Polymer(Korea) Vol. 25, No. 6, pp 893~901 (2001)

조직공학적 신경재생을 위한 NGF를 함유한 PLA 담체의 제조 및 방출

전은경·황혜진*·강길선*,**·이일우***·이종문**·이해방†
한국화학연구원 생체의료고 분자팀, *전북대학교 유기신물질공학과, **전북대학교 고분자공학과, ***가톨릭의대 신경외과
(2001년 8월 20일 접수)

Preparation and Release Profile of NGF-loaded Polylactide Scaffolds for Tissue Engineered Nerve Regeneration

Eun Kyung Jeon, Hae Jin Whang*, Gilson Khang*,, Ilwoo Lee***, John M. Rhee**, and Hai Bang Lee†**

Biomaterials Laboratory, Korea Research Institute of Chemical Technology,
P. O. Box 107, Yusung, Taejon 305-343, Korea
** Department of New Organic Materials, Chonbuk National University,*
664-14, Dukjin Dong 1Ga, Dukjin Ku, Chonju 561-756, Korea
*** Department of Polymer Science and Technology, Chonbuk National University,*
664-14, Dukjin Dong 1Ga, Dukjin Ku, Chonju 561-756, Korea
**** Department of Neurosurgery, College of Medicine,*
The Catholic University of Korea, Taeheung 2-dong, Taejon 301-723, Korea
† e-mail: hblee@pado.krict.re.kr
(Received August 20, 2001)

요 약 : 조직공학적 신경재생 및 파킨슨씨병 등의 신경퇴행성 질환에서의 치료에 이용 목적으로 신경성장인자(nerve growth factor, NGF)를 생분해성 고분자 담체에 NGF를 서방화시키고자 PLA 담체에 함유시켜 유화동결건조법으로 제조하였다. 제조된 NGF의 방출량은 생체외 pH 7.4, 37 ℃의 PBS 조건하에서 4주 동안 방출실험 하였으며, 함유된 NGF의 활성을 확인하기 위하여 PC-12 세포에 직접 배양하여 확인하였다. 제조되어진 PLA 담체는 열린 셀 구조를 가졌으며, 초기 NGF의 함량이 많을수록 방출량도 증가를 보였으며, 제조과정에서의 NGF의 활성을 확인하기 위하여 PC-12 세포를 배양한 결과 신경돌기가 성장하였다. 본 연구는 생분해성 고분자 특성인 확산과 분해에 의해서 생물학적 활성물질인 NGF의 방출을 조절할 수 있으며, 조직공학적으로 서방화되어 3차원적인 신경재생을 가능케 할 것으로 기대된다.

ABSTRACT : We developed the nerve growth factor (NGF) loaded poly(L-lactide) (PLA) scaffolds by means of emulsion freeze drying method to the possibility for the application of the nerve regeneration of spinal cord disease and the degeneration in Alzheimer's disease. The release amount of NGF from NGF loaded PLA scaffold were analyzed over a 4 week period *in vitro* at phosphate buffered saline (PBS), pH 7.4, at 37 ℃. It can be observed the open cell pore structure of porous scaffolds and can be easily controlled the pore structure by the controlling of formulation factors resulting in the controlling of the release rate and the release period. The stability of NGF during the preparation of PLA scaffold was evaluated by comparing the released amounts of total NGF, assayed NGF enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Released NGF has been found to enhance the neurite sprouting and outgrowth from pheochromocytoma (PC-12) cells. These results suggest that the released NGF from NGF loaded PLA scaffold such as conduit type can be very useful for the nerve regeneration in the neural tissue engineering area.

Keywords : *tissue engineering, growth factor delivery, NGF, scaffold, nerve regeneration.*

서 론

성장인자는 세포의 생물학적 활성에 영향을 주는 특정한 구조를 가지는 수용성 분자인 폴리펩타이드의 한 종류이며 세포분열을 촉진시켜 세포수를 증가시킬 뿐 아니라, 형태를 변화시켜 비대화되기도 하며, 분화를 유도하는 등 다양한 작용을 한다. 또한 이식된 세포의 분화 및 배양을 촉진시켜 세포의 생물학적 기능을 유지하는데 중요한 역할을 하는 것으로도 알려져 있다.[1,2] 성장인자를 생성하는 세포의 종류에 따라서 다른 기능을 가지는 것 중, 신경재생을 촉진하는 새로운 신경영양인자가 발견되어 신경세포 손실에 의한 기억 및 학습 부족으로 인한 치매적인 현상을 보이는 알쯔하이머병과 뇌의 신경 전달물질 중 하나인 도파민의 부족으로 우리 몸의 운동기능 장애가 있는 파킨슨씨병 등의 신경퇴행성 질환에서의 치료에 이용되는 신경성장인자(nerve growth factor, NGF)에 대한 연구가 1995년 후반부터 진행이 되어 왔다.[3,4]

