

조직재생용 고분자-세라믹 하이브리드 생체재료

김해원

1. 서론

오늘날 각종 사고나 노인성 질환으로 인해 손상된 조직이나 장기를 원래대로 복구하고자 하는 요구는 급증하고 있으며, 이에 따라 신약의 개발이나 치료법의 변화와 함께 손상 부위를 인공적으로 대체할 물질, 즉, 생체재료(biomedical materials: biomaterials)의 개발을 통해 재건하고자 하는 전세계적인 노력이 모아지고 있다. 이는 조직공학(tissue engineering)과 재생의학(regenerative medicine)이라는 의학과 공학이 접목된 새로운 연구분야를 통해 그 개발속도가 빨라지고 있다. 비록 현재의 연구개발 수준으로는 생체의 자가재생기능을 그대로 소화해낼 만한 대체재료나 시스템을 확보하는데 여러 한계가 있지만, 그 동안 진행된 실험적 임상적 연구 결과들은 다양한 영역에서 조직의 성공적 재건을 위한 생체재료가 개발될 수 있다는 희망을 갖게 하는데 충분하다고 할 수 있다.

임상적으로 응용되고 있는 의료용 재료의 대표적 예로는 조직공학기술을 이용한 인공피부(artificial skin), 혈관확장을 위한 스텐트(stent), 인공고관절(hip joint), 그리고 치과용 임플란트 등 실로 다양하다. 이러한 이식용 생체재료(implantable biomaterials)들은 재건해야 할 조직의 특성에 따라 특별히 요구되는 생체내 기능들을 수행해야 하기 때문에 그에 맞는 적절한 물리화학적, 역학적, 그리고 생물학적 특성을 갖추도록 개발되어야 한다.

인체의 조직은 크게 세포(cells)와 세포 외 기질(extracellular matrix: ECM)로 이루어져 있다. 따라서 조직의 손상이란 세포뿐 아니라 세포 외 기질이 손상된 것인데, 생체의 자발적 복구 시스템에 의해 주위의 세포들이 결집되고 손상된 조직을 대신할 새로운 기질과 세포가 생성되는 일련의 과정을 통해 조직은 복구되게 된다. 이 자발적 치유 과정에서 생체재료의 불가피한 사용은 외부 개체(foreign body)의 개입으로 인식되기 때문에 자가복구시스템과는 다른 새로운 생체 반응이 일어나게 된다. 따라서 이식될 생체재료는 가능하면 생체 특히 세포가 마치 자가조직처럼 인식하도록 개발하는 것이 바람직하다고 할 수 있다. 그래야만 생체재료가 이식될 때 생체가 외부기질반응을 최소화하여 새로운 조직을 만드는 복구시스템을 가장 효율적으로 빠르게 가동할 수 있기 때문이다.

인체의 여러 조직 중에서 뼈(bones)와 치아(teeth)로 대표되는

경조직(hard tissue)은 다른 조직과는 확연히 구별되는 물리화학적 생물학적 특성을 지니고 있다. 특히 세포 외 기질의 구성성분이나 관여하는 세포의 종류, 그리고 생체 내에서 수행하는 역할 등은 피부나 심혈관 등의 연조직(soft tissue)과는 매우 다르기 때문에 연조직을 재건하기 위해 널리 이용되었던 성공적인 고분자 생체재료들만으로 뼈와 치아를 완벽하게 재건하는 데는 많은 한계가 있다.

인체의 뼈와 치아는 다른 조직들과는 달리 세포 외 기질이 유기질만으로 이루어진 것이 아니라 무기질 성분을 포함하는 유-무기 복합체(composites) 또는 하이브리드체(hybrids)라 할 수 있다. 수분을 제외한 유기질 성분으로는 콜라겐(collagen)이 대부분을 차지하며 다양한 종류의 비콜라겐계 단백질(noncollagenous protein)과 당이 나머지를 차지하고 있다. 무기질로는 인산칼슘 화합물(calcium phosphates)인 수산화아파타이트(hydroxyapatite: HA, $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$) 결정이 대부분이며 다른 인산칼슘들이 일부 섞여 있다. 더욱이 이러한 유기질과 무기질이 일정한 비율로 단순히 섞여 있는 것(mixture)이 아니라 수십~수백 나노미터 크기의 무기질 결정들이 유기질 내에 규칙적으로 배열되어 있다. 이러한 생체 유-무기 나노복합체가 결합되는 과정은 세포 내 시그널 과정(intracellular signaling)을 비롯하여 세포 외에서의 다양한 단백질과의 상호작용을 통해 오랜 시간을 거쳐 이루어지며 생성된 조직은 외부의 자극에 따라 그 조성과 구조가 일생 동안 끊임없이 변화를 하게 된다.¹ 이처럼 뼈와 치아 조직은 세포의 매개를 통한 유기질과 무기질의 하이브리드화 과정으로 이루어져 있어 역학적 생물학적 기능을 가장 효과적으로 수행할 수 있도록 설계된 '최소비용으로 최대효과'를 취하는 자연의 섭리를 충실히 따른다고 하겠다.

그 동안 뼈나 치아의 경조직을 성공적으로 재건하기 위해 다양



김해원

1997 서울대학교 재료공학부(학사)
 1999 서울대학교 재료공학부(석사)
 2002 서울대학교 재료공학부(박사)
 2000 미국표준과학연구소 방문연구원
 2003~2004 영국런던대학 치의학연구소 리서치펠로우
 2004 서울대학교 신소재공동연구소 선임연구원
 2005~현재 단국대학교 치과대학 생체재료학과 전임강사

Bioactive Ceramics-Degradable Polymer Hybridized Biomaterials for Tissue Regeneration

단국대학교 치과대학 생체재료학교실 (Hae-Won Kim, Department of Biomaterials Science, School of Dentistry, Dankook University, San 29, Anseo-dong, Cheonan-si, Chungnam 330-714, Korea) e-mail: kimhw@dku.edu

한 의료용 재료들이 개발되었다. 그 대표적인 것이 치과 및 정형외과용 임플란트(implants)와 골 이식용 재료(bone grafts)라 할 수 있다. 임플란트의 경우 비록 세라믹이나 고분자 재료가 일부분에서 역할을 하고 있지만 금속이 주를 이루고 있다. 이는 아직 금속재료만큼 강도(strength)나 파괴인성(fracture toughness) 등 우수한 역학적 물성을 지닌 고분자나 세라믹 재료가 개발되지 않았기 때문이다. 임플란트 시술과 함께 사용되는 골 이식용 재료로서는 생활성 세라믹(bioactive ceramics)와 생체 고분자(biopolymers)가 사용되고 있으며, 자가이식(autografts)이나 동종이식재(allografts)를 대체하는 비율이 증가하고 있다. 그러나 생활성 세라믹은 우수한 골재생 능력에 비해 취약한 역학적 물성으로 인해 임상적 응용에 한계를 지니고 있으며, 고분자의 경우 골재생능력이 생활성 세라믹에 비해 떨어지는 등 생체 특성면에서 개선되어야 할 부분이 많이 있다. 따라서 최근에는 생활성 세라믹을 생체 고분자와의 복합화를 통해 역학적 생물학적 특성을 최적화하는 연구가 전 세계적으로 많이 이루어지고 있다.

저자는 지난 수년간 인체의 경조직을 성공적으로 재건하기 위한 대체물질로서 고분자-세라믹 하이브리드체를 개발하는데 주력하였다. 본 논문에서는 최근 관심이 증대되는 경조직 대체물질로서 고분자-세라믹 재료의 하이브리드 연구개발 현황에 대해 지난 수년간 본 연구실에서 진행되어 온 연구결과들을 중심으로 이야기하고자 한다.

