

조직공학의 기본개념과 최신동향 및 미래전망

김 우 섭 | 중앙대학교 의과대학 성형외과

The principles of tissue engineering and its recent advances and future prospects

Woo Seob Kim, MD

Department of Plastic Surgery, Chung-Ang University College of Medicine, Seoul, Korea

The definition of tissue engineering by Langer is “an interdisciplinary field that applies the principles of engineering and the life sciences toward the development of biological substitutes that restore, maintain, or improve tissue function.” This technology has achieved remarkable growth in the past 20 years, provoked by its potential role in regenerating new tissues and naturally healing injured or diseased organs. Although stem cells are still in the research phase, their pluripotency and unlimited capacity for self-renewal may enable significant advances for reconstructive and cosmetic procedures with this engineering technology. This article aims at outlining the principles of tissue engineering and its recent advances and future prospects.

Key Words: Engineering, Tissue, Regenerative Medicine, Stem Cells, Tissue Scaffolds, Reconstructive Surgical Procedures

서론

선천성 기형이나 외상, 암 절제 후에 생긴 결손부위를 복원시키기 위한 재건성형수술은 대부분 자가조직을 이용하므로 공여부에 또 다른 반흔과 추형을 남기게 된다. 이를 피하기 위해 이종이식을 시도하기도 하지만 면역거부반응, 면역억제제의 부작용을 피할 수 없다. 공여부 손상을 최소화하면서 원하는 조직을 형태적, 기능적으로 복원시킬 수 있다는

가능성을 보여주는 조직공학은 의학발전에 획기적인 기여를 할 수 있어 많은 생체공학자, 세포생물학자, 임상외과사들의 주목을 받아왔다. 오래 전부터 이용되어온 백혈병 환자에서의 골수이식은 세포치료가법이고 재생의학이라고 할 수 있다면, 외과 영역에서 세포와 생체적합재료를 이용하여 새로운 조직을 재생시켜 손상된 조직을 복원하는 기술을 조직공학이라고 할 수 있으므로 근본적으로 재생의학과 조직공학은 궁극적으로 같은 개념이라고도 볼 수 있다.

조직공학에서 이용되는 스캐폴드는 독성이나 이물반응이 없고, 다공성이나 표면처리 등 스캐폴드의 미세구조가 실제 생체의 자연적인 세포외기질(extracellular matrix)과 유사해서 세포친화력이 우수해야 하므로 공학적, 세포생물학적인 측면이 상호유기적으로 고려되어야 한다. 또한 이러한 세포-스캐폴드 복합체가 생체 내에서 원하는 조직으로 재생되기 위해서는 충분한 영양과 산소를 공급받아야 하므로 주

Received: December 25, 2013 Accepted: January 9, 2014

Corresponding author: Woo Seob Kim
E-mail: kimws@cau.ac.kr

© Korean Medical Association

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

변에서의 혈류공급도 또 하나의 중요한 인자라고 할 수 있겠다. 지난 20년간 조직공학의 발전은 여러 종류의 줄기세포와 다양한 형태의 스케폴드를 이용한 연구 및 혈관형성에 대한 왕성한 연구성과로 실제 임상에 성공적으로 시도 되고 있다. 본 연구에서는 이러한 세포, 스케폴드, 혈류형성에 대한 연구성과를 살펴보고 앞으로의 전망에 대해 고찰하려고 한다.

조직공학에서 필수 구성요소

세포기능을 유지하여 조직으로 재생되기 위해서는 다양한 성장인자나 사이토카인뿐 아니라 세포와 스케폴드의 생체역학적인 구조와 연관이 되어있으므로 세포, 기질-세포지지구조, 세포생존을 위한 혈류 이 세 가지 부분은 조직공학에서 매우 중요한 요소로 각 부분을 고찰하였다.

1. 세포

조직공학에 이용되는 세포에 대해 알아보면 초기에는 케라틴세포, 섬유모세포, 연골세포 등 성체세포를 이용하였으나 배양과정에서 세포성상이 바뀔 수 있고, 증식에 한계가 있어 최근에는 다양한 분화능과 무한한 자가재생능을 지닌 줄기세포가 주로 이용되고 있다. 특히 태아줄기세포는 전분화능이 있어 모든 조직으로 분화될 수 있으나 그 불안정성과 기형종 발생 가능성이 문제시 된다. 골수조직이나 지방조직에 있는 중배엽성 성체줄기세포는 골세포, 연골연골세포, 지방세포, 근세포 등으로 분화시킬 수 있어 조직공학 연구에 많이 이용된다. 조직공학에 이용되는 세포는 면역거부반응을 피하기 위해서 자가세포가 바람직하다. 초기에는 골수줄기세포를 주로 이용하였으나 우리 몸에 풍부하게 존재하는 지방조직에서 많은 양의 줄기세포를 손쉽게 얻을 수 있다는 장점이 있다. 피하조직에서 얻은 지방줄기세포 수나 그 분화능은 개체, 나이, 부위에 따라 매우 다양하지만, 대개 100 mL 지방흡입액에서 약 2×10^8 개의 지방줄기세포를 얻을 수 있다(약 1/100-1/1,500세포) [1]. 지방조직을 효소처리 후 원심분리하여 얻은 stromovascular fraction (SVF)에는 지방줄기세포 외에도 내피줄기세포, 혈관주위세포, 섬유

유모세포내피세포, M2항염세포, 혈액모세포 등 다양한 세포가 존재한다[2]. 지방줄기세포는 CD29, CD44, CD90, CD146 같은 다양한 표식자를 이용해서 분리하게 되는데, 다른 줄기세포와 마찬가지로 지방줄기세포에만 반응하는 표식자는 없어 배양과정을 통해서 순수 지방줄기세포를 분리한다. 최근 Rodeheffer 등[3]은 CD24표식자가 지방줄기세포에만 특이 반응한다고 하였다. 지방주입만을 목적으로 할 경우SVF에 있는 내피줄기세포가 혈관형성에 중요한 역할을 하기 때문에 순수한 지방줄기세포만 정제하는 것은 바람직하지 않다. 중배엽성 줄기세포는 주조직적합성복합체 클래스 II 항원(major histocompatibility complex class II) 표식자에 반응하지 않아 조직공학적 목적으로 줄기세포 은행에 보관하여 동종이식에 사용할 수 있다는 보고도 있다[4,5]. 배아줄기세포는 그 전분화능과 무한한 증식능이 있어 유전자 측면에서 질병연구가 가능하다는 주장이 있지만 면역성 및 암발생 가능성, 윤리적인 문제로 인한 법적 규제가 심해 실제 임상적용에는 장벽이 있다. Takahashi 등[6]은 피부 체세포에 4가지 전사인자를 이용해 배아줄기세포와 같은 기능이 있는 유도만능줄기세포(induced pluripotent stem cells)로 역분화시키는데 성공하였다. 이 세포는 태아줄기세포와는 달리 이종면역반응이나 윤리적인 문제를 고려하지 않아도 된다는 점에서 매우 고무적이나 전사인자 주입 시 사용되는 바이러스 감염, 암 발생가능성이 제기되어 이에 대한 연구가 더 필요하다.

