

물리화학적 처리된 PLGA 표면의 섬유아세포와의 상호작용

강길선*·이상진**·전주형·이진호**·이해방†

한국화학연구소 생체고분자팀, *전북대학교 고분자공학과, **한남대학교 고분자공학과
(2000년 1월 26일 접수)

Interaction of Fibroblast Cell onto Physicochemically Treated PLGA Surfaces

Gilson Khang*, Sang Jin Lee**, Ju Hyeong Jeon, Jin Ho Lee**, and Hai Bang Lee†

Biomaterials Laboratory, Korea Research Institute of Chemical Technology,

P. O. Box 107, Yusung, Taejeon 305-343, Korea

*Department of Polymer Science and Technology, Chonbuk National University,

664-14, Dukjin Dong 1Ga, Dukjin Ku, Chonju 561-756, Korea

**Department of Polymer Science and Engineering, Hannam University,

133 Ojeong Dong, Daedeog Ku, Taejeon 306-741, Korea

†e-mail : hblee@pado.krict.re.kr

(Received January 26, 2000)

요약: 소수성 표면성질을 나타내고 있는 poly(L-lactide-co-glycolide) (75 : 25 by mole ratio of lactide to glycolide, PLGA) 표면의 세포적합성을 증가시키기 위하여 물리화학적 처리방법으로 표면개질 하였다. 물리적 방법으로는 코로나 방전 및 플라즈마 처리가, 화학적인 방법으로는 70% 염소산, 50% 황산 및 0.5 N 가성소다 수용액으로 처리하였다. 처리된 PLGA 표면의 물접촉각은 73°에서 50~60°로 감소하였고 electron spectroscopy for chemical analysis의 분석결과, 알킬 탄소는 감소되는 반면, 산소를 포함하는 탄소 관능기들이 상대적으로 증가함을 보여 친수화의 주원인으로 사료되었다. 섬유아세포의 배양 결과 control에 비하여 처리된 PLGA상에 점착 및 성장 거동이 우월하게 관측되어 본 처리 방법이 세포적합성을 증가시켰다고 사료된다. 결론적으로 PLGA 표면의 적습성에 있어서 친수화는 세포의 점착 및 성장에 중요한 역할을 하는 것으로 확인되었다.

ABSTRACT: In order to improve the cell-compatibility of poly(L-lactide-co-glycolide) (75 : 25 by mole ratio of lactide to glycolide, PLGA) surfaces, the physicochemical treatments have been demonstrated. Chemical treatments were 70% perchloric acid, 50% sulfuric acid and 0.5 N sodium hydroxide solution and physical methods were corona and plasma treatment. The water contact angle of surface treated PLGA decreased from 73° to 50~60°, i.e., increased hydrophilicity, due to the introduction of oxygen-containing functional group onto PLGA backbone by the measurement of an electron spectroscopy for chemical analysis. It could be observed that the adhesion and growth of fibroblast cell on physicochemically treated PLGA surfaces, especially perchloric acid treated PLGA surface, were more active than on the control. In conclusion, it seems that surface wettability as hydrophilicity of PLGA plays an important role in cell adhesion, spreading and growth.

Keywords: PLGA surface, physicochemical treatment, wettability, fibroblast cell adhesion and growth, perchloric acid treatment.

서 론

최근 생분해성 고분자는 체내 또는 체외에서 세포와 조직배양을 위한 여러 형태의 기질로 널리 사용되고 있는데 이들의 기능은 대부분 세포의 특징인 기질에 달라붙어서 성장하는 세포 (anchorage-dependant cell)의 부착, 이동 및 성장할 수 있는 장소를 제공한다.¹⁻⁹ 이들 생분해성 고분자는 이식된 세포들의 일시적인 지지체가 되어 세포들로부터 세포간질 (extracellular matrix, ECM)을 분비할 수 있게 하며 결국에는 체내에서 분해되어 완전한 천연조직 대체물로서의 역할을 대용하게 된다. 현재 가장 많이 사용되고 있는 생분해성 고분자 중의 하나는 poly(α -hydroxy acid) 계열의 폴리락타이드 (polylactide, PLA), 폴리글리콜라이드 (polyglycolide, PGA) 및 이들의 공중합체 poly(lactide-co-glycolide) (PLGA) 등인데 이 이유는 생분해성 고분자로는 유일하게 미국의 식품의약안전청에서 허가를 받았으며,¹⁰ 생분해 기간을 자유자재로 조절할 수 있고,¹¹ 또한 비교적 좋은 생체 적합성을 갖고 있기 때문이다.¹² 이들 고분자들은 인체 내에서 가수분해 반응에 의하여 최종적으로 이산화탄소와 물로 분해되어 체외로 배출되기 때문에 이물질이 체내에서 일으키는 여러 가지 부작용을 최소화시킨다.^{13,14} 이들은 흡수성 봉합사,¹⁵ 뼈고정용판·볼트 및 서방성 의약제제¹⁷⁻¹⁹ 등에서 널리 사용되고 있다.

