

재생의학과 조직공학: 기능성이 강화된 고분자 지지체를 이용한 인사이투 조직재생

고인갑 · 유지 · Atala Anthony · 이상진

1. 서론

우리 몸의 조직이나 장기가 손상되었을 때 이를 대체하기 위해 자가 조직을 이용한 자가이식법 (autografts), 타인의 조직을 이용한 동종 이식법 (allografts)이나 동물의 조직을 이용한 타종이식법 (xenografts) 을 포함하는 외과적 이식이 수행된다. 이외에도 천연 또는 합성 생체 재료 등이 이식물로 부분적으로 사용되어 진다. 이들 중 환자의 자가 조직을 이식하는 외과적 치료가 가장 이상적이라고 할 수 있으나, 환자 자신의 조직을 손상해야 하기 때문에 많은 한계를 가지고 있다. 또

한, 동종이식이나 타종이식의 경우에는 면역거부반응이나 병원체의 전달 등과 같은 잠재적 문제점을 가지고 있다. 금속, 세라믹, 또는 합성플라스틱을 포함하는 생체재료가 이식물로 국한적으로 사용되고 있으나, 생체적합성 (biocompatibility), 생체비활성 (bioinert) 등의 까다로운 요구조건을 전제로 한다. 여기에서 언급되는 생체재료는 본 특집에서 논의되는 조직공학적 지지체로서의 생체재료와는 구별되어 진다.

최근, 재생의학 (regenerative medicine) 과 조직공학 (tissue engineering) 의 발전은 대체재로서의 조직이나 장기의 부족에 따른 한계를 극복할 수 있는 이상적인 방안으로 자리매김하고 있다. 조직공

고인갑

1990~1997 한양대학교 섬유공학부(학사)
1998~2000 Kyoto University Dept. Polymer Science (석사)
2000~2003 Kyoto University Dept. Polymer Science (박사)
2003~2004 연세대학교 방사선과, 박사후 연구원
2004~2006 Dartmouth Medical School, 박사후 연구원
2006~2009 Case Western Reserve University, 박사후 연구원
2009~현재 Wake Forest University School of Medicine, 박사후 연구원

유지

1979~1983 University of Illinois, Dept. Biology (학사)
1983~1989 고려대학교 의과대학(임상의)
1989~1994 고려대학교 의과대학(박사)
1994~1996 Children's Hospital Boston and Harvard Medical School, 연구원
1996~2000 Children's Hospital Boston and Harvard Medical School, 전임강사
2001~2003 Children's Hospital Boston and Harvard Medical School, 조교수
2004~2010 Wake Forest University School of Medicine, 부교수
2007~현재 Wake Forest Institute for Regenerative Medicine, 부소장
2010~현재 Wake Forest University School of Medicine, 교수

Anthony Atala

1980~1984 University of Miami(학사)
1980~1985 University of Louisville School of Medicine(임상의)
1985~1990 University of Louisville School of Medicine, Internship & Residency
1990~1992 Children's Hospital Boston and Harvard Medical School, 연구원
1992~1994 Children's Hospital Boston and Harvard Medical School, 전임강사
1994~1998 Children's Hospital Boston and Harvard Medical School, 조교수
1998~2004 Children's Hospital Boston and Harvard Medical School, 부교수
2004~현재 Wake Forest Institute for Regenerative Medicine, 소장
2004~현재 Wake Forest University School of Medicine, 교수

이상진

1991~1998 한남대학교 고분자학과(학사)
1998~2000 한남대학교 고분자학과(석사)
2000~2003 한양대학교 화학공학과(박사)
2003~2004 Children's Hospital Boston and Harvard Medical School, 박사후 연구원
2004~2006 Wake Forest University School of Medicine, 박사후 연구원
2006~2008 Wake Forest University School of Medicine, 전임강사
2007~현재 Virginia Tech-Wake Forest University School of Biomedical Engineering and Sciences, 겸임교수
2008~현재 Wake Forest University School of Medicine, 조교수

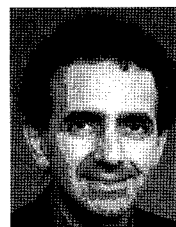
고인갑



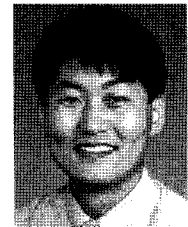
유지



Anthony Atala



이상진



Regenerative Medicine and Tissue Engineering: Functionalized Polymeric Scaffolds for *in situ* Tissue Regeneration

웨이크 포레스트대학교 재생의학 연구소 (In Kap Ko, James J. Yoo, Anthony Atala, and Sang Jin Lee, Wake Forest Institute for Regenerative Medicine, Wake Forest University Health Sciences, Medical Center Boulevard, Winston-Salem, North Carolina 27157, USA) e-mail: sjlee@wfubmc.edu

학기술은 환자에서 분리되고 배양된 특정 세포를 생체적합성/생분해성 재료로 제조된 지지체(scaffold)에 접촉시키고, 생체활성인자(bio-active molecule)를 이용한 생화학적 자극 또는 생체반응기(bioreactor)를 이용한 물리적인 자극 등을 통해 조직화(tissue formation)된다. 즉, 공학적으로 제조된 인공장기는 우리 몸의 생체조직과 유사하여 자가 조직이식물의 대체제로 많은 가능성을 가지고 있다.^{1,2} 위와 같이, 전통적인 조직공학적인 방법은 특정 조직에서 세포를 분리하고 대량 배양하여 충분한 세포수를 확보하고, 다공성 지지체에 고루 배양되어진다. 세포가 배양된 지지체는 생체 내에 이식되어져 손상된 조직이나 장기의 기능을 대체하게 되는데, 현재까지 인공혈관,³ 인공요도,⁴ 인공방광,⁵ 인공연골⁶ 등이 조직공학적인 방법으로 제조되어 성공적으로 임상 적용되어지고 있으며, 이외 여러 조직과 장기에 대한 연구가 활발하게 진행 중에 있다.

이러한, 전통적인 조직공학기술은 환자의 조직으로부터 세포를 분리, 배양하고 증식하는 일련의 과정이 요구되어진다.⁷ 하지만, 많은 경우에서 세포원의 확보가 수월하지 않고, 분리된 세포의 증식이나 세포표현형을 유지하는데 한계를 가지고 있다. 실질적으로 세포배양에 관한 일련의 과정을 표준화하는 데에는 많은 시간과 노력이 필요하다. 한편으로 줄기세포의 이용은 이러한 문제점을 효과적으로 해결할 수 있는 방안으로 제시되고 있으나,⁸ 줄기세포를 활용하는 방법 역시 세포 분리, 배양, 증식 등의 일련의 과정이 여전히 요구되어지며, 또한 이를 임상 적용하기 위해서는 원하는 세포로 분화시키는 기술이 필요하다.

그러므로, 본 특집에서는 조직공학기술의 핵심 요소의 하나인 세포에 관한 일련의 과정을 제거하고 생체재료를 기반으로 하는 가능성이 보장된 조직공학적인 지지체를 이용하여 보다 효율적이고 응용가능성이 많은 인사이투 조직재생(*in situ* tissue regeneration)에 대한 새로운 접근 방식을 제시하고자 한다.

2. 새로운 조직공학적인 접근 방법의 제시: 인사이투 조직재생 (*In Situ* Tissue Regeneration)

일반적으로 우리 몸은 조직이나 장기가 손상을 입었을 때 자발적으로 회복할 수 있는 생물학적 기본요소와 재생능력을 가지고 있으며, 이는 염증(inflammation)과 면역반응(immunologic responses)으로 시작하는 일련의 상처치유(wound healing) 과정을 예로 들 수 있다.⁹ 우리 몸의 상처가 경미할 경우에는 이러한 경로를 통해 자연 치유될 수 있지만, 조직이나 장기의 손상이 광범위한 경우에는 자연재생능력에 의한 자발적인 회복이 어렵고, 이에 따른 기능을 상실하게 된다. 따라서, 이에 앞서 언급된 조직이식물이 이식되어 그 기능을 대체하거나 손상된 부분을 복원하게 된다. 이와 더불어 생체재료가 체내에 이식되었을 때의 반응을 살펴볼 필요가 있다. 일반적으로, 생체재료가 우리 몸에 이식되었을 때 대식세포(macrophage)와 이물질 거대세포(foreign body giant cell)를 동반한 이물질 반응(foreign body reaction)이 일어나고, 이러한 반응은 이식된 생체재료로 인한 염증반응을 유발한다. 또한, 이식된 생체재료에는 우리 몸에 존재해 있는 섬유아세포(fibroblast) 등을 포함하는 체내세포의 수가 증가하고, 이들 세포에 의해 콜라겐(collagen)과 같은 세포외기질(extracellular matrix)이 축적되면서 반흔조직(scar formation)을 형성하게 된다.¹⁰

최근 들어 줄기세포에 대한 연구가 활발해지고 배아줄기세포(embryonic stem cells)에 대한 윤리적 문제가 대두되면서 성체줄기세포(adult stem cells)에 대한 관심이 보다 커져가고 있다. 성체줄기세포에는 골수유래 줄기세포뿐만 아니라 지방유래 줄기세포, 신경줄기세포, 피부줄기세포, 근육줄기세포, 췌장줄기세포, 신장전구세포, 간전구세포 등, 우리 몸의 거의 모든 조직과 장기에서 특정조직에 특화된(tissue specific) 줄기세포나 전구세포들이 존재한다고 알려져 있다. 이러한 사실은 우리 몸의 자가재생능력과 많은 상관관계를 가지고 있다.

