



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0160519
(43) 공개일자 2024년11월11일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61L 27/58 (2006.01) A61L 27/18 (2006.01)
A61L 27/46 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61L 27/58 (2013.01)
A61L 27/18 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2024-0057811
(22) 출원일자 2024년04월30일
심사청구일자 2024년04월30일
(30) 우선권주장
1020230057083 2023년05월02일 대한민국(KR)

(71) 출원인
단국대학교 천안캠퍼스 산학협력단
충청남도 천안시 동남구 단대로 119, 단국대학교 천안캠퍼스내(안서동)
(72) 발명자
현정근
서울특별시 서초구 효령로72길 57 서초트라펠리스 C-404호
(74) 대리인
특허법인다울

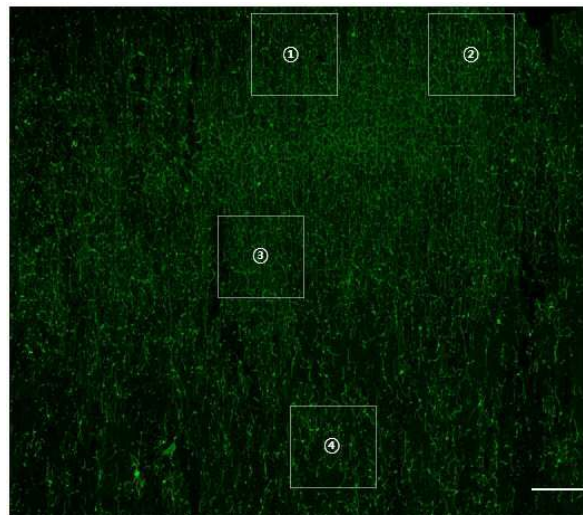
전체 청구항 수 : 총 12 항

(54) 발명의 명칭 미세채널 및 미세기공이 형성된 생분해성 신경도관 및 이의 제조방법

(57) 요약

본 발명은 스피닝 드럼을 이용하여 제조된 유리섬유다발을 유리관에 삽입하고, 유리관 내부에 생성된 유리섬유다발 사이의 공극에 친수성 용매에 용해된 소수성의 생분해성 고분자 용액을 주입함으로써 제조된 미세채널 및 기공을 가지는 생분해성 신경도관으로서, 상기 유리섬유다발 제조시의 스피닝 드럼의 선속도(v)가 35~65m/s이고, 상기 미세채널 한 개의 지름은 18~25um이며, 상기 미세채널 전체 표면적과 미세기공 전체 표면적의 비율은 1 : 33~40인 것을 특징으로 하는 생분해성 신경도관 및 이의 제조방법에 관한 것으로, 본 발명에 따른 생분해성 신경도관은 생체적합성 및 생분해성이 우수하고, 미세채널 및 미세기공이 형성되어 효과적으로 신경을 재생할 수 있다.

대표도 - 도2a



(52) CPC특허분류

- A61L 27/46 (2013.01)
- A61L 2300/604 (2013.01)
- A61L 2430/32 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711194321
과제번호	00208315
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	개인기초연구(과기정통부)
연구과제명	시냅스 활성화를 통한 척수손상의 기능회복 연구
과제수행기관명	단국대학교천안캠퍼스산학협력단
연구기간	2023.03.01 ~ 2024.02.29

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1345363068
과제번호	2019R1A6A1A11034536
부처명	교육부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	이공학학술연구기반구축
연구과제명	조직재생공학연구소
과제수행기관명	단국대학교(천안캠퍼스)
연구기간	2023.03.01 ~ 2024.02.29

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711196724
과제번호	00254156
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	(재단)범부처전주기료기기연구개발사업단
연구사업명	범부처전주기료기기연구개발(과기부)
연구과제명	척수손상 기능회복을 위한 전자약의 임상적용 기반기술 확립 및 인증
과제수행기관명	주식회사 셀리코
연구기간	2023.04.01 ~ 2023.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

스피닝 드럼을 이용하여 제조된 유리섬유다발을 유리관에 삽입하고, 유리관 내부에 생성된 유리섬유다발 사이의 공간에 친수성 유기용매에 용해된 소수성의 생분해성 고분자 용액을 주입함으로써 제조된 미세채널 및 미세기공을 가지는 생분해성 신경도관으로서,

상기 미세채널 한 개의 지름은 18~25 μm 이며,

상기 미세채널 전체 표면적과 미세기공 전체 표면적의 비율은 1 : 33~40인 것을 특징으로 하는 생분해성 신경도관.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 유리섬유다발은 외경 3 내지 5mm, 내경 0.5 내지 1.5mm의 토출구가 형성된 도가니를 이용하여 유리물을 상기 토출구에서 선속도(v)가 35~65m/s인 스피닝 드럼으로 방출시킴으로써 제조된 것을 특징으로 하는 생분해성 신경도관.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 미세채널의 개수는 신경도관 단면적당 1,600 내지 2,500 개/ mm^2 인 것을 특징으로 하는 생분해성 신경도관.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 유리섬유는 인산화무수물(P_2O_5), 생석회(CaO) 및 산화나트륨(Na_2O)으로 구성된 인산유리섬유인 것을 특징으로 하는 생분해성 신경도관.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 친수성 유기용매는 에탄올, 이소프로필 알코올, 2-피롤리돈, 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 테트라 글리콜 및 아세톤으로 구성된 군으로부터 선택되는 하나 이상인 것을 특징으로 하는 생분해성 신경도관.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 소수성 생분해성 고분자는 폴리카프로락톤, 폴리락타산, 폴리글리콜산, 폴리(락타산-글리콜산) 공중합체, 폴리(락타산-카프로락톤) 공중합체, 폴리(하이드록시부티릭산-하이드록시발러릭산) 공중합체, 폴리포스포에스터 및 폴리-L/D-락타이드(PLDLA)로 구성된 군으로부터 선택되는 하나 이상인 것을 특징으로 하는 생분해성 신경도관.

관.

청구항 7

하기 단계를 포함하는 미세채널 전체 표면적과 미세기공 전체 표면적의 비율이 1 : 33~40인 생분해성 신경도관의 제조방법:

선속도(v)가 35~65m/s인 스피닝 드럼을 이용하여 유리섬유다발을 제조하여 유리관에 삽입하는 제1 단계;

친수성 유기용매에 용해된 소수성 생분해성 고분자 용액을 제조하는 제2 단계;

상기 제1 단계의 유리관을 실린지의 입구에 실리콘 튜브가 결합된 실린지를 연결한 압력장치의 실리콘 튜브에 결합시킨 후, 제2 단계에서 제조한 고분자 용액을 유리관 방향에서 실리콘 튜브 방향으로 주입함으로써 생분해성 튜브를 제조하는 제3 단계; 및

상기 제3 단계의 생분해성 튜브를 유리관으로부터 분리한 후, 상기 생분해성 튜브 내부의 유리섬유다발 및 친수성 유기용매를 분해하는 제4 단계.

청구항 8

제7항에 있어서,

상기 제1 단계의 유리섬유다발은 외경 3 내지 5mm, 내경 0.5 내지 1.5mm의 토출구가 형성된 도가니를 이용하여 유리물을 상기 토출구에서 스피닝 드럼으로 방출시킴으로서 제조하는 것을 특징으로 하는 생분해성 신경도관의 제조방법.

청구항 9

제7항에 있어서,

상기 제4 단계는,

상기 생분해성 튜브를 와이어를 이용하여 유리관으로부터 분리하는 제4-1 단계;

상기 분리한 생분해성 튜브를 10 내지 20℃의 증류수에 침지시키는 제4-2 단계; 및

유리다발섬유 및 친수성 유기용매가 제거된 생분해성 신경도관을 수득하는 제4-3 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 생분해성 신경도관의 제조방법.

