

GelMA 기반 생체재료의 제작 및 응용

Fabrication and Applications of GelMA-based Biomaterials

송지현 · 이예지 · 이준민 | Jihyeon Song · Yeji Lee · Junmin Lee

Department of Materials Science and Engineering, Pohang University of Science and Technology (POSTECH),
77 Cheongam-Ro, Nam-Gu, Pohang, Gyeongbuk 37673, Korea
E-mail: junmin@postech.ac.kr

1. 서론

하이드로젤은 친수성 고분자 네트워크로 수분 함량이 높은 매트릭스를 형성한다. 세포의 기질(ECM)과 유사한 특성을 가져 약물전달, 생체재료 등 생물 의학 분야에서 지지체, 나노 입자로 사용된다.¹ 하이드로젤의 한 종류인 젤라틴을 기반으로 만들어진 젤라틴 메타크릴로일(gelatin methacryloyl, GelMA)은 생체적합성, 생분해성이 뛰어나고 성형이 쉬워 생체재료로 다양한 적용이 가능하다. 젤라틴은 세포 부착을 촉진하는 아르기닌-글리신-아스파르트산(arginine-glycine-aspartic acid, RGD) 펩타이드 시퀀스를 가지고 있어 세포 부착을 촉진하며 용해도가 좋고 항원성이 적다는 장점을 가지고 있다.² 젤라틴에 메타크릴산 무수물을 첨가하여 GelMA를 합성하였을 때도 이런 특성이 유지된다.

GelMA의 물성은 합성할 때의 메타크릴화 정도, 젤 농도에 영향을 받는다. GelMA의 메타크릴화 정도가 고분자 네트워크 내에서 물을 끌어당기고 저장하는 물질의 능력과 성향에 상당한 영향을 미친다. 젤 농도를 일정하게 유지하고 메타크릴화 정도를 높일수록 강성이 증가하며, 메타크릴화 정도를 일정하게 유지하고 젤 농도를 높이면 압축 계수가 증가한다.³

GelMA는 생체 적합성을 가지면서도 물성을 조절가능하기 때문에 다양한 분야에서 사용되고 있다. 이 글에서 GelMA의 합성 방법과 적용, GelMA를 기반으로 한 하이브리드 하이드로젤에 대해 다룰 것이다.

2. 본론

2.1 GelMA의 합성

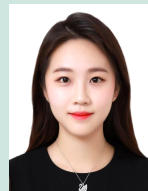
젤라틴은 콜라겐을 고온에서 가수분해하여 얻어진다. GelMA는 젤라틴을 인산염 완충 식염수(PBS) (pH = 7.4)에 50 °C에서 용해 후, 메타크릴 무수물(methacrylic anhydride, MA)를 첨가하여 반응시켜 얻을 수 있다. 반응을 통해 젤라틴의 라이신(lysine)과 히드록실라이신(hydroxyl lysine)은 메타크릴산 무수물로 치환된다.⁴

Author



송지현

2022 중앙대학교 화학신소재공학과 (학사)
2022-현재 포항공과대학교 신소재공학과 (석박사통합과정)



이예지

2022 중앙대학교 화학신소재공학과 (학사)
2022-현재 포항공과대학교 신소재공학과 연구원



이준민

2008 연세대학교 금속시스템공학과 (학사)
2010 연세대학교 신소재공학과 (석사)
2017 일리노이주립대학 신소재공학과 (박사)
2017 Brigham Women's Hospital/Harvard Medical School (Post-Doc.)
2017-2020 UCLA (Post-Doc.)
2020-2021 Terasaki Institute (Post-Doc.)
2021-현재 포항공과대학교 신소재공학과 조교수

생성된 혼합물을 인산염 완충 식염수로 5배 희석하여 치환 반응을 중단시킨다. 이어서, 반응혼합물을 12-14 kDa 컷오프 투석 튜브를 사용하여 탈이온수에 대해 40 °C에서 5-7일 동안 투석시킴으로써 미반응 MA 및 메타크릴산 부산물 등을 제거한다. 마지막으로 혼합액을 동결건조하여 고체 생성물을 얻을 수 있다(그림 1A).

