

3. 조직공학용 하이드로젤의 설계 요소

3.1 생체적합성

생체적합성(biocompatibility)은 하이드로젤을 비롯한 의료용 재료의 설계 및 제조에 있어서 절대적으로 중요한 요소이다. 생체적합성은 인접 세포에 손상이나 피해를 주지 않고 재료가 체내에 존재하기 위한 능력, 그리고 생체 내에서 사용될 때 적절한 숙주 반응(host response)을 수행하기 위한 재료의 능력과 관련이 있다. 물질에 있어 부적절한 생체적합성은 이식되거나 재생된 세포 주위에서 면역반응을 일으킬 수 있고, 재료에 대한 염증 반응과 같은 특이적인 문제를 일으킬 수 있다[1]. 생체적합성은 고분자 고유의 성질로부터 유래되고, 정제를 통해서도 일부 개선될 수 있다. 일반적으로 천연고분자는 우수한 생체적합성이 있는 반면, 합성고분자는 체내로부터 부정적인 반응을 유도한다. 한편 단백질 유래 천연고분자(예: 콜라겐)는 다른 천연고분자에 비하여 면역반응을 더욱 유발하는 것으로 알려져 있다.

알긴산은 의료용 재료로서 조직공학뿐만 아니라 다양한 분야에서 사용되어 왔고, *in vitro* 및 *in vivo* 조건에서 뛰어난 생체친화성과 낮은 독성을 가진 것으로 알려져 왔다. 알긴산의 안전성에 관한 논란은 알긴산 자체의 문제라기 보다는 정제과정에서 제거되지 않은 불순물 등이 영향을 미치는 것으로 보고되었다. 상업적으로 시판되고 있는 알긴산의 경우 동물실험에서 낮은 독성 및 면역반응을 거의 유발하지 않는 것으로 보고되었다[2]. 알긴산 하이드로젤을 소동물의 피하에 주입한 후 조직학적으로 검사하였을 때 심각한 염증반응 또한 관찰되지 않았다[3].

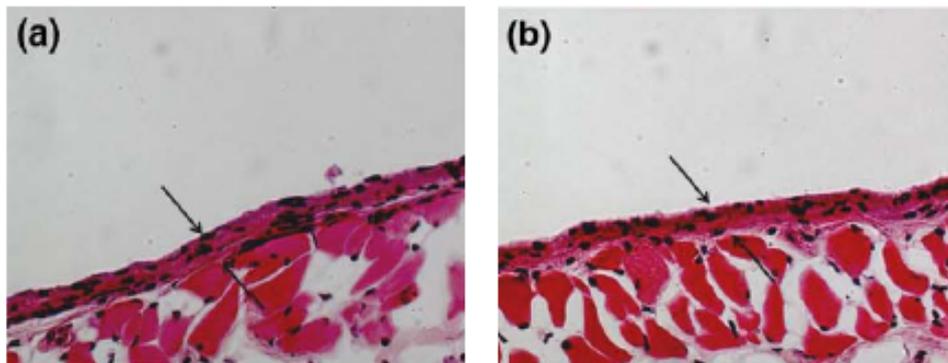


Fig. 1. 쥐의 피하에 (a) 식염수 또는 (b) 알긴산 하이드로젤을 주입하고 3주 후에 관찰한 조직 사진(화살표: 새로 형성된 육아조직)[3].

3.2 젤화 방법

이온 또는 공유 가교와 고유한 상변화 거동을 포함하는 다양한 젤화 방법(gelation method)을 이용하여 하이드로젤을 제조할 수 있다. 이온 가교를 이용한 하이드로젤의 대표적인 예가 알긴산 하이드로젤이다. 알긴산 수용액에 칼슘 이온을 혼합하면 비교적 짧은 시간에 젤이 형성된다. 그러나 가교에 사용된 이온들은 생체 내에 존재하는 다른 이온(예: Na^+)들로 교환될 수도 있고, 그 결과 하이드로젤 본래의 물성이 의도하지 않게 저하되는 경우가 발생한다. 공유 가교에 의한 경우 이온 가교에 의한 방법보다 물성이 더욱 뛰어난 하이드로젤을 제조할 수 있으나, 공유 가교에 사용되는 가교제의 독성은 반드시 고려되어야 한다. 한편 생분해가 되지 않는 가교 형성은 대부분의 조직공학적 응용에 불리할 것이다.