청구항 10

제7항에 있어서,

상기 유리섬유는 인산화무수물(P_2O_5), 생석회(CaO) 및 산화나트륨(Na_2O)으로 구성된 인산유리섬유인 것을 특징으로 하는 생분해성 신경도관의 제조방법.

청구항 11

제7항에 있어서,

상기 친수성 유기용매는 에탄올, 이소프로필 알코올, 2-피롤리돈, 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 테트라 글리콜 및 아세톤으로 구성된 군으로부터 선택되는 하나 이상인 것을 특징으로 하는 생분해성 신경도관의 제조방법.

청구항 12

제7항에 있어서,

상기 소수성의 생분해성 고분자는 폴리카프로락톤, 폴리락트산, 폴리글리콜산, 폴리(락틱산-글리콜산) 공중합체, 폴리(락틱산-카프로락톤) 공중합체, 폴리(하이드록시부티릭산-하이드록시발러릭산) 공중합체, 폴리포스포에스터 및 폴리-L/D-락타이드(PLDLA)로 구성된 군으로부터 선택되는 하나 이상인 것을 특징으로 하는 생분해성 신경도관의 제조방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 미세채널 및 미세기공이 형성된 생분해성 신경도관 및 이의 제조방법에 관한 것으로, 더욱 구체적으로 스피닝 드럼을 이용하여 제조된 유리섬유다발을 유리관에 삽입하고, 유리관 내부에 생성된 유리섬유다발 사이의 공극에 친수성 용매에 용해된 소수성의 생분해성 고분자 용액을 주입함으로써 제조된 미세채널 및 기공을 가지는 생분해성 신경도관으로서, 상기 미세채널 한 개의 지름은 18~25um이며, 상기 미세채널 전체 표면적과 미세기공 전체 표면적의 비율은 1 : 33~40인 것을 특징으로 하는 생분해성 신경도관 및 이의 제조방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 성숙한 뉴런(mature neuron)이 재생되지 않는 손상된 신경을 재생하는 것은 매우 어렵다. 그러나 신경 세포(뉴런)의 세포체에서 길게 뻗어 나온 가지인 축삭을 신장시킬 수 있는 적절한 환경이 제공된다면 신경기능의 회복이 가능하게 된다.

[0004] 손상된 신경을 치료하기 위해 시행되고 있는 방법으로는 환자의 신경을 전달 및 수득하여 이식하는 자가이식법 (autologous)이 있으며, 이는 절단된 신경의 양쪽을 봉합하는 방법이다. 그러나 상기와 같은 방법의 경우 손상 부위의 신경 조직과 이식되어지는 신경조직의 굵기 및 형태를 일치시키기 어렵고, 채취 가능한 신경에도 제한이 있으며, 이식 신경을 채취한 부위에서도 기능의 저하가 일어날 수 있다는 문제점이 있으므로, 이러한 문제점을 해소하기 위한 시도들이 필요하다.

[0005] 인공신경(artificial graft)인 신경도관은 자가이식법의 대체수단으로서 주목받고 있다. 신경도관은 합성재료로 구성되어 있으며, 손상된 신경부위 사이를 연결해줌으로써 신경이 재생될 수 있도록 가교(bridge) 역할을 한다. 신경도관의 이용은 신경 재생에 부정적인 영향을 미치는 반흔 조직 및 물질들의 침투를 막을 수 있고, 신경 재생을 올바른 방향으로 유도할 수 있을 뿐만 아니라 신경 자체에서 분비되는 신경 재생 촉진물질들이 도관 내에 유지시킬 수 있는 이점을 갖기 때문에 각광받고 있다.

[0006] 신경도관은 조직 거부 반응이 나타나지 않아야 하며, 신경 재생 후 별도의 제거 기술을 하지 않도록 해야 하므로, 생체적합성 및 생분해성을 가져야 한다. 신경도관의 재료로는 생체적합성이 우수한 천연 고분자 재료인 콜라겐이 가장 많이 사용된다. 그러나 콜라겐은 추출 및 보관 방법이 까다롭고 대량 생산이 어렵다는 문제점이 있고, 제작비용이 비싸 경제적인 측면에서 이용에 어려움이 있다. 신경도관은 신경도관 삽입 후 움직임에도 신경도관의 말단 부위가 안정적으로 유지될 수 있도록 적절한 신축성 및 인장강도를 가져야하지만 콜라겐의 경우에는 인장력이 약하므로 임상 사용에 한계가 있다. 또한, 생분해성을 갖는 신경도관을 제조하기 위한 신경도관의 재료로는 구조 안정성 및 우수한 인장강도를 제공할 수 있는 PLA, PLGA 등의 합성 고분자가 가장 많이 사용된다. 그러나 합성 고분자 기반 신경도관은 물성 제어가 어려우며, 지금까지 알려진 합성 고분자 기반 신경도관은 체액의 교환이 쉽게 이루어지지 않는 단점이 있다. 이외에도 신경도관은 신경 재생이 일어나는 동안 도관 내부 공간을 유지시킬 수 있는 기계적 물성을 가져야 하며, 기술 부위 주변 정상 조직이 손상되지 않는 재료이어야 하고 기술 용이성을 가져야 한다.

[0007] 한편, 종래의 신경도관은 속이 비어있는 구조를 가지고 있으며, 이를 이용하여 신경을 재생시킬 경우 신경이 방향성 없이 자라게 되어 회복이 현저히 늦어지게 되므로, 신경에게 방향성을 제공한다면 회복 속도를 향상시킬 수 있다. 또한 신경은 신경 축삭이 신장됨으로써 재생될 수 있는데, 이는 손상된 신경으로부터 분비되는 영양인

자들이 신경도관 내에서 잘 분비되고, 체액 교환이 용이한 환경을 제공한다면 신경 축삭의 성장을 촉진시킴으로써 회복 속도를 향상시킬 수 있다.

[0008] 종래에 신경이 방향성을 갖고, 체액 교환이 용이하게 이루어질 수 있도록 형성된 신경도관이 알려진 바 있다. 구체적으로, 한국등록특허 제2041231호는 신경도관 제조방법에 관한 것으로, 신경이 방향성을 갖도록 신경도관 내에 미세채널이 형성되어 있고, 체액 교환이 용이하게 이루어질 수 있도록 신경도관 내에 기공이 형성되어 있다. 그러나 종래 기술은 단순히 신경도관에 미세채널 및 기공 형성 여부만을 개시하고 있을 뿐, 신경 재생 효율에 영향을 줄 수 있는 신경도관에 형성된 미세채널 전체 표면적과 미세기공 전체 표면적 비율에 대한 구성과 적절한 지름을 갖는 미세채널을 제조하기 위한 유리섬유다발 제조 조건에 대한 구성은 전혀 개시되어 있지 않다.

[0009] 이에, 본 발명자들은 상기 종래기술들의 문제점들을 극복하기 위하여 예의 연구노력한 결과, 적절한 지름을 갖는 미세채널을 제조하기 위한 조건과 신경도관에 형성된 미세채널 전체 표면적 및 미세기공 전체 표면적의 비율을 설정함으로써 형성된 생분해성 신경도관의 경우, 신경 재생이 효과적으로 이루어질 수 있음을 확인하고, 본 발명을 완성하게 되었다.

선행기술문헌

특허문헌

[0011] (특허문헌 0001) KR 10-2041231 B1

발명의 내용

해결하려는 과제

[0012] 따라서, 본 발명의 주된 목적은 생체적합성 및 생분해성이 우수하고, 미세채널 및 미세기공이 형성되어 효과적으로 신경을 재생할 수 있는 미세채널 및 미세기공이 형성된 생분해성 신경도관을 제공하는 데 있다.

[0013] 본 발명의 다른 목적은 상기 미세채널 및 미세기공이 형성된 생분해성 신경도관을 제조하는 방법을 제공하는 데 있다.

