



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2007년10월30일
 (11) 등록번호 10-0771058
 (24) 등록일자 2007년10월23일

(51) Int. Cl.

A61L 27/56(2006.01) A61L 27/54(2006.01)
 A61L 27/58(2006.01) A61L 27/60(2006.01)

(21) 출원번호 10-2007-0048392

(22) 출원일자 2007년05월18일

심사청구일자 2007년05월18일

(56) 선행기술조사문헌

KR100452410 B1

(뒷면에 계속)

(73) 특허권자

이희영

전북 군산시 문화동 919-9 (14/5)

(72) 발명자

이희영

전북 군산시 문화동 919-9 (14/5)

양현진

서울 강남구 압구정동 434(31/4) 현대아파트
 113-1103

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

이치영

전체 청구항 수 : 총 16 항

심사관 : 김상우

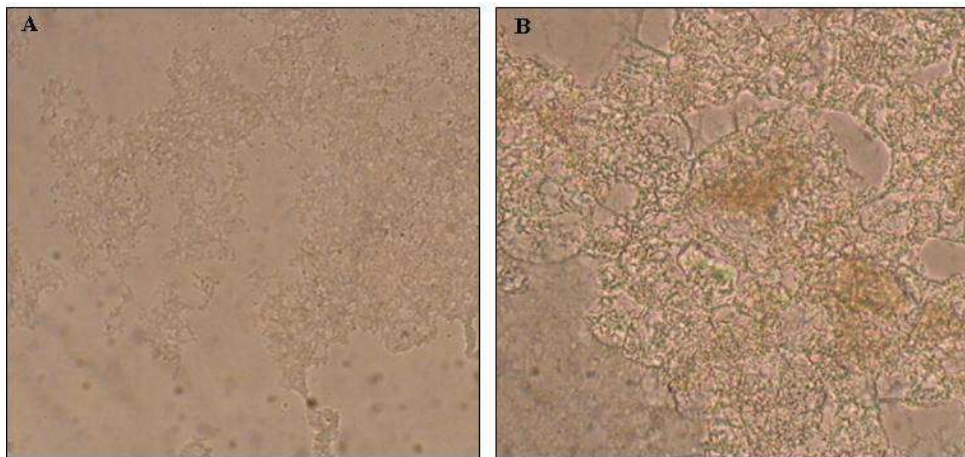
(54) 지질이 제거된 인체 부피 대체용 또는 세포 배양용 지지체 및 그 제조방법

(57) 요약

본 발명은 지질이 제거된 인체 부피 대체용 또는 세포 배양용 지지체에 관한 것으로, 보다 구체적으로는 지방조직을 분쇄한 다음, 초음파 처리 또는 가압 노즐 분사하여 지질을 탈리시킨 후, 탈리된 지질과 지질이 탈리되지 않은 지방조직을 제거하여, 멸균함으로써 인체 부피 대체용 또는 세포 배양용 지지체를 제조하는 방법에 관한 것이다.

본 발명에 따르면, 물리적인 조작만으로 지질을 제거하여 부피와 세포막 등의 미세구조를 최대한 보존할 수 있어 인체 부피 대체용 소재로 유용하다.

대표도 - 도2



(72) 발명자	(56) 선행기술조사문헌
이준석	KR1019910016350 A
부산 남구 대연동 888-12 흑석파크아파트 501호	KR1020010048219 A
최지숙	KR1020050081091 A
서울 구로구 오류동 337 동보아파트 102동 403호	W00119424 A1

특허청구의 범위

청구항 1

지방조직에서 지질을 제거시켜 제조된 인체 부피 대체용 지지체.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 지질은 지방 소적(lipid droplet)인 것을 특징으로 하는 인체 부피 대체용 지지체.

청구항 3

지방조직에서 지질을 제거시켜 제조된 세포 배양용 지지체.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 지질은 지방 소적(lipid droplet)인 것을 특징으로 하는 세포 배양용 지지체.

