



재료 및 방법

1) 세포배양

햄스터 췌장 베타세포주(HIT-T15)는 햄스터의 췌장 베타 세포에 SV40 유전자를 도입하여 세포주로 확립한 것으로(15), 한국세포주 은행(Seoul, Korea)에서 분양받았다. 세포는 RPMI-1640 (Welgene, Daegu, Korea) 배지에 10 mM N-2-hydroxyethylpiperazine-N'-2-ethane sulfonic acid (HEPES, Gibco Gaithersburg, MD, USA), 50 μ M 2-mercaptoethanol (Gibco), 10% fetal bovine serum (FBS, Lonza Walkersville, Inc. Basel, MD, USA)와 항생제로 antibiotic-antimycotic solution (Gibco)을 1%가 되게 첨가하여 배양하였다. 배양 조건은 37°C, 95% 공기와 5% CO₂ 상태로 유지하였으며, 실험에는 passage 30~40의 세포를 이용하였다.

2) 알지네이트 미세캡슐화

미세캡슐화에 사용된 알지네이트(alginic acid sodium salt from brown algae, low viscosity: 250 CPS, M/G ratio: 1.96, Sigma, St. Louis, USA) 용액은 Ca²⁺-free Krebs-Ringer bicarbonate buffer (KRBB) (pH 7.35, Sigma)에 알지네이트를 녹인 후 0.22 μ m 필터(Nalgene Rochester, NY, USA)로 여과하여 사용하였다. 캡슐의 크기가 일정하고, 모양이 구형인 캡슐을 형성하는 조건을 찾기 위해 노즐 크기, 알지네이트의 농도, 알지네이트 주입속도, 정전기 강도를 변화시켜 가며 실험하였다.

알지네이트를 통과시키는 분사노즐은 내부 직경(inner diameter)이 0.2 mm, 0.35 mm와 0.7 mm를 이용하였고, 노즐과 젤화 용액인 염화칼슘(CaCl₂, Sigma) 용액 간 거리는 1 cm로 고정하였다. 알지네이트의 농도는 1.5%, 1.75%와 2%를 이용하였고, 알지네이트 주입속도는 주사기 펌프(Model 781100, KD Scientific Inc., Holliston, MA, USA) 속도를 10 mL/hr에서 30 mL/hr로 10 mL/hr씩 증가시켜 가며 캡슐을 제조하였다. 정전기 액적발생기(electrostatic encapsulation unit Var V1, Nisco, Zurich, Switzerland) (Fig. 1B)의 정전기 강도는 1 kV에서 6 kV까지 1 kV씩 높이면서 조건을 변화시켰고, 각 조건하에서 미세캡슐의 크기를 측정하고 형태를 확인하였다.

캡슐 제조 과정(Fig. 1)은 알지네이트 용액을 10 mL 주사기에 넣고 주사기 펌프에 장착시킨 후 실리콘 튜브로 액적발생기의 상단 고정대에 연결하여 분사노즐을 통과시켰다. 통과된 알지네이트는 노즐 하부의 100 mM 염화칼슘 용액에서 70% 속도로 교반하면서 10분간 배양한 후 수확하였다. 이후 KRBB로 4회 세척한 후 0.1% poly-L-lysine (PLL, Sigma)으로 부유시켜, 37°C에서 약하게 shaking하면서 5분간 배양하였

다. KRBB로 1회 세척하고 0.15% 알지네이트 용액으로 부유시켜 37°C에서 약하게 shaking 하면서 1분간 배양한 후 Ca²⁺이 포함된 배양 배지로 1회 세척하여 캡슐을 제조하였다. 만들어진 캡슐은 광학현미경(Eclipse TE2000, Nikon, Tokyo, Japan)에서 관찰하여 직경 및 형태를 조사하였다.

3) 췌도세포의 미세캡슐화

정전기 액적발생기를 이용한 HIT-T15 췌도세포의 미세캡슐화는 다음의 방법으로 진행하였다(Fig. 1). 부착하여 자라는 췌도세포에 트립신(Gibco)을 처리하여 수확하고, PBS로 1회 세척한 후 KRBB 용액으로 2회 세척하였다. 세포 수가 1.75% 농도의 알지네이트 용액 mL당 1.5×10^6 또는 1.5×10^7 이 되도록 혼합하여 부유한 후 10 mL 주사기로 옮기고 주사기 펌프에 고정하였다. 튜브로 정전기 액적발생기의 상단 주입구에 연결한 후 주입 속도는 20 mL/hr로 고정하여 내부 직경 0.35 mm 노즐을 통과시켰고, 1 cm 아래에 놓인 염화칼슘 용액에서 10분간 배양하여 캡슐을 제조하였다. 이 때, 정전기 강도를 4 kV, 5 kV와 6 kV로 변화를 주고, 염화칼슘 용액은 50 mM, 75 mM과 100 mM로 달리하였다. 초기 알지네이트 캡슐 제조 이후 과정은 빈 캡슐과 동일하게 진행하여 알지네이트-PLL-알지네이트 캡슐을 제조하였다. 최종 캡슐은 배양 배지로 부유시켜 37°C, 95% 공기와 5% CO₂ 조건에서 배양하였고, 이후 3일 간격으로 새로운 배지로 교체하였다.

