

비뇨생식기계의 조직재생

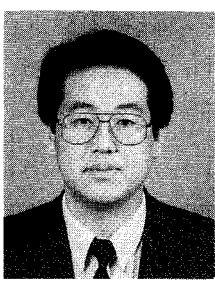
권 일 근 · 박 기 동 · 김 영 하

1. 서 론

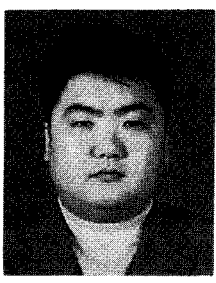
비뇨생식기계는 신장(kidney), 요관(ureter), 방광(bladder), 요도(urethra), 생식기에 관련된 조직 및 장기로 구성되어 있다. 노가 접촉하는 조직인 요로의 선천성 또는 후천성 병변으로 인하여 수술적인 재건이나 이식을 요하는 경우가 빈번하다. 대표적인 비뇨기계의 병변과 수술적 재건을 요하는 수요를 표 1과 표 2에 나타내었다. 요로의 재건술에는 환자 자신의 위장, 소장, 대장 등을 이용하여 부족한 요로 조직을 대체하는 방법으로 시도되고 있으나 장을 사용하기 때문에 대사장애, 요석의 형성, 감염, 천공 등의 부작용이 발생하는 등 많은 문제점들을 안고 있다.¹ 이러한 문제점들을 극복하기 위하여 장을 대체할 수 있는 다양한 종류의 천연 또는 합성 재료들이 실험적으로 시도되어 왔으나 아직 만족할 만한 성과를 얻지는 못하였다. 최근 들어 생분해성 고분자를 이용한 생체조직공학적 접근으로 비약적인 발전을 하게 되었다. 조직공학적 재건술에 이용되는 고분자의 역할은 환자의 병변조직으로부터 소량 채

취한 세포를 체외에서 대량으로 배양한 후, 3차원적으로 조직을 배양할 수 있는 지지체와 체내 이식 후 주위의 조직의 세포들로부터 새로운 혈관생성이나 조직의 형성을 유도하는 특정한 성장인자들과 영양분을 전달하는데 이용된다. 궁극적으로는 고분자 지지체가 세포의 증식, 성장과 더불어 서서히 분해되면서 세포들이 세포외기질(extracellular matrix, ECM)을 분비할 수 있게 하며 지지체는 완전히 분해되어 없어지고 세포군과 세포외기질만으로 구성된 완전한 천연 조직 대체물로 유도한다.^{2,3}

비뇨기계 조직재생에서 필수적인 세포군은 이행상



박기동
 1981 한양대학교 공업화학과(학사)
 1983 한양대학교 공업화학과(석사)
 1990 미국 유타대학교(박사)
 1984~1986 한국과학기술원 연구원
 1991~ 현재 한국과학기술연구원 책임연구원



권일근
 1995 인제대학교 의용공학과(학사)
 1999 서강대학교 화학공학과(석사)
 1997~ 현재 한국과학기술연구원 연구원



김영하
 1971 서울대학교 화학과(학사)
 1973 서울대학교 화학과(석사)
 1978 서독 Marburg 대학(박사)
 1973~1984 한국과학기술연구원 선임연구원
 1981~1983 미국 Michigan Molecular Inst. 연구교수
 1984~ 현재 한국과학기술연구원 책임연구원

Tissue Engineering for Genitourinary System

한국과학기술연구원 생체재료연구센터 (Il Keun Kwon, Ki Dong Park, and Young Ha Kim, Biomaterials Research Center, Korea Institute of Science and Technology, P. O. Box 131, Cheongryang, Seoul 130-650, Korea)

표 1. 비뇨생식기계의 대표적인 질병

Disease/Condition
Hypospadias
Urinary incontinence
Vesicoureteral reflux
Bladder exstrophy
Erectile dysfunction
Vaginal vault prolapse
Vasovasotomy

표 2. 비뇨생식계 조직의 의학적 수요

Tissue Involved	Patients or Procedures/ Year in U.S.
Bladder	57,200
Ureter	30,000
Urethra	51,900

J. Urol. 1993, 149, 1304.

피세포(uroepithelial cell)와 평활근세포(smooth muscle cell)이다. 이행상피세포는 불과 몇 년 전까지만 해도 체외에서 대량배양이 불가능하여 조직공학의 요로계 응용에 한계가 있었으나 끊임없는 시도의 결과 대량 생산이 가능해졌으며, 성상확인(immunocytochemical study)을 통하여 방광에서 유래된 정상세포임을 확인하였다.⁴ 따라서 이 두 가지 세포군을 이용한 조직공학적 요로조직의 재건이 최근 조직공학에서 선호되고 있는 polyglycolide (PGA), poly-L-lactide (PLLA), polyglycolide/ε-caprolactone (PGL/CL) 등 분해성 합성고분자와 콜라겐 등의 천연고분자를 이용해서 시도되고 있다.⁵⁻¹¹

본고에서는 요로재생에 이용되고 있는 생분해성 고분자와 다공성 지지체 및 화학적 표면처리에 의한 세포 점착력의 향상에 대해 살펴보고, 최근의 신장, 요관, 방광 및 요도 재생에 대한 연구동향과 공학적인 세포배양법에 대해서 간략하게 소개하고자 한다.