2. 본론

2.1 고분자-세라믹 하이브리드 생체재료

2.1.1 생분해성 고분자-생활성 세라믹

2.1.1.1 하이브리드화/복합화

인체의 골 조직은 콜라겐 섬유의 유기질에 아파타이트 나노 결정의 무기질이 일정하게 침착된 유-무기 나노복합체(organic-inorganic nanocomposites)라 할 수 있으며, 이러한 독특한 구조적 특성으로 인해 매우 효과적인 생역학적 기능(biomechanical functioning)을 수행하게 된다.¹ 따라서 생활성 세라믹과 생분해성

고분자의 하이브리드화는 골조직을 모방하는 연구의 시작이라 할 수 있으며, 나아가 골의 특성을 인공적으로 재현해 낼 수 있는 기술의 출발이라 하겠다. 생활성 세라믹은 일반적으로 탄성계수가 매우 높으며 충격에 약하기 때문에 탄성계수가 낮으며 충격에도 쉽게 부러지지 않는 고분자 재료와의 융합을 통해 골과 유사한 역학적 물성을 지니게 할 수 있다.

초기의 생체재료의 복합화는 수산화아파타이트(HA)와 인산삼칼슘(TCP, tricalcium phosphate) 등의 생활성 세라믹의 분말과 폴리에틸렌이나 폴리에스테르계의 합성 고분자를 직접 혼합하여 만든 것으로 Bonfield 등에 의해 오래 전부터 관심을 가졌다. 세라믹 분말을 고분자 용액과 혼합하여 고분자의 성질을 고려한 비교적 낮은 온도에서 복합체를 합성하며, 세라믹과 고분자의 양 및 종류에 의해 역학적 생화학적 물성이 조절되며, 적절한 혼합비에 의해 골과 유사한 탄성계수와 강도를 얻을 수 있다고 하였다. 현재 생활성 세라믹으로는 HA나 TCP의 인산칼슘계 세라믹과 생체활성유리 및 유리세라믹(bioactive glasses/glass ceramics) 계통이 사용되고 있으며, 고분자로는 주로 poly(α -hydroxyl acid)계통의 poly(lactic acid) (PLA), poly(lactic-co-glycolic acid) (PLGA), 그리고 poly(ϵ -caprolactone) (PCL) 또는 유기물에서 얻은 poly(hydroxy anhydride) (PHA) 계통의 생분해성이 많이 연구되고 있다(표 1). 복합체는 대개 용매를 이용하거나 용점 위에서 녹인 고분자와 생체 세라믹 분말을 혼합하여 만들어 진다. 최근에 생체 복합체에 대한 우수한 *in vitro* 및 *in vivo* 특성을 보고하는 데이터가 축적되고 있는데, 순수한 생분해성 고분자에 비해 복합체는 우수한 세포 부착과 증식을, 그리고 골세포로의 분화능력을 보이고 있으며, 골 형성능 또한 탁월하다. 또한 탄성계수와 같은 역학적 물성도 골 조직과 비슷하게 조절될 수 있음을 보고하고 있다.

본 연구그룹에서는 최근 연구에서 HA 또는 생체활성유리를 생분해성 고분자인 PCL이나 PLA과의 복합화를 통해 세라믹이나 고분자의 단일 성분에 비해 복합체의 경우 골 대체물질로서 적절한 역학적 물성을 얻을 수 있음을 알 수 있었다.^{2,3} 순수한 PCL에 비해서 HA-PCL복합체의 경우 HA 함량이 늘어날수록 세포의 증식 및 ALP 활성도가 증가하였으며, 혼합비에 따라 역학적 물성 또한 조절될 수 있었다(그림 1). Kikuchi 등은 HA/TCP-PLA 복합체

표 1. 의료용 유-무기 복합체로 이용되는 생활성 세라믹과 생분해성 고분자

	생활성 세라믹		생분해성 고분자
인산칼슘계 세라믹 (Calcium phosphates)	HA : hydroxyapatite TCP : tricalcium phosphate (α -/ β -phase) TTCP : tetracalcium phosphate DCPA : dicalcium phosphate anhydrous	천연고분자 (Natural polymers)	Collagen Gelatin Chitin/Chitosan Alginate Hyaluronic acid Chondroitin sulfate Fibrinogen Cellulose
생활성 유리 (Bioactive glasses)	Silica-based glasses Phosphate-based glasses Glass ceramics	생분해성 합성고분자 (Degradable synthetic polymers)	PLA : poly(lactic acid) (L, DL type) PGA : poly(glycolic acid) PLGA : poly(lactic-co-glycolic acid) PCL : poly(ϵ -caprolactone) PHB : poly(β -hydroxybutyrate) PDO : poly-1,4-dioxane-2-one PTMC : poly(trimethylenecarbonate)

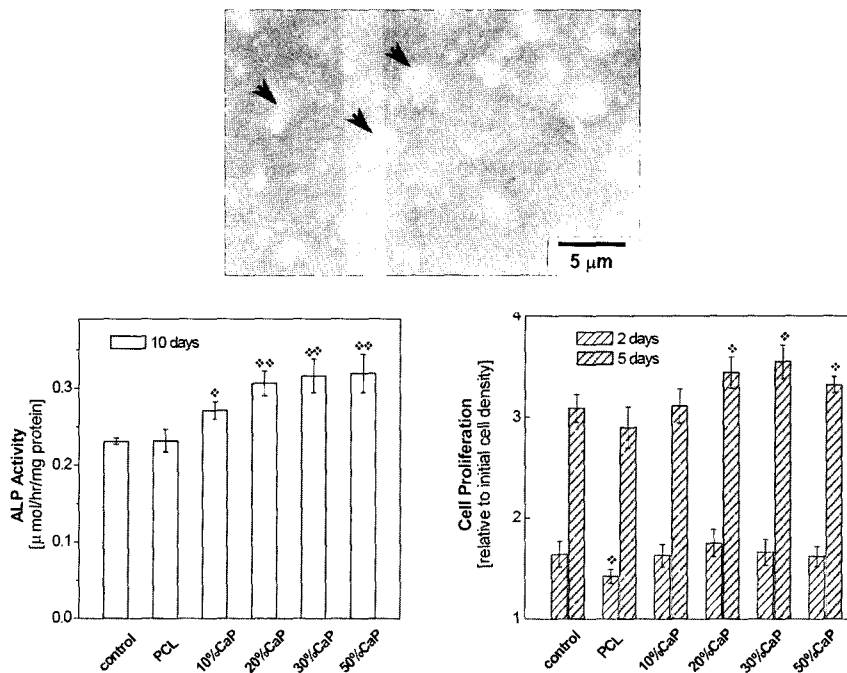


그림 1. 제조된 HA-PCL 생체 복합체의 미세구조 사진과 골세포의 ALP활성도 및 증식률.^{2,3}

의 연구에서는 순수한 PLA에 비해 HA/TCP-PLA 복합체의 경우 용액 내에서 pH의 감소나 강도의 감소가 월등히 적게 일어남을 보고하였는데,^{4,5} 이는 생분해성 고분자가 골 대체재료로서 지닌 한계를 생체활성 재료의 첨가로 극복할 수 있는 가능성을 보여주는 것이라 하겠다. 또한 다른 한편으로 생체세라믹스가 골 대체재료로서 제한적 응용 범위에서만 쓰이는데 비해 생분해성 고분자와의 복합화를 통해 충격에 잘 견디며, 다양한 형태로의 성형이 용이하여 골 대체재료로서 보다 넓은 응용을 찾을 수 있다.

이러한 복합체는 고분자 성분 때문에 다양한 형태로의 성형이 가능하므로 bone fixation재료(bone screw나 bone plate)로 응용 분야를 찾을 수 있다. 이와 같은 외과적 생체재료로는 현재 금속이 대다수를 차지하고 있는데, 최근 PLA 계통의 고분자 재료가 등장하면서 체내에서 완전히 흡수되는 bone screw/plate로 많은 기대를 불러 일으키고 있다. 그러나 순수 고분자로만 이루어진 bone screw의 경우 적용 분야에 따라 다소 차이는 있지만 대개 시술 후 수 년이 경과해도 완전히 흡수되지 않고 조직과 함께 오래도록 잔류해 있다는 보고가 많으며, 분해 시 높은 산성을 나타내어 inflammation을 일으키거나, 재료가 잔류해 있지만 분자량의 감소로 인해 기계적 강도가 급격히 저하되는 등의 문제점이 지적되고 있다. 이때 생체활성 세라믹이나 유리를 첨가할 경우 분해 시에도 이온의 용출로 인해 pH가 중성으로 유지되어 생분해성 고분자 재료에 비해 강도의 급격한 저하가 일어나지는 않도록 해 준다.