청구항 5

다음 단계를 포함하는 인체 부피 대체용 또는 세포 배양용 지지체의 제조방법:

- (a) 지방조직을 분쇄한 다음, 초음파로 처리(sonication)하여 지질을 탈리시키는 단계;
- (b) 상기 탈리된 지질과 지질이 탈리되지 않은 지방조직을 제거하는 단계; 및
- (c) 상기 지질이 제거된 지방조직을 멸균하여 지질이 제거된 지지체를 획득하는 단계.

청구항 6

제5항에 있어서, (a) 단계는 단백질 분해 효소를 사용하지 않는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 7

제5항에 있어서, (a) 단계는 분쇄한 지방조직을 히알루로니다아제(hyaluronidase)로 처리한 다음, 초음파 처리하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 8

제5항에 있어서, (d) 상기 획득된 지지체를 건조하여 분말화하는 단계를 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 9

제5항에 있어서, 상기 지질은 지방 소적(lipid droplet)인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 10

다음 단계를 포함하는 인체 부피 대체용 또는 세포 배양용 지지체의 제조방법:

- (a) 지방조직을 분쇄한 다음, 가압 노즐 분사를 통해 지질을 탈리시키는 단계;
- (b) 상기 탈리된 지질과 지질이 탈리되지 않은 지방조직을 제거하는 단계; 및
- (c) 상기 지질이 제거된 지방조직을 멸균하여 지질이 제거된 지지체를 획득하는 단계.

청구항 11

제10항에 있어서, (a) 단계는 단백질 분해 효소를 사용하지 않는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 12

제10항에 있어서, (d) 상기 획득된 지지체를 건조하여 분말화하는 단계를 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 13

제10항에 있어서, 상기 지질은 지방 소적(lipid droplet)인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 14

제5항 또는 제10항에 있어서, (b) 단계는 여과 또는 원심분리에 의해 수행하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 15

제14항에 있어서, 상기 원심분리 후, 에탄올 세척 또는 증류수 세척을 추가하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 16

제5항 또는 제10항에 있어서, 멸균은 방사선 또는 E0가스를 이용하는 것을 특징으로 하는 방법.

명세서

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

<3> 발명의 분야

<4> 본 발명은 지질이 제거된 인체 부피 대체용 또는 세포 배양용 지지체에 관한 것으로, 보다 구체적으로는 지방조직을 분쇄한 다음, 초음파 처리 또는 가압 노즐 분사하여 지질을 탈리시킨 후, 탈리된 지질과 지질이 탈리되지 않은 지방조직을 제거하여, 멸균함으로써 인체 부피 대체용 또는 세포 배양용 지지체를 제조하는 방법에 관한 것이다.

<5> 배경기술

<6> 인체의 부피 대체(volume replacement)를 위한 인공 소재들은 다양하게 개발되어 사용되고 있으나, 시간이 지남에 따라 부피가 없어진다는 문제점이 있다.

<7> 최근 인체나 동물에서 얻은 진피 조직(allogenic dermis)이나 골조직(allogenic bone) 등을 가공하여 이식용 소재로 사용하고 있으나, 가공 단계가 복잡하고 가공 단계에서 면역 단백질(immune protein), 세포 등 항원성(antigenicity)을 없애기 위하여 다양한 화학적인 방법이 추가되므로 허가를 위한 시간이 많이 소요되고, 항원성을 100% 없애지 못하므로 부작용이 발생할 수 있으며, 가공비가 많이 들고, 원료 재료인 사체(cadaver)의 수급이 제한되어 1cc당 50만원 정도의 가격으로 거래되고 있는 실정이다.

