

세포유래 생체소재

민병현 · 오현주 · 김영직

1. 서론

최근 난치성 질환에 대한 치료 대안으로서 줄기세포 연구의 활성화와 더불어 조직공학 및 세포치료제 분야를 포함하는 재생의학에 대한 연구 개발이 증가하고 있다.^{1,2} 재생의학은 아직 연구되어야 할 부분이 많은 신학문이지만, 질병의 원인인 세포 사멸이나 조직의 기능 저하 등을 근본적으로 회복시켜 줄 수 있는 미래의 질병 치료를 주도할 신 의료기술로 인식되고 있다. 신 의료기술인 재생의학의 실용화를 위해서 중점적으로 연구되어야 할 핵심 요소기술로는 세포 제조 기술, 조직의 재생을 유도할 성장인자/약물 전달 기술 그리고 생체소재 제조 기술 등이 주목받고 있다.

재생의학적 관점에서의 생체소재는 질병을 진단, 치료하는데 사용되는 의료용 재료의 일종이며, 의약품을 제외한 합성, 천연 또는 그들의 복

합체 형태로 일정기간 인체의 조직 또는 기관을 대신하여 그 기능의 일부 또는 전부를 대체할 수 있는 소재이어야 한다.^{3,4} 따라서, 생체소재는 독성이 없고, 체내 삽입 시 혈액 응고나 비정상적 치유를 유발하지 않는 생체적합성과 용도에 적합한 물리적 특성을 가져야 한다. 그러나 현재까지 개발되어 이용되고 있는 생체소재들은 아직 해결하지 못한 문제점들을 지니고 있다. 즉, 합성생체소재는 우수한 물성 및 가공성에도 불구하고 낮은 생체적합성과 낮은 조직 재생능력이 문제점으로 알려져 있고,⁵ 천연생체소재는 생체적합성은 우수하지만 물성이 약하고 가공성이 떨어지는 단점을 가지고 있으며⁶⁻¹⁰ 현재 상용화된 제품들 대부분은 세포외기질(extracellular matrix, ECM)의 일부 구성성분만을 추출하여 상품화한 것으로 특정 조직 또는 장기에 특이적인 기능적 특성을 구현하는 데는 한계가 있다.

재생의학의 실용화를 위해서는 현재까지 생체소재의 특성으로 요구



민병현

1976. 3.~1983. 2. 연세대학교 의과대학(의학사)
 1987. 3.~1989. 9. 연세대학교 대학원 의과대학(석사)
 1989. 9.~1993. 2. 연세대학교 대학원 의과대학(박사)
 1991. 3.~1994. 2. 연세대학교 의과대학 임상강사
 1994. 3.~1995. 2. 美UCI 부속, Long Beach memorial hospital, Pacific Rim Fellowship
 2004. 3.~현재 아주대학교 의과대학 정형외과학교실 교수 겸 아주대학교 공과대학 분자과학기술학과 교수
 2004. 9.~현재 아주대학교 세포치료센터 소장
 2007. 3.~현재 아주대학교 골관절염 특화센터 소장
 2009. 4.~현재 중국 상해교통대학 의학원 골과 명예교수
 2010. 9.~현재 아주대학교 의료원 연구지원실장



오현주

2003~ 2007 제주대학교 생명과학과(학사)
 2007~ 2009 아주대학교 분자과학기술학과(석사)
 2009~ 현재 아주대학교 분자과학기술학과(박사과정)



김영직

2002 인제대학교 의공학과(공학석사)
 2005 인제대학교 의공학과(공학박사)
 2005~ 2007 부산가톨릭대학교 치기공학과 전임강사
 2007~ 2008 부산가톨릭대학교 치기공학과 조교수
 2008 Division of Bioengineering, National Univ. of Singapore Research Fellow
 아주대학교의료원 세포치료센터 연구조교수
 2008~ 현재

Cell Derived Biologic Scaffold

아주대학교 의과대학 정형외과학교실, 세포치료센터, 아주대학교 분자과학기술학과(Byoung-Hyun Min, Department of Orthopaedic Surgery, Ajou University School of Medicine, Cell Therapy Center, Gyeonggi Bio-Center 4F, 864-1, Iui-dong, Yeongtong-gu, Suwon 443-749, Korea) e-mail: bhmin@ajou.ac.kr

아주대학교 공과대학 분자과학기술학과(Hyun Ju Oh, Department of Molecular Science and Technology, Ajou University, San 5, Woncheon-dong, Yeongtong-gu, Suwon 443-749, Korea)

아주대학교 의과대학 세포치료센터(Young Jick Kim, Cell Therapy Center, Ajou University School of Medicine, Gyeonggi Bio-Center 4F, 864-1, Iui-dong, Yeongtong-gu, Suwon 443-749, Korea)

되었던 인공조직의 구조적 골격으로서의 역할을 할 수 있는 물질, 세포의 유착과 증식능력 향상, 염증반응 없는 주변조직과의 융화, 그리고 일정 기간 이후 분해될 수 있는 생분해성 외에, 특히 조직의 재생을 유도할 수 있는 특이적 기능성이 요구되고 있다. 이러한 다양한 요구들을 충족하기 위해, 생체소재에 대한 연구는 합성 생체재료, 추출된 천연재료를 거쳐, 최근 생체기능성을 극대화할 수 있는 세포외기질 유래 생체재료로 진행되어 가고 있다. 즉 동물 혹은 인체의 세포나 조직을 직접 소재화 하는 연구가 활발하게 진행되고 있으며 그 연구의 결과물들이 상업화되어 병원에서 질병 치료 목적으로 이용되기 시작하였다. 본 특집에서는 조직 및 세포유래 생체소재들과 연관된 연구들 및 그 결과물들에 대해 소개하고 각각의 특징에 대해 검토할 수 있는 기회를 제공하고자 한다.

