

마이크로 기술과 기능성 하이드로젤을 이용한 조직공학의 응용

이유리 · 무하매드 굴팜 · 정봉근

1. 서론

현대 사회는 의료 기술의 발달로 인간의 수명이 증가함에 따라 고령화 사회로 빠르게 변화하고 있다. 손상된 인체의 기능을 대신해 몸 안에 이식되어 사용되는 다양한 종류의 생체 재료를 사용부위나 목적에 따라 이용하면 의료비 절감과 치료 부작용 감소 등의 효과가 기대어진다.^{1,2} 지난 수십 년간 의료기기 산업이 발전해왔지만, 주로 전기 또는 기계장치, 그리고 합성 재료를 응용한 것들이 주를 이루었다. 이와 같은 것들은 대부분 생체 친화적이지 못하거나 시간이 지나면서 마모되고 이형되는 경우도 많으며 이식이 가능한 분야가 제한적이었기 때문에 살아 있는 세포를 수반하는 생물학적 조직 대체용품의 개발이 요구되어진다.^{3,4} 기능을 상실하거나 손상된 생체 조직의 대용품을 만들어 이식함으로써 우리 몸의 기능을 유지, 향상, 그리고 복원하는 것을 목적으로 하여 생체 적 합성, 생체 기능성을 갖는 생체재료에 세포를 배양시켜 체내로 이식하는 응용기술이 조직공학(tissue engineering) 기술이다.^{4,5} 세포와 세포 주변의 미세 환경(microenvironment)을 조절할 수 있는 공학적 기술을 이용하여 세포가 갖는 기능을 극대화시키고 조절할 수 있으며, 궁극적으로 환자의 손상된 조직에 줄기세포를 이식하여 원하는 기능을 재생할 수도 있다.⁶ 이러한 조직공학 기술의 발전에도 불구하고, 원하는 기능과 다양한 형태를 갖도록 조절하거나 인체 조직(혈관조직, 세포 공동 배양 등)을 정교하게 재현하기에는 아직까지 한계가 있다. 따라서 이러한 문제점을 극복하기 위해서 최근에 반도체 제조공정에 이용되는 마이크로 기술이 개발되었다. 마이크로 스케일의 조직공학 기술은 세포 주변의 미세환경 재어를 가능하게 하여 세포의 기능을 제어하고, 고효율

약물전달 기술로 응용이 가능하며, 반응 시간이 단축됨은 물론 낮은 비용으로 높은 효율을 얻을 수 있으며 생체 모사능력이 뛰어나 조직공학에 많이 활용되고 있다.^{7,8}

조직공학에서 사용되는 생체재료는 생체 친화성이 우수하여 인체 내로 이식이 가능해야 하고, 이식 후 주위 조직에 독성과 면역 거부 반응을 보이지 않으며, 이식 장소에 따라 그에 적합한 물리적 성질을 보여야 한다.⁹⁻¹¹ 보편적으로 생체재료는 크게 금속, 세라믹, 그리고 고분자 재료를 사용해 왔다. 금속, 세라믹 재료는 내마모성이 크고 비교적 강도가 강하다는 장점이 있어 인공 뼈나 치아의 대체 재료로 많이 쓰인다. 그러나 금속재료의 경우 생체 친화력이 떨어지고 금속 이온이 용출될 수 있으며, 세라믹 재료는 취성이 높아 잘 깨지고 가공하기 힘들다는 단점이 있다.¹² 위의 두 가지 재료들의 단점을 보완하기 위해 활발히 연구되고 있는 재료가 고분자 재료이다. 고분자 재료는 강도가 낮은 단점이 있지만 가볍고 제조가 용이하며 복원력이 우수하다. 또한 생체 친화력과 생분해성이 우수하기 때문에 조직재생의 응용에 폭넓게 사용되어지고 있다.¹³ 고분자 재료 중에서 각광받고 있는 수용성 고분자 재료인 하이드로젤은 화



이유리
2011 단국대학교 신소재공학과(학사)
2011~2012 한양대학교 바이오테크놀로지학과(석사과정)
현재



무하매드 굴팜
2007 National Institute of Food Engineering and Technology, University of Agriculture, Faisalabad, Pakistan(학사)
2011 한양대학교 바이오테크놀로지학과(석사)
2011~2012 한양대학교 바이오테크놀로지학과(박사과정)
현재



정봉근
1997 한양대학교 금속공학과(학사)
2002 한양대학교 재료공학과(석사)
2007 University of California Irvine 재료공학과(박사)
2007~2008 Harvard Medical School(Post-Doc.)
2008~2009 Harvard Medical School(Instructor)
2009~2010 한양대학교 생명나노공학과/바이오테크놀로지학과
현재

Microtechnologies and Functional Hydrogels for Tissue Engineering Applications

한양대학교 생명나노공학과(Youlee Lee, Muhammad Gulfam, and Bong Geun Chung, Department of Bionano Engineering, Hanyang University, Room 225, 1st Engineering building, 55 Hanyangdaehak-ro, Sangnok-gu, Ansan, Kyeonggi-do, 426-791, Korea) e-mail: bchung@hanyang.ac.kr
Youlee Lee and Muhammad Gulfam equally contributed to this work.