더욱이 생분해성 고분자를 기질로 한 복합체는 특정한 약물이나 단백질 등을 복합체 내에 함유하여 효과적으로 방출할 수 있는 약물전달체계(drug delivery system)로도 활용이 가능하다. 이는 고분자의 합성이나 가공이 세라믹에 비해 저온에서 이루어지므로 약물을 함유시키기에 세라믹보다 훨씬 용이하고 약물을 지니고 방출하는 능력이 일반적으로 우수하기 때문이다. 이에 대한 연구결과들은 다음 장에서 좀 더 설명하겠다. 아직 골 대체물질로서 생체활성

세라믹과 생분해성 고분자의 복합체에 대한 활발한 연구는 전세계적으로도 상당히 최근의 일이라 장기간의 동물실험이나 임상 데이터가 많이 축적되지 있지는 않지만 골을 대체할 수 있는 재료로서 생체복합체의 전망은 매우 밝다고 할 수 있다.

이러한 복합체의 특성은 분명 복합화 되는 성분들의 종류 및 특성뿐 아니라 복합화 되는 양상에 크게 의존한다. 즉 얼마나 균일하게 작은 단위로 복합화를 하느냐는 역학적 특성뿐 아니라 조직과의 반응에서도 매우 중요하다고 할 수 있다. 그러나 현실적으로 생분해성 고분자와 생체활성 세라믹스를 균일하게 나노단위로 복합화 하는 데는 상당한 한계가 있다. 이는 생분해성 고분자가 유기용매에 잘 녹으며 hydrophobic 한데 반해 세라믹 분말은 수분과 잘 어울리며 유기용매에서는 반대로 응집(agglomeration)이 심하게 일어나기 때문에 초기 세라믹 분말이 초미세 나노 분말의 경우에도 복합화 하는 과정에서 응집이 일어나 나노복합체를 제조하는데 어려움이 있다. 이럴 경우 복합체의 파괴가 주로 응집된 세라믹 입자에서 일어나게 되는데, 이러한 복합화의 문제점을 해결하고자 하는 노력이 최근에 본 연구그룹을 비롯하여 시도되고 있으며, 이에 대해서는 다음 장에서 설명하기로 하겠다.

2.1.1.2 나노하이브리드화 기술

대부분의 의료용 세라믹-고분자 복합체는 세라믹의 나노 입자들이 뭉쳐져 고분자 기질 내에 분포되어 있는 형태라서, 엄밀히 말해 마이크로 단위로 섞여있는 복합체라 할 수 있다. 이러한 마이크로 복합체를 나노단위의 세라믹 입자가 균일하게 섞여 있는 나노복합체로 개발할 수 있다면 여러 가지 물성들을 증진시킬 수 있을 것이다. 역학적 물성 측면에서는 보면 우선 세라믹 성분을 나노 단위로 분포시킴으로써 파괴 입자의 크기를 감소시킬 수 있다. 이와 같은 세라믹-고분자의 나노복합체에 대한 연구는 의료분야에서는 치과용 수복재료에서 이미 상당한 연구가 되었다.

최근 이식용 생체복합체를 나노 단위로 복합화하기 위한 연구가

어느 정도 진행되었는데 크게 두 가지로 볼 수 있다. 그 한가지는 생체 세라믹스의 분말을 초미세입자로 만들고 용액 내에서 이의 분산 특성을 높이는 연구가 하나이고 다른 하나는 생체 세라믹스를 고분자 기질 내에서 합성하는 방법이다. 전자에 대한 연구의 예로는 최근에 본 연구실에서는 이루어진 것으로서 HA 분말을 솔-젤 법으로 수십 나노미터 크기로 제조하고 이를 생체계면활성제를 사용하여 PLA 용매 내에 균일하게 분산시켜 얻은 나노복합체가 있다.⁷ 추후 고분자와 세라믹의 계면 결합을 강화시키는 방안 등의 연구가 필요하다고 할 수 있다. 후자에 대한 연구로는 칼슘과 인 원료를 사용하여 고분자를 합성함과 동시에 HA 결정을 침전시켜 나노복합체를 얻은 것이 대표적이다. 그러나 고분자 내에서의 HA 결정화가 고분자 기질에 의해 상당히 제한을 받았으며, 칼슘과 인의 반응으로 생성된 부산물로 인해 다공성의 복합체를 얻을 수 밖에 없는 한계를 보였다.⁸ 이는 추후 HA 원료의 선택 및 합성 반응을 개선함으로써 치밀한 나노복합화를 얻을 수 있을 것으로 기대된다. 최근의 한 연구에서는 아미노산을 이용하여 HA의 나노결정의 침전을 유도함과 동시에 고분자를 자체적으로 합성하여 나노복합체를 제조하기도 하였다.⁹ 다만 이 경우 수율 및 경제적인 측면을 개선할 필요가 있다고 하겠다. 또 다른 연구로서 Rhee 등은 인산칼슘계 세라믹의 결정상 대신 실리카 계의 무기물을 이용하여 생분해성 고분자와의 하이브리드화 반응을 통해 생체 나노하이브리드를 제조하기도 하였다.¹⁰

제시된 일련의 연구들은 생체세라믹과 생분해성 고분자의 나노복합화 연구에 있어 선구적인 역할을 하고 있지만 응용 단계까지 많은 연구가 필요하며, 특히 나노복합체의 생체적 특성에 대한 심도 있는 연구는 미흡한 상태이다. 특히 기존 복합체와 비교할 때 나노 단위의 결합상태 및 조성분포는 분명 세포의 초기 부착기전을 포함한 조직과의 반응에 있어 특별한 역할을 수행할 것으로 기대된다. 이는 기존의 순수한 재료(티타늄, 알루미늄, 티타니아 등)에서 이루어진 나노 단위로 제어된 표면특성(표면 조도 및 입계 크기 등)이 단백질 흡착과 세포의 부착 및 증식 등의 조직반응을 우수하게 이끌었다는 연구보고들을 통해 가늠해볼 수 있다. 최근에 본 연구진에 의해 이루어진 HA-PCL 나노복합체의 골세포 반응에 대한 연구에서 기존 복합체에 비해 나노 단위로 복합화된 HA-PCL가 훨씬 우수한 골세포 증식률을 보였다는 것은 이러한 맥락에서 중요한 단서를 제공하고 있다고 할 수 있다.⁷

2.1.2 생체고분자-바이오미네랄 하이브리드 재료

2.1.2.1 아파타이트-콜라겐 나노하이브리드체(Apatite-Collagen Nanohybrids)

골 대체재료의 나노하이브리드화 기술은 앞서 설명한 생활성 세라믹스의 나노분말을 사용하여 생분해성 고분자와의 복합화를 통해 서편 아니라 생체 내에서 일어나는 골의 형성 과정과 비슷한 조건을 모사하여 골 구조와 유사한 생체하이브리드체를 만드는 생체모방법을 통해서 가능하다. 천연 고분자인 콜라겐 섬유에 아파타이트 결정을 미네랄리제이션 과정을 통해 만든 아파타이트-콜라겐 나노하이브리드체는 그 대표적 예라고 할 수 있다.

이러한 생체모방법은 골 형성 과정을 인위적으로 모사하여 구조 및 특성을 골의 그것과 비슷하게 하고자 하는 의도에서 비롯되었다고 볼 수 있는데, 오늘날까지 많은 골 대체재료들이 개발되었음에도 자가골 이식에 견줄만한 골재생 능력을 보이는 인공재료가 없

는 현실에서 이러한 생체모방 기술은 반드시 추구해야 할 과제로 남아 있다. 골 대체용 생체재료의 개발에서 생체모방은 엄밀히 말해 '세포 외 골 기질을 모방'하고자 하는 것이다. 앞서 말했듯이 골을 구성하는 요소 중 세포와 수분을 제외한 골 기질(extracellular matrix)은 무기질인 아파타이트 나노결정과 유기질의 콜라겐 섬유상이 나노단위로 규칙적으로 잘 결합된 하나의 나노하이브리드체라 할 수 있다. 물론 무기물로는 아파타이트 상 이외에 다른 인산칼슘이 일부 있으며, 유기질 또한 콜라겐 이외에 단백질이나 당 등의 다른 유기질이 소량 있지만, 거의 대부분이 아파타이트와 콜라겐이라 할 수 있다.

