

젤라틴으로부터 스폰지 형태의 인공피부의 개발

김 계 용 · 민 동 선 · 박 성 호
조 양 자* · 정 용 훈* · 김 정 목* · 정 호 삼** · 황 세 진**

한양대학교 공과대학 공업화학과 ·
*의과대학 미생물학교실 · **해부학교실
(1989년 3월 22일 접수)

Development of Sponge-like Artificial Skin from Gelatin

Kea-Yong Kim, Dong-Sun Min, Sung-Ho Park
Yang-Ja Cho,* Yong-Hoon Chung,* Jung-Mogg Kim*
Ho-Sam Chung,** and Se-Jin Hwang**

*Dept. of Industrial Chemistry, College of Eng., Hanyang University, 17, Haengdang-Dong,
Seongdong-Gu, Seoul 133-791, Korea*

**Dept. of Microbiology, **Dept. of Anatomy, College of Medicine,*

(Received March 22, 1989)

요 약 : Gelatin, poly(vinyl alcohol)과 poly(2-hydroxyethyl methacrylate)로 부터 화상치료용 인공피부를 제조하였다. 제조된 인공피부의 건조시 및 습윤시의 기계적 성질, 함수율, 수분투과도와 protease IV에 의한 생분해속도를 측정하였다. 이 인공피부를 쥐의 등부위의 피부전층 상처에 대해 피복하고 시간에 따른 상처 치유효과를 조직학적 평가에 의해 검토하였다. 인공피부의 모든 성질은 이상적인 인공피부의 성질과 유사하였다. 동물실험 결과, 상처 표면의 흉터 형성을 상당히 감소시키는 것을 보여 주었다. 또한 피복수술 10일 후의 조직사진으로부터 인공피부와 상처표면 사이에 새로운 표피조직이 형성된 것을 알 수 있었다.

Abstract : The artificial skin for wound covering materials was prepared from gelatin, poly-(vinyl alcohol) and poly(2-hydroxyethyl methacrylate). Their mechanical properties under dry and wet state, water content, permeability of water vapor and rate of *in vitro* degradation by protease IV were evaluated. This artificial skin was covered on the full-thickness skin wound on the back of rats and their effect of wound healing was investigated by histological evaluation as a function of time. All the properties of artificial skin was found to be enough for the desired properties of an ideal artificial skin. The result of animal test showed that the formation of scar on the surface was markedly minimized. Also the neoepidermal tissue was regenerated between the artificial skin and the wound surface after 10 days of grafting operation.

서 론

인간의 피부는 화상 및 외상으로 광범위하게 손실되면 과량의 체액 방출과 세균 감염 등에 의해 치명적인 결과를 초래하게 된다. 따라서 상처부위를 적절히 피복하여 치료를 촉진시키는 것이 중요하다. 이런 치료의 방법으로서 최근에는 생체적합성이 우수한 천연고분자 또는 합성고분자로부터 인공피부 혹은 상처피복 보호재를 제조하여 사용하기 위한 연구가 진행되고 있다.

인공피부를 사용하는 목적은 화상부위에서 수분이나 체액의 손실을 억제하여 심한 탈수 증세로 인한 생명의 위협과 세균감염을 방지하며 화상부위를 보호하면서 치료를 촉진시키는 데 있다. 그러므로 인공피부가 갖추어야 될 기능은 Table 1과 같이 물리화학적 및 생물학적 기능으로 나누어 진다.^{1,2}

인공피부가 화상부위와 밀착성이 좋으면 삼출액을 억제할 수 있으므로 유연성, 신축성과 흡수성을 갖는 것이 좋다. 즉 인공피부의 형태를 고무상으로 하거나 부직포, 발포체, 스폰지 형태로 함으로서 유연성과 밀착성을 부여하는 것이 좋다.

