

생체조직 재생용 알긴산 하이드로젤

이재원 · 이근용

1. 서론

조직공학(tissue engineering)은 질병 또는 사고로 인해 손상된 인체의 생체조직(tissue)이나 장기(organ)를 재생 또는 대체할 수 있는 방법으로 알려져 왔다.¹ 이 방법에 따르면 인공(man-made)의 조직과 장기는 일반적으로 환자 자신의 세포와 고분자 지지체(scaffold)의 사용으로 제조될 수 있다. 간단히 말하자면, 우선 생체조직의 일부를 환자로 부터 채취한 후 필요한 세포만 분리하고 배양하여 충분히 필요한 수의 세포를 확보한다. 세포들은 3차원 구조를 가진 다공성 고분자 지지체 안에서 생체조직으로 성장한 후 외과적 수술을 통하여 환자에게 다시 이식되거나 또는 하이드로젤과 같은 지지체와 혼합한 후 주사기 등을 사용하여 생체에 주입되어 생체조직을 재생할 수 있다(그림 1).² 이때 사용되는 고분자 지지체는 생체조직의 세포외기질(extracellular matrix)의 다양한 역할을 모방하게 된다. 고분자 지지체는 세포의 부착, 증식, 분화에 참여하고, 재생될 생체조직의 기능 및 구조를 제어한다. 또한, 수용성 인자와 영양분, 대사 산물의 확산 등을 조절한다. 특히 고분자 지지체와 세포와의 상호작용은 조직공학에 있어서 매우 중요한 요소이다. 세포와 지지체간의 상호작용을 조절하기 위해서 생물학적인 상호작용, 고

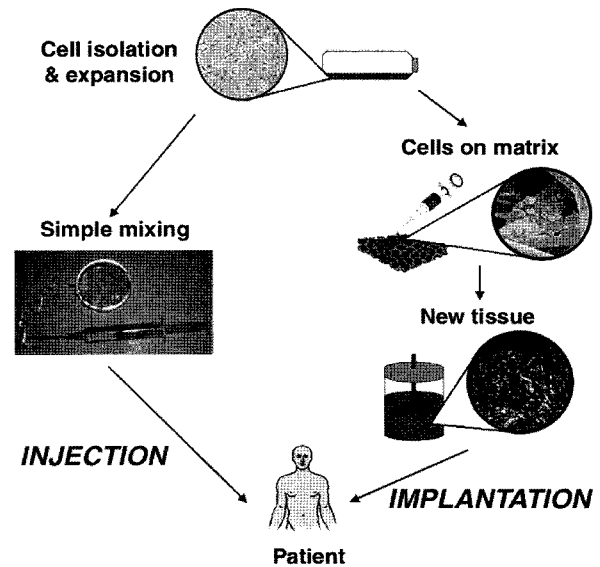


그림 1. 생체조직공학의 기본 개념도.

분자 지지체의 물리적 특성, 지지체로부터 수용성 인자의 방출 제어 등에 관한 다양한 연구가 진행되고 있다. 이러한 요소들을 적절하게 조절하여 세포의 성장 및 분화를 제어함으로써 원하는 생체조직을 성공적으로 재생할 수 있다.

현재까지 많은 천연 및 합성 고분자들이 조직공학에 사용되어 왔으나, 어떤 고분자도 생체조직을 재생하는데 있어서 이상적으로 사용될 수 있다고 알려진 것은 없다. 합성고분자의 경우 유기합성을 통하여 다양한 종류를 제조할 수 있으나 안전성의 측면에서 사용이 매우 제한적이다. 반면, 천연고분자의 경우 자연에서 얻을 수 있기 때문에 비교적 안전성이 보장되나 선택의 종류가 많지 않고 물리적인 성질이 제한적이다. 본 총설에서는 지지체로 사용되는 다양한 고분자 재료에 대하여 나열하기 보다는 현재 조직공학에 널리 사용되는 천연고분자의 일종인 알긴산을 이용한 생체조직재생에 관하여 설명하고자 한다.

2. 알긴산의 구조 및 일반 성질

2.1 구조



이재원
2007 한양대학교 공학사
2009 한양대학교 공학석사
2009~ 현재 한양대학교 대학원 박사과정



이근용
1992 서울대학교 공학사
1994 서울대학교 공학석사
1998 서울대학교 공학박사
1998~2004 University of Michigan 박사후 연구원, 연구교수
2004~ 현재 한양대학교 조교수, 부교수

Alginate Hydrogels for Tissue Regeneration

한양대학교 공과대학 생명공학과 (Jae Won Lee and Kuen Yong Lee, Department of Bioengineering, Hanyang University, 17 Hangdang-dong, Seongdong-gu, Seoul 133-791, Korea) e-mail: leeky@hanyang.ac.kr

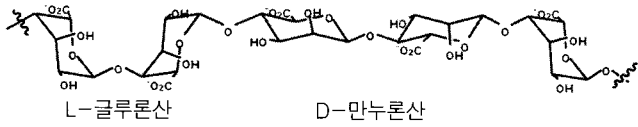


그림 2. 알긴산의 화학 구조식.

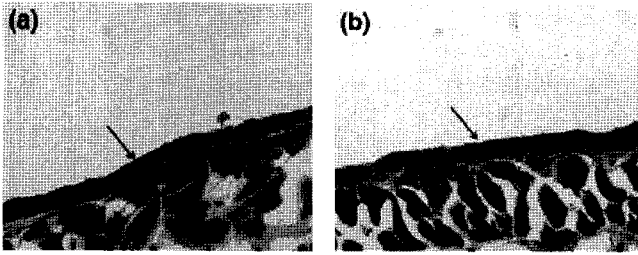


그림 3. 쥐의 피하에 (a) 식염수 또는 (b) 알긴산 하이드로젤을 주입하고 3주 후에 관찰한 조직 사진(화살표는 새로 형성된 육아조직).