한편 알긴산과 히알루론산을 methacrylate와의 유도체를 형성한 후 광가교(photo-cross-linking)에 의하여 하이드로젤을 생성할 수 있다. 이렇게 만들어진 젤은 부드럽고 유동성이 뛰어난 점탄성의 하이드로젤을 이룬다. Methacrylate의 치환도에 따라 하이드로젤의 팽창, 압축 그리고 creep compliance와 같은 물성이 변하게 된다. 광가교에 의한 하이드로젤은 눈, 귀 그리고 폐와 같이 외과적 수술로 접근하기 어려운 부위에 적합하게 이용될 수 있다[4].

젤화시키는 최근 연구 중의 하나는 특정 고분자 용액의 상변화거동을 이용한 것이다. 예를 들면 임계온도 근처에서의 매우 작은 온도변화는 특정 고분자 용액의 젤화를 일으키고, 이들은 세포 및 약물전달용 운반체로 관심을 받고 있다. 상업적으로 널리 알려진 PEO-PPO-PEO 블록공중합체는 온도감응성 고분자의 아주 좋은 예이다. 일정한 농도에서의 PEO-PPO-PEO 블록공중합체 용액의 온도를 서서히 올리면 젤화가 일어난다[5]. 천연 고분자 중에서도 온도변화에 따라 하이드로젤을 형성시키는 경우가 보고 되어왔다. 젤라틴과 우무(agarose), 아밀로오스(amylose), 아밀로펙틴(amylopectin), carrageenan 등이 대표적인 예이다.

3.3 세포 친화성

하이드로젤과 세포 간의 상호작용(cellular interaction)은 사용된 세포의 증식, 이동 그리고 분화에 매우 중요한 영향을 미친다. 하이드로젤에의 세포의 부착(adhesion)은 세포 유형 및 젤 표면에 존재하는 세포부착 분자(예: 리간드)를 인식하는 세포 수용체의 특이적인 상호작용에 의존한다. 리간드 분자는 재료 고유의 성분이거나 화학적으로 재료에

결합시킬 수도 있다. RGD(arginine-glycine-aspartic acid)와 같은 작은 펩티드 서열은 다양한 세포의 부착에 중요한 역할을 하는 고유한 서열로 알려져 있는데, 이 서열은 세포외기질에 존재하는 단백질(예: 섬유결합소, 라미닌 등)에서 공통적으로 발견된다. 특히 RGD 서열은 세포의 인테그린 수용체와 특이적으로 상호작용을 하는 것이 잘 알려져 있다[6].

알긴산 하이드로젤의 경우 세포 친화성이 결여되어 있으므로 RGD 펩티드를 화학적으로 도입하는 방법이 시도되어 왔다. 간략하게 살펴보면, 알긴산 수용액(pH 6.0-7.5, 0.1 M MES buffer)에 수용성 carbodiimide(EDC)와 *N*-hydroxysulfosuccinimide(sulfo-NHS)의 존재 하에 공유결합을 통하여 RGD 펩티드를 결합시킬 수 있다. 이와 같이 RGD 펩티드가 도입된 알긴산 젤을 사용하면 세포의 부착, 증식, 분화가 향상됨이 보고되었다[7].

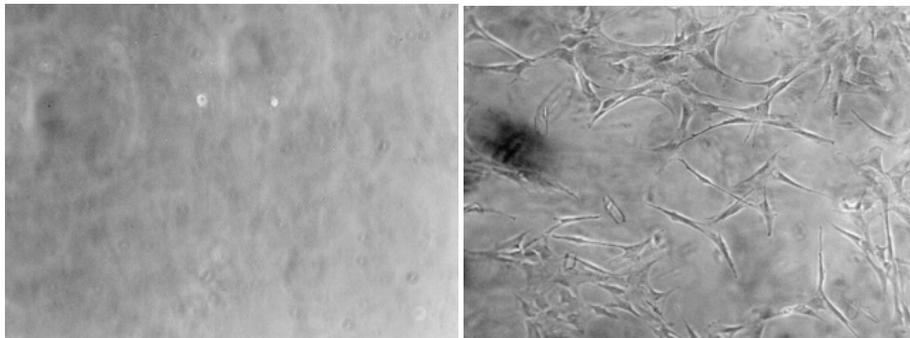


Fig. 2. RGD 펩티드가 도입되지 않은(좌) 또는 RGD 펩티드가 도입된 알긴산 하이드로젤 표면(우)에 배양된 골모세포 광학현미경 사진.

