

SIS로 개질된 PLGA 담체에서의 단백질의 서방화

고연경 · 최명규 · 김순희 · 김근아 · 이해방* · 이종문 · 강길선†

전북대학교 BK-21 고분자 BIN융합연구팀, *한국화학연구원 나노생체재료연구팀
(2007년 10월 16일 접수, 2007년 11월 22일 채택)

Sustained Release of Proteins Using Small Intestinal Submucosa Modified PLGA Scaffold

Youn Kyung Ko, Myung Kyu Choi, Soon Hee Kim,

Geun Ah Kim, Hai Bang Lee*, John M. Rhee, and Gilson Khang†

BK-21 Polymer BIN Fusion Research Team, Chonbuk National University,
664-14, Dukjin Dong 1Ga, Dukjin Ku, Jeonju 561-756, Korea

*Nanobiomaterials Laboratory, Korea Research Institute of Chemical Technology,
P. O. Box 107, Yuseong, Daejeon 305-600, Korea

(Received October 16, 2007; Accepted November 22, 2007)

초록 : 단백질 및 펩타이드의 서방형 약물전달체로서 소장점막하조직(SIS)으로 개질된 PLGA 담체를 제조하고자 하였으며, SIS/PLGA 담체는 용매 캐스팅/염 추출법에 의해 준비된 PLGA 담체에 SIS 용액을 첨가하여 단순 함침방법으로 제조하였다. 본 실험에서 사용된 돼지의 소장 점막층에서 유래된 SIS는 면역거부반응이 적어 생체재료로 널리 사용되고 있다. 제조된 PLGA 및 SIS/PLGA 담체를 SEM을 통한 표면 및 내부 관찰결과 두 담체 모두 열린 다공구조를 이루며, 특히 SIS/PLGA 담체는 PLGA 담체의 다공 내부에 SIS가 침투되어 작은 네트워크를 형성하고 있음을 확인하였다. 또한 단백질의 방출경향을 확인하기 위하여 형광이 결합된 소 혈청 알부민(FITC-BSA)을 PLGA 및 SIS/PLGA 담체에 담지시킨 후, 형광광도계를 통해 이들의 방출거동을 확인하였다. PLGA 담체와 비교할 때 SIS/PLGA 담체에서의 BSA의 방출은 초기방출량이 적고 지속적으로 일정량이 방출되는 거동을 확인할 수 있었으며 함량별 BSA 농도에 따른 SIS/PLGA 담체에서의 방출은 BSA의 양이 증가할수록 빠르고 많은 양이 방출되는 경향성 있는 방출패턴을 보임을 확인하였다. 결론적으로 PLGA 담체에 침투한 SIS 젤이 BSA의 급격한 초기방출을 억제하며, SIS로 개질된 PLGA 담체는 방출조절이 가능한 약물전달체로서 매우 유용할 것으로 사료된다.

Abstract : In this study, we fabricated poly (lactide-co-glycolide) (PLGA) scaffold modified with small intestinal submucosa (SIS) as a drug delivery matrix of bioactive molecules. SIS derived from the submucosa layer of porcine intestine has been widely used as biomaterial because of low immune response. PLGA scaffold was prepared by the method of solvent casting/salt leaching. Novel composite scaffolds of SIS/PLGA were manufactured by simple immersion method of PLGA scaffold in SIS solution under vacuum. SEM observation shows that PLGA and SIS/PLGA scaffolds have interconnective and open pores. Especially, SIS/PLGA scaffold showed that micro-sponge of SIS with interconnected pore structures were formed in the pores of PLGA scaffold. In order to assay release profile of proteins, we manufactured FITC conjugated BSA loaded PLGA and SIS/PLGA scaffold. And the release amount was identified by fluorescence intensity using the fluorescence spectrophotometer. The initial burst of BSA containing SIS/PLGA scaffolds was lower than that of PLGA scaffolds resulting in constant release. And release of BSA in SIS/PLGA scaffold was fast and incremental because of the increased content of BSA. In conclusion, we confirmed that penetrated SIS solution prevented the initial burst of BSA and PLGA modified with SIS scaffold is useful as protein carriers with controlled release pattern.

Keywords : protein release, PLGA, scaffold, small intestinal submucosa, BSA.

서 론

최근 생물학적 시스템 내에서 약물의 효과를 연장하거나 조절이

가능한 약물전달체에 대한 관심이 주목되고 있다.^{1,2} 다양한 기술을 통한 약물의 전달은 사용하는 재료에 의해 많은 영향을 받게 되는데, 특히 생분해성 고분자를 이용한 약물전달체는 약물전달 과정과 전달 후에 단순한 화학반응이나 효소의 작용에 의해 분해되어 이차적 제거 수술 없이 생체내에서 흡수되는 장점을 가지기 때문에 널리 사용되고

†To whom correspondence should be addressed.
E-mail: gskhang@chonbuk.ac.kr

있다.³⁴ 이와 같은 조건을 갖춘 재료로 현재 가장 많이 사용되고 있는 생분해성 고분자는 폴리(α -히드록시산) 계열의 폴리락타이드(PLA), 폴리글리콜라이드(PGA) 및 락타이드 글리콜라이드 공중합체(PLGA)이며, 상기 재료는 분자량과 화학적 구성성분을 조절함으로써 분해기간을 조절할 수 있는 장점을 가지고⁵⁶ 생체적합성 또한 우수하다. 이러한 이유로 본 연구팀에서는 상기의 재료를 기반으로 항암부위의 약물 전달,^{7,8} 서방성의 약물전달⁹ 및 성장인자의 전달체로¹⁰⁻¹² 적용하는 많은 연구를 수행하였다.