최근, 조직공학은 생명과학과 공학의 원리를 이용하여 손실된 기관의 기능을 복원 혹은 보존을 목적으로 생물학적 대체물의 재생에 작용되는 학문간 상호 협조를 필요로 하는 분야로 세포와 담체, 그리고 성장인자인 3가지 요소로 구성되어진다.[5-27] 조직의 재생에 있어서 높은 활성을 가졌다면 세포의 지지체인 생분해성 고분자 담체만으로도 새로운 조직이 형성될 것이지만 조직의 재생 가능한 활성이 매우 낮기 때문에 새로운 조직 재생에 있어서 성장인자는 필요하다.[27-30] 그러나, 성장인자는 생물학적 반감기가 짧고, 재생 부위에 성장인자 용액을 직접 주입하는 것은 그 재생위치로부터 하루만에 빠르게 분산되어 나오기 때문에 효과가 없다고 보고되고 있다.[1,2] 이러한 이유로 인하여 성장인자의 생물학적 효능을 효율적으로 발휘하도록 생분해성 고분자 전달체에 함유시켜 장시간 동안 활성을 가지고 그 결함 위치에서 성장인자가 서방화 되는 조직공학에 약물전달시스템을 접목시키는 노력이 진행되고 있다.[9,10,20-23,29-40]

NGF를 서방성 고분자 전달체를 이용하여 장기간 성장인자를 방출함으로써 퇴행성 질환을 방지하거나 신경계의 재생을 촉진할 목적인 단백질 방출 기술의 가장 큰 문제 중 하나는 고분자에 단백질을 함유시키는 제조방법 중에 단백질의 비활성화 (deactivation)와 변성 (denaturation)의 결과로 방출된 단백질의 생물학적 활성을 잃는다는 것이다. 즉, 안정한 조건하에서 고분자 전달체로부터 방출되는 단백질의 변성을 최소화하기 위한 새로운 제조 방법을 개발하는 것이 중요하다.

따라서 본 연구에서는 조직공학적 신경재생의 목적으로 생분해성 고분자의 특성을 이용한 담체에 NGF를 서방화시키고자 시도하였고 또한, 성장인자를 효과적으로 생물학적 효능을 발휘하도록 하기 위해서 성장인자의 단백질 가수분해를 억제시키고 생체 내에서의 활성을 유지시키기 위하여 생분해성 고분자 전달체와 성장인자가 결합한 약물 전달 시스템 기술을 적용하여 고분자 전달체에 따른 성장인자의 방출속도를 조절하고자 하였다. NGF를 함유한 폴리락타이드 (PLA) 담체는 유화동결건조방법으로 제조하였으며, 전자현미경(SEM, scanning electron microscope)과, 다공도계 등으로 특성결정한 후, NGF의 방출거동은 효소결합면역흡착검사 (ELISA, enzyme-linked immunosorbent assay)로 특성결정 하였다. 방출된 NGF 활성도는 크롬친화성세포종 (PC-12, pheochromocytoma) 세포로 배양하여 신경돌기의 생성유무로 확인하였다.

실 험

시료 및 시약. 생분해성 고분자 PLA는 분자량 110000 g/mole의 것으로 Boehringer-Ingelheim (RESOMER R203, Germany)에서 구입한 것이며, 메틸렌클로라이드 (MC, methylene chloride, Tedia Co. Inc., USA)는 1급 시약을 정제하지 않고 그대로 사용하였다. 신경성장인자는 Sigma의 NGF-7S이며, 이 신경성장인자의 방출을 확인하기 위하여 ELISA kit [Anti-β (2.5S 7S) Nerve Growth Factor, mouse와 Anti-β (2.5S, 7S) growth factor-β-gal, mouse]를 Boehringer-Mannheim (Germany)에서 구입하여 사용하였다. 세포의 배양액 Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM)과 소혈청 (calf serum, CS), phosphate buffered saline (PBS), 세포 수확제인 trypsin-EDTA는 GIBCO BRL®(USA)와 세포가교제인 그루타르알데하이드는 Sigma Chemical Co. (USA)의 제품을 사용하였다.

NGF를 함유한 다공성 PLA 담체 제조. 유화동결건조

방법에 의한 NGF를 함유한 다공성 PLA 담체의 제조 모식도를 Figure 1에 나타내었으며, 테프론과 스테인레스 강으로 2 cm×4 cm 크기의 직사각형 형태의 몰드 (Figure 2)를 이용하여 제조하였다. PLA를 MC에 용해시켜 10%의 PLA 용액을 만든 후, NGF의 양을 PLA 0.48 g에 각각 100 ng 및 500 ng으로 하여 그 10% PLA 용액과 체적비율 6:4로 혼합하였다. 상분리된 용액을 5 W 출력의 초음파 혼합기를 사용하여 30초 동안 강제 유화시킨 후, 유화액을 −198 ℃의 액체질소에 미리 냉각시킨 테플론 몰드에 부어 충분히 급냉시켜 30 mTorr, −55 ℃ 조건에서 24시간 동안 동결건조 하였다. 잔류용매인 MC를 제거하기 위하여 최소 1주일 동안 25 ℃ 진공오븐에서 건조시킨 후, 진공 상태에서 보관하여 실험에 사용하였다.[12,13,17]

SEM에 의한 다공도 분석. 유화동결건조법으로 제조되어진 NGF를 함유한 다공성 PLA 담체의 다공의 크기 및 형태를 SEM (S−2250N, Hitachi, Japan)으로 관찰하였다. 측정부위를 5×5×1 mm (두께)의 크기로 절단한 후, 샘플폴더에 고정시키고 플라즈마 스퍼터 (Emscope, Model SC 500K, UK)를 이용하여 200 Å 두께의 금 코팅하여 촬영한 사진으로 다공의 크기 및 형태를 확인하였다.