본 연구팀은 조직공학적인 지지체가 체내에 이식되었을 때, 앞서 언급된 것과 같이 일반적인 이물질 반응 외에 조직에 특화된 줄기세포나 전구세포가 이식물에 반응할 것이라는 가정을 가지고, 이에 대한 실험을 수행하였다. 이를 위해 조직공학에서 일반적으로 사용되고 있는 지지체 중의 하나인 폴리글리콜라이드(polyglycolide, PGA) 부직포를 실험용 쥐의 피하에 이식하여 지지체로 침투하는 세포를 관찰하였다.¹¹ 생분해성 고분자인 폴리글리콜라이드 부직포는 섬유형태의 다공도가 높은 구조를 하고 있어 이식 후에 면역세포를 포함한 여러 가지 체내의 세포가 지지체 내로 침투하는 것을 허용하였고, 이식 후 3주까지 세포침투가 현저히 증가되었고, 그 이후에는 콜라겐과 같은 세포외기질이 축적되면서 침투된 세포의 수가 감소되었다. 이러한 결과는 일반적으로 예상할 수 있는 이식물에 대한 이물질 반응이다. 하지만, 연구팀은 지지체 내에 침투한 세포를 체외 배양하여 면역반응이나 염증반응에 관여된 세포 외에 체내에 존재하는 줄기세포 또는 전구세포의 특성을 갖는 세포의 침투 여부를 확인하고자 하였다. **그림 1**에서 볼 수 있듯이, 이식된 지지체에 침투한 세포를 분리, 배양하고, 이 세포를 분석한 결과, 침투된 세포는 흥미롭게도 줄기세포 표현형의 하나인 줄기세포항원-1(stem cell antigen-1, Sca-1)을 발현하였으며, 이 세포는 시험관에서 배양되어 배양액의 조건에 따라, 뼈세포(osteogenic), 혈관내피세포(endothelial), 지방세포(adipogenic) 내지는 근육세포(myogenic)로 분화되었다. 결과적으로, 조직공학적인 지지체가 체내에 이식되었을 때, 면역이나 염증에 관여하는 세포 이외의 주변 조직에 존재하는 줄기세포나 전구세포가 활성화되어 지지체내로 이동한다는 사실인데, 이는 조직공학자에게 매우 흥미로운 일이 아닐 수 없다.

이러한 실험결과를 바탕으로, 제시하고자 하는 새로운 조직공학적인 접근

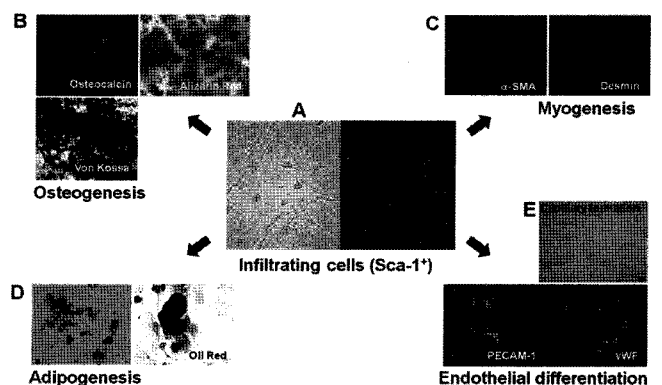


그림 1. 이식된 지지체내로 침투한 체내세포는 특정배양조건하에서 각각의 조직특이적인 세포형태로 분화되었다. (A) 지지체내로 침투한 체내세포(줄기세포 항원-1을 발현), (B) 뼈세포로의 분화, (C) 근육세포로의 분화, (D) 지방세포로의 분화, (E) 혈관내피세포로의 분화.¹¹

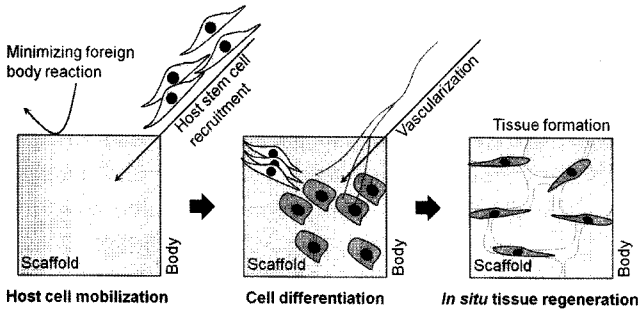


그림 2. 인사이트 조직재생의 개념도.

근 방법은 생체재료 지지체(세포를 배양하지 않은)를 이용하여 우리 몸 안에 있는 줄기세포나 전구세포를 활성화하고 특정 조직으로 유도하여 광범위한 조직이나 장기의 손상이 있을 때, 이를 재생의 도구로 이용하고자 하는 것이다. 이를 위해 제조된 보다 기능성이 강화된 조직공학적인 지지체는 이식 후 발생하는 면역 반응이나 염증반응을 최소화시키고 조직에 특화된 줄기세포나 전구세포를 보다 활성화시켜, 결국 원하는 세포로 분화시킴으로 손상된 조직을 복원하고 상실된 장기의 기능을 회복하고자 하는 것이다. 그림 2는 이 새로운 접근 방법을 설명하는 모식도이다. 생체활성인자(bioactive molecules)를 결합한 생체적합성 재료로 만들어진 지지체는 손상된 조직이나 장기에 이식되고, 지지체로부터 서서히 방출되는 생체활성인자로 인하여 우리 몸이 가지고 있는 재생능력시스템을 활성화시킨다. 이로 인해 활성화된 체내의 줄기세포나 전구세포는 지지체 내로 유도되어 특정세포로 분화하게 되고 새로운 조직을 재생하고 기능을 회복하게 된다. 이를 무세포-지지체를 이용한 조직공학적인 재생방법, 즉, 인사이트 조직재생(*in situ* tissue regeneration, 생체 내 본래 장소에서의 조직재생) 이라고 명명하고자 한다.

3. 인사이트 조직재생을 위한 기능성 지지체의 개발

인사이트 조직재생에서 가장 중요한 관점은 우리 몸의 자가재생 능력을 효과적으로 조절할 수 있는 기능성 지지체의 개발이라고 하겠다. 이러한 접근방법에서 지지체의 개발에 이용되는 생체재료는 전통적인 조직공학적인 지지체의 생체재료와 크게 다르지 않으며 동일한 기본 요구조건을 가진다. 하지만, 조직공학기술에서 널리 활용되어지는 단백질 전달기술(protein delivery system)의 보다 정교하고 효과적인 연합이 필요하다. 이를 다음에서 보다 자세히 설명하고자 한다. 더불어 보다 기능적인 지지체를 개발하기 위해서는 목표로 하는 특정 조직이나 장기의 해부학적 구조, 생화학적 반응, 물리적 성질, 기능성 등에 대한 이해가 선행되어야 하겠다. 충분한 이해가 성립되었을 때 보다 정교한 기능성 지지체의 개발이 이루어질 수 있다.

