험은 월별로 생산된 바이오셀룰로오스의 인장강도를 평가한 시험으로 인장강도 측정은 월별 생산 후 바이오셀룰로오스를 동결건조하여 인장강도 시험기 Universal testing machine (Instron Model-5569, Instron, USA)장비로 측정 속도 10 mm/min, 하중은 5 kN으로 하여 측정하였으며 월별로 생산된 바이오셀룰로오스의 기계적 물성 특성을 평가한 결과이다. 시험 결과에서 볼 수 있듯이 배양 기간이 5일인 셀룰로오스의 경우 평균 3.5 MPa 정도의 인장강도를 나타냈으며, 오차범위가 약 0.9 이었으나 배양 기간이 늘어난 5월부터는 3.9 MPa로 인장강도가 증가하였으며 오차범위도 0.12로 크게 감소하여 배양 기간을 8일로 고정하여 바이오셀룰로오스를 생산하는 것이 재현성 확보에 유리함





◦ 의료용 소재로 적합한 고품질 감귤 바이오셀룰로오스 배양 기술을 확립하고 이를 대향 생산 공정에 적용할 수 있도록 공정 및 생산 프로세스를 체계화

- 생산관리 프로세스



◦ 사용 용되에 따라 요구되는 물리적 특성을 부여하여 원료의 가공 및 성형이 용이한 특성을 갖는 배양 조건 확립

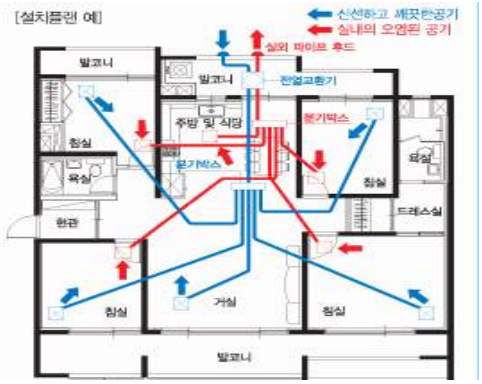
- 흡수성치주조직재생유도막 완제품의 제품 두께는 0.05 mm이며, 무게는 0.017 ± 0.002 g로 건조되지 않은 셀룰로오스의 초기 두께가 약 8 ±0.5 mm 가 되어야만 건조했을 때의 두께가 0.05mm가 됨 따라서 상기 두께를 만족하기 위한 배양 조건 확립

바이오셀룰로오스 배양 두께	온도	습도	배양트레이 규격	배양 기간
8 mm	26 ± 2℃	무관	6 X 6 cm	8일 (계절에 따라 1~2일 정도 유동적임)

(나) 감귤바이오셀룰로오스 대량 배양 설비 구축

◦ 치과용 바이오셀룰로오스 배양공정 Scale up 및 설비 구축

- 바이오셀룰로오스 생산 시 오염 방지 및 온습도 유지를 위해 공조 system 및 클린룸 구축
- 제조시설 관리기준 확립



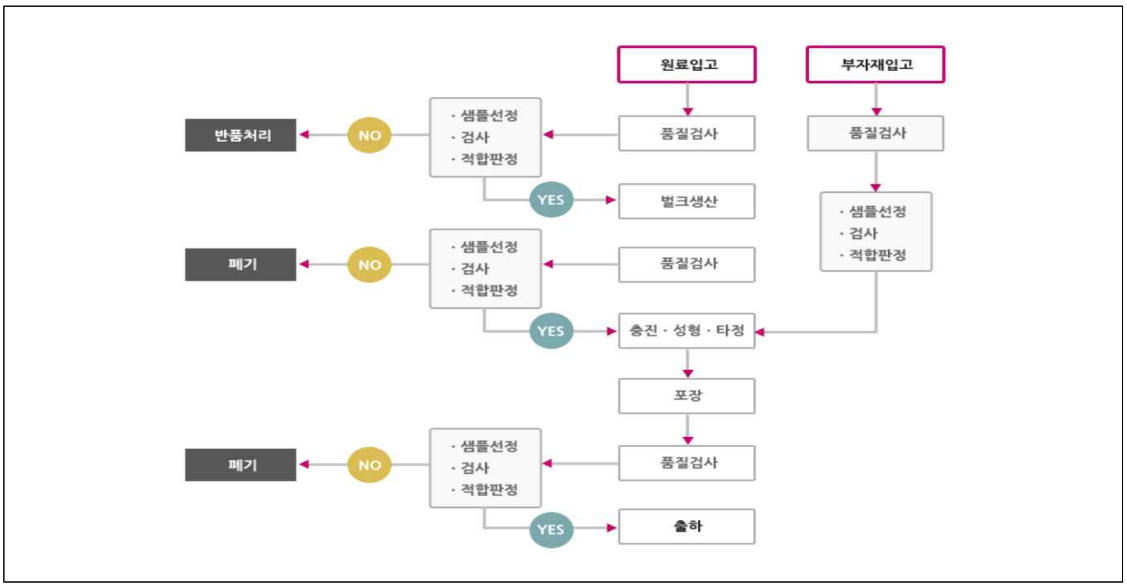
- 제조소 관리기준

항 목			청정도			
			1급	2급	3급	4급
분류기준			미생물실험실	셀룰로오스와 접촉하는 작업실	직접 접촉하지 않는 작업실	일반의 장소
색표시			적색	녹색	황색	백색
해당작업실			-배양액 충전실, 배양실	-원료 청량실 -반제품 보관소	-포장실, 준비실 -원료보관소, 완제품 -보관소, 갱의실	-부자재 보관소 -사무실
구조조건			-CLEAN BOOTH or BENCH -P/F+M/F+H/F -UV등 설치 및 소독시설 -자재 멸균반입	-난류형 CLEAN ROOM -P/F + M/F -수세 및 소독시설 -국소 배기시설	-P/F (보관소제외) -환기장치 -1차 갱의 및 수세 -방서방충설비	-환기장치
양(음)압			양압	양압	-	-
공기순환			20회/시 이상	10회/시 이상	5회/시 이상	배기장치
작업복장			2차 갱의(준무균복)	청결한 작업복/방진복	청결한 작업복, CAP, 실내화	-
온(습)도			26±3℃/70RH 이하	23±3℃/80RH 이하	24±4℃	실온
관리기준	낙하균(개)	세균/진균	10개/h/9㎝ ¢ 이하 (Clean bench는 0개/h/9㎝ ¢)	50개/h/9㎝ ¢ 이하	100개/h/9㎝ ¢ 이하	-
		병원성균/기타	불검출	불검출	불검출	-
	부착균(개)	세균/진균	셀룰로오스와 직접 접촉하는 시설, 기계 기구류: 50cfu/20*20㎠ 셀룰로오스와 직접 접촉하지 않는 시설, 기계 기구류: 200cfu/20*20㎠	셀룰로오스와 직접 접촉하는 시설, 기계 기구류: 50cfu/20*20㎠ 셀룰로오스와 직접 접촉하지 않는 시설, 기계 기구류: 500cfu/20*20㎠	셀룰로오스와 직접 접촉하는 시설, 기계 기구류: 50cfu/20*20㎠ 셀룰로오스와 직접 접촉하지 않는 시설, 기계 기구류: 500cfu/20*20㎠	-
			Clean bench 작업자손: 50cfu/20*20㎠ 작업대: 50cfu/20*20㎠ 벽, 천정, 틈새: 50cfu/20*20㎠	-	-	-
		병원성균/기타	불검출	불검출	-	-
	부유균(개)	세균/진균	20 cfu/㎥ 이하 (Clean bench는 1 cfu/㎥ 이하)	액제, 크림 충전실 : 50 cfu/㎥ 이하 청량실 및 조제 충전 작업장 : 200 cfu/㎥ 이하	-	-
		병원성균/기타	불검출	불검출	-	-

3) 바이오셀룰로오스 원료 안정성 확보 및 품질관리 체계 확립

◦ 실험실 Scale에서 제조된 셀룰로오스 배양 공정을 대량 생산 설비에서 구현 재현성 확보 및 품질관리 체계 확립

-품질관리 프로세스



- 자체 시험성적서 발행을 위한 시험 기준 확립 : 대한약전의 미생물한도시험법 및 적용 범위, 한도기준에 따라 시험 후 자체 시험 성적서 발행

◦ 대량생산 시스템에서 생산된 바이오셀룰로오스 (주)쿠보텍 공급

- 바이오셀룰로오스 생산 단가 책정

◦ 대량생산 시스템에서 생산된 바이오셀룰로오스의 생물학적 안전성 평가 결과

시험 · 검사성적서

발 행 번 호		MTK-008326	접 수 번 호	MTK-008326
검사 완료일		2014년 10월 20일	접수 연월일	2014년 9월 1일
제품명(모델명)		바이오셀룰로오스	제조(수입)일 (제조번호)	- -
유형 · 재질 · 품목명		흡수성치주조직재생유도재	유통(품질유지)기한	-
의뢰자	성 명	박만용	업체명	농업회사법인 (주)자담
	소재지	제주특별자치도 서귀포시 토평공단로139번길 39 (토평동) (전화번호 : 064-733-5001 팩스번호 : 064-733-5001 전자우편 : -)		
제조원	업체명	농업회사법인(주)자담		
	제조국	대한민국		
	소재지	제주특별자치도 서귀포시 토평공단로 139번길 39		
시험 · 검사 목적	식품 등, 축산물	[ ]수입검사 [ ]검사명령검사 [ ]수거검사 [ ]자가품질위탁검사 [ ]기타( )		
	의약품	[ ]수입검사 [ ]검사명령검사 [ ]수거검사 [ ]기타( )		
	한약	[ ]수입검사 [ ]검사명령검사 [ ]수거검사 [ ]기타( )		
	의료기기	[ ]수입검사 [ ]검사명령검사 [■]제조 · 수입품목허가(신고)용검사 [ ]품질검사 [ ]기타( )		
	화장품	[ ]검사명령검사 [ ]품질검사 [ ]기타( )		

시험 · 검사 항목 및 결과

시험 · 검사 항목	시험 · 검사 기준	시험 · 검사 결과	판정	비고
별지 참조	별지 참조	별지 참조	별지 참조	

종합판정: 적합 시험검사원: 김윤주 시험검사책임자: 박상욱

※ 위 판정은 의뢰된 시험 · 검사 항목만을 대상으로 한 것입니다.
※ 지면이 부족한 경우 시험 · 검사 항목 및 결과란은 별지로 작성 가능합니다.
※ 검사결과를 광고하거나 용기 · 포장 등에 표시할 때에는 시험 · 검사성적서 전체 내용을 모두 표시하여야 합니다.

「식품 · 의약품분야 시험 · 검사 등에 관한 법률」 제11조제2항 및 같은 법 시행규칙 제12조제4항제1호에 따라 위와 같이 시험 · 검사성적서를 발급합니다.

2014년 10월 20일

KTR 한국화학융합시험연구원장

KTR KOREA TESTING & RESEARCH INSTITUTE

시험 · 검사성적서

발 행 번 호		MTK-008326	접 수 번 호	MTK-008326
검사 완료일		2014년 10월 20일	접수 연월일	2014년 9월 1일
제품명(모델명)		바이오셀룰로오스	제조(수입)일 (제조번호)	- -
유형 · 재질 · 품목명		흡수성치주조직재생유도재	유통(품질유지)기한	-
의뢰자	성 명	박만용	업체명	농업회사법인 (주)자담
	소재지	제주특별자치도 서귀포시 토평공단로139번길 39 (토평동) (전화번호 : 064-733-5001 팩스번호 : 064-733-5001 전자우편 : -)		
제조원	업체명	농업회사법인(주)자담		
	제조국	대한민국		
	소재지	제주특별자치도 서귀포시 토평공단로 139번길 39		
시험 · 검사 목적	식품 등, 축산물	[ ]수입검사 [ ]검사명령검사 [ ]수거검사 [ ]자가품질위탁검사 [ ]기타( )		
	의약품	[ ]수입검사 [ ]검사명령검사 [ ]수거검사 [ ]기타( )		
	한약	[ ]수입검사 [ ]검사명령검사 [ ]수거검사 [ ]기타( )		
	의료기기	[ ]수입검사 [ ]검사명령검사 [■]제조 · 수입품목허가(신고)용검사 [ ]품질검사 [ ]기타( )		
	화장품	[ ]검사명령검사 [ ]품질검사 [ ]기타( )		

시험 · 검사 항목 및 결과

시험 · 검사 항목	시험 · 검사 기준	시험 · 검사 결과	판정	비고
별지 참조	별지 참조	별지 참조	별지 참조	

종합판정: 적합 시험검사원: 김윤주 시험검사책임자: 박상욱

※ 위 판정은 의뢰된 시험 · 검사 항목만을 대상으로 한 것입니다.
※ 지면이 부족한 경우 시험 · 검사 항목 및 결과란은 별지로 작성 가능합니다.
※ 검사결과를 광고하거나 용기 · 포장 등에 표시할 때에는 시험 · 검사성적서 전체 내용을 모두 표시하여야 합니다.

「식품 · 의약품분야 시험 · 검사 등에 관한 법률」 제11조제2항 및 같은 법 시행규칙 제12조제4항제1호에 따라 위와 같이 시험 · 검사성적서를 발급합니다.

2014년 10월 20일

KTR 한국화학융합시험연구원장

KTR KOREA TESTING & RESEARCH INSTITUTE

시험 · 검사성적서

발 행 번 호		MTK-008326	접 수 번 호	MTK-008326
검사 완료일		2014년 10월 20일	접수 연월일	2014년 9월 1일
제품명(모델명)		바이오셀룰로오스	제조(수입)일 (제조번호)	- -
유형 · 재질 · 품목명		흡수성치주조직재생유도재	유통(품질유지)기한	-
의뢰자	성 명	박만용	업체명	농업회사법인 (주)자담
	소재지	제주특별자치도 서귀포시 토평공단로139번길 39 (토평동) (전화번호 : 064-733-5001 팩스번호 : 064-733-5001 전자우편 : -)		
제조원	업체명	농업회사법인(주)자담		
	제조국	대한민국		
	소재지	제주특별자치도 서귀포시 토평공단로 139번길 39		
시험 · 검사 목적	식품 등, 축산물	[ ]수입검사 [ ]검사명령검사 [ ]수거검사 [ ]자가품질위탁검사 [ ]기타( )		
	의약품	[ ]수입검사 [ ]검사명령검사 [ ]수거검사 [ ]기타( )		
	한약	[ ]수입검사 [ ]검사명령검사 [ ]수거검사 [ ]기타( )		
	의료기기	[ ]수입검사 [ ]검사명령검사 [■]제조 · 수입품목허가(신고)용검사 [ ]품질검사 [ ]기타( )		
	화장품	[ ]검사명령검사 [ ]품질검사 [ ]기타( )		

시험 · 검사 항목 및 결과

시험 · 검사 항목	시험 · 검사 기준	시험 · 검사 결과	판정	비고
별지 참조	별지 참조	별지 참조	별지 참조	

종합판정: 적합 시험검사원: 김윤주 시험검사책임자: 박상욱

※ 위 판정은 의뢰된 시험 · 검사 항목만을 대상으로 한 것입니다.
※ 지면이 부족한 경우 시험 · 검사 항목 및 결과란은 별지로 작성 가능합니다.
※ 검사결과를 광고하거나 용기 · 포장 등에 표시할 때에는 시험 · 검사성적서 전체 내용을 모두 표시하여야 합니다.

「식품 · 의약품분야 시험 · 검사 등에 관한 법률」 제11조제2항 및 같은 법 시행규칙 제12조제4항제1호에 따라 위와 같이 시험 · 검사성적서를 발급합니다.

2014년 10월 20일

KTR 한국화학융합시험연구원장

KTR KOREA TESTING & RESEARCH INSTITUTE

(3) 제 2 협동 (부산대학교)

○ 1차 년도 연구수행 결과

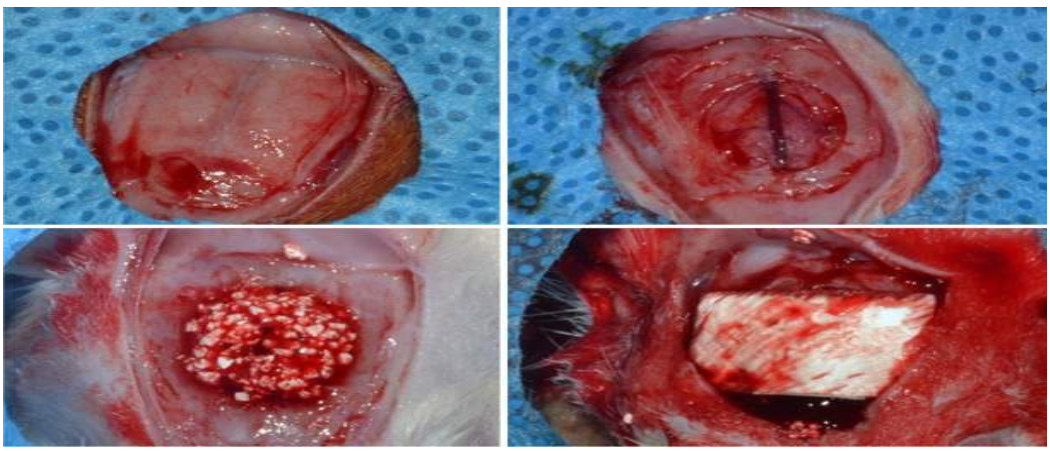
본 세부과제의 1차년도 연구목표는 바이오셀룰로오스 차폐막의 소형 동물 전임상 시험 평가로서, 본 연구에서는 소형동물 모델을 이용한 생분해성 바이오셀룰로오스의 치주조직재생유도막 성능 및 유효성을 평가하였고, 랫드 및 토끼의 두개골 모델에서 방사선량을 달리한 바이오셀룰로오스 차폐막을 이용하여 골재생술을 시행하여 그 성능 평가를 시행하였음. 본 과제에서 개발된 차폐막의 동물실험 모델을 개발하여 관련 치의학분야 SCI저널에 투고 및 게재 확정되었음.

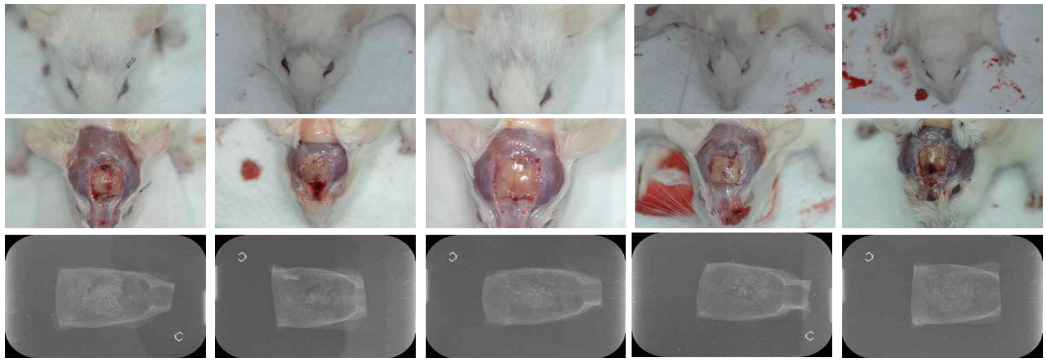
(가) 방사선 이용 바이오셀룰로오스의 안정성 및 성능 평가

- 랫드 두개골 결손 모델을 이용한 생체 안정성 평가

▸방사선 조사 시 이온화에너지에 의해 형성되는 자유 라디칼이 바이오셀룰로오스의 분자 중합체를 형성하는 결합구조가 파괴되어 저분자화 시키는데, 이러한 방사선 조사에 의한 생체 안정성을 랫드 두개골에서 평가함. 조직학적 분석에서 방사선량에 따른 바이오셀룰로오스의 염증반응은 관찰되지 않았으며, 2주, 8주 관찰기간동안 골유도재생술을 적절히 시행할 수 있는 소재로 판단되었음. 단 기간에 따른 흡수의 정도는 관찰기간이 짧아 확인을 못함.

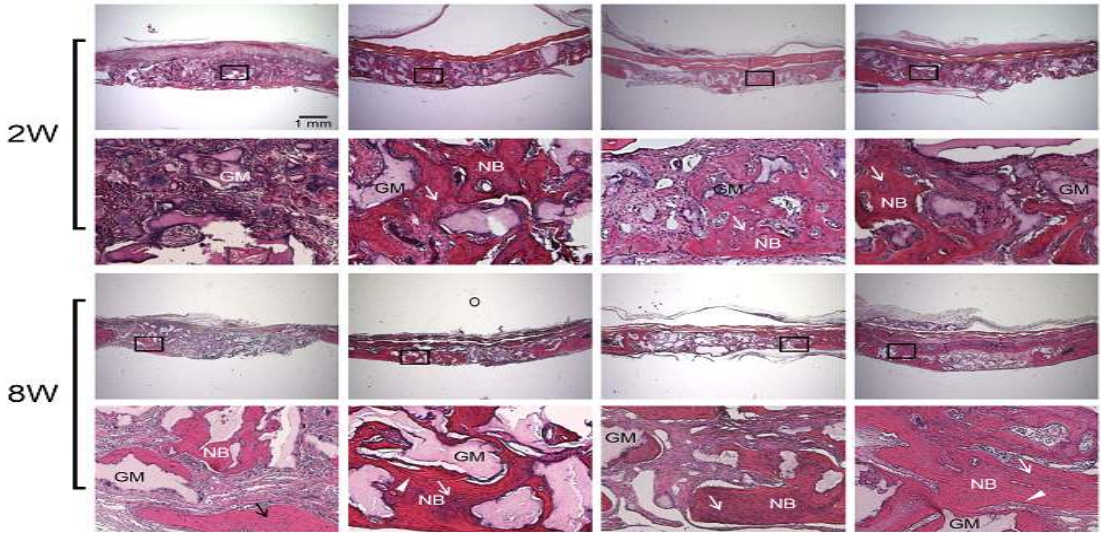
랫드 두개골 결손 모델을 이용한 생체 안정성 평가





랫드 두개골 결손 모델을 이용한 생체 안정성 평가

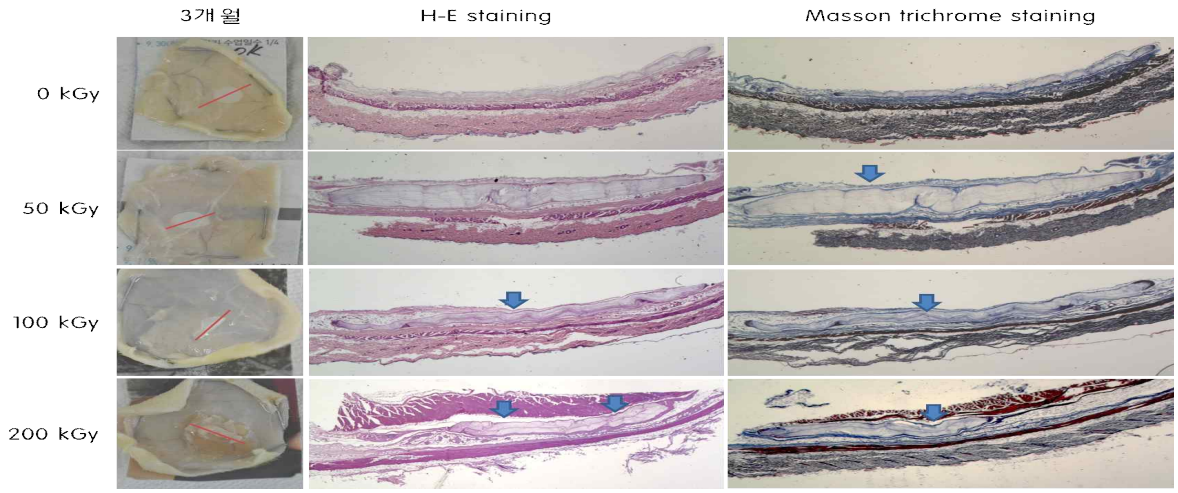
결과: 조직학적 소견에서 각 실험군의 염증 소견은 관찰되지 않았음.



- 방사선 이용 바이오셀룰로오스의 기간에 따른 흡수정도의 평가

▸방사선 조사량에 따른 3개월간 흡수정도를 쥐 등에 이식하여 관찰함. 방사선 조사량을 0, 50, 100, 200 kGy로 달리하여 4그룹으로 나누고 1개월, 3개월에 시편을 채취하여 조직시편을 만들었음. 채취된 조직은 H&E staining, Masson trichrome staining을 이용하여 염색하고, 흡수의 경향을 파악함. 1개월에서는 모든 군의 차이가 없었으나. 3개월에서는 200 kGy군의 경우 50%이상의 흡수를 보였고, 100 kGy 군의 경우 약 30%의 흡수를 보였음. 하지만 0, 50 kGy 군의 경우 흡수를 보이지 않았고 기존의 두께보다 많이 두꺼워져 있었음. 임상에서 3개월 이상 형태가 유지되고 6개월쯤 완전 흡수되는 것을 목표로 했을 때, 100 또는 200 kGy로 방사선 처리한 바이오셀룰로오스가 적용 가능한 후보군으로 사료됨.

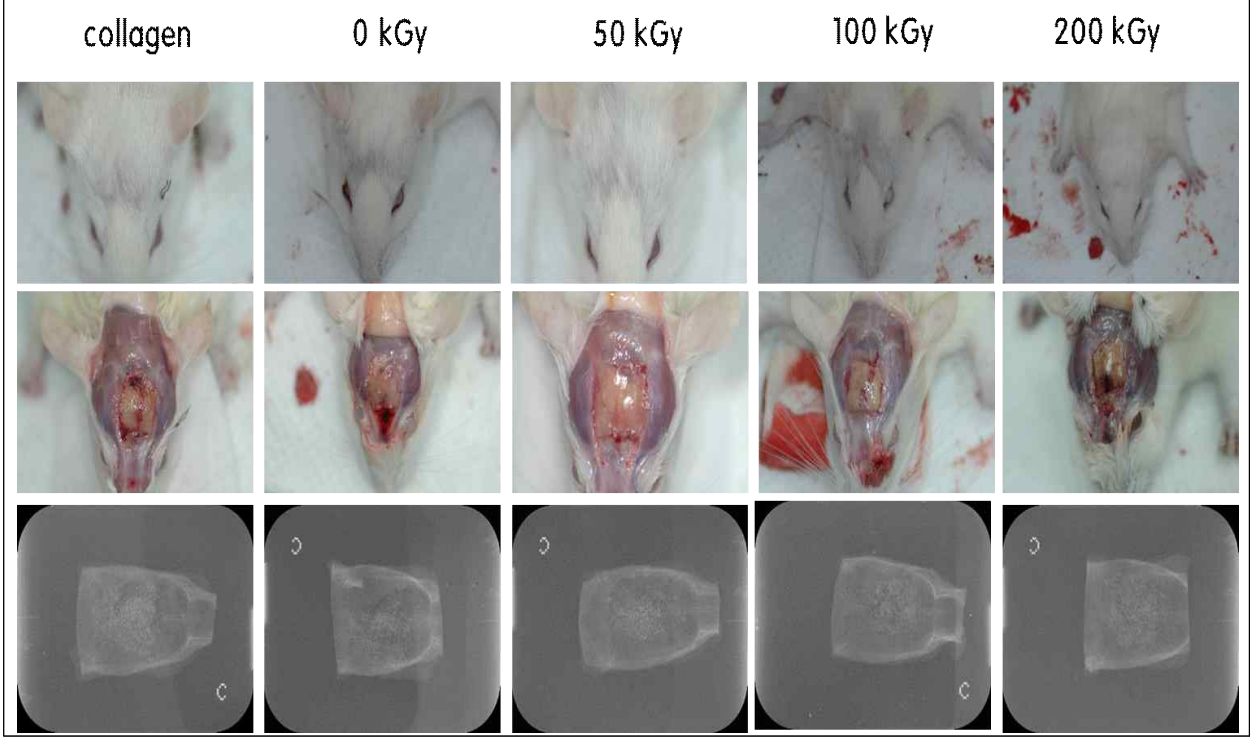
방사선 이용 바이오셀룰로오스의 기간에 따른 흡수정도의 평가



<100 kGy 와 200 kGy군에서 30% 이상의 흡수정도를 보임. 0, 50 kGy군의 경우 흡수 양상이 전혀 보이지 않음>

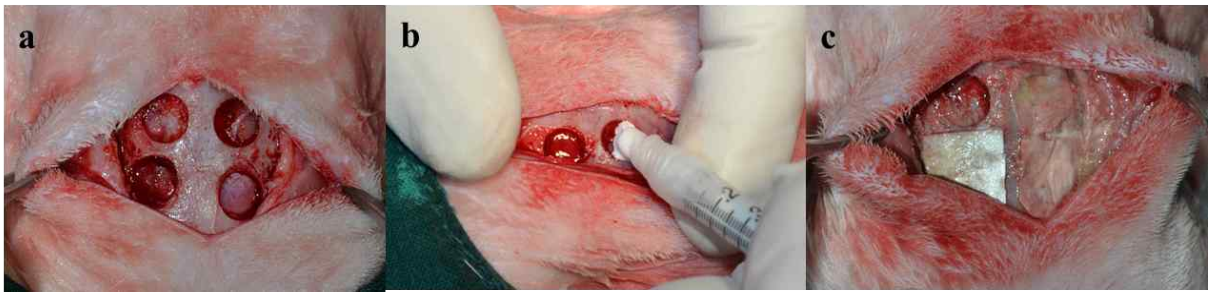
- 쥐 두개골 결손 모델을 이용한 바이오세룰로오스 성능평가
  - ▸쥐 두개골 결손 모델에 인공골을 넣고 기존 collagen 차폐막과 바이오셀룰로오스 차폐막을 덮어 임상에서 골유도재생술을 모방한 실험 모델을 개발하였음. 또한 40마리의 쥐를 이용하여 기존 collagen 차폐막 대비 바이오셀룰로오스의 성능을 평가함. 4주, 8주 희생하여 방사선 사진 및 조직 시편을 제작하여 관찰한 결과 그 성능이 거의 동등함을 알 수 있었음.

두개골 결손 모델을 이용한 바이오셀룰로오스 성능평가

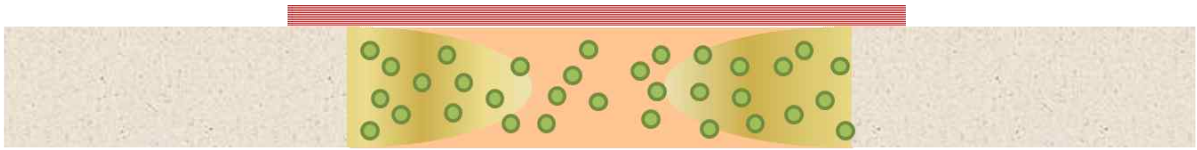


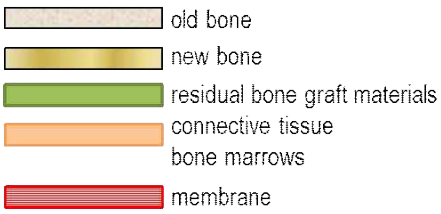
- 토끼 두개골 결손 모델에서 성능 평가
  - ▸차폐막을 덮지 않은 군을 control로 하고, 쥐 두개골에서 평가 시 흡수도를 보이는 100, 200 kGy 방사선 처치 바이오 셀룰로오스를 실험군으로 하여 비교 동물실험을 진행함. 두개골 결손부에는 Hydroxyapatite 합성골을 이식하고 상부에 차폐막을 덮어 연조직 침투 정도, 골 재생 능력등을 비교 분석함. 각 군당 8개씩의 시편을 8주에 분석하여 골재생의 정도를 조직학적 분석을 통해 시행함. 8주에 대조군은 골형성이 거의 이루어지지 않았고, 100 kGy 바이오셀룰로오스의 경우 그 형태를 그대로 유지하고 있었음. 또한 200 kGy 바이오셀룰로오스의 경우 일부가 흡수되어 있는 양상을 보였음. 흡수가 느린 바이오셀룰로오스의 경우 연조직의 침투를 확실히 차단하여 이상적인 골형성 소견을 보였으나 대조군의 경우 많은 연조직 침투가 관찰되었음. 이 때문에 골형성이 거의 이루어지지 않은 양상을 보임.