<8> 국내외 관련 기술을 보면 다양한 인공 피부 상품이 개발되고 있고, 무세포 인공 피부로부터 본인의 표피세포 및 진피세포를 배양한 계층화된 세포성 생인공피부(living skin equivalent; LSE)에 이르기까지 다양한 종류가 개발되어 상품화 단계에 있다. 이들 제품은 타가조직을 이용하여 무세포 처리하거나, 콜라겐과 같은 생체 물질로 제조되어 상당히 고가인 제품들이다. 세포성 생체 유래 인공 피부는 신속하게 상처를 치유함은 물론, 상흔을 감소시키는 등 질적인 면에서도 우수한 상처 회복 효과를 얻고 있으며, 자가세포 또는 가공한 타가조직이 면역 거부 반응이 없는 것으로 보고되고 있다.

<9> 국내에서는 키토산, 콜라겐, 키틴(chitin) 등을 이용한 매트릭스형 인공 피부가 상용화되고 있고, 매트릭스에 피부세포를 배양한 배양 피부를 개발하여 임상시험 단계에 있으나, 아직 대량생산하지 못하고 있다. 대한민국 등록특허 제10-0469661호에서는 이식용 무세포 진피층의 제조법을 개발하여 SureDerm이라는 제품명으로 제조 공급함으로써, 수입되고 있는 일부 조직 수복용 생체 재료의 국산화에 성공하였다. 그러나, 인간 피부를 국내에서 확보하는 데 많은 제약이 있기 때문에 재료를 수입하여 제품을 생산하는 실정이다. 일반적으로 "Filler"로 알려져 있는 이들 제품은 동물 유래 물질과 인공 합성 물질, 인체 유래 조직 등을 원료로 제조되었는데, 대부분 사용의 편리성, 지속성 및 가격에 있어서 많은 단점을 가지고 있다.

<10> 또 다른 제품으로는 소의 콜라겐으로 만든 주사용 자이덤(Zyderm[®]), 폴리메틸-메타아크릴레이트 비드

(Polymethyl-methacrylate bead)와 콜라겐의 혼합액인 아테콜(Artecoll^R), 변형 히일루론산을 이용한 제품인 레스틸렌(Restylene^R), 알로덤(AlloDerm)을 분말 가공한 사이메트라(Cymetra^R) 등을 들 수 있다. 미국 LifeCell사의 알로덤(AlloDerm^R)은 시신으로부터 기증된 피부를 무세포 진피층(human allogenic acellular dermis)으로 가공·처리하여 이식편 또는 삽입물의 용도로 시판되고 있다. 상기 제품의 경우, 모든 세포를 제거함으로써 면역 거부 반응의 가능성을 완전히 차단하였고, 인체 조직을 그대로 이용함으로써 다른 어떤 인공 피부보다도 생체 적합성이 뛰어난 장점을 가지고 있어 국내에서도 비슷한 제품이 개발되었으나, 기증자를 구하지 못해 원료를 외국에서 수입하고 있다.

