

Biomimetic material(생체 모방 재료)의 의료 디바이스에 대한 연구동향

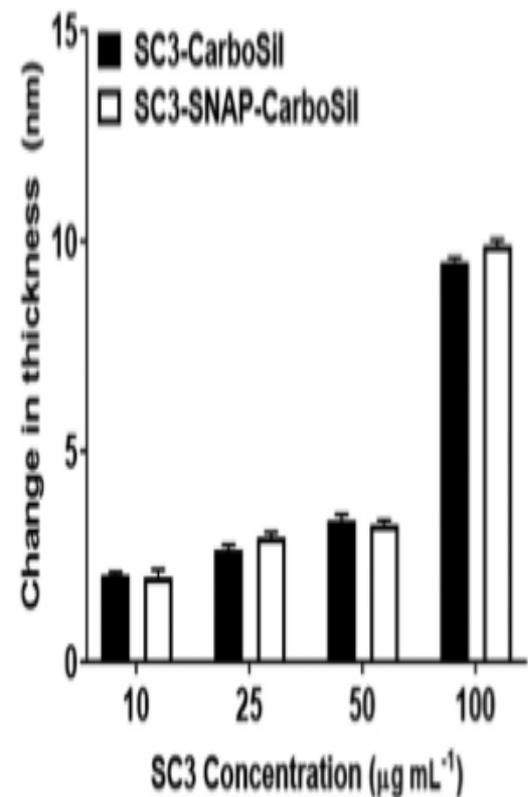
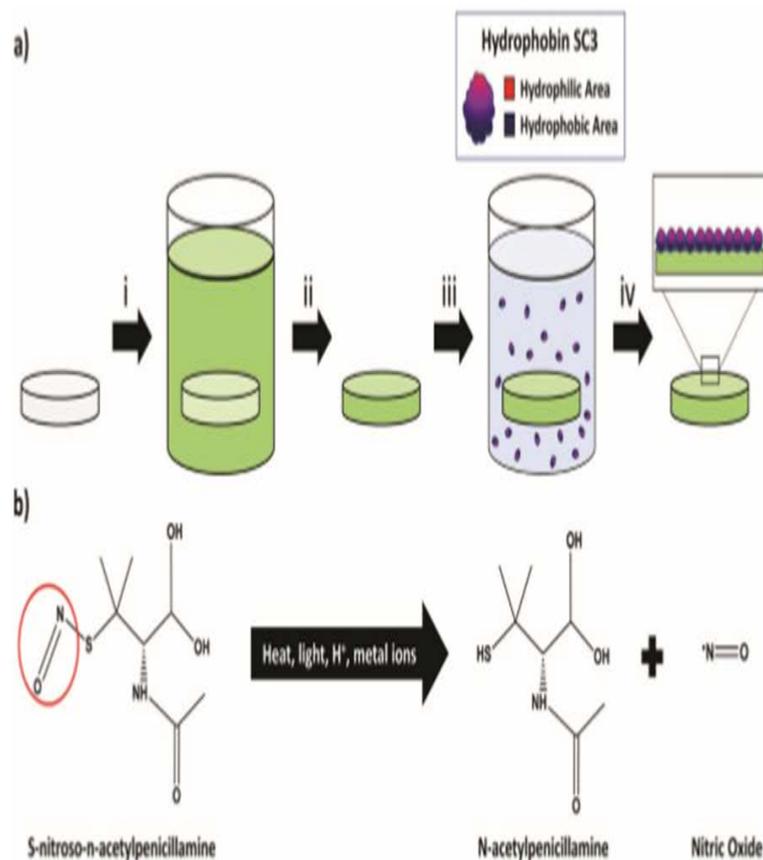
Chung-Ang University, Da Vinci College of General Education
OK JA Yoon

연구 동향

✓ Versatile biomimetic medical device surface: hydrophobin coated, nitric oxide-releasing polymer for antimicrobial and hemocompatible applications¹

- 환자의 치료를 증진하고 감염, 혈전, 디바이스에 의한 합병증이 발생 할 수 있는 bio-macromolecules에 의한 오염을 방지하기 위해 medical device의 코팅이 매우 중요함.
- 자가 조립이 가능한 양친매성 단백질인 하이드로빈 SC3 (hydrophobin SC3)는 살균 및 항 혈소판 활성을 막아주는 산화질소 (nitric oxide, NO)가 방출되는 의료용 폴리머로 코팅함으로써 오염방지 층을 형성하였고 SC3 코팅 두께는 ~ 9 nm으로 안정한 β 시트 상태의 형성을 확인하였음. SC3로 코팅된 표면의 접촉각은 코팅되지 않은 대조군 샘플보다 ~ 30 % 더 작았으며 생리학적 조건에서 1 개월 동안 유지되어 안정된 친수성 코팅 효과를 보였고 NO 방출 특성은 SC3 코팅에 의해 부작용이 없으며, SC3 코팅된 샘플은 NO 방출을 유지함을 입증함.
- SC3로 코팅되지 않은 샘플과 비교할 때, 피브리노겐 흡착은 SC3로 코팅된 샘플에서 10 배 이상 감소되었고, SC3-NO에서 부착된 박테리아 (*Staphylococcus aureus*)의 생존 세포 수는 대조군 샘플(코팅되지 않은 샘플)보다 79.097 ± 7.529 % 적었고 하이드로빈 SC3가 빠진 NO 샘플보다 49.533 ± 18.18 % 적었음.

- SC3-NO에 대한 혈소판 부착 정도는 대조군 샘플과 비교할 때 $73.407 \pm 14.59 \%$, NO 샘플과 비교할 때 53.202 ± 25.67 감소했음을 입증하였고 SC3-NO의 세포적 합성은 세포 독성 반응을 유발하지 않는 것으로 입증됨으로써 다수의 의료 기기 응용 분야에서 유리한 것으로 기대됨.



Scheme 1 a) Fabrication of SC3-SNAP-PDMS samples. (i) SNAP is swelled within PDMS using a THF solution (ii) THF is evaporated out of PDMS overnight at room conditions (iii) SNAP-PDMS is placed within a SC3 solution for 24 h at room conditions. (iv) Samples are dried and stored for testing. (b) SNAP NO-release mechanism. The SNAP nitroso group is easily broken by several catalysts to create surface NO flux.

Fig. 1 Thickness of SC3 layers after incubation in varying concentrations of SC3 for 24 hours. A thickness of 7–10 nm suggests the formation of the β -sheet state. Data shown represent mean \pm SD ($n = 3$).

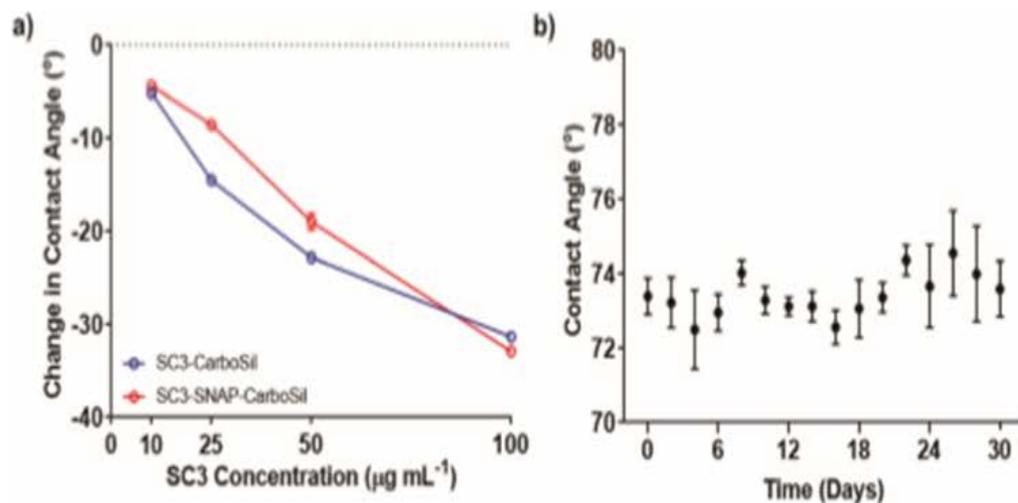


Fig. 2 Wettability after SC3 coating and storage for one month. (a) Change in contact angle after incubation in varying SC3 concentration. Data shown represent mean \pm SD (SD too small to be depicted for most data points, $n = 3$). (b) Contact angle measurements of SC3 covered surface at $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ for 1 month in physiological conditions (37°C in a humid environment). Data shown represent mean \pm SD ($n = 3$).