생체 내에서 아파타이트 결정과 콜라겐 섬유의 형성 및 조직적 배열은 장기간에 걸쳐 매우 복잡한 과정을 통해 일어난다. 형성 메커니즘이 아직 명확히 규명되지 않았지만 일련의 과정 중 중요한 원리는 먼저 형성된 콜라겐 섬유상에 아파타이트 나노결정이 침착되며, 그 과정 중 콜라겐과 아파타이트 결정은 점진적으로 구조적 안정성을 잡아가게 된다는 것이다. 또한 콜라겐 이외에 다른 종류의 단백질이나 당이 침착과정에 중요하게 관여한다는 것이다. 따라서 이러한 원리에 기초하여 오래 전부터 콜라겐 내에서 아파타이트 결정을 인공적으로 형성하고자 하는 노력들은 많이 있어 왔다.¹¹

본 연구실에서도 칼슘과 인 원료를 콜라겐 용액과 분리 준비하여 콜라겐 섬유상 내에서 칼슘과 인이 반응하게 하여, 아파타이트 결정이 침전되고 성장하여 자가결합(self-assembly)된 나노하이브리드체를 형성하였다(그림 2). 이렇게 만들어진 아파타이트-콜라겐 나노하이브리드체는 콜라겐이 섬유상으로 잘 발달되어 있으며, 함께 형성된 아파타이트는 결정이 수~수십 나노미터 크기로서, 국부적으로 골을 적절히 모방하고 있었다.

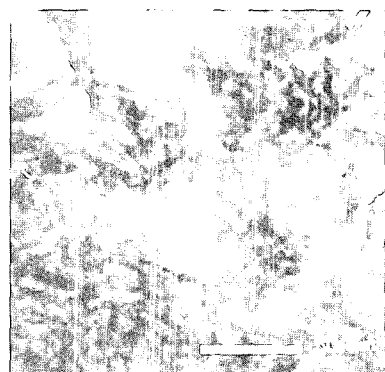
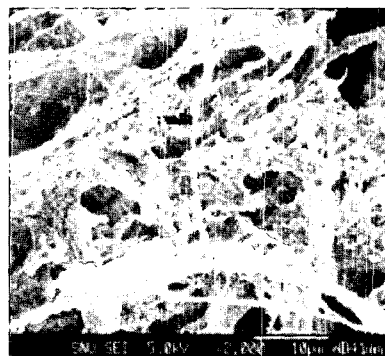


그림 2. 골조직을 모방하여 제조한 골대체물질로서 공침법을 이용한 아파타이트-콜라겐 나노하이브리드체의 미세구조 사진.^{12,13}

특히 아파타이트-콜라젠 나노하이브리드체를 멤브레인 형태로도 제조하는데 성공하였으며, 이는 순수한 콜라젠에 비해 월등히 우수한 역학적 생물학적 특성을 나타내었다. 특히 현재 상용중인 순수한 콜라젠 멤브레인이 낮은 강도와 수분 흡수로 인한 부피 팽창, 그리고 분해효소에 의해 단기간에 용해되어 없어지는 단점으로 인해 조직유도 재생용으로써의 많은 한계를 보이는데 반해 본 연구실에서 개발한 아파타이트-콜라젠 나노하이브리드체 멤브레인은 높은 강도와 낮은 부피팽창, 그리고 분해 효소에 대한 우수한 안정성을 보이면서, 그 이용가치를 매우 밝게 하고 있다.^{12,13}

비록 골 조직을 모방하는 현재 기술이 매우 초기 단계이며, 제조된 아파타이트-콜라젠 나노하이브리드체의 특성도 골의 그것에는 미치지 못하지만, 이는 향후 골의 형성 과정에 대한 정확한 메커니즘의 규명을 통해 해결해야 할 궁극적 과제 중 하나라 하겠다.

2.1.2.2 아파타이트-비콜라젠계 천연고분자 나노하이브리드화

아파타이트-콜라젠 나노하이브리드체의 제조기술을 기초로 다른 천연고분자들과의 나노하이브리드체에 대한 연구들도 보고되고 있다. 이러한 연구들은 콜라젠에 비해 경제성이 높은 천연고분자들을 사용하였음에도 우수한 생체적 특성들을 지니고 있음을 보고하고 있는데, 대표적인 것이 키토산(chitosan)과 젤라틴(gelatin)을 통한 나노하이브리드체이다. 특히 젤라틴은 콜라젠의 아미노산 구조를 일부 지니고 있으며, 미네랄리제이션 과정도 유사하여 콜라젠을 대신하여 다양한 형태의 생체재료로 이용되고 있다. 본 연구그룹에서도 아파타이트-젤라틴의 나노하이브리드화에 대한 일련의 연구를 수행하였는데, 나노하이브리드 구조의 스카폴드를 비롯하여 마이크로 입자 그리고 나노섬유가 대표적이다(그림 3).^{14,15} 이들의 생물학적 유용성에 대해서는 다음 장에서 자세히 다루기로 하겠다.

몇몇 연구들은 또한 키토산과 아파타이트와의 나노하이브리드화를 시도하였다. 이는 키토산이 콜라젠에 비해 상대적으로 역학적 특성이 우수하기 때문에 골 조직 대체물질로서 어느 정도 장점을 지닐 수 있기 때문이다. 특히 키토산은 자체의 화학적 특성으로 인해 다양한 종류의 약물들을 전달하는 전달체의 원료로서 많이 연구되었다. 이는 골을 재생할 수 있는 생체활성 물질들을 나노복합체에 이용하고자 할 때 의미가 있을 것이다.^{16,17}

비록 콜라젠이 골의 유기물 성분 중 대부분을 차지하는 중요한 구조 단백질이지만 세포의 작용과 관련된 다양한 기능들을 수행하는 것은 주로 비콜라젠성 단백질이나 다당류라 할 수 있다. 따라서 최근 이루어진 연구는 아파타이트-콜라젠 나노복합체에 하이알루론산(hyaluronic acid)이나 콘드로이틴 설페이트(chondroitin sul-

ate)와 같은 다당류를 함께 첨가함으로써 아파타이트 미네랄 및 생체특성을 증진시키고자 하는 연구들이 본 연구실을 포함하여 진행되고 있다.

이러한 아파타이트-천연고분자들의 나노하이브리드체는 골 조직의 조성과 구조를 상당히 모방하고 있으나, 역학적 특성에 있어서는 자가골의 그것에 미치지 못한다. 이는 생체모방 나노하이브리드체를 응용하는데 있어 큰 제약이 되고 있는데, 이를 극복하기 위해 천연고분자와 더불어 합성고분자를 생체 세라믹스와 함께 이용할 필요가 있다. 본 연구실에서도 이에 대한 연구들을 현재 진행 중이다.

2.2 생체기능성 하이브리드화와 골조직공학적 응용

2.2.1 골조직공학용 하이브리드 스카폴드(Bone Tissue Engineering of Hybridized Scaffolds)

80년대 후반 하버드-MIT팀에 의해 시작된 조직공학(tissue engineering) 분야의 연구는 지난 십 수년간 생체재료 분야와 더불어 급속한 성장을 가져왔다.¹⁸ 골조직공학은 생체재료만으로 골을 재생하기 보다는 세포와 같은 생물학적 인자들을 생체재료와 함께 융합함으로써 좀 더 자가조직과 유사하게 만들어 인공적인 생체재료가 지닌 한계를 극복할 수 있다는 개념에서 나온 것이라 할 수 있다. 여기서 생체재료는 골조직이 형성될 골격을 제공하는 스카폴드(scaffolds)로서 역할이 요구되며, 세포의 부착과 성장 및 골 형성 세포로의 분화를 촉진시킬 수 있어야 한다. 이를 위해 스카폴드는 구조가 치밀하기 보다 다공성으로 이루어져 혈액과 물질이동이 원활해야 하며, 세포의 침투가 용이해야 한다. 또한 스카폴드의 조성은 세포와 친화적이며, 적절한 조직 세포로의 분화를 촉진하고, 조직이 형성되는 동안 충분한 생역학적 기능을 수행하여야 한다. 실제로 피부나 다른 연 조직에 비해 경조직인 골을 조직공학적으로 재생하고자 하는 본격적인 노력은 늦게 시작되었다고 할 수 있다. 이는 고도로 분화된 조직인 골이 다른 연 조직에 비해 생물학적 기능뿐만 아니라 우수한 역학적 기능을 수행해야 하기 때문에 스카폴드로서 적절한 생체재료의 선택에 있어 많은 제약이 있었기 때문이다. 골은 비록 재생 능력이 뛰어나지만 완전히 복구되는데 필요한 시간이 길기 때문에 장기간의 연구가 필요한 것도 적절한 골조직공학용 스카폴드의 개발이 더딘 이유라 하겠다. 결론적으로 골조직공학용 스카폴드는 뛰어난 골세포분화유도 능력뿐 아니라 우수한 생역학적 특성이 요구된다고 할 수 있다.

