

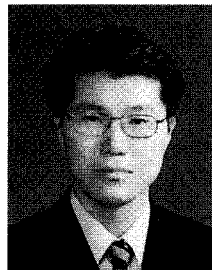
인공체장 및 세포전달용 재료

박 근 홍 · 배 유 한

1. 서 론

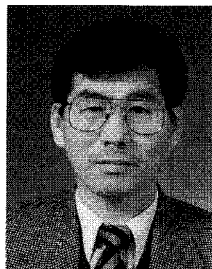
최근 의료 기술은 괄목할 만한 성장을 거듭하고 있다. 이는 인류 복지 및 건강에 대한 관심이 소득 수준이 증가함에 비례하여 높아지고 있음에 기인한다. 의료기술의 발전에 가장 중요한 역할을 한 요소로 생체재료의 개발을 들 수 있다. 환자를 치료하는데 있어서 필수적인 것은 생체 및 의료용 재료이며 이는 주사기 및 수혈 세트와 같은 흔한 재료를 비롯하여 카테타, 인공 뼈, 인공 치아, 인공 수정체 등과 같은 인체내 직접 삽입물의 재료 등을 포함한다. 이러한 삽입물의 보철 기능과는 달리 인공장기용 재료는 환자의 치료에 직접 사용될 수 있다. 각종 질환으로 기능이 마비되었거나 손상된 장기를 대체하기 위하여 장기이식 수술이 행해지고 있으나, 장기기증의 부족, 기증된 장기의 보존, 이식기술, 이식된 장기의 신체 거부 반응, 면역억제제의 장기간 투여 등의 어려움이 뒤따른다. 이러한 어려움을 극복하기 위한 수단으로 인공장기 개발에 관한 연구가 대두되었다. 인공장기 개발을 위한 접근방법으로는 대체할 장기에 따라 생공학적, 생화학적, 그리고 생체조직공학적인 방법 등이 있다. 생체조직공학에 의한 생체복합 개념에 의한 인공장기는 최근에 도입되어 세계적인 관심을 가지고 있는 연구 분야로 장기의 기계적 기능보다는 주로 분비, 합성, 대사 등의 세포의 생리학적 기능을 대체하기 위한 것이다. 이러한 방법은 인공 또는 천연의 고분자 물질과 살아있는 세포 또

는 조직(이종개체, 유전적으로 수립된 세포 포함)을 혼합하여 새로운 조직 또는 기관을 형성시키는 것이다. 연구대상이 되는 장기는 여러 가지 있지만 현재의 생체조직공학 연구에서 복잡한 조직의 인공적인 재생은 아직 초기단계에 지나지 않으며, 단일 세포의 기능 대체 또는 특정 생화학 물질을 공급하기 위하여 이러한 기능을 갖는 세포를 체내에 이식하는 실질적인 세포이식에 대한 연구가 활발하다. 대표적



박근홍

1988 전남대학교 고분자공학과(학사)
1990 전남대학교 고분자공학과(석사)
1997 동경공업대학 생체분자공학과(박사)
1997~1998 광주과학기술원 신소재공학과(Post-Doc.)
1998~현재 광주과학기술원 생체재료기술 연구센터 선임연구원



배유한

1980 서울대학교 화학공학과(학사)
1988 University of Utah(박사)
1990~현재 연구 부교수
1994~현재 광주과학기술원 신소재공학과 교수

Materials of Biohybrid Artificial Pancreas and Cell Delivery

광주과학기술원 생체재료기술연구센터(Keun-Hong Park, Center for Biomaterials and Biotechnology, Kwangju Institute of Science and Technology, Kwangju 500-712, Korea)

광주과학기술원 신소재공학과(You Han Bae, Department of Materials Science Engineering, Kwangju Institute of Science and Technology, Kwangju 500-712, Korea)

인 분야로 세포이식술에 의한 당뇨병 치료를 들 수 있다. 당뇨병은 전세계 인구의 1~5%를 차지할 정도로 흔히 발병하며, 유전적인 요인에 의한 질병이다. 당뇨병은 췌장세포의 손상이나 완전한 파괴에 의하여 정상범위(70-120 mg/dL)를 훨씬 벗어나는 과잉(250 mg/dL 이상)의 혈당농도를 보여주는데,¹ 크게 인슐린 의존형 당뇨병(IDDM)과 인슐린 비 의존형 당뇨병(NIDDM)으로 나뉘어진다. 당뇨병을 치료하는 일반적인 방법으로 매일 인슐린 주사, 인슐린 펌프를 이용한 자동적 인슐린 주입, 췌장이나 췌장소도 이식, 약물 복용(혈당 강하제) 등이 사용된다. 매일 인슐린을 주사하거나, 인슐린 펌프를 이용하여 자동적으로 인슐린을 전달하는 방법은 매우 불편할 뿐만 아니라 혈중 당 농도에 따른 정확한 인슐린 공급이 힘들며, 혈당조절이 적절하게 이루어지지 않았을 경우 백내장, 신장질환 등의 만성적 당뇨병 합병증을 유발하게 된다. 췌장 이식은 상대적으로 사람의 췌장 이용의 어려움과 면역거부 반응,² 면역억제 치료의 필요성으로 인하여 이용이 제한되고 있다. 이러한 문제점을 극복하기 위하여 생체복합형 인공췌장의 이용이 검토되었다. 생체복합형 인공췌장의 설계는 실험실에서 배양된 세포나 동물의 장기로부터 분리 수거된 세포를 이용하는 세포이식술이며 실질적인 방법으로 사료되어지고 있다. 이러한 외부세포를 체내에 이식하기 위해서는 그림 1에 개략적으로 나타나 있는 이식 시스템의 형태를 취하며, 이러한 형태 구성에서 고분자 물질은 면역 차단용 반투과 고분자막 그리고 세포간 인공기질용으로 사용된다. 본고에서는 인슐린 의존형 당뇨병 치료를 위한 동물의 췌장소도 이식시스템을 중심으로 지금까지 사용되었거나 개발된 인공췌장 재료와 간단한 생체복합형 인공췌장의 기술에 대하여 고찰하고자 한다.