과제의 해결 수단

[0015] 본 발명의 한 양태에 따르면, 본 발명은 스피닝 드럼을 이용하여 제조된 유리섬유다발을 유리관에 삽입하고, 유리관 내부에 생성된 유리섬유다발 사이의 공극에 친수성 용매에 용해된 소수성의 생분해성 고분자 용액을 주입함으로써 제조된 미세채널 및 미세기공을 가지는 생분해성 신경도관으로서, 상기 미세채널 한 개의 지름은 18~25 μ m이며, 상기 미세채널 전체 표면적과 미세기공 전체 표면적의 비율은 1 : 33~40인 것을 특징으로 하는 생분해성 신경도관을 제공한다.

[0016] 본 발명에 따른 용어 ‘신경도관’은 신경이 재생될 수 있도록 손상된 신경부위 사이를 연결해주는 가교(bridge) 역할을 하는 인공신경(artificial graft)으로서, 상기 신경은 중추신경 또는 말초신경일 수 있다.

[0017] 척추동물의 신경계는 뇌와 척수로 구성된 중추신경계와 그 이외의 신경계인 말초신경계로 나눌 수 있으며, 손상 이후 일부 자발적 재생이 가능한 말초신경과는 다르게 중추신경은 자발적 재생이 어려워 영구적 기능 상실이 초래된다. 그러나 말초신경도 손상이 심각할 경우에는 사회생활이 어려울 정도의 장애를 일으키게 된다. 손상된 중추신경 또는 말초신경의 재생은 신경도관을 이용함으로써 이루어질 수 있으며, 간략하게는 절단된 신경의 양쪽 끝을 신경도관에 연결하여 신경도관 내에서 한쪽의 신경에서 신경섬유가 자라나 신경이 재생된다. 그러나 신경도관을 이용한다고 해서 신경의 재생이 효율적으로 이루어지는 것은 아니다.

[0018] 따라서 본 발명자들은 신경도관의 연결만으로도 신경의 재생이 효율적으로 이루어질 수 있는 신경도관을 발명하고자 하였으며, 이하 상세히 서술할 본 발명에 따른 신경도관은 미세채널과 미세기공을 가지며, 이러한 구성을 통해 효과적으로 신경을 재생할 수 있도록 하였다.

- [0019] 본 발명에 따른 용어 ‘미세채널’은 신경도관 내부에 형성된 미세구조의 채널을 의미하는 것으로, 유리섬유다발이 분해된 공간에 형성되는 18 내지 25um 크기의 빈 공간을 말한다. 이러한 미세채널에 의해 신경의 축삭이 방향성을 갖게 됨으로써 올바른 방향으로 자랄 수 있도록 하고, 신경 재생에 부정적인 영향을 미치는 반흔 조직의 침투를 막음으로써 효율적으로 신경의 재생이 이루어질 수 있도록 한다. 상기 미세채널은 신경도관 단면적당 1,000 내지 10,000개/mm²로 형성될 수 있으며, 바람직하게는 1,600개 내지 2,500개/mm²로 형성될 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.
- [0020] 본 발명에 따른 용어 ‘미세기공’은 신경도관에 형성된 나노 사이즈의 구멍을 의미하는 것으로, 친수성 유기용매가 분해된 공간에 형성되는 1um 이하의 작은 구멍을 말한다. 이러한 미세기공에 의해 신경으로부터 분비되는 영양인자들이 신경도관 내에서 잘 분비되고, 체액 교환을 용이하게 함으로써 효율적으로 신경 재생이 이루어질 수 있도록 한다.
- [0021] 상기 미세채널과 미세기공의 형성은 간략하게는 스피닝 드럼을 이용하여 제조된 유리섬유다발이 삽입되어 형성된 유리관 내부의 공극에 친수성 유기용매에 용해된 소수성 생분해성 고분자 용액을 주입하여 튜브를 제조한 후, 튜브 내부의 유리섬유다발 및 친수성 유기용매를 분해함으로써 이루어질 수 있다.
- [0022] 특히, 미세채널이 18 내지 25um 크기로 형성되기 위해서는 유리섬유의 지름이 18 내지 25um인 것이 바람직하다. 지름이 18 내지 25um인 유리섬유를 제조하기 위해서는 유리섬유의 제조에 이용되는 스피닝 드럼의 선속도의 조절이 필수적이며, 본 발명에서는 스피닝 드럼의 선속도(v)를 25 내지 75m/s, 바람직하게는 35 내지 65m/s로 설정하여 유리섬유를 제조한다. 스피닝 드럼의 선속도가 상기 범위 미만일 경우 회전속도가 감소되어 지름이 25um을 초과한 유리섬유가 제조되고, 스피닝 드럼의 선속도가 상기 범위를 초과할 경우 회전속도가 증가되어 지름이 18um 미만인 유리섬유가 제조된다. 즉, 스피닝 드럼의 선속도가 상기 범위를 벗어날 경우 지름이 18 내지 25um의 유리섬유를 제조하는 것이 어려우므로, 스피닝 드럼의 선속도 범위의 설정은 본 발명의 신경도관을 제조함에 있어 중요한 구성 요소이다. 또한, 도가니의 토출구 사이즈도 유리섬유의 지름을 조절할 수 있는 중요한 구성요소로서 도가니의 토출구 사이즈는 외경 3 내지 5mm, 내경 0.5 내지 1.5mm인 것이 바람직하며, 토출구의 사이즈가 상기 범위보다 좁거나 넓은 경우, 18 내지 25um의 지름을 갖는 유리섬유를 제조하기 어렵다.
- [0023] 본 발명의 신경도관에 형성된 미세채널 전체 표면적과 미세기공 전체 표면적의 비율 또한 효율적으로 신경을 재생시키기 위한 중요한 구성요소 중 하나로서, 본 발명에 따른 생분해성 신경도관에 형성된 미세채널 전체 표면적과 미세기공 전체 표면적의 비율은 1: 25~50, 바람직하게는 1 : 33~40이다. 상기 미세채널 전체 표면적은 미세채널의 지름에 따라 달라질 수 있고, 미세기공 전체 표면적의 비율은 PCL-TG 용액의 농도, 즉 PCL과 TG의 w/v 비율에 따라 달라질 수 있으므로, 본 발명의 1: 25~50, 바람직하게는 1 : 33~40인 생분해성 신경도관에서 미세채널의 지름 및 PCL-TG 용액의 농도는 중요한 구성요소이다. 상기 미세기공 전체 표면적의 비율이 상기 범위 미만일 경우 신경도관의 모든 미세채널에 체액 및 신경 재생인자와 같은 물질 교환이 고루 이루어지기 어렵고, 상기 범위를 초과할 경우 미세기공으로부터 반흔 조직과 같은 물질이 침투될 가능성이 높아지므로, 결론적으로는 신경 재생이 효율적으로 이루어지기 어렵다.
- [0024] 본 발명의 미세채널 전체 표면적은 미세채널의 직경, 길이 및 개수를 통해 전체 표면적을 계산하여 도출할 수 있다. 미세기공 전체 표면적은 생분해성 신경도관의 단면을 SEM으로 관찰하여 측정된 미세기공의 크기, 길이 및 개수를 통해 전체 표면적을 계산하여 도출하거나 수는 기공률 분석 장비를 이용하여 수은 압력의 변화를 측정하고, 가해지는 압력 당 들어간 수은의 양을 통해 기공 사이즈를 계산한 후, 기공 사이즈 당 들어간 수은의 양을 통해 도출할 수 있다. 압력에 해당하는 기공 사이즈는 Washburn Equation를 통해 계산 가능하다.
- [0025] 본 발명의 일 실험예에 따르면, 미세채널의 지름 및 PCL-TG 용액의 농도를 다르게 설정하여 제조한 생분해성 신경도관의 신경 재생효과를 확인하기 위하여 신경 세포 성장을 확인한 결과, 실시예에서 제조된 신경도관 위에서 자란 피질의 뉴런은 신경도관 내부의 채널을 따라 축삭이 잘 자랐으나, 비교예 3 및 4에서 제조된 신경도관 위에서 자란 피질의 뉴런은 축삭을 잘 자라지 못하였다. 실시예에 따른 생분해성 신경도관은 영양인자들 및 체액 교환이 미세기공을 통해 용이하게 이루어져 신경 재생이 효과적으로 이루어진 것으로, 이러한 결과는 실시예에 따른 생분해성 신경도관의 미세채널 전체 표면적과 미세기공 전체 표면적의 비율은 손상된 신경으로부터 분비되는 영양인자들 및 체액 교환이 미세기공을 통해 잘 이루어지도록 함으로써 신경의 재생을 효과적으로 달성하기 위한 중요한 요소임을 보여준다.
- [0026] 본 발명에 따른 생분해성 신경도관은 1 내지 3 MPa의 인장강도를 가지며, 인장강도가 상기 범위 미만일 경우 시술 시 봉합이 어려우며, 인장강도가 상기 범위 초과할 경우 임상에 적용하기 어렵다는 문제점이 있다. 상기 본

