

조직재생을 위한 고분자 지지체의 최근 연구개발 동향

정윤기¹, 박기동¹, 박귀덕², 한동근²

¹ 아주대학교 분자과학기술학과, ² 한국과학기술연구원 바이오소재연구센터

Recent Progress in Study and Development of Polymeric Scaffolds for Tissue Regeneration

Yoon Ki Joung¹, Ki Dong Park¹, Kwideok Park², Dong Keun Han²

¹ Department of Molecular Science and Technology, Ajou University, San 5, Woncheon, Youngtong, Suwon 442-749, Korea

² Biomaterials Research Center, Korea Institute of Science and Technology, P.O. Box 131, Cheongryang, Seoul 130-650, Korea

(Received July 16, 2008. Accepted July 16, 2008)

Abstract

In tissue engineering, scaffolds play an important role in the growth of cells to 3-D organs or tissues. For the success of tissue engineering, they should be mimicked to meet the requirements of natural extracellular matrix (ECM) in the body, such as mechanical properties, adhesiveness, porosity, biodegradability, and growth factor release, etc. Contrary to other materials, polymeric materials are adequate to engineer scaffolds for tissue engineering because controlling the structure and the ratio of components and designing various shapes and size are possible. In this review, the importance, major characteristics, processes, and recent examples of polymeric scaffolds for tissue engineering applications are discussed.

Key words : Tissue engineering, polymeric scaffolds, porous sponge, nanofiber, hydrogel, RP, tissue regeneration

I. 서 론

조직공학은 공학, 생물학 및 약학 등의 학문을 기반으로 하는 포괄적인 학문분야로서, 이식 가능한 신체 조직의 재생이 가능한 재료를 개발해 내는 기술을 총칭해 일컫는다.[1] 일반적인 조직공학적 접근법에서, 세포들이 3차원상의 다공성 지지체(scaffold)의 형태를 가지는 생분해성 재료에 주입되는 과정은 필수적이며 그 후에 인공적으로 체외에서 배양되거나 직접 체내에 이식되어 실제 조직으로 또는 그와 유사한 조직으로 유도되는 과정을 거치게 된다. 여기서 조직 재생력을 가진 세포, 그 세포의 형태 형성(morphogenesis)에 필요한 3차원 지지체 및 세포의 형태 형성을 촉진해 주는 성장인자(growth factor)는 조직공학을 위한 필수 요소로 알려져 왔으며, 여기에 생체반응기와 같은 요소가 추가적으로 요구되기도 한다. 재생력을 가진 세포들을 3차원 조직이나 장기로 성장하도록 유도하기 위해서는 일차적으로 지지체의 역

할이 매우 중요하다. 실제로 신체 내부의 세포들은 fibrous proteins과 proteoglycans, glycoproteins로 구성된 조직의 주요한 물질인 세포외 기질(extracellular matrix, ECM)에서 기인하는 여러 자극에 반응한다.[2] 이와 같은 맥락에서 인위적인 방법을 통해 체내에 존재하는 실제 ECM을 모사하는 것은 조직공학의 주요 현안으로 인식되고 있다.

이와 같이 ECM과 같은 기능과 성질을 모사하기 위해서 그동안 여러 가지 생체재료가 탐색되고 제조되어 왔다. 금속 재료는 우수한 기계적 강도로 인해 단단한 조직을 대체하는 의학용 이식물(implant)로 자주 사용되어 왔으나, 생체 환경에서 전혀 분해되지 않는 성질로 인해 지지체로서의 응용에 한계를 가진다.[3] 무기/세라믹 재료로는 보통 hydroxyapatite (HAP)나 calcium phosphates와 같은 재료들이 사용되고 있는데, 좋은 골유도능(osteocompatibility)으로 인해 미네랄화된 조직의 재생을 위해 연구가 많이 되고 있으나 쉽게 부서지는 성질로 인해 다공성 구조로 제조하는데 한계가 있다.[4] 이들과는 대조적으로, 고분자 재료는 특정 응용목적에 따라 요구되는 조건에 맞게 그 구조와 조성의 조율이 가능하기 때문에 다양한 재료의 도안이 가능하다.[5-7] 따라서 고분자는 다양한 조직공학적 응용에 폭넓게 연구되고 있다. 본 총설에서는 조직공학적 응용에 이용되는 고분자 지지체에 대한 최근의 연구사

Corresponding Author : Ki Dong Park
San 5, Woncheon, Youngtong, Suwon 442-749, Korea
Tel : +82-31-219-2944 / Fax : +82-31-219-1592
E-mail : kdp@ajou.ac.kr

Corresponding Author : Dong Keun Han
P.O. Box 131, Cheongryang, Seoul 130-650, Korea
Tel : +82-2-958-5282 / Fax : +82-2-958-5308
E-mail : dkhan@kist.re.kr

표 1. 국내 허가 및 임상 중인 지지체 및 재생조직

Table 1. Scaffolds and regenerated tissues approved or under clinical testing in Korea

기업	상품명	적용조직	지지체	개발단계
리젠 바이오텍	InnoPol®-D InnoPol®-C	진피(음경 확대) 연골	PLGA	허가 전임상
메디포스트	Cartistem™	연골	하일론산겔	임상
세원셀론텍	Ostem® Chondron®	뼈 연골	-	임상 허가
듀플로젠	Articell®	연골	-	허가
테고 사이언스	Holoderm® Kaloderm®	자가표피 동종표피	-	허가 허가
안트로젠	Adipo-cell®	지방	-	허가

례와 개발 동향에 대해서 고찰할 것이다. 현재 미국에서 인공피부와 인공연골만이 조직공학적으로 상품화되었으며, 우리나라도 표 1에서와 같이 몇 가지 제품이 조직공학기법을 이용하여 제조하여 상품화되었거나 임상실험 중에 있다.

본론의 첫 장에서는 조직재생을 위해 고분자 지지체의 제조가 중요한 이유를 설명한다. 실제의 ECM을 모방하기 위해서 고분자 재료를 이용하는 인공 또는 합성 ECM이 갖추어야 할 요건들과 이들과 연관된 재료의 성질들은 어떤 것들이 있는지에 대해 논의된다. 뿐만 아니라 이제까지 개발된 지지체들의 한계와 이를 극복하기 위한 다양한 공학적 접근법에 대해서도 소개하고 고찰한다. 두 번째 장부터는 고분자 지지체의 제조 방법에 따라 다공성 스폰지, 부직포 메쉬(mesh) 나노섬유, 하이드로겔 및 신속조형(rapid prototype, RP) 지지체 등 다양한 형태의 지지체에 대해 소개할 것이다(그림 1). 다공성 스폰지는 초기부터 사용되어 왔으며 널리 사용되고 가장 잘 알려진 지지체의 형태이다. 망상구조 형태의 부직포 지지체는 나노기술에 대한 관심이 증대되면서 섬유형태의 ECM 내부구조를 모방하기 위해 최근에 활발히 연구되고 있는 분야이다. 하이드로겔 형태의 지지체는 세포의 주입이 용이할 수 있으며 환자에게 이식을 위한 외과적 수술 없이 주사기를 이용한 주입을 통해 상해를 최소화할 수 있다는 장점이 있다. 이 외에도 광조형술에 의한 RP 등을 포함하여 다양한 형태의 지지체들이 폭넓게 연구되고 있으며, 기존의 지지체들의 한계를 극복하기 위해 점점

개선된 지지체의 개발이 요구되고 있다. 따라서 이에 대한 내용도 본문에서 함께 소개한다.

II. 조직공학에서 고분자 지지체의 중요성

앞에서 언급했듯이 체내의 ECM을 제대로 모방하기 위해 ECM의 기능에 대해 간단히 정리해 보고자 한다. 정상적인 천연 ECM은 단순히 기계적으로 지탱하는데 기여하는 것을 넘어 조직의 형성, 유지 및 재생에 있어서 중요한 신호적 및 조율하는 역할을 수행한다.[8] ECM 성분들은 성장인자나 호르몬에 의해 제공되는 다양한 신호와의 상승작용으로 다양한 형질 도입(transduction) 메커니즘을 통한 유전자 발현의 조직 특이적 조절에 관여한다.[9] 게다가 ECM은 자체적으로 세포와의 상호작용을 통해 활발하게 재구성되는 역동적인 구조를 가진다.[10] 한 예로, 세포는 ECM과의 상호작용을 통해 표면에 부착한 후 영양분과 산소의 공급을 통해 이동하고 증식하며, 발현되는 부산물과 이산화탄소를 제거하면서 조직으로 형태를 형성해 간다. 그러나 이미 성장된 ECM을 분해하거나 조직을 재생하는 과정에서 일어나는 복잡한 기능들을 이해하는 것은 쉽지 않다. 따라서 다양한 공학적인 접근을 통해 우회적인 방법으로 이들을 모방하거나 오랜 기간 관련 지식의 축적을 통해 이를 해결해 나가고 있다.

필수적인 세포간의 반응을 재현하고 세포내 반응을 촉진하기 위

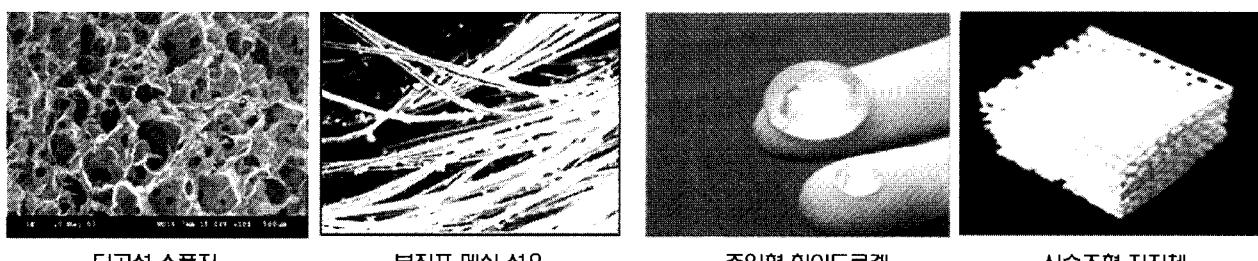


그림 1. 조직재생용 생분해성 고분자 지지체의 종류.
Fig. 1. Biodegradable polymer scaffolds for tissue regeneration.

