

# HA-Dex 융복합 하이드로겔 패치의 아토피 치유 능력에 대한 물리적 특성 및 생체 적합성 평가

홍 경 식<sup>1,†</sup> · 최 정 연\* · 최 진 현<sup>2</sup>

<sup>1</sup>경북대학교 바이오섬유소재학과, 박사

\*한국생산기술연구원 안전시스템연구그룹

<sup>2</sup>경북대학교 바이오섬유소재학과, 교수

(2020년 6월 10일 접수, 2020년 7월 20일 수정, 2020년 9월 15일 채택)

## Evaluation of Physical Properties and Biocompatibility of HA-Dex Fusion Hydrogel Patch for Atopic Healing Ability

Gyeong Sik Hong<sup>†</sup>, Jeong Yeon Choi\*, and Jin Hyun Choi

Department of Bio-fibers and Materials Science, Kyungpook National University, 80 Daehakro, Bukgu, Daegu 41566, Korea

\*Safety System R&D Group, Korea Institute of Industrial Technology (KITECH)

(Received June 10, 2020; Revised July 20, 2020; Accepted September 15, 2020)

**요약:** 최근, 아토피 피부염은 피부 자극에 민감하므로 피부 자극을 최소화하면서도, 특정한 국소 부위에 대한 점착력과 흡수력을 효과적으로 발휘할 수 있으며 적절한 약물 방출을 거동할 수 있는 패치 개발이 우선시 되어야 한다고 제안되기도 하였다. 따라서 본 연구는 피부 자극을 최소화하고 특정 부위에 효과적으로 점착 및 흡수 할 수 있는 하이드로겔 패치를 개발코자 하였다. 아토피 패치는 동결 건조법을 이용하여 고흡수성 하이드로겔 시트를 제형화 하였다. 인간각질세포(HaCaT cells) 및 섬유아세포(L929 cells) 사용하여 세포 안정성을 수행하였다. 물리적 성질을 조사하고자 FT-IR, FE-SEM, 다공성 분석, 팽윤성 거동을 조사 하였다. 그 결과, 새롭게 제조된 HA-Dex 하이드로겔 패치는 생체 적합성 및 물리적 평가에 의해 입증하였다. 또한 제조된 하이드로겔 패치는 충분한 수분 흡수력과 아토피성 피부의 가려움증을 완화시킬 수 있으며, 향후 아토피 성 피부염 치료에 다양한 약물 전달 제품에 적용될 수 있을 것으로 기대된다.

**Abstract:** Recently, since atopic dermatitis is sensitive to skin irritation, it has been suggested that the development of a patch that can effectively exhibit adhesion and absorption to a specific local area while minimizing skin irritation, and capable of appropriate drug release should be given priority. In this study, we tried to develop a hydrogel patch that minimizes skin irritation, adheres effectively to a specific area, and promotes absorption. The atopic patch was formulated into a super-absorbent hydrogel sheet using a freeze drying method. Cell viability assay was carried out using keratinocytes (HaCaT cell) and fibroblasts (L929 cells). In order to investigate the physical properties, FT-IR, FE-SEM, porosity analysis and swelling behavior were investigated. As a result, the newly prepared HA-Dex hydrogel patch was verified by biocompatibility and physical evaluation. In addition, the manufactured hydrogel patch has sufficient moisture absorption capacity and can relieve itching of atopic skin, and is expected to be applied to various drug delivery products for the treatment of atopic dermatitis in the future.

**Keywords:** atopic dermatitis, hydrogel patch, hyaluronic acid, dextran, BDDE

## 1. 서론

아토피 피부염(atopic dermatitis, atopic eczema)은 1925년 미국인 의사 코카(coca)가 명명한 용어로서, 사람이 섭취하는 음식물이나 물질에 의해서 야기되는 선천적 알레르기 반응의 결과로 가려움증(소양증, itching), 피부발적 및 피부감염 등을 보이는 만성 난치성 염증성 피부질환(chronic inflammatory skin disease)이다[1-2]. 아토피성 피부염은 아직 확실하게 원인이 무엇인지 밝혀지지 않았지만, 현재까지 연구진의 보고에 의하면 IgE 항체의 증가에 따른 과감작 반응에 의하거나, 세포매개성 면역기능의 저하로 나타나는 T 림프구의 불균열 분화에 의한 기능적 결여, 피부에 존재하는 아드레날린 수용체의 차단 등이 발병의 원인이라고 보고하고 있다. 이는 유전적인 요소로 보고 있으며, 또한 유전적 요인과 후천적 요인에 의해 피부 장벽(skin barrier)의 손상이 서로 복합적으로 관여하는 것으로 알려져 있다[3]. 유전적인 요인으로 필라그린(filaggrin)의 유전자 변이(gene mutation) 등이 있으며 특히, 부모의 아토피 병력은 자녀의 아토피 피부염의 발현과 정도에 56 ~ 81% 수준의 영향을 미친다고 알려져 있다[4]. 후천적 요인(환경적 요인)은 기후 변화를 비롯하여 대기 오염, 수질 오염, 화학제품과 밀폐된 실내 환경, 식품 문화의 변화 등 다양한 유발 물질의 자극과 면역학적 요인에 영향을 미치는데, 현재 후천적인 요인에 의한 아토피 발생률의 심각성이 지속적으로 높아지고 있다. 아토피 발생기전을 보면, 사람의 피부 표면은 피지 막으로 덮여 있고 그 바로 아래에 각질층이 존재한다. 여기에서, 보호막 기능의 중요한 역할이 세포 간 지질층을 만드는 세라마이드 등의 물질인데, 유전적인 요인 등에 의해 세라마이드가 감소하게 되면 피부 장벽의 기능이 약해지고 이로 인해 필라그린이 변이되어 각질세포내 단백질 합성이 저하 됨에 따라 수분이 유실되고 이로 인해 각질층의 응집력의 이상을 일으켜서 각질 세포가 탈락으로 인해 아토피 피부염이 발생한다[5].

