

PLGA 다공성 지지체에 함침시킨 DBP젤의 연골재생 효과; *In Vivo* 실험

이윤미 · 심초록 · 이유정 · 김하늘 · 조선아 · 송정은 · 이동원[†] · 강길선[†]

전북대학교 유기신물질학과, BIN 융합공학과, 고분자나노공학과

(2012년 6월 27일 접수, 2012년 8월 29일 수정, 2012년 8월 29일 채택)

Effect of Demineralized Bone Particle Gel Penetrated into Poly(lactic-co-glycolic acid) Scaffold on the Regeneration of Chondrocyte; *In Vivo* Experiment

Yun Mi Lee, Cho Rok Shim, Yujung Lee, Ha Neul Kim, Sun A Jo, Jeong Eun Song,
Dongwon Lee[†], and Gilson Khang[†]

Dept. of Advanced Organic Materials Engineering, Dept. of BIN Fusion Tech., and Dept. of PolymerNano Sci. & Tech.,
Chonbuk National University, 567 Baekje-daero, Deokjin, Jeonju 561-756, Korea

(Received June 27, 2012; Revised August 29, 2012; Accepted August 29, 2012)

초록: 생체적합성 및 생분해성의 장점을 지닌 PLGA는 우수한 기계적 성질과 분해속도를 조절할 수 있는 장점을 가지고 있지만 소수성으로 인해 세포의 초기부착률이 낮고, 지지체 내부에 영양액의 공급이 원활하지 않다. 본 연구에서는 이러한 단점을 보완하고자 탈미네랄화된 골분(DBP, demineralized bone particle) 젤을 PLGA 지지체에 함침시켰다. 다양한 형태의 지지체 압축강도를 측정한 결과 PLGA/DBP 지지체가 연골과 비슷한 강도를 가지고 있었으며, 이를 바탕으로 DBP젤을 함침시킨 PLGA/DBP젤 지지체를 제작하였다. 연골세포를 파종하여 *in vivo* 실험을 진행하였고 조직화 정도를 확인하기 위해 H&E, Safranin-O, Alcian blue, Collagen type I 및 Collagen type II 염색을 실시하였다. 그 결과 DBP를 함침시킨 PLGA 지지체에서 GAG, Collagen type I 및 Collagen type II의 높은 발현과 조직화를 보여 연골조직으로 대체할 수 있는 가능성을 확인하였다.

Abstract: Poly(lactic-co-glycolic acid) (PLGA) has been most widely used due to its advantages such as good biodegradability, controllable rate of degradation and metabolizable degradation products. We manufactured composite scaffolds of PLGA scaffold penetrated DBP gel (PLGA/DBP gel) by a simple method, solvent casting/salt leaching prep of PLGA scaffolds and subsequent soaking in DBP gel. Chondrocytes were seeded on the PLGA/DBP gel. The mechanical strength of scaffold, histology (H&E, Safranin-O, Alcian-blue) and immunohistochemistry (collagen type I, collagen type II) were performed to elucidate *in vitro* and *in vivo* cartilage-specific extracellular matrices. It was better to keep the characteristic of chondrocytes in the PLGA/DBP gel scaffolds than that PLGA scaffolds. This study suggests that PLGA/DBP gel scaffold may serve as a potential cell delivery vehicle and a structural basis for *in vivo* tissue engineered cartilage.

Keywords: PLGA, demineralized bone particle(DBP), gel, chondrocyte.

서론

의학의 발전으로 고령인구가 증가하고 그로 인한 질병들도 늘어나고 있다. 대표적인 노인성질환인 퇴행성관절염은 비만, 고된 노동, 스포츠 활동이나 교통사고로 인해 발생한다.¹ 연골은 혈관, 신경, 림프관이 없기 때문에 손상 후 세포를 보충 받을 수 없어 재생이 되지 않는다. 손상이 심한 경우 자가연골이식, 줄기세포이식, 자가연골세포배양이식 및 인공연골을

이식하는 방법이 있다.²

조직공학은 손상 또는 기능을 상실한 조직과 장기를 바이오기술을 이용하여 복원, 재생 또는 대체하여 정상적인 기능을 수행할 수 있도록 하는 학문으로 최종목표는 조직 및 장기 생성이다.³ 일반적으로 결손조직의 재생은 세포와 생체분자를 지지체에 파종하고 이를 충분히 배양시켜 신체에 이식하는 방식으로 진행되며 이때 세포, 생체분자, 지지체 사이의 상호작용은 성공적인 조직재생의 중요한 요소로 작용한다. 특히 지지체는 이식된 세포가 조직 및 장기로 재생되는 결정적 환경을 제공하는 요소이다.^{4,5} 지지체는 세포의 부착과 증식 및 고유의 표현형을 유지하고 세포외기질을 분비하여 분화된

[†]To whom correspondence should be addressed.
E-mails: gskhang@jbnu.ac.kr; dlee@chonbuk.ac.kr

