

## 박테리아 유래 셀룰로오스가 백서의 창상치유에 미치는 영향

박상욱<sup>1</sup> · 이병권<sup>1</sup> · 김미선<sup>1</sup> · 박관규<sup>2</sup> · 성우정<sup>2</sup> · 김현연<sup>1</sup> · 김찬우<sup>1</sup> · 심정수<sup>1</sup> · 이용직<sup>1</sup> · 김성호<sup>3</sup> · 김인호<sup>3</sup> · 박대환<sup>1</sup>  
대구가톨릭대학교 의과대학 성형외과학교실<sup>1</sup>, 병리과학교실<sup>2</sup>, 대구대학교 식품공학과<sup>3</sup>

### Wound Healing Effect of Bacterial Synthesized Cellulose on Full Thickness Skin Defect in the Rat

Sang Uk Park, M.D.<sup>1</sup>, Byung Kwon Lee, M.D.<sup>1</sup>,  
Mi Sun Kim, M.S.<sup>1</sup>, Kwan Kyu Park, M.D., Ph.D.<sup>2</sup>,  
Woo Jung Sung, M.D.<sup>2</sup>, Hyun Yeon Kim<sup>1</sup>,  
Peter Chanwoo Kim, M.D., Ph.D., MBA<sup>1</sup>,  
Jeong Su Shim, M.D.<sup>1</sup>, Yong Jig Lee, M.D.<sup>1</sup>,  
Seong Ho Kim, Ph.D.<sup>3</sup>, In Ho Kim, M.S.<sup>3</sup>,  
Dae Hwan Park, M.D.<sup>1</sup>

Departments of <sup>1</sup>Plastic and Reconstructive Surgery,  
<sup>2</sup>Pathology, College of Medicine, Daegu Catholic University,  
Daegu; <sup>3</sup>Department of Food Science and Engineering,  
Daegu University, Daegu, Korea

**Purpose:** Cellulose is a natural substance from plants or bacteria. It is known that bacterial synthesized cellulose has an effect of wound healing. The aim of this study is to show the effect of bacterial synthesized cellulose from citrus on wound healing.

**Methods:** Three full-thickness skin defects were made on the back of Sprague-Dawley rats. Three wounds were treated by vaseline gauze (Group V), Algisite M<sup>®</sup> (Group A) and bacterial synthesized cellulose from citrus (Group C) was used for dressing on skin defect on rats. We analyzed the gross, histological and biochemistry finding.

**Results:** Group C showed more decrease of wound size compared to Group V (33% versus 7.2%) after 14 days. The histologic findings revealed Group C and Group A preceed the process of wound healing rather than Group V (More rapid collagen deposition and neovascularization and reduced inflammation). Also, the expressions of vascular endothelial growth factor (VEGF) and transforming growth factor (TGF)- $\beta$ 1 were increased in the Group C and

Group A compared with the Group V in 7 days. VEGF and TGF- $\beta$ 1 expression were decreased in the Group C and Group A in 14 days, however Group V was not decreased at 14 day because of delayed wound healing process.

**Conclusion:** Bacterial synthesized cellulose from citrus affects wound healing by reducing the inflammatory stage. And stimulates wound contracture by the deposition of extracellular matrix, thus preventing the formation of chronic wounds.

**Key Words:** Bacteria, Cellulose, Citrus, Wound healing

## I. 서론

셀룰로오스(cellulose)는 고등 식물의 세포벽을 구성하는 주성분으로 자연계에 존재하는 풍부한 생체 물질 자원이다. 식물 셀룰로오스의 경우 Pectin, Hemicelluloses, Lignin 등의 다당류와 혼합하여 Heteropolysaccharide로 이루어져 결정화도(degree of crystallinity)가 낮고 기계적 강도가 떨어져 있지만,<sup>1</sup> 반면 단세포미생물인 박테리아(bacteria)에서 생성되는 셀룰로오스의 경우 식물 셀룰로오스와는 다르게 다당류를 함유하지 않고 3차원적 망상 구조를 이루고 있어 결정화도가 높고 기계적 강도 등의 물리적 성질이 우수하여 여러 산업의 신소재로 주목을 받고 있다.<sup>2,3</sup>

특히, 박테리아 셀룰로오스의 경우 독특한 나노 구조로 투과력이 높고 적합한 습도를 유지할 수 있는 등, 그 성질 때문에 습윤 상태의 상처보호 및 치유에 효과가 있다고 밝혀지면서 현재 독일과 미국에서는 인조혈관 및 화상환자용 인조피부(temporary skin) 등의 의료용품으로 개발되고 있는 추세이다.<sup>2,4,5</sup>

박테리아 셀룰로오스가 다양한 산업적 가능성으로 인해 주목을 받으면서 대량 생산하기 위한 많은 연구가 이루어졌다. 특히, 감즙이나 코코넛 등 소비는 적지만 생산량이 많은 잉여 과실류를 천연 재료 배양액으로 사용하여 박테리아 셀룰로오스를 대량 생산할 경우, 환경친화적일 뿐만 아니라 고부가가치를 창출할 수 있다.<sup>6</sup> 그 중에서도 감즙류는 국내의 제주도에서만 연간 60만 톤이 생산되어 생과와 감귤주스 이외의 가공품 개발에 의한 소비가 적어 대부분이 농축액

