

신경재생을 위한 BDNF를 함유한 PLGA 지지체의 제조 및 방출

김초민 · 김순희 · 오아영 · 김근아 · 이일우* · 이종문 · 강길선†

전북대학교 융합소재연구센터, *가톨릭대학교 신경외과

(2008년 5월 22일 접수, 2008년 7월 7일 수정, 2008년 7월 11일 채택)

Preparation and BDNF Release Profile of BDNF-loaded PLGA Scaffolds for Tissue Engineered Nerve Regeneration

Chomin Kim, Soon Hee Kim, A Young Oh, Geun Ah Kim,
Il Woo Lee*, John M. Rhee, and Gilson Khang†

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

*Department of Neurosurgery, College of Medicine, The Catholic University of Korea,
520-2, Daeheung 2 dong, Jung ku, Daejeon 301-723, Korea

(Received May 22, 2008; Revised July 7, 2008; Accepted July 11, 2008)

초록: 뇌 추출 신경성장인자(BDNF)의 서방성 전달체로서 락타이드-글리콜라이드 공중합체(PLGA) 용액에 탈미네랄화된 골분(DBP) 및 히알루론산(HA)를 균일하게 혼합하여 얼음입자추출법으로 다공성 지지체를 제조하였다. ELISA로 BDNF 방출량을 확인하였으며 SEM으로 방출에 따른 지지체의 다공 특성을 관찰하였다. PLGA 지지체와 비교시 DBP/HA/PLGA 지지체에서 지속적으로 일정량이 방출됨을 확인하였으며 BDNF의 양이 증가할수록 빠르고 많은 양이 방출되는 패턴을 보였다. 얼음입자추출법으로 제조된 DBP/HA/PLGA 지지체는 BDNF 등의 수용성 사이토카인의 포접이 용이하고, 생분해성 고분자분해 특성에 의해서 방출이 조절되며, 신경손상부분에 이식시 BDNF가 서방화되어 신경재생에 도움을 줄 것으로 기대된다.

Abstract: We manufactured poly(L-lactide-co-glycolide) (PLGA) scaffolds impregnated demineralized bone particle(DBP) and hyaluronic acid(HA) by ice-particle leaching method and tested their ability of sustained release of brain derived neurotrophic factor(BDNF). BDNF(50 and 200 ng) mixed with PLGA, DBP/PLGA, HA/PLGA and DBP/HA/PLGA scaffold. The release profiles of BDNF from BDNF loaded scaffolds were assayed using ELISA. Morphological changes of scaffolds by BDNF release were also observed by SEM. BDNF stably and sustainedly released from DBP/HA/PLGA than from PLGA and DBP/PLGA scaffolds. DBP/HA/PLGA scaffolds showed the great structural changes, which demonstrated BDNF release amount from DBP/HA/PLGA scaffolds were highest in all groups. We suggest that BDNF loaded DBP/HA/PLGA scaffold would be very useful for nerve regeneration.

Keywords: brain derived neurotrophic factor, poly(L-lactide-co-glycolide), demineralized bone particle, hyaluronic acid, scaffold, spinal cord regeneration.

서 론

생체조직공학을 이용한 새로운 바이오 장기를 재생하기 위해 (i) 배아줄기세포, 성체줄기세포, 전구세포와 초대배양세포 등의 세포원, (ii) 생체재료로 만들어진 지지체 및 (iii) 성장을 억제하거나 촉진시키는 생체활성분자 등의 세가지 인자가 필수적으로 필요하다.¹⁻³ 이와 같은 조건을 갖춘 재료 중 합성 고분자인 락타이드-리콜라이드 공중합체(PLGA)가 널리 사용되고 있는데 이는 뛰어난 생체적합성을 가지며, 조절할 수 있는 생분해성, 그리고 상대적으로 양호한 가공성을 지

니고 있기 때문이다. 그리고 이 물질의 안정성은 많은 임상실험에 의하여 증명되었고, 현재 조직공학과 약물전달 시스템 분야에서 많이 사용되고 있다.^{1,2,4,5} 그러나 비활성의 합성고분자인 PLGA는 염증반응을 야기하는 생분해성의 특성과, 세포에 적합한 환경을 제공하는데 한계를 가지고 있다.^{6,7}

탈미네랄화된 골분(demineralized bone particle, DBP)은 골형성단백질(bone morphogenic proteins, BMPs)을 함유하여 세포분화를 자극하는데, 이는 TGF- β 그룹 중 하나로 신경보호와 시냅스 형성에 도움을 주고 별아교세포의 생성을 촉진한다는 특성을 지닌다는 보고가 있다.⁸⁻¹² 또한 천연유래 고분자로 글리코사미노글리칸 고분자의 일종인 hyaluronic acid(HA)는 다양한 조직에서 발견되는 점

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

액당당류로서 세포외기질을 구성하는 중요한 구성 물질이며, HA가 가지는 점탄성, 우수한 수분 보유 능력 및 생분해성 때문에 의학, 미용 및 조직공학 분야에서 널리 사용되고 있는 생체재료이다.^{2,13-19} 본 연구팀의 전 연구에서는 DBP 및 HA를 함유한 PLGA 지지체는 친수성 및 물 흡수성을 증대시키며 세포의 부착 및 증식에 유리한 환경을 제공함을 확인하였고, 생리활성물질의 서방형 지지체로서의 가능성 등을 보고하는 연구를 수행하였다.^{8,13,20-22}

높은 활성을 가졌다면 세포의 지지체인 생분해성 고분자 지지체만으로도 새로운 조직이 형성될 것이지만 이들은 활성이 매우 낮기 때문에 새로운 조직재생에 있어서 성장인자가 필요하다. 여러 성장인자 신경성장인자로 중추신경계와 말초신경계의 세포의 성장, 분화, 생존, 사멸 등의 다양한 기능을 조절하는 인자로서 brain derived neurotrophic factor (BDNF), nerve growth factor (NGF) 그리고 neurotrophin-3 (NT-3)가 있다. BDNF는 중추신경계에서 NGF 보다 발현이 높으며 분포도 넓고 신경단위들 사이 시냅스 연결강도를 증가시키며 신경 돌기의 재생에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다.²³⁻²⁸