생분해성 고분자를 이용한 이식형의 약물전달체는 다양한 제조과정과 첨가되는 물질에 따라 첨가된 약물의 방출패턴을 조절하는 등의 다양한 효과를 제공한다.^{3,13-16} 이전의 연구에서 본 연구팀은 PLGA 및 폴리카프로락톤(PCL)에 소장점막하조직(SIS) 입자를 단순 혼합하여 웨이퍼의 형태로 이식형체제를 제조하고 약물의 방출거동을 확인함으로써 SIS 입자가 미치는 영향에 대해 분석하였으며, SIS의 함량이 많아질수록 수분과 결합이 가능한 채널의 수도 증가하여 담지된 약물의 빠른 방출을 유도한다고 보고한 바 있었다.³ 이상적인 약물의 전달은 초기방출이 크지 않고 정해진 양이 원하는 기간동안 방출량이 서서히 방출되는 것이기 때문에 본 연구에서는 제시된 문제점을 해결하고자 SIS를 입자의 형태 이외에 다른 형태로 PLGA에 포함시켜 첨가된 약물을 서방화하는 연구를 진행하고자 하였다.^{2,17,18} SIS는 돼지의 소장점막층으로부터 유래된 생체재료로서, 면역반응이 적기 때문에 널리 사용되고 있는 재료이다. SIS는 제 I 및 III 형 교원질로 이루어져있으며, 다양한 성장인자를 함유하고 있어 다양한 조직재생에 응용되며 약물전달시스템에서 약물방출 조절인자로서 많은 연구가 보고되었다.^{19,20}

따라서, 본 연구에서는 SIS를 용액으로 제조하고 이를 PLGA 담체에 함침시켜 SIS로 표면개질된 PLGA 담체를 제조하고, 모델 단백질로 형광이 결합된 소 혈청 알부민(BSA)을 담지시켜 SIS로 개질된 담체의 모폴로지 및 약물의 방출패턴을 확인하여 생리활성물질의 전달체로서의 가능성을 확인하고자 하였다.

실 험

시약 및 재료. 본 실험에 사용된 생분해성 고분자는 PLGA(락타이드/글리콜라이드 몰비 75/25, RG 756)는 평균분자량이 90000 g/mole인 것으로 Boehringer Ingelheim Chemical Co.에서 구입하였다. 메틸렌클로라이드(MC, Tedia Co. Inc., USA) 및 모든 유기용매와 화학약품은 HPLC 등급을 사용하였으며, 펩신과 염산 1-에틸-(3,3-디메틸아미노프로필)카보이미드는 Sigma Chemical Co.에서 구입하였다. 다공형성물질로 사용한 염화나트륨(NaCl, Orient Chem. Co., Korea)은 분자체를 사용하여 입자의 크기를 300~425 μm 로 조절하였다. SIS는 Badylack이 수행한 방법으로 분리하였으며^{21,22} 동결분쇄한 후 180 μm 이하의 입자 크기로 획득하였다. 방출을 위한 용출액으로는 인산염완충용액(PBS, pH 7.4, Gibco BRL.)을 사용하였고 모델 약물로서 사용한 형광물질인 형광아이소치오시아네이트(FITC)가 결합된 소 혈청 알부민(FITC-BSA, Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)을 사용하였다.

용매 캐스팅/염 추출법을 이용한 PLGA 담체의 제조. Figure 1에 생분해성 다공성의 PLGA 담체 제조법인 용매 캐스팅/염 추출법을 도

식화하여 나타내었다.²³ 먼저 PLGA를 25 wt%의 농도로 MC에 용해시키고 355~425 μm 의 입자를 가지는 염화나트륨을 PLGA의 10 배가 되는 양을 첨가하였다. 그 후 직경 5 mm, 높이 5 mm인 실리콘 몰드에 혼합액을 채워 넣고 프레스를 이용하여 상온에서 60 kgf/cm²의 압력으로 24시간 동안 가압하였다. 염의 추출은 3차 증류수(Milli-Q, Millipore, France)를 6시간 마다 교체하며 48시간 동안 수행하였고 급속 동결하여 5 mTorr, -80 $^{\circ}\text{C}$ 조건에서 24시간 동안 동결건조하였다. 잔류용매인 MC를 제거하기 위하여 최소 1주일 이상 4 $^{\circ}\text{C}$ 의 감압기에서 보관하였다.

SIS로 개질된 PLGA 담체의 제조. SIS로 개질된 PLGA 담체의 제조방법을 Figure 2에 나타내었는데 이는 이전의 연구와 동일한 방법으로 제조하였으며, 요약하면 다음과 같다.^{17,18} 먼저, 0.1 wt%의 펩신과 3 v/v%의 아세트산을 함유한 용액에 1 wt%의 SIS 분말을 첨가시켜 상온에서 48시간 동안 교반하여 SIS 겔을 제조하였다. 그 후 용매 캐스팅/염 추출법으로 제조된 PLGA 담체를 SIS 겔에 담그고 24시간 동안 진공오븐(VO-10X, JEIO Tech, Korea)에 보관하여 PLGA 담체에 SIS 겔을 침투시킨 후 다시 동결건조하였다. 상기의 방법으로 제조된 SIS-PLGA 지지체는 95% 에탄올에 100