수은다공도계 분석. NGF를 함유한 PLA 담체의 기공크기 분포, 비기공표면적, 평균기공직경 및 다공도를 측정하기 위하여 수은다공도계 (Micromeritics Co., Model AutoPore II 9220, USA)를 이용하였으며 이는 NGF가 PLA 담체의 다공도에 미치는 영향과 제조되어진 담체의 다공도를 확인하였다.[12,13,17]

NGF를 함유한 담체의 방출 실험. NGF를 함유한 PLA 담체를 PBS 용액에 37 ℃ 조건하에서 4주 동안 방출실험을 하였다. NGF가 방출된 PBS 용액을 4주 동안 샘플링하였고, 채취한 양만큼 새로운 PBS 용액으로 채워 넣었다. 샘플링한 용액은 분석시까지 4 ℃에서 보관하였으며, 방출량은 ELISA로 측정하여 방출경향을 분석하였다.[33,34,36]

ELISA는 면역반응체에 항원과 항체가 있으며 또한 면역흡착제의 고상의 항원과 항체가 있어 효소의 면역검사를 하는 것으로 마이크로 플레이트에서 발색반응을 시켜 가시광선 또는 자외선 등의 특정파장을 조사하여 물질의 흡광도를 측정함으로써 정량 및 정성 분석하는 장치이다. 효소결합 면역흡착 검사법에서의 샌

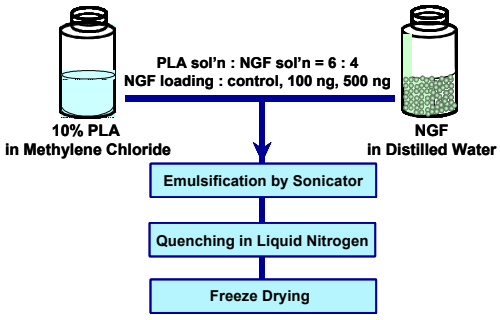


Figure 1. Schematic diagram illustrating of the fabrication process of NGF-loaded PLA scaffolds by emulsion freeze dryng methd.

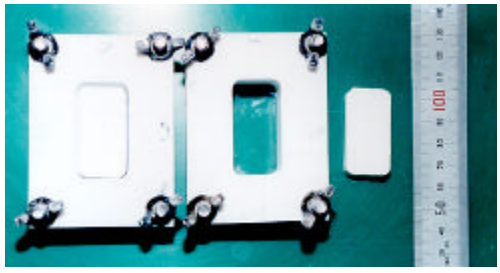


Figure 2. Teflon mold used in this study and fabricated NGF-loaded PLA scaffold.

드위치 효소 면역정량법은 항원 NGF와 항체 NGF의 수용성 수용체가 마이크로플레이트에 미리 코팅되어 있어 결합하게 되므로, 표준농도물질과 시료를 그 플레이트에 넣었을 때, NGF가 존재하면 고정화된 수용체에 의해서 결합하게 된다. 그후, 결합되지 않은 기질은 세척하여 제거하고 NGF에 특정적으로 결합하는 NGF의 폴리크로날 항체를 첨가하여 인큐베이션 함으로써 면역반응을 촉진시킨다. 면역반응에 의해서 생성된 복합체에 결합되지 않은 항체 효소 시약 (antibody-enzyme reagent)을 제거하면 NGF의 결합 양에 비례하여 발색반응하여 이의 색상의 강도를 마이크로플레이트 판독기 (Thermolex, Molecular Device Co., USA)로써 NGF의 양을 측정하였다.

담체에서의 NGF의 활성확인 실험. 본 실험에서는 NGF를 함유하지 않은 대조군과 100 ng NGF 및 500 ng NGF를 함유한 PLA 담체를 PC-12 (Korea Cell

Line Bank, Korea) 세포의 배양액인 DMEM의 15% 농도의 소혈청으로 37 ℃, 5% CO_2의 인큐베이터에서 1일과 4일 동안 방출한 배양액을 채취하였다. NGF를 함유한 담체에서 방출된 배양액의 오염을 방지하고자 0.22 μm 막으로 필터하여 냉장보관 하였다. 한편, 15%의 CS가 함유된 DMEM으로 통상의 방법으로 배양한 PC-12 세포를 세포 수확제인 trypsin-EDTA로 모은 후, 8×10^4 cells/mL 밀도로 12 well-플레이트에 파종하여 3일 동안 배양하였다. 이에 NGF가 방출된 시료를 첨가하여 PC-12세포의 신경돌기세포의 성장을 관찰한 후 2.5% 그루타르알데하이드로 고정시켰다. 이렇게 고정된 세포를 50%에서 100% 농도의 에탄올로 수분을 제거한 후, SEM을 이용하여 신경돌기의 성장을 촬영하였다.