4) 세포 생존율

알지네이트-PLL-알지네이트의 캡슐을 제조한 후 HIT-T15 세포의 생존율은 PBS로 2회 세척한 후 0.4% trypan blue를 처리하여 5분간 배양한 후 PBS로 다시 3회 세척하였다. 이후 광학현미경으로 관찰하여 trypan blue에 염색된 세포를 죽은 세포로 규정하여 계수하고 이를 바탕으로 캡슐 내 세포 수 및 생존율을 조사하였다.

5) 인슐린 분비능

HIT-T15 세포를 1.75% 알지네이트 용액 mL 당 1.5×10^7 농도로 부유시켜 캡슐화한 후 1일간 배양한 세포와 캡슐화하지 않은 HIT-T15 세포에서 인슐린 분비능을 조사하였다. 일반 HIT-T15 세포와 캡슐화한 HIT-T15 세포에서 배양 배지를 제거하고 PBS로 수 회 세척한 후 37°C에서 1시간 배양하여 세포를 안정화시켰다. 포도당 농도를 10 mM로 맞춘 PBS로 1시간 배양하며 자극을 주고 상층액을 확보하였다. HIT-T15 세포에서 분비된 인슐린 양의 측정에는 Okajima 등(16)의 방법을 참고하여 rat insulin ELISA kit (AKRIN-010T, Shibayagi Co. Ltd., Gunma, Japan)를

사용하였다. 먼저 인슐린 항체가 코팅된 plate에 100 μ L의 biotin conjugated anti-insulin과 20 μ L의 시료를 함께 넣고 실온에서 2시간 반응시켰다. 세척액으로 4회 세척하고, horseradish peroxidase (HRP) conjugated streptavidin을 100 μ L씩 첨가하고 실온에서 30분간 반응시켰다. 발색제(Tetramethyl benzidine, TMB)를 넣고 실온에서 30분간 반응시킨 후 1 M H_2SO_4 로 종료시키고 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. 고농도의 포도당(10 mM)에 대한 반응을 포도당 자극을 주지 않은 군과 비교하였다.

6) 통계분석

통계 분석은 SPSS, version 12.0 (SPSS Inc, Chicago, Ill, USA) 프로그램을 이용하여 분석하였으며 '평균±표준오차'로 기술하였다. 각 군 간의 통계학적인 비교는 독립

표본 T 검정 또는 대응표본 T 검정을 시행하여 P값이 0.05 미만인 경우에 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

결 과

1) 알지네이트 미세캡슐화

정전기 액적발생기를 이용하여 알지네이트 미세캡슐 제조의 최적 조건을 선정하고자 하였다. 미세캡슐 제조 시 분사노즐의 내부 직경에 따른 캡슐의 직경을 조사한 결과 (Fig. 2), 분사노즐의 내부 직경이 0.2 mm인 경우, 생성된 캡슐의 직경은 200 μ m 이하였고, 0.35 mm인 경우 200~300 μ m이며, 0.7 mm에서는 530~700 μ m이었다(Fig. 2A). 생성된 캡슐은 대체로 완전한 구형을 이루고 있었다. 그러나 1차 분리한 채도세포의 크기를 고려하여 캡슐 크기 200

