

펩타이드로 표면 처리된 생체재료의 개발

서울대학교 치의학대학원 치주과학교실, 지능형생체계면공학연구센터(IBECS)
부교수 구 영

서 언

전통적인 치주질환의 치료는 외과적 또는 비외과적 접근을 통하여 임상지수들을 개선하고 질환의 진행을 멈추게 하는 방법을 사용하여 왔으나, 이러한 치료는 원래의 조직으로 회복되는 치주조직의 재생(regeneration)이 일어나는 것이 아니라 단지 조직의 회복(repair)에 그치는 결과를 나타내었다^{1,2)}.

1976년 Melcher에 의해 치주조직의 구획화(compartmentalization) 개념, 즉 치주결체조직은 치은연조직, 치주인대, 백악질 및 치조골로 구성되어 있으며, 진정한 의미의 치주조직의 재생을 위해서는 상피가 배제되고 치주인대로부터 기원한 세포들이 창상을 차지해야 한다고 제안하였다³⁾(그림 1). 1980년대에 이르러 창상치유기전에 대한 이해의 증진과 Melcher의 구획화 이론 등을 근거로 차폐막을 이용한 이른바 조직유도재생술(guided tissue regeneration)이 도입되게 되어 치주인대, 치

조골 그리고 백악아세포들에 의한 조직재생이 가능하게 되었다. 이 술식의 도입은 기존의 절제위주의 치주치료에서 재생을 추구하는 치주치료로 그 패러다임의 변화를 가져왔을 뿐 아니라, 치주치료에 생체재료를 적극 적용하게 됨에 따라 차폐막, 골 대체물질 또는 임플란트를 중심으로 하는 생체재료의 개발 및 임상적용을 촉발시키는 계기가 되었으며, 1980년대의 이러한 변화는 최근 국내외 여러 연구자들에 의해 시도되고 있는 조직공학적 기법을 활용한 치주조직재생술식 개발의 밑거름이 되었다⁴⁻⁶⁾.

불활성 물질인 생체재료가 신체 내에 그 기능을 제대로 발휘하기 위해서는 기본적으로 생체적합성이 우수해야 하고, 나아가 창상의 치유능력을 촉진할 수 있어야 한다. 이러한 목적으로 최근 들어 생체재료 표면에 단백질, 펩타이드 등을 부착시켜 적합성과 치유능을 향상시키려는 시도들이 진행되고 있으며, 이러한 분야를 이른바 생체모방학(biomimetics) 이라고 한다. 이 분야를 이해하기

이 원고는 한국과학재단, 과학기술처 지정 우수연구센터(ERC) 지능형생체계면공학연구센터(IBECS)의 지원에 의한 것임.

위해서는 우선 창상치유의 개념과 세포-세포외기질 (Cell-ECM)의 관계에 대한 이해가 선행되어야 할 것이다.



창상치유의 개념

치주수술 후의 창상과 피부절개시 나타나는 창상의 치유양상은 기본적으로 동일하나 후자의 경우 주위조직이 연조직만으로 구성된 반면 치주조직은 한 층이 경조직(치근, 백악질)으로 이루어진 치유가 일어난다는 점이다. 판막과 치근 사이에 피브린 혈병(fibrin clot)이 형성되며 이후 혈병이 결체조직 기질로 대체되게 된다⁷⁾. 피브린 연결(fibrin linkage)이 잘 유지되면 새로운 결체조직이 치근면에 부착하게 되지만 이 연결이 손상받게 되면 긴 접합상피에 의한 치유가 일어난다. 치주조직재생의 실패는 바로 이 피브린연결에 가해지는 과도한 장력 때문이며, 이는 창상 주위조직의 과도한 움직임에 기인한다. 치주조직의 창상치유과정에서 앞서 언급한 다수의 특화된 세포들이 피브린 연결을 타고 창상부위로 이동하게 되며 이 과정에서 많은 세포외기질(extracellular matrix, ECM)들이 세포의 이주에 관여하게 된다⁸⁾.

생체재료를 이용하는 경우에도 생체재료와 피브린의 연결이 양호하게 유지되는 것이 중요하며, 더

나아가 창상 내로 원하는 세포가 잘 이주할 수 있도록 해당되는 세포외기질로 생체재료표면을 개질시켜 줌으로써 적합성과 치유능 향상을 기대할 수 있다.