결과 및 고찰

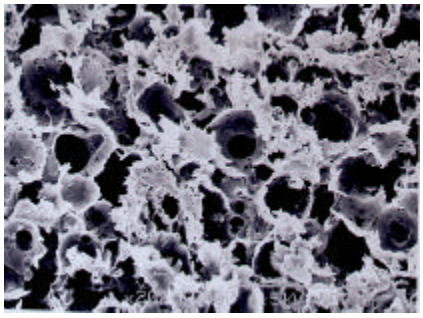
NGF를 함유한 PLA 담체의 다공 형태. NGF가 서방화된 다공성 PLA 지지체를 조직공학적 신경재생에 응용하기 위하여 유화동결 건조방법에 의하여 제조하였다. 다른 여러 방법, 예를 들어서, 염침출법 및 가열 압축법 등에 비하여 본 방법의 장점은 물에 용해시키는 후처리나 열을 가하는 과정 없이 바로 동결건조 시키므로 수용성 약물, 단백질 및 펩타이드성 생리활성물질, 항생제 등을 비교적 원래 상태와 약물의 약효를 지닐 수 있다는 장점을 가지고 있다.[12-14,17,20]

조직공학에 응용하기 위한 가장 중요한 물성 중의 하나인 다공성을 PLA 용액과 NGF 용액을 혼합하여 제조되는 유화액의 조성변화에 의해서 조절될 수 있다. 즉, PLA 용액의 농도, PLA 용액과 NGF 용액의 혼합비가 다공도, 평균기공크기, 표면체적비 및 다공형태에 대하여 영향을 미친다. 본 연구에서는 PLA의 용액농도가 10%, 그리고 PLA 용액과 NGF를 함유한 물의 비가 6:4로 일정하게 고정하여 제조하였다. 이 이유는 전보에서도 밝혔듯이 PLA의 농도가 너무 낮거나, 물의 양이 많으면 가루 형태가 생성되고 반대로 PLA의 농도가 너무 진하거나, 물의 양이 적으면 다공구조가 열린 셀이 아닌 닫힌 셀형태의 것이 얻어져 본 연구의 목적에 부합하지 않기 때문이었다.[17,20]

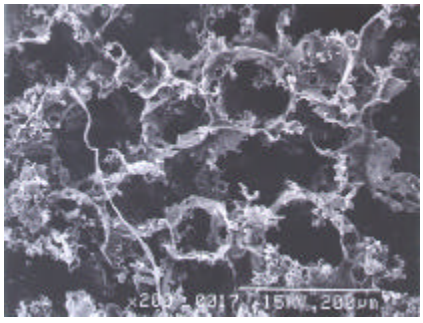
Figure 2에는 NGF를 함유한 PLA 담체의 형태를 나타내었다. 완전히 냉동건조된 후에 PLA 담체는 외형적 형태는 수축 없이 몰드 크기와 같은 직사각형 형태로 얻어졌으며, 부풀림, 불규칙한 크기의 기공 및 여타 결함이 없는 것으로 관찰되었다. 또한 샘플링을 위한 과정에서도 형태의 뒤틀림 없이 직사각형 형태를 유지하는 물성을 가지고 있었다. Figure 3은 PLA 담체의 다공 형태를 SEM 사진으로 확인한 그림이며 기공과 기공사이의 연결이 양호하고 대부분 열린 셀구조를 가지고 있으며 크게는 180 μm의 크기에서 대부분이 20 μm 사이로서 영양분이 원활히 제공되어져 신경세포의 증식과 성장을 할 수 있는 공간을 지지해주며, 절단된 신경의 재생 이용시 신경과 신경 사이를 연결하는 유도관으로 사용되었을 때, 주변의 신경세포 및 혈관세포들의 부착, 이동 및 성장하기에 좋은 다공 형태를 가진 것으로 판단된다.

NGF를 함유한 PLA 담체의 다공도. Figure 4에는 수은다공도계를 측정한 결과를 나타내었다. NGF가 첨가되지 않는 시료와 100 ng 및 500 ng이 첨가된 시료의 평균기공크기와 평균기공분포는 각각 87 및 91%, 20 μm 내외로 ng단위의 NGF의 농도가 평균기공크기와 평균기공분포에 영향을 미치지 않는 것으로 나타내었다. 그러나 Whang 등에 의하여 시도된 소혈청 알부민이 함유된 PLA 담체의 경우에는 이들 단백질의 양이 mg단위로 농도가 증가하면 유화 안정성에 영향을 미쳐서 함량이 높을수록 기공의 크기가 감소한다고 보고하고 있다.[41,42] 기공크기를 조절하는 변수로는 PLA 용액과 물 사이, 물과 NGF 등의 첨가제 사이에 혼합되었을 때, 유화된 용액의 안정성에도 큰 영향을 받는다. 이러한 유화상태는 열역학적으로 불안정한 상태이므로 항상 침전과 응집현상이 일어날 수 있다. 유화상태의 안정성을 지배하는 물리적 인자로는 계면자유에너지,[43] 상대점도 변화량,[44] 중력,[45] 분산입자의 확산계수, 침전을 방해하는 자유에너지 장벽 및 입자간의 정전기 반발력 등이[46] 생각될 수 있다.