이들 생분해성 고분자의 세포 및 혈액적합성에 대한 한가지의 단점은 PLGA 표면이 소수성 (물접촉각; $70 \sim 76^\circ$)이기 때문에 수용액 내에서 높은 계면 자유에너지를 가지게 되고 이로 인하여 세포의 부착 및 성장에 좋지 않은 영향을 미치며 반면에 혈액성분의 혈소판 부착은 잘 되는 즉, 조직세포 적합성과 혈액 적합성이 결여된다.¹² 또한 조직공학용 재료인 다공성 PLGA 담체의 경우에는 다공체 내에 배양액, 세포 현탁액 및 세포배양에 관계되는 액 등에 잘 젖지 않는다.^{20,21} 따라서 배양액이 젖지 않은 부분에는 세포가 배양되지 못하고 대부분의 구멍이 그대로 남게되어 장기형성이 되지 못하는 경우가 종종 발생된다. 즉, 조직공학을 이용한 세포배양에 의한 균일한 조직의 생성을 위하여 배양액 또는 세포현탁액이 다공성 생분해성 지지체내에서 균일한 분포를 얻는 것이 중요하다. 현재 널리 사용되고 있는 방법은 에틸알콜

을 이용한 전적침 (prewetting) 방법인데 이 방법의 단점은 잔류 에틸알콜의 독성과 생분해성 고분자의 표면이 여전히 소수성으로 남아있다는 점이다.

따라서 전보에서는 공기 플라즈마 처리¹¹ 및 적심성 점진구배를¹² 수행한 PLGA 표면에 섬유아세포를 배양하여 극소수성이거나 극친수성인 경우보다는 중간 친수성 (moderate hydrophilic)인 즉 물에 대한 접촉각이 약 $50 \sim 55^\circ$ 인 지점에서 세포의 성장거동이 제일 나음을 밝혔으며, 혈액 적합성의 경우에는 소수성보다는 친수성의 PLGA 표면에서 혈소판의 흡착이 덜되는 현상을 관측하였다. 또한 유화동결건조법으로 다공성 PLGA 지지체를 제조하여²⁰ 이들을 친수화시킬 목적으로 물리화학적 방법 즉, 화학적인 방법으로는 50% 황산용액, 0.5 N 가성소다용액 및 70% 염소산 혼합액처리로 또한 물리적인 방법으로 코로나 방전 및 플라즈마 방전으로 처리하여 이들의 친수성 정도를 푸른 염색액 침투 측정한 결과 염소산 > 황산 > 가성소다 처리순 임을 알 수 있었다.²¹

본 연구에서는 이상의 실험에서 수행된 친수화 실험 및 적심성 테스트를 바탕으로 물리화학적 처리된 PLGA 표면의 특성결정을 수행한 후 섬유아세포의 점착 및 성장상태를 표면 적심성 측면으로 관찰하였다.

실 험

시 약. 단량체인 L-락타이드와 글리콜라이드는 Boehringer-Ingelheim (Germany)에서 구입하였으며, 개시제인 stannous 2-ethylhexanoate는 Wako Chem. Co. (Japan)의 것을 사용하였다. 톨루엔 (Junsei Chem. Co., Japan), 메틸렌클로라이드 (MC, Tedia Co. Inc., USA) 및 메틸알콜 (Junsei Chem. Co.)을 그대로 사용하였다. 표면처리를 위하여 사용된 산화제는 황산 (동양화학(주)), 가성소다 (Jin Chem. & Pharm. Co.), 퍼크로릭산 (70%, HClO_4 , Junsei Chem. Co.) 및 포타슘 크로레이트 (KClO_3 , Junsei Chem. Co.)를 사용하였다.

PLGA의 합성 및 특성 결정. 75 mol% 락타이드와 25 mol% 글리콜라이드의 혼합물 30 g을 중합관 (ϕ 30 mm $\times$ 35 cm 길이)에 위치하고 진공 하에서 60°C 로 2시간 동안 가열하여 수분을 제거한다. 톨루

엔에 용해되어 있는 stannous 2-ethylhexanoate를 150 ppm을 취하여 중합관에 가하고 분당 100회전으로 교반하며 온도를 165 °C로 상승시킨 후 4.5시간 동안 반응시킨다. 연한 갈색의 PLGA 공중합체는 MC를 양용매로 과량의 메틸알콜을 난용매로 2회 정제하였으며 진공건조하여 사용 전까지 진공오븐에 보관하였다. 본 중합과정은 전보에 상세히 나타내었다.^{11,12,18-21} 중합된 PLGA 특성을 결정하기 위하여 젤투과 크로마토그래피 (Waters Chromatographs 200, USA)를 사용하였다. 중합 정제된 PLGA의 분자량 및 분자량분포는 50000~70000 g/mole 및 1.5~1.9 범위에 있었으며, 재연성은 실험오차 범위 내에서 양호하였다.