2. 본 론

1970년대 초부터 췌장소도를 효율적이며 적절한 조건하에서 캡슐화하는 연구가 진행되어 왔다.¹⁻⁹ 인공췌장의 주된 목표는 필요에 따라 혈당에 반응하여 적정 수준의 인슐린을 공급하는 것이며 이것은 매일 인슐린 주사를 맞는 것에 따른 혈중 인슐린의 심한 변동을 막을 수 있을 것으로 기대되어 왔다. 또한 캡슐화된 췌장소도를 한번 이식받음으로써 일년 이

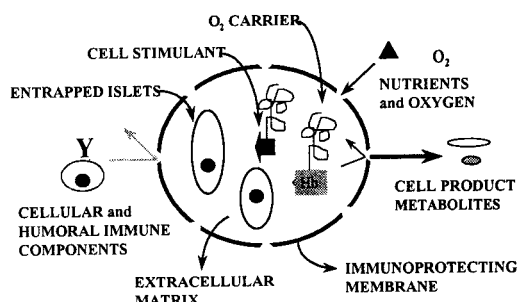


그림 1. 생체복합형 인공췌장 개략도.

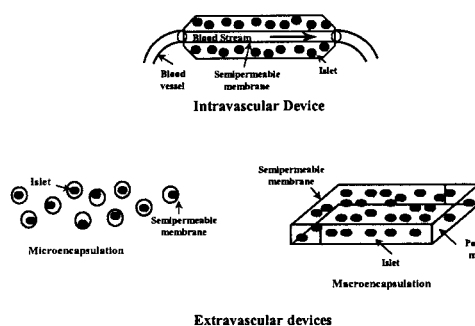


그림 2. 면역적으로 분리된 췌장소도 이식체의 여러 모양.

상의 기간 동안 혈당을 조절하는 것이 목표이다.^{8,9} 캡슐화된 인공췌장은 intravascular device와 extravascular device로 크게 나뉘어진다(그림 2).¹⁰⁻¹³

2.1 Intravascular Device

Intravascular device는 그림에서 나타낸 바와 같이 혈관에 직접 graft시키는 것으로 체내의 췌장소도 환경과 유사한 조건을 형성시켜 줄 수 있지만, 그 설계와 실제적인 작용에 있어서는 췌장소도의 괴사에 따른 인슐린 분비의 감소와 이식과 수거, 수술의 어려움, 수술부위와 device 표면에서의 혈전(thrombosis) 등의 문제점이 수반된다. 이중 device 표면에서의 광범위하게 발견되는 혈전은 췌장소도의 생존력에 직접 관여하는데, 이는 device를 통하여 공급되는 혈류가 혈전으로 인하여 급속하게 감소하게 되어 결국은 췌장소도로의 영양공급이 어렵게 되기 때문이다. 또한, 동물의 췌장소도를 면역억제제의 사용 없이 인체내에 성공적으로 이식시키기 위해서는 면역체계에 관여하고 있는 세포나 단백질, 항체 혹은 보체의 분해인자나 세포면역 성분이 췌장소도와 접촉할 수 없게 하여야 하며, 반면에 포도당, 영양분, 산소 그리고 분비된 인슐린은 쉽게 투과할 수 있는 혈액 적합성 반 투과성 분리막이 필요하다.

표 1. 대표적인 미세 혹은 거대캡슐화 생체복합 인공체장의 재료

방 법	재 료
Microencapsulation (미세캡슐화)	Alginate-poly(L-lysine)
	Alginate-poly(L-lysine)-alginate
	Cellulose sulphate
	Poly(ethylene glycol)
	Agarose
	Polyacrylonitrile membrane(AN69)
	Methyl methacrylate
	2-hydroxyethyl methacrylate
	Dimethylaminoethyl methacrylate
Macroencapsulation (거대캡슐화)	N-isopropylacrylamide(NiPAAm)
	Alginate
	Agarose
	Gelatin
	Poly(N-isopropylacrylamide-co-acrylic acid) (PNiPAAm-co-AAc)

2.2 Extravascular Device

Extravascular device는 체장소도를 이러한 분리막을 사용하여 여러 형태로 캡슐화하며, 크게 나누어서 소도를 하나씩 캡슐화하는 미세캡슐 형태와 많은 소도를 동시에 캡슐화하는 거대캡슐 형태가 있다. 미세 혹은 거대캡슐화 인공체장으로 사용되는 재료를 표 1에 나타내었다.

