

골이식재 분해산물 확인 및 정량 시험의 의료기기 GLP 적용

서영빈^{1,2}, 김기현³, 심우종³, 권재성^{1,2,*}

¹연세대학교 치과대학 치과생체재료공학교실 및 연구소

²BK21 창의치의학융합 교육연구단

³한국건설생활환경시험연구원

Application of GLP in identification and quantification of degradation products from bone graft materials

Young-Bin Seo^{1,2}, Ki Heon Kim³, Woo Jong Sim³, Jae-Sung Kwon^{1,2,}*

¹*Department and Research Institute of Dental Biomaterials and Bioengineering, Yonsei University College of Dentistry, Seoul, Republic of Korea*

²*BK21 FOUR Project, Yonsei University College of Dentistry, Seoul, Republic of Korea*

³*Bio Division, Korea Conformity Laboratories, Incheon, Republic of Korea*

Biocompatibility testing of bone graft materials are important aspect for development of the device as well as the approval and certification by each individual country's regulatory authority. Recently, importance in identification and quantification of degradation product as well as application of Good Laboratory Practice (GLP) in the process of biocompatibility testing has been emphasized. Hence, here identification and quantification of degradation products from bone graft materials were carried out in accordance with GLP process. Commercially available bone graft material from the animal source was used in this study. The test was carried out in accordance with International Standard, ISO 10993-14 Biological evaluation of medical devices - Part 14: Identification and quantification of degradation products from ceramics. Also, entire process followed Institute for Management of Good Laboratory Practice, published by Ministry of Food and Drug Safety, Korea. Degradation test of the bone graft materials resulted in degradation of bone graft, ranging between 0.32 g to 0.86 g, while Ca and P were detected. In terms of GLP process, it has been noted that consideration of other International Standard such as ISO 10993-12 is required for planning of the GLP test, especially during the sample preparation.

Key words : Bone graft, Biocompatibility, Degradation, GLP, Medical devices

Young-Bin Seo (ORCID: 0000-0003-1656-6765)
Ki Heon Kim (ORCID: 0000-0002-9730-1971)
Woo Jong Sim (ORCID: 0000-0001-9966-7590)

Correspondence: Jae-Sung Kwon (ORCID; 0000-0001-9803-7730)
50-1 Yonsei-ro, Seodaemun-gum Seoul 03722, Republic of Korea
Affiliation: Department and Research Institute of Dental Biomaterials and Bioengineering, Yonsei University College of Dentistry
Tel: +82-2-2228-3081, Fax: +82-2-364-9961
E-mail: jkwon@yuhs.ac

Received: Jun, 03, 2021; Revised: Jun, 24, 2021; Accepted: Jun, 25, 2021

서 론

폴이식재는 손상되거나 손실된 경조직을 재생하기 위해 사용되는 의료기기로 세계적으로 매년 해당 의료기기를 사용하는 수술 및 시술이 2백만 건을 넘는다고 보고되고 있다(1, 2). 치과에서 사용되는 폴이식재 의료기기의 경우 식품의약품안전처 고시인 ‘의료기기 품목 및 품목별 등급에 관한 규정’에서 ‘C22000 치과용폴이식재’로 분류하고 있으며, 그 중 ‘C22020.01 이종골 이식재’는 국내 4등급 의료기기로 “사람을 제외한 동물 또는 다른 생명체로부터 유래된 폴이식재”로 정의되어 있다(3).

인구의 고령화와 치과용 임플란트의 사용이 증가되면서 치과용 폴이식재의 사용 또한 매우 빠르게 성장하고 있으며 이에 따라 새로운 제품의 출시가 증가되고 있다(4, 5). 이러한 새로운 치과용 폴이식재의 개발과 인증 및 허가에 있어 다른 치과재료와 마찬가지로 생체적합성 평가는 매우 중요한 단계이며 이를 통한 임상 사용에서의 안전성을 확인하여야 한다(6).