1. 세포외기질 생체소재

세포외기질(extracellular matrix; ECM)은 조직에서 세포를 제외한 나머지 성분인데, 세포들이 분비한 다양한 구조적 기능적 분자들의 3차원적 조합으로 이루어져 있으며,¹¹ 아직 그 특성 및 기능을 완전히 밝혀내지 못해 인공적 제작은 불가능하다. 세포외기질은 조직의 모양

을 이루면서 조직의 물리적 성질, 즉 신연력, 압축강도와 탄력성들을 결정하고, 삼투압, 이온의 투과 등을 조절하면서 세포의 환경을 유지하는 중요한 역할을 한다. 또한, 많은 성장인자와 사이토카인을 보유하고 있어 세포의 기능을 결정하는 역할을 하는데 특히 태아, 성장기에는 세포의 분화를 조절하거나, 세포의 접착, 대사활동을 증감시키면서 조직 성장의 방향(structural guidance and morphogenesis)을 제시한다. 세포외기질은 교원질(collagen), elastin과 같은 단백질로 조직의 물리적 성질을 결정하며, fibronectin, laminin과 같은 당단백(glycoprotein)이 세포와 세포외기질을 붙여주는 접착제와 역할을 하고, chondroitin sulfate와 같은 많은 단백질(proteoglycan)이 있어 조직의 모양과 부피를 유지한다. 세포외기질은 조직내에서 세포들과 활발한 상호작용을 하

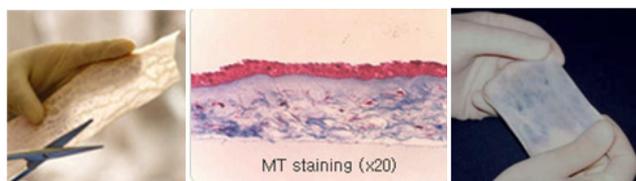


그림 1. 소장점막하조직(Small Intestine Submucosa), 인간 양막(human amniotic membrane), 방광조직(bladder).

표 1. 상업적으로 개발된 세포외기질 생체소재 제품

Partial List of Commercially Available Devices Composed of Extracellular Matrix

Product	Company	Material	Chemical modification	Form	Use
Acellular Oasis®	Healthpoint	Porcine small intestinal submucosa (SIS)	Natural	Dry sheet	Partial & full thickness wounds; superficial and second degree burns
Xelma™ AlloDerm	Molnlycke Lifecell	ECM protein, PGA, water Human skin	Cross-linked	Gel Dry sheet	Venous leg ulcers Abdominal wall, breast, ENT/head & neck reconstruction, grafting
CuffPatch™	Arthrotek	Porcine small intestinal submucosa (SIS)	Cross-linked	Hydrated sheet	Reinforcement of soft tissues
TissueMend®	TEI Biosciences	Fetal bovine skin	Natural	Dry sheet	Surgical repair and reinforcement of soft tissue in rotator cuff
Durepair® Xenform™	TEI Biosciences TEI Biosciences	Fetal bovine skin Fetal bovine skin	Natural Natural	Dry sheet Dry sheet	Repair of cranial or spinal dura Repair of colon, rectal, urethral, and vaginal prolapse, pelvic reconstruction, urethral sling
SurgiMend™	TEI Biosciences	Fetal bovine skin	Natural	Dry sheet	Surgical repair of damaged or ruptured soft tissue membranes
PriMatrix™ Permacol™	TEI Biosciences Tissue Science Laboratories	Fetal bovine skin Porcine skin	Natural Cross-linked	Dry sheet Hydrated sheet	Wound management Soft connective tissue repair
Graft Jacket®	Wright Medical Tech	Human skin	Cross-linked	Dry sheet	Foot ulcers
Surgisis®	Cook SIS	Porcine small intestinal submucosa (SIS)	Natural	Dry sheet	Soft tissue repair and reinforcement
Durasis®	Cook SIS	Porcine small intestinal submucosa (SIS)	Natural	Dry sheet	Repair dura matter
Stratasis®	Cook SIS	Porcine small intestinal submucosa (SIS)	Natural	Dry sheet	Treatment of urinary incontinence
OrthADAPT™	Pegasus Biologicals	Horse pericardium	Cross-linked		Reinforcement, repair and reconstruction of soft tissue in orthopedics
DurADAPT™	Pegasus Biologicals	Horse pericardium	Cross-linked		Repair dura matter after craniotomy
Axis™ dermis	Mentor	Human dermis	Natural	Dry sheet	Pelvic organ prolapse
Suspend™	Mentor	Human fascia lata	Natural	Dry sheet	Urethral sling
Restore™	DePuy	Porcine small intestinal submucosa (SIS)	Natural	Sheet	Reinforcement of soft tissues
Veritas®	Synovis Surgical	Bovine pericardium		Hydrated sheet	Soft tissue repair
Dura-Guard®	Synovis Surgical	Bovine pericardium		Hydrated sheet	Spinal and cranial repair
Vascu-Guard®	Synovis Surgical	Bovine pericardium			Reconstruction of blood vessels in neck, legs, and arms
Peri-Guard®	Synovis Surgical	Bovine pericardium			Pericardial and soft tissue repair

Stephen F. Badylak. The extracellular matrix as a biologic scaffold material, *Biomaterial.*, **28**, 3587-3593 (2007).

고 있으며 조직이나 장기 고유의 기능을 유지하고 수행할 수 있도록 부피를 유지하는 지지체 역할을 하고 있다. 세포는 자신이 만든 것과 유사한 세포외기질 환경에 가장 잘 적응할 수 있고 생리적 활동도 가장 활발하게 된다는 것은 잘 알려져 있는 사실이다. 따라서, 공학적으로 조직을 제작하려는 연구에서 이러한 세포외기질을 지지체로 개발하려는 연구가 활발하다.¹² 많은 세포외기질 생체소재들이 동물이나 인체의 피부조직,¹³ 소장조직,¹⁴⁻¹⁶ 방광조직,¹⁷⁻¹⁹ 심장²⁰⁻²⁶ 기관,²⁷ 그리고 폐 등을 이용하여 만들어 졌다(그림 1). 또한 Min 등은 연골의 세포외기질을 이용하여 생체소재를 제작하여 다양한 활용도를 선보이고 있다(표 1).