발명에 따른 생분해성 신경도관의 인장강도는 전술한 생분해성 신경도관에 형성된 미세채널 전체 표면적과 미세기공 전체 표면적의 비율(1: 25-50, 바람직하게는 1 : 33~40)에 영향을 받을 수 있으며, 상기 미세기공 전체 표면적의 비율이 상기 범위를 초과할 경우 많은 미세기공으로 인해 인장강도가 1 MPa 미만으로 약해지는 문제가 있다.

[0027] 본 발명에 따른 생분해성 신경도관에 있어서, 상기 유리섬유는 유리섬유의 제조에 이용되는 어떠한 원료도 이용 가능하며, 바람직하게는 인산화무수물(P_2O_5), 생석회(CaO) 및 산화나트륨(Na_2O)으로 구성된 인산유리섬유이며, 이에 제한되지 않는다.

[0028] 본 발명에 따른 생분해성 신경도관에 있어서, 상기 친수성 유기용매는 물과 혼화 가능한 용매일 수 있으며, 바람직하게는 에탄올(ethanol), 이소프로필 알코올(isopropyl alcohol), N-메틸-2-피롤리돈(N-Methyl-2-pyrrolidone), 2-피롤리돈(2-pyrrolidone), 글리세롤(glycerol), 프로필렌 글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜(polyethylene glycol), 테트라글리콜(tetraglycol), 글리세롤 포르말(glycerol formal), 에틸 아세테이트(ethyl acetate), 에틸 락테이트(ethyl lactate), 디에틸 카보네이트(diethyl carbonate), 프로필렌 카보네이트(propylene carbonate), 아세톤(acetone), 메틸 에틸 케톤(methyl ethyl ketone), 디메틸 설폭사이드(dimethyl sulfoxide), 디메틸 설향(dimethyl sulfone), 테트라하이드로푸란(tetrahydrofuran), 테트라하이드로피루알 알코올(tetrahydrofurfuryl alcohol), 석시닉 에씨드 디에틸 에스테르(succinic acid diethyl ester), 트리에틸 시트레이트(triethyl citrate), 디부틸 세바케이트(dibutyl sebacate), 디메틸 아세트아미드(dimethyl acetamide), 락틱 에씨드 부틸 에스테르(lactic acid butyl ester), 프로필렌 글리콜 디아세테이트(propylene glycol diacetate), 디에틸렌 글리콜 모노 에틸 에테르(diethylene glycol mono ethyl ether) 및 이들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있으며, 더욱 바람직하게는 에탄올, 이소프로필 알코올, 2-피롤리돈, 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 테트라 글리콜 및 아세톤으로 구성된 군으로부터 선택될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0029] 본 발명에 따른 생분해성 신경도관에 있어서, 상기 소수성 생분해성 고분자는 신경도관을 생체적합성, 생분해성과 같은 특성을 갖고, 우수한 신축성 및 인장강도를 나타낼 수 있도록 제조하기 위한 고분자라면 제한 없이 사용 가능하며, 바람직하게는 폴리카프로락톤(Polycaprolactone), 폴리락트산(poly(lactic acid)), 폴리글리콜산(polyglycolic acid), 폴리(락틱산-글리콜산) 공중합체(poly(lactic-co-glycolic acid)), 폴리(락틱산-카프로락톤) 공중합체(poly(lactic-co-caprolactone)), 폴리(하이드록시부티릭산-하이드록시발러릭산) 공중합체(poly(hydroxybutyric-co-hydroxyvalerate)), 폴리포스포에스터(polyphosphoester) 및 폴리-L/D-락타이드(PLDLA)로 구성된 군으로부터 선택되는 하나 이상이나, 이에 제한되지 않는다.

[0030] 본 발명의 다른 한 양태에 따르면, 본 발명은 선속도(v)가 35~65m/s인 스피닝 드럼을 이용하여 유리섬유다발을 제조하여 유리관에 삽입하는 제1 단계, 친수성 유기용매에 용해된 소수성 생분해성 고분자 용액을 제조하는 제2 단계, 상기 제1 단계의 유리관을 실린지의 입구에 실리콘 튜브가 결합된 실린지를 연결한 압력장치의 실리콘 튜브에 결합시킨 후, 제2 단계에서 제조한 고분자 용액을 유리관 방향에서 실리콘 튜브 방향으로 주입함으로써 생분해성 튜브를 제조하는 제3 단계, 및 상기 제3 단계의 생분해성 튜브를 유리관으로부터 분리한 후, 상기 생분해성 튜브 내부의 유리섬유다발 및 친수성 유기용매를 분해하는 제4 단계를 포함하는 미세채널 전체 표면적과 미세기공 전체 표면적의 비율이 1 : 33~40인 생분해성 신경도관의 제조방법을 제공한다.

[0031] 이하, 본 발명에 따른 신경도관의 제조방법을 단계에 따라 구체적으로 설명한다.

[0032] 제1 단계는 제조된 유리섬유다발을 유리관에 삽입하는 단계로서 상기 유리섬유의 지름은 18 내지 25 μ m이고, 상기 유리섬유는 선속도(v)가 25 내지 75m/s, 바람직하게는 35 내지 65m/s인 스피닝 드럼을 이용하여 제조한다. 전술한 바와 같이, 지름이 18 내지 25 μ m인 유리섬유를 제조하기 위해서는 유리섬유의 제조에 이용되는 스피닝 드럼의 선속도의 조절이 필수적이며, 선속도는 드럼에 도포되는 유리물의 양을 조절함으로써 적정 지름을 갖는 유리섬유를 제조할 수 있으므로, 상기 선속도의 범위를 벗어날 경우 본 발명에서 구현하고자 하는 미세채널이 형성된 신경도관을 제조하는 것이 어렵다.

[0033] 상기 유리섬유는 유리섬유의 제조에 이용되는 어떠한 원료도 이용 가능하며, 바람직하게는 인산화무수물(P_2O_5), 생석회(CaO) 및 산화나트륨(Na_2O)으로 구성된 인산유리섬유이며, 이에 제한되지 않는다.

[0034] 본 발명의 생분해성 신경도관 제조방법에 있어서, 상기 유리섬유다발은 외경 3 내지 5mm, 내경 0.5 내지 1.5mm의 토출구가 형성된 백금도가니를 이용하여 유리물을 상기 토출구에서 스피닝 드럼으로 방출시켜 제조할 수 있다. 백금도가니의 토출구 사이즈 또한 유리섬유의 지름을 조절할 수 있는 중요한 구성으로서 토출구의 사이즈가

상기 범위보다 좁거나 넓을 경우, 18 내지 25um의 지름을 갖는 유리섬유를 제조하기 어렵다.