Received September 3, 2011

Revised October 12, 2011

Accepted October 12, 2011

**Address Correspondence:** Dae Hwan Park, M.D., Department of Plastic and Reconstructive Surgery, College of Medicine, Daegu Catholic University, 3056-6 Daemyung 4-dong, Nam-gu, Daegu 705-718, Korea. Tel: 82-53-650-4578 / Fax: 82-53-650-4584 / E-mail: dhpark@cu.ac.kr

\* 본 논문은 농촌진흥청 차세대 바이오그린21사업(과제번호: 20119102)의 지원에 의해 이루어진 것입니다.

상태로 저장되거나 폐기되는 실정으로 잉여 과실류에 속하고 현재 다양한 가공품 개발이 요구되고 있다.<sup>7</sup>

본 연구에서는 국내산 감귤 착즙액의 자연발효액으로부터 분리한 글루콘아세트박테리 속(*Gluconacetobacter* sp.) *gle\_KCG326* (기탁번호: KACC 91555P) 균주를 사용하여 생성된 셀룰로오스 겔(*gel*)이 창상치유에 미치는 영향과 새로운 드레싱 재료로서의 가능성을 알아보기 위하여, Vaseline gauze와 알긴산(*alginate*)을 이용한 드레싱 제재인 *Algisite M*<sup>®</sup> (Smith & Nephew, England)을 사용하여 비교 실험하였다.

## II. 재료 및 방법

### 가. 실험재료

#### 1) 실험동물

실험동물로는 체중 200~250 g의 Sprague-Dawley종 수컷 백서를 총 20마리를 사용하였다. 실험동물은 온도 24 ± 0.5°C, 습도 55~65% 및 12시간 주기로 명암이 자동으로 조절되는 사육조건 하에서 관리되었으며, 약 14일간 환경에 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 모든 동물실험은 본 의료원의 동물실험윤리위원회의 연구윤리지침에 따라 진행하였다.

#### 2) 감귤 유래 박테리아 셀룰로오스 겔의 정제 및 제작

감귤농축액은 국립원예특작과학원 감귤 시험장에서 제조한 평균당도 65° Brix의 서귀포산 온주밀감 농축액으로 -20°C에서 저장한 후 해동하여 사용하였다. 겔 발효용 배지로는 시판 당액 9%, 감귤농축액 1%(v/v), ethanol 1%(v/v) 및 acetic acid 1%(v/v)을 첨가하여 발효용 감귤과즙 배지를 조제하였다. 감귤발효액으로부터 분리한 겔 발효균

*Gluconacetobacter* sp. *gle\_KCG326*를 감귤과즙배지에 수회 반복 배양한 후 배지 표면에 형성된 겔을 중균으로 사용하여 배지를 50 mL 용적의 발효병에 35 mL씩 분주하고 전 배양한 겔 5%(W/V)을 접종한 후 발효병 입구를 살균된 filter paper로 덮고 28°C의 배양실에서 7일간 정치 배양하였다. 배양된 박테리아 셀룰로오스의 정제는 감귤겔에 0.1 N NaOH와 0.1N HCl로 반복 처리하여 색소와 불순물을 제거한 후 40°C Dry oven에서 건조하면서 Dressing하기 적당할 정도로 수분을 제거하여 압착 후 15분간 가압 살균하였다.

