

골수 줄기세포와 주사형 MPEG-PCL diblock copolymer를 이용한 조직공학적 골재생

정유민 · 이태형 · 박정균 · 김원석 · 신주희 · 이의석 · 임재석 · 장현석

고려대학교 의과대학 구강악안면외과학교실

Abstract

BONE REGENERATION WITH INJECTABLE MPEG-PCL DIBLOCK COPOLYMER AND BONE MARROW MESENCHYMAL STEM CELL

You Min Jeong, Tai Hyung Lee, Jeong Kyun Park, Wonsuk Kim,
Joo Hee Shin, Eui Seok Lee, Jae-Suk Rim, Hyon-Seok Jang

Department of Oral and Maxillofacial Surgery, College of Medicine, Korea University

Aim of the study: As an injectable scaffold, MPEG-PCL diblock copolymer was applied in bone tissue engineering. In vivo bone formation was evaluated by soft X-ray, histology based on the rat calvarial critical size defect model.

Materials and methods: New bone formation was evaluated with MPEG-PCL diblock copolymer in rat calvarial critical size bone defect. No graft was served as control. 4, 8 weeks after implantation, gross evidence of bone regeneration was evaluated by histology and soft X-ray analysis.

Results: The improved and effective bone regeneration was achieved with the BMP-2 and osteoblasts loaded MPEG-PCL diblock copolymer.

Conclusion: It was confirmed that MPEG-PCL temperature sensitive hydrogels was useful as an injectable scaffold in bone regeneration.

Key words: Injectable scaffold, MPEG-PCL diblock copolymer, Bone tissue engineering, BMP-2, Osteoblasts

1. 서 론

온도 감응성 하이드로젤은 약물 전달체와 조직공학적 생체재료로서 외부 자극형 고분자 시스템 중의 가장 널리 연구되는 분야 중에 하나이다.^{1,2)} 온도에 의한 지지체의 젤화는 유기 용매를 사용하지 않고 수용액 상에서 온도 변화에 의해 쉽게 약물이나 생물학적 활성 성분을 함유하는 장점을 가지고 있어서 생체 적합성 고분자로서 가장 큰 발전 가능성을 가지고 있다. 현재까지 널리 사용되고 있는 생체 적합성 고분자 중에 하나인 폴리에틸렌글리콜 (PEG)은 물과 유기 용매에 대한 높은 용해도를 가지며 비독성이고 면역 작용에 거부감이 없다. 특히 PEG는 단백질 흡착 억제 효과가 크고 혈액 접촉 물질의 생체 적합성을 향상시키고, 친수성이기 때문에 저분자 PEG의 경우에는 인체 내에서 용해되어 신체 외부로 배출된다.^{3,4)}

인체 내 사용을 위한 현재 활발히 연구가 진행되고 있는 하이드로젤의 특성 중의 하나는 생분해 특성을 갖는 것이다. 이러한 생분해 특성을 갖는 고분자의 연구는 지난 20년간 다양한 재료를 이용해 연구되어 지고 있다. 특히 폴리락타이드 (PLA), 폴리글리콜라이드 (PGA), 락타이드 글리콜라이드 공중합체 (PLGA), 그리고 폴리카프로락톤 (PCL)은 폴리에스터 계열의 고분자로서 생분해 특성과 생체적합성 때문에 약물전달체 및 다양한 의료용 분야의 연구에 응용되고 있다.^{5,6)}

폴리에스터 계열의 생분해성 고분자 중에서 PCL은 다양한 고분자와의 상용성을 가지며, 높은 결정성을 보인다. 또한 장기간의 분해 거동을 보인다. 그래서 PEG와 PCL의 블록 공중합체의 형성은 보다 생체 적합 성이면서 생분해 특성을 갖게 되며 PCL 부분의 사슬 응집현상에 의해서 온도에 따른 상전이 거동을 보이게 된다.^{7,8)}

*본 연구는 고려대학교 재직교원 특별연구비 (K0619761)의 지원에 의해 수행하였음.

본 연구에서는 온도 감응성 하이드로젤을 골 재생용 성장 인자의 전달체로 응용하고자, 친수성인 MPEG와 소수성이며 생분해성인 PCL로 구성된 MPEG-PCL 블록 공중합체를 합성하였고, 수용액상에서의 온도에 따른 상전이 현상을 검토하였다. 또한 bone morphogenic protein (BMP)의 MPEG-PCL 블록 공중합체 내에서의 서방형 방출을 유도하고 여기에 골수 줄기세포에서 분화시킨 골모세포를 혼합하여 백서의 두개골에 형성한 골 결손부에 주입하여 조직공학 적 골재생에 이의 사용이 가능한지 연구 분석하고자 하였다.