해 ECM의 모방이 필수적이라는 가설은 이미 널리 알려져 있다. 이를 위해 합성된 ECM에 요구되는 조건들은 다음과 같다. 첫째 요건은 재료가 생분해성이며 다른 생리학적 현상을 방해하지 않아야 한다.[11] 이러한 기능은 세포를 위한 3차원 공간을 유지하면서 정상적인 세포 성장과 분화를 촉진하는 능력을 말한다. 두 번째로, 지지체는 어떠한 부정적 영향을 주는 조직 반응을 촉진하거나 촉발해서는 안 된다.[12] 한번 *in vitro*나 *in vivo* 형태로 제공된 후에는 재료는 화학적 분해나 흡수를 통해 제거되거나 자연적인 형태 변형 메카니즘에 포함되어야 한다. 그러나 위와 같은 기본적인 조건들만으로는 성공적인 조직재생을 위한 지지체의 요건을 충족하지 못하며 수동적인 요건에 지나지 않는다. 여기서 더 나아가, 능동적인 3차원상의 상호 연관성이 내부와 외부 자극에 의해 영향을 받으며 지속적으로 균형을 유지해야 한다.[13] 결국 지지체 재료는 3차원 상에서 세포와 상호작용을 할 수 있어야 하며 이러한 상호간 신호전달을 촉진해야 한다.

이러한 요건들을 충족시키기 위해 지지체가 이를 구성하는 재료가 갖추어야 할 성질들에는 여러 가지가 있다. 재료의 화학적 성질은 고유의 재료가 가지고 있는 생분해성, 전하 또는 점탄성 등에 영향을 주게 되며, 따라서 재료의 선택의 문제에서 중요하게 요구되는 요소이다. 또한 지지체의 구조적인 층면이 세포의 기능, 운명 및 조직 형성에 영향을 줄 수 있다고 인식되어 왔다.[14] 이것은 3차원 구조의 마이크로- 및 나노-구조체를 위한 제조 공정의 발달을 통해 동기화되었으며 이러한 구조에서 공극의 구조, 표면적과 부피의 비율, 망상구조와 그 표면의 기하학적 형태 등이 세포의 모양과 정열 및 배열을 조절할 수 있다는 사실은 이를 뒷받침해 준다.[15-17] 게다가 재료의 기계적 성질들과 세포에 전달되는 기계적 자극이나 신호의 조절은 이들이 세포의 표현형(phenotype)과 기능 및 패턴화(patterning)에 크게 영향을 주는 것으로 알려지면서 조직공학의 최대 관심 분야로 부상하였다.[18-20] 다음 장에서는 이러한 요건들을 충족시킬 수 있는 여러 가지 형태의 지지체에 대한 몇 가지 응용 사례들을 논의한다.

III. 지지체의 종류 및 특성

A. 다공성 스폰지(Porous sponge)

다공성 스폰지 형태의 지지체는 조직공학의 초기부터 제안된 가장 전통적인 형태의 세포 지지체이다. 기본적으로 지지체에 요구되는 조건들은 세포를 지탱하고 세포가 부착하기 위한 매질과 부착한 세포가 이동하고 증식 및 분화하고 조직으로 리모델링을 할 수 있는 공간, 성장인자와 호르몬과 같은 영양분이나 산소가 이동하거나 부산물이나 이산화탄소가 배출되는 통로이다.[21] 따라서 지지체가 상호 연결되어 있는 다공성 구조를 가져야 한다는 발상은 매우 당연한 논리이다. 다공성 스폰지의 제조 방법에는 solvent casting, 입자나 염의 침출(leaching), 상분리 및 gas foaming 등이 있다.[22-25] 제조 방법은 보통 재료의 종류에 따라 선택되지만 지지체의 기계적 성질, 분해 속도, 다공성, 공극의 크기 등에 영향

을 주기 때문에 원하는 성질들을 고려하여 다양하게 선택할 수 있으며, 한 가지 이상의 방법을 동시에 또는 연속적으로 사용할 수도 있다. 대체로 고전적이며 폭넓게 사용되어 왔기 때문에 각각의 제조 방법에 대한 자세한 설명은 다른 문현을 참조할 수 있으며[26] 본 총설에서는 몇 가지 예를 들어 실제 응용의 측면에서 고찰하고자 한다. 그동안 조직공학용 생체재료로는 기본적으로 미국 FDA가 허가한 생분해성 합성 polyesters인 poly(lactic-co-glycolic acid) (PLGA), poly(L-lactic acid) (PLLA) 및 poly(glycolic acid) (PGA)가 폭넓게 사용되어 있으며 여러 가지 천연 고분자 또한 많이 사용되고 있다.

특히 효과적인 조직재생을 목적으로 이중 기공(dual pore)을 가지는 생분해성 고분자 스폰지가 KIST 한동근 연구팀에 의해 개발되었다.[26] 크기가 현격히 다른 두 종류의 기공은 매질 내에 존재하는 큰 기공(200-300 μm)과 매질의 벽에 존재하는 작은 기공(5-20 μm)으로 구성된다. 이러한 다른 크기의 이중 기공 시스템은 세포의 부착과 물질의 이동 및 확산에 유리할 것이라는 가설을 바탕으로 제안되었다. PLLA나 PLGA를 dioxane과 물의 적절한 비율에서 녹이고, 여기에 sodium bicarbonate를 첨가하여 동결 건조시킨 후(상분리 과정), 최종적으로 gas foaming 과정을 거치게 된다. 이와 같은 과정에 의해 생성된 스폰지의 내부 구조는 그림 2에서 보는 바와 같이 현격히 다른 두 종류의 기공을 가지게 된다. 측정 결과, 기공률은 90% 이상으로 단일 기공(unipore)의 스폰지와 비교해 증가했으나 기계적 강도는 다소 감소하였다.

또한 이 연구팀은 소수성의 다공성 지지체의 자체표면을 간단한 방법으로 친수화시켜 연골 재생에 어떠한 영향을 주는지에 대해서도 조사하였다.[27] Gas foaming법에 의해 제조된 PLLA 스폰지의 표면을 산소 플라즈마 처리하여 활성화시킨 후, 아크릴산(acrylic acid)을 플라즈마 chamber내에서 직접 *in situ* graft 중합하여 표면을 친수화하였다. 이러한 처리에 대한 영향을 확인하기 위해 연골세포(chondrocyte)를 주입하여 배양해 본 결과, 개질된 표면이 세포의 부착과 증식에 효과적이라는 것이 입증되었으며,

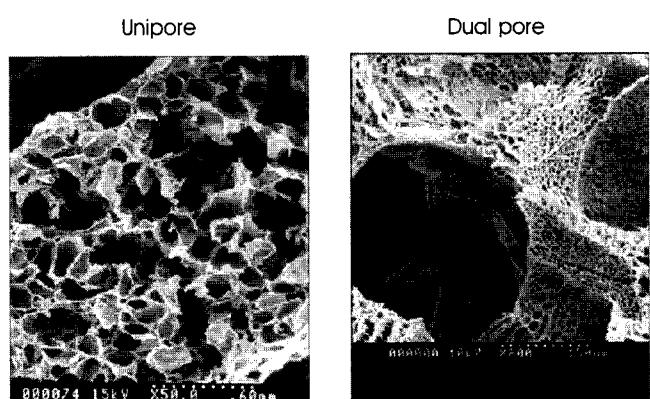


그림 2. Gas foaming법에 의해 제조된 단일 기공(unipore) 및 이중 기공(dual pore)을 가진 PLLA 스폰지의 내부 구조의 주사전자현미경(SEM) 사진.
Fig. 2. SEM images of PLLA sponges fabricated by gas foaming method.

in vivo 4주간의 배양을 통해 확인된 ECM 성분인 glycosaminoglycan (GAG)의 염색 결과는 개질되어 친수화된 표면이 미처리 표면보다 훨씬 더 많은 ECM 성분을 합성, 분비하는 것으로 나타났다(그림 3). 이런 결과들을 바탕으로, 이중 기공을 가진 PLLA 스판지를 합성하여 연골재생용 지지체로서의 활용 가능성을 확인하는 연구가 수행되었다.[28] 추가적으로 세포의 부착을 촉진하기 위하여 표면에 세포 부착에 특이적인 RGD 리간드 펩타이드를 결합하여 연골세포의 증식과 ECM의 생성에 대한 영향을 확인하였다. RGD 펩타이드는 위에서 설명한 것과 같은 방법으로 먼저 스판지의 표면을 처리한 후 고정화하였다. 결과는 세포의 증식과 GAG 함량에서 RGD 펩타이드가 고정화된 표면이 현격히 좋은 결과를 보여주었으며, 재생된 조직을 염색한 결과도 동일한 결과를 나타내었다.

최근에는 줄기세포의 분화를 촉진하는 다공성 스패지 지지체의 활용에 연구가 집중되고 있다. 그 사례를 간단히 살펴보면, mesenchymal stem cells (MSCs)의 3차원 배양을 통해 콜라겐 스팸지를 이용하여 그 세포의 연골로의 분화 과정을 연구한 사례가 있다.[29] 특이할 만한 것은 세포가 주입된 후에 세포의 유출을 막기 위해 세포의 크기보다 작은 막으로 지지체를 쌓아서 배양하였다는 것이다. 세포의 증식, 분화를 촉진시키기 위해 transforming growth factor- β_3 (TGF- β_3)와 bone morphogenetic protein-6 (BMP6) 성장인자를 같이 함유시켰다. 결과적으로 이러한 모든 요소들이 세포의 부착, 증식 및 분화에 영향을 준다는 것을 다양한 면역학적 염색법을 통해 증명하였다. 또 다른 예로서는, 다공성 실크(silk) 스팸지를 이용하여 human bone marrow-derived mesenchymal stem cells (hMSCs)의 배양을 통해 인대 조직공학의 가능성을 확인해 보는 연구가 수행되었다.[30] 메쉬 형태의 지지체에 세포를 주입할 때 하이드로겔 시스템이 필요한 경우가 있으나 무릎 십자 인대(anterior cruciate ligament, ACL)의 재생에서는 그러한 젤 시스템이 역학적 운동이 가해지는 부위에 적합하지 않다. 실험을 통해서 메쉬 형태의 실크 지지체에 주입된 hMSC의 부착성이 더 우수했으며 RT-PCR 분석과 면역학적 염색을 통해 인대 조직과

연관된 ECM 조성들이 많이 발현됐음을 확인할 수 있었다. 이와 같이 다양한 조직공학 응용에 따라 적합한 지지체의 선택이 중요하다는 것을 연구 사례를 통해 알 수 있다.