- <11> 또한, 지방조직은 비만 환자에서 제거되어 폐기되거나 일부 보관하여 사용하고 있으나, 조직 내에 특수하게 많은 지방 소적(lipid droplet) 내부의 트리아실글리세롤(triacylglycerol), 스테롤 에스터(sterol esters)와 같은 중성지질(neutral lipids) 등이 산화되거나 부분적으로 산화·가수분해되어 변질되므로 2개월 이상 보관하여 재사용하기 어렵다. 지질 산화는 고도불포화지방산의 산화에 따른 반응 생성물이 단백질 등의 아미노 화합물과 반응하여 변색, 손실 등을 일으킬 뿐만 아니라, 하이드로퍼옥사이드(hydroperoxide)나 불포화 알데히드(aldehyde) 등과 같은 독성 물질을 생성한다. 뿐만 아니라, 돼지나 소 등 인간 이외의 동물 지방조직은 사람에 비해 액체 지질의 비율이 적고(50~70%) 일부 근육(panculus muscularis)이 혼재되어 있으나, 인간의 지방조직은 진피 조직 또는 근육층과 확연히 구분되어 액체 지질의 양이 월등히 많기 때문에 인간의 지방조직을 가공하여 생체 이식 소재를 개발하기 위한 시도는 아직 없다.
- <12> 한편, 인공 기질이란 채취된 조직세포가 이식되어 3차원적인 생체 조직을 만들 수 있는 지지체를 의미하는 것으로, 담체 또는 인공 지지체(scaffold)라 불리며, 다음과 같은 조건을 충족시켜야 한다. 우선 재생하고자 하는 생체 조직의 형태를 유지하여야 하고, 배양하고자 하는 세포의 점착과 증식·분화를 효과적으로 유도하며, 높은 생체 친화성과 지지체로서의 역할을 다한 후 생체 내에서 안전하게 흡수·분해되어야 한다. 생체 조직 재생을 위한 3차원 초정밀 인공 지지체 기술 개발에는 특정 조직세포로의 효과적인 분화를 위한 조직재생용 인공 지지체 제조 기술, 생체 조직과 유사한 생체 적합성 재료 기술이 필수적이다.
- <13> 일 예로, 조직 배양에서 골과 연조직을 위한 기질에는 합성 또는 자연 인산칼슘(calcium phosphate), 폴리락타이드(poly-lactic acid) 또는 폴리글리콜산(polyglycolic acid) 등의 수많은 합성체 및 교원질, 섬유소의 자연 중합체 등이 포함된다. 조직의 재생을 용이하게 하기 위한 지지체의 제작을 위해 사용되는 재료는 정상적인 세포 성장과 기능을 위해 필요한 미세구조와 화학적 조성을 가지고 있어야 한다. 골 재생을 위해서는 비슷한 물리적, 화학적, 기계적 성질을 가지는 재료가 바람직한데, 이러한 성질들이 정상적 골 성장과 기능에 영향을 미칠 수 있기 때문이다. 최근에는 자연 중합체에 대한 연구가 많이 되고 있는데, 특히 키토산과 생약재를 이용하는 연구가 많이 이루어지고 있다.
- <14> 그러나, 생체 내에서 분해되는 조직 적합성 생체 재료의 한계와 다양한 생체 조직으로 분화·성장시킬 수 있는 조직공학 기술이 미비하기 때문에 인체 각 장기의 기능 재현에 한계가 있다. 또한, 조직 적합성 미세 분말을 3차원 세포 배양용 미세 분말로 이용하고 있으나, 세포 배양용 미세 분말로 사용되는 폴리락타이드(poly L-lactic acid, PLLA), 폴리 유산-글리콜산 공중합체(poly lactic-co-glycolic acid, PLGA) 등 생체 적합성 소재는 1g 당 50만원이 넘는 실정이고, 특히 세포 배양을 위해서는 인체 조직과 유사한 구조를 형성하여야 하는데 이를 위한 조형 정밀도에 문제가 있다.
- <15> 현재 인공지지체를 제조하기 위하여 사용되고 있는 폴리-락틱산(poly-lactic acid, PLA), 폴리-글리콜산(poly-glycolic acid, PGA) 등의 생분해성 미세 분말에서 사용되는 생체 재료는 염발포법(gas foaming/salt leaching), 고압기체팽창법(high pressure gas expansion), 유화동결건조법(emulsion freeze-drying), 염침출법(solvent-cast/particulate leaching technique), 상분리법(phase separation) 등으로 만들어진다. 그러나, 상기 제조방법은 재연성이 떨어지고, 복잡하거나 정밀한 3차원 형태의 구조로 제조하는데 있어서 한계가 있다. 또한, 다공성 구조의 제조에 있어서 공극(pore) 크기 및 공극율(porosity)을 자유롭게 조절할 수 없고, 공극간 상호연결성(interconnectivity)이 떨어져서 세포의 성장, 영양 공급, 인공 지지체 내부로의 확산 및 전달 등의 어려움이 있으며, 제조시간도 오래 걸린다.
- <16> 지방조직은 전체 부피의 98%가 액체 상태인 지질로 구성되어 있어, 보관상 또는 이식시 어려움이 있고, 세포 배양시의 변수를 모두 포함하고 있어 지방조직을 이용한 이식용 소재를 개발하려는 시도는 없었다.
- <17> 그러나, 지방조직도 지질을 제거하면서 미세 구조를 어느 정도 유지할 수 있다면 부피가 일부 보존되므로, 실제 충분한 생체 소재의 역할을 할 수 있을 것으로 생각된다. 최근 스폰지와 같은 구조에서 보다 많은 세포가 자라