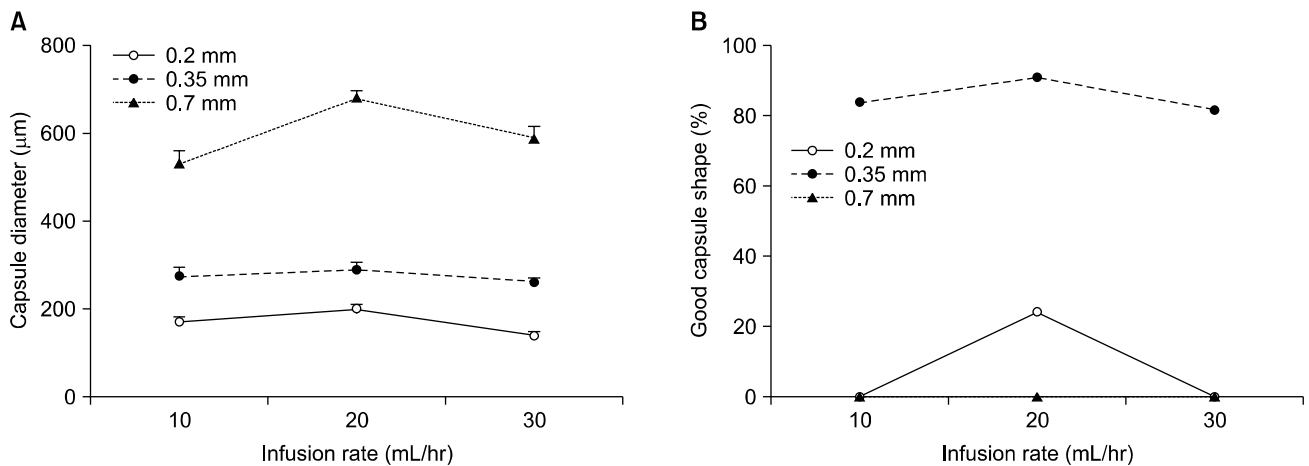


Fig. 2. Capsule diameter and shape as a function of nozzle size and alginate infusion rate. (A) Capsule diameter. (B) Percent ratio of good capsule shape.

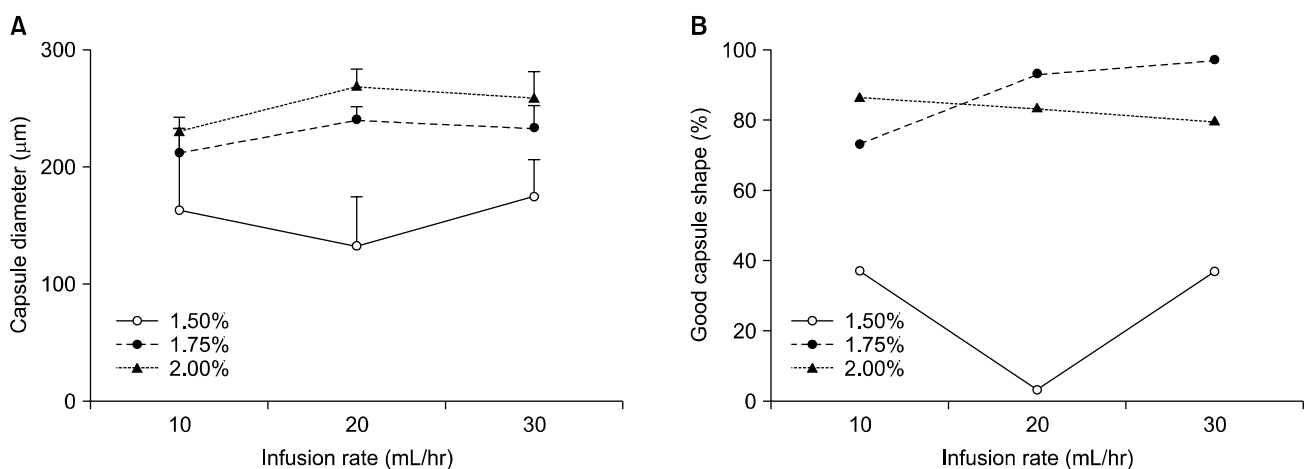


Fig. 3. Capsule diameter and shape as a function of alginate concentration and infusion rate. (A) Capsule diameter. (B) Percent ratio of good capsule shape.