- [0035] 제2 단계는 친수성 유기용매에 용해된 소수성 생분해성 고분자 용액을 제조하는 단계로서 상기 친수성 유기용매는 물과 혼화 가능한 용매일 수 있으며, 바람직하게는 에탄올, 이소프로필 알코올, 2-피롤리돈, 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 테트라 글리콜 및 아세톤으로 구성된 군으로부터 선택될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0036] 또한, 상기 소수성 생분해성 고분자는 신경도관을 생체적합성, 생분해성과 같은 특성을 갖고, 우수한 신축성 및 인장강도를 나타낼 수 있도록 제조하기 위한 고분자라면 제한 없이 사용가능하며, 바람직하게는 폴리카프로락톤, 폴리락트산, 폴리글리콜산, 폴리(락틱산-글리콜산) 공중합체, 폴리(락틱산-카프로락톤) 공중합체, 폴리(하이드록시부티릭산-하이드록시발러릭산) 공중합체, 폴리포스포에스터 및 폴리-L/D-락타이드(PLDLA)로 구성된 군으로부터 선택될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0037] 상기 소수성 생분해성 고분자는 상기 친수성 유기용매 10 내지 40 중량/부피(w/v%) 농도로 용해될 수 있으며 (여기서, 중량/부피(w/v%)는 유기용매 100mL에 녹는 소수성 고분자의 무게(g)를 의미한다), 바람직하게는 10 내지 25 w/v%, 보다 바람직하게는 10 내지 20 w/v%, 가장 바람직하게는 15 w/v%일 수 있다. 만약 상기 농도 범위가 10 w/v% 미만일 경우, 친수성 유기용매를 많이 사용하게 되어 기공률(porosity)이 증가하는 문제가 발생할 수 있고, 상기 농도 범위가 40 w/v%를 초과하는 경우에는 미세기공 형성이 충분하게 이루어지지 않는 문제점이 발생할 수 있다.
- [0038] 제3 단계는 생분해성 튜브를 제조하는 단계로서, 본 발명에 용어 ‘생분해성 튜브’는 유리섬유다발 및 친수성 유기용매가 제거되지 않아 미세채널 및 미세기공이 형성되지 않은 소수성의 생분해성 고분자 튜브를 의미한다. 생분해성 튜브를 제조하는 단계는 유리섬유다발이 삽입된 유리관을 실린지의 입구에 실리콘 튜브가 결합된 실린지 압력장치의 실리콘 튜브에 결합시킨 다음, 제2 단계에서 제조한 고분자 용액을 유리관 방향에서 실리콘 튜브 방향으로 주입함으로써, 즉 실린지의 피스톤을 후방으로 당겨 고분자 용액을 흡입하여 고분자 용액이 유리관 방향에서 실리콘 튜브 방향으로 유입되어 유리관에 머물게 함으로써 생분해성 튜브를 제조한다. 제2 단계에서 제조한 고분자 용액은 유리관 내에 채워진 유리섬유들 사이로 침투하여 공간을 채우며, 고분자 용액의 침투는 음압 또는 양압을 사용하여 용이하게 침투 시킬 수 있다. 상기 유리관은 하부 통로와 상부 통로로 구분될 수 있으며, 하부 통로는 생분해성 고분자와 접촉하는 통로로서 상부 통로와 같거나 작은 직경을 가지며, 상부 통로는 실리콘 튜브와 결합되는 통로로서 하부 통로와 같거나 큰 직경을 가진다.
- [0039] 제4 단계는 상기 제3 단계에서 제조된 생분해성 튜브를 유리관으로부터 분리한 후, 상기 생분해성 튜브 내부의 유리섬유다발 및 친수성 유기용매를 분해하는 단계이다. 구체적으로는 생분해성 튜브를 와이어를 이용하여 유리관으로부터 분리하고, 분리한 생분해성 튜브를 5 내지 30℃, 바람직하게는 10 내지 20℃의 증류수에 3 내지 9일, 바람직하게는 5 내지 7일 동안 침지시켜 유리다발섬유 및 친수성 유기용매가 제거된 생분해성 신경도관을 수득한다. 생분해성 튜브를 침지시키는 기간이 상기 범위 미만일 경우 유리다발섬유 및 친수성 유기용매가 충분히 제거되지 않아 본 발명에서 구현하고자 하는 미세채널 및 미세기공의 형성이 이루어지기 어렵다.
- [0040] 유리다발섬유 및 친수성 유기용매가 제거되는 단계에 대하여 좀 더 상세하게 설명하면, 생분해성 튜브를 증류수에 침지시키면 유리다발섬유는 증류수에 의해 용해되는 동시에 경화되어 미세채널이 형성되고, 소수성의 생분해성 고분자가 용해된 친수성 유기용매는 물과 섞이면서 소수성의 생분해성 고분자 용액으로부터 빠져 나오게 되면서 미세기공이 형성된다.
- [0041] 본 발명에 따라 제조된 미세채널 및 미세기공이 형성된 신경도관은 사용 목적 및 용도에 따라 직경과 길이를 자유롭게 변경하여 제작할 수 있다.

발명의 효과

- [0043] 전술한 바와 같이, 본 발명에 따른 생분해성 신경도관은 미세채널이 형성되어 신경의 축삭이 올바른 방향으로 자랄 수 있도록 해줄 뿐만 아니라 신경 재생에 부정적인 영향을 미치는 반흔 조직의 침투를 막을 수 있고, 미세기공의 형성으로 체액 교환을 용이하게 함으로써 효율적으로 신경 재생이 이루어질 수 있다.
- [0044] 또한, 본 발명에 따른 생분해성 신경도관은 미세채널 전체 표면적과 미세기공 전체 표면적이 최적의 비율을 갖도록 형성되어 있어 신경 재생 효과를 향상시킬 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0046] 도 1은 본 발명의 생분해성 신경도관의 구조를 확인한 SEM 이미지이다(a; 신경도관 단면도, b; 신경도관 단면 확대도, c; 미세기공 단면도, d; 미세채널 단면도)
- 도 2는 실시예에 따른 신경도관에서 신경세포의 생존 및 부착을 확인한 결과이다.
- 도 3은 비교예 3에 따른 신경도관에서 신경세포의 생존 및 부착을 확인한 결과이다.
- 도 4는 비교예 4에 따른 신경도관에서 신경세포의 생존 및 부착을 확인한 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0047] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하기로 한다. 이들 실시예는 단지 본 발명을 예시하기 위한 것이므로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것으로 해석되지는 않는다.

[0049] 실시예: 미세채널 및 미세기공이 형성된 생분해성 신경도관의 제조

[0050] 소수성 고분자인 폴리카프로락톤(PCL)과 친수성 유기용매인 테트라글리콜(TG)(밀도: 1.09g/ml, Sigma-Aldrich, 미국)을 중량 대 용량(w/v) 비율이 15%(w/v)가 되도록 혼합한 후 120℃에서 12시간 동안 녹여 15%(w/v) PCL-TG 용액(고분자 재료)을 준비하였다.

[0051] 다음으로, 유리섬유다발을 제조하기 위하여 스피닝 방법(spinning method)을 사용하였다. 구체적으로 P₂O₅, CaO, Na₂O를 50:40:10의 몰 비율로 혼합하여 700℃에서 30분, 1100℃에서 1시간 동안 녹이고 상온에서 식힌 후, 1100℃의 오븐에 넣어 다시 녹였다. 녹인 용액을 외경 3 내지 5mm, 내경 0.5 내지 1.5mm의 토출구가 형성된 백금도가니에 주입하여 녹인 용액을 토출구에서 스피닝 드럼(spinning drum)으로 방출시켰으며, 이 때 스피닝 드럼의 선속도(v)는 35~65m/s가 되도록 조절하여 직경이 20 μm인 수용성 유리섬유(50P₂O₅-20CaO-30Na₂O in mol %)를 5000 ~ 7000 가닥 제조하였다.

