

타가 세포 이식을 위한 3차원 복합 스캐폴드 3D hybrid scaffold for non-autologous cell encapsulation

*이수인¹, #조동우¹, 홍정민¹, 강경신¹, 백선하²

*Soo-In Lee¹, #Dong-Woo Cho(dwcho@postech.ac.kr)¹, Jung Min Hong¹, Kyung Shin Kang¹, Sun Ha Paek²

¹포항공과대학교 기계공학과, ²서울대학교 의과대학 신경외과교실

Key words: Scaffold, Alginate, Encapsulation, Degradation, Mechanical strength

1. 서론

당뇨병 혹은 파킨슨병과 같이 필요한 호르몬을 지속적으로 주입해주어야 하는 질병을 가진 환자들을 위하여 체내에서 일정량의 호르몬을 지속적으로 방출하는 시스템에 대한 개발이 요구되고 있다. 타가 세포를 이용한 호르몬 방출이 하나의 해결책이 될 수 있는데, 이러한 세포가 체내에 들어올 경우 면역 거부 반응이 일어나게 된다. 따라서 타가 세포가 체내에 장기간 생존하려면 면역 거부 반응을 해결해야 한다. 이를 해결하기 위하여 일반적으로 면역 거부 반응을 최소화 하여 타가 세포가 일정기간 생존할 수 있도록 생적합성이 있는 알지네이트 젤에 세포를 내포할 수 있도록 하는 방법이 쓰이고 있었다. 이는 알지네이트 젤에 형성된 구멍이 작기 때문에 산소 및 영양분은 투과하나 항체는 투과시키지 않기 때문이다. 그러나 젤 자체는 강도가 약하기 때문에 외부 충격에 취약하다. 따라서 Ormocomp 재료로 3차원 구조체를 만들어 젤 및 젤 내부의 세포를 외부 충격으로부터 보호할 수 있는 스캐폴드를 제작하게 되었다. 이러한 복합 스캐폴드는 세포가 들어있는 알지네이트 젤과 이를 감싸는 Ormocomp 구조체로 구성된다.

2. 재료 및 실험 방법

Ormocomp (Micro resist technology GmbH, Germany)는 생적합성 [1]이 있지만 생분해성이 없는 재료로 알려져 있다. 이를 투영 기반 광조형 장치를 이용하여 경화시켜 3차원 구조체를 구현하였으며, 강도 향상을 위해 5분 동안

UV 진을 이용하여 후경화 과정을 거쳤다. 알지네이트(A0682, Sigma Aldrich, USA)는 생적합성이 있어 세포를 내재하는데 사용되는 재료 [2] 중 하나이다. 알지네이트 용액과 세포가 함유된 염화칼슘 용액을 섞어 10^4 개/ μL 만큼의 세포가 들어 있는 2% (w/v) 알지네이트 젤을 만들었다.

본 복합 스캐폴드는 Ormocomp 구조체 (Fig. 1)와 세포가 함유된 알지네이트 젤로 구성된다. Ormocomp 구조체 내부에 알지네이트 용액을 넣은 후 염화칼슘 용액을 넣어 Ormocomp 구조체 내부에서 알지네이트가 크로스링크 되어 젤이 되도록 하였으며, 이를 통해 외부 충격으로부터 알지네이트 젤이 보호될 수 있다.

세포로는 중간엽 줄기 세포를 이용하였다. 또한 RGD가 세포와 결합하는 특성을 이용하여 젤의 생분해 속도를 줄이고자 하였는데, 이 방법이 세포 증식에 영향을 미치는지 여부와 실제로 알지네이트 젤의 분해 속도에 영향을 미치는지 여부를 알아보려고 RGD 미부착 알지네이트 그룹과 RGD 부착 알지네이트 그룹을 준비하여 실험을 진행하였다.