2.2.1 미세캡슐화 (Microencapsulation)

미세캡슐화 형태는 한 개, 혹은 몇 개의 체장소도를 직경 1 mm 이하의 미세캡슐에 봉입하는 방법으로 안정성과 다양한 이식장소, 이식의 편리함 등의 이점을 가지고 있다. 많은 미세캡슐화 방법이 지금까지 알려져 있는데 Lim과 Sun은 polylysine과 같은 수용성 polycation을 calcium alginate로 형성된 구형 겔 입자의 표면에 복합체를 형성하여 미세캡슐을 제조하였다.⁸

Alginate 캡슐의 생체적합성과 그 안에 봉입된 체장소도의 장기간 생존에 대한 기초 연구가 활발해지면서 Soon-shiong 등은 α -L-gluronic이 많은 alginate를 사용하거나 겔 형성의 동적인 거동을 조절함으로써 체장소도의 미세캡슐화를 향상시켰고, 이를 사용하여 당뇨병 환자에게 이식한 결과 좋은 성과를 얻어냈다.¹⁴ 캡슐화된 체장소도는 복강 안으로 직접 주입하는 방법으로 당뇨병 환자에게 이식하여 20개월에 걸친 인슐린 분비능을 관찰하였다. 또한 실제적인 당뇨병치료를 위해서는 몸무게 kg당 20,000개

의 체장소도가 필요할 것으로 추측하였다.

체장소도에 대한 미세캡슐의 주재료인 alginate-poly(L-lysine)-alginate 복합체 이외에 최근 다른 고분자 시스템이 인공체장의 재료로서 연구되고 있다. 이들은 cellulose sulphate의 polyelectrolyte 복합체,¹⁵ 광가교성 poly(ethylene glycol) hydrogel,¹⁶ photo-crosslinkable polyvinyl alcohol-bearing styrylpyridinium group(PVA-SbQ),¹⁷ agarose,¹⁸⁻²³ AN 69,^{24,25} 2-hydroxyethyl methacrylate,²⁶ methyl methacrylate, 그리고 dimethylaminoethyl methacrylate의^{27,28} 공중합체, 삼중합체, N-isopropylacrylamide(NiPAAm) 계열의 공중합체 등을 포함하고 있다. 하지만, 유기용매를 사용하여 미세캡슐을 만드는 polyacrylate 계열의 고분자들은 잔존하는 유기용매가 캡슐화된 세포들의 생존력과 대사 작용에 나쁜 영향을 미치게 되어 사용에는 제한을 갖게 된다. 미세캡슐은 영양분과 산소의 충분한 공급으로 체장소도의 생존력과 생활성도를 증가시키고, 짧은 확산거리에 의한 빠른 인슐린 분비, 그리고 생체내에서의 기계적인 안전성의 장점을 가지고 있다. 하지만 체장소도를 미세캡슐화 하여 동물 체내에 삽입할 경우 동물의 체내에서 심각한 fibroplasia를 동반하고 이것들은 캡슐의 mass transfer와 기계적인 강도를 저해하는 것으로 밝혀졌다. 캡슐막이 불안정하다는 점도 인공체장을 임상적으로 응용하는데 있어서 문제점으로 제기되고 있다. 또한 미세캡슐을 이식 혹은 주입하고 난 다음 그 기능을 다한 체장소도를 외과수술의 어려움 없이 회수할 수 없다는 단점을 가지고 있다. 미세캡슐화 형태에서 가장 많이 사용되고 있는 alginate-poly(L-lysine)는 높은 물 함유와 공유결합이 아닌 이온 결합에 의하여 형성되므로 약한 기계적인 강도를 나타내고 있다.

2.2.2 거대캡슐화 (Macroencapsulation)

거대캡슐화의 기술은 면역분리를 위해 선택투과막을 갖는 diffusion chamber에 세포나 조직을 대량으로 봉입하는 것이다.¹⁰ 생리화학적으로 안정하고 면역분리의 효율이 좋은 물질을 선택하는 것이 거대캡슐을 만드는데 있어서 가장 중요한 점이다. 그러므로 거대캡슐로는 평면의 cellulose막이나 acrylonitrile-vinylchloride 공중합체(PAN-VC)를 이용한 막이 사용되어지는데 전형적인 막 두께는 약 0.5에서 1 mm이다. 거대캡슐의 가장 큰 장점은 최소의 외과 수술적 위험으로 이식이나 수거를 할 수 있다는 점이다. 거대캡슐은 보통 복강이나 경피에

이식되는데 최근 내경 1.7-4.8 mm의 tubular diffusion chamber가 제안되고 있다.^{29,30} 이러한 tubular diffusion chamber에 면역 분리된 개, 소, 또는 돼지의 췌장소도를 당뇨병을 유발시킨 쥐에 이종 이식한 결과, 면역억제제의 사용 없이 215일 동안 정상혈당을 유지시켰다. 반면에 캡슐화되지 않은 동종의 췌장소도의 경우에는 이식 후 1주일 후에는 고혈당이나 당뇨병 상태로 되돌아가는 현상이 관찰되었다.³¹ 췌장소도를 거대캡슐화할 경우 소도간의 응집으로 말미암아 산소부족과 영양분 공급의 제한 등으로 소도는 괴사하게 된다. 이러한 괴사현상을 최소화하기 위하여 세포간 기질을 도입시켜 소도의 응집을 방지하고 있으며, 사용되는 재료로는 가교된 alginate, agarose, 그리고 gelatin gel 등이 있다.

하지만 이러한 하이드로겔 역시 막 안의 노폐물의 축적, 그리고 granulation tissue를 형성시킬 수 있다는 점 등이 문제점으로 제기되고 있다.

이러한 미세 혹은 거대캡슐화된 췌장소도를 생체 복합 인공췌장으로 이용하는데 있어서 면역분리막은 실제로 매우 중요한 역할을 담당한다.