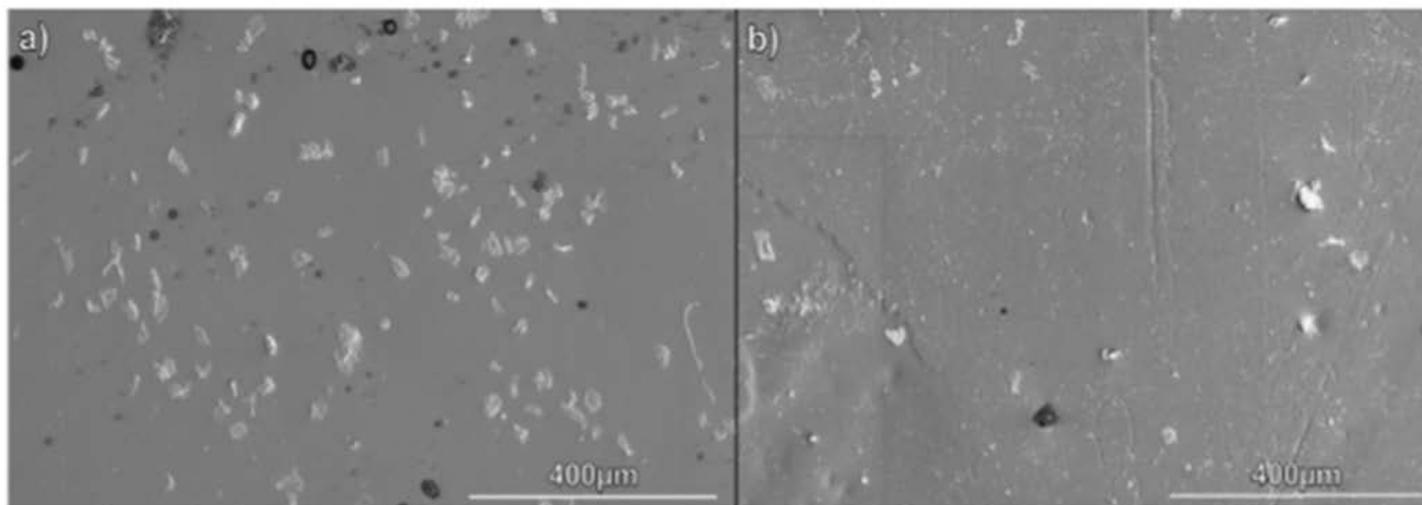


Fig. 3 SEM images to show the morphology of the SNAP-swelled PDMS surface uncoated and coated with SC3. (a) SNAP-PDMS (b) SC3-SNAP-PDMS.

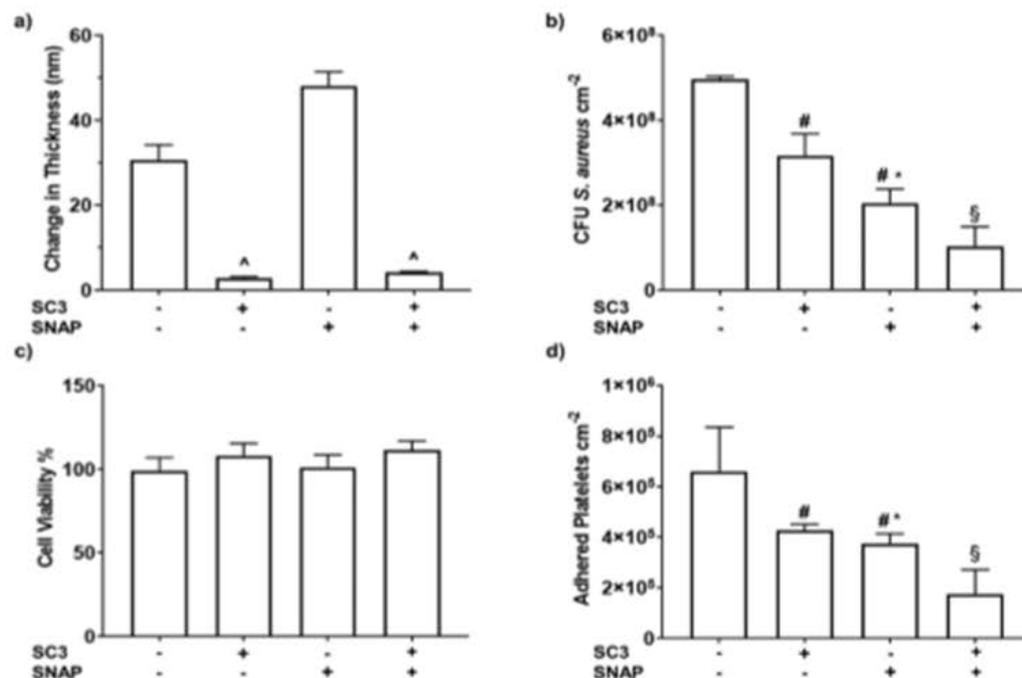


Fig. 5 Biological characterization of SC3-SNAP-PDMS samples. (a) The thickness of the EPS layer after exposure to 1 mg mL⁻¹ fibrinogen from bovine serum for 90 minutes. Data shown represent mean \pm SD ($n = 3$). (b) Antimicrobial adhesion assay conducted with *S. aureus*. Calculated as a log of the colony forming units (CFU) per cm² of surface material. Data represents mean \pm SD ($n = 5$). (c) Cytocompatibility assay exposing material leachates to mouse fibroblast cells. Reported as percent viability compared to control cells not exposed to any material leachates ($n = 6$). (d) Adhered platelet counts of samples incubated in porcine platelet-rich plasma. Data represented mean \pm SD ($n = 6$). ^ $p < 0.01$ vs. CarboSil and SNAP-CarboSil. # $p < 0.05$ vs. PDMS. * $p < 0.05$ vs. SC3-PDMS. § $p < 0.01$ vs. PDMS, SC3-PDMS, & SNAP-PDMS.

Table 1 Comparison of bacterial adhesion in terms of percentage reduction

	Reduction (%) \pm SD	p value
Control vs. SC3	36.129 \pm 8.510	0.003
Control vs. NO	58.581 \pm 5.429	1 \times 10 ⁻⁴
Control vs. SC3-NO	79.097 \pm 7.529	4 \times 10 ⁻⁶
SC3 vs. NO	35.152 \pm 8.499	0.005
SC3 vs. SC3-NO	67.273 \pm 11.79	1 \times 10 ⁻⁴
NO vs. SC3-NO	49.533 \pm 18.18	0.005

✓ Biomimetic Bioactive Biomaterials: The Next Generation of Implantable Devices²

- 의학 발전으로 수명이 길어짐에 따라 손상된 장기와 조직을 복구하고 재생시키는 기능성 치료법 개발이 중요해지고 부상과 퇴행성 질환은 전 세계적으로 이미 계속 증가되고 있어 의료 시스템의 발전이 매우 중요하며 경제적 부담이 커지고 있는 추세임.
- 자가 이식편, 동종 이식편, 그리고 이종 이식편 형태의 조직 이식편은 종종 임상 실무에서 "골드 표준"(gold standard)으로 특성화되어 있으나 불충분한 리모델링, 불완전한 안정성, 부적합한 생물학적 반응 및 불리한 면역 반응 등이 임상적 적합성에 대한 의문으로 제기되었고 이러한 문제 해결을 위한 바이오 물질 분야가 개발되었음.
- 생체 물질 기반 치료의 1 세대는 대체될 조직의 전체 구성 및 기계적 특성을 모방 하였으나, 이 접근이 천연 조직 미세 환경의 복잡성을 재현하지 못한다는 것을 알게 되어 다른 방법에서의 개발이 필요하게 됨. 생체 물질 디자인의 새로운 개발은 생체 모방의 원리에 기반을 두고 있으며 복잡한 세포 외 매트릭스 (ECM) 구성과 구조를 모방한 생체 물질, 생체 영감 (bioinspired), bioactive, 생체 모방을 공학적으로 설계하고 있음.
- ECM의 구조 및 기계적 (예 : 탄성) 기능은 세포 이동, 기능, lineage commitment , directional neo-tissue formation을 조절함에 따라서 본래 조직의 생체 물리학적 특성을 재현하는 것으로 기능적 복구 및 재생의 기본임.