GelMA 하이드로젤은 광가교를 통해 얻을 수 있다. 광가교는 광개시제의 존재 하에 UV 광에 노출시켜 진행된다. 광개시제는 일반적으로 2-hydroxy-1-[4-(2-hydroxyethoxy)phenyl]-2-methyl-1-propanone(Irgacure 2959)⁵와 리튬 아실포스페이트염(lithium acylphosphinate salt, LAP)⁶를 사용한다(그림 1B). GelMA 농도, 치환 정도, 개시제 농도 및 UV 광 노출 시간 등을 조절하여 GelMA 하이드로젤의 물리적 특성을 조정할 수 있다.⁷

2.2 GelMA의 응용

2.2.1 GelMA의 메타크릴화 정도 조절

GelMA의 물성을 조절하여 생체 조직을 모사하는데 이용할 수 있다. GelMA의 물성을 조절하는 방법 중 한가지는 GelMA의 메타크릴화 정도를 조절하는 것이다(그림 2). 젤라틴과 메타크릴산 무수물을 합성할 때 메타크릴산 무수물의 농도를 조절하여 아민기의 치환정도를 다르게 만들 수 있고, 이는 결과적으로 GelMA의 물성을 다르게 만든다. 메타크릴화도가 높으면 기공 크기가 더 작고 단단하여 내구성을 가지는 GelMA를, 메타크릴화도를 낮추면 기공 크기가 크고 부드러운 특성을 가지는 GelMA를 만들 수 있다. 이렇게 메타크릴화도의 정도를 조절한 GelMA에 혈액 유래 내피 군체

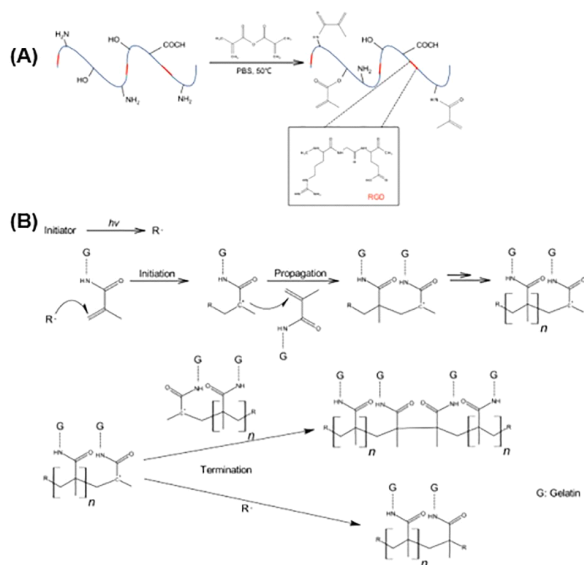


그림 1. (A) 젤라틴에서 GelMA로의 합성과 (B) GelMA의 광가교 메커니즘.

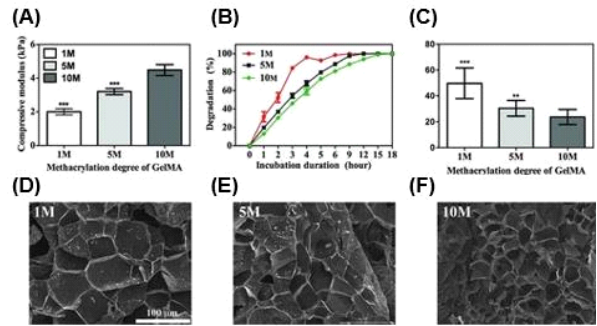


그림 2. (A)-(C) 메타크릴화 정도를 조절한 GelMA의 물성과 (D)-(F) 조건 별 기공크기 비교.