세포외기질의 성분과 구조는 아직 완전히 규명되지 않고 있는데, 이미 임상적으로 많이 이용되고 있는 소재인 SIS(Small Intestinal Submucosa)가 세포외기질 생체소재 중 가장 많이 연구가 진행되고 있다. 소장점막하 조직으로 만들어진 SIS는 건조중량을 기준으로 90% 이상의 교원질로 구성되어 있으며, 그 중 제1형 교원질이 대부분을 차지하고 있으며 소량의 제III, IV, V형 그리고 VI형 등이 존재하는 것으로 알려져 있다.²⁸ 그 외 hyaluronan, heparin, heparan sulfate, 그리고 chondroitin sulfate 등의 glycosaminoglycan(GAG)이 주요 구성 성분을 이루고 있으며 fibronectin, laminin, decorin, biglycan, entactin 등이 포함되어 있는 것으로 보고되고 있다. 방광을 원재료로 하여 만들어진 방광 기질소재(Urinary Bladder Matrix, UBM)는 SIS와 비슷한 종류의 교원질 들을 함유하고 있으나 제3형 교원질의 함량이 SIS 보다 높으며, 특히 방광의 기저막에는 제7형 교원질을 포함하고 있어 다른 세포외기질 생체소재들과 차별화된다.

Min 등이 개발한 세포유래 생체재료의 구성성분은 연골과 유사한 성분으로 단백질과 교원질로 되어 있다. 세포외기질은 65~80%가 수분이며, 나머지 교원질과 단백질 중 제2형 교원질은 13.5~18%이며 단백질과 기타 소량의 단백질이 7~10% 정도를 차지하고 있다.

2. 세포외기질 생체소재의 제조 방법

생체소재로 사용될 세포외기질의 생리학적 특성을 유지하려면, 세포외기질의 3차원적 구조와 생리활성 물질들을 최대한 많이 보유하도록 제조 방법을 적용하여야 한다. 제조 공정 중 중요한 과정은, 면역거부반응을 일으킬 수 있는 항원성이 제거된 생체소재를 개발하기 위해 조직으로부터 세포들을 제거하는 기술(탈세포화: decellularization)과 멸균하는 기술(sterilization)이다.

조직으로부터 세포 및 항원성 물질을 제거하는 방법으로는 peracetic acid, 고장액 또는 저장액 처리, trypsin이나 chollagenase 등의 분해 효소, SDS 또는 Triton X-100 등의 세제들을 이용하는 방법들과 같은 기계적인 방법과 화학적인 방법 그리고 단백질 분해 방법과 이들을 조합한 방법이 일반적으로 이용된다.²⁹⁻³¹ 이러한 방법에 의해서 만들어진 세포외기질 생체소재들을 인체에 이식하였을 때 일어날 수 있는 급성반응 부작용 관련 연구는 많이 규명되고 있으나 장기간에 걸친 만성반응에 대해서는 아직 연구가 진행되고 있는 상태이다.³²

Min 등에 의해 개발된 세포유래 생체소재는 기존의 방법과는 달리 연골조직으로 분리한 연골세포를 고밀도로 배양하여 이로부터 유래된 세포외기질로 소재를 만들고 있다. 기존의 세포외기질만을 이용한 재료와는 달리 세포가 분비한 세포외기질을 취합한 후 이를 탈세포화하고 멸균하므로 탈세포 효율을 증가시킬 수 있고, 세포외기질에 대한

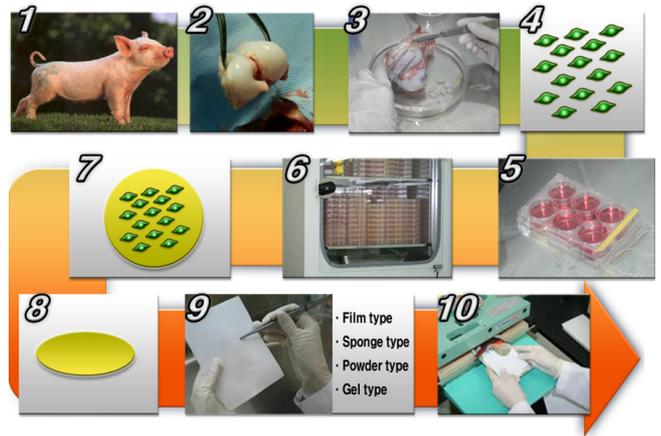


그림 2. 세포유래 생체소재의 제조 과정.

손상을 최소화할 수 있어 세포외기질의 생리적 활성도를 최대한 유지할 것으로 기대한다(그림 2).

3. 세포외기질 생체소재의 특성

3.1 조직 재생 유도능(Bioinductive Properties)

세포외기질 생체소재들은 decorin, biglycan과 같은 결합 분자에 많은 생활성 분자를 함유하고 있다. 이 cytokine과 성장인자는 극미량이 존재하지만 세포의 활성화에 강력한 영향을 미칠 수 있다. 이러한 성장인자는 transforming growth factor- β (TGF- β), basic fibroblast growth factor(b-FGF), vascular endothelial growth factor(VEGF), EGF, keratinocyte growth factor(KGF), hepatocyte growth factor(HGF), platelet-derived growth factor(PDGF) 등이 있다. 이들 성장인자들 중 일부는 제품화를 위한 멸균과정과 장기간의 보관기간 후에도 높은 생활성도(bioactivity)를 유지하고 있는 것으로 보고되고 있다.³³⁻³⁶ 세포외기질로부터 생활성 물질을 분리하여 약제화하는 연구가 진행되고 있지만, 분리된 성장인자의 최적 용량(optimal dose), 목표 조직에서의 국소적, 서방형 방출, 조직 재생 과정에 따른 작용의 조절 등이 제품화를 위해 극복해야 할 장해 요인으로 제기되고 있다. 조직재생을 위한 지지체로서 사용될 시에 이 모든 성장인자가 자연상태로 상대적으로 조율된 용량으로 존재하며, 더욱이 자연상태의 3차원 구조(native three-dimensional ultrastructure)로 유지된다는 것이 중요하다.