학적 또는 물리적 결합에 의해 특정한 구성 성분들이 서로 연결되어 그 물구조 또는 고분자 사슬을 형성하는 3차원 구조를 가지고 있다.¹⁴⁻¹⁶ 또한 하이드로젤은 수분을 흡수하여 팽윤하는 성질을 가지는데, 팽윤 상태의 하이드로젤은 생체의 조직과 매우 유사한 성질을 가진다.¹⁷ 그러므로 뛰어난 흡수성과 생체 적합성, 비교적 좋은 생분해성 등의 특징을 가지고 있어 조직공학에서 많이 사용되고 있다. 천연 하이드로젤 (collagen, polysaccharide, alginate, agarose 등)은 자연에서 얻는 물질이기 때문에 안전하고 생체 적합성이 매우 우수하나 기계적 물성이 좋지 않으며 가격이 비싸고 종류도 많지 않다. 반면 합성 하이드로젤(poly(ethylene glycol), poly(vinyl alcohol), poly(ethylene oxide) 등)은 여러 가지 고분자 그룹으로부터 만들어지기 때문에 외부의 화학적, 물리적 자극(pH, 온도, 화학물질 등)에 뚜렷한 반응을 보이므로 다양한 물성과 조성을 제어할 수 있지만 안전성 면에서 사용이 제한적이다.^{18,19}

생체 내에서 하이드로젤을 응용하기 위해서는 젤화 과정이 필요하며 각각의 고분자 사슬들 사이에 젤구조를 형성하기 위해서 이루어지는 가교의 성질은 하이드로젤을 분류하는 기준 중의 하나이다. 하이드로젤의 젤화 방법은 크게 화학적, 물리적 방법으로 나누어진다. 화학적 방법은 각각 다른 고분자 사슬 사이에 공유결합이 존재하며 두 개 이상의 작용기를 갖는 가교제를 첨가하여 중합시키거나 두 개 이상의 작용기를 갖는 수용성 고분자의 가교반응을 통해 형성된다.¹⁹ 공유결합에 의해 가교를 형성하기 때문에 가교한 후에 모양을 변화시킬 수 없다. 비교적 대부분의 화학적 방법이 물리적 방법에 비해 젤의 제조에는 유용하나 대부분의 개시제, 첨가제가 산성 혹은 알칼리성을 보이고, 인체에 부작용이 있으며 젤화 후 첨가물을 제거해 주어야 하는 문제점을 가지고 있다.²⁰ 물리적 방법은 화학적 반응 없이 가역적인 비공유결합(정전기적 수소결합, 향원-향체 상호작용, 분자간의 결합력 등)을 통하여 가교된다.^{19,21,22}

효과적으로 약물을 체내에 경구 투여하거나 선택적인 조직성장을 유도하기 위해서는 약물이나 세포가 전달되는 과정에서 손실되지 않으면서 해당 부위에서의 효과적인 방출이 필요하다.²³⁻²⁵ 이러한 이유 때문에 물리적 하이드로젤이 갖는 주변 pH, 온도, 이온 등의 변화에 의해 sol-gel의 상전이가 일어나는 특징을 이용하여 기능성 하이드로젤을 약물의 전달물질로서 응용하는 연구가 진행되었다.²⁴ 그 예로 pH 감응성 하이드로젤의 종류 중 하나인 poly(methacrylic acid-*g*-ethylene glycol) 공중합체는 pH 5를 기점으로 팽윤도가 급격히 달라진다. 또한 동일량의 가교제를 사용할 경우, 공중합체에 그래프트된 poly(ethylene glycol) methacrylate 분자량이 증가할수록 공중합체의 팽윤비가 감소한다. 이러한 방출결과는 공중합체의 pKa 보다 낮은 pH에서 공중합체의 팽윤이 거의 일어나지 않기 때문에 약물의 방출이 억제되고, 공중합체의 pKa 보다 높은 pH에서 팽윤이 급격하게 발생되어 공중합체 안에 있던 약물의 급격한 방출이 예상된다.^{25,26} 이러한 연구들을 통해 인체의 pH 변화에 따른 약물의 방출 정도를 조절하여 현재까지 일반적으로 사용되어 온 피하주사를 이용한 약물의 투여방법의 낮은 약물 지속성과 주사침에 의한 통증 및 감염위험이 있는 단점을 보완하는데 사용될 수 있다. 또한 온도 감응성 하이드로젤 중의 하나인 poly(*N*-isopropylacrylamide-*b*-methyl methacrylate) (PNIPAAm-*b*-PMMA)을 이용하여 자가조립(self-assembly)된 온도 감응성 micelle에 대한 연구가 진행되었다.²⁷ Prednisone acetate와 블록 공중합체(PNIPAAm-*b*-PMMA)들로부터 조립된 온도 감응성 고분자 micelle들은 온도 변화에 따라 micelle 구조의 전환에 의해 빠르거나 혹은 느린 전환거동을 보여준다. 이 기술을 통하여 선택적으로 약물을 축적하고, 광역적 온도 변화에 의한 약물방출을 유도하는 등의 지능형 약물전달 시스템을 구축하는데 응용이 될 수 있다.