토끼 두개골 결손 모델에서 성능 평가



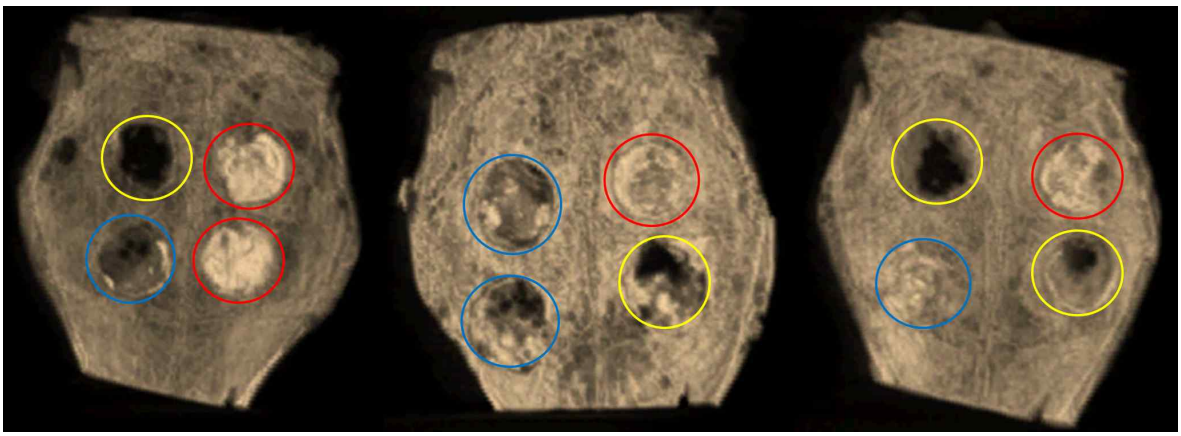
<동물실험: 토끼 두개골>





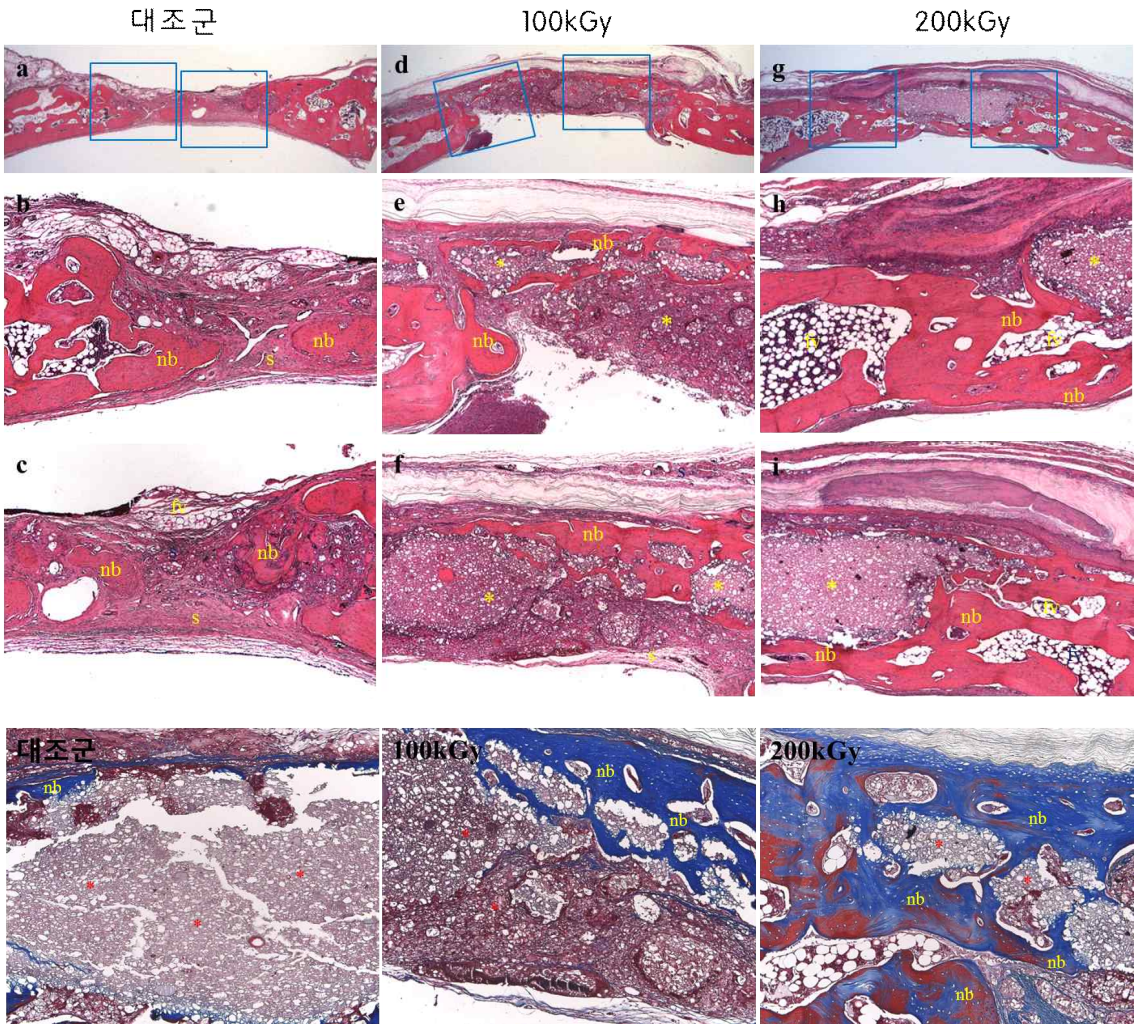
New bone area (mm^2) = l
Residual bone graft materials = n
connective tissue, bone marrows (mm^2) = m
Augmented area = l + n + m
New bone area (%) = l/(l+n+m) X 100
Residual bone graft materials (%) = n/(l+n+m) X 100

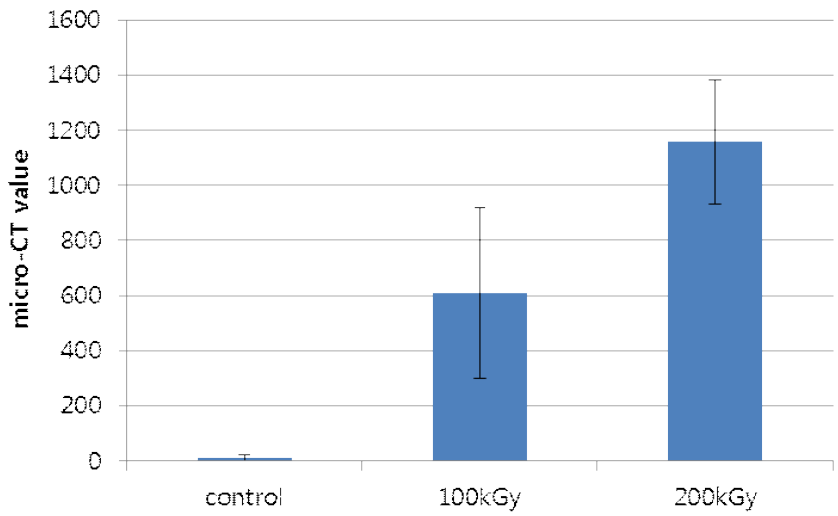
<조직학적 분석 방법>



마이크로CT 이미지: 노란색(대조군), 파란색(100kGy), 붉은색(200kGy)
바이오셀룰로오스군이 더욱 많은 골형성을 보임

토끼 두개골 결손 모델에서 성능 평가(조직학적 소견)





○ 2차 년도 연구수행 결과

본 세부과제의 2차년도 연구목표는 바이오셀룰로오스 차폐막에 대한 대동물을 이용한 결손부 모델 개발 및 안정성, 성능 평가를 실시하고 임상 적응증 개발 및 임상시험 연구계획서를 작성하여 임상시험 준비 완료를 목표로 연구를 수행함.

(가) 방사선 이용 바이오셀룰로오스의 안정성 및 성능 평가

◦쥐 두개골 결손 모델을 이용한 콜라겐 차단막과 바이오셀룰로오스의 비교평가

- 실험방법

・Animals: 총 40마리의 rats (9weeks, male, weight 250-300g)가 실험에 사용. Animal selection과 management, surgical preparation은 부산대학교 동물실험 윤리위원회가 승인한 routines에 따름.

・Surgical procedures: 모든 수술과정은 a mixture of ketamine hydrochloride(Ketalar Yuhan, Seoul, Korea)와 xylazine (Rumpun, Bayer Korea, Seoul, Korea)를 근융하주사를 시행하여 전신마취하에서 진행됨. 수술 site에 U 형태의 incision을 시행하고, skin과 periosteum을 포함한 full-thickness flap을 거상함. Trephine bur(3i Implant Innovation, Palm Beach Garden, FL., USA)로 8 mm 직경의 defect를 두개골 중앙에 형성하였으며, 이후 BCP 골이식재를 이식하고 대조군은 콜라겐 차폐막, 실험군은 0 kGy로 방사선 처리도니 바이오셀룰로오스를 이식함.

・실험 4주 후, 8주 후 각각 희생. 탈회방식으로 조직시편을 제작하고 block의 중앙부를 박절하여 hematoxylin and eosin을 이용해 염색함. Histologic slides는 light microscope (BX50, Olympus, Tokyo, Japan)으로 관찰함. new bone 과 residual biomaterials 의 면적을 구하기 위하여 an image analysis computer program (Image-Pro Plus, Media Cybernetic, Silver Spring, MD, USA)를 이용하여 computer-assisted histomeric measurements를 시행. Fig.와 같은 공식을 이용하여 전체 defect area에 대한 new bone과 residual biomaterials의 percentage를 구함.

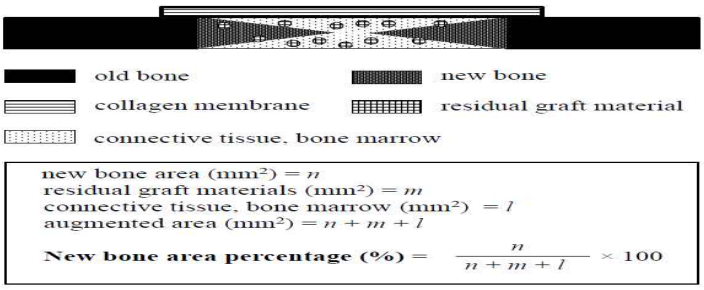


Fig. Schematic drawing showing the histometric analysis. The bone density was calculated as new bone area per augmented area.

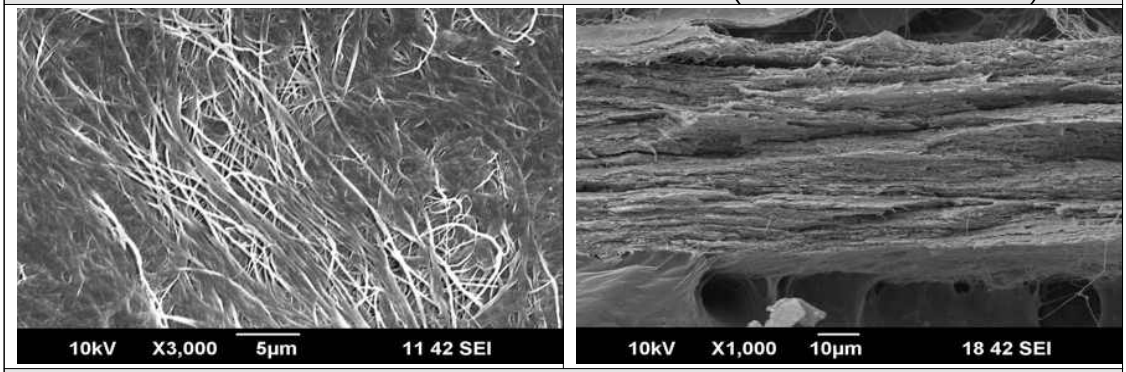
・차폐막의 거칠기를 확인하기 위한 주사전자현미경 촬영.

・ micro-CT를 이용하여 인위적으로 형성한 원형의 defect부위에 신생골양을 측정.

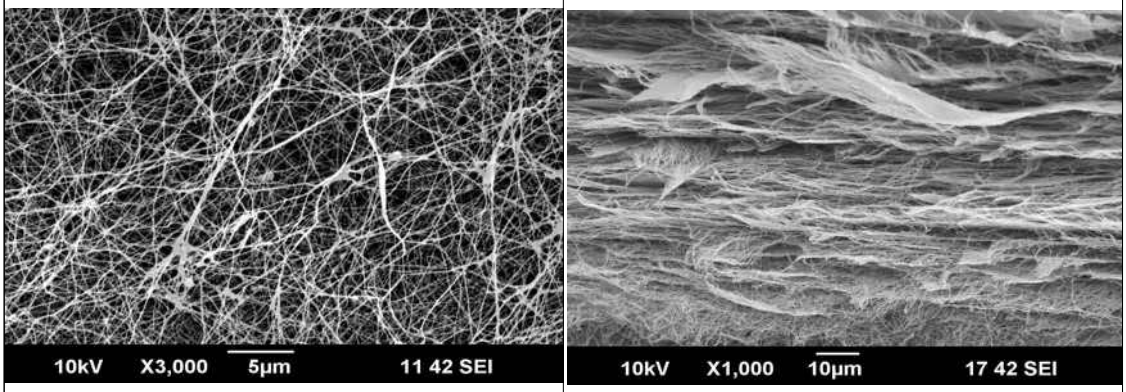
・ 통계 Statistical analysis 는 SPSS ver. 18.0 (SPSS, Chicago, IL, USA)을 이용하여 Kruskal-Wallis test 시행하였고 Mann-Whitney U test를 이용하여 사후검증 함 (P=0.05).

- 40마리의 쥐를 이용하여 기존 collagen 차폐막 대비 바이오셀룰로오스의 성능을 평가함. 4주, 8주 희생하여 방사선 사진 및 조직 시편을 제작하여 관차랗ㄴ 결과 그 성능이 거의 동등함을 알 수 있었음.

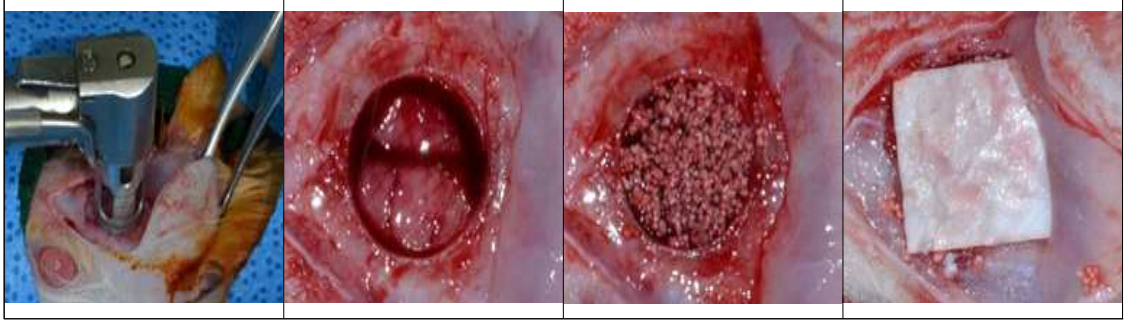
주사전자 현미경 촬영사진 콜라겐 차단막 (x 3,000, x1,000)



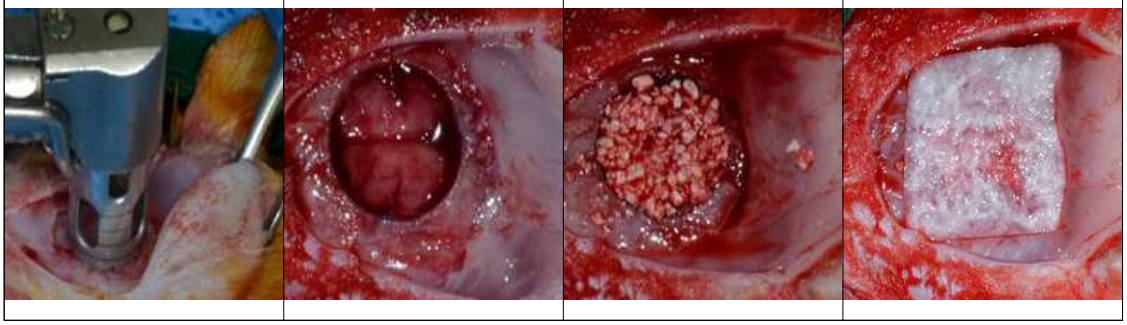
주사전자 현미경 촬영사진 바이오셀룰로오스 차단막

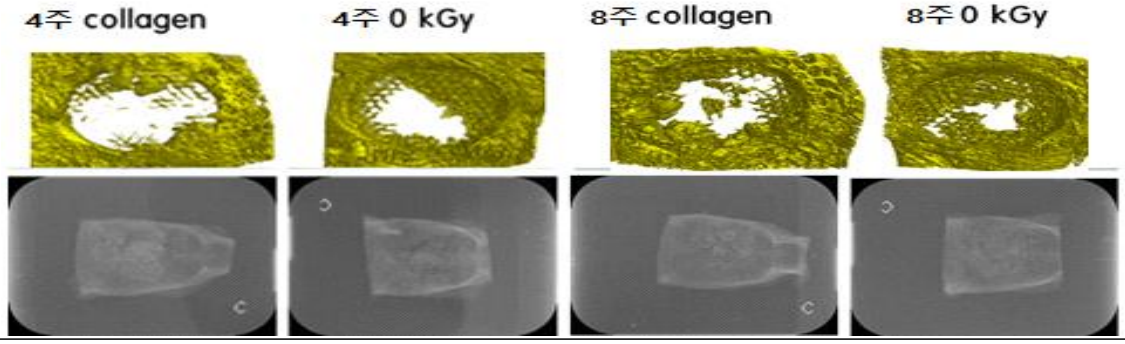


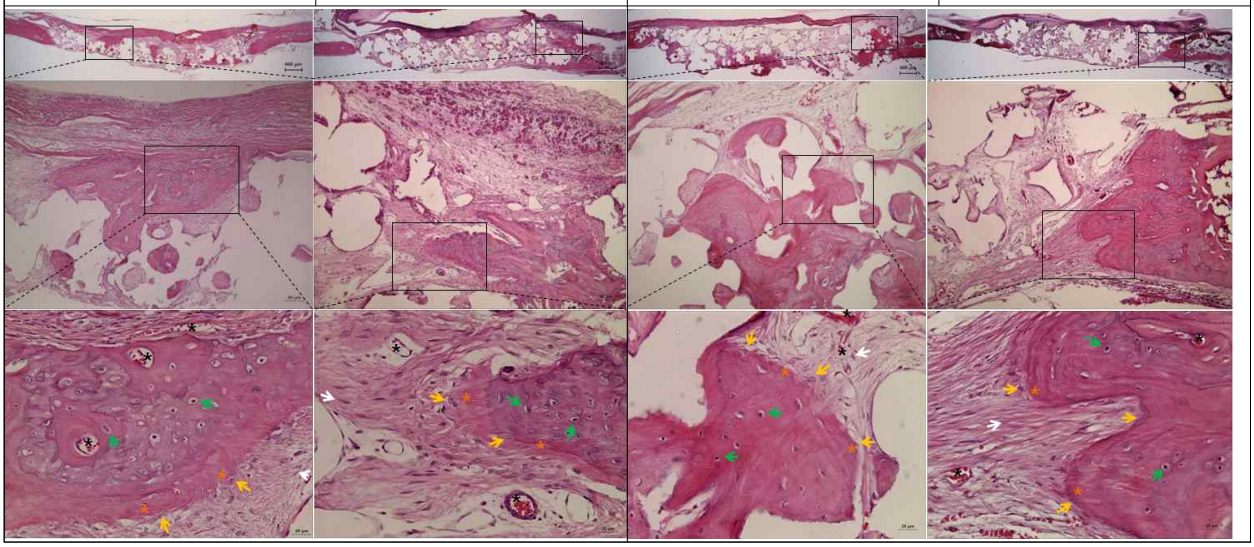
바이오셀룰로오스 차단막의 Surgical procedures

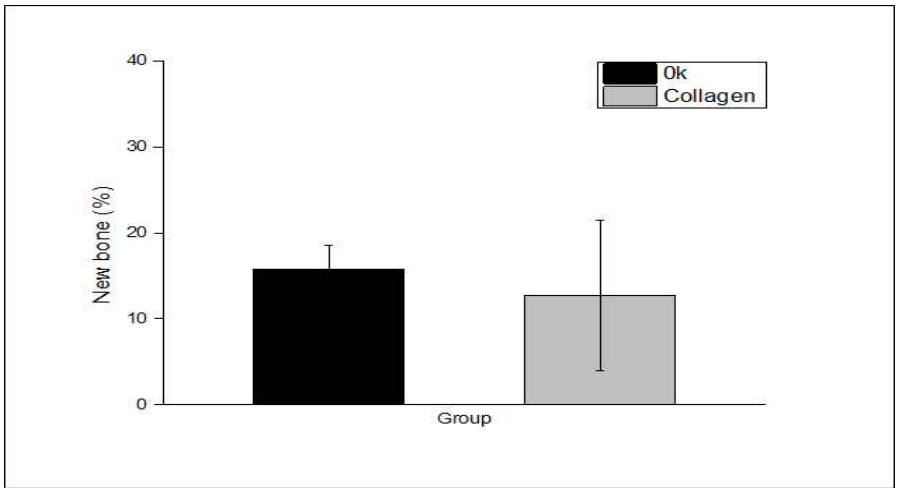


콜라겐 차단막의 Surgical procedures



micro-CT 결과


조직시편사진			
4 weeks		**8 weeks**	
콜라겐	바이오셀룰로오스	콜라겐	바이오셀룰로오스
			

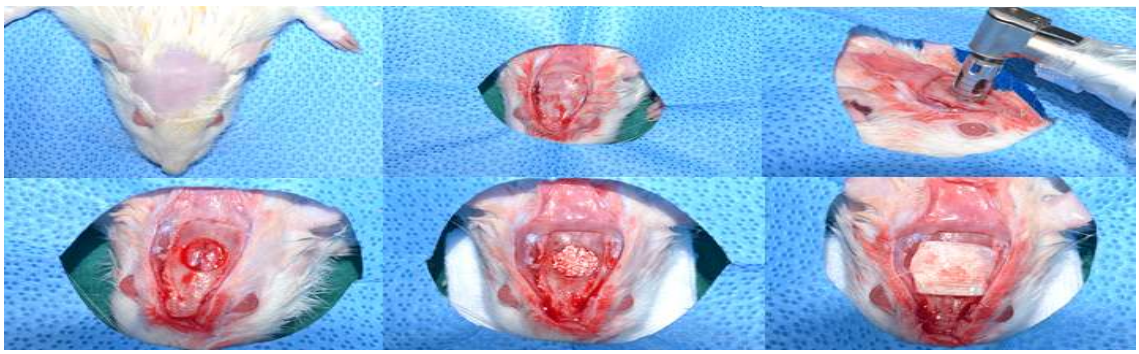
조직계측학적분석 결과


◦ 방사선 조사량 0 kGy로 적용한 바이오셀룰로오스의 기간에 따른 흡수정도의 평가

- Animals: 총 30 마리의 rats (9week, male, weight 250-300g)가 실험에 사용. Animal selection 과 management, surgical protocol 과 preparation은 부산대학교 동물실험 윤리위원회가 승인한 routines에 따름.
- Surgical procedures: 모든 수술 과정은 a mixture of ketamine hydrochloride (Ketalar Yuhan, Seoul, Korea) 와 xylazine (Rumpun, Bayer Korea, Seoul, Korea)를 근육하주사를 시행하여 전신마취하에서 진행됨. 수술 site에 U 형태의 incision을 시행하고, skin과 periosteum 을 포함한 full-thickness flap을 거상함. Trephine bur (3i Implant Innovation, Palm Beach Garden, FL, USA)로 8 mm 직경의 defect 를 두개골 중앙에 형성하였으며, 이후 BCP 골이식재를 넣고 바이오 셀룰로오스 차단막을 적용 후 수술부위를 봉합하고, 수술 후 관리를 시행함.
- 방사선 조사량 0kGy로 적용한 바이오 셀룰로오스의 기간에 따른 흡수정도의 평가를 위하여, 대조군은 기존과 동일하게 8주에 희생을 진행하고, 실험군은 2주와 12주에 각 희생을 진행함.
- 탈회방식으로 조직시편을 제작하고 block의 중앙부를 박절하여 hematoxylin and eosin 으로 염색함. 제작된 조직시편은 light microscope (BX50, Olympus, Tokyo, Japan)으로 관찰. new bone 과 residual biomaterials 의 면적을 구하기 위하여 an image analysis computer program (Image-Pro Plus, Media Cybernetic, Silver Spring, MD, USA)를 이용하여 computer-assisted histomeric measurements를 시행. 신생골의 형성 및 조직학적 흡수 양상을 관찰함.

◦ 2주, 8주, 12주 관찰기간 동안 바이오셀룰로오스는 골유도 재생술을 적절히 시행할 수 있는 소재로 판단되었으나, 12주 실험군을 제외한 나머지 실험군에서는 차단막의 생분해가 관찰되지 않음. 따라서 방사선 조사량을 증가시켜 차단막의 생분해기간을 단축시키는 방법이 고려됨.

Surgical procedures



조직시편 사진

12주 실험군을 제외한 나머지 실험군에서 차단막의 생분해가 관찰되지 않음.

◦ 쥐 두개골 결손 모델을 이용한 콜라겐 차단막과 방사선 조사량을 달리한 바이오셀룰로오스 차단막의 성능 비교평가

- 실험 방법

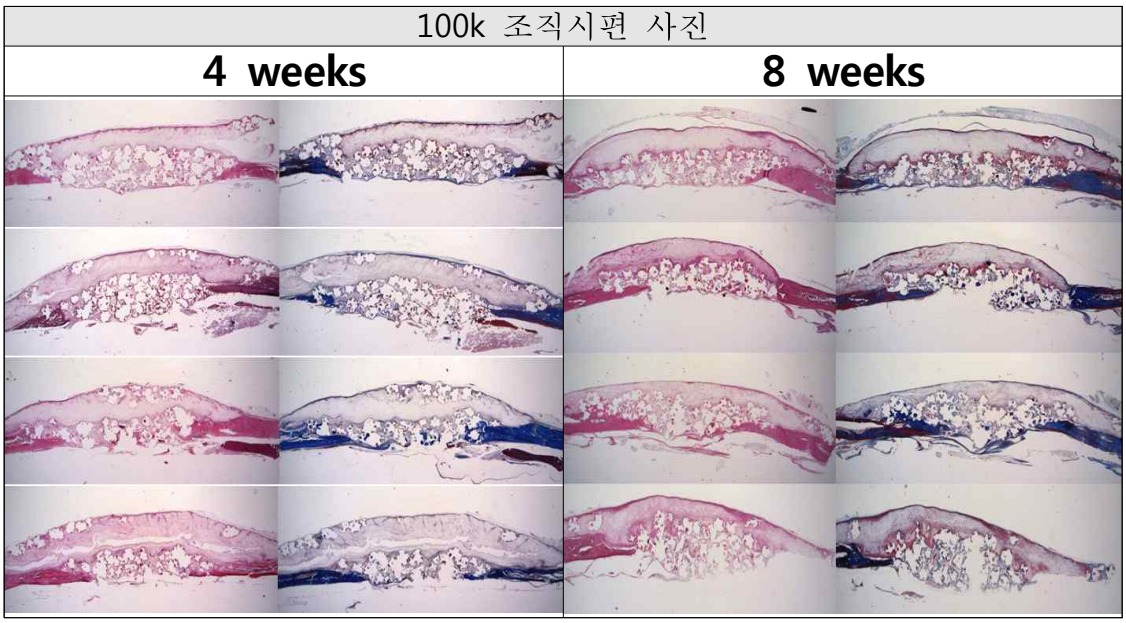
· Animals: 총 80 마리의 rats (9week, male, weight 250-300g)가 실험에 사용. Animal selection 과 management, surgical protocol 과 preparation은 부산대학교 동물실험 윤리위원회가 승인한 routines에 따름.

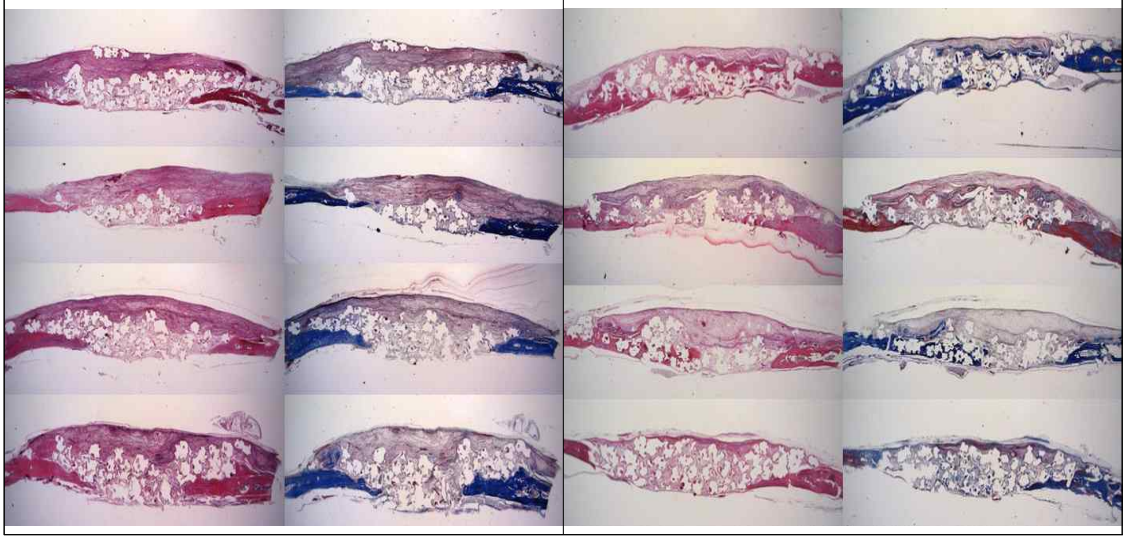
· Surgical procedures: 모든 수술 과정은 a mixture of ketamine hydrochloride (Ketalar Yuhan, Seoul, Korea) 와 xylazine (Rumpun, Bayer Korea, Seoul, Korea)를 근육하주사를 시행하여 전신마취하에서 진행됨. 수술 site에 U 형태의 incision을 시행하고, skin과 periosteum 을 포함한 full-thickness flap을 거상함. Trephine bur (3i Implant Innovation, Palm Beach Garden, FL, USA)로 8 mm 직경의 defect 를 두개골 중앙에 형성하였으며, 이후 BCP 골이식재를 이식하고 대조군은 collagen membrane, 실험군은 0, 100, 300 kGy로 방사선 처리된 바이오셀룰로오스를 이식함.

· 탈회방식으로 조직시편을 제작하고 block의 중앙부를 박절하여 hematoxylin and eosin 과 Masson's trichrome을 이용하여 염색함. 조직시편은 light microscope (BX50, Olympus, Tokyo, Japan)으로 관찰함. new bone 과 residual biomaterials 의 면적을 구하기 위하여 an image analysis computer program (Image-Pro Plus, Media Cybernetic, Silver Spring, MD, USA)를 이용하여 computer-assisted histomeric measurements를 시행.

· 통계 Statistical analysis 는 SPSS ver. 18.0 (SPSS, Chicago, IL, USA)을 이용하여 Kruskal-Wallis test 시행하였고 Mann-Whitney U test를 이용하여 사후검증 함 (P=0.05).

- 80마리의 쥐를 이용하여 기존 collagen 차폐막 대비 바이오셀룰로오스의 성능을 평가함. 조직학적분석을 통해 100kGy, 300kGy의 바이오셀룰로오스 차단막과 콜라겐 차단막의 성능이 동등함을 확인하였고, in vitro 실험에서 물리적 특성이 더 우수했던 100kGy를 기준으로 차후 실험을 계획함.



300k 조직시편 사진	
4 weeks	**8 weeks**
	

◦ 인체모방 대형 동물 결손 모델을 이용한 콜라겐 차단막과 바이오셀룰로오스의 비교평가

- 실험방법

· Animals: 총 6마리의 Beagle (3years, male, weight 10kg)가 실험에 사용. Animal selection 과 management, surgical protocol 과 preparation은 전남대학교 동물실험 윤리위원회가 승인한 routines에 따름.

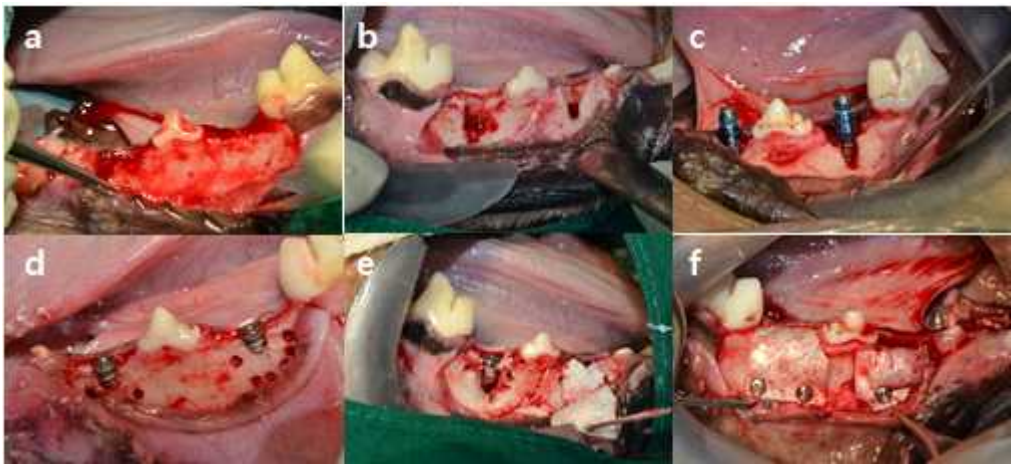
· Surgical procedures: 모든 수술 과정은 a mixture of ketamine hydrochloride (Ketalar Yuhan, Seoul, Korea) 와 xylazine (Rumpun, Bayer Korea, Seoul, Korea)를 근육하주사를 시행하여 전신마취하에서 진행됨. 임플란트 수술 2개월 전에, 비글의 하악 이빨을 발치하고 2개월간의 치유기간을 부여 후, 임상적인 상황과 유사한 조건을 만들어주기 위해서, 발치한 부위에 치과용 핸드피스와 밀링바를 이용하여 협측골에 교합면에서 2.5mm 높이와 근원심으로 6mm 길이의 인위적인 골 결손을 형성. 임플란트의 직경은 3.5mm, 노출될 부위는 2.5mm로 지정하여 6마리의 비글견에 각 4개씩, 총 24개 식립. 식립한 임플란트 주변의 골 결손 부위에 신생골의 유도를 돕기 위하여 β-TCP를 주성분으로 하는 동일한 양의 골 이식재를 주입하고, 콜라겐 차폐막과 바이오셀룰로오스 차폐막을 각각 위치시킨 후 봉합을 시행 함. 수술 후 약물투여와 위생관리 및 식이조절을 시행하여 치유기간 부여.

· 8주 후 희생. 실험동물의 하악 조직을 절단하고 취득하여 조직학적 분석을 위해 비탈회방식인 레진을 이용하여 조직시편 제작. 각 시편들은 임플란트의 중앙부를 선택하여 박절하고 Goldner's trichrome으로 염색함. 염증반응, 신생골형성정도를 조직학적 소견에서 관찰함.

· micro-CT를 이용하여 인위적으로 형성한 defect부위의 신생골양을 측정.

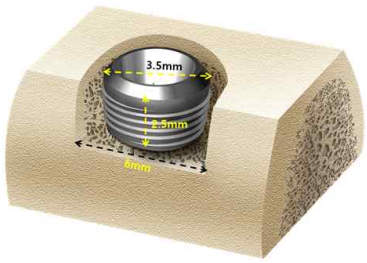
- 콜라겐 차폐막과 바이오셀룰로오스 차폐막을 대동물인 비글견에 적용하고 관찰함. 염증반응, 신생골형성정도를 조직시편을 이용하여 분석함. 바이오셀룰로오스 차폐막은 체내에서 조직액과 반응하여 부종현상이 나타나 수술 후 실험동물 유지관리 기간에 대부분의 시편이 체내로 노출되거나 탈락됨. 조직학적분석에서도 바이오세룰로오스 차폐막의 부종현상으로 인해 골이식재를 안착시키는 능력이 부족하였을 것으로 판단되었고, 신생골의 형성이 콜라겐군에서 더 우수하게 관찰됨.