PLGA 필름의 제조. 10%의 PLGA를 MC에 완전히 용해시킨 후, 2g의 PLGA용액을 수평수준이 유지되는 직경 100 mm의 Pyrex 유리접시에 부은 후 실온에서 MC를 1주일에 걸쳐 완전히 증발시켰다. 이때 얻어진 두께는 400~600 μm 이었으며 7×7 cm 정사각형으로 취하였다. PLGA 필름은 에틸알콜 내에서 초음파 세척기로 세척하였으며 표면처리 전까지 진공 하에서 보관하였다.

PLGA 필름의 물리화학적 표면처리. PLGA 필름은 10×10 mm의 크기로 취하였다. 물리적인 방법으로는 플라즈마 처리와 코로나 처리를 수행하였다. 플라즈마 처리는 본 연구팀에서 자체 제작한 방전기를 이용하여 수행하였으며 고주파 발전기의 출력은 100 kHz하에서 200 V, 20 mA이었고 0.1 torr의 진공상태에서 15초 동안 수행하였다.¹¹ 코로나 방전처리는 본 연구팀에서 자체 제작한 방전기와 칼날형태의 방전전극을 이용하여 처리하였으며 이 때 조건은 20 liter/min의 건조된 공기 상태 하에서, 100 kHz, 20 W의 세기로 시료 베드 속도는 1.0 cm/sec로 수행하였다.^{12,28} 화학적 처리로는 50% 농도의 황산, 0.5 N의 가성소다 및 70%의 염소산 혼합액에 30분간, 그리고 5° 각도의 orbital 교반기를 30 rpm으로 하였다. 염소산 혼합용액은 70%의 HClO₄와 KClO₃ 포화수용액을 3:2 비율로 혼합하여 제조하였다. 화학적 처리 후에 증류수로 5차례 세척, 잔류 화학 약품들을 완전제거 하여 -55 °C로 급냉 후, 30 mtorr에서 동결건조기를 사용하여 건조시켰다.^{21,23,24}

PLGA 필름의 표면분석. 물리화학적 표면처리 후

에 친수화된 표면을 분석하기 위하여 물접촉각과 ESCA 분석을 수행하였다. 물접촉각은 접촉각측정기 (Model 100-0, Ram-Hart, Inc, USA)를 사용하여 실온에서 측정하였으며 3 μL 의 수적을 표면처리된 PLGA 필름상에 낙하하였으며 한 샘플당 5군데 이상을 측정하였다. 표면처리된 후에 표면에 도입된 관능기를 분석하기 위하여 ESCA (ESCALAB MK II, V.G. Scientific Co., UK)분석을 수행하였다. 분석조건은 AlK α , 1487 eV 및 300 W의 anode이었으며 survey scan하여 탄소원자와 산소원자의 상대적인 양을 측정하였다.

표면처리된 PLGA 필름표면의 섬유아세포의 배양. 한국세포주 은행에서 분주받은 NIH/3T3 섬유아세포 (KCLB 21658, Seoul, Korea)는 37 °C, 5% CO₂의 분위기에서 폴리스티렌 (PS) 플라스크 배양용기 (Corning, U.S.A.) 내에서 일반적인 방법으로 계대 배양되었으며 PLGA에 배양하기 직전에 0.25% 트립신 (GIBCO Lab., U.S.A.)을 이용하여 세포들을 배양용기 바닥에서 떼어 내었다. Control과 표면 처리된 PLGA 필름 (크기: 1.5×1.5 cm)은 12-well PS 배양 플레이트 (Corning, U.S.A.)에 고정시킨 후 Ca²⁺와 Mg²⁺가 없는 Dulbecco's 인산완충용액 (PBS, pH 7.3~7.4; Sigma, U.S.A.)에 30분 동안 정치시켰다. 피펫으로 PBS 용액을 제거한 후 4×10⁴ cells/cm²의 세포농도로 파종하였다. 사용된 배양액을 Rosewell Park Memorial Institute (RPMI) 1640 혼합액 (GIBCO Lab., U.S.A.)이었으며 10%의 어린 소혈청 (fetal bovine serum, FBS) 100 units/mL의 페니실린 및 100 μg /mL의 황산 겐타마이신이 첨가되었다.

PLGA 표면상에서의 섬유아세포 배양은 4일 동안 수행되었고, 배양액은 파종 후 1일째에 교환하였다. 채취된 샘플의 표면에 성장된 섬유아세포는 2.5% 글루타르알데히드 (GIBCO Lab., U.S.A.)를 이용하여 고정화하였다. PBS로 조심스럽게 5차례 세척한 후, 표면 위의 세포를 탈수시키기 위하여 에탄올 시리즈 용액 (50, 60, 70, 80, 90 및 100%)으로 10분마다 교체 해주어 실온에서 건조시켰다. 부착된 세포의 모양과 마릿수를 관찰하기 위하여 건조된 샘플을 양면 테이프를 이용하여 샘플 홀더에 고정시킨 후, 플라즈마 스퍼터 (Emscope, Model SC 500K, UK)를 이

용하여 200 Å 두께의 백금을 코팅하여 SEM 사진 (Hitachi Co., Model S-2250N, Japan)을 얻었다. SEM 사진을 얻을 시에는 45° 각도로 기울여서 측정하였다. 각각의 표면처리 방법에 따른 부착된 세포들의 마릿수는 cm^2 으로 환산되었다. 본 과정의 좀더 상세한 과정은 전보에 나타내었다.^{11,12}

