

골격근 손상 및 재생 환경에서의 근육 세포 군집 이동의 물리적 특성 가시화

권태윤* · 정현태* · 조영빈* · 신현정[†]

Visualization of the physical characteristics of collective myoblast migration upon skeletal muscle injury and regeneration environment

Tae Yoon Kwon*, Hyuntae Jeong*, Youngbin Cho* and Jennifer H. Shin[†]

Abstract Skeletal muscle tissues feature cellular heterogeneity, including differentiated myofibers, myoblasts, and satellite cells. Thanks to the presence of undifferentiated myoblasts and satellite cells, skeletal muscle tissues can self-regenerate after injury. In skeletal muscle regeneration, the collective motions among these cell types must play a significant role, but little is known about the dynamic collective behavior during the regeneration. In this study, we constructed in vitro platform to visualize the migration behavior of skeletal muscle cells in specific conditions that mimic the biochemical environment of injured skeletal muscles. We then visualized the spatiotemporal distribution of stresses arising from the differential collectiveness in the cellular clusters under different conditions. From these analyses, we identified that the heterogeneous population of muscle cells exhibited distinct collective migration patterns in the injury-mimicking condition, suggesting selective activation of a specific cell type by the biochemical cues from the injured skeletal muscles.

Key Words : Skeletal muscle (골격근), Skeletal muscle injury and regeneration (골격근 손상 및 재생), Traction force microscopy (세포 견인력 분석법), Monolayer stress microscopy (세포간 응력 분석법)

1. 서론

세포 군집 이동 (collective cell migration)은

세포-세포간 부착 (cell-cell adhesion), 세포-기질간 부착 (cell-substrate adhesion)을 매개로 하여 세포들이 조직적으로 이동 (migration) 하는 현상을 일컫는다⁽¹⁾. 이러한 세포 군집 이동은 상처 치유, 조직 재생, 발달, 암 전이 등의 생리현상에 중요한 역할을 하기 때문에, 조직 및 질병 특이적으로 생기는 군집 운동의 특성에 대한 연구의 필요성이 대두되고 있다. 예를 들면 손상된 골격근 조직 (injured skeletal muscle tissue)의 재생과정에도 세포의 군집 운동이 중요한데, 특히 골격근 조직은 분화가 완료된 근섬유

[†] Department of Mechanical Engineering, Korea Advanced Institute of Science and Technology, Daejeon, 3414, Republic of Korea, Professor
E-mail: j_shin@kaist.ac.kr

* Department of Mechanical Engineering, Korea Advanced Institute of Science and Technology, Daejeon, 34141, Republic of Korea,
Graduate student

(myofiber) 뿐만 아니라 미분화 상태의 근아세포 (myoblast) 및 위성세포 (satellite cell)를 포함하고 있기 때문에 이러한 이질성 (heterogeneity)에 따른 세포 군집 운동 특성에 대한 이해가 필요하다⁽²⁾. 손상된 근육의 재생을 위해서는 궁극적으로 손상 부위로 세포들이 이동하여 분화하는 과정이 이루어져야 하며, 분화가 진행되는 과정에서도 역시 세포의 정렬을 위한 세포 이동이 필요하다⁽³⁾. 뿐만 아니라 심각한 손상으로 인해 자연적인 재생이 불가능할 경우 세포 이식을 통한 치료가 필요한데, 이때 치료를 위한 근육 세포 주입시에 자연스럽게 근육세포의 군집 이동을 동반한 근육 재생 치료가 이루어지게 된다⁽⁴⁾. 이렇듯 골격근 조직의 재생에 있어서 세포 군집의 이동은 필수불가결한 존재이기에 그 이동 특성을 이해하는 연구가 필요하나, 골격근 재생 과정에 있어서 세포 군집 단위의 이동 특성 및 물리적 특성에 관한 연구는 아직까지 거의 이루어지지 않았다.