현재 아토피 피부염을 완치시킬 방법은 없지만, 여러 연구진에 의해 피부를 보호해 주는 기본적인 방법과 피부에 대한 수분공급 및 소양감을 감소시키기 위한 피부염에 대한 치료, 유발인자의 확인 및 제거해 주는 방법 등을 제안하였다. 최근, 아토피 피부염은 피부 자극에 민감하므로 피부 자극을 최소화하면서도, 특정한 국소 부위에 대한 점착력과 흡수력을 효과적으로 발휘할 수 있으며 적절한 약물 방출을 거동할 수 있는 패치 개발이 우선시 되어야 한

다고 제안되기도 하였다[6].

이에 본 연구에서는 이러한 문제를 해결하기 위해 피부 점착력과 피부 침투력 등 피부 자극을 최소화하면서도 특정한 국소 부위에 약물을 효과적으로 방출 제어할 수 있는 하이드로겔 형태의 아토피 치유용 패치를 제조하고자 하였다. 하이드로겔은 물을 흡수할 수 있는 친수성 고분자 네트워크로 화학적 및 물리적 방법에 의해 안정성, 분해성 등 다양한 특성을 조절할 수 있다. 하이드로겔은 높은 흡수율과 유연성 특성을 가져 조직공학, 재생의학, 세포 고정화, 바이오센서, 인공피부, 제어 방출 약물 시스템 등에 다양하게 적용되고 있다. 하이드로겔을 이용한 약물전달 분야에 다양하게 응용되고 있지만, 약물전달에는 제한되는 여러 가지 해결해야 할 문제점도 제시되고 있다. 이것은 하이드로겔을 형성하는 결합 방법, 또는 사용하고자는 생체재료의 독성 문제, 또한 생체 내 적용 시 조직과의 적합성 문제를 해결하기 위한 생체적합성이 우수한 재료의 선택과 제조방법 등의 전략이 필요하다.

천연고분자는 식물 유래 고분자, 동물 유래 고분자, 미생물 생산 고분자 등이 있으며 탄수화물, 단백질, 셀룰로오스 등의 다당류로 구성되어 있다. 그 중 약물전달소재로 많이 이용되고 있는 대표적인 탄수화물인 덱스트란(dextran, Dex)은 높은 수용성과 높은 생체적합성으로 생물 의학 분야에 많이 응용된다[7]. 덱스트란은 사탕수수의 사탕을 세균(bacteria)으로 분해하여 만든 포도당 분자로 이루어지는 복잡하고 높은 분자량을 갖는 다당류(polysaccharide)로 주사슬은 글루코스 단량체들 사이에  $\alpha(1 \rightarrow 6)$  글리코사이드 결합으로 구성되어 있으며, 분지(branch)되는 부분은  $\alpha(1 \rightarrow 4)$ ,  $\alpha(1 \rightarrow 2)$  또는  $\alpha(1 \rightarrow 3)$  글리코사이드 결합으로 연결되어 있다. 이러한 특징적인 분지화는 덱스트란과 텍스트린을 구분하는 특징이 되며, 분지 link와 glucopyranosyl residue의 수에 따라 물리 화학적 성질이 다르게 나타난다[8]. 이런 특성들로 인해 하이드로겔 제형 시 많이 선택되어지는 천연고분자이기도 하다. 히알루론산(hyaluronic acid, HA)은 콜라겐과 같은 세포외기질(extracellular matrix, ECM)과 달리 그 분해 산물인 올리고 히알루론산이 호중구 활성화(neutrophil activity), 신생혈관생성(angiogenesis), 창상치유(wound healing) 등의 여러 생리작용을 한다고 알려져 있다. 특히 조직재생에 필수적인 신생혈관생성에 크게 관여하는 것으로 알려져 있고, 성인의 상처치유과정에서 히알루론산의 농도 및 분자량의 변화와 조직재생 효과에 관한 연구가 많이 진행되고 있다[9]. 따라서 인체조직을 재생하기 위한

효과적인 제품을 만드는데 이러한 특성의 히알루론산을 원료로 사용할 경우 생체적합성뿐만 아니라 기능적으로도 우수한 제품으로 만들 수 있을 것이다[10].

이에 본 연구에서는 히알루론산(HA)와 덱스트란(Dex)을 화학적 가교결합 가교제를 활용하여 새로운 아토피 치유용 융복합체(HA-Dex fusion hydrogel patch)를 제조하고자 하였고 이에 대한 물리적 및 화학적 특성을 평가하고, 생물학적 안정성을 확인하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 재료 및 제조방법

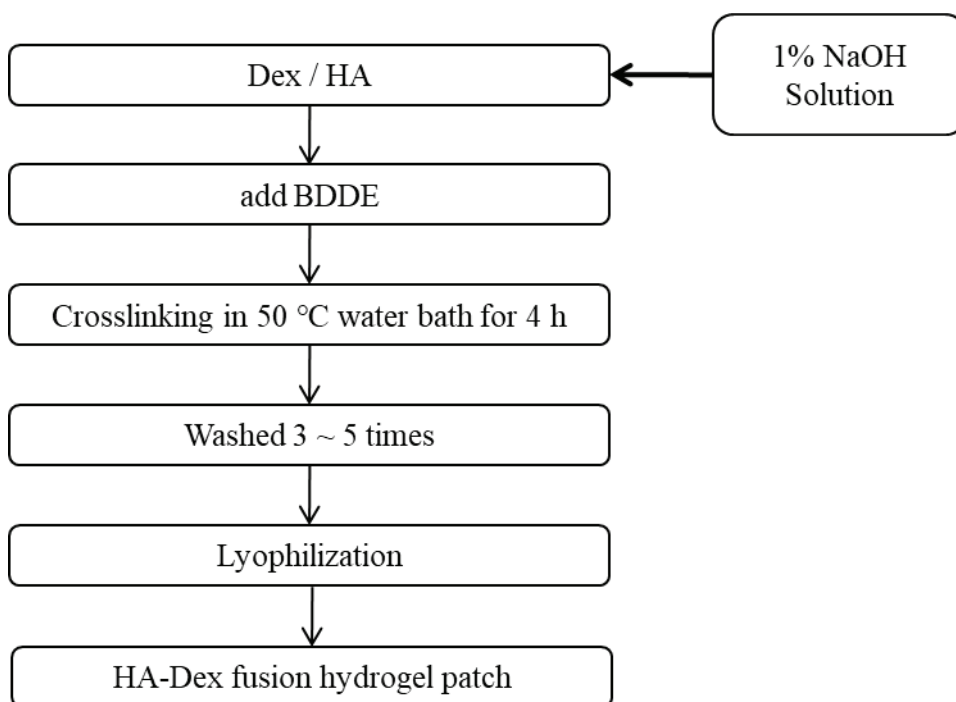
본 실험에서 제조된 HA-Dex hybrid patch는 HA(Mw: 2,000 kDa, bloomage biotechnology Corp, ltd., China), Dex, 가교제로 사용한 1,4-butanediol diglycidyl ether (BDDE)는 Sigma-aldrich (USA)를 사용하여 에스테르화 반응을 통해 제조하였다. 1.0 wt% NaOH (Sigma-aldrich, USA) 용액에 HA와 Dex를 혼합하여 실온에서 24 h 동안 저속 교반(80 rpm) 시켜 10.0 wt%의 HA-Dex 고분자 용액을 제조하였다. 총 중량 10.0 wt% 제조된 각 농도조건(Table 1) HA-Dex 고분자 용액에 BDDE를 0.5 wt% 가해준 후 성형틀에 부어주