생체적합성 평가는 국제표준 ISO 10993-1호(7)와 ISO 7405호(8), 그리고 국내 식품의약품안전처 고시인 ‘의료기기 생물학적 안전에 관한 공통기준규격’(9)에 따라 고려될 수 있다. 특히 최근 개정된 ISO 10993-1호 및 ISO 7405호에 내용에 따라 의료기기의 물리적 및 화학적 성질에 대한 정보는 생체적합성 평가에서 매우 중요하며, 세라믹 재료의 치과용 폴이식재의 경우 이와 관련된 국제표준 ISO 10993-14호에 따른 생분해성 시험에 대한 중요성이 강조되고 있다(10).

2019년 5월 1일, 의료기기에 대한 생체적합성시험에 비임상시험제도가 전면 시행되고 경제협력개발기구(OECD)의 비임상시험 성적서의 상호인정을 위해 현재 국내에서는 의료기기의 인증 및 허가를 위한 생체적합성 시험에서 비임상시험관리기준(Good Laboratory Practice, GLP)를 적용하도록 되어있다(11). 하지만 생분해성 시험과 같은 의료기기에 독특하게 적용되는 생체적합성 시험의 경우 GLP 적용에 따른 보고가 없어 국내 및 국외에서 시험에 한계가 있다.

따라서 본 연구의 목적은 현재 국내에서 시판되고 있는 치과용폴이식재 중 이종골 이식재에 대한 국제표준 및 국내 고시에 따른 의료기기 분해산물 확인 및 정량 시험을 진행하

고 이를 GLP에 따라 진행하여 시험 가능성을 확인하고자 한다.

재료 및 방법

1. 연구 재료

본 연구에서는 현재 인증 및 허가를 받아 국내에서 판매되고 있는 이종골 이식재를 구입하여 연구를 진행하였다. 해당 이종골 이식재는 돼지 유래 뼈를 가공하여 제작되었으며 알맹이(granule) 형태로 사용되었다. 제품은 감마 멸균이 완료된 상태로 제공되었으며 별도의 멸균 과정은 진행하지 않았다.

2. 시험의 준비

모든 시험은 비임상시험관리기준(11)과 식품의약품안전평가원의 ‘의료기기 생물학적 안전성 시험에 대한 GLP 적용 시 고려사항(민원인 안내서) - 시험단계별 가이드라인’(12)을 참고하여 진행하였다. 시험의 의뢰는 본 연구를 진행한 저자가 GLP를 적용 준비 중인 기관에 의뢰하는 것으로 진행하였으며 시험 계획서를 작성하여 승인한 후 진행되었다. 기타 시험물질의 수령 및 보관, 시험책임자의 지정은 위에서 언급된 비임상시험관리기준(11)과 식품의약품안전평가원의 ‘의료기기 생물학적 안전성 시험에 대한 GLP 적용 시 고려사항(민원인 안내서) - 시험단계별 가이드라인’(12)을 참고하여 진행하였다.

3. 시험물질의 준비

시험 물질의 준비는 국제표준 ISO 10993-12호(13), ISO 10993-14호(10), 식품의약품안전평가원의 ‘의료기기 생물학적 안전성 시험에 대한 GLP 적용 시 고려사항(민원인 안내서) - 의료기기 용출 가이드라인’(14)을 참고하여 진행하였다. 이종골 이식재의 무게를 측정하여 시료 5 g 당 100 mL의 용매를 준비하였고 이를 37 °C에서 120시간 동안 용출하였다. 이 때 용출 용매는 극한 시험의 경우 구연산(citric acid, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)를 모의

시험의 경우 tris-buffer (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)를 사용하였다.