본 연구에서는 동물의 생체 구성 단백질인 collagen을 가수분해하여 얻어지는 gelatin과 poly(vinyl alcohol)(PVA)과 poly(2-hydroxyethyl methacry-

late)(PHEMA)를 기본 물질로 하여 스폰지 형태의 인공피부를 제조하였다. Gelatin은 합성고분자와는 달리 독성이 없고 생체분해성이 있으며 항원성을 억제할 수 있다.³ 또한 PVA와 PHEMA는 친수성의 합성고분자로서 좋은 생체적합성을 지니고 있어서 생의학적 연구와 신체에 적용 여부 등이 연구되어 왔다.^{4,5}

제조된 인공피부의 사용 가능성을 검토하기 위해 함수율, 기계적 성질의 변화, 수분투과성 등의 물리화학적 성질과 효소에 의한 분해성을 조사하였다.^{6,7,8,9} 또한 rat를 모델로 하여 피부전층 상처에 대한 상처치료 촉진효과, 흉터의 최소화, 거부반응 및 표피조직의 형성능을 조직학적으로 검토하였다.

실 험

시 약

Gelatin은 점도가 45~55mps(60℃, 6%)인, gel strength가 280~320g bloom(60℃, 6%)이며 pH가 4.0~5.5(1% 용액)인 제약용(원희무역상사)을 사용하였다.

PVA는 중합도가 1800이며 겹화도는 99%인 미국 DuPont Co. 제품 Elvanol 71-30을 사용하였다.

PHEMA는 일본국산화학(주) 제품인 단량체 2-hydroxyethyl methacrylate를 AIBN(azobisisobutyronitrile)을 개시제로 과산화합하여 사용하였다. 그 외의 시약은 1급 시약을 그대로 사용하였다.

인공피부의 제조

본 연구에서 합성한 GPH인공피부의 제조과정을 Fig. 1에 나타내었다. Gelatin, PVA와 PHEMA를 일정한 비율로 혼합하고 산성의 ethyl alcohol에 6%를 용해시킨 후 저온(15℃)에서 glutaraldehyde를 첨가하여 유리판 위에 도포하였다. 용매의 증발을 막기 위해 유리판 위에 덮개를 씌우고 3시간 동안 가교반응을 시킨 다음 물과의 용매 교환을

Table 1. The Ideal Properties of Artificial Skin

Physicochemical Properties	Biological Properties
Controls evaporative water loss	Controlled rate of biodegradation
Impermeability of bacteria	Non-toxic metabolites
Adherence	Non-antigenicity
Water absorption	Absent inflammatory or foreign body reaction
Handling and suturing characteristics	Synthesis of neoepldermal tissue
Availability -easy to store	Modulate contracture and scar formation
Surface energy	

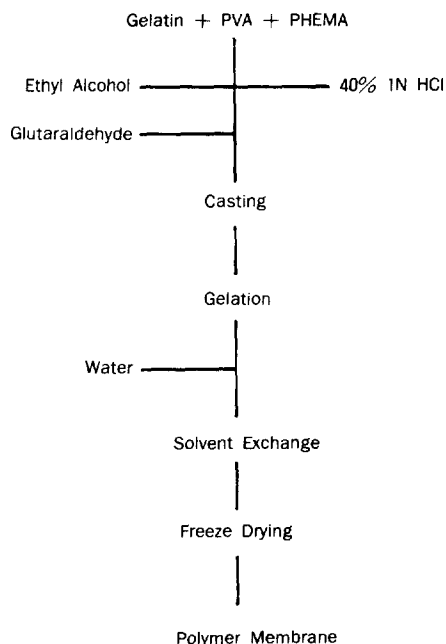


Fig. 1. Preparation of GPH and membranes.

통해 수화겔을 형성시켰다. 이 수화겔을 동결건조하여 스폰지 형태의 인공피부로 제조하였다.

함수율 및 기계적 성질의 측정

제조된 시료를 36℃ 유사체액¹⁰(PECF)에 일정시간 침지시킨 후 전보¹¹와 같은 방법으로 함수율을 계산하였다. 기계적 성질은 Japan Toyo Baldwin Ten-silon UTM-400을 사용하여 측정하였다. 수분투과도는 전보¹¹와 같은 방법으로 측정하였다.