고 4 h 동안 증탕기(BS-31, JEIO tech.co.LTD, Korea) 50 °C 에서 가교(cross-link) 반응시킨 후에 성형틀을 제거하여 HA-Dex hybrid 유도체를 제조하였다.

HA-Dex hybrid 유도체는 3 차 증류수(DW, MilliQ quality, USA)를 사용하여 24 h 동안 3 회에 걸쳐 세척하여 미반응 물을 제거시켰다. 이후 HA-Dex hybrid 유도체를 -50 ~ 60 °C 조건의 동결건조기(freeze dryer, DFType, IL shin Lab, Korea)하에서 48 h 동안 동결건조(lyophilization) 하여 HA-Dex hybrid patch를 제조하였다(Figure 1, Table 1).

**Table 1.** Processing conditions for fabrication of HA-Dex hybrid patches

Samples / weight ratio (w/w) %	Dextran	Hyaluronic acid
Control	10.0	0.0
A	9.5	0.5
B	9.0	1.0
C	8.0	2.0
D	7.0	3.0
E	6.0	4.0
F	5.0	5.0



**Figure 1.** A schematic diagram of the procedures for cross linking.

## 2.2. 물리·화학적 특성 분석

제조된 패치의 표면 형태학적 분석은 전자주사현미경(field emission scanning electron microscope, FE-SEM, SU8220, Hitachi, Japan)을 이용하여 평가하였고, 패치의 다공성과 다공도 분포는 기공률 분석기(procometer, AutoPore IV 9520, micromeritics, USA)를 이용하여 측정되었으며, 패치의 특정 작용기 확인은 적외선 분광광도계(FT-infrared spectrophotomere, Frontier, PerkinElmer, USA)를 통해 평가하였다.

## 2.3. 겔화율 및 팽윤도 특성 분석

BDDE로 가교로 인한 겔화율을 측정하기 위해 제조된 패치의 초기 무게(Wi)를 측정하고, 초순수(~ 50 mL)에 담긴 후 37 °C 중탕기(100 rpm)에 12 h 교반 시킨다. 이후 동결 건조를 통해 건조된 무게(Wd)를 측정하고 다음 식 1에 의해 겔화율을 측정하였다[11].

$$\text{겔화율(\%)} = Wd / Wi \times 100 \quad (1)$$

패치를 상온 건조 후 건조된 초기 무게(Wd)를 측정하고, 이를 초순수(~ 50mL)에 담긴 후 37 °C중탕기(100rpm)에 둔 후 무게 변화가 평형을 이룰 때까지 시간에 따른 무게(Ws)를 측정하고, 팽윤도(swelling ratio)는 다음의 식 2에 의해 수행하였다[11].

$$\text{팽윤도(\%)} = (Ws - Wd) / Wd \times 100 \quad (2)$$

## 2.4. 세포 적합성 분석

패치를 소독하기 위해 UV lamp 하에서 70 % 에탄올에 1 일간 침지하고 이를 3 차 증류수로 수회 세척한 뒤 사용하였다. 소독한 패치를 세포 배양액에 침지하고 성장배지로는 10% FBS, 500 U/mL penicillin, 500 µg/mL streptomycin (Gibco, USA)를 함유하는 RPMI 1640 medium (BenchStable™ RPMI 1640, Gibco, USA)를 사용하였고 37 °C, 5% CO<sub>2</sub>조건 하에서 2 h 정도 incubator 한 뒤 이후 섬유아세포(L929 cells, murine fibroblast cell line)세포를 파종하였다. 1×10<sup>5</sup> 세포밀도를 갖는 L929 세포를 37 °C, 5% CO<sub>2</sub>조건 하에서 24 h 배양하고, 이후 용출한 배지를 cell counting kit-8 (CCK-8, Dojindo Laboratories, Japan)을 첨가하여 37 °C, 5% CO<sub>2</sub>조건 하에서 4 h 동안 반응시킨 후 ELISA reader (Infinite® 200 PRO, Tecan Trading AG, Switzerland)를 사용

하여 450 nm에서 흡광도를 측정 한 후 세포 생존율을 평가하였다(N = 3).

## 2.5. In Vitro Wound 분석

아토피 치유 효과의 분석을 위해 *in vitro* wound 모델을 이용하여 세포 이동 분석을 통해 평가하였다. 세포로는 피부재생에 많이 사용되고 있는 인간각질형성세포(human keratinocyte cell line, HaCaT cells)세포를 사용하여 시간에 따른 세포 이동 분석하였다. 10% FBS, 500 U/mL penicillin, 500 µg/mL streptomycin (Gibco, USA)를 함유하는 modified eagle's medium (MEM, Gibco, USA)을 성장배지로 사용하였고 37 °C, 5% CO<sub>2</sub>조건 하에서 배양되었다. HaCaT 세포를 6 well plate에서 완전히 성장시킨 다음 1 mL blue tip을 사용하여 중간에 흡집을 내고 시간 경과에 따른 세포 이동을 도립형광 위상차 현미경(inverted fluorescent microscope, Eclipse TI-E, Nikon, Japan)으로 관찰하였고, 세포 이동은 치유 시간으로 보았으며, 시간은 0 에서 24 h 사이에 평가하였다.