II. 연구 재료 및 방법

1. MPEG-PCL diblock copolymer의 제조

1) 시약 및 재료

MPEG (Aldrich, Mn: 750 g/mole), HCl (Aldrich, 1.0 M sol in diethylether), ϵ -caprolactone (CL, Aldrich), CaH₂, CaCl₂ (1M HCl.Et₂O)를 Aldrich로부터 구입하여 카프로락톤은 칼슘하이드라이드하에서 67℃의 온도에서 가압 정제하고 4Å 분자체 (Molecular sieve, Junsei chemical Co., Ltd., Japan)에서 냉장 보관하여 중합시에만 사용하였다. 메틸렌클로라이드 (CH₂Cl₂, MC, Jin Chem. Pharm. Co. Ltd., Korea)는 연속적으로 칼슘 크로라이드와 칼슘하이드라이드하에서 질소기류하에서 정제하고 반응 후 고분자의 침전을 위한 헥산과 분자량과 분자량 분포의 확인을 위한 GPC 분석의 이동상으로 사용되었던 클로로포름은 모두 HPLC 등급을 사용하였고 GPC 분석의 표준 시료로서 폴리스티렌을 사용하였다.

2) MPEG-PCL의 합성

MPEG-PCL 블록 공중합체는 단량체 활성화 메커니즘을 경유하여 MPEG의 OH기를 개시제로 하여 카프로락톤의 개환중합을 통하여 합성하였다. MPEG-PCL 분자량 3,150 g/mole의 공중합체 (HG-24)의 합성을 위하여 다음과 같은 과정을 시행하였다. 개시제인 MPEG 1.5 g (2 mmol) 및 톨루엔 80 mL을 건조된 250 mL 둥근 플라스크에 넣고 딥스탁 트랩을 이용하여 130℃에서 5시간 동안 공비 증류하였다. 증류 후 톨루엔을 모두 제거하고 질소기류 하에서 MPEG를 실온 (25℃)으로 냉각시킨 후 미리 정제된 카프로락톤 4.5 mL (39.4 mmol)를 주사기를 이용하여 넣은 후 반응용매로서 미리 정제된 MC 30 mL을 넣은 다음 중합 촉매로서 1M HCl. Et₂O를 4 mL 주입하여 24 시간 동안 실온에서 교반 시켰다. 반응 후 반응물을 800 mL의 헥산에 서서히 떨어뜨리면서 침전시키고 MC에 침전 물을 녹여 거름종이로 거른 후 회전 증발기를 통하여 용매를 제거하고 감압하에서 건조시켰다.

3) 블록 공중합체의 특성분석

고분자의 분자량은 내부 기준시료인 0.03 wt%의 테트라 메틸실란(TMS)을 포함한 CDCl₃ (Merck, Germany)를 용매로하여 ¹H NMR(Bruker 300, 500 MHz, USA)를 통하여 분석하였다. MPEG-PCL 블록 공중합체의 분자량과 분자량 분포의 측정을 위하여 두 개의 칼럼을 가진 GPC (Shodex RI-71 detector, Japan)를 사용하였다. 표준시료로 폴리스티렌을 이용하여 표준 정량 후 이동상으로 클로로포름을 이용하여 0.6 mL/min의 유속으로 40℃에서 실시하였다. 솔-젤 전이 온도의 측정을 위하여 MPEG-PCL의 온도에 따른 상전이 현상을 관찰하기 위하여 바이알 기울임 방법을 이용하였다. 증류수를 이용하여 4 mL 바이알에서 3-20 wt%의 농도를 갖는 블록고분자를 80℃에서 용해 후 균일한 고분자의 분산을 위해 4℃에서 15 시간 동안 보관하였다. 그 후 항온조에서 15분마다 2℃씩 증가시키면서 10℃부터 각각의 온도에서 10분간 방치 후 1분 동안 바이알을 기울이면서 고분자 흐름 상태를 관찰하여 솔-젤 전이 온도를 결정하였다. 온도에 따른 점도 변화는 Brookfield점도계를 이용하여 6℃부터 70℃까지 2℃의 증가로 0.05 rpm의 스핀들로 측정하였다.

2. Mesenchymal stem cell isolation and osteoblast culture

백서의 장골로부터 골수 줄기세포를 분리하여 배양하였다. 골수 줄기세포를 추출하여 10% fetal bovine serum (FBS)을 포함한 Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM)으로 culture flask에서 세포배양을 시행하고 배양세포가 거의 confluent해지면 0.05% Trypsin/0.25 mM EDTA를 이용하여 계대배양을 시행하였다. 10% FBS, penicillin/streptomycin을 포함한 DMEM과 0.1 M dexamethasone, 0.05 mM ascorbic acid-2-phosphate 및 10 mM β -glycerophosphate 등의 osteogenic induction medium을 추가하여 골모세포로의 분화를 유도하였다.