4. 시험의 진행

시험은 ISO 10993-14호(10) 및 식품의약품안전처 고시인 '의료기기 생물학적 안전에 관한 공통기준규격'(9)에 따라 진행하였다. 이에 두 가지 방법이 사용되었으며 첫 번째 시험방법은 낮은 pH(산성 환경)의 극한 용액에서 실시하는 극한 시험으로 의료기기에서 분해가 진행되어 분해 산물이 생성되는지 확인하기 위한 시험이다. 만약 극한 시험에서 분해되는 물질이 없다면 뒤에 모의 시험을 진행하지 않고 시험을 종료할 수 있다. 만약 분해되는 물질이 확인되면 두 번째 시험으로 생체 내 pH에서 실시하는 모의시험을 진행한다. 본 시험에서는 분해되는 물질이 확인되어 두 번째 시험까지 진행하였다.

5. 극한 시험

극한 시험의 진행은 ISO 10993-14호(10) 및 식품의약품안전처 고시인 '의료기기 생물학적 안전에 관한 공통기준규격'(9)에 따라 진행되었다. 이종골 이식재의 무게를 측정하여 시료 5 g 당 100 mL의 구연산 용매를 준비하였고 이를 37 °C에서 120시간 동안 교반하여 용출하였다. 용기와 시편을 실온에서 냉각시킨 후 여과재를 사용하여 용출물을 여과시켰다. 여과 잔류물이 남아있는 여과재와 시편을 일정한 질량이 될 때까지 건조시킨 후 무게를 측정하였고 여과 잔류물이 있는 여과재와 여과 잔류물이 없는 여과재 사이의 질량차이를 계산하여 여과 잔류물의 질량을 계산하였다.

6. 모의 시험

모의 시험은 ISO 10993-14호(10) 및 식품의약품안전처 고시인 '의료기기 생물학적 안전에 관한 공통기준규격'(9)에 따라 진행하였다. 이종골 이식재의 무게를 측정하여 시료 5 g 당 100 mL의 tris-buffer 용매를 준비하였고 이를 37 °C에서 120시간 동안 교반하여 용출하였다. 용기와 시편을 실온에서 냉각시킨 후 여과재를 사용하여 용출물을 여과시켰다. 여과 잔류물이 남아있는 여과재와 시편을 일정한 질량

이 될 때까지 건조시킨 후 무게를 측정하였고 여과 잔류물이 있는 여과재와 여과 잔류물이 없는 여과재 사이의 질량차이를 계산하여 여과 잔류물의 질량을 계산하였다. 추가로 여과액에 대한 분석을 위해 ICP-OES (Thermo-Fisher Scientific, Waltham, MA, USA)를 이용하여 여과된 물질의 Ca와 P 농도를 측정하였다.

결과 및 고찰

1. 극한 시험

극한 시험의 결과는 Table 1과 같다. 결과에 따라 여과재에 남아있는 물질의 양과 처음 물질의 양에 차이가 있음을 알 수 있었고 이에 일부 물질이 분해되어 여과재를 통과하였음을 확인할 수 있었다. 국제표준 ISO 10993-14호(10) 및 식품의약품안전처 고시인 '의료기기 생물학적 안전에 관한 공통기준규격'(9)에 따라 이 결과를 바탕으로 모의시험을 진행할 필요가 있음을 확인하였다. 본 연구에서 사용된 이종골 이식재는 돼지의 뼈에서 채취한 것으로 화학적 성분인 칼슘과 인으로 구성되어 있다. 실제 기존의 연구에서도 이러한 칼슘과 인에 기반한 물질이 생분해 되거나 혹은 일정 용액에서 재광화 된다는 결과가 있었다(15). 본 시험에서 사용된 치과용 의료기기는 이종골 이식재로 이식형 의료기기이고 이에 구강에 직접 노출되지는 않는다. 하지만, 국제표준 ISO 10993-14호(10) 및 식품의약품안전처 고시인 '의료기기 생물학적 안전에 관한 공통기준규격'(9)에 따라 구강에 노출되는 치과용 의료기기는 국제표준 ISO 6872호에

Table 1. The results of residue mass after extreme solution degradation test

Measured item (s)	Weight (g)
Filtering medium	1.9387
Filtering medium and specimen	6.0802
Retentate (mass after drying)	4.1433
Dissolved material	0.8572

제시되어 시험 환경이 더 적합하며 특히 최근 개발되고 있는 세라믹 계열의 보철물에 적용이 고려될 수 있다. 시험의 정확한 결과를 도출하기 위해서는 용매의 선정과 사용하는 용기의 선정 또한 고려되어야 한다(14). 특히 극한 시험 용매와 용출된 물질의 보관을 유리병에 할 경우 유리병의 세라믹 물질이 용매에 남게 될 수 있어 부정확한 결과를 초래할 수 있고 이에 대한 고려가 필요하다(9, 10).

