

Large intestine Bio 3D printing

바이오발효융합학과 김세영 이채연 전승욱 조예진 황찬하



1. 동기 및 계획

저희는 인공장기를 제작하는 것인만큼 인공장기의 역할에 대해 생각하게 되었고, 인공장기의 가장 큰 역할은 바로 장기가 제 기능을 하지 못 할 때 그 장기를 대체하는 것이라고 생각했습니다. 또한 장기를 대체하는 가장 큰 경우는 질병, 특히 암에 걸렸을 때라고 생각했으며, 대한민국에서 남녀 공동으로 발병률이 높은 대장암을 떠올리게 되었습니다. 대장암은 2000년대 이후 서구화된 식습관으로 고지방, 고칼로리 식품 섭취가 늘어나면서 발병률이 증가하였지만 대장암은 초기에 뚜렷한 증세가 나타나지않아 빠르게 발견하기 어렵습니다. 또한, 한국의 대장암 발병률은 세계적으로 보았을 때에도, 전 세계에서 가장 높은 수준인 것으로 나타났습니다. 이렇게 암 발병률이 높은 장기일수록 인공장기의 필요성 또한 높다고 생각했고, 이러한 이유로 대장을 제작하기로 결정하였습니다.

• 성별 주요 암발생 현황: 2016 (단위: 명, %, 명/10만명)

순위	남자					여자				
	암종	발생자수	분율	조발생률	표준화발생률*	암종	발생자수	분율(%)	조발생률	표준화발생률*
	모든 암	120,068	100.0	470.3	307.6	모든 암	109,112	100.0	426.5	281.2
	갑상선암 제외	114,530	-	448.6	288.6	갑상선암 제외	88,599	-	346.3	211.4
1	위	20,509	17.1	80.3	50.9	유방	21,747	19.9	85.0	62.5
2	폐	17,790	14.8	69.7	42.9	갑상선	20,513	18.8	80.2	69.8
3	대장	16,672	13.9	65.3	41.6	대장	11,455	10.5	44.8	23.3
4	전립선	11,800	9.8	46.2	28.2	위	9,995	9.2	39.1	22.0
5	간	11,774	9.8	46.1	29.2	폐	7,990	7.3	31.2	15.8

저희의 계획은 thingiverse에서 다운받은 장 sample과 fusion360에서 직접 modeling 한 대장을 필라멘트를 이용하여 3D printer로 각각 뽑고, 이를 성공적으로 마칠 시 PCL을 이용해서 Bio 3D printer로 뽑아내는 것이었습니다.

2. 이론적 배경

바이오프린팅 기술의 시초

최초의 바이오프린팅 기술은 2008년 개발됐습니다. 나카무라 마코토 교수는 장기를 수평 으로 얇게 저민 뒤 층별로 세포의 배열 순서를 알아낸 다음, 잉크젯 프린터로 똑같은 생체 구조물을 찍어내는 데 성공했습니다. 잉크젯 프린터가 분사하는 잉크방울 크기가 10μm(마이크로미터)인 인체 세포 크기와 비슷하다는 점에서 착안한 것 입니다. 3D 바이오 프린팅 은 간단하게 말해 흔히 쓰는 잉크젯프린터처럼 특정 재료를 활용해서 사람에게 이식할 수 있는 신체부위를 모사하는 것입니다. 그 과정에서 줄기세포 등이 쓰이면서 인체에 적용됐을 때 자연스럽게 정착할 수 있도록 영향을 줍니다.

바이오3D 프린팅에 이용되는 소재

바이오 3D 프린팅에 이용되는 소재로는 천연 고분자물과 합성 고분자 물질이 있습니다. Pcl은 합성 고분자 물질의 일종입니다. 천연고분자 물질은 인체 도입시 생리 활성이 좋으며 세포부착성 또한 뛰어나며 면역반응이 일어나지 않습니다. 그러나 내열성이 낮고, 강도가 낮아 구조의 변형이 잘 일어나며 몸에서 빠르게 분해되기 때문에 분해속도 조절이 어렵습니다. 이에 반해 합성 고분자 물질은 생분해성이며 분해 산물은 젖산, 알코올 등으로 무 독성물질입니다. 따라서 인체 도입시 자연스럽게 분해되며 독성 걱정이 없고, 강도가 높아 모형 제작에 용이합니다. 그러나 천연 고분자 물질에 비해 생리 활성은 떨어진다는 단점이 있습니다.

미세압출방식

dispenser와 stage가 x, y, z축으로 움직여서 제품을 적층합니다. 미세압출 3D 바이오 프린터는 잉크젯과 달리 염주알 같은 bead를 만들어서 사출합니다. dispenser가 생체 재료를 bead 형태로 만들어서 방출하여 적층 방식으로 구조를 만듭니다. 미세압출 3D 바이오 프린터의 dispenser는 크게 2종류가 존재하는데, pneumatic 방식과 mechanical 방식 이 있습니다. Pneumatic dispenser의 경우 가스의 압력을 이용하여 재료를 사출하는 간접적인 방식이며, mechanical dispenser의 경우 피스톤이나 스크류를 이용하여 직접적으로 사출하는 방식입니다.