B. 부직포 나노섬유(Non-woven Nanofiber)

천연조직에서 ECM 단백질(50-500 nm 직경의 섬유들)은 세포 보다 10-100 배 정도 작으며 이것이 세포가 많은 ECM 섬유들과 직접적으로 접촉하게 하는 이유라고 할 수 있다. 이러한 특성은 조직공학의 성과를 좌우하는 중요한 요소일 수도 있다. 성공적인 조직재생을 위해서는 적절한 신호들이 세포 간에 또는 세포와 주변 간에 서로 소통되어야 하기 때문이다. 이런 측면에서 조직공학을 연구하는 자들은 나노기술과 나노섬유의 응용에 주목하였다. 종래의 부직포 메쉬 고분자 제조기술들은 실제의 ECM 단백질의 크기 보다 작은 10 마이크로 직경 이하의 섬유를 제조하는데 어려움을 가져 왔다. 이런 이유로 ECM을 구성하기 위한 나노섬유를 제조하는 기술에 대해 관심이 집중되었다. 현재까지 나노섬유형 조직공학 지지체를 제조하는 기술은 자가조립(self-assembly), 상분리(phase separation), 전기방사(electrospinning)법으로 크게 세 가지로 나눌 수 있다.[31-33]

먼저 자가조립은 미리 구상된 구조로 비공유결합을 통해 안정하고 잘 배열된 구조로 각 조성들이 일시적으로 조합되는 현상을 말한다.[34] 자가조립은 생화학적인 관점에서도 체내의 여러 분자 사이에 조합을 이루는 원리이며, 인공적인 경우에는 양친매성 블록 공중합체나 peptide-amphiphiles (PA)과 같은 특정 고분자들에서만 발생한다.[35] 하나의 예로서, PA가 가장 대표적이다. 골 조직 재생을 위한 한 연구에서 PA는 긴 알킬 사슬이 소수성을 위해 도입되고 4개의 cysteine 잔기가 중합을 위한 disulfide 결합을 생성하기 위해 도입되며, 친수성의 머리 부분에 탄력성을 주기 위해 세 개의 glycine 잔기가 연결고리가 되는 구조를 갖도록 설계되었다.[36] 이와 같은 PA는 산성에서 자가조립이 유도되며 수용액에서 소수성 알킬 사슬이 서로 클러스터를 이루어 조립되고 친수성 머리 부분은 물에 노출되게 된다. 이러한 기술은 일반적으로 5-8 nm의 직경을 가지는 나노섬유를 형성한다. 다른 자가조립 방법에는 2가 이온성 자가조립과 표면에서 건조하는 방법 등이 있다.[37] 전자의 경우는 Ca^{2+} 이온이 첨가가 젤이 되는 현상이 예가 될 수 있다.

상분리법은 다공성 고분자막을 제조하기 위한 기술로서 이미 수년전부터 사용되어 왔으나 최근에는 3차원 나노섬유형 지지체를 제조하기 위해 폭넓게 사용되고 있는 기술이다. 이러한 지지체는 다양한 생분해성 polyesters를 가지고 제조될 수 있으며, 그 다공성 구조는 천연 ECM을 구성하는 콜라겐 섬유와 유사한 50-500 nm의 범위를 가진 나노섬유로 구성되게 된다.[38] 상분리는 고분자 용액상에서 고분자가 많은 부분과 용액이 많은 부분 간에 발생하는 열역학적 분리 현상이다. 간략히 제조방법을 설명하면, 상분리가 된 고분자 용액은 젤을 형성하고 그 젤로부터 물을 이용하여 용액이 추출된 후, 유리전이온도 이하로 냉각하고 진공하에서 동

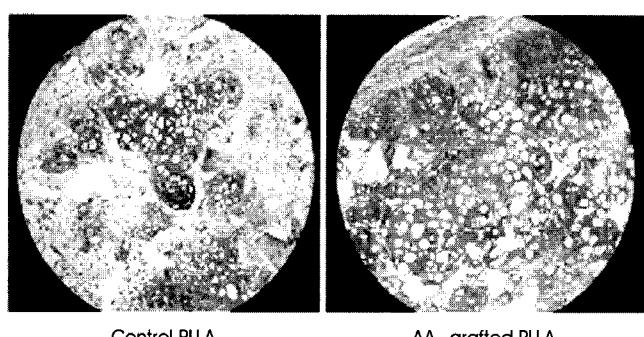


그림 3. Safranin O 염색을 통한 미처리 및 친수화된 PLLA 스팸지내의 GAG 형성 사진.

Fig. 3. Images of GAG-synthesized PLLA sponges stained with Safranin O.

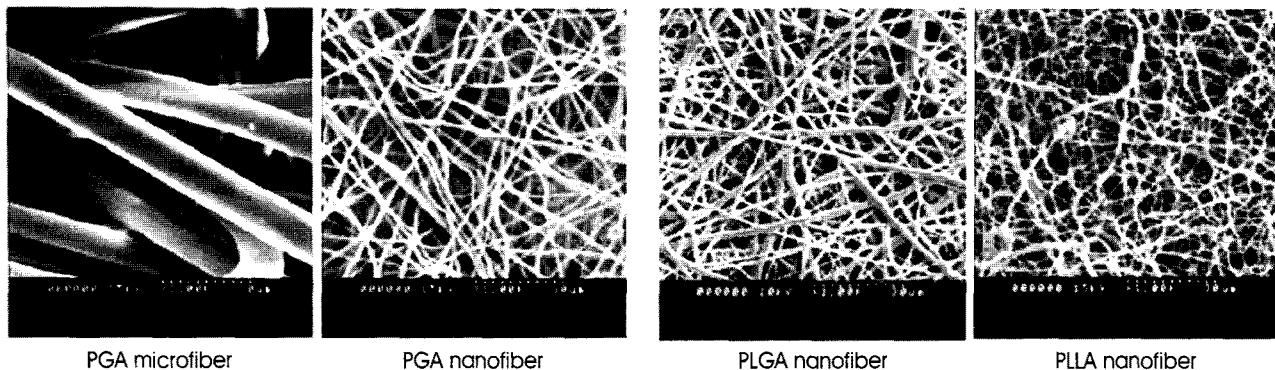


그림 4. PGA 마이크로섬유형 지지체와 다양한 나노섬유형 지지체의 주사전자현미경(SEM) 사진.

Fig. 4. SEM Images of PGA microfibrous scaffold and various nanofibrous scaffolds.

결건조하면 섬유형 구조가 얹어진다. 다공성 구조는 다양한 porogens(sugar, inorganic salt, paraffin spheres 등)의 첨가를 통해 조절될 수 있다.

마지막으로 전기방사는 Lord Rayleigh에 의해 19세기 후반에 최초로 고안된 기술로서, 간략한 형태로는 목표하는 매질과 고분자 용액사이에 전기장을 생성하여 재료를 만드는 공정을 말한다.[39] 이 기술은 공정이 비교적 간단하고 지지체의 구조와 기계적 성질을 사용자가 쉽게 조절할 수 있기 때문에 최근 들어 조직공학 분야에서 광범위하게 사용되고 있다.[40] 일반적으로 PGA, PLLA, PLGA 및 polycaprolactone (PCL) 등과 같은 생분해성 합성 고분자뿐만 아니라 콜라겐(collagen), 젤라틴(gelatin), 엘라스틴(elastin), 피브리노겐(fibrinogen)과 같은 천연 고분자까지도 전기 방사되어 지지체로 제조될 수 있다. 보통의 경우 나노섬유가 생산되며 적절한 장치를 통해 다양한 형태로 적층하여 제조될 수 있다.

일반적으로 다공성을 가지는 나노섬유형 지지체의 경우 여타 다른 지지체와 비교해서 좀 더 ECM과 유사한 구조를 가지기 때문에 유리한 면이 있다.[41] 천연 ECM을 구성하는 단백질들과 세포들 간의 상호작용은 매우 중요한 것으로 알려져 있는데, 이와 같이 ECM을 구성하는 성분을 이용하여 지지체를 제조한다면 매우 유리할 것이다. 그러나 면역성의 문제, 기계적 성질, 분해, 재현성의 변화 등은 단점으로 지적되고 있다. 따라서 합성 고분자 또는 합성과 천연 고분자를 함께 사용하여 지지체를 제조하는 것이 많은 이점을 제공해 줄 수 있다. 특히 합성 고분자의 경우에는 표면을 개질 한다거나 생체활성을 가진 물질을 이용해서 세포와 매질간의 상호작용 조절과 같은 역동적인 ECM의 기능을 부여해 주어야 한다. 전기 방사법을 이용해 합성 고분자를 나노섬유형 지지체로 제조하여 활용한 사례를 들어 논의해 보고자 한다.