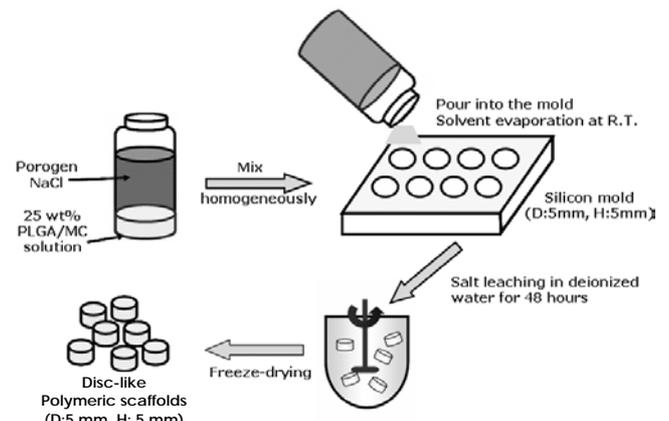


Figure 1. The schematic diagram illustrating the fabrication process of PLGA porous scaffold by means of solvent casting/salt leaching method.

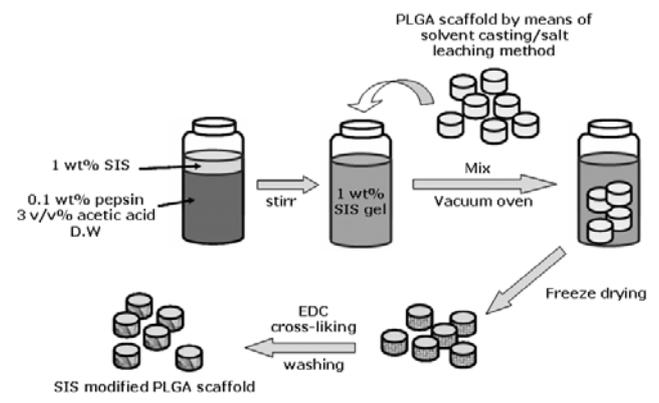


Figure 2. The schematic diagram illustrating the fabrication process of SIS modified PLGA porous scaffold.

mM의 농도로 용해한 EDC 용액을 이용하여 24시간 동안 경화시켰다. 경화 후 증류수에서 1시간 동안 세척하고 세척이 끝난 SIS-PLGA 담체는 다시 동결건조하여 최종적으로 SIS로 개질된 PLGA 담체를 얻었다.

SIS로 개질된 PLGA 담체의 모폴로지 분석. 상기의 방법들을 사용하여 제조한 SIS로 개질된 PLGA 다공성 담체의 내부, 표면 및 바다면의 다공형태를 주사전자현미경(bio-SEM, SN-3000, Hitachi, Japan)으로 관찰하였다. 샘플을 면도칼로 5×5×1 mm의 크기로 절단하여 샘플폴더에 고정시키고, 플라즈마 스퍼터를 이용하여 코팅하여 촬영한 사진으로 다공의 형태와 SIS 용액의 침투 여부를 확인하였다.¹⁸

FITC-BSA를 함유한 담체의 성형 및 특성분석. 상기의 방법들로 제조된 PLGA 및 SIS로 개질된 PLGA 다공성 담체에 단백질 전달체로서의 가능성을 확인하고자 모델약물인 FITC-BSA를 담지시켜 이들의 방출거동을 관찰하였다. PLGA 담체는 200 µg/지지체의 농도로, SIS-PLGA 담체는 각각 20, 200 및 2000 µg/지지체의 농도로 FITC-BSA를 담지시킨 후 진공오븐에서 24시간 동안 보관하여 약물을 함유한 담체를 제조하였으며, 제조된 지지체는 방출시작 전까지 빛을 차단하여 냉장보관하였다.²⁴ 또한 BSA의 첨가에 의한 모폴로지 변화를 상기의 방법으로 SEM을 통해 관찰하였다.

생체의 방출거동. 단백질의 함량별 또는 SIS로의 개질 여부에 따른 방출거동을 확인하기 위하여 제조된 각 지지체로부터 FITC-BSA의 생체의 방출을 실시하였다. 바이알에 5 mL의 PBS를 넣고 농도별 FITC-BSA를 함유한 담체를 넣은 후, 37 °C의 인큐베이터에서 70 rpm의 속도로 교반시켜 주면서 정해진 시간 간격마다 전량의 PBS를 회수하고 동일한 양의 용출액을 보충해 주었다. 약물의 방출량 결정을 위한 분석시료는 분석시까지 빛을 차단하여 4 °C에서 보관하였고, 그 후 형광분광기(F-4500, Hitachi, Tokyo, Japan)를 이용하여 분석하였다. 여기 파장은 490 nm, 방출 파장은 520 nm였으며 이때의 발산강도의 측정을 통하여 정량분석을 실시하였다.^{24,25}

방출 후 담체의 모폴로지 변화 확인. 방출 후의 내부 형태 변화를 SEM을 통해 관찰하였다. 방출 실험 후의 담체는 -20 °C에서 하루 동안 보관하고 5 mTorr, -80 °C에서 동결건조시킨 후, 샘플을 샘플폴더에 고정시켜 플라즈마 스퍼터를 이용하여 백금으로 진공 증착하였다.^{12,24}