알긴산(alginic acid)은 자연산 다당류로, 미역, 다시마와 같은 갈조류의 중요 구성 성분이다. 알긴산은 생체적합성이 뛰어나고 독성이 낮으며 가격이 비교적 저렴한 장점이 있다. 또한, 알긴산 수용액은 2가 양이온(예: Ca^{2+})과 결합하여 하이드로젤을 비교적 쉽게 생성한다. 1929년에 Nelson과 Cretcher에 의해 D-만누론산(D-mannuronic acid)이 알긴산의 구성 성분으로 밝혀진 이후,³ 1955년 Fischer와 Dorfel에 의해 L-글루론산(L-guluronic acid)도 알긴산의 구성 성분인 것으로 밝혀졌다(그림 2).⁴ 알긴산의 구성요소인 D-만누론산과 L-글루론산의 함량은 갈조류의 종류에 따라 다르고 알긴산의 물성에 큰 영향을 미친다.⁵ 특히 알긴산의 분자구조는 D-만누론산과 L-글루론산이 블록공중합체 형태를 이루고 있고, L-글루론산 블록이 2가 양이온과 결합하여 하이드로젤을 형성하기 때문에 L-글루론산 블록의 길이가 알긴산 하이드로젤의 물리적인 성질을 결정하는 중요한 요소이다. 현재 사용되는 알긴산의 일반적인 분자량 범위는 30,000~400,000 g/mol이고, Mark-Houwink 관계식($[\eta] = KM^a$)의 상수값 K와 a는 각각 2×10^{-3} 과 0.97이다(0.1 M NaCl 용액, 25 °C).⁶

2.2 생체친화성

알긴산은 의료용 재료로서 조직공학뿐만 아니라 다양한 분야에서 사용되어 왔고, *in vitro* 및 *in vivo* 조건에서 뛰어난 생체친화성과 낮은 독성을 가진 것으로 알려져 왔다.⁷ 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.⁸ 알긴산 하이드로젤을 소동물의 피하에 주사로 주입한 후 조직학적으로 검사하였을 때 심각한 염증반응 또한 관찰되지 않았다(그림 3).⁹

2.3 생분해성

알긴산 자체는 생리학적 조건에서 분해가 되지 않는 것으로 알려져 있고, 알긴산 하이드로젤에서 가교제 역할을 하는 2가 양이온이 생체에 존재하는 1가 양이온(예: Na^+)과 교환반응에 의하여 방출되면서 젤이 붕괴되고 용해될 수 있다. 그러나 상업적으로 시판되는 알긴산은 분자량이 커서 용해된 이후 신장을 통과하여 체외로 배출되기가 어렵다.¹⁰ 알긴산에 분해성을 부여하는 대표적인 방법은 부분 산화(partial oxidation)이다. 알긴산을 sodium periodate ($NaIO_4$)로 부분 산화를 시켜서

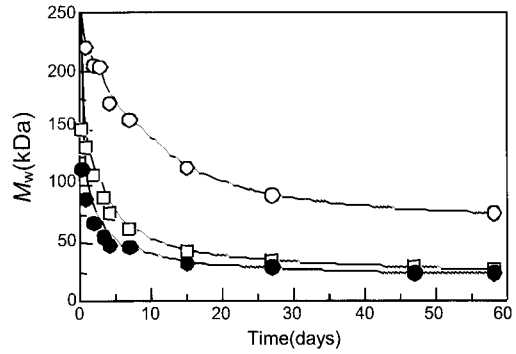


그림 4. 부분 산화된 알긴산의 시간에 따른 분자량 변화(37 °C; ○, pH 4.5; □, pH 7.4; ●, pH 9.2).

주사술에 알데히드를 도입하면 생리식염수에서 분해가 가능하다.¹¹ 부분 산화된 알긴산의 생분해속도는 산화도(degree of oxidation), pH, 온도에 따라서 조절 가능하다(그림 4).

3. 알긴산 하이드로젤 제조 방법

최근에 생체조직 재생용 지지체로 많은 관심을 받고 있는 하이드로젤의 경우, 생체조직의 구성 성분인 세포외기질(extracellular matrix)과 유사하게 수화된 구조를 가지고 있어서 생체적합성이 좋다고 알려져 있다. 또한, 주사기 등을 사용하여 비교적 작은 상처만 남기고 생체에 주입될 수 있는 장점을 가지고 있다. 하이드로젤은 친수성 고분자로 이루어진 3차원의 구조체로서 많은 양의 물을 함유하고 있다(일반적으로 50% 이상). 하이드로젤은 고분자를 화학적(예: 공유 가교) 또는 물리적(예: 이온 가교)으로 가교시켜 제조할 수 있다(그림 5).¹²

천연 고분자인 알긴산을 의료용 재료로 사용하기 위해서는 여러 가지 가교 방법을 이용하여 하이드로젤을 제조하게 된다. 다양한 가교 방법을 도입하여 하이드로젤의 물성을 조절할 수 있고, 이러한 물성의 조절은 알긴산 하이드로젤을 조직공학에 이용하는데 큰 장점이 된다. 일반적으로 알긴산 고분자의 분자량이 증가하게 되면 하이드로젤의 물리적 성질이 증가하게 된다. 하지만 분자량이 증가할 경우 고분자의 점성도 증가하여 재료를 다루는데 용이하지 못하고, 제조 공정을 통해 균일한 결과물을 얻기 힘들다. 따라서, 적당한 분자량의 알긴산을 사용하고, 이를 가교시키는 방법의 다양성을 이용하여 원하는 물성을 가지는 하이드로젤을 제조하는 것이 중요하다.

3.1 이온 가교(Ionic Cross-Linking)

알긴산 하이드로젤을 제조하는 대표적인 방법은 이온 가교이고, 알긴산은 2가 양이온(예: Ca^{2+} , Ba^{2+})과 결합하여 하이드로젤을 형성한다. 알긴산의 L-글루론산의 카르복시기기가 2가 양이온과 이온결합을 형성하게 되고, 이때 알긴산의 고분자 구조가 2가 양이온을 감싸고 있는 형태인 egg-box 구조를 형성하게 된다(그림 6).¹³ 이온 가교를 이용한 하이드로젤은 알긴산 수용액과 2가 양이온 수용액의 혼합으로 생성되어 제조방법이 매우 간단하나, 높은 농도의 알긴산 수용액을 사용하거나 적절한 농도의 양이온 용액과의 충분한 혼합이 이루어지지 않으면 균일한 물성을 가지는 젤의 형성이 어렵다. 또한 이온 가교로 형성되는 하이드로젤의 최고 물성값에는 한계가 있다. 알긴산의 이온 가교에 사용하는 2가 양이온으로는 Ca^{2+} 이 대표적이고, 염화칼슘($CaCl_2$), 황산칼슘($CaSO_4$), 탄산칼슘($CaCO_3$) 등이 자주 이용된다. 각각 가교제의 사용