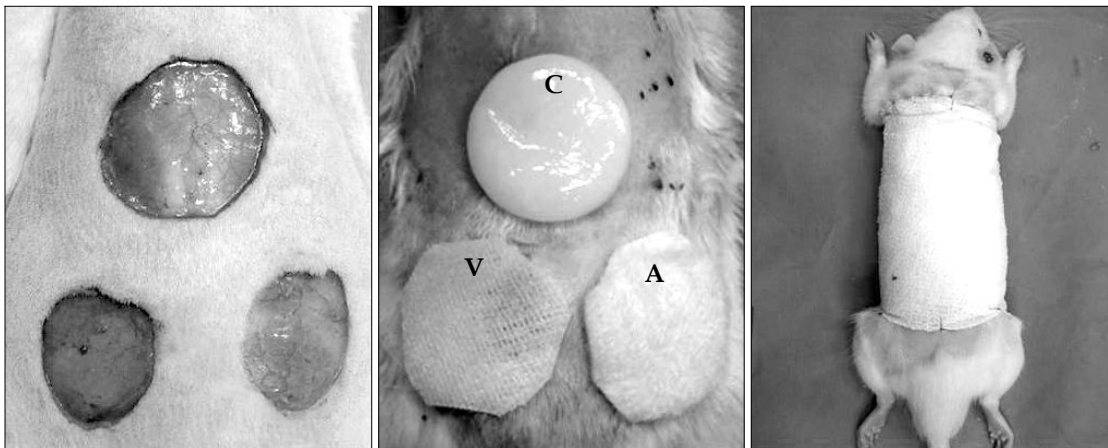
### 나. 실험방법

#### 1) 실험군의 설정

실험군은 감귤에서 유래한 박테리아 셀룰로오스 겔의 창상치유 효과를 알아보기 위해서 백서의 등에 직경 2 cm의 원형의 전층피부결손을 3곳 만들고 각 피부결손에 적용한 드레싱 재료에 따라서 세 가지 군으로 세분하였다. 첫 번째로 실험군 V는 바셀린 거즈(*vaseline gauze*)를 드레싱한 군으로 고식적인 재료로서 창상을 습윤하게 유지시키나 성장인자 및 항염증 작용을 돕는 성분이 없어 대조군으로 사용하였다. 두 번째인 실험군 A는 창상치유에 효과가 있다고 알려진 알긴산(*alginate*)으로 만들어진 *Algisite M*<sup>®</sup>을 사용하였다.<sup>8</sup> 마지막으로 실험군 C는 감귤 유래 박테리아 셀룰로오스 겔 디스크를 사용하였다.

#### 2) 실험과정

국소치료제의 창상치유효과 측정 시 전층피부결손 모델이 부분층피부결손 모델보다 적합하다는 보고를 참고하여 실험을 진행하였다.<sup>9</sup> 20마리의 백서의 등에 지름 2 cm의 원



**Fig. 1.** Introduction of wound and processing of dressing. (Left) Circular shape full thickness skin defect (Ø=2 cm) was made on the back of SD rat. (Center) Each dressing material was applied (V: Vaseline gauze, A: *Algisite M*<sup>®</sup>, C: bacterial synthesized cellulose gel disc from citrus) and (Right) put the Peha-haft<sup>®</sup> and sutured with Nylon 4-0.

형의 전층피부결손을 3곳에 만들어 각각의 창상에 3가지 드레싱 재료를 무작위로 할당하였다. 실험동물은 수술 후 3, 7, 14, 21, 28일에 각 4마리를 희생하여 피부조직을 채취하였다. 수술 시에는 졸레틸50<sup>®</sup> (Virbac, France)을 50 mg/kg으로 근육 주사하여 마취하였고, 백서의 등의 털을 면도한 후 베타딘과 알콜로 소독하고 15번 칼과 조직가위를 이용하여 3곳에 동일한 크기(지름 2 cm의 원형창상)와 동일한 깊이(표피구조를 보정하는 표층근막(superficial fascia)인 육상층(panniculus carnosus)을 보존하는 수준)의 피부전층창상을 만들었다. 모든 군에서 3일에 한 번씩 드레싱을 하였다. 드레싱은 각각의 드레싱 재료를 창상에 얹은 후 멸균된 Tegaderm<sup>®</sup> (3M, USA)을 감싼 뒤 Peha-haft<sup>®</sup> (Paul Hartmann AG, Germany)를 둘러 드레싱 제재의 움직임을 최소화하였으며 감싼 Peha-haft<sup>®</sup>의 앞과 뒤에 Nylon 4-0를 이용하여 고정 봉합을 하여 Peha-haft<sup>®</sup>가 흘러내리지 않도록 하였다 (Fig. 1).

#### 다. 실험평가

##### 1) 육안적 평가 및 창상 면적 측정

전층피부결손을 만든 후 창상의 테두리를 멸균 처리한 투명한 OHP 필름에 따라 그리고 스캔하여 그 면적을 영상 분석 프로그램인(NIH image analysis system, Bio-Optics 사, USA)를 이용하여 창상의 면적을 측정하였다. 전층피부결손 시술 후 3일마다 수술 시와 동일한 방법으로 백서를 마취시키고 창상의 면적을 측정하였다. 구한 값을 토대로 창상유발 1일째 면적을 100%로 하고 백분율로 환산하여 면적의 변화를 비교하여 구하였다.

##### 2) 조직학적 관찰

백서는 조직학적인 평가를 위하여 창상을 만든 후 3, 7, 14, 21, 28일째에 전체 창상을 적출하여 즉시 10% 포르말린에 고정하고 파라핀에 포매한 후 6 µm 두께로 잘라 헤마톡실린에오진(hematoxylin-eosin) 염색을 하여 관찰하였다. 각 사용물질들의 시간에 따른 창상치유 효과는 각각의 실험군에서 200 µm<sup>2</sup> 당 중성구의 수, 섬유모세포의 수, 신생 혈관의 수, 창상의 상피화의 정도, 콜라겐 축적 정도로 크게 다섯 가지 항목으로 나누어 관찰하였다.