결과 및 고찰

물리화학적 방법으로 개질된 PLGA의 표면분석. 소수성인 표면성질을 띠고 있는 PLGA와 친수화된 PLGA 표면에 섬유아세포의 점착 및 성장 거동을 살펴보기 위하여 물리화학적 방법으로 표면처리를 수행하였다. 물리적 방법으로는 플라즈마 방전 및 코로나 방전처리, 화학적인 방법으로는 50% 황산, 0.5 N 가성소다 및 염소산 처리를 수행하였다. 전보에서는 본 처리 조건이 각 방법에 대하여 최적임을 나타내었다. 친수화 척도인 물접촉각은 친수화의 경향이 증가할수록 즉, 적심성이 증가할수록 감소한다. Table 1에는 물리화학적 처리된 후에 물접촉각 변화를 나타낸 것으로써 control인 경우에는 73°이던 것이 물리화학적 처리된 후에 약 50~60° 사이로 감소함을 보여 적심성이 증가되었음을 나타내고 있다.

친수화된 PLGA 표면에 도입된 관능기를 분석하기 위하여 ESCA 분석을 수행하였다. Figure 1에는 대표적인 survey scan spectra로써 control과 15초 동안 공기 중에서 플라즈마 처리된 PLGA의 분석결과를 나타내었다. 또한 Table 1에는 산소와 탄소의 원자 피크에서 환산된 원자비를 나타내었다. 탄소피크 (C1s)는 285 eV에서 산소피크 (O1s)는 532 eV에서 나타나는데 이는 PLGA 분자 내의 산소와 탄소에서 기인하는 것이다. Control에 비하여 플라즈마 처리한 PLGA 표면에서의 C1s는 감소하고 O1s는 증가하는 즉, PLGA 주쇄에 산소를 포함하는 관능기가 포함되어 표면의 산화에 의한 것으로 판단되며 적심성의 증가 즉, 친수성화된 것으로 판단된다. Table 1에 나타내었듯이 물리화학적으로 처리된 PLGA의 산소와 탄소의 비가 0.46에서 0.55~0.77로 증가하는 것으로 보아서 본 연구에서 처리된 방법이 효과적임을 알 수 있었다. 이들 중 화학적인 방법에는 염소산 처리가, 물리적인 방법에는 플라즈마 처

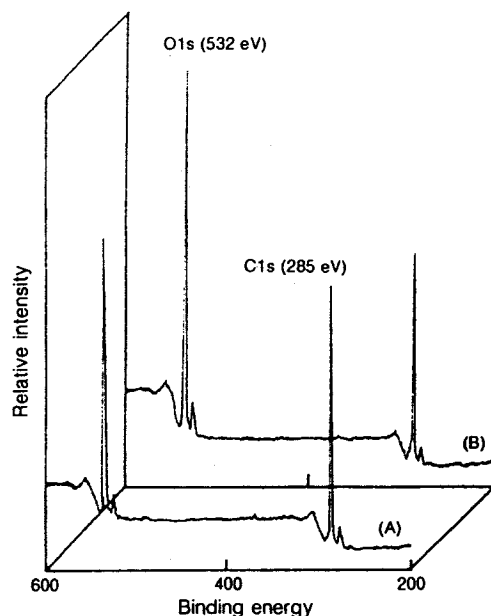


Figure 1. Typical ESCA survey scan spectra of control (A) and plasma-treated PLGA surface with 15 sec (B).

Table 1. Changes in the Water Contact Angle ($n=3$) and the Ratio of O1s/C1s of ESCA Survey Scan Spectra ($n=2$) for Physicochemically Treated PLGA Surfaces

	water contact angle	ratios of O1s/C1s
control	73.2 ± 4.51	0.46 ± 0.10
sulfuric acid	61.3 ± 2.8	0.54 ± 0.08
chloric acid	60.2 ± 4.5	0.72 ± 0.13
sodium hydroxide	61.2 ± 5.0	0.60 ± 0.15
corona	56.1 ± 4.1	0.62 ± 0.09
plasma	52.3 ± 3.0	0.65 ± 0.12

리 방법이 좀더 효과적인 것으로 나타났다.