세포는 주변의 환경이나 다양한 성장인자로 인해 생화학적 신호, 물리학적신호에 영향을 받게 된다. 금속단백, 성장인자, 케모카인은 거식세포에 작용하여 조직성장과 재생에 결정적인 역할을 하는데, 이러한 염증성 사이토카인 및 국소 혈관재생성 성장인자는 멀리 떨어져있는 내피줄기세포에 신호를 보내 내피세포의 이동과 증식, 세포분화를 자극한다 [7]. 그러나 이러한 상품화된 성장인자들은 가격이 비싸고, 반감기가 짧고, 암 절제 후 재건에 사용시 암을 재발시킬 수 있어 그 사용에 한계가 있다. 세포는 이러한 화학적 환경뿐 아니라 세포 주변의 물리학적 환경에도 다양하게 반응한다. 세포 표면에 있는 수용기가 주변환경의 물리적 강도에 따라 반응하여 세포배양접시에 2차적으로 배양하는 경우 단단하

게 퍼져서 붙게 된다. 그러나 3차원 구조물에 배양을 하면 세포는 뭉쳐져 구형을 이룬다. 이렇게 인테그린에 의해 조절되는 세포와 세포외기질과의 접촉은 그 양상에 따라 유전자 발현, 세포이동과 분화에 결정적인 영향을 미치게 되므로 세포외기질의 물리학적 강도는 세포운명에 중요한 인자가 될 수 있다[8]. 또한 세포 주위 환경의 물리학적 성상은 세포의 기질단백의 생성과 분해, 세포이동, 유체전단력에 의해 조절되는데 이는 배자발생이나 창상치유과정에서 지속적으로 일어나는 현상이다.

2. 기질-세포지지 구조

초기 조직공학 연구에서는 용해성 봉합사 같은 임상에서 안전하게 사용되는 합성재료들이나, 알지네이트나 콜라겐 같은 천연재료가 사용되었으나 최근 여러 연구자들은 다양한 기능을 가진 생체와 유사한 다양한 생체적합물질을 개발하여 임상적용전 시험관과 동물실험으로 그 안정성과 효용성에 대한 연구를 하고 있다. 이러한 생체재료들은 세포와 조직형성을 위한 구조적인 버팀대 역할을 하게 되는데 세포와 접촉하면서 세포에 중요한 영향을 미쳐 다양한 성장인자를 분비케 하거나, 세포의 성장분화에도 영향을 미친다. 조직공학을 위한 이상적인 생체물질은 생체적합성이 있어야 하고, 재생하려는 조직에 적합한 물리적성상이 있어야 하며 분해될 때에도 적절한 강도를 유지하고 분해산물이 무독성이고, 생체에 유해한 불순물이 포함되지 않아야 하고, 조직형성을 방해하는 생체반응이 없어야 하며, 재생하려는 조직에 과 유사한 구조로 제작할 수 있으며 제조단가가 적절해야 하고, 멸균 시 화학적 물리학적 성상에 변화가 없고 안정성이 있어 저장을 오래 할 수 있고 세포의 증식이나 분화 및 유전자 발현 같은 세포반응을 촉진할 수 있는 것이 이상적이다. 현재 조직공학에 이용되는 생체재료로서 위의 모든 조건을 갖춘 재료는 없다. 전세계 재료공학연구자들은 위에 나열한 조건을 모두 갖춘 보다 완벽한 재료를 개발하기 위해 노력하고 있다. 이러한 생체재료는 그 재료의 종류와 양, 표면적, 표면처리방법, 삽입된 부위에 따라 수일에서 몇 년까지 시간을 두고 분해가 되고, 분해가 진행됨에 따라 그 기계적 강도도 점점 약해지게 된다. 또한 폴리락티드(poly-lactic

acid, PLA)나 폴리글리코사이드(poly-glycolic acid) 같은 재료들은 자가축매반응에 의해 분해되면서 산성환경을 만들어 심한 경우 조직괴사를 야기시키기도 한다. 이런 측면에서 분해속도와 구조를 적절하게 조절하는 것이 무엇보다 중요하다.