2.3 면역분리막(Immunoisolation Membrane)

장기이식에 대한 수요가 늘어남에도 불구하고 적당한 장기의 공급이 원활하지 못함에 따라 동종간 이식이라는 틀에서 벗어나 생체재료의 이용과 이종간 이식을 생각하게 되었다. 인공췌장의 경우, 필요한 기능을 하는 세포만을 이식하는 연구가 진행되었다. 이종의 세포를 이식하기 위해서는 이들 세포를 면역시스템으로부터 보호해야 되는데, 이 역할을 수행하는 부분이 면역분리막이다. 면역분리막은 molecular weight cut-off가 30 kD부터 0.6 μ m까지의 범위를 가지며,³⁸ Immunoglobulins을 포함한 항체, 보체인자들은 통과해서는 안되지만, 산소, 영양분, 노폐물 등은 통과해야 한다. 인공췌장의 경우 포도당과 인슐린이 반드시 통과되어야 인공장기로서의 기능을 수행할 수 있다.³² 면역분리막에 대한 연구는 Amicon XM-50 아크릴 공중합체로 된 반 투과성 중공사를 이용한 거대캡슐과 alginate를 이용한 미세캡슐을 시작으로 많은 연구가 진행되고 있다.

Poly(vinyl alcohol)를 이용한 mesh-reinforced poly(vinyl alcohol) hydrogel tube(MRPT)는 인공 췌장에 대한 선택 투과성막으로 이용되고 있다.³³⁻³⁷ MRPT로 둘러싸인 agarose 안의 췌장소도는 서로 결집되지 않으며 장기간 생리활성도를 나타내는 것으로 보고되었다. Collagen, hyaluronic acid 그리

고 sodium alginate 등은 agarose와 비교해서 MRPT 안의 췌장소도 고정용 재료로는 더욱 향상된 특성을 보이지만 agarose는 다른 기질보다 glucose에 반응하여 인슐린의 분비가 더 빠르고 배양배지 안으로 인슐린 분비가 보다 지속적으로 유지된다는 장점을 가지고 있다. 하지만 막 주위에서의 fibrosis는 device의 장기간에 걸친 기능을 저해하는 문제점으로 지적되는데 이것은 막을 통한 물질의 확산교환을 방해하기 때문이다.

높은 강도와 광학적으로 투명한 비 다공성 폴리우레탄은 최근 들어 크게 각광받고 있다. 이것은 device 주위의 혈관형성에 도움을 주고 세포독성이 없으며 고안된 device의 mass transport를 방해하는 섬유성조직의 성장이 적거나 거의 없는 것으로 보고되었다.³⁸ 막을 통한 가스, 영양소, 분비물, 그리고 세포로부터 분비되는 물질들은 농도 구배에 따른 확산에 의해 결정된다. 특히 물과 포도당, 그리고 단백질에 대한 투과도는 막을 팽윤시키는 물의 양에 따라 결정되고 매우 미세하게 조절되어야 할 부분이다. 물의 흡수는 친수성, 분자량, 그리고 폴리우레탄 soft segment의 부피비가 증가함에 따라 같이 증가된다. 이러한 막으로 둘러싸인 돼지의 췌장소도는 단지 배지액에 배양시켜도 6개월 동안 인슐린 분비능을 보였다. 그리고 이식된 장치 막 주위의 지방조직은 모세혈관이 많이 분포하고 있어 인공췌장으로부터 가스나 다른 생체물질 등의 mass transport를 가속화시킨다. 비록 쥐를 이용한 실험에 있어서 혈당치가 정상적인 쥐에 비해 신속하고 유동적으로 조절되지는 않았지만 면역분리막 안의 돼지로부터 분리된 췌장소도는 장기간 생리활성도를 보이고 급격한 혈당증가의 억제효과를 가지며 생리적인 충격에도 최소한 2개월은 그 기능을 유지한다고 알려져 있다. 세포송달 시스템과 이식용 인공장기에 대한 많은 연구가 진행됐지만, 사용되는 면역분리막이 파손되거나, 생체적합성이 우수하지 못해 섬유아세포로 둘러싸임으로 인해 기능이 상실되는 문제점이 나타났다. 이러한 문제점을 해결하기 위해서는 면역분리막이 생체적합성과 안정성을 가져야 한다.

2.3.1 생체적합성(Biocompatibility) 및 안정성(Stability)

지금까지 사용된 여러 종류의 면역분리막 중 alginate-poly(lysine)-alginate막, vinyl chloride-acrylic copolymer, 그리고 polycarbonate tubes 등이 췌장소도의 동종 혹은 이종 이식에 성공적으로

사용되어지고 있다. 하지만 이 물질들이 면역분리막으로서 사용되기에는 생체적합성이 인공혈관으로서의 만족할 만한 수준은 되지 못한다. 생체복합 인공혈관의 생체적합성을 증가시키기 위하여 device의 형태, 막 재료, 표면의 미세구조, 그리고 이식 부위 등이 생체복합 인공혈관의 생체적합성에 관계되며, 이러한 생체적합성은 캡슐화된 혈관소도의 반응속도와 생존력에 영향을 준다. 생체복합 인공혈관과 이식자 사이의 면역반응을 줄이기 위한 방법으로 표면수식을 통한 해결방법이 시도되었다. 예를 들어 생체복합 인공혈관의 표면에 chondroitin sulfate를 코팅하여 면역분리막의 생체적합성을 증가시킬 수 있었다. 하지만, chondroitin sulfate의 분해성 때문에 이 물질의 사용이 제한되었다. 그러므로 생체적합성을 증가시키기 위한 코팅물질은 비 분해성이고 생체적합성을 가져야 한다. 세포의 생존력 증가와 정상적인 기능을 유지하기 위하여 Sawhney 등은 interfacial photopolymerization을 통하여 혈관소도의 표면에 poly(ethylene glycol)을 코팅하였으며 최종적인 코팅막의 두께는 광노출 강도와 시간에 의해 조절되었다. 이러한 기술은 10-50 μm 의 면역분리막을 혈관소도에 손쉽게 입힐 수 있게 하였다.¹⁶ 이중 층으로 된 alginate-poly(L-lysine) 미세캡슐의 면역분리막의 생체적합성은 화학적으로 활성화된 poly(ethylene glycol) (PEG) 혹은 poly(vinyl alcohol) (PVA)의 표면 처리에 의하여 향상될 수 있다. 그 이유는 유연한 PEG 사슬이 면역분리막의 표면에서 단백질 분자의 흡착을 방해하여 결국은 섬유아세포의 침착을 감소시킨다.