3.2 생역학적 특성(Biomechanical Properties)

세포외기질 생체소재로 만들어진 지지체의 교원질 섬유들의 구조는 인공조직의 생체역학적 특성을 결정하는데 중요한 역할을 할 수가 있다. 세포외기질 생체소재에 존재하는 교원질 섬유들의 배열과 방향성 등은 원재료인 각 조직의 기능에 따라 다르게 구성되어 있다. 예를 들면 인대나 건에 존재하는 교원질 섬유들은 인장하중에 견딜 수 있게 긴 축을 따라 나란히 균일하게 잘 배열된 구조를 가지고 있는 것이 특징이므로 인대나 건 조직으로부터 만들어진 세포외기질 생체소재는 전방십자인대 재건 등에 가장 적합한 생체소재가 될 수 있다.³⁷⁻³⁹

세포외기질 생체소재의 또 다른 장점은 특정조직이나 장기의 3차원적 세포외기질 구조를 유지할 수 있는 것이다. 세포외기질의 3차원적 구조는 특정장기나 조직으로부터 분리되어 파종된 세포들의 생리적 활동

을 조절하고 조직 특이적인 특성을 유지할 수 있도록 한다.⁴⁰⁻⁴² 예를 들면, UBM의 경우 방광의 기저막을 보유하고 있어 *in vitro*에서 지지체의 아래 부분으로 이동하는 것을 막을 수 있어 세포들이 표면 부위에만 유착되도록 할 수 있다.⁴⁰

3.3 세포외기질 생체소재의 면역 반응

세포외기질 생체소재는 이종조직(xenogenic tissue)이므로 이식시 면역반응이 중요한 질문일 수 밖에 없다. 연구용이나 임상적으로 자가 조직이 아닌 재료 및 조직을 오랜 기간 사용해 왔지만 면역반응에 대한 부정적인 증거는 보이지 않는다. 특히 임상적으로 많은 이종조직이 치료에 사용되고 있는데, 뇌경막을 돼지의 심장외피로 대체하거나, 손상된 심장 판막을 돼지판막으로 대체한다거나, 피부 화상을 돼지피부로 치료를 하거나 당뇨병 환자들에게 돼지 혹은 소의 인슐린을 처방하여 치료하는데 사용하지만 안전하게 받아들여 지고 있다.

한편, 이종의 소장점막하조직(SIS: small intestine submucosa)의 면역반응에 대해서 많은 연구가 진행되어 오고 있다. SIS-ECM에 존재하는 galactosyl 1,3 galactose는 이식 후에 거부반응에 영향을 미치지 않는다고 보고되며, SIS의 지지체와 함께 배양할 때 human helper T-cell 활성화와 분화가 지연된다고 보고되어 지고 있다.^{43,44}

반복적으로 이종 세포외기질과 접촉하여도 마우스 동물실험에서 Th-1형 반응이 나타나지 않는데 SIS에 대한 조직 cytokine과 혈청체액 반응(seum humoral response)은 Th-2형의 면역반응과 관련이 되는 것으로 알려지고 있다. SIS-ECM 지지체를 이식받으면 숙주는 이를 'non-self'로 인식하여 항체를 생성하지만, 이러한 항체들은 보체(complement) 형성에 제한적이라 거부반응을 일으키지 않으며 오히려 조직 재형성(tissue remodelling)을 유도하게 된다.⁴⁵

세포의 침투, 혈관생성, 충혈과 조직 부종을 동반하는 염증과 조직의 재형성(constructive remodelling)은 감별되어야 된다. 이식된 세포외기질의 주요 역할은 세포의 침투를 촉진하여 새로운 ECM을 형성하게 하는 것이다. 최근에 염증과 조직 재형성의 차이점을 단핵구 식세포(mononuclear macrophage)의 표현형 차이에서 찾으려는 연구가 진행되고 있다. 즉, 단핵구 식세포는 이식 물질에 대해 항염증반응(proinflammatory (M1))과 반염증반응(antiinflammatory (M2))을 일으킬 수 있는 양면의 표현형을 가질 수 있는데, 분해가 잘 되지 않는 지지체에 대해서 M1의 표현형을 가지고, 쉽게 분해되는 생체소재에 대해서는 M2의 표현형을 갖게 된다.^{46,47}

연골은 면역 반응을 일으키지 않는 특이적 조직(unique tissue)으로 알려져 있다. 연골세포 유래 생체소재는 연골조직과 매우 유사한 성분을 갖고 있으며, 정상 연골과 같은 특징을 지닐 것으로 예상되고 있다. 동물 실험과 인체 실험에서 염증 반응과 면역 거부 반응을 전혀 보이지 않아 안전한 이식물로 인정되고 있다.

4. 세포유래 생체소재의 활용

세포유래 생체소재는 제조 과정을 달리함으로써 막, 스폰지, 수화젤, 분말 형태로 제조가 가능하다. 재생이 필요한 조직의 형태와 생체재료의 역할에 따라서 인체에 이식 혹은 주입하기 유리한 상태의 형태로 이용할 수 있다.

세포유래 생체재료는 다양한 방법으로 사용될 수 있는데, 직접 이식하여 생체의 재생을 도울 수 있고, 세포 이식의 운반체로 사용될 수 있으며,



그림 3. 필름 형태의 생체재료를 제작하였는데 제작된 생체재료는 3~15 cm로 크기를 다양하게 조절가능하며, 세포를 배양하여 만든 재료로서 20~150 μm 높이를 보이며 크기에 따라 다양하지만 3~30 μg의 무게로 얇은 필름 형태이며 30~100 N의 인장강도가 측정됨.

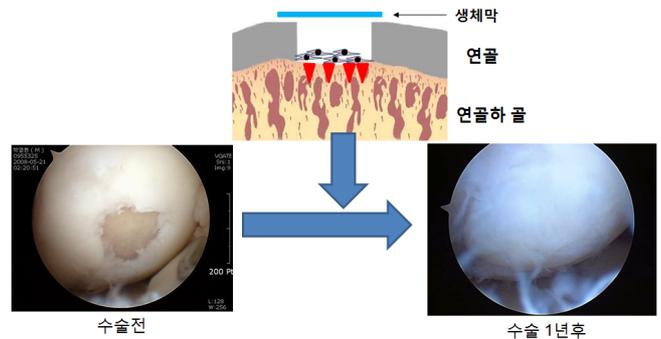


그림 4. 무릎의 내측에 전층의 연골이 결손된 모습. 미세골절술 후 연골하골로부터 유래된 줄기세포를 보호하기 위해 생체막을 덮음. 수술 1년 후 결손 부위가 정상 연골에 가까운 모습으로 재생된 모습.

약물을 load하여 이를 장기간 방출할 목적으로 사용할 수 있다. 또한, 조직공학을 위한 지지체로 사용할 수 있는데 세포재료에 세포를 접촉한 후 장기간의 체외배양을 통해 인체 조직과 유사한 조직으로 만드는 데에도 사용된다.