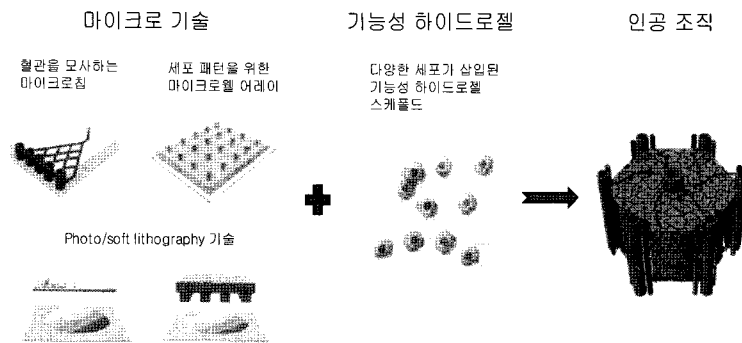


그림 1. 다양한 마이크로 기술들과 기능성 하이드로젤을 이용한 인체와 유사한 인공조직 개략도.

표 1. 마이크로 기술과 하이드로젤을 이용하여 조직공학을 연구한 대표적 사례

마이크로 기술	하이드로젤	조직공학 응용	참고문헌
Bottom-up 기술	Poly(ethylene glycol)	Bottom-up 조직공학 기술을 이용한 하이드로젤 조립기술 개발	33
		Continuous-flow lithography 기술을 이용하여 다양한 형태의 하이드로젤을 마이크로 채널안에서 개발	34
		마이크로 레일을 이용한 마이크로 채널안에서 하이드로젤 자가조립 기술 개발	35
		Two-phase bioreactor 시스템을 이용한 하이드로젤 자가조립 기술 개발	36
마이크로웰 어레이	Poly(ethylene glycol)	마이크로웰 어레이에서 뇌 줄기세포의 성장과 분화연구	37
		배아 줄기세포의 embryoid body를 배양하기 위한 마이크로웰 어레이 개발	38
		마이크로웰 어레이에서 배아 줄기세포에서 심장세포와 혈관 내피세포로의 분화연구	39
3차원 마이크로칩	Agarose	뇌세포의 배양과 약물 스크리닝 분석을 위한 마이크로 circuit 시스템 개발	40
		다공성 하이드로젤 3차원 마이크로칩에서 세포 배양미디엄의 확산에 따른 간세포의 생존률 분석	47
	Collagen	CCL19와 CCL21의 opposite 농도구배에 따른 dendritic cell의 migration 연구	49
		VEGF 농도구배를 형성하는 3차원 마이크로칩안에서 혈관 내피세포의 migration 연구	50

그리하여 다양한 마이크로 기술과 기능성 하이드로젤 합성기술이 결합된 융합기술은 인체의 조직을 구현, 재생하고 고효율 약물전달 시스템을 구축하는데 중요한 도구이다(그림 1). 이러한 두 가지 융합기술들을 이용하여 조직공학에 이해하고 응용한 대표적 연구들에 대해서 소개하고자 한다(표 1).

2. 조직공학의 응용

2.1 Bottom-up 기술을 이용한 하이드로젤 조립

인체의 조직은 수많은 마이크로 조직들로 구성되어 있다. 매크로한 조직을 top-down 기술로 구현하기에는 조직 안에 미세혈관을 모사하는데 한계가 있다. 이러한 문제점을 극복하고, 마이크로 조직을 만들어서 bottom-up으로 쌓아 올리기 위하여 최근에 반도체 제조공정인 photo lithography 기술을 이용하여 여러 가지 형태와 구조를 가지는 인체의 조직을 모사할 수 있는 하이드로젤 자가조립 기술이 개발되었다.²⁸⁻³⁶ 세포를 포함한 하이드로젤은 자가조립 기술을 이용하여 인체의 조직을 모사할 수 있는 3차원 조직 구조를 만들 수 있다. 세포를 포함하는 하이드로젤을 수용성의 오일 용액에서 기계적 교반에 의해 하이드로젤을 조립하는 기술이 연구되었다.³³ Liquid-oil 간의 경계면은 표면 자유에너지를 감소시키기 때문에 개별 하이드로젤 블록의 자가조립을 촉진시킨다. 이러한 기술을 사용함으로써 다양한 형태의 조립들이 가능하게 되었다. 그러나 이 기술은 파이펫을 기반으로 한 수동형 기계적 교반 시스템이기 때문에 정교하게 조립의 형태를 제어할 수 없는 단점을 가지고 있다. 이러한 단점을 극복하기 위해서 세포를 포함한 하이드로젤의 조립을 제어하기 위한 two-phase bioreactor 기술이 개발되었다(그림 2).³⁶ Photo lithography 기술을 이용하여 poly(ethylene glycol)을 다양한 형태(사각형, 육각형 등)를 가진 마이크로젤의 개별 블록으로 만들었고, 조립된 하이드로젤의 부착과 기계적 특성을 강화하기 위해서 자외선으로 가교를 행하였다. 사각형 하이드로젤의 경우 조립들이 세 가지 타입(linear, branched,