[0052] 내경 1.6mm, 길이 13cm인 모세 유리관의 중앙 부위를 가열하여 병목 지점을 만들어, 불연속적인 각도로 경사진 상부 및 하부 통로를 형성하였다. 이때, 하부 통로는 상부 통로보다 작은 직경을 형성하도록 제작하였다. 이후, 상기 제조한 직경이 20 μm인 수용성 유리섬유(50P₂O₅-20CaO-30Na₂O in mol %) 5000 ~ 7000 가닥을 5 ~ 6cm 단위로 잘라 유리관의 상부 통로 내에 축방향으로 뿔뿔하게 삽입하였다.

[0053] 유리섬유가 삽입된 유리관의 상부 통로에 내경 0.8mm, 길이 15cm인 실리콘 튜브에 2-방향 밸브가 부착된 루어락(Luer lock) 주사기를 연결하여 제조한 압력 장치를 끼워 준비하였다.

[0054] 상온에서 유리관의 하부 통로가 15%(w/v) PCL-TG 용액에 잠기도록 한 후, 주사기를 이용하여 유리관 내부에 반복적으로 진공을 가해 15%(w/v) PCL-TG 용액이 유리섬유 사이의 빈틈에 완전히 침투하도록 빨아들였다.

[0055] PCL-TG 용액이 침투된 유리섬유를 직경 1.5mm 길이 15cm의 와이어(wire)를 이용하여 유리관으로부터 분리한 즉시 10~20℃의 증류수(DW)에 7일 동안 완전히 침지시켜 유리섬유 및 테트라글리콜을 모두 용해하고 유리섬유가 녹은 공간에 PCL으로 이루어지는 20 μm 크기의 미세채널이 약 5000 ~ 7000개가 형성되도록 하였다. 10~20℃의 DW 내에서 유리섬유가 용해되는 동시에, 소수성 고분자인 PCL이 물과 접촉하면서 경화되어 미세채널을 형성하였다. 또한, PCL-TG 용액이 침투된 유리섬유를 DW에 침지하는 과정에서 수산화성 용매인 TG가 물과 섞이면서 소수성 고분자, 즉 미세채널로부터 빠져나오면서 미세채널 내부에 미세기공을 형성하였다.

[0056] DW 처리를 통해 유리섬유와 TG가 제거되고, PCL으로 이루어지는 미세기공을 가지는 다공성 미세채널이 제조되었다. 제조된 신경도관을 액체 질소에 약 30초간 얼린 후 사용 목적에 맞는 크기로 절단하고 성형하였다.

[0058] 실험예 1: 신경도관의 내부 미세구조 확인

[0059] 상기 실시예에서 제조된 신경도관의 내부의 구조를 SEM(scanning electron microscopy)를 이용하여 확인하였으며, 그 결과를 도 1에 나타내었다. 도 1a는 신경도관의 단면도이고, 도 1b는 신경도관 단면 확대도이며, 도 1c

는 미세기공의 단면도이고, 도 1d는 미세채널 단면도이다.

[0060] 도 1에서 확인할 수 있듯이, 본 발명에 따른 신경도관은 미세채널이 연속되어 있으며, 미세채널 구조에 미세기공이 형성되어 있다.

[0062] **실험예 2: 생분해성 신경도관에서 미세채널 전체 표면적과 미세기공 전체 표면적의 비율 확인**

[0063] 실시예에서 제조한 생분해성 신경도관에서의 미세채널 전체 표면적과 미세기공 전체 표면적의 비율을 확인하였다. 미세채널 전체 표면적은 미세채널의 겉넓이를 계산하여 도출하였고, 미세기공의 전체 표면적은 수은 기공률 분석 장비를 이용하여 도출하였으며, 그 결과 미세채널 전체 표면적 : 미세기공 전체 표면적 비율은 1:33임을 확인하였다.

[0064] 또한, 본 발명에 따른 생분해성 신경도관은 1 내지 3 MPa의 인장강도를 가지며, 인장강도가 상기 범위 미만일 경우 시술 시 봉합이 어려우며, 인장강도가 상기 범위 초과할 경우 임상에 적용하기 어렵다는 문제점이 있다. 상기 본 발명에 따른 생분해성 신경도관의 인장강도는 전술한 생분해성 신경도관에 형성된 미세채널 전체 표면적과 미세기공 전체 표면적의 비율(1: 25~50, 바람직하게는 1 : 33~40)에 영향을 받을 수 있으며, 상기 미세기공 전체 표면적의 비율이 상기 범위를 초과할 경우 많은 미세기공으로 인해 인장강도가 1 MPa 미만으로 약해지는 문제가 있다.

[0065] 신경 재생 효율에 영향을 줄 수 있는 신경도관에 형성된 미세채널 전체 표면적과 미세기공 전체 표면적 비율에 대한 구성과 적절한 지름을 갖는 미세채널을 제조하기 위한 유리섬유다발 제조 조건에 대한 구성은 전혀 개시되어 있지 않다.

[0067] **비교예 1 내지 4: 미세채널 및 미세기공이 형성된 생분해성 신경도관의 제조**

[0068] 상기 실시예에 기재된 방법과 동일한 방법으로 신경도관을 제조하되, 하기 표 1과 같은 구성의 조건을 변경하여 생분해성 신경도관을 제조하였다.

표 1

	실시예	비교예 1	비교예 2	비교예 3	비교예 4
선속도(m/s)	40	40	40	80	20
PCL-TG 용액 (%(w/v))	15	40	10	15	15

[0070] 실시예, 비교예 3 및 4의 조건의 경우 신경도관이 제조되었으나, PCL-TG 용액이 40%(w/v)인 비교예 1의 경우 PCL solution의 점도가 너무 높아 유리섬유의 내부로 충전이 어려워 신경도관 제작이 불가능하였으며, PCL-TG 용액이 10%(w/v)인 비교예 2의 경우 유리섬유가 모두 바스라지는 문제와 온전한 형태로 섹션(section)을 해도 세포를 시딩(seeding) 하기에 적절한 채널(channel)의 형태가 보존되지 않은 문제가 발생하였다. 결과적으로 비교예 1 및 2의 조건에서는 미세채널 및 미세기공이 형성된 생분해성 신경도관의 제조가 불가능함을 확인하였다.

[0072] **실험예 3: 신경 세포성장의 측정을 위한 in vitro 실험**

[0073] 생체 외(in vitro) 실험을 위해 상기 실시예와 비교예 3 및 4에서 제조된 생분해성 신경도관을 횡단으로 자른 후 슬라이드에 길이방향으로 부착한 후 해당 절편을 D.W를 사용해서 세척하고 70% EtOH와 E.O Gas로 멸균한다. 멸균된 슬라이드에 20 µg/ml의 폴리-D-라이신(Sigma)을 얹어 4°C에서 하루동안 코팅 하였고, 이후 10 µg/ml의 라미닌(Sigma)으로 37°C 1시간 코팅하였다. 17일차 Spargue-Dawley 랫드 배아의 뇌로부터 피질(cortex)을 적출한 후 해부현미경하에서 피질을 둘러싼 막들을 제거하였다. 이 후 2.5mg/ml 농도의 파파인을 37°C 배양기에서 30분간 처리하였다. 그런 후 낮은 속도로 원심분리하여 파파인을 걷어 내고 미리 데워진 배양 배지를 넣어 잔류 파파인을 씻어내었다. 배지를 걷어 내고 새로 준비한 5ml의 배양배지를 넣고 피질 뉴런들을 조심스럽게 풀어 준 후 8*10⁵ cells/ml로 희석하여 미리 준비해두었던 라미닌/폴리-D-라이신으로 코팅된 신경도관의 절편 위에서 총 5일간 배양 하였다. 대조군의 경우 신경도관 절편이 없는 15mm 커버슬립을 동일한 방법으로 코팅한 뒤 5*10⁴ cells/ml로 희석하여 마찬가지로 5일간 배양하였다. 배양 후 24시간마다 배지를 갈아주었으며, 이후 생

분해 신경 도관이 신경세포의 생존에 주는 영향과 축삭의 방향성에 어떠한 영향을 주는지 관찰하기 위해 4% 파라포름알데하이드로 상온에서 15분간 처리하여 세포를 고정한 후 면역형광염색을 진행하였다. 1차 항체는 신경세포의 축삭 염색을 위해 Rabbit Tuj-1 단클론 항체를 사용하였고, 이를 통해 신경도관 유무에 따른 세포의 생존률과 축삭의 방향성을 공초점 현미경을 통해 관찰하였다. 실험 결과는 도 2 내지 도 4에 나타내었다.