## 2.6. 통계

모든 데이터는 평균의 평균 ± 표준편차(standard deviation, SD)로 표현되었다. 수집 된 모든 데이터는 t-검정과 차이 유형 데이터는 Sigma Plot 소프트웨어(version 13, Systat Software, Inc., USA) 및 Microsoft Excel 2010 (Microsoft, Redmond, USA)을 사용하여 수집 데이터화 하였다.

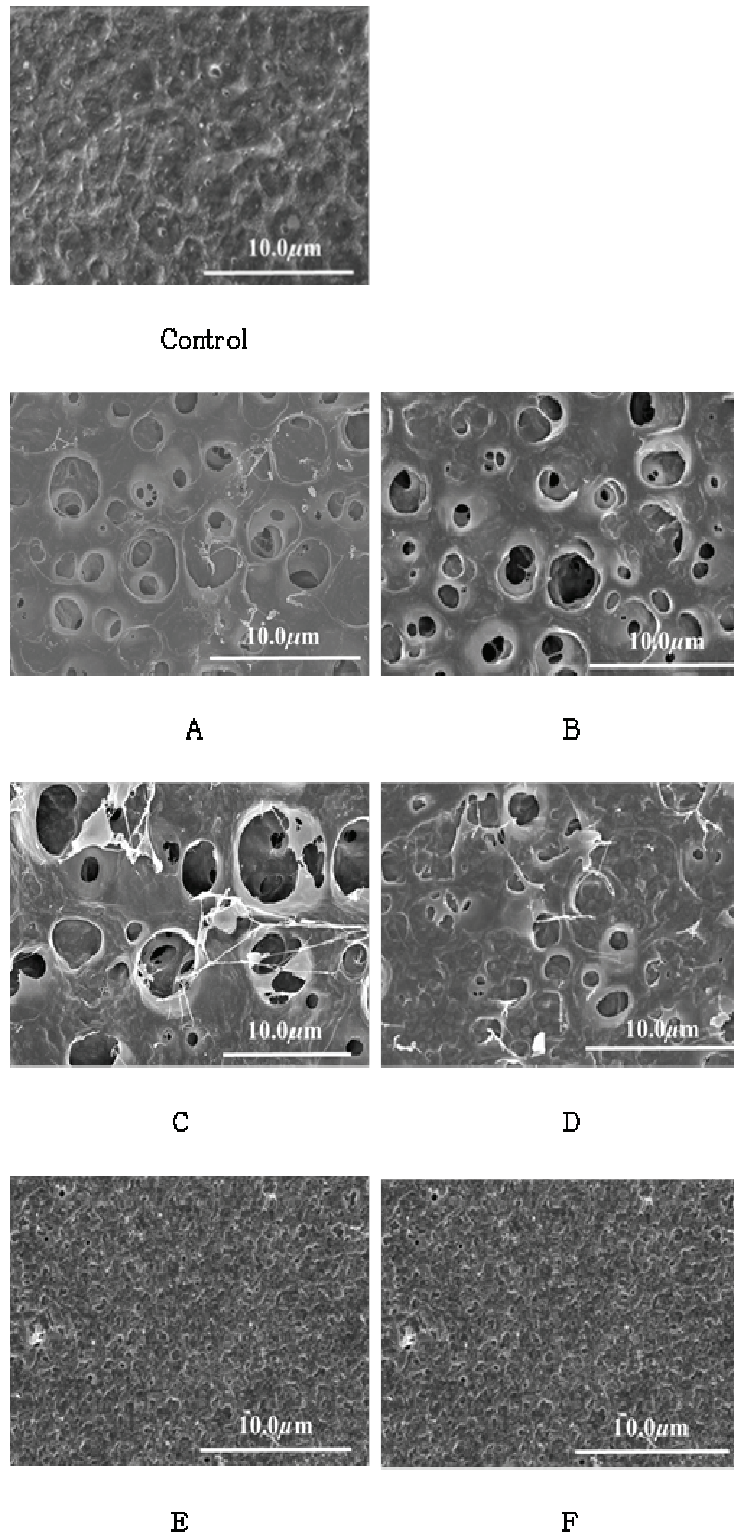
## 3. 결과 및 고찰

### 3.1. 물리·화학적 평가

HA 농도 변화에 따른 패치의 표면을 관찰한 결과 HA 농도가 높을수록 표면의 hole의 생성이 증가하지만 형태 안정성이 감소되고 불규칙한 형상을 나타내었다(Figure 2).

다공성을 측정할 결과 HA 농도가 증가할수록 pore-pore interaction connectivity로 인해 다공도가 증가됨을 확인할 수 있었다. 하지만 HA의 적정 농도 이상일 경우에는 형태 구조가 불안정하고 일그러짐이 나타났었다(Figure 2 E, F). 이는 pore-pore interaction connectivity 약하게 됨에 따라 불규칙한 형상과 함께 다공도가 감소됨을 간접적으로 증명하였다(Table 2).





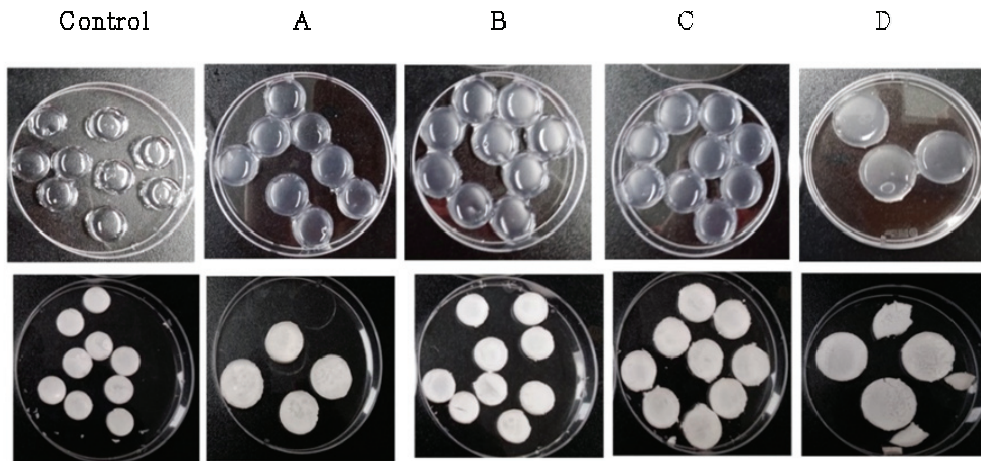
**Figure 2.** Surface morphologies of HA-Dex hybrid patches by FE-SEM analysis (5.0kV X 5.0 K).