장기간 사용되는 모든 생체복합 인공혈관에 있어서 면역분리막의 화학적, 기계적 그리고 수송성질들은 매우 중요한 요소이다. 앞서 진술한 바와 같이 체내에서 외력에 의해 반 투과성막이 파손되면 전체 생체복합 인공혈관의 기능은 저해하게 된다. 특히 분해가 일어날 경우, 반 투과성막은 캡슐화된 혈관소도를 외부 환경과의 면역분리가 힘들어져 결국은 염증반응이 일어나게 된다. 그러므로 생체복합 인공혈관의 장기간에 걸친 효율성을 증대시키기 위해서는 생체적합성을 가지며, 비 분해성 합성고분자가 요구된다. 막의 면역분리와 확산성질은 캡슐화된 혈관소도의 장기간에 걸친 기능이나 생존에 커다란 영향을 미친다. 면역분리를 위하여 반 투과성막은 혈관소도에서 분비되는 물질을 막 바깥으로 내보내고 면역반응을 일으키는 물질의 수송은 제한하면서

영양분이나 산소는 장치 안으로 들어갈 수 있어야 한다.

2.3.2 면역분리막 형태(Configuration of Immunoisolation Membrane)

면역분리막의 형태적인 면도 인공혈관의 기능에 영향을 미친다.³⁹ Yang 등은 고안된 장치의 모양에 따른 agarose hydrogel 인공혈관 기능의 변화에 대해 연구하였다. 각각의 모양은 microrcapsule, hollow fiber diffusion chamber, 그리고 disc-shaped diffusion chamber를 모방한 것이다. 그 결과, 비록 인공혈관의 혈관소도는 생리적인 조건하에서 장치의 형태와는 상관없이 100일 이상 인슐린 분비능을 보였으나 생체내에서는 인공혈관의 모양이 그 기능에 크게 영향을 미칠 수 있다는 결론을 내렸다. Microbead가 가장 적합한 것으로 보고하고 있지만 부작용이 생겼을 경우와 그 기능이 없어진 후 수거하기가 어렵다는 문제점을 안고 있다. Rope-shape는 면역분리막의 생체적합성과 이식시 인공혈관의 이식장소를 조절할 수만 있다면 현재까지 가장 가능성이 있는 장치로 생각되어지고 있다. 거대캡슐화 device에서 mass transfer 속도는 가장 중요한 문제인데 크기에 의해서 확산 거리가 증가하거나 부피 대 표면적이 미세캡슐보다 작아서 물질교환 속도가 느리다. 혈관소도의 결집(aggregation)은 영양분이나 산소가 혈관소도의 중심으로 확산해 들어가기 어렵게 만들고 이것은 혈관소도의 괴사나 인슐린 분비와 같은 기능 이상을 유발시킬 수 있다.

2.4 재충진형 인공혈관

혈관소도의 체내 면역 격리방법이 동물실험에 있어서 최소 1년 동안 혈관소도의 기능을 유지시킬 수 있었고 또한 임상실험에 있어서도 최소한 9개월을 지탱할 수 있었지만 이식된 혈관소도의 생명에는 여전히 한계가 있다. 이것은 죽은 혈관소도의 용혈에 의한 면역반응을 유발시킬 수 있으므로 문제가 될 수 있다. 따라서, 혈관소도가 생존할 수 있는 기간 내에 수거하고 다시 새로운 혈관소도를 넣어줄 수 있는 방법이 강구되어야 한다. 이식하는 인공혈관 전체를 바꾸는 것은 수술의 어려움이나 다른 여러 가지 부작용을 감수해야 하므로 혈관소도만을 제거하거나 다시 채워주는 재충진형 인공혈관에 대한 연구가 시도되고 있다.³⁸ 혈관소도를 거대캡슐화할 경우 소도 간의 응집으로 말미암아 산소부족과 영양분 공급의 제한 등으로 소도는 괴사하게 된다. 이러한 괴사현상을 최소화하기 위하여 세포간 기질을 도입

