

Kidney reconstruction using kidney cell transplantation in kidney failure animal model

Sang-Soo Kim^{1,2}, Heung Jae Park³, Joungho Han⁴, Cha Yong Choi^{2,5}, Byung-Soo Kim¹

¹Department of Chemical Engineering, Hanyang University, Seoul, Korea

²Interdisciplinary Program for Biochemical Engineering and Biotechnology,
Seoul National University, Seoul, Korea

³Department of Urology, Kangbuk Samsung Hospital, Sungkyunkwan University
School of Medicine, Seoul, Korea

⁴Department of Pathology, Samsung Medical Center, Sungkyunkwan University
School of Medicine, Seoul, Korea

⁵School of Chemical Engineering, Seoul National University, Seoul, Korea

TEL: +82-2-2297-0838, FAX: +82-2-2298-4101

Abstract

Dialysis and renal transplantation, the current therapies for end-stage renal disease (ESRD), have many limitations including severe complications, organ shortage, and graft failure. To overcome the limitations, the present study investigated the reconstruction of renal tissue *in vivo* by transplanting isolated fetal renal cells using fibrin gel to the kidney of renal failure rat model. After 4 weeks from the transplantation, blood urea nitrogen(BUN) and creatinine were examined from blood samples and histological examination of the implanted tissues revealed formation of renal-like structures and restoration of renal function.

서 론

신장은 혈액 속의 노폐물을 걸러내는 여과 기능을 통해 신체의 항상성을 유지시키는 중요한 기관이다. 그러나 신장의 여과기능이 떨어지면 신체의 대사물질이나 독성물질이 배출되지 못하고 체내에 축적되므로 생명을 위협할 수 있다. 이렇게 악화된 상태를 말기 신부전증이라 하는데, 현재 국내에 10만 명 정도의 환자가 있다. 현재 치료법으로는 혈액투석술이나 복막투석술 그리고 외과적 수술을 통한 신장이식술 이외에는 대안이 없다.¹⁾ 그러나 투석술은 환자가 평생 동안 거의 매일 투석해야 하는 번거로움이 있고, 많은 합병증을 가지고 있으며, 평생 동안 치료해야 하므로 경제적 부담이 큰, 불완전한 치료법이다.²⁾ 또한 신장이식술은 면역 거부

반응과 감염의 문제 및 기증 신장의 절대적인 부족이라는 커다란 문제점을 안고 있다.³⁾ 따라서 본 연구에서는 조직공학적인 대안으로 5/6 신절제를 통하여 신부전을 유도한 동물 모델에서 neonatal rat으로부터 분리한 신장세포의 이식을 통해 *in vivo*에서 신장조직을 재생하고 신장의 기능을 회복시키는 기술에 대하여 연구하였다.

재료 및 방법

10-12주령의 rat을 마취하고 좌측 신장을 수술로 제거한다. 동시에 우측 신장을 부분적으로 4-0의 silk suture로 tie하여 신부전 동물모델을 만든다. 신부전 동물의 혈액을 채취하여 혈액검사를 실시한다. 갓 태어난 rat의 신장을 분리하여 phosphate buffered saline(PBS)으로 씻어 피와 기타 이물질들을 제거한다. 캡슐을 제거하고 신장을 잘게 잘라서 collagenase/ dispase (Roche) 효소를 이용하여 세포를 분리한다. 분리된 세포를 피브린 젤 고분자 매트릭스와 혼합하여 신부전 동물의 신장에 주사 이식한다. 이식 4주 후에 동물의 혈액과 조직을 회수하여 혈액검사 및 조직학 검사를 실시한다.

결과 및 고찰

신부전 동물을 만든 후 혈액 및 조직학 검사 (헤마토실린 & 에오신 염색)를 실시한 결과 신부전이 성공적으로 유도된 것을 알 수 있었다. 그림 1(a)에서 신장의 구조가 완전히 파괴된 조직들을 확인할 수 있다. 그림 2(a)와 2(b)에서 정상에 비해 높은 값의 BUN과 creatinine 수치를 확인할 수 있고, 이를 통해 신장의 여과 기능이 정상적으로 이루어지지 않는 신부전이 유도된 것을 확인할 수 있다. 세포를 이식한 후 4주의 조직을 회수하여 조직학 검사를 실시한 결과 그림 1(b)와 같이 재생된 신장의 구조를 확인할 수 있다. BUN과 creatinine 수치는 그림 2(a), 2(b)와 같이 세포를 이식한 경우에 4주 경과 후 수치가 정상에 가깝게 유지된 반면, 세포의 이식 없이 4주가 경과한 경우는 수치가 매우 높아지는 것을 볼 수 있다. 따라서 세포의 이식이 신장의 기능을 회복시켜 증상을 완화시켰다고 생각할 수 있다.