한동근 박사팀은 생분해성 합성 고분자들을 전기 방사법을 이용하여 나노섬유로 구성된 지지체를 제조하고 그 표면을 다양하게 처리하여 세포와의 상호작용에 관하여 연구하였다. 기존에 출시된 PGA 마이크로섬유와 비교하기 위해서 PGA, PLGA 및 PLLA와

같은 생분해성 합성 고분자를 사용하여 전기 방사법을 통해서 나노섬유를 제조하였다(그림 4). 제조된 지지체에 산소 플라즈마를 처리하고 poly(acrylic acid) (PAA)를 그래프트 형태로 결합시켜 친수성 표면을 가진 나노구조체로 개질하였다.[42] 이 지지체를 구성하는 나노섬유의 직경은 250-750 nm였으며 기공의 크기는 약 30 μm 정도를 보였다. 세포실험을 통해, 그 친수화된 지지체의 표면이 섬유아세포(fibroblast)의 증식과 부착을 크게 증가시키는 결과를 나타내었다(그림 5).[43]

한편 천연 고분자를 이용해서 나노섬유로 구성된 지지체를 제조하여 조직공학에 응용한 사례가 최근에 많이 보고되고 있다. 그러나 천연 단백질과 같은 천연고분자 재료를 이용해서의 한 가지 한계점은 매우 복잡한 문제를 불러오는 glutaraldehyde로 가교하는 과정이 불가피하다는 것이다. 한 연구 예에서는, 이러한 문제의 해결을 위해 전기방사를 통해 제조된 콜라겐과 엘라스틴의 나노섬유로 구성된 지지체에 PCL 합성 고분자를 약간 함유시켜 제조하였으며 제조된 지지체는 높은 기계적 강도를 보여주었다.[44] Adipose-derived stem cells (ASCs)의 주입을 통해 확인한 지지체의 기능 평가를 통해서도 세포의 부착과 이동에 우수함이 증명되었다. 또한 나노섬유를 이용하여 줄기세포의 분화에 대한 연구 또한 매우 활발하게 연구되고 있는 분야이다. Ma 연구팀은 bone-marrow-derived hematopoietic stem cells (BM-HSCs)와 지지체의 미세환경 간의 상호작용이 세포의 부착 거동과 증식, 분화에 영향을 준다는 가설을 실험을 통해 증명하였다.[45] 지지체는 전기방사를 이용해 PLGA와 콜라겐을 나노섬유로 제조하여 구성했으며 지지체의 표면이 세포 부착에 관여하는 E-selectin으로 처리되었다. 이렇게 제조된 지지체는 상당히 증가된 세포의 부착을 유도하였고 증식과 분화 또한 증가한다는 결과를 도출하였다.

C. 주입형 하이드로겔(Injectable hydrogel)

조직공학을 위해 세포를 이식하는 수단에는 체내에 주입할 수 있는 하이드로겔을 지지체로 이용하는 방법도 있다. 하이드로겔은 대부분 생체적합성이 좋으며 체내의 고분자 형태의 조성들과 구조

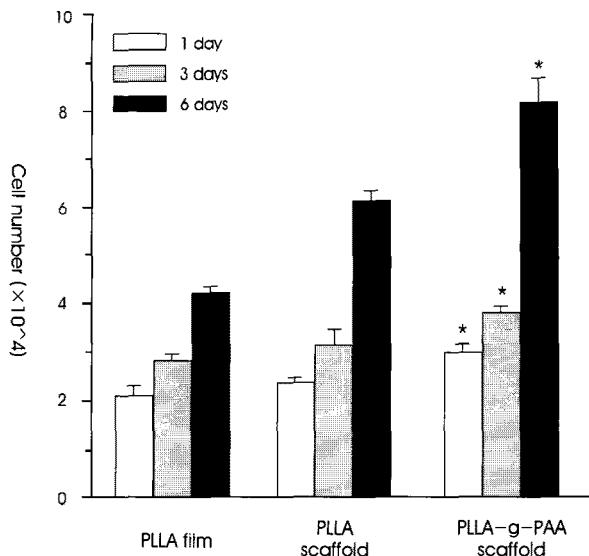


그림 5. PLLA 지지체에서 배양된 섬유아세포의 증식 결과 비교(*: p<0.05에서 통계학적으로 유의한 차이를 보임).

Fig. 5. Comparison of fibroblast proliferation on surfaces of different PLLA scaffolds (* statistically significant at $p<0.05$).

적 유사성을 가진다.[46] 하이드로겔은 이전부터 약물전달 분야에서 폭넓게 활용되어 왔으나 최근 10년간은 조직공학 응용에도 활발히 연구되고 있으며, 특히 주입형 지지체로의 개발로 인해 더욱 폭넓게 연구되고 있다.[47] 하이드로겔이 조직공학용 지지체로서 가져야 할 요건들은 일반적인 지지체의 요건과 거의 유사하다. 생체적합성, 적절한 기계적 성질, 조절된 분해 시간 및 세포 부착성 등이 그러한 요건들이다. 이 외에는 하이드로겔의 형성 메카니즘이 있는데, 이온성, 공유결합성과 소수성 사슬간의 결합에 의한 상전이 거동 등이 포함된다.[48] 이것 또한 다른 요건들과 상호 연관되어 있어 같은 측면에서 고려되면 될 것이다.

전통적으로 사용되는 하이드로겔 재료는 크게 두 가지로 나눌 수 있다. 하나는 천연 고분자로서 콜라겐 및 젤라틴, 히알루론산(hyaluronic acid, HA), 피브린(fibrin), 알지네이트(alginate), 아가로스(agarose), 카토산(chitosan) 등이 여기에 포함된다. 또한 polypeptides는 ECM의 주요 구성성분이 단백질인 점에 착안하-

여 조직재생용 지지체로서 각광을 받고 있는 천연 고분자이다. 특정 아미노산의 서열을 이용하면 세포의 부착이나 천연 단백질의 기능을 모방할 수 있기 때문에 매우 기능성이 높은 재료이다.[49] 다른 하나는 합성 고분자로서, PAA와 이것의 유도체들이 있으며 poly(2-hydroxyethyl methacrylate) (HEMA)와 poly(*N*-isopropylacrylamide) (NIPAAm)가 대표적이다. 이 외에도 poly(ethylene glycol) (PEG)과 이의 공중합체들(Pluronic 등)은 physical gel의 제조를 위해 폭넓게 사용되고 있다.

주입형 하이드로겔(injectable hydrogel)은 최소한의 외과적 침해를 주며 세포를 체내에 이식할 수 있는 장점을 가지고 있어 최근 각광 받는 재료 중 하나이다. 자극 응답성 하이드로겔(stimuli-responsive hydrogel)이 주로 이러한 응용에 적용되는데, 온도에 따라 상전이를 보여주는 양친매성 공중합체는 상온에서 용액상으로 세포와 혼합되어 체내에 주입되면 높은 체온으로 인해 세포가 주입된 하이드로겔을 형성하게 된다(그림 6). 최근의 사례로, 아주

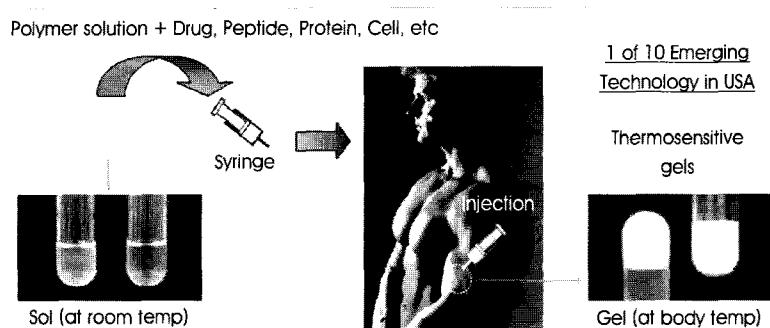


그림 6. 주입형 하이드로겔의 솔-겔 상변이 모식도.
Fig. 6. Schematic representation of the sol-gel transition of injectable hydrogels

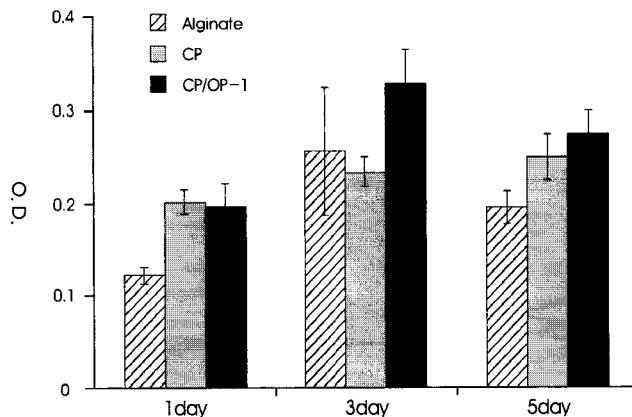


그림 7. CP 하이드로겔에서 배양된 NP 세포들의 증식.

Fig. 7. Proliferation of NP cells cultured in CP hydrogels.

대 박기동 연구팀은 온도 감응성을 가진 양친매성 공중합체인 Pluronic을 키토산에 결합하여 합성된 유도체는 주입 가능한 지지체로 활용하였다. 실제로 이러한 chitosan-Pluronic (CP) 하이드로겔은 손상된 추간판(intervertebral disc, IVD)의 재생을 위해 주입형 지지체로서 활용하기 위해 연구되었다.[50] 골수 세포인 nucleus pulposus (NP)와 이것의 성장을 촉진시키는 골형성 단백질-1(osteogenic protein 1, OP-1)을 성장인자로 함께 주입하여 세포 증식의 증가를 확인하였다(그림 7). 계속된 연구에서, CP 결합체로부터 성장인자의 빠른 방출 속도를 개선하기 위해 약물이 주입된 마이크로입자를 하이드로겔 내부에 포함시켜 성장인자나 활성을 가진 약물의 방출을 지연시켜 세포 성장 및 조직 형성을 촉진하기 위한 접근법도 연구되었다.[51] 실제로 입자가 포함된 주입형 하이드로겔 매질의 구조는 그림 8에서 보는 것과 같으며, 방출 시험 결과 25일간의 방출 기간에 40% 정도의 방출이 지연됨이 확인되었다.

세포의 증식을 유도하기에 앞서 지지체의 표면에 세포의 부착을 유도하는 것 또한 지지체에 요구되는 요건 중 하나이다. 이후의 연구에서, CP 하이드로겔에 세포 부착을 유도하는 RGD 펩타이드의 도입이 하이드로겔 지지체내에서 세포의 부착을 유도하여 최종

적으로 성장을 촉진한다는 결과를 도출하였다.[52] 이와 비슷한 구조로, 박기동 연구팀에서는 다중 팔(arm) 구조를 가진 온도감응성 공중합체로서 Tetronic을 이용하는 주입형 하이드로겔을 제조하였다.[53] 특이할 만한 것은 성장인자의 지속적인 방출을 유도하기 위해 다양한 성장인자와 특이적 결합력을 가지는 혼파린/heparin)을 공유결합한 것이다. 합성된 Tetronic-OLA-Heparin (TLH) 하이드로겔은 온도에 반응하여 줄-겔 상전이 현상을 보였으며 성장인자인 basic fibroblast growth factor (bFGF)의 방출을 상당히 지연시켰으며 연골재생을 목적으로 수행된 연골세포 배양 실험에서는 alginate 하이드로겔과 비교해서 세포의 증식에 유리하고 ECM의 주요 성분인 GAG의 조성도 증가함이 확인되었다.