Surgical procedures



a. 치조골 노출을 위한 잇몸 절개, b. 임상과 유사한 상황을 위한 인위적인 협측 골결손부 형성, c. 임플란트의 식립, d. 임플란트 식립 후 혈액의 원활한 공급을 위한 결손부 형성, e.골이식재의 주입, f.콜라겐 차폐막·바이오셀룰로오스를 각각 위치시킴

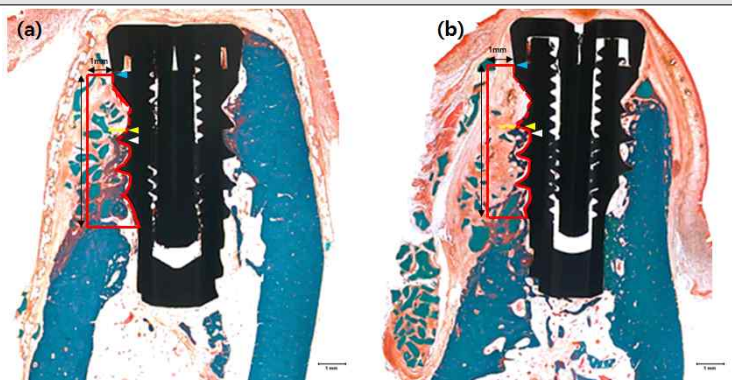
인위적인 골결손부위의 크기와 노출된 임플란트의 모식도



수술 후 관리사진

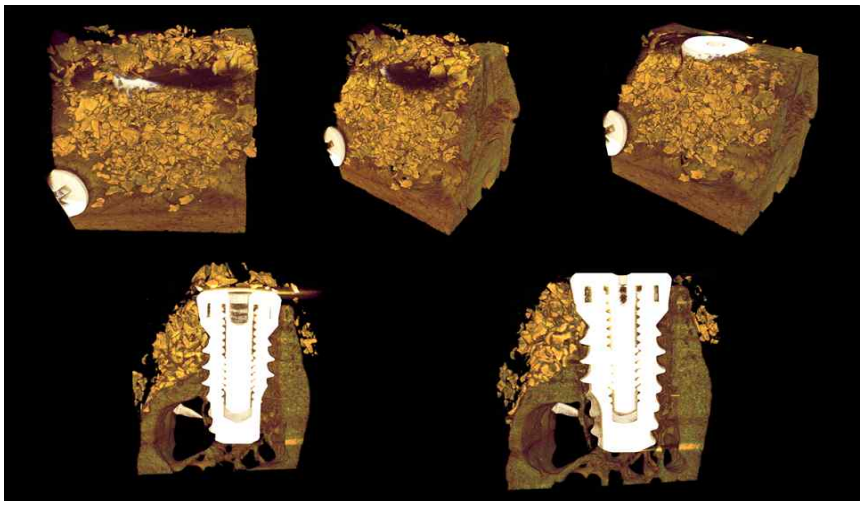
바이오셀룰로오스 차폐막의 체내 노출 및 탈락

조직학적분석에 사용된 관심영역설정 범위 (The area of interest)

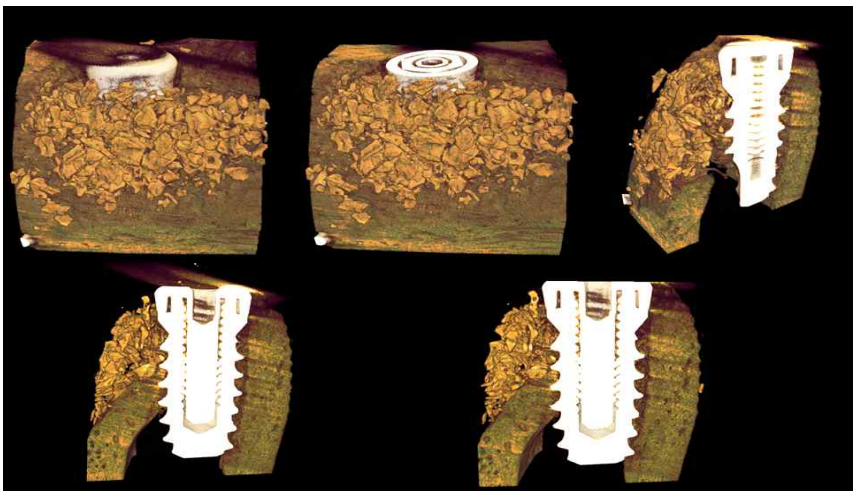


(a) Collagen 차폐막, (b) 바이오셀룰로오스

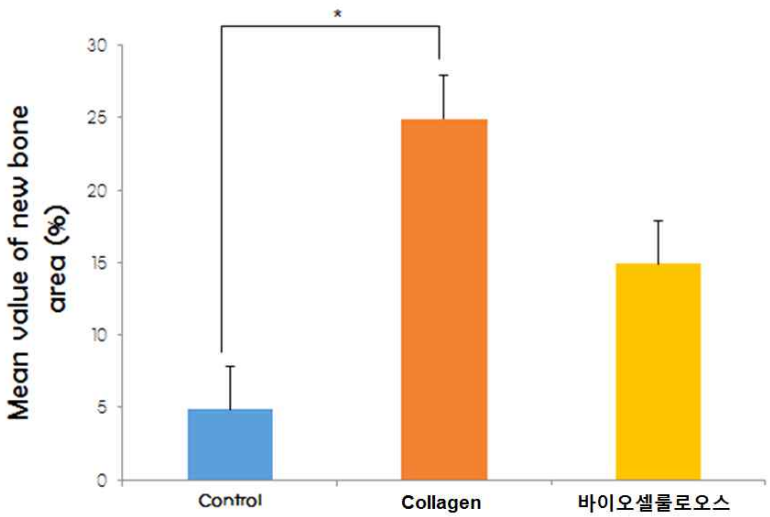
micro-CT를 이용하여 얻은 바이오셀룰로오스군의 3차원 이미지.



microCT를 이용하여 얻은 콜라겐 차폐막 군의 3차원 이미지.



각 실험군의 골결손부위 신생골 형성량.



◦ 방사선 이용 바이오셀룰로오스(100 kGy)와 콜라겐 차폐막의 골생성 비교

- 방사선 처리를 거친 바이오셀룰로오스 차폐막 가운데 100 kGy의 방사선처리를 한 차폐막에서 세포 부착 및 물성이 우수하였음. 따라서 본 실험에서는 100 kGy의 방사선 처리를 거친 바이오셀룰로오스 차폐막과 기존 널리 사용되고 있는 콜라겐 차폐막의 소동물인 랫트 실험을 통한 in vivo상의 조작성과 골생성 차이를 성능 평가함.

- 실험 방법

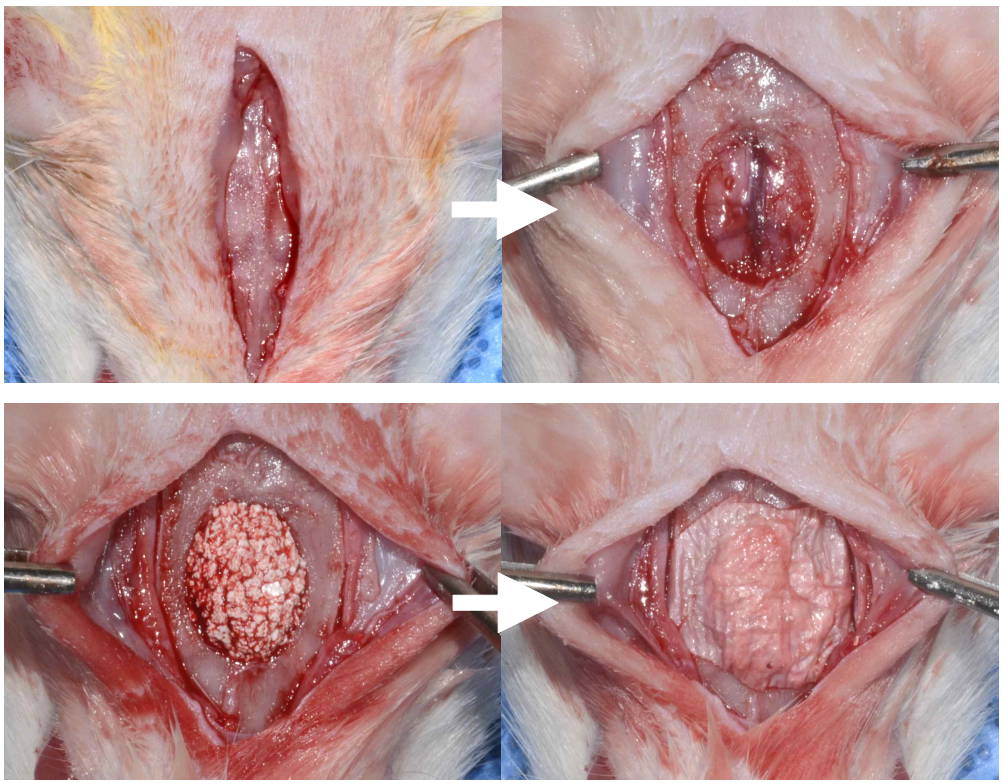
  · Animals: 총 50 마리의 Sprague-Dawley rats (male, weight 250-300g)가 실험에 사용.

  · Surgical procedures: 모든 수술 과정은 전신마취하에서 진행됨. 수술 site에 일자 형태의 incision을 시행하고, 피부를 절개한 후 피부 및 골막을 거상. Trephine bur 를 이용하여 8 mm 직경의 결손부를 두개부 중앙에 형성하였으며, 이후 원형의 골조직을 주의 깊게 제거한 뒤, 100kGy로 방사선 처리된 바이오셀룰로오스 차폐막과 콜라겐 차폐막을 이식.

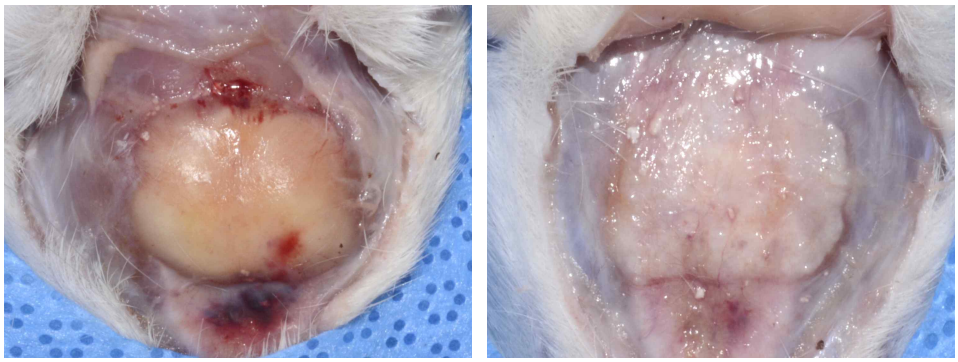
  · 술 후 4주, 8주에 희생하여 얻은 시편들은 조직학적 분석을 위하여 각 시편의 중앙부를 선택하여 각각 hematoxylin aeosin과 Masson's trichrome으로 염색함. 전 체 결손부에 대한 신생고로가 잔존골이식재의 백분율을 구함.

  · 4주, 8주 희생하여 방사선 사진 및 조직 시편을 제작하여 관찰한 결과 바이오셀룰로오스와 콜라겐 차폐막의 골생성은 거의 동등함을 알 수 있었음. 조직학적 분석에서 각 군에서의 염증반응은 관찰되지 않았으나, 바이오세룰로오스에서 심한 부종이 관찰됨.

Surgical procedures



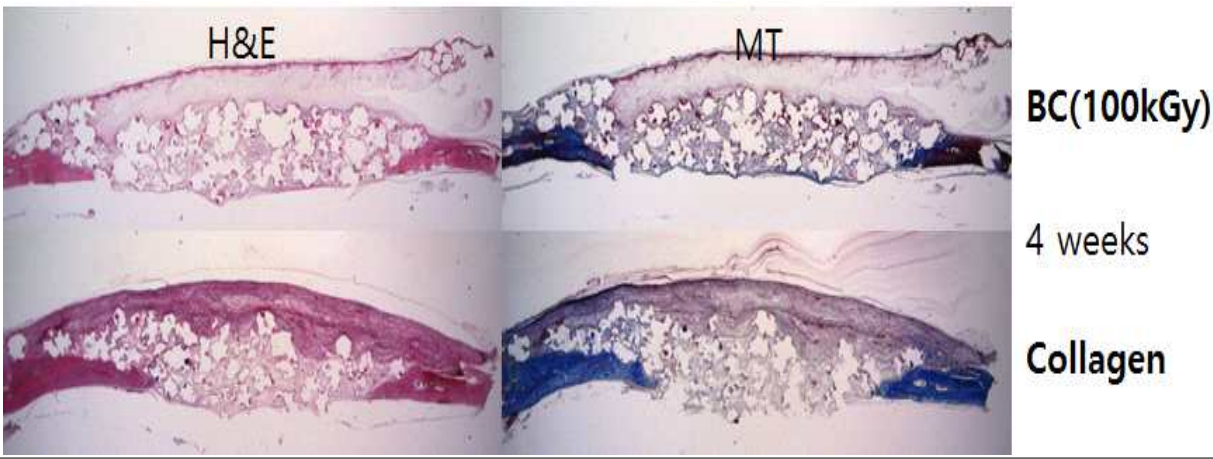
랫트 두개골 결손 모델로부터 얻은 시편



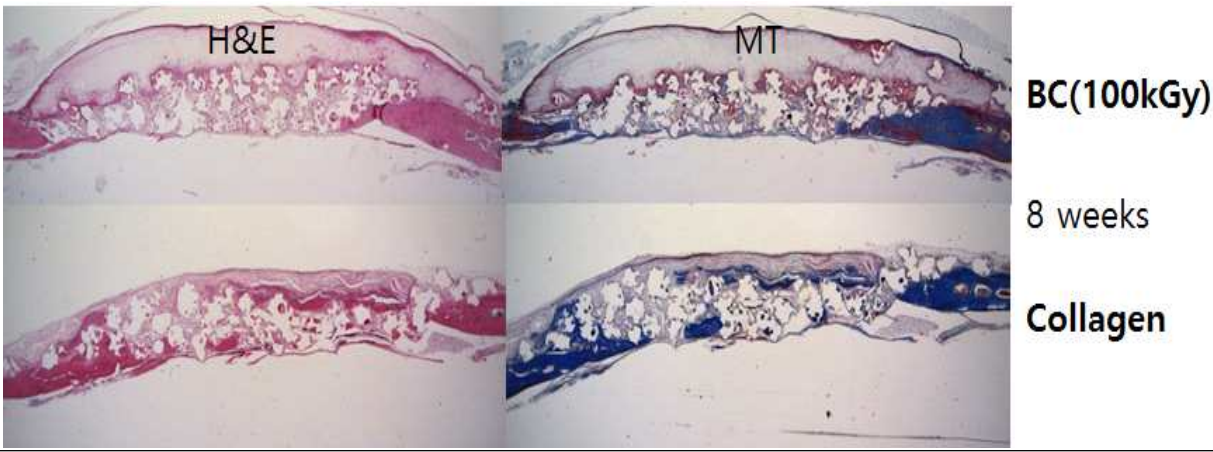
좌: 바이오셀룰로오스 차폐막, 우: 콜라겐 차폐막

바이오셀룰로오스 군의 심한 부종 관찰

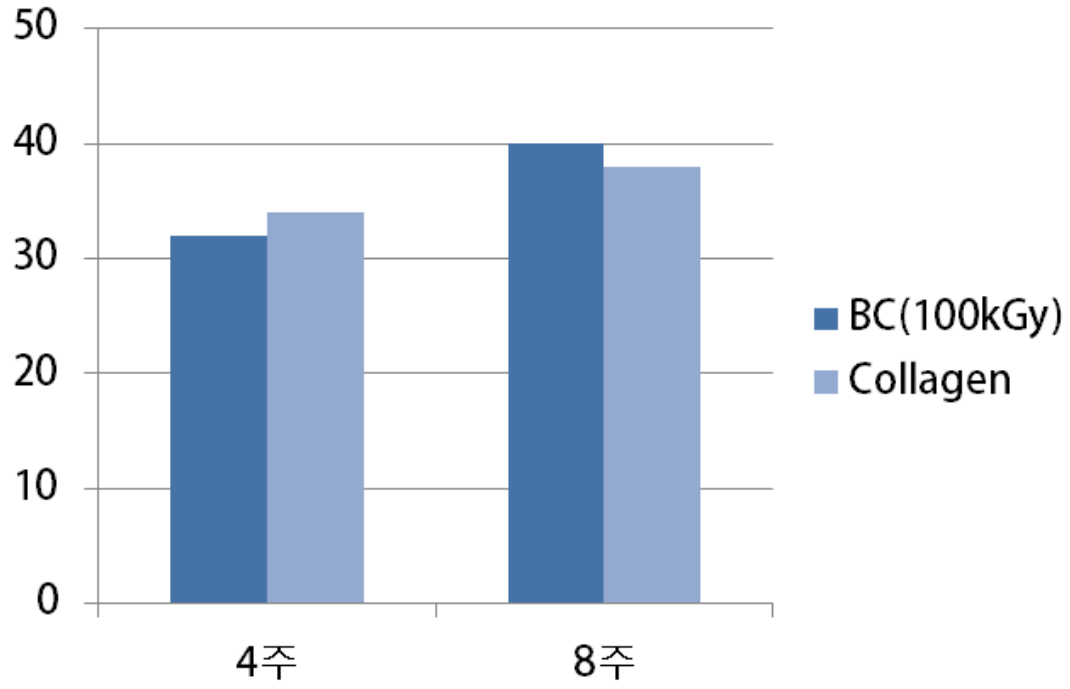
조직시편 사진 (4주)



조직시편 사진 (8주)



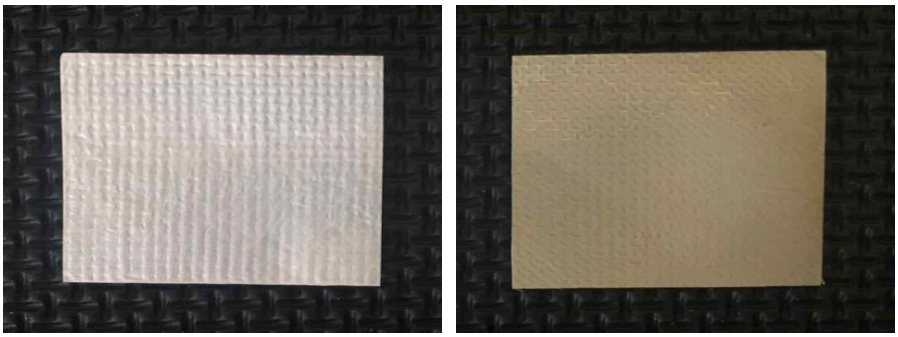
조직계측학적 평가를 통한 신생골 증가량 (%)



◦ 동결건조와 온풍건조한 바이오셀룰로오스의 군간 골생성 비교

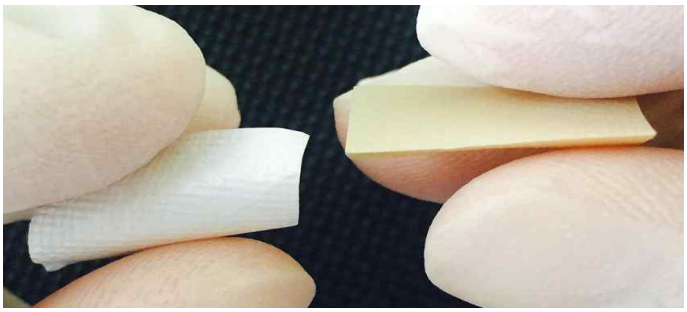
- 기존 실험에서 동결건조한 군을 이용하였으나, 부종이 심하게 관찰되었음. 따라서 온풍건조 바업을 이용한 차폐막을 제조하여, 동결건조와 온풍건조의 성능을 비교함.
- 실험방법
  - Animals: 총 40 마리의 Sprague-Dawley rats (male, weight 250-300g)가 실험에 사용.
  - Surgical procedures: 모든 수술 과정은 전신마취하에서 진행됨. 수술 부위에 U자 형태의 절개를 시행하고, 피부를 절개한 후 피부 및 골막을 거상. Trephine bur를 이용하여 8 mm 직경의 결손부를 두 개부 중앙에 형성하였으며, 이후 원형의 골조직을 주의 깊게 제거한 뒤, 결손부에 동결건조한 바이오셀룰로오스 차폐막과 온풍건조한 차폐막 이식.
  - 술 후 4주, 8주에 희생하여 얻은 시편들은 조직학적 분석을 위하여 각 시편의 중앙부를 선택하여 각각 hematoxylin aeosin과 Masson's trichrome으로 염색함. 전체 결손부에 대한 신생골과 잔존골이식재의 백분율을 구함
  - 통계학적 분석으로 SPSS ver. 18.0를 이용하여 Kruskal-Wallis test 시행하였고 Mann-Whitney U test를 이용하여 사후검증. (P=0.05)
- 4주, 8주 희생하여 방사선 사진 및 조직 시편을 제작하여 관찰한 결과 동결건조군과 온풍건조군의 골생성은 거의 비슷하였음. 조직학적 분석에서 각 군에서의 염증반응은 관찰되지 않았으나, 온풍건조군은 수술 중 조작성이 좋지 못하였음.

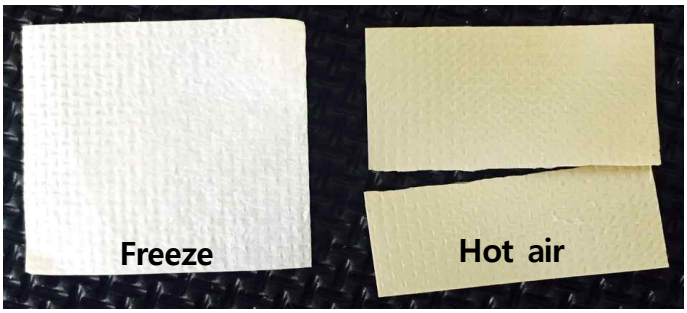
동결건조군과 온풍건조군 차폐막의 사진



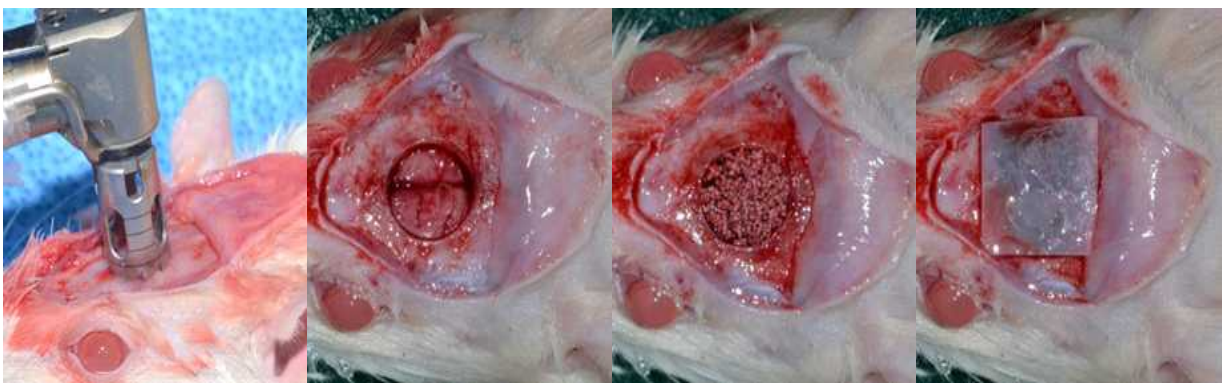
Freeze Hot air

두 실험군의 조작성 비교

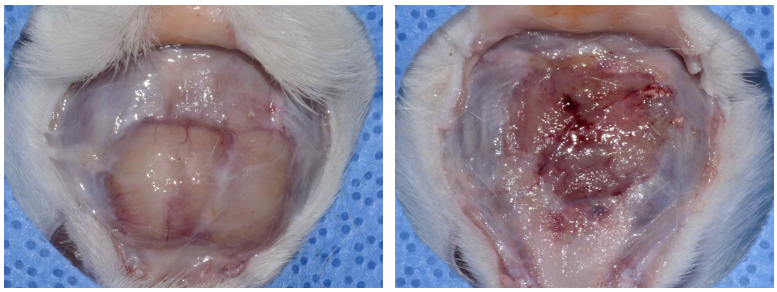




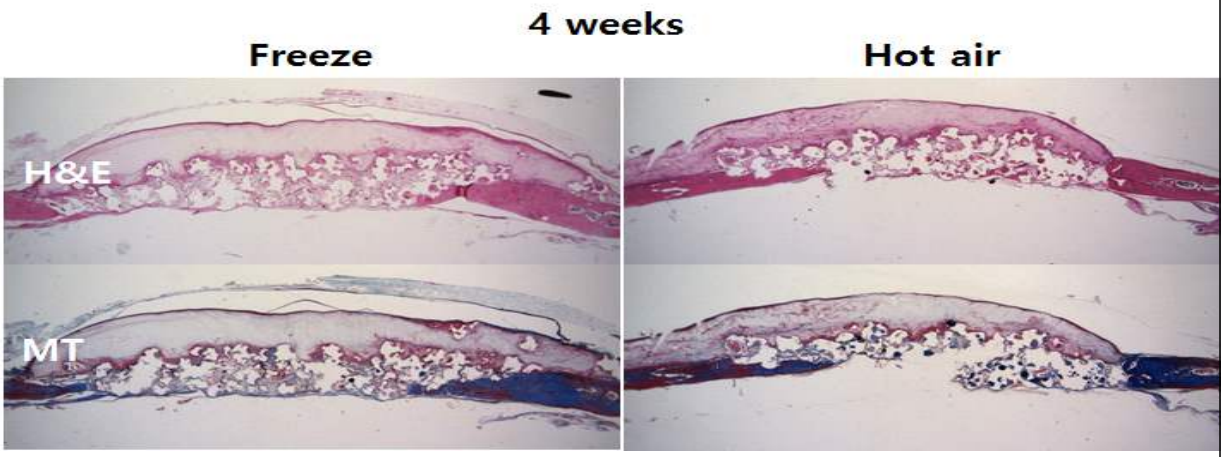
Surgical procedure



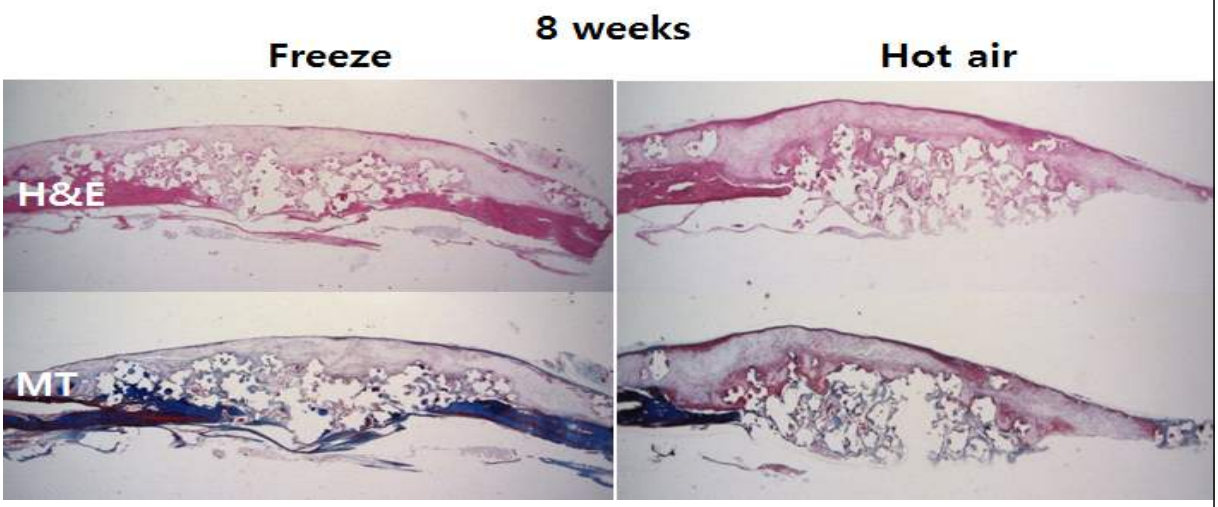
희생 후 동결건조와 온풍건조군의 체내 사진



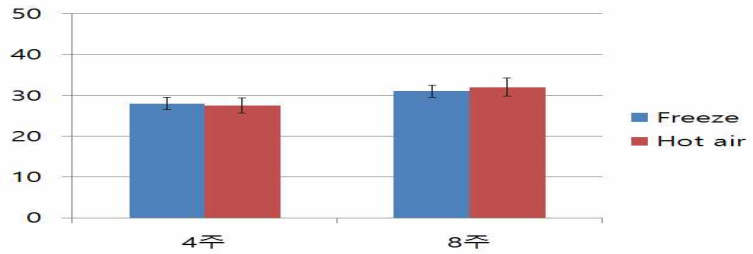
조직시편사진 (4주)



조직시편사진 (8주)



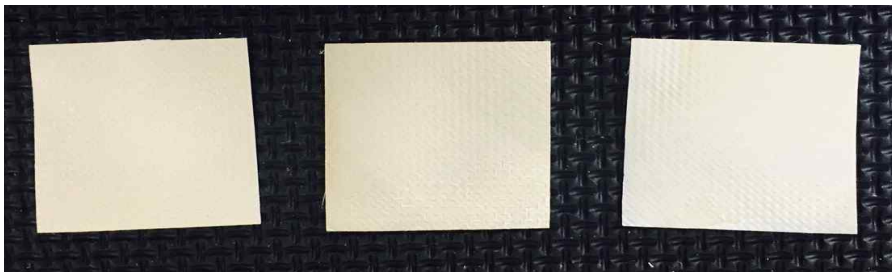
조직계측학적 평가를 통한 신생골 증가량 (%)



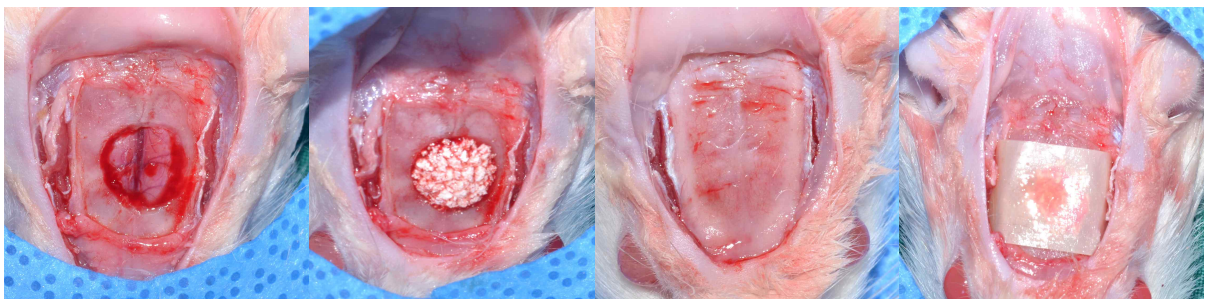
◦ 바이오셀룰로오스의 두께에 따른 비교실험

- 바이오셀룰로오스를 적용하였을 때 심한 부종이 관찰됨. 이를 최소화하기위한 방법으로 바이오셀룰로오스의 두께 300 um, 400 um, 500 um를 달리하여 그에 따른 부종의 양상을 비교하고자 함.
- 실험 방법
  - Animals: 총 20 마리의 Sprague-Dawley rat (male, weight 250-300g) 사용.
  - Surgical procedures: 모든 수술 과정은 전신마취하에서 진행됨. 수술 부위에 Uwk 형태의 절개를 시행하고, 피부를 절개한 후 피부 및 골막을 거상. Trephine bur를 이용하여 8 mm 직경의 결손부를 두 개부 중앙에 형성하였으며, 이후 원형의 골조직을 주의 깊게 제거한 뒤, 두께 300 um, 400 um, 500 um의 바이오셀룰로오스 차폐막을 이식.
  - 술 후 4주, 8주에 희생하여 얻은 시편들은 조직학적 분석을 위하여 각 시편의 중앙부를 선택하여 각각 hematoxylin eosin 과 Masson's trichrome으로 염색함. 전체 결손부에 대한 신생골과 잔존골의 백분율을 구함.
- 4주와 8주 후 희생을 통하여 조직학적 소견 및 조직계측학적 소견을 확인할 계획. 아직 희생시기가 되지 않아 희생이 이루어지지 않았음.

바이오셀룰로오스의 두께에 따른 비교



Surgical procedures



○ 3차 년도 연구수행 결과

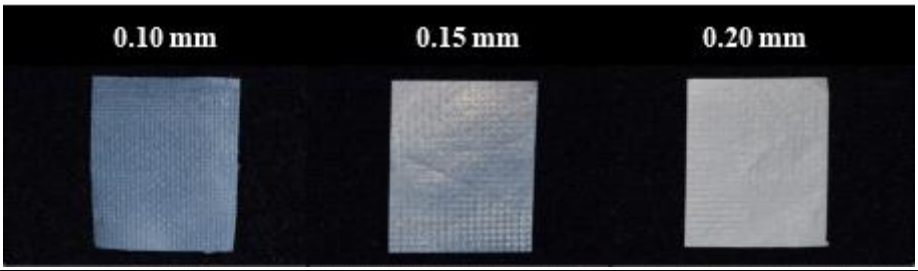
연구목표는 바이오셀룰로오스의 성능평가와 임상시험 준비 및 식약처 승인으로, 본 과제의 3차년도 연구 수행결과 전임상 안전성 평가를 완료하였음. 또한, 임상시험 진행을 위한 허가를 식약처로부터 득하고 “치과용 임플란트 식립부 골결손 환자의 치주조직유도재생술에 사용되는 셀룰로오스 치주조직재생유도재 CelBrane™의 안전성과 유효성을 콜라겐 멤브레인(Geistlich Bio-Gide®)과 비교·평가하기 위한 전향적, 대조, 대상자 단일눈 가림, 무작위 배정, 단일기관 확증 임상시험”을 부산대학교 치과병원의 연구윤리심의위원회 (IRB) 승인 하에서 수행중임.

1) 바이오셀룰로오스의 성능평가

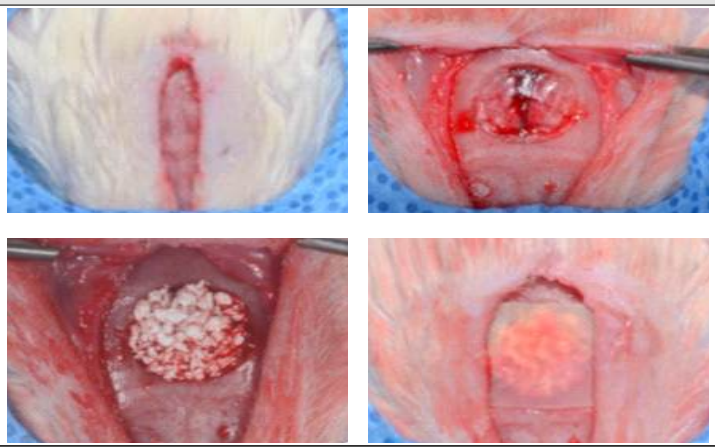
◦ 바이오셀룰로오스 차폐막의 두께에 따른 추가 비교실험(0.10mm, 0.15mm, 0.20mm)

- 흡수성 박테리아 셀룰로오스 차폐막의 유효성은 선행 연구를 통해 입증되었으나, 콜라겐과 비슷한 두께의 박테리아 셀룰로오스의 차폐막을 적용하였을 때 팽창 및 부종이 관찰되었음. 이를 최소화하기 위해 각각 0.10mm, 0.15mm, 0.20mm 두께의 바이오셀룰로오스 차폐막을 쥐 두개골 결손 모델에서 비교 평가하고, 최적의 바이오셀룰로오스 두께를 찾기 위한 목적으로 수행되었음.
- 실험 방법
  - Animals: 총 48 마리의 Sprague-Dawley rat(8주령, 수컷, 200-300g) 사용.
  - Surgical procedures: 모든 수술 과정은 전신 마취와 수술부위의 국소마취 하에서 수행됨. 쥐의 두개부에 4-5cm의 일자 절개를 시행하고 피부 및 골막을 거상함. Trephine bur를 이용하여 8mm 직경의 결손부를 두개부 중앙에 형성하고, 원형의 골조직을 주의 깊게 제거함. 합성골이식재를 결손부의 크기에 맞게 적용하고, 두께 0.10mm, 0.15mm, 0.20mm 두께의 바이오셀룰로오스 차폐막을 각각 이식함. 대조군으로는 콜라겐 차폐막이 이용되었음.
  - 술 후 2주와 8주에 실험동물을 희생하여 얻은 시편들은 조직학적 분석을 위하여 각 시편의 중앙부를 선택하여 hematoxylin eosin 염색하여 관찰하였으며, 조직계측학적 평가를 통해 전체 결손부에 대한 신생골의 백분율을 구함.
- 통계 분석은 Software R ver.3.1.3을 이용하여 Brunner & Langer(2000)의 비모수 분석법을 시행하였으며, 통계적 유의수준은 0.05로 설정함(P=0.05).