고 분화되는 사실이 발표되고 있기 때문에, 실제로 생체 내 효과나 세포 배양에서는 생체에 이식되는 물질의 무게보다는 부피가 중요하다는 것을 추정할 수 있다. 따라서, 지방조직이 가공 단계에서 결체조직과 세포막의 미세구조를 유지할 수 있다면 다른 생체 조직보다 월등히 유리한 소재가 될 수 있다.

<18> 이에, 본 발명자들은 지질의 산화를 방지하고 인공지지체의 단점을 보완하며, 지방조직의 부피를 최대한 보존한 3차원 구조의 스폰지 분말을 개발하고자 예의 노력한 결과, 지방조직의 지질을 물리적인 방법으로 제거하여 건조시킨 경우 인체 부피 대체용 지지체로 주사 이식이 가능하고, 동시에 세포 배양용 지지체로 사용될 수 있다는 것을 확인하고 본 발명을 완성하게 되었다.

발명이 이루고자 하는 기술적 과제

<19> 본 발명의 주된 목적은 지질이 제거된 인체 부피 대체용 또는 세포 배양용 지지체 및 그 제조방법을 제공하는데 있다.

발명의 구성 및 작용

<20> 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 지방조직에서 지질을 제거시켜 제조된 인체 부피 대체용 또는 세포 배양용 지지체를 제공한다.

<21> 본 발명은 또한, (a) 지방조직을 분쇄한 다음, 초음파로 처리(sonication)하여 지질을 탈리시키는 단계; (b) 상기 탈리된 지질과 지질이 탈리되지 않은 지방조직을 제거하는 단계; 및 (c) 상기 지질이 제거된 지방조직을 멸균하여 지질이 제거된 지지체를 수득하는 단계를 포함하는 인체 부피 대체용 또는 세포 배양용 지지체의 제조방법을 제공한다.

<22> 본 발명에 있어서, (a) 단계는 분쇄한 지방조직을 히알루로니다아제(hyaluronidase)로 처리한 다음, 초음파 처리하는 것을 특징으로 할 수 있다.

<23> 본 발명은 또한, (a) 지방조직을 분쇄한 다음, 가압 노즐 분사를 통해 지질을 탈리시키는 단계; (b) 상기 탈리된 지질과 지질이 탈리되지 않은 지방조직을 제거하는 단계; 및 (c) 상기 지질이 제거된 지방조직을 멸균하여 지질이 제거된 지지체를 수득하는 단계를 포함하는 인체 부피 대체용 또는 세포 배양용 지지체의 제조방법을 제공한다.

<24> 본 발명에 있어서, (a) 단계는 단백질 분해 효소를 사용하지 않는 것을 특징으로 할 수 있고, (c) 단계에서 건조 과정을 추가하여 분말화하는 것을 특징으로 할 수 있으며, 상기 지질은 지방 소적(lipid droplet)인 것을 특징으로 할 수 있다.

<25> 본 발명에 있어서, (b) 단계는 여과 또는 원심분리에 의해 수행하는 것을 특징으로 할 수 있고, 상기 원심분리 후, 에탄올 세척 또는 증류수 세척을 추가하는 것을 특징으로 할 수 있으며, 멸균은 방사선 또는 E0가스를 이용하는 것을 특징으로 할 수 있다.

<26> 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

<27> 본 발명의 일 양태는 지질이 제거된 인체 부피 대체용 또는 세포 배양용 지지체 및 그 제조방법에 관한 것이다.