3.1 생체재료(Biomaterials)와 지지체의 제조방법

특정 조직이나 장기에 따라 요구되는 생체재료의 특성의 차이가 있지만, 조직공학적인 지지체로서의 기본적인 요구조건으로는 생분해성(biodegradability), 생체적합성, 적합한 기계적 물성, 다공성(porosity) 등이 있다. 조직공학용 생체재료로는 크게 천연재료와 합성고분자로 나누어진다. 천연재료에는 주로 다당류(polysaccharide)와 단백질(protein) 등이 있으며, 다당류는 단당류(mono-)나 이당류(di-

saccharide)가 반복하여 배당체결합(glycosidic binding)을 하고 있는 탄수화물 고분자(carbohydrate polymers)를 일컫는다.¹² 이들 다당류에는 셀룰로오스(cellulose), 알긴산염(alginate), 하이알루론산(hyaluronic acid), 전분(starch), 텍스트란(dextran), 헤파린(heparin), 키틴(chitin) 및 키토산(chitosan) 등이 널리 사용된다. 다당류와 달리 조직이나 장기의 주성분인 단백질도 생체재료로서 오랜 역사를 가지고 있다. 대표적 단백질인 콜라겐은, 포유류에 가장 많이 존재하는 세포외기질 단백질로서, 효소처리나 염/산(salt/acid) 추출법에 의해 정제되어 사용된다.¹³ 콜라겐은 이식 후 생체 내에서 염증반응이나 면역반응을 거의 일으키지 않는 생체적합성 재료로,¹⁴ 상처치유(wound healing)나 인공피부(미국 FDA에 의해서 승인)¹⁵ 등에 응용되고 있다. 또한, 생물학적 활성화(biologically active), 뛰어난 세포 접착성, 성장인자(growth factors)와의 높은 결합력을 가지고 있다. 콜라겐을 화학처리하여 만든 젤라틴(gelatin) 역시 조직공학용 지지체 재료로 널리 사용되어진다.¹⁶ 또 다른 예로는, 생체유래의 재료인 피브린(fibrin)이다. 피브린은 우리 몸속의 혈액응고작용에서 볼 수 있는 성분으로, 피브리노겐(fibrinogen)과 트롬빈(thrombin)이 결합되어 젤 형태의 피브린이 형성되는데, 생체적합성이 뛰어나고, 취급이 용이하며, 환자 자신의 혈액에서 쉽게 분리될 수 있는 장점이 있어 우수한 생체재료로 활용된다.

대표적인 생분해성 고분자로는 널리 알려져 있는 폴리에스터(polyesters)계의 폴리글리콜라이드, 폴리락타이드(poly lactide, PLA), 이의 공중합체인 poly(lactic-co-glycolic acid) (PLGA)가 있다. 폴리에스터계의 이들 고분자는 생체내에서 분해되는 동안 독성을 거의 보이지 않고, 분해 후에는 이산화탄소와 물의 형태로 분해되어 체외로 방출된다. 이들 합성고분자는 열가소성(thermoplasticity)으로, 가공성이 좋아 높은 다공성과 표면적을 가지는 3차원적 구조물로 제조되어 조직공학적인 지지체로 널리 활용된다. 이들 지지체의 제조기술로는 염추출(salt leaching), 주조(molding), 압출(extrusion),¹⁷ 용매 주조(solvent casting),¹⁸ 상분리(phase separation), 기체발포(gas foaming)법^{19,20} 등이 사용되며, 최근에는 전기방사(electrospinning)법으로 나노크기의 구경이 같은 섬유 구조를 가진 지지체를 제조하거나 임의형상제작 시스템(solid freeform fabrication)을 이용하여 보다 정교하고 임상응용이 가능한 지지체를 제조한다. 폴리에스터계의 고분자 이외에도, 폴리안하이드라이드[poly(anhydride)]나 폴리ortho-에스터[poly(ortho-esters)] 등의 생분해성 고분자가 있다.²¹

또한, 이러한 생체재료는 지지체의 이식방법에 따라 구분되기도 하는데, 이는 주입(injection)형과 이식(implantation)형이다. 특정 조직이나 장기의 특성이나 치료 목적에 따라 이식방법을 결정할 수 있다. 하이드로젤(hydrogel)은 졸 상태에서 세포와 쉽게 혼합되었다가 자외선, pH, 온도, 가교제 등을 통한 다양한 신호에 의해 생체내에 주입된 후 가교되고 고형화되어 일정한 형태를 유지한다. 이식형 지지체는 앞서 언급된 제조 방법에 의해 3차원적 구조물로 제조되어 세포가 배양된 후 이식되는데, 주입형에 비해 생체 내에 이식하기 위해 피부의 절개 등의 수술을 요구하지만, 이식하기 전에 특정 형태를 가지도록 제조가 가능하여 보다 정교한 구조물의 제조가 가능하고 비교적 체내에서 오랜 분해기간을 갖는다.

3.2 생체활성인자(Bioactive Molecule)

세포를 제공하지 않는 새로운 조직공학적인 접근방법에서 생체활성인

자의 역할은 매우 중요하다. 생체활성인자는 우리 몸의 환경을 조절할 수 있는 중요한 인자로 성장인자(growth factor)나 사이토카인(cytokine) 등으로 구성된다. 인사이투 조직재생에 있어서, 체내에 존재하는 줄기세포나 전구세포를 활성화시켜 보다 효과적으로 지지체 내로 유도하고 증식, 분화시켜 원하는 조직으로 재생하도록 해야 한다. 이를 위해서는 지지체 내에 세포의 활동에 유리한 생활성적 미세환경(bioactive microenvironment)을 제공하는 것이 중요하며, 이러한 미세환경의 조성을 위해서는 생체활성인자의 역할이 매우 크다고 하겠다.²² 실제로, 우리 몸속에 있는 줄기세포의 수는 매우 한정되어 있고 효과적인 조직재생을 위해서는 충분한 줄기세포의 수를 이식된 지지체 내로 확보하는 것이 선행되어야 하기 때문이다. 표 1에서는 인사이투 조직재생에서 활용되는 대표적인 생체활성인자로 조직공학용 지지체와 함께 이식되어 주변 조직에 전달되어 직접적으로 생체 내에서의 여러 가지 반응을 조절하게 된다.

이들 생체활성인자는 체내에 존재하는 줄기세포나 전구세포의 이동, 증식, 분화, 귀소성(homing)을 조절한다. 예를 들어, 여러 연구에서 중배엽줄기세포(mesenchymal stem cell, MSC)에 대한 다양한 케모카인(chemokine)을 이용해 화학주성(chemotactic)을 평가하였는데, 이들 세포는 뚜렷하게 케모카인 수용기인, CCR1, CCR7, CCR9, CXCR4, CXCR5, CXCR6을 발현하였다. 또한, 이러한 케모카인과 세포표면의 수용기의 관련성은 특정 케모카인에 대한 세포의 반응과 β -액틴 필라멘트의 재조합(CXCL12)을 유도한다. 특히, CXC 케모

카인, 즉 기질세포유래인자(stromal cell-derived factor-1 α , SDF-1 α =CXCL12)는 조혈모세포, 전구세포, 중배엽줄기세포 등의 여러 세포의 생존, 이동성, 증식, 분화와 밀접한 관련이 있음을 보여준다. 이외에도 간세포성장인자(hepatocyte growth factor, HGF), 기질금속단백분해효소(matrix metalloproteinase-2, MMP-2),²³ galanin,²⁴ 단핵백혈구 화학주성단백질-3(monocyte chemotactic protein-3, MCP-3)²⁵ 등의 케모카인이 체내에 존재하는 중배엽줄기세포와의 특이성이 보고되어 있다.

3.3 생체활성인자의 서방형 전달방법

앞서 언급된 바와 같이 생체활성인자의 역할은 인사이투 조직재생에 있어 체내의 환경을 조절할 수 있는 가장 중요한 요소의 하나이며 이의 효과적인 전달 방법은 지지체의 개발과 제조에 있어 절대적인 고려사항이다. 효과적인 생체활성인자의 전달을 위해서는, 1) 장기간 생물학적 활성(bioactive) 상태를 유지시켜야 하며, 2) 원하는 시간에(temporal), 3) 원하는 장소에(spatial), 4) 서서히 방출되면서 유효 활성화 농도를 유지시키는 것이다. 대부분의 생체활성인자는 체내에 존재하는 효소에 의해서 쉽게 분해되거나 활성을 잃기 쉽고, 치료 부위에 일시적인 주입방법(bolus injection)은 주입 순간 고농도의 생체활성인자로 인한 세포독성을 보이기도 한다. 이러한 이유로 생체활성인자는 지지체 재료에 화학적으로 결합(immobilization)시키거나 포집(incorporation)시켜 일정한 유효농도를 유지하면서 서서히 방출하는 서방형 전달방법으로 국소적으로 전달된다. 이 전달 방법은 재료의 특성에 의존하게 되는데, 이는 온도, pH, 전자기장, 고분자의 생분해성도 등에 따라 생체활성인자의 방출이 조절된다.