효소에 의한 분해실험

효소로서 sigma사 제품의 protease IV를 사용하여 전보¹¹와 같은 방법으로 실험하였다.

동물실험

150~200g의 체중을 갖는 wistar rat 숫컷을 사용하였다. rat의 등부위를 탈모하고 두 곳에 피부전층을 잘라내고 미리 EO가스로 멸균한 인공피부를 상처부위에 덮고 항균제를 바르고 멸균 가아제와 탄성밴드로 감아 고정시켰다. 일정기간이 경과한 후 상처부위의 상태를 육안으로 관찰

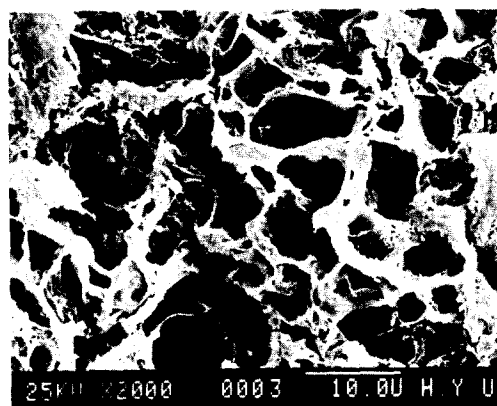
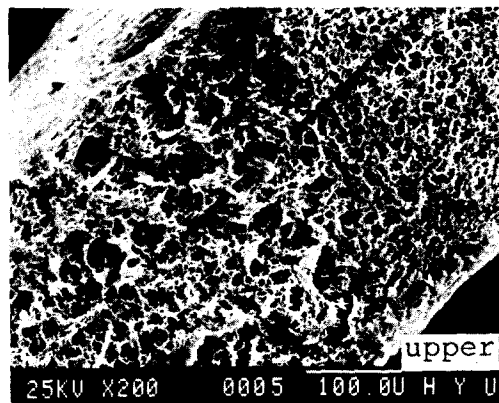


Fig. 2. Scanning electron microphotograph of cross sectional view of GPH-artificial skin.

하였으며 조직을 떼어내어 hematoxylin & eosin으로 염색하여 조직학적으로 환부의 상태를 관찰하였다. 비교용 시료로는 vaseline 가아제를 사용하였다.

결과 및 고찰

인공피부의 morphology

스폰지 구조를 갖는 인공피부의 단면 구조를 Fig. 2에 나타내었다. 위 부분은 균일막으로 되어 있으며 그 아래에 기공이 연속적으로 이어진 스폰지 구조를 형성하고 있었다.

Doillon¹²등은 collagen 스폰지를 이용하여 동

물실험을 한 결과, 기공이 연속적으로 이어진 구조일때 fibroblast가 빠른 속도로 이동하여 조직 재생을 촉진한다고 보고하였다. 따라서 본 연구에서와 같은 동결건조 방법으로 인공피부를 제조하였을 때 균일막 구조와 macroporous한 스폰지 구조의 이층 구조를 가지므로, 균일막 구조는 외부에서 세균이 침입하는 것을 방지하는 벽으로서 표피와 같이 보호 기능을 갖는다고 할 수 있으며 스폰지 구조는 초기에 삼출액을 즉시 흡수하여 상처부위와의 밀착성을 좋게함과 동시에 조직성장의 통로 역할을 하여 조직의 재생을 촉진시킬 수 있다고 생각한다.