본 연구 그룹에서는 지난 수 년간 이와 같은 우수한 역학적 물성과 함께 생체 기능성까지 지닌 골조직공학용 스카폴드의 개발에 주력해 왔으며, 본 장에서는 이 중 생체 고분자와 생활성 세라믹의 하

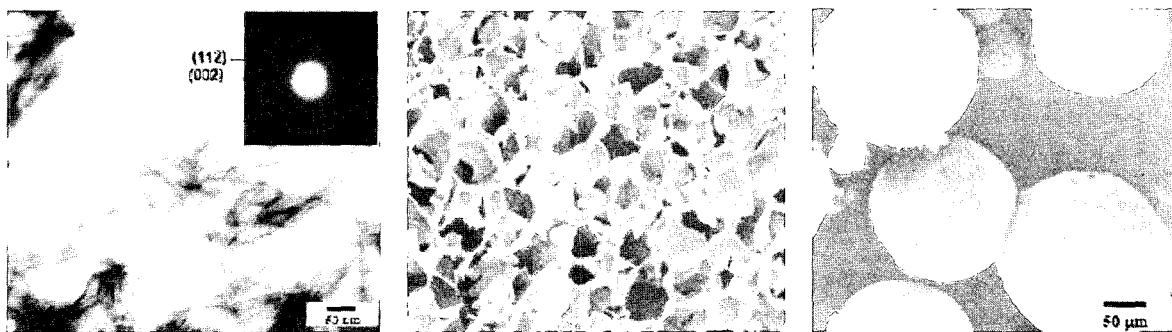


그림 3. 젤라틴-아파타이트 나노하이브리드체의 구조 및 마이크로 입자와 다공체 스카폴드로의 제조.^{14,15}

이브리드화에 대한 내용들에 대해 다룬다.

2.2.1.1 스카폴드의 하이브리드화 및 생체 기능화(Hybridization and Biofunctionalization of Scaffolds)

골재생 및 조직공학용 스카폴드를 개발하기 위해 고분자와 세라믹의 하이브리드화는 크게 두 가지로 방법으로 접근 할 수 있다. 우선 앞서 설명한 생분해성 고분자와 생활성 세라믹스의 복합체 기술이나 생체모방 나노하이브리드화 기술을 다공성 지지체를 제조하는 기술로 활용할 수 있다. 또 하나는 기존의 생체 고분자나 생활성 세라믹스의 스카폴드 표면에 다른 조성을 입히는 기술, 즉 스카폴드의 표면 개질법이라 할 수 있다.

전자의 경우에서 천연고분자-아파타이트의 나노하이브리드체를 다공체 구조로 제조하는 기술은 주로 동결건조법에 의해 이루어졌는데, 다공체의 경우 치밀한 하이브리드체에 비해 역학적 물성이 현저히 낮다는 것이 문제점이다. 하지만 하중이 주어지지 않는 부위에서 높은 vascularity와 세포의 증식이 필요한 경우 사용될 수 있다. 본 연구진도 젤라틴-아파타이트 나노하이브리드 조성을 동결건조법으로 다공체로 제조하였는데, 3차원 세포배양법을 통해 골세포 반응을 분석한 결과 순수한 젤라틴이나 단순히 혼합하여 제조한 복합체에 비해 나노하이브리드 다공체가 월등히 우수한 세포 부착과 증식 및 분화능을 보였다(그림 4).¹⁴

천연고분자의 역학적 취약성으로 인해 최근에 이루어진 대부분의 연구들은 생분해성 합성 고분자와 생활성 세라믹인 HA나 TCP 또는 생체활성유리를 복합화하여 다공성 스카폴드로 제조하고 이들의 골세포의 반응과 골형성능을 보고하고 있다.¹⁹ 모두 순수한 생

분해성 고분자에 비해 나노하이브리드체가 지닌 조성적 장점을 다공체라는 3차원 구조로 활용함으로써 조직을 재생할 수 있는 생물학적 능력을 최대한 이용하고자 한 것이다. 특히 하이브리드체는 고분자가 지닌 단점인 낮은 세포친화성 및 분해 시 수반되는 강도저하 등의 문제를 생활성 세라믹 조성이 완충해주는 역할을 효과적으로 수행한다고 보고되고 있다. 이러한 역할은 2차원 상의 세포 실험에서 보다 3차원의 동적 세포배양법 또는 동물시험 결과에서 잘 드러나고 있는데, 이는 하이브리드체의 조성이 골조직공학용 스카폴드로서 매우 중요한 의미를 지니고 있음을 간접적으로 보여주는 것이라 하겠다. 이 때 하이브리드의 조성을 다공성 구조로 형상화할 수 있는 것은 무엇보다 고분자의 우수한 성형성(formability/moldability) 때문이라 할 수 있다. 세라믹스는 원래 상온에서 다양한 형태로의 제조에 많은 제약이 따르지만 고분자의 경우 유기용매에 쉽게 녹거나 낮은 용점을 지니기에 하이브리드체를 복잡한 형상의 다공성 구조로 제조할 수 있는 것도 이러한 고분자의 장점을 살린 덕이라 볼 수 있다.

다른 연구로서 본 연구 그룹에서는 고온에서 치밀화를 통해 얻어진 HA 다공성 스카폴드의 역학적 취약성을 극복하고자 그 표면에 생분해성 고분자와 HA조성을 함께 섞은 복합 용액을 도포하기도 하였다(그림 5).^{20,21} 생분해성 고분자는 세라믹에 비해 강도가 그리 높진 않지만 부스러지거나 충격에 의해 쉽게 파절되지 않기 때문에 코팅 층으로 활용 시 손으로 다루기 힘들 정도로 취약한 HA 스카폴드를 강화하는 역할을 한다. 이후 비슷한 연구로서 Boccaccini 등은 생체활성 유리에 PLLA를 얇게 입힘으로써 생체활성유리에 비해 쉽게 파괴되지 않고도 생체활성을 유지할 수 있는 하이브리드체 스카폴드를 제조하기도 하였다.²²

최근 이러한 세라믹-고분자 하이브리드체의 스카폴드에 관한 연구는 새로운 제조공법과 더불어 다양한 특성분석이 이루어지고 있으며, 특히 조직공학개념을 적용한 줄기세포(stem cells)의 증식과 골세포로의 분화에 관한 융합연구가 한창 진행중이다. 또한 하이브리드체의 우수한 전임상 특성을 보고한 결과들이 축적되고 있다. 이러한 다공체 스카폴드의 경우도 앞서 언급한대로 고분자와 세라믹 성분간의 결합 양상을 나노 단위로 제어하여 역학적 특성을 높이는 것이 해결해야 할 과제 중 하나로 남겠다.

다른 연구로서는 생활성 세라믹스를 기질로 하기보다 생분해성 고분자를 기질로 하여 그 표면에 생체 미네랄인 아파타이트를 형성 시킴으로써 역학적 내구성을 지니면서도 우수한 골세포 특성을 지닌 표면을 만들기도 하였다.²³ 비록 표면의 특성으로 인해 초기 빠른 골 형성을 유도할 수 있지만, 이 경우 bulk 자체가 결국 생분해성 고분자로 이루어져 있기 때문에 생체 내에서 장기간 이용시 고분자의 분해 및 이에 따른 강도 저하 등의 문제가 발생할 수 있다.