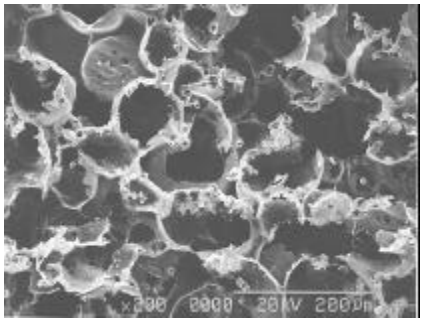
NGF를 함유한 PLA 담체에서의 방출 거동. ELISA를 이용하여 PLA 담체에 함유시켜 방출되는 양을 측정하여 방출경향을 확인하였다. 이들 측정원리로는 항원으로써의 NGF에 두 개의 anti-β NGF와 anti-β NGF-β-gal인 항체를 사용하여 *in vitro*에서의 NGF의 방출량을 광학적으로 측정하는 면역학적 분석 방법이다. 이 방법은 샌드위치 효소 면역정량법 분석원리로, 첫 번째 단계는 미량의 적정농도의 96-well 플레이트 벽에 흡



(a)



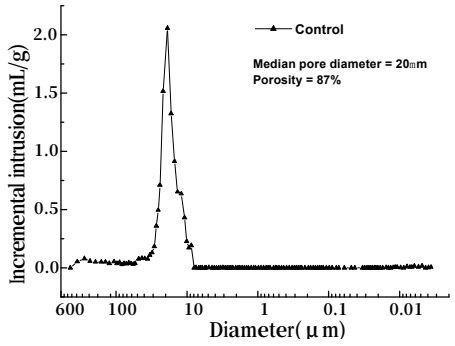
(b)



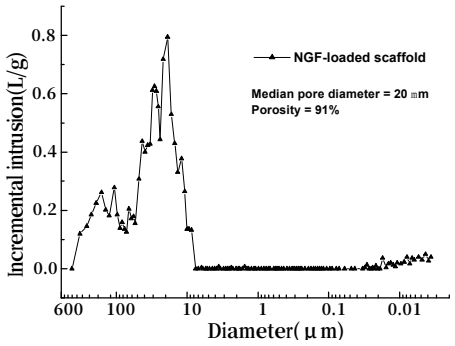
(c)

Figure 3. SEM microphotographs of NGF-loaded PLA scaffolds. (a) control, (b) NGF-100 ng, and (c) NGF-500 ng.

착되어 anti-NGF 항체를 코팅시켜 흡착되어 고정된 항체에 샘플의 NGF를 결합시킨다. Anti-NGF-β-galactosidase가 항체와 결합된 NGF와 면역반응에 의해서 이중으로 결합된 NGF 복합체는 chloro-phenol-red-β-D-galactoside (CPRG)의 기질 반응에 의해서 발현되어 특정파장 450 nm에서 광학적으로 측정하여 NGF의 방출량을 결정하였다.[33,34,36]



(a)



(b)

Figure 4. Pore size distributions of (a) control and (b) NGF-loaded PLA scaffold.

Figure 5 및 6의 NGF의 방출거동 그래프에서 나타난 바와 같이 시간이 지남에 따라 NGF가 방출됨을 확인 할 수 있었으며, NGF가 500 ng 함유된 담체 내에서 방출된 NGF의 양은 100 ng이 함유된 담체의 양보다 2-3배 정도가 더 방출됨을 확인할 수 있었다. Figure 5 및 6에서 나타낸 것과 같이 방출률을 보면 500 ng을 함유한 담체는 함유량에 비해 방출률이 적은 것으로 나타났는데 이는 초기 함유량이 방출량에 영향을 미치는 것이 아니라 방출속도는 일정하여 일정한 NGF양을 방출한다는 것을 확인할 수 있었다. Figure 6에는 NGF의 방출률 (ng/day)을 나타내었는데 NGF의 초기 방출속도는 시간이 지남에 따라서 감소하는 경향을 보이며 21일부터는 함유량이 다른 100과 500 ng의 담체에서 방출속도가 일정하게 유지되었

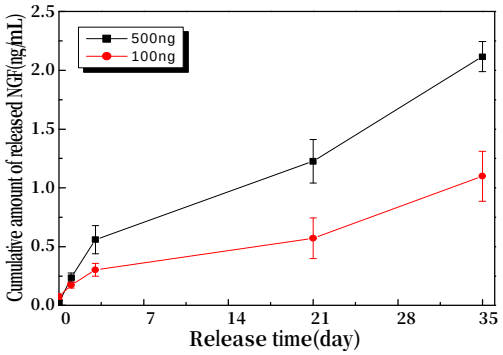


Figure 5. Cumulative amount of NGF released from PLA scaffolds of different initial loading.

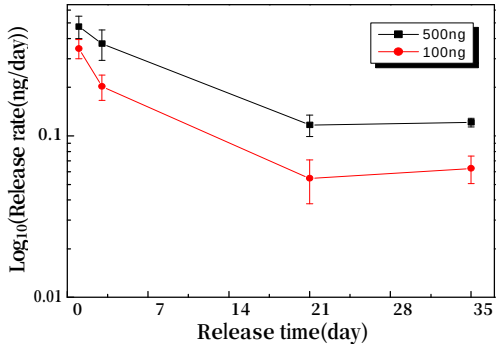


Figure 6. Logarithmic release rate of NGF released from PLA scaffolds of different initial loading.