에 따라 젤화 시간(gelation time)이 다른데, 염화칼슘이 가장 빠른 시간 안에 하이드로젤을 형성하고, 다음은 황산칼슘, 탄산칼슘 순서이다. 젤화 시간이 가장 긴 탄산칼슘을 이용할 경우 가장 높은 물리적 성질을 가지는 하이드로젤을 제조할 수 있으나 탄산칼슘의 물에 대한 용해도가 매우 제한적이다. 반대로 염화칼슘을 이용한 알긴산 하이드로젤의 경우 상대적으로 짧은 젤화 시간으로 인하여, 균일한 알긴산/칼슘 혼합용액을 빠른 시간 안에 형성시킬 수 없으면 불균일한 젤이 형성되어 낮은 물성값을 가지게 된다.¹⁴

3.2 공유 가교(Covalent Cross-Linking)

더욱 강한 물성의 알긴산 하이드로젤을 제조하기 위해서는 공유 가교를 사용하게 된다. 공유결합을 이용한 가교는 이온결합을 이용한 가교보다 높은 물성을 가진 하이드로젤을 형성할 수 있다. 알긴산의 경우 주로 말단에 아민기를 가지는 가교제를 수용성 carbodiimide(예: EDC)를 이용하여 공유 가교시킨다. 예를 들면, 다양한 분자량의 PEG-diamine을 가교제로 사용하게 되면 가교제의 아민기와 알긴산의 카르복시기 간의 결합을 통하여 알긴산 하이드로젤을 형성할 수 있다. 이때 PEG의 농도 또는 분자량이 증가함에 따라 알긴산 하이드로젤의 물리적 성질

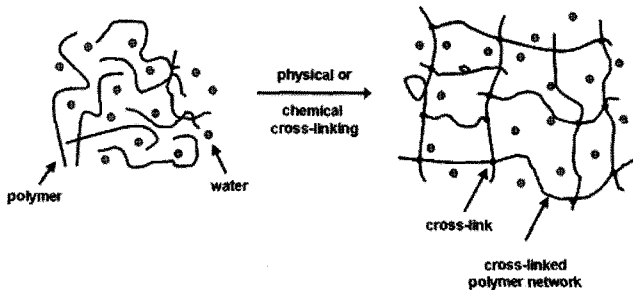


그림 5. 화학적 또는 물리적 가교에 의한 하이드로젤 형성.

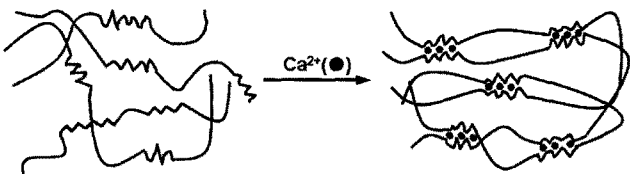


그림 6. 이온 가교된 알긴산 하이드로젤 구조(egg-box model).

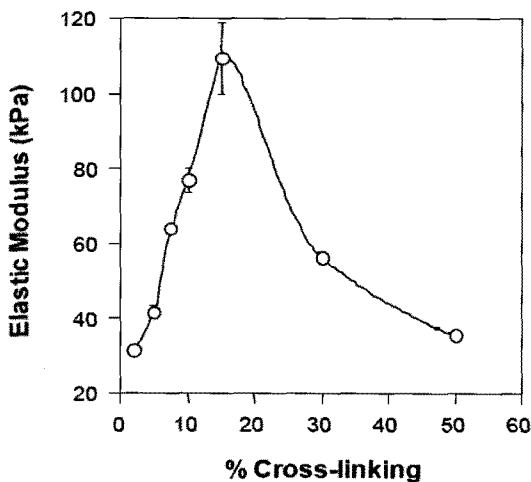


그림 7. PEG-diamine으로 공유 가교된 알긴산 하이드로젤의 가교도에 따른 물성 변화.

이 증가하는 것을 확인할 수 있었고(그림 7),¹⁵ 이는 칼슘이온을 사용한 하이드로젤보다 높은 물성을 가진 것으로 나타났다.¹⁶ 하지만, 공유결합을 이용한 가교를 도입하는 경우 사용되는 시약들의 생체 내 안전성에 대하여 반드시 확인하여야 하고, 반응이 끝난 후에 확실하게 제거되어야 한다. 또한, 공유 가교를 이용해 제조한 하이드로젤은 이온 가교의 경우보다 분해속도가 매우 느리기 때문에 생체조직 재생에 적합한지 충분한 검토가 필요하다.

3.3 광 가교(Photo Cross-Linking)

광가교는 *in situ*로 젤을 형성할 수 있는 방법으로 이온 가교보다는 향상된 물성을 지닌 젤을 제조할 수 있기 때문에 자주 사용되고 있다. Smeds와 Grinstaff는 알긴산에 methacrylate를 도입한 유도체를 합성하였고, 이를 514 nm의 자외선에 30초간 노출시켜 하이드로젤을 제조하였다.¹⁷ 이와 같은 젤은 봉합술 없이 각막천공(corneal perforation)을 치료할 수 있는 가능성을 보여 주었다.

3.4 세포 가교(Cell Cross-Linking)

알긴산을 가교시키는 방법 중에서 최근 보고된 것은 세포 자체가 가교제 역할을 하는 세포 가교법이다. 알긴산 자체는 세포와 상호작용을 하지 않는 것으로 알려져 있으나 RGD(arginine-glycine-aspartic acid) 순서의 펩티드를 알긴산 주사술에 도입하면 특이적인 상호작용을 유발시킬 수 있다. 세포 부착 리간드로 알려져 있는 RGD 펩티드는 세포 수용체인 integrin과 특이적인 결합을 하게 된다. 따라서, 이러한 리간드가 도입된 알긴산의 세포 특이적 상호작용을 이용하여 알긴산이 세포와 결합함으로써 하이드로젤을 형성할 수 있다.¹⁸ 그림 8은 RGD