**Table 2.** Total pore areas, average pore diameters, and porosities of HA-Dex hybrid patches

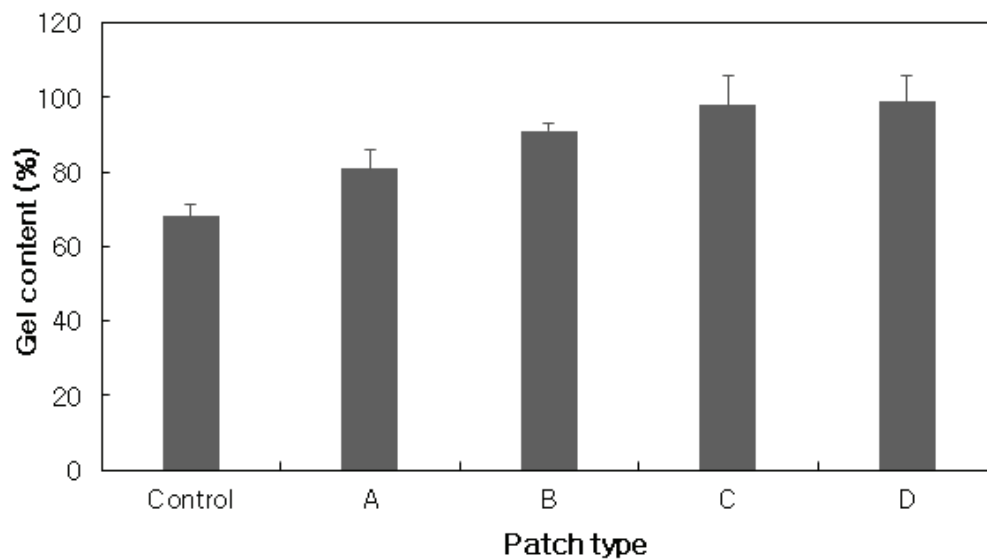
Samples (N = 3)	Total pore area (m <sup>2</sup> /g)	Average pore diameter (4V/A)(nm)	Porosity (%)
Control	52.2	341.1	22.9
A	2.3	374.6	26.6
B	4.9	1329.6	68.2
C	25.0	740.4	77.0
D	22.4	683.4	72.4
E	4.1	612.8	56.5
F	2.2	341.1	32.2

### 3.2. 겔화율 및 팽윤성 거동 평가

본 실험에서는 소재의 기계적 물성이 안정된 실험군 A, B, C, D을 대상으로 하여 겔화율 및 팽윤성 거동을 평가하였다. 그 결과 HA 농도가 증가할수록 물을 흡수하여 팽윤됨이 증가된 것을 확인하였다. 또한 동결건조기를 이용하여 건조 상태의 표면을 관찰한 결과, 모든 실험군에서 고른 표면형상이 관찰되었지만 HA 농도가 증가할수록 부스러지기 쉬운 상태가 되어 형태 안정성이 유지되지 못함을 확인하였다(Figure 3 bottom). 겔화율은 모든 실험군에서 80% 이상의 높은 겔화율을 보여주었고, 특히 HA 농도가 증가할수록 겔화율은 증가되는 경향을 나타내었다(Figure 4).



**Figure 3.** Photographs of patches after water absorption (top) and subsequent lyophilization (bottom).



**Figure 4.** Effect of HA contents on the gelation for HA-Dex hybrid hydrogel (N = 3, mean  $\pm$  SD).

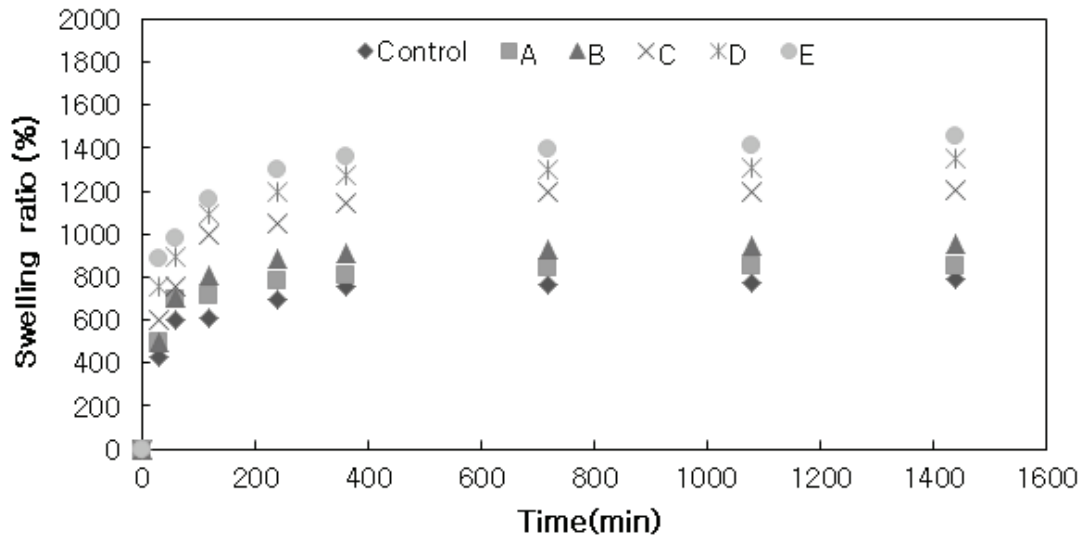


Figure 5. Effect of HA contents on the swelling ratio for HA-Dex hybrid hydrogel.