바이오셀룰로오스의 두께에 따른 비교



Surgical procedure

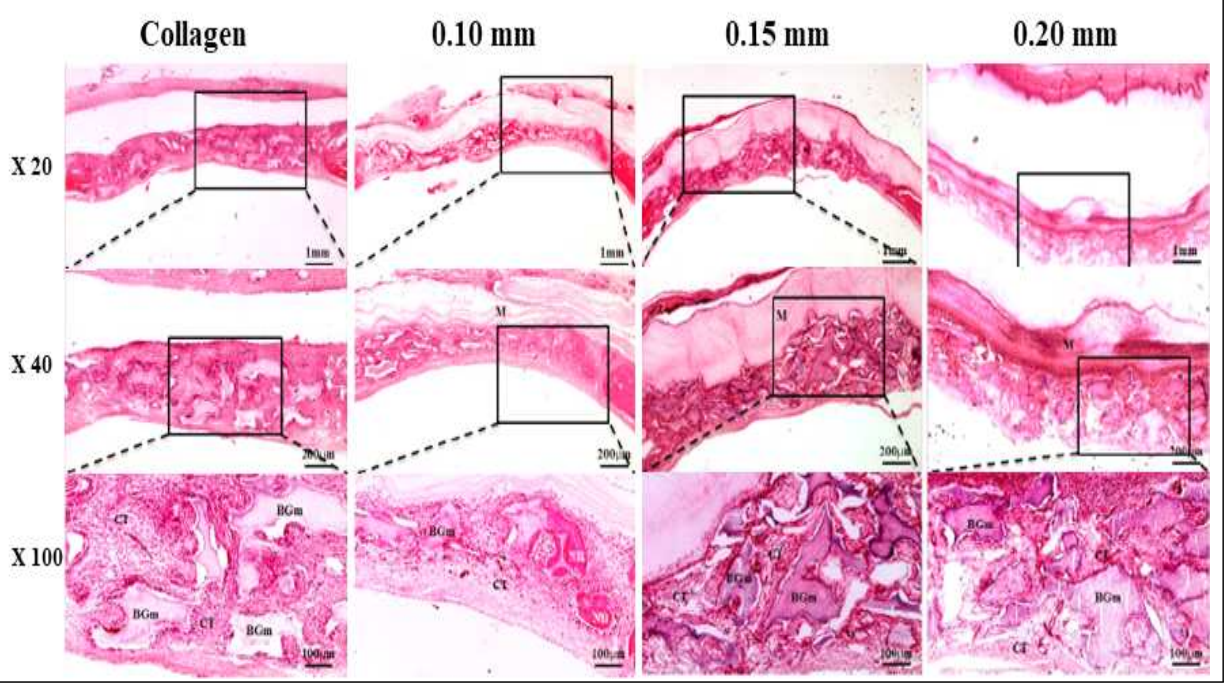


- 실험 결과

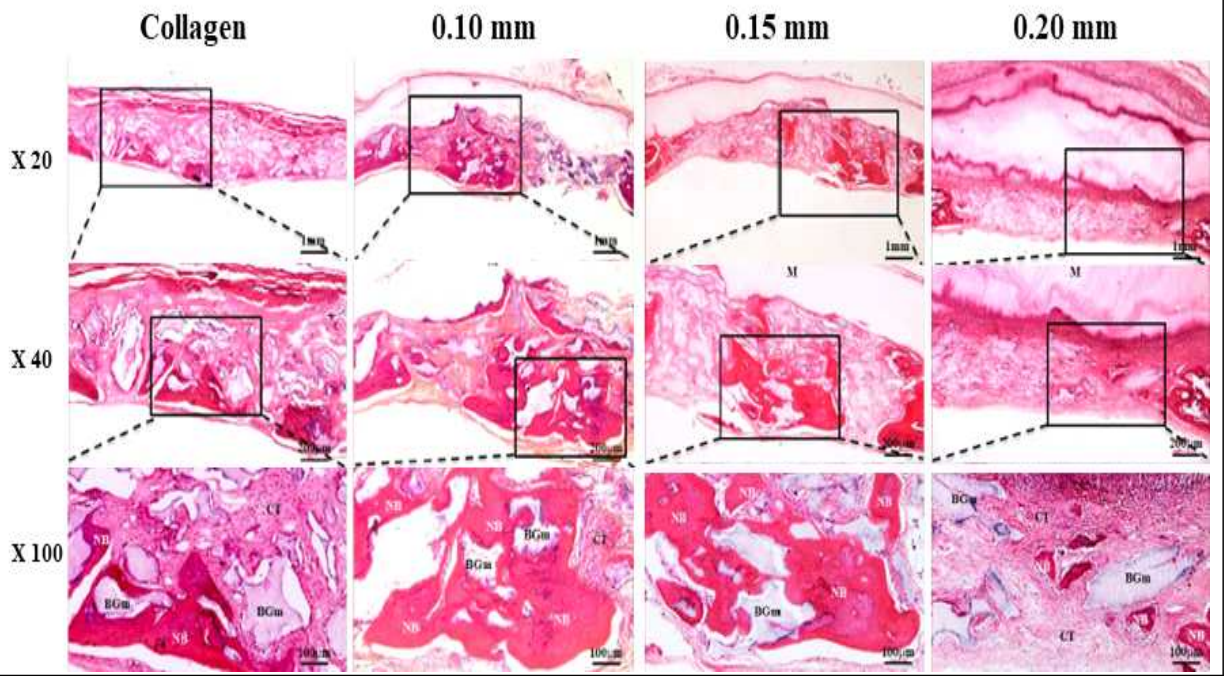
・조직형태학적 평가 결과, 콜라겐 차폐막의 2주경 시편에서는 신생골이 거의 관찰되지 않았으며, fibro tissue 및 골유사성기질이 관찰됨. 8주경 시편에서는 신생골이 형성된 부위가 관찰됨. 0.08mm 차폐막의 2주경 시편에서는 fibrous tissue 및 골유사 기질과 함께 신생골이 약간 관찰되며, 8주경 시편에서는 다수의 신생골이 형성된 부위가 관찰됨. 0.10mm 차폐막은 2주, 8주경 모두에서 콜라겐 차폐막과 비슷한 양상의 조직시편이 관찰됨. 0.20mm 차폐막의 경우, 2주차에서는 차폐막의 팽창과 함께 삼출성 부산물이 관찰 되고 신생골은 거의 관찰되지 않음. 8주경 시편에서는 약간 신생골이 형성된 부위가 관찰됨.

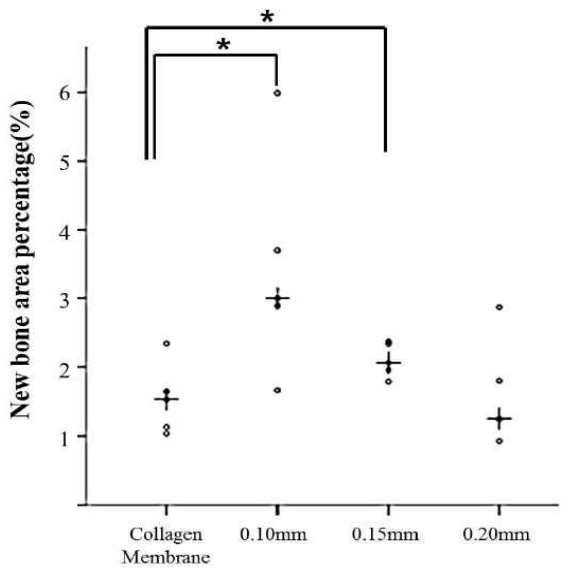
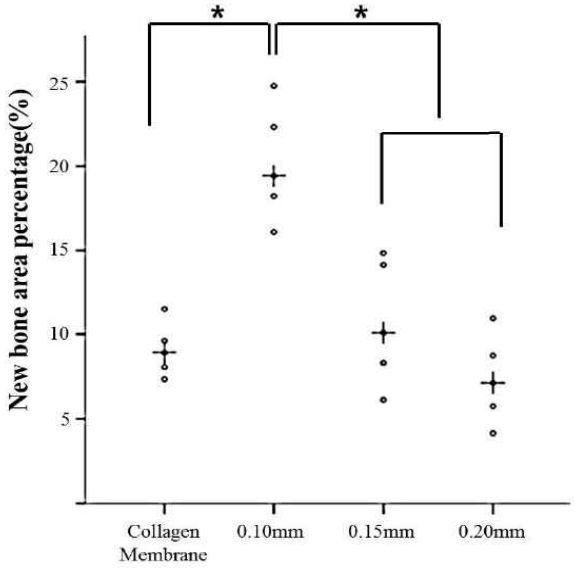
・조직계측학적 평가 결과, 모든 군에서 2주에서 8주로 갈수록 신생골 면적의 비율이 증가하였으며, 두께 0.10mm 의 바이오셀룰로오스 차폐막을 적용한 군에서 가장 높은 신생골 면적을 확인함. 박테리아 셀룰로오스 차폐막 가운데 두께 0.10mm를 이용하였을 때 가장 우수한 신생골 형성을 유도하는 것으로 평가됨.

조직시편사진(2주 희생)



조직시편사진(8주 희생)



조직계측학적분석 결과	
2주	8주
	

◦ 비글 하악 모델을 이용한 콜라겐 차폐막과 바이오셀룰로오스(100kGy) 비교평가

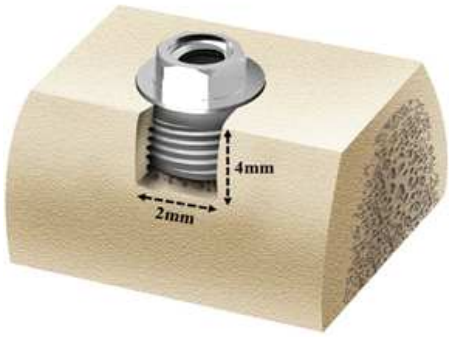
- 소형동물을 이용한 선행연구에서 100kGy의 방사선이 조사된 박테리아 셀룰로오스가 흡수성의 차폐막으로 사용하기에 물리 및 생물학적 측면에서 더 우수한 결과를 얻었기에, 본 연구는 콜라겐 차폐막과 박테리아 셀룰로오스 차폐막(100kGy)을 임상상황을 재현한 비글 하악 임플란트 모델에서 비교평가하기 위한 목적으로 수행됨.
- 실험방법

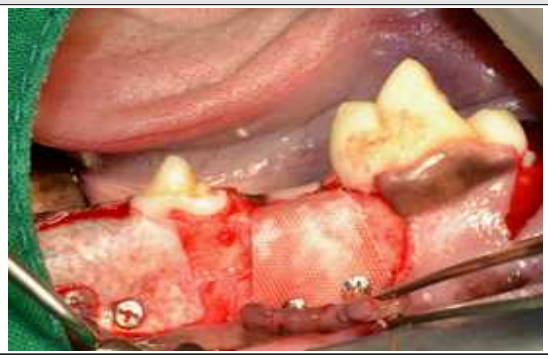
・Animals: 총 2마리의 비글견(18개월, 숫컷, 약 10kg) 사용. 실험동물 선택과 관리 및 수술 절차는 전남대학교 동물실험 윤리위원회가 승인한 routines에 따름.

・Surgical procedures: 모든 수술 과정은 케타민과 졸레틸을 혼합한 근육주사 통한 전신 마취 및 리도카인을 이용한 수술부위 국소마취 하에서 진행됨. 임플란트 수술 2개월 전에 비글의 하악의 소구치(P2, P4)를 발치하고 2개월간의 치유기간을 부여함. 임상적인 상황과 유사한 조건을 만들어주기 위해 발치한 부위에 치과용 핸드피스와 밀링바를 이용하여 높이 4.0mm, 넓이 2.0mm의 인위적인 골 결손을 편측당 2개씩 형성함. 직경 3.0mm, 길이 6.0mm의 임플란트를 골 결손 부위에 식립하고, 골 결손 부위에 신생골의 유도를 돕기 위하여 소유래 골이식재(Bio-Oss)를 정량 주입함. 콜라겐 차폐막과 바이오셀룰로오스 차폐막(100kGy)을 각각 위치시킨 후 봉합을 시행함. 수술 후 치유기간동안 항생제 투여, 위생관리 및 식이조절을 시행함.

・임플란트 수술 8주 후 실험동물을 희생함. 실험동물의 하악을 절단하여 임플란트가 식립된 주변 조직을 채득함. 조직학적 분석을 위해 비탈회방식인 레진을 이용하여 조직시편 제작. 각 시편들을 임플란트의 중앙부를 선택하여 박절하고 Goldner's trichrome으로 염색함. 조직계측학적 평가를 통해 신생골을 평가함.

임플란트 식립 모식도 및 차폐막 적용 사진



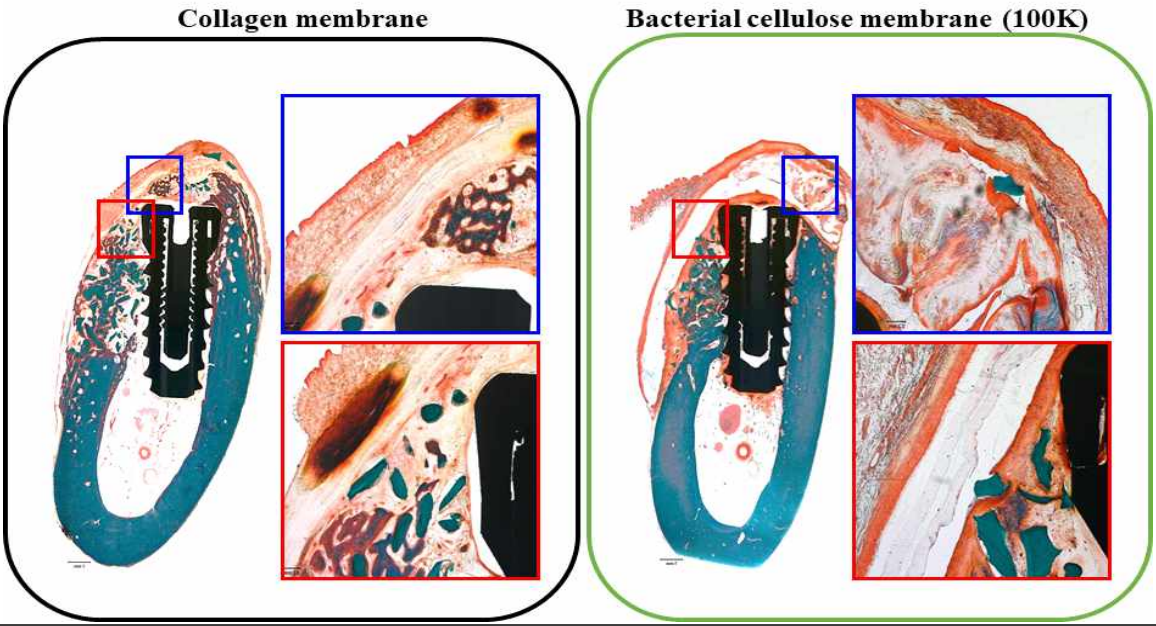


- 실험결과

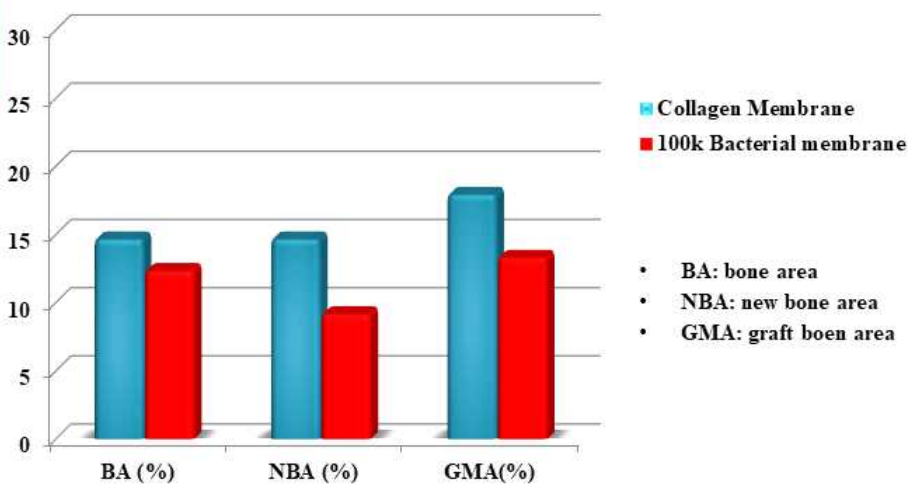
・조직형태학적 평가를 통해, 콜라겐 차폐막과 박테리아 셀룰로오스(100kGy) 차폐막 모두에서 골이식재가 잘 유지 된 상태로 신생골이 재생되어 있는 것을 관찰함. 흡수정도에서는 박테리아 셀룰로오스(100kGy) 차폐막이 콜라겐 차폐막에 비해 덜 흡수된 양상을 확인함.

・조직계측학적 평가에서는 골 면적과 신생골 면적이 콜라겐 차폐막을 이용한 군에서 더 높게 나타났으나, 통계적 분석을 하기에 시편수가 제한적 이으므로 통계분석이 시행되지는 않았음.

조직형태학적 분석 결과



조직계측학적분석 결과



2) “치과용 임플란트 식립부 골결손 환자의 치주조직유도재생술에 사용되는 셀룰로오스 치주조직재생유도재 CelBrane™의 안전성과 유효성을 콜라겐 멤브레인(Geistlich Bio-Gide®)과 비교·평가하기 위한 전향적, 대조, 대상자 단일눈가림, 무작위 배정, 단일기관 확증 임상시험” 수행

◦ 임상시험 승인

- 임상시험 연구윤리심의위원회(IRB) 승인 및 식품의약품안전처 승인

・임상시험 실시를 위해 부산대학교 치과병원 연구윤리심의위원회에 심의신청을 하였으며, 2017년 03월 최초 심의(ver. 1.0)가 최종 승인되었음.

・식품의약품안전처 의료기기 임상시험계획 승인 과정 중 연구계획서 및 기타 문건이 ver. 3.0-3.3 date)으로 개정되었으며, 최종 2018년 2월 식품의약품안전처 임상시험계획이 승인되었음.

・2018년 3월 부산대학교 치과병원 연구윤리심의위원회의 변경심의를 통해 식품의약품안전처 승인 문건을 반영하였으며, 식품의약품안전처 승인이 지연됨에 따라 임상시험 기간연장(승인일로부터 ~ 2019.12.31.)과 중간보고를 동시에 수행함.

・이후 2018년 4월 임상시험 개시모임을 통해 본 임상시험이 개시되었음.

임상시험 수행 총괄 일정

		3차년도(연장)								-			
년도		2017				2018				2019			
분기		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
IRB 승인													
식약처 승인													
임상시험 수행	1차 시술					54 / 54 (명)							
	2차 시술							53 / 54 (명) *					
연구결과 분석								53 / 54 (명) *					

※ 임상시험 종료후 품목 허가를 위한 식품의약품안전처 결과보고서 작성

* 대상자 1명 중도탈락 (visit window 초과)

부산대학교 치과병원 IRB 승인

초기심의

PNUDH IRB SOP (Ver 5.0 / 2017.03.17)
108. 심의결과 통보서
부산대학교치과병원

심의결과 통보서

IRB No.	PNUDH-2017-015-MD / 접수번호 N-2017-015-IIT
연구과제명	치과용 임플란트 식립부 골결손 환자의 치주조직유도재생술에 사용되는 셀룰로오스 치주조직재생유도재 CelBraneTM의 안전성과 유효성을 콜라겐 멤브레인(Geistlich Bio-Gide®)과 비교·평가하기 위한 전향적, 대조, 대상자 단일눈가림, 무작위 배정, 단일기관 확증 임상시험
책임연구자	소속 치과보철과 / 성명 허중보 / 직위 부교수
연구주체	■ 연구자 주도 □ 의뢰자 주도
연구종류	■ 인간대상연구 □ 의약품 □ 인체유래물연구 ■ 의료기기 □ 의무기록 연구 □ 생물학적 제재 □ 건강기능식품 □ 의료시술 □ 유전자 연구 □ 세포치료제 □ 줄기세포연구 ■ 기타(중재연구) ■ 전향적 연구 □ 후향적 연구 □ 전향적&후향적 병행연구
목적	■학술용 ■국내허가용(KFDA) □해외허가용
Phase	□ I □ II □ II ■ IV □ PMS / ■ 기타(인간대상)
연구예정기간	IRB승인일로부터 ~ 2018.03.31
심의종류	■ 정규심의 □ 신속심의 □ 심의면제 □ 긴급회의
심의대상	■ 초기심의 □ 변경심의 □ 보완심의(재심의) □ 이상반응 보고서 심의 □ 중간보고 심의 □ 위반·미준수사례 보고서 심의 □ 일시중지 보고서 심의 □ 조기종료 보고서 심의 □ 종료보고서 심의 □ 결과보고서 심의 □ 기타( ) □ 기타( )
심의내용	연구계획서 요약자료, 연구계획서(Ver. 1.0 Date. 2016.10.19), 증례기록서, 대상자 설명문/동의서(Ver. 1.0 Date. 2016.10.19), 연구자 이력서, 교육이수증, 연구자 서약서, 이해상충 서약서, 기타(피해자 보상에 대한 규약, 설문지, NRS 통증평가)
심의결과	■ 승인 □ 시정승인 □ 보완 □ 반려 □ 중지(강제종료) □ 보류
심의일자	2017.03.29 / 승인유효기간 2017.03.29 ~ 2018.03.28
중간보고 주기	■ 1년 □ 해당없음 □ 기타(개월) / 중간보고 제출기한 2018.02.28
심의의견	1) 식약처 승인 시 변경신청서 내 기타보고를 통하여 식약처 승인서를 제출해 주시기 바랍니다.

※ 부산대학교치과병원 임상시험심사위원회는 생명윤리 및 안전에 관한 법률, 약사법, 의료기기법을 준수합니다.
※ IRB 위원이 본 연구와의 이해관계가 있는 경우 해당 위원은 본 연구의 심의과정에 참여하지 않았습니다.

부산대학교치과병원 임상시험심사위원회 위원장

중간보고

PNUDH IRB SOP (Ver 5.0 / 2017.03.17)
108. 심의결과 통보서
부산대학교치과병원

심의결과 통보서

IRB No.	PNUDH-2017-015-MD / 접수번호 N2-2018-006-SIT
연구과제명	치과용 임플란트 식립부 골결손 환자의 치주조직유도재생술에 사용되는 셀룰로오스 치주조직재생유도재 CelBraneTM의 안전성과 유효성을 콜라겐 멤브레인(Geistlich Bio-Gide®)과 비교·평가하기 위한 전향적, 대조, 대상자 단일눈가림, 무작위 배정, 단일기관 확증 임상시험
책임연구자	소속 치과보철과 / 성명 허중보 / 직위 부교수
연구주체	□ 연구자 주도 ■ 의뢰자 주도
연구종류	■ 인간대상연구 □ 의약품 □ 인체유래물연구 ■ 의료기기 □ 의무기록 연구 □ 생물학적 제재 □ 건강기능식품 ■ 의료시술 □ 유전자 연구 □ 세포치료제 □ 줄기세포연구 □ 기타 ■ 전향적 연구 □ 후향적 연구 □ 전향적&후향적 병행연구
목적	□학술용 ■국내허가용(KFDA) □해외허가용
Phase	□ I □ II □ II □ IV □ PMS / ■ 기타(의료기기 확증임상시험)
연구예정기간	IRB승인일로부터 ~ 2019.12.31
심의종류	■ 정규심의 □ 신속심의 □ 심의면제 □ 긴급회의
심의대상	□ 초기심의 □ 변경심의 □ 보완심의(재심의) □ 이상반응 보고서 심의 ■ 중간보고 심의 □ 위반·미준수사례 보고서 심의 □ 일시중지 보고서 심의 □ 조기종료 보고서 심의 □ 종료보고서 심의 □ 결과보고서 심의 □ 기타( ) □ 기타( )
심의내용	연구계획서 Ver 1.0 Date 2016.10.19 대상자 설명문 및 동의서 Ver 1.0 Date 2016.10.19.
심의결과	■ 승인 □ 시정승인 □ 보완 □ 반려 □ 중지(강제종료) □ 보류
심의일자	2018.03.14 / 승인유효기간 2019.03.14
중간보고 주기	■ 1년 □ 해당없음 □ 기타(개월) / 중간보고 제출기한 2019.02.14
심의의견	승인유효기간을 준수하시어 연구수행 및 기간 내 중간보고 심의를 받으시길 바랍니다.

※ 부산대학교치과병원 임상시험심사위원회는 생명윤리 및 안전에 관한 법률, 약사법, 의료기기법을 준수합니다.
※ IRB 위원이 본 연구와의 이해관계가 있는 경우 해당 위원은 본 연구의 심의과정에 참여하지 않았습니다.

부산대학교치과병원 임상시험심사위원회 위원장

식품의약품안전처 승인서

제 833 호

의료기기 임상시험계획승인서

신청인 (대표자)	성 명	정철웅	생년월일	1969년 01월 14일
	주 소			
제조(수입) 업소	명칭(상호)	(주)쿠보텍	업허가번호	제 2603 호
	소 재 지	광주광역시 북구 첨단벤처소로37번길 50		
제 조 원 (수입 또는 제조공정 전부 위탁의 경우)	명칭(상호)		제 조 국	
	소 재 지			
임 상 시 험 개 요	명칭(제품명, 품목명, 모델명)	흡수성치주조직재생유도재	분류번호 (등급)	C23030.01(4)
	임상시험계획 승인번호	제 833 호		
	임상시험의 제목	치과용 임플란트 식립부 골결손 환자의 치주조직유도재생술에 사용되는 셀룰로오스 치주조직재생유도재 CelBraneTM의 안전성과 유효성을 콜라겐 멤브레인(Geistlich Bio-Gide®)과 비교 · 평가하기 위한 전향적, 대조, 대상자 단일눈가림, 무작위 배정, 단일기관 확증 임상시험		

「의료기기법」 제 10조 및 같은 법 시행규칙 제20조제4항에 따라 위와 같이 임상시험계획을 승인합니다.

※ 붙임 : 의료기기 임상시험계획승인신청서 1부.

2018 년 02 월 07 일

식 품 의 약 품 안 전 처 장 (인)

변경심의(식품의약품안전처 승인 반영)

PNUDH IRB SOP (Ver 5.0 / 2017.03.17)
108. 심의결과 통보서
부산대학교치과병원

심의결과 통보서

IRB No.	PNUDH-2017-015-MD / 접수번호 N3-2018-004-SIT
연구과제명	치과용 임플란트 식립부 골결손 환자의 치주조직유도재생술에 사용되는 셀룰로오스 치주조직재생유도재 CelBraneTM의 안전성과 유효성을 콜라겐 멤브레인(Geistlich Bio-Gide®)과 비교·평가하기 위한 전향적, 대조, 대상자 단일눈가림, 무작위 배정, 단일기관 확증 임상시험
책임연구자	소속 치과보철과 / 성명 허중보 / 직위 부교수
연구주체	□ 연구자 주도 ■ 의뢰자 주도
연구종류	■ 인간대상연구 □ 의약품 □ 인체유래물연구 ■ 의료기기 □ 의무기록 연구 □ 생물학적 제재 □ 건강기능식품 □ 의료시술 □ 유전자 연구 □ 세포치료제 □ 줄기세포연구 ■ 기타(중재연구) ■ 전향적 연구 □ 후향적 연구 □ 전향적&후향적 병행연구
목적	■학술용 ■국내허가용(KFDA) □해외허가용
Phase	□ I □ II □ II ■ IV □ PMS / □ 기타
연구예정기간	IRB승인일로부터 ~ 2019.12.31
심의종류	□ 정규심의 ■ 신속심의 □ 심의면제 □ 긴급회의
심의대상	□ 초기심의 ■ 변경심의 □ 보완심의(재심의) □ 이상반응 보고서 심의 □ 중간보고 심의 □ 위반·미준수사례 보고서 심의 □ 일시중지 보고서 심의 □ 조기종료 보고서 심의 □ 종료보고서 심의 □ 결과보고서 심의 □ 기타( ) □ 기타( )
심의내용	연구계획서 Ver. 3.3 Date 2018.02.20, 설명문 및 동의서 Ver. 3.2 Date 2018.02.20, 증례기록서 Ver. 3.0 Date 2018.02.19., 대상자 모집공고문(배너), 대상자수, 연구기간 연장, 공동연구자 주지영 삭제, 공동연구자 이주연, 김현주 추가, 식약처 승인서, 연구비 산정내역서
심의결과	■ 승인 □ 시정승인 □ 보완 □ 반려 □ 중지(강제종료) □ 보류
심의일자	2018.03.16 / 승인유효기간 -
중간보고 주기	□ 1년 □ 해당없음 □ 기타(개월) / 중간보고 제출기한 -
심의의견	

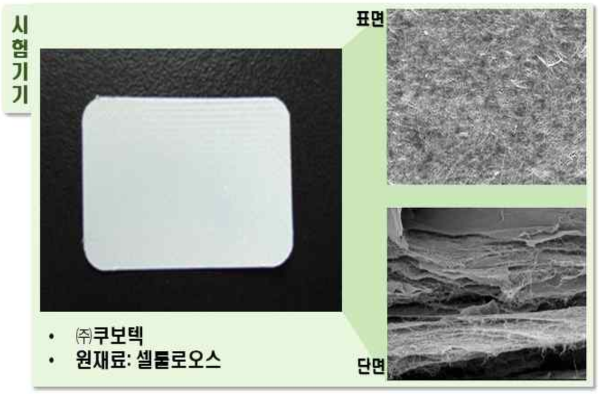
※ 부산대학교치과병원 임상시험심사위원회는 생명윤리 및 안전에 관한 법률, 약사법, 의료기기법을 준수합니다.
※ IRB 위원이 본 연구와의 이해관계가 있는 경우 해당 위원은 본 연구의 심의과정에 참여하지 않았습니다.

부산대학교치과병원 임상시험심사위원회 위원장

임상시험 대조기기와 시험기기

콜라겐 멤브레인 Geistlich Bio-Gide®

셀룰로오스 치주조직재생유도재 CelBrane™



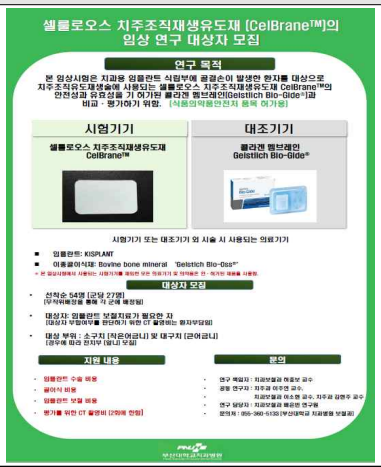
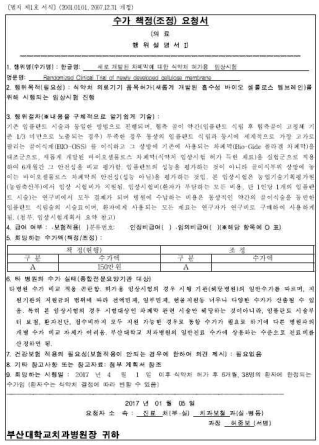
임상시험 진행 일정표					
	스크리닝	시술일	추적관찰기간		
방문일	방문1	방문2	방문3	방문4	방문5
경과일수	-3개월~0일	Day0	1개월	3개월	6개월
Visit window	-	-	± 1주	± 1주	± 1주
관찰형태	내원	내원	내원	내원	내원
동의서 취득	√				
선정/제외기준	√	√			
인구학적 조사	√				
병력조사	√				
구강검진	√	√	√	√	√
시술부위 CT 촬영	√	√			√
임플란트 식립(1차 시술)		√			
초기고정 성공여부 평가		√			
골결손부 크기 측정		√			√
시술부위 사진촬영		√	√	√	√
무작위배정		√			
치주조직유도재생술 (임상시험용 의료기기 적용)		√			
치유지대주 장착(2차 시술)					√
대상자시술만족도					√
시술부위 통증평가			√	√	√
이상사례/ 중대한 이상사례		√	√	√	√
선행/병용약물 및 병용요법	√	√	√	√	√

◦ 임상시험 스크리닝 및 1차 임플란트 시술

- 피험자 모집 및 스크리닝(방문 1, -3개월 ~ Day 0)

・본 임상시험에서는 CelBrane™의 안전성과 유효성을 기 허가받은 동일 품목의 의료기기 Geistlich Bio-Gide®와 비교·평가하기 위해 부산대 치과병원에서 임플란트 식립부에 골결손이 있는 자 총 54명을 임상시험대상자로 등록함.

・선정/제외기준, 인구학적 조사, 병력조사, 구강검진, 시술부위 CT평가 후 기준을 만족하는 임상시험대상자는 최종 등록된 후 시험군 또는 대조군 중 하나로 무작위배정 됨. 무작위 배정 코드는 Block Randomization 방식을 적용, SAS Proc Plan으로 생성되며 시험군과 대조군의 무작위 배정 비율은 1:1 임. 시험 대상자 별로 무작위 배정 봉투를 제작하여 무작위 배정을 시행함.

임상시험 대상자 모집 광고(IRB 승인)	임상시험 수가 책정(코드 YR 7002)
	

- **피험자 모집 결과**

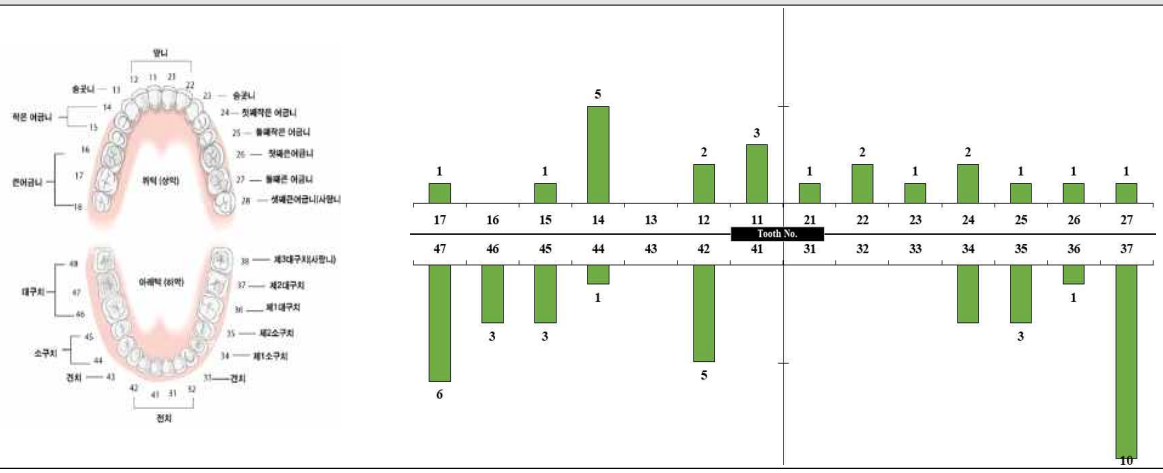
- 임상시험에는 총 54명의 피험자가 모집되었음.
- 무작위 배정 봉투를 이용한 무작위 배정 결과, 임상시험 대상자 중 대조군으로 28명, 시험군으로 26명이 배정되었음.
- 총 54명의 피험자 가운데 남성이 28명, 여성이 26명이였으며, 평균 연령 60.8 ± 11.24세로 조사됨.
- 시술 대상 부위는 1례로 하며 초기 고정에 성공하고 골 결손 발생 부위가 2례 이상인 경우, 주사위를 이용하여 본 임상시험의 시술 대상 부위를 지정하였음.
- 시술 대상 부위 중 #37번 부위가 10개로 가장 많았으며, 다음으로는 #47 부위가 6개로 많은 분포를 보였음.