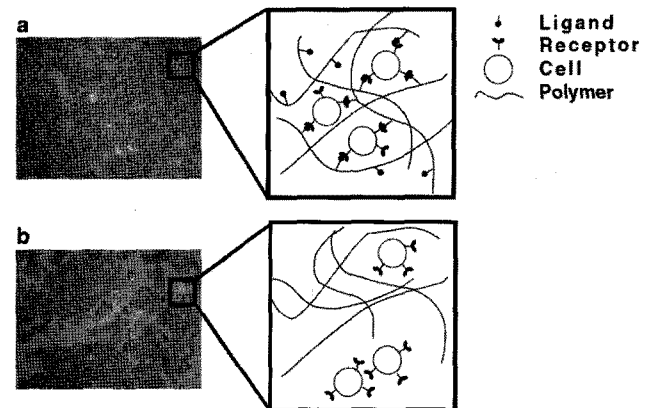


그림 8. 알긴산과 골모세포간의 세포 가교를 통해 형성된 알긴산 하이드로젤 형성 모식도.(a) RGD가 도입된 알긴산 또는 (b) RGD가 도입되지 않은 알긴산을 사용한 경우.

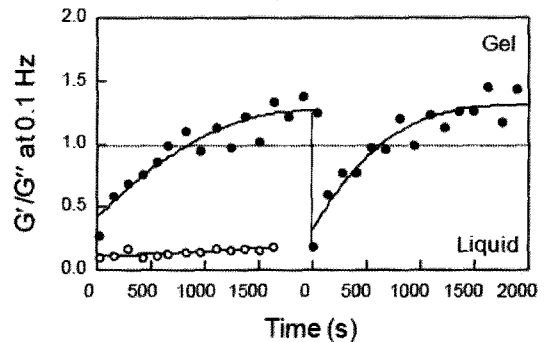


그림 9. 세포 가교 알긴산 하이드로젤의 전단력 가역적인 젤화 거동.

펩티드가 결합된 알긴산 수용액과 골모세포간의 상호작용을 이용하여 젤을 형성하는 것을 보여 준다. RGD 펩티드가 도입되지 않은 알긴산의 경우 세포와 혼합하여도 세포들끼리 뭉치고 결국에는 상분리가 일어난다. 또한, 이 방법은 젤 형성이 전단력에 의하여 가역적이라는 장점을 가진다. 즉, 세포 가교 하이드로젤을 생체내에 주입 시 전단력에 의하여 젤 구조가 파괴되어 액체와 같은 거동을 보이지만, 주입 후 일정 시간이 지나면 다시 젤이 형성되고 반복적으로 가능하다(그림 9). 이는 외과적 수술 없이 체내에 세포 전달을 유용하게 할 수 있는 방법을 제공한다.

4. 생체조직 재생에의 응용

조직공학에 있어서 지지체의 생체적합성은 이식된 세포가 체내에 존재하기 위해 가져야 하는 재료의 중요한 성질이고, 생체내 숙주반응(host response)에도 영향을 미치게 된다. 알긴산은 천연 고분자로서 높은 생체친화성을 가지고 있고, 알긴산 하이드로젤은 다량의 수분을 함유하고 있다. 이는 생체조직 내 세포외기질의 기능을 모방함으로써 세포들에게 일정한 공간을 제공하고 물과 영양분을 용이하게 공급하는 기능을 가지게 된다. 조직공학에 있어서 알긴산 하이드로젤은 현재 연골, 뼈, 근육, 혈관 등 많은 조직의 재생 연구에 사용되고 있다.

4.1 연골

조직공학에서 손상된 연골을 대체하기 위하여 자가세포를 이용한 연구에 알긴산 하이드로젤이 많이 사용되고 있다. 알긴산을 adipic acid dihydrazide를 가교제로 사용하여 다공성 하이드로젤을 제조하고 동결 건조시킨 후 연골세포와 같이 생체 내에 주입하는 경우, 1시간 이내에 다시 수화되어 원래의 모양과 크기로 복원된다. 그림 10은 이와 같은 하이드로젤이 쥐의 피하에 주사기로 주입된 후 원래 모양을 회복하고, 연골세포와 같이 주입되는 경우 연골조직을 형성하는 것을 보여준다.¹⁹

세포부착 리간드(RGD 펩티드)가 결합된 알긴산과 연골세포로 세포 가교를 통하여 하이드로젤을 제조하여 쥐의 피하에 주사기로 주입하고 6주 후에 연골조직의 재생을 평가하였다. 그림 11에서 볼 수 있듯이 알긴산과 연골세포로 제조된 세포 가교 하이드로젤을 사용한 경우 lacunae 구조가 잘 발달된 연골조직이 생성되는 것을 관찰할 수 있었다.²⁰

한편, 세포/알긴산 하이드로젤을 일정한 모양을 가지고 있는 틀(mold)에 주입하여 환자 맞춤형 연골을 재생하는 연구도 진행되어 왔다(그림 12).²¹ 연골조직에서 직접 얻은 연골세포를 2% 알긴산과 황

산칼슘을 사용하여 제조한 하이드로젤에 넣은 후, 생체 내 연골과 유사한 모양의 틀에 주입하여 인공연골을 제조하였다. 이렇게 제조된 인공연골을 쥐의 피하에 이식하여 30주간 관찰한 결과, 인공연골의 원래 형태를 유지하였고, proteoglycan과 collagen이 실제 연골 대비 80% 정도까지 생성된 것을 확인할 수 있었다.

한편, 성체 줄기세포를 이용한 연골조직 재생 연구가 현재 활발히 진행 중이다. Transforming growth factor (TGF- β), dexamethasone과 ascorbate-2-phosphate를 함유한 알긴산 하이드로젤에 인간 중간엽 줄기세포(human mesenchymal stem cell)를 내포하여 연골조직을 재생 유도하는 연구가 진행되었고,²² 인간 지방유래 성체 줄기세포(human adipose-derived adult stem cell)를 알긴산 하이드로젤을 이용하여 연골조직으로 분화시키는 연구도 진행되었다.²³ 또한, 골수 간질세포(bone marrow stromal cell)를 알긴산 수용액에 혼합하여 토끼의 무릎 연골의 결손 부위에 주입하고 염화칼슘으로 가교시켜서 12주 후에 관찰한 결과, 실제 연골 대비 80%에 가까운 물성을 가지는 연골조직이 재생됨을 관찰하였다. 그림 13은 토끼 무릎의 연골 결손 부위에 골수 간질세포를 포함한 알긴산 하이드로젤을 이식한 후 연골조직

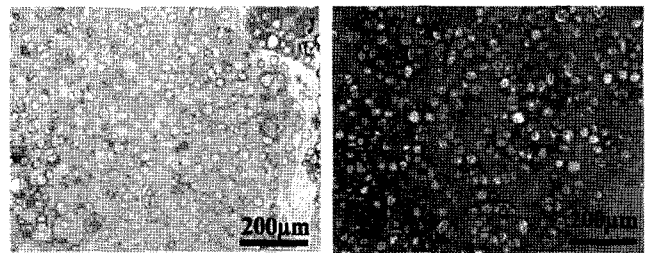


그림 11. 세포 가교 알긴산 하이드로젤을 이용하여 소동물 모델에서 재생한 연골조직(좌, H&E 염색; 우, Safranin-O 염색 사진).