2. 조직공학을 이용한 비뇨기계의 재생

2.1 요로조직재생용 지지체

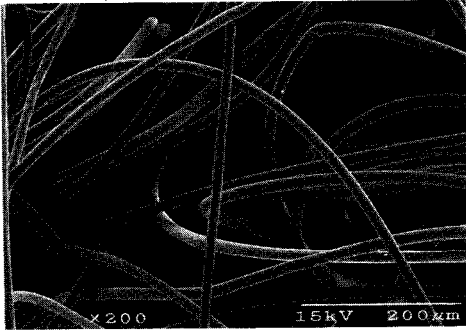
조직공학을 이용한 조직이나 장기의 재생에서 지지체가 가져야 할 필수조건들로 지지체 재료 및 분해산물의 생체적합성, 적절한 분해속도, 생체막 및 인체의 조직과 유사한 세포배양에 필요한 배양액과 세포들의 배설물의 확산에 필요한 다공도, 체내 하

중에 견뎌내야 할 충분한 기계적 강도, 기공의 구조, 크기 및 형태, 세포들의 점착 및 성장이 가능한 표면의 물리적, 화학적 성질 등으로 알려져 있다.⁸⁻¹⁰ 특히, 요관 및 요도 등 튜브 형태의 조직 재생의 경우, 적절한 기계적 강도를 가지면서 유연성이 뛰어난 물성을 가진 지지체가 적합할 것으로 생각된다.

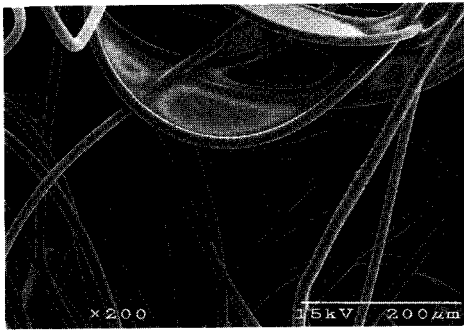
2.1.1 조직재생용 고분자

비뇨생식기계에서의 여러 가지 병변으로 인한 요로조직재생의 임상적용에서 환자 자신의 장을 이용하는 경우의 문제점들을 극복하기 위해 장을 대체할 수 있는 다양한 종류의 천연 또는 합성 재료들이 실험적으로 시도되어 왔다. 합성물질로는 polytetrafluoroethylene과 silastic patch 등이 사용되었으나 이물반응과 방광결석 등을 초래하여 효과적이지 못하였으며,^{15,16} 천연물질로는 동결건조된 뇌경막, 복막, 태반, 근막, 점막이 제거된 장조직, 소장 또는 방광의 점막하조직 등이 사용되었는데 이식된 조직의 전해질 장애의 초래나 섬유화로 인한 수축 등의 문제를 야기시켰다.^{17,18}

최근 들어 생체조직공학적인 접근으로 이러한 많은 문제점들을 해결하려는 연구가 지속적으로 시도되고 있다. 대부분의 방광, 요도 및 요관의 조직공학적인 재생에서의 합성 생체재료로는 생분해성 고분자인 PGA 고분자(PGA non-woven mesh)가 이용되고 있으며(그림 1a), 자연 생체재료로는 최근 시도되고 있는 돼지의 소장에서 분리한 점막하조직과 개의 방광에서 분리한 방광점막하조직으로 세포를 완전히 분리하여 제거한 후 남은 콜라겐으로 구성된 다공성의 세포외기질을 지지체로 이용하여 방광재건술에 사용되었다.¹⁹ PGA 고분자를 이용한 요로조직의 재생연구에서 초기에는 높은 다공성과 분해성으로 뛰어난 세포의 점착과 증식을 보였으나, 약한 기계적 강도(특히 압축강도)로 인해 체내에 이식 시 형태를 유지하지 못하는 단점을 보였다.²⁰ 이를 보완하기 위해 PGA 고분자 표면에 PLLA나 PLGA 용액을 도포함으로써 기계적 강도를 높여 체내에서 조직이 재생되는 동안 형태를 유지할 수 있어 요도, 요관 및 방광의 조직을 형성시키는데 성공하였다(그림 1b).²⁵ 또한 PGA나 PLLA에 비해 높은 탄성을 가지며, PLGA와 같이 분해 수명을 고분자의 조성 및 분자량의 적절한 선택으로 조절할 수 있는 PGL/CL 공중합체가 요도 및 요관조직 재생용으로 시도되고 있는데 낮은 T_g 를 나타내며 빠른 분해특성(그림 2)을 가지는 무정형의 탄성 고분자



(a)



(b)

그림 1. PGA 지지체 (a) 및 PLLA를 도포한 PGA 지지체 (b).

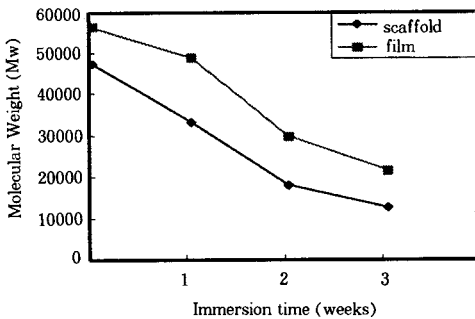
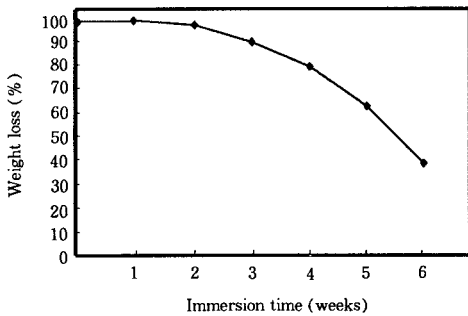


그림 2. Poly (glycolide/ε-caprolactone)의 분해 특성.