임상시험 등록 피험자 목록

등록번호 (S)	배정번호 (R)	군	대상자 이니셜	나이	성별	치식
1	1	대조	PHS	68	M	22
2	40	대조	LLH	24	F	34
3	2	대조	KSK	62	M	26
4	11	대조	IES	50	F	11
5	23	실험	CJE	53	F	46
6	3	실험	KIO	69	F	47
7	5	대조	YSO	70	F	42
8	29	대조	HBK	78	M	35
9	6	실험	KES	71	F	23
10	7	대조	KSH	61	M	44
11	8	실험	JJH	83	M	25
12	9	실험	SJK	63	M	34
13	10	대조	KCH	42	M	37
14	12	실험	LJB	64	F	17
15	13	실험	JH	61	M	12
16	14	대조	LJW	66	M	12
17	15	대조	KYS	69	M	37
18	16	실험	YCH	66	M	24

19	17	대조	KYH	52	F	21
20	18	실험	LLW	73	M	14
21	19	실험	LYL	40	F	37
22	20	대조	SJH	60	M	47
23	21	대조	BMS	67	M	27
24	22	대조	SBH	54	F	45
25	24	실험	HNK	28	M	35
26	25	실험	LKJ	64	F	37
27	26	대조	SSY	52	F	47
28	27	실험	KON	65	F	14
29	28	실험	KJS	61	F	37
30	30	대조	KBK	60	M	47
31	31	대조	KMS	54	F	42
32	32	실험	CKB	58	M	47
33	33	대조	KSJ	84	M	11
34	34	실험	WKS	52	F	37
35	35	실험	JKY	67	F	42
36	36	대조	OJK	55	M	37
37	37	대조	KJM	63	F	22
38	38	실험	KTS	55	M	11
39	39	실험	JYJ	57	M	47
40	41	실험	KYS	57	M	36
41	42	대조	YYO	52	F	37
42	43	실험	JKS	66	F	45
43	44	대조	OSJ	64	F	46
44	45	대조	JJH	51	M	35
45	46	실험	CYS	61	M	14
46	47	실험	LKH	56	F	45
47	48	대조	KKS	65	F	37
48	49	대조	HDO	59	M	37
49	50	실험	LJW	55	M	14
50	51	실험	LJT	69	M	46
51	52	실험	CJH	70	F	34
52	53	대조	PYS	70	F	14
53	54	대조	JSS	76	F	15
54	55	대조	KJD	70	M	24

연구대상 부위 분포도

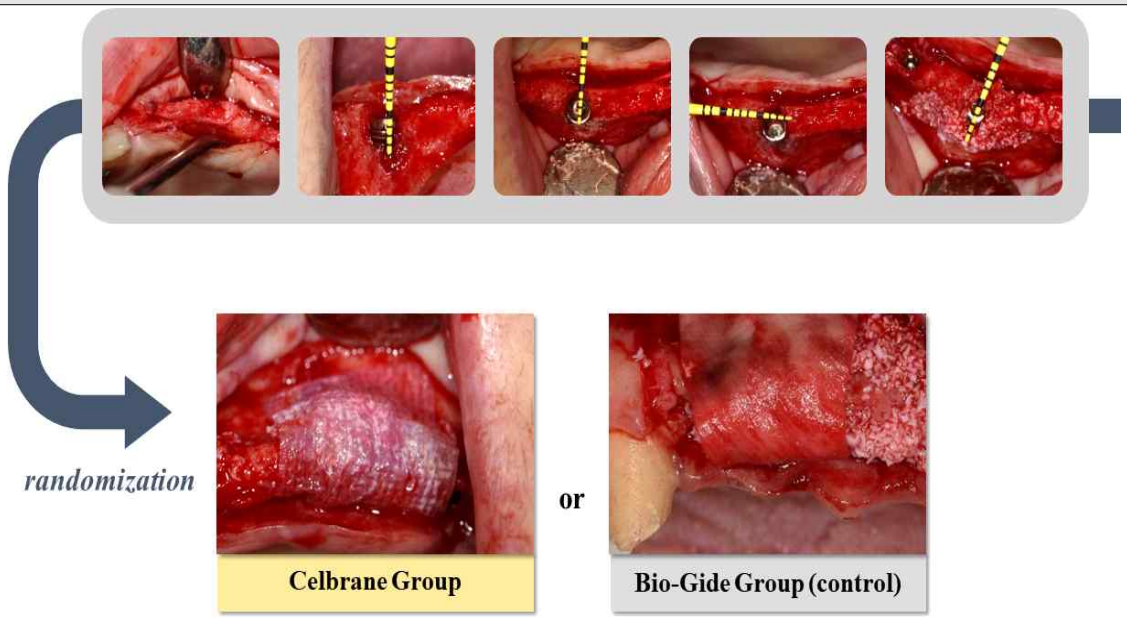


- 1차 임플란트 시술 및 의료기기 적용

· 임플란트 1차 시술 시 임플란트의 초기고정에 성공하고 골 결손부 높이가 3mm 이상 7mm 이하(단, 골 결손 너비가 2mm 이하인 경우 골 결손부 높이 3mm 이상 10mm 이하)로 측정된 자에 한하여 무작위 배정번호(R)가 부여되고 시험군 또는 대조군으로 무작위 배정됨(초기 고정에 실패하거나 골 결손부 높이 기준에 만족하는 부위가 없는 자는 스크리닝 탈락되어 임상시험에 등록될 수 없음).

· 시술이 종료되면 대상자에게 시술 후 주의사항 및 구강관리법을 교육하고 기관의 표준절차에 따라 항생제, 진통제, 0.2% Chlorhexidine solution(치은연상치태 조절용, 하루 2회 적용)등의 약물을 동일하게 처방함.

1차 임플란트 시술 과정

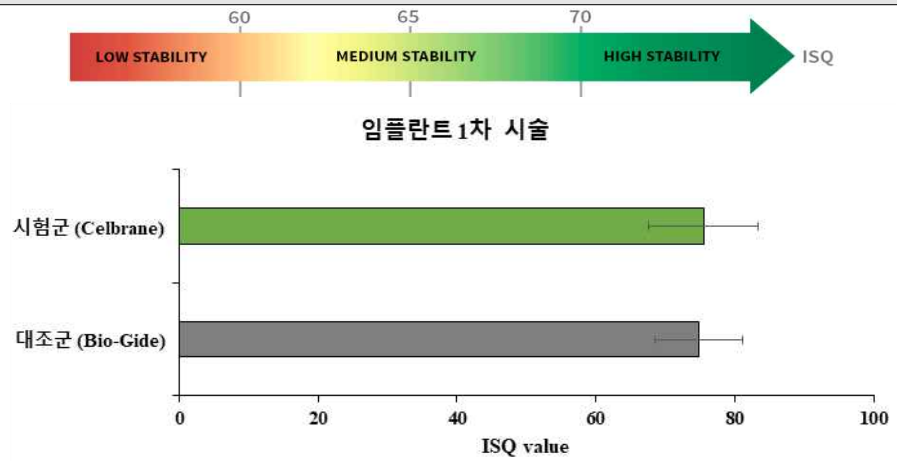


- 1차 임플란트 시술 결과

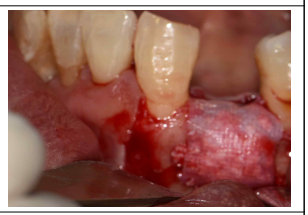
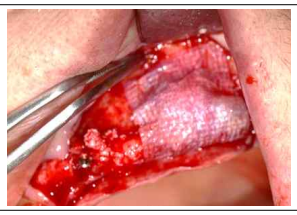
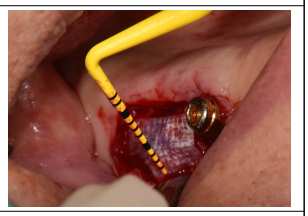
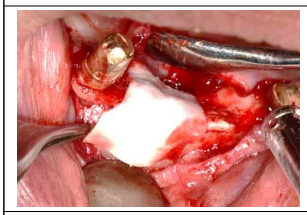
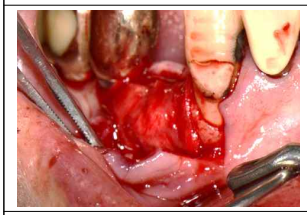
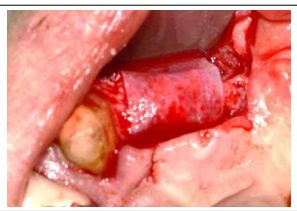
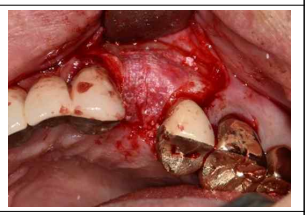
· 모든 임플란트는 임플란트 식립 직후 임플란트 초기고정을 측정하는 장비(Ostell)을 이용하여 안정성 지수(ISQ value)를 확인함.

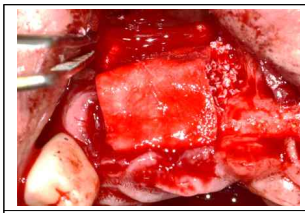
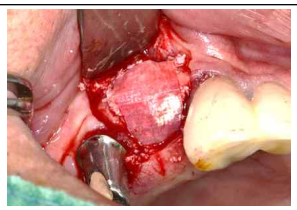
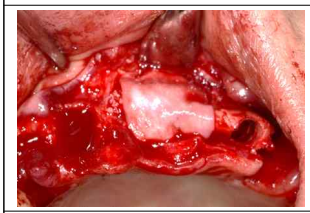
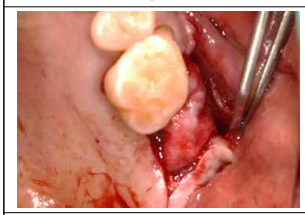
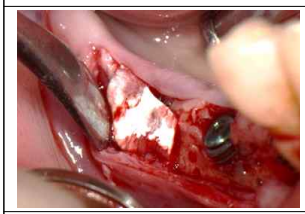
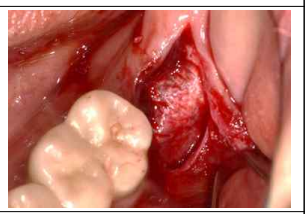
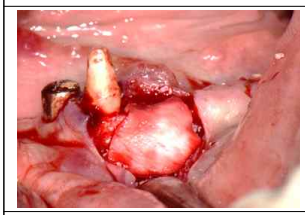
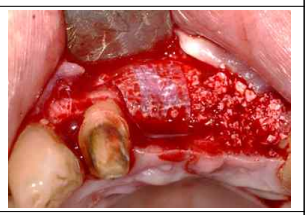
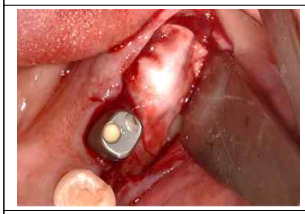
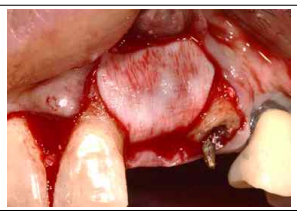
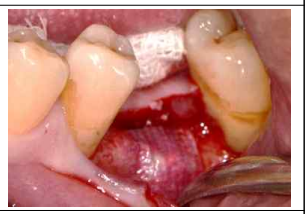
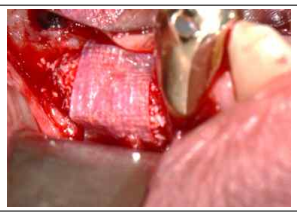
· 시험군은 평균 75.47 ± 7.88, 대조군은 74.88 ± 6.31의 ISQ value를 확인하였으며, 모든 피험자에서 60이상의 초기고정을 확인한 후 시험기기 또는 대조기기를 적용하여 치주조직유도재생술(Guided Tissue Regeneration, GTR)을 실시함.

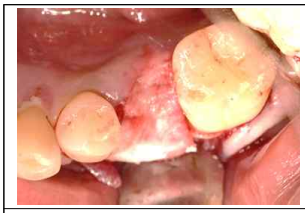
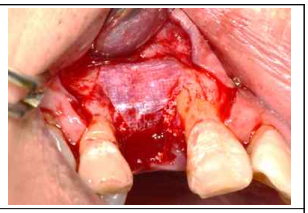
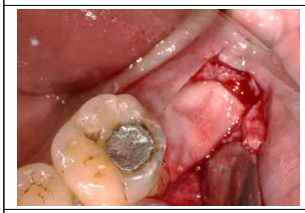
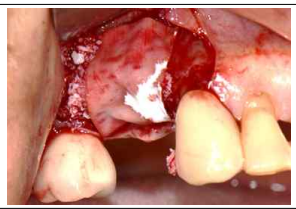
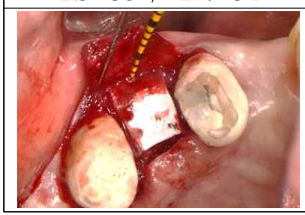
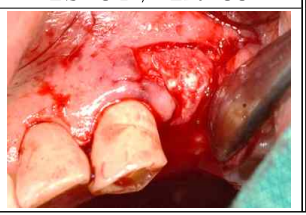
1차 시술 임플란트 초기고정 확인(ISQ Value)



피험자별 시험 의료기기 적용 사진

대조군		시험군	
1S-01 / 1R-01	1S-02 / 1R-40	1S-05 / 1R-23	1S-06 / 1R-03
			
1S-03 / 1R-02	1S-04 / 1R-11	1S-09 / 1R-06	1S-11 / 1R-08
			
1S-07 / 1R-05	1S-08 / 1R-29	1S-12 / 1R-09	1S-14 / 1R-12
			
1S-10 / 1R-07	1S-13 / 1R-10	1S-15 / 1R-13	1S-18 / 1R-16
			
1S-16 / 1R-14	1S-17 / 1R-15	1S-20 / 1R-18	1S-21 / 1R-19

			
1S-19 / 1R-17	1S-22 / 1R-20	1S-25 / 1R-24	1S-26 / 1R-25
			
1S-23 / 1R-21	1S-24 / 1R-22	1S-28 / 1R-27	1S-29 / 1R-28
			
1S-27 / 1R-26	1S-30 / 1R-30	1S-32 / 1R-32	1S-34 / 1R-34
			
1S-31 / 1R-31	1S-33 / 1R-33	1S-35 / 1R-35	1S-38 / 1R-38
			
1S-36 / 1R-36	1S-37 / 1R-37	1S-39 / 1R-39	1S-40 / 1R-41
			
1S-41 / 1R-42	1S-43 / 1R-44	1S-42 / 1R-43	1S-45 / 1R-46
			
1S-44 / 1R-45	1S-47 / 1R-48	1S-46 / 1R-47	1S-49 / 1R-50

			
1S-48 / 1R-49	1S-52 / 1R-53	1S-50 / 1R-51	1S-51 / 1R-52
			
1S-53 / 1R-54	1S-54 / 1R-55		
			

◦ **피험자 추적 관찰**

- 추적관찰(방문 3-4, 1개월 ± 1주, 3개월 ± 1주)

· 시술 후 1개월과 3개월 시점에 피험자의 치유상태 검사 및 안전성 평가 항목을 기록·평가함.

· 구강검진, 시술부위 사진촬영(치유상태 검사 용), 시술부위 통증평가, 이상사례/중대한 이상사례 확인, 병용약물 및 병용요법 확인을 시행함.

· 구강위생관리가 미흡한 피험자의 경우 구강위생관리에 대한 교육을 추가적으로 실시함.

추적관찰 시행 사진

- 추적관찰 결과

· 1개월 추적관찰시 시험기기의 노출이 대조군에서 1명(1S-41), 시험군에서 2명(1S-05, 1S-26)이 발생하였음.

· 3개월 추적관찰시 시험기기의 노출이 시험군에서 1명(1S-21) 발생하였으며, 대조군에서는 기록

할 만한 특이사항은 없었음.

· 모든 노출환자는 적절한 소독 및 교육을 시행하였고 회복을 확인하였음.

추적관찰 특이사항

	대조군 (Bio-Gide)		시험군 (Celbrane)	
	1개월 추적관찰	3개월 추적관찰	1개월 추적관찰	3개월 추적관찰
시험기기 노출	1	-	2	1

◦ 2차 임플란트 시술

- 2차 임플란트 시술(방문 5, 6개월 ± 1주)

· 시술 후 6개월 시점에 치유상태 검사 및 안전성 평가와 함께 치주조직유도재생술에 대한 유효성 평가(골결손부 크기측정, 통증 및 시술만족도 평가)를 하고 성공적으로 신생골이 재생된 경우에 한하여 Cover screw를 치유지대주로 교환하기 위한 2차 시술(Re-entry)을 실시함.

· 2차 시술 전 유효성 평가를 위해 점막성골막피판(Mucoperiosteal flap)을 거상하고 시술일과 동일한 방법으로 골결손부 크기를 측정하여 신생골 재생 정도를 평가함. 본 평가에서 골결손부 높이가 3mm 미만으로 측정된 대상자에 한하여 2차 시술을 실시함.

· 시술 부위 골결손부 높이가 3mm 이상인 대상자에게는 시험 종료 후, 재치료 또는 적절한 대체치료를 제공함.

· 모든 추적관찰평가를 마치고, 이상사례가 발생하지 않았거나 이미 발생한 이상사례가 모두 해결되었다면 임상시험을 종료함.

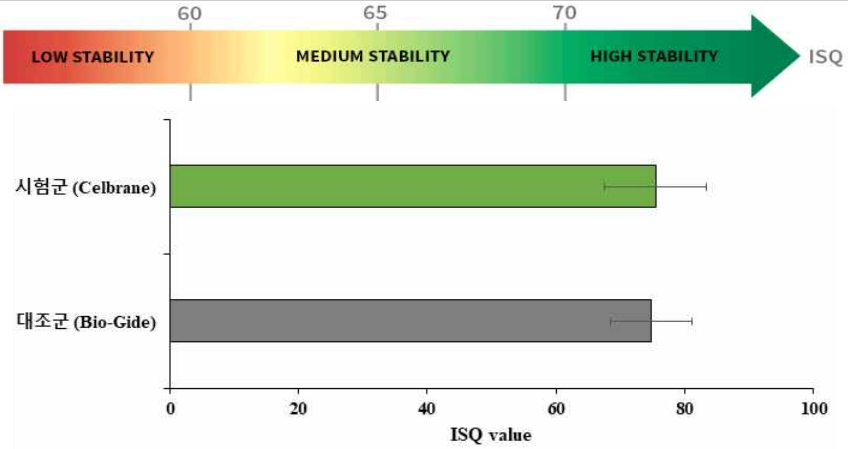
- 2차 임플란트 시술 결과

· 본 임상시험은 임플란트 식립후 6개월 시점에 2차 시술을 수행해야하며, 임상시험의 특성상 그 기간을 준수하는 것이 필수적임. *총 54명의 대상자 중 53명의 2차 임플란트 시술을 완료함. 1S-36 (1R-36)은 대상자의 개인사유로 추적관찰이 지연되었으며, 결과분석에 영향을 미칠 정도로 visit window가 초과됨. 연구자의 판단에 따라 대상자 1S-36를 중도탈락 처리함.* (이후 후속치료는 부산대학교치과병원의 내규에 따라 진행될 예정임)

· 2차 시술시 임플란트 안정성을 측정하였으며, 시험군은 평균 81.15 ± 5.93 대조군은 78.53 ± 5.81의 ISQ value를 확인하였으며, 모든 피험자에서 최소 67이상의 임플란트 안정성을 확인함.

· 1명의 피험자(대조군, 1S-37)에서 3mm 이상의 골결손 높이가 측정되었으며, Cover screw를 치유지대주로 교환하지 않고 추가적인 치주조직유도재생술을 실시하였음.

2차 시술 임플란트 초기고정 확인(ISQ Value)



◦ **일차 유효성 평가(골결손 높이 변화량)**

- 골결손 높이 변화량(mm) 평가 방법

・골 결손 높이는 Cylinder shoulder(Fixture platform)의 윗부분에서부터 임플란트와 접촉하는 골의 가장 윗부분까지의 거리로 골결손 높이 측정시, 골 결손이 가장 큰 단면(골결손의 높이가 가장 길게 측정되는 단면)을 기준으로 측정함

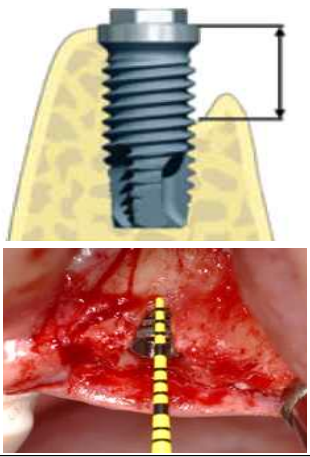
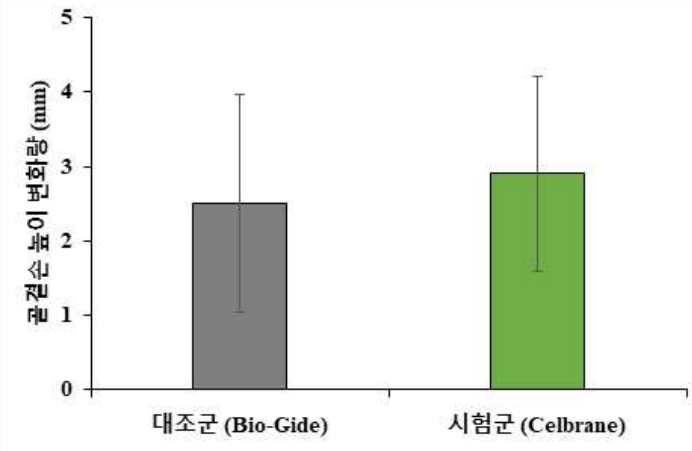
・(1차 임플란트 시술시 실측값) - (2차 임플란트 시술시 실측값)

- 골결손 높이 변화량(mm) 평가 결과

・1차와 2차 임플란트 시술시 측정된 임플란트 주위 골 결손 높이의 변화량을 산출한 결과, 시험군에서 평균 2.90 ± 1.31mm의 높이 변화를 보였으며, 대조군에서는 평균 2.51 ± 1.46mm으로 측정되었음 ($p < 0.05$).

・2차 임플란트 시술이 시행된 53명의 피험자 중 52명의 피험자에서 양의 값(골결손 높이가 감소함)을 나타내었으나, 1명의 피험자(대조군, 1S-37)에서 1차 시술시 4mm, 2차 시술시 6mm로 음의 값(골결손 높이가 증가함)을 나타내었음.

골결손 높이 변화량 평가

골결손 높이 기준	결과
	

◦ 이차 유효성 평가(임플란트 주위 골결손부 변화량)

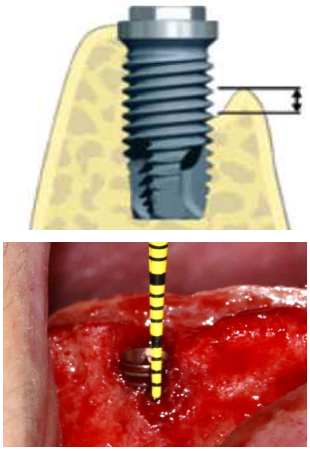
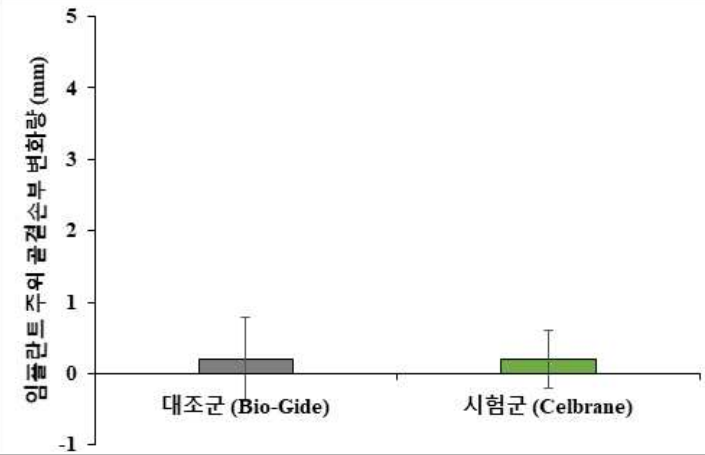
- 임플란트 주위 골결손부 변화량(mm) 평가 방법

· 임플란트 주위 골결손부는 Bone crest에서부터 임플란트와 접촉하는 골의 가장 윗부분까지의 거리로 골 결손 높이를 측정한 단면의 거리를 기준으로 측정함.

· (1차 임플란트 시술시 실측값) - (2차 임플란트 시술시 실측값)

- 골결손 높이 변화량(mm) 평가 결과

· 1차와 2차 임플란트 시술시 측정된 임플란트 주위 골 결손부 변화량을 산출한 결과, 시험군에서 평균 0.21 ± 0.40mm의 변화량을 보였으며, 대조군에서는 평균 0.20 ± 0.59mm으로 측정되었음 ($p < 0.05$).

골결손 주위 골결손부 변화량 평가	
골결손 주위 골결손부 기준	결과
	

◦ 이차 유효성 평가(골결손 폭 변화량)

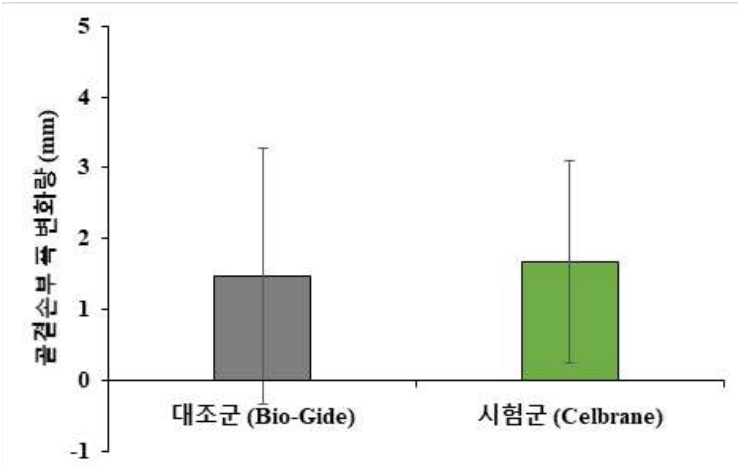
- 골결손 폭 변화량(mm) 평가 방법

· 골결손 폭은 임플란트 Shoulder에서부터 Mesio distal bone crest까지의 거리로 골 결손 높이를 측정한 단면의 거리를 기준으로 측정함.

· (1차 임플란트 시술시 실측값) - (2차 임플란트 시술시 실측값)

- 골결손 폭 변화량(mm) 평가 결과

· 1차와 2차 임플란트 시술시 측정된 골결손 폭 변화량을 산출한 결과, 시험군에서 평균 1.67 ± 1.43mm의 변화량을 보였으며, 대조군에서는 평균 1.48 ± 1.81mm으로 측정되었음 ($p < 0.05$).

골결손부 폭 변화량 평가	
골결손부 폭 기준	결과
	

◦ 이차 유효성 평가(골결손 깊이 변화량)

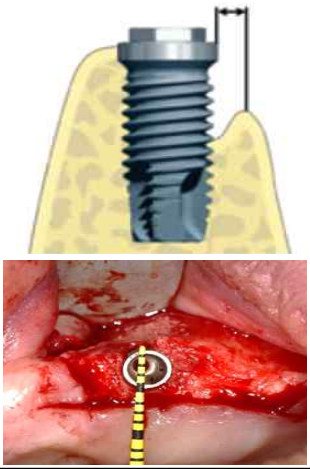
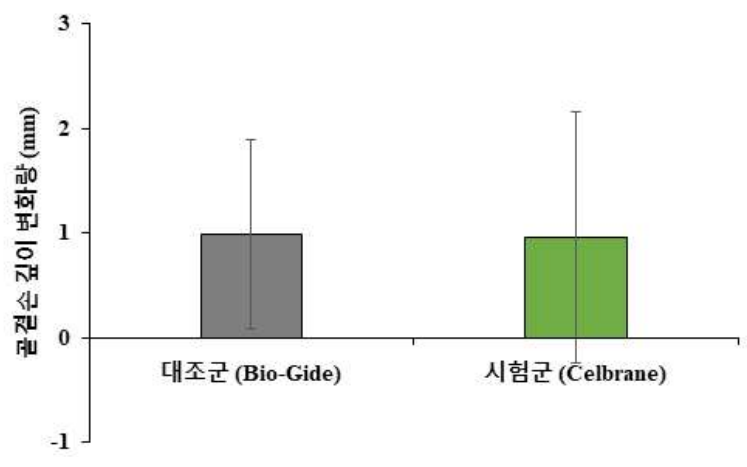
- 골결손 깊이 변화량(mm) 평가 방법

· 골결손 깊이는 Bone crest에서부터 임플란트의 긴 축과 수직방향에서 임플란트 표면까지의 거리로 골 결손 높이를 측정한 단면의 거리를 기준으로 측정함.

· (1차 임플란트 시술시 실측값) - (2차 임플란트 시술시 실측값)

- 골결손 깊이 변화량(mm) 평가 결과

· 1차와 2차 임플란트 시술시 측정된 골결손 깊이 변화량을 산출한 결과, 시험군에서 평균 0.96 ± 1.20mm의 변화량을 보였으며, 대조군에서는 평균 0.98 ± 0.90mm으로 측정되었음 ($p < 0.05$).

골결손 깊이 변화량 평가	
골결손 깊이 기준	결과
	

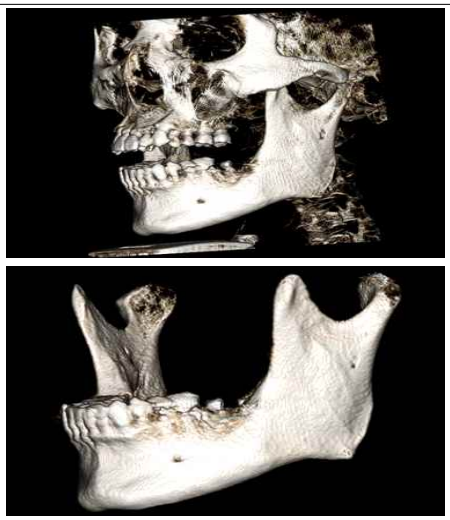
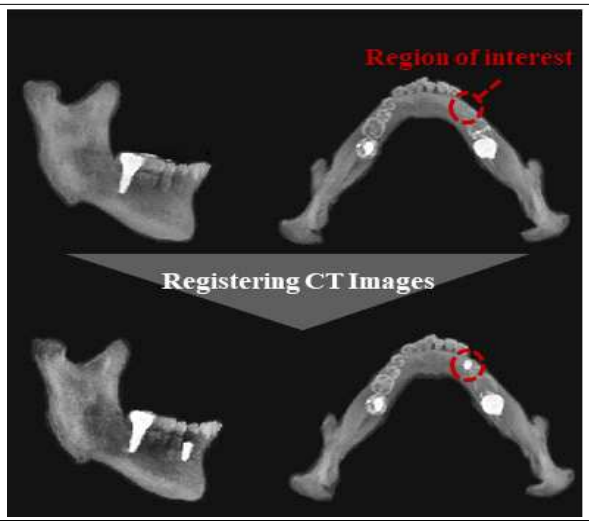
◦ 이차 유효성 평가(임플란트 주변골 부피 평가)

- 임플란트 주변골 부피 평가 방법

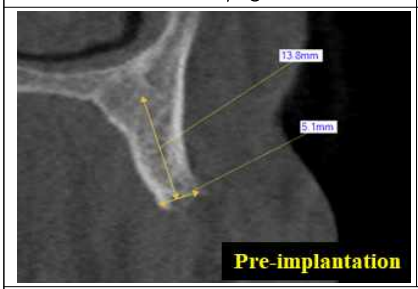
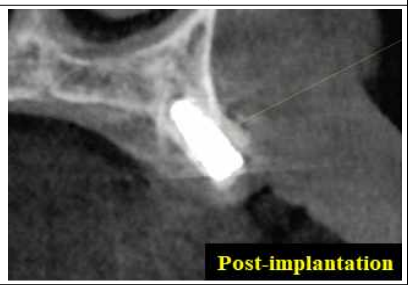
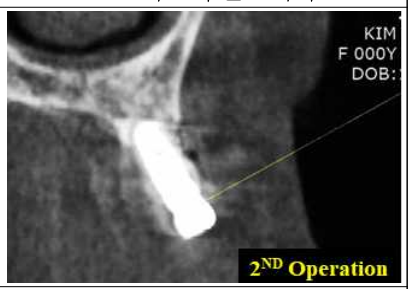
· 임플란트 식립전 임플란트 1차 시술 및 2차 시술 후 촬영된 DICOM 파일을 CT 프로그램(INVIVO 6) 으로 불러옴. 정밀한 병합을 위해 임플란트가 식립된 악궁의 골조직만 남기고 영상처리함. 코딩 프로그램(MATLAB R2018a)을 이용하여 삼차원 상태의 DICOM 영상을 이차원으로 압축함. 압축한 상태에서 정밀하게 처리되지 않은 부위를 이차적으로 영상처리 시행함. 각각의 영상을 정합하기 위해 코딩된 프로그램을 이용하여 다각적인 방향에서 300회 이상의 정합을 시행하고, 관심영역은 임플란트 고정체 주변 3mm로 설정함.

· 1차적으로 스크리닝시 CT와 1차 시술 직후 CT가 정합되며, 2차적으로 1차시술 직후 CT와 2차 시술 직후 CT를 정합함.

