

콘드로이틴설페이트 및 관련 단백질 고분자의 생물학적 특성과 바이오소재 응용

김도연 · 조성연 · 우정훈 · 김수미 · 노시화 · 노인섭

1. 서론

콘드로이틴설페이트(CS)와 관련 단백질(PG)은 생물학적 특성으로 인해 최근에 의료용 소재로 관심이 집중되고 있다. 그들의 구조와 기능의 독특한 특성은 다양한 생물학적 프로세스와 약학 및 의료용 바이오소재로의 응용에 대한 이해에 현저한 영향을 주고 있다. 역사적으로, 이러한 세포 및 세포외 고분자들은 일반적으로 “기저물질” 혹은 “뮤코다당”으로 부르며 그들의 탄수화물 양 및 이성질 특성으로 인하여, 집중되었던 관심에 비하면, 단백질과 관련된 연구에 쉽지 않았다. 그러나, 최근에 최신의 연구장비와 기술을 이용하는 당생물학 분야의 등장으로 인하여, 글리코사미노글리칸(GAG)의 탄수화물 부분(moiety)들이 다양한 자극에 대한 세포반응에 어떻게 영향을 주는가에 대한 정보를 제공하였으며, 의료용 고분자, 약물전달체 등과 같은 바이오소재로의 응용의 기반이 되고 있다. 다양한 분포와 헤파란설페이트에 대한 일반 합성통로로 사용되고 있음에도 불구하고, 콘드로이틴설페이트와 더마탄설페이트는 헤파란설페이트와 헤파린에 비해서 상대적으로 관심이 적었

다. 그러나, 콘드로이틴설페이트와 더마탄설페이트 사슬들이 일반적인 구조역할 이외에도, 중추신경계 발달, 상처치유, 감염, 성장인자 신호, 형태학 및 세포분열에 흥미있는 기능들을 가진다는 증거들이 속속 밝혀지고 있다. 게다가, 약학적 관점에서 보면, 콘드로이틴설페이트는 관절염(OA)의 임상증상에 대한 천천히 그러나 지속적인 완화를 유도하고, 이러한 효과들은 치료 후에도 장기간 지속된다는 사실이 밝혀지고 있다. 실질적으로, 많은 동물실험과 임상시험에서 관절염증을 회복, 지연 혹은 안정화할 수 있어서 장기치료에서 증상완화를 제공하는 구조개선 관절염 약으로 콘드로이틴설페이트 효능이 입증되고 있다. 콘드로이틴설페이트와 더마탄설페이트는 단백질의 GAG 결사슬로 합성되고, 많은 생물학적 기능들은 이러한 고분자들과 관련이 있다. GAG 사슬의 합성에서 요구되는 글리코실-전이효소(glycosyl-transferase)와 황전이효소(sulfotransferase)를 부호화하는 다양한 유전자의 최근 분자 클로닝은 척추 및 무척추 동물들에게 공통적으로 존재하는 주요한 바이오합성 통로를 나타내고 있다. 고분자로서의 의료용 바이오소재는 조직공학 지지체, 약물전달체, 생체재료 등에 적용되는 고분자는 생물학적 기

김도연

2009 서울산업대학교 화학공학과(학사)
2009~현재 서울산업대학교 화학공학과(석사과정)

조성연

2002~현재 서울산업대학교 화학공학과(학사과정)

우정훈

2009 서울산업대학교 화학공학과(학사)
2009~현재 서울산업대학교 화학공학과(석사과정)

김수미

2008~현재 서울산업대학교 화학공학과(학사과정)

노시화

2005~현재 서울산업대학교 화학공학과(학사과정)

노인섭

1989 건국대학교 섬유공학과(학사)
1995 University of Texas 생명의료공학과(석사)
1997 University of Texas 생명의료공학과(박사)
1995 캘리포니아 공대 화학공학과 대학원 특별연구원
1997 매사추세츠 공대(MIT)-하버드(Harvard) 의대 연구원(Post-Doc)
1999 서울산업대학교 화학공학과, 전임강사
2001 서울산업대학교 화학공학과, 조교수
2005~현재 서울산업대학교 화학공학과, 부교수

김도연



조성연



우정훈



김수미



노시화



노인섭



Biological Properties of Chondroitin Sulfate and Related Proteoglycans and Their Applications in Biomaterials

서울산업대학교 화학공학과(Doyeon Kim, Seongyeon Joo, Junghoon Woo, Sumi Kim, Sihwa Roh, and Insup Noh, Department of Chemical Engineering, Seoul National University of Technology, 138 Gongnung-gil, Nowon-gu, Seoul 139-743, Korea)
e-mail: insup@snut.ac.kr

능의 요구가 증가하고 있다. 합성고분자와 비교하여 생체고분자는 특히 인체내에서 생체적합성이 우수하고, 생물학적 기능의 제공으로 세포-물질 상호작용, 세포부착과 증식성, 항혈전 및 조직재생 능력 등과 같은 특정 생물학적 효능, 면역반응성, 약학적, 기계적, 역학적 등과 같은 인체조직 부위에 맞는 기능을 제공할 수 있는 장점이 있다. 본 총설은 복잡한 단백질의 구성성분으로의 콘드로이틴설페이트의 구조와 활성화에 대한 생물학적 정보 이외에, 콘드로이틴설페이트의 생물학적 특성에 기반을 두는 약학 및 의약품 바이오 고분자소재로의 적용연구와 조직공학용 지지체 제조현황과 의약품 고분자소재로의 적용에 대한 최신 동향을 살펴보고자 한다.

2. 본론

2.1 콘드로이틴설페이트의 특성

2.1.1 콘드로이틴설페이트와 더마탄설페이트 구조

글리코사미노글리칸은 모든 유기체에서 분포된 복잡하고, 자연적인 헤테로-다당이다.^{1,2} 이러한 생물학적 고분자는 세포외기질의 주요 거대분자 복합체인 단백질의 주요 구성성분이나, 세포내 구성성분으로 세포수준에서 존재하며, 세포막에 분포되어 있다.³ 생화학, 세포 및 발생생물학 분야의 최근 당생물학 연구에 따르면, 단백질은 구조성분으로 존재할 뿐만 아니라, 세포증식과 분화, 세포-세포 및 세포-기질 상호작용과 같은 생리학적 프로세스와 많은 세포활동에 관여하고 조절한다는 것을 나타내고 있다.⁴ 분자 및 세포 수준에서 상호작용하는 GAG의 강력한 기능은 치환 정도와 도메인 배열뿐만 아니라, GAG 타입, 크기, 조성 및 하전 밀도와 같은 구조에 따른 다양성에 기인한다. 콘드로이틴설페이트의 B형 이라고 알려진 더마탄설페이트 사슬이 GLcA 대신에 다양한 비율의 IdoA를 가지는 반면에, 콘드로이틴설페이트 사슬들은 GLcA와 GalNAc로 구성된 40-100개 이상의 이당 반복단위로 구성된 고분자다(그림 1). 게다가, 두 개의 사슬은 콘

드로이틴설페이트/더마탄설페이트 공중합체 구조로 종종 발견된다. 콘드로이틴설페이트와 더마탄설페이트는 다양한 형태의 황화에 의하여 변형된 서로 다른 이당 단위로 구성된 다수의 중첩 배열을 포괄으로써 헤파란설페이트의 다양성과 상응하는 여러 가지의 구조 다양성을 보여 줄 수 있는 잠재성을 가진다. 이러한 다양성은 다양한 기능성을 제공하는 기반이 되고 있다.