이러한 하이브리드 스카폴드의 표면 또는 내부에 다양한 기능성 생체 단백질이나 약물을 함입시켜 전달함으로써 조직공학용 스카폴드의 기능을 극대화할 수 있다. 본 연구진은 앞서 설명한 시스템인 HA 스카폴드에 사용된 HA-PCL 복합코팅층 내에 기능성 약물(drug)을 함입시키고 일정한 속도로 용출시킴으로써 하이브리드 스카폴드에 약물전달(drug delivery) 기능을 부여하기도 하였다(그림 5).^{20,21} 기존의 HA 스카폴드에 직접적으로 약물을 함입시켜 방출시킨 방식에 비해서 고분자 하이브리드층 내부에서 약물이 전달될 경우 훨씬 안정된 초기 방출과 더불어 장기간의 지속된

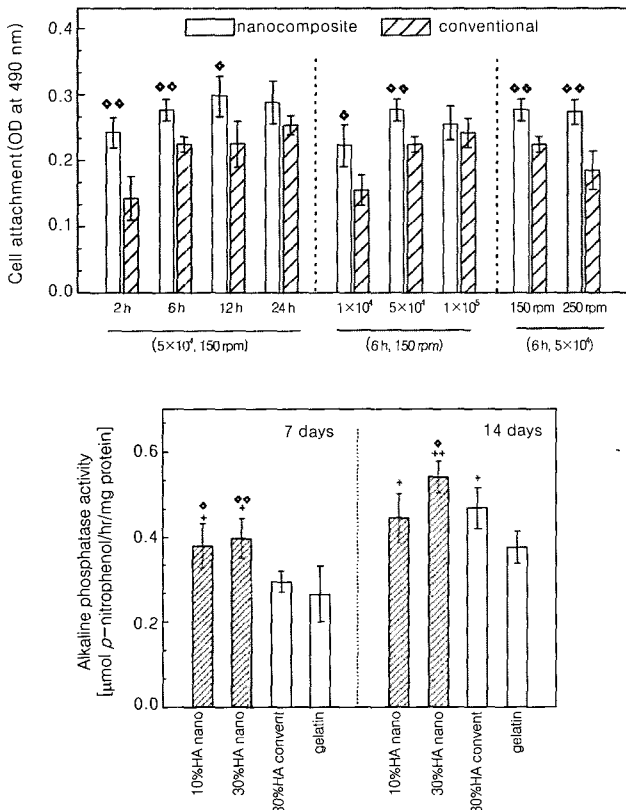


그림 4. 젤라틴-아파타이트 나노하이브리드 조성의 다공체 스카폴드를 3차원 배양법에 의해 분석한 세포 부착 및 골세포 분화지표(ALP활성도).¹⁴

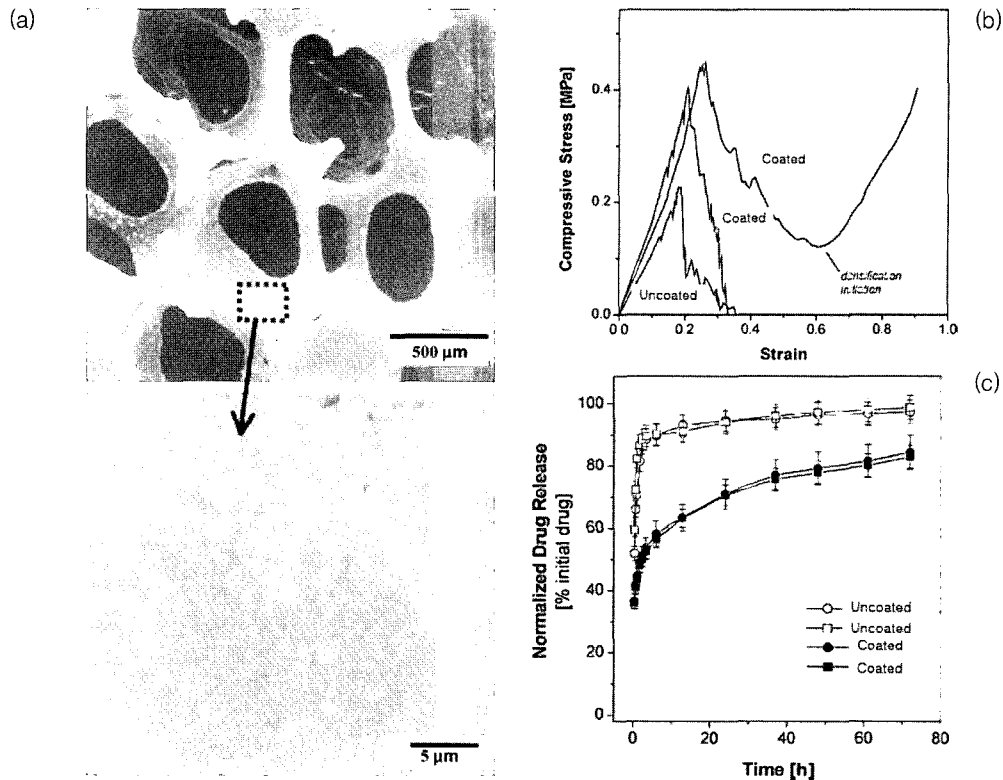


그림 5. PCL+HA+약물(tetracycline)로 코팅된 HA 스카폴드: (a) 미세구조 사진, (b) 압축 강도 그래프(코팅한 경우 급격한 파괴가 일어나지 않는다), (c) 스카폴드에서의 약물 용출 그래프(코팅한 경우 초기의 급격한 용출이 일어나지 않으며, 장기간 안정적으로 일어난다).¹⁹

방출 효과를 보였다. 이와 같이 스카폴드에 생물학적 기능을 부여하는 것은 결국 조직공학용 지지체로서의 역할을 증진시킬 수 있는 중요한 연구 방향이다. 세포부착 단백질, 호르몬, 성장인자 등을 스카폴드와 적절히 융합하여 세포의 부착에서부터 분화 그리고 골형성 단계까지 제어함으로써 조직공학용 스카폴드로의 기능을 극대화 할 수 있는 것이다.

2.2.1.2 하이브리드 스카폴드의 다공성 구조 제어(Pore Structure Control of Hybridized Scaffolds)

생체 고분자의 스카폴드 제조 방법으로 전통적으로 많이 쓰이고 있는 것으로는 phase separation, freeze casting, porogen addition 등이 있다. 그러나 이들 방법으로 기공의 크기나 형상, 기공률 등 기공구조를 정확히 제어하는 데는 한계가 있다. 특히 조직재생용 스카폴드로서 기공의 구조는 매우 중요한데, 이는 생체 내에서 이루어지는 물질 순환을 원활하게 함으로서 세포와 다양한 부착 단백질과의 초기반응을 돕고, 용출되는 이온이나 분해물질을 효과적으로 순환시키는데 결정적인 영향을 주기 때문이다.

최근 제어된 형상의 스카폴드를 제조하는 연구는 rapid prototyping (RP)을 통해 가능하게 되었다. RP 기술은 가는 노즐을 통해 원하는 재료를 분사시켜 그리거나(writing) 깎아내는(carving) 방식으로 다공성 스카폴드를 얻는 것으로 주로 생분해성 고분자 용액이나 생체 세라믹 슬러리/줄을 이용한 연구가 이루어졌다. 이를 위해 얻고자 하는 스카폴드의 형태를 데이터로 만들어 기계로 직접 송신하여야 한다. 이 기술을 통해 제조된 스카폴드는 고분자뿐만 아니라 세라믹, 그리고 복합체에 이르기까지 다양하게 제조될 수 있다. 다만 각 재료에 맞게 여러 가지 변형된 방식들이 쓰이고 있다.