시켜 소도의 응집을 방지하고 있으며, 사용되는 전형적인 재료로는 칼슘으로 가교된 alginate gel이다. 앞서 설명한 바와 같이 인체내에 이식된 동물의 췌장소도는 자연상태와 다른 주변환경(인공 분리막 및 세포간 기질)으로 말미암아 산소 및 영양분 공급 부족 등의 이유로 이식 후 살 수 있는 기간은 제한되어 있고, 시간의 경과에 따른 세포의 분비 기능 퇴화로 소도의 교환이 필요한 것으로 제기되고 있다. 세포 교환을 실현시키기 위해서는 용액과 기질 겔 사이를 가역적으로 변화하는 고분자 시스템이 필수적이다. 물론 수용액상에서 가역적으로 변하는 agarose, gelatin 등의 천연 고분자 물질이 다수 알려져 있으나 심한 hysteresis 현상으로 인해 소도 교환을 위한 세포간 기질로는 사용될 수 없다. 그러므로 신체내에 적용할 수 있는 작은 온도 변화나 pH 변화와 같은 가벼운 조건 변화로 가역적으로 수용액/겔 전이가 일어날 수 있는 세포간 기질이 필요하다. 온도감수성(temperature sensitivity)을 지닌 고분자를 이용하여 췌장소도를 안정화시키는 방법은 alginate를 이용한 미세캡슐화 췌장소도의 이식이나, agarose, gelatin 등의 천연 고분자 물질을 이용한 거대캡슐화 췌장소도의 이식보다 한 단계 개선된 방법이라고 할 수 있다. 이러한 점에 착안하여 배 등은 열가역적인 수팽윤겔의 도입(NiPAAm 공중합체)으로 세포와 기질의 유용성과 안정성을 증대시킬 수 있고 재충전형 인공췌장의 새로운 개념을 실현시켰다.³⁹ Poly(N-isopropylacrylamide) 공중합체가 세포배양을 하는데 있어서 세포독성을 나타내지 않음은 이미 여러 실험에서 증명된 바가 있다.⁴⁰ Poly(N-isopropylacrylamide)는 하한 임계 용액 온도(LCST)를 나타내는 전형적인 고분자 중의 하나이며 약 32 °C 이하에서는 수용성이나 그 이상의 온도에서 침전된다. 그리고 이 임계 온도는 성질이 다른 단량체와 공중합시킴으로써 쉽게 변화시킬 수 있다. 고분자 농도가 높을 때는 임계 온도 이상에서 고분자간의 응집이 강하게 일어나 분말상의 침전형태보다 고분자 전체가 응집되는 특성을 지니고 있다.⁴¹ 이러한 현상은 세포 고정화에는 적합하지 않으나 상 변화에 hysteresis가 없는 장점을 지니고 있다. 이러한 장점으로 인하여 췌장소도와 NiPAAm 공중합체가 LCST이하에서 이식 pouch에 주입된 후 동물체내에 이식된 다음(37 °C) 고분자가 겔을 형성하여 췌장소도를 고정화시킨다. 그림 3에서는 재충전형 인공췌장에 대하여 개략적으로 나타내었다. 이 그림

Port for cell reseeding & removal

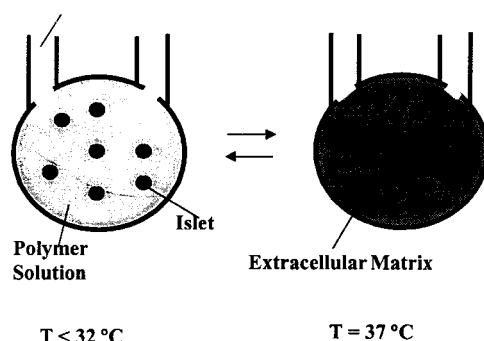


그림 3. 열가역적 세포간 기질을 갖는 재충전형 인공췌장 개략도.

과 같이 기능을 다한 췌장소도를 교체하기 위하여 고분자 기질의 온도를 LCST 이하로 낮추어 겔 상에서 용액 상으로 만든다. 이렇게 용액 상으로 만들어진 고분자 기질과 함께 있는 용액을 회수하고 새롭게 만들어진 췌장소도/고분자 용액을 주입한다. 공중합체 겔에 entrap된 췌장소도는 배양지에 배양된 췌장소도와 비교할 때 상당히 긴 수명을 갖는다. 배양배지에 자유롭게 부유하는 췌장소도는 췌장소도를 구성하는 세포막이 파괴되기도 하고 췌장소도 끼리의 결집이 일어나지만 공중합체 겔에 entrap된 췌장소도는 기질에 의하여 서로 떨어져서 존재하게 된다. 이러한 이유로 공중합체 겔에 entrap된 췌장소도는 *in vitro*에서 한달 동안 인슐린 분비능이 감소하지 않은 상태로 생존하고 있음을 확인하였다(그림 4). 공중합체 겔을 통한 췌장소도에서 분비된 인슐린의 확산을 살펴보기 위하여 분자량이 4,400과 70,000인 fluorescein isothiocyanate(FITC)로 라벨된 텍스트란을 이용하여 37 °C에서의 겔의 확산성을 살펴보았다.⁴² 이 결과는 췌장소도가 증공사 안에 겔 기질과 함께 캡슐화되어 포도당, theophylline 농도 등과 같은 동적 변화에 노출되어 있을 때, 같은 조건의 alginate 기질에 entrap된 췌장소도보다 많은 양의 인슐린 분비와 짧은 lag time을 보여주었다(그림 5). *In vitro* 실험 결과 체온에 의하여 공중합체는 겔을 형성하여 효율적으로 췌장소도를 entrap하고, 췌장소도의 생존력을 유지하며, 겔에서의 높은 인슐린 확산을 보여주고 있어 재충전형 생체복합 인공췌장으로서 이용 가능함을 보여주었다.