4.1 물리적 방벽(Physical Barrier)으로서의 활용

세포유래 생체소재를 얇은 막으로 제작하여(ArtiFilm®, Regenprime Co., Ltd., Korea) 피부, 경막(dura), 장기 열상 부위 등 다양한 목적으로 사용될 수 있는데, 현재 관절연골의 재생용으로 허가가 되어 임상적 사용이 가능하다(그림 3).

관절연골의 재생을 위해 가장 많이 사용되는 수술 방법으로 미세골절술(microfracture)이 있는데, 이는 손상된 연골결손 부위의 연골하골에 작은 구멍을 만들어 출혈에 의해 골수에 있는 줄기세포의 유출을 유도하는 수술법이다. 매우 간편하고, 인체손상을 최소화하는 수술 방법이지만 연골재생의 성공률이 낮고 자연 초자연골이 아닌 섬유연골로 재생되는 단점이 있다. 그 이유로서 골수로부터 유출된 줄기세포가 관절액에 의해 쉽게 희석되고 관절액에 의하여 줄기세포가 연골세포로 분화되는 것에 장애를 받는 것으로 생각되어지고 있다. 따라서, 미세골절술의 효과를 증진시키기 위하여 연골결손 부위를 덮어 혈병에 포함된 줄기세포를 보호하는 방법을 모색할 수 있다. 저자는 세포유래 생체막을 사용한 동물실험과 임상시험에서 연골재생 효과를 증진시킬 수 있었다(그림 4).

4.2 약물전달체로서의 활용

세포유래 생체막은 반투과성 소재로 확산계수(diffusion coefficient)가 4.7×10^{-8} 으로 측정되고 있다(그림 5). 또한, 일정 기간에 걸쳐 생분해되는 특성이 있으므로 이를 이용하여, 생체막을 적층의 구조로 제작함으로써 약물 방출을 지속적으로 유지하는 기능을 얻을 수 있다(그림 6).

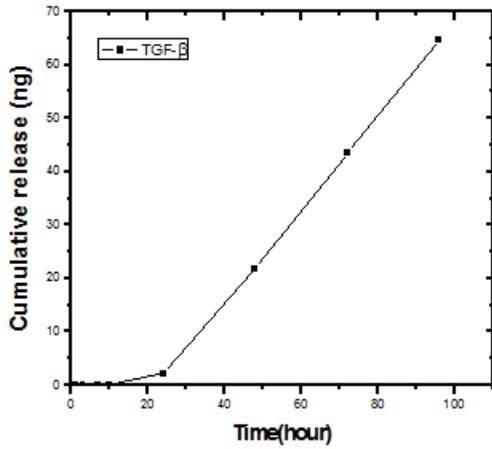


그림 5. 확산계수 측정 TGF-β₃가 생체막을 통과하는 확산 속도를 측정함.



그림 6. 세포유래 생체막의 약물방출 전달체 제조 모식도(생체막 2장과 3장 사이에 약물을 주입하여 적층한 후 가교하여 제작).

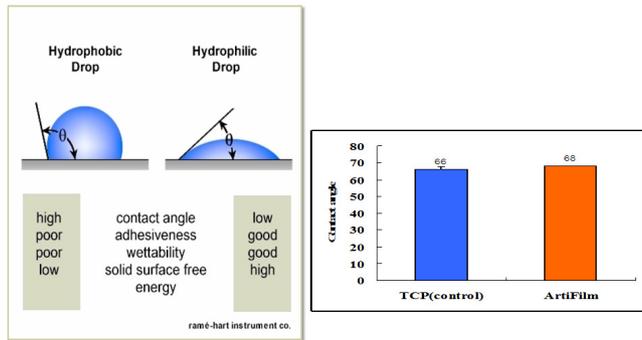


그림 7. 생체막의 친수성(wettability)은 배양 용기와 비슷한 측정치를 보임.

TGF-β₃는 줄기세포의 연골세포 분화에 필수적인 성장인자로 알려져 있다. 민 등은 미세골절술에 의한 연골 재생의 효율을 높이기 위하여 TGF-β₃를 지속적으로 방출할 수 있는 약물방출 생체소재를 수술 부위에 도포하여 좋은 결과를 얻은 바 있다.

4.3 세포 전달체로서의 활용

생체막은 세포의 접착과 이동에서 일반 배양 용기와 유사한 기능을 갖고 있다(그림 7). 또한, 배양시 증식력과 생존력에서 세포 전달체로서의 적절한 성질을 갖고 있는 것으로 판단된다(그림 8).

(1) 각막의 손상에 대해 현재의 치료법은 각막 외피 세포를 이식하거나, 각막 이식을 하는 방법을 선택할 수 밖에 없다. 세포를 이식하기 위해 현재 유일하게 쓰이는 전달체는 양막(amniotic membrane)인데, 물성이 매우 약해서 수술시 조작하기 어렵고, 감염과 보관에서의 문제점을 안고 있다. 저자는 세포유래 생체막(Cornifilm®, Regenprime Co., Ltd., Korea)에 줄기세포를 이식하여 각막 외피세포층의 재생에 성공하고 있다(그림 9).

(2) 연골의 전층 손상은 달리, 부분층 손상은 자연적 수복을 전혀 기

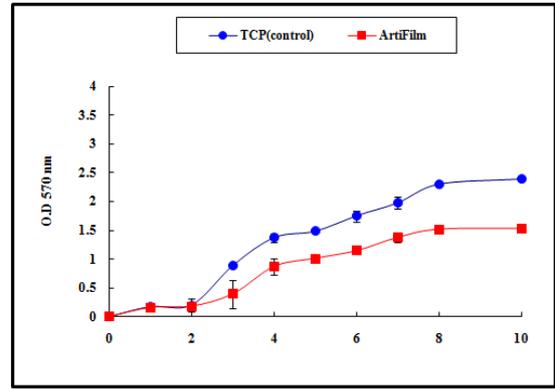


그림 8. 세포의 증식력은 배양 용기보다 생체막에서 약간 낮은 것을 보이나, 생체막에서의 생존력은 차이가 없음.