본 연구그룹에서는 최근 RP법을 이용하여 생체 하이브리드 재료들을 제조하는데 성공하였다(그림 6).²⁴ 이 때 RP를 이용한 스카폴드 제조 공정에서 가장 핵심적인 부분은 바로 사용되는 재료의 특성-즉 용액(슬러리나 솔 형태)의 물리화학적 특성-을 잘 제어하는 것인데, 적절히 조절된 용액을 사용해야 RP를 통해 제조된 스카폴드의 기공구조가 잘 형성되며, 제조 과정 중 구조적 안정성을 지니기 때문이다. RP장비를 이용하면 본 그림에서 보여진 단순한 구조 이외의 매우 복잡한 형상물의 제조가 가능한데, 이는 골 조직의 손상된 부위를 CT로 얻은 후 이미지를 데이터화하고 RP 장비를 이용해 원하는 생체 하이브리드 스카폴드로 그대로 복원할 수 있게 해 준다. 본 기술의 현재 수준 및 골조직공학 적용 가능성에 대해서는 Hollister 그룹에서 발표한 최근 리뷰 논문을 참고하기 바란다.²⁵

2.2.1.3 생체하이브리드 조성의 나노구조 형상화(Nanostructural Formulation of Hybrid Biomaterials)

유-무기의 재료를 하이브리드화하여 조성을 조절함으로써 스카폴드의 특성을 향상시킬 수 있을 뿐 아니라, 지지체의 형상을 나노구조화 함으로써 조직반응을 우수하게 할 수 있다. 최근 본 연구그룹에서는 하이브리드 조성을 나노구조로 형상화하는 연구에 주력하였는데, 대표적인 것이 전기방사를 통한 나노섬유 지지체의 개발이다. 전기방사(electrospinning)장비를 사용해 수십에서 수백 나노미터 굵기의 섬유를 제조할 수 있는 기술은 최근 생체재료 및 조직재생 분야에서 큰 관심을 불러일으키고 있다. 전기나노방사로 제조된 나노섬유는 부직포 형태의 얇은 막, 즉 멤브레인으로 제조될 수 있으며, 사용한 원료의 종류에 따라 최종 멤브레인의 조성은 결

정되며 공정변수에 따라 나노섬유의 굵기나 형태를 제어할 수 있다. 나노섬유에 대한 대부분의 연구개발은 폴라제이나 PLA 등의 생체고분자를 중심으로 이루어져 있으며, 이들을 나노섬유 형태로 제조할 수 있는 틀은 현재 확립된 상태이다.

그러나 골조직을 재생할 수 있는 능력이 탁월한 유-무기 하이브리드 조성을 이용한 연구는 거의 전무한 실정이다. 이에 본 연구실에서는 최근 생체모방법으로 제조된 젤라틴과 아파타이트의 나노하이브리드 조성을 나노섬유 형태로 제조하는데 성공하였다(그림 7).

림 7).²⁶

이의 대표적인 응용으로 들 수 있는 것이 바로 치과영역에서 임플란트와 함께 많이 사용되는 골유도재생용(guided bone regeneration : GBR) 멤브레인이다. GBR은 상 하악골의 높이와 길이가 충분히 확보되지 않은 부위에 격리된 공간을 만들어 골 형성능을 가진 세포만을 특이적으로 재분포하고 분화시켜 신생골을 재생하도록 하는 기술이라 할 수 있다.²⁷ 따라서 GBR의 최소한의 요건은 다른 조직성분들을 격리시킬 수 있는 차폐막 형태이어야 하며, 나

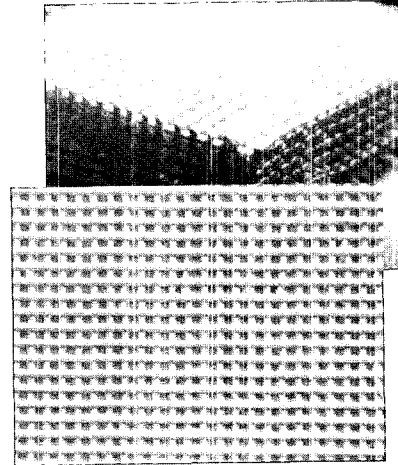
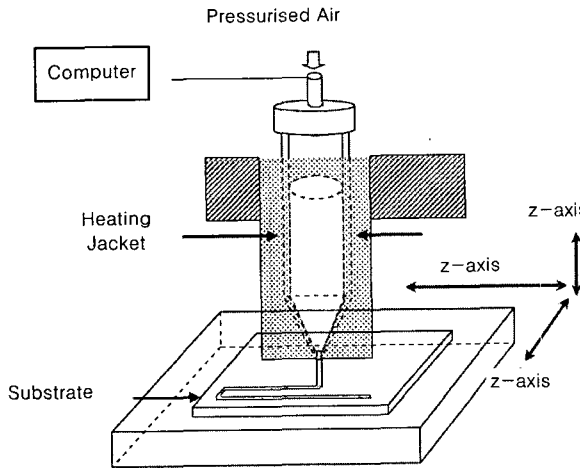


그림 6. RP장비와 이 방법으로 제조된 HA-PCL 생체하이브리드체 스카폴드.²⁴

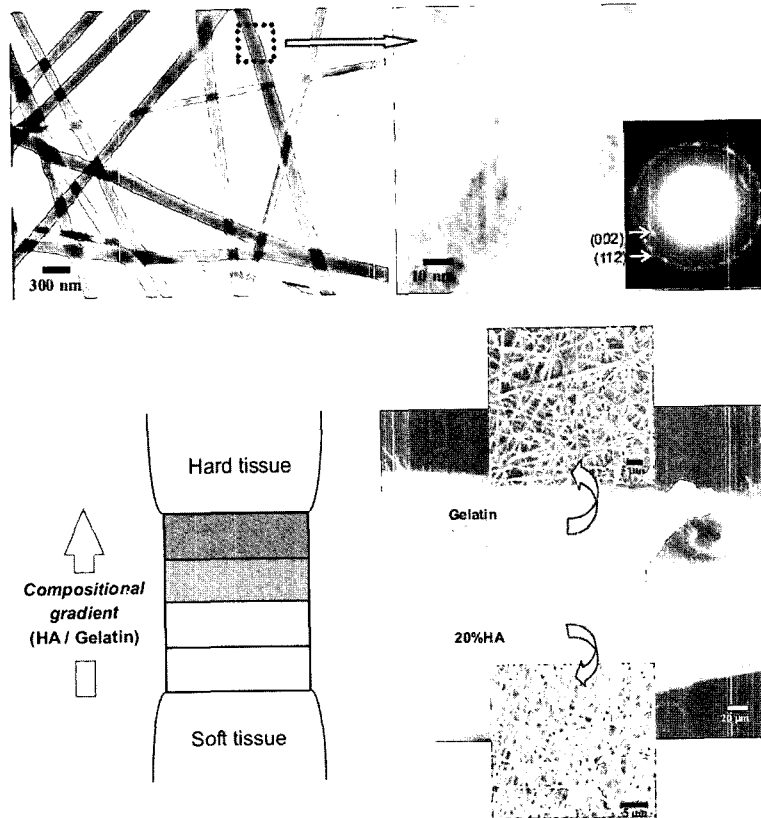


그림 7. (a) 생체모방법에 의한 젤라틴-아파타이트 나노하이브리드체를 전기나노방사장치를 이용하여 제조한 나노섬유의 투과전자현미경 사진(확대사진: HA나노결정립을 나타냄), (b) 적층구조로 제조된 나노섬유의 GBR멤브레인으로서의 응용.²⁶

가 골 형성능을 가진 세포를 활성화하고 분화하며 골 재생능력이 탁월한 조성을 가진 물질이 좋다. 오늘날 임플란트가 널리 보급되면서 임플란트의 식립에 필요한 골이 충분히 확보되지 않은 경우가 많기에 GBR은 임플란트 식립 전 골이식 재료와 함께 그 쓰임이 매우 크다고 하겠다. 따라서 기존에 GBR 재료로 널리 이용되던 비흡수성 고분자(PTFE) 또는 흡수성 고분자(PLGA, 콜라젠)가 차폐막으로서 우수한 기능을 수행하고 있지만, 멤브레인으로서 골 재생 능력을 극대화하기 위해서는 현재 연구개발 중인 다른 형태의 골 재생재료에서 이용되는 이론과 기술- 즉, 앞서 제시하였던 생체활성이 우수한 무기물과 고분자의 복합화 기술-을 응용할 필요가 있다.