결과 및 토론

PLGA 및 SIS-PLGA 담체의 제조 및 특성 분석. 단백질 전달을 위한 PLGA 담체는 용매 캐스팅/염 추출법으로 제조하였으며 완성된 담체의 모습은 Figure 3(a)에 나타내었다. 외형적 형태는 실리콘 몰드의 빈 공간과 똑같은 디스크 형태로 얻어졌으며, 여타의 수축, 부풀림, 불규칙한 크기의 구멍 및 여타 결함이 없는 것으로 관찰되었다.^{23,26} 상기의 방법으로 제조된 PLGA 담체를 SIS 용액에 담그어 SIS로 개질된 PLGA (SIS/PLGA)담체를 제조할 수 있었다. 제조된 SIS/PLGA 담체는 Figure 3(b)에 나타내었다. 이는 결과에서 제시하지 않았으나 SIS 용액을 동결건조하여 제조한 SIS 스폰지와 유사한 표면구조를 가짐을 확인하였으나, PLGA 담체와 외관상의 차

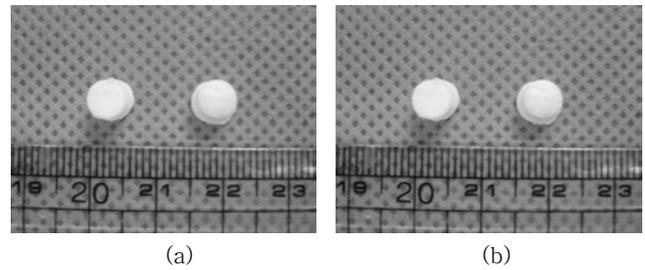


Figure 3. Gross morphologies of PLGA and SIS modified PLGA scaffold.

이를 발견할 수 없었다.^{12,18}

제조된 PLGA 및 SIS/PLGA 담체의 표면 및 내부 구조를 SEM을 통하여 관찰하였으며 이를 Figure 4에 나타내었다. 제조된 PLGA 담체는 첨가한 염의 크기에 따라 담체에서도 염과 유사한 크기의 다공이 나타났으며, 지지체의 내부는 다공과 다공사이가 상호연결되어 있고 대부분 열린 다공구조를 이루고 있었다.²⁶ Figure 4(b)에 나타낸 SEM을 통한 SIS/PLGA 담체의 내부구조에서 알 수 있듯이, SIS 용액이 PLGA 담체내부로 침투하여, PLGA로 이루어진 큰 다공 내부로 SIS 용액이 스며들어 작은 SIS 네트워크 형태를 이루는 것을 확인하였으며 이를 화살표로 표시하였다.¹⁸

본 연구팀은 이전의 연구에서 PLGA 및 SIS/PLGA 담체의 내부 다공도 및 다공크기분포를 측정하였으며, PLGA와 SIS/PLGA 담체는 각각 88.9%와 89.5%로 유사한 다공도를 가짐을 확인하였고, 평균 다공의 직경은 SIS/PLGA 담체가 PLGA 담체보다 더 작았는데 이는 다공성의 PLGA 담체 내부로 SIS 젤이 침투되어 더 작은 다공 크기를 갖는 것으로 밝혀졌다.

PLGA 담체보다 SIS/PLGA 담체의 다공의 크기는 작지만 세포의 이입, 부착 및 성장을 저해하지 않으며, 오히려 섬유아세포성장인자(FGF), 혈관내피세포성장인자(VEGF) 등의 다양한 사이토카인을 포함하여 높은 생체적합성을 갖는 SIS로 인해 SIS/PLGA 담체에서의 세포 생존율이 높은 것을 확인하였다.¹⁸ 따라서 SIS/PLGA 담체가 PLGA 만을 사용한 담체보다 조직공학 또는 약물전달 분야에서 더욱 널리 사용될 것으로 사료된다.

FITC-BSA를 함유한 PLGA 및 SIS/PLGA 담체의 제조 및 특성 분석. 상기의 방법으로 제조된 PLGA 및 SIS/PLGA 담체에 BSA를 담체당 20, 200 및 2000 µg의 농도로 약물을 로딩하여, 약물이 담지된 후의 모폴로지 변화를 SEM을 통해 관찰하였으며 이를 Figure 5에 나타내었다. 약물을 담지하기 전과 비교해 볼 때, 두 가지 담체 모두 약간의 수축된 형태를 관찰할 수 있었고 이는 진공오븐에서 압력을 가하기 때문에 약간의 모양 변형이 이루어진 것으로 사료된다.

그러나 제조된 담체 내부로 세포가 이입되어 생존하기에 적절한 열린 다공구조가 유지되는 것을 확인하였고, 세포 및 여타 조직의 성장에 문제가 없을 것으로 판단되었다. 또한 압력 및 여타 다른 제조 환경의 변화를 주어도 SIS/PLGA 담체는 상대적으로 큰 PLGA 다공 사이에 SIS 용액이 침투하는 구조적 특성을 잘 유지하였으며, 이로써 SIS 용액에 의해 PLGA 담체가 상대적적인 소수성, 다공크기 및 모양을 변형시켜 충분히 개질되는 것을 확인하였다.

PLGA 및 SIS/PLGA 담체에서의 FITC-BSA의 생체의 방출거동.

상기의 방법으로 제조된 PLGA 및 SIS/PLGA 담체를 단백질의 전달체로서의 가능성을 확인하고자 모델 단백질로서 FITC가 결합된 BSA를 200 µg/담체의 농도로 로딩하여 담체에서의 방출경향을 확

인하였다. BSA가 함유된 담체의 방출확인은 28일 동안 수행하였으며, 형광분광계를 통해 방출경향을 확인하였다.