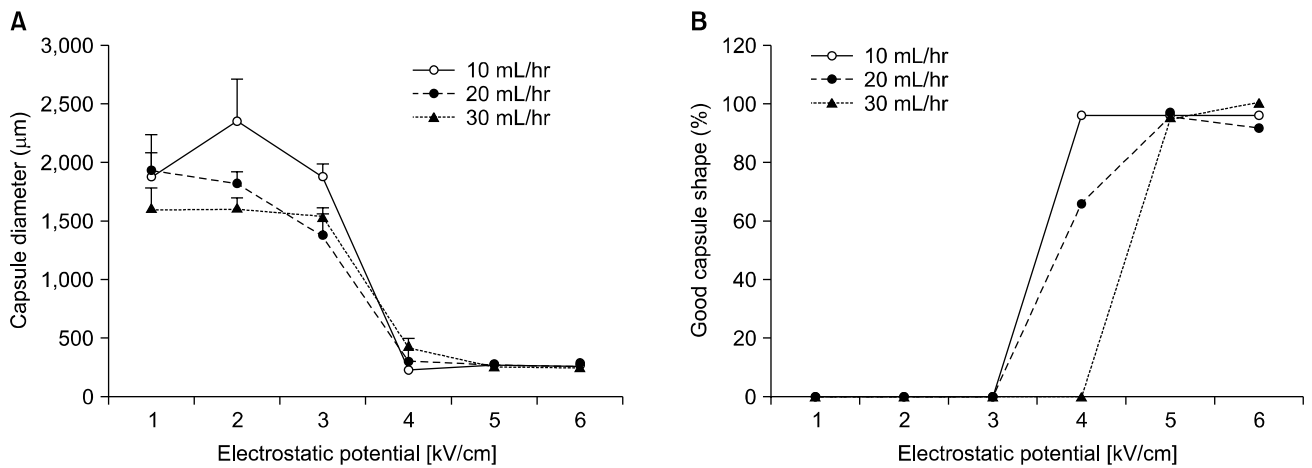


Fig. 4. Capsule diameter and shape as a function of electrostatic potential and alginate infusion rate. (A) Capsule diameter. (B) Percent ratio of good capsule shape.

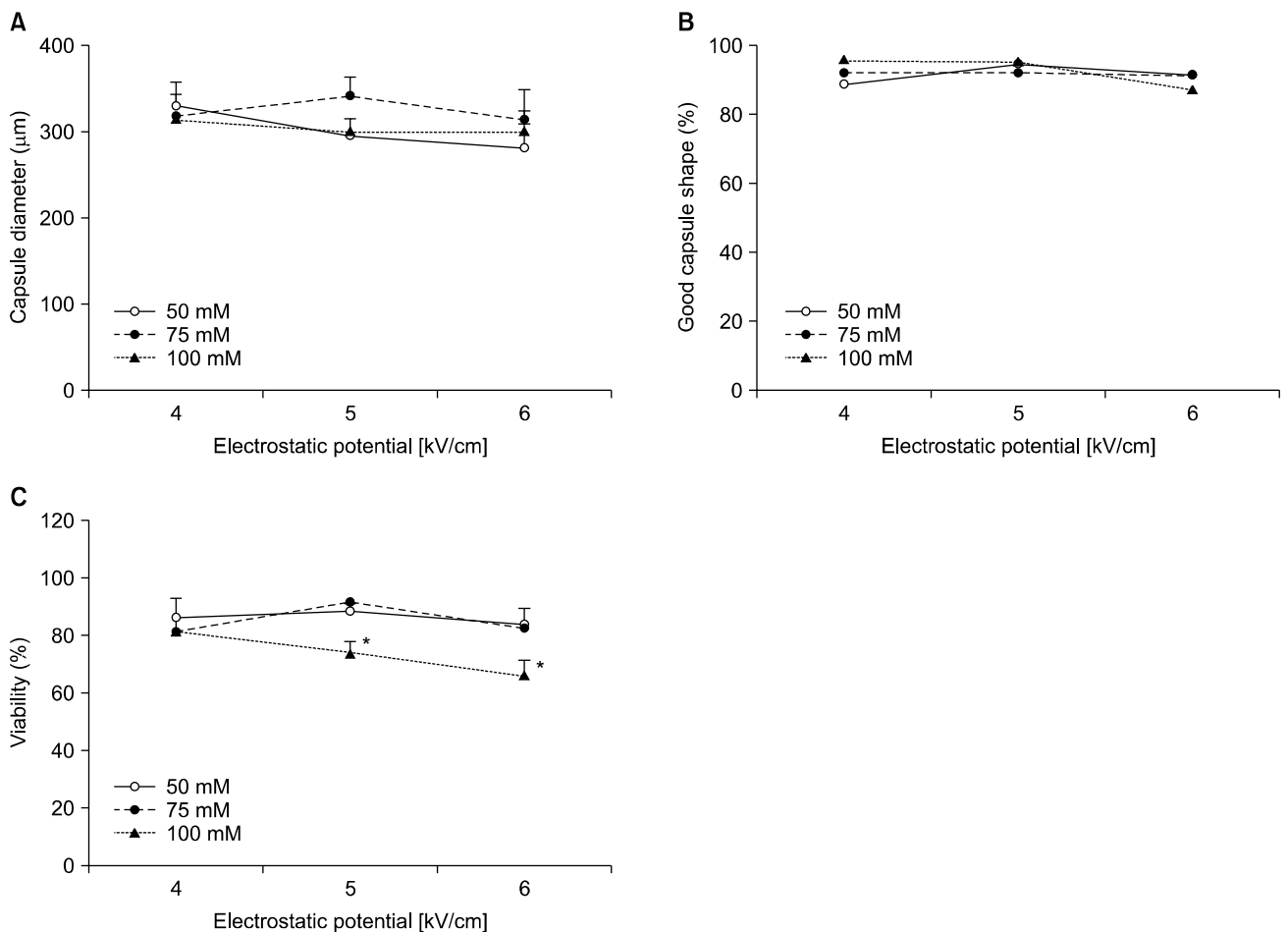


Fig. 5. Characterization of islet capsule as a function of electrostatic potential for three different calcium chloride concentrations. (A) Capsule diameter. (B) Percent ratio of good capsule shape. (C) Cell viability * $P < 0.01$ versus 50 mM and 75 mM calcium chloride.