물리화학적 성질

Table 2에는 각 시료의 혼합비율, 신장율, 함수율과 수분투과도를 나타내었다. 또 Fig. 3에는 시간에 따른 함수율의 변화를 나타내었다. Gelatin의 함량이 증가함에 따라 함수율이 증가하였고, 모든 시료들의 함수율은 10분 이내에 70~80% 이상의 값을 나타내므로 환부에서 배출되는 삼출액을 신속하고 충분하게 흡수하여 체액이 고이는 것을 방지할 수 있을 것으로 생각된다. 수분투과량은 $4000 \sim 5000 \text{ g/m}^2/\text{day}$ 로 정상 피부보다 약 10배 이상의 큰 값을 보였고, gelatin의 함량이 증가할수록 증가하였는데 이것은 함수율의 영향 때문이라고 생각된다.

인공피부의 수분투과량이 너무 작으면 삼출액이 고여 밀착성이 나빠지고 세균에 감염되기 쉬워 치유기간을 연장시키는 결과가 된다. 2°화상의 경우 수분증발량이 정상 피부의 20배 이상이므

로 본 연구에서 사용된 시료들은 어느정도 과량의 수분 증발을 방지할 수 있고 재질의 두께를 조절하여 적절한 수분투과량을 가질 수 있을 것으로 본다.

Fig. 4는 기계적성질을 알아보기 위한 건조시 및 습윤시의응력-변형 곡선을 나타낸 것이다. Gelatin의 함량이 증가함에 따라 건조시에는 인장강도가 증가하였고 신장율은 감소하였으며, 습윤시에는 건조시와 반대의 성질을 나타내었다. 또한 건조상태에서는 강직한 성질을 띠지만 습윤상태에서는 높은 신장율을 가지며 탄성체와 같은 거동을 보여주고 있었다. 따라서 이러한 신축성 때문에 굴곡진 상처부위에도 잘 밀착될 수 있을 것으로

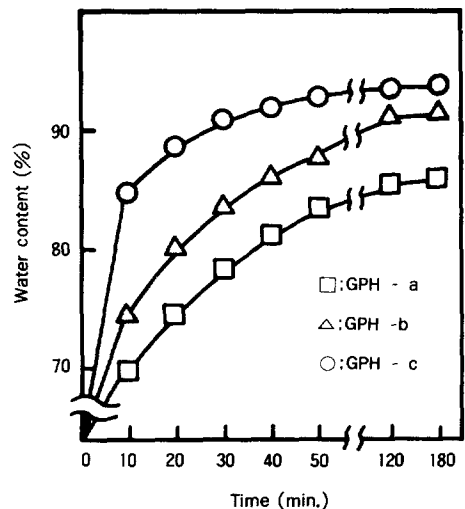


Fig. 3. Time dependence of water absorption of GPH at 36°C.

Table 2. The Physical Properties of GPH-Artificial Skin

	Gelatin	PVA	PHEMA	Elongation (%)		WC(%)	WVTR
				Dry	Wet		
GPH - a	1	3	2	16.0	255	85.1	4250
GPH - b	1.5	3	1.5	14.2	288	90.4	4420
GPH - c	2	3	1	10.5	305	93.1	4940

WC : water content

WVTR : water vapor transmittance ($\text{g/m}^2/\text{day}$).

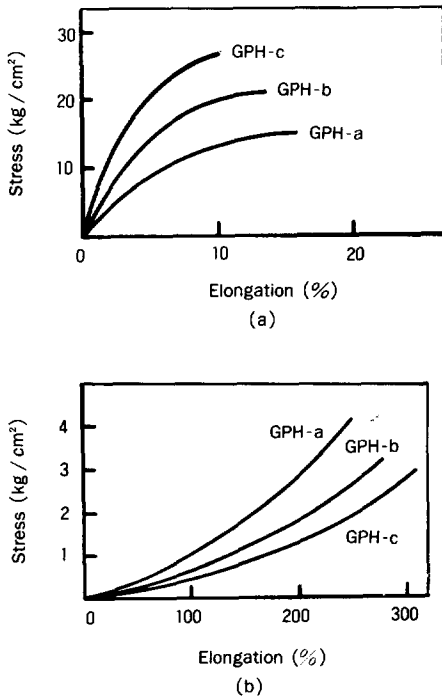


Fig. 4. Stress-strain curves of GPH : a) at dry state, b) at wet state.