본 복합 스캐폴드가 장기간 타가 세포를

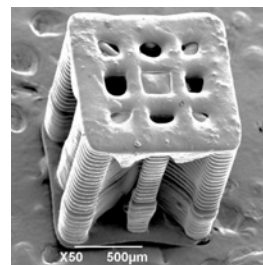


Fig. 1 Ormocomp 구조체 형상

체내에서 생존시킬 목적으로 사용될 수 있는지 알아보기 위하여 세포 생존 및 증식 검사, 젤 분해도 검사, Ormocomp 구조체 강도 검사를 실시하였다. 세포 생존 및 증식 검사는 공초점 현미경을 이용한 Live & dead 검사를 수행하였으며, 알지네이트 젤 분해성 검사를 위해서 무게 변화를 측정하였으며, Ormocomp 구조체 기계적 강도는 UTS 장비를 이용하여 압축 테스트를 수행하였다. 각각의 실험은 매주 혹은 격주로 8주까지 결과를 확인하였다.

3. 결과

세포 생존 및 증식 검사(Fig. 2)에서는 RGD 유무에 관계 없이 세포가 잘 생존하는 모습을 보였으나 RGD 가 있을 경우 다소 더 세포 증식이 잘 일어나는 결과를 보였다. 그러나 양자 모두 8 주차에 이르러서는 전체 세포 양에 있어서 큰 차이는 볼 수 없었다. 알지네

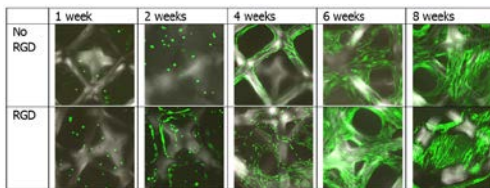


Fig. 2 세포 생존 및 증식 검사

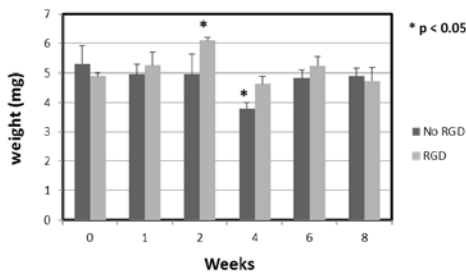


Fig. 3 알지네이트 젤 분해성 검사

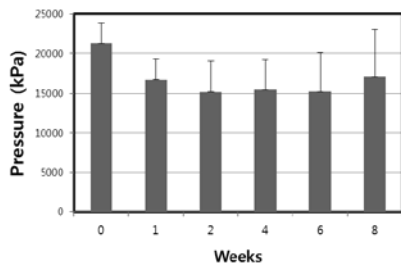


Fig. 4 Ormocomp 구조체 강도 검사

이트 젤 분해성 검사(Fig. 3)에서는 다소 유의한 오차가 있긴 하지만 전체적인 경향을 보았을 때 RGD 유무와는 관계 없이 생분해가 진행되지 않은 것으로 보이며, 알지네이트 젤에 함유된 세포가 체내에서 장기간 생존이 가능할 수 있음을 암시한다. Ormocomp 구조체 강도 검사(Fig. 4)에서는 오차 범위 이내에서 15,000 kPa 수준에서 강도가 유지되는 것으로 확인되었으며, 이는 뼈의 강도보단 다소 약한 수준으로서 체중이 직접적으로 가해지지 않는 이상 Ormocomp 구조체가 파괴되지 않고 알지네이트 젤을 보호할 수 있을 것으로 보인다.

4. 결론

이번 실험에서 수행된 세포 생존 및 증식 검사, 알지네이트 젤 분해성 검사, Ormocomp 구조체 강도 검사 결과 모두 본 스캐폴드가 체내에서 세포를 장기간 생존 용도로 활용될 수 있음을 보여주는 것으로 판단된다. 향후 도파민 분비 세포와 같은 호르몬 분비 세포를 이용하여 실제로 호르몬 분비와 동시에 이중 이식 모델에서 장기간의 생존 여부에 대하여 연구하고자 한다.

후기

이 논문은 2012년도 정부 (교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임 (No. 2012-0001235).

참고문헌

1. C. Schizas, and D. Karalekas, "Mechanical characteristics of an Ormocomp@biocompatible hybrid photopolymer", Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials, Vol. 4, Issue 1, pp. 99-106, 2011
2. D. Dufrane, R.M. Goebbels, A. Saliez, Y. Guiot, and P. Gianello, "Six-Month Survival of Microencapsulated Pig Islets and Alginate Biocompatibility in Primates: Proof of Concept", Transplantation, Vol. 81, Number 9, pp. 1345-1353, 2006