- 적층 제조 (additive manufacturing), 전기 방사 (electro-spinning), 임프린팅 리소그래피 (imprinting lithography)와 같은 나노/마이크로 제조 기술은 높은 생체 모방, 재현성, 다양성으로 인해 광범위하게 사용됨. 정교한 바이오 물질 제조기술은 in vitro에서 세포 기능을 제어하는 tissue culture substrates의 개발을 가능하게 하고, surface topography와 세포 이동 사이의 상호 작용 연구를 위한 고 처리량 스크리닝 플랫폼 (high-throughput screening platforms)으로 사용될 수 있음을 보고하고 있음. 또한 이러한 기술은 기존에 보고된 2차원 배양 시스템보다 더 높은 수준의 정확도와 생물학적, 생리학적 및 병리 생리학적 과정을 연구하기 위한 미세 유체 장치나 in vitro 모델 개발에 용이한 기술임.
- 이러한 기술은 원래 ECM supra-molecular assemblies 구조적 특징을 나노 미터 수준까지 밀접하게 모방하여 임플란트가 가능한 장치의 개발을 가능하게 했으며 수많은 전임상 모델에서 기능적 복구 및 재생을 촉진하는 것으로 보고됨.
- 조직 재생은 다양한 생화학 및 생물학적 신호가 복잡한 공간 프로세스이므로 스캐폴드가 기능적 재생을 자극하고 촉진하기 위해 다양한 세포, 생물 활성 분자 등의 전달 능력을 제어하고 국소화하는 것이 중요함.
- 따라서, 천연 및 합성 생체 모방, 생체 영감, 생체 활성, 생체 재료, 세포 기능 조절, 다양한 치료제를 국소적이고 지속적인 방식으로 전달할 수 있는 나노/마이크로 스캐폴드의 능력에 대한 논의 및 개발을 진행하고 있으며, 앞으로 이러한 기술들이 임상 중개 (clinical translation) 및 상용화에 도달 할 것으로 예상함.

✓ Development and performance of a biomimetic artificial perilymph for *in vitro* testing of medical devices³

- 달팽이관 임플란트는 외 림프액 (perilymph)이라고 하는 달팽이관의 유체와 인터페이스해야 함. 인간 및 동물 모델 달팽이관에 존재하는 이 유체의 부피는 매우 작고 단백질 흡착의 관점에서 이 유체의 복잡성을 반영하는 인공 외 림프액이 필요함. 이 연구는 인간의 외 림프액의 주 성분인 혈청 알부민 (serum albumin), 면역 글로불린 G (immunoglobulin G), 트랜스페린 (transferrin), 알파-트립신 억제제 (inter-alpha-trypsin inhibitor), 아포지 단백질 A1 (apolipoprotein A1) 및 보체 C3 (complement C3)을 포함하는 생체 모방 인공 외 림프액 (biomimetic artificial perilymph, BAP)을 만들어 보고함.
- 백금에 대한 BAP의 흡착을 분석한 결과 이 6 가지 성분으로 이루어진 BAP는 생물학적으로 유도된 복합 유체와 일치하는 복잡한 흡착 거동을 입증하였고 백금 달팽이관 전극에 대한 BAP의 흡착은 생체 내에서 달팽이관 장치에서 관찰된 것과 일치하는 분극 임피던스의 변화를 확인함으로써 생물학적 환경과 인터페이스하는 전기 활성 장치의 임플란트 환경에 대한 이해를 증진시켜 적합한 BAP 유체 개발을 입증함.

Table 1. Composition of BAP ordered by abundance of functional class identified from mass spectrometry analysis of human perilymph, [4] John Wiley & Sons. © 1996, CCC Republication.

Functional class	Proportion from spectral analysis (%) [2]	Representative protein	Abbreviation	Concentration in BAP (mg ml ⁻¹)
Albumins	40.3	Albumin	B	1.03–1.57
Immunoglobulins	14.5	Immunoglobulin G	G	0.29
Glycoproteins	11.4	Transferrin	T	0.23
Protease inhibitors	11.2	Inter- α -trypsin inhibitor	I	0.22
Apolipoproteins	8.8	Apolipoprotein A1	A	0.18
Complements	5.9	Complement C3	C	0.12
Enzymes	5.1	—	—	—
Ungrouped	2.8	—	—	—

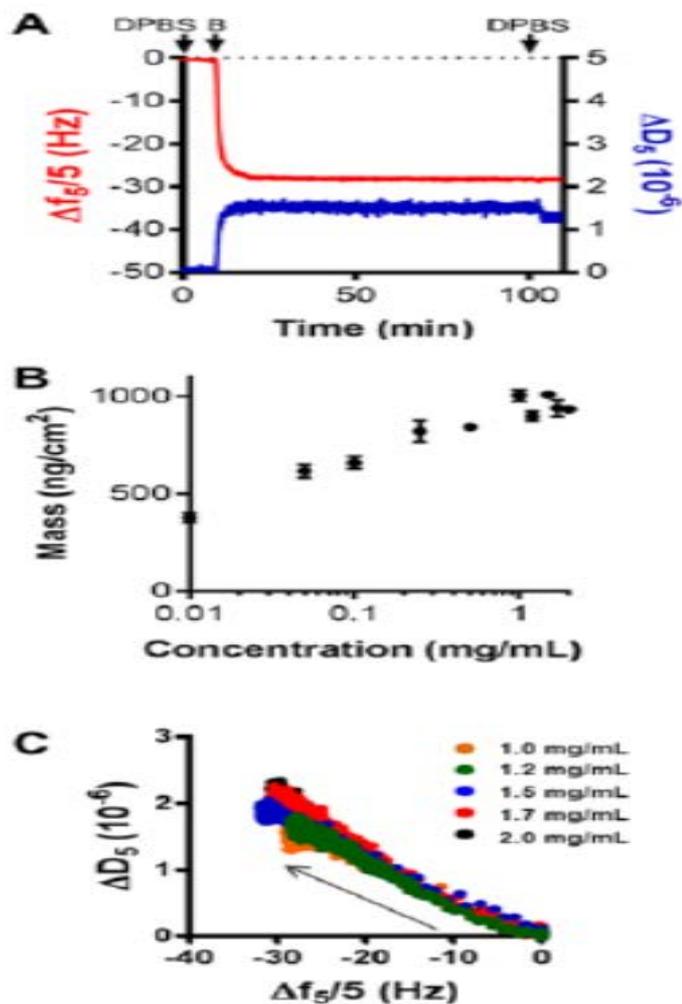


Figure 1. (A) Sample adsorption curve of B binding to platinum displayed as changes in frequency (Δf) and dissipation (ΔD) versus time. (B) Was exposed to the surface for 1 h. The vertical arrows indicate the addition of DPBS or B. (B) Mass adsorption of (B) onto platinum when exposed in the concentration range of 0.01–2 mg ml^{-1} for 1 h as determined by Voigt modelling. Error bars represent SEM ($n = 3$). (C) Df plots (25 MHz) for B exposed to platinum over the concentration range of 1–2 mg ml^{-1} for 1 h. The arrows indicate the time course of the data points.