##### 3) 단백질 분석

백서에서 일수 별로 적출한 창상조직은 실험 전까지 -70 °C에서 보관하였으며 단백질을 분리한 후 조직재생과 세포 분화에 관여하는 중요 성장인자인 Vascular endothelial growth factor (VEGF)와 혈관 생성에 영향을 주는 Transforming growth factor (TGF)-β1의 단백질 발현양을 Western blotting으로 분석하였다. 조직을 Lysis buffer

solution (iNtRON biotechnology, Korea)에 넣고 조직분쇄기로 분쇄한 후 얼음 위에서 30분간 반응시키고 30분간 원심분리(4°C, 12,000 rpm)하여 단백질을 추출하였다. 단백질 농도는 iNtRON biotechnology Protein assay kit를 사용하여 정량하고, 50 mg의 단백질을 12%의 SDS-PAGE (Polyacrylamide gel electrophoresis)로 변성 분리한 후 Nitrocellulose membrane (Amersham, Netherlands)으로 전이시켜, 5% Skim milk가 함유된 TBS용액으로 상온에서 1시간 동안 Blocking하였다. 단백질 발현정도를 측정하기 위하여 TBS에 희석(1: 1000)시킨 1차 항체 TGF-β1와 VEGF (Santa Cruz, U.S.A.)를 각각 상온에서 2시간 동안 반응시킨 후 3회 세척하였다. 2차 항체는 Anti-rabbit IgG, Anti-mouse IgG (Santa Cruz, U.S.A.)를 1: 2000으로 희석하여 상온에서 1시간 동안 반응시킨 후 5회 세척하여 ECL (Thermo, Japan)과 반응 후 감광하여 발현 정도를 확인하였다.

##### 4) 통계학적 처리

측정된 값은 평균±표준편차로 표시하였으며, SPSS 프로그램(SPSS for windows 11.0, SPSS Inc., Chicago, USA)을 이용하여 통계 처리하였다. 실험군의 통계학적 유의성은 Unpaired t-test방법과 ANOVA test로 검증하였고 유의수준은 5% 미만에 두었다.

### III. 결과

#### 가. 육안적 평가 및 창상 면적 측정

모든 군에서 수술 후 6일까지는 창상 부위에서 다량의 삼출물이 배출되었는데 실험군 C에서의 삼출물 배출량은 실험군 V에서보다는 빠르게 감소하였고, 실험군 A와는 비슷하였다. 창상 면적은 창상치유기간 동안 서서히 감소하여 수술 후 18일에서 28일 사이에 대부분의 창상이 치유되었다(Fig. 2).

최초 창상면적을 100%로 하여 시간이 지남에 따라 창상 면적이 감소하는 것을 백분율로 환산하여 그래프화하였다 (Fig. 3). 그 결과 수술 후 6일째까지 실험군 V (67.6%), 실험군 A (60.4%) 그리고 실험군 C (64.3%)에서 군간의 차이는 보이지 않았지만 모든 군에서 창상면적이 유의하게 감소하였다. 수술 후 9일 전후부터 군간의 차이가 나타나기 시작하였다. 실험군 V의 경우 창상면적이 수술 후 9일째 50.2%였으나 실험군 C의 경우 37.5%, 실험군 A의 경우 37.6%로 통계학적으로 유의한 차이를 보였다( $p < 0.05$ ). 또한, 수술 후 15일째에는 실험군 V, 실험군 A 그리고 실험군 C에서 창상면적이 각각 33.0%, 14.5% 그리고 7.2%로 큰 차이를 보였으며 이 차이는

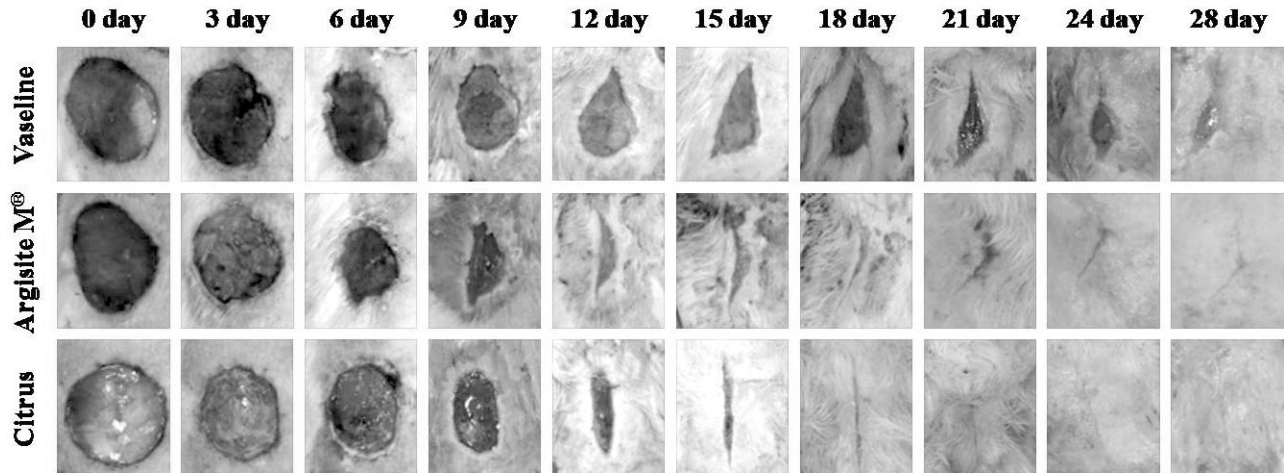


Fig. 2. Photographs of wound spot at days 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24 and 28, taken postoperatively after full-thickness skin excision. The size of the wound was decreased more rapidly in the group A and group C. Group V, Vaseline gauze; Group A, Algisite M<sup>®</sup>; Group C, bacterial synthesized cellulose gel disc from citrus.