본 연구에서는 PLGA에 친수성 및 생활성을 부여하고자 천연 재료를 하이브리드화한 연구로 생체활성 천연재료인 DBP 및 HA를 함유하여 3차원적인 다공성 지지체를 제조하였으며 조직공학적인 신경재생의 목적으로 생분해성 고분자의 특성을 이용한 DBP/HA/PLGA 지지체에 BDNF를 서방화시키려는 시도를 하였다. 또한, 성장인자의 생물학적 효능을 발휘하도록 하기 위하여 생분해성 고분자 전달체와 성장인자가 결합한 약물 전달 시스템 기술을 적용하여 고분자 전달체에 따른 성장인자의 방출속도를 조절하고자 하였다.

실 험

시약 및 재료. 3차원 구조물의 주재료인 PLGA (Resomer® RG 756, 락타이드 : 글라이콜라이드 몰비=75 : 25, Boehringer Ingelheim Chem. Co. Ltd., Germany)는 분자량 90000 g/mole인 것을 사용하였으며, 메틸렌클로라이드 (methylene chloride, MC, Tedia Co. Inc., USA)는 1급 시약을 정제하지 않고 그대로 사용하였다. DBP는 Urist 방법으로 제조하였으며, 동결건조 후 액체질소 내에서 동결분쇄기 (Freezer Mill, SPEX 6700, USA)를 이용하여 입자의 크기가 180 μm 이하가 되도록 동결 분쇄하였고, HA (Fluka Co., USA)는 연쇄상구균으로부터 분리된 것을 사용하였다. BDNF 방출을 확인하기 위하여 BDNF ELISA 키트 (R&D system, Inc., USA)를 사용하였으며, 방출을 위한 용출액으로 인산염완충용액 (phosphate buffered saline, PBS, pH 7.4)은 Gibco BRL (Grand Island, NY, USA)에서 구입하여 사용하였다. 다공형성물질로 사용한 얼음입자는 18.2 M Ωcm 의 순수한 증류수를 사용하여 입자의 크기를 조절하였다.

BDNF를 함유한 다공성 PLGA 지지체 제조. 얼음입자추출법을 이용하여 BDNF를 함유한 생분해성 다공성 PLGA 지지체의 제조 모식도를 Figure 1에 나타내었다. 먼저 얼음입자추출법을 이용한 다공성 지지체의 제조를 위해 액체 질소에 증류수를 분부하여 얻어진 얼음입자들을 선별하여 직경 180~250 μm 인 입자들을 얻었다. PLGA 0.1 g을 MC 0.5 mL에 용해시킨 후 BDNF를 함유한 지지체를 제조

하기 위하여 지지체당 50 ng, 200 ng의 농도로 BDNF를 첨가하여 제조된 얼음입자와 교반기를 이용하여 균일하게 혼합하였다. 혼합된 입자는 자체 제작한 직경 8 mm, 두께 5 mm 크기의 실리콘 몰드에 넣은 후 급속 동결하여 잔류 용매 및 얼음입자추출을 위해 8 mTorr, -55 $^{\circ}\text{C}$ 조건에서 48시간 동안 동결 건조하였다. 얼음 입자가 액상으로 변화하는 것을 방지하기 위하여 모든 과정은 액체 질소 위에서 실시하였다.^{1,29}

BDNF를 함유한 DBP/HA/PLGA 지지체의 제조. DBP 및 HA를 포함한 PLGA 지지체의 제조 방법은 PLGA만 함유한 지지체 제조 방법과 동일한 방법으로 제조하였으며, 요약하면 다음과 같다. 먼저, PLGA 0.1 g을 MC 0.5 mL에 용해시킨 후 PLGA 무게의 20%에 해당되는 0.02 g의 DBP 및 100 μL 의 HA (1%) 용액을 첨가하여 혼합시켰다. BDNF를 함유한 지지체를 제조하기 위하여 지지체당 50 ng 및 200 ng의 BDNF를 첨가하여 얼음입자추출법을 이용하여 지지체를 제조하였으며 이들의 제조 모식도를 Figure 2에 나타내었다.

BDNF를 함유한 지지체의 특성 분석. 상기의 방법들을 사용하여 제조한 다공성 지지체의 방출 전 다공의 크기 및 형태를 관찰하고자 주사전자현미경 (bio-SEM, SN-3000, Hitachi, Japan)을 이용하여 관찰하였다. 측정크기를 5 \times 5 \times 1 mm 크기로 절단한 후, 샘플 폴더에 고정시키고 플라즈마 스퍼터 (Emscope, Model SC 500K, UK)를 사용해서 백금코팅 후, 지지체의 내외부 형태를 관찰하였다.^{13,30}

BDNF를 함유한 지지체의 생체 외 방출거동. 단백질의 함량별, DBP 또는 HA의 여부에 따른 BDNF의 방출거동을 확인하기 위하여 제

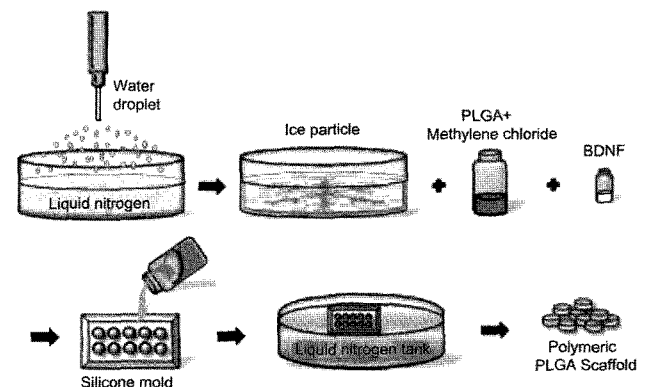


Figure 1. Schematic diagram illustrating the fabrication process of BDNF-loaded PLGA scaffolds by ice-particle leaching method.