형성 세포(ECFC)와 골수 유래 중간엽 줄기 세포(MSC)를 배양하면 혈관 형성 정도를 조절하여 혈관 네트워크를 모사할 수 있다.⁸

2.2.2 GelMA의 Matrix로의 적용

GelMA는 천연 고분자인 젤라틴과 아크릴레이트 작용기로 구성되어 세포의 기질 모방이 가능하다. 따라서 세포를 생체 외 배양하여 생체 조직과 구조를 모방하는 인공장기칩 (organ-on-a-chip) 모델을 제작하기 적합하다.⁹ 예를 들어, 탈세포화한 간 조직에 GelMA와 간세포를 조합하여 배양하면 인공간칩(liver-on-a-chip) 모델을 제작할 수 있다(그림 3A). 제작한 인공 간 시스템은 더 많은 세포 생장을 유도할 뿐 아니라, 알부민 분비, 암모니아 해독 등 간기능을 위한 세포의 기질을 형성하였다. GelMA를 이용한 organ-on-a-chip

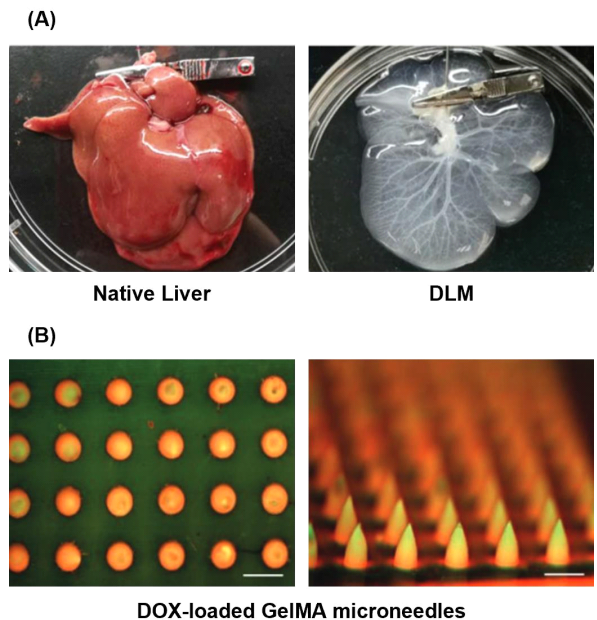


그림 3. (A) 실제 쥐의 간과 탈세포화 한 간에 GelMA를 만든 인공 간, (B) GelMA에 DOXA를 넣어 만든 마이크로 니들. 스케일 바의 크기는 500 μ m이다.

모델은 약물 테스트, 질병 모델링, 종양연구로 활용할 수 있다.¹⁰

GelMA에서 RGD의 존재는 세포의 기질을 모방하게 만든다. 또한 GelMA의 흡수성, 생분해성, 생체 적합성은 GelMA를 마이크로 니들의 형태로 제작하여 경피 약물 전달 시스템으로 사용하기에 적합하다. 항암제인 DOX를 함유하는 GelMA 용액을 마이크로 몰드에 주조하여 마이크로 니들 패치를 만들 수 있다(그림 3B). GelMA의 UV 가교 시간을 조절을 통해 팽윤비를 다르게 할 수 있고, 이를 통해 GelMA의 구조를 변화시켜 약물 방출속도를 조절할 수 있다. 가교시간이 길수록 많은 네트워크 형성을 통해 더 적은 기공 사이즈와 물에 의한 팽창성(swelling)을 보인다. 이 때문에 같은 시간에 가교시간이 적은 마이크로 니들 패치에 비해 더 적은 DOX가 방출되었다. 이 시스템은 GelMA로 만든 마이크로 니들이 각질층을 통과하여 효과적으로 약물 전달을 할 수 있음을 보여준다.¹¹