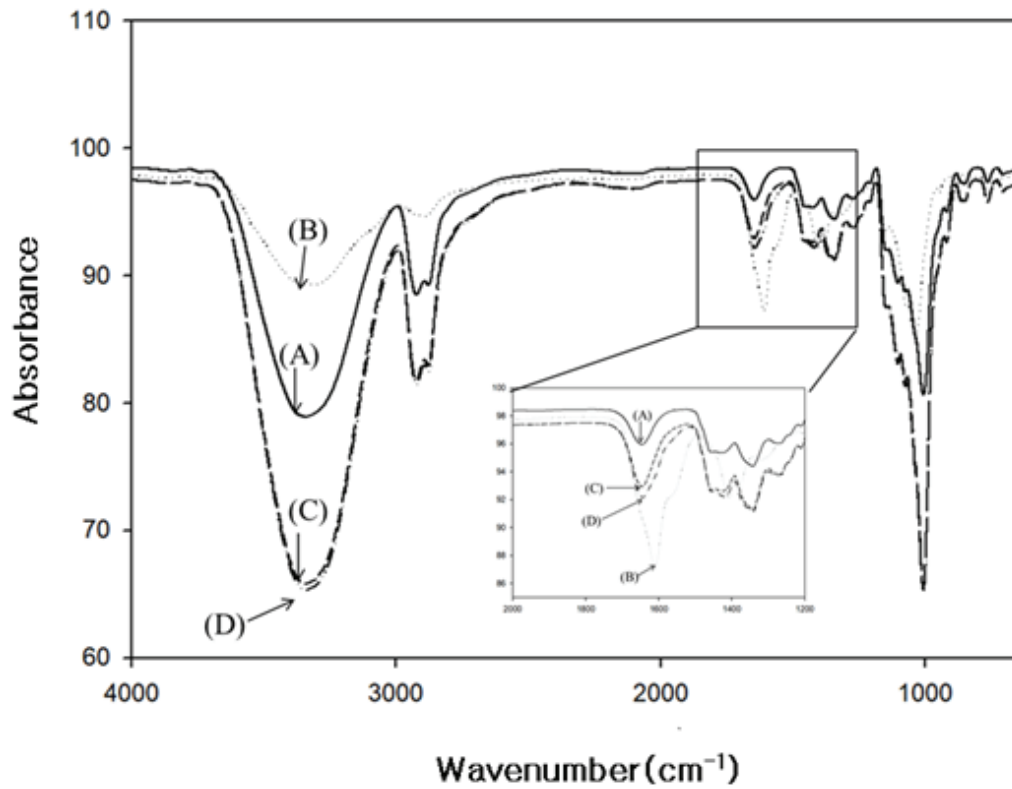


Figure 6. FT-IR spectra of (A) only Dex, (B) only HA (C) HA-Dex hybrid patch (ratio) = 0.5 / 9.5, (D) HA-Dex hybrid hydrogel patch (ratio) = 1.0 / 9.0.

HA의 농도에 따른 팽윤거동을 측정된 결과, HA 농도가 증가할수록 팽윤도가 증가하는 경향을 보였다. 실험은 24 h 동안 수행되었고 초기 30 min 동안 급격한 팽윤도를 보였으며 120 min 이후부터는 팽윤 거동의 변화가 미미하게 증가되는 경향을 보였다(Figure 5). 일반적으로 HA는 친수성 고분자로 물의 흡수도가 증가 된 것으로 판단된다.

가교제 BDDE에 따른 Dex와 HA의 결합 유무를 FT-IR로 분석하였고 형태학적으로 안정한 실험군 A, B만 대상으로 하여 대조군(Dex, HA)와 비교하여 결합유무를 확인하였다. 그 결과 Dex의 -OH 그룹이 3200~3300  $\text{cm}^{-1}$ 에서 확인하였고, 1010  $\text{cm}^{-1}$ 에서는 C-O-C의 신축에 의한 흡수 피크를 확인하였으며, HA가 농도가 증가될 수록 COOH 결합의 진동세기가 줄어들음을 확인하였다. 이는 결합에 의한 -COOH에서 -COO(에스테르화) 되어 -C=O 결합 세기가 증가되는 것으로 판단되며 1709  $\text{cm}^{-1}$ 에서 에스테르 결합 밴드를 확인함으로써 가교제에 의한 결합이 됨을 확인하였다(Figure 6).

### 3.3. 생체 적합성 평가

L929 세포를 용출한 배지를 얻어 세포 생존율을 시험한 결과 세포만 파중한 대조군(only cells)과 유사하게 세포의 생존을 보였지만 특히, 실험군 B에서 세포 생존이 증가함을 확인하였다(Figure 7).

HaCaT 세포 이동을 통해 아토피 치유 평가를 분석한 결과 세포 만 처치한 대조군(only cells)에 비해 HA 함유가 높을수록 세포 이동이 활발하여 창상 유도가 거의 닫혀 있음을 관찰하였고, 특히 실험군 B에서 창상이 거의 닫혀 있음을 관찰하였다. 이에 HA 농도가 높은 것 보다 적정 농도가 주어 질 때 아토피 치유에 효과적임을 간접적으로 증명하였다. 세포 생존률 및 세포 이동을 평가한 결과 HA 함유가 높을수록 세포 이동이 활발하였지만 적정농도일 때 가장 안정적이었고 Dex : HA= 9 : 1 함량비를 갖는 B에서 가장 효과적인 세포 생존률과 이동을 확인하였다(Figure 8). 이는 HA가 물리적으로 점탄성 및 흡습성이 우수하기에 농도가 증가 될수록 오히려 불안정한 형상을 갖는 것이고 또한, 세포외기질(ECM)로 세포막 수용체 특히 CD44에 인식되어 히알루론산과 이들의 수용체가 상호 작