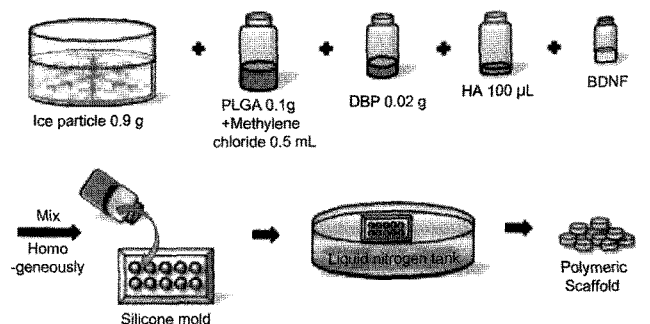


Figure 2. Schematic diagram illustrating the fabrication process of BDNF-loaded DBP/HA/PLGA scaffolds.

조된 각 지지체로부터 생체 외 방출실험을 실시하였다. 바이알에 10 mL의 PBS를 넣고 농도별 BDNF를 함유한 지지체를 넣은 후, 37 °C의 인큐베이터에서 70 rpm의 속도로 교반시켜 주면서 정해진 시간간격마다 1 mL의 PBS를 회수하고 동일한 양의 용출액을 보충해 주었다. 약물의 방출량 결정을 위한 분석시료는 분석시까지 빛을 차단하여 4 °C에서 보관하였고, 방출량은 ELISA로 측정하여 방출 경향을 분석하였다. ELISA는 항원이 항체와 결합하여 효소가 접합된 항체

가 접합됨으로써 새로이 부착되어 마치 샌드위치 같은 형태를 나타내는 효소결합면역적 방법으로서 마이크로 플레이트에서 발색반응을 시켜 가시광선 또는 자외선 등의 특정 파장을 조사하여 물질의 흡광도를 측정함으로써 정량 및 정성 분석하는 장치이다. 면역반응에 의해서 생성된 복합체에 결합되지 않은 항체효소시약을 제거하면 BDNF의 결합양에 비례하여 발색 반응이 이루어지는데 이의 색상 강도를 마이크로플레이트 판독기(Thermolux, Molecular

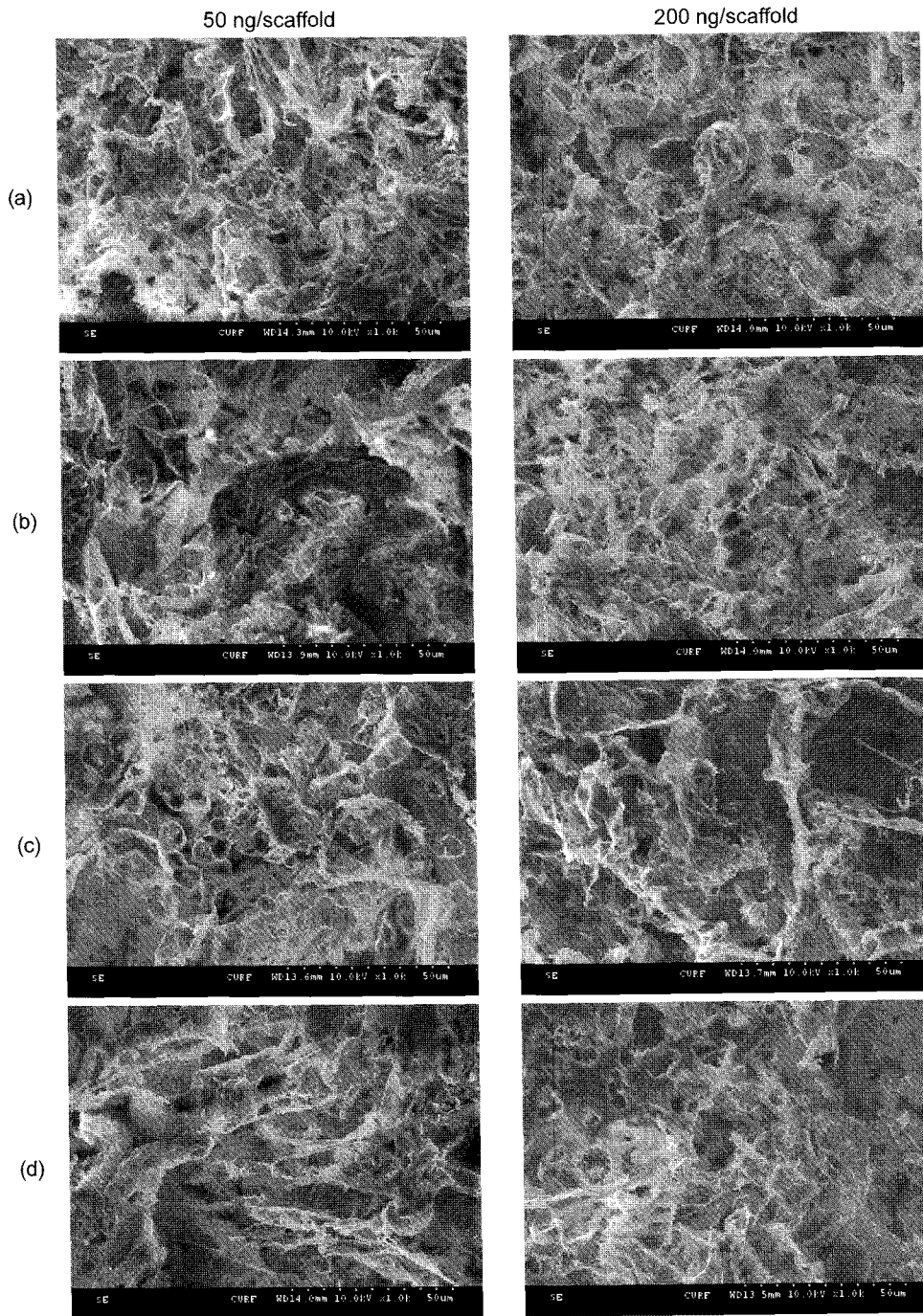


Figure 3. SEM photographs of different BDNF loaded scaffolds prepared by of ice-particle leaching method. (a) PLGA only, (b) DBP/PLGA, (c) HA/PLGA, and (d) DBP/HA/PLGA.