때 세포 생존율이 현저히 감소하는 것을 확인하였다(Fig. 5C, $P < 0.01$).

제조한 췌도세포 캡슐 중 세포 생존율이 높은 조건인 염화칼슘 농도 75 mM, 정전기 강도 5 kV에서 제조한 캡슐을 2주간 배양하면서 캡슐 내 췌도세포의 형태와 생존율을 조사하였다(Fig. 6). 배양 기간에 따른 췌도세포 미세캡슐의 캡슐 직경은 유의한 변화가 없었다(data not shown, Fig. 6A). 캡슐 내부의 췌도세포 형태는 캡슐화 직후 하나의 세포로 분리되어 캡슐 내에 분산되어 있었으나(Fig. 6A, Day 0), 배양 기간이 늘어날수록 점차 증식하여 콜로니 형태를 띠며 커지고, 12일에서 14일까지 배양되면 캡슐 내에서 약 100 μm 까지 커지는 것을 확인할 수 있었다. 콜로니 수와 세포 생존율을 조사한 결과 콜로니 수는 점차 감소하는 경향으로 나타났고(Fig. 6B), 생존율은 14일까지 80% 이상을 유지하였다(Fig. 6C).

3) 췌도세포 미세캡슐의 인슐린 분비능

미세캡슐화하거나 캡슐화하지 않은 HIT-T15 췌도세포에서 포도당 자극에 대한 인슐린 분비능을 조사하였다. 미세캡슐화 시 세포 농도는 1.5×10^7 cells/mL로 수행하였고, 캡슐 크기를 바탕으로 캡슐당 HIT-T15 췌도세포 수는 약 500개로 산정하였다. 캡슐화한 췌도세포는 10 mM의 포도당을 처리한 경우에 대조군과 비교하여 인슐린 분비가 4.03배(0.25 ± 0.01 vs 1.02 ± 0.12 ng/hr/ 10^5 cells, $P < 0.05$) 증가하였고, 캡슐화하지 않은 세포에서는 대조군에 비해 6.5배(1.10 ± 0.13 vs 7.19 ± 0.44 ng/hr/ 10^5 cells, $P < 0.01$) 증가하였다(Table 1). 췌도세포 미세캡슐의 포도당 자극에 대한 인슐린 분비량은 캡슐화하지 않은 췌도세포의 약 15% 수준으로 감소하였다.

고 찰

미세캡슐화를 위한 최적의 캡슐 크기를 결정할 때 고려할 사항으로는 1차 분리한 췌도의 직경이 50~300 μm 인 것과 이식 후 가장 효과적인 영양공급과 산소공급을 할 수 있는 거리가 최대 200 μm 인 것 등이다(8,17). 따

라서 기능적으로 우수한 췌도세포 캡슐의 적절한 직경은 250~350 μm 일 것으로 여겨진다. 공기 분사형 캡슐 제조기를 이용하여 돼지와 백서에서 1차 분리한 췌도세포의 캡슐을 제조한 연구결과에서는, 최적 조건으로 만들어진 캡슐의 직경이 600 μm 이상으로 제조되었고(18,19), 보다 작은 크기의 캡슐 제조를 위한 방안으로 정전기 액적발생기 도입의 필요성을 언급하였다. 정전기 액적발생기를 이용한 Klok과 Melvik (20)의 결과에서 알지네이트 종류와 정전기 강도의 조절을 통해 300 μm 직경의 빈 캡슐을 제조할 수 있었던 결과를 바탕으로, 본 연구팀은 정전기 액적발생기를 이용한 췌도세포 미세캡슐화의 최적 조건을 확립하고자 하였다. 세포가 포함되지 않은 빈 캡슐을 제조하였던 Klok과 Melvik (20)의 기법을 도입 및 수정하여 캡슐을 제조하였고, 알지네이트 분사노즐의 내부 직경은 0.35 mm를 선정하였다. 정전기 액적발생기를 이용하는 경우, 캡슐은 1.5% 알지네이트 농도에서 주로 제조하지만(20,21), 중간엽 줄기세포나 마우스 췌도유아세포의 알지네이트-PLL-알지네이트 캡슐 제조에서 1.75% 알지네이트 농도로 제조한 사례도 있다(22,23). 본 연구 결과에서는 1.5% 알지네이트 이용 시 직경 200 μm 이하의 캡슐이 생산되어, 1.75%와 2% 알지네이트 농도가 더 적합한 것으로 확인되었다. 이중 1.75% 알지네이트 농도와 주입속도 20 mL/hr에서 형태적으로 적절한 캡슐이 많이 제조되었는데(Fig. 3), 노즐에서 염화칼슘 용액까지의 거리가 1.2~2 cm인 것에 비해 1 cm로 짧고, 염화칼슘 농도의 차이로 인해 최적 조건이 다르게 나타난 것으로 사료된다(20). 정전기 강도에 따른 캡슐의 크기는 voltage를 0~21 kV까지 변화시키며 조사한 이전 연구에서 voltage가 높아질수록 캡슐 크기가 작아지는 결과와 유사하였다(21). Fig. 4에서도 1~3 kV로 정전기 강도가 낮을 때 캡슐 직경이 1.4 mm 이상으로 크게 생산되었고, 5와 6 kV에서는 약 300 μm 직경의 적정캡슐이 생산되었다.

