

## 상처도포제를 위한 Collagen-GAG 스폰지의 제조

정삼현, 정운재, 이재관

중앙대학교 생물공학과

전화 (031) 670-3066, FAX (031) 675-0407

### 서론

콜라겐은 상처 혹은 화상치료를 위한 도포제로 이용되고 있다. 또한, 콜라겐의 저항원성, 생분해성, 생체적합성 등이 우수하기 때문에 지혈제, 연조직 보강 및 조직재생 재료로 사용되고 있다. Glycosaminoglycan (GAG)은 extracellular matrix (ECM)에 존재하는 탄수화물-단백질과 결합하거나, 혼합된 상태로 분산되어 있다. GAG는 조직의 분화, 세포이동 및 부착에 중요한 기능을 한다. 세포증식에 필수적인 세포성장인자는 GAG에 결합되어 안정화된 구조를 유지하여 활성을 나타내고 프로테아제에 의한 분해로부터 보호된다. GAG의 일종인 chondroitin-6-sulfate (C6S)는 mucopolysaccharide로서 연골, 뼈 및 결합조직의 주요 성분이다. 이것은 단백질과 결합되어 proteoglycan을 형성한다. 본 보고에서는 C6S를 포함하는 가교 콜라겐 스폰지를 제조하고 특성을 조사하였다.

### 재료 및 방법

#### 콜라겐의 추출

산 용해 콜라겐을 성돈의 피부로부터 추출하여 사용하였다. 추출과정을 간략하게 설명하면, 제모된 피부로부터 지방 성분을 물리적으로 제거한 후, 10x10 mm 정도의 pellet으로 자르고 염산/초산 용액에서 콜라겐 성분을 추출하였다. 추출된 콜라겐 용액은 같은 부피의 포화 NaCl 용액으로 염석시켜 콜라겐 성분을 침전시켰다. 콜라겐 침전은 Milli Q water로 투석한 후 염산/초산 용액에 녹였다. 이 과정을 5회 반복하여 불순물을 제거하였다. 제조된 콜라겐 용액은 1% 농도로 희석하여 -70°C에 보관하였다.

#### 스폰지 제조

콜라겐 스폰지는 petridish에 5 g을 고르게 분주하여 -70°C에 냉동시킨 후, 동결건조법에 의해 다공성 matrix로 제조하였다. 디스크 형태로 가공된 스폰지를 10-ml hexamethylene diisocyanate (1% in MeOH) 용액에 10분간 가교를 시킨 후, 메탄올 및 증류수로 세척하여 동결건조 과정을 거쳐 데시케이터에 보관하였다. C6S는 스폰지 제조시에 혼합하여 첨가하였다.

#### 인장강도 및 pore 측정

인장강도는 10x20 mm의 시료를 준비하여 Rheometer를 사용하여 측정하였다. Pore 크기는 microscopic image analyzer를 사용하여 측정하였다.

#### 세포독성 및 Histology

제조된 스폰지의 세포독성은 primary fibroblast cell을 스폰지와 함께 배양한 후 7일 후 MTT assay를 통해 세포활성을 측정하여 조사하였다. 콜라겐 스폰지를 nude mouse의 피하 조직에 이식한 후 조직 적합성 검사를 실시하였다. 7일 후 염증반응 및 세포의 infiltration을 H&E 염색법에 의해 조사하였다.

### 결과 및 고찰

동결건조법에 의해 제조된 콜라겐 스폰지는 100-150  $\mu\text{m}$ 의 pore를 가지는 다공성 구조로 이루어져 있고, 공극율은 97% 이상 이었다. C6S의 첨가에 의해 인장 강도가 증가하였고, 0.07 MPa의 최대치를 보였다. Yannas와 Burk는 C6S의 첨가가 콜라겐의 분해를 감소시키고, 강도 및 탄력성을 증가시키는 것으로 보고하였다 (1). C6S의 첨가에 의해 콜라겐 스폰지의 pore size는 증가하였다. 그러나, 고농도의 C6S는 pore size에 영향을 주지 못했다. 콜라겐-C6S 스폰지의 형태는 Pieper 등이 관찰한 것과 유사한 것으로 나타났다 (2).

C6S는 콜라겐 스폰지에서 fibroblast 세포의 증식을 향상시키는 것으로 관찰되었다. 마우스의 피하에 이식된 콜라겐 스폰지에서는 염증세포가 관찰되었고, 이식된 스폰지가 진피층으로부터 탈착되는 것이 관찰되었다. 그러나, 콜라겐 스폰지에 C6S를 첨가한 경우 상대적으로 염증세포의 침윤이 적었으며 콜라겐 스폰지와 진피가 잘 융합된 소견을 보였다. 침윤된 세포는 염증세포보다는 주로 epitheloid cell로 구성되어 있었다.

### References:

1. Yannas I.V., et al. : J. Biomed. Mat. Res., 14:65-81, 1980.
2. Pieper J.S., et al. : Biomaterials, 20:847-858, 1999.

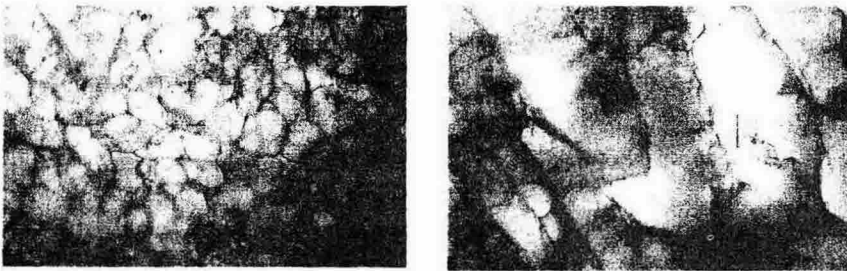


Fig1. Photographs of cross section of collagen (left) and collagen-CS sponge (right) (x10, Bar is 100 $\mu\text{m}$ ).

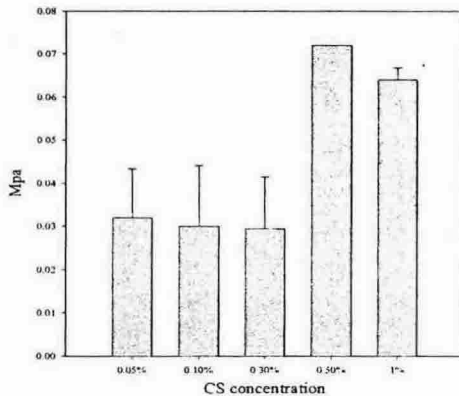


Fig2. Ultimate tensile strength of collagen-CS sponge (wet-state).