Device Co.,USA)로 측정하여 방출된 BDNF의 양을 측정하였다.^{1,13,24,31}

방출 후 지지체의 모폴로지 변화 확인. 방출 후의 내부 형태 변화를 SEM을 통해 관찰하였다. 방출 실험 후의 지지체는 -20°C 에서 하루동안 보관하고 5 mTorr, -80°C 에서 동결·건조시킨 후, 샘플을 샘플폴더에 고정시켜 플라즈마 스퍼터를 이용하여 백금으로 진공·증착하였다.^{13,32}

결과 및 토론

얼음입자추출법을 이용한 다공성 지지체의 제조. 조직공학적인 신경 재생에 응용하기 위하여 BDNF가 함유된 다공성 PLGA 지지체를 얼음입자추출법에 의하여 제조하였다.²⁹ 제조된 지지체의 외형적 형태는 실리콘 몰드의 빈 공간과 똑같은 디스크 형태로 얻어졌으며, 여타의 수축, 부풀림, 불규칙한 크기의 구멍 및 여타 결함이 없는 것으로 관찰되었다.³³⁻³⁵ 상기의 방법으로 완성된 지지체의 모습은 결과에서 제시하지 않았으나 DBP 및 HA만을 첨가한 PLGA 지지체는 이들을 포함하지 않은 PLGA 지지체와 외관상의 차이를 발견할 수 없었다. 본 연구팀에서는 이전의 연구에서 DBP 및 HA를 혼합하여 다공성 지지체를 제조하더라도 물성의 변화가 크지 않고, 원하는 형태의 다공성 지지체를 제조할 수 있음을 확인하였다.^{13,20}

BDNF를 함유한 PLGA 지지체의 다공 분석. Figure 3은 50 및 200 ng의 BDNF를 함유한 지지체의 내부 다공 형태를 SEM 사진으로 확인한 사진이며, 기공과 기공사이의 연결이 양호하고, 대부분이 열린 셀 구조를 하고 있는 것으로 나타났으며 크기는 $180\ \mu\text{m}$ 의 크기에서 대부분이 $20\ \mu\text{m}$ 사이로서 영양분이 원활히 제공되어져 신경세포의 증식과 성장을 할 수 있는 공간을 지지해주며, 절단된 신경의 재생 이용 시 신경과 신경 사이를 연결하는 유도관으로 사용되었을 때, 주변의 신경세포 및 혈관세포들의 부착, 이동 및 성장하기에 좋은 다공 형태를 가진 것으로 판단된다.²⁹ 이 연구를 통해 BDNF의 농도가 증가할수록 다공의 크기가 작고 닫혀있는 형태를 확인할 수 있었으며, DBP 및 HA를 첨가하더라도 일정한 크기의 다공을 가진 지지체를 제조할 수 있음을 확인하였다. 또한, 상대적으로 큰 PLGA 다공 사이에는 DBP 및 HA가 잘 혼합되어 있는 구조적 특성을 잘 유지함을 알 수 있었다.^{13,36,37}

PLGA 지지체에서의 BDNF의 함량에 따른 방출 경향. PLGA는 별 크하게 분해가 일어남으로 인해 약물의 장기 방출에 유용하며, 분해물인 락타이드와 글리콜라이드 단량체는 독성이 없어 여러 방출 조절에 이용된다.² 이러한 특성을 가진 PLGA를 이용하여 지지체를 제조하였고 여기에 50 및 200 ng의 BDNF를 함유시켜 70일 동안의 방출 경향을 ELISA를 통해 관찰하였다. 방출 결과 약간의 초기 방출이 일어났지만, 시간이 지남에 따라 각기 다른 약물 함유량을 가진 지지체 모두 서방형의 방출 경향을 확인할 수 있었고, 이는 PLGA 내부의 BDNF가 PBS의 수용액에 의하여 서서히 분해됨에 따라 BDNF가 방출된 것으로 사료된다. 그리고 BDNF의 함유량에 따라 방출 경향이 다르며 BDNF가 200 ng이 함유된 지지체 내에서 방출된 BDNF의 양은 50 ng이 함유된 지지체의 양보다 더 많이 방출됨을 확인할 수 있었다(Figures 4 and 5).

PLGA 지지체에서의 DBP 및 HA 혼합에 따른 BDNF의 방출 경향. 얼음입자추출법으로 제조된 PLGA 지지체와 DBP 및 HA를 혼합

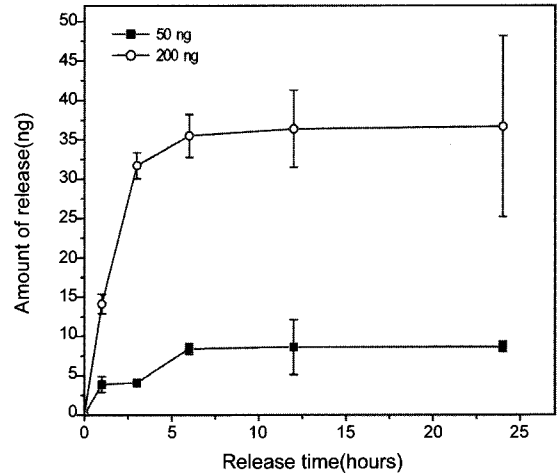


Figure 4. Release behavior of BDNF from BDNF-loaded PLGA scaffolds with two different BDNF loading amounts (1 day at 37°C).