분해성이나 세포와의 반응이 인체조직과 유사한 천연재료는 여러가지 측면에서 장점이 많지만 순도 높게 분리하기 쉽지 않고, 멸균소독이나 보관이 어렵고 면역성을 고려해야 한다는 점에서 실제 사용에 한계가 있다. 콜라겐, 젤라틴, 실크 같은 단백질, 키토산, 하이알루론산 같은 다당류, 또는 세포외기질 추출물이나 뉴클레오티드 등 기본 재료로 다양한 화학적 가교반응을 가해서 분해속도를 조절하려는 연구도 시도되고 있다. 조직공학에서 이용되는 합성재료들은 다양한 화학적 구조를 가지고 있는데 그중 폴리에스테르, 폴리글리콜릭, 폴리락틱, 폴리카프로락톤, 폴리글리코릭-락틱 중합체 등이 가장 흔하게 사용되는 재료들이다. 이들 재료들은 분자량, 성분, 결정체 양상을 조절하여 기계적 강도, 분해속도를 적절하게 조절할 수 있다. 이러한 화학합성 재료들은 그 화학구조에서 보듯이 친수성인 세포외기질과는 달리 반수성이다. 생체 내에서 반수성 표면에 조직이 닿을 때 단백질이 비특이적으로 흡착되어 변형이 되면 이물반응을 유도하기도 한다[9]. 하이드록시아페타이트나 생활성유리 같은 세라믹 생체재료는 뼈같이 딱딱한 조직을 재생할 때 사용되는데 잘 부서지기 쉬우나 뼈와 잘 유착되고, 뼈유도성이 높다는 장점이 있다. 하이드로겔은 콜라겐, 젤라틴, 하이알루론산, 알지네이트 같은 천연 하이드로겔과, 폴리에틸렌글리콜 같은 합성물질도 있는데, 가교결합되어 건조중량의 1,000배까지 물을 흡수하여 액상형태로 되어 생체조직과 유사하고, 세포결합 리간드가 세포외기질에 있는 분자와 결합이 쉽게 되어 세포상호작용에 유리하다[10]. 안정성유지와 분해속도는 다양한 물리학적, 화학적 결합 정도에 따라 결정되고 외부 환경에 따라 분자형태가 변화되거나 젤처럼 만들 수 있어 세포나 약제와 혼합해서 주사기로 주입할 수 있다. 세포의 반응으로 기질 메탈로프로테아제란 효소가 분비되면 생체재료는 적절히 분해되어 조직이 형성되고 자라게 되는데 이러한 조직의 형성되는 정도에 따라 생체재료가 적절한

속도로 분해 되는 것이 가장 이상적이다. 또한 임상에서 흔히 이용되는 합성 생체재료에서 간혹 볼 수 있는 이물반응이 없는 생체재료를 개발하는 것도 큰 숙제라고 할 수 있다. 약 30 μm 크기의 다공성 폴리머와 작은 반경의 파이버를 사용하여 섬유화를 줄이거나 세포접촉리간드의 부착에 영향을 미치는 생체재료 표면의 화학적성상을 조절하거나, 면역반응을 야기시킬 수 있는 호스트단백이 변성을 줄여 비특이성 흡착을 최소화 시키면 이러한 이물반응을 줄일 수 있다고 보고 되었다[11].

조직공학목적으로 사용되는 생체재료는 광조형공정법, 섀택적 레이저소결법, 삼차원 프린팅법, 왁스프린팅법, 혼합 침적 모델링기법, 바이오플로터 기법, 폴리머 분상기법, 입자템플레이팅, 기포템플레이팅, 전기방사법 등 다양한 공학적 방법으로 다공성 스케폴드나, 하이드로겔, 망사형, 마이크로 스피어 형태로 만들어 진다[12]. 조직공학을 목적으로 만들어 지는 생체재료는 만들려고 하는 조직에 따라 그 디자인을 다르게 해야 하는데 각 각의 조직에 적합한 디자인이 명확하게 규정되어 있지는 않지만 조직재생에 영향을 미칠 수 있는 중요한 변수로서, 생체재료의 성분(화학적 성분, 분자량, 분산성), 스케폴드 내부 삼차원적 다공구조, 생체 재료의 표면의 화학적 성상 및 표면양상(거친 정도), 분해양상 및 분해산물, 분해 전과 후의 기계적 강도, 세포의 이동, 증식, 분화 및 세포부착 등 세포에 미치는 영향 제조의 재현성 및 경제성, 생체재료 성상에 영향을 주지않고 소독이 가능한지 등을 고려해야 한다.

스케폴드는 분자운반, 세포이동, 혈관 신생이 가능할 정도의 다공성을 가져야 한다. Polylactic-co-glycolic acid (PLGA) 스케폴드인 경우 최소한 300 μm 이상의 다공성이 있어야 조직생존이 가능하다고 보고된다[13]. 스케폴드는 전체 볼륨의 90%까지의 다공성을 가지게 제작될 수 있지만 다공성이 클수록 기계적 강도가 약해지는데, 생체재료의 기계적 강도는 조직공학으로 재생하려는 조직의 강도와 비슷하게 만드는 것이 이상적이다. 중배엽유래 줄기세포는 스케폴드 강도에 따라 분화에 영향을 받는다. 뇌조직과 유사한 탄성률을 지닌 연성의 하이드로겔을 사용하였을 때는 신경성 분화가, 조금 강도를 높여 근육과 유사한 탄성률의 하이드

로겔에서는 근육성분화, 뼈와 같은 강도의 하이드로겔에서는 골성분화가 되는 것을 관찰할 수 있다. 즉 기계적 강도에 따라 세포의 형태, 유전자발현, 세포이동이나 분화에 영향을 미치게 된다는 것을 알 수 있다[8]. 최근에는 생체재료를 이용하지 않고 세포 덩어리 자체를 삼차원적인 프린터 기법으로 원통모양으로 만들어 배양해서 조직을 재생하는 새로운 방법도 시도되고 있다[14].

생활성분자는 자연적인 조직의 형태형성에 중요한 역할을 하게 되는데, 공간적, 시간적으로 어떠한 양상으로 유리되는 조직형성에 중요한 영향을 미치게 된다. 성장인자나, 항염 펩타이드, 기타 약제 같은 생활성분자들을 생체재료에 포함시켜 조직형성 과정의 적정시점에서 적절한 양과 속도로 공급하면 효율적인 조직재생을 도모할 수 있다.

성장인자는 세포유착, 증식, 분화, 이동이나 유전자 발현에 영향을 미쳐 세포운명을 조절한다. 이러한 성장인자는 생체 내에서는 비교적 반감기가 짧기 때문에 일정하게 공급될 수 있도록 적절히 조절해주는 것도 중요하다. 예를 들면 자가지방을 젤라틴 마이크로스피어에 섬유아세포 증식인자를 결합시켜 생체에 주입하였을 때 증식인자가 유리되어 많은 양의 지방조직 생성이 가능하다[15].