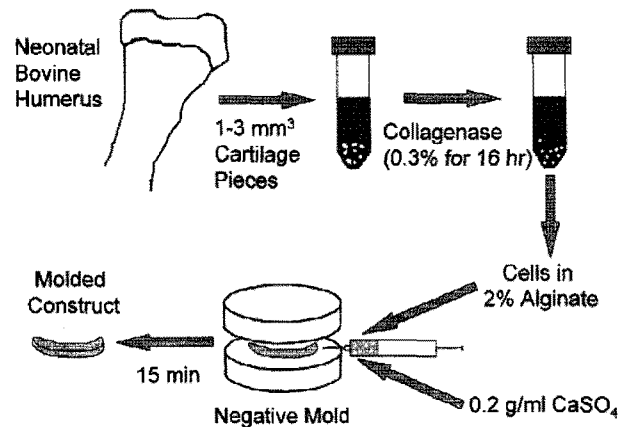


그림 12. 연골 형태의 틀을 이용한 환자 맞춤형 인공연골 재생.

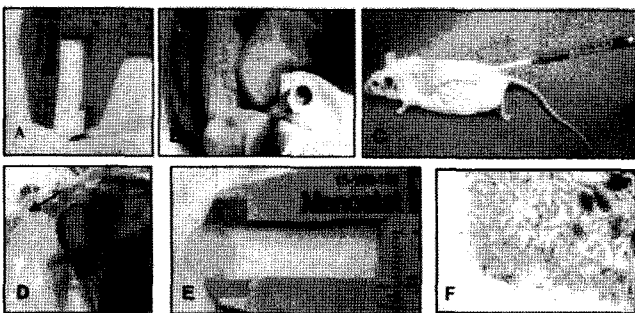


그림 10. 형상 기억 알긴산 하이드로젤을 이용한 연골조직 재생. 공유 가교로 제조한 하이드로젤(A)을 도관에 삽입하고(B) 쥐의 피하에 주입하여도(C) 생체 내에서 원래 모습을 회복하였고(D,E) 성공적으로 연골 조직이 재생되는 것을 보여주는 사진(F).

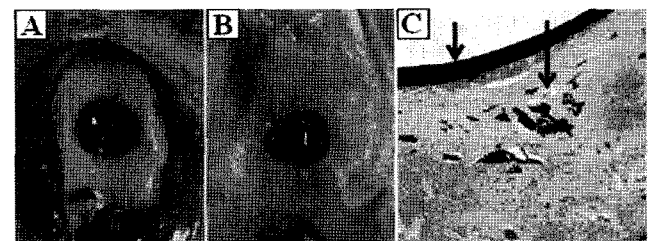


그림 13. 토끼 무릎 연골 결손 부위(A)에 골수 간질세포를 포함한 알긴산 하이드로젤을 주입한 후(B) 12주 뒤에 형성된 연골조직 사진(C).

이 재생된 것을 보여준다.²⁴

4.2 뼈

뼈조직을 효과적으로 재생하는데 있어서 세포부착 리간드인 RGD 펩티드를 도입한 알긴산 하이드로젤이 많은 연구에 사용되어 왔다. MC3T3-E1 세포는 RGD 펩티드가 결합된 알긴산 하이드로젤과의 부착력이 증가하고, 골모세포로의 분화가 증진된다(그림 14). 알긴산 하이드로젤에 결합된 RGD 펩티드의 농도가 높아짐에 따라서 세포와의 부착력, 세포의 분화 능력이 현저하게 증가하는 것으로 나타났다. 알긴산 하이드로젤을 이용하여 골모세포를 위에 이식하게 되면 RGD 펩티드가 도입된 알긴산을 이용하는 경우 뼈조직 형성이 더 잘 이루어지는 것을 확인할 수 있었다.²⁵ 이러한 결과를 토대로 RGD가 도입된 알긴산 하이드로젤은 골모세포 분화에 효과적인 생체재료인 것을 알 수 있다.

RGD 펩티드의 하이드로젤에의 도입 유무 및 정도에 따라 다양한 세포의 표현형을 조절할 수 있다는 것은 널리 연구가 되었으나 이들을 공간배열시키는 효과에 대해서는 현재 연구가 진행 중이다. 단위 부피당 같은 양의 RGD 펩티드가 도입된 알긴산 하이드로젤이라도 RGD 펩티드간의 거리가 멀어짐에 따라서 세포의 종횡비(aspect ratio)가 증가하였고, RGD 펩티드간의 거리가 근접하면 골모세포의 성장과 분화가 촉진되는 것을 확인하였다(그림 15).²⁶ 이는 하이드로젤에 도입한 기능기의 생물학적 또는 화학적인 특성뿐만 아니라 물리적 배열도 세포의 표현형 제어에 유용하다는 것을 나타낸다.

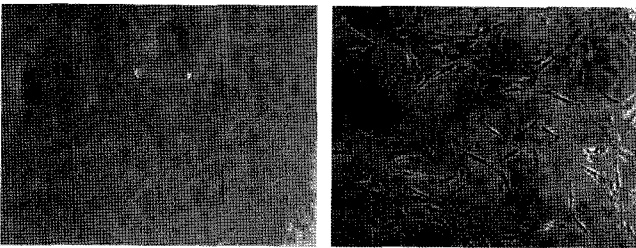


그림 14. RGD 펩티드가 도입되지 않은(좌) 또는 RGD가 도입된 알긴산 하이드로젤 표면(우)에 배양된 골모세포 광학현미경 사진.