이러한 세포부착 리간드(RGD 펩티드)가 결합된 알긴산과 연골세포를 이용하여 하이드로젤을 제조하여 쥐의 피하에 주사기로 주입하고 6주 후에 연골조직의 재생을 평가한 결과, lacunae 구조가 잘 발달된 연골조직이 생성되는 것이 보고 되었다[8].

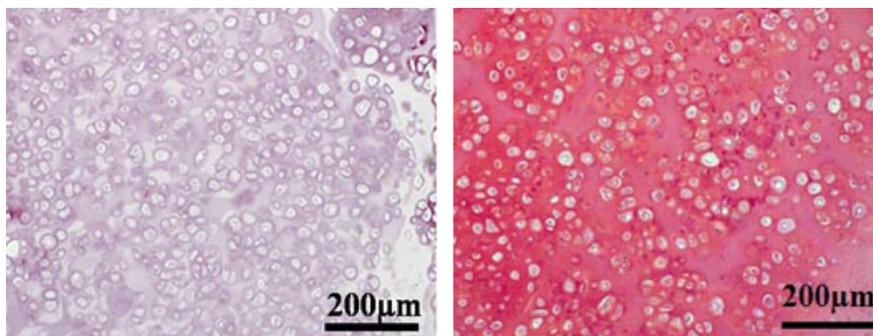


Fig. 3. RGD 펩티드가 도입된 알긴산 하이드로젤을 이용하여 소동물 모델에서 재생한 연골조직(좌, H&E 염색; 우, Safranin-O 염색 사진).

특히 연골의 경우에는 세포 부착 리간드 뿐만 아니라 히알루론산을 함께 사용할 때 더욱 효율적으로 재생이 가능함이 보고되었다[9]. 히알루론산은 연골세포의 CD44와 특이적으로 상호작용을 하여 더욱 안정된 하이드로젤 형성에 기여하는 것으로 생각되었다.

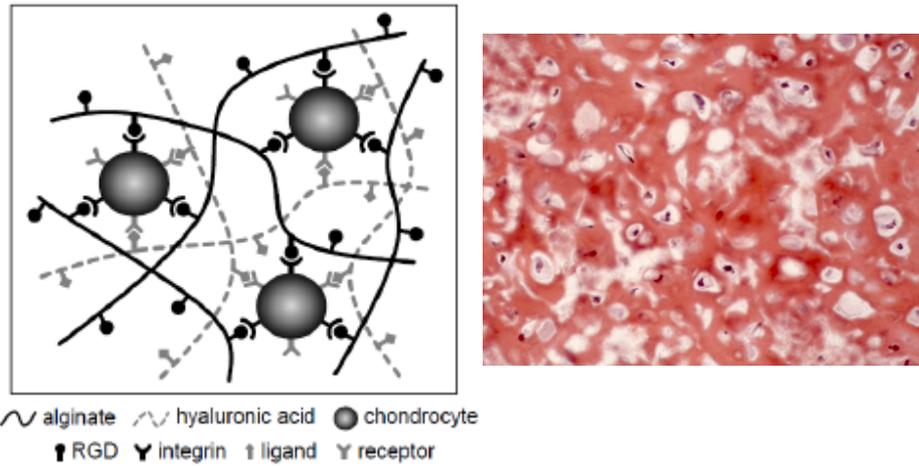


Fig. 4. RGD 펩티드가 도입된 알긴산/히알루론산 하이드로젤 제조 모식도 및 소동물 모델에서 재생한 연골조직의 Safranin-O 염색 사진.

최근의 연구결과에 따르면 알긴산 하이드로젤에 도입된 세포부착 리간드의 나노 크기의 공간배열이 골모세포의 분화와 성장 속도를 조절하는데 결정적인 역할을 하였다.