3. 혈관신생-영양공급

연골조직은 조직 내에 직접적인 혈류가 없어도 주위 혈관에서 영양과 산소공급이 확산에 의해 이루어지고, 힘줄과 인대도 비교적 단위면적당 세포수가 적어 산소와 영양공급이 크게 필요 없으나 대부분의 조직들은 조직내에 미세혈관으로부터 끊임 없는 영양과 산소공급을 필요로 한다. 세포는 미세혈관에서 150 μm 이상 떨어져 있으면 생존할 수가 없다[16]. 뇌조직, 근육, 콩팥내의 세포들은 저산소 환경에 매우 예민하나 줄기세포나 태아조직은 저산소 환경에서 비교적 잘 견딜 수 있다. 이러한 혈관생성은 성공적인 조직재생에 중요하게 고려해야 할 부분이다. 체외에서 조직을 재생시켜 이식하면 혈관이 조직내로 자라들어 올 때까지 이식된 조직은 주위 혈관에서 확산에 의해 영양과 산소를 공급받게 된다. 이때 혈관형성 성장인자를 사용하거나 내피세포와 중배엽유래 줄기세포를 같이 배양하여 혈관형성을 촉진하기도

하고 세포를 허혈 환경에 전처리하여 새로운 환경에 미리 적응하게 하기도 한다. 또한 스캐폴드를 위에 20일간 삽입하여 스캐폴드 내로 혈관이 자라 들어오게 한 후, 이를 같은 유전자를 가진 다른 쥐에 이식하면, 이식 6일째 기존 스캐폴드 내로 자랐던 혈관이 주변 혈관과 연결되어 재관류가 이루어진다는 보고도 있다[17]. 최근에는 유방재건이나 유방확대 수술 시 외부에서 장기간 음압을 가하여 유방을 빨아들여 피부와 유방조직을 느슨하게 만들어 잠재공간을 만든 다음 엉덩이나 복부 지방에서 흡입한 지방을 원심분리처리 후 주입하게 되면 이식한 지방생존율이 높아진다는 보고가 있는데 이는 흡입자극으로 생성된 염증성 사이토카인이 혈관재생을 자극하게 하고 유방조직 주변의 줄기세포를 유인함으로써 이식된 지방조직의 생존을 높이는 기전이다[18].

조직공학으로 재생될 수 있는 조직

1. 피부

피부는 진피조직을 만들고 그 위에 케라틴 세포층을 덮어 만들 수 있다. 조직공학적으로 재생된 피부는 만성창상이나 화상치료에 이용될 수도 있지만[19], 시험관에서 난치성질환인 백반증, 건선증 같은 피부질환을 재현하여, 신약의 안정성, 효용성 검사에 상업적으로 이용될 수 있다. 조직공학적 기법을 이용한 피부재생연구도 조직공학의 세 가지 구성요소인 세포, 스캐폴드, 혈관재생 측면을 고려하여 실험디자인을 해야할 것이다. 섬유모세포를 이용하면 골라겐구조를 보다 더 완전하게 재생시킬 수 있을 뿐 아니라 호중구세포가 세균을 공격하는데 방해가 되어 섬유모세포의 국소적 노화를 유발시키는 바이오필름형성 문제를 해결할 수 있다. 섬유세포가 생체재료와 합쳐지게 되면 호중구세포, 표피유래줄기세포, 중배엽유래 줄기세포가 활성화되어 창상치유가 촉진된다. 또한 모낭세포를 신생아의 진피섬유아세포와 같이 배양하여 모낭과 피지선을 포함하는 조직공학적 피부를 만들 수 있다면 완벽에 가까운 피부재생이 가능하다.

피부에서 스캐폴드의 역할이 매우 중요하다. 창상면에서 스캐폴드로 혈관과 진피조직이 자라 들어오게 되는데 이 스

캐폴드에 생체모방 단백을 첨가하거나 스캐폴드 표면에 화학적, 지형적 성상에 변화를 주면 세포의 성장과 분화 등 세포운명에 영향을 줄 수 있다. 그러나 최근에 만들어진 피부 대체품 들은 창상면과 유착이 잘 되지 않아 혈관생성이 저하되어 이식한 세포에 불리한 영향을 준다는 단점이 있다[19-21]. 줄기세포는 허혈환경에서 혈관형성성장인자를 분비하므로 혈관재생을 촉진하기 위해 재생된 진피스캐폴드에 줄기세포를 올려놓기도 한다. 이러한 줄기세포의 창상치유 효과는 조직공학과 결합되어 창상치료제로도 사용될 수 있을 것이다[22-25].

2. 지방조직

지방조직을 조직공학적 기법으로 재생할 수 있다면 폴란드 증후군, 롬버그 질환, 노화, 유방재건이나 외상, 화상, 방사선조사 후 발생할 수 있는 결손부위 재건에 유용하게 사용될 수 있을 것이다. 지방세포는 허혈환경에 매우 약해서 세포배양이 어렵고 생체내에서는 증식하지 않기 때문에 지방조직에서 얻은 SVF나 골수에서 얻은 전구세포를 이용하여 조직공학적 기법으로 지방재생을 시도하기도 하지만 시간과 비용이 많이 소요되어 실제 임상에서는 지방조직주입 방법을 개선함으로써 지방생존율을 높인다.

이식된 지방의 운명에 대한 다양한 가설이 있는데, 이식한 세포가 생존하여 지방조직을 만드는지, 아니면 이식한 지방 세포성분에서 나오는 다양한 신호가 내생적으로 지방을 만들게 하는지에 대한 논란이 많다. 섬유아세포 성장인자를 넣은 매트릭젤과 인체 지방조직과 인체 지방줄기세포를 각각 위에 이식하였을 때, 두 그룹 모두에서 새롭게 생성된 지방은 이식한 지방조직이나 줄기세포에서 유래된 것이 아니고 내생적으로 위에서 유래된 지방조직이라는 보고가 있다[26]. 이식한 조직이나 세포 주위로 식세포가 보이는 것으로 봐서 이식한 조직이나 세포에서 나오는 신호가 염증반응을 일으켜 내생적으로 지방을 형성하게 하는 것으로 해석할 수 있다. 동물실험에서 주입후 4주째 내생적으로 생성된 지방이 보이기 시작하고 8주가 되면 최고조에 달한다. 이는 이식한 지방이 8주째까지 남아있는 것을 볼 수 있는데 8주째 내생적으로 생성된 지방이 이를 대체한다고 볼 수 있다.