random형)으로 형성되었고, 육각형 하이드로젤은 closely pack형과 random형으로 구성되었다. 교반속도와 교반시간이 마이크로젤의 조립 타입을 결정하는 중요한 요소라는 것이 관찰되었다. 교반시간과 교반속도를 증가함에 따라 사각형의 linear형, branched형, 그리고 육각형의 closely pack형 조립들은 증가하였다. 하지만 random형의 경우, 교반속도와 교반시간이 증가하면 오히려 감소되는 것이 관찰되었다. 세포를 포함하는 하이드로젤 블록의 조립들은 우수한 세포 생존력을 보여 주었다. 이러한 two-phase bioreactor 시스템은 세포를 포함하는 하이드로젤의 유도된 자가조립을 얻기에 좋은 기술이다. 만약 높은 소수성 및 낮은 표면장력을 가진 미네랄 오일과 친수성을 포함하는 하이드로젤을 함께 사용한다면, 더 다양한 형태의 조립들을 얻을 수 있을 것이다. 최근에 flow lithography 기술과 마이크로칩 기술을 이용하여 하이드로젤의 크기와 형태를 조절하는 기술이 개발되었다.^{29,35} 이러한 마이크로 기술들을 이용하면 세포를 포함한 고분자 용액을 마이크로 채널을 통과하여 흘러 보내고 photo lithography 공정을 사용하여 고분자 용액을 광가교하여 세포를 포함한 하이드로젤의 크기와 형태를 조절할 수 있고,²⁹ 또한 기차의 레일을 응용하여 마이크로 채널 안에서 레고를 조립하듯이 하이드로젤의 개별 블록들을 자가조립할 수 있다.³⁵ 앞에서 설명한 bottom-up 마이크로 기술과 마이크로칩 기술은 하이드로젤을 자가조립할 수 있는 공통된 장점들을 가지고 있다. 하지만, bottom-up 마이크로 기술은 하이드로젤의 조립을 정밀하게 컨트롤하기가 힘들고, 마이크로칩 기술은 자가조립된 하이드로젤을 마이크로칩에서 뽑아 내기가 어려울 뿐만 아니라 매크로 스케일로 하이드로젤을 조립하기가 힘들다는 단점을 가지고 있다.

2.2 하이드로젤 마이크로젤 어레이

하이드로젤 마이크로젤 어레이는 세포의 크기를 조절하고 세포의 성장, 분화, 그리고 apoptosis를 제어할 수 있어서 줄기세포와 뇌세포 연구에 많이 사용되고 있다. 최근에 줄기세포 배양의 효율을 향상시키는 하이드로젤 마이크로젤 어레이를 photo lithograph 기술과 soft lithography 기술을 이용하여 개발하였다. 예를 들면, 뇌 줄기세포를 poly(ethylene

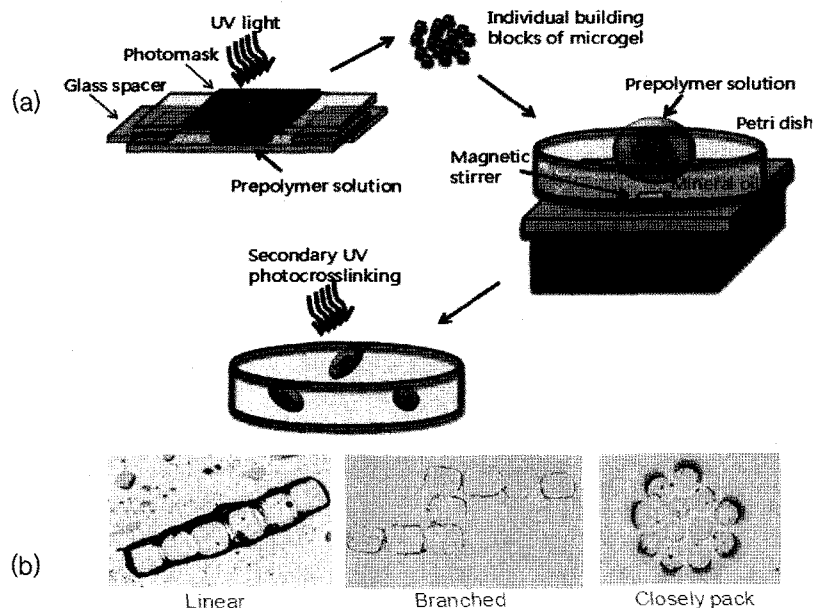


그림 2. (a) 하이드로젤 자가조립을 위한 two-phase bioreactor 시스템, (b) Two-phase bioreactor 시스템과 bottom-up 조직공학 기술을 이용한 하이드로젤 자가조립(사각형 linear, branched, 그리고 육각형의 closely pack 구조) (reprinted with permission from ref. 36, copyright 2011 John Wiley & Sons, Inc.).