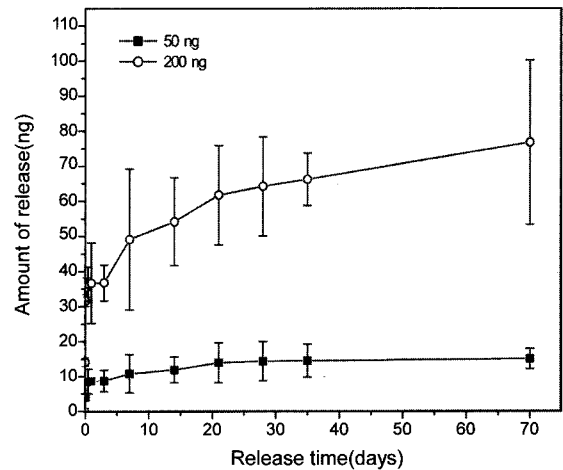


Figure 5. Release behavior of BDNF from BDNF-loaded PLGA scaffolds with two different BDNF loading amounts (70 days at 37°C).

한 PLGA 지지체를 단백질 약물 및 사이토카인의 전달체로서의 가능성을 확인하고자 모델 성장인자로 BDNF를 지지체 당 50 및 200 ng씩 로딩하여 지지체에서의 방출 경향을 확인하였다. BDNF가 함유된 지지체의 방출 확인은 70일 동안 수행하였으며 방출 기간 동안 지속적인 BDNF의 방출 경향을 확인할 수 있었다.

Figures 6과 7에 1일째에서의 BDNF의 방출을 나타낸 것으로, BDNF를 함유한 지지체는 약간의 초기 방출이 진행되었다. 50 ng의 BDNF를 함유한 지지체의 경우 약 17.3% (PLGA), 17.3% (DBP/PLGA), 15.5% (HA/PLGA) 및 17.3% (DBP/HA/PLGA)의 방출량을 보였고, 200 ng의 BDNF를 함유한 지지체의 경우 18.3% (PLGA), 19.5% (DBP/PLGA), 19.8% (HA/PLGA) 및 16.7% (DBP/HA/PLGA)의 방출량을 보였다. 이러한 초기 방출현상은 용출액에 BDNF가 담겨진 지지체를 담그게 되면 상대적으로 친수성을 띠게 되는 BDNF가 소수성의 지지체의 표면보다 물과 결합하려는 성질이 강하기 때문에 그만큼 물에 빨리 용해가 진행되어 초기 방출을 보일 뿐 아니

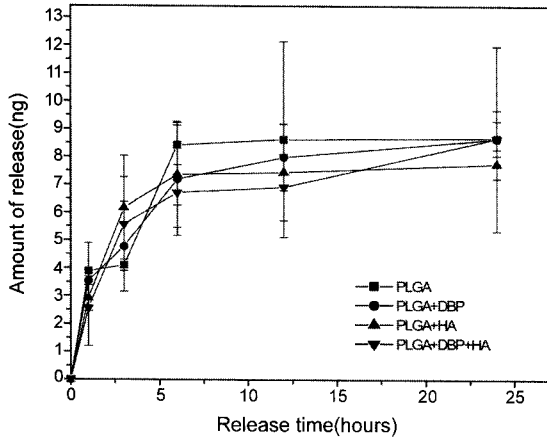


Figure 6. Release behavior of BDNF from 50 ng BDNF loaded scaffolds at 37 °C for 1 day.

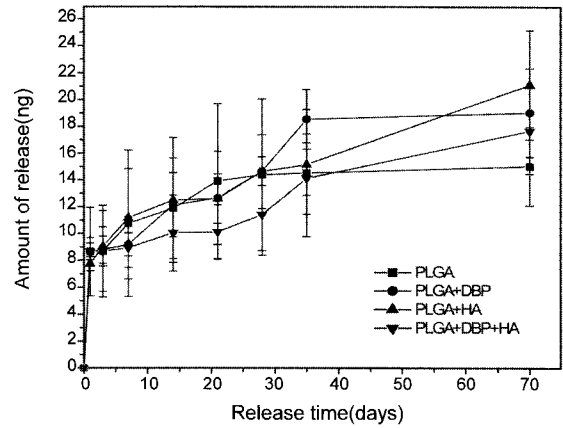


Figure 8. Release behavior of BDNF from 50 ng BDNF loaded scaffolds at 37 °C for 70 days.

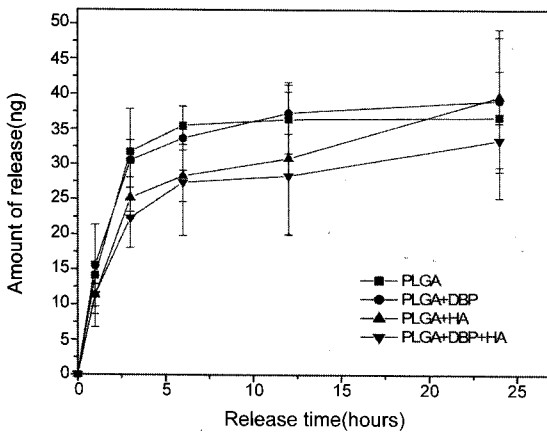


Figure 7. Release behavior of BDNF from 200 ng BDNF loaded scaffolds at 37 °C for 1 day.