조직재생을 촉진시켜야 한다. 또한 체내에 이식된 후에도 주변 조직과 융화가 잘 되고 일정기간이 지나면 안전하게 흡수 또는 분해되어 이물질질을 남기지 않는 우수한 생체적합성을 가져야 한다.^{6,9} 다공성 지지체는 영양분과 부산물이 안팎의 소통을 통해 세포의 생존을 유지하기 위해 충분한 크기와 수를 유지해야 한다. 수분함량과 세포유착은 세포의 원래 환경을 만들기 위해 필요하고, 체내에 이식된 후에도 주변 조직과 융화가 잘 되어야 하며 일정 기간이 지난 후에 안전하게 흡수, 분해하여 이물질로 남지 않아야 한다.^{10,11,16}

생체적합성 지지체로 가장 많이 사용되고 있는 생분해성 고분자는 폴리락타이드(PLA), 폴리글리콜라이드(PGA) 및 이들의 공중합체인 PLGA로서 미국의 식품의약품안전청에서 허가를 받았으며, 분자량과 화학적 구성성분을 조절함으로써 분해기간을 조절할 수 있는 장점을 가지고 있다.^{12,13} 그러나 PLGA는 소수성인 특징을 가지고 있어 세포, 조직, 혈액 친화성에 있어 좋지 않은 영향을 미치고, 지지체 내부의 영양액의 공급이 원활하지 않는 경향이 있다.

탈미네랄화 골분(DBP, demineralized bone particle)은 콜라겐, 잔류칼슘, 프로테오글리칸 및 유기물질의 분해성분 등으로 구성되어 있으며 염증반응을 감소시켜 광범위하게 임상에 적용되는 천연재료이다. DBP는 1965년 Urist의 연구에서 시작되어 사람의 골내 치주낭에 DBP를 사용하였고 이식골 부위에 생겨난 신생골에서 조골세포가 존재함을 확인하였다.^{14,15} DBP는 탈회를 통해 이식재내 광화물이 제거되어 그 내부에 존재하는 교원질이나 성장인자, 특히 골형태형성단백질(BMP)을 노출시킴으로써 골유도능을 증가시키고 연골분화를 유도하는 역할을 한다고 알려져 왔다. 이러한 특성 때문에 DBP는 치과학, 척추, 뼈 그리고 악안면외과에서 임상용으로 광범위하게 사용되는 생체활성 천연재료이다.^{5,15,17,18}

선행연구에서 젤 형태의 DBP를 함침시킨 PLGA 지지체(PLGA/DBP gel)를 제조하여 *in vitro* 상에서 연골재생 효과를 확인하고자 GAG, 콜라겐 함석량, 세포독성평가, SEM분석, RNA분리 및 RT-PCR을 수행하여 DBP가 함침된 PLGA 지지체가 연골세포의 성장에 긍정적으로 영향을 미쳐 안정되게 연골을 조직화할 수 있음을 확인하였다.¹⁹

따라서 본 연구에서는 PLGA 지지체, DBP젤을 함침시킨 PLGA/DBP젤 지지체, DBP 스폰지에 연골세포를 파종한 후 압축강도를 측정하여 연골 적용에 적합한 강도를 확인하였고, PLGA/DBP젤 지지체에서 연골세포의 형태학적 변화와 프로테오글리칸 및 콜라겐의 발현 정도를 관찰하기 위해 *in vivo* 상에서 면역조직화학염색을 통해 조직공학적인 지지체로의 응용에 적합한지를 확인하였다.

실 험

시약 및 재료. 생분해성 고분자인 PLGA(lactic; glycolic 모

비, 75/25, Resomer® RG756S, Boehringer Ingelheim Pham, Germany)는 평균 분자량이 90000 g/mole인 것을 사용하였다. 또한 염화나트륨은 다공성생물질로 사용하였으며 250~355 μm 크기를 사용하였다. 메틸렌클로라이드 등의 모든 화학약품과 유기용매는 HPLC 등급을 사용하였다.

DBP 제조. DBP는 소의 대퇴부를 사용하여 Urist 방법으로 제조하였다.^{14,15} 소의 대퇴골과 경골을 채취하여 원위골단부, 근위골단부, 골막과 골수 및 연조직을 깨끗이 제거한 후 에탄올로 세척하여 잘게 파쇄하였다. 분쇄된 뼈를 클로로포름과 메탄올의 혼합용매로 지방을 제거한 후 아세톤으로 건조시켰다. 0.5 N HCl 용액으로 탈미네랄화 과정을 거친 후 인산완충용액(PBS, pH 7.3-7.4; Sigma Chem. Co., St. Louis, MO, USA)으로 pH 7.4로 조절하여 동결건조시켰다. DBP는 액체질소 내에서 동결분쇄(SPEX 6700, USA)하여 약 180 μm 크기 이하의 분말 형태로 얻었다.²¹

DBP젤 및 DBP 스폰지 제조. 3% 아세트산과 0.1% 펩신(Sigma)을 함유한 용액에 20 wt%의 DBP를 첨가시켜 상온에서 48시간 동안 교반시켜 DBP젤을 제조하였다. 위의 방법에 따라 제조된 DBP젤을 24 well에 분주한 후 냉장 4시간, 냉동 4시간 보관 후 -80 °C에서 24시간 동안 급랭시킨 후 동결 건조하여 DBP 스폰지를 제조하였다. 위의 방법에 따라 제조된 DBP 스폰지를 1-에틸-(3,3-다이메틸아미노프로필) 카보이미드 하이드로클로라이드용액(EDC, Sigma)으로 상온에서 24시간 동안 경화시켰고, 3차 증류수로 여러 번 세척하여 EDC 용액을 완전히 제거한 후 다시 -80 °C에서 24시간 동안 급랭시킨 후 동결건조하여 DBP 스폰지를 제조하였다.