표 3. Poly (glycolide/ε-caprolactone)의 특성 분석

Mole Ratio (GL)/(CL)	Composition ^a	Yield (%)	T _g ^b (°C)	T _c ^b (°C)	T _m ^b (°C)	MW ^c	η _{inh} ^d (g/dL)
1/1	0.96/1.04	96.2	-15.4	-	-	103,000	0.93

^a Measured by ¹H-NMR. ^b DSC at a heating rate of 10 °C/min. ^c GPC in chloroform at 1 mL/min, 30 °C. ^d Inherent viscosity in HFIP at 0.5 g/dL at 25 °C.

로써 요도, 요관 및 혈관 등과 같이 유연한 특성이 요구되는 조직의 재생에 유용할 것으로 기대된다(표 3).²¹

2.1.2 다공성 지지체의 제조

다공성 지지체를 제조하는 방법은 PGA 부직포,⁸ 상분리법,²² 용매증발법,²³ 미세분말석출법,²⁴ CO₂ 팽창법²⁵ 및 유화동결건조법²⁶ 등 많은 조직공학용 다공성 지지체의 제조 방법들이 시도되고 있는데 현재까지 요조직재생에 이용되는 합성고분자 지지체는 상품화되어 고가에 구입하여 사용되는 PGA 고분자와 PLGA 혹은 PGL/CL로 제조되었는데, PGA 지지체의 제조는 PGA 섬유를 접착시키기 위해 클로로포름에 용해된 PLA를 분사시키고 용매를 증발시킨 후, PLA-PGA 복합체를 195 °C에서 90분 동안 열처리하고 -198 °C의 액체질소에서 건조하여 진공 처리한다. 이때 이염화탄소로 PLA 부분을 용해시키면 열처리된 PGA 섬유부분만이 남게 된다. 97% 이상의 공극률과 200 µm 정도의 공극 크기를 가지는 PGA 고분자는 앞에서 언급한 대로 높은 강도를 필요로 하는 조직의 재생에서는 PLLA 등의 도포하여 사용된다. 그리고 가장 일반적인 방법으로 알려진 미세분말석출법(solvent-casting particulate-leaching method)으로 제조한 PLGA 혹은 PGL/CL 지지체의 제조는 염(NaCl)의 크기와 양을 임의로 조절함으로써 원하는 다공도와 구조를 쉽게 만들 수 있으며, 비교적 낮은 다공도와 기공의 크기로 제조할 때 생기는 얇은 막의 형성은 다공도와 기공의 크기를 높임으로써 어느 정도 극복할 수 있다. 그리고 용매접착법을 이용하여 요도 및 요관재생을 위한 튜브형태를 간단히 만들 수 있었다(그림 3). 섬유아세포(NIH3T3)배양을 이용해 다공도와 기공의 크기에 따른 점착 및 증식 실험에서 다공도가 높을수록 더 높은 점착률을 보였으며, 평균 기공크기가 70 µm 이하에서는 세포가 증식하지 못하였고, 150 µm 이상에서 증식하는 것으로 나타났다(그림 4).²¹

2.1.3 세포접착을 향상을 위한 지지체의 표면처리 생체조직공학의 응용에 있어 세포와 생체재료간의

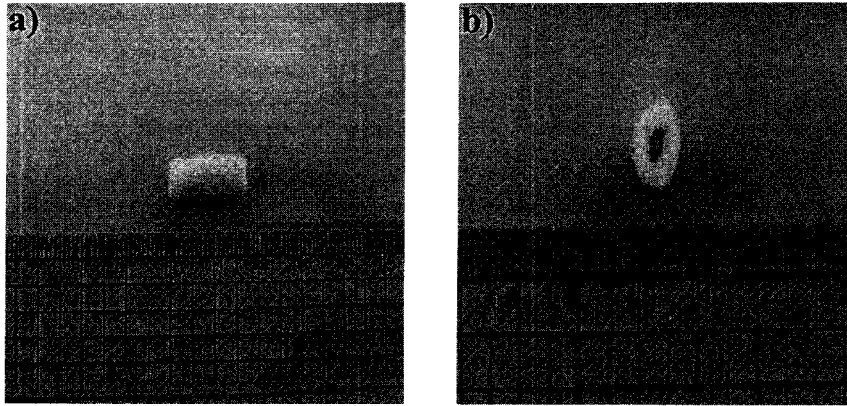


그림 3. 미세분말석출법 및 용매접합법으로 제작한 튜브형태의 지지체.