Figure 6에서 보면 알 수 있듯이 PLGA 담체는 SIS/PLGA 담체

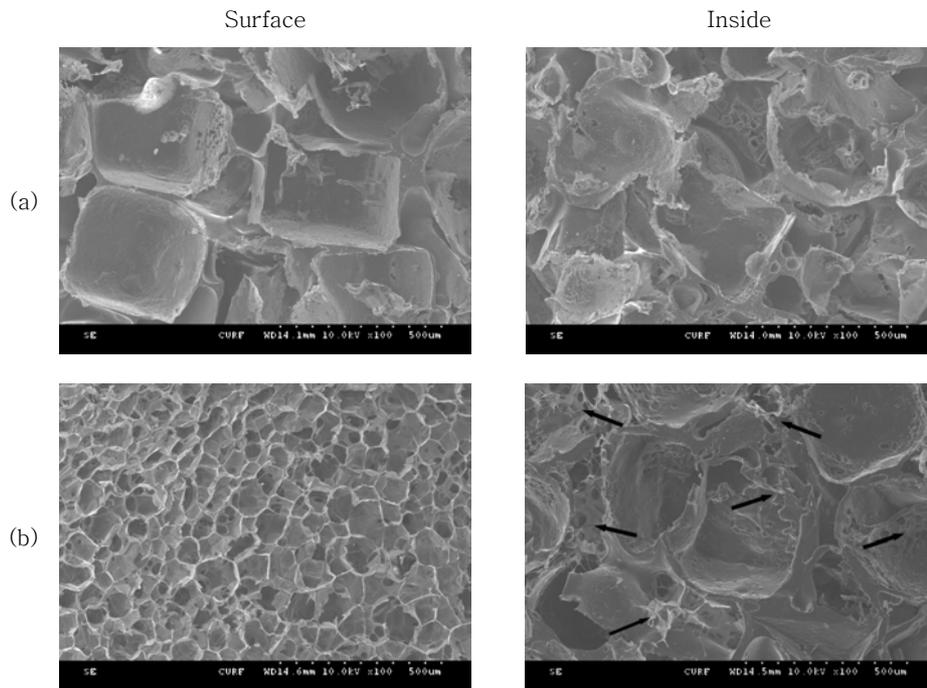


Figure 4. SEM micrographs of PLGA and SIS modified PLGA scaffold. (a) PLGA scaffold and (b) SIS/PLGA scaffold (magnification: x100, scale bar; 500 µm and arrow; SIS immersed in PLGA scaffold).

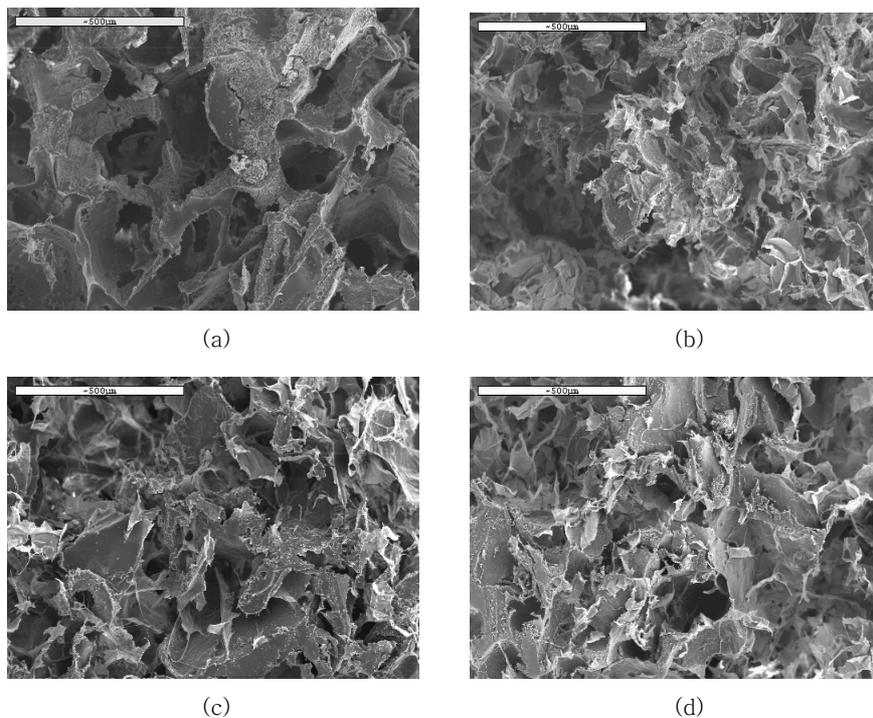


Figure 5. SEM micrographs of PLGA and SIS modified PLGA scaffold after FITC-BSA was loaded in both scaffolds. (a) PLGA scaffold, (b) SIS/PLGA scaffold (BSA 20 µg), (c) SIS/PLGA scaffold (BSA 200 µg), and (d) SIS/PLGA (BSA 2000 µg) (magnification: x100, scale bar; 500 µm).

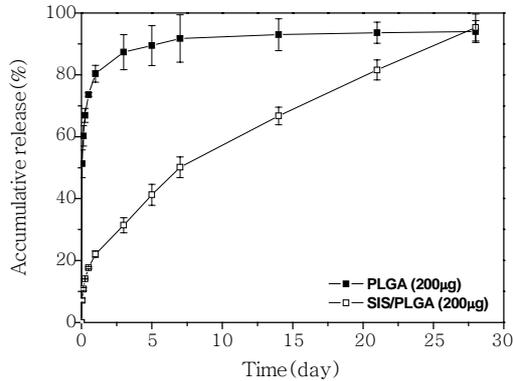


Figure 6. Release behavior of FITC-BSA from 200 µg FITC-BSA loaded PLGA and SIS/PLGA scaffold at 37 °C for 28 days.