다. 이들의 NGF의 방출기구는 분자량이 110000 g/mole인 PLA가 4주 이내에는 분해가 일어나기가 비교적 단시간이기 때문에 PLA의 분해에 의한 것보다는 물의 PLA 매트릭스 내 침투에 의한 NGF의 확산이 우선적임으로 해석되었다.[45,46]

방출된 NGF의 활성. Figure 6에서 500 ng NGF를 함유시킨 PLA 담체에서 방출된 NGF량을 나타내었다. 이 방출된 NGF의 활성을 확인하고자 배양액 DMEM과 15% CS으로 PC-12 세포를 3일 동안 배양하여 SEM으로 확인한 결과 Figure 7에서 볼 수 있듯이 신경돌기가 성장됨을 확인하였다.

Figure 7은 NGF 100 ng, 500 ng를 함유한 PLA 담체를 1일과 4일 동안 방출시킨 배양액으로 같은 배양기간인 3일 동안 배양하여 SEM으로 신경돌기의 성장을 확인한 사진이다. 1일 동안 방출된 배양액으로 배양한 PC-12 세포(a)는 4일 동안 방출한 (B)와 비교하였을 때 세포 수의 증식이 증가하였으며, 생존력 또한 증대됨을 확인할 수 있었다. 또한 NGF의 함유량에 따라서 함유량이 많을수록, NGF의 방출 기간이 길수록 NGF의 양이 많아짐에 따라 세포에서 뻗어 나온 신경돌기 수의 증가와 함께 신경돌기 길이 또한 증가함을 관찰하였으며, 방출시간이 긴 (b)에서는 신경돌기로 성장한 세포 수도 비례적으로 증가함을 보인다. 그러므로 PLA 담체에 함유시킨 NGF는 제조과정 및 방출실험 과정에서 비교적 변성되지 않고 활성을 가지고 있는 것을 확인하였다. 이로써, 유화동결건조 방법으로 제조된 PLA 담체로 NGF를 함유시켜 신경재생에 이용 가능한 것으로 사료된다.

결 론

유화동결건조법으로 제조된 PLA 담체는 90% 이상의 높은 다공성의 열린 셀 구조를 가지며 일정한 기공크기로 NGF를 함유시켰다. NGF의 함량별 방출거동을 ELISA로 확인한 결과 방출량도 증가됨을 보였으며, PC-12 세포는 NGF의 유전자 및 환경적인 작용에 의해 신경세포의 육체적, 생화학적 및 생리적 성질을 발휘하는 신경세포적인 표현형을 발휘하여 분화하는 것으로도 알려져 NGF의 영향에 대해서 많은 연구가 있었다.[47,48] PC-12 세포의 형태는 NGF의 유무에 따라 PC-12세포에서 신경돌기 덤불들이 성장함을 위상현미경으로 확인하여 NGF의 활성을 증명하였다. 또한 생물학적 정량 실험에 의해서 PC-12 세포는 NGF의 0.1 ng/mL 농도 이하에서도 민감하게 반응하여 신경돌기를 성장시키는 것을 확인하였다.[49-51] 방출된 NGF의 활성을 확인하기 위하여 PC-12 세포에 직접 배양한 결과, 신경돌기가 성장됨을 확인함으로써 NGF의 활성을 증명할 수 있었으나 좀 더 정확한 연구가 필요한 것으로 사료된다.

생분해성 고분자를 이용하여 신경계 질환의 치료 목적으로 하는 약물 전달 시스템은 중요하다. 알쯔하이머병과 파킨슨씨병과 같은 많은 질병의 치료를 위하여 이미 동물실험으로 많은 결과들이 나왔다. 본 연구에서 제조한 NGF를 함유한 생분해성 고분자 전달체를 직접 수술에 이식함으로써 성장인자는 지속적으로 서방화되면서 세포의 생존률을 높일 뿐만 아니