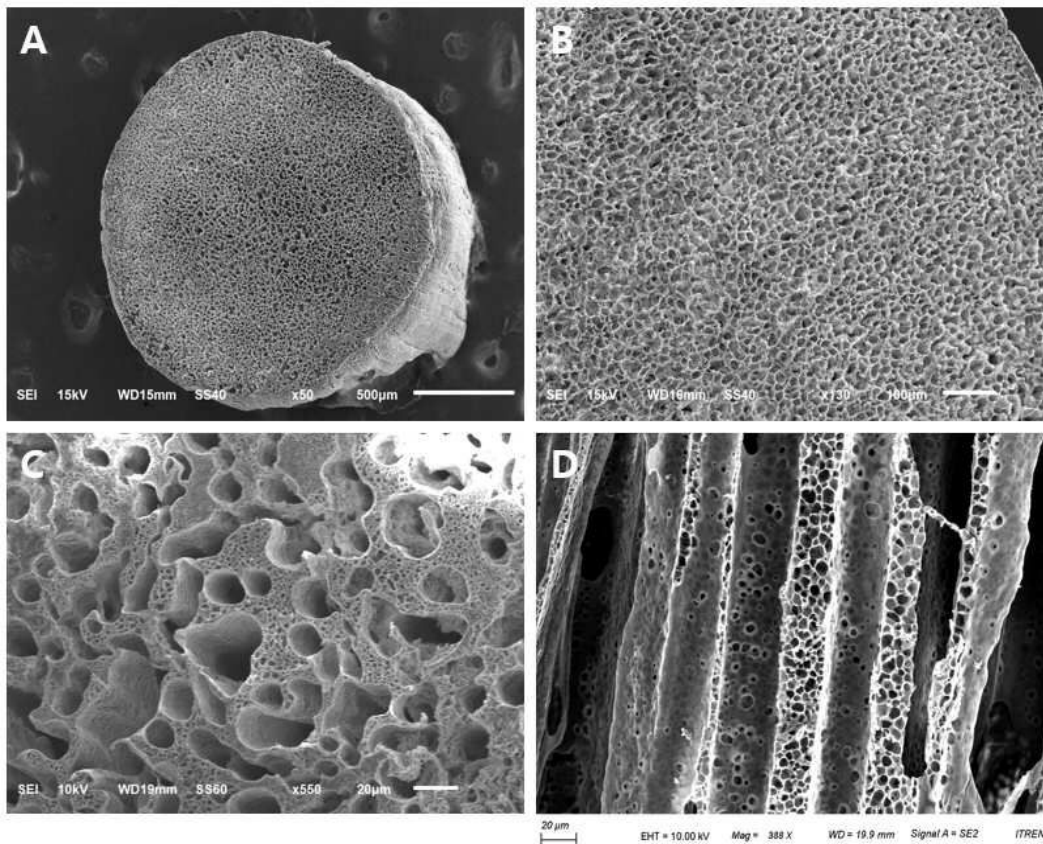
[0074] 도 2a 내지 도 2f는 선속도 40 m/s로 제조한 유리섬유를 이용하여 제작한 신경도관(실시예)에서의 신경세포 부착 및 생존과 축삭생성을 확인한 결과이다. 도 2a 및 도 2b에서 확인할 수 있듯이 실시예의 신경도관에서는 신경세포의 부착 및 생존에 이어 축삭생성(Neurite outgrowth)이 확인되었으며, 채널 사이사이에 부착된 세포가 채널을 따라 방사형이 아닌 정렬된(aligned) 형태로 자라는 것을 확인하였다. 또한, 도 2c 및 도 2d에서 확인할 수 있듯이 실시예의 신경도관에서 신경의 축삭이 방향성을 가지고 성장하는 것을 확인하였다. 더욱이, 도 2e 및 도 2f에서 확인할 수 있듯이 실시예와 비교예의 세포 생존률에는 차이가 없었으므로 실시예의 신경도관은 신경 성장에 영향을 미치지 않음을 입증하였다.

[0075] 도 3은 선속도 80 m/s로 제조한 유리섬유를 이용하여 제작한 신경도관(비교예 3)에서의 신경세포 부착 및 생존과 축삭생성을 확인한 결과이다. 도 3에서 확인할 수 있듯이 비교예 3의 신경도관에서는 신경세포의 생존을 확인할 수 없었으며, 특히 축삭생성(Neurite outgrowth)의 흔적으로 잘게 끊어진 듯한 형태의 선과 부착은 되었으나 더 성장하지 못하고 죽어가는 과정(Cell Senescence)에서의 조각난 세포와 세포 잔해(cell debris)가 다수 관찰되었다.

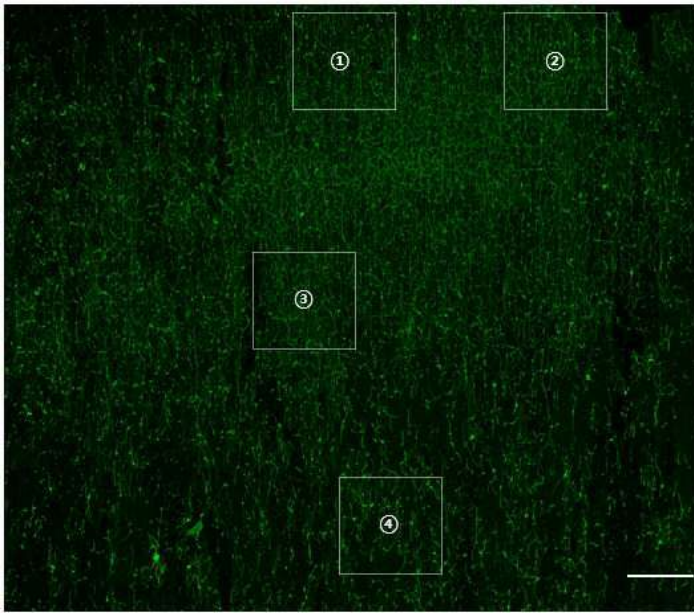
[0076] 도 4는 선속도 20 m/s로 제조한 유리섬유를 이용하여 제작한 신경도관(비교예 3)에서의 신경세포 부착 및 생존과 축삭생성을 확인한 결과이다. 도 4에서 확인할 수 있듯이 비교예 4의 신경도관에서는 신경세포의 생존을 확인할 수 없었으며, 같이 정상적인 형태로 볼 수 없는 세포 클럼프(cell clump)가 관찰되었다.