보다 초기 방출이 매우 크며, SIS/PLGA 담체는 약간의 초기 방출을 보이나 28일 동안 지속적으로 방출된 것을 확인하였다. 1일째 BSA의 방출을 비교해 보면, PLGA 담체의 경우 약 80.4%의 방출량을 보인 반면에 SIS/PLGA의 경우 22.1%의 방출량을 보여 약 4배 정도의 차이를 보였다. 이는 소수성의 표면성질을 갖는 PLGA 담체에 BSA를 로딩하게 되면 두 물질의 표면성질이 다르기 때문에 서로 결합하지 못하고 BSA가 PLGA 담체의 주변에 걸도는 형태를 갖게 된다. 그 결과 용출액에 BSA가 담지된 PLGA 담체를 첨가하게 되면 상대적으로 친수성을 띠게 되는 BSA가 소수성의 PLGA 표면보다 물과 결합하려는 성질이 강하기 때문에 그만큼 물에 빨리 용해가 진행되어 초기 방출이 빠른 것으로 사료된다.

SIS/PLGA 담체의 경우에도 PLGA보다는 현저히 작지만 약간의 초기 방출이 진행되었는데, 이는 바깥부분의 SIS에 존재하던 BSA가 용출액과 만나 초기에 빠른 방출을 보인 것으로 판단된다. 하지만 PLGA 내부에 까지 균일하게 침투되어 있던 BSA가 방출이 되려면 SIS라는 구조 매트릭스를 거쳐야 하기 때문에, 방출되기까지 상대적으로 긴 시간이 소요되며 이로써 SIS는 BSA의 서방화를 유도하는 것으로 사료된다.

SIS로 개질된 PLGA 담체에서의 함량별 FITC-BSA의 생체의 방출 거동. SIS로 개질된 PLGA 담체에서의 약물의 함량에 따른 방출 경향을 확인하기 위하여 SIS/PLGA 담체에 20, 200 및 2000 µg의 BSA를 로딩하고 28일 동안 방출거동을 확인하였으며 이를 Figure 7에 나타내었다. BSA의 함량에 따라 방출 경향의 차이를 보였으나 이들의 초기 방출량은 크지 않음을 확인하였다. 또한 초기에는 20 µg의 BSA를 로딩한 담체에서 방출 경향이 빨랐으나, 7일 이후에는 약물의 양이 증가할수록 방출량도 증가하는 것이 관찰됨에 따라 경향성 있는 방출 결과를 확인하였다. 28일 이후의 방출량을 백분율로 환산하면 BSA를 20, 200 및 2000 µg을 담지시킨 경우에 각각, 88.7, 95.3 및 96.3%인 것으로 확인하였으며, 전체적으로 볼 때 각기 다른 약물의 함유량을 가진 담체 모두 서방형의 방출 경향을 보였다.²⁴ 이는 SIS가 포집된 BSA의 방출을 제어하는 역할을 하기 때문으로 사료되며, 이로 인해 약물이 초기에 많은 양이 방출되지 않고 서서히 방출되는 서방형의 방출패턴을 보이는 것으로 판단된다.

방출 후 담체의 모폴로지 변화 확인. 방출 실험 후 각 담체의 모폴로지 변화를 Figure 8에 나타내었다. 방출 전에는 특유의 다공구조

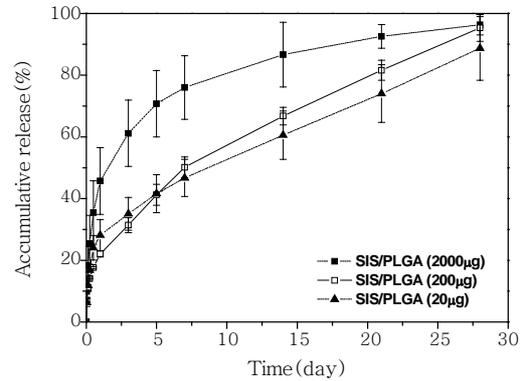


Figure 7. Release behavior of FITC-BSA from various concentration of FITC-BSA loaded SIS/PLGA scaffold at 37 °C for 28 days.

를 확인할 수 있었으나 방출 후에는 PLGA 및 SIS/PLGA 담체 모두 다공 주변 부위부터 변화가 일어난 것을 확인하였고, 이는 PLGA 및 SIS의 물성의 변화가 아닌 약간의 분해현상이 일어나 다공형태가 상당부분 사라진 것을 확인할 수 있었다. 고분자 매트릭스 내에서의 약물의 방출은 농도차로 인한 확산에 의해 용출액이 침투되거나 고분자의 분해에 의하여 생긴 공간으로 용출액이 침투되어야 진정한 의미의 방출이 가능하며, 방출 후 SEM을 통한 담체의 모폴로지 관찰 결과 담체 내부로 용출액이 침투하여 PLGA와 SIS의 분해현상이 발생한 것을 확인하였다.