빈 캡슐 제조에서의 캡슐 크기를 바탕으로 췌도세포를 캡슐화하였고(Fig. 5), 정전기 강도 및 염화칼슘의 농도에 따른 캡슐 직경과 캡슐 내 세포 생존율을 조사하여

Table 1. Insulin secretion of encapsulated and non-encapsulated islet cells in response to 10 mM glucose

Group	Basal glucose (0 mM)	Stimulated glucose (10 mM)	Stimulation factor, S/B	
Encapsulated	0.25 ± 0.01	1.02 ± 0.12	4.03	$P=0.022$
Non-encapsulated	1.10 ± 0.13	7.19 ± 0.44	6.50	$P=0.001$
	$P=0.008$	$P=0.002$		

Glucose-stimulated insulin secretion (ng/hr/ 10^5 cells).

최적 캡슐화 조건으로 1.75% 알지네이트, 5 kV와 75 mM 염화칼슘을 선정하였다. Lim과 Sun (5)의 알지네이트를 이용한 췌도세포 캡슐화 이후 일반적으로 췌도세포의 알지네이트 캡슐화는 알지네이트와 칼슘의 교차결합을 통해 알지네이트를 젤화시키고, 알지네이트-PLL-알지네이트 미세캡슐을 만들었다(24). 일부 알지네이트와 칼슘의 교차결합에 대한 부정적인 결과로 인해 칼슘대신 바륨을 이용하거나(19,25), polyamino acid의 세포독성 결과로 인해 PLL을 뺀 캡슐을 제조하는 연구도 수행되었다(18,19,24). 하지만 최근까지도 알지네이트-PLL-알지네이트 캡슐을 이용한 *in vitro* (22,23)와 *in vivo* (26) 실험이 행해지고 있고, 본 연구의 결과에서도 최적 조건으로 생산한 알지네이트-PLL-알지네이트 췌도세포 캡슐에서 캡슐 내 췌도세포의 세포 독성은 미미하였다(Figs. 5, 6). 일차 췌도세포 캡슐과 달리 세포주를 캡슐화함으로써 배양 기간이 늘어날수록 캡슐 내 세포는 증식하였고, 콜로니가 커지는 것을 확인하였다. 하지만 콜로니 수의 측정에서는 감소하는 양상으로 나타났는데 이는 췌도세포 콜로니가 커지면서 일부 콜로니들끼리 서로 겹쳐지게 되어 한 콜로니로 계수한 것이 원인일 것으로 여겨진다. 궁극적인 알지네이트 미세캡슐화 췌도세포 모델은 1차 췌도세포를 이용하는 것이므로 1차 췌도세포에 대한 세포독성과 *in vivo* 모델에서의 생체적합성에 대해서는 추후 연구가 필요하다. HIT-T15는 포도당 자극에 대한 인슐린 분비능이 좋은 췌도세포주로서, 1차 세포에서 포도당의 최적 자극 농도가 16.7 mM인 것에 비해 저농도의 포도당 자극(7.5~10 mM)에서 인슐린 분비능이 최대로 나타나고, 12.5 mM 이상 농도의 포도당 자극에서는 인슐린 분비가 다소 감소하는 특징을 갖고 있다(15). 캡슐화한 HIT-T15 세포에서 포도당 자극에 대한 반응으로 인슐린 분비가 높아지는 것은 확인되었으나 캡슐화하지 않은 췌도세포에 비해서는 15% 수준으로 감소하였는데(Table 1), 이러한 경향은 기존 연구들에서도 나타나는 문제로(18,19,27) 캡슐화 후에 인슐린 분비능이 좋은 조건을 확립하는 것도 췌도세포 미세캡슐화의 추후 연구사항이다. 하지만, 1차 분리한 세포를 이용하여 췌도세포 미세캡슐화를 수행한 경우에는 포도당 자극에 대한 인슐린 분비 감소가 세포주에 비해 두드러지게 나타나는데(18,19,27), 세포 상태를 일정하게 유지할 수 있는 세포주와 달리 1차 췌도세포는 분리과정에서 세포 손상이 야기되어 나타난 현상으로 사료되며, 췌도세포 캡슐화의 최적 효과를 얻기 위해서는 세포 손상을 최소화하는 것도 중요하다.