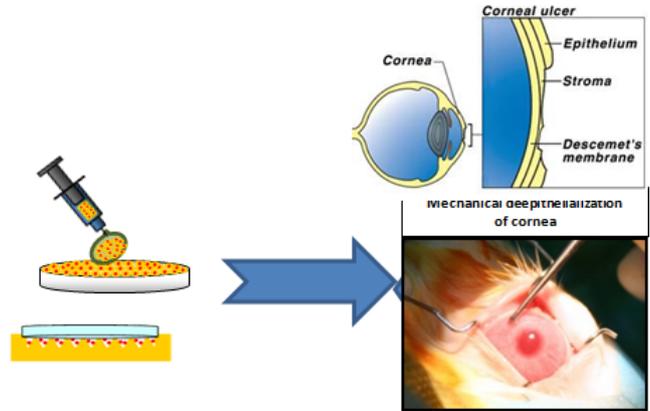


그림 9. 생체막에 고밀도의 세포를 접정한 후 단기간 배양함. 배양된 세포-전달체 복합체를 각막손상 동물에 이식한다. 이식후 각막 외피세포층이 재생된 모습.

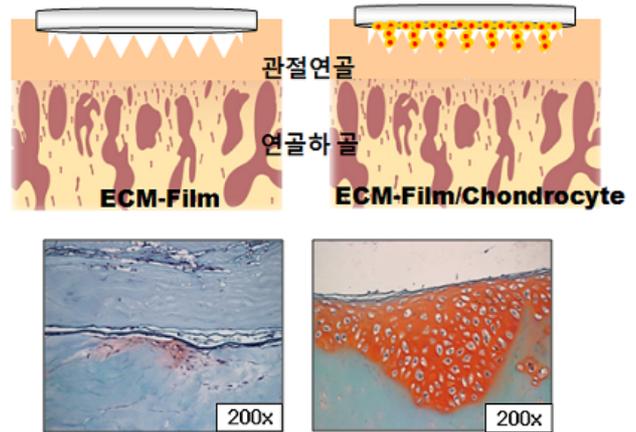


그림 10. 연골세포 없이 생체막을 덮은 군(대조군), 줄기세포를 접정한 생체막을 덮은 군(실험군). 4주의 체외배양(ex vivo culture) 후 풍부한 세포외기질로 재생된 연골 조직이 관찰됨.

대할 수 없을 뿐만 아니라, 적절한 치료 방법이 없는 난치성 질환이다. 세포이식에 의한 연골 재생은 유력한 치료 방법이 될 수 있는데, 세포를 운반체에 접정한 채 이식하여 결손 부위에 연골을 재생시키는 방법이다.

저자는 줄기세포를 생체막에 접종시켜 손상된 부위에 덮은 후 체외배양했을 때, 세포를 접종하지 않은 대조군보다 훨씬 효과적인 연골재생을 유도할 수 있었다(그림 10).

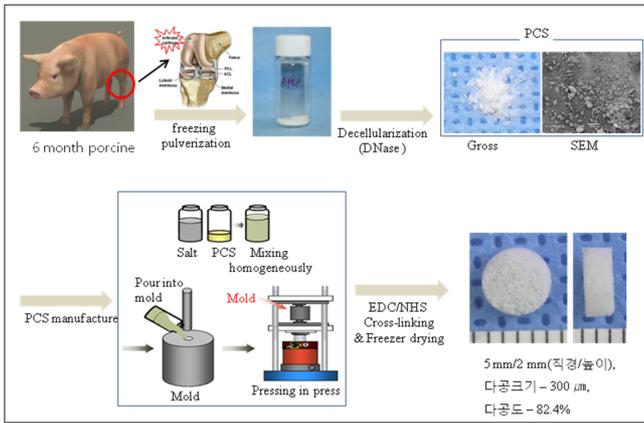


그림 11. 돼지연골조직을 분말형태로 제작하고 탈세포한 후 mold를 이용하여 지지체를 제작하는 과정.

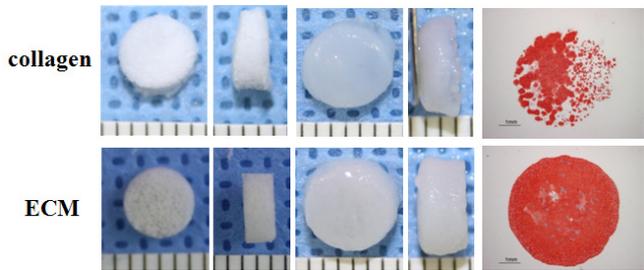


그림 12. 연골세포유래 세포외기질 생체소재와 교원질 스폰지에 연골세포를 접종한 후 연골조직으로 분화한 모습.

4.4 조직공학을 위한 지지체로서의 활용

세포유래 생체소재를 분말형태로 만든 후 탈세포한다. 탈세포된 분말을 이용하여 손상된 크기와 모양에 따라 제작이 가능한데 원하는 크기에 따라 mold를 제작하고 분말과 염을 함께 넣어 일정한 압력을 가하여 스폰지 형태의 지지체를 제작한다(그림 11).

일반적으로 알려진 생체재료로 만든 지지체의 경우 생체적합성이 뛰어나지만 기계적 강도가 약하다는 단점을 가지고 있다. 그러나 일정한 압력을 주어 제작한 스폰지 형태의 지지체는 크기 조절도 가능하지만 기계적 강도도 다른 생체재료에 비해 뛰어나다.

Min 등은 세포유래 생체소재의 연골 분화능을 관찰하기 위해 시중에서 구입가능한 교원질 스폰지와 비교하였다. 두 소재의 스폰지에 연골 세포를 접종하여 연골로 분화시킨다. 세포를 접종하여 연골로 분화시킨 이 조직이 연골형성을 확인하기 위해 조직학적 염색과 화학적인 분석을 통해 확인한 결과 연골세포유래 생체소재는 연골세포 분화와 연골형성능력이 뛰어난 것을 알 수 있었다. 연골의 주성분인 collagen과 glycosaminoglycan이 다량 함유되어 있고 면역반응이나 염증반응도 없으며 세포와 지지체 사이에 상호작용을 통해 조직공학적 연골형성이 가능하다(그림 12).