Figure 2에는 control 및 염소산, 가성소다 및 플라즈마 처리 후에 carbon 1s core level spectra 변화를 나타낸 것이다. 처리 후에 control과 비교하여 볼 때 285.0 eV에서 관찰되는 alkylcarbon (-C-C-)은 감소되는 반면, 산소를 포함하는 관능기인 ~ 286 eV에서 관찰되는 ether carbon (-C-O-), ~ 289 eV에서 관찰되는 carboxylic carbon (O=C-O- 및 ~ 287.7 eV에서 관찰되는 oxygen double carbon (O=C) 등이 증가되는 것으로 확인되었다. 또한 처리방법에 따라서 각 피크의 상대적 크기가 틀린 것으로 나타

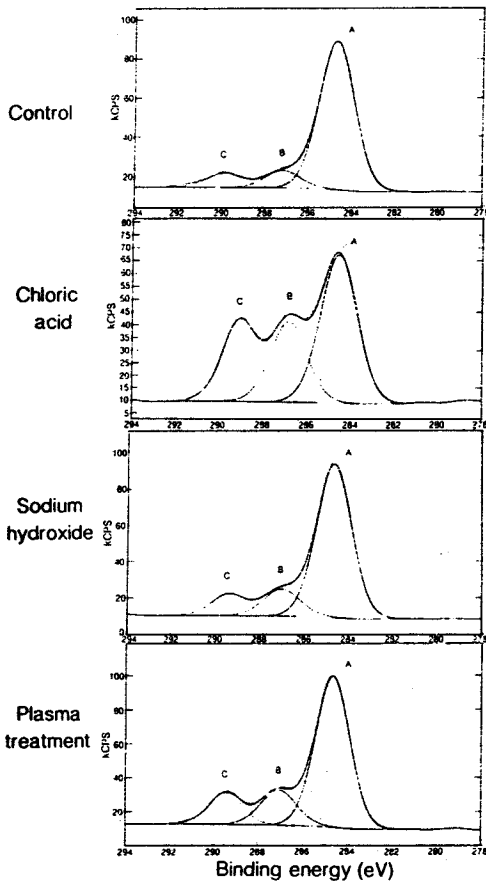


Figure 2. ESCA carbon 1s core-level spectra of control, chloric acid treated, sodium hydroxide treated and plasma treated PLGA surfaces.

나고 있다. 상대비 크기 별로 보면 염소산, 플라즈마, 가성소다 등의 순으로 나타난다. 이러한 현상의 주원인에 대하여서는 각 처리방법에 따라 산화되는 경로 등 여타 다른 인자들이 복합적으로 작용하는 것으로 추측된다. 본 처리방법에 의한 PLGA 주쇄에 산소를 포함한 관능기의 생성 기구를 살펴보면 화학적 또는 물리적 산화인자에 폭로된 PLGA의 주쇄에 자유라디칼의 생성 또는 분해로 인한 주쇄 말단에 자유라디칼이 생성된다. 이 PLGA 자유라디칼이 계속 공기와 접촉하게 되면 공기중의 산소는 자유라디칼과 반응하여 과산화기가 생성되고 공기 중에 존재하는 산소와 더욱 반응하여 알콜기, 카르복실산 에스터기, 에테르기 및 케톤류 등의 생성으로 발전하는 것으로

보고되고 있다.³¹⁻³⁴

PLGA 표면과 섬유아세포의 상호작용. 일반적으로 고분자 표면과 세포들의 상호작용에 있어서 영향을 미치는 인자는 표면 거칠기(roughness),²⁵⁻²⁷ 적실성(친수성/소수성),²⁸⁻³¹ 표면분자들의 운동성,³² 화학적 조성,³³ 결정화도, 표면전하, 표면에너지 및 불균일성 등이다. 본 연구에서는 이들 중에서 PLGA의 표면을 물리화학적 방법으로 소수성에서 친수성으로 개질시킨 후 섬유아세포의 점착거동(배양 1일째) 및 성장거동(배양 2일째)을 살펴보고자 하였다.

Figure 3에는 물리화학적 처리 방법으로 개질된 PLGA 표면에 1일 및 2일째 배양된 섬유아세포의 전자현미경 사진을 나타내었다. 일반적으로 점착거동을 나타내는 1일째에는 대부분의 세포들이 구형의 즉 filopodia 및 lamellipodia 등이 뻗어 나오고 있지 않은 상태를 보이고 있으며 이 현상은 특히 control에서는 더욱 심한 것으로 나타났다. 그러나 배양 1일째라 하더라도 염소산 처리와 플라즈마 처리한 경우에는 일단의 상당수의 filopodia와 lamellipodia 등이 보이기 시작하여 세포의 점착이 많이 진행됨을 알 수 있었다. 성장거동을 나타내는 2일째에서는 대부분의 세포들의 숫자는 증가되었음을 알 수 있었고, control의 경우에는 다른 처리된 PLGA 표면과 비교할 때 아직도 구형 형태를 나타내고 있는 것을 관측할 수 있었으며 성장된 세포의 숫자 또한 적음을 알 수 있어 소수성 표면이 세포의 점착과 성장에 있어서 부정적인 작용을 하는 것으로 나타나고 있음을 알 수 있었다. 개질된 PLGA 표면에서 성장된 세포의 모폴로지는 세포의 filopodia와 lamellipodia 등이 완전히 성장되어 focal 점착이 왕성하게 일어나 성장상태가 아주 좋은 전형적인 섬유아세포의 성장거동을 나타내고 있다.³⁴ Figure 4에는 이들의 성장된 마릿수도 나타내었다. 다섯 가지 방법 중에서 염소산 처리의 경우가 하루째 점착에서 우월한 마릿수를 나타내서 초기 세포 점착상태가 좋음을 알 수 있었으며 이 틀째의 성장에서도 제일 나음을 보이고 있어 본 연구 목적상 가장 적합함을 보이고 있다. 이렇게 친수화된 표면에서 세포의 성장이 좋음을 보이는 것은 폴리에틸렌,²⁵ 폴리카보네이트,²⁶ PLGA,¹² 및 폴리메틸메타아크릴레이트 상에서 배양된 혈관내피세포(CPAE), 골아세포(MG63) 및 간세포(Hep G2) 등에서도