요 약

본 연구에서는 신장세포를 이용하여 신장을 재생하는 조직공학적인 신장 재생

방법을 개발하기 위해 신생 rat 으로부터 분리한 신장세포를 피브린 고분자와 혼합하여 신부전 rat 의 신장에 주사 이식하였고, 4주 후에 신장 구조의 형성 및 개선된 BUN, creatinine 수치를 확인하였다. 이는 이식된 세포에 의해 신부전의 증상이 완화(치료)된 것으로, 앞으로 이에 대한 추가적인 장기간의 실험이 필요하다.

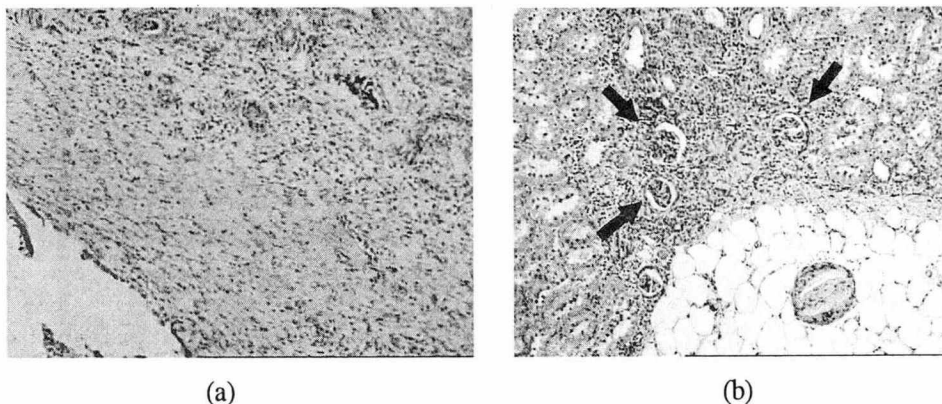


그림 1. 조직학 검사 사진. (a) 신부전 rat 의 신장. 신장조직이 피사하였다. (b) 세포를 이식한 후 4주 짜 신장. 화살표: 재생된 사구체.

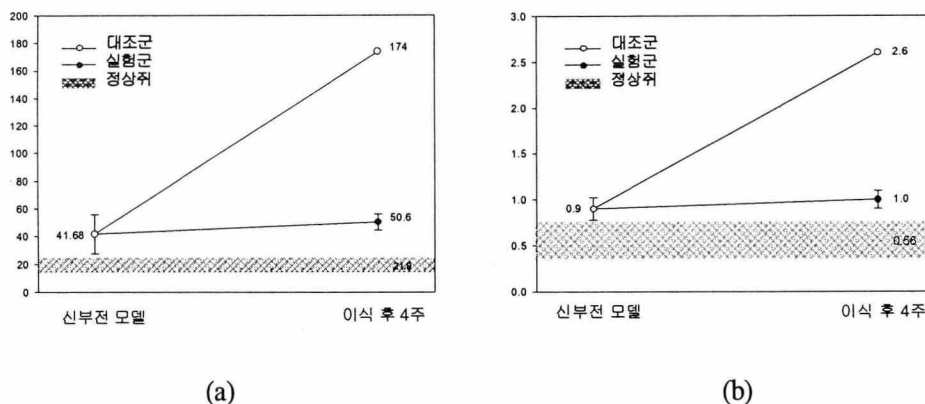


그림2. 혈액분석결과 (a) blood urea nitrogen(BUN), (b) creatinine.

References

1. Lakkis F. G, M Martinez-Maldonado (1995), Conservative management of chronic renal failure and the uremic syndrome. In: *The Principles and Practice of Nephrology*, edited by H. R. Jacobson, G. E. Striker, and S. Klahr. St. Louis, MO: Mosby, p. 614-620.

2. Agodoa LYC., PJ Held, FK Port (1995), U.S. Renal Data System, USRDS Annual Data Report, N.I.H., N.I.D.D.K., Bethesda, Maryland., *Am J Kidney Dis*, 26:S39-S50.
3. Agodoa LYC., PJ Held, FK Port (1995), U.S. Renal Data System, USRDS Annual Data Report, N.I.H., N.I.D.D.K., Bethesda, Maryland., *Am J Kidney Dis*, 26:S95-S111.