흡입지방을 처리한 SVF와 같이 인체에 주사하였을 때 이식율이 높아진다는 보고도 있는데 이는 이식된 줄기세포가 생존해서 지방세포로 바뀌는지, 아니면 이식한 줄기세포의 염증성 파라크라인 효과로 내성적 지방생성을 촉진시켜 이식이 높은 것 처럼 보이게 하는지는 확실하지 않다. 기질의 기계적인 강도는 지방재생과 혈관재생에 중요한 역할을 한다. 매트릭젤, 근육에서 만들어진 마이오젤, 지방세포의 기질로 만들어진 생체재료가 지방생성이나 혈관생성에 효과적이라는 여러 보고가 있으나 높은 제조비용이나 법적규제 등을 해결해야 할 과제가 남아있다.

3. 근육

조직공학적 기법으로 골격근육을 재생할 수 있다면 근육이형성증이나 외상이나 암절제후에 생긴 근육결손, 신경손상으로 인한 근육위축을 치료할 수가 있고 운동생리학이나 다양한 근육질환모델, 신약의 안전성 효용성 검사 등에 이용할 수 있을 뿐 아니라 동물 줄기세포를 이용하여 식용고기를 만들 수도 있을 것이다.

근육은 다핵세포로 이루어진 근육섬유가 신경말단에서 분비되는 아세틸콜린에 반응하여 수축을 하는 기능을 가진 매우 복잡한 구조이다. 근육조직 재생에는 근섬유 기저층에 있는 줄기세포의 일종인 위성세포가 이용된다. 골격근육에 있는 근육모세포는 시험관에서 배양 증식이 가능하나 이차원 계대배양은 거듭할수록 근육세포로 분화가 어렵다. 콜라겐과 매트릭젤을 이용한 삼차원 배양이나, 생체내 세포의 기질내에서는 세포증식과 분화가 가능하다[27]. 섬유모세포와 근육모세포를 같이 배양하거나, 피브린젤 이나 라미닌을 이용해서 배양하면 배양기간이 짧고 근수축력이 조금 더 우수하다. 삼차원구조의 콜라겐젤에 근육모세포를 배양한 다음 전기자극을 주면 근관으로 분화되며, nox 유전자 표현이 증가하고 혈관내피 성장인자가 상승된다[28]. 또한 바이오리액터 등을 이용해서 섬유모세포에 주기적으로 기계적인 자극을 주어 실제 근육세포와 비슷한 환경에 처하게 하면 수축력이 증가하고, 삼차원 기질에 신경조직과 같이 배양하면 아세틸콜린 수용기가 있는 신경-근 접촉점도 생성되게 되어 근육기능을 향상시킬 수 있다는 연구보고도 있다[29].

세포의 기질의 성분도 섬유모세포의 분화와 배열에 결정적인 역할을 한다. 폴리글리코락틱산 메시(PLGA mesh), 폴리카프로락탐(polycaprolactam, PCL), 키토산, 유리섬유, 극소형 나노섬유, 파상형 실리콘 등은 세포 배열과 분화, 증식에 영향을 미친다. 그러나 이러한 인조재료들을 생체에 사용하기 위해서는 탄력성, 독성, 생분해성도 같이 고려되어야 한다. 탈세포시킨 골격근육 같은 생체 스케폴드 사용은 면역성을 고려하지 않아도 되고, 조직에서 다양한 활성 사이토카인, 성장인자를 포함하므로 매력적인 생체재료가 될 수 있을 것이다. 실제 근육모세포를 탈세포화시킨 근육기질에 심은 후 쥐 복부벽 결손부위에 이식하였을 때 기존 근육과 잘 융합되고 혈관생성도 잘 되는 것을 관찰할 수 있다[30]. 그러나 이러한 의미 있는 연구결과에도 불구하고 충분한 크기의 근육을 재생시키는 데는 아직 난관이 많아 조직공학적 기법으로 근육이형성증에서 근육을 성공적으로 만들어줄 수 있을지 의문이 있다. 하나의 대안으로 유전자 전이기법으로 섬유모세포에서 인슐린유사 성장인자, 적혈구생성촉진인자, 혈관생성인자를 만들 수 있게 할 수 있다면 근육재생에 도움이 될 수 있을 것이다.

4. 신경

신체 각 부위에 있는 신경은 그 미세환경이 각각 다르므로 조직공학적 적용도 달라야 한다. 끊어진 말초신경 양쪽에 속이 비어있는 튜브를 사용하여 신경재생을 유도하면 10 mm 까지의 간격은 신경이 자라나오게 할 수 있다. 이때 사용되는 튜브는 분해가 되지 않는 폴리머를 사용된다. 분해성인 콜라겐 신경유도 튜브도 상품화 되어 사용된다. 영장류실험에서 10 mm 이상 신경간격이 있는 경우에 생체섬유나 하이드로젤에 세포를 첨가하는 경우 성공적으로 복구될 수 있었다[31]. 신경재생을 유도하는 튜브 내측면에 일정한 방향을 배열된 피브린이나 콜라겐을 코팅시키면 보다 큰 신경결손 간격이 있는 경우에도 신경섬유재생을 유도할 수 있다. 스케폴드에 슈반세포를 이식하거나 다양한 신경영양인자, 약제를 적절히 유리되게 하여 신경재생을 유도하는 보고도 있다[32].

중추신경손상이 있을 때는 주변환경이나 세포반응은 재생을 억제하는 방향으로 진행된다. 척추신경 손상이 있을 경우

줄기세포가 신경재생에 효과가 있는데 그 자세한 기전은 아직 알려지지 않았다. 중추신경에서는 손상부위에 줄기세포를 직접 사용하면 신경세포로 분화되지 않는 경향을 보이기 때문에 줄기세포에서 유래된 신경전구세포를 사용하는 것이 보다 효율적이다. 구멍이 일정한 방향으로 배열되게 만든 다공성 스케폴드를 사용하면 신경돌기와 세포가 스케폴드 속으로 일정한 방향으로 자라 들어오게 되어 신경재생에 유리하다[33]. 다양한 세포와 생체재료, 생체활성분자를 이용한 신경조직의 조직공학적 재생연구가 시도 되고 있어 향후 신경손상치료의 획기적인 발전이 기대된다.