2.3 GelMA 기반 하이브리드 하이드로젤의 응용

2.3.1 GelMA with Carbon-based Nanomaterials

GelMA의 부드러운 물성과 낮은 전기 전도도는 골격근, 심장, 신경 세포의 지지체로 사용하기에 부적합하다. 이런 GelMA의 물성을 보완하기 위해서 탄소 나노튜브(CNT)를 도입한 하이브리드 하이드로젤이 다양한 연구에 쓰이고 있다. CNT는 세포 거동에 부정적인 영향을 미치지 않으면서 GelMA의 물성을 효과적으로 강화할 수 있다. CNT에 GelMA를 코팅 시켜 하이브리드 하이드로젤을 합성했다. GelMA-CNT 하이드로젤에 유전영동(DEP)을 이용하여 CNT를 정렬 시키면 정렬도에 비례하여 GelMA의 전기 전도도를 극적으로 증가시킬 수 있다. 또한 전형적인 탄성 변형 곡선을 나타내는 GelMA와 달리 GelMA-CNT 하이드로젤은 CNT의 영향으로 인해 점탄성 거동을 나타낸다. 이렇게 전기 전도성과 물성이 강화된 GelMA-CNT 하이드로젤은 골격근 세포 지지체로 사용될 수 있다.¹²

GelMA에 그래핀 산화물 및 환원 그래핀 산화물을 통합 하여 하이브리드 하이드로젤을 만들 수 있고 심장 조직 공학에 응용할 수 있다. 그래핀 및 그래핀 유도체는 탄소 나노 튜브에 비해 더 낮은 세포 독성을 가지며 표면 산소 함량을 조정해 세포 거동을 조절할 수 있어 심장 조직 공학 응용 분야를 비롯한 생물의학 응용 분야에서 유망한 재료이다. 그래핀-GelMA 하이드로젤은 그래핀 산화물의 전기적 특성과 GelMA의 생체적합성을 둘 다 가지고 있어 균일한 세포 정렬을 촉진하고, 세포의 기질과의 세포 접착력을 강화시킬 수 있다(그림 4). 또한 심근세포를 배양했을 때 심근 세포에 대한 세포의 기질을 형성하고 심장 조직 형태 형성 및 자발적 심장 박동을 유도할 수 있다.¹³

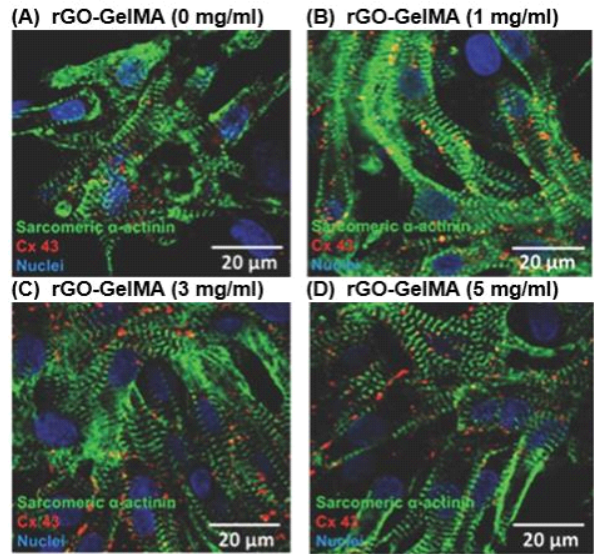


그림 4. rGO 첨가 농도 (A) 0 mg/mL, (B) 1 mg/mL, (C) 3 mg/mL, (D) 5 mg/mL에 따른 rGO-GelMA에서 8일 배양 후 심근세포의 심장 마커에 대한 면역염색 사진.

2.3.2 GelMA with Biopolymers

GelMA의 기계적 성질, 세포반응 등을 개선시키기 위해 다양한 생체 고분자를 함께 사용할 수 있다. 젤라틴의 원재료인 콜라겐과 히알루론산(hyaluronic acid, HA)는 세포의 기질의 주요 구성 요소로, HA-gelatin 하이브리드 하이드로젤은 유망한 생체모방 기질이다. 히알루론산 메타크릴로일-젤라틴 메타크릴로일(HAMA-GelMA) 하이브리드 하이드로젤에서 젤 성분의 조성을 변화시켜 팽윤비, 분해성, 기계적 성질 등을 조정할 수 있다. 예를 들어, 3% GelMA 하이드로젤의 압축 모듈러스는 2% HAMA가 추가되었을 때 1 kPa에서 4 kPa로 증가했다. 유사하게, 10% GelMA 하이드로젤의 압축 모듈러스는 2% HAMA가 추가되었을 때 33 kPa에서 73 kPa로 증가했다(그림 5). HAMA-GelMA 하이브리드 하이드로젤의 기계적 성질은 자연 조직과 유사하여 심혈관, 골격근, 연골 등 다양한 조직 공학 응용 분야에 활용될 수 있다.¹⁴

