

중간엽줄기세포와 생분해성 매트릭스를 이용한 혈관 패치 개발

조승우^{1,2}, 김동익³, 박희정⁴, 최차용², 김병수¹
¹한양대학교 화학공학과, ²서울대학교 응용화학부,
³성균관대의대 삼성서울병원 혈관외과,
⁴성균관대의대 삼성서울병원 삼성생명과학연구소
전화 (02) 2297-0838, FAX (02) 2298-4101

Abstract

Synthetic polymers such as PET and ePTFE have widely been used for artificial vascular patches. However, these materials cannot function for a long term as blood vessel due to thrombotic occlusion and calcification. To overcome this limitation, a biocompatible vascular patch was developed using stem cell and tissue engineering approach. Autologous bone marrow mesenchymal stem cells were differentiated into vascular endothelial cells and smooth muscle cells. These cells were seeded onto collagen patch matrices. The matrices were anastomosed to abdominal arteries in canine models. Prior to implantation, histological and scanning electron microscopical examination revealed stem cell adhesion and growth on the matrices. At 3 weeks, the implanted vascular patches were patent. Histological examination showed the regeneration of endothelium, media and adventitia in the grafts. Cell tracing analysis using fluorescent reagent showed that labeled stem cells were present in the implanted grafts and contributed to the regeneration of vascular tissues. This study may help us develop a tissue-engineered vascular patch appropriate for clinical applications.

1. 서론

혈관조직 일부분의 손상으로 인한 심혈관질환의 경우에는 인공혈관이 아닌 혈관 패치로 대체가 가능한 경우가 많다. 따라서 임상적으로 이식 가능한 혈관 패치에 대한 수요가 늘어나고 있고, PET, ePTFE와 같은 합성 고분자재료로 제작된 혈관 패치가 이미 상품화되어 임상에 많이 적용되고 있다. 그러나 기존의 혈관 패치는 혈액응고로 인한 혈관막힘 현상과 생체 비적합성으로 인한 석회화 현상이 심각하여 오랜 기간 혈관기능을 수행하는데 문제점을 가지고 있다.^{1,2} 본 연구에서는 골수에서 분리

한 중간엽줄기세포를 혈관 내피세포와 혈관 평활근세포로 분화시킨 뒤^{3,5} 이들을 생체 적합성 교원질 패치형 매트릭스에 배양하여 조직공학적으로 혈관 패치를 제작하였고 개 모델에서 임상시험을 하였다.

2. 재료 및 방법

개의 골수를 채취한 뒤 중간엽줄기세포를 분리하여 혈관 내피세포와 혈관 평활근 세포로의 분화를 유도하였다. 배양된 개 자가 중간엽줄기세포를 교원질 패치 형태의 매트릭스(너비: 15mm, 길이: 30mm)에 부착시켜 일정 기간 배양한 후 개 복부 대동맥에 이식하였다. 이식하기 전에 주사전자현미경과 조직학 검사를 통하여 매트릭스에 세포의 부착 여부를 조사하였다. 3주 후, 이식된 혈관 패치를 적출하여 조직화학염색, 면역화학염색과 전자현미경 분석을 실시하였다. 형광현미경 분석을 실시하여 이식전 형광염료로 표지된 줄기세포의 적출된 패치 조직내 존재 여부를 조사하였다.

3. 결과 및 고찰

이식 전, 개 자가 중간엽줄기세포를 부착시켜 배양중인 교원질 혈관 패치조직에 대해 주사전자현미경분석과 조직학적 검사를 실시한 결과, 매트릭스에 세포가 잘 부착되어 성장하고 있음을 확인할 수 있었다. 중간엽줄기세포가 배양된 혈관 패치는 이식 후 3주 동안 혈관 막힘 현상이 나타나지 않았다(그림 1). 적출된 혈관 패치에 대한 조직화학염색, 면역화학염색과 전자현미경 분석을 실시하여 혈관조직의 재생을 확인하였다(그림 2). 또한, 형광염료를 이용한 세포추적을 통하여 재생된 혈관조직 내에 이식된 세포들이 존재하는 것을 알 수 있었다.

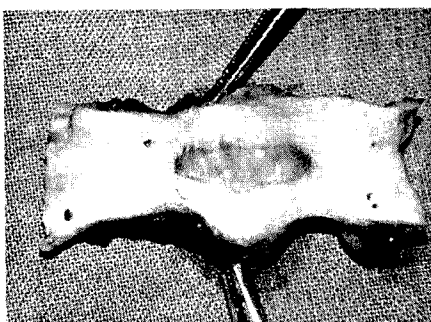


그림 1. 이식 3주 후 적출된 혈관 패치



그림 2. H&E 염색(3주 혈관 패치)

4. 요약

합성고분자(PET, ePTFE)로 제작된 기존의 혈관 패치는 혈전생성으로 인한 혈관 막힘 현상과 생체 비적합성으로 인한 석회화 현상 때문에 장기간 혈관 기능을 수행할 수 없다. 본 연구에서는 혈관조직을 형성하는 세포들로 분화가 가능한 중간엽줄기세포와 생체적합성 매트릭스를 이용하여 혈관용 패치를 개발하였다. 이식 후 3주에 관찰하였을 때 조직공학적으로 제조된 혈관 패치는 동물 임상시험에서 혈관막힘 현상 없이 혈관기능을 수행하였고 실제 혈관과 유사한 조직으로 재생되었다. 동물모델에서의 장기간 추가 보완 연구를 거친다면 본 연구에서 개발된 혈관 패치는 기존의 재료를 대체하여 많은 혈관질환 치료에 적용이 가능할 것으로 사료된다.

5. 참고문헌

1. Lee WK, Park KD, et al. Improved calcification resistance and biocompatibility of tissue patch grafted with sulfonated PEO or heparin after glutaraldehyde fixation. (2001), *J Biomed Mater Res*, 58, 27-35
2. Schoen FJ, Harasaki H, et al. Biomaterial-associated calcification: pathology, mechanism, and strategies for prevention. (1988), *J Biomed Mater Res*, 22, 11-36
3. Shi Q, Rafii S, et al. Evidence for circulating Bone Marrow-Derived Endothelial Cells. (1998), *Blood*. 92, 362-367
4. Reyes M, Dudek A, et al. Origin of endothelial progenitors in human postnatal bone marrow. (2002), *J Clin Invest*. 109, 337-346.
5. Sata M, Saiura A, et al. Hematopoietic stem cells differentiate into vascular cells that participate in the pathogenesis of atherosclerosis. (2002), *Nat Med*. 8, 403-409.