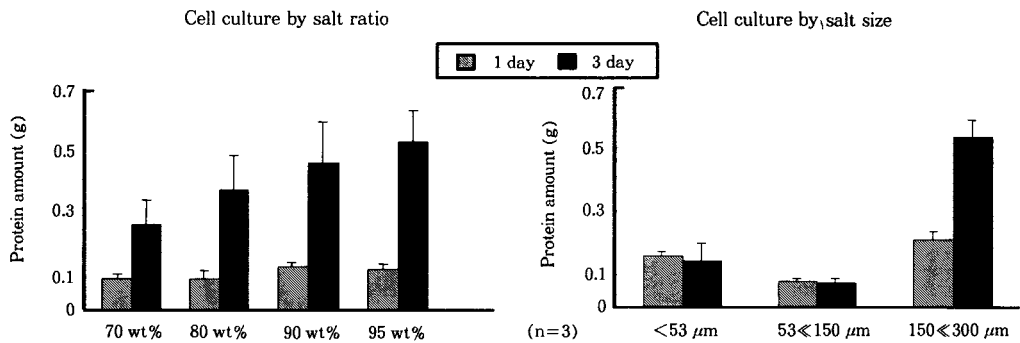


그림 4. 지지체의 다공성과 기공의 크기에 따른 섬유아세포의 점착과 증식.

상호작용이 존재하며 세포가 재료에 접촉할 때, 재료의 표면특성이 세포의 거동에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다. 세포이식을 위한 이상적인 지지체의 요건은 세포의 유착과 증식이 잘 되어야 하며 분리된 세포의 기능이 보존되어야 한다. 고분자 재료 표면에 특이한 화학적 관능기의 존재에 따른 적절한 친수성과 그에 따른 표면 에너지에 의하여 단백질의 흡착 정도가 결정되며, 세포를 유착할 수 있는 특정 단백질의 흡착 여부와 표면의 굴곡, 매끈한 정도와 상 분리된 도메인의 존재 등에 따라 세포의 유착 정도가 결정되는 것으로 보고되고 있다. 그러나 대부분의 고분자의 표면성질은 소수성을 띄고 있어 기공과 기공사이에 조직세포 배양액 등이 침투하지 못하고 세포의 부착력이 떨어지며,²⁷ 혈액과 접촉 시에는 혈전이 생성되는 등 생체적합성이 결여되는 문제점들을 가지고 있다. 이를 해결하기 위한 간단한 방법으로는 소수성인 고분자 지지체를 물과 에탄올 혼합액으로 전적심을 실시하여 초기 세포점착 시 일시적

으로 친수화시켜 세포 점착률을 높이는 방법이 시도되었고,^{28,29} 최근에는 10%의 혈청을 포함한 세포 배양액으로 전적심을 실시함으로써 표면의 친수화 및 혈청단백질을 고분자 지지체에 어느 정도 흡착시켜 세포점착을 높일 수 있으나 고분자 표면을 근본적으로 친수화시키지 못한다는 단점이 있다. 코로나 방전을 이용한 점진구배 표면에 Chinese hamster ovary(CHO), 섬유아세포(NIH3T3) 및 bovine aortic endothelial cell 세포들을 배양한 경우 물에 대한 접촉각이 50-55도 부근에서 가장 높은 성장을 보이는 것으로 보고되었다. 친수화를 위한 지지체의 표면처리법은 저온플라즈마, 이온빔처리, 오존처리, 실란화, 코로나 방전, 생체고분자 도포 및 고정화 등의 다양한 방법이 있으며 최근에는 표면을 가수분해시키거나 고분자 합성시 PEG를 첨가하여 적절한 친수성 만드는 연구가 시도되고 있다. PGA나 PGL/CL 지지체 표면의 에스터기를 NaOH로 가수분해시켜 카르복시산기와 하이드록시기를 생성하여 친수

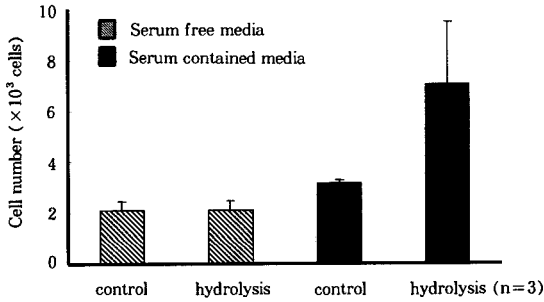


그림 5. 표면 가수분해에 대한 PGL/CL 지지체의 섬유아 세포 부착비교.

화시킨 경우 세포 배양액에 포함된 혈청(fetal bovine serum, FBS)의 세포외기질 단백질의 흡착을 증가시켜 초기의 세포 부착률을 높이는 것을 확인할 수 있었다(그림 5).^{21,31} 특정 세포가 고분자 지지체 표면에 유착할 때, 먼저 혈청에 존재하는 세포에 비하여 크기가 상대적으로 작은 흡착단백질들의 표면으로의 확산에 의한 단백질 흡착이 일어나고 이 단백질의 단층 위에 세포가 유착하게 되는데, 세포외기질 단백질인 콜라겐, fibronectin, vitronectin 등에 존재하는 주된 세포접착 펩타이드 아미노산 서열인 arginine-glycine-aspartic acid(RGD)가 세포의 수용체와 결합하면서 유착이 일어나게 된다.^{30,32-34} 그러므로 세포유착 능력이 탁월한 콜라겐이나 fibronectin 등의 세포외기질 단백질을 고분자 표면에 처리하여 세포의 유착과 퍼짐을 증가시키려는 연구가 진행되고 있다. 또한 세포의 유착을 더욱 증대시키기 위하여 수동적인 단백질의 흡착에 의한 세포의 유착보다는 직접 고분자 재료 표면에 여러 펩타이드의 선택적으로 고정화하여 세포의 유착과 퍼짐을 증가시키는 연구가 시도되고 있다.^{35,36} 개의 방광에서 분리한 이행상피세포와 평활근세포의 표면처리한 PGL/CL 다공성 지지체에 대한 부착 실험에서 대조군에 비해서 표면처리를 실시한 모든 지지체의 경우 높은 부착률을 보였지만 이행상피세포는 가수분해한 지지체에서, 그리고 평활근세포는 세포외기질 단백질인 콜라겐을 도포한 지지체에서 각각 더 높은 부착률을 보였다(그림 6).²¹ 이 결과로부터 모든 세포가 같은 조건의 표면조건을 요구하지는 않는다는 것을 알 수 있었다.