인사이투 조직재생에 있어 지지체는 체내에 존재하는 줄기세포나 전구세포를 유인하는 것뿐만 아니라 이동된 세포를 증식시키고 분화시켜 원하는 조직이나 기능을 갖는 장기로 재생될 수 있는 환경을 제공해야 한다. 이는 지지체의 단일 효과에 의지하기 보다는 보다 복잡한 기능성을 요구하게 된다. 이에, 지지체의 개발에 있어 생체활성인자의 전달에서 고려되는 부분은 다수인자(multiple)의 전달방법이다. 예로, Mooney 등의 연구팀은 알긴산염에 혈관촉진활성인자인 혈관내피성장인자(vascular endothelial growth factor, VEGF), 섬유아세포성장인자(fibroblast growth factor, FGF), 혈소판유래성장인자(platelet derived growth factor, PDGF)를 포집시켜 손상부위에 이식한 후 이들 여러 인자가 시간차 방출되면서 보다 효과적인 혈관재생을 유도하는 것을 보고하였다. 이는 서방형 전달방법을 적절하게 조절하여 각각의 생체활성인자의 방출에 시간적 차이를 줌으로 보다 효과적인 조직재생을 달성한 것이다. 이와 마찬가지로, 최근의 연구에서는 다수의 생체활성인자를 시간차를 두고 서서히 방출시키는 여러 방법이 보고되고 있다(그림 3). 다수인자 서방형 전달방법은 실제로 체내에서 일어나는 조직재생 환경을 잘 모방한 것으로 보다 효과적이고 신속한 조직재생에 기여하게 된다. 또 다른 주목할 만한 연구로는 효과적인 혈관재생을 위해서 알긴산염 스폰지로부터 혈관내피세포성장인자를 방출시켜 혈관내피세포를 먼저 유도하여 다수의 모세혈관(capillary blood vessels)을 우선적으로 형성시킨 다음, 혈소판유래성장인자를 합성고분자 미립구에 포집시켜 혈관내피세포성장인자와 시간차를 두고 방출시킴으로써 혈관연근육세포를 유도하여 생성된 모세혈관을 더욱 성숙시킴으로 보다 안정된 혈관구조를 형성하였다.²⁶ 이러한 시도는 조직재생에서 중요한 요소인 혈관유도를 다수의 활성인자를 시간차를 두고 방출하므로 보다 안정되게 하겠다는 점에서 의미를 찾을 수 있다.

표 1. 인사이투 조직재생에 활용되는 생체활성인자의 예

Stem cell homing factor	
Stromal cell-derived factor-1 (SDF-1)	
Hepatocyte growth factor (HGF)	
Monocyte chemotactic protein-3 (MCP-3)	
Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF)	
Matrix metalloproteinase-2 (MMP-2)	
Galanin	
Collagen synthetase inhibitors	
Metalloproteinase inhibitor	
Propyl hydroxylase	
C-proteinase inhibitor	
Halofuginone	
Tissue enhancing factors	
Transforming growth factor- β s (TGF- β s)	
Insulin-like growth factors (IGFs)	
Fibroblast growth factor-1 (FGF-1)	
Epidermal growth factor (EGF)	
Anginogenic factors	
Vascular endothelial growth factor (VEGF)	
Fibroblast growth factor-2 (FGF-2)	
Platelet derived growth factor-BB (PDGF-BB)	
Transforming growth factor- β s (TGF- β s)	
Angiogenin	
Angiopoietin-1 (Ang-1)	
Angiopoietin-2 (Ang-2)	
Delta-like ligand 4 (Dll4)	
Innervation factors	
Brain-derived neurotrophic factor (BDNF)	
Glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF)	
Nerve growth factor (NGF)	
Aggrin	

최근에 발표된 논문에서 보면, 효과적인 조직재생을 위해 젤라틴 지지체에 4종류의 다른 생체활성인자, 혈관내피세포성장인자, 엔지오포이틴-1(angiotensin-1, Ang-1), 각질세포성장인자(keratinocyte growth factor, KGF), 혈소판유래성장인자를 화학적으로 결합시켜

체내에서 전달하였다. 이는 다양한 생체활성인자를 동시에 전달함으로써 시너지효과를 주어 혈관형성을 증가시켰고, 궁극적으로 조직형성을 앞당겼다.²⁷ 이외에도 골격근재생에 있어 알긴산염에서 인슐린유사성장인자(insulin-like growth factor, IGF)과 혈관내피세포성장인자를 동시에 방출하여 효율적이고 기능적인 골격근조직재생을 관찰하였다.²⁸ 혈관재생과 더불어 주변의 골격근위성세포(muscle satellite cell)를 활성화시켜, 기능성을 갖춘 골격근조직을 형성시켰다는 면에서 중요한 연구결과라고 할 수 있다. 골격근재생 뿐만 아니라, 다른 조직이나 장기의 재생에도 시간차를 둔 다수활성인자의 전달방법이 활용되어지고 있다.²⁹

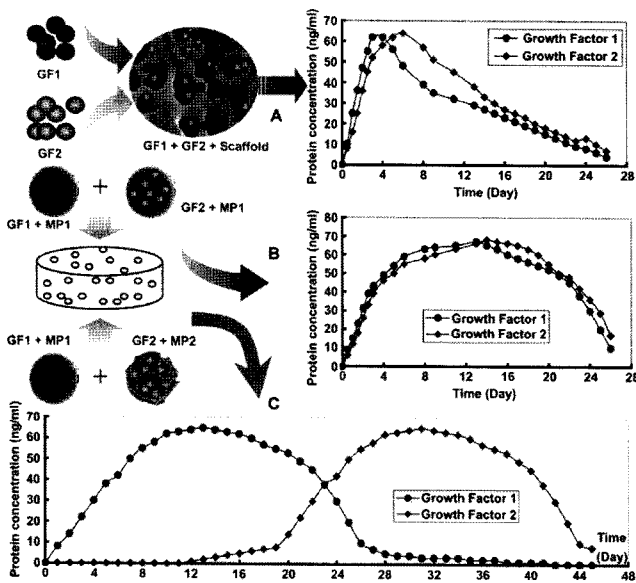


그림 3. 다수인자 전달시스템의 모식도; 두 개의 다른 생체활성인자가 제조형태에 따라 서로 다른 방출 패턴을 보여주고 있다.²⁹

4. 인사이투 조직재생방법의 응용

본 장에서는 인사이투 조직재생의 응용을 여러 가지 조직과 장기의 예에서 찾아보고자 한다. 이 새로운 조직공학적 접근 방법은 가능성이 강화된 조직공학적 지지체를 이용하여 우리 몸에 이미 존재하는 조직특성화된 줄기세포나 전구세포를 자극하여 자연재생능력을 극대화시킴으로써 새로운 조직이나 장기의 재생이나 재건을 목적으로 한다.³⁰ 표 2에서는 조직공학적 지지체 또는 생체활성인자를 활용하여 여러 가지 조직이나 장기를 재생한 사례를 보여준다. 본 특집에서는 특히, 뼈조직, 연골조직, 골격근조직, 심혈관관계 조직재생에 대해 살펴보았다. 이외에도 여러 연구결과에서 세포를 배양하지 않고 생체재료만을 이용하여

표 2. 최근 인사이투 조직재생기법에 의한 여러 가지 조직이나 장기에의 응용에

	Biomaterials	Bioactive factors	Animal model	Refs.
Bone	PLA	FGF-1/spraying	Rat calvarial bone defect	(36)
	Fibrin/PLGA	BMP-2/encapsulation	Rat calvarial bone defect	(34)
	Alginate	BMP-2/immobilization	Rat muscle	(32)
	Fibrin	Heparan sulfate	Rat cranial defect	(52)
	P(HEMA-VP) gel	FGF-2/immobilization	Rabbit femoral defect	(53)
	Gelatin	FGF-2	Mouse maxillae	(35)
	Fibrin/HA	BMP-2	Mouse calvarial bone defect	(33)
	Bile duct	Collagen/PP mesh		Canine circumferential biliary defect
Cardiovascular (Heart and vessel)	PGA/PLA/collagen		Porcine descending aorta, porcine pulmonary arterial trunk, canine ventricular outflow tract	(48)
	PGA/PLA/collagen		Canine carotid arteries	(51)
	SIS/collagen		Rabbit arterial bypass model	(49)
	Collagen	NGF	Rat carotid artery	(55)
	PEUU		Rat myocardial infarction model	(47,56)
	Alginate		Rat myocardial infarction model	(50)
Cartilage	PGA	Autologous serum/HA/microfracture	Sheep full-thickness cartilage defect	(38,57)
	Collagen		Rabbit articular cartilage	(58)
Esophagus	UBM		Rat abdominal esophagus	(59)
	Rat gastric acellular matrix		Rat abdominal esophagus	(60)
Fat pad	Collagen/PP	FGF-2/gelatin microsphere	Rat	(61)
Muscle	Collagen		Rabbit muscle (vastus lateralis)	(42)
Periodontal Tissue	Collagen	FGF-2/gelatin microsphere	Canine periodontal	(62)
	PLGA	GDF-5	Canine periodontal	(63)
Skin	Chitosan		Porcine burned skin	(64)
Spine	PGA/HA	Blood serum	Rabbit disc defect	(65)
Stomach	Collagen/PGA		Canine stomach	(66)
Tendon	Silk/collagen	SDF-1 α	Rat Achilles tendon	(67)

PLA: poly(lactic acid), PLGA: poly(lactide-co-glycolide), PGA: poly(glycolic acid), PP: polypropylene, PEUU: polyester urethane urea, HA: hyaluronic acid, SIS: small intestine submucosa, UBM: urinary bladder matrix, FGF: fibroblast growth factor, BMP: bone morphogenic protein, NGF: nerve growth factor, GDF: growth differentiation factor.