<28> 본 발명에 따르면, 비만 환자로부터 추출하여 폐기된 지방조직을 분쇄한 다음, 초음파로 처리(sonication)하여 지질을 탈리시켰다. 상기 탈리된 지질과 지질이 탈리되지 않은 지방조직을 필터를 이용하여 필터링하거나, 원심분리한 후, 70% 에탄올로 세척한 다음, 증류수로 세척하여 세포 내에 존재하는 트리아실글리세롤(triacylglycerol), 스테롤 에스터(sterol ester)와 같은 지질을 최대한 제거하였다. 상기 지질이 제거된 지방조직을 동결건조 또는 공기 건조(air dry)의 방법으로 건조한 다음, 방사선 또는 E0가스를 이용하여 멸균함으로써 지질이 제거된 분말을 수득하였다. 본 발명에서는 콜라게나아제, 디파아제, 트립신 등과 같은 단백질 분해 효소를 처리하지 않아 적혈구, 세포 외 매트릭스 등이 제거되지 않으므로, 부피와 3차원 구조가 유지될 수 있다(도 2). 그러나, 단백질 분해 효소 처리 시에는 인체 내에서 안정성에 문제를 일으킬 수 있으므로, 공정상의 세척과정이 더해져야 할 뿐만 아니라, 식약청으로부터 허가를 얻는데 어려움이 있다. 이에 반해, 본 발명은 인체 부피 대체용 지지체 및 세포 배양용 지지체로 이용 시 생산량과 품질 증대에 큰 이점을 줄 수 있다.

<29> 상기 초음파 분해시 세포 간의 분리를 위하여 히알루로니다아제를 넣어 초음파 분해할 수 있다.

<30> 또한, 비만 환자로부터 추출하여 폐기된 지방조직을 분쇄한 다음, 가압 노즐 분사를 통해 지질을 탈리시켰다. 상기 탈리된 지질과 지질이 탈리되지 않은 지방조직을 필터를 이용하여 필터링하거나, 원심분리한 후, 70% 에탄

올로 세척한 다음, 증류수로 세척하여 세포 내에 존재하는 트리아실글리세롤(triacylglycerol), 스테롤 에스터(sterol ester)와 같은 지질을 최대한 제거하였다. 상기 지질이 제거된 지방조직을 동결건조 또는 공기 건조(air dry)의 방법으로 건조한 다음, 방사선 또는 E0가스를 이용하여 멸균함으로써 지질이 제거된 분말을 수득하였다.

- <31> 가압 노즐 분사 후, 증류수만으로 세척하여 단백질 변성을 최소화할 수 있다. 이는 단백질 변성으로 인해 자가 조직이라 하더라도 면역 거부 반응을 일으킬 수 있다는 가정 하에 단백질의 변성을 최소화시킨 것이다.
- <32> 상기 지질이 제거된 분말을 Oil red O로 염색한 결과, 지질이 존재하지 않는 것을 확인할 수 있었다. 또한, 지질이 존재한다면, 분말화가 이루어지지 않으므로, 상기 지방조직이 분말화된 것을 지질의 존재 유무에 대한 판단 근거로 삼을 수 있다.
- <33> 본 발명에서 "인체 부피 대체용"이란 노화로 인한 주름 개선, 얼굴 윤곽선 교정 등 신체의 윤곽을 바로 잡아주기 위하여, 또는 암 절제술로 인한 결손, 창상으로 인해 함몰된 부위의 재생, 지형으로 인한 함몰 부위 등 신체 전반에 걸쳐 함몰된 부위의 재생을 위하여 지방조직을 이식하는 것을 의미한다.
- <34> 지방조직을 인체 부피 대체용 소재로 사용할 경우, 인체의 부작용을 줄이기 위해 생체 적합성 소재로 구성되어야 하고, 가능한 효소 처리 등의 화학적 처리를 제한하여야 한다. 지질을 제거할 경우, 장기 보관이 가능하고, 부피와 세포막 등의 미세구조가 그대로 유지되기 때문에 이식용 소재로 사용할 수 있다. 또한, 상기 지질이 제거된 분말은 분말의 형태로 제조되어 세포 부착 표면적을 가지고 있고, 높은 생체 친화성을 가지므로 세포 배양용 지지체로 사용될 수 있다.
- <35> 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 예시하기 위한 것으로서, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것으로 해석되지는 않는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 자명할 것이다.
- <36> 본 실시예에서는 비만 환자로부터 추출된 지방조직을 사용하였으나, 사체로부터 지방조직을 추출하여 사용할 수 있다.
- <37> 또한, 본 실시예에서는 지질이 제거된 지방조직을 건조·멸균하여 분말의 형태로 지지체를 제조하였으나, 건조하지 않고 지질이 제거된 액화 상태로도 사용할 수 있다는 것은 당업자에게 자명하다 할 것이다.