2.2 요로조직의 재생

인체의 거의 모든 조직은 여러 종류의 세포군으로 구성되어 있다. 현재까지 요로재생의 조직공학적 접근을 살펴보면, 한 종류의 세포만을 이용하여 고분

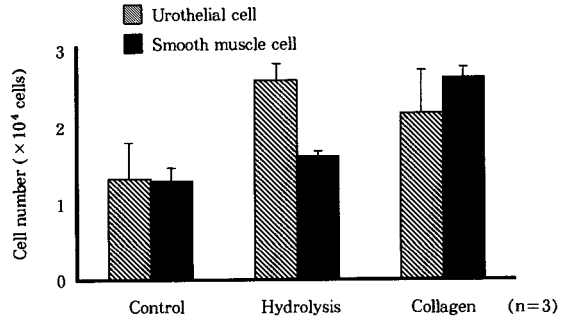


그림 6. 표면처리 한 PGL/CL 지지체에 대한 이행상피세포와 평활근세포 부착비교.

자 지지체 위에 체외 혹은 체내에서 조직형성을 시도하였으며 체외에서 세포군을 각각 배양하여 생체 재료에 단계적으로 유착시키는 방법으로 발전하였다. 앞으로는 여러 종류의 세포를 한꺼번에 효율적으로 배양하여 세포간의 신호 전달 체계 및 상호작용을 하게 되어 보다 더 완전한 조직을 형성하게 될 것으로 생각된다. 생체조직공학을 이용한 요로재생에 필수적인 세포군은 요로를 덮고 있는 이행상피세포와 요로의 골격을 유지시키는 평활근세포이다.

체외에서 배양한 인간 방광 이행상피세포와 평활근세포를 체외에서 PGA 고분자에 유착시킨 후 체내에 이식하여 세포의 생존 여부, 분화도, 조직형성 등을 조사한 보고가 있었다. 대부분의 세포가 체내에서 생존하였으며 고분자 표면을 따라 세포가 유착하는 것이 확인되었고 이들 세포는 시간의 경과에 따라 한 층에서 여러 층으로 점진적으로 조직화되었고 신생혈관의 형성은 이식한 5일 후부터 관찰되었다. 또한 체내에 이식된 세포는 정상적인 분화과정을 거치는 것이 여러 실험을 통해 확인되었다. 이러한 예비 실험들을 통하여 조직의 형성을 입증한 후 실제로 비뇨기과 영역에서 생체조직공학의 응용이 시도되었다.

2.2.1 신장(Kidney)

신장은 뇨를 생성하는 기관으로 축적된 노폐물의 배설은 물론 산-염기조절, 전해질 균형, 수분조절에 관여하며 레닌(renin), 적혈구 조절인자, 비타민 D와 같은 물질들을 생성한다. 신장에 발생하는 질환 중 신부전은 여러 장기에 영향을 미치는 질환이다. 투석을 이용해 환자의 생명을 연장할 수는 있으나 오직 이식만이 신장의 정상기능을 회복할 수 있다.

자가 신세포를 배양하여 체외에서 대량 증식하여 PGA 고분자에 유착시킨 후 체내에 이식하여 이식된 세포들이 신장의 구성 골격인 사구체와 세뇨관의

형태를 재구성하는 것을 여러 검사를 통하여 입증하였다.³⁷ 그러나 이 방법은 신세포에서 분비하는 물질은 생성할 수 있었으나 신장의 가장 중요한 기능인 뇨 생성과 배설의 기능은 갖추지 못하였다. 따라서 구조적으로 정상신장과 비슷한 형태인 튜브모양의 polycarbonate 반투과막을 제조하였고, 막의 구멍은 4 μm 크기로 하였다. 튜브의 한쪽 끝은 뇨를 저장할 수 있는 저장소로써 비투과성 재료로 제작하여 생쥐에 이식한 결과 인공 신 단위에 세뇨관의 형성하였으며, 신생혈관들이 형성되고 신구조인 사구체의 신세뇨관이 다수 형성됨을 확인하였다.³⁸

2.2.2 요관(Ureter)

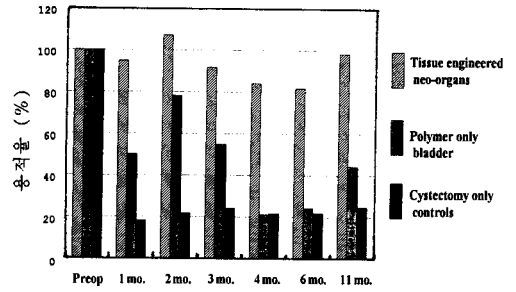
요관은 신장과 방광사이를 연결하는 관으로 신장에서 생성된 뇨가 요관을 통하여 방광에 저장된다.