기대된다.

효소에 의한 생체분해성

Fig. 5는 체액에 존재하는 단백질 분해효소 protease IV를 사용하여 시료들의 분해 정도를 측정 한 것이다.

인공피부는 적당한 분해가 일어나면서 상처부위와의 조직과 일체화되고 밀착성도 생겨야 한다. 본 연구에서 측정한 각 시료들은 gelatin의 함량이 증가함에 따라 분해속도도 빠름을 보여 주었고, 초기에는 빠른 분해속도를 보였으나 8일 이후에는 서서히 분해하여 분해속도가 둔화되었으며 20일 이후에도 형태는 계속 유지하고 있었다. 따라서 상처부위에서 적절히 분해하여 상처 치료를 촉진시킬 수 있을 것으로 생각된다.

상처치료에 대한 조직학적 평가

Rat의 등부위에 두 곳의 full-thickness skin wound를 작성하고 인공피부(GPH-C)를 덮은

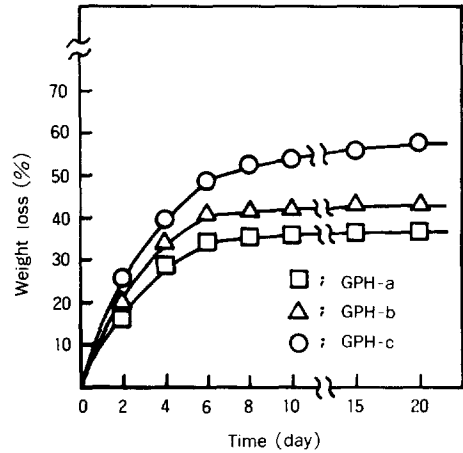
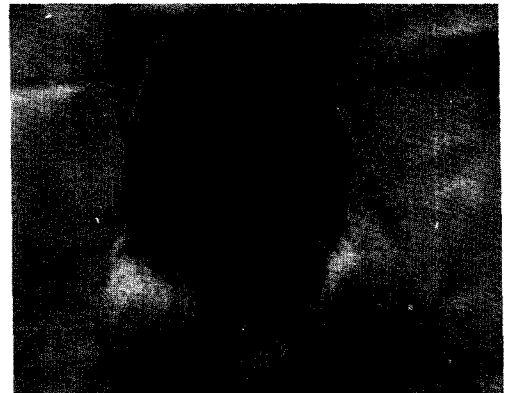


Fig. 5. Biodegradation of GPH by Protease IV at 36°C.

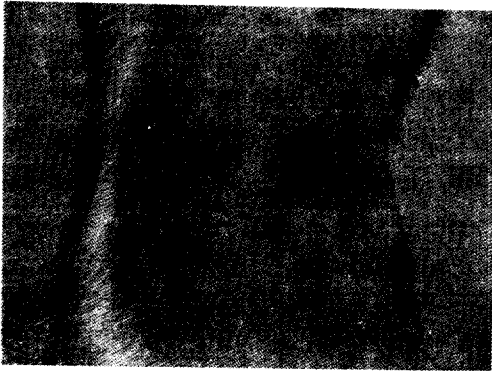


Non-covering



Covering

Fig. 6. Views of wound surface after grafting operation.



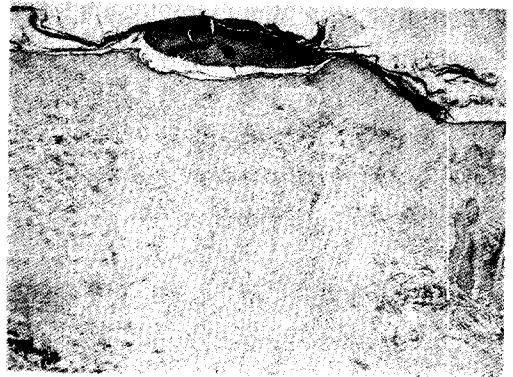
Vaseline gauze



Vaseline gauze



GPH-artificial skin



GPH-artificial skin

Fig. 7. Comparative of surface appeared by open and wound coverings on full-thickness skin wound after 3 weeks.