위와 같은 시스템에서 사용된 혼파린의 효과를 기반으로 새로운 형태의 주입형 하이드로겔이 연구되었다.[54] 양친매성이며 생분해성을 가지는 PLGA-PEG-PLGA 공중합체를 합성한 후 혼파린과 함께 화학적 개질을 통해 각각의 분리된 용액으로 주입되면서 겔화되는 형태의 시스템을 개발하였다. 이러한 구조는 온도 감응성에 의한 주입 가능한 성질과 함께 생분해성을 가질 뿐만 아니라 혼파린의 존재로 인해 성장인자의 지속적인 방출 조절이 가능한 것이 특징이다. 주입형 하이드로겔의 합성을 위해 온도감응성 이

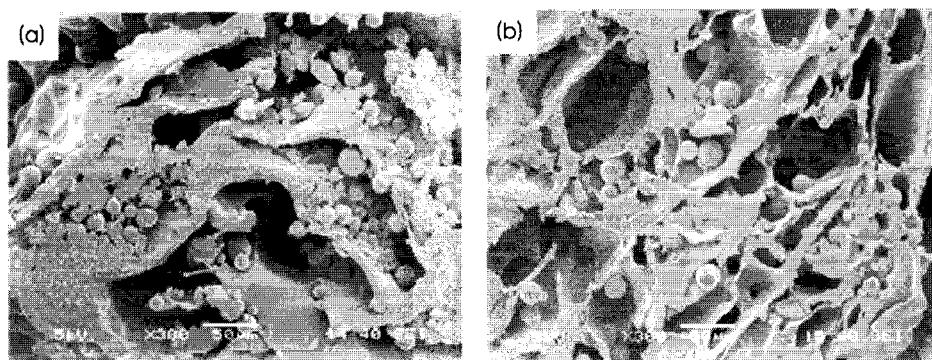


그림 8. PLGA입자가 포함된 CP 하이드로겔의 수직(a)과 수평(b) 방향 단면의 내부 형태를 보여주는 주사전자현미경(SEM) 사진(배율: 300배).

Fig. 8. SEM images of PLGA particles-embedded CP hydrogels at vertical (a) and horizontal (b) sections (magnification: $\times 300$).

외에도 입체 이성질체간의 복합체 형성 현상을 이용할 수 있다. 4-Arm PEG-PLLA와 -PDLA는 입체적으로 복합체를 형성하는 성질을 보여주는데, 이를 이용하여 주입형 하이드로겔 지지체를 개발하였다.[55] 이와 같은 성질을 이용해 각각의 고분자 용액이 혼합되면서 체내에 주입되면 하이드로겔을 형성하게 되는 것이다. 이러한 재료는 온도에 민감하지 않으므로 보관이 용이한 장점이 있다.

다른 연구 사례를 통해 하이드로겔 지지체를 이용한 체계적인 조직공학 연구를 소개해 보고자 한다. rabbit marrow MSCs가 주입된 oligo(poly(ethylene glycol fumarate) (OPF)의 주입형, 생분해성 하이드로겔 지지체가 한 연구팀에 의해 개발되었다.[56] 지지체에는 TGF- β_1 이 들어 있는 젤라틴 마이크로입자가 연골 재생을 촉진하기 위해 함께 포함되었다. 이러한 복합체의 조성과 MSC의 주입량 및 TGF- β_1 의 농도에 따른 MSC의 연골로의 분화에 대한 영향이 조사되었다. 마이크로입자가 포함된 지지체에서 상당한 분화의 증가가 관찰됨이 확인되었다. 입자를 함유한 하이드로겔의 지지체를 이용하여 줄기세포의 분화를 유도한 연구가 Heymer 연구팀에 의해 수행되었다.[57] 관절 부위의 연골 재생을 위해서 hMSC의 분화를 관찰하기 위한 산화철(iron oxide) 입자가 자기공명(magnetic resonance, MR) 조영제로 사용되었다. 산화철 입자로 표지된 hMSC가 collagen type I 하이드로겔에서 분화되는 과정에서 입자의 영향은 없는 것으로 나타났으며, 산화철 입자 표지가 간단하게 세포분화 및 성장을 영상화 및 관찰하는데 있어서 좋은 수단이라는 것을 증명해 주었다.

D. 신속조형 지지체 (Rapid prototyping scaffold)

조직공학은 장기의 이식이 직면한 문제점을 해결할 것으로 기대되었다. 그러나 오늘날 혈관화된 3차원 연조직의 장기들은 여전히 큰 도전과제로 남아 있다. 살아있는 인간 장기의 컴퓨터와 제트를 기반으로 하는 3차원 조직공학으로 정의되는 장기 인쇄술(organ printing)은 가능한 해결책을 제공해 줄 수 있다. 장기 인쇄술은 3 가지의 연속적인 공정을 가진다: 여기에는 전가공 단계(preprocessing 또는 청사진의 개발 단계), 가공 단계(processing 또는 실제 장기의 인쇄 단계)와 후가공 단계(postprocessing 또는 장기의 조절 및 성장 가속화 단계)이 포함된다. RP 기술의 주요한 두 가지 기술은 3D printing과 3D bioplotting이다. 이 두 기술 간의 비교를 위해, 생분해성 polyurethane 지지체의 도안과 제조의 측면에 관해 연구되었다.[58] Polyurethane 지지체는 각각의 두 RP 기술을 이용하여 lysine ethyl ester diisocyanate와 isophorone diisocyanate를 기반으로 제조되었으며 osteoblast-like cell이 주입되어 그 기능이 평가되었다. Fedorovich 연구팀에서는 겔, 단일 세포 또는 세포 군집을 인쇄할 수 있는 한 세포 프린터(cell printer)를 개발하였다. 온도가역성 겔이 layer-by-layer로 적층된 얇은 층들이 인쇄지(printing paper)로 사용될 수 있었다. 또 다른 연구에서는, 입체적으로 정열된 세포가 주입된 하이드로겔 구조의 개발

을 위해 Bioplotter를 이용하여 3D 섬유증착의 가능성을 타진하였다.[59] 장기 또는 조직 인쇄술이 혈관화된 골 이식체의 개발을 위해 내피전구체(endothelial progenitors)와 bone marrow stromal cell (BMSC)이 병합되는데 활용되는 것이 이 연구의 핵심이다. RP 기술의 또 다른 적용 예 또한 골 형성과 관련된 것이다. Tricalcium phosphate를 가지고 RP ink-jet printer를 이용하여 골 이식체가 제조되고 HAP로 만들어진 이식체와 비교함으로써 실제 응용의 가능성을 보여 주었다.[60]

한편 세포는 체내에서 영양분과 산소를 공급하고 부산물과 이산화탄소를 제거하는 혈관과 매우 근접되어 자라게 된다. 따라서 조직재생을 위해 세포 지지체를 제조하는 과정에서 이와 유사한 기능을 유도하기 위해 혈관 구조를 만들어 내는 것은 매우 중요한 일이다.[61] 세포-세포 접촉과 조직 구조 또한 세포 거동을 조절하는 다른 중요한 요소 중 하나이다. 지지체내에서 재생된 조직 내의 세포가 세포간의 상호작용과 관련된 중요한 기능을 수행하기 위해 자가 조립될 수 있다고 하더라도, 이러한 기능들은 세포의 분리와 주입과정에서 영구적으로 상실되거나 쉽다. 게다가 세포 주입 과정에서 지지체 전체에 세포가 균일하게 주입되기는 매우 어려우며 대부분의 경우에는 외부에만 주입되는 것이 일반적이다. 이와 같은 일반적 지지체 또는 하이드로겔 지지체 응용의 한계를 활용하기 위해 앞에서 언급된 내용에 대한 지지체의 기능적 보완이 필요하다.

이와 같은 RP 기술들은 여러 가지 조직공학의 어려움들을 해결하기 위한 동기를 부여해 줄 수 있었다. 마이크로 하이드로겔(micro-engineered hydrogel)은 이와 같은 도전 과제들을 극복하기 위한 매우 유용한 접근법으로 제안되었다.[62] 이 마이크로 하이드로겔은 최소한 1차원상의 수 마이크로의 범위에서 특성을 나타내는 하이드로겔이라고 정의할 수 있다.[63] 최근의 지지체 개발을 위한 기술적 진보는 이러한 마이크로 하이드로겔의 활용의 범위를 더욱 넓게 해주었다. 지금까지 개발되어 온 마이크로 하이드로겔을 제조하는 방법에는 에멀션화(emulsification)[64], 시진석판술(photolithography)[65,66], 미세유체공학적 합성(microfluidic synthesis)[67,68] 및 미세주조(micromolding)[69-71] 기술 등이 있다(그림 9). 이러한 하이드로겔의 미세가공 기술들은 0.1-10 μm 의 크기에서 구조를 모사하고 개별 세포의 미세환경을 조절하며, 세포 군집(cluster, 10-400 μm)의 구조를 조절할 뿐 아니라 다수의 세포 군집간의 상호작용을 조절하는데 사용될 수 있기 때문에 조직공학에서는 매우 잠재력이 높다고 할 수 있다.[72] 실제의 연구 사례들을 살펴보면, 미세주조[73-75] 또는 미세유체공학적 채널[76]을 만들어 마이크로 하이드로겔을 제조하여 조직 내에 미세혈관 구조를 형성하게 할 수 있다. 이러한 마이크로 하이드로겔의 채널은 콜라겐, HA, PEG를 포함하는 다양한 하이드로겔로부터 top-down 형태로 제조될 수 있었다.[77] 이와는 대조적으로, 더 작은 하이드로겔의 조립을 통해 조직의 재생을 유도할 수 있으며 이러한 방법은 bottom-up 또는 modular 접근법이라고 말할 수 있다. 최근 연구

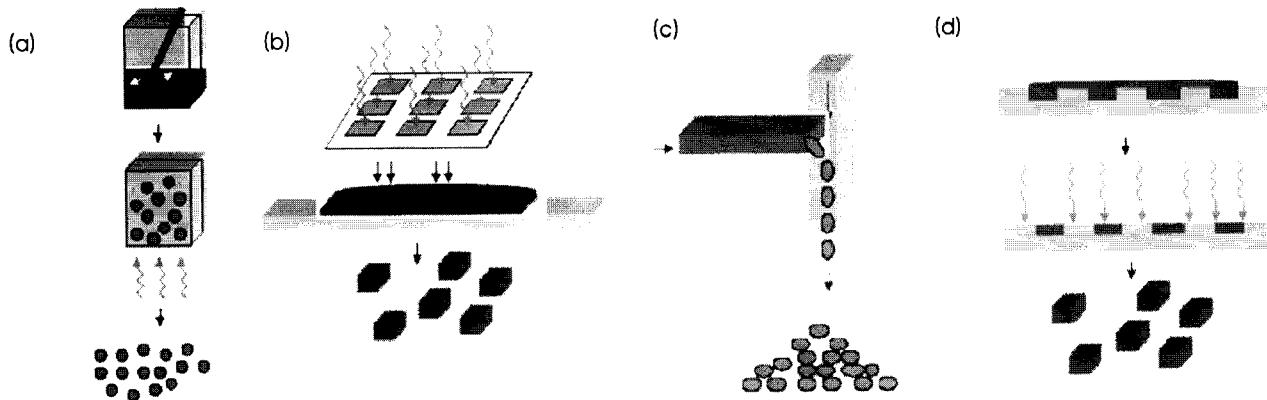


그림 9. 하이드로겔의 모양과 크기를 미세기공하기 위한 기술들의 도식화된 그림: (a) 에멀전화, (b) 사진석판술, (c) 미세유체역학 및 (d) 미세주조.