콘드로이틴설페이트와 더마탄설페이트 사슬들은 $[\rightarrow 4\text{Glc}\alpha 1 \rightarrow 3\text{GalNAc}\beta 1 \rightarrow]$ 반복단위에 의하여 형성되며, 다른 지점의 핵소사민 단위 및/혹은 우론산에 다양하게 황이 포함되어 있으나, 극소수의 경우에는 이러한 지점에 황이 존재하지 않는다. 콘드로이틴설페이트 C형, 콘드로이틴-6-설페이트는 6번에 황을 포함하는 이당 단위로 주로 구성되어 있는 반면에, 콘드로이틴설페이트 A형, 콘드로이틴-4-설페이트는 GalNAc 단위의 위치 4에 황이 포함된 반복단위로 구성되어 있다(그림 1). 황 작용기의 서로 다른 번호와 위치를 가진 이당은 2개의 황 작용기가 GlcA의 2번 위치와 GalNAc(이당 D)의 6번 위치 혹은 GalNAc(이당 E)의 4번과 6번 위치에 O-결합되는 이황화 이당과 같은 다당 사슬 내에 상이한 %로 존재할 수 있다(그림 1). 더마탄설페이트 경우에는, 추가적인 효소 개질들은 GlcA의 C-5 에피머화와 IdoA의 C-2에서의 O-황화와 같은 최종 구조를 완결한다. 그 결과로, 더마탄설페이트의 다당 사슬들은 소량의 이황화 이당 농도를 가진 핵소사민의 4번 위치에서 황화된 압도적인 이당화 단위 $[\rightarrow 4\text{IdoA}\beta 1 \rightarrow 3\text{GalNAc}\beta 1 \rightarrow]$ 로 구성된다. 소량의 이황화된 이당은 특히 GalNAc의 4번 위치와 IdoA 단위의 2번 위치에서 황화된다(그림 1). 이러한 헤테로 구조로 인하여 GaGs의 상이하고 보다 더 특화된 기능을 가지게 된다. L-이우론산은 더마탄설페이트 사슬에 형태학적 유연성과 황잔존기의 공간배열을 제공하고, 사슬로 하여금 GlcA 보다 더 많은 음하전 양을 제공한다.⁵ 비록 바이오합성공정의 원리가 완전히 밝혀지지 않았으나, 이러한 과정은 상대적으로 저등급의 구조개질 영역에 의하여 분리된 고분자 사슬 내에서 많이 개질된 올리고당 도메인 생성이 유도된다. 따라서, 더마탄설페이트 사슬은 저개질의 콘드로이틴 도메인과 고개질의 더마탄설페이트

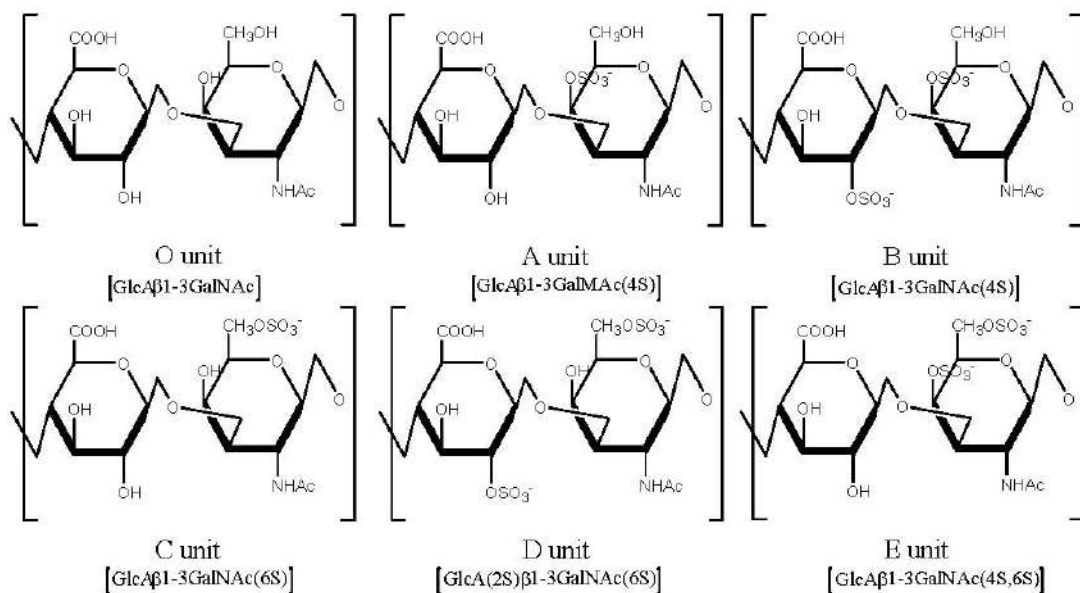


그림 1. 콘드로이틴설페이트와 더마탄설페이트 사슬에서 발견되는 전형적인 6개 이당반복단위. 이당 단위의 구조와 명칭은 일반적으로 콘드로이틴설페이트 및 더마탄설페이트에 일반적으로 존재한다. IdoA, 2S, 4S, or 6S 는 2-O-, 4-O-, or 6-O-설페이트를 나타낸다.

표 1. 콘드로이틴설페이트 단백질⁷

형태	분자량(M_r)	글리코사미노글리칸		코아 단백질		조직
		사슬 수	M_r	Mr	히알론산에 결합	
응집	2.5×10^6	100CS	20,000	200,000	Yes	연골
		30-60KS	6,000			
	$1-2 \times 10^5$	12	43,000	200,000	Yes	대동맥
	$1-2 \times 10^6$	50	17,000	>200,000	Yes	건
	미결정	미결정	미결정	250,000	Yes	흑색종
대 비응집 (Large nonaggregating)	150,000	1-2	30,000	70,000	Yes	뇌
	1×10^6	50	20,000	50,000	No	피부
	1×10^6	20	40,000	200,000	No	골 간단(Metaphysis)
소 비응집 (Small nonaggregating)	> 2.5×10^6	미결정	70,000	미결정	No	골격근
	70,000	1-2	35,000	35,000	No	골
	76,000-120,000	2-3	35,000	42,000	No	연골

CS=콘드로이틴설페이트, KS=케라탄설페이트.

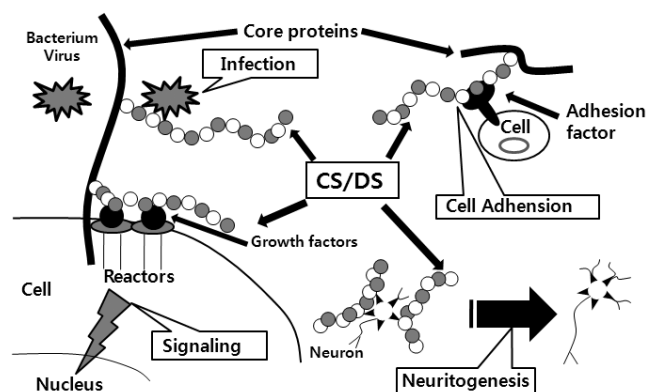


그림 2. 세포상의 콘드로이틴설페이트-더마탄설페이트의 생물학적 기능의 전반적 도식도. 세포외기질 콘드로이틴설페이트-더마탄설페이트 사슬 표면이 세포외기질 혹은 세포표면에서 성장인자 신호제어, 신경발달과 같은 생물학적 기능에 중요한 역할을 한다. 콘드로이틴설페이트/더마탄설페이트 사슬들은 반복적인 개-폐 고리로 제시되었다.³¹

트 도메인으로 구성된 하이브리드 공중합체 고분자 구조를 가진다. IdoA-함유하는 단위는 GalNAc 잔존기의 C-4 위치에 종종 황이 결합되는 반면에, C-6에 있는 황화는 GlcA-함유하는 이황화와 종종 결합된다.⁶

2.1.2 콘드로이틴설페이트/더마탄설페이트 단백질

단백당들은 GAG 사슬과 올리고당이 공유결합이 주사슬인 고분자이다. 단백질 구조와 조성의 엄청난 복잡성을 고려해 볼때, 단백질의 분류를 명확히 하기 위해 구성 GAG 화합물들과 코아-단백질 연결체를 살펴볼 필요가 있다.