Intestine

대장벽은 점막, 점막 하 조직, 근육층, 장막의 4층으로 나뉘어져 있으며, 막창자, 결장, 직 장으로 분류됩니다. 막창자는 소장 마지막 부분과 상행결장이 연결되는 부분으로, 충수 돌기가 있고, 결장은 대장의 대부분을 차지하며 상행결장, 횡행결장, 하행결장, S상결장으로 구성됩니다. 직장은 대장의 마지막 부분으로 S상결장에서부터 항문까지의 부분입니다. 대장은 수분을 흡수하고 비타민 B와 비타민 K를 포함한 비타민의 일부를 합성하며, 소화 후 남은 음식물로부터 대변을 형성합니다.

3. 대장 실현과정



대장과 소장이 함께 들어있는 3d sample에서 mashmixer를 사용하여 대장을 프린팅 하려고 하였으나 실패하였습니다.

◀ thingiverse에서 다운받은 대장,소장 sample fusion360으로 직접 모델링한 대장▶

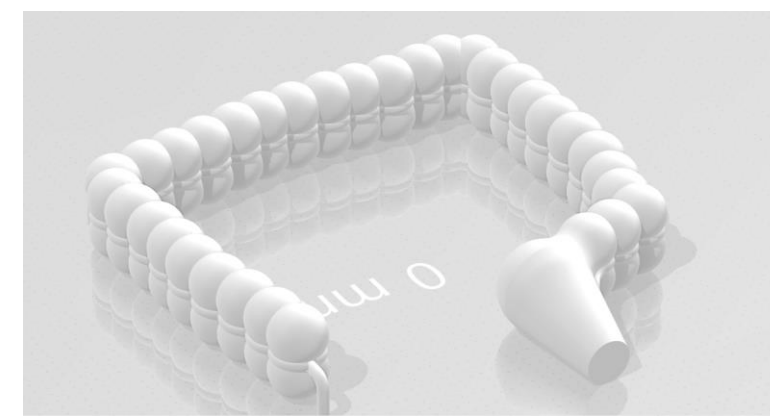


이에, 3d모델링 프로그램인 fusion360으로 직접 대장을 모델링하고, 필라멘트로 출력하는데 까지 성공하였으나, invivo bio 3d printing에서는 지지대가 없기에 많은 문제들에 부딪혔고, 이를 극복하기 위해 많은 시도를 했습니다. 첫 시도는 바셀린으로 지지대를 출력한 후 그 위에 PCL으로 출력하여 무너지지 않게 출력하는 방안이었으나, 출력위치를 고정할 수 없어 실패했습니다. 두번째 방법은 모델 자체에 분리가 쉬운 구조의 지지대를 추가하는 방안이었으나, 이 또한 지지대를 추가로 모델링 하더라도, 무너지는 구조를 피할 수 없었기 때문에 실패하였습니다.



지지대가 없어 무너진 대장▶

이에 기존의 대장 모델을 출력하는 것을 포기하고, 새로이 대장을 모델링하여 출력하기로 하였습니다. 새로 만든 대장도 예상과는 달리 첫 시도에서는 무너졌지만, 두번째 시도에서, 대장을 2분할 하여 출력한 결과, 성공적으로 프린팅 할 수 있었습니다.



▲새로 모델링한 대장



▲2분할하여 출력에 성공한 대장

4. 현실에서 해결해야 할 문제

Polycaprolactone은 생분해성, 부산물의 무독성이라는 이점을 가지면서, 동시에 구조적 모형을 구현할 수 있도록 강도를 높인 바이오 소재입니다. 하지만 그럼에도 울퉁불퉁한 장기의 본 모습대로 스캐폴드를 제작하기는 어려웠습니다. 프린터의 설정을 조절하여 디테일한 형태와, 줄기세포가 들어갈 공간을 갖춘 적절한 스캐폴드를 제작해야 합니다.

적절한 스캐폴드를 얻은후, 실제 대장의 기능을 수행하게 하기 위한 기술에 대한 연구가 가장 먼저 진행되어야 합니다.대장의 주요기능인 수분흡수와 연동운동을 수행하게 하기 위해서는 스캐폴드안에 자리잡은 줄기세포가 점막, 근육, 혈관 등의 여러 조직으로 분화하게 유도하여야 하고, 대장 벽의 여러 층으로 구성된 구조를 만들기 위해 특정 위치에 특정 세포가 자리잡을 수 있게 하는 기술을 연구,개발해야 하며, 더 정밀한 3d 모델링을 만들어, 대장 벽의 여러층을 구현해야 합니다.

그 후, 이렇게 만들어진 장기가 인체에 들어간 후 일어날 문제들에 대한 해결책을 찾아야 합니다. 외부 장기를 이식 받을 경우, 인체의 면역반응으로 인해 자가면역억제제를 평생 투여해야 하는 불편이 아직 남아있습니다. 이는 인공장치에서도 마찬가지입니다. 이를 위해 체세포줄기배아복제세포나, 역 분화 줄기세포 등을 이용하여 면역 거부반응이 없는 장기를 만들수있으나, 이 역시 윤리적문제와 기술적 문제를 피할 수 없기에, 앞으로 더 많은 연구가 이루어져야 합니다.