Fig. 9. Schematic expression of technologies for micro-engineering the shape and size of hydrogels: (a) emulsification, (b) photolithography, (c) microfluidics, and (d) micromolding.

에서 간세포가 주입된 막대 모양의 콜라겐 마이크로겔의 표면에 내피세포가 들어가 함께 융합되어 배양되어 혈액 응고를 지연시키는 서로 잘 연결된 미세채널이 형성된 사례가 있다.[78] 미세인쇄술(microprinting)에 의한 마이크로 하이드로겔의 제조도 조직내에 미세혈관을 형성하는 응용에 적용된 최근의 사례 중 하나이다.[79] 이러한 접근법들은 기존의 지지체에서 실현할 수 없었던 미세혈관의 형성이나 세포 군집의 형성 및 상호작용의 조절 등을 가능하게 할 수 있다.

E. 유/무기 복합물(Organic/inorganic composites)

대부분의 조직공학용 지지체들이 고분자를 주재료로 하여 제조되지만 때로는 고분자만으로는 다양한 조직공학적 응용에 부합하는 요구조건을 충족시키지 못하는 경우도 있다.[80] 천연 골 조직은 콜라겐과 미네랄(apatites)로 구성된 대표적인 유/무기 복합 재료의 전형적인 예이다. 이러한 천연 복합물들은 강도와 경도간의 균형을 유지하여 각각의 물질보다 우수한 성질을 보이므로 유/무기 복합물은 주로 골 조직의 재생에 주로 활용된다.

복합물 지지체에 이용되는 HAP나 calcium phosphate와 같은 무기 화합물은 실제의 골 성분과 유사하기 때문에 우수한 골유도

능을 보여 준다. 반면에, 고분자는 골 형성 세포들이 부착하여 생존하고 분화하는데 필수적인 높은 다공성과 표면적과 같은 조건을 제공해 줄 수 있다.[81] 이러한 성질, 즉 기계적 성질과 골유도능을 모두 향상시키기 위해 blending과 상분리 기술을 이용해 PLLA/HAP 또는 PLLA/HAP 유/무기 복합체 지지체가 제조되었다(그림 10).[82] 이 지지체는 세포가 균일하게 분포되는 특징을 보였으며 골유도능에서 매우 우수하였다. 유사한 조합으로 PLLA/PCL/HAP 복합물 지지체가 염 침출법에 의해서도 제조되었다.[83] 이 염 침출법은 높은 다공성과 공극의 연속성을 향상시키는 면에서는 유리하지 못한 방법이기는 하지만, PLLA만으로 제조된 지지체와 비교해 더 우수한 골유도능을 보여주었다.[84] 무기물 조성의 사용에서 더 진화하여, 실제 골미네랄의 나노크기의 특징을 모방하기 위해 고분자와 나노 HAP 입자의 배합을 통해 지지체를 제조하기도 하였다.[85] 이 나노 HAP/고분자 복합물 지지체는 마이크로 HAP/고분자 복합물에 비해 기계적 성질을 향상시켰을 뿐만 아니라 단백질 흡착능도 향상시켰다.[86] 이와 같이 향상된 단백질 흡착은 세포의 부착과 기능을 촉진하는데 영향을 준다.[87] 이 밖에도 골 조직의 나노섬유형 유기물인 콜라겐과 부분적으로 카보네이트(carbonate)화된 나노 아파타이트apatite)를 모방하기 위하

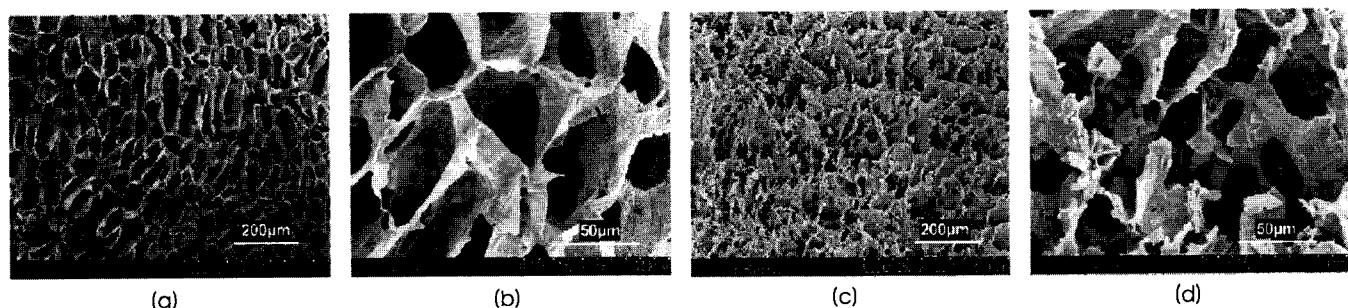


그림 10. PLLA와 PLLA/HAP 복합 지지체의 SEM 사진: (a) PLLA ×100, (b) PLLA ×500, (c) PLLA/HAP ×100 및 (d) PLLA/HAP ×500.

Fig. 10. SEM images of PLLA and PLLA/HAP composite scaffolds: (a) PLLA ×100, (b) PLLA ×500, (c) PLLA/HAP ×100, and (d) PLLA/HAP ×500.

여 다공성이며 나노섬유형의 지지체가 개발되었다. 이것은 다양한 나노 아파타이트 입자가 큰 기공의 내부를 채우는 구조를 가지는 지지체이다.[88]

IV. 결론 및 전망

조직공학적 응용을 위해 개발되는 다양한 형태의 고분자 지지체의 최근 예들을 요약하여 소개하고 설명하였다. 초기에 개발된 스폰지 형태의 지지체는 계속 개선되고 있으며 여기에서 나아가 나노섬유형 지지체는 그 구조와 조성이 점점 더 다양해지고 있다. 하이드로겔의 사용은 주입형 기능과 같은 기존의 지지체에서 실현할 수 없는 획기적인 개념을 도입시켰지만, 재료의 특성상 스폰지 또는 나노섬유형 지지체에 비해 다루기가 쉽지 않은 한계도 가지고 있다. 그러나 다양한 아이디어와 광조형술과 같은 기술을 통해 마이크로 하이드로겔과 같은 접근법이 새롭게 떠오르고 있다. 어떤 형태의 지지체라도, 원칙적으로 체내의 천연 ECM을 모사한다는 대전제는 함께 공유한다. 이러한 전제를 바탕으로, 최근에 개발되고 있는 지지체들은 미세혈관의 형성을 유도하거나 세포와 기질 간 또는 세포간의 상호작용을 촉진하는 역동적인 ECM의 복잡한 성질을 구현하는데 초점을 맞추고 있다. 지지체의 경도(stiffness)와 같은 기계적 성질이나 점착성, 생분해능을 위한 matrix metalloprotease (MMP) 등의 조절을 통해 조직 재생의 한계의 실마리를 풀려는 시도 또한 활발하게 진행되고 있다. 이와 같은 다양한 노력과 시도들이 축적되어 간다면 가까운 미래에는 지능성 지지체를 이용하여 다양한 분야의 임상에서 조직공학을 통한 조직 및 장기의 재생이 실현될 수 있을 것으로 기대된다.

감사의 글

본 총설은 교육과학부 나노바이오기술개발사업(고유번호: B020214)과 한국과학기술연구원 핵심역량심화사업(2E20340) 및 기관고유사업(2E20531)의 지원을 받아 이루어졌으므로 이에 감사드립니다.