5. 세포유래 생체재료의 발전 방향

재생의학 분야의 미래는 조직의 형성과 재생을 유도하고 이끌어 갈 수 있는 생체소재의 개발 및 활용 기술과 밀접하게 연결되어 있다. 그러나 지금까지 수많은 생체소재들이 개발되었지만 아직 임상에서 인체에 사용될 수 있는 소재는 극히 적은 수에 불과하며 그 또한 활용기술의 개

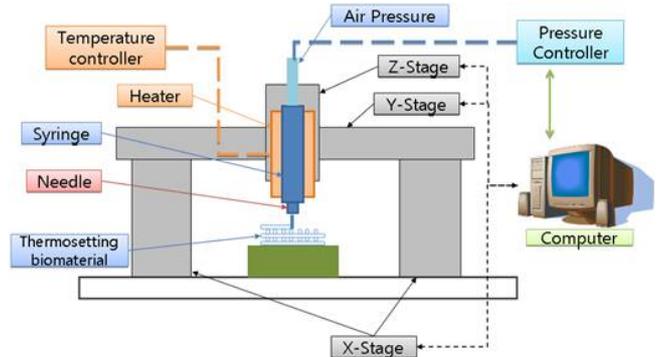
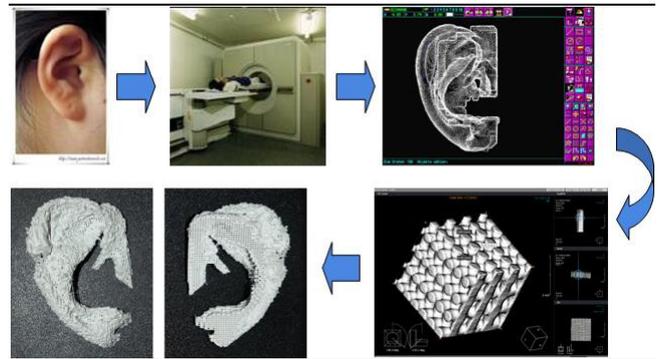


그림 13. 바이오 플로터를 이용한 귀모양의 지지체 제작과정: 국내에서는 한국기계연구원에서 용융 타입의 바이오플로팅 장비를 개발하여 연구가 활발히 진행되어지고 있음. 이러한 장비를 이용하여 사고나 질병에 의해 소실된 인체부위를 원상태의 모습과 유사한 지지체를 제작할 수 있음. CT와 같은 영상시스템을 이용하여 소실부 부위의 이미지를 얻어낸 후, 이미지 파일을 기반으로 플로팅 장비에서 똑같은 모양의 지지체 제작가능.⁸⁾

발 면에서는 극히 초보적인 수준에 머물러 있다.

조직공학적 조직 재생을 위해서는 우선 인체조직 손상과 유사한 크기의 조직의 제작이 필요하며, 혹은 장기의 모양을 복제하여야 할 필요가 있다. 20년 이상의 조직공학 연구 역사에도 불구하고 아직 물질 이동(mass transfer)의 제한으로 인체 장기와 유사한 크기의 장기를 공학적으로 배양하는 데에는 한계가 있다. 하지만, 생체소재의 분해 조절과 지지체의 다공(pore) 크기와 모양 및 구조를 조절함으로써 이러한 한계가 극복될 것으로 믿어지고 있다.

한편, 인공조직의 이식을 위해서는 대상 장기의 구조적, 물리적 성질 및 생화학적 특성 등을 고려한 생물학적 특성이 뛰어난 지지체의 개발이 필수적인 조건이다. 앞서 설명한 바와 같이 세포유래 생체소재는 생체적합성이 뛰어나고 약물/세포 전달체로도 활용이 가능하지만 아직 구조적, 물리적 특성이 합성고분자 생체소재들에 비해 다양하지 못한 단점을 가지고 있다. 이러한 단점을 극복하고 다양한 조직의 조직공학용 지지체로 이용할 수 있기 위해서는 자유형상제작(solid free form fabrication, SFF) 기술이나 합성고분자 재료와의 blending과 같은 새로운 첨단 기술의 도입이 필요하다.

자유형상제작 기술은 컴퓨터를 이용한 제품 모델링 및 제작 기술이며 다양한 산업현장에서 제품의 prototype이나 제품제작에 이용되기 시작한 신기술이다. 생체소재분야에서는 지지체들의 3차원 형상과 구조적인 한계를 극복하기 위해서 합성고분자를 이용한 지지체 제작에 이용되고 있지만 아직 세포유래생체소재를 포함한 세포외기질 생체소재에는 아직 활용되지 못하고 있다. 세포외기질 생체소재는 합성고분자와는 달리 세포가 분비한 여러 종류의 단백질과 당단백질

로 구성된 복합재료이기 때문에 젤화가 어렵고 열에 약한 성질이 SFF 기술 도입에 장애가 되고 있다. 그러나 바이오 프린터(bio-printer)와 바이오 플루터 기술과 같이 최근에 개발되고 있는 첨단 SFF 기술을 이용한다면 곧 극복될 수 있을 것으로 기대된다(그림 13).

Blending 기술은 물리적 화학적 성질이 다른 재료들을 섞어 줌으로써 새로운 성질의 재료를 만드는 기술이며 세포유래 생체재료의 물리적 성질을 개선하기 위해서 꼭 필요한 기술이다. FDA의 승인을 획득한 합성고분자와의 세포유래 생체재료와의 blending은 단순히 물리적 성질의 개선뿐만 아니라 가공성 향상에도 도움이 될 수 있으며 SFF 기술의 적용에도 도움이 될 것으로 예상된다.