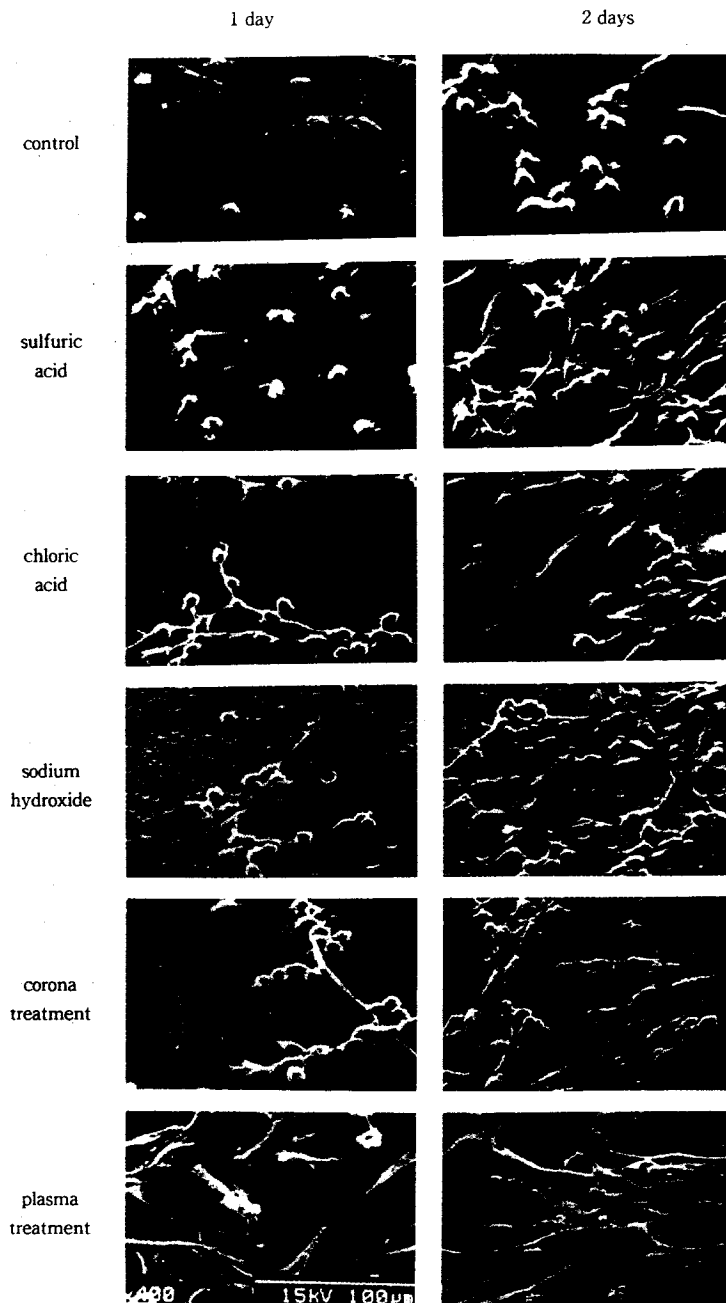


Figure 3. SEM microphotographs of fibroblast cell attached to physicochemically treated PLGA surfaces after 1 day and 2 days culture (original magnification, $\times 400$).

동일한 패턴으로 관측된다.³⁵ 또한, 본 방법의 물리화학적 처리에 의한 독성문제도 없는 것으로 육안으로

관찰되고 있다.

이러한 세포의 점착(1일째)과 성장(2일째) 거동

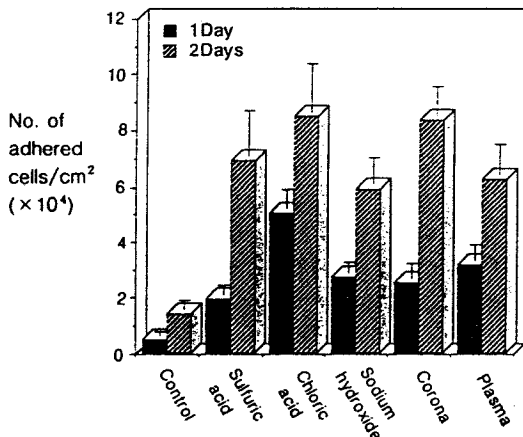


Figure 4. Fibroblast cell adhesion and growth of physicochemically treated PLGA surfaces after 1 day and 2 days (number of seeded cells; $4 \times 10^4/\text{cm}^2$) $n=3$.