PLGA 다공성 지지체 제조. 천연재료인 DBP젤을 생체활성이 전혀 없는 PLGA 지지체에 새로운 생체활성을 부여하기 위함과 동시에 생체조직공학적인 연골로 응용하기 위해 용매염추출법으로 제조하였다. PLGA 1 g을 메틸렌클로라이드 4 mL에 용해한 후 250~355 μm 크기가 되도록 다공성생물질인 염화나트륨을 분자체로 걸러 9 g 첨가하고 이들을 균일하게 혼합하였다. 용해된 혼합물을 직경 7 mm 및 두께 3 mm의 실리콘 몰드에 넣은 후 잔류용매를 제거하기 위해 프레스를 이용하여 상온에서 60 kgf/cm²의 압력으로 24시간 동안 시행한 후 3차 증류수에서 48시간 용출을 하였다. 24시간 동결을 한 후 8 mTorr, -55 °C 조건에서 24시간 동안 동결 건조하였다. 사용 전까지 냉동 상태에서 보관하였다. 이들의 제조 과정 모식도를 Figure 1(a)에 나타내었다.

DBP젤을 함침시킨 PLGA/DBP젤 지지체 제조. 20 wt% DBP젤을 지지체당 1 mL씩 PLGA 지지체 위에 함침시킨 후 4 °C에서 24시간 동안 보관하고 24시간 동안 진공 건조하여 DBP젤이 PLGA 다공 내로 잘 침투될 수 있도록 유도하였다. 건조된 지지체는 1-에틸-(3,3-다이메틸아미노프로필) 카보이미드 하이드로클로라이드용액(EDC, Sigma)으로 상온에서 24시간 동안 경화시켰고, 3차 증류수로 여러 번 세척하여 EDC

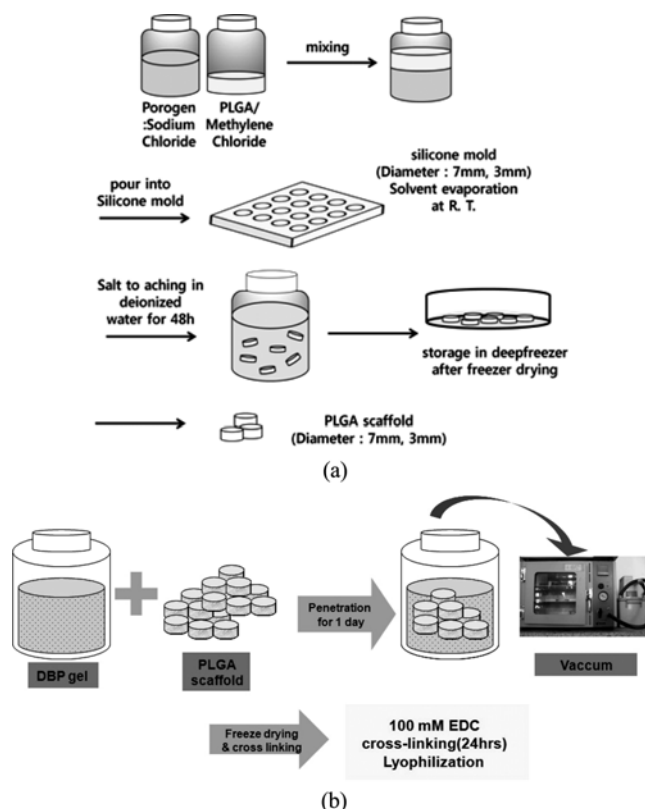


Figure 1. Fabricating process of PLGA and PLGA/DBP gel scaffolds: (a) Solvent casting/salt leaching; (b) penetrating method.

용액을 완전히 제거하였다. -80°C 에서 24시간 동안 급랭시킨 후 동결건조하여 PLGA 다공 안에 가교된 스폰지 형태의 DBP 매트릭스가 형성되도록 하였다. 이들의 제조과정 모식도를 Figure 1(b)에 나타내었다.¹⁷

연골세포 분리 및 배양. 연골세포는 4주령의 뉴질랜드 흰색 토끼의 무릎관절에서 분리하여 사용하였다. 무균상태에서 관절을 노출시켜 연골조직만 채취 후 인산완충용액(PBS, pH 7.3-7.4; Sigma, USA)으로 여러 번 세척한 후 0.25 wt%의 콜라게네이즈 A형(Roche, USA) 용액으로 12시간 동안 37°C , 5% CO_2 하에서 조직을 분해하였다. 조직이 담긴 용액을 70 μm 의 나이론메쉬로 거른 후 원심분리하여 DMEM과 F-12 혼합 배양액에 10% 우태혈청(FBS, Gibco, USA), 1% 항생제(100 units/mL 페니실린과 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 스트렙토마이신), 200 mM L-글루타민(Gibco, USA), 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 아스코르빈산(Sigma, USA), 15 mM HEPES 완충용액 1 M(Gibco, USA) 이 함유된 배양액으로 현탁액을 만든 후 세포배양 플라스크에 분주하여 37°C , 5% CO_2 조건에서 배양하였다. 배양액은 3일에 한 번씩 교체해 주었으며, 계대배양 1회째 것을 사용하였다.