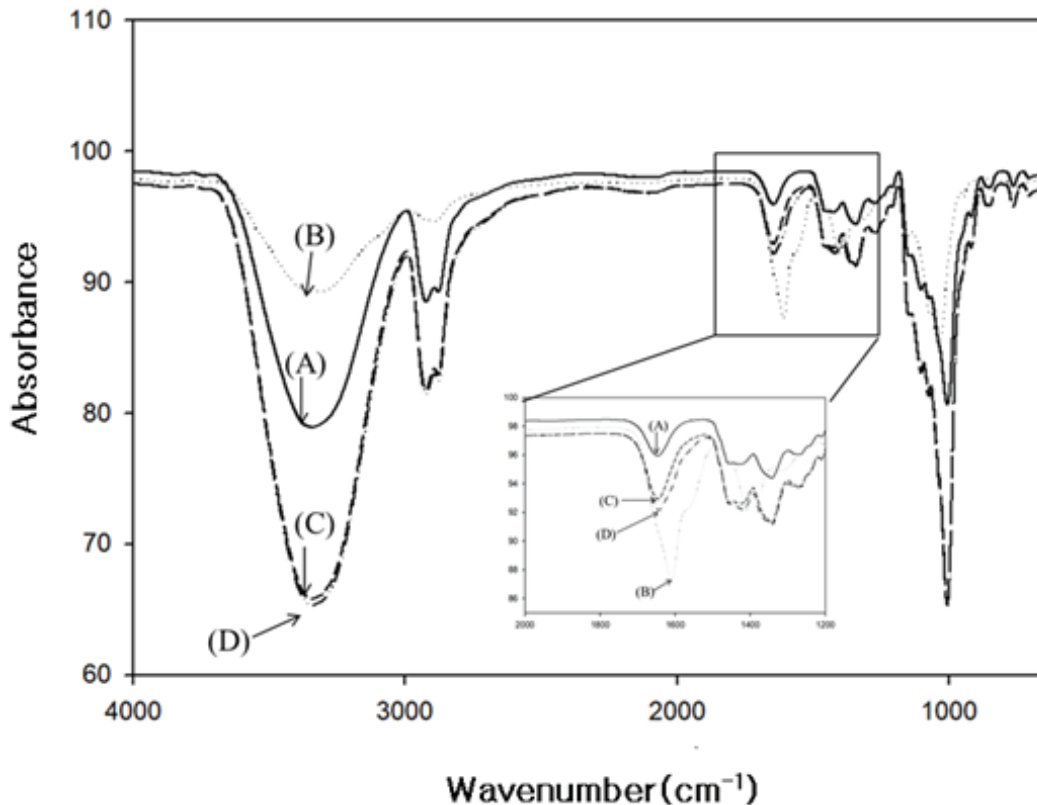
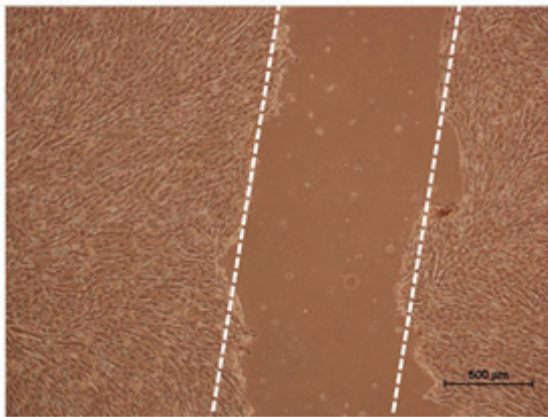
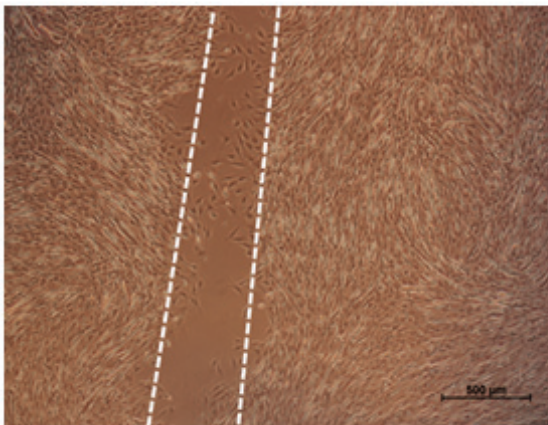


Figure 7. Relative viability of L929 cells treated with the extracts of HA-Dex hybrid patches (N = 3, mean  $\pm$  SD).

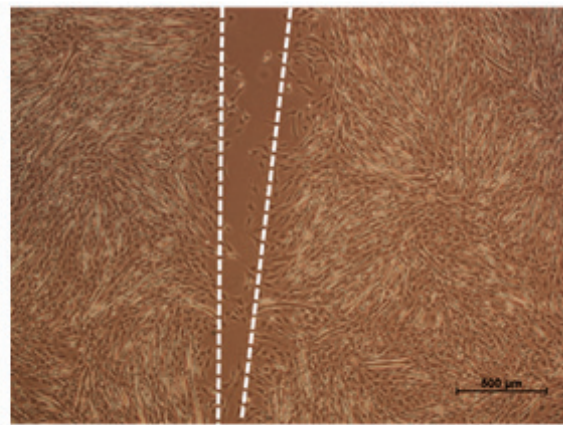




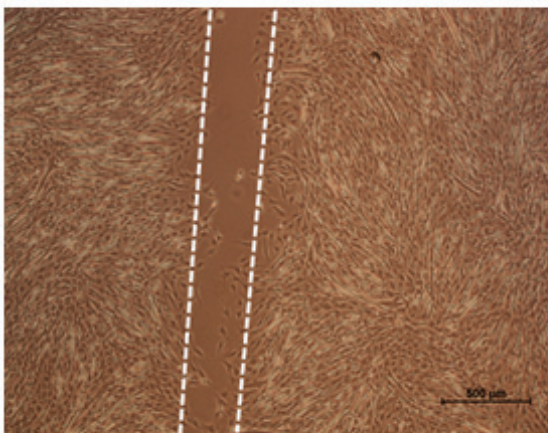
Only cells



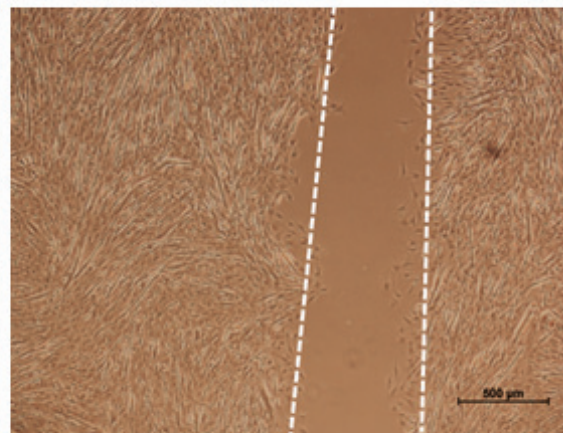
A



B



C



D

**Figure 8.** Scratch wound closure model using HaCaT cell migration.

용함으로써 세포의 증식, 이동 및 분화에 조절되는 인자를 여러 세포내 신호 전달 시킴으로써 대사활동이 활발히 증가 되어 이런 현상이 나타남을 시사한다[12].