<38> **실시예 1. 지질이 제거된 분말의 제조**

<39> 실시예 1-1. 제조예 1

<40> 비만 환자로부터 추출되어 폐기된 지방조직을 분쇄한 다음, 증류수를 넣고 60~80℃, 110W에서 10분 동안 10~15회 초음파로 처리(sonication)하여 지질을 탈리시켰다. 상기 탈리된 지질과 지질이 탈리되지 않은 지방조직을 필터를 이용하여 필터링하거나, 3500rpm에서 5분간 원심분리한 후, 70% 에탄올로 세척한 다음, 증류수로 세척하였다. 상기 지질이 제거된 지방조직을 동결건조 또는 공기 건조(air dry)의 방법으로 건조한 후, 방사선을 이용하여 멸균함으로써 지질이 제거된 분말을 제조하였다.

<41> 실시예 1-2. 제조예 2

<42> 비만 환자로부터 추출되어 폐기된 지방조직을 분쇄한 다음, 증류수를 넣고 가압 노즐 분사하여 지질을 탈리시켰다. 상기 탈리된 지질과 지질이 탈리되지 않은 지방조직을 필터를 이용하여 필터링하거나, 3500rpm에서 5분간 원심분리한 후, 70% 에탄올로 세척한 다음, 증류수로 세척하였다. 상기 지질이 제거된 지방조직을 동결건조 또는 공기 건조(air dry)의 방법으로 건조한 후, 방사선을 이용하여 멸균함으로써 지질이 제거된 분말을 제조하였다.

<43> 실시예 1-3. 제조예 3

<44> 비만 환자로부터 추출되어 폐기된 지방조직을 분쇄한 다음, 증류수와 히알루로니다아제(hyaluronidase)를 1:1:0.1의 비율로 넣고 60~80℃, 110W에서 10분 동안 10~15회 초음파로 처리(sonication)하여 지질을 탈리시켰다. 상기 탈리된 지질과 지질이 탈리되지 않은 지방조직을 필터를 이용하여 필터링하거나, 3500rpm에서 5분간 원심분리한 후, 70% 에탄올로 세척한 다음, 증류수로 세척하였다. 상기 지질이 제거된 지방조직을 동결건조 또는 공기 건조(air dry)의 방법으로 건조한 후, 방사선을 이용하여 멸균함으로써 지질이 제거된 분말을 제조하였다.