연골세포 파종 및 지지체 이식. 용매추출법으로 제작한 지지체를 알코올로 멸균하여 PBS로 3번 세척하였다. 연골세포

는 계대배양 1회째에 트립신(Gibco, USA)을 이용하여 수확하였으며 지지체당 1×10^6 cell/지지체 농도로 파종하여 상기의 배양액으로 정적배양하였다. 조직학적 평가를 위해서 배양 후 2주째에 지지체를 4주령된 Balb-c 누드마우스 피하에 이식하고 1, 2, 3 및 6주가 지난 후 지지체를 적출하여 실험하였다.

압축강도 측정. PLGA지지체, DBP를 첨가한 PLGA/DBP 지지체, DBP 스폰지 및 DBP젤을 함침시킨 PLGA/DBP젤 지지체의 물리적인 강도를 확인하기 위해 만능물성측정기(FTC, Sterling, Virginia, USA)를 이용하여 압축강도를 분석하였다. 지지체의 설정 값은 표적거리 1.5 mm, 시험속도 1 mm/min, 압축력 0.5 N으로 적용하였다.

조직면역학적 평가. 지지체 내부에 존재하는 세포의 분포 양상과 세포의 모폴로지를 확인하기 위하여 핵을 Hematoxylin (YD Diagnostics, Korea)으로, 세포질을 Eosin(Showa, Japan)으로 염색을 하였으며, 연골에서 많이 발현되는 세포외기질 중 수분을 함유하는 글리코사아미노글라이칸(sGAG)의 발현 정도를 확인하기 위하여 Safranin-O(Showa, Japan) 염색을 실시하였고, 연골 세포가 분비하는 산성 점액물질을 증명하기 위해 Alcian blue(Sigma, USA) 염색을 실시하였다. 또한 연골에서 특이적으로 발현되는 제 I, II형 콜라겐(Calbiochem® EMD Bio Sciences Inc., La Jolla 1:90) AEC 방법으로 발현 여부를 확인하였다. 누드마우스 피하에 이식하고 1, 2, 4 및 6주에 적출한 지지체는 24시간 동안 10% 포르말린(Sigma, USA)으로 고정하였다. 그 후 파라핀 조직처리를 하여 블록을 제조하고 표본가공기(Thermo, Electron Corporation, UK)로 조직 슬라이드를 얻었다. 이 조직은 각각 염색 후 현미경(Nikon, Japan)으로 관찰하였다.

결과 및 토론

압축강도 측정. 연골의 손상에서 재생을 유도할 때 지지체를 사용하기 위해서는 일정한 정도의 강도를 가지고 있어야 이식 후에도 하중을 견딜 수 있어야 한다. 따라서 연골의 재생에 있어서 이식 후에 얼마만큼의 강도를 지니는지 확인하기 위해 압축강도를 측정하여 그 결과를 Figure 2에 나타내었다. PLGA 지지체와 스폰지는 강도가 너무 높거나 너무 낮게 나타남으로 PLGA/DBP젤 지지체가 연골조직으로 적절할 것으로 사료된다. 이는 DBP젤을 함침시킨 후 동결건조된 PLGA/DBP젤 지지체의 DBP젤이 스폰지 형태로 변하여 PLGA 지지체보다 PLGA/DBP젤 지지체의 압축강도가 낮은 결과를 보였을 것이라고 사료된다. 또한 모든 지지체 세포가 파종된 것이 강도가 조금 더 낮은 경향성으로 무른 연골과 비슷한 성향으로 보이고 있다. 6주차에 세포를 파종하지 않은 PLGA/DBP젤 지지체의 압축강도가 낮아졌지만 연골세포를 파종한 PLGA/DBP젤 지지체는 1주에서 6주까지 일정한

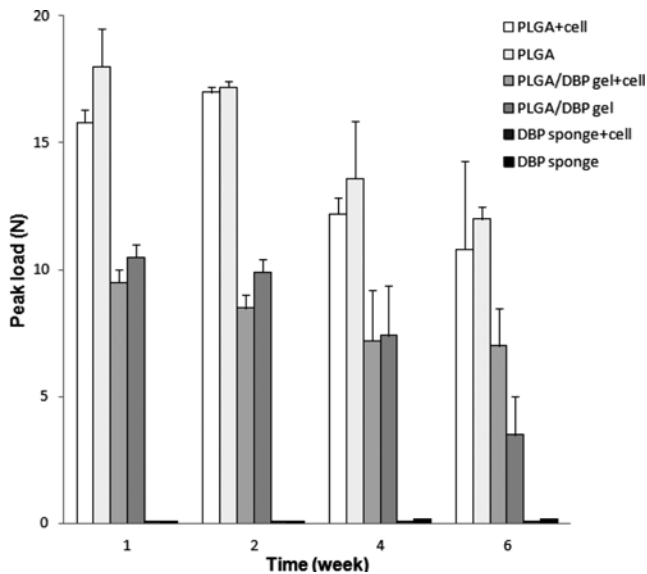


Figure 2. Compressive strength of PLGA and PLGA/DBP gel scaffolds, and DBP sponge seeded chondrocyte during cultivation period. Peak load analysis between at 1, 2, 4, and 6 weeks.