3. Alkaline phosphatase staining 및 von Kossa staining

24 well 배양용기에 줄기세포를 3주 동안 배양하고 7, 14, 21일에 cold PBS로 세포층을 2회 세척한 후 배양 세포층을 ACP mix (acetone:citrate solution:37% paraformaldehyde=65:25:8)를 이용하여 고정하고 Sigma Diagnostics ALP staining kit를 이용하여 alkaline phosphatase activity를 측정한다. von Kossa staining은 역시 7, 14, 21일에 배양세포층을 실온에서 60

분간 4% paraformaldehyde로 고정하고 증류수로 세척한 후 빛을 차단한 상태로 1% (wt/vol) silver nitrite solution에 30분간 고정하고 다시 몇 차례 증류수로 세척한 후 60분간 UV light를 조사하였다. 위와 같은 alkaline phosphatase staining과 von Kossa staining을 시행한 24 well plate를 digital camera를 이용하여 촬영하고 염색도를 Scion PC image analysis software를 이용하여 분석하였다.

4. 동물실험

체중 250-300 g 내외의 백서를 ketamine hydrochloride (8 mg/kg body weight)와 xylazine hydrochloride (1.15 mg/kg body weight)를 근주하여 마취를 시행하고 두 개부의 정중선에 절개를 가하고 8 mm trephine drill을 이용하여 8 mm 크기의 critical size defect (CSD)를 형성한 다음 장골에서 채취한 줄기세포에서 분화시킨 골모세포와 MPEG-PCL scaffold를 혼합하여 이식하고 3-0 black silk를 이용하여 피부를 봉합하였다 (n=5). 아무런 이식을 시행하지 않은 경우를 대조군으로 하여 MPEG-PCL 만을 이식한 경우(n=5)와 골모세포와 MPEG-PCL scaffold를 혼합하여 이식한 군, 여기에 2 mg의 rhBMP-2를 혼합하여 이식한 군으로 분리하여 실험을 시행하였다.

5. Histology and Image analysis

이식부를 주위의 정상골을 포함하여 4, 8주에 실험동물을 희생하여 채취하여 조직학적 소견 (H&E staining, Masson's trichrome staining) 및 soft X-ray를 촬영하고 Image Pro-plus 6.3 (version 6.3.0.512) 프로그램을 이용하여 신생골 형성을 분석하였다. 신생골 형성의 분석은 SPSS 10.0 프로그램을 이용하여 각 군간의 비교는 Oneway ANOVA와 Tukey test를 이용한 다중비교를 시

행하였고 각 주별 비교는 Student t-test를 이용하여 통계 분석을 시행하였다.

III. 연구 결과

1. MPEG-PCL diblock copolymer의 합성 및 SEM 소견

MPEG-PCL 블록 공중합체의 수용액 상에서의 형태를 관찰하기 위해 솔과 젤 상태의 고분자를 SEM을 통해 분석하였다 (Fig. 1). 고분자의 수용액 상에서의 온도에 따른 솔과 젤의 형성은 소수성 부분의 고분자의 응집에 의한 영향이다. 솔 상태에 서는 고분자가 완전 분산이 일어나 Fig. 2A에서처럼 급속 냉동 시 물의 결정화에 형성되는 육각 구조를 이루며 고분자 형태가 형성된다. 그러나 젤 상태의 경우에는 온도에 의해 고분자가 젤화되어 급속 냉동 후 건조 시 응집된 형태를 확인 할 수 있었다. 이러한 결과를 통하여 젤 상태에서는 약물의 봉입이 균일하게 일어나 젤화 상태에서 서 서방형의 약물 방출을 이루게 되는 약물 전달체로서의 가능성을 확인할 수 있었다.

2. ¹H NMR of MPEG-PCL diblock copolymer

중합된 MPEG-PCL 블록 공중합체의 특정 관능기에 대한 분자구조는 ¹H NMR을 통해서 분석하였다. Fig. 2에서처럼 MPEG의 반복되는 CH₂의 proton은 δ=3.65 ppm (A)에서 확인할 수 있었고, 말단의 methoxy proton은 δ=3.38 ppm (b)에서 확인하였다. PCL의 각각의 신호 (f-i)는 δ=2.31, 1.63, 1.39, 그리고 4.07 ppm에서 확인하였다. 또한 PCL의 말단 OH proton (j)은 δ=3.70 ppm에서 관찰하였다. 합성된 모든 블록 공중합체는 신호 b와 d의 면적비가 정확히 3:2의 비율을 나타냄을 확인하였다.

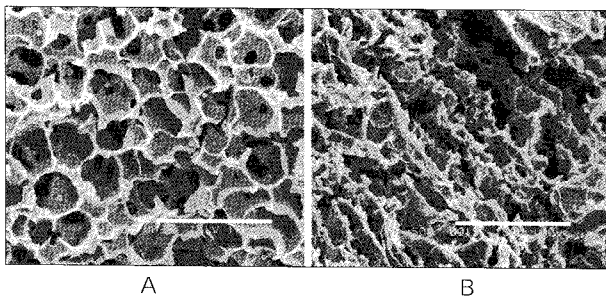


Fig. 1. SEM finging of MPEG-PCL (A:sol, B:gel)(×500).