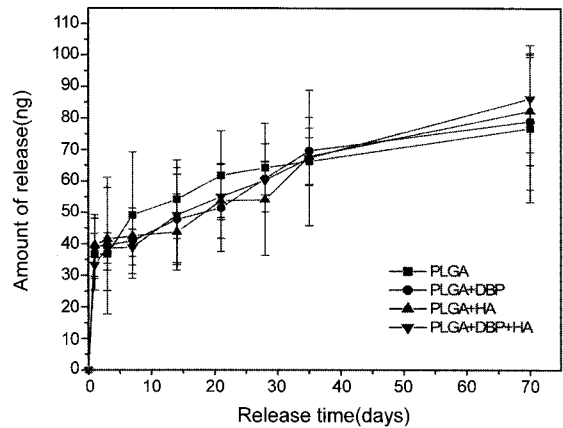


Figure 9. Release behavior of BDNF from 200 ng BDNF loaded scaffolds at 37 °C for 70 days.

라 바깥부분에 존재하던 BDNF가 용출액과 만나 초기에 빠른 방출을 보인 것으로 판단된다.

Figures 8 및 9는 70일 동안의 BDNF의 방출량을 나타낸 것으로 각각의 실험군에 대한 누적 방출 백분율을 계산할 때, 50 ng의 BDNF를 담지시킨 경우 약 30.1%(PLGA), 38.1%(DBP/PLGA), 42.2%(HA/PLGA), 35.3%(DBP/HA/PLGA)였고(Figure 7), 200 ng의 BDNF를 담지시킨 경우는 38.4%(PLGA), 39.5%(DBP/PLGA), 41.1%(HA/PLGA), 43.1%(DBP/HA/PLGA)의 방출을 보였다(Figure 8). 이 실험을 통해 BDNF를 DBP 및 HA가 함유된 PLGA 지지체에 혼합하여 제조한 경우, 보다 안정적이고 지속적인 방출을 확인할 수 있었다. 이는 DBP 및 HA의 영향으로 약물의 적절한 분포에 의해 일정한 속도로 용출액을 흡수하기 때문으로 사료된다. 또 지지체에 포함된 DBP 및 HA가 용출액과 접촉하면서 용해가 일어나게 되고, 팽윤되어 지지체내에 외부와 접촉할 수 있는 채널을 형성하기 쉬워서, 지지체 내부로 침투하는 물의 양을 증가시킴으로써 DBP 및 HA의 용해와 동시에 약물이 지지체 밖으로 빠져나오기 용이하므로 DBP 및 HA를 함유한 지지체에서 더 높은 방출 거동을 보인 것으로 사료된다.

이러한 결과로부터 약물전달체로 사용하기 위한 지지체 내에 약물

을 천연고분자와 합성고분자를 적절하게 균일·혼합하여 제조함으로써 약물의 방출 기간을 조절할 수 있음을 확인하였다.

방출 후 지지체의 모폴로지 변화 확인. 약물 방출 후의 지지체의 모폴로지 변화를 Figure 10에 나타내었다. 방출 후에는 모든 지지체의 다공 주변 부위부터 변화가 일어난 것을 확인하였고, 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,²⁹ 방출 후 SEM을 통한 지지체의 모폴로지 관찰 결과 다공표면에 존재하는 약물뿐만 아니라 지지체 내부 사이에 용출액이 침투하여 지지체 내부에 존재하는 약물 역시 분해 현상을 통해 방출이 가능함을 확인하였다. 또한 PLGA만으로 제조된 지지체 형태의 지지체보다 DBP 및 HA를 함유한 PLGA 지지체가 더 빠른 분해를 보였다. 이는 PLGA의 소수성 표면을 친수화시키는 DBP의 특성과,^{20,21} HA의 물과 쉽게 결합하는 특성으로¹³ 인해 DBP 및 HA를 포함하는 PLGA 지지체의 내부의 형태변화에 있어서 DBP 및 HA는 내부의 균열 증가와 용출액과 접촉하는 표면적을 증가시킨 것으로 사료된다. 또한, 이러한 붕괴현상이 물의 침투속도를 가속화시키고 빠른 팽윤작용에 의해 약물의 방출과 지