2. 모의 시험

모의 시험의 결과는 Table 2와 같다. 모의 시험에서도 위에 극한 시험과 같이 일부 물질이 용매에 생분해 되었음을 알 수 있으며, 그 양은 극한 시험보다 적음을 알 수 있다. 이는 산성인 환경에서 생분해가 더 빠르게 진행된다는 기존에 연구와 비슷한 결과이다(16).

여과된 후 실제 생분해가 된 물질의 성분과 농도를 ICP-OES로 분석하였을 때, 모의시험을 통해 생분해 된 물질은 Ca와 P로 검출되었고 농도는 Ca가 13.765 ppm, P가 6.397 ppm으로 기록되었다. 위에서 언급된 내용과 같이 본 연구에서 사용된 이종골 이식재는 돼지의 뼈에서 채취한 것으로 그 구성 성분에 따라 Ca와 P의 검출은 예상되었다. Ca와 P는 경조직을 구성하고 있는 hydroxyapatite와 같은 성분으로 이러한 분해 효과는 생활성 및 재광화 등에 영향을 줄 것으로 사료된다(15).

본 연구를 통해 의료기기의 생체적합성 시험 중 분해산물의 확인과 정량에서 비임상시험관리기준(11)과 식품의약품안전평가원의 ‘의료기기 생물학적 안전성 시험에 대한 GLP 적용 시 고려사항(민원인 안내서) - 시험단계별 가이드라

Table 2. The results of simulation solution degradation test

Measured item (s)	Weight (g)
Filtering medium	2.1276
Filtering medium and specimen	6.8933
Retentate (mass after drying)	4.6757
Dissolved material	0.3248

인’(12)의 적용이 가능함을 확인할 수 있었다. 다만, 시험의 수행과 신뢰성 보증과 관련된 내용과 별도로 위에서 언급된 시료의 보관 용기의 선정 그리고 ICP와 같은 장비의 관리 등이 추가적으로 고려되어야 함을 알 수 있었으며 추후 해당 분야의 GLP 적용시 확인되어야 한다.

결론

시판되고 있는 치과용골이식재 중 이종골 이식재에 국제 표준 및 국내 식품의약품안전처 고시를 적용한 의료기기 분해산물 확인 및 정량 시험 진행이 가능 한 것을 확인하였다. 추후 연구를 통해 관련 시험을 GLP로 진행할 수 있는 절차의 확립이 필요할 것으로 판단된다.

사사

본 연구는 2019년도 식품의약품안전처의 연구개발비(18182MFDS368)로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Khademhosseini A, Langer R, Borenstein J, Vacanti JP. Microscale technologies for tissue engineering and biology. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2006;103(8):2480-7.
2. Langer R, Tirrell DA. Designing materials for biology and medicine. *Nature*. 2004;428(6982):487-92.
3. 식품의약품안전처. 의료기기 품목 및 품목별 등급에 관한 규정. 식품의약품안전처 고시 제2021-24호. 2021. 3.19.
4. Gaharwar AK, Mihaila SM, Swami A, Patel A, Sant S, Reis RL, et al. Bioactive silicate nanoplatelets for osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells. *Adv Mater*. 2013;25(24):3329-36.
5. Gentleman E, Swain RJ, Evans ND, Boonrungsiman