5. 혈관

실험실에서 혹은 생체에서 자가이식, 이종이식이나 비흡수성 폴리머 인조혈관 등을 대치해서 사용할 수 있는 조직공학 혈관을 만들어 사용하는 시도가 있다. 천연재료 혹은 합성재료로 만들어진 흡수성 스케폴드에 혈관생성 성장인자를 넣은 다음 내피세포를 이식하면 미세혈관이 더 많이 자라 들어 온다는 것을 관찰하였는데 실제 임상사용을 목적으로 폴리에스테르 메시와 콜라겐으로 만들어진 인조혈관이 상품화되어 사용되고 있다[34]. 또한 다른 시도로서 스케폴 없이 시험관에서 섬유아세포를 메시형으로 배양하고 이를 바닥의 세포외기질과 함께 말아 튜브형태로 만든 다음 안쪽 면에 환자의 내피세포를 뿌려 자라게 하여 신생혈관을 만드는 방법도 고안되고 있다[35].

플라스틱, 하이드로겔 혹은 탈세포화시킨 인간피부를 기질로 하고 그 위에 내피세포나 시험관 내에서 내피모세포, 인체 제대정맥내의 내피세포를 배양하면 미세혈관 같은 구조의 혈관네트워크가 만들어진다. 미세한 마이크로채널 형태로 만들어진 스케폴드를 사용해서 혈관망을 삼차원적으로 만들 수 있다[36]. 최근 연구들은 다양한 세포 덩어리를 삼차원 프린팅 기술을 이용하여 튜브형태로 만들수 있는데 이렇게 하면 혈관 네트워크가 환자의 순환기와 연결되는 장기를 제조할 수 있다[14].

시험관 내에서 만들어진 혈관네트워크를 환자의 기존의 혈류와 연결시켜주는 것이 관건인데, 면역결핍 쥐를 이용한 실험에서는 새롭게 만들어진 혈관이 기존혈관과 연결되는

것을 볼 수 있다. 이렇게 다양한 방법으로 외부에서 혈관을 만들어 이식하게 되면 면역거부현상이나 만들어진 혈관과 기존혈관과 연결되는 시점 등이 문제가 될 수 있어 내생적으로 혈관생성이 되게 하는 것이 보다 바람직하고 이에 대한 연구가 필요하다.

6. 뼈

뼈의 조직공학에서는 스케폴드의 적절한 기계적 강도가 중요하고, 스케폴드에 뼈세포가 붙어 증식하고 이동할 수 있게 충분한 골전도성이 있어야 한다. 베타3칼슘인산염(β -tricalcium phosphate), 수산화인회석(hydroxyapatite) 같은 세라믹은 적절한 강도와 골전도성이 있어 뼈의 대체물로 실제 임상에서 사용되고 있다. PLA, PCL 같이 서서히 분해되는 폴리머 또한 조직공학적 이용목적으로 연구되고 있는 재료이다. PCL로 만들어진 재료는 이미 미국 식품의약국의 승인을 받아 임상에 사용되고 있다. 생체에서 뼈조직과 연부조직을 단단하게 결합시킬 수 있어 생 활성재료라고 불리는 실리카 함유 칼슘, 나트륨, 무기인 산화물 도 상품화되어 사용된다.

스케폴드는 세포와 영양분의 이동이 가능할 수 있게 300 μ m 이상의 다공성을 지니고 있어야 하지만 새로운 뼈조직이 형성될 때까지 어느 정도의 주변조직에서 오는 기계적 압박도 이길 수 있어야 하므로 다공성과 함께 재료의 성분, 강도 등이 중요하다. 순수 세라믹을 이용하면 다공성이 충분하여 혈관재생은 잘되지만 충분한 강도를 유지하기가 어려워 임상에 사용하기에 제한이 있다. 이러한 문제를 해결하기 위해 PLA에 하이드록시아파타이트(hydroxyapatite) 나노입자를 섞은 복합재료를 사용하기도 하고[10], 적절한 다공성과 기계적 강도를 가지고 있는 산호도 뼈의 조직공학연구에 많이 이용된다.

뼈 재생에 사용되는 스케폴드는 다공성과 기계적 강도도 고려해야 하지만, 뼈형성단백(bone morphogenetic protein)같은 골유도성장인자를 스케폴드 내에 첨가하여 적절한 속도로 내보내게 제조함으로써 뼈조직 성장을 촉진시킬 수 있게 만든다. 뼈형성단백 외에도 형질전환성장인자- β 1(transforming growth factor- β 1), 섬유아세포성장인자-2(fibroblast growth factor-2), 혈소판유래성장인자(platelet

derived growth factor) 등도 골형성을 촉진시키는 효과가 있다고 알려져 있다[37]. 실제 임상에서 척추수술 시 뼈형성 단백을 사용하면 좋은 효과가 있다는 것이 증명되었으나 가격이 매우 비싸 통상적으로 사용되지는 않는다. 스케폴드에 골수줄기세포를 포함하는 골수유래 기질세포 같은 뼈전구세포를 시험관에서 자라게 한 다음 생체에 이식시키면 세포가 스케폴드 내로 들어가 붙은 후 증식 분화되면 세포의 기질을 형성하여 뼈를 재생시킬 수 있으나 이러한 세포를 이용한 뼈의 재생에서 재생된 뼈의 성장이 이식한 세포에서 유래한 것 인지 대해서는 아직 확실히 밝혀지지 않았다. 조직공학적으로 뼈를 재생시킬 수 있다면 삼차원 컴퓨터단층촬영과 삼차원 프린트를 이용하여 뼈의 결손부위를 정확하게 재건할 수 있을 것이다[38].