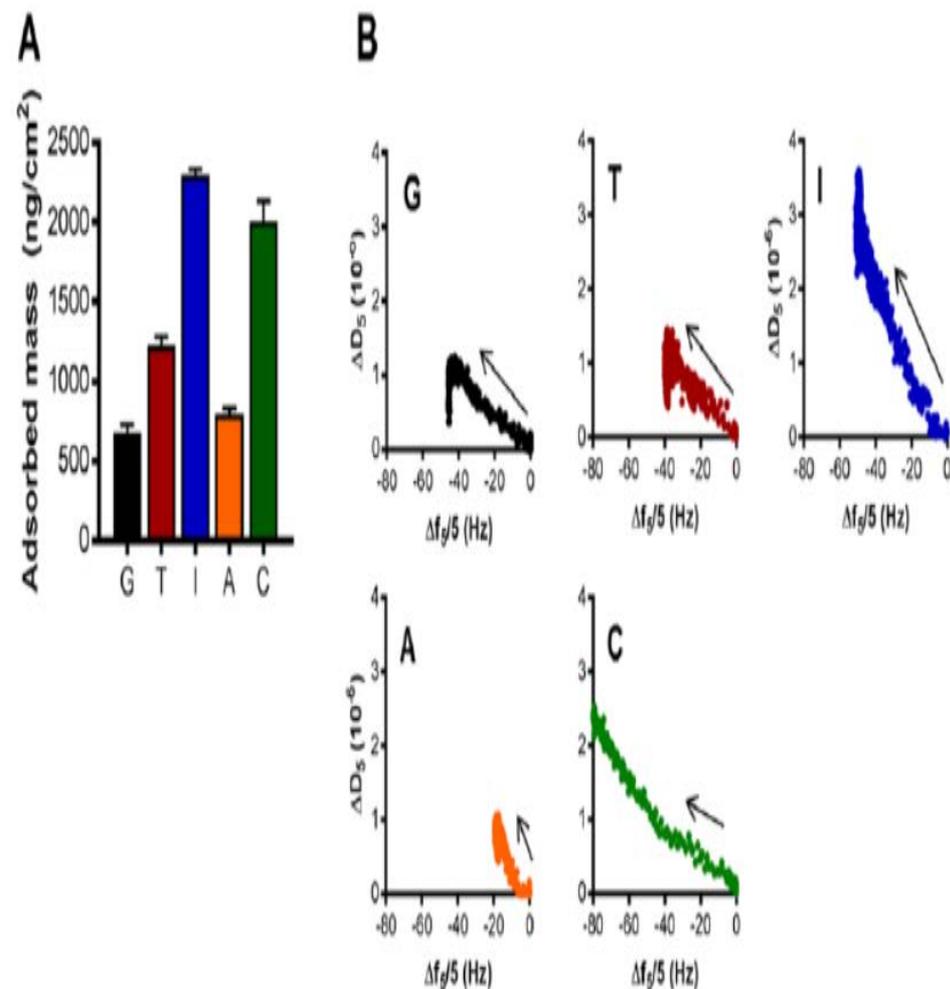


Figure 2. (A) Mass adsorption of single BAP components (excluding (B)) onto platinum when exposed for 1 h as determined by Voigt modelling. Error bars represent SEM ($n = 3$). (B) Df plots (25 MHz) for single BAP components exposed to platinum for 1 h. The arrows indicate the time course of the data points.

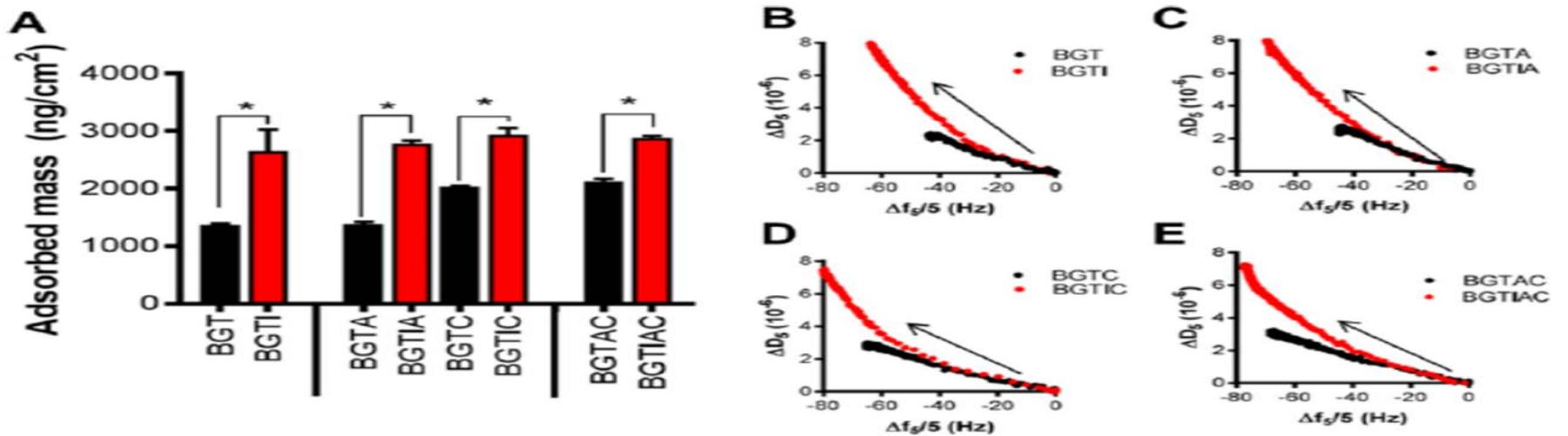


Figure 4. (A) The mass adsorbed on platinum from three to six component BAP mixtures determined by QCM-D after 1 h of incubation investigating the effect of the inclusion of I. Error bars represent SEM ($n = 3$). * Indicates significant difference with $p \leq 0.05$. (B)–(E) D_f plots for three to six component BAP mixtures exposed to platinum for 1 h. The arrows indicate the time course of the data points.

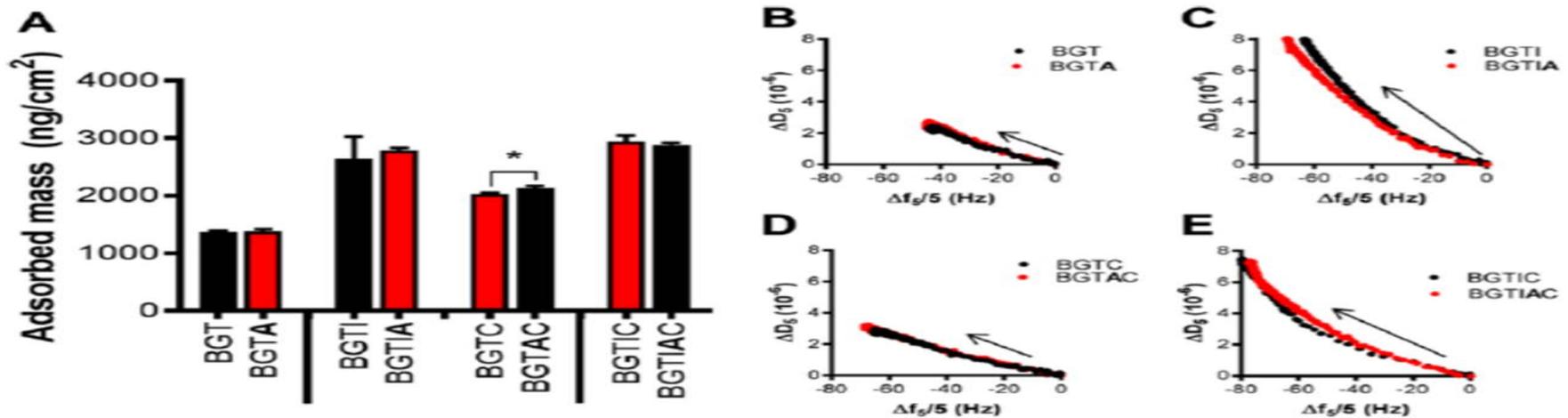


Figure 5. (A) The mass adsorbed on platinum from three to six component BAP determined by QCM-D after 1 h of incubation investigating the effect of the inclusion of (A). Error bars represent SEM ($n = 3$). * Indicates significant difference with $p \leq 0.05$. (B)–(D) D_f plots for three to six component BAP mixtures exposed to platinum for 1 h. The arrows indicate the time course of the data points.

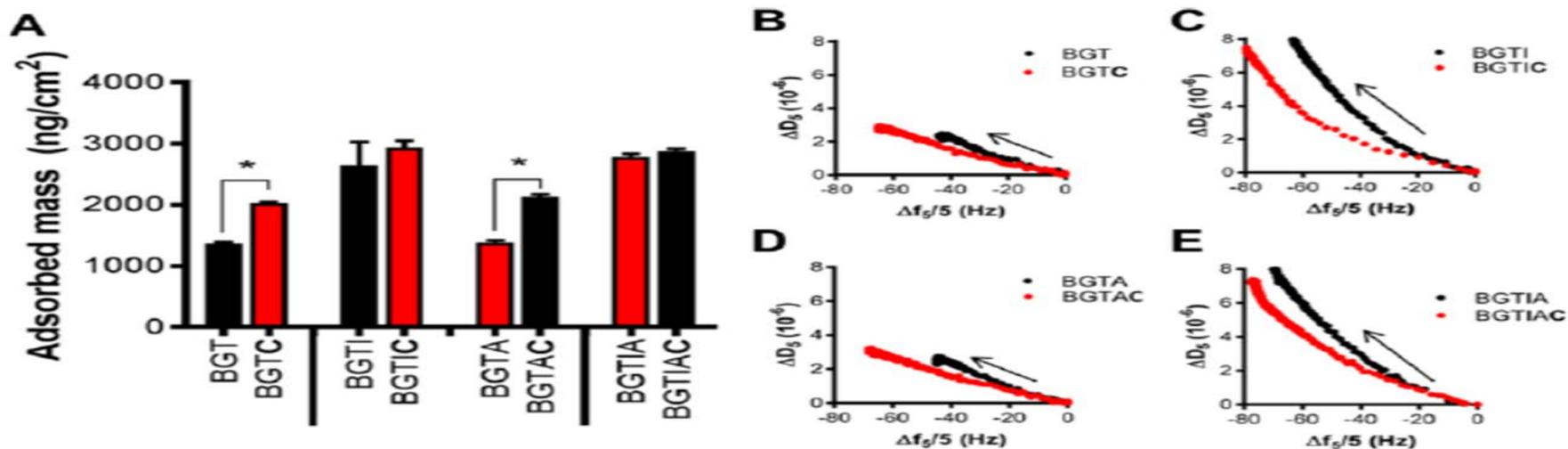


Figure 6. (A) The mass adsorbed on platinum from three to six component BAP determined by QCM-D after 1 h of incubation investigating the effect of the inclusion of (C). Error bars represent SEM ($n = 3$). * Indicates significant difference with $p \leq 0.05$. (B) D_f plots for three to six component BAP mixtures exposed to platinum for 1 h. The arrows indicate the time course of the data points.