강도를 나타내었다. 이는 연골세포의 세포외기질 형성과 관계가 있다. 연골세포의 세포외기질은 콜라겐, sGAG를 함유하고 있으며, 외부의 힘으로부터 조직의 일정한 형태를 유지시키기 때문에 이와 같은 결과가 얻어졌을 것이라고 사료된다.^{20,22} 또한 전 연구의 콜라겐과 sGAG 합성량과 부합한 결과임을 확인하였다. 이를 바탕으로 PLGA 지지체에 DBP젤을 함침시킨 지지체를 제조하여 *in vivo* 상에서의 세포외기질의 함량을 확인하기 위해 실험을 진행하였다.

지지체 적출. 연골세포를 PLGA 지지체와 PLGA/DBP젤 지지체에 파종한 지지체를 일주일 동안 배양하였다. 배양한 지지체를 누드마우스 피하에 이식한 후 1, 2, 4 및 6주 후에 적출한 사진을 Figure 3에 나타내었다. 6주에 가까울수록 두

지지체의 크기가 작아짐을 확인하였다. 이는 조직의 형태를 유지하도록 도와주는 세포외기질 분비가 원활히 일어나고 분해율이 적절하여 PLGA 지지체와 PLGA/DBP젤 지지체가 *in vivo* 상에서 조직화되었을 것이라고 사료된다.^{23,24}

조직면역학적 평가. 연골은 콜라겐과 프로테오글리칸, 단백질 성분으로 구성되어 있다. 선행연구를 통하여 *in vitro*에서 콜라겐과 sGAG 함량을 측정한 결과 PLGA/DBP젤 지지체에서 높은 함량을 확인하였다. 따라서 본 연구에서는 이를 증명하기 위해 *in vivo* 환경에서 지지체내의 세포의 형태와 분포양상을 확인하기 위하여 이식 후 1, 2, 3 및 6주에 지지체를 적출하여 H&E, Safranin-O, Alcian Blue, 제 I, II형 콜라겐 염색을 실시하였다.

H&E와 GAG의 생산됨을 확인하기 위한 Safranin-O 염색 및 연골세포가 분비하는 산성점액물질을 증명하기 위해 Alcian Blue 염색을 실시하여 Figure 4에 나타내었다. H&E 염색에서 1주에는 두 지지체가 비슷한 결과를 보였으나 2주부터 염색범위가 PLGA 지지체보다는 PLGA/DBP젤 지지체에서 넓게 형성되었으며, 3주 및 6주째에 PLGA 지지체보다 PLGA/DBP젤 지지체에서 연골세포의 표지인 라쿠나의 형성이 더욱 선명하였고, 고르게 분포한 세포영역이 눈에 띄게 증가하였다. Safranin-O 염색은 sGAG의 양이 많을수록 오렌지색의 발색이 좋고 범위가 넓어진다. Safranin-O염색을 통해 PLGA 지지체보다 PLGA/DBP젤 지지체에서 sGAG의 함량이 높은 것으로 보아 지지체 안에 파종한 연골세포가 많은 sGAG를 분비해 세포외기질을 형성하고 그로 인해 지지체의 조직화를 유도했을 것이라고 사료된다. Alcian blue 염색을 통해 연골세포의 성장을 확인하였다. H&E와 Safranin-O와 같이 시간이 지남에 따라 발현정도가 점차적으로 증가함을 보였고 PLGA/DBP젤 지지체에서 더 높은 발현을 확인하였다. 하지만, 6주째에 PLGA 지지체는 거의 발현되지 않은 반면 PLGA/DBP젤 지지체는 그 양상이 훨씬 더 뚜렷하게 나타났다. 이를 통해 PLGA 지지체에서 연골세포의 초기 성장은 우수함