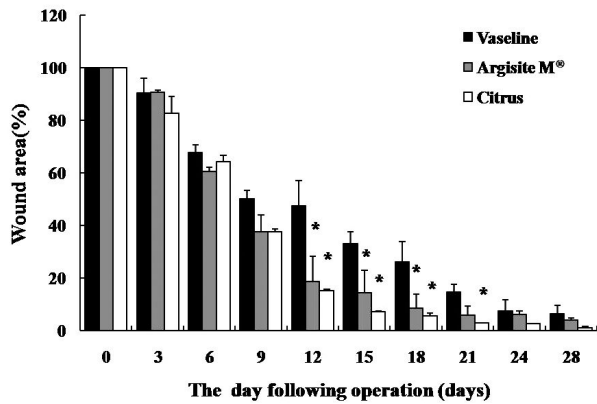


Fig. 3. Representative of wound area was dramatically decreased in the bacterial synthesized cellulose gel disc treated group compared with the vaseline gauze treated group. It shows those full-thickness wounds were more rapidly healed in the Group A and Group C than the Group V. Each bar represents the mean  $\pm$  S.E. (n=4). \* $p < 0.05$ : significantly different from the Group V. Group V, Vaseline gauze; Group A, Algisite M<sup>®</sup>; Group C, bacterial synthesized cellulose gel disc from citrus.

통계학적 유의성을 나타냈다( $p < 0.05$ ).

나. 조직학적 관찰

술후 3일째 모든 군에서 중성구의 침윤이 관찰되었으며 술후 7일째 모든 군에서 중성구의 침윤이 증가하였으나 실험군 V는 평균 54개의 중성구를 가지는 반면, 실험군 A와 실험군 C는 각각 37개, 23개로 나타났다. 또한 섬유모세포의 수가 실험군 V는 15개, 실험군 A는 28개 그리고 실험군 C는 30개로 나타났고, 신생혈관의 수는 실험군 V에서 2개,

실험군 A에서 6개 그리고 실험군 C에서 13개로 통계학적으로 유의한 차이를 보였다. 술후 14일째는 대부분의 군에서 창상의 상피화가 진행된 것이 관찰되었다. 신생혈관의 수는 술후 7일에 비하여 현저히 감소하여 실험군 V에서 1개, 실험군 A는 3개 실험군 C는 2개로 나타났다. 실험군 A와 실험군 C에서는 전반적으로 섬유모세포(각각 25개, 21개)와 중성구(각각 14개, 9개)의 수가 감소되고 콜라겐 축적이 많은 반면, 실험군 V에서는 섬유모세포의 수가 33개, 중성구의 수가 15개로, 술후 7일째부터 콜라겐을 합성하는 섬유모세포가 많이 발견된 실험군 A와 실험군 C에 비하여 섬유모세포의 발현 속도가 늦고 콜라겐 축적도 적은 것으로 나타났다. 실험군 C와 실험군 A 간의 차이는 통계학적으로 유의하지 않으나 술후 15일부터 실험군 C가 실험군 A보다 창상의 크기가 작아진 것을 확인 할 수 있었고, 조직병리 검사결과에서도 술후 7일째와 14일째 염증세포인 중성구의 침윤은 적은 것으로 나타났다. 또한 신생혈관과 섬유모세포의 수는 실험군 C가 실험군 A보다 술후 7일째 많고 술후 14일째는 실험군 C가 실험군 A보다 적은 것으로 나타났다(Table I, Fig. 4).

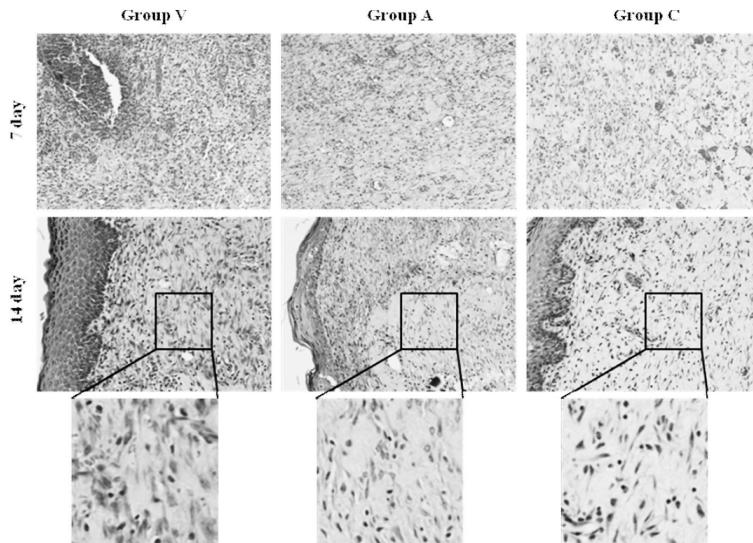
다. 단백질 분석

TGF- $\beta$ 1의 경우 술후 7일에는 모든 군에서 비슷한 수준으로 발현이 일어났으나, 술후 14일 그리고 21일에서는 실험군 V에서만 발현되고 실험군 A와 실험군 C에서는 차차 감소됨이 나타났다. VEGF의 경우에는 술후 7일에 실험군 C에서 가장 높게, 실험군 V에서는 가장 낮게 발현되었으나, 14일 후부터는 TGF- $\beta$ 1과 같은 양상으로 실험군 V에서 높게 발현되고 실험군 A와 실험군 C에서는 차차 감소되는 것