7. 연골

연골조직은 그 산소와 영양공급을 주변의 혈관에서 확산에 의해 받기 때문에 조직공학적 기법으로 재생하기에 비교적 용이하여 실제 임상에서 이용되기도 하지만 아직 그 효용성, 일정한 재현성, 적용할 수 있는 범위 등이 확실하게 적립되지 않아 보편적으로 사용하기에는 한계가 있다. 관절연골 결손의 치료에서 자가세포를 이용한 치료법은 이미 미국 식품의약국 허가를 받아 사용되기도 하지만 세포배양에 많은 시간과 노력이 소요되고 충분한 크기의 결손치료에는 한계가 있어 보편적으로 사용되지는 않지만, 배양이 잘되는 줄기세포를 연골세포로 분화시켜 사용하는 것은 또 하나의 대안이 될 수 있을 것이다. 연골세포는 삼차원 구조물에서 기능을 하여 세포의 기질을 분비하여 새로운 연골조직재생이 가능하기 때문에 적절한 스케폴드 디자인이 필요하다. PLGA, PCL, 하이알루론산, 젤라틴, 콜라겐을 이용한 다양한 흡수성 폴리머로 만든 재료들이 다양한 구조의 스케폴드나 미세구형으로 만들어져 사용되는데, 실제 상품화되어 임상에서 사용된다. 스케폴드에 세포를 심어 시험관에서 자라게 한 다음 생체에 이식하거나, 스케폴드만 넣어 주변 조직에서 세포가 스케폴드내로 자라 들어오게 하는 방법 등도 사용되는데 이렇게 세포를 이용할 경우 세포주변의 물리적인 미세환경이 매우 중요하다. 또한 다양한 바이오횜타를 이용하여 연골세포가 심어진 스

케폴드에 중력과 유체 역학적인 힘을 주어 생체환경과 비슷하게 만들어 주면 보다 양질의 연골조직을 얻을 수 있다[39].

8. 요로기계

요관재건을 위해 인체방광조직에서 콜라겐기질을 얻어 요관위에 올려놓거나 작은창자의 점막하조직을 튜브형태로 만들어 이식시키는 시도도 있었지만 요관을 완전하게 재생하지는 못하였다[40]. 방광재건을 위해서는 방광조직에서 얻은 자가세포를 흡수성 스케폴드에 심어 배양한 다음 인체에 이식하였더니 방광조직이 재생되고, 방광기능이 수 년간 개선되었다는 보고가 있었다. 이 연구는 2009년 미국 식품의약국 2단계 임상시험이 완료되었으나 아직 광범위하게 사용되기에는 더 많은 연구가 필요하다.

요약 및 결론

1990년대 초반 Vacanti 박사팀의 획기적인 조직공학기법 개발로 임상의사들은 환자의 결손부 복구나 기능적 재건에 대한 긍정적인 전망을 가지게 되었지만 세포배양 과정에서 세포변형은 해결해야 할 큰 과제였다. 그러나 곧 무한한 복제능과 분화능이 있는 줄기세포를 조직공학에 응용함으로써 조직공학기법은 임상적응에 한 단계 더 다가서게 되었다. 또한 체세포를 줄기세포로 역분화시키는 방법개발로 줄기세포 사용의 윤리적인 논란은 피할 수 있고, 재료공학, 생물학 등 기초과학의 많은 발전이 있었지만, 환자에게 보편적인 시술 방법으로 사용되기 위해서는 암발생 가능성, 면역 거부반응 등 실제 환자에게 생길 수 있는 모든 부작용에 대한 기전을 밝히고 이를 해결할 수 있는 연구가 필요하다.

찾아보기말: 조직공학; 재생의학; 줄기세포; 재료공학; 재건수술

ORCID

Woo Seob Kim

<http://orcid.org/0000-0002-4104-3926>

REFERENCES

1. Rhie JW. Adipose-derived stem cells: characterization and clinical application. *J Korean Med Assoc* 2012;55:757-769.
2. Lee JH, Lee KH, Kim MH, Kim JP, Lee SJ, Yoon J. Possibility of undifferentiated human thigh adipose stem cells differentiating into functional hepatocytes. *Arch Plast Surg* 2012;39:593-599.
3. Rodeheffer MS, Birsoy K, Friedman JM. Identification of white adipocyte progenitor cells in vivo. *Cell* 2008;135:240-249.
4. Kocher AA, Schuster MD, Szabolcs MJ, Takuma S, Burk-hoff D, Wang J, Homma S, Edwards NM, Itescu S. Neovascularization of ischemic myocardium by human bone-marrow-derived angioblasts prevents cardiomyocyte apoptosis, reduces remodeling and improves cardiac function. *Nat Med* 2001;7:430-436.
5. Aziz Aly LA, Menoufy HE, Ragae A, Rashed LA, Sabry D. Adipose stem cells as alternatives for bone marrow mesenchymal stem cells in oral ulcer healing. *Int J Stem Cells* 2012;5:104-114.
6. Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell* 2007;131:861-872.
7. Kang HJ, Kim JY, Lee HJ, Kim KH, Kim TY, Lee CS, Lee HC, Park TH, Kim HS, Park YB. Magnetic bionanoparticle enhances homing of endothelial progenitor cells in mouse hindlimb ischemia. *Korean Circ J* 2012;42:390-396.
8. Discher DE, Janmey P, Wang YL. Tissue cells feel and respond to the stiffness of their substrate. *Science* 2005;310:1139-1143.
9. Castner DG, Ratner BD. Biomedical surface science: foundations to frontiers. *Surf Sci* 2002;500:28-60.
10. Hoffman AS. Hydrogels for biomedical applications. *Adv Drug Deliv Rev* 2002;54:3-12.
11. Boudou T, Crouzier T, Ren K, Blin G, Picart C. Multiple functionalities of polyelectrolyte multilayer films: new biomedical applications. *Adv Mater* 2010;22:441-467.
12. Hollister SJ. Scaffold design and manufacturing: from concept to clinic. *Adv Mater* 2009;21:3330-3342.
13. Cao Y, Mitchell G, Messina A, Price L, Thompson E, Penington A, Morrison W, O'Connor A, Stevens G, Cooper-White J. The influence of architecture on degradation and tissue ingrowth into three-dimensional poly(lactic-co-glycolic acid) scaffolds in vitro and in vivo. *Biomaterials* 2006;27:2854-2864.
14. Norotte C, Marga FS, Niklason LE, Forgacs G. Scaffold-free vascular tissue engineering using bioprinting. *Biomaterials* 2009;30:5910-5917.
15. Vashi AV, Abberton KM, Thomas GP, Morrison WA, O'Connor AJ, Cooper-White JJ, Thompson EW. Adipose tissue engineering based on the controlled release of fibroblast growth factor-2 in a collagen matrix. *Tissue Eng* 2006;12:3035-3043.
16. Folkman J, Hochberg M. Self-regulation of growth in three dimensions. *J Exp Med* 1973;138:745-753.
17. Demarchez M, Hartmann DJ, Prunieras M. An immunohistological study of the revascularization process in human skin transplanted onto the nude mouse. *Transplantation* 1987;43:896-903.
18. Khouri RK, Schlenz I, Murphy BJ, Baker TJ. Nonsurgical breast enlargement using an external soft-tissue expansion system. *Plast Reconstr Surg* 2000;105:2500-2512.
19. Kim H, Son D, Choi TH, Jung S, Kwon S, Kim J, Han K. Evaluation of an amniotic membrane-collagen dermal substitute in the management of full-thickness skin defects in a pig. *Arch Plast Surg* 2013;40:11-18.
20. Kang BS, Na YC, Jin YW. Comparison of the wound healing effect of cellulose and gelatin: an in vivo study. *Arch Plast Surg* 2012;39:317-321.
21. Jeon H, Kim J, Yeo H, Jeong H, Son D, Han K. Treatment of diabetic foot ulcer using matrigel in comparison with a skin graft. *Arch Plast Surg* 2013;40:403-408.
22. Yang JD, Choi DS, Cho YK, Kim TK, Lee JW, Choi KY, Chung HY, Cho BC, Byun JS. Effect of amniotic fluid stem cells and amniotic fluid cells on the wound healing process in a white rat model. *Arch Plast Surg* 2013;40:496-504.
23. Sung HM, Suh IS, Lee HB, Tak KS, Moon KM, Jung MS. Case reports of adipose-derived stem cell therapy for nasal skin necrosis after filler injection. *Arch Plast Surg* 2012;39:51-54.
24. Salibian AA, Widgerow AD, Abrouk M, Evans GR. Stem cells in plastic surgery: a review of current clinical and translational applications. *Arch Plast Surg* 2013;40:666-675.
25. Choi J, Minn KW, Chang H. The efficacy and safety of platelet-rich plasma and adipose-derived stem cells: an update. *Arch Plast Surg* 2012;39:585-592.
26. Stillaert F, Findlay M, Palmer J, Idrizi R, Cheang S, Messina A, Abberton K, Morrison W, Thompson EW. Host rather than graft origin of Matrigel-induced adipose tissue in the murine tissue-engineering chamber. *Tissue Eng* 2007;13:2291-2300.
27. Min BH, Li TZ. Stem cells in musculoskeletal system for clinical application. *J Korean Med Assoc* 2011;54:491-501.
28. Kanno S, Oda N, Abe M, Saito S, Hori K, Handa Y, Tabayashi K, Sato Y. Establishment of a simple and practical procedure applicable to therapeutic angiogenesis. *Circulation* 1999;99:2682-2687.
29. Dennis RG, Kosnik PE 2nd. Excitability and isometric contractile properties of mammalian skeletal muscle constructs engineered in vitro. *In Vitro Cell Dev Biol Anim* 2000;36:327-335.
30. De Coppi P, Bellini S, Conconi MT, Sabatti M, Simonato E, Gamba PG, Nussdorfer GG, Parnigotto PP. Myoblast-acellular skeletal muscle matrix constructs guarantee a long-term repair of experimental full-thickness abdominal wall defects. *Tissue Eng* 2006;12:1929-1936.
31. Bellamkonda R, Aebischer P. Review: tissue engineering in the nervous system. *Biotechnol Bioeng* 1994;43:543-554.