세포-세포외기질 관계

세포의 형태, 세포이동, 세포의 성장과 분화의 조절에 등에 관한 이해를 위해서는 우선세포외기질에 대한 이해가 선행되어야 한다. 세포외기질은 상피아래에 위치하면서 결체조직세포들을 둘러싸고 있는 비교적 안정된 구조이다. 세포외기질을 단지 세포가 만들어내는 단순한 비계(scaffold) 역할을 하는 구조물이란 생각은 사라진 지 오래다. 비록 세포에 의해 세포외기질이 만들어지지만 세포는 자신이 만들어낸 세포외기질과 끊임없이 상호작용을 함으로써 세포의 대사, 형태, 사멸 및 기타 생물학적 여러 기능에 세포외기질의 영향을 받게 된다.

이러한 세포와 세포외기질의 상호작용에는 세포막에 있는 수용체의 일종인 인테그린(integrin)이 관여하게 되는데 외부의 신호를 세포 내로 전달하고 세포는 이 신호에 따라 활동에 필요한 단백질을 만들어낸다⁹⁾. 따라서 생체모방학의 기본 개념은

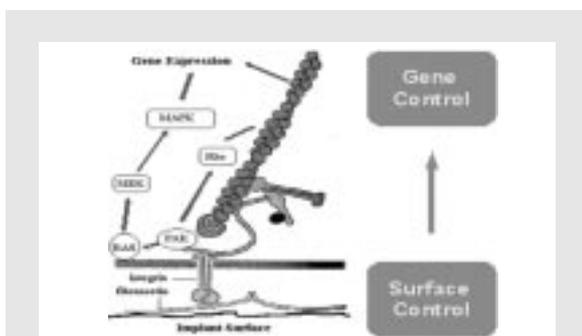


그림 2. 세포외기질(여기서는 Fibronectin)로 표면개질된 생체재료는 인테그린을 통하여 세포 내로 변화된 신호전달을 보내게 되고 세포 내에서는 이 신호에 따라 유전자를 조절하여 필요한 단백질을 만들게 된다.

생체재료의 표면에 세포의 생물학적 기능을 조절할 수 있는 세포외기질의 특정 부분을 피개시켜 생체 적합성과 치유능을 향상시키고자 하는 연구분야이다(그림2).

Fibronectin 절편을 이용한 생체재료 표면개질

우리 체내에는 100여 가지의 세포외기질이 존재하며 그 중 collagen, fibronectin(FN), vitronectin, tenacin 등이 대표적이다. 이 중 FN은 고형과 수용체상태로 우리 몸에 광범위하게 분포해 있으며 세포의 발생, 성장, 이동, 분화 및 사멸에 관여하는 주요 세포외기질이다. FN은 세가지 도메인(I, II, III형)으로 구성된 거대분자이지만 III형의 10번째 도메인의 RGD 아미노산이 세포의 인테그린과 주 결합을 하며, III형의 9번째 도메인의 PHSRN이 시너지역할을 함이 밝혀졌다¹⁰⁾ (그림 3, 4).

생체재료의 표면개질을 위해 FN의 전체분자를 이용하는 것은 면역반응의 발생, 상대적 고비용이 필요할 뿐 아니라 체내 혹은 세균의 분해효소에 의해 무작위 분절화되어 원하는 기능을 발휘할 수 없게 되는 문제점을 가지고 있다. 따라서 세포와 결합하는 특정부위를 포함하는 짧은 분절의 절편을

이용하여 표면개질을 위한 시도들이 있어왔다. 홍 등은 FN III형 7-10의 비교적 큰 분절을 이용한 titanium 표면개질 연구에서, FN III 7-10은 조골세포의 부착, 증식 및 분화에 중요한 역할을 담당하여 석회화 정도를 촉진시킨다고 보고하였으며¹¹⁾, Ku 등은 이보다 더 짧은 FN III 8-10의 분절을 이용하여 조골세포의 부착, 성장 및 분화양상을 관찰한 결과 vitronectin의 분절보다 더 우수한 세포활성을 관찰하였다고 하였다¹²⁾. Kim 등은 더 나아가 짧은 FN III 9-10을 이용하여 조골세포에 적용한 결과 FN 전체 분자의 95% 이상의 세포활성도를 나타내었다고 보고하여 FN III 9-10 도메인이 주요 세포결합부위임을 재확인하였다¹³⁾. Kim 등은 RGD와 PHSRN을 6개의 glycine으로 연결한 매우 짧은 분절의 합성펩타이드를 고안하여 조골세포에 적용한 결과, 골세포 유도효과를 확인하였으며, 이러한 결과는 실질적으로 골 대체물 또는 치과용 및 정형외과용 임플란트의 표면개질에 적용될 수 있을 것이라고 주장하였다¹⁴⁾. 이들이 고안한 합성 펩타이드는 조골세포 뿐 아니라 치주인대세포의 활성화에도 영향을 줌으로써 치주조직재생에도 활용될 수 있음을 보고한 바 있다¹⁵⁾.