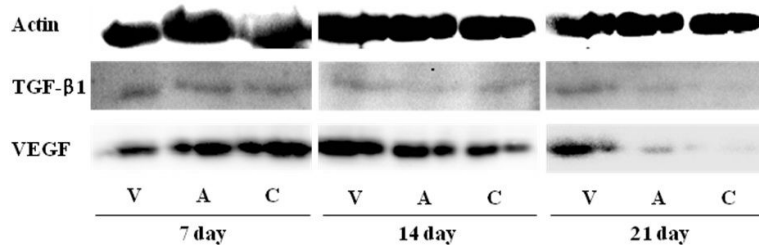
**Table I.** Quantification of the Number of Neovascularization, Neutrophil and Fibroblast Per 200 μm<sup>2</sup>

Day	Treatment	Neovascularization (number)	Neutrophil (cell number)	Fibroblast (cell number)
7	Group V	2.0 ± 0.5	54.0 ± 2.5	15.3 ± 2.4
	Group A	6.7 ± 1.2 *	37.0 ± 1.5 *	28.0 ± 0.6 *
	Group C	13.7 ± 0.9 *	23.7 ± 2.3 *	30.7 ± 1.2 *
14	Group V	1.3 ± 0.3	15.3 ± 1.2	33.3 ± 2.2
	Group A	3.3 ± 0.9	14.0 ± 1.5	25.0 ± 1.0 *
	Group C	2.0 ± 0.6	9.0 ± 1.7 *	21.3 ± 0.7 *

Group V, Vaseline gauze; Group A, Algisite M<sup>®</sup>; Group C, bacterial synthesized cellulose gel disc from citrus. Each data represented as mean ± SE. \**p*<0.05: significantly different from the Group V.



**Fig. 4.** Histopathological findings of the wound after 7 and 14 days. They were stained with hematoxylin and eosin (× 200). Group V (Above, left) show many neutrophils and less fibroblasts rather than Group A (Above, center) and Group C (Above, right) in 7 days. Group A (Below, center) and Group C (Below, right) show more collagen deposition and more neovascularization rather than Group V (Below, left) at 14 days. Group V, Vaseline gauze; Group A, Algisite M<sup>®</sup>; Group C, bacterial synthesized cellulose gel disc from citrus.



**Fig. 5.** TGF-β and VEGF protein expression in rat wound skin at post wounding day 7, 14 and 21. The expression of TGF-β and VEGF in the Group A and Group C were significantly decreased compared with the Group V in 21 days. Actin was used as a comparative control. V, vaseline gauze; A, Algisite M<sup>®</sup>; C, bacterial synthesized cellulose gel disc from citrus.

으로 나타났다(Fig. 5).

#### IV. 고 찰

셀룰로오스는 지구상에서 가장 흔한 유기물로 1894년 Brown에 의해 최초로 식초산균이 셀룰로오스를 생산하는 것으로 보고된 후 현재까지 박테리아 셀룰로오스의 특성 및 효능에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 특히 박테리

아 셀룰로오스의 독특한 3차원 나노 구조는 습윤 환경을 조성해주고, 외부 환경으로부터의 감염을 예방할 수 있어 최근 창상치유 및 세포 지지체로서의 활용 등 의료 산업에서 연구가 활발히 진행되고 있고 그 임상적 유용성도 증명되고 있다.<sup>10</sup> Kucharzewski 등은 정맥성 궤양(venous ulcer)이 있는 환자에 박테리아 셀룰로오스를 적용하여 박테리아 셀룰로오스가 창상치유의 속도를 증가시켜준다고 입증하였고,<sup>11</sup> Czaja 등<sup>12</sup>은 박테리아 셀룰로오스를 2~3도

화상에 적용하여 창상치유의 효과를 입증하였다. Fontana 등은 화상이나 만성 궤양(chronic ulcer)에 박테리아 셀룰로오스를 적용하여 창상치유 효과를 입증하였는데 (1) 통증을 경감시켜주고, (2) 감염으로부터 창상을 보호하고, (3) 창상치유과정을 가속화시키고, (4) 비용절감의 효과가 있다고 주장하였다.<sup>5</sup>

본 실험에서는 창상치유에 효과가 있다고 알려진 박테리아 셀룰로오스를 잉여 과실로 취급되는 제주도 감귤 발효액으로부터 추출하여 겔 형태로 만든 후 동물실험에 적용함으로써 감귤 유래 박테리아 셀룰로오스의 창상치유의 효과 및 드레싱 제재로서의 효용성을 분석하였다.