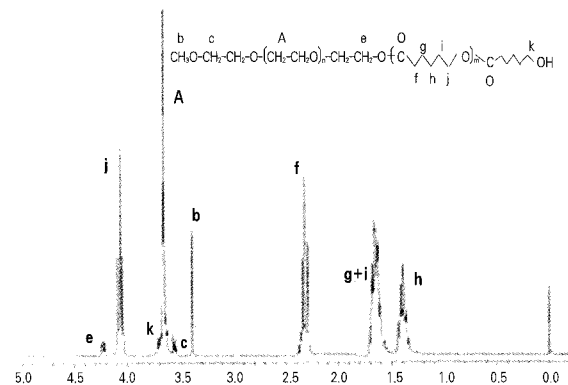


Fig. 2. ¹H NMR spectrum of MPEG-PCL diblock copolymer (HG-24) in CDCl₃.

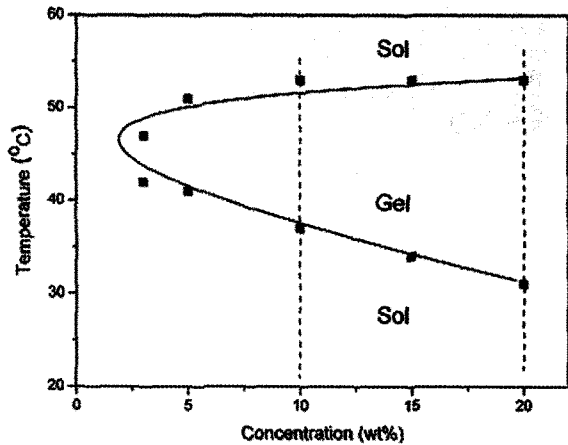


Fig. 3. Sol-gel-sol transition curve of MPEG-PCL diblock copolymer.

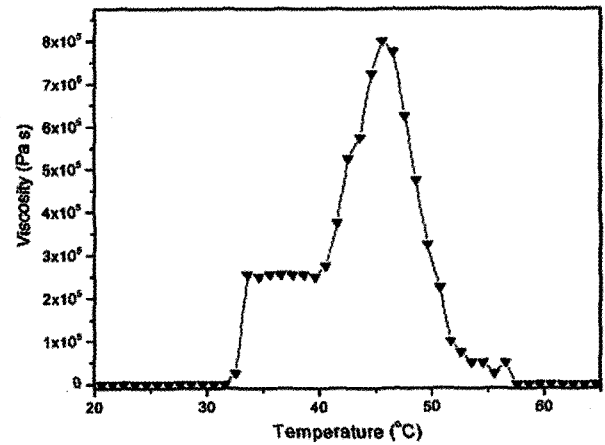


Fig. 4. Viscosity versus temperature curve for MPEG-PCL diblock copolymer solution at 20 wt%.

3. 블록고분자의 솔-젤 상전이 거동

합성된 고분자의 온도 변화에 따른 솔-젤 상전이 거동은 상온 형태에서는 솔의 상에서 온도가 증가되면 젤의 상으로 그리고 더더욱 온도가 증가되면 다시 솔의 상의 상전이를 나타내어 20 wt% 수용액의 경우 상온에서는 솔의 형태이나 약 31°C에서 젤의 상으로 변화됨을 확인할 수가 있었다 (Fig. 3, 4).

4. ALP staining 및 von Kossa staining

골수 줄기세포에 osteogenic induction medium을 추가하여 배양하여 골모세포로의 분화를 유도하면 alkaline phosphatase staining시 시간이 지나면서 염색이 뚜렷하게 관찰 되어 있어 골모세포로의 분화를 보여주고 있었고 배양세포에 대한 Von Kossa 염색에서는 3주 소견에서 mineralization이 뚜렷하게 관찰되고 있었다 (Fig. 5).

5. 조직학적 소견

1) BMP-2가 포함된 MPEG-PCL를 이식한 경우에는 아무런 이식을 시행하지 않은 경우 보다 더욱 진행된 골 형성을 관찰할 수 있었다 (Fig. 6, 7).

2) BMP-2가 포함된 MPEG-PCL에 골수 줄기세포에서 분화된 골모세포를 같이 이식한 군의 경우에는 4주 소견에서 석회화된 골기질과 흡수중인 scaffold가 나타나나 성숙 골은 별로 관찰되지 않고 있었으나 8주에서 골 형성이 상당히 진행되어 성숙된 lamella bone이 관찰되고 있었고 기존

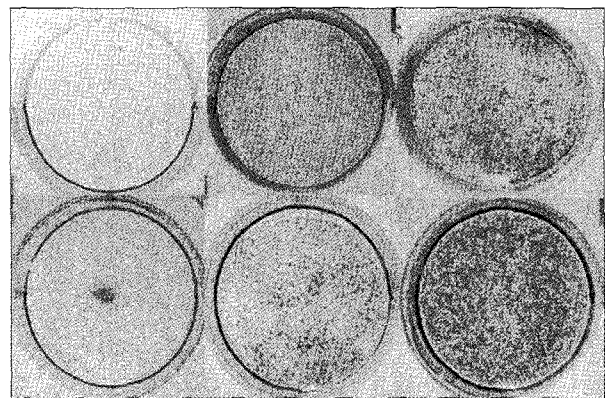


Fig. 5. ALP staining & von Kossa staining.