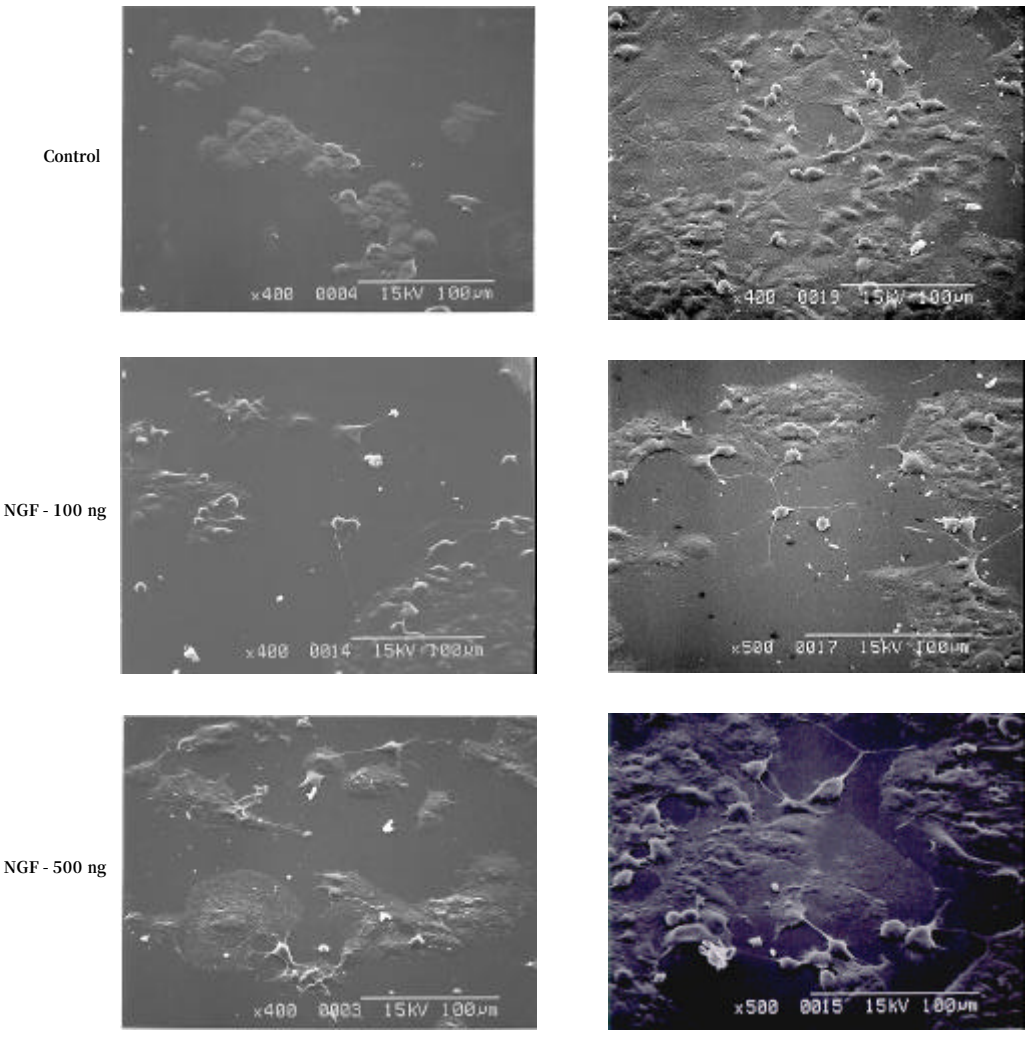


Figure 7. Effect of the release medium after incubation of NGF-loaded PLA scaffolds on PC-12 cell cultures. (a) released medium for 1 day and (b) released medium for 4 days.

라 조직에 적합한 신호를 전달하여 조직의 재생을 촉진시키므로 실제 임상실험에 이용 가치가 있다. 머지않아 성장인자를 생분해성 고분자 전달체로부터 서방화하는 기술로 정교한 조직의 재생을 가능케 할 것이며, 생분해성 고분자 전달체의 종류, 분자량, 분해 메카니즘 등 여러 요인에 의해서 서방화 속도를 조절할 수 있을 것으로 사료된다.

NGF를 포함한 신경영양 및 성장인자는 말초신경 및 중추신경계의 발생 및 유지·재생하기 위해서 꼭 필요하며, 생물학적 활성물질인 NGF를 함유한 고분자 담체는 조직공학적으로 서방화되어 3차원적인 신경재생을 가능케 할 것으로 기대된다. 현재 본 연구를 바탕으로 장기간 방출실험, 튜브형태의 신경유도관 제조 및 동물실험 중이다.