이에 본 연구에서는 이러한 골격근 재생 환경에서의 근육 세포 군집 이동의 물리적 특성을 이차원 체외 환경에서의 모델링을 통해 가시화하고 분석하였다. 특히, 모델 내에서 골격근 손상 및 재생 환경 구축을 위해 근육 손상의 정보를 포함하고 있는 근육 손상 모사 배양액 (Conditioned Media)을 실험에 사용하였다. 이를 일반적인 골격근 분화 배양액 (기본 배양액, Base Media)과 비교했을 때, 어떤 이동 특성의 변화가 있는지를 실시간으로 촬영된 세포 이미지 분석을 통해 확인하였다. 또한, 이러한 이동 과정 중에 형성되는 세포 견인력 (traction force) 및 세포간 응력 (intercellular stress)을 각각 Traction Force Microscopy (TFM), Monolayer Stress Microscopy (MSM) 기법을 통해 측정하였다. 이를 통해, 세포 군집 이동에서의 물리적 특성 변화를 가시화하고 분석함으로써 세포 군집 단위의 이동 특성의 본질적인 이해를 위한 연구의 기반을 다지고자 하였다.

2. 실험 방법

2.1 골격근 세포 배양 및 근육 손상 모사 배양액 제작

본 연구에서는 생체 외 골격근 연구에서 가장 널리 사용되는 쥐의 근아세포 세포주인 C2C12 세포를 사용하였다. C2C12 세포는 5% CO₂를 포함한 37°C의 인큐베이터 내에서 배양되었고, 성장 배양액으로는 DMEM (Welgene)에 10% Fetal Bovine Serum (Welgene), 1% 페니실린/스트렙토마이신 (Gibco)를 포함하는 배양액을 사용하였다.

생체 내의 골격근 손상 및 재생 환경 모사를 위한 근육 손상 모사 배양액 제작을 위해 배양 접시가 꼭 차도록 성장 배양액을 이용하여 C2C12 세포를 배양시켰다. 다음으로 DMEM에 2% Horse Serum (Welgene), 1% 페니실린/스트렙토마이신이 포함된 분화 배양액으로 교체하여 6일동안 C2C12 세포를 분화시키고, 분화된 세포가 깔려 있는 배양 접시 바닥을 마이크로 피펫 팁을 이용하여 인위적으로 긁어 근육 세포 손상을 유도하였다. 이후 인큐베이터에서 하루 동안 배양 후 마이크로 필터 (Thermo Scientific)를 이용해 배양액을 필터링 해준 후 실험에 사용하였다.

2.2 세포 패터닝

본 연구에서는 세포 군집을 polydimethylsiloxane (PDMS, Sigma Aldrich) 스텐실 (stencil)로 제작한 700 μ m 지름의 원형 패턴 내부에 가둬 놓고, 이후 PDMS 스텐실을 제거하여 세포가 자유롭게 이동하도록 하여 세포 군집의 이동을 모사하였다. 원형 패턴의 지름 및 이에 따른 세포 군집의 크기는 세포 군집의 특성을 유지할 수 있도록 충분히 크기를 보장함과 동시에, 24시간 동안 세포의 이동을 관찰하는 중 현미경의 적정 배율에서 촬영 범위 내에 국한될 수 있도록 크기를 고려하여 결정되었다.

100kPa 이내의 범위에서 자유롭게 강성 조절이 가능하다고 알려진 polyacrylamide gel (PA

gel)을 세포 실험의 바닥 조건으로 사용하였다⁽⁵⁾. 11kPa의 PA gel 표면을 Sulfo-SANPAH (ProteoChem)와 365nm 파장의 UV로 활성화시키고 Collagen type I을 코팅하였다. 이후 PDMS 스텐실을 덮고, C2C12 세포를 원형 패턴 내부에 배양하였다. 하루 동안 인큐베이터에서 배양 후 세포가 패턴 내부에 포화 되었을 때 배양액을 근육 손상 모사 배양액으로 교체하고, PDMS 스텐실을 제거하여 세포 군집의 이동을 유도하였다.

2.3 실시간 세포 이미징

세포의 움직임을 실시간으로 관찰하기 위해 인큐베이터와 같은 5% CO₂를 포함한 37°C의 대기 환경을 유지할 수 있는 챔버를 형광 현미경 (AxioCam, Carl Zeiss)에 부착하여 실험을 진행하였다. 현미경을 통해 얻은 세포 이미지는 ImageJ 프로그램을 이용하여 분석하였다.