기존의 나노섬유에 대한 국내외의 연구개발이 대부분 고분자에 국한되었기 때문에 골 대체물질로서 우수한 생체활성을 나타내거나 유-무기체를 하이브리드화 하는 연구개발은 거의 전무한 상태였다. 따라서 기존의 비흡수성 PTFE가 제 1세대 GBR 멤브레인, 흡수성 콜라젠이나 PLGA 멤브레인을 2세대 GBR 멤브레인이라면, 골 재생 능력을 극대화시키기 위해 연구 개발되는 유-무기 하이브리드체 또는 나노구조를 지닌 멤브레인을 제 3세대 GBR 멤브레인이라 할 수 있을 것이다. 특히 나노섬유를 이용한 골재생용 멤브레인에 대한 연구개발은 본 연구실을 중심으로 갖 시작되었다고 할 수 있기 때문에 여러 생물학적 임상적 데이터가 축적될 것으로 파악되고 있으며, 차세대 골재생용 지지체로서 큰 역할을 할 것으로 기대된다.

2.2.2 약물 및 세포 전달체로서 하이브리드체

골 조직공학적 응용을 위해 생체 하이브리드 재료는 생분해성 고분자와 생활성 세라믹 재료가 가진 많은 장점들을 지니고 있으며, 이는 그 조성적 특징에서 비롯된다고 할 수 있다. 그러나, 합성재료가 지닌 생체계면은 조직이 쉽게 인식하고 능동적으로 반응하기에는 여전히 한계가 있다. 따라서 생체 내에서 초기에 빠르고 긍정적인 조직 반응을 유도하기 위해서는 하이브리드 스카폴드의 특성을 개선할 필요가 있다. 이는 특히 조직공학용 스카폴드로서 이용하고자 할 때 더욱 요구되는 성질로서 스카폴드의 생역학적 특성개선과 함께 끊임없이 추구되어야 할 과제라 할 수 있다.

조직공학용 스카폴드는 세포의 부착이 용이하며, 부착된 세포의 성장(cell growth)과 특수한 세포(여기서는 골 형성세포 또는 치아 조직 형성관련 세포들)로의 분화(differentiation)를 촉진할 수 있어야 한다. 이를 위하여 스카폴드의 표면이나 내부에 일련의 세포 반응을 증진시킬 수 있는 다양한 약물이나 생체활성 분자(bioactive molecules)들을 도입할 수 있다. 세포부착 단백질(cell adhesive proteins)이나 펩타이드(peptides)를 표면에 결합시킴으로써 부착 시그널을 전달하여 초기 빠른 세포반응뿐 아니라 이후 성장 및 분화를 조절할 수 있으며, 성장인자(growth factors: TGF- β , FGF, PDGF, IGF 등)를 통해 세포의 증식과 더불어 골세포의 분화를 촉진할 수 있다. 또한 호르몬(hormones)이나 항암제(anti-cancers)를 스카폴드 내부나 표면에 도입하여 생체재료의 이식을 통해 뼈의 리모델링(bone remodeling) 과정을 제어함으로써 골다공증 치료나 기타 골 관련 질환의 치료에 응용할 수 있다. 또한 기능성 약물이나 생체활성 분자들을 통해 세포를 전달할 수 있는 스카폴드-세포-생체활성분자의 융합화 기술은 조직공학적 응용의 귀결점이라 볼 수 있다.

3. 맺음말

생체재료 분야에서 세라믹과 고분자의 하이브리드화를 통해 치아나 골조직을 재생하고자 하는 체계적인 연구개발 노력은 불과 수년 전이라 할 수 있다. 유기와 무기체의 조화로 이루어진 경조직을 성공적으로 재건하기 위해서는 타 조직에 비해 특수한 역학적 생물학적 특성들을 만족시켜야 한다. 지난 수년간 이루어진 연구개발결과는 생분해성 고분자(합성 또는 천연)와 생활성 세라믹스 성분의 하이브리드화를 통해 그러한 특성들을 어느 정도 충족시킬 수 있는 가능성을 보여주고 있다. 서로 다른 물리화학적 특성을 지닌 두 성분인 세라믹과 고분자를 적절히 하이브리드화 하는 것은 분명 재료과학의 기술적 측면에서 중요하게 다루어져야 하며, 더 중요한 것은 생체 내에 이식되어 손상된 조직을 복구할 만한 우수한 생물학적 특성들이 구비되도록 설계되어야 한다. 따라서 생체 세라믹-고분자 하이브리드 재료에 대한 앞으로의 연구개발은 재료 자체의 특성을 개선하는 노력뿐 아니라 조직과 하이브리드체의 생물학적 반응을 제어하고 생체 내 기능적인 역할을 수행하기 위해 재생의학과 조직공학과 같은 융합 분야 내에서 이루어져야 바람직할 것이다.

참고문헌

1. N. M. Hancox, *Biology of bone*, Cambridge Univ Press, 1972.
2. H. W. Kim, E. J. Lee, I. K. Jun, H. E. Kim, and J. C. Knowles, *J. Biomed. Mater. Res. B*, **75B**, 34, (2005).
3. H. W. Kim, H. E. Kim, V. Salih, and J. C. Knowles, *Biomaterials*, **26**, 4395 (2005).
4. C. M. Agrawal and K. A. Athanasiou, *J. Biomed. Mater. Res.*, **38**, 105 (1997).
5. E. Ural, K. Kesenci, L. Fambri, C. Migliaresi, and E. Piskin, *Biomaterials*, **21**, 2147 (2000).
6. H. W. Kim, J. C. Knowles, and H. E. Kim, *J. Biomed. Mater. Res. A*, **70A**, 467 (2004).
7. H. W. Kim, *J. Biomed Mater. Res. A*. (in press).
8. S. Petricca, K. Marra, and P. Kumta, *Acta Biomater*, **2**, 277 (2006).
9. R. Gonzalez-McQuire, J. Y. Chane-Ching, E. Vignaud, A. Lebugle, and S. Mann, *J. Mater. Chem.*, **14**, 2277 (2004).
10. S. H. Rhee, *et al.*, *Biomaterials*, **23**, 4915 (2002).
11. A. L. Boskey, *Calcif. Tiss. Int.*, **63**, 179 (1998).
12. J. H. Song, H. E. Kim, and H. W. Kim, *J. Biomed Mater. Res. A*, (in press).
13. B. H. Yoon, H. W. Kim, S. H. Lee, C. J. Bae, Y. H. Koh, Y. M. Kong, and H. E. Kim, *Biomaterials*, **26**, 2957 (2005).
14. H. W. Kim, H. E. Kim, and V. Salih, *Biomaterials*, **26**, 5221 (2005).
15. H. W. Kim, B. H. Yoon, and H. W. Kim, *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, **16**, 1105 (2005).
16. S. Viala, M. Freche, and J. L. Lacout, *Ann. Chim. Sci. Mat.*, **23**, 69 (1998).
17. T. Y. Liu, S. Y. Chen, J. H. Li, and D. M. Liu, *Journal of Controlled Release*, **112** 88 (2006).
18. R. Langer and J. P. Vacanti, *Science*, **260**, 920 (1993).
19. K. G. Marra, J. W. Szem, P. N. Kumta, P. A. DiMilla, and L.

- E. Weiss, *J. Biomed. Mater. Res.*, **47**, 324 (1999).
20. H. W. Kim, J. C. Knowles, and H. E. Kim, *Biomaterials*, **25**, 1279 (2004).
21. H. W. Kim, J. C. Knowles, and H. W. Kim, *J. Mater. Sci.: Mater. Med.*, **16**, 189 (2005).
22. Q. Z. Chen, J. J. Blaker, and A. R. Boccaccini, *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.*, **76**, 354 (2006).
23. R. Zhang and P. X. Ma, *J. Biomed. Mater. Res.*, **45**, 285 (1999).
24. Y. H. Koh, I. K. Jun, and H. E. Kim, *Mater Lett.*, **60**, 1184 (2006).
25. S. J. Hollister, *Nature Materials*, **4**, 518 (2005).
26. H. W. Kim, J. H. Song, and H. E. Kim, *Advanced Functional Materials*, **15**, 1988 (2005).
27. H. W. Kim, *대한치과 의사협회지*, **9**, 534 (2006).