CT 분석 방법

CT 촬영 및 영상처리	CT 병합
	

임플란트 주변골 부피 평가 방법

A. 스크리닝 CT	B. 1차 시술 직후	C. 2차 시술 직후
		

1. 이식재량(mm^3)	치주조직유도재생술시 이식된 골이식재의 양: $B-A$
2. 골증대량(mm^3)	치주조직유도재생술 후 증대된 골의 양: $C-A$
3. 골화율(%)	이식된 골이식재의 신생골 전환율: $\frac{(C-A)}{(B-A)} \times 100$

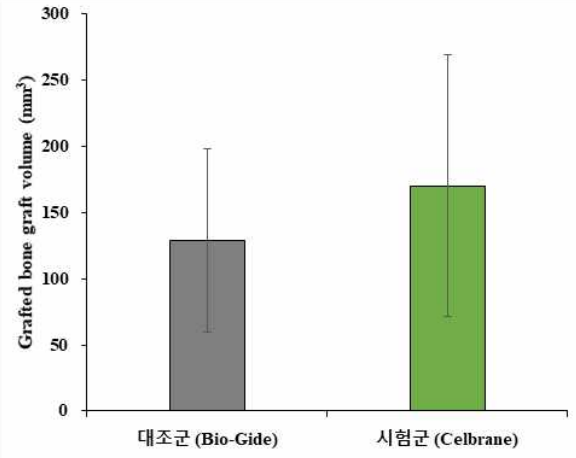
- 임플란트 주변골 부피 평가 결과

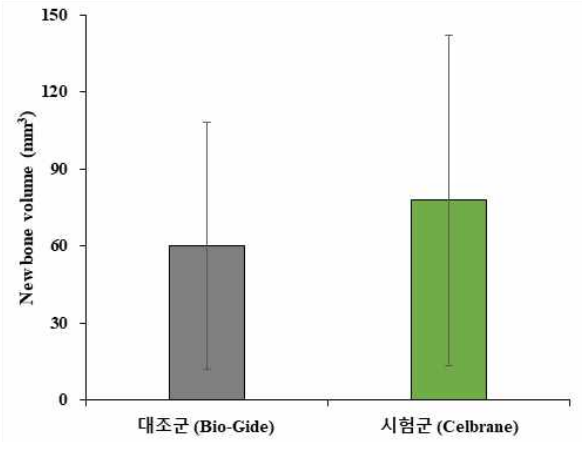
· 임플란트 1차 시술시 이식된 이종 골이식재의 부피를 분석한 결과, 시험군에서 평균 170 ± 98.95mm^3 이였으며, 대조군은 평균 128.94 ± 69.31mm^3 이였음.

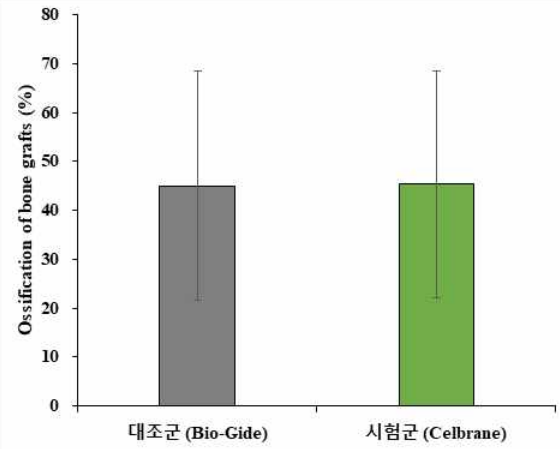
· 임플란트 2차 시술시 스크리닝 대비 증가된 골의 부피를 분석한 결과, 시험군에서 평균 77.83 ± 64.35mm^{3}이였으며, 대조군은 평균 59.90 ± 48.06mm^3 이였음.

· 임플란트 1차 시술시 이식된 골이식재 중 임플란트 2차 시술시까지 신생골로 전환된 부피를 분석한 결과, 시험군에서는 45.36 ± 23.17%의 골화율을 나타내었으며, 대조군에서는 44.96 ± 23.43%의 골화율을 보였으나 통계적 유의성은 나타나지 않았음 ($p < 0.05$). 이식재가 신생골로 전환되는 비율은 두 군이 비슷함을 확인함.

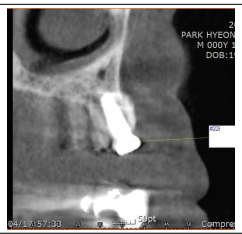
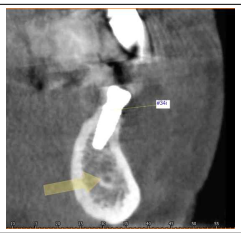
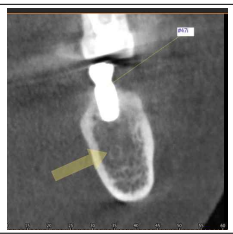
임플란트 주변골 부피 평가 결과

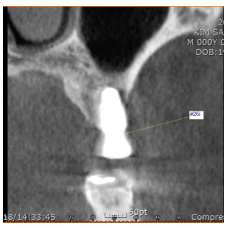
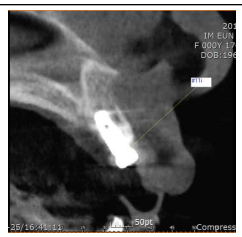
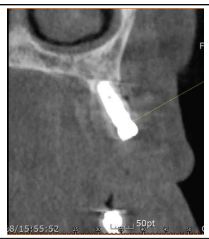
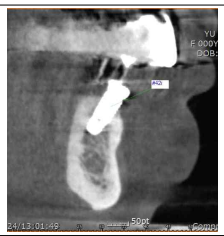
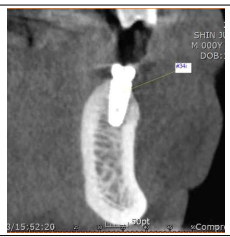
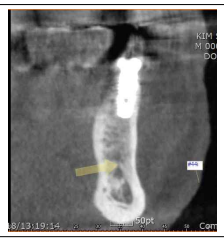
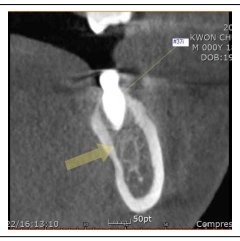
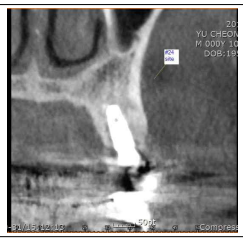
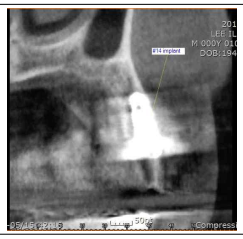
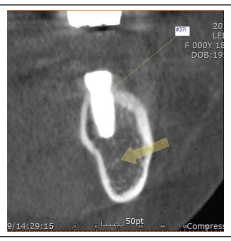
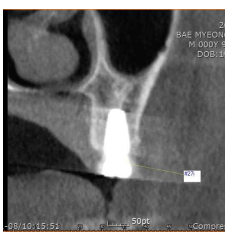
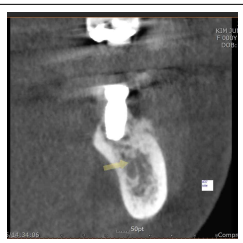


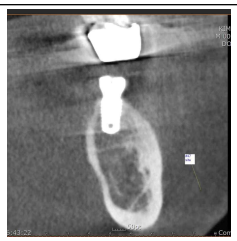
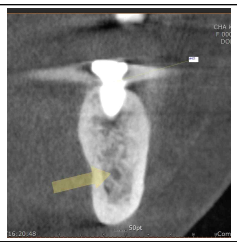
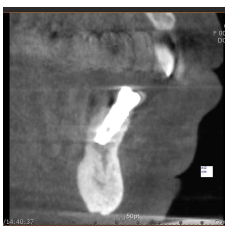
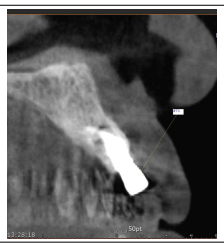
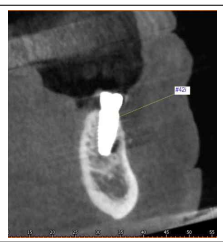
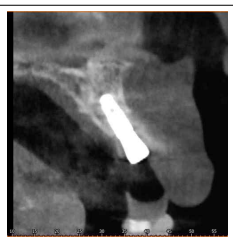
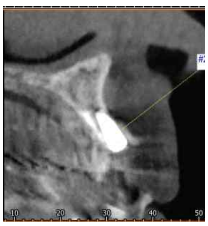
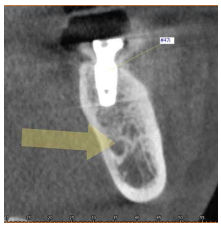
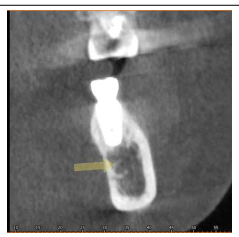
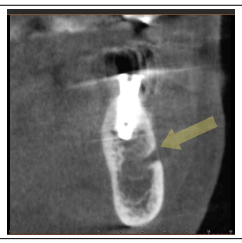
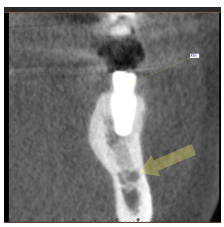
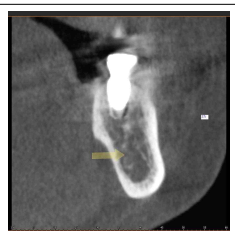
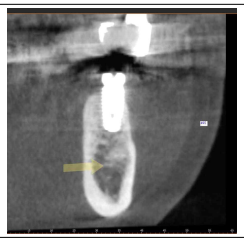
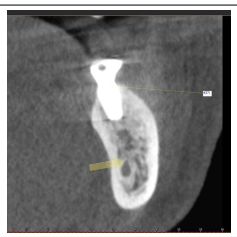
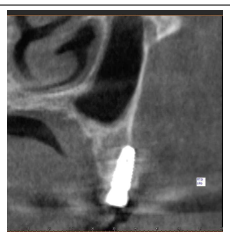
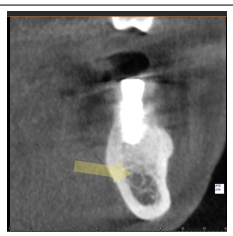


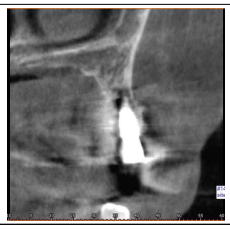
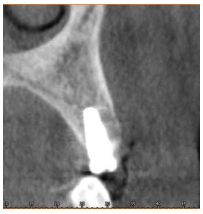


피험자별 2차 시술직후 CT 촬영

대조군		시험군	
1S-01 / 1R-01	1S-02 / 1R-40	1S-05 / 1R-23	1S-06 / 1R-03
			
1S-03 / 1R-02	1S-04 / 1R-11	1S-09 / 1R-06	1S-11 / 1R-08

			
1S-07 / 1R-05	1S-08 / 1R-29	1S-12 / 1R-09	1S-14 / 1R-12
			
1S-10 / 1R-07	1S-13 / 1R-10	1S-15 / 1R-13	1S-18 / 1R-16
			
1S-16 / 1R-14	1S-17 / 1R-15	1S-20 / 1R-18	1S-21 / 1R-19
			
1S-19 / 1R-17	1S-22 / 1R-20	1S-25 / 1R-24	1S-26 / 1R-25
			
1S-23 / 1R-21	1S-24 / 1R-22	1S-28 / 1R-27	1S-29 / 1R-28
			
1S-27 / 1R-26	1S-30 / 1R-30	1S-32 / 1R-32	1S-34 / 1R-34

			
1S-31 / 1R-31	1S-33 / 1R-33	1S-35 / 1R-35	1S-38 / 1R-38
			
1S-36 / 1R-36	1S-37 / 1R-37	1S-39 / 1R-39	1S-40 / 1R-41
중도탈락 (대상자 개인사정으로 추적관찰 불가)			
1S-41 / 1R-42	1S-43 / 1R-44	1S-42 / 1R-43	1S-45 / 1R-46
			
1S-44 / 1R-45	1S-47 / 1R-48	1S-46 / 1R-47	1S-49 / 1R-50
			
1S-48 / 1R-49	1S-52 / 1R-53	1S-50 / 1R-51	1S-51 / 1R-52
			

1S-53 / 1R-54	1S-54 / 1R-55	
		

◦ 이차 유효성 평가(시술부위 통증 평가)

- 시술부위 통증 평가

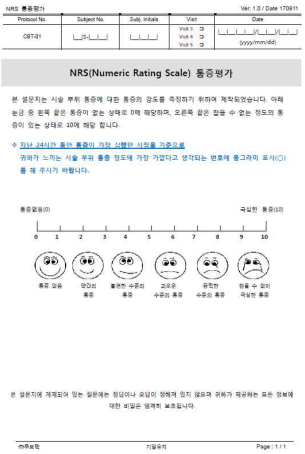
· 시술 후 1개월, 3개월, 6개월 시점에 NRS(Numeric rating scale) 통증평가 설문지를 이용하여 24시간 이내의 통증 강도를 측정하여 기록함.

· 1개월 추적 관찰에서 NRS 0점이 87.04%로 가장 높았으며, 이어서 4점(5.56%), 2점(5.56%), 1점(1.85%) 순으로 조사되었음.

· 3개월 추적관찰에서는 NRS 0점이 96.30%로 가장 높았으며, 1점(3.70.%) 외 타 점수는 기록되지 않았음.

· 임플란트 2차 시술(6개월 추적관찰)시에는 모든 피험자(53명)가 '통증 없음' 상태로 조사되어 통증없이 시술부위가 원만히 회복되었음을 확인함.

시술부위 통증 평가 NRS(Numeric rating scale)


NRS 통증평가 Ver. 1.0 / Date 170811

Protocol No.	Subject No.	Subj. Initials	Visit	Date
CBT-01	15-1		Visit 3 ☐ Visit 4 ☐ Visit 5 ☐	(yyyy/mm/dd)

NRS(Numeric Rating Scale) 통증평가

본 설문지는 시술 부위 통증에 대한 통증의 강도를 측정하기 위하여 제작되었습니다. 아래 눈금 중 왼쪽 끝은 통증이 없는 상태로 0에 해당하며, 오른쪽 끝은 잘을 수 없는 정도의 통증이 있는 상태로 10에 해당 합니다.

◇ 지난 24시간 동안 통증이 가장 심했던 시점을 기준으로

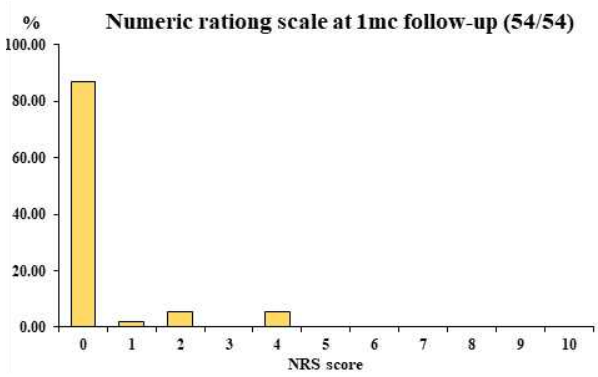
귀하가 느끼는 시술 부위 통증 정도에 가장 가깝다고 생각되는 번호에 동그라미 표시(○)를 해 주시기 바랍니다.

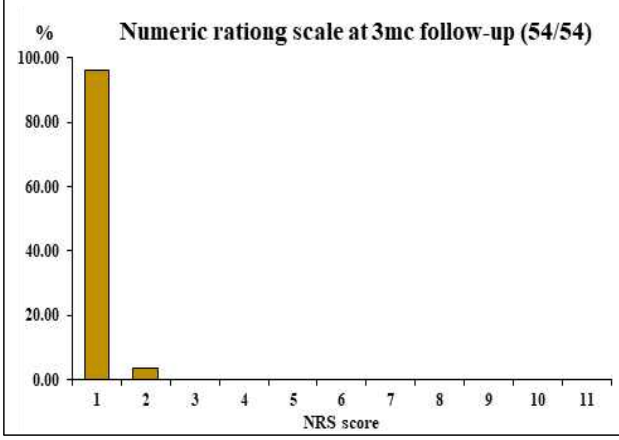
통증없음(0) 극심한 통증(10)

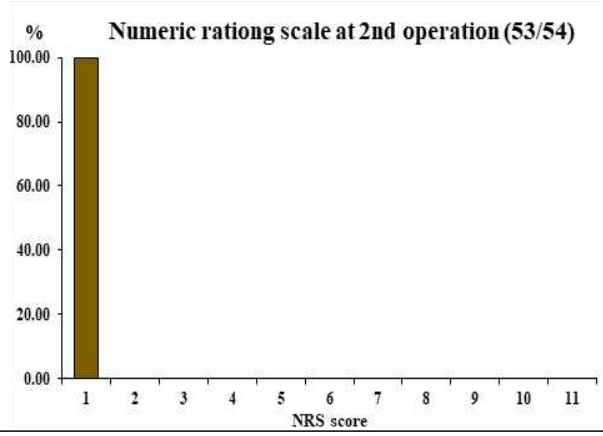
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

통증 없음 약간의 통증 불편한 수준의 통증 고로운 수준의 통증 유전한 수준의 통증 참을 수 없이 극심한 통증

본 설문지에 게재되어 있는 질문에는 정답이나 요답이 정해져 있지 않으며 귀하가 제공하는 모든 정보에 대한 비밀은 엄격히 보호됩니다.







◦ 이차 유효성 평가(임플란트 변연골 높이)

- 방사선학적 임플란트 변연골 높이 측정 방법

・Standard Portable X-ray를 이용하여 촬영된 치근단 방사선 사진상 임플란트 장경과 변연골 수준을 측정한 후 실제 임플란트 장경과 비교하여 임플란트 변연골 높이를 계산함.

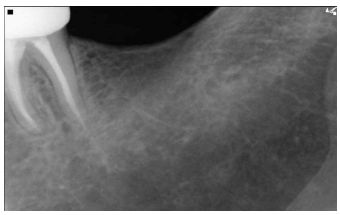
・시술 6개월 시점에 촬영된 치근단 방사선 사진을 이용하며, 임플란트 플랫폼을 기준으로 근심측과 원심측 골 높이를 평가함.

- 방사선학적 임플란트 변연골 높이 측정 결과

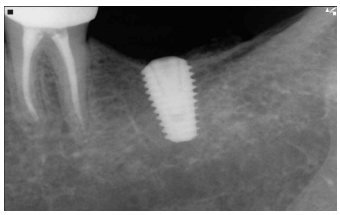
・임플란트 2차 시술시 촬영된 치근단 방사선 사진 계측결과, 과반수 이상 (30명/53명)의 피험자에서 임플란트 변연골이 임플란트의 플랫폼보다 상방으로 형성된 것을 확인함.

치근단 방사선 촬영

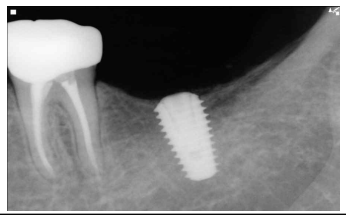
스크리닝



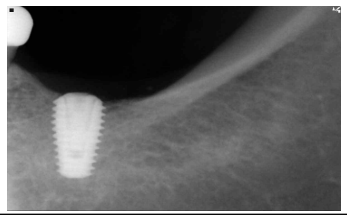
1차 시술



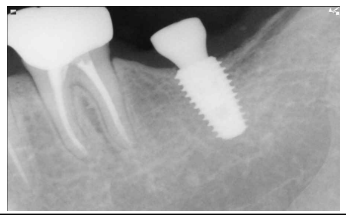
1개월 추적관찰



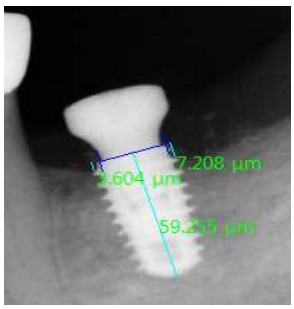
3개월 추적관찰

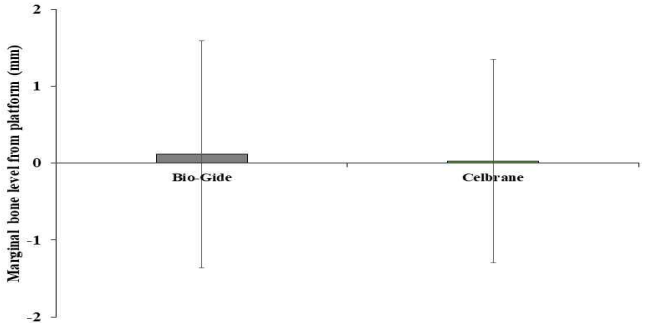


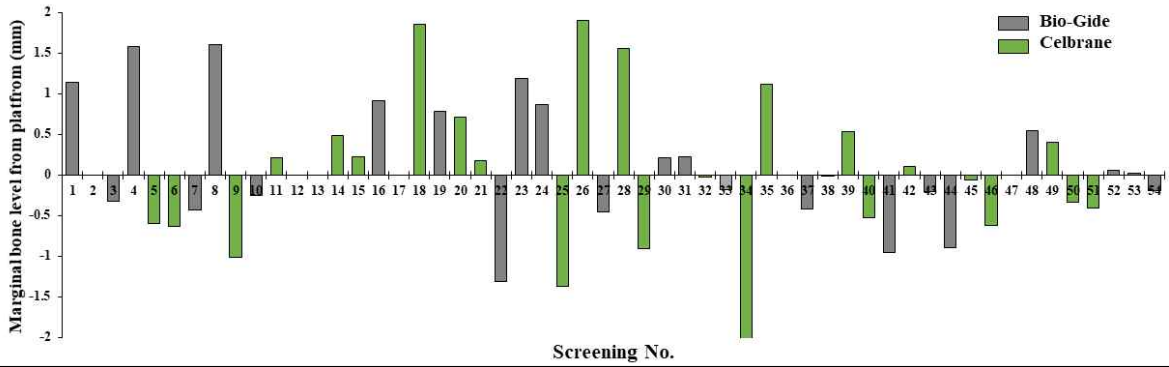
2차 시술



임플란트 변연골 높이 측정







(4) 제 3 협동 ((주)쿠보텍)

○ 2차 년도 연구수행 결과

연구목표는 흡수성치주조직재생유도막 대량 생산 체계 구축 및 사업화 기반 구축으로 본 과제의 2차년도 연구 수행결과 임상 GMP 인증을 위한 설비 구축의 일환으로 생산 시설 내 클린룸 설비 구축을 완료하였으며, 제품 제조에 필요한 장비를 제조소 내 구축하고 제조 공정 및 제품 생산 벨리데이션을 실시하여 임상 GMP 인증을 획득함. 또한 기 허가된 임상 GMP인증 시설에서 구축된 생산 공정을 적용하여 시제품 제작을 완료함. 또한 흡수성치주조직재생유도재의 의료기기 허가를 위한 기술문서 작성 완료함

(가) 임상 GMP 인증을 위한 설비구축

◦ 임상 GMP 설비 기준 설비 및 장비구축

- 흡수성치주조직재생유도막의 대량 생산 및 자체의 먼지 입자에 의한 오염 방지 및 공기 중 미생물 오염을 최소화하기 위한 의료기기 4등급 임상 GMP 제조시설 기준에 준하는 클린룸 설비 및 장비 구축 확보
- (주)쿠보텍의 클린룸 표준 등급은 100,000 Class로 밸리데이션을 실시하여 꾸준히 모니터링 진행함

장비 및 제조시설

(나) 임상 GMP인증

◦ 임상시험 실시용 시제품 제작

- 연구된 기존 제조공정을 바탕으로 흡수성치주조직재생유도재 시제품제작 및 생산의 목적으로 아래와 같은 방법으로 제조공정을 재확립함. 동일한 성능의 제품을 구현할 수 있었으며, 로트별 반복 생산을 통해 데이터를 비교하여 생산 프로세스를 체계화시킴

① 원재료 공급자로부터 구입한 원재료의 입고검수 실시
② 사이에 위치시킨 상태에서 고정하여 열풍거조기에서 건조하여 원료에 잔류하고 있는 수분을 완전히 제거
③ 반제품 검사 : 외관, 치수, 수분함량을 통해 제품 손상이나 건조 상태에 따른 제품을 선별
④ 건조가 완료된 제품은 자가 규격에 맞는 크기로 절단
⑤ 완제품 검사 : 외관, 치수, 찢김강도를 통해 제품을 선별하고, 검증
⑥ 제품을 Al Pouch에 넣어 실링 및 라벨링
⑦ 전자빔 멸균(멸균 선량: 15 kGy)-외주공정
⑧ 보관 및 출하

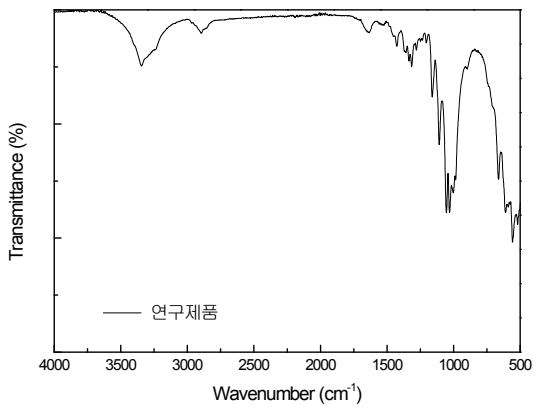
제조공정도

◦ 본 공정에서의 데이터 분석

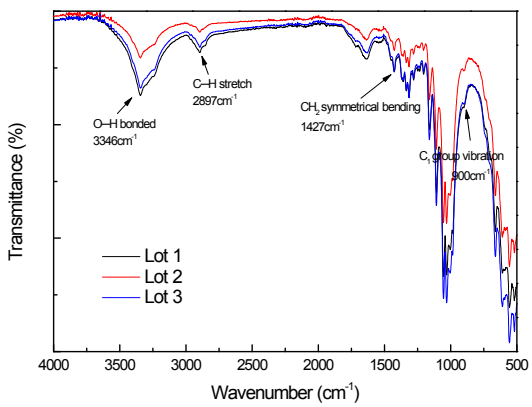
- FT-IR 화학구조 분석

· 화학적 특성은 푸리에 변환 적외선 분광기(Fourier-transformed infrared spectrophotometer; FT-IR, RerkinElmer Spectrum400, UK) ATR(attenuated total reflectance) 악세사리를 이용하여 연구제품과 본 공정에서의 시험 분석 결과가 동일함을 나타냄

화학구조 분석(FT-IR)



<연구제품과 본 공정에서의 비교평가>



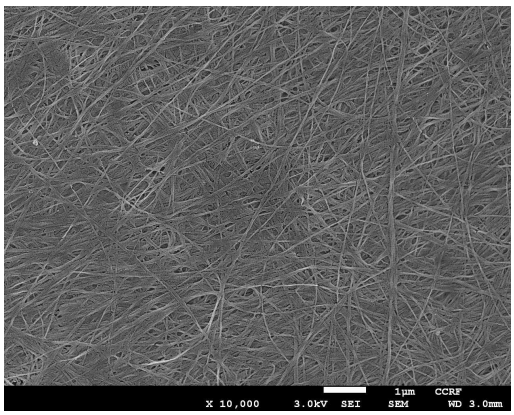
<로트별 화학구조 평가>

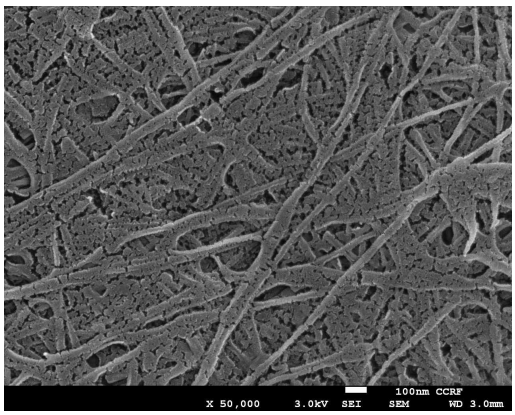
· 3346cm^{-1} O—H bonded, OH 신축진동
· 2897cm^{-1} C—H stretch, CH_2의 신축진동
· 1427cm^{-1} CH_2 symmetrical bending, CH_2의 대칭성 굽힘 진동
· 900cm^{-1} C_1 group vibration, CH_2 변형에 의한 진동

◦ SEM 표면 분석

- 주사전자 현미경(scanning electron microscopy; SEM, JSM-7500F, Oxford)을 이용하여 분석하였고, 정확한 형상을 관찰하기 위하여 플라즈마 스퍼터(plasma sputter, Cressington Sputter Coater 108auto)를 이용하여 20mA, 60초에서 Pt 박막 코팅하여 샘플을 전처리함. 25-50nm의 나노섬유로 망사구조 이루어 졌을을 확인

표면 분석(SEM)

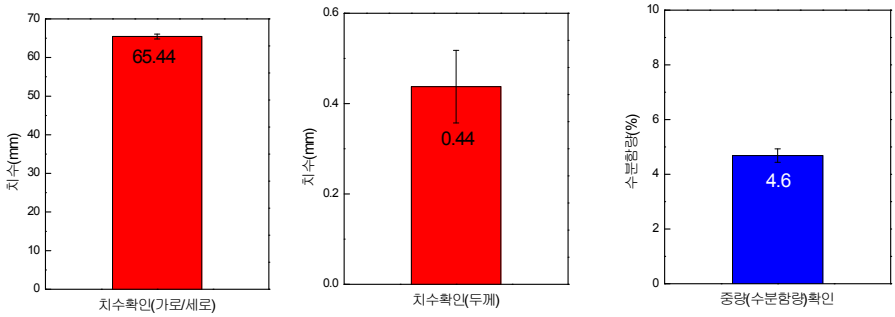




- 치수 및 중량(수분함량)확인

・본 공정에서 제품의 적합여부를 확인하기 위한 실험을 실시. 3 Lot별로 반복실험을 통해 평가된 항목은 제품 길이와 중량(수분함량)확인 이였으며, 평가기준으로는 가로x세로x두께가 65x65x0.05 mm의 ± 10%에 포함하고, 건조된 제품이 0.2g의 ± 10% 안에 포함되어 수분이 ≥ 10% 이내로 모두 기준에 합하는 것으로 결과 확인

치수 및 중량(수분함량) 확인



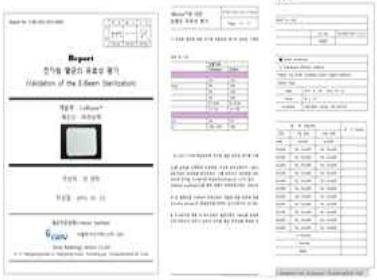
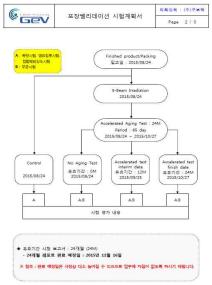
◦ 공정밸리데이션 IQ, OQ, PQ 실시

- 제조공정의 신뢰성을 확보하기 위해 각 공정별로 시험을 실시하였고, 이를 통해 제품의 안정성 및 유효성을 확보하여 본 공정에서 일정하게 유지되도록 함

・건조 밸리데이션 : 장비의 검교정을 실시하여 공정변수(건조 온도, 시간) 확인 통해 자체적으로 유효성 평가 실시

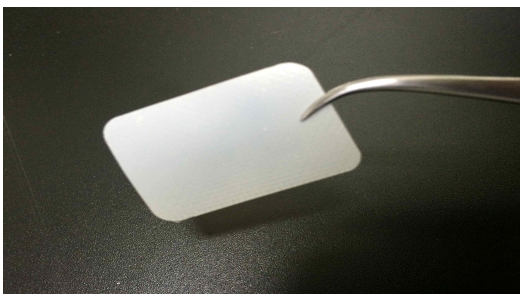
・포장 및 가속노화 : 염료침투 및 접합 박리강도를 통해 포장의 유효성을 확인하고, 유효기간은 24개월로 산정하여 11월 중순에 보고서 확보 예정

공정밸리데이션 실시

<건조>	 <멸균밸리데이션 확보>	 <포장 및 가속노화 시험 중>

- 유효성이 확인된 본 시제품은 "Bio-cellulose Membrane **CelBrane™**"으로 명명하였고, 치은과 치조골간의 장벽 역할을 하여 치주 조직의 재생을 유도하는 흡수성 재료로 제품은 1개씩 개별 박스포장으로 사이즈(15×20mm, 20×30mm, 30×40mm)에 따라 3가지 제품임. 1차 포장은 Al pouch 안에 제품과 사용설명서를 담다 실링하고, 1차 포장이 완료되면 멸균된 최종 제품을 최종적으로 박스 포장함

흡수성치주조직재생유도재 시제품 사진(CelBrane™)

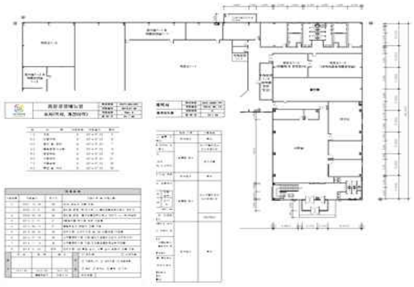


- 흡수성치주조직재생도재를 제품화를 위해 의료기기 제조 및 품질관리 기준에 준수하여 임상 GMP를 신청하여 GMP 적합인정서 획득. 이는 품목별 특성에 따라 GMP 품목군으로 적합성평가를 받도록 하는데, 이에 따른 품목군은 치주조직재생유도재(C23000)로 인체조직 또는 기능대치품에 해당

임상 GMP 신청서 및 구비서류

1 의료기기 GMP 적합성평가 신청 구비서류(의료기기 제조 및 품질관리기준 제7조제1항)

- 의료기기 제조(수입)업 허가증 사본 또는 의료기기 조건부 제조(수입)업 허가증 사본(최초심사 또는 임상시험용 의료기기의 경우에는 제외)
- 다음 각 목의 적합성평가에 필요한 자료
  가. 제조소 개요(제조소의 명칭 및 주소, 제조소가 다수인 경우 모든 제조소명을 포함)
  나. 제조 및 품질 관련 업무에 종사하는 총 종업원의 수
  다. 해당 제조소에서 제조되는 의료기기 목록(품목명, 등급을 포함)
  라. 생산국 정부 또는 생산국 정부에서 위임한 기관에서 발행한 품질경영시스템 적합인정서 사본(해당되는 경우에 한함)
  마. 평가 대상이 되는 각 제조소의 시설개요(평면도, 시설·장비 목록을 포함)
  바. 주요 공급업체의 소재지 및 업무범위(위탁공정 계약 등을 포함)
  사. 다른 인증기관으로부터 받은 실사결과 자료(해당되는 경우에 한함)
  아. 품질매뉴얼(품질방침을 포함한다)
  자. 해당 품목의 제품표준서(멸균, 소프트웨어 등 특정 제조공정에 대한 설명을 포함한다)
  차. 설치 또는 사후지원이 필요한 제품의 경우 관련 설명서



의료기기 제조 및 품질관리 적합 인정서(GMP 적합인정서)

인정번호(No.) : KCL-CA-150010

의료기기 제조 및 품질관리 기준 적합인정서
(Certificate of GMP)

- 업체명 / 허가번호 (Company name of Applicant / License No.)
  (주)쿠보텍 / 제 2603호
  Kuwotech Co., Ltd.
- 대표자 (Representative)
  정철웅 (Cheol Woong Jeong)
- 업체 소재지 (Company address of Applicant)
  50, Cheomdan venture so-ro 37beon-gil, Buk-gu, Gwangju, KOREA
- 제조소명 (Name of Manufacturer)
  (주)쿠보텍
  Kuwotech Co., Ltd.
- 제조소 소재지 (Address of Manufacturer)
  50, Cheomdan venture so-ro 37beon-gil, Buk-gu, Gwangju, KOREA
- 품목군 (Category)
  인체조직 또는 기능 대치품

의료기기 제조 및 품질관리기준에 적합함을 인정합니다.
(We hereby certify that the above manufacturer complies with Korea Good Manufacturing Practices of Medical Devices for the product(s) listed above)

발행일자(Date of Issue) : 2015. 09. 01
유효기간(Date of Expiration) : 2017. 02. 17

광주지방식품의약품안전청장
GWANGJU REGIONAL FOOD AND DRUG ADMINISTRATION
한국건설생활환경시험연구원장
Korea Conformity Laboratories

인정번호(No.) : KCL-CA-150010

변경 및 처분 사항
(Changes and Administrative measures)

일 자 (Date)	내 용 (Description)
2015-09-01	추가심사(임상시험용)

「인간과 환경이 함께하는 글로벌KCL」
KCL 한국건설생활환경시험연구원

수신자 ㈜쿠보텍
(경 유) 품질책임자
제 목 의료기기 GMP 심사결과 알림.
1. 귀사의 일익 번창하심을 기원합니다.
2. 귀사에서 신청한 의료기기 제조원 제조 품질관리기준 적합인정을 위한 GMP 심사 제출서류를 토대로 검토한 결과 적합(권고)함을 알려드립니다.