2.4 Traction Force Microscopy 분석

세포와 세포가 부착된 바닥면 사이에 작용하는 힘인 세포 견인력은 Traction Force Microscopy (TFM) 기법을 통해 측정되었다⁽⁵⁾. 형광 현미경을 통해 촬영된 PA gel 내부에 심어져 있는 지름 0.5 μ m의 형광 비드 (Invitrogen)의 움직임과 이를 통한 세포 견인력을 MATLAB 프로그램을 이용하여 계산하였다⁽⁵⁾.

2.5 Monolayer Stress Microscopy 분석

세포와 세포 사이에 작용하는 응력의 경우, 앞서 측정된 세포 견인력을 기반으로 세포 군집이 2차원 평면상으로 존재하고, 탄성 연속체라는 가정하에 Monolayer Stress Microscopy (MSM) 기법을 이용하여 계산되었다⁽⁶⁾. 계산을 통해 주응력을 구하고, 주응력을 통해 계산한 평균 국부 수직 응력 (local average normal stress, $(\sigma_{max} + \sigma_{min})/2$)을 세포간 응력으로 하여 분석을 진행하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 서로 다른 배양액 환경에서의 근육세포 군집 이동

본 연구에서는 C2C12 세포의 분화에 일반적으로 사용되는 배양액 (기본배양액, Base Media, BM)과 골격근 손상 및 재생 환경을 모사하도록 특별하게 제작한 배양액 (근육 손상 모사 배양액, Conditioned Media, CM)을 이용해 C2C12 근아세포 군집의 이동 특성 변화 양상을 비교 분석하였다. 이를 위해 PDMS 스텐실에 둘러싸여 700 μ m 지름의 원형 패턴으로 성장배양액을 통해 배양되어 있는 세포 군집의 배양액을 각각 기본배양액과 근육 손상 모사 배양액으로 교체한

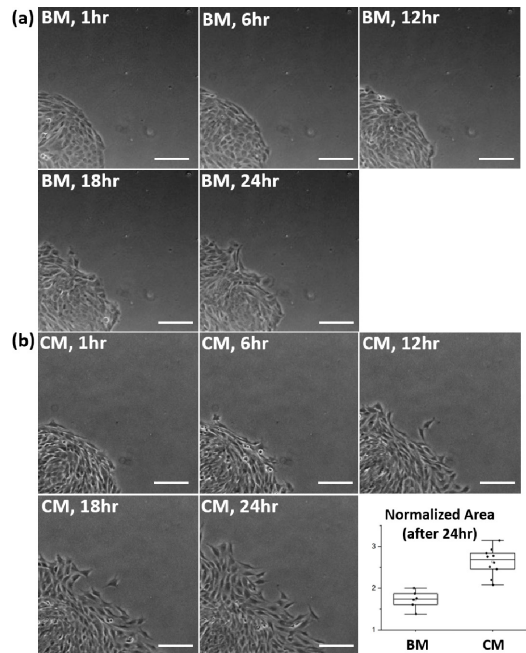


Fig 1. Migrating characteristics of collective muscle cell (C2C12 cells) migration at base media (BM) and conditioned media (CM). (a) Time series of phase contrast images (the first quadrant) at each media condition. (b) The graph of normalized migration area after 24hours of migration. The migration area is normalized by the initial area of each media condition. (n=6 for BM, and n=10 for CM). (Scale bar: 400 μ m)

후, PDMS 스텐실을 제거하여 세포 이동을 유도하고 24시간 동안 현미경을 통하여 실시간 이미지를 진행하였다.

24시간 촬영된 세포 이미지를 살펴보았을 때, 기본배양액 환경과 근육 손상 모사 배양액 환경에서 각기 다른 세포 이동 양상을 확인할 수 있었다 (Fig. 1a). 기본배양액 조건에서는 24시간동안 근육세포 군집이 전체적으로 크게 이동하지 않는 모습을 보였다. 이는 초기 세포 군집 면적으로 정규화 된 24시간 이동 후의 세포 군집 면적 그래프에서도 확인할 수 있다 (Fig. 1b). 그러나 근육 손상 모사 배양액 환경에서는 근육세포 군집이 보다 활발하고 빠르게 이동함을 확인할 수 있었고, 세포 군집 면적도 기본배양액 환경에 비해 1.6배 가까이 증가한 모습을 보였다.