개의 방광 조직에서 분리한 자가 이행상피세포와 평활근세포를 체외에서 배양하여 증식한 후 튜브모양으로 제작된 PGA 고분자에 세포를 체외에서 유착시킨 후 요관 결손부위에 이식하였다. 이때 이행상피세포를 먼저 유착시키고 평활근세포를 그 위에 유착시켜 정상조직과 흡사한 구조로 조직의 형성을 유도하였다. 새로이 형성된 요관의 조직학적 소견에서 관강벽에 이행상피세포층이 형성되었으며 그 안쪽으로 점막하조직과 요관의 구조적 골격을 유지하는 평활근층을 관찰할 수 있었다. 또한 신생혈관들이 새로 형성된 요관조직에서 관찰되었다.³⁹

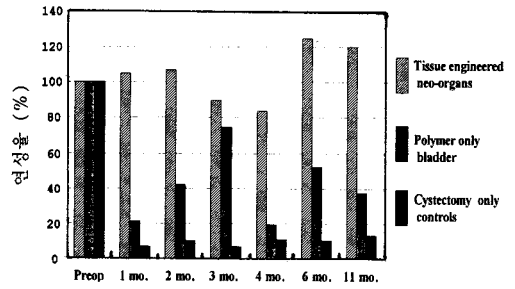
2.2.3 방광(Bladder)

신장으로부터 생성된 뇨의 저장과 배출을 담당하는 방광은 신축성이 뛰어나 방광내의 압력을 항상 일정하게 유지하여 방광요관 역류를 막아 신장의 손실을 방지하는 역할을 하며, 요로조직재생에서 가장 활발하게 시도되고 있는 장기이다. 방광에 발생하는 질환중 요로의 선천성 기형, 척수손상, 척수 이행증, 간질성 방광염, 특발성 불안정 방광, 방사선 방광염 등은 방광의 비정상적 수축 또는 섬유화를 일으키며 이로 인하여 방광의 용적이 크게 줄고, 방광의 내압이 증가하여 신부전, 수신증, 요로 감염 등을 유발한다. 그러므로 방광의 용적을 늘리고 방광내압을 낮추는 방광 확대술을 포함한 요로의 재건술에서 환자 자신의 위장, 소장 대장 등을 이용하는 방법이 있으나 이미 언급한 바와 같은 합병증들을 감수해야 하는 문제점들을 안고 있다.

개의 방광조직에서 이행상피세포와 평활근세포를 각각 분리하여 체외에서 대량 배양한 후 방광모양으로 미리 제작하고 PLA를 도포한 PGA 고분자 담



(a)



(b)

그림 7. 정상방광에 대한 조직공학적 재생방광의 용적을 (a)와 연성을 (b).

체에 각 세포군을 단계적으로 유착시켜 체외에서 일정기간 배양한 후 동일한 방광에 이식하였다. 대조군으로는 방광절제술만 시행한 경우와 세포의 유착 없이 고분자 지지체만 이식한 군을 사용하였다. 방광조영술 및 역역동학적 검사결과 대조군이 각각 정상방광의 22%와 46%의 용적을 보인 반면 실험군에서는 수술 전의 정상 방광용적의 95% ($\pm 9\%$)를 유지하였으며 방광탄성도 비슷한 정도를 나타내었고 (그림 7), 면역세포화학적 검사에서 새로운 방광조직의 구성인 이행상피세포층과 평활근세포층이 확인되었으며 신경조직의 이동도 확인되었다.⁴⁰ 또한 콜라겐으로 구성되어 있는 동종의 방광조직으로부터 분리한 점막하조직을 이용하여 위와 같은 방광확대술에 사용하였다. 대조군은 동종의 점막하조직만을 사용하여 수술하였고, 방광조영술 및 역역동학적 검사결과 대조군의 방광용적은 약 30% 정도 증가하였으나 방광세포를 유착시킨 실험군에서는 100%에 가까운 용적증가를 보였다.¹⁹

2.2.4 요도(Urethra)

요도는 방광에 저장된 뇨를 외부로 배출할 수 있게 하는 관 모양의 기관으로 요도하열, 방광외번갈은 선천성질환과 요도손상으로 인하여 요도재건술을

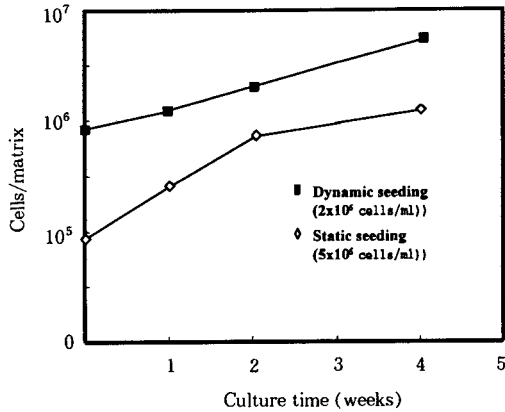


그림 8. 동적 세포배양과 정적 세포배양 비교.

실시하는데 현재 이용되는 피부, 방광점막, 구강점막 등을 이용할 경우 합병증으로 인하여 사용이 제한되고 있다.