가. 심사대상 제조원(소재지)
- 제조자: 광주광역시 북구 첨단벤처소로37번길 50 (월출동)(제조소,시험실,창고) 및 광주 북구 대촌동 광주테크노파크 생산동 1층 일부(제조소일부)

붙임 : 의료기기 제조 및 품질관리 적합인정서 1부. 끝.

한국건설생활환경시험연구원장

(다) 임상시험용 시제품 제작

◦ 임상시험 허가를 위한 성능 및 생물학적 시험분석
- 접촉부위와 겁속시간에 뜨른 생물학적 안전성 평가는 KTR(화학시험연구원)에 의뢰하여 실시중이며, 시험 평가 결과는 10월 말 완료 예정
- 급성독성, 세포독성, 감작성, 피내반응, 발열성, 유전독성(복귀돌연변이, 소핵시험) 물리, 화학 및 성능 시험(의뢰예정)
- 찢김강도, 수분함량, 순도, 무균시험, 외관 및 치수

기술문서 및 생물학적 자료 제출범위

<기술문서 등 제출 자료의 범위>

<의료용품분야>

구분 \ 제출자료		1 본질적 동등품목 비교표	2 사용목적	3 작용원리	4-가 전기	4-나 방사선	4-다 전자파	4-라 생물학적	4-마 성능	4-바 물리화학	4-사 안정성	5 임상	6 기원·발견 및 개발경위	7 외국 사용 현황
1. 새로운 제품	가. 사용목적이 다른 것	○	○	X	X	X	X	○	○	○	○	○	○	○
	나. 작용원리가 다른 것	○	X	○	X	X	X	○	○	○	○	X	○	○
	다. 원재료가 다른 것	○	X	X	X	X	X	○	○	○	○	△주1)	○	○
2. 개량 제품	라. 성능이 다른 것	○	X	X	X	X	X	X	○	X	X	X	X	X
	마. 시험규격이 다른 것	○	X	X	X	X	X	○	X	X	X	X	X	X
	바. 사용방법이 다른 것	○	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	○	○
3. 동등제품		○	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

○ : 제출하여야 하는 자료, × : 면제되는 자료, △ : 개개 제품에 따라 판단하여야 하는 자료

주1) 기 허가·인증된 제품에 한번도 사용되지 않던 원재료를 사용한 경우(예: 티타늄으로 만들어진 치주조직재생유도재와는 달리 생리활성물질로 제품을 만드는 경우)
※ 조합되거나 세트로 구성된 의료기기 또는 전기를 사용하는 제품의 경우는 '전기분야'의 자료를 추가로 제출하여야 함
예) 치주조직재생유도재 [3]

표 1 접촉부위 및 시간에 따른 초기 평가시험자료

의료기기 분류			생물학적 영향									
신체 접촉의 특성		접촉 지속기간 A- 제한적 (24시간 이하) B- 연장 (24시간 초과 30일까지) C- 영구적 (30일 초과)	세포 독성 시험	감작 시험	자극 또는 피내 반응 시험	전신 독성 (급성) 시험	아만성 독성 (아급성 독성) 시험	유전 독성 시험	이식 시험	혈액 적합성 시험	만성 독성 시험	발암성 시험
분류	접촉부위											
이식 의료기기	조직, 뼈	A	○	○	○	△						
		B	○	○	○	○	○	○	○			
		C	○	○	○	○	○	○	○		○	○
	혈액	A	○	○	○	○	○		○	○		
		B	○	○	○	○	○	○	○	○		
		C	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○

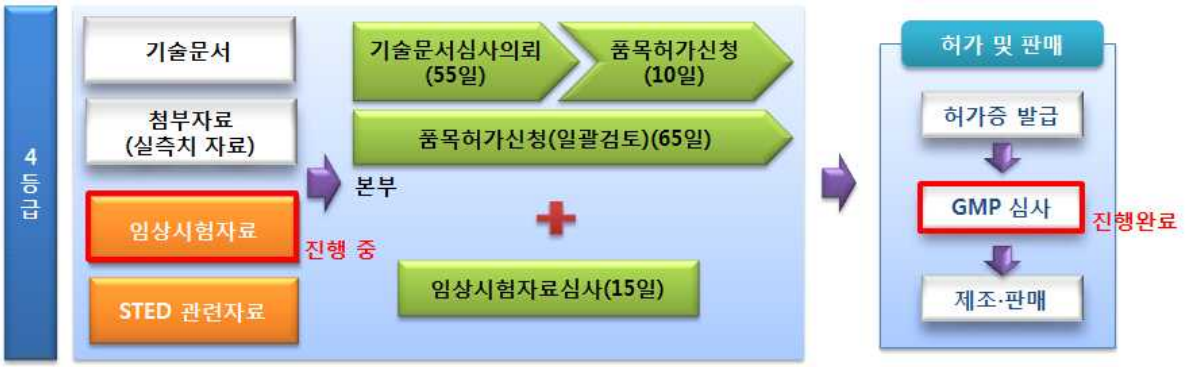
○ = ISO 규격에서 지정한 시험
△ = 지정된 시험 외에 추가로 적용될 수 있는 시험

※ 개개 제품의 특성에 따른 자료의 세부 범위는 「의료기기의 생물학적 안전에 관한 공통기준규격」에 따른다.

◦ 임상시험 허가를 위한 제품 기술문서 작성

- 본 제품은 새로운 원재료의 안전성 유효성을 입증해야 하는 임상대상의 흡수성치주조직재생유도재로 4등급에 해당되는 신개발 의료기기임
- 국제표준화기술문서(STED)는 심사의뢰서 및 동등제품의 비교, 기술문서 개요, 기술문서 개요 입증에 대한 첨부자료로 구성되어 있음. 이는 안전성과 성능에 대한 설계검증, 위험관리, 제조공정 등의 항목으로 구성되어 요약된 것으로 진행 중인 임상시험 완료 후 자료를 첨부하여 기술문서 심사신청 가능.
- 허가 완료된 기술문서는 확보된 GMP 적합인정서와 함께 품목허가 신청을 한 다음에야 판매가 가능하기에 이후에 국내외 영업망을 활용하여 시장진입을 진행코자 함.

임상대상 4등급 의료기기 허가진행 사항



일부 작성완료된 국제표준화기술문서(STED)

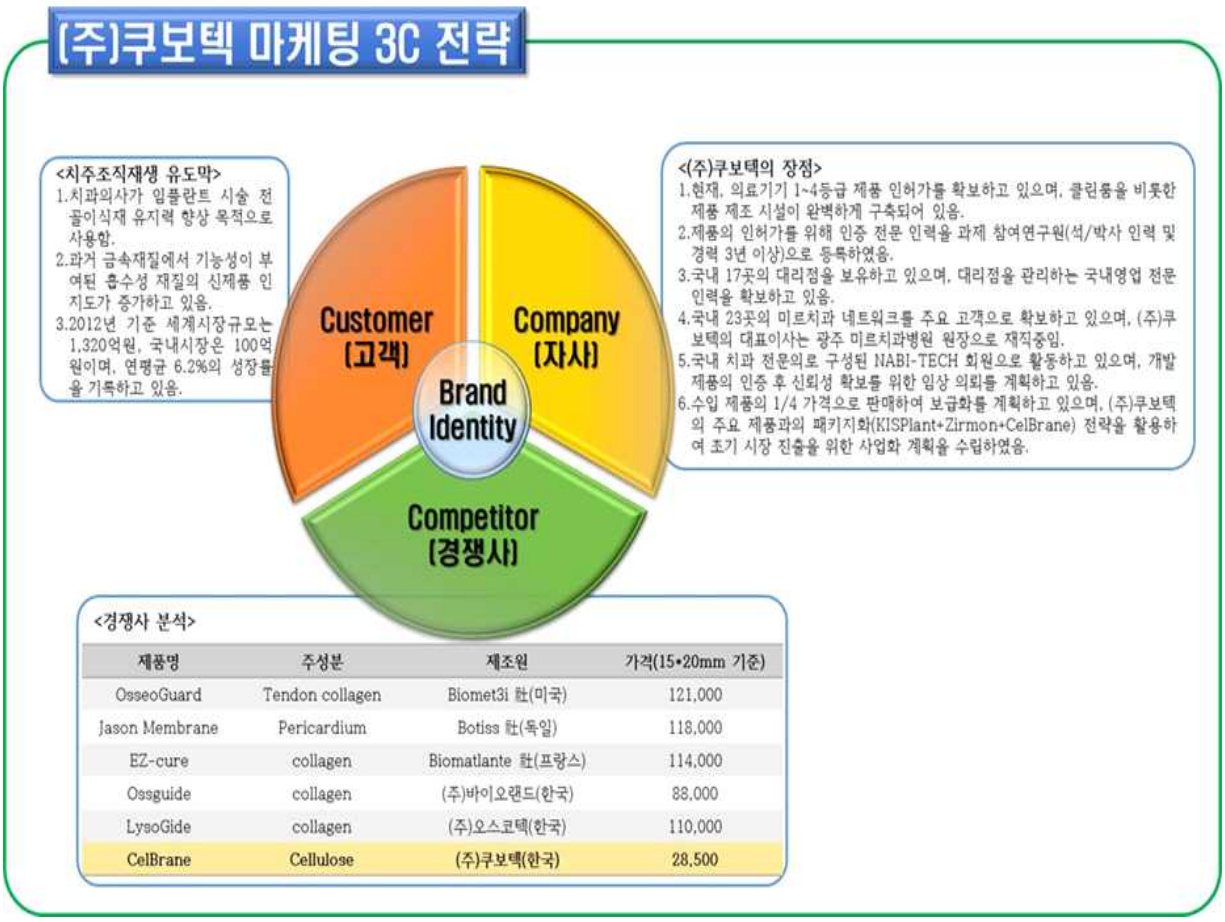
◦ 감귤 바이오셀룰로오스 차폐막(CelBrane) 생산단가 산정

- CelBrnae 개당 생산 단가
  - 월 생산량 1,000개 기준 (12,000개/year)
  - 제품 규격 : 15×20 mm 기준

	구분	규격	단가(원)	적용비율	생산단가(원)	비고
1	Cellulose sheet	150×200 mm	3,000	10개/sheet	300	
2	알루미나 포장지	자사규격	100	-	100	
3	박스 포장지	자사규격	100	-	100	
4	멸균 조사비	1hour	300,000	10개/min	500	위탁
5	동결건조기	년	800,000	10%	67	감가삼각비
6	포장기	년	300,000	10%	25	감가삼각비
7	클린룸	년	1,000,000	1%	84	감가삼각비
8	전기요금	월	10,000	-	10	
9	인건비	월	1,500,000	30%	450	
10	기타 잡비	월	100,000	-	100	
합계					1,736원	

- (주)자담에서 공급하는 cellulose sheet 원재료와 생산 장비의 감가삼각비, 생산 인력과 포장에 이르기까지 제품 생산에 요구되는 모든 항목에 대해 CelBrane의 생산 단가를 측정하였으며, 개당 생산 단가는 1,736원으로 확인되었음.
- (주)쿠보텍에서 책정한 제품 판매단가 28,500원과 생산단가 1,736원을 비교하였을 때, 약 10배 이상의 margin이 예상되어, 사업성은 충분할 것으로 판단됨.

◦ 3P 분석



○ 3차년도 연구수행 결과

본 과제에서는 흡수성치주조직재생유도막 대량 생산 체계 구축 및 사업화 기반 구축을 목표로 연구를 수행하였으며, 이를 위해 식약처에 의료기기임상승인(제833호)을 허가 받아 임상용 시제품을 제작 및 관리하여 부산대에 제공하였음

또한, 연구과제 종료 후 지속적인 제품판매 및 사업화를 위해 임상용 GMP(의료기기 제조 및 품질관리 기준 적합 인정서)에서 제조용 GMP를 추가 획득하였으며, 현재는 제조품목허가를 위해 4등급 STED 기술문서(임상용)를 식약처에 접수하여 지속적으로 업무를 수행하고 있음

(가) 임상시험용 시제품 제작

□ 임상GMP 설비 기준 설비 및 장비 구축

· 2차년도에 구축된 장비 및 설비는 본사 「품질경영매뉴얼(문서번호 : KWT-QM-001)」 규정 하에 제조시설, 환경, 장비 등을 주기적으로 점검 유지, 관리함. 특히, 제품의 품질 및 안정화를 위해 클린룸모니터링(1회/년), 장비 및 계측기 검교정(1회/년)를 꾸준히 실시하였음

□ 임상시험 실시용 시제품 제작

가. 시제품 제작

· 제조공정이 확립된 본사 제조시설 하에서 아래와 같이 시제품을 제작하였으며, 15×20mm 사이즈의 경우 로트 당 약 250개 정도 생산하였음

시제품 제조 과정

<table>
<tr><td>
① 원재료 셀룰로오스</td><td>
② 샘플 압착</td><td>
③ 딥프리저 보관</td><td>
④ 동결건조</td></tr>
<tr><td>
⑤ 반제품 셀룰로오스</td><td>
⑥ 절단</td><td>
⑦ 제품 및 사용설명서</td><td>
⑧ Al pouch 포장</td></tr>
<tr><td>
⑨ 라벨 및 멸균 스티커 부착</td><td>
⑩ 1차 포장 완료</td><td>
⑪ 박스 포장</td><td>
⑫ 2차 포장 완료</td></tr>
</table>

나. 로트별 제품 분석

· 제품에 담긴 수분은 성능을 저해하는 요인이 되므로 제품 확인을 위해 셀룰로오스의 건조 전/후 중량을 측정하여, 수분함량을 측정함. 각각 Lot 1 : 2.08%, Lot 2 : 2.22%, Lot 3 : 2.10%로 평균 2.13(±0.08)%의 수분함량을 나타내고 있었으며, 모두 10% 미만의 기준치에 적합함을 확인하였음

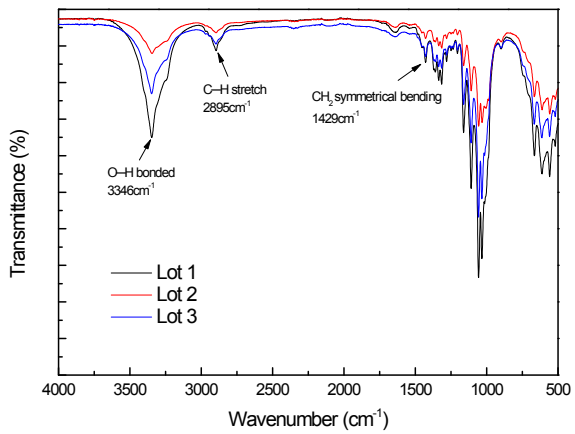
$$수분함량(\%) = \frac{m_1 - m_2}{m_1} \times 100$$

m_1 : 건조 전 샘플 중량(g), m_2 : 건조 후 샘플 중량(g)

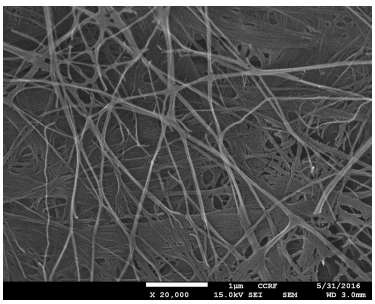
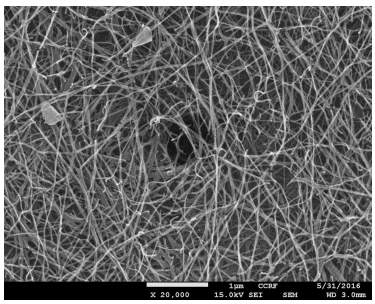
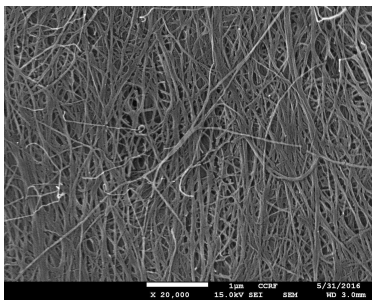
로트별 수분함량 확인(n=5)				
로트	m_1(g)	m_1(g)	$m1-m_2$(g)	수분함량(%)
Lot 1	0.145	0.142	0.003	2.08
Lot 2	0.143	0.139	0.003	2.22
Lot 3	0.142	0.139	0.003	2.10
수분함량 avg. 2.13(±0.08)%				

· 로트별 제품 성능을 확인을 위한 화학적 특성은 푸리에 변환 적외선 분광기(Fourier-transformed infrared spectrophotometer; FTIR, PerkinElmer Spectrum400, UK) ATR(attenuated total reflectance) 액세서리를 이용하여 4,000~380cm^{-1} 범위에서 측정함. 각 관능기의 파장범위로는 참고문헌을 기준하여 alkane C-H stretch(sp3) 2,850~3,000cm^{-1}, alkene C-H stretch(sp2) 3050~3150cm^{-1}, alkyne C-H stretch(sp) 3,300~3,320cm^{-1} 등으로 정하였고, alkanes -CH bending으로는 HCH scissoring 1,440~1,470cm^{-1}, CH3 rocking 1,370~1,380cm^{-1}, CH3 rocking 720~725cm-1의 내용을 참조하여 비교하였음. 모든 로트에서 O-H stretch hydrogen bond인 3,346cm^{-1}와 C-H Stretch 2589cm^{-1}에서 신축 진동에 의한 동일한 흡수피크를 확인하였음

로트별 화학구조 분석(FT-IR)



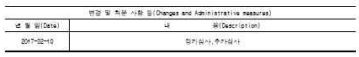
· 또한, 로트별 미세구조 비교 분석을 위해 주사전자 현미경(scanning electron microscopy; SEM, JSM-7500F+EDS, Oxford)을 이용하여, x20k 배율로 관찰함. 모두 나노 사이즈의 미세하고 얇은 섬유상 구조를 확인할 수 있었음

로트별 미세구조 분석(SEM)		
		
Lot 1	Lot 2	Lot 3

(나) 바이오셀룰로오스 차폐막의 임상시험 관리 및 제품화

□ GMP(의료기기 제조 및 품질관리 기준 적합 인정서) 인증 획득

· 제품화를 위한 바이오셀룰로오스 차폐막은 위해도가 높은 4등급 인체이식형 의료기기로 먼지 입자에 의한 오염 방지 및 공기 중 미생물 오염을 최소화하여야 함. 이를 위해 기존에 임상시험용 의료기기 제조만 가능했던 제조시설에서 추가심사를 신청하여, 2017년 2월 18일자로 GMP 적합인정서(인정번호 : KCL-ABB-170002)를 획득하였으며, 품목군은 흡수청치주조직재생유도재(C23030.01) 「인체조직 또는 기능대치품」에 해당됨

GMP(의료기기 제조 및 품질관리 기준 적합 인정서)		
		

□ 의료기기 임상시험 및 제조 허가 승인을 위한 문서 작성

· 의료기기 임상시험은 새로운 원재료나 신기술로 개발한 의료기기가 이상반응이나 부작용 없이 안전한지 그리고 의도하는 사용목적이 유효한지를 사람에게 시험하는 것으로 임상시험계획에 대해 승인을 받고, 승인받은 내용으로 시험을 수행하고, 결과보고서의 검증과정을 통해 제조 및 허가 신청이 가능함

임상승인용 의료기기 & 제조 허가용 의료기기 허가 절차 흐름도

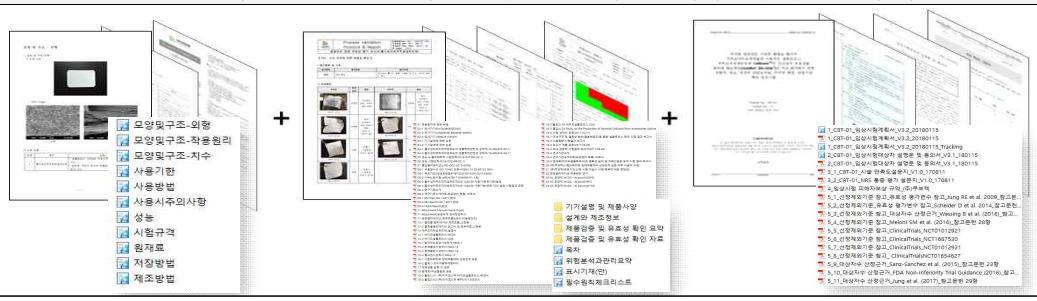
· 임상승인용 의료기기와 제조 판매용 의료기기 허가 시 구비서류는 아래와 같으며, 중복되는 서류 내용으로 인하여 현재 임상시험 관한 자료를 제외하고는 완료하였음

<표. 임상 승인용 의료기기 vs 제조 판매용 의료기기 허가 시 구비서류 비교>

	임상 승인용 의료기기	제조 허가용 의료기기
	의료기기 임상계획승인	의료기기기술문서등의심사(임상대상)
처리부서	의료기기정책과	첨단의료기기과
처리일자	30일	80일
구비서류	**1.의료기기 임상시험계획승인신청서** **2.임상시험계획서 또는 임상시험변경계획서** **3.임상시험용 의료기기가 별표 2에 따른 시설과 제조 및 품질관리체계의 기준에 적합하게 제조되고 있음을 입증하는 자료** **4.「의료기기 시행규칙」제9조제2항제2호부터 제5호까지의 자료.** - 사용목적에 관한 자료 - 작용원리에 관한 자료 - 제품의 성능 및 안전을 확인하기 위한 시험규격 및 그 설정근거와 실측치에 관한 자료 - 기원 또는 발견 및 개발경위에 관한 자료 1) 개발경위, 측정 원리·방법 및 국내외 사용현황에 관한 자료 2) 원자재 및 제조방법에 관한 자료 3) 사용목적에 관한 자료 4) 저장방법과 사용기간 또는 유효기간에 관한 자료 5) 성능시험에 관한 자료 6) 체외진단용 의료기기의 취급자 안전에 관한 자료 7) 이미 허가받은 제품과 비교한 자료	**1. 의료기기기술문서등심사의뢰서 1부 [별지 제8호 서식]** **2. 의료기기 기술문서 1부** **3.구비 서류** 1) 이미 허가받은 제품과 비교한 자료 2) 사용목적에 관한 자료 3) 작용원리에 관한 자료 4) 제품의 성능 및 안전을 확인하기 위한 자료 - 생물학적 안전에 관한 자료 - 성능에 관한 자료 - 물리·화학적 특성에 관한 자료 - 안정성에 관한 자료 **마. 기원 또는 발견 및 개발경위에 관한자료** **바. 임상시험에 관한 자료** **사. 외국의 사용현황 등에 관한 자료** - *개발경위, 측정원리·방법 및 국내외 사용현황에 관한자료* - 원자재 및 제조방법에 관한 자료 - 사용목적에 관한 자료 - 저장방법과 사용기간 또는 유효기간에 관한 자료 - 성능시험에 관한 자료 - 시약의 취급자 안전에 관한 자료 - 이미 허가받은 제품과 비교한 자료

· 작성된 구비서류의 기본구성은 기술문서, STED 첨부자료, 임상문서 등의 안전성, 유효성 및 성능 등에 관한 자료로서 이는「의료기기 허가·신고·심사 등에 관한 규정」에 따라 문서화하였음

기술문서 + STED 첨부자료 + 임상시험계획 문서화



· 의료기기 임상계획승인 구비서류를 바탕으로 2016년 8월 3일 식약처 1차 접수를 진행하였으나, 본 제품은 국내·외 사용 이력이 없는 신개발의료기기로 보완을 완료하는데 안전성과 유효성의 엄격한 심사절차로 지연되었음

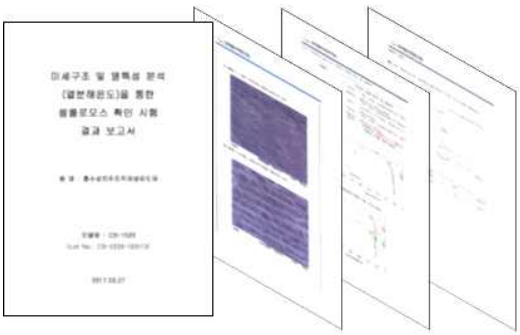
· 기술문서의 보완 내용으로는 원재료에 입증 및 성능시험 시험 추가 제출에 관한 사항이었으며, 성능(수분함량, 무균, 체내 생분해), 가속노화 2년에 대한 성능 유효성(외관, 염료침투, 무균, 인장강도, 흡수력), 원재료 확인시험(미세구조 및 열특성 분석, 화학구조 분석)을 추가로 진행하였음

추가 발급 성적서

<수분함량, 무균 시험 성적서>

<체내 생분해 시험 성적서>

<가속노화 2년 성능 시험 성적서>



<원재료 확인 시험 성적서>

· 또한, 임상시험계획서의 주된 보완사항으로는 피험자 산출근거와 입증자료 제공으로, 피드백 기간 동안 초기 피험자수 산출 인원이 38명에서 40명, 50명, 최종적으로 54명으로 승인 완료 됨
이에 따른 식약처 업무 세부 내용은 아래와 같이 진행되었음

<표. 흡수성치주조직재생유도재 임상시험 승인을 위한 식약처 업무 진행과정>

일정	세부 내용	별첨
01 의료기기 임상 시험계획 승인 인·허가 접수 진행 1차 일정		
2016.08.03.	임상시험 승인 신청을 위한 사전 식약처 민원상담 : 원자력연구원, 쿠보텍, 사이넥스	
2016.11.23.	의료기기임상시험계획승인 : 흡수성치주조직재생 유도재 인·허가 접수	· 접수번호 : 제20160264902호 · 접수증
2016.12.20.	1차 보완 공문(완료일 : 2017.01.19.)	· 보완요청공문 : 의료기기정책과-MFDS-1555
2017.01.10.	보완 연기 요청(2017.04.19.)	· 보완연기공문 : KWT 2017-003 · 보완연기승인 : 의료기기정책과-MFDS-41
2017.04.19.	1차 보완 완료	
2017.04.25.	2차 보완 공문(2017.05.08.)	· 보완요청공문 : MFDS-448
2017.05.12.	자진 취하 요청(원재료 및 임상 자료 첨부자료 준비)	· 취하요청공문 : KWT 2017-024 · 취하공문승인 : 의료기기정책과-MFDS-501
02 의료기기 임상 시험계획 승인 인·허가 접수 진행 2차 일정		
2017.08.14.	의료기기임상시험계획승인 : 흡수성치주조직재생 유도재 인·허가 접수	· 접수번호 : 제20170179153호 · 접수증
2017.09.11.	1차 보완 공문(완료일 : 2017.10.11.)	· 보완요청공문 : 의료기기정책과-MFDS-1504
2017.10.10.	보완 연기 요청(2017.11.17.)	· 보완연기공문 : KWT 2017-054 · 보완연기승인 : 의료기기정책과-MFDS-1897
2017.10.31.	임상시험계획승인 보완사항에 대한 식약처 민원상담 : 원자력연구원, 쿠보텍, 이레컨설팅, 사이넥스	
2017.11.16.	1차 보완 완료	
2017.11.27.	2차 보완 공문(완료일 : 2017.12.07.)	· 보완요청공문 : 의료기기정책과-MFDS-2722
2017.12.07.	2차 보완 완료	
2017.12.13.	자진 취하 요청(임상자료 : 피험자의 선정기준·제외기준·인원 및 근거에 대한 첨부자료 요청 준비)	· 취하요청공문 : KWT 2017-068 · 취하공문승인 : 의료기기정책과-MFDS-3034
03 의료기기 임상 시험계획 승인 인·허가 접수 진행 3차 일정		
2018.01.16.	의료기기임상시험계획승인 : 흡수성치주조직재생 유도재 인·허가 접수	· 접수번호 : 제20180011965호 · 접수증
2018.02.07	의료기기 임상시험계획승인 완료	· 승인공문 : 의료기기정책과-MFDS-663 · 의료기기 임상시험계획승인서 : 제833호

· 3회에 걸친 식약처 접수는 2018년 2월 7일(임상승인번호 : 제833호) 최종 승인 완료되어 임상시험을 진행할 수 있었음

· 임상승인 완료된 최종 본 제품의 특징은 치조골 증대 및 지주조직 재생을 위해 뼈의 재생이 요구되는 부위에 공간을 확보하여 연조직의 하방 이동을 막아 치주조직의 재생을 돕고, 일정기간 후 흡수되어 제품의 제거를 위한 2차 시술이 필요 없는 흡수성치주조직재생유도재임. 주 원료인 바이오셀룰로오스(bio cellulose)를 동결 건조하여 방사선(전자선)조사를 통한 멸균을 실시하여 제공되며, 삽입 후 3년 이내에 생분해되고 이식부위에 남아있지 않게 되는 의료기기임

의료기기 임상시험승인서 및 공문

의료기기 임상시험계획승인서

제 833 호

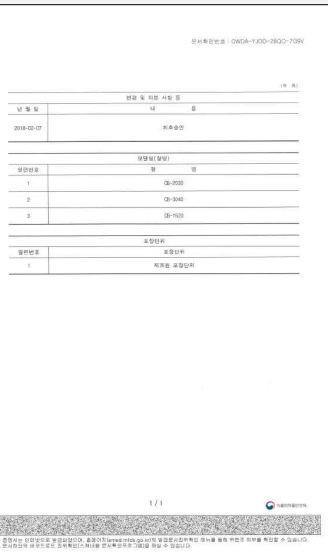
신청인 (대표자)	성 명	정형중	생년월일	1966년 01월 14일
	주 소			
제조(수입) 업 소	명칭(상호)	(주)쿠보텍	업허가번호	제 2603 호
	소 재 지	광주광역시 북구 첨단벤처소로37번길 50		
제 조 원 (수입 또는 위탁생산 인허 여부의 경우)	명칭(상호)		제 조 국	
	소 재 지			
임 상 시 험 개 요	명칭(제품명, 등록명, 모델명)	흡수성치주조직재생유도재	품목번호 (등급)	C25030.01(4)
	임상시험계획 승인번호	제 833 호		
	임상시험의 목적	치조골 성숙정도 확인 및 치주조직재생술에 사용되는 생흡수성 치주조직재생유도재 CelBrane(제품명)의 안전도와 유효성을 증명하기 위하여 (Class I 또는 II 수술용품목 비교 : 봉합재(기, 복강 손상부, 대조, 대상자 안동의 기준), 무작위 배정 : 단일기간 확증 임상시험		

「의료기기법」 제 10조 및 같은 법 시행규칙 제33조제4항에 따라 같이 임상시험계획을 승인합니다.

※ 붙임 : 의료기기 임상시험계획승인신청서 1부.

2018 년 02 월 07 일

식품의약품안전처장(별)



년 월 일	내 용
2018-02-07	최초승인

품목번호	명 칭
1	CB-2030
2	CB-3040
3	CB-1520

품목번호	포장단위
1	제조업 포장단위

1 / 1

식품의약품안전처

수신자 주식회사쿠보텍, 대표:정형중 귀하 (우61008 광주광역시 북구 첨단벤처소로 37번길 50)

(경유)

제목 의료기기 임상시험계획 승인[주식회사쿠보텍-흡수성치주조직재생유도재(CB-2030 외 2종)]

1. 귀하께서 우리처에 신청(접수번호: 20180011965, 2018.01.17)하신 임상시험계획 승인 "흡수성치주조직재생유도재(CB-2030 외 2종)"와 관련됩니다.

2. 위 건을 검토한 결과, 「의료기기법 시행규칙」 제20조제2항에 따른 의료기기 임상시험계획이 타당한 것으로 판단되어, 같은 법 시행규칙 제20조제4항의 규정에 따라 붙임과 같이 승인하오니, 「의료기기법」 제10조 및 같은 법 시행규칙 제24조제1항(별표2의 시설과 제조 및 품질관리체계의 기준에 적합한 의료기기 사용 포함)과 별표3 「의료기기 임상시험 관리기준」, 같은 법 시행규칙 제42조 및 제43조제2항을 준수하여 임상시험을 실시하시기 바랍니다.

3. 아울러, 동 임상시험은 별표3 「의료기기 임상시험 관리기준」 제7호마목1)에 따라 식약처장 및 해당 임상시험기관 실사위원회에서 승인한 임상시험계획서를 준수하여 실시하시기 바라며, 시행규칙 제24조제2항의 규정에 따라 임상시험실시상황을 별지 제25호서식(의료기기임상시험실시상황보고서)으로 매년 2월말까지, 임상시험을 종료한 때에는 별지 제26호 서식(의료기기임상시험종료보고)으로 종료 후 20일 이내에 우리처(의료기기정책과)에 보고하여야 합니다.

4. 또한, 유전자 검사를 하고자 하는 경우에는 「생명윤리 및 안전에 관한 법률」 제49조에 따라 보건복지부령이 정하는 시설 및 인력 등을 갖추고 보건복지부 장관에게 신고한 검사기관에 의뢰하시기 바라며, 동 법령의 관련 규정을 준수하시기 바랍니다.

5. 끝으로, 의료기기 임상시험계획(변경포함)승인과 동 제품의 허가여부는 별개의 사안으로 향후 동 제품의 허가 신청 시 의료기기 법규에 따라 허가여부를 재검토하게 됨을 알려드립니다.