3.2 근육세포 군집의 중심부와 가장자리부의 이동 특성 차이

24시간 동안의 연속적인 세포 군집 이동을 살펴보았을 때 이동 면적의 차이 외에도 세포 군집의 중심부와 가장자리부의 세포 이동 양상이 극명한 차이를 보이는 흥미로운 현상을 추가로 관찰할 수 있었다. 이를 자세히 분석하기 위해, 촬영된 세포 이미지를 기반으로 하여 세포 군집 내에 존재하는 세포 하나 하나의 움직임을 추적하여 분석하는 세포 트래킹 (tracking) 기법으로 분석을 진행하였다 (Fig. 2a). 세포 군집의 중심부와 가장자리부에 존재하는 세포 다수의 움직임을 추적해 보았을 때, Fig. 2a의 흰색 점선으로 표시된 원 내부 (중심부)의 세포 움직임과 원 외부 (가장자리부)의 세포 움직임이 차이를 보임을 확인할 수 있었다. 기본배양액 환경의 경우, 가장자리부의 세포는 원의 접선 방향의 방향성을 갖고 이동하고, 중심부는 특별한 방향성 없이 이동함을 볼 수 있다. 근육 손상 모사 배양액 환경의 경우, 가장자리부의 세포는 대체적으로 지름 방향의 방향성을 갖고 이동하고 있으며, 중심부는 이와 다르게 특별한 방향성 없이 이동하고 있음을 볼 수 있다.

이때, 기본배양액 환경과는 다르게 중심부와 가장자리 부의 세포 이동 거리가 확연하게 차이가 있음을 볼 수 있었다.

이러한 분석 결과를 정량화 하기 위해, 24시간 동안 이동한 세포의 처음과 마지막 위치 사이의 거리를 세포의 전체 이동 거리로 나누어서 세포 이동의 방향성을 나타내는 지표인 persistence index⁽⁷⁾와 24시간 동안의 세포의 평균 속력을 측정하였다 (Fig. 2b). Persistence index (PI)는 세포가 이동할 때 어느 정도로 방향성을 유지하고 있는지를 나타내는 지표⁽⁷⁾, 본 실험에서는 24시간 동안 세포가 이동했을 때의 변위 값을 총 이동거리로 나누어 계산되

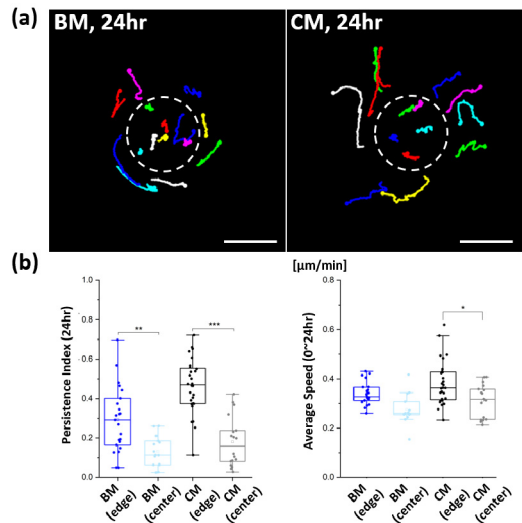


Fig 2. Cell tracking analysis of collective muscle cell migration at two different media conditions. (a) The trajectories of cells during 24 hours of migration at each condition. The white circles in the Figs divide the ‘center’ part and ‘edge’ part of the cell clusters. (b) Quantified results of cell tracking analysis. Average speed (length of trajectory / migrating time) and persistence index (vectorial distance / total path) were calculated. Statistical significance was determined by one-way ANOVA followed by Tukey’s test. *p<0.05, **p<0.01, and ***p<0.001. (n=23 for BM (edge), n=15 for BM (center), n=28 for CM (edge), and n=18 for CM (center)). (Scale bar: 400μm)