몸안의 환경을 조절하여 원하는 조직이나 장기를 재생한 예가 보고되고 있다.

4.1 뼈조직 재생

인사이투 조직재생 예는 뼈조직의 재생에서 많이 찾아 볼 수 있다. 먼저, 요구되는 지지체의 성질로서는 적용되는 부분에 따라 필요한 기계적 강도를 지녀야 하고, 원활한 세포의 침투를 위해 다공성이 높아야 하고, 이식 후 발생하는 면역반응이나 염증반응을 최소화해야 한다.³¹ 가장 많이 사용되는 재료로는 뼈의 주요 구성요소인 인산칼슘(calcium phosphate), 황산칼슘(calcium sulfate) 하이드록시아파타이트(hydroxyapatite) 등으로 이를 기반으로 제작된 지지체와 탈미네랄뼈매트릭스(demineralized bone matrix) 등과 같은 뼈전도성(osteoconductive)을 갖는 지지체가 사용되고 있다. 또한, 골형성유도인자인 골형성단백질-2(bone morphogenetic protein-2, BMP-2), 골재생단백질-1(osteogenic protein-1, OP-1)이나 섬유아세포성장인자(fibroblast growth factor, FGF) 등을 알긴산염,³² 피브린,^{33,34} 젤라틴³⁵ 등과 같은 천연고분자나 폴리락타이드,³⁶ 폴리락타이드-글리콜라이드 공중합체³⁴ 같은 생분해성 합성고분자에 함유시켜 뼈유도성(osteoinductive)을 갖는 지지체로 제조되어 체내에 이식되어 새로운 뼈조직이 재생되는 것을 관찰하였다. 이와 같이 뼈전도성이나 뼈유도성을 갖는 지지체의 경우 체내에 부분적으로 이식되어 주변에 존재하는 골수유래 줄기세포 등을 자극하고 분화시켜 다른 조직이나 장기에 비해 손쉽게 새로운 뼈조직을 형성한다.

4.2 연골조직 재생

관절연골조직은 손상시 자연재생능력이 낮기 때문에 심각한 골관절염으로 이어진다. 초기의 조직공학 연구에서 연골세포와 지지체를 이용하여 비교적 쉽게 새로운 연골조직이 재생되었다. 하지만, 공학적으로 재생된 연골조직이 이식되었을 때 체내에 이미 존재하는 연골조직과의 접합에서 심각한 문제점을 들어내고 있다. 최근, Erggelet 등의 연구팀은 생분해성 고분자인 폴리글리콜라이드 지지체에 환자에서 분

리된 혈청과 하이알루론산을 접목하고 손상된 연골조직에 미세한 골절(microfracture)을 만든 후 이식하였다.^{37,38} 이식된 지지체는 미세한 골절을 통해 이동하는 골수유래 중간엽줄기세포의 침투를 유도하여 연골세포의 배양없이 지지체만을 이용하여 새로운 관절연골을 재생하는데 성공했다.

콜롬비아대의 Mao 등의 연구팀은 최근 Lancet 저널에 임의형상 제작 시스템으로 제작된 3차원 지지체를 토끼의 상완골근위부관절에 이식하여 체내에 존재하는 줄기세포를 자극함으로 관절연골과 뼈를 동시에 재건하는데 성공했다.³⁹ 제조된 폴리카프로락톤/하이드록시아파타이트 지지체에 종양성장인자- $\beta 3$ (transforming growth factor- $\beta 3$, TGF- $\beta 3$)를 함유하는 콜라겐 젤을 충전하여 이식하였다. 이식된 지 4개월 후 본래의 조직과 유사한 새로운 연골조직이 생성되었으며 뼈조직과의 경계면이 잘 유지되었다. 또한, 본 연구는 체내의 줄기세포를 유도하는데 있어서 종양성장인자- $\beta 3$ 의 중요성을 잘 설명하고 있다(그림 4).

4.3 골격근조직 재생

가벼운 운동이나 하중으로 인해 발생한 경미한 골격근 손상일 경우, 자연재생능력에 의해 자발적으로 치유된다. 하지만, 골격근에 심한 상처나 결손이 생길 경우, 골격근뿐만 아니라, 이 부위에 존재하는 신경과 혈관이 파괴되며, 적절하게 치료되지 않을 경우 장기적으로는 골격근의 약화와 위축을 가져오게 된다.⁴⁰ 이렇게 광범위한 골격근 손상을 치료하기 위해 근섬유(myofiber)의 재생을 직접적으로 담당하고 있는 위성세포와 같은 골격근유래 줄기세포를 이식하는 방법이나,⁴¹ 세포와 지지체를 이용하는 조직공학적인 방법이 시도되고 있다. 최근 보고에 의하면, Kin 등은⁴² 토끼의 다리 골격근상처 부위에 콜라겐으로 제조된 지지체를 이식하였다. 연구팀은 이식 후 24주에, 지지체를 이식하지 않은 근조직에 심각한 반흔조직과 근수축을 관찰했지만, 콜라겐 지지체를 이식한 근조직에는 경미한 조직접착(adhesion)만 관찰되었고 더욱이 새로운 근조직이 형성된 것을 확인하였다.

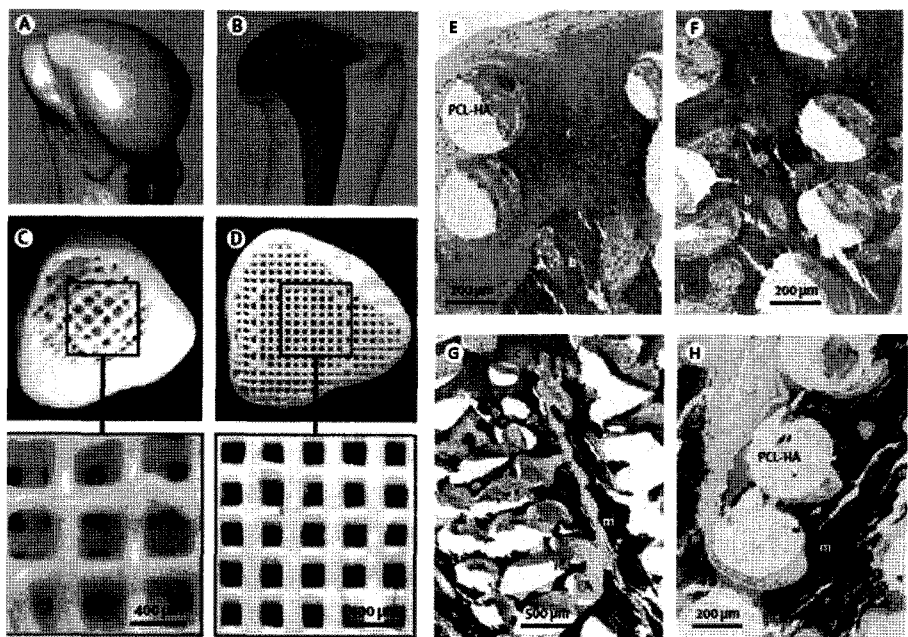


그림 4. (A, B) 재건될 토끼 관절의 디자인에 따라 3차원적 지지체가 제조된다. (C) 제조된 지지체의 위부분으로 윤택함과 통하도록 제조되었다. (D) 제조된 지지체의 밑부분이다. 3차원 지지체 제조기술에 의해 토끼의 관절을 정교하게 모방하였으며 다공성과 다공간의 연결성이 뛰어나도록 제조되었다.³⁹