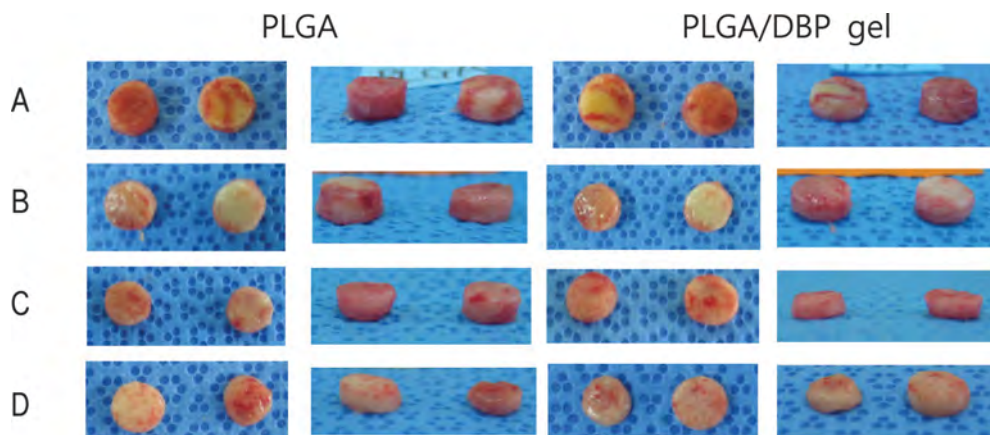
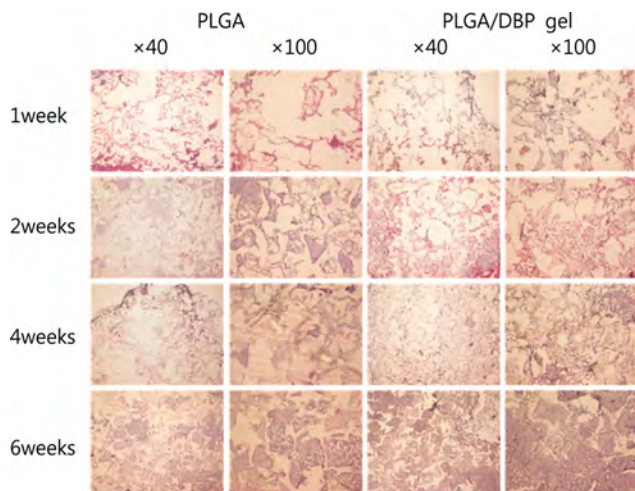
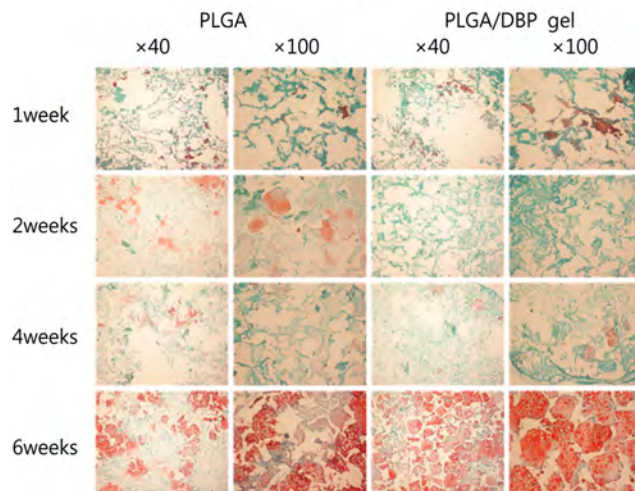


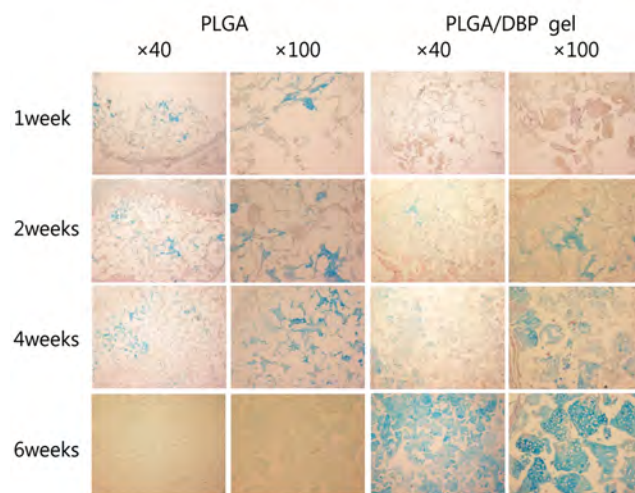
Figure 3. Gross morphology of scaffolds after implantation and post-harvest after (A) 1; (B) 2; (C) 4; (D) 6 weeks.