었다. PI 값이 1에 가까울수록 세포가 한 방향성을 갖고 직선운동을 하는 것을 나타내며, 0에 가까울수록 세포가 방향성 없이 운동하고 있음을 나타낸다. 먼저, PI 값을 살펴보면, 기본배양액과 근육 손상 모사 배양액 환경 모두에서 중심부와 가장자리부의 유의미한 차이를 확인할 수 있었다. 이와는 다르게 평균 속력의 경우, 근육 손상 모사 배양액 환경에서만 중심부와 가장자리부의 유의미한 차이를 확인할 수 있었다. 근육세포 군집의 기본배양액과 근육 손상 모사 배양액 환경에서의 세포 이동 양상을 정리해보면, 기본배양액 환경에서는 중심부와 가장자리부의 세포 이동의 방향성에 차이를 보이지만 비슷한 속력을 갖고 움직이는데, 이 속력이 비교적 낮아, 24시간 이후의 세포 군집 면적이 초기 면적의 1.7배 정도를 보인다. 근육 손상 모사 배양액 환경에서는 마찬가지로 중심부와 가장자리부의 세포 이동의 방향성에 차이를 보이지만 가장자리부의 속력이 보다 유의미하게 크고, 이로 인해 24시간 이동 후의 세포 군집 면적을 확인해보면 초기 면적의 2.7배 수준임을 볼 수 있다.

3.3 근육세포 군집에서의 세포 견인력 분포

다음으로, 24시간 동안의 세포 군집 이동에서의 세포 견인력 분포를 확인해보았다 (Fig. 3b). 형광 비드가 심어져 있는 PA gel 위에 세포가 붙어 있을 때의 비드 위치와 트립신 처리 (trypsinization)를 통해 세포를 바닥으로부터 떼어낸 후의 비드 위치를 현미경으로 촬영하여 비드의 움직임을 구하고, 이를 통해 세포 견인력을 계산하는 TFM 기법을 사용하였다 (Fig. 3a). 세포 군집의 이동이 시작되고 1시간이 지났을 때부터 기본배양액과 근육 손상 모사 배양액 환경에서 세포 견인력의 차이가 확연하게 나타난다. 기본배양액 환경의 경우, 세포 이동 초기에 가장자리부에 $-r$ 방향의 -90Pa 정도의 세포 견인력이, 중심부에 $+r$ 방향의 $+90\text{Pa}$ 정도의 세포 견인력이 형성되면서 이러한 양상이 24시간동안 계속해서 유지됨을 확인할 수 있다.

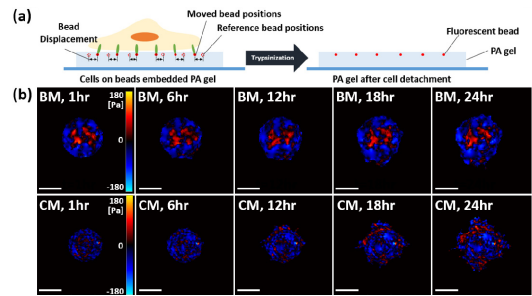


Fig 3. (a) Method for traction measurements by TFM. (b) Temporal evolution of cell traction maps (r -direction at r - θ coordinates) during 24 hours of migration at two different media conditions. (Scale bar: $400\mu\text{m}$)

반면 근육 손상 모사 배양액의 경우, 전반적으로 $-r$ 방향의 -60Pa 정도의 세포 견인력이 형성되다가 이후 시간이 지남에 따라 중심부는 여전히 $-r$ 방향의 세포 견인력을 유지하면서 견인력은 -90Pa 정도로 소폭 증가하는 반면 가장자리부는 $+r$ 방향과 $-r$ 방향의 세포 견인력이 혼합되어 있는 이질적인 분포를 나타냈다. 정리해보면, 기본배양액의 경우 초기부터 가장자리부와 중심부의 세포 견인력 분포에 차이를 보였다. 가장자리부는 $-r$ 방향 즉, 세포가 바닥을 $-r$ 방향으로 밀면서 세포 군집 밖으로 나가려는 세포 견인력의 분포를 보였고, 중심부는 이와 반대로 $+r$ 방향의 세포 견인력 분포를 보였다. 근육 손상 모사 배양액의 경우, 초기에는 가장자리부와 중심부가 비슷한 세포 견인력의 분포를 보이지만, 시간이 지남에 따라 가장자리부가 이질적인 특성을 띠면서 견인력 분포의 차이가 두드러지게 나타남을 확인할 수 있었다.