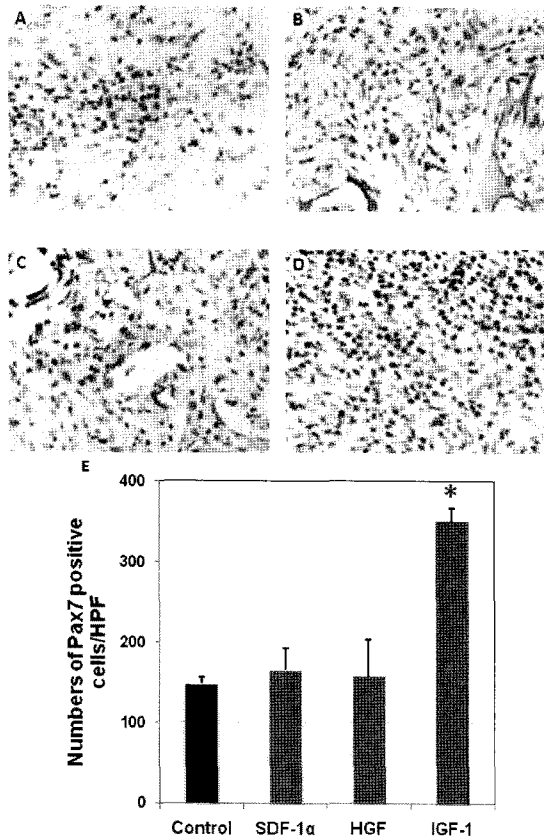


그림 5. 실험용 쥐의 근육조직에 이식된 지지체 내에 침투한 Pax 7를 발현하는 세포; (A) 성장인자가 함유되지 않음, (B) 기질세포성장인자(SDF-1 α), (C) 간세포성장인자(HGF), (D) 인슐린유사성장인자-1(IGF-1). (E) 그래프를 통해 인슐린유사성장인자-1을 함유한 지지체에서 근육줄기세포 유사 세포가 현저하게 증가되었음을 알 수 있다(unpublished data).

본 연구팀에서는 골격근 조직에서 조직공학적 지지체를 이용한 인사이투 조직재생을 적용하기 위해, 먼저 폴리락타이드 부직포 지지체를 실험용 쥐의 근조직에 이식하고, 이식된 지지체 내로 침투하는 세포를 관찰하였다. 1주에서 4주 동안 관찰한 결과, 이식된 지지체 내에서 Pax3, Pax7, MyoD 등을 발현하는 근육위성세포나 전구세포 등이 관찰되었다. 또한, 인슐린유사성장인자-1 등과 같은 근육발생에 관여하는 성장인자에 의해 지지체로 침투하는 근육세포의 수가 증가됨을 관찰하였다(그림 5). 이러한 사실은 본 특집에서 제시하는 접근방법을 통한 골격근 조직재생에 여러 가지 가능성을 보여주고 있다. 현재, 지지체 내로 침투된 근육줄기세포를 유용하여 새로운 근조직을 재생하고 재생된 근조직의 말초신경과의 연계에 대한 연구를 진행중에 있다.

최근 발표된 논문에서 골격근 조직을 임의로 손상시켜 손상된 골격근 조직에서 일어나는 생물학적 변화를 보고하고 있다. 이는 임상에서 일어나는 상황을 모방함으로써 보다 현실적인 치료 방법을 찾고자 하는 것이다. Minguell 등의 연구팀은 염화바륨을 골격근 조직에 직접 주입하여 손상시킨 후, 손상된 조직에서 마이오디(MyoD)를 발현하는 세포가 증가하고 있음을 관찰하였다.⁴³ 그리고, 마이오디를 발현하는 이 세포가 궁극적으로 새로운 근조직을 형성한다는 사실을 발견했다. 이는 손상된 조직에서 방출되는 생체활성인자에 기인하는 것으로 자가재생의 기전으로 여겨진다. 또 다른 연구에 의하면, 외상에 의한 골격근조직 손상에서도 같은 결과를 가진다고 보고한다.⁴⁴

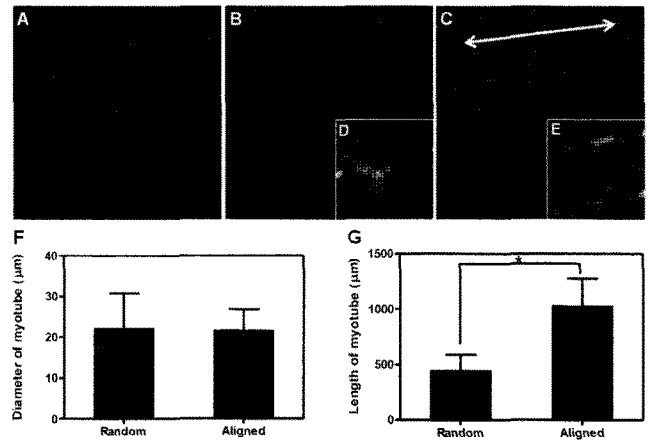


그림 6. 사람의 근육세포 형태의 F-액틴; (A) 세포배양기, (B,D) 배향성이 없는 나노섬유, (C,E) 배향성이 있는 나노섬유. (F,G) 그래프에서 보는 것과 같이 나노섬유의 배향성은 근섬유의 형성에 직접적인 영향을 끼치는 것을 알 수 있다.⁴⁵

이러한 연구들은 인사이투 조직재생에 있어 중요한 요소인 체내의 조직특화된 줄기세포나 전구세포가 손상된 조직에 반응하여 이동한다는 것으로 중요한 정보를 제공하고 있다. 손상된 골격근으로 이동하는 줄기세포/전구세포를 기능성 지지체를 활용하여 보다 효율적인 방법으로 재생에 참여하도록 유도할 수 있다면, 이는 골격근 치료에 있어 효율적인 방법을 제공하게 될 것이다.

또한, 골격근 조직재생에서 고려되어야 할 사항은 지지체가 세포의 배향성(alignment)을 유도해야 한다는 것이다. 골격근 조직은 균일한 배향성을 가지며 이는 근육의 근본적인 기능과 직접적인 연관성을 갖기 때문이다. 본 연구팀은 폴리카프로락톤/콜라겐을 전기방사법으로 제조하여 나노크기의 섬유형태를 가지는 지지체를 제조하고, 사람의 근육세포를 배양하였다. 이때 지지체는 일정한 배향성을 갖는 섬유형태와 무작위적 배향성을 갖는 섬유형태로 제조되었다. 결과적으로, 배향성을 가지지 않은 지지체와 비교해서 배향된 지지체 내에서 근육세포의 배향성이 현저히 증가하였으며, 이는 근섬유 형성(myotube formation)에 직접적인 영향을 끼쳤다(그림 6).⁴⁵ 이외에도 재생된 골격근의 기능성은 말초신경과의 연결성과 밀접한 관계를 갖는다. 최근 보고에 의하면, 말초신경과의 연결성은 새로이 형성된 근섬유에서의 아세틸콜린(acetylcholine, ACh) 수용기의 형성에 기인한다는 것이다. 아세틸콜린은 신경전달물질의 하나로 신경말단에서 가장 농도가 높고 근육조직과의 연결성에 매우 중요한 역할을 한다. 새롭게 형성된 근육조직의 신경화를 위해 새로이 형성된 근섬유에 아세틸콜린 수용기를 임의로 형성하도록 전처리하여 신경화를 촉진시키는 연구 등이 보고되고 있다.

4.4 심혈관계 재생(Cardiovascular System)

심혈관계의 질환 중, 심근경색은 심근벽이 얇아지거나 섬유증(fibrosis)에 의해 제 기능을 하지 못하는 질환으로서, 심장이식이나 세포이식법, 약물치료 등이 주된 치료법으로 알려져 있다. 또한, 세포를 중심으로 한 치료법이 연구되고 있으며, 이는 심근전구세포(cardiac progenitor)의 발견과 밀접한 관련을 갖는다.⁴⁶ 미분화된 심근전구세포는 여러 가지 신호에 의해서 활성화되어 심근재생과 치료에 중요한 역할을 할 수 있다.