정전기를 이용한 액적발생기는 공기분사형 액적발생기에 비해 일반적으로 작은 크기의 캡슐(직경 300 μ m 내

외)를 단시간에 다량 제조할 수 있으며 캡슐 크기의 분산이 크지 않아(10% 미만) 고른 형태의 캡슐이 확보된다는 장점을 갖는다(21). 이미 정전기 액적발생기를 이용하여 제조한 췌도세포 캡슐을 제1형 당뇨병 모델에 적용한 연구가 보고된 바 있으나(2,28), 혈당 조절에서는 한계가 있는 실정이다. 본 연구에서는 미세캡슐화 후 췌도세포 생존율이 높고 인슐린 분비능 유지를 위한 일부 조건들을 선별하였다. 그러나 생체 내에서 장기간 혈당 조절의 효과를 얻기 위해서는 캡슐화 이후 나타나는 췌도세포의 인슐린 분비능 감소를 해결하고, 장기간 배양 시에도 세포 생존율이 유지될 수 있는 캡슐화기술의 개발이 필요하다.

결론

정전기 액적발생기를 이용하여 췌도세포 미세캡슐을 생산하는 최적 조건을 선별하고자 하였다. 일차 췌도세포의 평균적인 크기를 고려하여 350 μ m 직경의 췌도세포 미세캡슐을 생산하는 조건을 조사한 결과, 분사노즐 직경은 0.35 mm, 알지네이트 농도는 1.75%, 정전기 강도는 5 kV, 염화칼슘 농도는 75 mM로 선정하였다. 이러한 조건에서 생산된 캡슐에서의 세포 생존율은 90% 이상을 유지하였고, 포도당 자극에 대한 인슐린 분비도 확인되었다. 이상의 결과를 통해 정전기를 이용한 미세캡슐화 기법이 췌도세포 이식에 유용하다고 판단된다. 앞으로 1차 췌도세포의 적용, 인슐린 분비능 향상과 *in vivo* 모델에서의 췌도세포 미세캡슐 이식 등에 관한 추가 연구가 필요하다.

감사의 글

이 연구는 교육과학기술부 차세대성장동력사업인 바이오 신약장기사업단(KBRDG)의 연구비지원(2009K001561)에 의해 수행되었습니다.

REFERENCES

- 1) Kabelitz D, Geissler EK, Soria B, Schroeder IS, Fandrich F, Chatenoud L. Toward cell-based therapy of type 1 diabetes. *Trends Immunol* 2008;29:68-74.
- 2) O'Sullivan ES, Johnson AS, Omer A, Hollister-Lock J, Bonner-Weir S, Colton CK, et al. Rat islet cell aggregates are superior to islets for transplantation in microcapsules. *Diabetologia* 2010;53:9370-45.
- 3) Bonner-Weir S, Weir GC. New sources of pancreatic beta-cells. *Nat Biotechnol* 2005;23:857-61.