참고문헌

- R. Langer and J. P. Vacanti, *Tissue Engineering Science*, **14**, 260 (1993).
- D. J. Mooney and A. G. Mikos, *Growing New Organs. Sci. Am.*, **280**, 60 (1999).
- R. Langer and D. Tirrell, *Nature*, **428**, 487 (2004).
- S. J. Lee, S. W. Jeong, and H. C. Kim, *et al.*, *Tissue Eng. Regen. Med.*, **5**, 33 (2008).
- J. C. Middleton and A. J. Tipton, *Medical Plastics and Biomaterials Magazine*, 30 (1998).
- Y. L. Cui, X. Hou, A. D. Qi, X. H. Wang, H. Wang, K. Y. Cai, J. Y. Yin, and De Yao, *J. Biomed. Mater. Res.*, **66**, 770, (2003).
- Z. Cheng and S. H. Teoh, *Biomaterials*, **25**, 1991, (2004).
- A. H. Zisch, S. M. Zeisberger, M. Ehrbar, V. Djonov, C. C. Weber, A. Ziemiecki, E. B. Pasquale, and J. A. Hubbell, *Biomaterials*, **25**, 3245, (2004).
- W. F. Daamen, J. H. Veerkamp, J. C. van Hest, and T. H. van Kuppevelt, *Biomaterials*, **28**, 4378, (2007).
- T. Segura, B. C. Anderson, P. H. Chung, R. E. Webber, K. R. Shull, and L. D. Shea, *Biomaterials*, **26**, 359 (2005).
- C. Z. Jin, S. R. Park, B. H. Choi, K. Park, and B. H. Min, *Artif. Organs*, **31**, 183 (2007).
- F. Stephen, *Biomaterial*, **28**, 3587 (2007).
- J. E. Valentin, J. S. Badylak, G. P. McCabe, and S. F. Badylak, *J. Bone Joint. Surg. Am.*, **88**, 2673 (2006).
- T. Ueno, L. C. Pickett, S. G. de la Fuente, D. C. Lawson, and T. N. Pappas, *J. Gastrointest. Surg.*, **8**, 109 (2004).
- S. Badylak, K. Kokini, B. Tullius, and B. Whitson, *J. Surg. Res.*, **99**, 282 (2001).
- S. Badylak, S. Meurling, M. Chen, A. Spievack, and A. Simmons-Byrd, *J. Pediatr. Surg.*, **35**, 1097 (2000).
- S. F. Badylak, A. C. Coffey, G. C. Lantz, W. A. Tacker, and L. A. Geddes, *J. Vasc. Surg.*, **19**, 465 (1994).
- S. F. Badylak, G. C. Lantz, A. Coffey, and L. A. Geddes, *J. Surg. Res.*, **47**, 74 (1989).
- S. T. Herbert, S. F. Badylak, L. A. Geddes, B. Hillberry, G. C. Lantz, and K. Kokini, *Ann. Biomed. Eng.*, **21**, 727 (1993).
- M. J. Bissell and J. Aggeler, *Prog. Clin. Biol. Res.*, **249**, 251 (1987).
- H. K. Kleinman, D. Philp, and M. P. Hoffman, *Curr. Opin. Biotechnol.*, **14**, 526 (2003).
- F. Rosso, A. Giordano, M. Barbarisi, and A. Barbarisi, *J. Cell. Physiol.*, **199**, 174 (2004).
- E. Brown and E. Dejana, *Curr. Opin. Cell. Biol.*, **15**, 1 (2003).
- J. Chagraoui, A. Lepage-Noll, A. Anjo, G. Uzan, and P. Charbord, *Blood*, **101**, 2973 (2003).
- S. E. Dahms, H. J. Piechota, R. Dahiya, and T. F. Lue, *Br. J. Urol.*, **82**, 411 (1998).
- M. Huang, E. Khor, and L.Y. Lim, *Pharm. Res.*, **21**, 344 (2004).
- P. Delaere, J. Vranckx, G. Verleden, P. De Leyn, and D. Van, *N. Engl. J. Med.*, **14**, 172 (2010).
- M. C. Hiles, S. F. Badylak, G. C. Lantz, K. Kokini, L. A. Geddes, and R. J. Morff, *J. Biomed. Mater. Res.*, **29**, 883 (1995).
- S. J. Jones, S. P. Vasavada, J. B. Abdelmalak, L. Liou, E. S. Ahmed, and C. D. Zippe, *et al.*, *J. Urol.*, **65**, 1163 (2005).
- C. Le Visage, A. Okawa, L. Kadakia, S. Yang, A. N. Sieber, and J. P. Kostuik, *et al.*, *Comput. Meth. Biomech. Biomed. Eng.*, (**Suppl 1(177)**) (2005).
- X. H. Tian, W. J. Xue, X. L. Pang, Y. Teng, P. X. Tian, and X. S. Feng, *Hepatobiliary Pancreat. Dis. Int.*, **4**, 524 (2005).
- F. B. Stephen and W. G. Thomas, *Seminars in Immunology*, **20**, 109 (2008).
- J. S. Jones, R. R. Rackley, R. Berglund, J. B. Abdelmalak, G. DeOrco, and S. P. Vasavada, *BJU Int.*, **96**, 103 (2005).
- R. Misseri, M. P. Cain, A. J. Casale, M. Kaefer, K. K. Mel-drum, and R. C. Rink, *J. Urol.*, **174**(4 Pt 2), 1680 (2005).
- L. L. Pu, *Plast. Reconstr. Surg.*, **115**, 2127 (2005).
- S. DhT, M. A. Croce, C. Cagiannos, T. W. Jernigan, N. Edwards, and T. C. Fabian, *Ann. Surg.*, **241**, 995 (2005).
- X. H. Tian, W. J. Xue, X. L. Pang, Y. Teng, P. X. Tian, and X. S. Feng, *Hepatobiliary Pancreat. Dis. Int.*, **4**, 524 (2005).
- P. Caione, N. Capozza, D. Zavaglia, G. Palombaro, and R. Boldrin, *Ped. Surg. Int.*, **22**, 593 (2006).
- H. L. Malcarney, F. Bonar, and G. A. Murrell, *Am. J. Sports. Med.*, **33**, 907 (2005).
- G. C. Lantz, S. F. Badylak, M. C. Hiles, and T. E. Arkin, *Am. J. Vet. Res.*, **53**, 1594 (1992).
- R. H. Demling, J. A. Niezgoda, G. D. Haraway, and E. N. Mostow, *Wounds*, **16**, 18 (2004).
- T. M. MacLeod, P. Sarathchandra, G. Williams, R. Sanders, and C. J. Green, *Burns*, **30**, 431 (2004).
- R. H. Raeder, S. F. Badylak, C. Sheehan, B. Kallakury, and D. W. Metzger, *Transplant. Immunol.*, **10**, 15 (2002).
- E. M. Palmer, B. A. Beilfuss, T. Nagai, R. T. Semnni, S. F. Badylak, and G. A. van Seventer, *Tissue Eng.*, **8**, 893 (2002).
- A. J. Allman, T. B. McPherson, L. C. Merrill, S. F. Badylak, D. and W. Metzger, *Tissue Eng.*, **8**, 53 (2002).
- A. Mantovani, A. Sica, S. Sozzani, P. Allavena, A. Vecchi, and M. Locati, *Trends Immunol.*, **25**, 677 (2004).
- A. Mantovani, A. Sica, and M. Locati, *Immunity*, **23**, 344 (2005).
- S. A. Park, J.-H. Lee, and W. Kim, *Elastomers and Composites*, **44**, 106 (2009).