인사이투 조직재생의 예로 Wagner 등의 연구팀은 패치형태의 지지체를 심근경색을 일으키는 심장 부위에 이식하였다.⁴⁷ 이 패치형태의

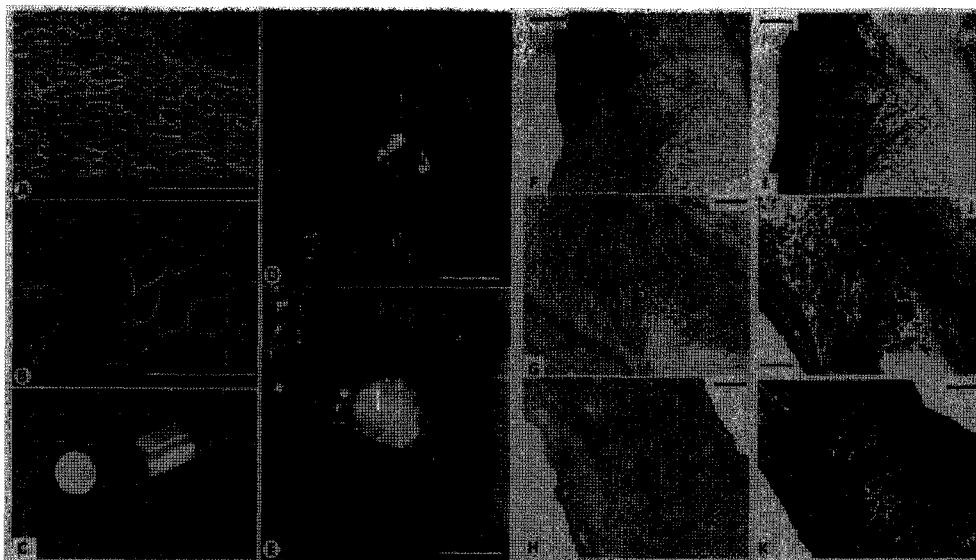


그림 7. (A-C) 패치형태의 다공성이 높은 생분해성 폴리우레탄 지지체, (D) 폴리우레탄 지지체의 이식 후, (E) 대조군으로 테프론 패치 이식 후, (F-H) 폴리우레탄 지지체 이식 후 체내세포가 지지체 내로 침투하고 있으며 시간에 따라 그 정도가 증가하고 있다. (I-K) 지지체 내에서의 콜라겐 형성도 시간에 따라 증가하고 있다.⁵⁶

지지체는 다공성, 탄성, 생분해성을 가진 폴리우레탄으로 제조되어 심근경색이 유발된 쥐에 이식하였으며, 결과적으로 이식된 지지체는 염증 반응을 최소화시키고 더불어 심혈관이 증진되어 심근경색질환이 완화하였다. 놀랍게도, **그림 7**에서 보는 것과 같이 지지체는 수 개월 후 새로운 심근조직으로 완전히 치환되어졌다. 이러한 결과는 폴리우레탄이 가지는 물리적 성질과 생체적합성에 기인한다고 할 수 있다. 이외에도 심혈관벽을 대체할 수 있는 패치형 지지체로 생분해성고분자인 폴리글리콜라이드, 폴리락타이드, 콜라겐이 혼합하여 제조되어 토끼, 개, 돼지실험에 사용한 예도 있다.⁴⁸⁻⁵¹

5. 결론 및 앞으로의 전망

초창기의 생체재료는 체내에 이식되어 임시적으로 손상된 조직이나 장기를 대체하였고, 많은 경우에서 이식물에 의한 부작용을 수반했다. 이는 생체재료의 기능성에 기인하기 보다는 임시적으로 손상된 부위를 재건하여 치료를 돕는데 목적이 있다고 하겠다. 최근의 생체재료의 진보는 조직공학과 재생의학의 발전으로 보다 가능화되었으며, 이는 세포와 조합하여 본래의 조직이나 장기에 가까운 형태를 갖추며 영구적인 대체제로서의 가능성을 보여 주고 있다. 하지만, 기본적으로 세포를 실험실에서 조작해야 하는 일련의 작업이 선행되어야 하는 접근방식은 세포에 관련된 여러 가지 한계를 보여주고 있다. 최근, 줄기세포에 대한 연구가 활발해지면서 우리 몸에 이미 존재하는 조직에 특화된 줄기세포나 전구세포가 하나씩 발견되고 이 세포에 의해 손상된 조직이나 장기의 회복에 크게 기여한다는 것이 밝혀지고 있다. 또한, 줄기세포를 효과적으로 증식, 분화시킬 수 있는 새로운 생체활성인자들의 기전이 밝혀지면서 체내에 존재하는 줄기세포/전구세포를 어떻게 잘 유용하느냐는 앞으로의 인사이투 조직재생에 있어서 중요한 사항이 되었다. 결국, 우리 몸의 환경을 어떻게 제대로 이해하고 유용하느냐가 직접적인 기능성 지지체를 설계하는 방향을 제시할 수 있다.

인사이투 조직재생의 활용에 있어 효과적인 줄기세포의 유도, 증식,

분화를 위해서는 줄기세포생물학(stem cell biology)의 기여가 필요 하겠다. 최근, 체내에 존재하는 조직에 특화된 줄기세포나 전구세포가 부각되고 있고, 체내에서 이들의 이동, 증식, 분화를 조절하고 있는 생체활성인자들이 밝혀지면서 인사이투 조직재생 접근법이 더욱 탄력을 받고 있다. 현재까지는 단순한 조직이나 장기의 재건에 힘을 기울여 왔지만, 앞으로는 본래의 기능을 갖춘 조직이나 장기의 재생에 초점을 두고 있다. 이를 위해서는 기능성을 강조한 지지체의 디자인과 정교한 생체활성인자의 전달이 고려되어야 한다.

본 특집에서는 생체활성인자를 이용한 생화학적 신호에 따른 줄기세포의 반응에 초점을 맞추었으나, 이외에도 지형상의(topographical), 기계적인(mechanical) 신호나 지지체의 표면 성질 등이 체내의 미세환경을 조절하는 중요한 요소라고 할 수 있으며, 이에 대한 체내세포의 반응에 대한 정밀한 연구가 필요하겠다.

참고문헌

1. A. Atala, *Curr. Opin. Pediatr.*, **18**, 167 (2006).
2. D. J. Williams and I. M. Sebastine, *IEE Proc. Nanobiotechnol.*, **152**, 207 (2005).
3. T. Shin'oka, G. Matsumura, N. Hibino, Y. Naito, M. Watanabe, T. Konuma, T. Akamoto, M. Nagatsu, and H. Kurosawa, *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, **129**, 1330 (2005).
4. A. W. El-Kassaby, A. B. Retik, J. J. Yoo, and A. Atala, *J. Urol.*, **169**, 170, discussion 173 (2003).
5. A. Atala, S. B. Bauer, S. Soker, J. J. Yoo, and A. B. Retik, *Lancet*, **367**, 1241 (2006).
6. C. Ossendorf, C. Kaps, P. C. Kreuz, G. R. Burmester, M. Sittinger, and C. Erggelet, *Arthritis. Res. Ther.*, **9**, R41 (2007).
7. R. Langer and J. P. Vacanti, *Science*, **260**, 920 (1993).
8. P. V. Guillot, W. Cui, N. M. Fisk, and D. J. Polak, *J. Cell. Mol. Med.*, **11**, 935 (2007).