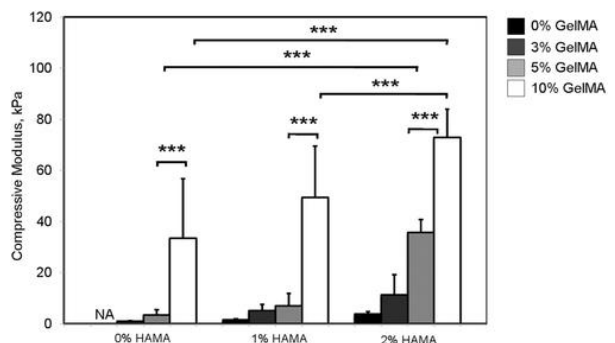


그림 5. 다양한 농도에서 HAMA-GelMA 하이브리드 하이드로젤의 압축 모듈러스.

HAMA와 콘드로이틴 황산염 메타크릴레이트(chondroitin sulfate methacrylate, CSMA)가 소량 첨가된 GelMA 기반 하이드로젤에 인간 연골세포를 배양하여, 연골 형성 및 기계적 특성을 향상시킬 수 있다. 대조군인 GelMA 하이드로젤과 비교하여, 연골 형성이 향상되고, 보다 둥근 세포 형태를 보였으며, 새로 합성된 세포의 기질의 양과 분포가 증가함이 확인되었다. 기계적 성질 또한 GelMA 하이드로젤의 압축 계수는 연골세포 8주 배양 후 2.5배 증가했지만, HAMA 및 CSMA가 첨가된 하이드로젤은 4.5배 증가했다.⁵

2.3.3 GelMA with Synthetic Polymers

폴리에틸렌글리콜(polyethylene glycol, PEG) 하이드로젤은 독성이 없으며 유리한 영양소 운반 특성을 나타내기 때문에 세포 배양 및 조직공학 응용 분야의 연구에 널리 사용되어 왔다. 그러나 세포는 PEG 하이드로젤에 부착, 증식할 수 없고, PEG를 분해할 수 없다. PEG와 GelMA를 합성하여 제작한 하이브리드 하이드로젤은 조정 가능한 기계적, 생물학적 특성을 나타낸다.¹⁵ PEG-GelMA 하이브리드 하이드로젤은 기계적 성질, 팽윤비, 분해성에 대해 조정가능성을 보일 뿐 아니라, 세포 부착 및 캡슐화 후 생존력에 대해 개선된 결과를 관찰할 수 있다. PEG-GelMA 하이브리드 하이드로젤에 캡슐화된 섬유아세포는 7일간 배양 후 다세포 네트워크의 형성이 관찰된 반면, 순수한 PEG 하이드로젤에서는 관찰되지 않았다.¹⁵

3. 결론

지금까지 생체재료로 사용되는 대표적인 고분자 재료인 GelMA의 기본 성질 및 응용에 대하여 설명하였다. GelMA는 천연 고분자인 젤라틴에 광가교성 메타크릴로일 치환기를 도입시킨 물질이다. GelMA는 광개시제의 존재하에 UV광 노출시 빠른 젤화가 가능하며,² GelMA 하이드로젤은 MA 치환정도, GelMA 농도, UV 노출시간 및 다양한 다른 하이드로젤의 도입을 통해 분해성, 팽윤비 및 기계적 성질 등을 조절 가능하다. 이러한 특성 때문에 GelMA는 앞서 소개한 바와 같이 세포의 기질 모방 재료 및 약물전달의 재료로써 다양한 연구에서 활용되어왔다. 뿐만 아니라, 바이오프린팅의 잉크, 장기칩 및 바이오센서의 재료로써의 적용도 가능하다.