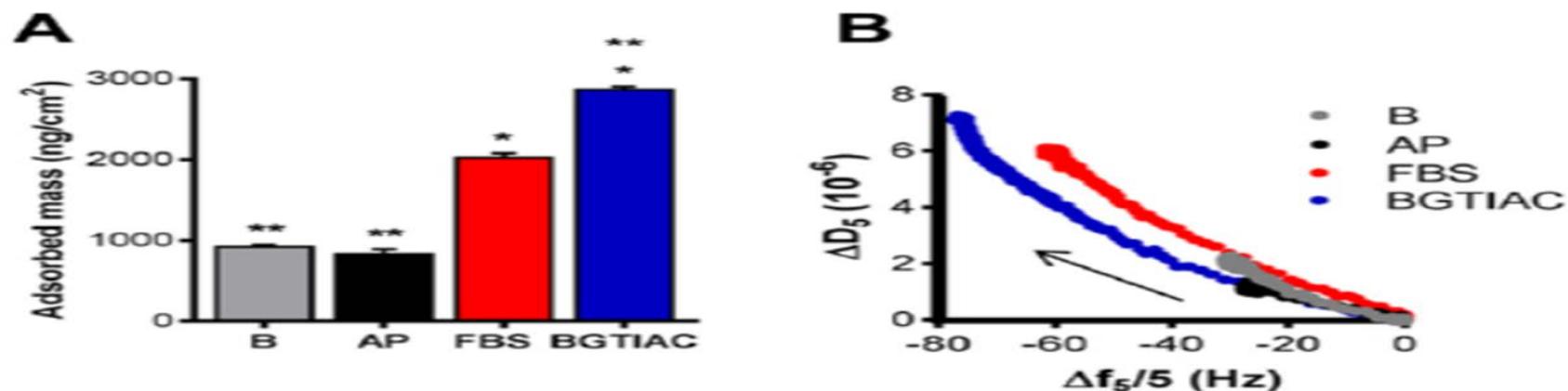


Figure 7. (A) The mass adsorbed on platinum from B, AP, FBS and the six component BAP determined by QCM-D after 1 h of incubation. Error bars represent SEM ($n = 3$). * Indicates significant difference with $p \leq 0.05$ compared to AP and ** indicated significant difference with $p \leq 0.05$ compared to FBS. (B) D_f plots for B, AP, FBS and the six component BAP exposed to platinum for 1 h. The arrow indicates the time course of the data points.

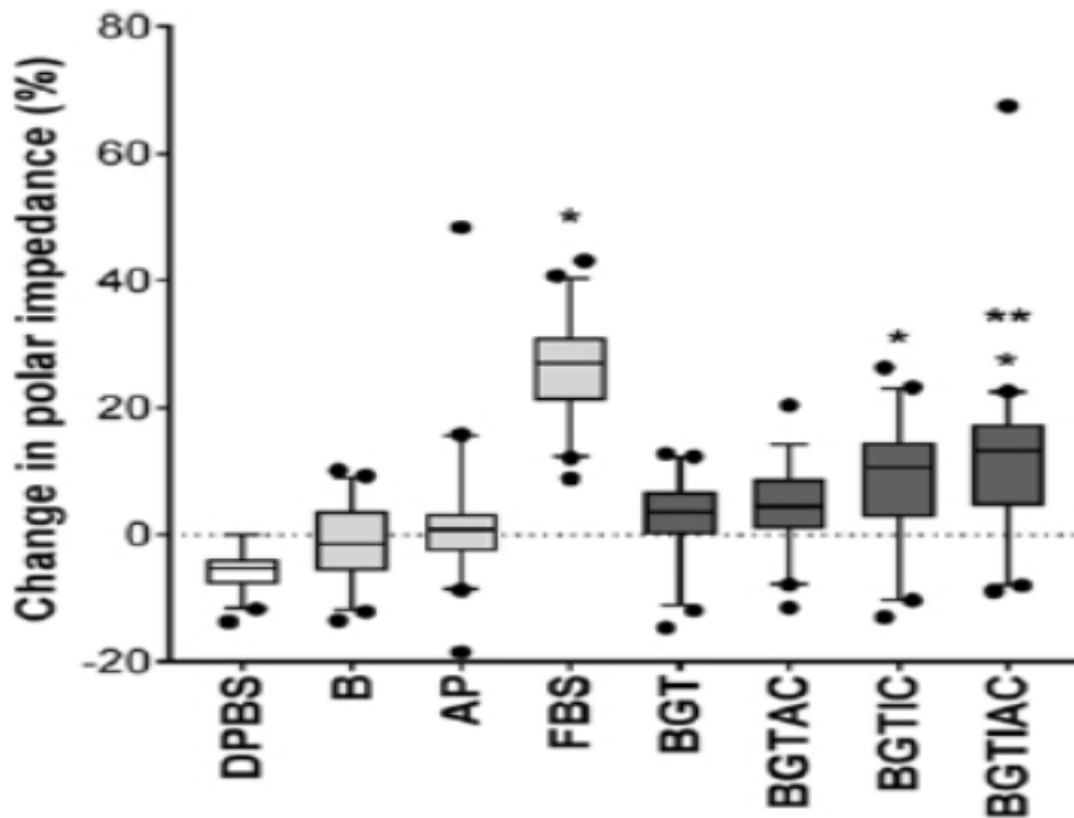


Figure 8. Change in polar impedance of cochlear implant electrodes due to protein adsorption. Electrodes were stimulated with a current amplitude of $150 \mu\text{A}$, a phase length of $200 \mu\text{s}$ and inter-stimulus delay of 5 ms. Data presented with whiskers indicating the 5–95 percentile and individual dots are outliers. * Indicates significant difference with $p \leq 0.05$ compared to AP and ** indicates significant difference with $p \leq 0.05$ compared to both BGT and BGTAC. All protein containing mixtures significantly increased the polar impedance compared to PBS with $p \leq 0.05$.

✓ Biomimetic Inks Based on Cellulose Nanofibrils and Cross-Linkable Xylans for 3D Printing⁴

- 의류, 가구, 전자 제품, 건강 관리 제품과 같은 다양한 응용 분야에서 개발되고 있는 3D 프린트를 이용하여 맞춤형 디자인과 다양한 젤 특성을 가진 지속 가능한 올 우드 기반 잉크 개발을 제시하고 있음.
- 물질이 액체 형태로 분배되는 3D 프린팅 기술에 사용되는 잉크로 셀룰로오스 나노피브릴 (CNF)이 적합한 것으로 입증되어 있어 이 보고서는 식물 세포벽에서 발견되는 셀룰로오스의 구조적 특성과 헤미 셀룰로오스의 가교 기능에 대해서 생체 모방적으로 접근하여 새로운 잉크 개발을 보고하고 있음.
- 잉크의 안정성 때문에 가교특성 (cross-linking properties)이 매우 중요하므로, CNF를 가문비 나무로부터 추출한 헤미셀룰로오스인 자일란 (xylan)과 혼합하여 프린트 잉크를 개발함. 자일란이 가교될 수 있도록 하기 위해, 다른 조건하에서 티라민으로 기능화하여 잉크 안정성을 확인하였는데 자일란-티라민과 CNFs의 비율에 따라 인쇄성, 가교 밀도에 영향을 미치는 것을 확인함.
- CNF 분산액에 자일란-티라민을 복합화한 잉크는 3D 프린팅 후 가교되어 독립형 겔 (freestanding gel)을 형성하는 동시에 CNF의 우수한 프린팅 특성이 그대로 유지되는 올 우드 기반 잉크 (all-wood-based inks)임을 확인함.