2.1.2.1 히알론산과 응집하는 콘드로이틴설페이트 단백질

연골에 있는 대(large) 응집 단백질은 모든 단백질 연구의 전형적인 모습이며(표 1), 그들의 매우 큰 크기에 의하여 특성이 분석된다. 히알론산-결합도메인은 N-말단에 위치하며, 총 코아 단백질의 1/4-1/3을 구성하고,^{7,8} 고분자 응집체 형성과 함께 특징적으로 히알론산에 결합할 수 있다. 단백질과 히알론산의 상호작용은 1:1의 비율로 HABR에 결합하는 연결 단백질에 의해 안정화 된다. 몇몇 분자들은 케라탄설페이트 사슬들이 모여들고, HABR에 인접한 지역을 포함한다. 코아 단백질의 나머지 부분에 대부분의 콘드로이틴설페이트 사슬이 결합된다.⁷ 응집된 연골 단백질에 의하여 도달된 매우 높은 하전밀도는 이러한 분자들이 가역적으로 대량의 물을 흡수하는 기능을 한다. 건조중량의 30-50배의 용액 체적을 차지하나, 연골에서는 이러한 팽창은 연골섬유 네

트워크에 의하여 제한된다. 수화 팽창 후 나타나는 압력은 연골에 압축 강도를 부여하고, 관절운동에 반복된 하중을 유지할 수 있는 능력을 부여한다.

연골 발달에 따라, 이러한 단백질의 구조들은 변화한다. 태아에서 합성된 분자는 케라탄설페이트가 초기에 부족하고, 성인에서는 출생 후에 케라탄설페이트가 주로 추가되며, 나이에 따라 그 양이 증가한다. 이러한 현상은 콘드로이틴설페이트 사슬의 축소와 함께 진행되고, 6-황 위치의 증가, 감소된 분자크기, 코아 단백질 비율 증가가 수반된다. 인간 연골의 노화는 HABR과 부분적으로 절단된 결합 단백질의 증가가 수반되는 반면에, 토끼에서는 나이에 따라 결합-안정화된 단백질 응집체가 감소한다. 나이에 따라 연골의 점진적인 분해가 있으며, 단백질의 순수 손실은 전체적인 퇴행변화와 연결되는 관절염 변화를 수반하며 단백질은 자가항원으로 작용한다.⁷

대동맥 또한 히알론산과 응집하는 콘드로이틴설페이트-단백당으로 구성된다(표 1). 연골에서 발견되는 2개의 주요 단백질과 유사한 결합 단백질이 대동맥에 존재한다. 연골에서처럼 이러한 단백질의 응집체는 아마도 혈류에 의한 반복하중과 형태를 유지하는 주요한 역할을 한다. 대 응집 콘드로이틴설페이트-단백당은 건(ligament)에도 존재와 함께 증가된 압력을 받게 되는 건의 주요 부분에 훨씬 더 많이 존재하기 때문에 하중을 분산하는 중요한 역할을 수행한다.⁷

2.1.2.2 비응집 콘드로이틴설페이트 단백질

(1) 대 비응집 콘드로이틴설페이트 단백질(Large Non-aggregating CS PGs)

피부는 대 비응집 콘드로이틴설페이트-단백당을 포함하며(표 1), 그들의 아미노산 조성은 대 응집 연골 단백질의 조성고 비슷하나, 시스틴과 메티오닌이 결여되어 있다. 시스틴 이황화결합이 이러한 영역의 기능에 대하여 중요한 연골분자의 HABR에 상기 두 종류의 아미노산이 존재하기 때문에 응집결여와 일치한다. 또 다른 대 단백질은 골을 형성하는 의소골주(trabeculae) 사이에 존재하는 골 간단골절(metaphysis)의 연조직 간엽에 존재하며(표 1), 응집 연골의 단백질 코아와 유사한 크기의 단백질 코아를 가진다.

(2) 소 비응집 콘드로이틴설페이트 단백질(Small Nonaggregating CS PGs)

골의 주요한 단백질은 작은 크기의 분자이며, 더마탄설페이트-단백당에 작고 폭넓게 분포된 더마탄설페이트-단백당과 유사하다. 골아세포와 골에 존재하나, 연골에는 존재하지 않는다(표 1). 작은 단백질들

표 2. 더마탄설페이트 단백질⁷

분자량(M_r)	글리코사미노글리칸		이두론산(%)	코아 단백질		세포/조직
	사슬 수	분자량(M_r)		분자량(M_r)	히알론산에 결합	
70-100×10 ³	1-2	15-24×10 ³	35-85	40,000	No	피부
						공막
						경부
						연골
						건
						태반
100-150×10 ³	1	55,000	10	40,000	No	각막
1×10 ⁶	미결정	미결정	25	400,000	Yes	섬유아세포
160-410×10 ³	미결정	미결정	20	100,000	Yes	공막
2.5×10 ⁶	50	40,000	8	200,000	Yes	신경교세포
70-100×10 ³	1-2	15-24×10 ³	23-36	40,000	No	연골(DS-PG I)
400-800×10 ³	미결정	40,000	10	30,000	No	뉴욕 sarc 종양
500,000	8	52,000	7	43,000	No	배아 연골
420,000	1-2	40,000	12	1×100,000	No	배아 연골
420,000	1-2	40,000	12	2×120,000	No	배아 연골
2-3×10 ⁵	20	56,000	3	500,000	No	Foallicular 유체

사이에 주요한 차이는 아마도 “더마탄설페이트 혹은 콘드로이틴설페이트 사슬들이 합성되는가?”에 있다. 또 다른 유사한 작은 콘드로이틴설페이트-단백당은 연골에서 발견되며, 면역화학적 분석과 펩티드 지도 작성에 따르면 각막, 공막 및 건의 더마탄설페이트-단백당들 사이에는 차이가 있으나, 대동맥으로부터 분리된 작은 단백질과 유사하다.

2.1.2.3 더마탄설페이트 단백질(Dermatan Sulfate PGs)

더마탄설페이트를 포함하는 단백질들은 표 2에 설명되었고, 크기와 이두론산 양에 따라 차이가 있다. 70-100 k 분자량(M_r)과 38 k M_r 단백질 코아를 가진 작은 단백질이 폭넓게 분포되어 있다(표 2). 코아 단백질은 총 중량의 30-60%를 차지하고 있으며, 조직 내에서 총 핵수로네이트의 45-85%의 이두로네이트를 가질 수 있는 1개 혹은 아마도 2개의 더마탄설페이트를 가진다. 사슬길이는 15-45 k 분자량(M_r)의 조직변화를 보여준다. 피부, 연골 및 태반에서, 코아 단백질의 4번 위치는 세린 잔존기이며, 각각의 경우에서 더마탄설페이트 사슬 혹은 O-결합된 올리고당이다. 합성되는 동안에 글루쿠론산이 이두론산에 에피머화 되느냐에 따라서 몇 가지 단백질들은 동일 혹은 유사한 코아 단백질을 가질 수 있다. 이러한 작은 더마탄설페이트-단백당은 제1형 콜라겐에 결합된다는 보고들이 있다. 단백질은 제1형 및 2형 콜라겐의 섬유화를 방해할 수 있기 때문에, 콜라겐 섬유결합의 조절과 콜라겐 섬유의 바이오 기계강도에 있어 중요한 역할을 한다.

작은 더마탄설페이트-단백당에서 발견되는 이두론산을 가진 더마탄설페이트 사슬들은 다(multi) 단위 단백질 복합체를 형성하기 위해 스스로 융합할 수 있다.⁷ 이러한 현상은 글루코론산과 이두론산 구성성분의 배열특성이며, 인접 콜라겐 섬유상의 더마탄설페이트-단백당은 코아 단백질에 의하여 콜라겐과 결합함으로써, 그들의 GAG를 통하여 가역적으로 융합할 수 있다. 더마탄설페이트 사슬들은 또한 저밀도 지질 단백질들에 높은 친화결합을 보여주며, 이러한 분자들이 죽종(atheroma)에서 과량으로 합성되는 경우 동맥경화에서 중요성을 가진다. 작은 글루쿠론산-풍부한 더마탄설페이트-단백당은 각막에 또한 존재한다(표 2). 코아 단백질은 면역화학적으로 연골 및 공막의 작은 더마탄설페이트-단백당과 관련되고 동일 크기를 가진다. 이러한 각막 단백질의 분자크기는 각막 투명성을 제공하면서 콜라겐 섬유들 사이에 조

화를 이룬다.