골과 유사한 골 형성이 관찰되고 있었고 4주 소견에 비하여 bone area가 증가되어 있었고 연골의 형성은 관찰되지 않고 있었다 (Fig. 8, 9).

6. Soft X-ray 소견

4주, 8주 경과 후의 soft X-ray 결과에서 조직소견과 유사하게 세포를 이식했을 때 골 결손부의 골 재생이 많이 진행되어 있었고 BMP를 같이 이식한 경우 8주에서 골 재생이 거의 완료되어 있는 것으로 관찰되고 있었다 (Fig. 10).

7. Image 분석

Soft X-ray의 image 분석 결과에서로 세포, BMP를 동시에 이식하였을 때 신생골의 density가 의미있게 증가되

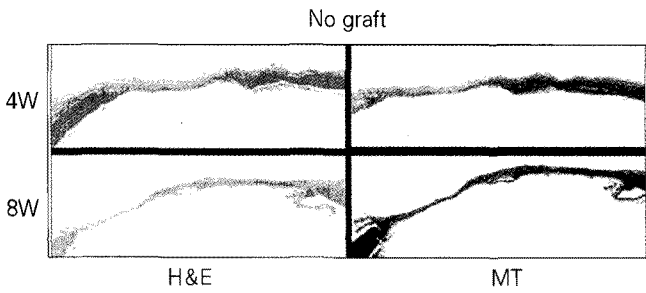


Fig. 6. Histologic findings of control group (no graft).

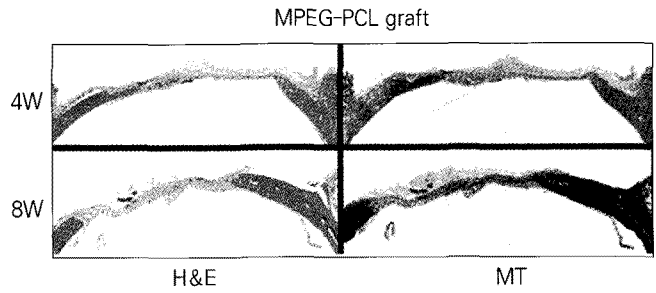


Fig. 7. Histologic findings of MPEG-PCL graft.

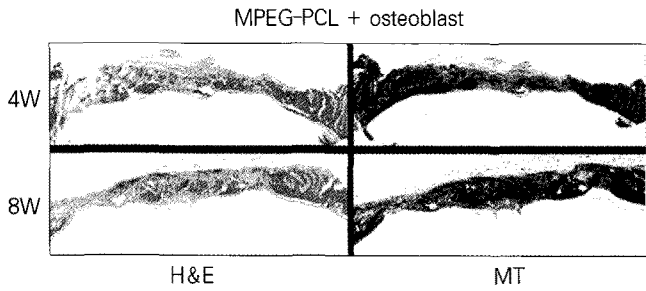


Fig. 8. Histologic findings of MPEG-PCL + osteoblast graft.

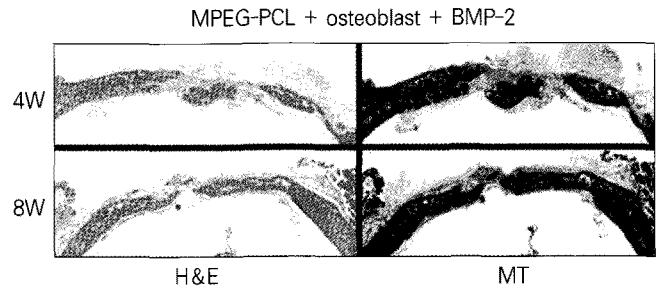


Fig. 9. Histologic findings of MPEG-PCL + osteoblast + BMP-2 graft.

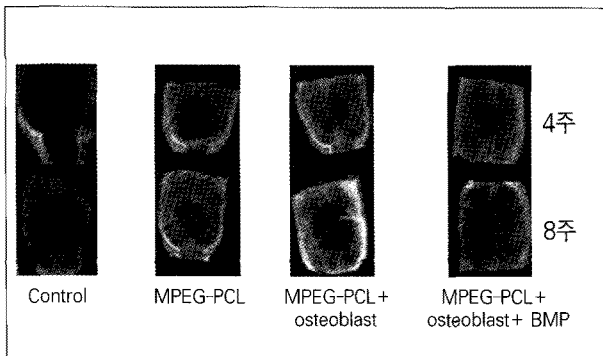


Fig. 10. Soft X-ray findings.