- S, Jell G, Ball MD, et al. Comparative materials differences revealed in engineered bone as a function of cell-specific differentiation, *Nat Mater.* 2009;8(9): 763-70.
6. Park DR, Bae JM. Mechanical properties and biocompatibility of experimental 3D printing denture base resin. *Kor J Dent Mater.* 2019;46(4):253-62.
 7. International Organization for Standardization. ISO 10993-1 Biological evaluation of medical devices — Part 1: Evaluation and testing within a risk management process. Geneva. 2018.
 8. International Organization for Standardization. ISO 7405 Dentistry — Evaluation of biocompatibility of medical devices used in dentistry. Geneva. 2018.
 9. 식품의약품안전처. 의료기기의 생물학적 안전에 관한 공통기준규격. 식품의약품안전처 고시 제2020-12호. 2020.2.25.
 10. International Organization for Standardization. ISO 10993-14 Biological evaluation of medical devices — Part 14: Identification and quantification of degradation products from ceramics. Geneva. 2001.
 11. 식품의약품안전처. 비임상시험관리기준. 식품의약품안전처 고시 제2012-61호. 2012.8.24.
 12. 식품의약품안전평가원. 의료기기 생물학적 안전성 시험에 대한 GLP 적용 시 고려사항(민원인 안내서) - 시험단계별 가이드라인. 식품의약품안전평가원 민원인안내서(발간등록번호 11-1471057-000480-14). 2020. 12.
 13. International Organization for Standardization. ISO 10993-12 Biological evaluation of medical devices — Part 12: Sample preparation and reference materials. Geneva. 2021.
 14. 식품의약품안전평가원. 의료기기 생물학적 안전성 시험에 대한 GLP 적용 시 고려사항(민원인 안내서) - 의료기기 용출 가이드라인. 식품의약품안전평가원 민원인안내서(발간등록번호 11-1471057-000479-14). 2020.12.
 15. Bae JM, Shin SJ, Son JS, Oh S. Remineralization effect of experimental fluoride varnish with nano-sized hydroxyapatite and tricalcium phosphate. *Kor J Dent Mater.* 2020;47(3):131-41.
 16. Zhang HY, Jiang HB, Ryu JH, Kang HJ, Kim KM, Kwon JS. Comparing properties of variable pore-sized 3D-printed PLA membrane with conventional PLA membrane for guided bone/tissue regeneration. *Materials (Basel).* 2019;12(10):1718.

골이식재 분해산물 확인 및 정량 시험의 의료기기 GLP 적용

서영빈^{1,2}, 김기현³, 심우종³, 권재성^{1,2,*}

¹연세대학교 치과대학 치과생체재료공학교실 및 연구소

²BK21 창의치의학융합 교육연구단

³한국건설생활환경시험연구원

골이식재의 생체적합성 시험은 해당 재료의 개발과 각 규제기관의 인증 및 허가 측면에서 매우 중요한 시험이다. 최근에는 생체적합성 시험에서 분해 산물을 확인하고 정량 하는 시험의 중요성이 강조되고 있으며 이를 비임상시험관리기준(GLP)에 따라 진행하는 절차가 강조되고 있다. 이에 본 연구에서는 골이식재의 분해 산물 확인 및 정량 시험을 GLP의 절차에 따라 진행하였다. 시판되고 있는 이종골 이식재를 사용하였고 국제표준 ISO 10993-14 Biological evaluation of medical devices - Part 14: Identification and quantification of degradation products from ceramics에 따라 시험을 진행하였다. 또한, 시험의 절차를 식품의약품안전처 고시인 비임상시험관리기준에 따라 진행하였다. 생분해성 시험 결과 골이식재는 0.32 g에서 0.86 g 사이의 분해를 확인하였고, 분해된 물질에서 Ca와 P를 확인하였다. GLP 절차의 적용에 있어 시편에 준비와 같은 사항을 고려할 때 ISO 10993-12호와 같은 국제표준의 적용과 시험 계획의 중요성이 확인되었다.

색인 단어 : 골이식재, 생체적합성, 생분해성, GLP, 의료기기