glycol) 하이드로젤 마이크로웰 어레이에서 배양하면서 성장과 분화를 관찰하였다.³⁷ 하이드로젤 마이크로웰 어레이 안에서 배양된 single 뇌 줄기세포들의 migration은 6-well plate 컨트롤과 비교했을 때 현저히 줄어들었으며, 마이크로웰 안에서 일주일 동안 배양을 하면 neurosphere를 형성함을 확인하였다. 뇌 줄기세포는 주로 뇌세포, astrocyte, 그리고 oligodendrocyte 세포로 분화를 하는데, 하이드로젤 마이크로웰 어레이 시스템에서는 neuroprogenitor 세포가 neurosphere의 태두리에서 관찰되었으며, 뇌 줄기세포에서 astrocyte로 분화된 세포들은 neurosphere 안에 분포하고 있음을 immunocytochemistry에 의해서 확인하였다. 또한, 하이드로젤 마이크로웰 어레이를 개발하여 배아 줄기세포를 배양하였다.^{38,39} 마이크로웰은 다양한 크기(150~450 μm)를 가지는 배아 줄기세포의 embryoid body를 형성할 수 있고, embryoid body의 크기에 따른 배아 줄기세포의 분화를 유도할 수 있다.³⁹ 시간이 지남에 따라서 하이드로젤 마이크로웰 어레이 안에 있는 self-renewal 성질은 감소하였으나, 심장세포와 혈관 내피세포로의 분화는 증가하였다. 특별히, embryoid body의 크기가 크면 심장세포로 분화가 유도된 반면, embryoid body의 크기가 작으면 혈관 내피세포로 분화가 진행되었음을 확인하였다. 심장세포와 혈관 내피세포의 분화는 Wnt5a와 Wnt11이 주요한 원인으로 작용하였음을 증명하였다. 이와 같은 하이드로젤 마이크로웰 어레이는 배아 줄기세포 뿐만 아니라 중간엽 줄기세포를 이용한 세포치료에도 많이 활용될 수 있을 것으로 기대되어진다. 배아 줄기세포 연구뿐만 아니라, 뇌세포의 약물효과 분석의 효율을 증대시키기 위해서 미세전극 어레이에서 하이드로젤 마이크로웰 기반의 마이크로 circuit 어레이에 대한 연구가 진행되었다.⁴⁰ 이 연구에서, 뇌세포 기반의 바이오센서를 위한 agarose 하이드로젤을 기반으로 한 멀티웰 형태의 미세전극 어레이는 soft lithography 기술을 사용하여 agarose 하이드로젤을 패터닝하여 제조되었다. Poly(dimethylsiloxane) (PDMS) 몰드에 미세전극 어레이를 정렬해서 부착시켰고, agarose 하이드로젤을 패터닝하였

다. 뇌세포들과 neurite들은 agarose 하이드로젤 표면에서는 부착되지 않았고, 마이크로웰 어레이안에만 패터닝이 되었다. 이러한 고밀도 하이드로젤 어레이는 단일 미세전극에서 개개의 뇌세포에서 일어나는 신경 신호들을 분석할 수 있다. 이러한 플랫폼은 뇌세포를 기반으로 한 약물 스크리닝 시스템으로도 활용되었다. 마이크로 circuit 어레이에서 뇌세포의 N-methyl-D-aspartic acid(NMDA) 시그널은 증가를 하였으나, NMDA receptor를 방해하는 AP5를 사용하면 시그널이 다시 감소하는 것을 확인하였다. 그리하여, 이러한 하이드로젤 마이크로 circuit 어레이를 통하여 뇌세포를 패터닝할 수 있고 뇌세포의 시그널에 영향을 미치는 약물들을 고효율로 스크리닝할 수 있었다. 또한 마이크로웰 어레이를 이용한 3차원 간조직 모델을 구현하는 연구가 진행되었다.⁴¹ 평면형, 원통형, 그리고 오목한 형태의 마이크로웰 어레이에 두 종류의 간세포를 배양하고 크기에 따른 세포집단의 균일도를 비교하였다. 그 결과 오목한 모양의 마이크로웰에서 균일한 크기의 구(spheroid) 형태의 세포 집단이 구현되었다. 이 연구는 오목한 형태의 마이크로웰이 평면과 원통형 형태의 마이크로웰보다 간세포가 균일하게 aggregation되는 효과를 보여 주었으며 마이크로웰의 모양이 세포의 집합을 제어하는데 중요한 역할을 할 수 있다는 것을 확인하였다. 이 연구를 통해서 간세포와 공동 배양된 세포 집합체에서 간세포의 대사기능(albumin, urea production 등)이 단일 간세포로 이루어진 세포 집합체에서 보다 크게 향상되었음을 증명하였다. 그리하여, 이러한 구형상의 세포 집합체를 형성할 수 있는 오목한 마이크로웰 어레이는 3차원 환경에서 세포를 공동으로 배양하거나 인공간 조직재생에 많이 이용될 것으로 사료되어진다.

2.3 3차원 하이드로젤 마이크로칩

미세유체 마이크로칩은 마이크로 채널을 통해서 적은 양의 세포 미디어와 약물을 사용하고, 안정한 약물의 농도구배를 형성할 수 있기 때문에 세포의 거동분석에 많이 사용되고 있다.⁴²⁻⁴⁴ 이러한 소형화된 마이크로칩을 기반으로 한 화학적 그리고 생물학적 분석은 DNA sequencing,