창상의 치유과정은 시간 순으로 염증단계, 상피화 단계, 증식단계 그리고 성숙단계의 네 단계로 구분될 수 있으나 임상적으로 가장 중요한 시기는 바로 염증단계이다.<sup>13</sup> 이 단계에서 파괴된 조직 부유물 및 괴사된 조직이 급성 및 만성 염증세포에 의해 제거 또는 흡입되어야 다음 단계로 이행할 수 있으며, 이 단계가 오래 지속되면 다음 창상치유과정이 지연되고, 지연된 창상치유는 만성 창상(chronic wound)을 형성하게 된다. 따라서 대부분의 창상치유에 쓰이는 소재들 또는 약품들도 이 염증단계에 노출된 창상의 치유를 돕고, 염증기 이후의 증식 단계에도 작용을 하여 섬유모세포를 증식시키고 섬유모세포의 이동을 활성화하고 콜라겐 합성을 증가시켜 궁극적으로 창상 수축을 통하여 창상치유를 촉진시킨다. 또한 창상은 조직학적으로 해부학적 연속성이 파괴된 상태를 말하며 다양한 세포와 사이토카인(cytokine), 성장인자(growth factor) 등의 복잡한 상호작용에 의하여 창상치유과정을 거치게 된다. 본 실험에서는 실험군 C에서 실험군 V에 비하여 술후 7일째에 중성구의 침윤 정도가 적고 창상수축과 조직 재생에 관여하는 섬유모세포의 수가 많이 관찰되는 것으로 볼 때 염증 다음의 단계로의 이행에 있어 실험군 C가 실험군 V보다 빠르다고 판단이 되며 술후 14일째 세포외 기질인 콜라겐의 축적 정도도 실험군 C에서 실험군 V보다 많은 것으로 나타났다. 또한 Western blot을 통해서 TGF- $\beta$ 1과 VEGF의 단백질 발현양을 확인해 본 결과, 술후 14일째 실험군 V에 비하여 실험군 C에서 그 발현양이 감소된 소견을 보였다, 이는 조직 재생과 세포분화, 혈관신생 정도가 실험군 V에서 실험군 C보다 오래 지속되고 있음을 의미하며 이는 창상치유의 속도를 느리게 하여 창상치유의 다음 단계로의 이행이 늦어짐을 의미한다. 이러한 육안적, 조직학적, 생화학적 분석을 토대로 볼 때 감귤 유래 박테리아 셀룰로오스는 초기 염증반응을 줄이고 창상 수축의 주된 역할을 하는 섬유모세포의 역할을 촉진하고 따라서 창상치유를 촉진시키는 것으로 여겨진다.

본 연구에서 실험군 A로 사용한 알긴산은 갈색해조류의 세포벽을 이루는 성분이며 만누로닉산(mannuronic acid)

과 글루로닉산(guluronic acid)으로 이루어진 Hetero다당류로 생체에 적합하고 친수성인 고분자 물질이다.<sup>14</sup> 만누로닉산과 글루로닉산의 성분비 및 여기에 더해지는 이온의 농도에 따라 그 강도가 달라져 조직 재생을 위한 지지구조물(scaffold)로서 그 사용범위가 넓어지고 있다. 이 등은 전층창상 동물모델에서 알긴산 국소적 도포의 창상치유 효과를 입증하였으며,<sup>8</sup> Atala 등은 내시경을 이용한 방광-요관 역류의 치료에서 알긴산의 세포외 지지체로서의 안정성 및 치료 효과를 입증한 바 있다.<sup>15</sup> 알긴산은 창상 초기의 많은 양의 삼출물을 흡수하며, 보습 효과를 나타내고 혈액 응고의 전구물질로 작용하여 창상치유과정 중 혈액을 지혈하는 역할을 한다고 알려져 있어 본 실험에 사용된 감귤유래 박테리아 셀룰로오스의 비교 대상으로 사용하였다.

알긴산을 사용한 실험군 A는 실험군 V에 비하여 창상의 크기가 유의하게 줄어들음을 확인할 수 있었고 조직 검사상 염증세포의 침윤 정도가 적었으며 섬유모세포 출현 및 세포외 기질인 콜라겐의 축적 정도가 많음을 확인할 수 있었다. 하지만 본 실험에서 실험군 A와 실험군 C를 비교하였을 때 통계적으로 유의하지는 않으나 실험군 C가 실험군 A보다 창상치유 속도가 조금 더 빠른 것으로 판단된다.

이상적인 드레싱 제재는 유해한 외부 환경으로부터 창상을 차단하고 보호하며, 미생물의 감염을 예방하고 초기 삼출물을 적절히 흡수하여야 하며, 염증반응을 억제할 수 있어야 하며 물리적, 기계적 내구성이 높아야 한다. 그 동안 창상 드레싱 제재로서 이용될 수 있는 소재는 생체조직에 대하여 거부반응이 최소화되는 소재, 즉 생체조직에 대하여 불활성을 갖는 합성고분자 부류 등으로 극히 한정되어 왔다. 하지만 최근 인체 친화성이 우수한 천연 물질에서 유래한 소재들을 이용하여 창상 드레싱 제재 및 인공 피부로의 개발이 활발히 연구되고 있다. 히알루론산(hyaluronic acid), 알긴산(alginate), 스크래로글루칸(scleroglucan) 등이 대표적인 천연물질 유래 바이오 제재들이다.