섬유아세포들은 배양 배지에서 더마탄-풍부한 단백당을 분비하나, 세포융합하고 히알론산과 결합할 수 있는 보다 큰 분자를 유지한다(표 2). 대 글루쿠론산-풍부한 더마탄설페이트-단백당은 또한 공막에서 발견되며(표 2), 연골, 대동맥, 건의 응집 단백질과 같이, 형태를 유지하고 인구 내 압력을 유지하는 중요한 역할을 한다. 연골의 다른 더마탄설페이트-단백당은 전체적인 크기와 보다 작은 분자와 유사한 코아 단백질을 가진다(표 2). 비록 보다 작은 분자와 유사한 이두론산 양을 가진다 할지라도, 보다 큰 종류의 더마탄설페이트-단백당들이 아마도 더마탄 사슬을 통하여 자가 융합할 수 있다.

2.2 콘드로이틴설페이트의 생물학적 특성

콘드로이틴설페이트는 망막에서의 신경패턴 조정, 피브로넥틴과의 상호작용, 신경생성 촉진작용, $\alpha_4\beta_1$ 인테그린의 부착기능 조절, 단핵구와 B-세포 활성화, 플라스미노겐 활성화, *Plasmodium falciparum* 감염된 적혈구 결합, 생쥐 비장특이세포의 항원-특이 Th1 면역반응의 상호조절 등과 같은 생물학적 기능조절과 같은 특징적으로 다른 분자와 상호작용하는 도메인 구조를 형성하는 드물게 보이는 과황 구조형성에 의한 다양한 생물학적 기능을 가진다.^{9,10} 많은 황화 단백질은 중추신경계 발달의 신경영역과 관련되기 때문에, 이러한 분자들이 신경패턴형성에 영향을 주는 것으로 암시된다. 배양에서 손상되지 않은 망막으로부터의 콘드로이틴설페이트 제거에 의한 변화는 망막 조직발생에서 콘드로이틴설페이트의 기능을 확인해 주고 있다. 피브로넥틴과 GAG와의 상호작용은 세포외기질 형태와 세포부착에 필수불가결하다. 친화크로마토그래피에 카복시-말단 세포, 헤파린, 피브린 도메인을 포함하는 재조합 피브로넥틴(fibronectins)이 콘드로이틴에 특정적으로 결합한다. 쥐 뇌 단백질-콘드로이틴설페이트 에피토프는 신경 발달생성 촉진특성을 보유하고 있는 것을 보여준다. 높은 비율의 특징적인 D 단위(GlcA2sB1→3GalNAc6S)를 함유하는 상염색체 상어연골 CSD로부터 분리된 몇 가지 핵사당들은 이당단위(GlcAβ1→3GalNAc4S)와 D 이당 단위로 구성된 테트라 당 배열을 가진다. 박테리아 콘드로이틴 ABC 분해효소로 부분적인 분해 후에 콘드로이틴설페이트 D형으로부터 분리된 구조분석에 따르면 분해된 옥타 당들은 서로 다른 조합의 다양한 수

산화 작용기들에서 4,5,6개의 황화 에스터를 가진 $\Delta\text{hexA}(\text{Glc/Ido})\alpha\text{1}\rightarrow 3\text{GalNAc}\beta\text{1}\rightarrow 4(\text{GlcA}\beta\text{1}\rightarrow 3\text{GalNAc})_3$ 의 일반 코아구조를 공유하고 있다.

흑색종(melanoma) 콘드로이틴설페이트-단백당은 $\alpha_4\beta_1$ 인테그린의 부착기능 조정역할을 한다. 세포표면 흑색종 콘드로이틴설페이트-단백당에 결합하는 SGO라 부르는 $\alpha_4\beta_1$ 인테그린 내의 펩티드가 확인되었고, 수용성 SGI는 콘드로이틴설페이트에 $\alpha_4\beta_1$ 인테그린-중재의 인간 흑색종 세포부착을 방해하였다. 이러한 결과는 $\alpha_4\beta_1$ 인테그린은 SGI 지점을 통해서 콘드로이틴설페이트와 직접 결합하고, 이러한 지점이 인테그린의 리간드 결합특성에 영향을 준다는 것을 보여주었다. 염증 지점에서, 단백질은 활성있는 단백 백혈구에 의하여 분비되고 세포 외기질 분해결과로서 방출된다.

콘드로이틴-4-설페이트 단백질은 활성 인간 단핵세포/거식세포에 의하여 생산된 널리 퍼진 단백당을 구성한다. 2개의 콘드로이틴-4-설페이트 형태인 CSA와 CSB는 서로 다른 말초혈액 단핵세포 형태들을 활성화시킨다. CSA는 단핵세포(모노카인을 분비함)를 활성화시키거나, CSB는 B-세포들을 활성화(증식시킴)시킨다. 이외는 대조적으로, 콘드로이틴 6-설페이트 CSC와 헤파린은 이러한 기능효능을 발휘하지 않는다. 이러한 사실은 특히 콘드로이틴-4-설페이트, GAG들을 염증지점에서 새로운 종류의 면역학적 중재자라는 것을 나타낸다. 게다가 T-세포와 단핵세포 활성화에서 CD44의 확립된 역할을 병행하면서 CD44를 B-세포활성화와 연계시키고 있다.

콘드로이틴설페이트-E는 tissue-플라스미노겐 활성인자(t-PAs)와 urinary-플라스미노겐 활성인자(u-PA) *in vitro*에 의한 플라스미노겐 활성화를 향상시킨다. 콘드로이틴 ABC 효소에 의한 고분자 분해될때, CSE의 상승작용 활성이 점진적으로 감소된다할지라도, CSE로부터의 특정 이당류는 여전히 의미있는 활성을 보여준다. 플라스미노겐 활성인자들에 의한 플라스미노겐 활성을 향상시킬 수 있는 CSE의 최소 구조적 요구조건은 $\text{GlcA}\beta\text{1}\rightarrow 3\text{GalNAc}(4\text{s},6\text{s})$ 이며, 추가적인 측쇄당은 활성을 무력화시킨다는 것을 의미한다.

임산부의 대형 말라리아 감염은 태아와 산모의 건강에 영향을 악영향을 주면서, 태아의 기생충-감염된 적혈구들의 콘드로이틴-4-설페이트 중재된 부착을 한다. 태아의 용모공간에 있는 특별히 낮은 황화 콘드로이틴설페이트-단백당은 기생충-감염된 적혈구의 수용체들이며, 약 30% 4-황화 잔존기들을 가진 이당잔존물로 구성된 콘드로이틴-4-설페이트 잔기를 포함한다. 태아의 콘드로이틴설페이트-단백당들은 20-28% 4-황화된 이당과 황을 포함하지 않는 영역의 2개 주요 물질의 혼합물이다. 콘드로이틴설페이트 사슬의 황-풍부 도메인에 상응하는 올리고당들은 효과적으로 기생충-감염된 적혈구의 부착을 방해한다. 마지막으로, 태아 콘드로이틴설페이트-단백당과 황-클러스터 도메인의 콘드로이틴설페이트 사슬에 있는 황 작용기들의 특이 분산은 기생충-감염된 적혈구의 효과적인 부착에 대해서 필요한 구조적 요소들을 가진다.

콘드로이틴-4-설페이트는 난백알부민 *in vitro*에 민감한 쥐 체장 세포에 대한 항원-특이 Th1 면역반응을 상승시키는 것으로 관찰되었으며, 콘드로이틴설페이트가 항원-특이 IgE 반응들을 억제할 수 있었다. 최신 연구에서는, CS의 특이 황화 패턴은 Th1 상승된 활성에 필요하였으며, CES에서 $\text{GlcA}(\beta 1-3)-\text{GalNAc}(4,6-0\text{-disulfo})$ 배열이 Th1-상승활성에 중요하다는 것으로 보여주었다.¹¹ 이러한 실험결과들은 콘드로이틴설페이트의 항염증과 콘드로-보호 특성에 대한 새로운

메커니즘을 제시하고 있다.