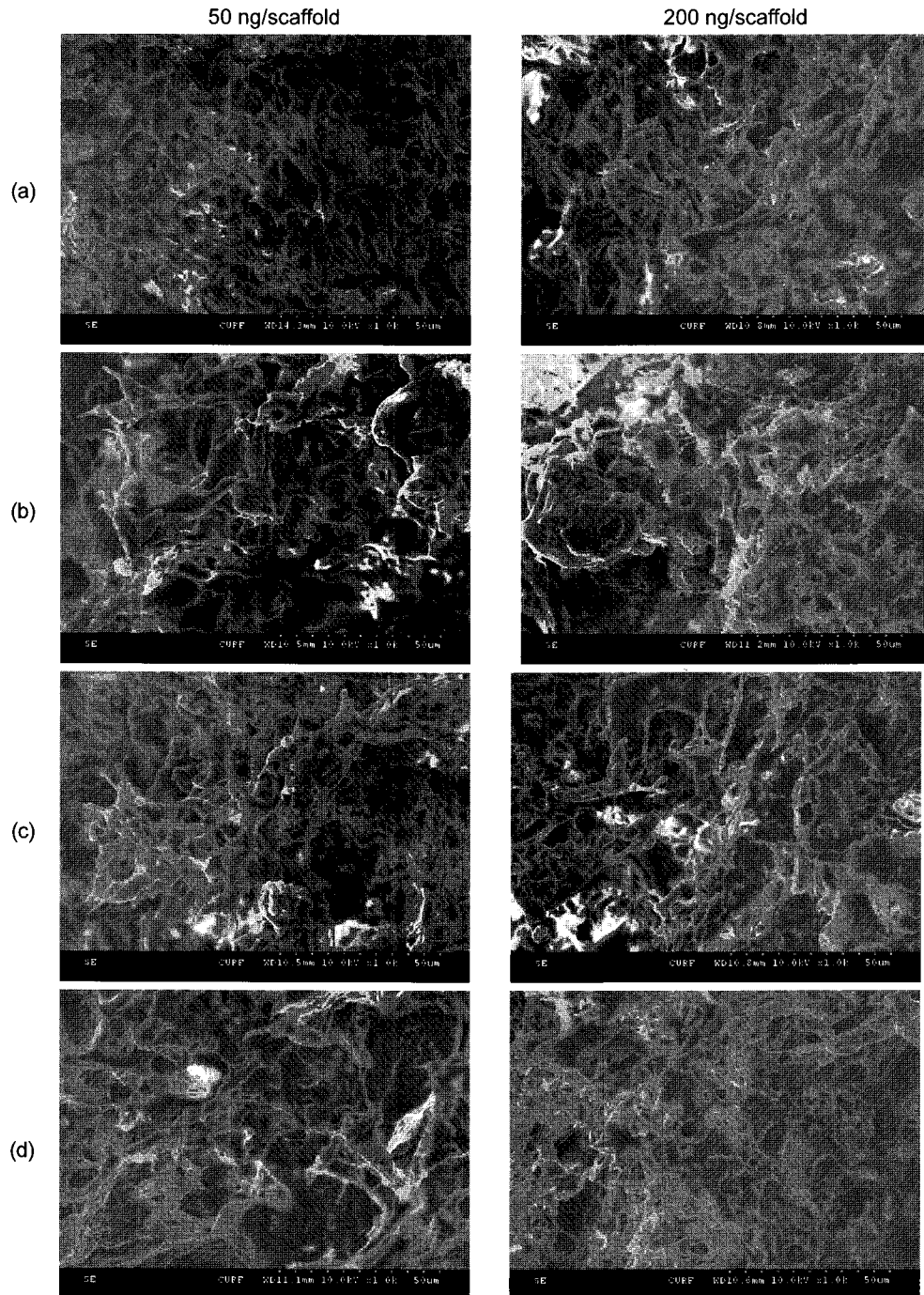


Figure 10. SEM photographs of different BDNF loaded scaffolds after 70 days in PBS solution. (a) PLGA only, (b) DBP/ PLGA, (c) HA/PLGA, and (d) DBP/HA/PLGA.

지체의 분해를 촉진시킨 것으로 예상된다.

상기의 결과를 통해 천연재료의 첨가로 인하여 자체 우수한 물성을 가지나 생체 외에서 분해 기간이 약 여섯 달 정도로 알려진 분자량 90000 g/mole인 PLGA의 분해 속도를 조절할 수 있을 것으로 보이고,¹³ 이는 서방형의 이식형 약물전달체로서 여러 용도로 사용할 수 있을 것으로 예상된다.

결론

성장인자의 서방형 전달체로서 가능성을 확인하고자 수행한 본 연구에서 천연/합성 고분자인 PLGA와 DBP 및 HA를 이용하여 지지체를 제조한 후 신경성장인자인 BDNF를 다양한 농도별로 함유시켜 이의 방출거동을 확인하고자 하였다. 얼음입자추출법으로 지지체를 제조하였는데 이는 약물의 서방형 지지체의 제조 방법인 염추출법에 비

해 수용성 단백질을 함유시킬 수 있고 지지체를 제조하는데 많은 시간이 걸리지 않으며, 저온조건만 잘 유지하면 제조방법도 매우 간단하다는 장점을 가지고 있으며 얼음입자를 조절하여 다공 크기 및 다공도를 조절함으로써 수용성 단백질의 서방형 지지체로서의 가능성을 확인하였다.²⁹ 생물학적 활성물질인 BDNF는 말초신경 및 중추신경계의 발생 및 유지·재생하기 위해서 꼭 필요한 물질로서,^{1,38,39} 이러한 성장인자가 지속적으로 방출되도록 하기 위해 PLGA 지지체에 혼합해서 BDNF가 순차 방출되는 지연적 과정을 ELISA를 통해 관찰하였다. 실험에 쓰인 모든 지지체에서 BDNF는 70일 동안 지속적으로 방출되었으나, DBP 및 HA를 함유하지 않은 지지체보다 함유한 지지체에서 안정적인 방출 결과를 보였고, 지속적인 방출을 확인하였다. 또한 BDNF의 함량별 방출 경향을 확인한 결과 BDNF의 함량이 증가됨에 따라 방출량도 증가됨을 알 수 있었다. 하지만, BDNF가 소수성의 지지체 표면보다 물과 결합하려는 성질이 강하고 바깥부분에 존재하던 BDNF가 용출액과 만나 약간의 초기머스트는 존재하는 것으로 확인되었다.

이로써 얼음입자추출법으로 제조한 DBP 및 HA를 함유한 PLGA 지지체는 DBP나 HA의 특성에 의하여 PLGA의 분해속도를 조절할 수 있고, 생리활성물질의 서방형 지지체로서의 가능성을 보여주었다. 또한, 신경재생에 긍정적인 영향을 주는 인자로 보고되고 있는 BDNF를 함유한 DBP/HA/PLGA 지지체는 손상된 중추신경 및 말초신경의 재생에 있어 기능성 지지체로서의 충분한 역할을 수행할 것으로 사료된다. 현재 본 연구를 바탕으로 생체 내에서 3차원적인 신경 재생을 위한 신경 유도관을 제조 중이다.