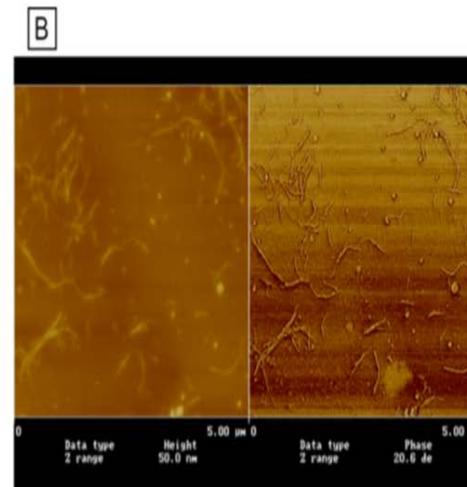
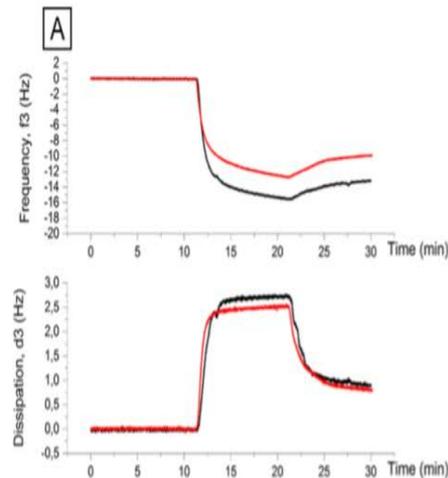


Figure 3. (A) Change in frequency (top) and dissipation (bottom) as a function of time for adsorption of xylan (black) and XT (red) on cellulose model surfaces. The rinsing step with Milli-Q water is seen at 22 min. Measurements were conducted at 296 K. Results are shown for the third overtone of quartz crystal resonance frequency. (B) AFM images showing CNFs and XT of Ink19c (diluted to 10 ppm CNF) on mica after drying. Left: topographical image and right: phase-contrast image.

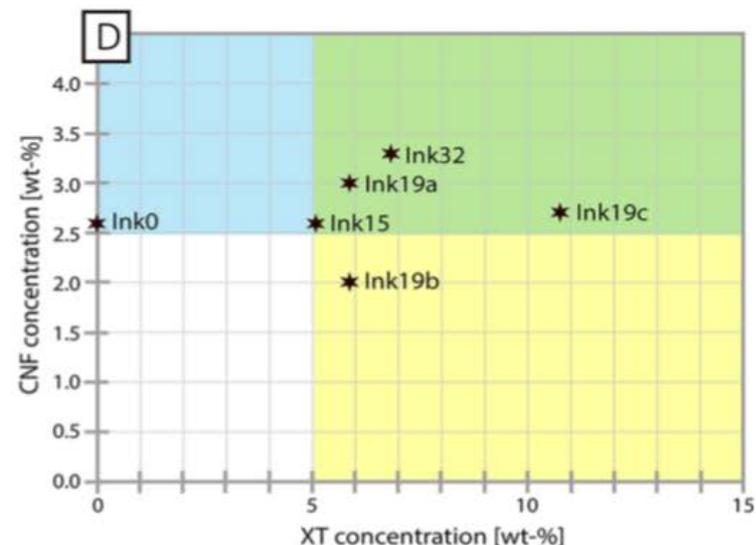
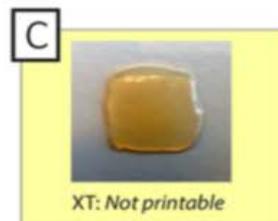
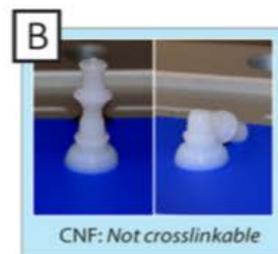
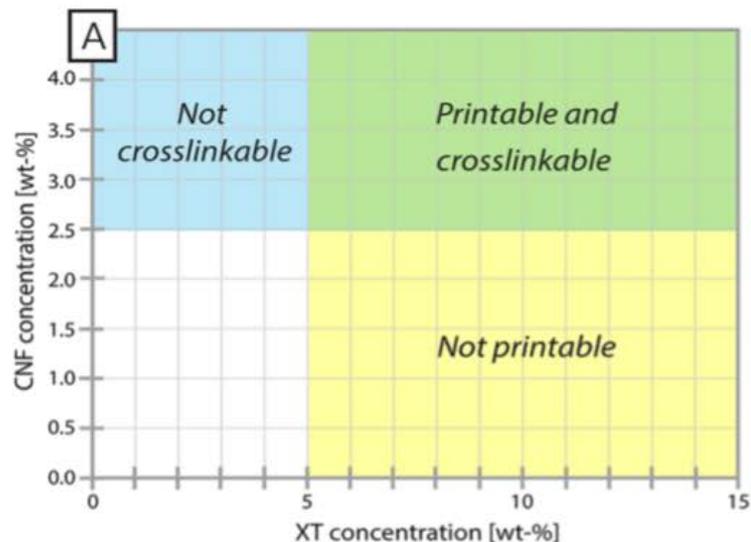


Figure 2. (A) Ink composition graph with varying CNF concentration and XT concentration divided into four parts with respect to predicted printability and cross-linking ability. Blue section: inks are printable but not cross-linkable. Green section: inks are printable and cross-linkable. White section: inks are neither printable nor cross-linkable. Yellow section: inks are cross-linkable but not printable. (B) A queen chess piece printed with pure CNFs which cannot cross-link. (C) An unsuccessful grid printed with XT. (D) Ink composition graph where the stars indicate the placement of the prepared inks with respect to predicted printability and cross-linking ability.

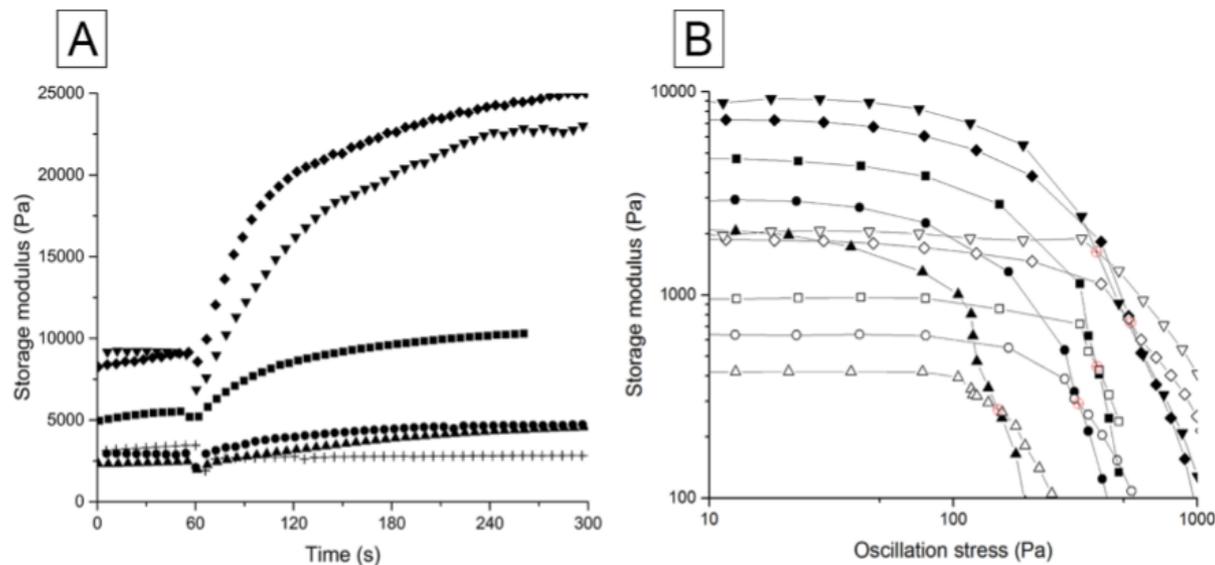


Figure 4. (A) Storage modulus measured by oscillation time sweep for six different inks: +Ink0, ●Ink15, ■Ink19a, ▲Ink19b, ◆Ink19c, and ▼Ink32. Cross-linking started at $t = 60$ s upon the addition of H_2O_2 . (B) Storage modulus, G' (closed symbols), and loss modulus, G'' (open symbols), vs the oscillation stress. Yield stress marked by a red cross for the five different inks: ●Ink15, ■Ink19a, ▲Ink19b, ◆Ink19c, and ▼Ink32.