3.4 근육세포 군집에서의 세포간 응력 분포

세포 견인력과 비슷하게 24시간 동안의 세포 군집 이동에서의 세포간 응력 분포를 MSM 기법을 통해 확인해보았다 (Fig. 4). 기본배양액 환경의 경우, 세포 이동이 시작된 직후부터 군집 전반적으로 높은 세포간 응력이 24시간동안 일정하게 유지됨을 확인할 수 있었다. 반면 근육

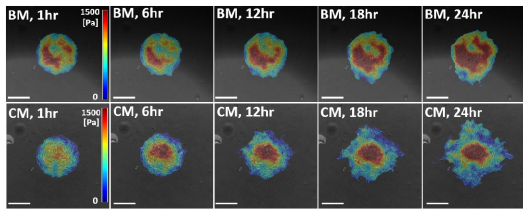


Fig 4. Temporal evolution of intercellular stress maps during 24 hours of migration at two different media conditions. (Scale bar: 400 μ m)

손상 모사 배양액의 경우, 세포 이동이 시작된 직후에는 기본배양액 환경과 비슷한 세포간 응력 분포를 보이다가 시간이 지남에 따라 중심부에만 매우 높은 세포간 응력이 축적되고, 가장자리부의 세포간 응력은 점차 해소되고, 이질적인 분포를 보이며 감소하고 있음을 확인할 수 있었다. 근육세포 군집 이동에서의 세포간 응력의 분포 역시 세포 이동 양상 및 세포 견인력 분포와 마찬가지로 기본배양액과 근육 손상 모사 배양액 환경에서 서로 다른 차이를 보였고, 특히 그 군집의 중심부와 가장자리부에서 독특하고 유의미한 차이를 확인할 수 있었다.

4. 결론

본 연구에서는 세포 견인력 측정이 가능한 플랫폼에서 생체 내의 골격근 분화 및 손상 환경 구축을 위해 근육 손상의 정보를 포함하고 있는 근육 손상 모사 배양액을 사용하여 근육 세포 군집의 이동 양상 및 물리적 특성을 기본 배양액 조건과 비교하여 가시화하고 분석하였다. 먼저, 실시간 세포 이미징을 통해 세포가 24시간 동안 이동하며 퍼져 나가는 모습을 관찰 및 분석해 보았을 때, 근육 손상 모사 배양액 환경에서 세포 군집의 중심부와 가장자리부의 이동 양상의 차이를 확인할 수 있었다. 또한, 이를 평균 속력과 방향성에 대해 정량화 하였을 때, 유의미한 차이를 확인하였다. 세포 견인력 분포를 확인해 보면, 근육 손상 모사 배양액 환경에서의 세포 군집 중심부는 $-x$ 방향의 균일한 세포 견인력을 나타냈지만, 가장자리부는 이질적인 견인력의 분포를 나타냈다. 이때,

기본배양액 환경과 근육 손상 모사 배양액 환경에서 모두 군집 중심부의 세포들은 낮은 평균 속력과 낮은 방향성을 보였다. 그러나 세포 견인력을 비교해보면, 기본배양액 환경에서는 $+x$ 방향, 근육 손상 모사 배양액 환경에서는 $-x$ 방향을 나타내고 있다. 이를 통해, 두 환경의 군집 중심부가 비슷한 이동 특성을 보일지라도 세포 견인력으로 대변되는 물리적 특성은 서로 다르다는 것을 확인해볼 수 있다. 다음으로, 세포간 응력의 경우, 근육 손상 모사 배양액 환경에서 세포 군집의 가장자리부와 중심부에서만 확인한 응력 분포의 차이를 확인할 수 있었다. 기본배양액 환경과 근육 손상 모사 배양액 환경에서 모두 세포 군집의 가장자리부가 중심부에 비해 높은 방향성을 갖고 있음을 확인할 수 있었는데, 이때 원의 지름 방향의 방향성을 갖고 이동하는 근육 손상 모사 배양액 환경과는 달리, 기본배양액 환경에서는 세포가 원의 접선 방향의 방향성을 보였다. 이러한 가장자리부의 이동 특성으로 인해 세포가 군집 밖으로 쉽게 빠져나가지 못하면서 군집 내부에 세포간 응력이 축적되어 군집 전반적으로 높은 응력 분포가 유지되는 것으로 생각된다.