- <45> 실시예 1-4. 제조예 4
- <46> 비만 환자로부터 추출되어 폐기된 지방조직을 분쇄한 다음, 증류수를 넣고 가압 노즐 분사하여 지질을 탈리시켰다. 상기 탈리된 지질과 지질이 탈리되지 않은 지방조직을 필터를 이용하여 필터링하거나, 3500rpm에서 5분간 원심분리한 후, 증류수로 세척하였다. 상기 지질이 제거된 지방조직을 동결건조 또는 공기 건조(air dry)의 방법으로 건조한 후, 방사선 또는 EO가스를 이용하여 멸균함으로써 지질이 제거된 분말을 제조하였다.
- <47> **실시예 2. 지질이 제거된 분말의 지질 염색**
- <48> 실시예 1-1에서 제조한 분말을 Oil red O로 염색하였고, 대조군으로는 상기의 방법으로 분말화 하기 전의 지방조직을 사용하였다. 그 결과, 대조군에는 지질이 존재하나(도 1), 상기 실시예 1-1의 방법으로 제조된 분말은 지질이 존재하지 않는다는 것을 확인할 수 있었다 (도 2).
- <49> 이는 상기 지질이 제거된 지방조직을 인체 부피 대체용 지지체로 사용할 수 있다는 것을 알 수 있다. 또한, 도 2에서 보는 바와 같이 미세 분말의 형태로 제조되어 세포 배양용 지지체로 사용할 수 있다.

발명의 효과

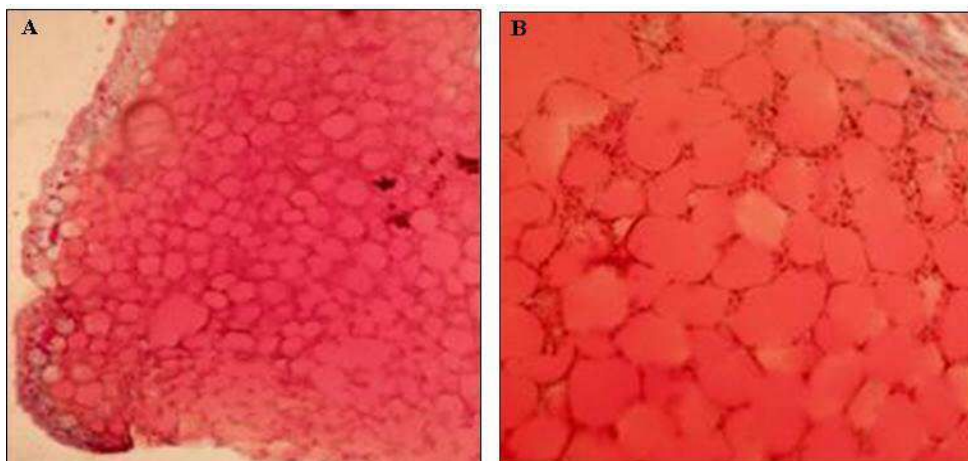
- <50> 이상 상세히 기술한 바와 같이, 본 발명은 지질이 제거된 인체 부피 대체용 또는 세포 배양용 지지체 및 그 제조방법을 제공하는 효과가 있다. 본 발명에 따른 지질이 제거된 인체 부피 대체용 또는 세포 배양용 지지체는 화학물질을 첨가하지 않고 지질을 제거할 수 있고, 지질의 제거와 건조 과정을 포함하므로 보관 기간을 증가시킬 수 있으며, 부피와 세포막 등의 미세구조를 최대한 보존할 수 있다. 또한, 폐기되는 지방조직을 재활용하여 처리 비용을 낮출 수 있고, 효소 처리 등의 화학적 처리를 거치지 않으므로 공정이 간단하다는 장점을 가지고 있으며, 분말의 형태로 제조되어 주사 이식이 가능하고, 세포 배양용 지지체로 사용될 수 있다.
- <51> 이상으로 본 발명 내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서, 이러한 구체적 기술은 단지 바람직한 실시양태일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백할 것이다. 따라서 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면의 간단한 설명

- <1> 도 1은 지방조직을 Oil red O로 염색한 결과를 나타낸 것이다 (A: 지방조직을 ×40 배율로 관찰한 것; B: 지방조직을 ×100 배율로 관찰한 것).
- <2> 도 2는 본 발명에 따른 지질이 제거된 분말을 Oil red O로 염색한 결과를 나타낸 것이다 (A: 본 발명에 따른 지질이 제거된 분말을 ×200 배율로 관찰한 것; B: 본 발명에 따른 지질이 제거된 분말을 ×400 배율로 관찰한 것).

도면

도면1



도면2