2.4.1 세포기능 향진용 고분자 개발

재충전형 인공췌장의 개발을 위해서는 이식되어질

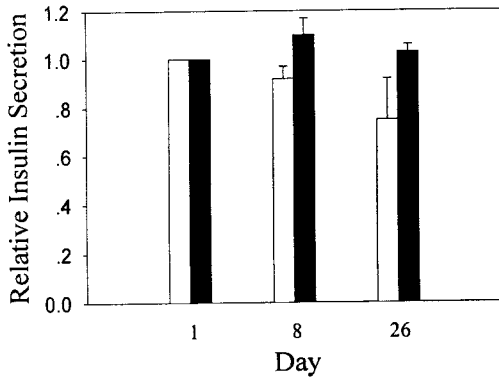


그림 4. Insulin secretion from rat islets of Langerhans, normalized to insulin secreted on day one, stimulated by 16.5 mM glucose. Islets were incubated in RPMI-1640 for 4 h at 37 °C. □ : Free islets in cellulose membrane with 50,000 MWCO; ■ : islets immobilized in poly(NiPAAm-co-AAc) in cellulose membrane with 50,000 MWCO.

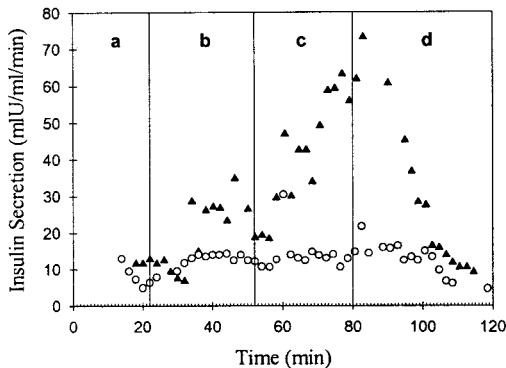


그림 5. Dynamic insulin secretion from rat islets entrapped in hollow fibers (30,000 MWCO) with extracellular matrices [●: alginate gel; ▲: poly(NiPAAm-co-AAc) (2.5 mol% AAc) gel] in response to glucose and theophylline concentrations. (a) 50 mg/dL glucose; (b) 300 mg/dL glucose; (c) 300 mg/dL glucose + 10 mmol/L theophylline; (d) 50 mg/dL glucose. The islet density was 250 μ L/50 μ L gel.

췌장소도의 숫자를 줄여야 한다는 문제점이 있다. 기존의 연구결과, 당뇨가 유발된 동물모델에 있어서 정상혈당을 유지시키기 위하여 미세캡슐화에 사용되는 췌장소도는 몸무게 kg당 10,000에서 20,000 정도의 췌장소도가 요구되는 것으로 보고되었다.¹⁵ 이러한 문제를 해결하기 위해 배 등은⁴³ 인슐린 비 의존형 당뇨병의 치료에 사용되는 쥘포닐유레아, 특히 그 약물효과가 전 세대에 비해 훨씬 증대된 제 2세

대 쥘포닐유레아인 glybenclamide의 새로운 관능기 (아민 혹은 카르복실)가 도입된 유도체를 합성하고 소수성인 약물에 대하여 용해도 증진과 인공췌장에 의 응용 시 누출을 방지할 수 있도록 수용성 고분자 주쇄에 PEO를 spacer로 갖고 있는 고분자를 결합하여 그 생리활성도를 살펴보았다. 그 결과 수용성 고분자와 결합한 쥘포닐유레아 고분자는 쥘포닐유레아 단량체에 비해 향상된 용해도를 보였으며 그 분자량이 커짐에 따라 용해도가 감소함을 알 수 있었다. 또한 이렇게 합성된 고분자는 췌장소도에 대해 그 생리활성도가 최대 40% 정도 향상되었으며 기존에 사용되는 쥘포닐유레아와 같거나 더 향상된 정도의 인슐린 분비능을 나타내었다.^{43,44} 이러한 세포 기능 향진용 고분자의 사용은 췌장소도 숫자의 현저한 저하(최대 40%)를 기대할 수 있다.

3. 결 론

당뇨병의 치료에 사용되는 인공췌장의 주된 기능은 혈당을 정상과 비슷한 정도로 능동적으로 조절할 수 있어야 한다. 이를 충족시키기 위해서는 1) 장기 간 췌장소도의 생존력과 기능을 유지시킬 수 있어야 함, 2) 생체적합성을 가져야 함, 3) 췌장소도의 동종 혹은 이종 이식시 면역반응을 억제하여야 함, 4) 추가 인슐린 요법 없이도 이식한 인공췌장만으로 당뇨병을 치료할 수 있어야 함, 5) 생체에 무해하고 안정적인 재료를 사용해야 함, 6) 이식체나 이식체 내의 췌장소도만을 수거, 재충전할 수 있어야 함, 7) 필요에 따라서는 몸밖으로 제거할 수 있어야 한다는 점 등이다. 하지만 기존의 이식 방법 중 미세캡슐은 영양분과 산소의 충분한 공급으로 췌장소도의 생존력과 생활성도가 증가되고, 짧은 확산거리에 의한 빠른 인슐린 분비, 그리고 생체내에서의 기계적인 안전성의 장점을 가지고 있다. 하지만 췌장소도를 미세캡슐화하여 동물 체내에 삽입할 경우 동물의 체내에서 심각한 fibroplasia를 동반하여 캡슐의 mass transfer와 기계적인 강도를 저해하고, 외과 수술의 어려움이 없이 이식되거나 주입된 미세캡슐을 손쉽게 회수할 수 없다는 단점을 가지고 있다. 췌장소도를 거대캡슐화하였을 경우 미세캡슐화에 비하여 손쉽게 회수할 수 있다는 장점을 가지지만 미세캡슐화에 비하여 상대적으로 크기가 커서 표면적 대 부피 비에 의한 영양분과 산소의 충분한 공급이

되지 않아 췌장소도의 생존력과 생활성도(인슐린 분비)가 감소하며, 점차적으로 인슐린 분비능이 저하하는 단점을 가지고 있다. 따라서 이 모든 문제점을 해결하기 위하여 새로운 생체복합 인공췌장의 개발이 요구된다. 재충진형 인공췌장의 개발은 기존의 인공췌장이 가지고 있는 문제점을 해결해 줄 것으로 기대된다. 또한 세포기능 향진용 고분자의 개발은 재충진형 인공췌장에 이식되어질 췌장소도의 숫자를 줄일 수 있다.