#### 4. 결 론

본 연구에서는 아토피 치유 가능성 소재를 개발하기 위해 Dex에 가교제인 BDDE를 사용하여 HA 농도 조건 변화에 따른 하이드로겔 형태의 패치를 제조하여 아토피 치유능을 평가하였다. HA 함유가 증가할수록 표면의 일그러짐과 불안정한 패치의 형상이 관찰됨을 FE-SEM을 통해 관찰되었고, 일정 농도 수준의 HA가 함유 될수록 패치 소재의 안정성을 확인 할 수 있었다. 또한 아토피 치유에서 가장 중요한 요소로 수분 흡수력 및 팽윤성 거동기기에 제조된 패치의 팽윤성을 확인 한 결과 다량의 수분을 흡수하고 증가된 팽윤성을 확인하였다. 이는 아토피 환자에서 수분 부족으로 인한 가려움증을 해결할 수 있는 소재의 안정성을 간접적으로 증명한 결과이다. 아토피의 치유능을 세포 수준(label)을 통해 확인하였고 섬유아세포의 세포 생존율과 각질세포의 활발한 이동을 통해 소재의 생체적합성을 확인하였다. 그 결과 HA 함유가 높을수록 세포 이동이 활발하였지만 적정농도일 때 가장 안정적이며 특히, HA : Dex = 1 : 9 조건에서 가장 효과적인 생체 적합성을 나타냄을 확인 하였다. 이는 아토피 환경에서 각질세포와 섬유아세포의 활성화를 통해 피부 재생을 촉진함으로써 아토피 치유를 증가시킬 수 있음을 보여주는 결과이다. 결론적으로 개발된 하이드로겔 패치는 물리·화학적 분석을 통해 기계적 물성이 뛰어나고, 세포 실험을 통해 생체 적합성 및 세포 유효성을 확인하였으며, 새로운 기능성을 갖춘 아토피 패치 소재로서의 개발 가능성과 다양한 피부 재생 분야에 응용될 수 있을 것으로 사료된다.

#### Acknowledgement

본 연구는 중소벤처기업부와 한국산업기술진흥원이 지원하는 지역특화산업 육성사업(R&D, P0013693)으로 수행된 연구결과입니다.

#### Reference

1. A. P. Grammatikos, The genetic and environmental basis of atopic diseases, *Ann Med.*, **40**(7), 482 (2008).
2. S. Weidinger and N. Novak, Atopic dermatitis, *Lancet*, **387**(10023), 1109 (2016).
3. Y. M. Park, Advances in the pathophysiology of atopic dermatitis, *Allergy Asthma & Respir Dis.*, **16**(3), 189 (2006).
4. Ye. S, Mo. X, Liu. J, Yan. F, and Chen. D, Factors influencing atopic dermatitis incidence in offspring, *Iran J Allergy Asthma Immunol.*, **18**(4), 347 (2019).
5. R. J. Milieu. Tonicic, I. Jakasa, S.L. Hadzavdic, S. M. Goorden, K.J.G. Vlugt, F.S. Stet, A. Balic, M. Petkovic, B. Pavicic, K. Zuzul, B. Marinovic, and S. Kezic, Altered levels of sphingosine, sphinganine and their ceramides in atopic dermatitis are related to skin barrier function, disease severity and local cytokine, *Int J Mol Sci.*, **21**(6), 1958 (2020).
6. J. F. Scott, R. R. Z. Conic, I. Kim, D. Y. Rowland, and S. T. Nedorost, Atopy and sensitization to allergens known to cause systemic contact dermatitis, *Dermatitis*, **30**(1), 62 (2019).
7. J. Chen, S. Jo, and K. Park, Polysaccharide hydrogels for protein drug delivery, *Carbohydrate Polymers*, **28**(1), 69 (1995).
8. G. Sun, X. Zhang, Y. I. Shen, R. Sebastian, L. E. Dickinson, K. Fox-Talbot, M. Reinblatt, C. Steenbergen, J. W. Harmon, and S. Gerecht, Dextran hydrogel scaffolds enhance angiogenic responses and promote complete skin regeneration during burn wound healing, *Proc Natl Acad Sci U S A.*, **108**(52), 20976 (2011).
9. G. D. Prestwich, D. M. Marecak, J. F. Marecek, K. P. Vercruyse, and M. R. Ziebell, Controlled chemical modification of hyaluronic acid: Synthesis, applications, and biodegradation of hydrazide derivatives, *Journal of Controlled Release*, **53**(1-3), 93 (1998).
10. F. Gao, Y. Liu, Y. He, C. Yang, Y. Wang, X. Shi, and G. Wei, Hyaluronan oligosaccharide promote excisional wound healing through enhanced angiogenesis, *Matrix Biology*, **29**(2), 107 (2010).

11. K. S. Kim, Y. J. Lee, W. S. Lyoo, and S. K. Noh, Preparation of high molecular weight atactic poly(vinyl alcohol) hydrogel by electron beam irradiation technique, *Polymer Korea*, **32**(6), 587 (2008).
12. M. Slevin, J. Krupinski, and J. Gaffney, S. Matou, D. West, H. Delisser, R. C. Savani, and S. Kumar, Hyaluronan-mediated angiogenesis in vascular disease: Uncovering RHAMM and CD44 receptor signaling pathways, *Matrix Biology*, **26**(1), 58 (2007).