Fig. 8. Histologic cross section of a rat skin wound 10 days after grafting operation.

것을 Fig. 6에 나타내었다. Fig. 7에는 조직검사에 앞서 인공피부를 사용한 경우와 vaseline 가아제를 사용한 경우의 3주 경과 후의 상처부위의 사진을 나타내었다.

Vaseline 가아제를 사용한 경우 흉터가 여전히 남아 있고 상처부위가 깊이 패어있는 것을 볼 수 있으나, 인공피부를 사용한 경우에는 흉터는 거의 형성되지 않았고 주위의 발모 상태도 양호한 것을 볼 수 있었다.

Fig. 8은 10일째의 조직 사진을 나타낸 것이다. 10일째의 조직검사 결과 vaseline 가아제의 경우, 교원섬유와 fibroblast가 증식된 것을 볼 수 있었

고 급성 염증세포가 상층으로 이동 밀집되어 있었다. 반면에 인공피부를 사용한 경우는 상피층이 형성된 것이 관찰되고 급성 염증세포는 거의 나타나지 않았으며 교원섬유와 모세혈관과 fibroblast가 상당히 증식된 것을 볼 수 있었다.

결 론

본 연구에서는 고함수성 젤로 부터 동결건조법을 이용하여 균일막과 스폰지 구조로 된 특수형태의 인공피부를 제조할 수 있었다.

습윤시의 신장율이 200% 이상을 나타내므로 신

축성과 유연성이 우수하여 굴곡진 상처부위에도 잘 밀착할 것으로 본다. 함수율과 수분투과성으로 부터 상처부위의 과량의 체액 손실 및 삼출액의 고임은 방지할 수 있다고 생각된다. 또한 macroporous 한 구조로서 환부에서 배출되는 삼출액을 신속히 흡수할 수 있으며 기공들을 가짐으로 해서 조직 성장을 위한 통로 역할을 기대할 수 있었다.

동물실험 결과, 인공피부를 사용함으로써 흉터의 크기를 최소화할 수 있었으며 조직학적 평가로 부터 염증반응 및 거부반응은 인지되지 않았다. 또한 10일 경과 후의 조직 사진으로부터 신생 표피조직이 형성된 것을 볼 수 있었으며 모세혈관의 재생 및 fibroblast 증식에 의한 교원섬유의 형성도 관찰되었다. 따라서 본 연구에서 제조한 스폰지 형태의 인공피부는 우수한 상처치료 촉진효과를 갖는 것을 알 수 있었다.

본 연구는 산학재단 연구보조로 이루어졌으므로 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

1. J. F. Burke, *J. Trauma*, **23**, 543(1983).
2. Y. Fuziwara, *Kino Zairo*, **2**, 15(1982).
3. M. Sela and R. Arnon, *Biochem. J.*, **75**, 91 (1960).
4. M. Nambu, *機能材料*, 9月號, 9(1987).
5. L. d. Ikcanberry, H. K. Yasuda, and H. C. Clark, *Chem. Eng. Prog. Symp. Se.*, 69(1968).
6. 相羽誠一, *高分子論文集*, 39, 299(1982).
7. 算浦憲彦, *高分子論文集*, 42, 481(1985).
8. 富士原行彦, *技能材料*, 2(4), 15(1982).
9. Helen R. Dickinson and Hilter, *J. Biomed. Mater. Res.*, **15**, 591(1981).
10. C. A. Homsy, *J. Biomed. Mater. Res.*, **4**, 391 (1970).
11. K. Y. Kim, D. S. Min, and H. S. Chung, *Polymer (Korea)*, **12**, 236(1988).
12. C. H. Doillon and F. H. Silver, *Biomaterials*, **7**, 3(1986).