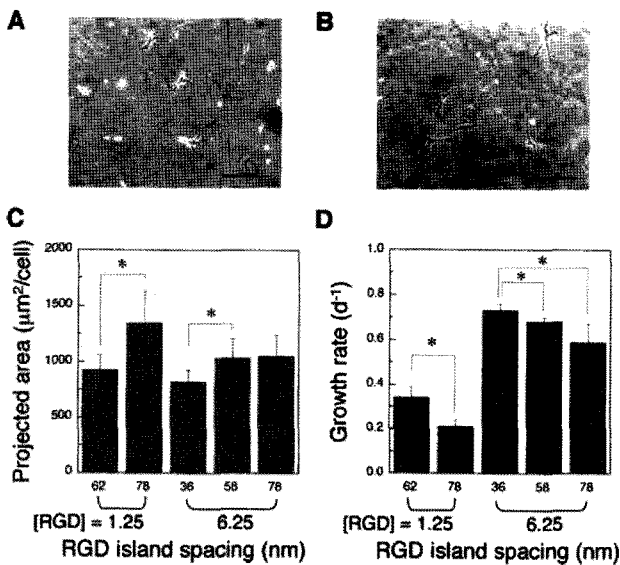


그림 15. RGD 펩티드가 나노 크기로 공간 배열된 알긴산 하이드로젤에서 배양한 골모세포의 부착 및 성장(A) RGD 펩티드간의 거리=62 nm, (B) RGD 펩티드간의 거리=78 nm, (C) projected area, (D) growth rate.

일반적인 알긴산 하이드로젤은 보조 기구 없이는 생체내에서 많은 힘을 받는 뼈조직을 재생하는데 어려움이 많다. 이러한 단점을 보완하기 위하여 공유 가교를 사용하거나, 물성이 좋은 다른 재료와 혼합하여 하이드로젤을 제조하고 뼈조직을 재생하는데 사용할 수 있다. 알긴산 유도체를 adipic acid dihydrazide로 공유 가교시킨 하이드로젤이 뼈조직 재생에 유용하게 사용되었고,²⁷ 미세공극의 평균크기가 150 µm인 다공성 알긴산/hydroxyapatite (HAP) 지지체를 제조하여 골모세포의 부착력 및 조직 재생능력을 향상시켰다.²⁸ 알긴산 하이드로젤에 다양한 성장인자를 포함시켜 보다 용이하게 뼈조직을 재생하려는 연구도 진행되고 있다. 알긴산 하이드로젤에 bone morphogenetic protein-2 (BMP-2)를 포함시켜 골수 간질세포를 배양시킨 경우, BMP-2를 포함시키지 않은 알긴산 하이드로젤보다 뼈조직 생성이 용이한 것을 확인할 수 있었다.²⁹ 또한, vascular endothelial growth factor (VEGF)와 BMP-2를 동시에 포함한 알긴산 하이드로젤을 이용한 경우, 성장인자를 각각 사용한 경우보다 뼈세포로의 분화 및 조직형성이 용이한 것을 확인할 수 있었다.³⁰ 골결손 부위가 큰 경우에 사용하고자 poly(ϵ -caprolactone) (PCL) 나노섬유 튜브내에 BMP-2를 포함시킨 알긴산 하이드로젤을 주입하고 동물모델에 12주 동안 이식한 경우, 나노섬유 튜브 또는 하이드로젤을 각각 사용한 경우보다 뼈조직 생성이 향상되었다.³¹

4.3 근육

알긴산 하이드로젤은 근육 재생에도 자주 사용되었다. 골격근세포(skeletal myoblast)로 알려져 있는 C2C12를 RGD 펩티드가 도입된 알긴산 하이드로젤에 배양한 경우, RGD 펩티드가 도입되지 않은 경우보다 세포의 부착력이 증가하고 세포의 증식이 증가하는 것을 확인할 수 있었다.³² 한편, 골격근세포를 기계적 물성이 다른 알긴산 하이드로젤에서 배양하게 되면, 기계적 물성이 높은 하이드로젤에서 골격근세포의 부착, 성장, 분화 등이 증가하는 것을 확인할 수 있었다.³³ 뿐만 아니라 알긴산 하이드로젤에 세포부착 인자(예: RGD 펩티드)를 도입하고, 성장인자(예: HGF, bFGF)를 혼합하여 골격근세포 배양에 사용하게 되면, 골격근세포의 생존력이 증가하고 세포의 이동이 활발해지는 것을 확인할 수 있었다.³⁴ 줄기세포를 이용한 근육조직 재생연구의 경우, 인간 중간엽 줄기세포를 RGD-알긴산 수용액과 혼합하여 하이드로젤 미립자를 제조하여 쥐의 심근경색 모델에 주입하고 10주 동안 관찰한 결과, 주입된 세포의 생존율이 거의 100%에 이르는 것으로 나타났다(그림 16).³⁵

4.4 신경

알긴산 하이드로젤은 봉합수술을 할 수 없는 중추신경의 결손 부위를 연결하는 접착제로서 사용되기도 하였고,³⁶ 손상된 척추의 재생에도 사용 가능성이 보고되었다.³⁷ 또한, 알긴산 하이드로젤은 말초신경계의 재생에도 사용되었다. 높은 점성을 가진 알긴산 수용액은 신경 결손 쥐 모

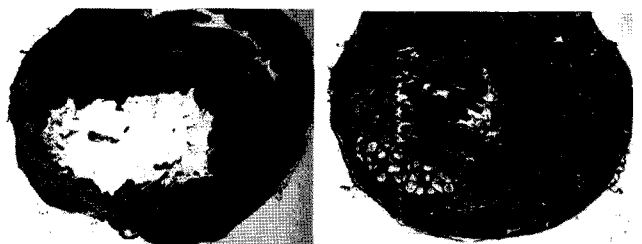


그림 16. 중간엽 줄기세포를 포함한 알긴산 하이드로젤 미립자가 주입되기 전(좌) 및 후(우)의 심근경색 동물모델의 좌심실 조직 사진.