의 패턴과 Table 1에 나타난 물점촉각 및 ESCA의 O1s/C1s 비를 비교하여 볼 때 경향성을 나타내지 않는 이유는 본 연구에서 시도한 물리화학적 처리방법이 서로 상이한 것을 들 수 있다. 일례로 전보들에서 나타내었던 코로나처리만 실시한, 즉 동일한 방법으로 처리한 경우에는^{17-21,23-35} 물점촉각이 $50 \sim 55^\circ$ 부근에서 제일 나은 세포점착 및 성장거동을 나타내었으나 본 연구에서는 서로다른 처리방법으로 처리를 수행하였기 때문에 Table 1에 나타내었듯이 O1s/C1s의 비, 즉 산화정도가 모두 틀리며 또한 Figure 2에서 나타낸 ESCA carbon 1s core-level spectra에서도 나타내었듯이 표면에서 생성된 화학적 구조가 모두 상이하기 때문에 물점촉각의 경향성과 일치하지 않는 것으로 추측하여 물점촉각, O1s/C1s의 비 및 ESCA carbon 1s core level spectra 이외의 표면물성도 정밀하게 분석해야 될 것으로 사료된다.

따라서 좀더 거시적인 측면에서의 친수성화가 고분자 표면에 대한 세포의 점착 및 성장에 긍정적인 영향을 미치는 이유로는 세포 배양액 내에 함유되어 있는 FBS의 선택적인 흡착에 기인하는 것으로 해석되고 있는데,³¹ 이 serum 단백질에는 세포의 점착에 결정적인 역할을 수행하는 피브로넥틴, 비트로넥틴 등과 같은 단백질이 함유되어 있는 것으로 알려져 있다. 이러한 단백질의 흡착은 소수성보다는 친수성 표면에서

우세하게 나타남을 보이고 있다.³⁶⁻⁴⁴ 결론적으로 소수성보다는 친수화된 표면에서 세포의 성장거동이 대체적으로 좋을 수 있어서 표면성질이 세포조직적 합성에서 중요한 성질임을 나타내어 주고 있다.

결론

본 연구에서는 최근 세포조직공학에서 널리 쓰이고 있는 PLGA 고분자를 전보에서 수행된 친수화 실험 및 적심성 테스트를 바탕으로 여러 가지 물리화학적 처리를 수행하여 표면성질을 특성결정한 후 섬유아세포의 점착 및 성장상태를 표면 적심성 측면에서 관찰하였다. 물리화학적 처리된 PLGA 표면에 섬유아세포의 실험결과 control에 비하여 세포의 점착 및 성장이 향상되었으며 세포의 모폴로지 또한 성장하기에 양호한 조건인 것으로 판단되었다. 전보에 삼차원 다공성 PLGA의 물리화학적 처리조건과 종합적으로 검토해 볼 때 다섯 가지 처리 방법 중 염소산처리가 3차원 PLGA 담체의 배양액의 침투성 및 세포적합성 측면에서 볼 때 타 방법에 비하여 비교적 우월함을 알 수 있었다. 이는 소수성에 비하여 친수화된 표면에 FBS의 serum 단백질의 선택 흡착인 것으로 추측되었다.

현재 생분해성 고분자인 PLGA 필름 및 담체에 물리화학적 처리에 따른 다른 세포들의 배양, FBS의 serum 단백질의 선택적 흡착 정도, 염소산 농도별 처리 후에 생성되는 정확한 관능기의 정량 및 정성분석, 이들에 사람의 연골과 bone marrow stromal 세포를 배양 후 독성 실험 및 동물실험 등이 수행 중이다.

감사의 글: 본 연구는 전북대학교 신입교수 연구지원비의 지원으로 이루어 졌으므로 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. R. Langer and J. P. Vacanti, *Science*, **260**, 920 (1993).
2. G. Khang and J. H. Lee, "The Properties of Biomaterials" in "Tissue Engineering: Concepts and Applications", J. J. Yoo and I. Lee eds., Korea Med. Pub. Co., Seoul, 1998.