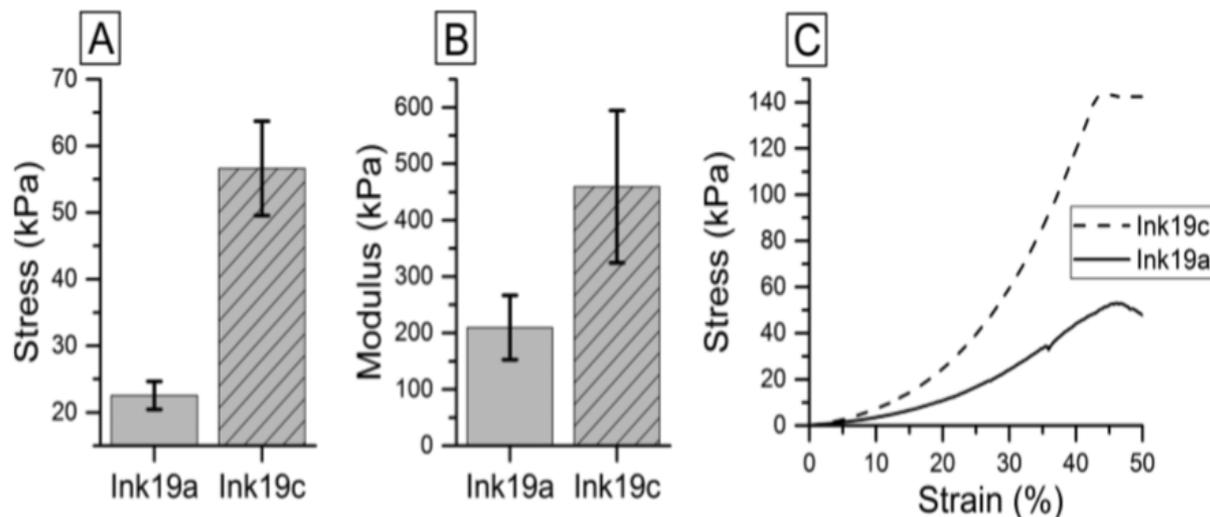


Figure 5. Results from compression testing at a strain rate of $1\% \text{ s}^{-1}$. (A) Compressive stress at 30% strain, $n = 6$. (B) Compressive stiffness (tangent modulus) at 30% strain, $n = 5$. (C) Stress–strain plot representative of samples of Ink19c and Ink19a.

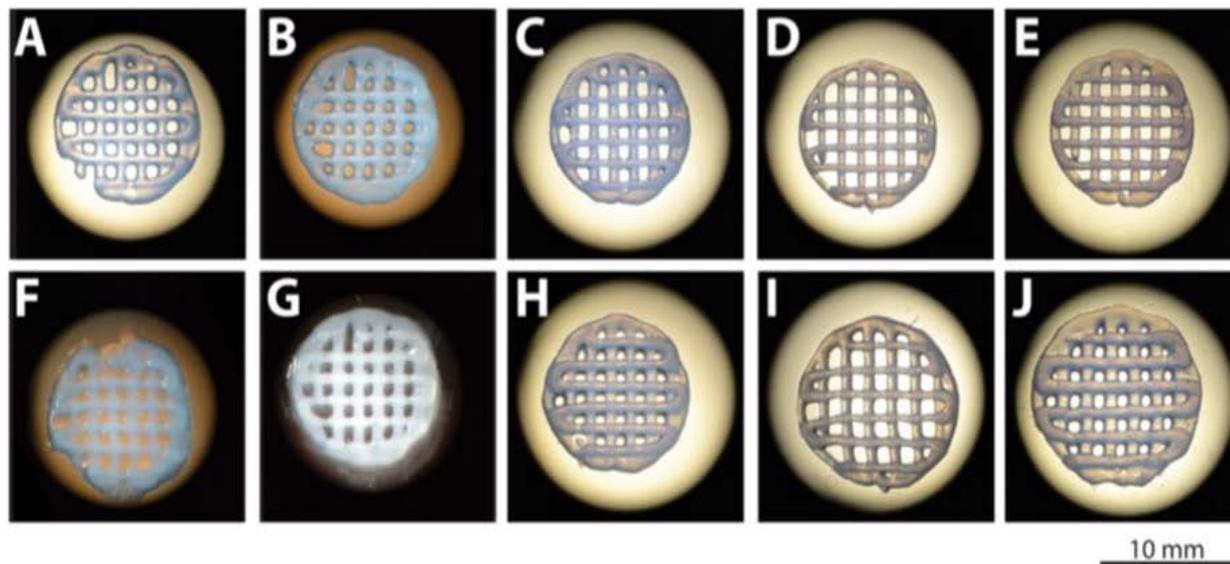


Figure 6. Printed grids of two crossing layers with 5 different inks: Ink15 (A,F); Ink19b (B,G); Ink19a (C,H); Ink19c (D,I); and Ink32 (E,J). Top row: images taken directly after printing. Bottom row: images taken after cross-linking 10 min in 1% H₂O₂.