(a) H&E

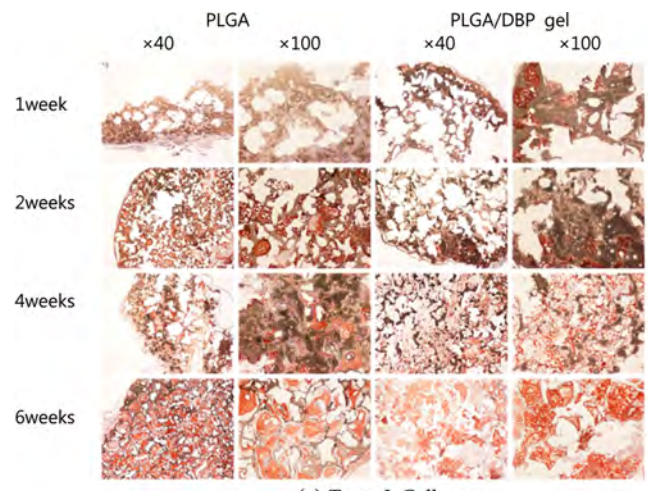


(b) Safranin-O

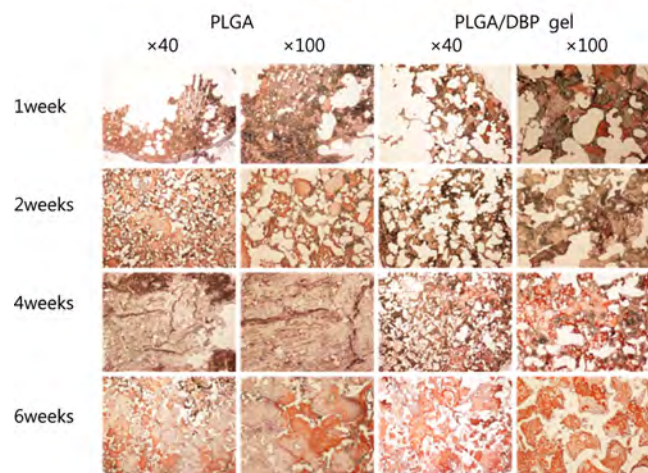


(c) Alcian blue

Figure 4. Histological evaluation of cartilage constructs: (a) H&E; (b) Safranin-O; (c) Alcian blue.



(a) Type I Collagen



(b) Type II Collagen

Figure 5. Photomicrographs from immunohistochemistry for Type I/II collagen sectioning of nude mice subskin harvest site.

을 보였지만 장기간 보았을 때는 PLGA/DBP젤 지지체에서 연골세포의 성장이 우수함을 확인할 수 있었다.²⁵⁻²⁷

연골의 주요 성분인 콜라겐의 발현을 확인하기 위하여 면역조직화학염색을 실시하였고 이를 Figure 5에 나타내었다. 염색결과 PLGA 지지체에서는 시간에 따른 변화가 거의 보이지 않았지만 PLGA/DBP젤 지지체는 각 시점에서 단독의 PLGA 지지체보다 발현정도가 뛰어나면서 시간이 지남에 따라 증가하는 양상을 보였다. 또한 제 I형과 제 II형 콜라겐을 비교했을 때 제 II형 콜라겐이 진하고 넓게 분포되어 있음을 확인할 수 있었다. 이는 연골세포의 세포외기질에 제 II형 콜라겐이 많이 함유하고 있어 이와 같은 결과를 나타냈을 것이라고 사료된다.^{28,29}

이로써 PLGA/DBP젤 지지체에서 연골세포의 조직화가 뛰어난함을 확인하였다. DBP젤을 함침한 지지체에서 더 좋은 결과를 보인 것은 DBP에 다량 함유된 뼈형성단백질이 연골세

포의 부착과 성장하기에 좋은 환경을 제공했을 것이라고 사료된다.

결 론

본 연구는 *in vivo* 환경에서 PLGA 지지체와 DBP젤을 합침시킨 PLGA 지지체의 연골재생 효과를 확인하고자 하였다. 압축강도를 통해 DBP젤을 합침시킨 PLGA/DBP젤 지지체가 많은 세포외기질을 분비하고 있음을 확인하였다. 생체내에서 연골의 세포외기질은 외부의 힘으로부터 보호하는 역할을 하며, 조직공학적 지지체의 역할의 생체내에 들어가서 조직화가 되어 손상된 조직을 대신하는 것이다. 지지체를 누드마우스 등 피하에 이식 후 적출한 결과 PLGA 지지체와 DBP젤을 합침시킨 PLGA 지지체 모두 어느 정도의 형태를 유지하면서 조직화됨을 확인하였다. 또한 *in vivo* 환경에서 세포외기질 분비를 염색을 통해 확인한 결과 PLGA 지지체보다 DBP젤이 합침된 PLGA 지지체에서 제 I형 콜라겐과 제 II형 콜라겐 그리고 sGAG의 발현이 높음을 염색을 통해 확인할 수 있었다. 본 연구에서 사용한 연골세포는 유리연골로 제 I형 콜라겐보다는 제 II형 콜라겐을 더 많이 함유하고 있다. 제 I, II형 콜라겐 염색을 통해 제 II형 콜라겐의 발현이 더 많음을 확인하였다. 이를 통해 연골세포가 지지체 안에서 형태를 변형하지 않고 유지하고 있음을 확인할 수 있었다.

이로써 PLGA 지지체보다 DBP가 포함된 PLGA/DBP젤 지지체에서 연골세포의 조직화가 우수하였다. 이는 DBP가 함유하고 있는 뼈형성단백질과 같은 뼈형성/연골형성 사이토카인이 연골 형성에 긍정적인 영향을 주었을 것이라고 사료된다. 또한 DBP는 다양한 형태로 응용이 가능하기 때문에 뼈 또는 연골에 관한 조직공학적 연구에 적합할 것이라고 예상된다. 본 연구를 바탕으로 세포를 파종하지 않은 PLGA/DBP젤 지지체를 이식하여 DBP젤과 연골세포의 연골형성 효과를 확인하는 실험을 진행 중이며 정량적 평가를 할 예정이다.