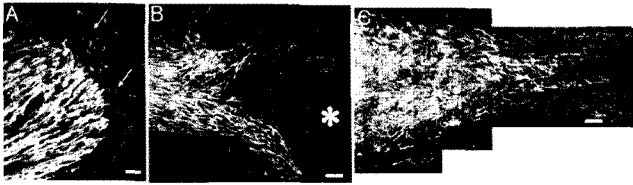


그림 17. 신경결손 부위에 알긴산 하이드로젤을 주입하고 신경조직을 재생하여 축삭과 신경집세포의 성장을 확인한 사진(A) 4일, (B) 2주, (C) 4주 후 사진; scale bar, 40 μm).

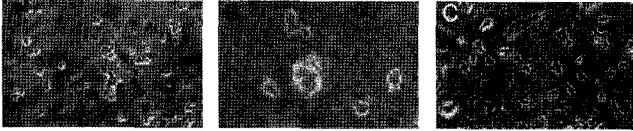


그림 18. (A) RGD, (B) YIGSR 또는 (C) RGD/YIGSR 펩티드가 도입된 알긴산 하이드로젤에 부착된 PC12 세포 사진.

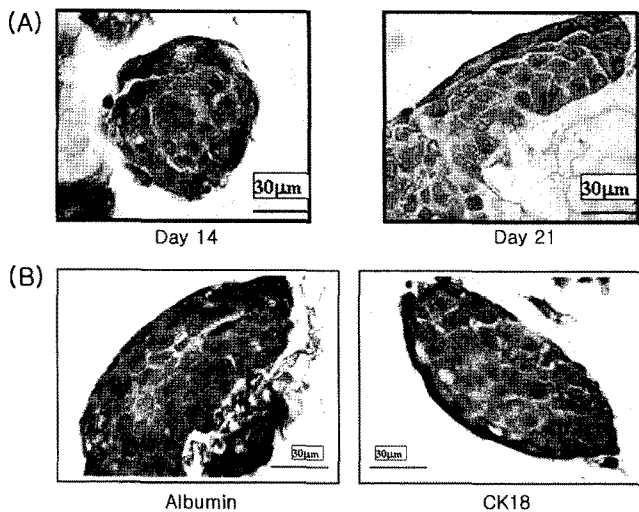


그림 19. 인간 간세포주를 알긴산 하이드로젤에서 배양하여 생성한 인공 간조직((A) H&E 염색, (B) 면역염색 사진).

텔에서 perineurial granulation을 억제하였고 높은 생체친화력을 보였으며 6주 동안 염증반응을 억제하면서 신경다발막 재생을 촉진하였다.³⁸ Etylenediamine을 사용하여 공유결합시킨 알긴산 지지체를 고양이 좌골 신경조직의 50 mm 크기의 결손 부위에 주입하여 놀라운 신경 재생 효과를 관찰하였다(그림 17).³⁹

또한, 알긴산에 세포부착 리간드로 널리 알려져 있는 RGD 펩티드 이외에 다른 리간드인 YIGSR 펩티드(tyrosine-isoleucine-glycine-serine-arginine)를 도입하여 신경세포인 PC12의 표현형을 조절할 수가 있다. YIGSR은 laminin에 존재하는 세포 부착 sequence이고, 특히 신경세포의 분화에 크게 영향을 미치는 것으로 알려져 있다. 알긴산 하이드로젤에 RGD 단일 리간드가 도입된 것보다는 RGD/YIGSR 혼합 리간드가 도입된 경우 PC12 세포의 부착, 성장 및 분화가 크게 영향을 받는 것을 알 수 있었다(그림 18).

4.5 간

현재 부족한 장기 기증으로 인하여 많은 간질환 환자가 간이식을 기다리고 있고 따라서 간질환을 치료하기 위한 새로운 치료법이 절실한 상황이다. 조직공학은 결함이 있는 간조직을 대체할 수 있는 인공 간조직을 제공하는 새로운 방법을 제시한다.^{40,41} 높은 친수성과 다공성 구조

의 알긴산 지지체는 간세포의 배양을 용이하게 하고 이식된 간세포의 기능을 유지시키는데 큰 역할을 한다.⁴² 인간 간세포주를 알긴산 지지체를 이용하여 배양한 경우 생체 내 간세포의 spheroid와 유사한 형태를 가지고 있음을 관찰하였다(그림 19).⁴³

5. 결론

지금까지 생체조직 재생에 사용되는 대표적인 고분자 재료인 알긴산의 기본 성질 및 응용에 대하여 간단히 설명하였다. 알긴산은 조직공학뿐만 아니라 약물전달(drug delivery), 상처치유(wound healing) 등 다양한 의료용 분야에서 현재 사용되고 있다. 이제까지는 알긴산이라는 천연고분자가 가지는 고유한 물리적 또는 화학적 성질만을 이용하는 연구가 진행되어 왔다. 그러나 성공적인 생체조직 재생을 위하여 적절한 생물학적인 특성을 부여하는 연구가 진행되어야 한다. 대표적인 예가 알긴산 주사술에 세포 친화성을 부여하는 리간드를 도입하는 것이다. 수동적이고 단순한 지지체가 아닌 능동적이고 자발적으로 세포와의 상호작용을 유발하고 세포의 표현형을 조절할 수 있는 알긴산 지지체의 개발이 필요한 것으로 생각된다. 이는 알긴산뿐만 아니라 조직공학에 사용되고 있는 또는 앞으로 사용 가능한 모든 재료에게도 해당이 된다고 할 수 있겠다. 또한, 본 특집에서 자세히 설명하지는 않았지만 줄기세포의 기능성을 이용하여 다양한 생체조직을 안전하게 재생하는 연구가 앞으로 활발하게 이루어져야 한다고 생각된다.