32. Straley KS, Foo CW, Heilshorn SC. Biomaterial design strategies for the treatment of spinal cord injuries. *J Neurotrauma* 2010;27:1-19.
33. Yoo SJ, Kim J, Lee CS, Nam Y. Simple and novel three dimensional neuronal cell culture using a micro mesh scaffold. *Exp Neurobiol* 2011;20:110-115.
34. Hwang SJ, Kim SW, Choo SJ, Lee BW, Im IR, Yun HJ, Lee SK, Song H, Cho WC, Lee JW. The decellularized vascular allograft as an experimental platform for developing a biocompatible small-diameter graft conduit in a rat surgical model. *Yonsei Med J* 2011;52:227-233.
35. Konig G, McAllister TN, Dusserre N, Garrido SA, Iyican C, Marini A, Fiorillo A, Avila H, Wystrychowski W, Zagalski K, Maruszewski M, Jones AL, Cierpka L, de la Fuente LM, L'Heureux N. Mechanical properties of completely autologous human tissue engineered blood vessels compared to human saphenous vein and mammary artery. *Biomaterials* 2009;30:1542-1550.
36. Stosich MS, Moioli EK, Wu JK, Lee CH, Rohde C, Yoursef AM, Ascherman J, Diraddo R, Marion NW, Mao JJ. Bioengineering strategies to generate vascularized soft tissue grafts with sustained shape. *Methods* 2009;47:116-121.
37. Van Gaalen SM, Kruijt MC, Geuze RE, de Bruijn JD, Alblas J, Dhert WJ. Use of fluorochrome labels in in vivo bone tissue engineering research. *Tissue Eng Part B Rev* 2010;16:209-217.
38. Zhao L, Patel PK, Cohen M. Application of virtual surgical planning with computer assisted design and manufacturing technology to cranio-maxillofacial surgery. *Arch Plast Surg* 2012;39:309-316.
39. Ohba S, Hojo H, Chung UI. Current progress on tissue engineering of bone and cartilage. *Endocrinol Metab* 2012;27:1-11.
40. Yoo JJ, Olson J, Atala A, Kim B. Regenerative medicine strategies for treating neurogenic bladder. *Int Neurourol J* 2011;15:109-119.

Peer Reviewers' Commentary

본 논문은 선천성 기형이나 외상 등 결손부위를 형태적, 기능적으로 복원시키기 위한 재건성형에 중요한 조직공학의 기본개념, 최신동향 및 앞으로의 전망에 대하여 서술한 논문이다. 조직공학의 전체적인 개념으로부터 각각의 구성요소인 세포, 기질-세포지지 구조, 혈관신생-영양공급에 대한 상세한 연구 자료들과 최근까지 연구 개발되고 있는 각 장기들에 대해 체계적으로 기술하였다. 또한 줄기세포를 이용한 조직공학적 접근의 시도 등 조직공학에서의 한계점에 대한 해결책을 제시하였다. 임상의 및 관련 종사자들에게 조직공학의 현안 및 해결 방안 관련하여 새로운 발전방향을 제시를 했다는 점에서 의의가 있는 논문이라 판단된다.

[정리: 편집위원회]