2.3 더마탄설페이트의 생물학적 특성

더마탄설페이트 단백질들은 기질 분자, 성장인자, 단백질 저해제, 시토크인, 키모카인 및 병원균 독성요소를 포함하는 다양한 분자들과 결

표 3. 콘드로이틴설페이트와 더마탄설페이트 단백질의 결합상호작용

CS/DS-결합 단백질	관련 질병 혹은 기능
세포외기질 성분	
Type II 콜라겐	1차 관절염, 선천성 척추골 단 이행성증 등.
Type V 콜라겐	Ehlers-Danlos 증상, 결절경화증
Type VII 콜라겐	수포성 표피박리증
Tenascin-X	Ehlers-Danlos 증상
Opticin	성상호르몬과 결합
응고인자	
해파린 공인자 II	선천성 응고장애
성장인자	
섬유아세포 성장인자(FGF)-2, -10, -16, -18	상처 치유, 혈관신생관련 질병(암 등)
각질 형성 세포 성장인자(KGF)(FGF-7)	조직복원 및 암
해파린 결합 EGF-유사 성장인자(HB-EGF)	동맥경화, 간암, 상처 치유
간세포 성장인자(HGF/SF)	간 질병, 심근경색, 유방암, 작지 않은 세포 폐암
Midkine (MK)	암
Pleiotrophin (PTN, HB-GAM)	암
혈소관 유래 성장인자(PDGF)	동맥경화, 악성종양
혈관내피성장인자(VEGF)	당뇨 망막증, 류마티스 관절염, 갑상선 항진, 고체 종양
혈전전환 성장인자- β (TGF- β)	암, 간 섬유화, 간경변, 정맥 섬유화, 사구체 신염, 당뇨 신장해, 피부경화증
신경교-유래 항 신경성 인자(GDNF)	광범위한 무 신경절 증(Hirschsprung's 병)
뇌-유래 신경인자(BDNF)	자폐성
해파린 친화성 규제 펩티드(HARP)	신경세포의 성숙, 종양 성장
바이러스 단백질	
당단백 C	단순 헤르페스 바이러스 감염
세포부착 분자	
CD-44	염증, 악성 종양
L-Selectin	백혈구 부착 결핍증
P-Selectin	염증 및 혈전증
RANTES	알러지 염증
von Willebrand factor	von Willebrand 질병
키모카인	
인터페론- γ (IFN- γ)	항바이러스 및 항종양 활성
인터루킨-8(IL-8)	염증, 급성 신염, 폐혈증, 뇌허혈-재관류 손상 등
대식세포 염증 펩티드-1 α (MIP-1 α)	골수종 골절환
단핵세포 화학주성물질 단백질-1 (MCP-1)	동맥경화, 다 경화
2차 임파선 조직 케모카인(SLC)	염증
γ -인터페론 유입성 단백질-10(IP-10)	감염, 암
간질세포 유래인자-1 β (SDF-1 β)	조혈
혈소판인자-4(PF4)	조혈, 혈관신생
단백질 분해효소	
백혈구 엘라스틴 효소	폐암 폐기종, 혈액응고장애
기질 금속단백질 효소-2 (Matrix metalloproteinase-2)	종양세포 침입 및 전이
기타	
β -아밀로이드 펩티드(A β)	알츠하이머 질병
코브라 독으로부터의 심장독성	각막혼탁, 시력상실
α -Defensin	항균성 펩티드
EGF-TM7 수용체 CD97 and EMR2	세포부착과 이동
세포의 항산화제(EC-SOD)	산화에 의한 질병
지질단백질 리파아제(LPL)	고지혈증, 고지혈증 1형
종양괴사인자- α -자극 유전자 6(TSG-6)	염증, 자가면역질환
사이토 크로볼린	Graves' 질병, Hashimoto's 갑상선염

합하는 것으로 보고되나,¹² 정확한 결합지점은 이러한 단백질에 대해 확인되지 않았으며, 더마탄설페이트의 다른 구조 변형체들에 대한 연구가 더 필요하다. **표 3**은 더마탄설페이트 결합 단백질들을 나타낸다. 비록 이러한 상호작용들이 다른 GAG를 사용하여 처음 확인되었으나, 많은 단백질들이 비록 서로 다른 친화성을 가진다 할지라도 한 종류의 GAG 사슬 이상과 상호작용할 수 있다는 것이 관찰되었다. GAG/단백당-단백질 상호작용의 특성은 많은 상호작용들은 GAG 보다는 결합 단백질과 단백질 당 단백질 코아 사이에 존재한다는 사실에 의해 보다 복잡하게 전개된다. 특정 GFAG/단백당-단백질 상호작용들은 GAG 측쇄와 PG 단백질 코아를 포함한다. DS 결합 상호작용에 대한 연구는 헤파린 공인자 II(HCII)를 이용하여 잘 진행되었다.¹² 항트롬빈 III의 서핀 동족체는 트롬빈의 친응고 효능을 방해하며, 이러한 효과는 더마탄 설페이트나 혹은 헤파린이 존재할때 1,000배 향상된다. GAG가 서핀과 단백질 효소 사이에 안정한 3차 복합체를 형성한다고 가정되었다. 헤파린 공인자 II와 결합하는 더마탄설페이트 조각들은 IdoA C2와 GalNAc의 C4 상의 황을 함유하는 고친화성 부분을 가진 헥사당과 옥타당을 포함하나, 돼지 피부 더마탄설페이트의 단지 5%만을 나타낸다. 그들의 고 결합친화성에도 불구하고, 정제비용은 트롬빈 방해 분석에서 정제되지 않은 더마탄설페이트보다 20배 작은 활성을 보여준다. 더마탄설페이트의 출처가 다름에 따라(소 점막), 더마탄 이황화 소단위의 총 하전은 IdoA 양 보다 많다. 이당류(IdoA 2S-GalNAc-4S 및 GlcA-GalNAc-4,6diS)는 활성화된 헤파린 공인자 II에 있는 더마탄설페이트에서 확인되었다.

헤파린은 더마탄설페이트보다 헤파린 공인자 II에 대해 5배 더 높은 친화성을 가지나, 헤파린, 피브린 및 트롬빈 사이에 형성된 복합체는 더마탄설페이트에 의해서 형성된 복합체와는 다르다. 헤파린은 트롬빈과 피브린에 결합함으로써 3차 복합체를 형성하고 저해에 더 이상 민감하지 않는 트롬빈의 헤파린 공인자 II 활성지점의 변화를 유발하는 것으로 가정되었다. 그러나, 더마탄설페이트는 트롬빈만 직접적으로 결합하나, 피브린에는 결합하지 않으며, 결합된 트롬빈이 서핀에 대한 민감성을 유지하고 있다. 이러한 결과는 더마탄설페이트가 혈전을 치료하거나 방해하는 중요한 임상도구가 될 수 있었다. 더마탄설페이트는 또한 응고사슬의 내생 저해제인 활성 단백질 C의 효과에 영향을 줌으로써 응고에 영향을 줄 수 있다. 다른 콘드로이틴설페이트 샘플(CSA 및 CSC) 또한 활성 단백질 C 활성을 향상시킨다. 생리학적으로 적절한 농도에서,

더마탄설페이트는 테스트된 GAGs 보다 더 활성단백질 C 활성도를 향상시켰다. 게다가, 하전 밀도에 따라 분리된 더마탄설페이트를 평가하였을 때, 고하전밀도를 함유하는 더마탄설페이트가 분리되지 않은 더마탄설페이트보다 더 활성 단백질 C의 활성을 더 향상시키는 것으로 보고되었다. 따라서, 더마탄설페이트 올리고당 크기와 황화가 결합친화도를 결정하고 서로 다른 생리적 결과를 유발하는 것을 나타내고 있다.

2.4 콘드로이틴설페이트의 약리학적 효과

콘드로이틴설페이트는 항 염증활성을 가지며, 연골대사에 영향을 끼친다.^{9,10} 콘드로이틴설페이트의 복용은 먼, 펠릿 혹은 스폰지 임플란트에 대한 육아종 형성, 관절염에 대한 염증반응, 및 낙막염에서의 리소좀 효소 방출을 감소시킨다. 게다가, 콘드로이틴과 작은 조각들은 자이모산-활성 혈청에 유발된 직접적 중화성을 방해하고, 식균작용과 자이모산에 의해서 유발된 리소솜의 방출을 감소시키며, 활성산소로부터 혈장막을 보호할 수 있다. 토끼에서 콘드로이틴설페이트의 키모파라인-유발된 관절연골 손상에 대한 효과를 조사하였을 때, 대조군에 비해서 키모파라인의 주사 전에 콘드로이틴설페이트의 근육내 혹은 복용된 토끼들이 관절연골로부터 단백질 손실이 더 적다는 것이 관찰되었다. 콘드로이틴-4-설페이트의 항산화 효과를 소 type-II 콜라겐-유발된 염증 쥐에 적용하였을 때, 콘드로이틴설페이트 치료가 무릎과 발의 관절 부 질병에 대한 퇴행성 작용을 억제와 과산화 감소를 유발하였으며, 내생 항산화제를 복원시켰고, 글루타티온과 슈퍼옥사이드 디스무타제 항산화제와 TNF-알파 레벨을 감소시켰으며, 혈액 호중구 침입을 제한하였다.