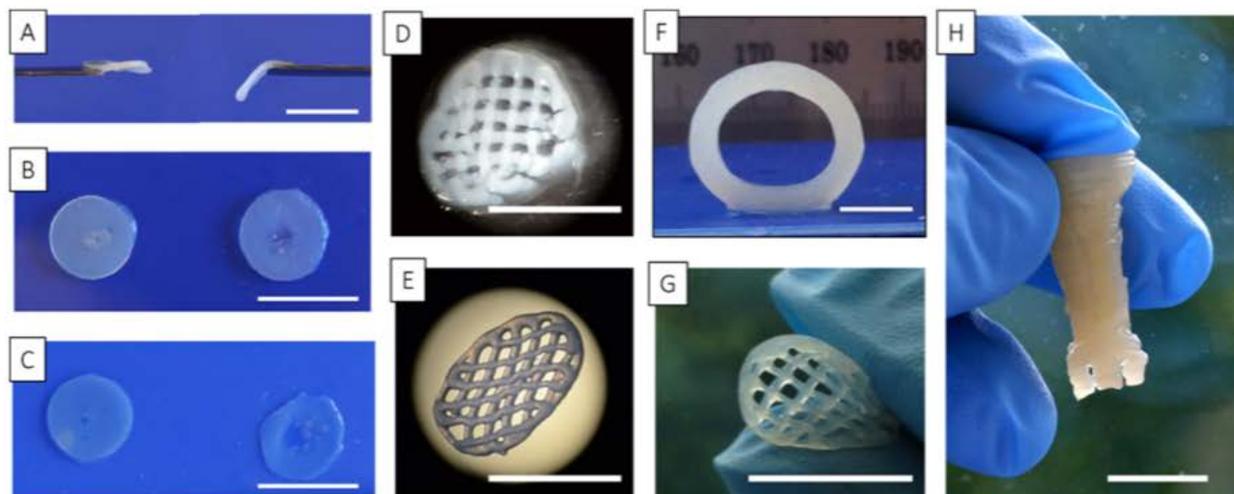


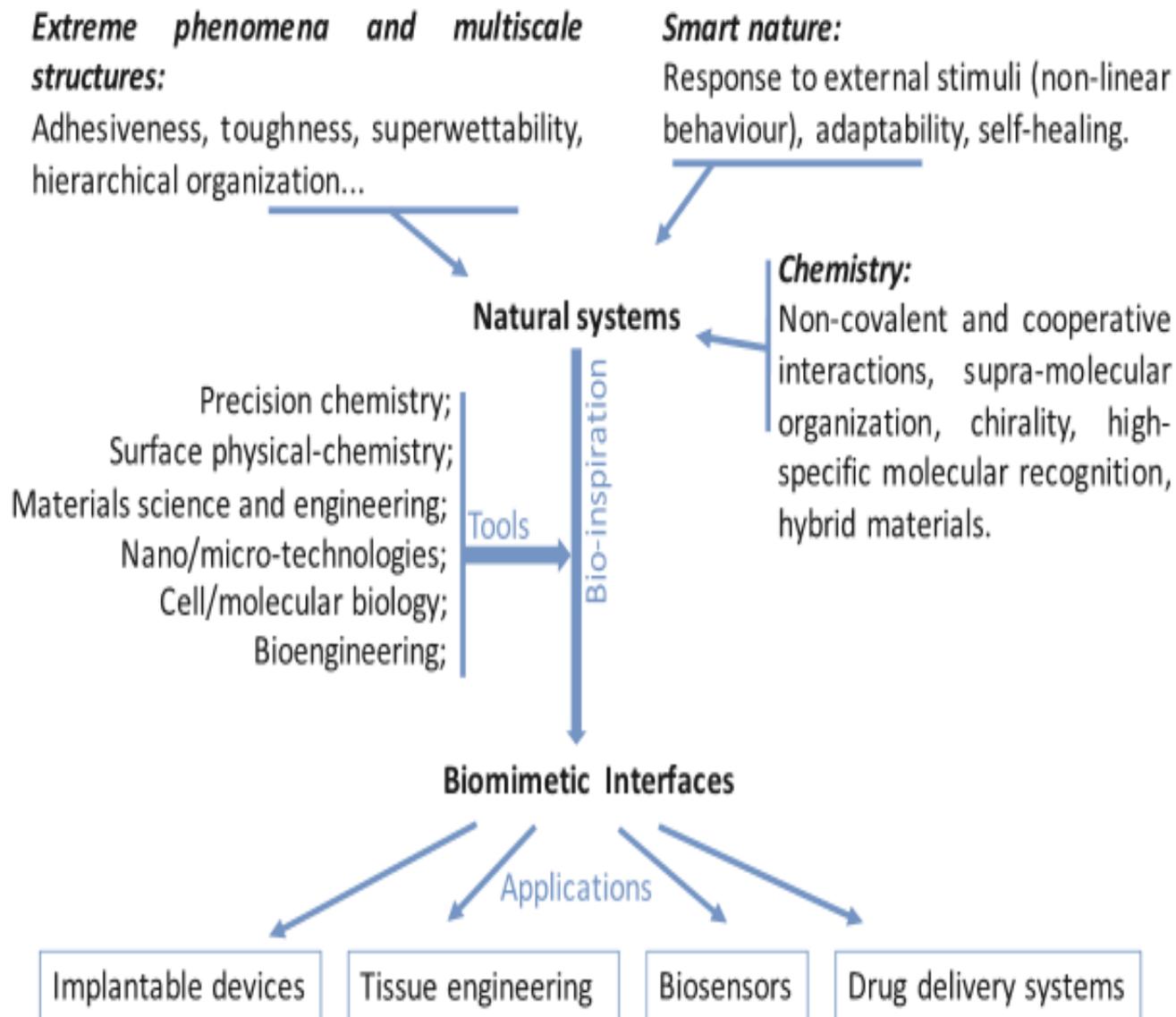
Figure 7. Handling of printed and cross-linked inks, all scale bars indicate 10 mm. (A–C) Comparison of cross-linked discs prepared from Ink19c (left) and Ink19a (right). The images show the (A) cross-linked discs from the side, (B) the top, and (C) the cross-linked discs after three days in water. Printed and cross-linked grids of Ink19b (D) and Ink19c (E) after handling with spatula. (F) Freestanding printed and cross-linked cylinder with Ink32. (G) Printed and cross-linked grid with Ink19c handled and bent in air. (H) Printed and cross-linked rook chess piece, held upside down.

✓ Biomimetic Interfaces in Biomedical Devices⁵

- Biomedical device의 성능은 재료 표면과 생물학적 환경 사이의 상호 작용에 의해 결정되며 인터페이스는 생물학적/물리 화학적 수준에서 중요한 제어를 하고, 바이오 물질의 화학적 성질의 변형, 생화학적 신호의 노출, 물리적 및 토폴로지 특징의 디자인을 사용하여 제어하고 있음. 최근 보고에 의하며, 기존 임플란트의 성능을 향상 시킬 뿐만 아니라 재생 의학, 스마트 전달 시스템, 바이오 센서를 위한 하이브리드 구조, 생체 재료와 같은 medical device를 제조하기 위한 인터페이스 디자인 개발이 두드러지게 개발되고 있음.
- 분자 인식, 접착성, 흡윤성, 외부 자극의 응답, 자가 조립, 단백질 흡착 및 reorganization, 박테리아 반응, 세포-세포 또는 세포-표면 상호 작용 제어와 같은 중요한 성질을 조절하는 것이 해결방법으로 생체 모방 인터페이스의 공학적, 과학적인 연구 결과를 보고하고 있음.
- 스마트 바이오 인터페이스의 탁월한 제어는 표면에서의 세포 및 substrate interactions, 표면에서 bio-macromolecule 흡착 등이 영향을 미치며, 바이오 물질의 디자인에 중요한 요소가 됨. 인터페이스 공정에서 사용하는 나노/마이크로 기술은 세포나 미생물학적 행동에 대한 제어를 가능하게 하고 처리량이 높고 매우 민감한 생물학적 분석(high-throughput and highly-sensitive biological assays)에 사용될 수 있는 바이오 센서를 개발하는데 중요한 기술임.

- 물리적 특성 설계와 화학적 개발을 이용한 합성 미세 환경 (synthetic microenvironment)의 2D나 3D 제조는 뉴런 성장 메커니즘에 대한 이해를 높이고 궁극적으로 뉴런 재생을 위한 잠재적 치료법의 발전을 위한 플랫폼으로 사용되어짐.
- 조직 재생에 있어서, 세포 조작 (strategic cell manipulation)은 체외 3D 암 모델 (in vitro 3D-cancer models)로서 복잡한 조직 생성이 가능함을 입증하였고 생체 모방 마이크로 리액터 (biomimetic micro-reactors)는 간세포의 해독 능력을 재현함으로써 살아있는 세포의 기능을 지원할 수 있음을 입증함.
- 세포에 적절한 3D 미세 환경을 가진 하이드로 겔은 조직 재생에 적합한 마이크로 겔 기반 시스템 개발을 제시함. 표면적으로 설계된 표면은 살아있는 세포에 특정한 기능을 제공 할 수 있음. 예를 들어, 박테리아 접착 및 생물막 형성을 제어하기 위해 표면을 구체적으로 조작 할 수 있음.
- 세포 이동에 대한 표면 나노 토포그래피의 영향은 다음과 같은 문제에 초점을 두고 있음.
 - 티타늄 기반 임플란트의 topographic features은 골아 세포의 형태, 부착성, 이동에 영향을 미침.
 - 천연 폴리머로 제조된 다층 나노 구조의 필름에 만들어진 나노 홈 (nanogrooves)은 세포 증식 (cell proliferation), 정렬 (alignment), 분화 (differentiation)에 효과적인 영향을 미침.

- 세포를 선택적으로 시딩 (seeding)하기 위해 표면을 마스크로 패턴화하고 양성이온 지질 (zwitterionic lipids)로 개질하여 세포 분포를 제어 하였으며 그러한 패턴은 세포 분포 (cell distribution), 세포-세포 상호 작용 (cell-cell interactions)의 도구로서 사용될 수 있음을 보고함.
- 미세 기술 (microfluidics technology)의 응용
 - 복잡한 3D 신경 조직을 생성하기 위해 정렬된 신경 섬유 (aligned nerve fibers)를 갖는 막대 모양의 신경 조직 단위 (rod-shaped neural tissue units)를 준비하는데 사용됨.
 - 종양을 둘러싸는 세포 성분 및 비세포성 성분을 갖는 다른 종양 세포의 상호 작용을 재구성하는 생체 모방 종양 미세 환경 모델 (biomimetic tumor microenvironment model)를 만드는데 사용.
- 광범위한 생체 의학 응용 분야에서 생체 모방 인터페이스 (biomimetic interfaces)의 적용 및 최첨단 수행을 보고하고 있음.



Scheme 1. Interfaces for biomedical applications can be designed based on biomimetic principles and through the use of advanced tools.

참고 문헌

1. Versatile biomimetic medical device surface: hydrophobin coated, nitric oxide-releasing polymer for antimicrobial and hemocompatible applications, R. Devine, P. Singha, H. Handa,* Cite this: Biomater. Sci., 7(8), 2019
2. Biomimetic Bioactive Biomaterials: The Next Generation of Implantable Devices, D. Tsiapalis, M. Biggs, A. Pandit, D. I. Zeugolis, A. D. Pieri, ACS Biomaterials Science and Engineering., 3(7), 2017
3. Development and performance of a biomimetic artificial perilymph for *in vitro* testing of medical devices, J. C Palmer, R. A. Green, F. Boscher, L. A. Poole-Warren, P. M. Carter, Y. L. Enke, N. H. Lovell, M. S. Lord, J. Neural Eng., 16(2), 2019
4. Biomimetic Inks Based on Cellulose Nanofibrils and Cross-Linkable Xylans for 3D Printing, K. Markstedt, A. Escalante, G. Toriz, P.I. Gatenholm*, ACS Appl. Mater. Interfaces, 9(46), 2017
5. Biomimetic Interfaces in Biomedical Devices, J. F. Mano, I. S. Choi, A. Khademhosseini, Adv. Healthcare Mater., 6, 2017