다양한 의료용 분야에서의 광범위한 사용에도 불구하고, GelMA가 가진 한계점들이 있다. 우선, GelMA의 기계적 성질 조정가능성에도 불구하고 일부 적용분야에 대해서는 너무

부드러워 충분한 기계적 강도를 제공하지 못한다. 또한, 분해 속도가 빨라 장기 약물전달 시스템으로의 적용에 적절하지 않다.⁴ 다음과 같은 한계점들을 극복하고, 더 큰 스케일의 생체재료의 성공적인 제작을 위해 앞으로도 GelMA의 특성화와 관련한 활발한 연구가 진행되어야 할 것이다.

참고문헌

1. N. A. Peppas, J. Z. Hilt, A. Khademhosseini, and R. Langer, *Adv. Mater.*, **18**, 1345 (2006).
2. K. Yue, G. Trujillo-de Santiago, M. M. Alvarez, A. Tamayol, N. Annabi, and A. Khademhosseini, *Biomaterials*, **73**, 254 (2015).
3. J. W. Nichol, S. T. Koshy, H. Bae, C. M. Hwang, S. Yamanlar, and A. Khademhosseini, *Biomaterials*, **31**, 5536 (2010).
4. Y. Piao, H. You, T. Xu, H.-P. Bei, I. Z. Piwko, Y. Y. Kwan, and X. Zhao, *Eng. Regen.*, **2**, 47 (2021).
5. P. A. Levett, F. P. Melchels, K. Schrobback, D. W. Huttmacher, J. Malda, and T. J. Klein, *Acta Biomater.*, **10**, 214 (2014).
6. B. D. Fairbanks, M. P. Schwartz, C. N. Bowman, and K. S. Anseth, *Biomaterials*, **30**, 6702 (2009).
7. A. I. Van Den Bulcke, B. Bogdanov, N. De Rooze, E. H. Schacht, M. Cornelissen, and H. Berghmans, *Biomacromolecules*, **1**, 31 (2000).
8. Y. C. Chen, R. Z. Lin, H. Qi, Y. Yang, H. Bae, J. M. Melero-Martin, and A. Khademhosseini, *Adv. Funct. Mater.*, **22**, 2027 (2012).
9. S. H. Lee, K. Y. Shim, B. Kim, and J. H. Sung, *Biotechnol. Progress*, **33**, 580 (2017).
10. G. Wu, D. Wu, J. Lo, Y. Wang, J. Wu, S. Lu, H. Xu, X. Zhao, Y. He, and J. Li, *Biomater. Sci.*, **8**, 2814 (2020).
11. Z. Luo, W. Sun, J. Fang, K. Lee, S. Li, Z. Gu, M. R. Dokmeci, and A. Khademhosseini, *Adv. Healthc. Mater.*, **8**, 1801054 (2019).
12. J. Ramón-Azcón, S. Ahadian, M. Estili, X. Liang, S. Ostrovidov, H. Kaji, H. Shiku, M. Ramalingam, K. Nakajima, and Y. Sakka, *Adv. Mater.*, **25**, 4028 (2013).
13. S. R. Shin, C. Zihlmann, M. Akbari, P. Assawes, L. Cheung, K. Zhang, V. Manoharan, Y. S. Zhang, M. Yükksekaya, and K. t. Wan, *Small*, **12**, 3677 (2016).
14. G. Camci-Unal, D. Cuttica, N. Annabi, D. Demarchi, and A. Khademhosseini, *Biomacromolecules*, **14**, 1085 (2013).
15. C. B. Hutson, J. W. Nichol, H. Aubin, H. Bae, S. Yamanlar, S. Al-Haque, S. T. Koshy, and A. Khademhosseini, *Tissue Eng. Part A*, **17**, 1713 (2011).