특히 줄기세포가 무한증식하여 암세포가 되지 않게 하도록 컨트롤 할 수 있는 기술이 필요합니다. 그리고, 이런 기술이 상용화되기에 아직 너무 비싼 줄기세포의 비용적 측면에서도 개선해야할 문제들이 많이 남아있습니다. 줄기세포기술이 아직 초기단계에 머물러있기에, 그 부분에서 가장 먼저 기술개발이 이루어져야 할 것입니다.

5. 발전 전략

직접 모델링을 하고 그 모델을 printing하면서, 세가지 부분에 있어서 미숙함을 느꼈습니다.

첫번째로, 모델링 과정에서 대장의 디테일이 많이 부족하다는 것을 느꼈습니다. 그렇기에 3D 모델링을 더 연습하고 익혀, 실제 대장과 더욱 흡사한 모습으로 모델을 제작해보겠습니다.

두번째로, 프린팅 과정에서 미숙함을 느꼈습니다. 예상과 달리 출력이 예쁘게 되지 않았는데, 3D 프린터의 사용법을 더욱 더 공부하여(시작위치 고정) 대장을 지탱해줄 지지대를 출력한 후 대장을 출력해서, 더 디테일을 살려 제작해보겠습니다. 또한 미흡한 지식으로 인해 적절한 압력의 값을 찾지 못하고 500kpa인 환경에서 프린팅하였습니다. 다음 기회에는 더 많은 도전과 실패를 통해 경험을 쌓고, 가장 적절한 압력에서 프린팅을 진행하여 모델에 맞는 적절한 압력의 값을 찾아 이전보다 깔끔한 모델을 만들 것입니다.

마지막으로, 장기에 대한 이해에 부족함을 느꼈습니다. 대장의 구조나 기능에 대한 지식이 부족하여 모델링만을 하였을 뿐, 기능적인 측면에서는 많이 부족한 결과물이 나왔는데, 앞으로 이러한 내용들을 공부하여, 기능적으로도 훌륭한 결과물을 만들어 낼 계획입니다.

※2~4학년발전을위한전략

- 대장을 구성하는 조직과 미세한 구조들, 그리고 이들의 기능을 공부합니다.
- 줄기세포에서부터 위의 조직과 기능적 활성을 갖추기까지의 세밀한 과정 및 원리를 공부합니다.
- 이러한 공부와 더불어 실제로 사용가능한 스캐폴드를 제작합니다.
- 공부한 지식을 적용해 스캐폴드에 줄기세포를 배양하고 배양된 조직의 기능수행하고, 더 나아가 대장 운동발생, 인공장기의 수명 등을 단계적으로 실현시켜 실용적인 인공장치에 가까워질 수 있도록 계속 공부하며 시도합니다.
- 인공장치에 적용가능한 다양한 바이오3D프린팅 소재를 모색합니다.

6. 느낀점

대장을 프린팅하는 과정에서 가장 어려웠던 부분은 계속되는 실패였습니다. 그리고 계속되는 실패동안 절망감을 경계해야 함을 깨달았습니다. 저희는 실패 원인이 뭐든간에 기대가 컸던 만큼 절망감이 커져 사기를 잃었고, 의욕저하로 인해 원인도 빠르게 파악하지 못했습니다. 하지만 그 과정을 극복하면서 실패를 마주해도 냉정함을 유지할 수 있었고, 절망감에 압도당하지 않을 수 있었습니다. 그리고 실패를 겪은 후 좌절하지 않고 다시 도전해야만 기술적, 지식적, 내면적으로 더 성장할 수 있음을 깨달았습니다. 또한 유레카프로젝트에서 모델링과 3D프린터 사용법, 바이오 3D 프린터에 대해 배울 때 조원들 중 그 누구도 모델링, 3D프린터의 사용 경험이 없었기 때문에 모두가 힘겨워할 때도 있었습니다. 하지만 조원들과 함께 해결해나가는 과정을 통해 모델링이나 3D 프린터 사용법을 익히는 것 외에도 조원들간의 협동심이 향상되는 것을 느꼈고 실패를 극복하는 방법을 배울 수 있었습니다.

마지막으로 3D 프린팅에 대해 배우면서 미래 의학 기술에 대해 생각해볼 수 있었습니다. ‘대장’을 모델링하고 프린팅하면서 이 기술이 상용화가 된다면 사회에 어떤 영향을 불러일으킬 수 있는지에 대해 생각해 볼 수 있었습니다. 또한, 이번 유레카프로젝트를 통해 대장 3D 프린팅 기술의 기반을 마련했다는 것에 의의를 두고있습니다.

저희 ‘젝’조는 이번 유레카프로젝트를 통해 실패가 성장을 위한 양분이 될 수 있음을 깨닫고, 실패를 두려워하지 않는 국민대학교 바이오발효융합학과 학생이 되어야겠다는 다짐을 하게 되었습니다.