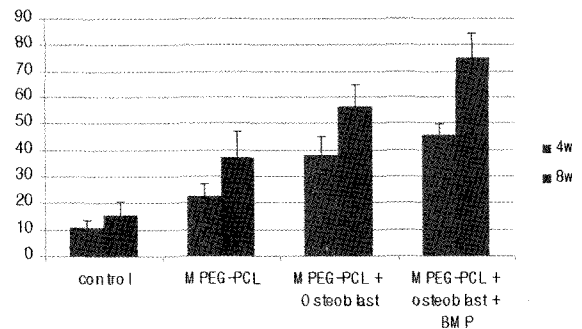


Fig. 11. Result of Image analysis.

어 있었고 특히 8주에서 BMP를 같이 이식하였을 때 정상 골에 비하여 약 75% 정도의 신생골 density를 보일 정도로 defect에 골형성이 진행되어 있었다 (Fig. 11).

IV. 총괄 및 고찰

정형외과, 치과 및 구강악안면외과 영역에서 외상, 종양의 수술 및 임플란트 식립 시 흔하게 수반되는 골결손부의 회복에 자주 사용되는 골이식재는 부분적으로 손실된 골 부분을 대체하는 역할을 하며, 단순히 소실된 부위를 보충하는 것이 아니라 소실 부위로 새로운 골이 자라 들어갈 수 있도록 도와주어야 한다.

현재 사용되는 이식재는 자가골, 동종골, 이종골, 합성골 등이 있다.⁹⁾ 자가골은 골 형성 및 골유도 가능성이 높으며, 이식된 골의 치유와 생활골로의 빠른 전환, 용도에 따라 다양한 형태로 채취가 가능한 장점이 있으나, 공여되는 양의 한계, 공여부에서의 2차 수술 및 수술시간의 증가, 공여부에서의 골 결손과 신경손상, 감염의 위험성, 술 후 동통, 이식골의 질적, 양적 부적합, 연장된 회복 기간 등의 단점이 있다.¹⁰⁾ 동종골 및 이종골은 2차적 수술부가 필요 없어 빠른 수술시간과 회복기간, 합성골 이식재에 비하여 저렴한 비용 등의 장점이 있으나 자가골에 비하여 약 2배 정도의 골유도기, 골화 과정에서 많은 양의 흡수가 발생하고, 형성된 골의 골질이 좋지 않고, 면역반응 또는 감염의 위험성 등의 단점

이 있다. 합성골은 hydroxyapatite, tricalcium phosphate, calcium aluminate 등의 물질을 사용되고 있는데 동종골 이식재에 비하여 항원반응을 일으키지 않는 장점이 있으나, 이식재 안으로 골 형성이 잘 되지 않고, 감염의 위험성 높고, 이식재의 노출, 독성 및 생체적합성 문제가 있으며, 자가골과 혼합해 사용하는 재료로써 가장 많이 사용되고 있지만, 흡수가 많이 되며 골재생의 효과가 적고 섬유 조직이 개개의 입자를 둘러싸게 되기도 하여 임상적으로 만족할 만한 효과를 보이지 못하고 있다. 또한, 이런 골 이식재들은 시술 후 형태나 공간을 유지하지 못하고 변형되는 문제를 가지고 있다. 이러한 이유로 골 재생을 위한 조직공학 적 기법을 적용하여 골유도, 골형성 및 골전도를 위하여 이상적인 지지체의 개발에 많은 연구가 이루어져 왔다.¹¹⁻¹⁴⁾

상전이 고분자란 외부자극에 의하여 민감하게 감응하여 연속적으로 또는 불연속적으로 팽창하는 등의 물성변화를 보이는 고분자로 외부자극으로는 pH, 이온 및 대사물 등의 화학적 또는 생화학적 자극이 있으며 온도, 빛, 전기장 그리고 용매 등의 물리적 자극이 있다. 본 연구에서는 온도 감응성 하이드로젤을 이용하여 골조직공학에의 이용 가능성을 분석하였는데 온도 감응성 하이드로젤은 유기 용매 없이 쉽게 제조할 수 있고, 투여 시 다루기가 쉽고 또한 외부 자극에 의해 약물의 방출을 조절할 수 있기 때문에 무한한 발전 가능성을 가지고 있는 것으로 알려지고 있는데¹⁵⁾ 이를 제조하기 위하여 친수성인 PEG와 소수성이며 생분해성인 PCL로 구성된 PEG-PCL 공중합체를 합성하였고, 수용액상에서의 온도에 따른 상전이 현상을 검토하였는데 최근에 생체조직 재생용 scaffold로 하이드로젤이 많은 관심을 받는 이유는 생체 내의 거대분자로 이루어진 구조물의 대부분이 수화되어 있고, 하이드로젤은 주사기 등을 사용하여 비교적 작은 상처만 남기고 생체에 주입될 수 있기 때문이다. 이러한 하이드로젤의 사용은 외과적 수술방법을 피할 수 있기 때문에 환자의 회복기간, 고통, 비용 등을 감소시킬 수 있을 것으로 기대된다. 그러나 하이드로젤 단독으로는 하중이 많이 작용하는 곳에는 사용할 수 없는 단점이 있어 정형외과 영역에서는 그 사용에 어려움이 따른다.