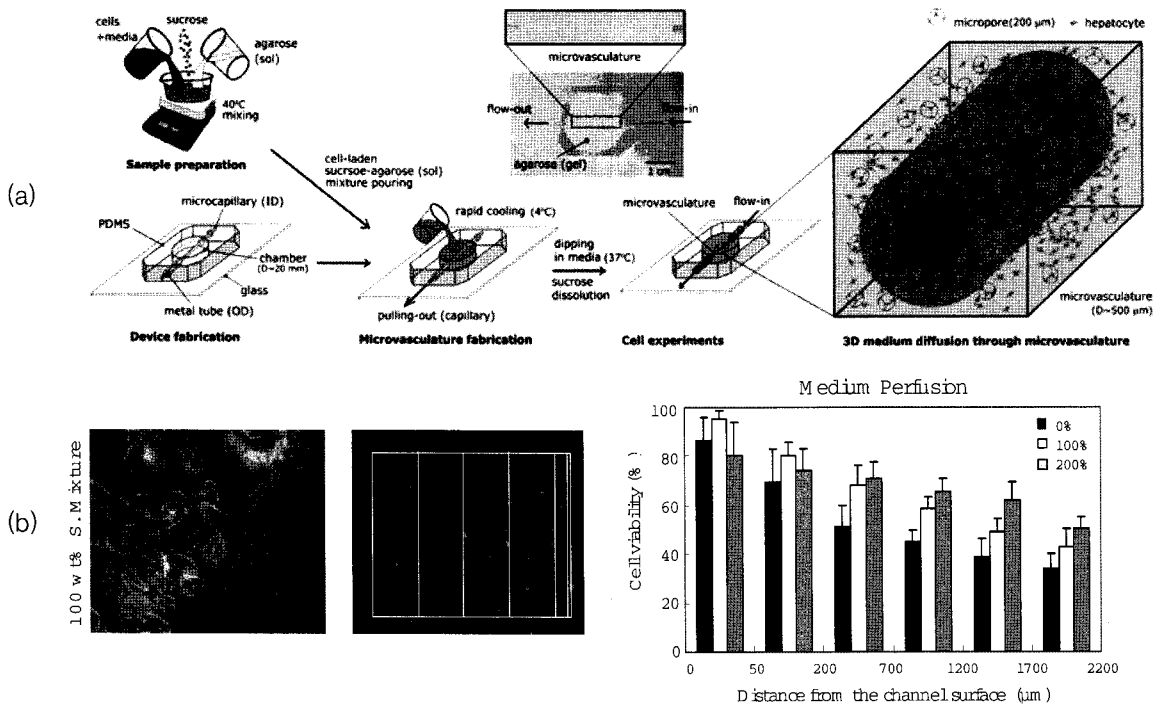


그림 3. (a) 3차원 다공성 agarose 하이드로젤 마이크로칩, (b) 간세포가 내재된 다공성 agarose 하이드로젤 마이크로칩의 마이크로 채널에서 확산된 세포 미디어에 따른 간세포의 생존을 분석(reprinted with permission from ref. 47, copyright 2010 John Wiley & Sons, Inc.).

polymerase chain reaction, 면역분석 등의 분야에 널리 응용이 가능하다.⁴⁵ 유리, 실리콘 및 고분자를 포함한 몇몇의 재료는 미세유체 마이크로칩의 제조에 사용되어 왔다. 그 중에서 고분자 재료는 유리나 실리콘보다 많은 장점들(낮은 가격, 광학적 투명도, 기계적 강도, 화학적 안정성 및 생체 적합성 등)을 보이기 때문에 poly(methyl methacrylate) (PMMA), PDMS, 그리고 하이드로젤(poly(ethylene glycol), agarose, calcium alginate, collagen 등) 등의 고분자 재료가 널리 사용되고 있다.⁴⁶ 하지만, PMMA 또는 PDMS는 인체 내에 있는 ECM 성분으로 구성되어 있지 않기 때문에 인체 이식과 관련되어서 사용에 제약이 있다. 이러한 문제점을 해결하기 위하여 생체 친화성이 좋은 하이드로젤을 이용하여 3차원 마이크로칩을 개발하고 있다. 최근에 인공적인 합성으로 얻어지는 하이드로젤이 아닌 자연에서 얻어지는 agarose를 이용하여 다공성 하이드로젤로 이루어진 3차원 마이크로칩이 개발되었다(그림 3).⁴⁷ 다공성 하이드로젤을 형성하기 위하여 간세포와 agarose, 그리고 sucrose를 40도에서 혼합하고 급랭을 시킨 후, 혼합된 용액을 PDMS 몰드안에 넣으면 agarose 안에 있는 sucrose가 용해되면서 다공성 하이드로젤 마이크로칩을 형성한다. Sucrose의 농도가 증가함에 따라서 기공의 수는 증가를 하였으나 기계적 강도는 감소하였다. 또한, PMMA 또는 PDMS 마이크로칩에서는 마이크로 채널 안에 흐르는 용액이 PMMA 또는 PDMS 안으로 확산되지 않았지만, 다공성 agarose 하이드로젤 마이크로칩의 경우에는 마이크로 채널 안에서 흐르는 용액이 agarose 하이드로젤을 통해서 시간에 따라서 확산하는 것을 실험적 그리고 이론적으로 확인하였다. Agarose 하이드로젤 안에서 용액의 확산속도는 sucrose 농도의 증가에 따라서 현저하게 빨라졌다. 이 연구에서 세포가 내재되어 있는 agarose 하이드로젤 마이크로칩에서 세포 미디엄이 흐르는 마이크로 채널에서 가까운 거리에 있는 세포들은 살았지만, 거리가 멀어질수록 세포들은 죽는 것을 immunocytochemistry에 의해서 확인하였다. 또한, 인체의 ECM 성분인 collagen과 fibrin 등으로 이루어진 3차원 하이드로젤 마이크로칩이 개발되었다.⁴⁸ 두 가지의 ECM 성분은 마이크로 채널 안에 경계면을 형성하며 나란히 패턴될 수 있으며, 세포의 adhesion 또는 형태를 결정할 수 있다. 혈관 내피세포를 포함하는 collagen과 alginate의 경계면 환경에서는 collagen 안에 있는 혈관 내피세포들이 수축을 하였다. 그러나 혈관 내피세포를 포함하는 collagen과 collagen-doped alginate의 경계면 환경에서는 안정한 ECM 경계면을 얻었으며 혈관 내피세포들이 패턴된 collagen 마이크로 채널 안에서 네트워크를 형성하였다.