도면

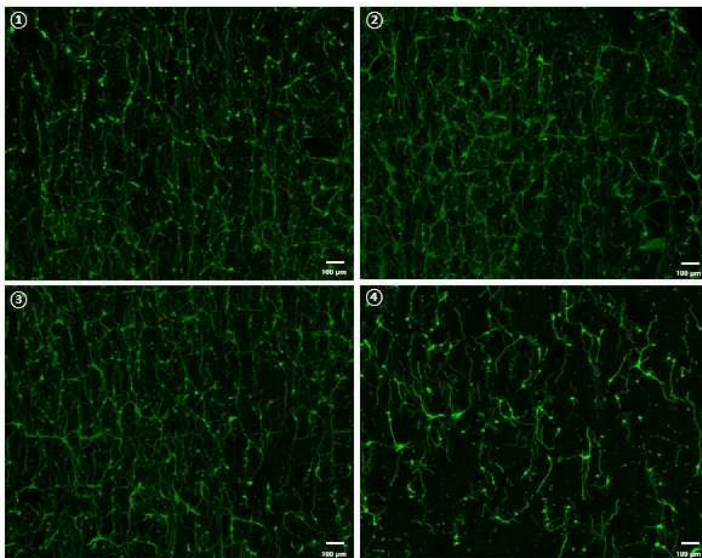
도면1



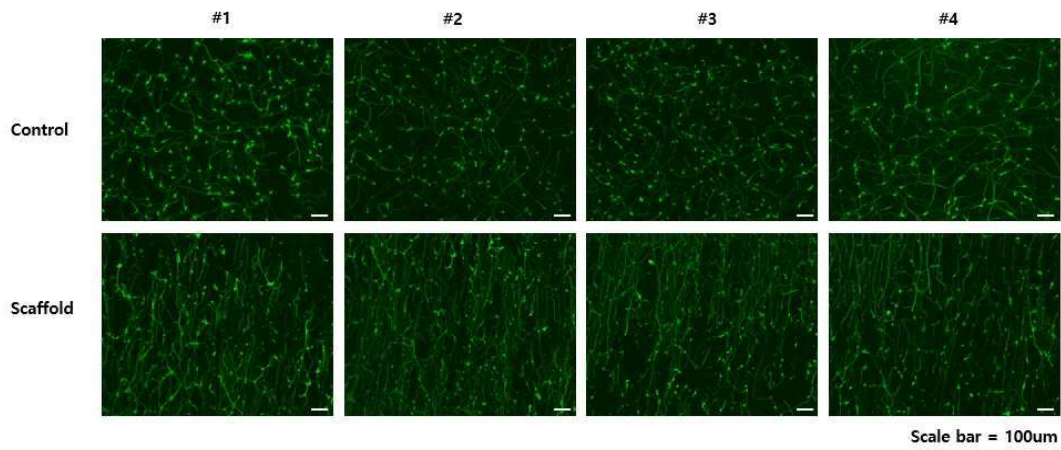
도면2a



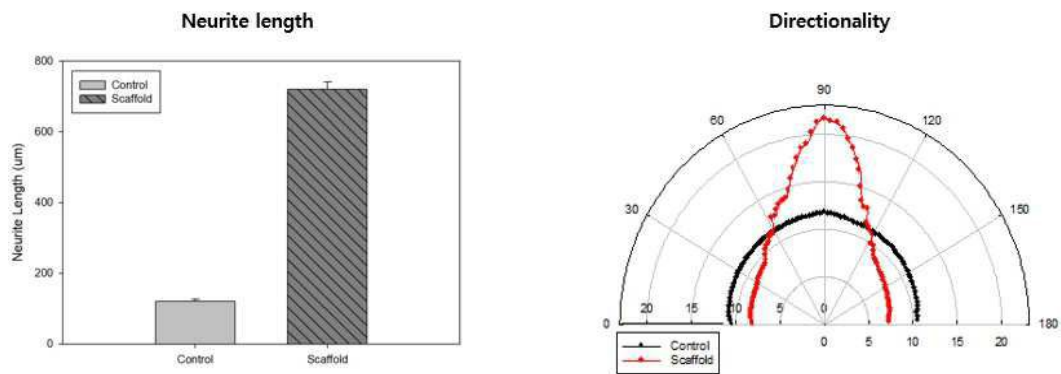
도면2b



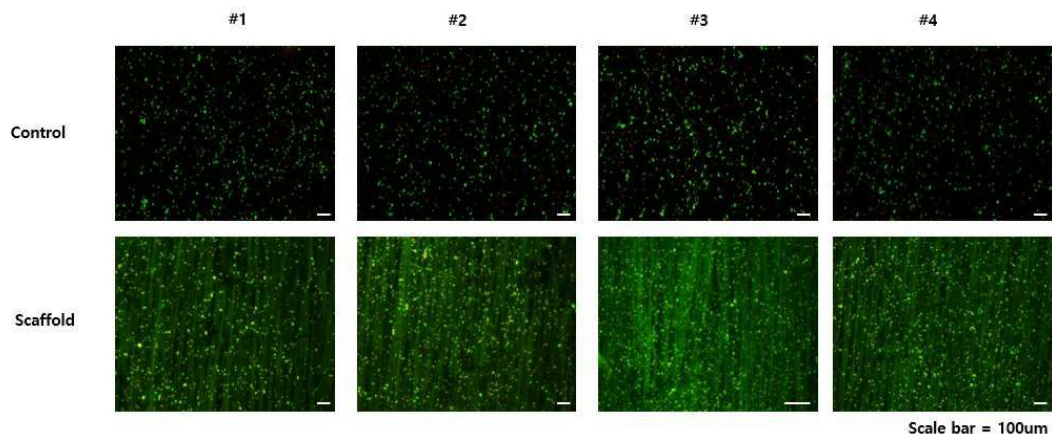
도면2c



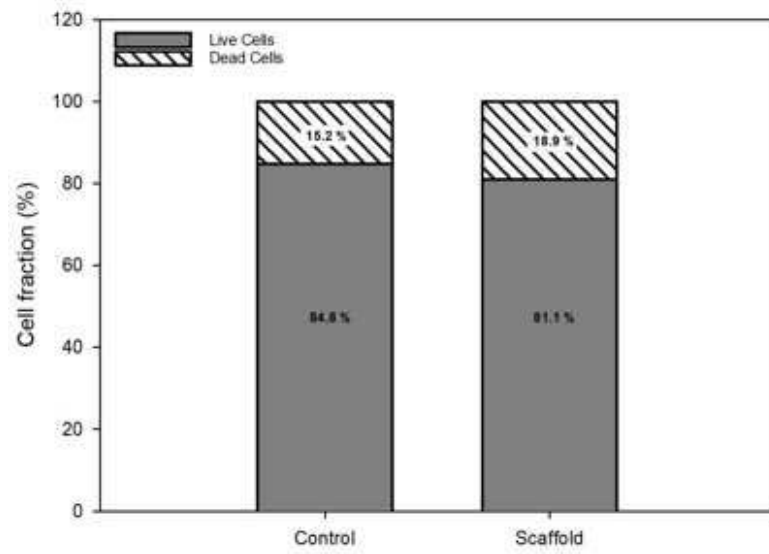
도면2d



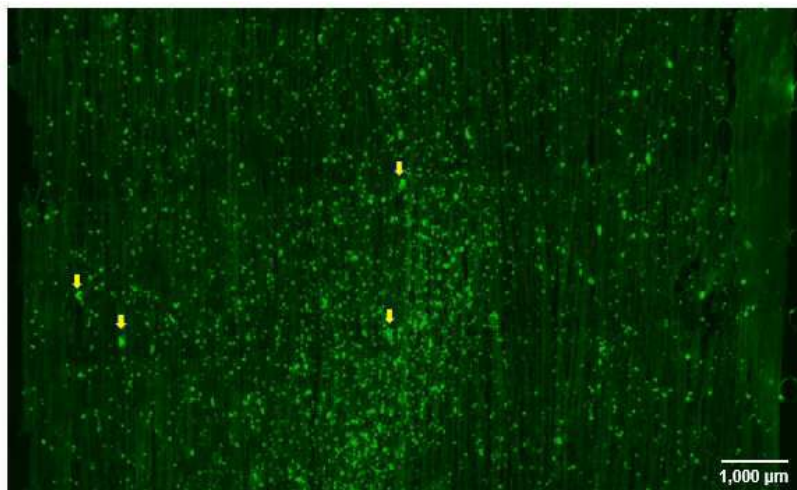
도면2e



도면2f



도면3



도면4