감사의 글: 본 연구는 세포융용연구사업단(SC4110)의 지원으로 이루어 졌으므로 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

1. 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).
2. G. Khang, M. S. Kim, B. H. Min, I. W. Lee, J. M. Rhee, and H. B. Lee, *Tissue Eng. Regen. Med.*, **3**, 376 (2006).
3. S. Petit-Zeman, *Nature Biotech.*, **19**, 201 (2001).
4. G. Khang, S. J. Lee, C. W. Han, J. M. Rhee, and H. B. Lee, *Adv. Exp. Med. Biology*, **657**, 235 (2003).
5. H. S. Choi, S. A. Seo, G. Khang, J. M. Rhee, and H. B. Lee, *Int. J. Pharm.*, **234**, 195 (2002).
6. Y. K. Ko, S. H. Kim, H. J. Ha, M. S. Kim, C. W. Han, J. M. Rhee, Y. Son, H. B. Lee, and G. Khang, *Tissue Eng. Regen. Med.*, **4**, 67 (2007).
7. Y. L. Cui, A. D. Qi, W. G. Liu, X. H. Wang, H. Wang, D. M. Ma, and K. D. Yao, *Biomaterials*, **24**, 3859 (2003).
8. S. M. Kim, S. H. Kim, C. M. Kim, A. Y. Oh, I. W. Lee, M. S. Kim, J. M. Rhee, G. Khang, and H. B. Lee, *Tissue Eng. Regen. Med.*, **4**, 583 (2007).

9. S. Mekki-Dauriac, E. Agius, P. Kan, and P. Cochard, *Development*, **129**, 5117 (2002).
10. J. See, P. Mamontov, K. Ahn, L. Wine-Lee, E. B. 3rd Crenshaw, and J. B. Grinspan, *Mol. Cell. Neurosci.*, **35**, 171 (2007).
11. D. M. Panchision, J. M. Pickel, L. Studer, and S. H. Lee, *Genes Dev.*, **15**, 2094 (2001).
12. J. B. Grinspan, E. Edell, D. F. Carpio, J. S. Beesley, L. Lavy, D. Pleasure, and J. A. Golden, *J. Neurobiol.*, **43**, 1 (2000).
13. Y. K. Ko, S. H. Kim, J. S. Jeong, J. S. Park, J. Y. Lim, M. S. Kim, H. B. Lee, and G. Khang, *Polymer(Korea)*, **31**, 505 (2007).
14. G. Prestwich, D. Marecak, J. Marecek, K. Vercruysse, and M. Ziebell, *J. Control. Release*, **53**, 93 (1998).
15. S. N. Park, H. J. Lee, K. H. Lee, and H. Seo, *Biomaterials*, **24**, 1631 (2003).
16. S. J. Kim, C. K. Lee, Y. M. Lee, I. Y. Kim, and S. I. Kim, *React. Func. Polymer*, **55**, 291 (2003).
17. S. Cai, Y. Liu, X. Z. Shu, and G. D. Prestwich, *Biomaterials*, **26**, 6054 (2005).
18. H. S. Yoo, E. A. Lee, J. J. Yoon, and T. G. Park, *Biomaterials*, **26**, 1925 (2005).
19. V. Zacchi, C. Soranzo, R. Cortivo, M. Radice, P. Brun, and G. H. Abatangelo, *Biomed. Mater. Res.*, **40**, 187 (1998).
20. Y. K. Ko, S. H. Kim, J. S. Jeong, H. J. Ha, S. J. Yoon, J. M. Rhee, M. S. Kim, H. B. Lee, and G. Khang, *Polymer(Korea)*, **31**, 14 (2007).
21. S. M. Kim, S. H. Kim, C. M. Kim, A. Y. Oh, M. S. Kim, G. Khang, J. M. Rhee, and H. B. Lee, *Tissue Eng. Regen. Med.*, **4**, 179 (2007).
22. S. M. Kim, S. H. Kim, C. M. Kim, A. Y. Oh, G. A. Kim, I. W. Lee, J. M. Rhee, G. Khang, M. S. Kim, and H. B. Lee, *Tissue Eng. Regen. Med.*, **4**, 589 (2007).
23. M. H. Cho, S. K. Kim, H. Hyun, 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).
24. E. K. Jeon, H. J. Whang, G. Khang, I. Lee, J. M. Rhee, and H. B. Lee, *Polymer(Korea)*, **25**, 893 (2001).
25. E. Vögelin, J. M. Baker, J. Gates, V. Dixit, M. A. Constantinescu, and N. F. Jones, *Exp. Neurol.*, **199**, 348 (2006).
26. S. M. Walker, V. A. Mitchell, D. M. White, R. A. Rush, and A. W. Duggan, *Brain Res.*, **899**, 240 (2001).
27. J. M. Pean, M. C. Venier-Julienne, F. Boury, P. Menei, B. Denizot, and J. P. Benoit, *J. Control. Release*, **56**, 175 (1998).
28. R. E. Eliaz and J. Kost, *J. Biomed. Mater. Res.*, **50**, 388 (2000).

29. K. D. Hong, K. S. Su, S. H. Kim, S. K. Kim, G. Khang, H. S. Shin, M. S. Kim, and H. B. Lee, *Polymer(Korea)*, **29**, 282 (2005).
30. J. W. Jang, B. Lee, C. W. Han, M. S. Kim, S. H. Cho, H. B. Lee, and G. Khang, *Polymer(Korea)*, **28**, 382 (2004).
31. 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).
32. G. D. Hong, G. 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).
33. G. Khang, C. S. Park, J. M. Rhee, S. J. Lee, Y. M. Lee, I. Lee, M. K. Choi, and H. B. Lee, *Korea Polym. J.*, **9**, 267 (2001).
34. G. Khang, P. Shin, I. Kim, B. Lee, S. J. Lee, Y. M. Lee, H. B. Lee, and I. Lee, *Macromol. Res.*, **10**, 158 (2002).
35. J. W. Jang, B. Lee, C. W. Han, I. Lee, H. B. Lee, and G. Khang, *Polymer(Korea)*, **27**, 226 (2003).
36. G. Khang, J. H. Jeon, J. C. Cho, and H. B. Lee, *Polymer(Korea)*, **23**, 471 (1999).
37. 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).
38. S. U. Kim, *Tissue Eng. Regen. Med.*, **1**, 33 (2004).
39. S. U. Kim, J. H. Bang, and I. H. Park, *Tissue Eng. Regen. Med.*, **2**, 308 (2005).