하이드로젤 마이크로칩 안에서 세포 생존과 성장 연구 뿐만 아니라, 세포 migration 연구는 상처의 치료 그리고 면역반응에 있어서 중요하다. 주화성(chemotaxis)은 체세포, 단일 세포 유기체 또는 다세포 유기체들이 다양한 화학적 환경의 존재에 따라 그들의 움직임이 유도되는 세포의 중요한 기능이다. 최근에 chemokine 농도구배에서 3차원 agarose 하이드로젤 마이크로칩을 이용한 dendritic cell의 주화성이 연구되었다.⁴⁹ CCL19와 CCL21의 opposite 농도구배가 3차원 하이드로젤 마이크로칩 안에서 안정하게 형성되었으며, CCL19 보다는 CCL21의 농도구배 방향으로 dendritic cell의 더 빨리 migration하는 현상을 증명하였다. 하지만, CCL19 농도구배가 CCL21 농도구배보다 두 배로 증가하면 세포들은 움직이지 않았으며, 3차원 환경에서 CCL21 농도구배는 CCL19 농도구배보다 dendritic cell의 migration에 더욱 효과적이었다. 이러한 마이크로칩 시스템은 면역 시스템 내의 복잡한 3차원 미세환경에서 dendritic cell들이 약물 농도구배에 따라서 어떻게 센싱하면서 migration하는지를 연구할 수 있다. 또한 혈관 생성을 위한 3차원 collagen 스케폴드 기

반의 마이크로칩도 개발되었다.⁵⁰ 이 마이크로칩은 혈관 내피세포 성장인자(vascular endothelial growth factor, VEGF)의 농도구배를 안정하게 형성하며 3차원의 미세환경을 모사했다. 3차원 하이드로젤 마이크로칩 안에 VEGF의 약물 농도구배를 형성하면, 혈관 내피세포가 VEGF의 높은 약물 농도구배 방향으로 움직이는 것을 확인하였다. 이러한 마이크로칩 시스템은 혈관 내피세포의 성장인자 농도구배를 이용하여 angiopoietin-1(ANG-1)에 의해 고정된 stalk 세포로 구성되어 있는 3차원 복합구조를 만들 수도 있고 3차원 미세환경에서 여러 가지 세포를 공동으로 배양하여 세포의 migration을 연구하는데 적합하다.

3. 결론

다양한 마이크로 기술과 기능성 하이드로젤 합성기술을 접목한 융합 기술은 조직공학 연구에 있어서 중요하다. 기존의 조직공학 기술들은 조직내 혈관 네트워크 형성이 어렵고 인체내의 조직을 정교하게 모사하기가 어려운 단점들을 지니고 있다. 이러한 문제점들을 해결하기 위하여 신개념의 마이크로 기술들(bottom-up 기술, 마이크로웰 어레이 기술, 그리고 3차원 마이크로칩 기술)과 생체 친화성 하이드로젤을 이용한 연구가 조직공학 응용에 많이 활용되고 있다. 이와 같은 마이크로 융합 기술들을 이용하면 3차원 스케폴드와 복잡한 혈관 네트워크를 가지는 인체와 유사한 인공 조직들을 개발할 수 있을 것으로 기대되어 진다.

참고문헌

1. L. V. McIntire, H. Greisler, L. Griffith, P. C. Johnson, D. J. Mooney, M. Mrksich, N. L. Parenteau, and D. Smith, *International Technology Research*, 214 (2002)
2. 윤석영, *활간세라믹스*, **19**, 268 (2010).
3. R. M. Nerem and A. Sambanis, *Tissue Eng.*, **1**, 3 (1995).
4. S. J. Hollister, *Nat. Mater.*, **4**, 518 (2005).
5. 김문석, 강길선, 이일우, 이해방, *한국진공학회지*, **16**, 58 (2007).
6. 신영민, 신흥수, *Polym. Sci. Technol.*, **18**, 458 (2007).
7. A. Khademhosseini, R. Langer, J. Borenstein, and J. P. Vacanti, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 2480 (2006).
8. L. Y. Yeo, H. C. Chang, P. P. Y. Chan, and J. R. Friend, *Small*, **7**, 12 (2011).
9. D. W. Huttmacher, *Biomaterials*, **21**, 2529 (2000).
10. K. Anselme, *Biomaterials*, **21**, 667 (2000).
11. S. Yang, K. F. Leong, Z. Du, and C. K. Chua, *Tissue Eng.*, **7**, 679 (2001).
12. P. Ducheyne and G. W. Hastings, *CRC Press*, 136 (1984).
13. 이해방, *Polym. Sci. Technol.*, **5**, 566 (1994).
14. K. Y. Lee and D. J. Mooney, *Chem. Rev.*, **101**, 1869 (2001).
15. O. Z. Fisher, A. Khademhosseini, R. Langer, and N. A. Peppas, *Acc. Chem. Res.*, **43**, 419 (2010).
16. S. H. Kim, A. Y. Oh, J. H. Choi, S. H. Jung, H. H. Hong, N. R. Jeon, H. S. Shin, J. M. Rhee, and G. Khang, *Tissue Eng. Regen. Med.*, **5**, 351 (2008).
17. 고원건, *대한토목학회지*, **55**, 79 (2007).
18. 이재원, *Polym. Sci. Technol.*, **22**, 34 (2011).