이번 연구에 사용된 감귤 유래 박테리아 셀룰로오스는 물리적 특성과 기계적 강도가 높은 천연소재로 본 연구를 통하여 창상 드레싱 제재로서의 효과를 입증하였으므로 앞으로의 그 효용성이 높을 것으로 사료된다. 새로운 제재의 사용 시 그 물질에 대한 생체 적합성 등 안전성이 반드시 확인되어야 하므로 앞으로 감귤 유래 박테리아 셀룰로오스의 생체 적합성 및 독성평가가 시행되어 그 안전성이 확보된다면 임상적 이용에 좀 더 도움이 될 수 있을 것으로 판단된다.

## V. 결론

일반적인 창상의 치유 과정이 저해되면 창상은 만성 창상으로 발전하게 된다. 이러한 만성 창상은 치유가 어려우며

수술적 치료를 요하는 경우가 많다. 치유되지 않는 만성 창상의 형성을 막기 위하여 창상치유를 촉진시키는 드레싱 제재의 역할이 중요하다. 감귤 유래 박테리아 셀룰로오스는 초기 염증반응을 줄이고 세포외기질의 축적을 통한 수축 반응을 촉진시켜 창상치유에 도움을 주는 것으로 사료되며 추후 이것을 이용한 드레싱 제재 개발 시 창상치유에 많은 도움이 될 것이라 판단된다.

## REFERENCES

1. Benziman M, Haigler CH, Brown RM, White AR, Cooper KM: Cellulose biogenesis: Polymerization and crystallization are coupled processes in *Acetobacter xylinum*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 77: 6678, 1980
2. Backdahl H, Helenius G, Bodin A, Nannmark U, Johansson BR, Risberg B, Gatenholm P: Mechanical properties of bacterial cellulose and interactions with smooth muscle cells. *Biomaterials* 27: 2141, 2006
3. Vandamme EJ, Baets S, Vanbaelen A, Joris K, Wulf P: Improved production of bacterial cellulose and its application potential. *Polym Degrad Stab* 59: 93, 1998
4. Klemm D, Schumann D, Udhardt U, and Marsch S: Bacterial synthesized cellulose-artificial blood vessels for microsurgery. *Prog Polym Sci* 26: 1561, 2001
5. Fontana JD, de Souza AM, Fontana CK, Torriani IL, Moreschi JC, Gallotti BJ, de Souza SJ: *Acetobacter* cellulose pellicle as a temporary skin substitute. *Appl Biochem Biotechnol* 25: 253, 1990
6. Kim SY, Kim JN, Wee YJ, Park DH, Ryu HW: Production of bacterial cellulose by *Gluconacetobacter* sp. RKY5 isolated from persimmon vinegar. *Appl Biochem Biotechnol* 132: 705, 2006
7. Jung JS, Kim KS, Choi KH: Pilot production of bacterial cellulose by *gluconacetobacter hansenii* TL-2C. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36: 1341, 2007
8. Lee WR, Park JH, Kim KH, Kim SJ, Park DH, Chae MH, Suh SH, Jeong SW, Park KK: The biological effects of topical alginate treatment in an animal model of skin wound healing. *Wound Repair Regen* 17: 505, 2009
9. Reimer K, Wichelhaus TA, Schäfer V, Rudolph P, Kramer A, Wutzler P, Ganzer D, Fleischer W: Antimicrobial effectiveness of povidone-iodine and consequences for new application areas. *Dermatology* 1: 114, 2002
10. Czaja W, Krystynowicz A, Bielecki S, Brown RM Jr: Microbial cellulose-the natural power to heal wounds. *Biomaterials* 27: 145, 2006
11. Kucharzewski M, Slezak A, and Franek A: Topical treatment of non-healing venous leg ulcers by cellulose membrane. *Phlebologie* 32: 147, 2003
12. Czaja WK, Young DJ, Kawecki M, Brown RM Jr: The future prospects of microbial cellulose in biomedical applications. *Biomacromolecules* 8: 1, 2007
13. Chung KH, Park JW, Chung JY, Chung HY, Cho BC, Baik BS: Wound healing effect of the chitosan sponge. *J Korean Soc Plast Reconstr Surg* 30: 217, 2003
14. Grandolfo M, D'Andrea P, Paoletti S, Martina M, Silvestrini G, Bonucci E, Vittur F: Culture and differentiation of chondrocytes entrapped in alginate gels. *Calcif Tissue Int* 52: 42, 1993
15. Atala A, Kim W, Paige KT, Vacanti CA, Retik AB: Endoscopic treatment of vesicoureteral reflux with a chondrocyte-alginate suspension. *J Urol* 152: 641, 1994