콘드로이틴설페이트 효능과 내성에 대한 200명의 환자 임상연구결과(**표 4**),^{9,10} 통증과 운동성에서 현저한 효과를 보여 주었으며, 단지 3%만이 복용했을 경우 약간의 현기증이 관찰되어 치료를 중단하였다. Mazieres 등은 120명의 환자에게 콘드로이틴설페이트 치료에서 관절통증의 현저한 치료효과를 보여 주었으며, Morreale와 공동연구자들은 50 mg diclofenac 72명 치료환자군 그룹과 비교하여, 146명의 무릎관절을 치료를 진행한 결과, 74명의 환자가 400 mg 콘드로이틴설페이트를 하루 3번 3개월 동안 복용하였다. Diclofenac 치료환자의 경우, 10일에 관절통증 감소를 보여서 치료를 중단하였던 반면에, 콘드로이틴설페이트 치료환자는 30일에 현저한 치료효과를 보여 치료를 중단하였으며 이후에는 통증현상이 관찰되지 않았다. 따라서, 콘드로이틴설페이트 치료는 전통적인 치료보다, 치료 후 더 오래 지속되는 결

표 4. 콘드로이틴설페이트 임상결과 요약^{9,10}

저자	연도	환자 수(명)	추적기간	합병증	결과
Rovetta	1991	40	25주	내성 있음	관절염의 모든 증상에 보다 우수한 치료효과
Oliviero et al.	1991	200	6달	3% 미미한 역효과	통증과 운동성에 현저한 효과
Mazieres et al.	1992	120	3달	내성 있음	관절염 증상에 느린 효과와 NSAID의 필요성 감소
Morreale et al.	1996	146	3달	미미함	콘드로이틴설페이트의 효과가 후에 나타났으나, 치료 종류 후 최소 3개월간 지속됨.
Fleish et al.	1997	56	1년	내성 있음	운동성, 관절삼출 및 붓기치료에 효과
Bucsi and Poor	1998	80	6달	미미함	관절통증에 43% 감소
Bourgeois et al.	1998	127	3달	역효과 없음	관절통증의 현저한 감소
Uebelhart et al.	1998	42	1년	없음	감소된 관절통증 및 향상된 운동성
Verbruggen et al.	1998	119	3년	서류화 하지않음	미란형 손 관절염을 가진 환자수 감소에 대한 방사선 결과
Uebelhart et al.	2004	120	1년	미미한 역효과	통증감소와 향상된 무릎기능 내측대퇴-경골 공동공간 증가의 감소
Rovetta et al.	2004	24	2년	서류화 하지않음	콘드로이틴설페이트 복용에 따른 손의 미란형 관절염 증상 완화의 효과

과를 보였다. 또한, Bucsi와 Poor의 연구결과에서는, 800 mg의 콘드로이틴설페이트로 치료된 40명 환자들에서도 위약 치료받은 환자들에 비하여 현저한 효과를 보여주었다. Bourgeois 등은 1,200 mg 복용 젤의 형태로 콘드로이틴설페이트로 40명 환자를 치료한 결과, 콘드로이틴설페이트 치료군이 현저히 나은 치료결과를 보여주었다. 또, 다른 연구로서, 800 mg/일 콘드로이틴설페이트 복용에 따른 컴퓨터 기술을 이용한 관절염 치료분석 연구를 진행한 결과, 1년 후 경대퇴골 공동 공간 폭이 위약 치료한 환자의 경우 현저히 감소하였지만, 콘드로이틴 치료 그룹에서는 기본 값으로부터 변화가 발생되지 않았다. 무릎 관절염을 겪고 있는 환자에서 콘드로이틴-4- 및 6-설페이트의 임상, 방사선, 생물학적 효과와 내성에 대한 평가에서, Verbruggen 등은 119명의 3년 방사선 치료를 무작위, 이중맹검 분석한 결과, 콘드로이틴 치료그룹에서는 새로운 퇴행성 관절염 손관절 수가 현저히 감소되었다 (표 4). 이러한 임상결과를 종합해 볼 때, 콘드로이틴은 무릎 관절염에서 증상 완화작용 약물로서 작용된다는 것을 보여주었다.

2.5 더마탄설페이트의 약리학적 사용

더마탄설페이트의 항응고 활성이 헤파린보다 현저히 낮다할지라도, 정맥 항혈전 활성은 현저히 높기 때문에 더마탄설페이트의 출혈특성은 헤파린과 비교하여 현저히 감소되는 특성으로 인하여 더마탄설페이트가 새로운 혈전방지제 개발이 진행되었다.¹³ 더마탄설페이트는 근육내 통로 혹은 피하내에 의하여 전달된 헤파린과 비교할 때, 상대적으로 짧은 반감기와 낮은 생물학적 이용가능성의 2가지 주요 약역학상의 문제점을 가지고 있으나, 내피세포와 결합하지 않기 때문에 헤파린에 대하여 관찰된 것보다 더 단순한 약역학을 제공한다. 더마탄설페이트는 건강한 지원자와 투석, 정맥 혈전증, 산재성(disseminated) 혈관내 응고증, 동맥 죽상 혈전병에 의한 신부전 환자들에서 수행한 결과, 300명의 환자들 중에서 심각한 출혈복합증이 발생되지 않았으며, 골반골절 환자들 중에서 심정맥 혈전증을 방지하는데 적용되었다. 또 다른 연구에서, 급성 백혈병 환자들에 있어 산재된 혈관내 응고치료를 위하여 더마탄설페이트의 적절한 정맥내 주입의 효능성을 헤파린과 비교해 본 결과, 더마탄설페이트가 심정맥 혈전증을 방지하는데 헤파린만큼 효과적이었으며, 새로운 출혈 합병증은 헤파린보다 발생빈도가 낮았으며, 치료받지 않은 환자들은 혈전복합증을 경험하였다.

2.6 콘드로이틴설페이트의 생체재료 응용

다양한 합성 및 천연/합성고분자 및 세라믹/금속 바이오소재들이 정형외과와 치과에서 재생치료로, 예, 동결 혹은 동결건조된 뼈의 헤테로 그래프트 사용된다. 콘드로이틴설페이트의 바이오 생체재료로의 응용의 연구는 콘드로이틴의 연골조직 구성물질이라는 관점에서 주로 연골조직재생에 콘드로이틴설페이트 지지체를 제조하여 조직재생에 응용하고자 하였다. 아파타이트 및 바이오글라스 등과 같은 세라믹 바이오소재는 훌륭한 생체적합성을 보여주었으며 독성이나 친염증 활성이 결여된 소재들이어서 연골-골 조직재생에 적용되고 있다. 무기질화된 연결 조직들은 작은 콘드로이틴설페이트-단백당 물질을 함유하고 있기 때문에, 무기소체들이 가지는 활성이외에 GAG와 특히 콘드로이틴설페이트는 하이드록시아파타이트 상의 흡착공정에서 함유되는 고분자로서 의약품 소재로 흥미를 유발하고 있다. 여기서, 콘드로이틴설페이트는 환자의 즉시 임플란트 주위의 골 결손부위를 채우기 위하여 사용된 인공 골 혹은 골-충진 물질로 사용되었다.¹⁴ 게다가 최근에는 젤라틴, 콘드로이틴설페이트, 히알론산으로 구성된 물질이 연골조직공학 소재로 활용되는 연구가 진행되고 있으며, 히알론산과 콘드로이틴설페이트