참고문헌

1. R. Langer and J. P. Vacanti, *Science*, **260**, 920 (1993).
2. K. Y. Lee and D. J. Mooney, *Chem. Rev.*, **101**, 1869 (2001).
3. W. L. Nelson and L. H. Cretcher, *J. Am. Chem. Soc.*, **51**, 1914 (1929).
4. F. G. Fischer and H. Dorfel, *Z. Physiol. Chem.*, **302**, 186 (1955).
5. M. George and T. E. Abraham, *J. Control. Release*, **114**, 1 (2006).
6. M. Rinaudo, *Polym. Bull.*, **27**, 585 (1992).
7. U. Zimmermann, G. Klock, K. Federlin, K. Haning, M. Kowalski, R. G. Bretzel, A. Horcher, H. Entenmann, U. Siebers, and T. Zekorn, *Electrophoresis*, **13**, 269 (1992).
8. R. J. Mumper, A. S. Huffman, P. A. Puolakkainen, L. S. Bouchard, and W. R. Gombotz, *J. Control. Release*, **30**, 241 (1994).
9. J. Lee and K. Y. Lee, *Pharm. Res.*, **26**, 1739 (2009).
10. A. Al-Shamkhani and R. Duncan, *J. Bioact. Compat. Polym.*, **10**, 4 (1995).
11. K. H. Bouhadir, K. Y. Lee, E. Alsberg, K. L. Damm, K. W. Anderson, and D. J. Mooney, *Biotechnol. Progr.*, **17**, 945 (2001).
12. K. Y. Lee and S. H. Yuk, *Progr. Polym. Sci.*, **32**, 669 (2007).
13. O. Smidsrod and G. Skjak-Bræk, *Trend Biotechnol.*, **8**, 71 (1998).
14. A. D. Augst, H. J. Kong, and D. J. Mooney, *Macromol. Biosci.*, **6**, 623 (2006).
15. P. Eiselt, K. Y. Lee, and D. J. Mooney, *Macromolecules*, **32**, 5561 (1999).
16. K. Y. Lee, J. A. Rowley, P. Eliselt, E. M. Moy, K. H. Bouhadir, and D. J. Mooney, *Macromolecules*, **33**, 4291 (2000).

17. K. A. Smeds and M. V. Grinstaff, *J. Biomed. Mater. Res.*, **54**, 115 (2001).
18. K. Y. Lee, H. J. Kong, R. G. Larson, and D. J. Mooney, *Adv. Mater.*, **15**, 1828 (2003).
19. A. J. Thornton, E. Alsberg, M. Albertelli, and D. J. Mooney, *Transplantation*, **77**, 1798 (2004).
20. H. Park, S. W. Kang, B. S. Kim, D. J. Mooney, and K. Y. Lee, *Macromol. Biosci.*, **9**, 895 (2009).
21. S. C. Chang, J. A. Rowley, G. Tobias, N. G. Genes, A. K. Roy, D. J. Mooney, C. A. Vacanti, and L. J. Bonassar, *J. Biomed. Mater. Res.*, **55**, 503 (2001).
22. H. L. Ma, S. C. Hung, S. Y. Lin, Y. L. Chen, and W. H. Lo, *J. Biomed. Mater. Res. Part A*, **64A**, 273 (2003).
23. A. D. Award, M. Q. Wickham, H. A. Leddy, J. M. Gimble, and F. Guilak, *Biomaterials*, **25**, 3211 (2004).
24. T. Igarashi, N. Iwasaki, Y. Kasahara, and A. Minami, *J. Biomed. Mater. Res. Part A*, **94A**, 844 (2010).
25. E. Alsberg, K. W. Anderson, A. Albeiruti, R. T. Franceschi, and D. J. Mooney, *J. Dental Res.*, **80**, 2025 (2001).
26. K. Y. Lee, E. Alsberg, S. Hsiong, W. Comisar, J. Linderman, R. Ziff, and D. Mooney, *Nano Letters*, **4**, 1501 (2004).
27. K. Y. Lee, E. Alsberg, and D. J. Mooney, *J. Biomed. Mater. Res.*, **56**, 228 (2001).
28. H. R. Lin and Y. J. Yeh, *J. Biomed. Mater. Res. Part B*, **71B**, 52 (2004).
29. H. Lim, H. Ghim, J. Choi, H. Chung, and J. Lim, *Macromol. Res.*, **18**, 787 (2010).
30. J. M. Kanczler, P. J. Ginty, L. With, N. M. Clarke, S. M. Howdle, K. M. Shakesheff, and R. O. Oreoffo, *Biomaterials*, **31**, 1242 (2010).
31. Y. M. Kolambkar, K. M. Dupont, J. D. Boerckel, N. Huebsch, D. J. Mooney, D. W. Hutmacher, and R. E. Guldborg, *Biomaterials*, **32**, 65 (2011).
32. J. A. Rowley, G. Madlambayan, and D. J. Mooney, *Biomaterials*, **20**, 45 (1999).
33. T. Boontheekul, E. E. Hill, H. J. Kong, and D. J. Mooney, *Tissue Eng.*, **13**, 1431 (2007).
34. E. Hill, T. Boontheekul, and D. J. Mooney, *Tissue Eng.*, **12**, 1295 (2006).
35. J. Yu, K. T. Du, Q. Fang, Y. Gu, S. S. Mihardja, R. E. Sievers, J. C. Wu, and R. J. Lee, *Biomaterials*, **31**, 7012 (2010).
36. K. Suzuki, Y. Suzuki, M. Tanihara, K. Ohnishi, T. Hashimoto, K. Endo, and Y. Nishimura, *J. Biomed. Mater. Res.*, **49**, 528 (2000).
37. P. Prang, R. Muller, A. Eljaouhari, K. Heckmann, W. Kunz, T. Weber, C. Faber, M. Vroemen, U. Bogdahn, and N. Weidner, *Biomaterials*, **27**, 3560 (2006).
38. H. Ohsumi, H. Hirata, T. Nagakura, M. Tsujii, T. Sugimoto, K. Miyamoto, T. Horiuchi, M. Nagao, T. Nakashima, and A. Uchida, *Plast. Reconstr. Surg.*, **116**, 823 (2005).
39. T. Hashimoto, Y. Suzuki, K. Suzuki, T. Nakashima, M. Tanihara, and C. Ide, *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, **16**, 503 (2005).
40. W. J. Wang, X. H. Wang, Q. L. Feng, and F. Z. Cui, *J. Bioact. Compat. Polym.*, **18**, 249 (2003).
41. C. Selden and H. Hodgson, *Transpl. Immunol.*, **12**, 273 (2004).
42. M. Dvir-Ginzberg, I. Gamieli-Bonshtein, R. Agbaria, and S. Cohen, *Tissue Eng.*, **9**, 757 (2003).
43. T. Elkayam, S. Amitay-Shaprut, M. Dvir-Ginzberg, T. Harel, and S. Cohen, *Tissue Eng.*, **12**, 1357 (2006).