감사의 글: 본 연구는 농림수산식품부(112007-05-1-SB010), 보건복지가족부(A040003) 및 WCU (R31-20029)의 연구지원에 의하여 이루어졌으므로 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

1. J. K. Mouw, N. D. Casw, R. E. Guldberg, A. H. K. Plaas, and M. E. Levenston, *Osteoarthr. Cartil.*, **13**, 828 (2005).
2. C. Song, J. M. Kim, B. Y. Sung, Y. B. Kong, and K. H. Ra, *J. Korean Orthop. Assoc.*, **44**, 210 (2009).
3. S. Munirah, S. H. Kim, B. H. I. Ruszymah, and G. Khang, *Eur. Cell. Mater.*, **15**, 41 (2008).
4. J. W. Jang, C. W. Han, M. S. Kim, S. H. Cho, H. B. Lee, and G. Khang, *Polymer(Korea)*, **28**, 382 (2004).
5. S. J. Yoon, S. H. Kim, H. J. Ha, Y. K. Ko, J. W. So, M. S. Kim, Y. I. Yang, G. Khang, J. M. Rhee, and H. B. Lee, *Tissue Eng. Part A*, **14**, 539 (2008).
6. W. Xia, W. Liu, L. Cui, Y. Liu, W. Zhong, D. Liu, J. Wu, K. Chua, and Y. Cao, *J. Biomater. Res. B*, **71B**, 373 (2004).
7. W. Linbo and D. Jiandong, *Biomaterials*, **25**, 5821 (2004).
8. D. Rossella, C. Claudia, G. Ida, M. Tiziana, and C. Bice, *Polym. Degrad. Stab.*, **95**, 694 (2010).
9. Y. Kang, Y. S. Song, Y. E. Kim, S. C. Oh, J. E. Song, D. Lee, and G. Khang, *Inter. J. Tissue Regen.*, **3**, 21 (2012).
10. A. Atala, *J. Endourol.*, **14**, 49 (2008).
11. W. B. Tsai, C. H. Chen, J. F. Chen, and K. Y. Chang, *J. Mater. Sci. Med.*, **17**, 337 (2006).
12. O. J. Lee, J. M. Lee, H. J. Jin, and C. H. Park, *Inter. J. Tissue Regen.*, **1**, 68 (2010).
13. T. Yoshioka, N. Kawazoe, T. Tateishi, and G. Chen, *Biomaterials*, **29**, 3438 (2008).
14. M. R. Urist, *Science*, **150**, 893 (1965).
15. C. B. Huggins and M. R. Urist, *Science*, **167**, 896 (1970).
16. S. H. Kim, K. S. Park, B. S. Choi, H. J. Ha, J. M. Rhee, M. S. Kim, Y. S. Yang, H. B. Lee, and G. Khang, *Adv. Exp. Med. Biol.*, **585**, 167 (2006).
17. Y. M. Lee, C. R. Shim, Y. J. Lee, J. E. Song, J. W. Bea, Y. L. Kim, D. Lee, and G. Khang, *Inter. J. Tissue Regen.*, **3**, 13 (2012).
18. H. N. Park, J. B. Lee, and I. K. Kwon, *Inter. J. Tissue Regen.*, **1**, 10 (2010).
19. W. Y. Ahn, H. L. Kim, J. E. Song, D. Lee, and G. Khang, *Polymer(Korea)*, **35**, 499 (2011).
20. J. H. Lee, S. J. Park, H. J. Chun, and C. H. Kim, *Inter. J. Tissue Regen.*, **1**, 1 (2010).
21. S. K. Lee, H. K. Hong, S. J. Kim, Y. K. Kim, Y. S. Song, Y. Ha, D. Lee, and G. Khang, *Polymer(Korea)*, **34**, 398 (2010).
22. H. Lu, T. Hoshiba, N. Kawazoe, and G. Chen, *Biomaterials*, **32**, 2489 (2011).
23. F. A. Maspero, K. Ruffieux, B. Muller, and E. Wintermantel, *J. Biomed. Mater. Res.*, **26**, 89 (2002).
24. B. Bolland, J. M. Kanczler, P. J. Ginty, S. M. Howdle, K. M. Shakesheff, D. G. Dunlop, and R. Coreffo, *Biomaterials*, **29**, 3221 (2008).
25. W. L. Murphy, M. C. Peters, D. H. Kohn, and D. J. Mooney, *Biomaterials*, **21**, 2251 (2000).
26. L. A. Solchaga, J. S. Temenoff, J. Gao, A. G. Mikos, A. I. Caplan, and V. M. Goldberg, *Osteoarthr. Cartil.*, **13**, 297 (2005).
27. T. H. Kim, J. H. Ko, S. J. Kim, and Y. H. Park, *Inter. J. Tissue Regen.*, **2**, 1 (2011).
28. B. M. C. Gutierrez, Z. Y. G. Carvajal, M. Jobbagy, F. Rubio, L. Yuste, F. Rojo, M. L. Ferrer, and F. Monte, *Adv. Funct. Mater.*, **17**, 3505 (2007).
29. S. Mizuno, C. Lycette, C. Quinto, and J. Glowacki, *Mater. Res. Soc. Symp. Proc.*, **252**, 133 (1992).