로 구성된 GAG 수화젤 필름이 상처치료를 위한 바이오 상호작용 드레싱으로 적용되는 연구도 진행되고 있다.¹⁵ 콘드로이틴-4-설페이트가 연골의 주요 당백당이라는 특성을 이용한 연구가 진행되었으며,¹⁶ Blumenthal 등은¹⁷ *in vitro* 연구에서 소의 코의 단백질 응집-풍부 및 단량체 부분들이 새로운 하이드록시아파타이트 형성을 방지한다는 특성을 이용하여 쥐 피하 이식모델에서 콘드로이틴설페이트의 양이 증가함에 따라 임플란트에 칼슘 침적이 감소되는 결과를 보여줌으로써 세라믹과 콘드로이틴설페이트를 융합하는 연구를 보여주었고, 글루타알데히드만 처리된 조직들은 급속히 칼슘의 침적을 유도한 반면에, 샘플들은 칼슘유입이 거의 없었다. 다른 예로서, Nimni는 콜라겐 기질의 가교결합과 구조변경을 통한 심혈관 인공장기의 디자인에 대한 연구도 진행하였다.¹⁸

Yen-Lin Chen 등은 콘드로이틴-6-설페이트와 더마탄설페이트-키토산 지지체를 합성하여 연골재생 지지체로 활용한 연구를 진행한 결과, 콘드로이틴-6-설페이트와 더마탄설페이트는 지지체 구조와 세포부착에 영향을 주지 않았으나, 세포형태학과, 글리코사미노글리칸, 콜라겐 생성 및 연골유전자 표현에 영향을 주는 결과를 보고하였다. 보다 많은 콘드로이틴설페이트가 글리코사미노글리칸과 콜라겐 생성을 지지하였던 반면에, 낮은 더마탄설페이트는 이러한 반응 유도가 없었다. 그럼에도 불구하고, 더마탄설페이트와 더마탄설페이트-콘드로이틴설페이트의 상호작용은 글리코사미노글리칸 및 콜라겐 생성에 영향을 주었으며, 적절한 비율의 콘드로이틴설페이트(2.8)와 더마탄설페이트(0.1) 지지체가 최적의 지지체 형성결과를 나타냈다.¹⁹ 최근에는 Kuo-Yung Changa 등은 천연고분자와 합성고분자의 콤포지트 바이오소재개발로서, 폴리(γ -글루탐산)-콘드로이틴 설페이드-블랜드-폴리카프롤락탐 콤포지트를 연골조직 재생용 지지체로 제조하여 조직재생효과를 평가하였다. 콘드로이틴설페이트를 1-ethyl-3-(3-dimethyl-aminopropyl) carbodiimide (EDC) 을 이용하여 γ -폴리글루탐산과 결합한 다음, 폴리카프롤락탐과 혼합하여 염침출법을 사용하여 다공성의 지지체로 제조하였다. 4주간의 세포배양을 진행한 결과 지지체는 기계적 안정성을 보여주었고, 연골세포는 *in vitro*에서 정상적인 기능을 보여주었으며, 대조군 폴리카프롤락탐과 비교하여 제조된 지지체가 보다 많은 글리코사미노글리칸의 분비유도가 가능하여 연골조직 지지체로서의 가능성을 보여주었다.²⁰ Qiang 등은 콘드로이틴 설페이트를 기반으로 하는 다당의 작용기에 글리시딜 메타아크릴레이트를 결합시킨 다음 광결합시켜 수화젤을 합성하여 지지체의 생활성을 향상시키고 조직재생용도 지지체로 활용하고자 하였다. 합성된 젤은 수화젤 고유의 점탄성을 보여 주었으며, 폴리에틸렌과 콘드로이틴을 사용하여 젤형성을 유도하였다. 콘드로이틴설페이트 양을 증가시킴으로써 함수율, 기계적강도, 형태가 결정되도록 하였으며, 콘드로이틴 효소에 의하여 젤 분해를 유도할 수 있음을 보여 주었다. 평가교 동안에 연골세포들이 생존해 있다는 것을 확인함으로써 연골조직재생에 지지체 활용가능성을 보여주었다.²¹ Chih-Hung Chang 등은 천연고분자만을 이용한 바이오소재개발로서, 젤라틴-콘드로이틴-6-설페이트-히알론산 공중합체를 제조하여 연골지지체를 모방하며, 약 180 μ m의 기공크기를 가졌으며, 75%의 다공성을 가지는 지지체로 제조하여 연골조직재생을 유도하였다. 돼지 연골을 지지체에 2-5주 동안 배양한 결과, 연골세포들이 지지체에 균일하게 분포되어 연골조직을 형성하였으며, 세포외기질이 분비되고 있음을 type II 콜라겐 조직을 염색학적으로 확인함으로써 연골조직재생 유도가 가능함을 보여주었다.²² 다른 합성방법

을 이용한 고분자 지지체 제조와 연골재생 연구로서 H. Cao 등은 type II 콜라겐과 콘드로이틴설페이트를 1-ethyl-3(3-dimethyl aminopropyl) carbodiimide(EDC) and N-hydroxysuccinimide(NHS) 가교결합제를 사용하여 다공성의 3차원 지지체를 제조하여 14일 동안 *in vitro* 연골세포의 부착과 증식을 연골조직재생을 유도한 결과, 콘드로이틴설페이트가 포함된 지지체에서 연골재생이 잘 되었음을 확인하였다.²³

줄기세포를 이용한 조직재생에 대한 최근의 활발한 연구추이에 따라, S. Varghese 등은 골수간엽줄기세포의 연골분화현상을 3차원 폴리(에틸렌 옥사이드)-콘드로이틴설페이트 지지체를 이용하여 유도하는 연구를 진행한 결과, 연골형태와 염기성 세포외기질 분비가 진행됨을 확인하였다. 콘드로이틴설페이트에 따라서 줄기세포들이 연골세포로 분화하고, 응집하여 연골 유전자 발현과 연골특이 기질생성이 잘 진행됨을 확인함으로써 줄기세포 분화 및 연골조직 재생에 매우 유용한 고분자 지지체라는 것이 확인되었다.²⁴

연골조직 재생 이외에 다른 조직재생을 위한 지지체개발로 콘드로이틴설페이트를 활용하는 연구가 또한 진행되었다. Y. Jin 등은 피부조직 재생을 위한 지지체로서 세포외기질을 모방하면서, 분해성, 형태 및 기계적 물성을 조절할 수 있는 가교결합된 콜라겐-콘드로이틴설페이트-히알론산 지지체를 제조하여, 피부 섬유아세포를 배양하여 쥐에 6주 동안 *in vivo* 이식하여 완전한 조직복원이 성취되었으며, 이를 조직염색으로 확인하는 결과를 보고하였다.²⁵ Gilbert 등은 안면 부비동 점막의 상처치유를 위하여 콘드로이틴설페이트 수화젤을 합성하여 수화젤이 첨가되지 않은 대조군과 비교한 토끼의 6 mm 상처치유를 14일 동안 *ex vivo* 실험을 진행하였다. 콘드로이틴설페이트가 대체 세포외기질로 작용하였으며 시코카인 및 성장인자들에 대한 저장형으로 작용하여 4일에 부분적으로 상처치유를 유도하였으며, 6일에 완전한 상처치유를 유도하였다. 특히 조직염색 분석에서 콘드로이틴에 의해서 호흡기 상피세포가 복원되어 상처치유가 매우 촉진되고 있음을 확인하였다.²⁶ 콘드로이틴설페이트를 알데하이드와 결합시켜 각막손상복원을 위한 표준 봉합의 접착제로 제조하여 토끼의 각막에 *ex vivo* 적용한 결과, 콘드로이틴설페이트 접착제를 적용한 경우 봉합사를 사용하여 봉합한 경우와 비교하여 우수한 각막손상 복원이 유도되었으며 균일한 두께의 젤 형성이 가능하였으며 누수가 발생하지 않았다.²⁷

CS/DS-PGs는 세포부착분자, 세포외기질 분자, 성장인자와의 상호작용을 통하여 다양한 조직의 형태형성과 유지에 중요한 역할을 하며, 중추신경 시스템에서, 재생능력은 성인에서 제한적이라는 특성을 이용한 바이오소재개발 연구도 또한 진행되었다.²⁸