본 연구에서는 합성된 고분자의 온도 변화에 따른 솔-젤 상전이 거동을 확인하기 위하여 고분자를 증류수에 다양한 농도로 용해시킨 후 일정한 승온 온도의 간격에서 바이알을 기울임으로서 바이알 내의 수용액이 흐르지 않는 점을 솔-젤 상전이 온도로 결정하였다. 그 상전이 특성은 농도 변화에 대해 온도의 함수로 Fig. 3에 도식화 하였다. Fig. 3에서 보이는 것처럼 각각의 농도에서 측정된 상전이는 상온 형태에서는 솔의 상에서 온도가 증가되면 젤의 상으로 그리고 더더욱 온도가 증가되면 다시 솔의 상의 상전이를 나타낼 수 관찰할 수가 있었다. 20 wt% 수용액의 경우 상온에서는 솔의 형태이나 약 31°C에서 젤의 상으로 변화됨을 확인할 수

가 있었으며 더더욱 온도가 증가하여 약 52°C까지 증가하였을 경우 다시 흐르는 특성을 보임을 관찰할 수가 있었다. 한편 고분자 수용액의 농도를 감소시켰을 경우 상전이 온도가 나타나는 곡선이 좁아짐을 관찰할 수가 있었다. 이와 같이 농도 감소에 따라 솔-젤 상전이의 범위가 좁아진 것은 젤 형성을 위한 소수성 부분의 농도 감소에 기인한 것으로 평가된다. 20 wt% 수용액을 온도 증가에 따라 점도 변화 관찰을 실시하여 그 결과를 Fig. 4에 나타내었다. 고분자 수용액은 32°C 이하에서는 0의 점도를 나타내었으나 32°C 이상에서는 점도가 증가하여 약 46°C 부근에서 최대의 점도값 (80000 Pas)을 나타내었고 그 후 급격한 점도의 감소가 관찰되었고, 55°C 부근에서 다시 0의 점도를 나타내었다. 이 결과는 이 고분자가 인체 온도에서 젤로 변환 가능한 것을 나타내는 것이다.

합성된 고분자의 온도 변화에 따른 솔-젤 상전이 거동을 확인하기 위하여 고분자를 농도별로 증류수에 용해시킨 후 일정한 승온 온도의 간격에서 바이알을 기울임으로서 바이알 내에서 흐름특성을 통해 솔-젤 상변화를 확인하였는데 PCL의 분자량이 1,100 g/mole 일 경우에서 소수성 부분이 작기 때문에 증류수에 대해 완전 용해 현상을 보이며 솔-젤 거동을 보이지 않았으며, 반면에 PCL의 분자량이 3,000 g/mole 일 때에는 소수성 부분이 크기 때문에 증류수에 용해되지 않아 상전이 거동을 확인할 수 없었다. 그러나 PCL의 분자량이 1,600 g/mole에서 2,400 g/mole의 범위에서는 온도와 농도에 따라 젤화 되는 영역이 45°C를 중심으로 점차 넓어짐을 확인할 수 있었다.

본 연구 결과 20 wt% 수용액이 상온에서는 솔의 상이고 32-55°C 범위에서는 젤 그리고 다시 솔의 상이 된다는 것을 관찰할 수가 있었는데 이는 온도 감응성 하이드로젤을 이용하는데 있어서 투여 직전에는 젤 상태를 유지하고 투여 후 인체 온도에서 솔로의 성상 변화를 유도할 수 있어 임상적 사용에 유리한 점을 지니고 있어 본 연구에서 합성 제조된 HG-24 20 wt% 수용액은 인체 온도에서 젤을 형성할 수 있는 블록 고분자임을 확인할 수 가 있었다. 제조된 20 wt% 수용액의 온도 변화에 따른 솔-젤의 형성은 소수성 부분 고분자의 응집에 의한 영향으로 사료되는데, 솔 상태에서 고분자가 완전 분산이 일어나 균일한 형태의 고분자 형태가 형성되지만 젤 형성에 의해 소수성 부분 고분자가 응집되어 젤 상태에서는 약물의 봉입이 균일하게 일어나 젤화 상태에서 서방형의 약물 방출을 이루게 되는 것으로 생각된다. 이런 결과를 통하여 MPEG-PCL 블록 공중합체 하이드로젤을 이용하여 초기 버스트 없이 BMP 등 약물의 농도 조절을 통해 원하는 기간 동안의 약물의 서방화를 이룰 수 있고, 다양한 단백질의 서방화를 이룰 수 있을 것이라 예상되어 이를 이용한 조직공학적 골 결손부 수복에 사용이 가능하리라 생각된다.