본 연구에서 확인한 근육 손상 모사 배양액 환경에서의 세포 군집 이동 양상 및 물리적 특성의 변화는 인위적인 근육 세포 손상 유도과 이를 통해 손상된 세포 내부로부터 방출된 사이토카인 (cytokine)과 같은 근육 세포 손상과 관련된 단백질의 전달을 통해 발생하게 된다⁽⁸⁾. 이때, 세포 군집의 중심부와 가장자리부가 서로 다른 이동 및 물리적 특성을 나타내는 것은 매우 흥미로운 결과이다. 선행 연구에 따르면, 근아세포의 경우, 세포의 분화가 진행될 때 모든 세포가 분화하는 것이 아니고 군집내의 특정 세포들은 일반적인 분화 과정을 따라가지 않으며 줄기세포와 비슷한 특성을 갖는 위성세포의 특성을 띠게 된다고 알려져 있다⁽⁹⁾. 또한, 손상된 근섬유로부터 추출된 물질들이 이러한 세포들의 활성화를 촉진시킨다고 알려져 있다⁽¹⁰⁾. 이를 종합해보면, 근육세포 군집이 근육 손상 모사 배양액과 같은 근육 손상 환경에 놓였

을 때, 군집내에 이질적으로 존재하는 위성세포의 성질을 갖는 세포들의 활성화가 이루어지고, 이 이질성의 활성화가 중심부와 가장자리부의 확연한 이동 양상 및 물리적 특성 차이로 발현된 것이라 추측해볼 수 있다. 이를 검증하기 위해서는 각 배양액 환경에서 군집내에 존재하는 이질적인 세포 분포를 비교하여 확인하고, 이러한 세포들의 이동 및 물리적 특성을 특이적으로 분석하는 연구가 추후에 이루어져야 할 것이다.

본 연구의 현재 단계에서는 어떤 단백질이 어느 전달 과정에 작용하여 이러한 특성의 변화 양상이 일어난 것인지 정확히 확인할 수 없기 때문에 근육 손상 모사 배양액 안에 어떠한 활성 물질 성분이 포함되어 있는지 확인하는 과정이 필요할 것이다. 본 연구에서 사용한 근육 손상 모사 배양액의 경우, C2C12 근아세포를 제외 환경에서 분화시킬 수 있는 2% Horse Serum이 포함된 DMEM 배양액 (기본배양액)을 기반으로 제작되었기 때문에 그 안에 DMEM 및 Horse Serum에도 역시 포함되어 있는 단백질이 존재할 것이다. 따라서 단순한 단백질 검출 과정보다는 기본배양액과의 비교 과정을 포함한 질량분석법 (mass spectrometry)과 같은 단백질 검출 과정이 추후에 이루어져야 할 것으로 생각된다. 이러한 검출 과정이 이루어진 후에 본 연구에서 확인한 이동 및 물리적 특성의 변화와의 관계를 해석한다면 골격근 손상 및 재생 환경에서의 세포 군집의 이동에 대한 본질적인 이해가 이루어질 수 있을 것이라 생각된다.

실제 생체 내에서 이루어지는 근육세포 이식 치료와 관련된 선행연구에 따르면, 치료 부위에 주입되는 근육세포의 수가 일정 범위를 넘어가면 체내에 자연스럽게 생성되는 근육세포 군집의 중앙 부분에 세포 괴사 (necrosis) 현상이 발생하여 중심부와 가장자리부의 경계가 뚜렷하게 구분되는 것을 확인할 수 있다⁽¹¹⁾. 이는 본 연구의 근육 손상 모사 배양액 환경에서 근육세포 군집의 이동 특성, 세포 견인력 및 세포 간 응력에 있어서 중심부와 가장자리부 사이에 뚜렷한 차이가 있는 것과 유사한 양상으로 볼