중추신경시스템은 콘드로이틴설페이트/터마탄설페이트 사슬로 개질된 단백질의 풍부하고 복잡한 근원이 되며, 뇌 발달동안에, CS/DS-PGs 수준들은 특히 높고, 정교하게 조절된 발현패턴들은 발달의 모든 단계에서 중요한 기능을 나타내는 특성이 있으며, 콘드로이틴설페이트가 분해됨에 따라 신경조직이 재생된다고 보고된다.²⁹

최근에는 합성고분자와 콘드로이틴설페이트가 결합된 콤포지트 지지체를 이용한 조직공학기법과 줄기세포를 포함시켜 조직재생을 유도하는 연구도 진행되고 있다. 예를 들면, 폴리비닐알코올-콘드로이틴설페이트를 이용한 지지체를 합성하여 조직공학에 응용하는 연구를 LEE Chih-Ta 그룹에서 진행한 결과, 폴리비닐알코올은 기계적 탄성을 제공하였던 반면에, 콘드로이틴설페이트는 BHK 세포의 *in vitro* 실험 결과 콘드로이틴설페이트에 의한 세포부착과 증식이 유도되는 것을 관

찰하였다.³⁰

3. 결론

지난 수 십년 동안 급속히 누적되는 증거들에 따르면, 콘드로이틴설페이트/터마탄설페이트는 성장인자 신호전달, 신경성장 및 재생, 중추신경 발달 동안의 군소의 신경돌기 생성, 형태형성, 세포분열에 있어서 중요한 생물학적 기능들을 가지고 있다는 것을 암시하고 있다. 게다가 감염에서 세포표면 콘드로이틴설페이트/터마탄설페이트 사슬들의 관여현상이 최근에 보고되고 있다. 비록 증거가 조각적이고 불충분하다 할지라도, 이러한 기능들에 관여된 분자 메커니즘을 밝히는 연구가 진행될 것이다. 콘드로이틴설페이트에 대한 기초적인 연구의 중요한 핵심은 (1) 콘드로이틴설페이트/터마탄설페이트의 우수한 준비와 합성; (2) 향상된 특성을 가진 터마탄설페이트 기반의 새로운 항응고제; (3) 콘드로이틴설페이트/터마탄설페이트에 대한 새로운 치료 적용; (4) 새로운 의약품 바이오소재로의 활용; (5) 본 총설에서는 콘드로이틴설페이트를 이용한 바이오소재 개발에서 상기의 콘드로이틴설페이트의 주요 생물학적 특성 규명과 함께, 조직재생을 위한 다양한 고체 지지체, 수화젤, 접착제 등으로 개발하여, 연골, 점막, 피부재생 등의 콘드로이틴설페이트의 생물학적 장점을 활용할 수 있는 조직재생 지지체의 소재와 약리 기능 및 약물전달체로 활용할 수 있는 다양한 가능성을 제시하고 있다. 따라서, 콘드로이틴설페이트는 바이오산업의 중요한 천연고분자로 활용될 기능을 염두에 두는 연구가 추후 진행되어야 할 것으로 사료된다. 또한, 척추 및 무척추 동물에서 당 학문에 대한 진보된 지식을 이용하여 약물전달과 생체재료에 대한 새로운 접근방법을 제공하면서 생리학 및 병리생리학의 보다 나은 이해의 길을 안내하는 바이오소재로 활용될 수 있을 것이다.

감사의 글 : This study was supported by a grant of the Korea Healthcare Technology R&D Project(A080864) from the Ministry for Health, Welfare and Family Affairs, Republic of Korea. The biological properties of this review was mainly based on that of Nicola Volp, Chondroitin Sulfates in the Encyclopedia of Biomaterials and Biomedical Engineering, Second Edn., pp618-627.

참고문헌

1. N. Volpi, Ed., *Glycosaminoglycans. Res.*, Signpost, India, 2002.
2. K. Sugahara, T. Mikami, T. Uyama, S. Mizuguchi, K. Nomura, and H. Kitagawa, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **13**, 612 (2003).
3. T. E. Hardingham and A. J. Fosang, *FASEB J.*, **6**, 861 (1992).
4. R. L. Jackson, S. J. Busch, and A. D. Cardin, *Physiol. Rev.*, **71**, 481 (1991).
5. B. Casu, J. Choay, D. R. Ferro, G. Gatti, J. C. Jacquinet, M. Petitou, A. Provasoli, M. Ragazzi, P. Sinay, and G. Torn, *Nature*, **322**, 215 (1986).
6. N. K. Karamanos, A. Syrokou, P. Vanky, M. Nurminen, and A. Hjerpe, *Anal. Biochem.*, **221**, 189 (1994).

7. A. R. Poole, *Biochem. J.*, **236**, 1 (1986).
8. J. E. Silbert, *Curr. Organic Chem.*, **8**, 395 (2004).
9. N. Volpi, *Curr. Drug. Targets-Immune Endocr. Metab. Disord.*, **4**, 119 (2004).
10. N. Volpi, *Curr. Med. chem. Anti-inflammatory Anti-allergy Agents*, **4**, 221 (2005).
11. H. Akiyama, S. Sakai, R. J. Linhardt, Y. Goda, T. Toida, and T. Maitani, *Biochem. J.*, **382**, 269 (2004).
12. J. M. Trowbridge and R. L. Gallo, *Glycobiology*, **12**, 117R (2002).
13. R. J. Linhardt and R. E. Hileman, *Gen. Pharmacol.*, **26**, 443 (1995).
14. A. Rebaudi, P. Silvestrini, and P. Trisi, *Int. J. Periodontics Restorative Dent.*, **23**, 371 (2003).
15. K. R. Kirker, Y. Luo, J. H. Nielson, I. Shelby, and C. D. Prestwich, *Biomaterials*, **23**, 3661 (2002).
16. H. Muir, Ed., *The Joints and Synovial Fluid*, **2**, 27 (1980).
17. N. C. Bluementhal, A. S. Posner, and L. D. Silverman, *et al.*, *Calcif. Tissue Int.*, **27**, 75 (1979).
18. M. E. Nimni, *Journal of Cardiac Surgery*, **3**, 523 (1988).
19. Y.-L. Chen, H.-P. Lee, H.-Y. Chan, L.-Y. Sung, H.-C. Chen, and Y.-C. Hu, *Biomaterials*, **28**, 2294 (2007).
20. K.-Y. Chang, L.-W. Cheng, G.-H. Ho, Y.-P. Huang, and Y.-D. Lee, *Acta Biomaterials*, **5**, 1937 (2009).
21. Q. L. Christopher, G. Williams, D. D. N. Sun, J. Wang, K. Leong, and J. H. Elisseeff, *J. Biomed. Mater. Res. Part B: Appl. Biomaterials*, **68A**, 28 (2003).
22. C.-H. Chang, H.-C. Liua, C.-C. Lin, C.-H. Chou, and F.-H. Lin, *Biomaterials*, **24**, 4853 (2003).
23. H. Cao and S. Y. Xu, *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, **19**, 567 (2008).
24. S. Varghese, N. S. Hwang, A. C. Canver, P. Theprungsirikul, D. W. Lin, and J. Elisseeff, *Matrix Biol.*, **27**, 12 (2008).
25. Y. Jin and W. W. Hong, *Tissue Eng. Part C: Methods*, 2009.
26. M. E. Gilbert, K. R. Kirker, S. D. Gray, P. D. Ward, J. G. Szakacs, and G. D. Prestwich, *Orlandi. RR.*, **114**, 1406 (2004).
27. J. M. G. Reyes, S. Herretes, A. Pirouzmanesh, D.-A. Wang, J. H. Elisseeff, A. Jun, P. J. McDonnell, S. R. Chuck, and A. Behrens, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, **46**, 1247 (2005).
28. R. V. Bellamkonda, *Biomaterials*, **27**, 3515 (2006).
29. C. A. Krekoski, D. Neubauer, J. Zuo, and D. Muir, *J. Neurosci.*, **21**, 6206 (2001).
30. C.-T. Lee, P.-H. Kung, and Y.-D. Lee, *Carbohydrate Polymers*, **61**, 348 (2005).
31. S. Yamada and K. Z. Sugahara, *Current Drug Discovery Technologies*, **5**, 289 (2008).