V. 결 론

친수성인 MPEG와 소수성이며 생분해성인 PCL로 구성된 온도 감응성 하이드로젤인 MPEG-PCL 블록 공중합체를 합성하고, 수용액상에서의 온도에 따른 상전이 현상을 검토한 다음 bone morphogenic protein (BMP)의 MPEG-PCL 블록 공중합체 내에서의 서방형 방출을 유도하고 여기에 골수 줄기세포에서 분화시킨 골모세포를 혼합하여 백서의 두개골에 형성한 골 결손부에 주입하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 합성된 MPEG-PCL 하이드로젤은 31°C 이하의 온도에서는 흐름 특성을 갖는 솔 상태를 유지하였고 31-52°C 범위에서는 젤을 형성하였다.
2. rhBMP-2가 포함된 MPEG-PCL 하이드로젤을 백서의 두개골 결손부에 투여한 결과 양호한 골 결손부의 수복을 보였다.

이상의 결과로 MPEG-PCL 블록 공중합체는 생분해 특성을 갖는 하이드로젤로서 BMP-2 등의 성장인자의 전달체로서의 가능성을 확인할 수 있어 조직공학적 골재생에 이용이 가능하리라 생각된다.

References

1. O Wichterle, D Lim, Hydrophilic gels in biologic use. *Nature*, 185, 117 (1960).
2. R Yoshida, K Sakai, T Okano, *et al.*, Pulsatile drug delivery systems using hydrogels, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 11, 85 (1993).
3. L Zhang, CC Chu, IH Lou, Effect of a combined gamma irradiation and parylene plasma treatment on the hydrolytic degradation of synthetic biodegradable sutures,

- J. *Biomed. Mater. Res.*, 27, 1425 (1993).
4. JH Lee, J Kopecek, JD Andrade, Protein-resistant surfaces prepared by PEO-containing block copolymer surfactants, *J. Biomed. Mater. Res.*, 23, 351 (1989).
5. S Zhou, X Deng, H Yang, Biodegradable poly(ϵ -caprolactone)-poly(ethylene glycol) block copolymers: characterization and their use as drug carriers for a controlled delivery system, *Biomaterials*, 24, 3563 (2003).
6. G Crotts, TG Park, Preparation of porous and nonporous biodegradable polymeric hollow microspheres, *J. Controlled Release*, 35, 91 (1995).
7. KS Seo, JS Park, MS Kim, *et al.*, Synthesis of thermosensitive and biodegradable methoxy poly(ethylene glycol)-polycaprolactone and methoxy poly(ethylene glycol)-poly(lactic acid) block copolymers, *Polymer(Korea)*, 28, 211 (2004).
8. KS Seo, JS Park, MS Kim, *et al.*, Thermosensitive sol-gel phase transition behavior of methoxy poly(ethylene glycol)-b-poly(ϵ -caprolactone) diblock copolymers, *Polymer(Korea)*, 28, 344 (2004).
9. Yamada Y, Boo JS, Ozawa R, *et al.*: Bone regeneration following injection of mesenchymal stem cells and fibrin glue with a biodegradable scaffold. *J Craniomaxillofac Surg* 31:27, 2003.
10. Younger EM, Chapman MW: Morbidity at bone graft donor sites. *J Orthop Trauma* 3:192, 1989.
11. Brekke JH, Toth JM: Principles of tissue engineering applied to programmable osteogenesis. *J Biomed Mater Res* 43(4):380, 1998.
12. Bruder SP, Fox BS: Tissue engineering of bone-Cell based strategies. *Clin Orthop* 367 Suppl:S68, 1999.
13. Spector M: Anorganic bovine bone and ceramic analogs of bone mineral as implants to facilitate bone regeneration. *Clinics in Plastic Surgery* 21(3):437, 1994.
14. Behravesch E, Yasko AW, Engel PS, *et al.*: Synthetic biodegradable polymers for orthopaedic applications. *Clin Orthop* 367 Suppl:S118, 1999.
15. Lee KY, Mooney D.: Hydrogels for tissue engineering. *Chem. Reviews*, 101:1869, 2001.

저자 연락처

우편번호 425-707
경기도 안산시 고잔동 516번지
고려대학교 안산병원 구강악안면외과
장현석

원고 접수일 2009년 11월 12일
게재 확정일 2010년 01월 12일

Reprint Requests

Hyon-Seok Jang
Department of Oral and Maxillofacial Surgery Korea University Asan Hospital
516 Kojan-dong Danwon-gu Ansan, 425-707, Korea
Tel: 82-31-412-5370 Fax: 82-31-401-7125
E-mail: omfs1109@korea.ac.kr

Paper received 12 November 2009
Paper accepted 12 January 2010