참고문헌

- [1] R. Langer, J.P. Vacanti, "Tissue engineering", *Science* vol. 260, pp. 920-926, 1993.
- [2] M.P. Lutolf, J.A. Hubbell, "Synthetic biomaterials as instructive extracellular microenvironments for morphogenesis in tissue engineering", *Nat. Biotechnol.* vol. 23, pp. 47-55, 2005.
- [3] S.A. Catledge, Y.K. Vohra, S.L. Bellis, A.A. Sawyer, "Mesenchymal stem cell adhesion and spreading on nanostructured biomaterials", *J. Nanosci. Nanotechnol.* vol. 4, pp. 986-989, 2004.
- [4] X. Liu, P.X. Ma, "Polymeric scaffolds for bone tissue engineering", *Ann. Biomed. Eng.* vol. 32, pp. 477-486, 2004.
- [5] X. Liu, P.X. Ma, "Polymeric scaffolds for bone tissue engineering", Boca Raton, FL: CRC Press, 2006.
- [6] L. Meinel, R. Fajardo, S. Hofmann, R. Langer, J. Chen, B. Snyder, G. Venjak-Novakovic, D. Kaplan, "Silk implants for the healing of critical size bone defects", *Bone* vol. 37, pp. 688-698, 2005.
- [7] L. Huang, J. Hu, L. Lang, X. Wang, P. Zhang, X. Jing, X. Wang, X. Chen, P.I. Lelkes, A.G. Macdiarmid, Y. Wei, "Synthesis and characterization of electroactive and biodegradable ABA block copolymer of polylactide and aniline pentamer", *Biomaterials* vol. 28, pp. 1741-1751, 2007.
- [8] M.E. Furth, A. Atala, M.E. Van Dyke, "Smart biomaterials design for tissue engineering and regenerative medicine", *Biomaterials* vol. 28, pp. 5068-5073, 2007.
- [9] R.L. Juliano, S. Haskill, "Signal transduction from the extracellular matrix", *J. Cell Biol.* vol. 120, no. 3, pp. 577-585, 1993.
- [10] P.L. Jones, C. Schmidhauser, M.J. Bissell, "Regulation of gene expression and cell function by extracellular matrix", *Crit. Rev. Eukaryot. Gene Expr.* vol. 3, no. 2, pp. 137-154, 1993.
- [11] S. Kidoaki, I.K. Kwon, T. Matsuda, "Mesoscopic spatial designs of nano- and microfiber meshes for tissue-engineering matrix and scaffold based on newly devised multilayering and mixing electrospinning techniques", *Biomaterials* vol. 26, pp. 37-46, 2005.
- [12] E.D. Boland, T. Telemeco, D.G Simpson, G. Wnek, G. Bowlin, "Utilizing acid pretreatment and electrospinning to improve biocompatibility of poly(glycolic acid) for tissue engineering", *J. Biomed. Mater. Res.* vol. 71B, pp. 144-152, 2004.
- [13] K.J. Shields, M.J. Beckman, G.L. Bowlin, J.S. Wayne, "Mechanical properties and cellular proliferation of electrospun collagen type II", *Tissue Eng.* vol. 10, pp. 1510-1517, 2004.
- [14] C.M. Nelson, "Emergent patterns of growth controlled by multicellular form and mechanics", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* vol. 102, pp. 11594-11599, 2005.
- [15] H. Zhang, "Microrobotics and MEMS-based fabrication techniques for scaffold-based tissue engineering", *Macromol. Biosci.* vol. 5, pp. 477-489, 2005.
- [16] R. Murugan, S. Ramakrishna, "Design strategies of tissue engineering scaffolds with controlled fiber orientation", *Tissue Eng.* vol. 13, pp. 1845-1866, 2007.
- [17] J.J. Norman, T.A. Desai, "Methods for fabrication of nanoscale topography for tissue engineering scaffolds", *Ann. Biomed. Eng.* vol. 34, pp. 89-101, 2006.
- [18] D.E. Ingber, "Mechanical signaling and the cellular response to extracellular matrix in angiogenesis and cardiovascular physiology", *Circ. Res.* vol. 91, pp. 877-887, 2002.
- [19] A. Engler, S. Sen, H.L. Sweeney, D.E. Discher, "Matrix elasticity directs stem cell lineage specification", *Cell* vol. 126, pp. 677-689, 2006.
- [20] L.E. Niklason, J. Gao, W.M. Abbott, K.K. Hirschi, S. Houser, R. Marini, R. Langer, "Functional arteries grown in vitro", *Science* vol. 284, pp. 489-493, 1999.
- [21] H. Zhang, D.W. Hutmacher, F. Chollet, A.N. Poo, E. Burdet, "Microrobotics and MEMS-based fabrication techniques for scaffold-based tissue engineering", *Macromol. Biosci.* vol. 5, pp. 477-489, 2005.
- [22] A.G. Mikos, G. Sarakinos, S.M. Leite, J.P. Vacanti, R. Langer, "Laminated three-dimensional biodegradable foams for use in tissue engineering", *Biomaterials* vol. 14, pp. 323-330, 1993.
- [23] L.E. Freed, G. Vunjak-Novakovic, R.J. Biron, D.B. Eagles, D.C. Lesnoy, S.K. Barlow, R. Langer, "Biodegradable polymer scaffolds

- for tissue engineering”, *Biotechnology* vol. 12, pp. 689-693, 1994.
- [24] H. Lo, M.S. Ponticiello, K.W. Leong, “Fabrication of controlled release biodegradable foams by phase separation”, *Tissue Eng.* vol. 1, pp. 15-28, 1995.
- [25] Z. Ma, C. Gao, Y. Gong, J. Shen, “Micro-spheres as porogen to fabricate poly(L-lactic acid) scaffolds with improved cytocompatibility for cartilage tissue engineering”, *J. Biomed. Mater. Res. Part B: Appl. Biomater.* vol. 67, pp. 610-617, 2003.
- [26] K. Khang, D.W. Kim, M.S. Kim, “Tissue engineering”, Seoul, Hanrimwon Press, 2008.
- [27] Y.M. Ju, K. Park, J.S. Son, J.-J. Kim, J. Rhie, D.K. Han, “Beneficial effect of hydrophilized porous polymer scaffolds in tissue-engineered cartilage formation”, *J. Biomed. Mater. Res. Part B: Appl. Biomater.* vol. 85B, pp. 252-260, 2008.
- [28] H.J. Jung, K. Park, J.-J. Kim, J.H. Lee, K.-O. Han, D.K. Han, “Effect of RGD-immobilized dual pore PLLA scaffolds on chondrocyte proliferation and ECM production”, *Artif. Organs* in press, 2008.
- [29] G. Chen,, D. Akahane, N. Kawazoe, K. Yamamoto, T. Tateishi, “Chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells in a leakproof collagen sponge”, *Mater. Sci. Eng. C* vol. 28, pp. 195-201, 2008.
- [30] H. Liu, H. Fan, Y. Wang, S.L. Toh, J.C.H. Goh, “The interaction between a combined knitted silk scaffold and microporous silk sponge with human mesenchymal stem cells for ligament tissue engineering”, *Biomaterials* vol.. 29, pp. 662-674, 2008.
- [31] K. Jayaraman, M. Kotaki, Y. Zhang, X. Mo, S. Ramakrishna, “Recent advances in polymer nanofibers”, *J. Nanosci. Nanotech.* vol. 4, pp. 52-65, 2004.
- [32] X. Wen, D. Shi, N. Zhang, “Applications of nanotechnology in tissue engineering”, in: H. Nalwa (Ed.), *Handbook of Nanostructured Biomaterials and their Applications in Nanobiotechnology*, American Scientific Publishers, Stevenson Ranch, CA, pp. 1-23, 2005.
- [33] Z. Ma, M. Kotaki, R. Inai, S. Ramakrishna, “Potential of nano-fiber matrix as tissue-engineering scaffolds”, *Tissue Eng.* vol. 11, pp. 101-109, 2005.
- [34] S. Zhang, “Fabrication of novel biomaterials through molecular self-assembly”, *Nat. Biotech.* vol. 21, pp. 1171-1178, 2003.
- [35] J.D. Hartgerink, E. Beniash, S.I. Stupp, “Self-assembly and mineralization of peptide-amphiphile nanofibers”, *Science* vol. 294, pp. 1684-1688, 2001.
- [36] L.A. Smith, P.X. Ma, “Nano-fibrous scaffolds for tissue engineering”, *Colloids Surfaces B: Biointerf.* vol. 39, pp. 125-131, 2004.
- [37] J.D. Hartgerink, E. Beniash, S.I. Stupp, “Peptide-amphiphile nanofibers: a versatile scaffold for the preparation of self-assembling materials”, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* vol. 99, pp. 5133-5138, 2002.
- [38] V.J. Chen, P.X. Ma, “Nano-fibrous poly(L-lactic acid) scaffolds with interconnected spherical macropores”, *Biomaterials* vol. 25, pp. 2065-2073, 2004.
- [39] D.H. Reneker, I. Chun, “Nanometre diameter fibres of polymer, produced by electrospinning”, *Nanotechnology* vol. 7, pp. 216-223, 1996.
- [40] S. Liao, B. Li, Z. Ma, H. Wei, C. Chan, S. Ramakrishna, “Biomimetic electrospun nanofibers for tissue regeneration”, *Biomed. Mater.* vol. 1, pp. R45-R53, 2006.
- [41] C.P. Barnes, C.A. Sell, E.D. Boland, D.G. Simpson, G.L. Bowlin, “Nanofiber technology: designing the next generation of tissue engineering scaffolds”, *Adv. Drug Deliv. Rev.* vol. 59, pp. 1413-1433, 2007.
- [42] K. Park, H.J. Jung, J.J. Kim, K.D. Ahn, D.K. Han, Y.M. Ju, “Acrylic acid-grafted hydrophilic electrospun nanofibrous poly (L-lactic acid) scaffold”, *Macromol. Res.* vol. 14, no. 5, pp. 552-558, 2007.
- [43] K. Park, Y.M. Ju, K.D. Ahn, D.K. Han, “Surface modification of biodegradable electrospun nanofiber scaffolds and their interaction with fibroblasts”, *J. Biomater. Sci. Polym. Edn.* vol. 18, no. 4, pp. 369-382, 2007.
- [44] S. Heydarkhan-Hagvall, K. Schenke-Layland, A.P. Dhanasopon, F. Rofail, H. Smith, B.M. Wu, R. Shemin, R.E. Beygui, W.R. MacLellan, “Three-dimensional electrospun ECM-based hybrid scaffolds for cardiovascular tissue engineering”, *Biomaterials* vol. 29, pp. 2907-2914, 2008.
- [45] K. Ma, C.K. Chan, S. Liao, W.Y.K. Hwang, Q. Feng, S. Ramakrishna, “Electrospun nanofiber scaffolds for rapid and rich capture of bone marrow-derived hematopoietic stem cells”, *Biomaterials* vol. 29, pp. 2096-2103, 2008.
- [46] M.S. Jhon, J.D. Andrade, “Water and hydrogels”, *J. Biomed. Mater. Res.* vol. 7, pp. 509-522, 1973.
- [47] K.Y. Lee, D.J. Mooney, “Hydrogels for tissue engineering”, *Chem. Rev.* vol. 101, no. 7, pp. 1869-1879, 2001.
- [48] M.A. LeRoux, F. Guilak, L.A. Setton, “Compressive and shear properties of alginate gel: effects of sodium ions and alginate concentration”, *J. Biomed. Mater. Res.* vol. 47, pp. 46-53, 1999.
- [49] T.J. Deming, “Facile synthesis of block copolypeptides of defined architecture”, *Nature* vol. 390, pp. 386-389, 1997.
- [50] K.M. Park, D.H. Kim, Y.K. Joung, J.W. Shin, K.D. Park, “Injectable chitosan-Pluronic hydrogel releasing osteogenic protein-1 for the regeneration of intervertebral disc”, *Biomater. Res.* vol. 12, no. 1, pp. 24-28, 2008.
- [51] Y.K. Joung, J.H. Choi, K.M. Park, K.D. Park, “PLGA micro-particle-embedded thermo-sensitive hydrogels for sustained release of hydrophobic drugs”, *Biomed. Mater.* vol. 2, no. 4, pp. 269-273, 2007.
- [52] K.M. Park, Y.K. Joung, S.Y. Lee, M.C. Lee, K.D. Park, “Injectable RGD-conjugated chitosan hydrogel for cartilage regeneration”, *Macromol. Res.* in press.
- [53] D.H. Go, Y.K. Joung, S.Y. Lee, M.C. Lee, K.D. Park, “Tetronic-PLA-Heparin hydrogel as a multi-functional scaffold for tissue regeneration”, *Macromol. Biosci.* in press.
- [54] E. Lih, J.W. Bae, Y.K. Joung, K.D. Park, “In situ gel forming heparin-conjugated PLGA-PEG-PLGA copolymer”, *J. Bioact. Compat. Polym.* in press.
- [55] Y.J. Jun, K.M. Park, Y.K. Joung, K.D. Park, “In situ hydrogelation by stereocomplex formation of four-arm PEG-PDLA and PEG-PLLA block copolymers”, *Macromol. Res.* in press.
- [56] H. Park, J.S. Temenoff, Y. Tabata, A.I. Caplan, A.G. Mikos, “Injectable biodegradable hydrogel composites for rabbit marrow mesenchymal stem cell and growth factor delivery for cartilage