3. J. P. Vacanti, M. A. Morse, W. M. Saltzman, A. J. Domb, A. Perez-Atayde, and R. Langer, *J. Pediatr. Surg.*, **23**, 3 (1998).
4. G. Khang and H. B. Lee, *Chem. World*, **37**(3), 46 (1997).
5. G. Khang and H. B. Lee, *J. Biomed. Eng. Res.*, **20**(1), 1 (1999).
6. G. Khang, I. Jo, J. H. Lee, I. Lee, and H. B. Lee, *Polymer Sci. Tech.*, **10**, 640 (1999).
7. G. Khang and H. B. Lee, *Bioindustry*, **22**, 32 (1999).
8. G. Khang, J. H. Lee, and H. B. Lee, *Polymer Sci. Tech.*, **10**, 732 (1999).
9. I. Lee, G. Khang, and H. B. Lee, *Polymer Sci. Tech.*, **10**, 782 (1999).
10. S. J. Holland, B. J. Tighe, and P. L. Gould, *J. Control. Rel.*, **4**, 155 (1986).
11. G. Khang, J. H. Jeon, J. W. Lee, S. C. Cho, and H. B. Lee, *Bio-Med. Mater. Eng.*, **7**, 357 (1997).
12. G. Khang, S. J. Lee, J. H. Lee, Y. S. Kim, and H. B. Lee, *Bio-Med. Mater. Eng.*, **9**, 179 (1999).
13. D. F. Williams and E. Mort, *J. Bioeng.*, **1**, 231 (1997).
14. O. Bostaman, *J. Bone Joint Surg.*, **73A**(1), 148 (1991).
15. J. P. Singhal, H. Singh, and A. R. Ray, *Rev. Macromol. Chem. Phys.*, **C28**, 475 (1988).
16. O. J. Hollinger and J. P. Schmitz, *J. Oral Maxillofac. Surg.*, **45**, 594 (1987).
17. G. Khang, J. C. Cho, J. W. Lee, J. M. Rhee, and H. B. Lee, *Bio-Med. Mater. Eng.*, **9**, 46 (1999).
18. J. C. Cho, G. Khang, J. M. Rhee, Y. S. Kim, J. S. Lee, and H. B. Lee, *Korea Polymer J.*, **7**, 79 (1999).
19. H. B. Lee, G. Khang, J. C. Cho, J. M. Rhee, and J. S. Lee, *Polymer Preprints*, **40**, 288 (1999).
20. G. Khang, J. H. Jeon, J. C. Cho, and H. B. Lee, *Polymer (Korea)*, **23**(3), 471 (1999).
21. G. Khang, J. H. Jeon, J. C. Cho, J. M. Rhee, and H. B. Lee, *Polymer(Korea)*, **23**, 861 (1999).
22. A. G. Mikos, G. Sarakinos, S. M. Leite, J. P. Vacanti, and R. Langer, *Biomaterials*, **14**(5), 323 (1993).
23. J. H. Lee, G. Khang, K. H. Park, H. B. Lee, and J. D. Andrade, *J. Biomed. Eng. Res.*, **10**, 43 (1989).
24. J. H. Lee, G. Khang, K. H. Park, H. B. Lee, and J. D. Andrade, *J. Biomed. Eng. Res.*, **10**, 195 (1989).
25. G. Khang, J. W. Lee, J. H. Jeon, J. H. Lee, and H. B. Lee, *Biomaterials Research*, **1**, 1 (1997).
26. J. H. Lee, S. J. Lee, G. Khang, and H. B. Lee, *J. Biomater. Sci., Polym. Ed.*, **10**, 283 (1999).
27. G. Khang, S. J. Lee, J. H. Lee, and H. B. Lee, *Korea Polymer J.*, **7**, 102 (1999).
28. G. Khang, Y. H. Kang, J. B. Park, and H. B. Lee, *Bio-Med. Mater. Eng.*, **6**, 335 (1996).
29. G. Khang, H. B. Lee, and J. B. Park, *Bio-Med. Mater. Eng.*, **5**, 245 (1996).
30. G. Khang, B. J. Jeong, H. B. Lee, and J. B. Park, *Bio-Med. Mater. Eng.*, **5**, 259 (1995).
31. J. H. Lee, G. Khang, J. W. Lee, and H. B. Lee, *J. Colloid Interface Sci.*, **205**, 323 (1998).
32. Y. Iwasaki, K. Ishihara, N. Nakabayashi, G. Khang, J. H. Jeon, J. W. Lee, and H. B. Lee, *J. Biomater. Sci., Polym. Edn.*, **9**, 801 (1998).
33. J. H. Lee, G. Khang, J. W. Lee, and H. B. Lee, *Makromol. Chem., Makromol. Symp.*, **118**, 571 (1997).
34. J. H. Lee, J. W. Lee, G. Khang, and H. B. Lee, *Biomaterials*, **18**, 351 (1997).
35. G. Khang, J. H. Jeon, J. W. Lee, and H. B. Lee, *Bio-Med. Mater. Eng.*, **8**, 299 (1998).
36. P. B. van Wachem, T. Beugeling, J. Feijen, A. Bantjes, J. P. Detmers, and W. G. van Aken, *Biomaterials*, **6**, 403 (1985).
37. P. B. van Wachem, A. H. Hogt, and T. Beugeling, *Biomaterials*, **8**, 323 (1987).
38. J. G. Steele, B. A. Dalton, G. Johnson, and P. A. Underwood, *Biomaterials*, **16**, 1057 (1995).
39. P. A. Underwood and F. A. Bennett, *J. Cell Sci.*, **93**, 641 (1989).
40. J. G. Steele, G. Johnson, and P. A. Underwood, *J. Biomed. Mater. Res.*, **26**, 861 (1992).
41. R. Hass and L. A. Culp, *J. Cell Physiol.*, **113**, 289 (1982).
42. P. Knox, *J. Cell Sci.*, **71**, 51 (1984).
43. J. G. Steele, G. Johnson, and G. Griesser, *J. Biomater. Sci., Polym. Edn.*, **6**, 511 (1994).
44. P. A. Underwood and F. A. Bennett, *Exp. Cell Res.*, **205**, 311 (1993).