수 있다. 또한, 생체 내 실험에서 주입된 근육세포의 수에 따라 중앙의 세포 괴사 현상이 발생하는 부분의 크기가 달라지는 결과가 보고된 바 있다⁽¹¹⁾. 본 연구에서는 본 실험의 목적에 최적화된 700 μ m 지름의 원형 패턴을 사용하여 세포 군집을 형성하고, 세포 이동 실험을 진행하였다. 또한, 본 연구의 근육 손상 모사 배양액 환경에서는 세포 이미지 상으로 보았을 때 세포의 괴사 현상은 관찰되지 않았지만, 추후에 더 오랜 기간 세포 군집을 배양 및 이동시킨 후, 중심부 세포들에 대하여 세포 괴사와 관련된 단백질 등의 발현 양상을 살펴보는 연구를 통해 근육세포 이식 치료의 발전에도 기여할 수 있을 것으로 기대된다.

후 기

이 논문은 한국연구재단 (NRF-2020M3A9E4039658)의 지원을 받아 수행된 연구임.

REFERENCE

- 1) Friedl, P., Gilmour, D., 2009, "Collective cell migration in morphogenesis, regeneration and cancer", *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, Vol.10, pp.445~457.
- 2) Tedesco, F. S., Dellavalle, A., Diaz-Manera, J., Messina, G., and Cossu, G., 2010, "Repairing skeletal muscle: regenerative potential of skeletal muscle stem cells", *The Journal of Clinical Investigation.*, Vol.120, pp.11~19.
- 3) Goetsch, K. P., Myburgh, K. H., and Niesler, C. U., 2013, "In vitro myoblast motility models: investigating migration dynamics for the study of skeletal muscle repair", *The Journal of Muscle Research and Cell Motility*, Vol.34, p.333~347.
- 4) Skuk, D., and Tremblay J. P., 2017, "The process of engraftment of myogenic cells in skeletal muscles of primates: understanding clinical observations and setting directions in

- cell transplantation research”, *Cell Transplantation*, Vol.26(11), pp.1763~1779.
- 5) Trepap, X., Wasserman, M. R., Angelini, T. E., Millet, E., Weitz, D. A., Butler, J. P., and Fredberg, J. J., 2009, “Physical forces during collective cell migration”, *Nature Physics*, Vol.5(6), pp.426~320.
 - 6) Tambe, D. T., Hardin, C. C., Angelini, T. E., Rajendran, K., Park, C. Y., Serra-Picamal, X., Zhou, E. H., Zaman, M. H., Butler, J. P., Weitz, D. A., Fredberg, J. J., and Trepap, X., 2011, “Collective cell guidance by cooperative intercellular forces”, *Nature Materials*, Vol.10, pp.469~475.
 - 7) Daniel, B., Szuzina, G.N., Arpad, B., Peter, H., Laszlo, D., and Aniko, K.P., 2020, “Myoblast migration and directional persistence affected by Syndecan-4-mediated Tiam-1 expression and distribution”, *International Journal of Molecular Sciences*, Vol.21(3).
 - 8) Barrientos, S., Brem, H., Stojadinovic, O., and Tomic-Canic, M., 2014, “Clinical application of growth factors and cytokines in wound healing”, *Wound Repair and Regeneration*, Vol.22(5), pp.569~578.
 - 9) Yoshida, N., Yoshida, S., Koishi, K., Masuda, K., and Nabeshima, Y., 1998, “Cell heterogeneity upon myogenic differentiation: down-regulation of MyoD and Myf-5 generates ‘reserve cells’”, *Journal of Cell Science*, Vol.111, pp.769~779.
 - 10) Tsuchiya, Y., Kitajima, Y., Masumoto, H., and Ono, Y., 2020, “Damaged myofiber-derived metabolic enzymes act as activators of muscle satellite cells”, *Stem Cell Reports*, Vol.15, pp.926~940.
 - 11) Skuk, D., Paradis, M., Goulet, M., and Tremblay, J. P., 2007, “Ischemic central necrosis in pockets of transplanted myoblasts in nonhuman primates: implications for cell-transplantation strategies”, *Transplantation*, Vol.84(10), pp.1307~1315.