뉴질랜드산 토끼의 요도를 부분적으로 절제한 후 PGA 고분자 지지체를 이용하여 요관과 유사한 모양을 하고 있으므로 요관 재건과 같은 접근방법으로 각각의 세포군을 단계적으로 유착시켜 요도를 재건한 후 시행한 역행성 요도조영술 결과 요도협착과 같은 합병증은 나타나지 않았으며 조직학적으로 정상 요도의 구성세포들을 확인할 수 있었다.⁴¹

2.3 공학적인 세포 배양법

지금까지 앞에서 언급한 요로조직 재생은 고분자 지지체 위에 세포군을 살포하거나 주사기를 이용해 주입하여 배양기에서 증식시키는 정적 세포 배양법 (static cell seeding and culture method)을 이용해 조직재생을 시도하여 비교적 좋은 결과를 얻었다. 최근 들어 초기의 세포접착과 증식을 향상시키기 위해 세포배양기(bioreactor)를 이용한 동적 세포 배양법(dynamic cell seeding and culture method)이 활발히 연구되고 있다.⁴²⁻⁴⁴ 동적 세포 배양은 세포접착 시 고분자 지지체와의 접촉 횟수를 높여주고, 지속적인 배양 시 영양분과 산소의 공급을 증가시키며 지지체로부터 분해산물을 빨리 제거하며 국소적인 pH의 감소를 억제할 수 있다는 장점이 있다. 쥐의 대동맥에서 분리한 평활근세포를 채워 배양한 후 교반기를 이용하여(stirred seeding method) 세포를 PGA 고분자에 유착시킨 후 다시 교반기를 이용하여 배양하였다. 이와 비교하기 위한 대조군으로 주사기를 이용해 평활근세포를 PGA 고분자에 주입하여 유착시킨 후 교반기에서 배양하였다. 교반기를 이용해 세포를 유착시킨 지지체에서

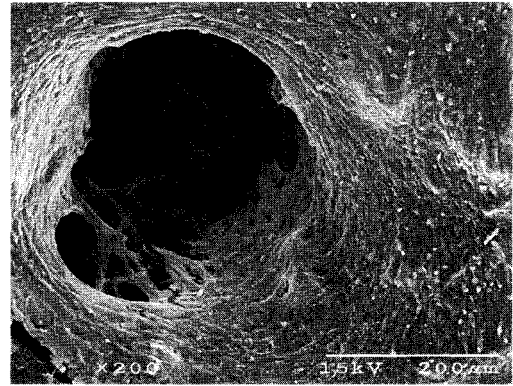


그림 9. 세포배양기를 이용한 섬유아세포 점착 및 증식 (3일).

높은 점착률 및 증식률을 보였으며, 주사전자현미경으로 관찰한 결과 초기 점착에서 세포의 높은 점착성 및 고른 분포를 관찰할 수 있었다(그림 8).⁴² 세포배양기를 이용해서 20시간 동안 점착시킨 후 3일간 배양한 SEM 사진을 그림 9에서 나타내었다. 높은 점착률과 증식으로 인해 표면의 대부분을 섬유아세포가 덮고 있는 것을 확인할 수 있었다. 이러한 연구를 바탕으로 보다 효율적인 교반기와 배양 방법에 대한 연구, 그리고 동적 세포 배양법을 이용하여 여러 세포군을 유착시켜 보다 더 완전한 조직의 재생으로 유도하려는 연구가 기대된다.

3. 결 론

지금까지 비뇨기계의 조직재생에 대한 여러 가지 연구들에 대해서 살펴보았다. 전체적으로 보면 먼저 적절한 분해성과 기계적, 화학적 물성이 조직재생에 적합한 지지체의 제조에 대한 연구와 조직재생을 위한 세포의 분리와 적절한 배양 방법에 대한 연구 그리고 재생된 조직의 형태 및 기능을 확인하는 과정으로 나눌 수 있다. 생체조직공학의 궁극적인 목적은 구조적으로는 물론이고 기능적으로 인체기관과 유사한 조직을 창출해 내는데 있다. 비록 초기 연구 단계에서 부분적으로 성공하였으나 임상에 적용하기 위해서는 인체에 대한 충분한 이해를 바탕으로 물리적, 화학적으로 더욱 적합한 재료 및 지지체와 배양 방법에 관한 연구가 필요하다. 앞으로 생체조직공학 적 접근으로 기존의 조직 재건 방법들의 한계를 뛰어넘을 수 있고 더 나아가 의학의 발전에 많은 도움

과 파급효과가 있을 것으로 기대된다.