따라서 BSA가 용출액에 용해되어 담체 밖으로 방출되었음을 확인할 수 있었고, 표면 및 내부에 존재하는 약물 역시 방출이 가능함을 확인하였다. 또한, 결과에서 제시하지는 않았으나 가교 과정 수행 유무에 의한 SIS/PLGA 담체의 분해거동에는 현저한 차이가 있었으며, EDC로 가교를 수행한 담체의 경우 담체의 분해거동이 상당시간 지연됨을 확인하였다. 또한 SIS만으로 제조된 스폰지 형태의 담체보다 본 연구의 SIS/PLGA 담체가 더 느린 분해를 보였다. 이는 방출거동과도 연관이 있어 생각할 수 있는데,²⁴ SIS에 가교를 수행하거나 PLGA와의 복합화에 따라 약물의 방출이 지연되는 등의 방출거동에는 확연한 차이가 있을 것으로 예상되며, 본 연구의 SIS/PLGA 담체는 일정시간 동안 정해진 양의 약물이 지속적으로 방출되는 서방형의 이식형 약물전달체의 가능성을 제시할 뿐 아니라 SIS가 가진 친수성 및 생체적합성의 특성으로 인해 세포의 부착 및 성장에도 최적 환경을 제공할 것으로 사료된다.

결론

펩타이드 및 단백질의 서방형 방출패턴을 갖는 이식형 약물전달체를 개발하고자 본 연구에서는 생분해성 고분자인 PLGA와 돼지의 소장에서 유래한 SIS를 이용하여 담체를 제조하였다. PLGA 담체는 용매 캐스팅/염 추출법으로 제조하였으며, SIS로 표면 및 내부가 개질된 SIS/PLGA 담체는 상기의 PLGA 담체를 SIS 젤에 함침시켜 제조하였다. SEM을 통하여 관찰된 PLGA 및 SIS/PLGA 담체의 내부는 상호연결된 다공구조를 가지며, 특히 SIS로 개질된 PLGA 담체의 경우에는 큰 PLGA 다공구조 사이로 SIS가 적절히 침투되어

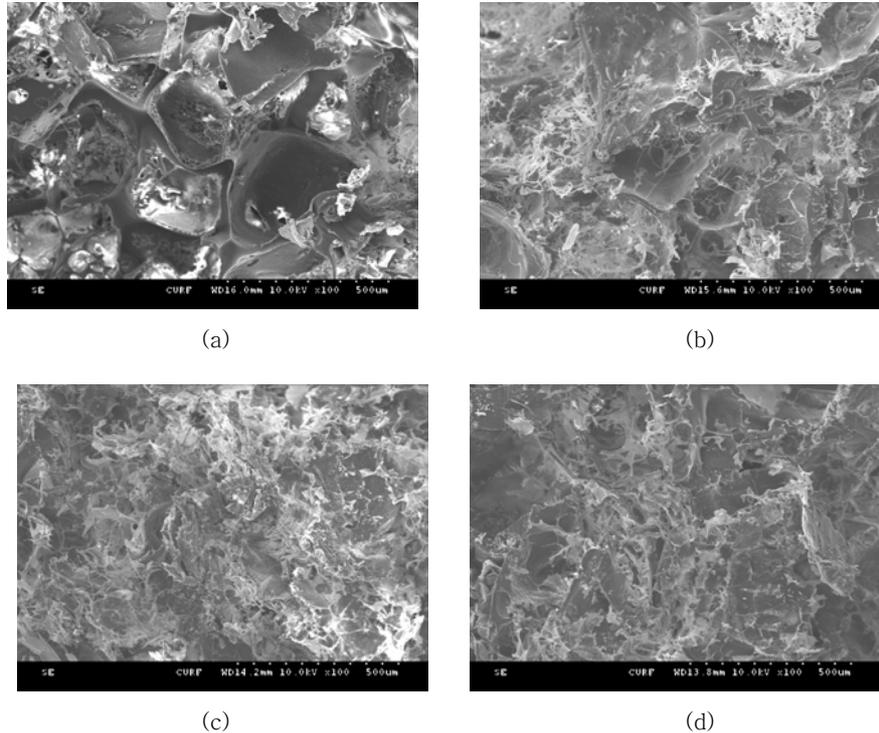


Figure 8. SEM microphotographs of BSA loaded PLGA and SIS/PLGA scaffold after 28 days. (a) PLGA (200 μg BSA), (b) SIS/PLGA (20 μg BSA), (c) SIS/PLGA (200 μg BSA), and (d) SIS/PLGA (2000 μg BSA) (magnification; x100, scale bar; 500 μm).

있음을 확인하였다. 또한 본 실험에 사용된 SIS/PLGA 담체는 이전 연구에서 높은 수분 흡수율과 세포생존을 보이며 SIS만으로 구성된 스폰지 형태의 담체보다 상대적으로 높은 역학적 강도를 제공하여 세포의 성장과 증식에 효율적일 것으로 판단되었다. 또한 제조된 담체의 이식형 약물전달체로서의 가능성을 확인하고자 형광이 결합된 소 혈청 알부민(FITC-BSA)을 PLGA 및 SIS/PLGA 담체에 담지시켜 이들의 방출 실험을 진행한 결과, SIS/PLGA 담체가 PLGA 담체보다 지연된 방출패턴을 보이며 이로써 SIS 매트릭스가 담체에서 약물의 방출을 저해하는 요소로 작용하는 것으로 판단되었다. 또한 BSA의 함량에 따라 경향성 있고 초기 방출이 적은 서방형의 방출거동을 확인하였다.

이로써 본 연구에서 제조한 SIS/PLGA 담체는 세포의 성장 및 조직재생에 도움을 주며 단백질이나 펩타이드, 전환성장인자(TGF), 인슐린유사성장인자(IGF), 신경성장인자(NGF), 과립구 대식세포 집락자극인자(GM-CSF) 및 뇌유래신경인자(BDNF) 등과 같은 생리활성물질의 서방형의 이식형체제로서의 가능성을 제시하였다. 이로써 다양한 약물을 담지하여 연골, 골, 중추 및 말초신경의 재생을 돕는 기능성 담체로서 사용될 것으로 예측된다. 현재 상기의 생리활성물질을 첨가하여 이들 방출의 서방화 실험을 진행 중이며, 다양한 세포를 이용한 조직의 재생에 관한 *in vitro*와 *in vivo* 실험 중에 있다.

