

Skin regeneration by spray of fibrin gel containing keratinocytes and epidermal growth factor

So-Jung Gwak¹, Sang-Soo Kim^{1,2}, Cha-Yong Choi², Byung-Soo Kim^{1*}

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

²Interdisciplinary Program for Biochemical Engineering and Biotechnology, College of
Engineering, Seoul National University, Seoul, Korea
Tel: +82-2-2290-0491, Fax: +82-2-2298-410

Abstract

The use of cultured epidermal sheet grafts for large full-thickness wound has been tempered by weak points such as long culture periods, difficulty in handling the fragile sheets, high costs and the detachment of the skin cells from the culture dishes by enzymatic digestion. To overcome the drawback of epidermal sheet grafts, we have developed a transplantation method to spray the cultured human keratinocytes with the mixtures of rhEGF and fibrin gel matrix to the full-thickness wounds on the dorsum of the athymic mice to regenerate epithelial layers. Wound biopsies were retrieved at 7, 14 and 21 days after transplantation and retrieved biopsies were analyzed by histology and immunohistochemistry. Transplanted keratinocytes and EGF-fibrin gel accelerated wound regeneration compared with control groups. The technique developed in this study overcomes the drawbacks of the current cultured epidermal sheet grafts and accelerates epidermal wound healing.

서론

현재 손상된 피부의 재생은 배양한 각질세포를 이용하거나 인공진피 이식 후 얇은 부분 층 식피 편으로 덮어주는 방법을 사용하고 있으며 세포 배양기술과 고분자에 대한 연구 결과 여러 종류의 인공피부^{1,2,3}가 개발되고 있다. 그러나 세포 배양 공정 후 피부 sheet를 만드는 공정이 추가로 필요한 이 방법은 여러 가지 문제점을 가지고 있다. 즉, 제조기간이 길며, 제조비용이 높으며, 세포배양 후 배양표면에서 세포를 분리하기 위하여 피부세포와 단백질에 해를 가할 수 있는 트립신 효소 처리가 사용

된다는 단점이 있다.

본 연구에서는 이러한 문제점들을 해결하기위해서 Epidermal growth factor(EGF)를 함유한 피브린 고분자와 인간 각질형성세포의 분사를 통하여 면역결핍 생쥐모델에서 피부의 재생을 확인하였다.

재료 및 방법

인간 피부 조직에서 각질형성세포 분리하여 배양한 뒤 EGF가 함유된 피브린 고분자와 함께 면역결핍 쥐의 등에 만든 전층 상처에 분사하였다. 대조군으로써 각질형성세포-피브린 고분자, EGF-피브린 고분자를 각각의 상처에 분사하였다. 7, 14, 21일후 면역결핍 생쥐의 피부결손 부위를 회수하여 조직학 검사와 면역화학 조직학 검사를 실시하였고, 피부 재생을 조사하였다. 또한 EGF가 함유된 피브린 고분자의 *in vitro* release test를 통하여 EGF의 방출을 조사하였다.

결과 및 고찰

7, 14, 21일 후 조직학 검사 결과 각질형성세포를 EGF 및 피브린 고분자의 혼합물과 분사한 실험군에서 각질형성세포-피브린 고분자, EGF-피브린 고분자를 분사한 대조군에 비해 빠른 표피재생을 확인하였다. 인간 항체를 이용한 면역화학검사를 통하여 이식된 인간의 각질형성세포가 표피조직을 재생함을 확인하였다. 기적막에 특이적으로 염색되는 항체인 Laminin과 표피층에 특이적으로 염색되는 involucrin에 대한 면역화학검사 결과 피부의 기저막, 과립층과 유극층의 재생을 각각 확인하였으며 EGF가 함유된 피브린 고분자의 *in vitro* release test를 통하여 효과적인 EGF의 방출을 확인하였다.

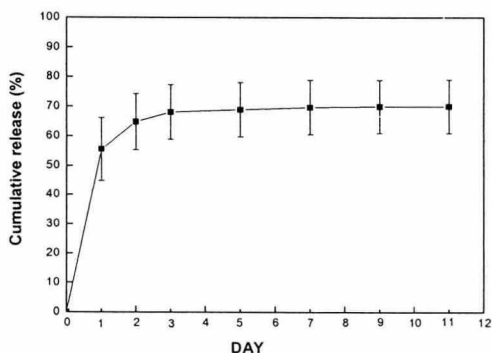


그림. EGF의 *in vitro* release test.

요 약

각질형성세포의 배양법이 개발 후 피부 결손 부위의 치료에 인체 각질형성세포를 배양하여 얻어진 표피를 이식하거나 세포부유물을 도포하는 기존의 방법들은 trypsin 처리 과정을 거치면서 배양된 세포의 부착능력을 가진 단백질이 손상되어 성공적인 피부 재생이 불가능하다. 이 연구에서는 면역결핍 생쥐 모델에서 인간 피부 각질형성세포와 EGF-피브린 고분자 혼합물을 분사하여 피부의 전층 상처를 재생하였다.

조직학 검사와 면역화학검사를 통하여 각질형성세포와 EGF-피브린 고분자를 함께 분사한 경우 이식된 인간 표피세포에 의한 빠른 표피재생을 확인할 수 있었다. 이 피부 재생술은 기존의 배양된 인공피부 sheet의 이식을 이용한 피부재생법에 비해 여러 가지 장점을 가지고 있으므로, 앞으로 화상이나 피부궤양과 같은 피부결손의 효율적인 새로운 치료법으로 사용되어질 수 있을 것이다.

참고문헌

1. Bell E, et al. Living tissue formed in vitro and accepted as skin equivalent tissue of full thickness.(1981) *Science* 211, 1052-1054.
2. Cooper ML, et al. In vitro optimization of a living dermal substitute employing cultured human fibroblasts on a biodegradable polyglycolic acid or polyglactin mesh.(1991) *Biomaterials* 12, 243-248.
3. Martine L, Lafrance, Ph.D, and David W. Armstrong, Ph.D., RSM Novel Living Skin Replacement Biotherapy Approach for Wounded skin Tissue (1999). *Tissue engineering*, 5, 153~170.