생체재료 표면개질을 위한 합성 펩타이드의 사용은 지금까지 살펴본 바와 같이 다양한 생물학적 기능을 기대할 수 있으나 대량생산의 한계가 있으며,

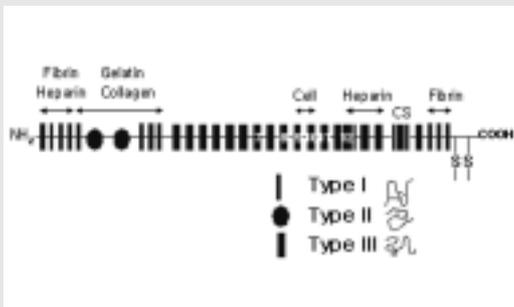


그림 3. Fibronectin의 구조 III형의 10번째와 9번째 도메인에서 세포와 결합하고 있음을 나타내고 있다.

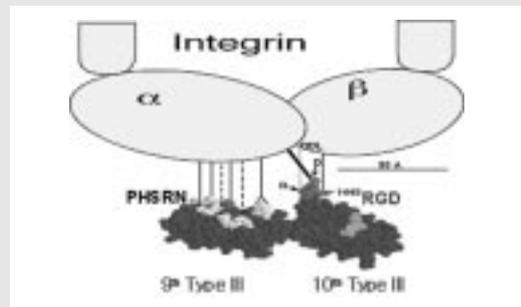


그림 4. Fibronectin III형의 10번째와 9번째 도메인의 PHSRN 아미노산이 integrin과 결합하고 있는 모습.

제작시 마다 순도가 달라질 수 있으며 고비용의 문제점을 가지고 있다. 따라서 필요한 짧은 분절의 펩타이드를 대장균을 이용한 유전자재조합법으로 생산한다면 저비용으로 동일 순도의 펩타이드를 얻을 수 있다. 최근 Kim 등은 RGD와 PHSRN을 20개의 인접한 아미노산으로 연결시킨 펩타이드를 고안하여 이를 대장균을 이용하여 유전자재조합법으로 대량생산한 후 골 대체물(Bio-Oss®)의 표면개질로 사용한 결과, 조골세포의 부착 및 분화를 촉진시켰다고 보고하였다¹⁹⁾.

이 외에도 성장인자 단독 또는 FN과 결합시켜 생체재료의 생체친화성을 향상시킬 수 있음을 보고한 다수의 연구결과가 발표되었으며¹⁷⁻²⁰⁾, 최근 Morra는 펩타이드로 Titanium의 표면개질에 관한 문헌들을 체계적으로 정리하여 발표한 바 있다²¹⁾.

결 언

이상에서 펩타이드로 생체재료의 표면을 개질하여 생체재료의 적합성과 치유능을 향상시키기 위한 그 동안의 연구내용들을 필자가 속한 연구팀의 연구결과를 중심으로 살펴보았다. 생체재료의 표면처리 1, 2세대를 거치면서 현재는 물리, 화학적 표

표 1. Topics of 1st International symposium on Interface Biology of Implant (May 15-16, 2003, Rostock, Germany)

Dynamics of cell-material interaction
Surface modification of biomaterials
Cell signaling
Protein adsorption
Cell-extracellular matrix interaction
Immobilization of bioactive substances
Cell proliferation and function
Physico-chemical characterization of implant surfaces

면처리가 주로 이용되고 있으나, 좀 더 적극적인 치유를 유도하고 적합성을 향상시키기 위해서는 생화학적 기법의 도입이 요구된다고 하겠다. 우리 연구팀의 이러한 일련의 시도는 최종적인 임상적용을 목표로는 하지만, 극복해야 할 몇 가지 기술적 문제점들을 여전히 가지고 있으며, 이를 해결하기 위해서는 더 많은 노력과 연구가 필요하다 하겠다. 지난 2003년 독일 Rostock에서 개최된 유럽생체재료학회의 “임플란트 표면생물학” 관련 심포지엄의 주제(표 1)에서 볼 수 있듯이, 생체모방학은 어느 한 분야 단독으로는 이루어질 수 없는 분야로서, 다양한 학문분야의 이해를 통한 긴밀한 공동연구와 협조가 필요한 분야이다. 따라서 차세대 생체재료개발과 관련한 학문적, 경제적 선점을 위해서는 다학제간, 산학(産學)간 긴밀한 협조가 필요하다 하겠다.