감사의 글 : 본 연구는 세포융용사업단(SC3100)과 보건복지부 근골격계 바이오장기센터(0405-BO01-0204-0006)의 지원으로 이

루어졌으므로 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

1. J. K. Tessmar and A. M. Gopferich, *Adv. Drug Deliver. Rev.*, **59**, 274 (2007).
2. M. Sokolsky-Papkov, K. Agashi, A. Olaye, K. Shakesheff, and A. J. Domb, *Adv. Drug Deliver. Rev.*, **59**, 187 (2007).
3. H. Hoon, J. H. Lee, K. S. Seo, M. S. Kim, J. M. Rhee, H. B. Lee, and G. Khang, *Polymer(Korea)*, **29**, 468 (2005).
4. D. H. Lewis and M. Chasin, *Biodegradable Polyemrs as Drug Delivery System*, R. Langer, Editor, Marcel Dekker, New York, 1990.
5. S. J. Lee, G. Khang, Y. M. Lee, and H. B. Lee, *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, **13**, 197 (2002).
6. M. Penco, S. Marchioni, P. Ferruti, S. Datone, and P. Deghenghi, *Biomaterials*, **17**, 1583 (1996).
7. H. S. Seong, D. S. Moon, G. Khang, and H. B. Lee, *Polymer(Korea)*, **26**, 128 (2002).
8. J. S. Park, J. H. Shin, D. H. Lee, J. M. Rhee, M. S. Kim, H. B. Lee, and G. Khang, *Polymer(Korea)*, **31**, 201 (2007).
9. W. Y. Jang, S. H. Kim, I. Lee, M. S. Kim, J. M. Rhee, G. Khang, and H. B. Lee, *Tissue Eng. Regen. Med.*, **2**, 100 (2005).
10. E. K. Jeon, H. J. Whang, G. Khang, I. Lee, J. M. Lee, and H. B. Lee, *Polymer(Korea)*, **25**, 893 (2001).

11. S. K. Kim, S. H. Kim, H. R. Lee, M. H. Cho, M. S. Kim, G. Khang, and H. B. Lee, *Tissue Eng. Regen. Med.*, **2**, 388 (2005).
12. Y. K. Ko, S. H. Kim, J. S. Jeong, H. J. Ha, J. S. Park, J. Y. Lim, M. S. Kim, H. B. Lee, J. M. Rhee, and G. Khang, *Polymer(Korea)*, **31**, 505 (2007).
13. A. G. Coombes, M. K. Yeh, E. C. Lavelle, and S. S. David, *J. Control. Rel.*, **52**, 311 (1998).
14. K. S. Seo, J. S. Park, M. S. Kim, S. H. Cho, H. B. Lee, and G. Khang, *Polymer(Korea)*, **28**, 211 (2004).
15. E. W. Merrill and E. W. Salzman, *J. Am. Soc. Artif. Intern. Organs*, **6**, 60 (1983).
16. M. Iwata and H. Ueda, *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **22**, 1161 (1996).
17. G. Chen, T. Sato, J. Tanaka, and T. Tateishi, *Mater. Sci. Eng.*, **C26**, 118 (2006).
18. S. H. Kim, B. S. Choi, Y. K. Ko, H. J. Ha, S. J. Yoon, J. M. Rhee, M. S. Kim, H. B. Lee, and G. Khang, *Key Eng. Mater.*, **342-343**, 389 (2007).
19. M. S. Kim, K. D. Hong, H. W. Shin, S. H. Kim, S. H. Kim, M. S. Lee, W. Y. Jang, G. Khang, and H. B. Lee, *Int. J. Bio. Macro.*, **36**, 54 (2005).
20. E. N. Lamme, H. J. Vries, H. V. Veen, G. Gabbiani, W. Westerhof, and E. Middelkoop, *J. Histochem. Cytochem.*, **44**, 1311 (1996).
21. S. L. Voytik-Harvin, A. O. Brightman, M. R. Kraine, B. Waisner, and S. F. Badylack, *J. Cell. Biochem.*, **67**, 478 (1997).
22. H. W. Shin, S. H. Kim, J. W. Jang, M. S. Kim, S. H. Cho, H. B. Lee, and G. Khang, *Polymer(Korea)*, **28**, 194 (2004).
23. S. H. Kim, S. J. Yoon, J. W. Jang, M. S. Kim, G. Khang, and H. B. Lee, *Polymer(Korea)*, **30**, 14 (2006).
24. G. D. Hong, K. S. Seo, S. H. Kim, S. K. Kim, G. Khang, H. S. Shin, M. S. Kim, and H. B. Lee, *Polymer(Korea)*, **29**, 282 (2005).
25. M. H. Cho, S. K. Kim, H. Hoon, Y. N. Shin, M. S. Kim, B. Lee, J. S. Lee, G. Khang, H. B. Lee, and I. Lee, *Tissue Eng. Regen. Med.*, **3**, 46 (2006).
26. J. W. Jang, K. S. Park, S. H. Kim, J. S. Park, M. S. Kim, C. W. Han, J. M. Rhee, G. Khang, and H. B. Lee, *Tissue Eng. Regen. Med.*, **2**, 34 (2005).