□ 임상승인완료 후 사후관리

· 제품 검증이 완료된 바이오셀룰로오스는 아래와 같은 라벨링으로 부산대에 “임상승인용 의료기기”로 제공되었으며(LOT CB-0308-I0314 52개), 임상시험완료 후 남은 시험기기는 회수하였음

임상시험용 의료기기 라벨링

(다) 향후 일정

□ 임상시험 진행

· 현재 임상시험은 2018년 7월 10일자로 마지막 피험자 등록이 완료되었고, 진행과정 및 추적관찰기간 동안의 모니터링 보고서 결과 특별한 이상보고에 대한 사항은 없었으며, 모니터링은 마지막 피험자 추적관찰 기간 동안 지속될 예정임

· 임상시험 종료보고, 완료보고, 결과보고서는 2019년 1월 31일 완료예정에 있음

<표. 임상시험 진행 사항>

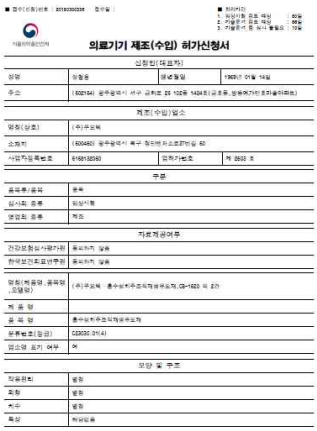
항목	제출 서류	진행 사항
임상시험계획 승인신청	임상시험계획승인신청서	진행완료
	임상시험계획서	
	임상시험용 의료기기 GMP 관련 자료	
	기술문서에 관한 자료	
임상시험계획 변경승인신청	임상시험계획 변경 승인 신청서	
	임상시험변경계획서(변경대비표 포함)	
	임상시험용 의료기기 GMP 관련 자료	
	기술문서에 관한 자료	
임상시험	마지막 피험자 연구 등록일(2018년 7월 10일)→추적관찰 6개월 1) 개시모임(2018.03.30.) 2) 모니터링보고서 1(2018.04.17.) 3) 모니터링보고서 2(2018.05.08.) 4) 모니터링보고서 3(2018.05.29.) 5) 모니터링보고서 4(2018.06.26.) 6) 모니터링보고서 5(2018.08.09.) 7) 모니터링보고서 6(2018.11.15.)	현재~ 2019년 1월 31일 예정
임상시험종료 보고	임상시험 종료보고(IRB 최종 완료보고 ~20일 이내)	2019년 1월 31일예정
	임상시험 완료보고	
	임상시험 결과보고서	

□ 제조품목허가 접수

· 현재 임상시험 결과에 대한 자료는 미비하지만, 지연된 일정을 최소화하기 위해 2018년 11월 27일자로(접수번호 : 20180300336) 제조품목허가 식약처 접수를 진행하였음

· 처리기간(80일, 3월 말 예정)을 고려하여 차후 임상시험결과보고서는 완료 시 보완자료로 2019년 2월에 제공할 예정에 있으며, 내년 하반기 품목 허가 완료의 목표를 두고 있음

의료기기 제조 허가 신청서



의료기기 제조(수입) 허가신청서

신청인(대표자)			
성명	유철용	생년월일	1963년 01월 14일
주소	(16021-54) 광주광역시 서구 금화로 28 102동 1404호(금호동, 양동에기대 로미슐라아파트)		
제조(수입)업소			
명칭(상호)	(주)쿠보텍		
소재지	(61040) 광주광역시 북구 첨단미르3로27번길 60		
사업자등록번호	6168138560	법인가번호	계 0003 호
주문			
품목류/품목	분류		
심사의 종류	최상신청		
생산의 종류	계조		
자료제공여부			
건강보험심사평가원	동의하지 않음		
한국보건의료연구원	동의하지 않음		
명칭(제품명, 품목명, 모델명)	(주)쿠보텍 - 홍수님치주조직재생유도막, CB-1620 외 2건		
제 품 명			
품 목 명	홍수님치주조직재생유도막		
분류번호(등급)	G28300 (마.4)		
임상적 효기 여부	예		
모양 및 주조			
작동원리	생체		
회형	생체		
재수	생체		
특성	해당없음		

제조방법	생체
사용목적	치주조직 재건공간의 장벽 역할을 하여 치주조직의 재생을 유도하는 흡수성 재료로 의치 수술이 필요없다.
성 능	생체
사용방법	생체
사용 시 주의사항	생체
저장방법	생체
사용기간	생체
시험규격	생체
허가조건	없음

모델명

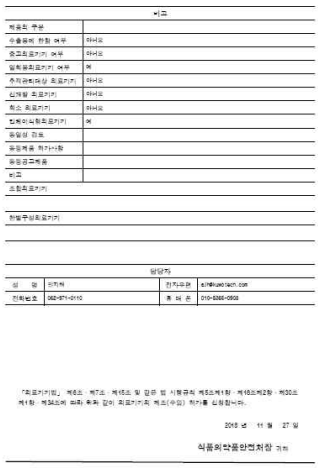
순번	모델명	수술용여부
1	CB-1620	아니오
2	CB-2030	아니오
3	CB-3040	아니오

포장단위

순번	포장단위
1	개포제포장단위

제조회사(수입 또는 제조공정 전부 위탁의 경우)

제조회사가	
제 조 가	아크릴로(주)쿠보텍, 광주광역시 북구 첨단미르3로27번길 60 (월출동)



비고

제품의 주분	
수출용의 한정 여부	아니오
중고의료기기 여부	아니오
임학용의료기기 여부	예
추가관리대상 의료기기	아니오
신개발 의료기기	아니오
희소 의료기기	아니오
인체이식형의료기기	예
동일성 검토	
동일제품 허가사항	
유통관리제품	
비고	
소형의료기기	
허발주성의료기기	

담당자

성 명	담당자	전자우편	a1@ab.com
전화번호	062-971-0110	휴 대 폰	010-0000-0000

「의료기기법」 제조· 제7조· 제8조의 및 같은 법 시행규칙 제5조제1항· 제6조의 제1항· 제3조의 따라 위와 같이 의료기기의 제조(수입) 허가를 신청합니다.

2018 년 11 월 27 일

식품의약품안전처장 귀하

(라) 사업화 및 마케팅 전략

· (주)쿠보텍의 대표이사는 첨단미르치과병원 임플란트 국제교육센터(ICGA:International Centric Guide Academy)의 개원으로 국내·외 유능한 전문가와 함께 국제 임상세미나와 치주·교합 등의 다양한 교육과 강의 프로그램 진행이 가능하며, 제품 임상 시연을 통해 직접적인 초기 홍보 전략에 효과적임. 또한, 정기적인 임상 교육은 소비자 니즈 충족을 위한 맞춤형 서비스 제공이 가능함

국제교육센터를 이용한 임상시연 및 제품 홍보

· 미르네트워크는 연구와 지식공유 등으로 브랜드 파워를 형성해온 곳으로 전국 18곳의 주요 고객을 확보하고 관리하는데 용이하며, 홍보, 교육, 임상연구, 자재 구매 등을 효율적으로 지원함으로써 지역별 경쟁력을 확보할 수 있음

· 본사는 지속적인 연구개발을 통해 치과용 제품 LINE-UP을 확보하였으며, 당사 허가 제품

군(지르코니아블록, 치과용임플란트상부구조물, 치과용임플란트고정체, 골이식재 등)을 활용하여 임플란트 시술 시스템에 사용되는 재료 패키지화가 가능함

임플란트 시스템 재료 패키지화

· 미국의 밀레니엄리서치 그룹(Millennium research group)의 조사 자료에 따르면 국내 치과용 멤브레인 시장은 조사가 이뤄진 2008년 57억 원을 시작으로 매년 10% 안팎의 상승률을 보인 가운데 2015년 약 122억 원 정도일 것으로 추산하였으며, 세계시장은 1억3,950억 달러(약 1천4백억 원)로 분석하였음

· 국내에 시판되고 있는 멤브레인은 외산이 금액기준 약 80%를 차지하고 있으며, 그 중 흡수성제품인 가이스트리히코리아의 '바이오가이드'가 최소 30% 정도의 점유율을 차지하고 있음

· 하지만 외산의 경우 20만원 이상의 고가 제품이며, 최근에는 국내 제품의 품질이 점차 개선되면서 5~10만원 대의 가격 경쟁력을 앞세운 제품들이 늘어나고 선호하는 추세임

· 업계에서는 물성, 흡수기간, 가격 경쟁력이 충분하다면 국산 제품이 시장에 안착하는 것은 충분하다는 긍정적인 평가를 내리고 있으며, 본사 제품의 경우 일반적인 콜라겐 멤브레인과 다른 원재료 기술력의 장점으로 외산 1/4 이상의 가격대가 가능하다면 점유율 상승에 유리할 것으로 사료됨

국·내외 주요 제품 비교		
국산	외산	본사 제품
바이오랜드, CollaGuide 약 88,000원(15x20mm 기준)	Geistlich(스위스), Bio-Gide 약 216,000원(13x25mm 기준)	(주)쿠보텍,CelBrane 약 50,000원(15x20mm 기준)

2. 논문게재 성과

게재연도	논문명	저자			학술지명	Vol.(No.)	국내외 구분	SCI구분
		주저자	교신저자	공동저자				
2014	Development and characterization of hepatin immobilized bacterials cellulose(BC) for bone tissue engineering using gamma-irradiation	정성린 정진오	임윤묵	신영민 권희정 노영창 안성준 박만용 최종배	Tissue Engineering and Regenerative Medicine	11 (2)	국내	SCI(E)
2014	Efficacy of rhBMP-2 loaded PCL/PLGA/β-TCP Guided Bone Regeneration (GBR) Membrane Fabricated by 3D Printing Technology for Reconstruction of Calvaria Defects in Rabbit	심진형	허중보	윤민철 정창모 장진아 정성린 조동우	Biomedical Materials	9(6)	국외	SCI
2015	The effect of bacterial cellulose membrane compared with collagen membrane on guided bone regeneration	이소현 임윤묵 정성린	허중보	안성준 강성수 정창모	The Journal of Advanced Prosthodontics	7(6)	국내	SCI(E)
2015	Characterization of Hydroxyapatite-coated Bacterial Cellulose Scaffold for Bone Tissue Engineering	안성준 신영민	임윤묵	김세은 정성린 정진오 박종석 권희정 서다은 노영창 강성수 김정열 허중보	Biotechnology and Bioprocess Engineering	20	국내	SCI(E)
2015	Effects of different rhBMP-2 release profiles in defect areas around dental implants on bone regeneration	조재호	허중보	최성욱 최재원 백동현 강성수 김세은 전영찬	Biomedical Materials	10(2015)	국외	SCI
2017	Preparation and Characterization of Resorbable Bacterial Cellulose Membranes Treated by Electron Beam Irradiation for Guided Bone Regeneration	안성준 이소현	허중보	정성인 박종석 권희정 강은숙 정창모 임윤묵	International Journal of Molecular Sciences	18(2236)	국외	SCI(E)

2017	The Effect of Thickness of Resorbable Bacterial Cellulose Membrane on Guided Bone Regeneration	이유진 안성준 배은빈	허중보	권희정 박종석 정성린 전영찬 이소현 임윤묵	Materials	10(320)	국외	SCI(E)
2017	The Efficacy of Electron Beam Irradiated Bacterial Cellulose Membranes as Compared with Collagen Membranes on Guided Bone Regeneration in Peri-Implant Bone Defects	이소현 안성준	허중보	임윤묵	Materials	10(1018)	국외	SCI(E)

3. 특허 성과

등록된 특허의 경우				
등록연도	특허명	등록인	등록국	등록번호
2014	최적의 탄소원을 이용한 글루콘아세토박터 속 KCG326 균주에 의한 박테리아 셀룰로오스의 제조 방법	농업회사법인 주식회사 자담	한국	10-1425586
2014	최적의 배지 조성을 이용한 글루콘아세토박터 속 KCG326 균주에 의한 박테리아 세룰로오스의 제조방법	농업회사법인 주식회사 자담	한국	10-1435582
2014	최적의 탄소원과 질소원을 이용한 글루콘아세토박터 속 KCG326 균주에 의한 박테리아 셀룰로오스의 제조 방법	농업회사법인 주식회사 자담	한국	10-1435580
2016	방사선 기술을 이용한 박테리아 셀룰로오스의 생부해 조절 및 이를 이용한 흡수성 치주조직 재생유도재	함국원자력연구원	한국	10-1684268
2016	방사선 에너지 이용 박테리아셀룰로오스의 일회용 밴드와 지혈 작용제 제조 방법	한국원자력연구원	한국	10-2016-0087719
2018	Biodegradable control of bacterial cellulose by radation technology and absorbable periodontal material using same	한국원자력연구원	미국	10,130,653

4. 사업화 현황

사업화명	사업화내용	사업화 업체 개요				기매출액	당해년도 매출액	매출액 합계
		업체명	대표자	종업원수	사업화형태			
바이오셀룰로오스 사업화	바이오셀룰로오스 원료 및 가공제품 판매	(주)자담	박만용	40	원료 및 가공판매		62,261,600원	62,261,600원
골 재생을 위한 치과 제품	이종골이식재	(주)쿠보텍	정철웅	30	원료 및 가공판매		2016년 4,537,650원	4,537,650원
골 재생을 위한 치과 제품	이종골이식재	(주)쿠보텍	정철웅	30	원료 및 가공판매		2017년 15,673,600원	15,673,600원
골 재생을 위한 치과 제품	이종골이식재	(주)쿠보텍	정철웅	30	원료 및 가공판매		2018년 28,404,490원	28,404,490원

3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도

3-1. 목표

- 감귤 바이오셀룰로오스의 의료용 대량 배양 공정을 개발하여 이를 대량 생산 시스템 확립 및 설비 기반 구축과 동시에 방사선 기술을 이용하여 바이오셀룰로오스의 생분해성 조절 및 생체적합성 표면처리 공정 시스템 개발하여 전임상 동물 실험 및 임상시험을 통해 성능과 안정성이 검증된 치과용 흡수성치주조직재생유도막 제조기술을 개발하고 이를 실용화함.

3-2. 목표 달성여부

<1차년도>

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	달성도 (%)	연구개발 수행내용	가중치 (%)
1차 년도 (2014)	**(주관기관: 한국원자력연구원)** 감귤 생분해성 바이오셀룰로오스를 활용한 흡수성치주조직재생유도막 개발	방사선 기술 이용 바이오셀룰로오스의 생분해성도 최적화 조절	100	방사선 이용 조건에 따른 바이오셀룰로오스의 생분해성도 평가	40
		방사선 기술 이용 바이오셀룰로오스의 표면 처리 조절	100	생분해성 바이오셀룰로오스의 기능성기 표면처리에 따른 생체적합성 평가	
	(제1협동: (주)자담) 흡수성치주조직재생유도막 개발을 위한 감귤바이오셀룰로오스의 대량배양 공정 개발 및 사업화 기반 구축	치과용 바이오셀룰로오스 대량 배양 공정 개발	100	치과용 차폐막 제조용 감귤 바이오셀룰로오스의 공극 크기 및 두께 조절 배양 공정 개발	30
		흡수성 치주조직재생유도막 사업화 기반 구축	100	임상시험 실시를 위한 임상 GMP 인증 컨설팅 및 생물학적 안정성 시험 진행	
	(제2협동: 부산대학교) 소형 동물을 이용한 바이오셀룰로오스의 안전성 및 성능평가	소형동물을 이용한 바이오셀룰로오스의 안전성 및 성능 평가	100	생체 내 바이오셀룰로오스의 분해조절능 평가 및 소형 동물 전임상 시험 평가	30

연 구 범 위		연구수행방법 (이론적·실험적 접근방법)	구체적인 내용
주관기관	방사선을 이용한 생분해성도 조절 및 표면처리 기술 최적화	방사선 기술 이용 바이오셀룰로오스의 생분해성 조절 확립	• 방사선 종류 및 선량 변화 • 표면 구조 및 물리화학적 특성 평가 • *in vitro*와 *in vivo* 생분해성 평가
		방사선 기술 이용 바이오셀룰로오스의 표면처리 기술 확립	• 표면 구조 및 물리화학적 특성 평가 • *in vitro* 생체적합성 평가
제1협동	치과용 흡수성 치주조직재생유도막 바이오셀룰로오스 대량 배양 공정 개발	의료용 바이오셀룰로오스의 배양 조건 확립	• 균일한 생산 공정 및 성능 평가 • 표면 구조 및 물리화학적 특성 평가
		흡수성 치주조직재생 유도막 사업화 기반 구축	• 임상 GMP인증 관련 컨설팅 • 생물학적 안전성 실험 평가 의뢰
제2협동	소형 동물을 이용한 바이오셀룰로오스의 안전성 및 성능 평가	골결손 동물 모델을 이용한 치과용 차폐막 성능 평가	• 두개골 결손 모델 골내이식시험 • 차폐막 성능평가 확립

<2차년도>

구분 (연도)	세부과제명		세부연구목표	달성도 (%)	연구개발 수행내용	가중치 (%)
2차 년도 (2015)	<주관기관> 한국원자력 연구원	감귤 생분해성 바이오셀룰로오스를 활용한 흡수성치주조직재생유도막 개발	• 방사선 기술 이용 바이오셀룰로오스의 생분해성 조절 시스템 구축	100	• 방사선 실험 조건(방사선 종류, 선량)에 따른 바이오셀룰로오스의 생분해성도 공정 시스템 구축	30
			• 방사선 기술 이용 바이오셀룰로오스의 표면처리 조절 시스템 구축	100	• 방사선 기술 이용 무기물 및 생체기능성 물질 도입 바이오셀룰로오스의 표면 활성화 조절 연구	
	<제1협동> (주)자담	흡수성치주조직재생유도막 개발을 위한 감귤바이오셀룰로오스의 대량 배양 공정 개발	• 치과용 차폐막 제조용 감귤바이오셀룰로오스 대량 배양 공정 체계 확립	100	• 치과용 차폐막 제조용 바이오셀룰로오스 대량 생산 공정 확립(GMP기준)	5
	<제2협동> 부산대학교 산학협력단	소형 동물을 이용한 바이오셀룰로오스의 안전성 및 성능평가	• 바이오셀룰로오스 차폐막의 중형 동물 전임상 시험 평가	100	• 생체 내 바이오셀룰로오스의 분해조절능 평가 및 중형 동물 전임상 시험 평가 • 대동물을 이용한 결손부 모델을 개발하고 바이오셀룰로오스의 안정성 및 성능 평가	30
			• 생분해성 바이오셀룰로오스 차폐막의 임상시험 계획	100	• 임상 적응증 개발 및 임상시험 연구계획서 작성 • 임상시험 준비 완료 및 식약처로부터 임상시험 승인 • 부산대학교 치과병원 IRB 신청 및 임상시험 허가	
	<제3협동> (주)쿠보텍	• 흡수성치주조직재생유도막 대량 생산 체계 구축 및 사업화 기반 구축	• 임상GMP 인증을 위한 설비 구축	100	• 임상GMP 설비 기준 설비 및 장비 구축	25
			• 임상GMP 인증	100	• 임상시험 실시용 시제품 제작	
			• 임상시험용 시제품 제작	100	• 임상시험 허가를 위한 제품 기술문서 작성	

연 구 범 위		연구수행방법 (이론적·실험적 접근방법)	구체적인 내용
주관기관	방사선을 이용한 생분해성도 조절 및 표면처리 기술 최적화	방사선 기술 이용 바이오셀룰로오스의 생분해성 조절 확립	• 방사선 종류 및 선량 변화 • 표면 구조 및 물리화학적 특성 평가 • *in vitro*와 *in vivo* 생분해성 평가
		방사선 기술 이용 바이오셀룰로오스의 표면처리 기술 확립	• 표면 구조 및 물리화학적 특성 평가 • *in vitro* 생체적합성 평가
제1협동	치과용 흡수성 치주조직재생유도막 바이오셀룰로오스 대량 배양 공정 개발	의료용 바이오셀룰로오스의 배양 조건 확립	• 균일한 생산 공정 및 성능 평가 • 표면 구조 및 물리화학적 특성 평가
제2협동	소형 동물을 이용한 바이오셀룰로오스의 안전성 및 성능 평가	바이오셀룰로오스 차폐막의 중형 동물 전임상 시험 평가	• 두개골 결손 모델 골내이식시험 • 차폐막 성능평가 확립
제3협동	흡수성치주조직재생유도막 대량 생산 체계 구축 및 사업화 기반 구축	임상GMP 인증을 위한 설비 구축 및 시제품 제작	• 임상GMP 설비 기준 설비 및 장비 구축

<3차년도>

구분(연도)	세부과제명		세부연구목표	달성도(%)	연구개발 수행내용	가중치(%)
3차 년도 (2016)	<주관기관> 한국원자력 연구원	감귤 생분해성 바이오셀룰로오스를 활용한 흡수성치주조직재생유도막 개발	● 방사선 기술 이용 바이오셀룰로오스의 생물학적 안전성 평가 확립	100	● 바이오셀룰로오스 차폐막의 생물학적 안전성 시험 평가 및 제품화 기술이전 확립	20
	<제1협동> (주)자담	흡수성치주조직재생유도막 개발을 위한 감귤바이오셀룰로오스의 대량 배양 공정 개발	● 치과용 차폐막 제조용 감귤바이오셀룰로오스 대량 배양 생산 품질관리 확립	100	● 치과용 차폐막 제조용 바이오셀룰로오스 대량 생산 공정 최적화 및 품질관리 확립	10
	<제2협동> 부산대학교 산학협력단	바이오셀룰로오스의 안전성 및 성능평가	● 생분해성 바이오셀룰로오스 차폐막의 임상시험 진행	100	● 생분해성 바이오셀룰로오스 차폐막의 임상시험 진행	35
	<제3협동> (주)쿠보텍	● 흡수성치주조직재생유도막 대량 생산 체계 구축 및 사업화 기반 구축	● 임상시험용 시제품 제작 ● 생분해성 바이오셀룰로오스 차폐막의 임상시험 관리 및 제품화	100	● 임상GMP 설비 기준 설비 및 장비 구축 ● 임상GMP 인증 ● 임상시험 실시용 시제품 제작 ● 임상시험 허가를 위한 제품 기술문서 작성	35

연 구 범 위		연구수행방법 (이론적·실험적 접근방법)	구체적인 내용
주관기관	방사선을 이용한 생분해성도 조절 및 생물학적 안정성 평가	방사선 기술 이용 바이오셀룰로오스의 생물학적 안정성 평가	● 생물학적 안전성 시험 평가
제1협동	치과용 흡수성 치주조직재생유도막 바이오셀룰로오스 대량 배양 공정 개발	의료용 바이오셀룰로오스의 배양 조건 최적화	● 균일한 생산 공정 최적화
제2협동	바이오셀룰로오스의 안전성 및 성능 평가	바이오셀룰로오스 차폐막의 임상 시험 평가	● 바이오셀룰로오스 차폐막의 임상 시험 및 평가
제3협동	흡수성치주조직재생유도막 대량 생산 체계 구축 및 사업화 기반 구축	임상GMP 인증을 위한 설비 구축 및 시제품 제작	● 임상시험 허가용 기술문석 작성 및 관리

3-3. 목표 미달성 시 원인(사유) 및 차후대책(후속연구의 필요성 등)

4. 연구결과의 활용 계획 등

- 방사선 기술을 통해 바이오셀룰로오스의 생분해성 조절과 생체적합성 표면개질 기술은 의료용 원천 소재는 물론 조직 재생용 신소재 개발에 활용할 계획임.
- 또한 방사선을 이용한 천연물 소재 기반의 생분해성 조절 기술은 대중의 접근성이 용이한 화장품 및 식품 산업 등에 응용될 수 있는 기반 기술로서 활용함.
- 신개념의 기능성 재료 생산 분야의 연구결과를 가속화하기 위해, 본 연구 성과를 적극 활용하여 관련 연구 및 특허 등을 상업화하고 관련기업의 참여를 유도함.

(가) 연구개발결과의 활용방안

○ 감귤 바이오겔 기반 연구개발기술 및 결과는 다양한 조직 재생용 생체 기능성 신소재 제조 기술로 활용할 예정이며, 특히 기본 소재인 감귤 바이오 겔은 다양한 생물학적 기능성을 높여주는 연구에 활용할 계획임.
○ 향후 임상 적용이 가능한 조직공학제품 개발로 연구를 추진하여 인체조직 재생용 세포 지지체 개발 원료로서 판매를 추진할 계획임.
○ 본 개발 성과는 조직재생용 소재뿐만 아니라 기존 화학 매트릭스를 대체한 향장용 바이오 셀룰로오스 팩 및 기능성 물질 전달용 화장품, 기능성 필터, 피부보호 및 상처치유용 소재, 만성 피부질환 치료분야 등으로도 적용범위를 확대해 나갈 계획임.
○ 방사선 이용 의료용 바이오셀룰로오스는 뼈 수복재 뿐만 아니라 피부 등 모든 생체조직 제품에 적용이 가능하기 때문에 본 과제에서 개발할 기술로 생산한 제품을 통해 무한한 잠재력을 가진 시장을 개척하고 선점할 수 있을 것임.
○ 본 기술을 이용한 제품 개발 시 단기간에 품질개선, 이미지 홍보 등의 집중적인 지원노력으로 세계에서 최고의 제품을 생산할 수 있는 기술 단계에 도달할 것으로 판단됨
○ 현재 전량 수입에 의존하는 인체이식용 조직의 직접적 수입대체 효과뿐만 아니라 공급가격을 현저히 낮춤으로서 국내 시장 규모 확대효과도 거둘 수 있을 것으로 사료됨.
  - 뼈 및 피부 : 최근 사용 범위 및 사용량이 증가하고 있는 치과 분야의 마케팅을 집중적으로 추진하고, 신경외과, 정형외과의 기존 활용분야에서 새로운 적용증을 확대해 나가는 전략을 수립할 계획임.
○ 의료용 바이오셀룰로오스를 이용한 인체조직 재생유도 제품의 안전성 및 생체적합성, 효능이 입증되어 출시될 경우 출시 첫해 의료용 감귤 발효 버이오셀룰로오스의 원천 소재 생산이 가능하며, 매년 100% 이상의 고성장이 예상됨.
○ 이에 따라 사업 종류 직후에는 개발된 제품의 국내 및 해외 인증(ISO, CE 등) 및 허가(FDA 등)에 소요되는 시간이 필요하므로 3년차 이후부터 본격적인 수출이 진행될 것으로 추측됨.
○ 또한, 방사선을 이용하여 박테리아셀룰로오스의 생분해성 조절 기술 확보를 통해 박테리아셀룰로오스의 원료인 감귤 뿐 만 아니라 코코넛, 사과 등의 다른 원료에 응용 가능함.

(나) 개발 대상 기술・제품의 기대성과

[기술적 측면]
○ 녹색성장 및 친환경형 기능성 농산바이오 제품화 기반기술로 국익증대
○ 맞춤형 바이오셀룰로오스 생산 균주를 통하여 새로운 소재로 IT 등 다양한 산업에 응용 가능
○ 감귤의 겔 발효특성 완성을 통한 생산기술 수립
  - 발효균의 영양요구도 분석 및 발효 장애물질 존재여부 검정
  - 겔 발효 원재료 조성 개선 등
○ 우리고유의 우수한 과실을 이용한 발효 기술개발로 새로운 소재창출 기대
○ 연구결과 개발된 균주는 과잉 생산되는 유사과실을 이용한 발효제품 개발에 유용하게 이용

○ 방사선기술을 적용한 감귤 발효겔의 활용과 생체조직공학용 소재로써의 응용 범위 확장
○ 차별화된 기술경쟁력 확보로 자생력을 강화하여 국내 치과용 임플란트 및 차폐막 의료기기 산업의 세계시장 진입을 위한 성장 동력 확보가 가능할 것으로 기대
○ 향후 세계 최첨단 제품 출시를 통한 글로벌 경쟁력 확보 및 치과용 의료기기의 국가 핵심전략산업으로 육성·발전에 기여함.
○ 기관조직재생유도 시스템을 융복합화 된 방사선 기반 차폐막 제조기술 확립하여 국제적으로 선도적 기술우위선점
○ 흡수성 차폐막은 삽입 후 별도의 제거시술이 필요 없어 수술로 인한 이환율을 줄여 환자의 편의를 도모하고 비용도 절감할 수 있어 최근 그 연구가 활발히 진행되고 있음
○ 흡수성 차폐막은 차폐막의 분해과정이 조직 대체과정과 동시에 일어나고, 마치 콜라겐의 경우처럼 효소에 의한 분해과정을 거치기 때문에 특정 생체 적합물질의 분해정도에 있어서 환자간의 개체 차이가 크게 나타남.
○ 또한 흡수성 차폐막은 생분해성을 가짐으로써 부득이하게 상처치유에 영향을 미칠 수 있는 조직반응을 유도할 수 있음. 빠른 흡수성을 나타내는 재료의 경우 염증반응을 일으키기도 함.
○ 이를 극복하고자 다른 물질과의 결합을 통해 해결하려는 연구가 진행중임.
○ 제조된 세라믹 분말을 이용하여 생체의료용 세라믹 재료로 제조하는 단계에서 동물뼈 세라믹 입자와 생체고분자를 복합화 하여 사용하는 것임.

[사회적 측면]
○ 국민소득 향상과 보건의료에 대한 관심의 증대로 의료 복지 요구가 급증하고 있으므로 국민 보건 복지향상을 극대화 할 수 있고 인간 수명연장에 따른 노령화 사회에 대비한 삶의 질 향상에 직접 기여할 수 있음.
○ 기관조직재생 유도 연구를 기반으로 한 차세대 치과용 방사선 기반 융복합형 차폐막 치료기술은 노화, 질병, 사고에 의해 치과용 임플란트 수술시 골 조직 재건을 필요로 하는 다수의 환자에게 획기적인 의료 복지 제공
○ 국민 건강 증진 및 삶의 질 향상 극복이라는 사회적 요구에 부응하고 고령화가 가속화되면서 다가 올 미래 사회에 대한 안정적 치과용 헬스케어 효과 기대
○ 흡수성 차폐막의 경우 비흡수성보다 골재생에 있어 다소 지연되는 것으로 알려졌으며 부작용이 비흡수성 차폐막보다 적고 안전성에서도 우수한 편이라는 평가이지만 흡수성 차폐막만을 단독으로 사용할 경우 비흡수성 차폐 막에 비해 공간확보 능력이 다소 떨어지는 것으로 파악되고 있음.
○ 흡수성 차폐막과 비흡수성 차폐막의 단점을 보완하고 성능을 개선시킬 수 있는 환자맞춤형의 다양한 형태로 차폐막을 설계 제조하고, 특히 임상가들이 선호할 수 있는 하이브리드 차폐막(membrane) 개발, 상용화함으로써 고가의 수입산 제품의 대체효과와 사용상의 편리성 제공을 제공함으로써 국산 차폐막의 수요증가 및 수출 기대효과를 얻을 수 있음.

[경제적・산업적 측면]
○ 감귤 부산물의 친환경 처리에 의한 처리비용 절감 및 환경오염의 원인 제거
○ 바이오 셀룰로오스 발효특성 이용을 통한 신속한 대량생산 체계 수립으로 향장품 업체 및 의료용 시장 진입
○ 관련 산업체의 기술이전을 통한 새로운 제품생산에 따른 일자리 창출
○ 만성 궤양 창상 치료와 화상치료에 적용 의료비 절감 달성
○ 우리 기술을 이용한 친환경적, 경제적 인공 피부제의 개발을 통한 시장 확보 및 국외 수출을 통한 경제적 부가가치 창출
○ 의료 관련 산업육성에 의한 고용창출 효과 및 NT-BT-RT 융합에 의한 학제간 연구의 활성화 도모
○ 치과용 차폐막 등에 핵심 원천기술을 제공하여 산업화를 촉진하며 고부가 가치 의료제품을 창출함.
○ 기관조직재생유도 기술 수출과 바이오산업의 기술혁신을 통한 경제적 파급 효과가 큼
- 예상수익 : 수천억원 (2012년 총 시장규모, 2조원)

- 수입대체 효과 : 500억원, 수출기대 효과 : 1천억
- 산업적 효과 : 나노섬유 구조체와 하이드로겔의 잠재적 응용분야인 세포 분리여과 제품, 약물 함유 담체 제품 및 조직재생유도 복합 지지체 제품 등의 기존산업 제품의 품질을 한 단계 향 상시키는데 기여함.

○ 고령화 사회와 삶의 질 향상으로 인한 치과용 임플란트 환자가 더욱 증가할 것이 예상되므로 방사선 이용 치과용 융복합형 차폐막 기술의 산업적 가치가 증대됨.

○ 선진국간 FTA체결에 대비하여, 치과용 차폐막 분야의 국내 개발을 통한 치과 임플란트 산업의 경쟁력 강화

○ 방사선 기술을 이용한 치과용 차폐막 개발을 통해 국내 치과 임플란트 의료산업 성장에 1% 기여할 경우, 연간 1,800억원 이상('09 기준)의 경제적 파급효과 예상

○ 현재 전 세계적 골 이식재의 시장은 4.5억달러에 달하고 있으며 앞으로 그 시장은 선형적인 증가를 가져올 것으로 예상됨으로, 골이식재 시장과 더불어 차폐막의 원료개발에 따른 원천기술의 확보는 추후 거대시장의 외화를 국내로 유입되게 할 수 있는 가장 이상적인 방법임.

○ 가격경쟁력 측면

제품명	Bio-Gide	CelBrane
제조회사/제조국	Geistlich/스위스	[주]쿠보텍/한국
허가 번호	수허 98-752호	임상승인번호 : 제833호
원재료	돼지 콜라겐	박테리아셀룰로오스
가격	약 216,000원(13x25mm 기준)	약 50,000원(15x20mm 기준)
성능	- 흡수 기간 : 5개월 이상 - 다공성의 이중층 구조 - 두께 : 0.35mm	- 흡수 기간 : 6개월 이상 - 다층, 다공 구조 - 두께 : 0.1mm/인장강도 : 20N 이상

- 세계 최고 품질의 Bio-Gide(Geistlich/스위스)와 본 과제를 통해 개발한 CelBrane([주]쿠보텍/한국) 제품의 비교 분석 결과 규격과 성능, 전임상적, 임상적인 측면에서 유사한 결과 확인
- 선진국 대비 기술수준과 비교 시 95%이상으로 식약처 허가가 완료된다면 충분히 국산화가 가능할 것으로 판단됨
- 향후, 동남아시아에서 생산되는 박테리아셀룰로오스 사용이 가격경쟁력은 더욱 우수 할것으로 판단됨

○ 경제 산업적 측면

- 환경친화적 및 생체안전한 원재료의 사용
- 바이러스불화화를 위한 산/염기 등의 유해하거나 복잡한 처리과정이 없으며, 단순한 제조공정으로 인한 생산단가 절감 가능
- 원재료 수급이 수월하고, 대량 생산 가능

(다) 마케팅 전략

○ 마케팅 전략 수립 절차에 따라 마케팅 전략 수립
- 시장세분화 기준의 수립
- 시장세분화 및 세분시장별 특성 분석
- 각 세분시장의 매력도 평가: 표적시장의 선정
- 경쟁우위분석 및 상품 포지셔닝
- 포지셔닝 성과 평가 및 재포지셔닝

○ 마케팅 전략
- 의료기기 OEM 생산방식으로 임플란트 전문 회사인 오스템, 오스젠, 쿠보텍, 코웰메디 등 국내 업체에 제품 판매
- 관련 업체 영업망 활용을 통한 자사 제품 판매
- 전문가 활용을 통한 설명회 및 제품 홍보를 통한 마케팅 전략 구축
- 자체 영업망 구축 및 인프라 구축

사업화 및 마케팅 전략
✓ 공급 유통 채널 확보를 통한 판로 개척
- 국내·외 바이어, 전시, 마케팅 지원사업 활용
- 국제교육센터(ICGA International Centric Guide Academy)를 활용한 임상 실습 지원
- 미르 네트워크를 활용한 병원 판로 개척
✓ 국내·외 전시회 참가를 통한 제품 홍보
✓ 임플란트 시스템 제품 패키지화
- 치과용 제품 LINE-UP을 확보
- 당사 허가 제품군(지르코니아블록, 치과용임플란트상부구조물, 치과용임플란트고정체, 골이식재 등)을 활용하여 임플란트 시술 시스템에 사용되는 제품 패키지화 가능
✓ 가격 경쟁력
- 외산 20만원 이상, 국산 5~10만원, 본사 개발제품 5만원

붙임. 참고 문헌

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 기술사업화지원사업의 연구보고서입니다.

2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 기술사업화지원사업의 연구 결과임을 밝혀야 합니다.

3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.