참 고 문 헌

1. A. Atala and A. Petik, "Pediatric Urology", in *Clinical Urology*", eds. by R. J. Krane, M. B. Siroky, J. M. Fitzpatrick., and J. B. Lippincott, vol. 507, p. 52, Philadelphia, 1994.
2. R. Langer, S. G. Cima, J. A. Tamada, and E. Wintermantel, *Biomaterials*, **11**, 738 (1990).
3. R. Langer and J. P. Vacanti, *Science*, **260**, 920 (1993).
4. B. G. Freeman, F. X. Schneck, A. B. Retic, and A. J. Atala, *J. Urol.*, **152**, 665 (1994).
5. A. Atala and J. P. Vacanti, *J. Urol.*, **148**, 658 (1992).
6. A. Atala, M. R. Freeman, J. P. Vacanti, J. Shepard, and A. B. Retik, *J. Urol.*, **150**, 608 (1993).
7. D. J. Mooney, G. Organ, J. P. Vacanti, and R. Langer, *Cell Transplant.*, **3**, 438 (1994).
8. D. J. Mooney, C. L. Mazzoni, C. Breuer, K. McNamara, D. Hern, J. P. Vacanti, and R. Langer, *Biomaterials*, **17**, 115 (1996).
9. D. J. Mooney, C. Breuer, K. McNamara, J. P. Vacanti, and R. Langer, *Tissue Eng.*, **1**, 107 (1995).
10. D. J. Mooney, C. L. Mazzoni, C. Breuer, K. McNamara, D. Hern, J. P. Vacanti, and R. Langer, *Biomaterials*, **17**, 115 (1996).
11. M. Tachibana, G. R. Nagamatsu, and J. C. Addonizio, *J. Urol.*, **133**, 866 (1985).
12. A. G. Mikos, G. Sarakinos, and M. D. Lyman, *Biotech. Bioeng.*, **42**, 716 (1993).
13. P. B. van Wachem, T. Beugeling, J. Feijen, A. Bantjes, J. P. Detmers, and W. G. van Aken, *Biomaterials*, **6**, 403 (1985).
14. P. B. van Wachem, A. H. Hogt, T. Beugeling, J. Feijen, A. Bantjes, J. P. Detmers, and W. G. van Aken, *J. Biol. Chem.*, **267**, 10133 (1992).
15. L. Ashkar and E. Heller, *J. Urol.*, **98**, 679 (1967).
16. A. Kelami, H. O. Dustmann, A. Ludtke-Handjery, V. Carcamo, and G. Herold, *J. Urol.*, **104**, 693 (1970).
17. J. T. Garibay, J. C. Manivel, and R. Gonzalez, *J. Urol.*, **154**, 903 (1995).
18. R. Gonzalez, H. Buson, C. Reid, and Y. Reinberg, *J. Urol.*, **45**, 124 (1995).
19. J. J. Yoo, and J. Meng, F. Oberpenning, and A. Atala, *J. Urol.*, **160**, 254 (1998).
20. N. Satar, J. J. Yoo, and A. Atala, *J. Urol.*, **155**, 5 (1996).
21. I. K. Kwon, K. D. Park, and Y. H. Kim, *Biomaterials*, submitted (1999).
22. J. H. Aubert and R. L. Clough, *Polymer*, **26**, 2047 (1985).
23. J. H. Lee, J. W. Lee, G. S. Khang, and H. B. Lee, *Biomaterials*, **18**, 351 (1997).
24. A. G. Mikos, A. J. Thorsen, L. A. Czerwonka, Y. Bao, and R. Langer, *Polymer*, **35**(5), 1068 (1993).
25. D. J. Mooney, D. F. Baldwin, N. P. Sub, J. P. Vacanti, and R. Langer, *Biomaterials*, **17**, 1417 (1996).
26. G. Khang, J. H. Jeon, J. C. Cho, and H. B. Lee, *Polymer(Korea)*, **23**(3), 471 (1999).
27. H. L. Wald, G. Sarakinos, M. D. Lyman, A. G. Mikos, J. P. Vacanti, and R. Langer, *Biomaterials*, **14**, 270 (1993).
28. A. G. Mikos, M. D. Lyman, L. E. Freed, and R. Langer, *Biomaterials*, **15**, 55 (1994).
29. K. A. Athanasiou, A. R. Singhal, C. M. Agrawal, and B. D. Boyan, *Clin. Orthopaed. Related. Res.*, **315**, 272 (1995).
30. Y. N. Danilov and R. L. Juliano, *Experimental Cell Research*, **182**, 186 (1989).
31. J. Gao, L. Niklason, and R. Langer, *J. Biomed. Mater. Res.*, **42**, 417 (1998).
32. K. Webb, B. Hlady, and P. A. Tresco, *J. Biomed. Mater. Res.*, **41**, 422 (1998).
33. P. van der Valk, A. W. J. van Pelt, H. J. Busscher, H. P. de Jong, Ch. R. H. Wildevuur, and J. Arends, *J. Biomed. Mater. Res.*, **17**, 807 (1983).
34. J. M. Schakenraad, H. J. Busscher, C. R. H. Wildevuur, and J. Arends, *J. Biomed. Mater. Res.*, **20**, 773 (1986).
35. S. P. Massia, and J. A. Hubbell, *J. Cell. Biol.*, **114**, 1089 (1991).
36. Y. Ito, *J. Biomed. Mater. Res.*, **25**, 1325 (1991).
37. A. Atala, R. N. Schluskel, and A. B. Retik, *J. Urol.*, **153**, 1305 (1996).
38. J. J. Yoo, S. Ashkar, and A. Atala, *J. Urol.*, **157**, 384 (1996).
39. J. J. Yoo, N. Satar, A. B. Retic, and A. Atala, *J. Urol.*, **153**, 365 (1995).
40. F. Oberpenning, J. Meng, J. J. Yoo, and A. Atala, *Nature Biotechnology*, **17**, Feb. (1999).
41. B. G. Cilento, M. R. Freeman, F. X. Schneck, A. B. Retik, and A. Atala, *J. Urol.*, **153**, 4 (1995).
42. B. S. Kim, A. J. Putnam, T. J. Kulik, and D. J. Mooney, *Biotechnol. Bioeng.*, **57**, 46 (1998).
43. P. Eiselt, B. S. Kim, B. Chacko, B. Isenberg, M. C. Peters, K. G. Greene, W. D. Roland, A. B. Loeb sack, K. J. L. Burg, C. Culberson, C. R. Halberstadt, A. D. Holder, and D. J. Mooney, *Biotech. Prog.*, **14**, 134 (1998).
44. L. E. Freed, G. Vunjak-Novakovic, and R. Langer, *J. Cell. Biochem.*, **51**, 257 (1993).