19. Li. Qiang, Johns Hopkins University, Ph.D. thesis (2005).
20. 류원석, *News Inf Chem Eng*, **20**, 143 (2002).
21. 송수창, *News Inf Chem Eng*, **28**, 171 (2010).
22. A. C. Jen, M. C. Wake, and A. G. Mikos, *Biotechnol Bioeng*, **50**, 357 (1996).
23. M. Heskins and J. E. Guillet, *J. Macromolecular Sci. Part A-Chemistry*, **2**, 1441 (1968).
24. 신영찬, 김범상, *Theories and Applications of Chemical Engineering*, **12**, 1334 (2006).
25. K. Kataoka, H. Miyazaki, T. Okano, and Y. Sakurai, *Macromolecules*, **27**, 1061 (1994).
26. L. Bromberg, *Curr Pharm Biotechnol*, **4**, 339 (2003).
27. H. Wei, X. Z. Zhang, Y. Zhou, S. X. Cheng, and R. X. Zhuo, *Biomaterials*, **27**, 2028 (2006).
28. J. Yeh, Y. Ling, J. M. Karp, J. Gantz, A. Chandawarkar, G. Eng, J. Blumling, 3rd, R. Langer, and A. Khademhosseini, *Biomaterials*, **27**, 5391 (2006).
29. P. Panda, S. Ali, E. Lo, B. G. Chung, T. A. Hatton, A. Khademhosseini, and P. S. Doyle, *Lab Chip*, **8**, 1056 (2008).
30. Y. Du, M. Ghodousi, E. Lo, M. K. Vidula, O. Emiroglu, and A. Khademhosseini, *Biotechnol Bioeng*, **105**, 655 (2010).
31. B. Zamanian, M. Masaeli, J. W. Nichol, M. Khabiry, M. J. Hancock, H. Bae, and A. Khademhosseini, *Small*, **6**, 937 (2010).
32. R. F. Shepherd, J. C. Conrad, S. K. Rhodes, D. R. Link, M. Marquez, D. A. Weitz, and J. A. Lewis, *Langmuir*, **22**, 8618 (2006).
33. Y. Du, E. Lo, S. Ali, and A. Khademhosseini, *Proc. Natl Acad. Sci USA*, **105**, 9522 (2008).
34. D. Dendukuri, D. C. Pregibon, J. Collins, T. A. Hatton, and P. S. Doyle, *Nat Mater*, **5**, 365 (2006).
35. S. E. Chung, W. Park, S. Shin, S. A. Lee, and S. Kwon, *Nat Mater*, **7**, 581 (2008).
36. M. Gulfam, J. M. Lee, and B. G. Chung, *Biotechnol Prog*, **27**, 466 (2011).
37. M. Cordey, M. Limacher, S. Kobel, V. Taylor, and M. P. Lutolf, *Stem Cells*, **26**, 2586 (2008).
38. H. C. Moeller, M. K. Mian, S. Shrivastava, B. G. Chung, and A. Khademhosseini, *Biomaterials*, **29**, 752 (2008).
39. Y. S. Hwang, B. G. Chung, D. Ortmann, N. Hattori, H. C. Moeller, and A. Khademhosseini, *Proc. Natl Acad. Sci USA*, **106**, 16978 (2009).
40. G. Kang, J. H. Lee, C. S. Lee, and Y. Nam, *Lab Chip*, **9**, 3236 (2009).
41. S. F. Wong, Y. No da, Y. Y. Choi, D. S. Kim, B. G. Chung, and S. H. Lee, *Biomaterials*, **32**, 8087 (2011).
42. P. Mitchell, *Nat Biotechnol*, **19**, 717 (2001).
43. M. A. Burns, *Science*, **296**, 1818 (2002).
44. D. R. Meldrum and M. R. Holl, *Science*, **297**, 1197 (2002).
45. P. A. Auroux, D. Iossifidis, D. R. Reyes, and A. Manz, *Anal Chem*, **74**, 2637 (2002).
46. U. Attia, S. Marson, and J. Alcock, *Microfluid Nanofluidics*, **7**, 1 (2009).
47. J. H. Park, B. G. Chung, W. G. Lee, J. Kim, M. D. Brigham, J. Shim, S. Lee, C. M. Hwang, N. G. Durmus, U. Demirci, and A. Khademhosseini, *Biotechnol Bioeng*, **106**, 138 (2010).
48. B. M. Gillette, J. A. Jensen, B. Tang, G. J. Yang, A. Bazar-gan-Lari, M. Zhong, and S. K. Sia, *Nat Mater*, **7**, 636 (2008).
49. U. Haessler, M. Pisano, M. Wu, and M. A. Swartz, *Proc. Natl Acad. Sci USA*, **108**, 5614 (2011).
50. Y. Shin, J. S. Jeon, S. Han, G. S. Jung, S. Shin, S. H. Lee, R. Sudo, R. D. Kamm, and S. Chung, *Lab Chip*, **11**, 2175 (2011).