감사의 글 : 본 연구는 KOSEF 996-0800-002-2

및 산업자원부 지원에 의하여 이루어졌으므로 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

1. M. E. Nimni, *Biomaterials*, 18, 1201 (1997).
2. W. M. Saltzman, *MRS Bulletin*, 21(11), 62 (1996).
3. L. M. Rita, *Microscopy Res. Tech.*, 45, 205 (1999).
4. V. N. Isabel and S. S. Inmaculada, *Microscopy Res. Tech.*, 45, 206 (1999).
5. G. Khang and H. B. Lee, *Chem. World*, 37(3), 46 (1997).
6. G. Khang and H. B. Lee, *J. Biomed. Eng. Res.*, 20(1), 1 (1999).
7. G. Khang, I. Jo, J. H. Lee, I. Lee, and H. B. Lee, *Polymer Sci. Tech.*, 10, 640 (1999).
8. G. Khang and H. B. Lee, *Bioindustry*, 22, 32 (1999).
9. G. Khang, J. H. Lee, and H. B. Lee, *Polymer Sci. Tech.*, 10, 732 (1999).
10. I. Lee, G. Khang, and H. B. Lee, *Polymer Sci. Tech.*, 10, 782 (1999).
11. G. Khang, J. C. Cho, J. W. Lee, J. M. Rhee, and H. B. Lee, *Bio-Med. Mater. Eng.*, 9, 46 (1999).
12. G. Khang, J. H. Jeon, J. C. Cho, and H. B. Lee, *Polymer(Korea)*, 23(3), 471 (1999).
13. G. Khang, J. H. Jeon, J. C. Cho, J. M. Rhee, and H. B. Lee, *Polymer(Korea)*, 23, 861 (1999).
14. G. Khang, S. J. Lee, J. H. Jeon, J. H. Lee, and H. B. Lee, *Polymer(Korea)*, 24(6), 869 (2000).
15. S. J. Lee, G. Khang, J. H. Lee, Y. M. Lee, and H. B. Lee, *Polymer(Korea)*, 24, 877 (2000).
16. G. Khang, J. H. Lee, I. Lee, J. M. Rhee, and H. B. Lee, *Korea Polymer J.*, 8, 276 (2000).
17. M. K. Choi, G. Khang, I. Lee, J. M. Rhee, and H. B. Lee, *Polymer(Korea)*, 3, 318 (2001).
18. G. Khang, M. K. Choi, J. M. Rhee, S. J. Lee, H. B. Lee, Y. Iwasaki, N. Nakabayashi, and K. Ishihara, *Korea Polymer J.*, 9, 107 (2001).
19. G. Khang, I. Lee, and H. B. Lee, *Fiber Tech. Ind.*, 4, 1 (2000).
20. G. Khang and H. B. Lee, "Methods of Tissue Engineering", eds. by A. Atala and R. Lanza, chap. 20, Acadamic Press, NY, 2001.
21. G. Khang and H. B. Lee, "Biomedical Polymers", Korean Chemical Society, Munundang, 2001.
22. G. Khang, J. M. Rhee, J. S. Lee, and H. B. Lee, *Polymer Sci. Tech.*, 12, 4 (2001).
23. G. Khang, I. Lee, J. M. Rhee, and H. B. Lee, *Polymer Sci. Tech.*, 12, 239 (2001).
24. G. Khang, D. S. Moon, H. S. Sung, J. M. Rhee, J. S. Lee, and H. B. Lee, *Biomater. Res.*, 4, 107 (2000).
25. G. Khang and H. B. Lee, *Specialty Chemicals*, 60, 5 (2001).
26. G. Khang and H. B. Lee, *BioZine*, May (2001).
27. J. J. Yoo and I. Lee, "Tissue Engineering: Concepts and Applications", Korea Med. Pub. Co., Seoul, 1998.
28. R. Langer and J. P. Vacanti, *Science*, 260, 920 (1993).
29. Y. Tabata, *PSTT*, 3(3), 80 (2000).
30. S. P. Baldwin and W. M. Saltzman, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 33, 71 (1998).
31. M. F. Haller and W. M. Saltzman, *J. Control. Rel.*, 53, 1 (1998).
32. W. M. Saltzman, M. W. Mak, M. J. Mahoney, E. T. Duenas, and J. L. Cleland, *Pharm. Res.*, 16(2), 232 (1999).
33. M. Matsuzawa, S. Tokumitsu, W. Knoll, and H. Sasabe, *Langmuir*, 14, 5133 (1998).
34. M. F. Haller and W. M. Saltzman, *Pharm. Res.*, 15(3), 377 (1998).
35. X. Cao and M. S. Shoichet, *Biomaterials*, 20, 329 (1999).
36. E. M. Powell, M. R. Sobarzo, and W. M. Saltzman, *Brain Res.*, 515, 309 (1990).
37. J. M. Pean, M. C. Venier - Julienne, F. Boury, P. Menei, B. Denizot, and J. P. Benoit, *J. Control. Rel.*, 56, 175 (1998).
38. R. E. Eliaz and J. Kost, *J. Biomed. Mater. Res.*, 50, 388 (2000).
39. T. W. King and C. W. Patrick Jr., *J. Biomed. Mater. Res.*, 51, 383 (2000).
40. C. W. Patrick, Jr., S. Kukreti, and L. V. Mclntire, *Exp. Neurol.*, 138, 277 (1996).
41. K. Whang, C. K. Thomas, G. Nuber, and K. E. Healy, *Polymer*, 36, 837 (1995).
42. K. Whang, T. K. Goldstick, and K. E. Healy, *Biomaterials*, 21, 2545 (2000).
43. A. W. Adamson, "Physical Chemistry of Sur–

faces", p. 525, John Wiley, New York, 1990.
44. D. H. Everett, "Basic Principles of Colloid Science", p. 115, The Royal Society of Chemistry, London, 1989.
45. L. L. Schramm, *Adv. Chem. Ser.*, 1, 231 (1992).
46. D. H. Everett, "Basic Principles of Colloid Science", p. 130, The Royal Society of Chemistry, London, 1989.
47. G. Khang, J. H. Lee, J. W. Lee, J. C. Cho, and H. B. Lee, *Korea Polymer J.*, 8, 80 (2000).
48. H. S. Choi, G. Khang, H. C. Shin, J. M. Rhee, and H. B. Lee, *J. Control. Rel.*, in press (2001).
49. P. Li, K. Matsunage, K. Yamanoto, R. Yoshikawa, K. Kawashima, and Y. Ohizumi, *Neurosci. Lett.*, 273, 53 (1999).
50. T. Ikeda, S. Kitayama, K. Morita, and T. Dohi, *Molecular Brain Res.*, 86, 90 (2001).
51. L. A. Greene, *Brain Res.*, 133, 350 (1977).`