참 고 문 헌

1. W. Becker, B.E. Becker and C. Ochsenbein et al., A longitudinal study comparing scaling, osseous surgery and modified Widman procedures. Results after one year. *J Periodontol* 1988 ;59(6):351-365.
2. J. Caton and S. Nyman, Histometric evaluation of periodontal surgery. I. The modified Widman flap procedure. *J Clin Periodontol* 1980;3:212-223.
3. A.H. Melcher. On the repair potential of periodontal tissues. *J Periodontol* 1976;47(5):256-260.
4. Lee YM, Park YJ, Lee SJ, Ku Y, Han SB, Choi SM, Klokkevold FR, Chung CP. Tissue engineered bone formation using chitosan/tricalcium phosphate sponges. *J Periodontol* 2000 ;71(3):410-417.
5. 김성신, 김병옥, 박주철, 장현선. Periodontal tissue engineering by hPDLF seeding on scaffold. *대한치주과학회지* 2006;36(3) :757-765.
6. Benatti BB, Silverio KG, Casati MZ, Sallum EA, Nociti FH Jr. Physiological features of periodontal regeneration and approaches for periodontal tissue engineering utilizing periodontal ligament cells. *J Biosci Bioeng* 2007; 103(1):1-6.

참 고 문 헌

7. U.M. Wikesjo, M. Crigger and R. Nilveus et al., Early healing events at the dentin-connective tissue interface. Light and transmission electron microscopy observations. *J Periodontol* 1991;62(1):5-14.
8. C.A. McCulloch, Basic considerations in periodontal wound healing to achieve regeneration. *Periodontol* 2000 1993;1(1):16-25.
9. Hay E. Cell biology of extracellular matrix, 2nd ed. Plenum Press, 1991
10. Grant RP, Spitzliaden C, Aldroff H, Campbell ID, Mardon HJ. Structural requirement for biological activity of the ninth and tenth FIII domains of human fibronectin. *J Biol Chem* 1997;272:6159-6166.
11. 홍정욱, 최상목, 한수부, 정종평, 류인철, 이용무, 구영. Fibronectin type III 7 - 10 이 조골세포에 미치는 영향. *대한치주과학회지* 2002;32(1):143-160.
12. Y Ku, CP Chung, JH Jang. The effect of the surface modification of titanium using a recombinant fragment of fibronectin and vitronectin on cell behavior. *Biomaterials* 2005; 26:5153-5157.
13. TI Kim, JH Jang, CP Chung, Y Ku. Fibronectin fragment promotes osteoblast-associated gene expression and biological activity of human osteoblast-like cell. *Biotechnol Lett* 2003;25(25): 2007-2011.
14. TI Kim, JH Jang, YM Lee, IC Ryu, CP Chung, SB Han, SM Choi, Y Ku. Design and biological activity of synthetic digopeptides with Pro-His-Ser-Arg-Asn (PHSRN) and Arg-Gly-Asp (RGD) motifs for human osteoblast-like cell (MG-63) adhesion. *Biotechnol Lett* 2002;24(24):2029-2033.
15. TI Kim, JH Jang, YM Lee, IC Rhyu, CP Chung, SB Han, SM Choi, Y Ku. Biomimetic approach on human periodontal ligament cells using synthetic digopeptides. *J Periodontol* 2004;75:925-932.
16. Kim TI, Lee G, Jang JH, Chung CP, Ku Y. Influence of RGD-containing digopeptide-coated surface on bone formation in vitro and in vivo. *Biotechnol Lett.* 2007;29:359-363.
17. 나호균, 김태일, 임상훈, 조기영, 정종평, 한수부, 구영. 섬유아세포 성장인자와 파이브로넥틴 복합 단백질로 처리한 타이타늄의 생물학적 효과: 가토의 경골을 이용한 조직계측학적 분석. *대한치주과학회지* 2005;35(1):153-161.
18. Park YJ, Kim KH, Lee JY, Ku Y, Lee SJ, Min BM, Chung CP. Immobilization of bone morphogenetic protein-2 onto a nanofibrous diltosan membrane for enhanced guided bone regeneration. *Biotechnol Appl Biochem* 2005;43(Pt 1):17-24.
19. Seol YJ, Park YJ, Lee SC, Kim KH, Lee JY, Kim TI, Lee YM, Ku Y, Rhyu IC, Han SB, Chung CP. Enhanced osteogenic promotion around dental implants with synthetic binding motif mimicking bone morphogenetic protein (BMP)-2. *J Biomed Mater Res A.* 2006;77(3):599-607.
20. Park JB, Lee JY, Park HN, Seol YJ, Park YJ, Rhee SH, Lee SC, Kim KH, Kim TI, Lee YM, Ku Y, Rhyu IC, Han SB, Chung CP. Osteopromotion with synthetic digopeptide-coated bovine bone mineral in vivo. *J Periodontol* 2007;78(1):157-163.
21. Morra M. Biochemical modification of titanium surfaces: peptides and ECM proteins. *Eur Cell Mater* 2006;24(12):1-15.