9. M. Harty, A. W. Neff, M. W. King, and A. L. Mescher, *Dev Dyn.*, **226**, 268 (2003).
10. J. M. Anderson, A. Rodriguez, and D. T. Chang, *Semin. Immunol.*, **20**, 86 (2008).
11. S. J. Lee, M. Van Dyke, A. Atala, and J. J. Yoo, *Rejuvenation Res.*, **11**, 747 (2008).
12. K. Y. Lee, L. Jeong, Y. O. Kang, S. J. Lee, and W. H. Park, *Adv. Drug. Deliv. Rev.*, **61**, 1020 (2009).
13. S. T. Li, *Tissue. Eng. Part A*, **14**, 1581 (1995).
14. H. Furthmayr and R. Timpl, *Int. Rev. Connect Tissue Res.*, **7**, 61 (1976).
15. L. Cen, W. Liu, L. Cui, W. Zhang, and Y. Cao, *Pediatr. Res.*, **63**, 492 (2008).
16. S. Young, M. Wong, Y. Tabata, and A. G. Mikos, *J. Control. Release*, **109**, 256 (2005).
17. L. E. Freed, G. Vunjak-Novakovic, R. J. Biron, D. B. Eagles, D. C. Lesnoy, S. K. Barlow, and R. Langer, *Biotechnology(NY)*, **12**, 689 (1994).
18. A. G. Mikos, M. D. Lyman, L. E. Freed, and R. Langer, *Biomaterials*, **15**, 55 (1994).
19. L. D. Harris, B. S. Kim, and D. J. Mooney, *J. Biomed. Mater. Res.*, **42**, 396 (1998).
20. D. Han and P. I. Gouma, *Nanomedicine*, **2**, 37 (2006).
21. N. A. Peppas and R. Langer, *Science*, **263**, 1715 (1994).
22. W. Zhao and J. M. Karp, *ChemBiochem.*, **10**, 2308 (2009).
23. C. Ries, V. Egea, M. Karow, H. Kolb, M. Jochum, and P. Neth, *Blood*, **109**, 4055 (2007).
24. M. Louridas, S. Letourneau, M. E. Lautatzis, and M. Vrontakis, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **390**, 867 (2009).
25. S. Schenk, N. Mal, A. Finan, M. Zhang, M. Kiedrowski, Z. Popovic, P. M. McCarthy, and M. S. Penn, *Stem. Cells*, **25**, 245 (2007).
26. T. P. Richardson, M. C. Peters, A. B. Ennett, and D. J. Mooney, *Nat. Biotechnol.*, **19**, 1029 (2001).
27. R. Elia, P. W. Fuegy, A. VanDelden, M. A. Firpo, G. D. Prestwich, and R. A. Peattie, *Biomaterials*, **31**, 4630 (2010).
28. C. Borselli, H. Storrie, F. Benesch-Lee, D. Shvartsman, C. Cezar, J. W. Lichtman, H. H. Vandenburgh, and D. J. Mooney, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107**, 3287 (2010).
29. F. M. Chen, M. Zhang, and Z. F. Wu, *Biomaterials*, **31**, 6279 (2010).
30. G. Broughton, J. E. Janis, and C. E. Attinger, *Plast. Reconstr. Surg.*, **117**, 1e-S-32e-S (2006).
31. A. S. Mistry and A. G. Mikos, *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.*, **94**, 1 (2005).
32. Y. Suzuki, M. Tanihara, K. Suzuki, A. Saitou, W. Sufan, and Y. Nishimura, *J. Biomed. Mater. Res.*, **50**, 405 (2000).
33. T. Osathanon, M. L. Linnes, R. M. Rajachar, B. D. Ratner, M. J. Somerman, and C. M. Giachelli, *Biomaterials*, **29**, 4091 (2008).
34. Y. I. Chung, K. M. Ahn, S. H. Jeon, S. Y. Lee, J. H. Lee, and G. Tae, *J. Control. Release*, **121**, 91 (2007).
35. N. Kodama, M. Nagata, Y. Tabata, M. Ozeki, T. Ninomiya, and R. A. Takagi, *Bone*, **44**, 699 (2009).
36. G. Gomez, S. Korkiakoski, M. M. Gonzalez, S. Lansman, V. Ella, T. Salo, M. Kellomaki, N. Ashammakhi, and E. Arnaud, *J. Craniofac. Surg.*, **17**, 935 (2006).
37. C. Erggelet, M. Endres, K. Neumann, L. Morawietz, J. Ringe, K. Haberstroh, M. Sittinger, and C. Kaps, *J. Orthop. Res.*, **27**, 1353 (2009).
38. C. Erggelet, K. Neumann, M. Endres, K. Haberstroh, M. Sittinger, and C. Kaps, *Biomaterials*, **28**, 5570 (2007).
39. C. H. Lee, J. L. Cook, A. Mendelson, E. K. Moioli, H. Yao, and J. J. Mao, *Lancet*, **376**, 440 (2010).
40. J. Huard, Y. Li, and F. H. Fu, *J. Bone. Joint. Surg. Am.*, **84-A**, 822 (2002).
41. X. Shi and D. J. Garry, *Genes. Dev.*, **20**, 1692 (2006).
42. S. Kin, A. Hagiwara, Y. Nakase, Y. Kuriu, S. Nakashima, T. Yoshikawa, C. Sakakura, E. Otsuji, T. Nakamura, and H. Yamagishi, *ASAIO J.*, **53**, 506 (2007).
43. L. S. Maria, C. V. Rojas, and J. J. Minguell, *Exp. Cell. Res.*, **300**, 418 (2004).
44. G. Matziolis, T. Winkler, K. Schaser, M. Wiemann, D. Krockner, J. Tuischer, C. Perka, and G. N. Duda, *Tissue Eng.*, **12**, 361 (2006).
45. J. S. Choi, S. J. Lee, G. J. Christ, A. Atala, and J. J. Yoo, *Biomaterials*, **29**, 2899 (2008).
46. H. Oh, S. B. Bradfute, T. D. Gallardo, T. Nakamura, V. Gaussin, Y. Mishina, J. Pocius, L. H. Michael, R. R. Behringer, D. J. Garry, M. L. Entman, and M. D. Schneider, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **100**, 12313 (2003).
47. K. L. Fujimoto, J. Guan, H. Oshima, T. Sakai, and W. R. Wagner, *Ann. Thorac. Surg.*, **83**, 648 (2007).
48. S. Iwai, Y. Sawa, S. Taketani, K. Torikai, K. Hirakawa, and H. Matsuda, *Ann. Thorac. Surg.*, **80**, 1821 (2005).
49. T. Huynh, G. Abraham, J. Murray, K. Brockbank, P. O. Hagen, and S. Sullivan, *Nat. Biotechnol.*, **17**, 1083 (1999).
50. N. Landa, L. Miller, M. S. Feinberg, R. Holbova, M. Shachar, I. Freeman, S. Cohen, and J. Leor, *Circulation*, **117**, 1388 (2008).
51. T. Yokota, H. Ichikawa, G. Matsumiya, T. Kuratani, T. Sakaguchi, S. Iwai, Y. Shirakawa, K. Torikai, A. Saito, E. Uchimura, N. Kawaguchi, N. Matsuura, and Y. Sawa, *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, **136**, 900 (2008).
52. M. A. Woodruff, S. N. Rath, E. Susanto, L. M. Haupt, D. W. Huttmacher, V. Nurcombe, and S. M. Cool, *J. Mol. Histol.*, **38**, 425 (2007).
53. G. Mabileau, E. Aguado, I. C. Stancu, C. Cincu, M. F. Basle, and D. Chappard, *Biomaterials*, **29**, 1593 (2008).
54. S. Nakashima, T. Nakamura, L. Han, K. Miyagawa, T. Yoshikawa, C. Sakakura, A. Hagiwara, and E. Otsuji, *Inflammation and Regeneration*, **27**, 579 (2007).
55. W. Zeng, W. Yuan, L. Li, J. Mi, S. Xu, C. Wen, Z. Zhou, J. Xiong, J. Sun, D. Ying, M. Yang, X. Li, and C. Zhu, *Biomaterials*,

- 31**, 1636 (2010).
56. K. L. Fujimoto, K. Tobita, W. D. Merryman, J. Guan, N. Momoi, D. B. Stolz, M. S. Sacks, B. B. Keller, and W. R. Wagner, *J. Am. Coll. Cardiol.*, **49**, 2292 (2007).
 57. C. Erggelet, M. Endres, K. Neumann, L. Morawietz, J. Ringe, K. Haberstroh, M. Sittinger, and C. Kaps, *J. Orthop. Res.*, **10**, 1353 (2009).
 58. M. Kubo, S. Imai, M. Fujimiya, E. Isoya, K. Ando, T. Mimura, and Y. Matsusue, *Acta Orthop.*, **78**, 845 (2007).
 59. S. E. Dahms, H. J. Piechota, R. Dahiya, C. A. Gleason, M. Hohenfellner, and E. A. Tanagho, *Neurourol. Urodyn.*, **17**, 37 (1998).
 60. Y. Urita, H. Komuro, G. Chen, M. Shinya, S. Kaneko, M. Kaneko, and T. Ushida, *Pediatr. Surg. Int.*, **23**, 21 (2007).
 61. Y. Hiraoka, H. Yamashiro, K. Yasuda, Y. Kimura, T. Inamoto, and Y. Tabata, *Tissue Eng.*, **12**, 1475 (2006).
 62. T. Nakahara, T. Nakamura, E. Kobayashi, M. Inoue, K. Shigeno, Y. Tabata, K. Eto, and Y. Shimizu, *Tissue Eng.*, **9**, 153 (2003).
 63. S. Herberg, M. Siedler, S. Pippig, A. Schuetz, C. Dony, C.-K. Kim, and U. M. E. Wikesjo, *J. Clin. Periodontol.*, **35**, 976 (2008).
 64. N. Boucard, C. Viton, D. Agay, E. Mari, T. Roger, Y. Chancerelle, and A. Domard, *Biomaterials*, **28**, 3478 (2007).
 65. A. Abbushi, M. Endres, M. Cabraja, S. N. Kroppenstedt, U. W. Thomale, M. Sittinger, A. A. Hegewald, L. Morawietz, A. J. Lemke, V. G. Bansemer, C. Kaps, and C. Woiciechowsky, *Spine*, **33**, 1527 (2008).
 66. Y. Hori, T. Nakamura, K. Matsumoto, Y. Kurokawa, S. Satomi, and Y. Shimizu, *ASAIO J.*, **47**, 206 (2001).
 67. W. Shen, X. Chen, J. Chen, Z. Yin, B. C. Heng, W. Chen, and H. W. Ouyang, *Biomaterials*, **31**, 7239 (2010).