- tissue engineering”, *Biomaterials* vol. 28, pp. 3217-3227, 2007.
- [57] A. Heymer, D. Haddad, M. Weber, U. Gbureck, P.M. Jakob, J. Eulert, U. Noth, “Iron oxide labelling of human mesenchymal stem cells in collagen hydrogels for articular cartilage repair”, *Biomaterials* vol. 29, pp. 1473-1483, 2008.
- [58] A. Pfister, R. Landers, A. Laib, U. Hubner, R. Schmelzeisen, R. Mulhaupt, “Biofunctional rapid prototyping for tissue-engineering applications: 3D bioplotting versus 3D printing”, *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* vol. 42, pp. 624-638, 2004.
- [59] N.E. Fedorovich, J.R. De Wijn, A.J. Verbout, J. Alblas, W.J.A. Dhert, “Three-dimensional fiber deposition of cell-laden, viable, patterned constructs for bone tissue printing”, *Tissue Eng.* vol. 14, no. 1, pp. 127-133, 2008.
- [60] K. Igawa, M. Mochizuki, O. Sugimori, K. Shimizu, K. Yamazawa, H. Kawaguchi, K. Nakamura, T. Takano, R. Nishimura, S. Suzuki, M. Anzai, U. Chung, N. Sasaki, “Tailor-made tricalcium phosphate bone implant directly fabricated by a three-dimensional ink-jet printer”, *J. Artif. Organs* vol. 9, pp. 234-240, 2006.
- [61] G. Chan, D.J. Mooney, “New materials for tissue engineering: towards greater control over the biological response”, *Trends Biotechnol.* vol. 26, no. 7, pp. 382-392, 2008.
- [62] A. Khademhosseini, R. Langer, “Microengineered hydrogels for tissue engineering”, *Biomaterials* vol. 28, pp. 5087-5092, 2007.
- [63] N. Peppas, J.Z. Hilt, A. Khademhosseini, R. Langer, “Hydrogels in biology and medicine”, *Adv. Mater.* vol. 18, pp. 1-17, 2007.
- [64] S.M. Dang, M. Kyba, R. Perlingeiro, G.Q. Daley, P.W. Zandstra, “Efficiency of embryoid body formation and hematopoietic development from embryonic stem cells in different culture systems”, *Biotechnol. Bioeng.* vol. 78, no. 4, pp. 442-453, 2002.
- [65] W.G. Koh, A. Revzin, M.V. Pishko, “Poly(ethylene glycol) hydrogel microstructures encapsulating living cells”, *Langmuir* vol. 18, no. 7, pp. 2459-2462, 2002.
- [66] M.S. Hahn, J.S. Miller, J.L. West, “Three-dimensional biochemical and biomechanical patterning of hydrogels for guiding cell behavior”, *Adv. Mater.* vol. 18, no. 20, pp. 2679-2684, 2006.
- [67] S. Xu, Z. Nie, M. Seo, P. Lewis, E. Kumacheva, H.A. Stone, “Generation of monodisperse particles by using microfluidics: control over size, shape, and composition”, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* vol. 44, no. 5, pp. 724-728, 2005.
- [68] D.C. Pregibon, M. Toner, P.S. Doyle, “Multifunctional encoded particles for high-throughput biomolecule analysis”, *Science* vol. 315, no. 5817, pp. 1393-1396, 2007.
- [69] J. Fukuda, A. Khademhosseini, Y. Yeo, X. Yang, J. Yeh, G. Eng, “Micromolding of photocrosslinkable chitosan hydrogel for spheroid microarray and co-cultures”, *Biomaterials* vol. 27, pp. 5229-5267, 2006.
- [70] J. Yeh, Y. Ling, J.M. Karp, J. Gantz, A. Chandawarkar, G. Eng, “Micromolding of shape-controlled, harvestable cell-laden hydrogels”, *Biomaterials* vol. 27, pp. 5391-5398, 2006.
- [71] J.P. Rolland, B.M. Maynor, L.E. Euliss, A.E. Exner, G.M. Denison, J.M. DeSimone, “Direct fabrication and harvesting of monodisperse, shape-specific nanobiomaterials”, *J. Am. Chem. Soc.* vol. 127, no. 28, pp. 10096-10100, 2005.
- [72] G.T. Franzesi, B. Ni, Y. Ling, A. Khademhosseini, “A controlled-release strategy for the generation of cross-linked hydrogel microstructures”, *J. Am. Chem. Soc.* vol. 128, no. 47, pp. 15064-15065, 2006.
- [73] A.N. Stachowiak, A. Bershteyn, E. Tzatzalos, D.J. Irvine, “Bioactive hydrogels with an ordered cellular structure combine interconnected macroporosity and robust mechanical properties”, *Adv. Mater.* vol. 17, no. 4, pp. 399-403, 2005.
- [74] J.T. Borenstein, H. Terai, K.R. King, E.J. Weinberg, M.R. Kaazempur-Mofrad, J.P. Vacanti, “Microfabrication technology for vascularized tissue engineering”, *Biomed. Microdev.* vol. 4, no. 3, pp. 167-175, 2002.
- [75] C. Fidkowski, M.R. Kaazempur-Mofrad, J. Borenstein, J.P. Vacanti, R. Langer, Y. Wang, “Endothelialized microvasculature based biodegradable elastomer”, *Tissue Eng.* vol. 11, no. 1-2, pp. 302-309, 2005.
- [76] M. Cabodi, M.W. Choi, J.P. Gleghorn, C.S. Lee, L.J. Bonassar, A.D. Stroock, “A microfluidic biomaterial”, *J. Am. Chem. Soc.* vol. 127, no. 40, pp. 13788-13789, 2005.
- [77] K.M. Chrobak, D.R. Potter, J. Tien, “Formation of perfused, functional microvascular tubes in vitro”, *Microvasc. Res.* vol. 71, no. 3, pp. 185-196, 2006.
- [78] A.P. McGuigan, M.V. Sefton, “Vascularized organoid engineered by modular assembly enables blood perfusion”, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* vol. 103, no. 31, pp. 11461-11466, 2006.
- [79] V. Mironov, T. Boland, T. Trusk, G. Forgacs, R.R. Markwald, “Organ printing: computer-aided jet-based 3D tissue engineering”, *Trends Biotechnol.* vol. 21, no. 4, 157-161, 2003.
- [80] P.X. Ma, “Biomimetic materials for tissue engineering”, *Adv. Drug Deliv. Rev.* vol. 60, pp. 184-198, 2008.
- [81] X. Liu, P.X. Ma, “Polymeric scaffolds for bone tissue engineering”, *Ann. Biomed. Eng.* vol. 32, pp. 477-486, 2004.
- [82] P.X. Ma, R. Zhang, G. Xiao, R. Franceschi, “Engineering new bone tissue in vitro on highly porous poly(alpha-hydroxy acids)/hydroxyapatite composite scaffolds”, *J. Biomed. Mater. Res.* vol. 54, pp. 284-293, 2001.
- [83] R.C. Thomson, M.J. Yaszemski, J.M. Powers, A.G. Mikos, “Hydroxyapatite fiber reinforced poly(alpha-hydroxy ester) foams for bone regeneration”, *Biomaterials* vol. 19, pp. 1935-1943, 1998.
- [84] K.G. Marra, J.W. Szem, P.N. Kumta, P.A. DiMilla, L.E. Weiss, “In vitro analysis of biodegradable polymer blend/hydroxyapatite composites for bone tissue engineering”, *J. Biomed. Mater. Res.* vol. 47, pp. 324-335, 1999.
- [85] G. Wei, P.X. Ma, “Structure and properties of nano-hydroxyapatite/polymer composite scaffolds for bone tissue engineering”, *Biomaterials* vol. 25, pp. 4749-4757, 2004.
- [86] K.M. Woo, V.J. Chen, P.X. Ma, “Nano-fibrous scaffolding architecture selectively enhances protein adsorption contributing to cell attachment”, *J. Biomed. Mater. Res.* vol. 67A, pp. 531-537, 2003.
- [87] K.M. Woo, J. Seo, R. Zhang, P.X. Ma, “Suppression of apoptosis by enhanced protein adsorption on polymer/hydroxyapatite composite scaffolds”, *Biomaterials* vol. 28, pp. 2622-2630, 2007
- [88] G. Wei, P.X. Ma, “Macroporous and nanofibrous polymer scaffolds and polymer/bone-like apatite composite scaffolds generated by sugar spheres”, *J. Biomed. Mater. Res.: Part A*, vol. 78 pp. 306-315, 2006.