- 4) Mallett AG, Korbitt GS. Alginate modification improves long-term survival and function of transplanted encapsulated islets. *Tissue Eng Part A* 2009;15:1301-9.
- 5) Lim F, Sun AM. Microencapsulated islets as bioartificial endocrine pancreas. *Science* 1980;210:908-10.
- 6) Kizilel S, Garfinkel M, Opara E. The bioartificial pancreas: progress and challenges. *Diabetes Technol Ther* 2005;7:968-85.
- 7) Cornolti R, Figliuzzi M, Remuzzi A. Effect of micro- and macroencapsulation on oxygen consumption by pancreatic islets. *Cell Transplant* 2009;18:195-201.
- 8) de Vos P, Hamel AF, Tatarkiewicz K. Considerations for successful transplantation of encapsulated pancreatic islets. *Diabetologia* 2002;45:159-73.
- 9) Lim F. Microencapsulation of living mammalian cells. *Adv Biotechnol Processes* 1988;7:185-97.
- 10) Duvivier-Kali VF, Omer A, Parent RJ, O'Neil JJ, Weir GC. Complete protection of islets against allojection and autoimmunity by a simple barium alginate membrane. *Diabetes* 2001;50:1698-705.
- 11) Dusseault J, Tam SK, Menard M, Polizu S, Jourdan G, Yahia L, et al. Evaluation of alginate purification methods: effect on polyphenol, endotoxin, and protein contamination. *J Biomed Mater Res A* 2006;76:243-51.
- 12) Orive G, Hernandez RM, Rodriguez Gascon A, Calafiore R, Chang TM, de Vos P, et al. History, challenges and perspectives of cell microencapsulation. *Trends Biotechnol* 2004;22:87-92.
- 13) de Vos P, Faas MM, Strand B, Calafiore R. Alginate-based microcapsules for immunoisolation of pancreatic islets. *Biomaterials* 2006;27:5603-17.
- 14) Kurachi M, Nakashima T, Miyajima C, Iwamoto Y, Muramatsu T, Yamaguchi K, et al. Comparison of the activities of various alginates to induce TNF- α secretion in RAW264.7 cells. *J Infect Chemother*. 2005;11:199-203.
- 15) Santerre RF, Cook RA, Crisel RM, Sharp JD, Schmidt RJ, Williams DC, et al. Insulin synthesis in a clonal cell line of simian virus 40-transformed hamster pancreatic beta cells. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1981;78:4339-43.
- 16) Okajima F, Kurihara M, Ono C, Nakajima Y, Tanimura K, Sugihara H, et al. Oxidized but not acetylated low-density lipoprotein reduces preproinsulin mRNA expression and secretion of insulin from HIT-T15 cells. *Biochim Biophys Acta* 2005;1687:173-80.
- 17) Wolters GH, Fritschy WM, Gerrits D, van Schilfgaarde R. A versatile alginate droplet generator applicable for microencapsulation of pancreatic islets. *J Appl Biomater* 1991;3:281-6.
- 18) Lim DJ, Cho JH, Choi YH, Park HS, Hong OK, Kwon HS, et al. Optimization of microencapsulation of the islets. *Tissue Eng Regen Med* 2005;2:280-6. (임동준, 조재형, 최윤희, 박현석, 홍옥기, 권혁상, 등. 췌도 미세캡슐의 최적화. 한국조직공학재생의학회지 2005;2:280-6.)
- 19) Koo SK, Kim SC, Wee YM, Kim JH, Kim YH, Jung EJ, et al. Experimental micro encapsulation of pancreatic islets with air-driven droplet generator and alginate. *J Korean Soc Transplant* 2007;21:38-48. (구선경, 김송철, 위유미, 김진희, 김양희, 정은정, 등. 공기분사형 캡슐제조기와 알지네이트를 이용한 췌장 도세포의 미세캡슐화에 대한 초기 실험. 대한이식학회지 2007;21:38-48.)
- 20) Klok TI, Melvik JE. Controlling the size of alginate gel beads by use of a high electrostatic potential. *J Microencapsul* 2002;19:415-24.
- 21) Lewińska D, Rosiński S, Weryński A. Influence of process conditions during impulsed electrostatic droplet formation on size distribution of hydrogel beads. *Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol* 2004;32:41-53.
- 22) Rong L, Baoguo L, Huifeng D, Tingting T. Factors influencing the formation of MSCs APA microcapsules. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc* 2005;5:4900-3.
- 23) Zhang WJ, Li BG, Zhang C, Xie XH, Tang TT. Biocompatibility and membrane strength of C3H10T1/2 cell-loaded alginate-based microcapsules. *Cytherapy* 2008;10:90-7.
- 24) Dufrane D, Goebbels RM, Saliez A, Guiot Y, Gianello P. Six-month survival of microencapsulated pig islets and alginate biocompatibility in primates: proof of concept. *Transplantation* 2006;81:1345-53.
- 25) Darrabie MD, Kendall WF, Opara EC. Effect of alginate composition and gelling cation on microbead swelling. *J Microencapsul* 2006;23:613-21.
- 26) Baruch L, Benny O, Gilert A, Ukobnik M, Ben Itzhak O, Machluf M. Alginate-PLL cell encapsulation system Co-entrapping PLGA-microspheres for the continuous release of anti-inflammatory drugs. *Biomed Microdevices* 2009;11:1103-13.
- 27) Sandler S, Andersson A, Eizirik DL, Hellerstrom C, Espevik T, Kulseng B, et al. Assessment of insulin secretion *in vitro* from microencapsulated fetal porcine islet-like cell clusters and rat, mouse, and human pancreatic islets. *Transplantation* 1997;63:1712-8.
- 28) Omer A, Duvivier-Kali V, Fernandes J, Tchipashvili V, Colton CK, Weir GC. Long-term normoglycemia in rats receiving transplants with encapsulated islets. *Transplantation* 2005;79:52-8.