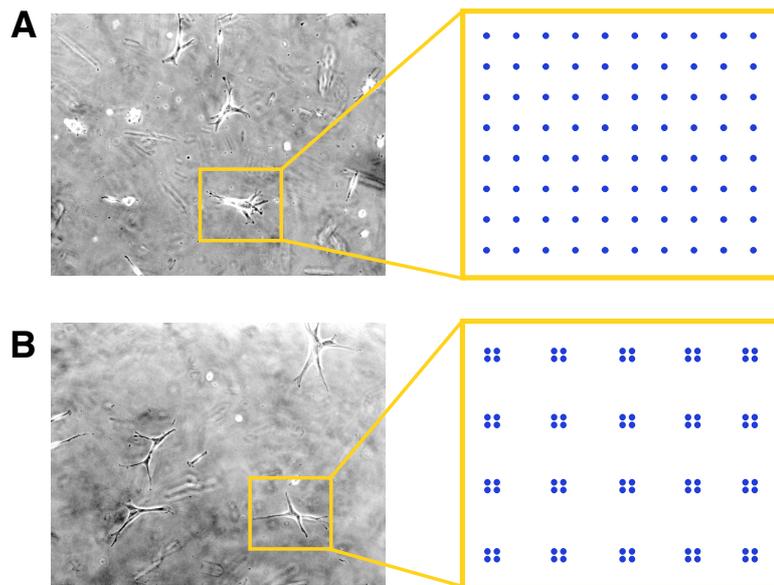


Fig. 5. 세포부착 리간드 공간배열의 모식도 (A, RGD 펩티드 간의 거리=62 nm; B, RGD 펩티드 간의 거리=78 nm).

RGD 펩티드의 공간배열 거리를 78 nm로 부터 36 nm로 감소시켰을 때 골모세포의 성장 속도는 $0.59 \pm 0.08 \text{ day}^{-1}$ 에서 $0.73 \pm 0.03 \text{ day}^{-1}$ 로 증가하였고, 골모세포 분화의 전형적인 표지물로 쓰이는 osteocalcin의 양이 약 4배 정도 증가하였다[10].

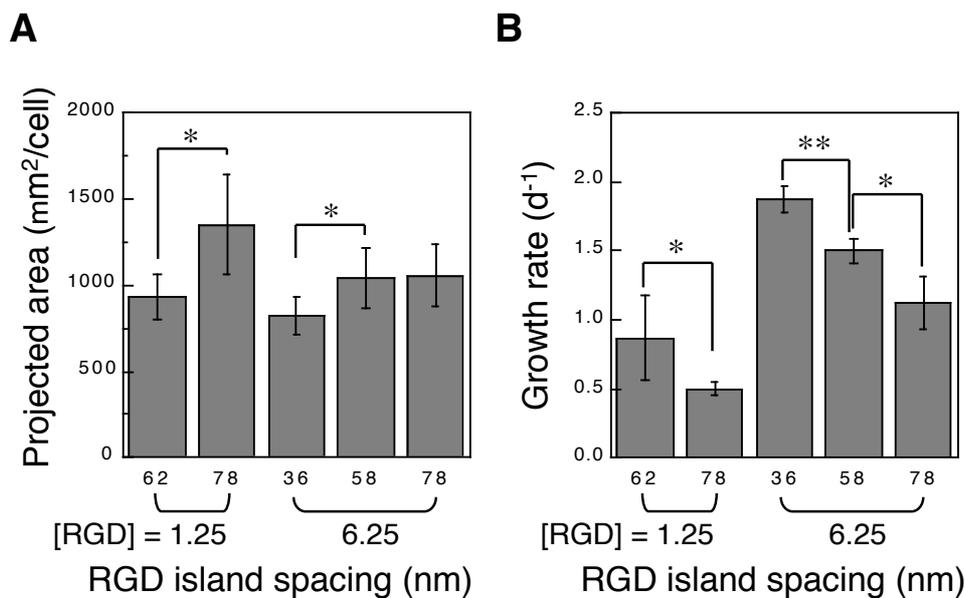


Fig. 6. RGD 펩티드가 나노 크기로 공간 배열된 알긴산 하이드로젤에서 배양한 골모세포의 부착 및 성장(A, projected area; B, growth rate).

참고문헌

- [1] J. E. Babensee, et al., *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **33**, 111 (1998).
- [2] R. J. Mumper, et al., *J. Control. Release*, **30**, 241 (1994).
- [3] J. Lee, K. Y. Lee, *Pharm. Res.* **26**, 1739 (2009).
- [4] K. A. Smeds, et al., *J. Biomed. Mater. Res.*, **55**, 254 (2001).
- [5] J. Rassing, D. Attwood, *Int. J. Pharm.* **13**, 4755 (1983).
- [6] K. Smentana, *Biomaterials*, **14**, 1046 (1993).
- [7] J. A. Rowley, G. M. Madlambayan, D. J. Mooney, *Biomaterials*, **20**, 45 (1999).
- [8] H. Park, et al., *Macromol. Biosci.*, **9**, 895 (2009).
- [9] H. Park, K. Y. Lee, *Carbohydr. Polym.*, **86**, 1107 (2011).
- [10] K. Y. Lee, et al., *Nano Letters*, **4**, 1501 (2004).