지속적인 인슐린 분비에 의한 당뇨병 치료로서 생체복합형 인공췌장이 가능성을 보인다면 당뇨병 치료뿐만 아니라 세포이식술에 의한 파킨슨씨 병 치료, 말기 암 환자의 통증 치료, 지속적 성장 호르몬의 공급에의 이용에도 유사한 방법을 이용하여 치료가 가능해 질 것이다.

참 고 문 헌

1. C. K. Colton and E. S. Avgoustiniatos, *J. Biomech. Eng.*, **113**, 152 (1991).
2. G. Soldani, P. Giusti, P. Marchetti, R. Giannarelli, A. Di Carlo, and R. Navalesi, *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, **3**, 371 (1992).
3. R. P. Lanza, S. J. Sullivan, and W. L. Chick, *Diabetes*, **41**, 1503 (1992).
4. R. L. Strautz, *Diabetologia*, **6**, 306 (1970).
5. K. Reemtsma, *Transplant. Proc.*, **2**, 513 (1970).
6. D. W. Sharp, N. S. Mason, and R. E. Sparks, *World J. Surg.*, **8**, 221 (1984).
7. H. Iwata, T. Takagi, K. Kobayashi, T. Ota, T. Tsuji, and F. Ito, *J. Biomed. Mater. Res.*, **28**, 1201 (1994).
8. F. Lim and A. M. Sun, *Science*, **210**, 908 (1980).
9. M. F. A. Goosen, G. M. O'shea, H. M. Gharapetian, S. Chou, and A. M. Sun, *Biotech. Bioeng.*, **27**, 146 (1985).
10. A. G. Mikos, M. G. Papadakis, S. L. Ishaug, and R. C. Thomson, *Biotech. Bioeng.*, **43**, 673 (1994).
11. C. M. D. Riccardo, *Diabetes Care*, **20**, 889 (1997).
12. R. P. Lanza, S. J. Sullivan, and W. L. Chick, *Diabetes*, **41**, 1503 (1990).
13. C. K. Colton, *Cell Transplant.*, **4**, 415 (1995).
14. P. Soon-Shiong, *J. Control. Rel.*, **39**, 399 (1996).
15. K. Braun, W. Besch, H. Jahr, F. Loth, H. Dautzenberg, and H. J. Hahn, *Biomed. Biochem. Acta*, **44**, 143 (1985).
16. A. S. Sawhney, C. P. Pathak, and J. A. Hubbell, *Biotech. Bioeng.*, **44**, 383 (1996).
17. H. Iwata, H. Amemiya, R. Hayashi, S. Fujii, and T. Akutsu, *Transplant. Proc.*, **22**, 797 (1990).
18. T. Takagi, H. Iwata, K. Kobayashi, T. Oka, T. Tsuji, and F. Ito, *Transplant. Proc.*, **26**, 801 (1994).
19. H. Iwata, H. Amemiya, T. Matsuda, H. Takano, R. Hayashi, and T. Akutsu, *Diabetes*, **38**(Suppl. 1), 224 (1989).
20. H. Iwata, T. Takagi, H. Amemiya, H. Shimizu, K. Yamashita, K. Kobayashi, and T. Akutsu, *J. Biomed. Mater. Res.*, **26**, 967 (1992).
21. H. Iwata, T. Takagi, and H. Amemiya, *Transplant. Proc.*, **24**, 1517 (1992).
22. H. Iwata, L. Kobayashi, T. Takagi, T. Oka, H. Yang, H. Amemiya, T. Tsuji, and F. Ito, *J. Biomed. Mater. Res.*, **28**, 1003 (1994).
23. H. Iwata, H. Amemiya, and T. Matsuda, *J. Bioact. Compt. Polym.*, **3**, 356 (1988).
24. L. Kessler, G. Legeay, C. Jesser, C. Damge, and M. Pinget, *Biomaterials*, **16**, 185 (1995).
25. J. Honiger, P. Ballardur, P. Mariani, Y. Calmus, M. Vaubourdolle, R. Delelo, J. Capeau, and B. Nordlinger, *Biomaterials*, **16**, 753 (1995).
26. W. T. K. Stevenson and M. V. Sefton, "Development of Polyacrylate Microcapsules", ed. by M. S. A. Goosen, p. 143, CRC Press, Boca Raton, FL., 1993.
27. H. Iwata, H. Amemiya, and T. Akutsu, *Artif. Org.*, **14**(Suppl. 3), 7 (1990).
28. S. Shimizu, M. Yamazaki, S. Kubota, T. Ozawa, H. Mori, K. Kobayashi, M. Mikami, Y. Mori, and S. Yamaguchi, *Artif. Org.*, **20**, 1232 (1996).
29. R. P. Lanza, K. M. Borland, P. Lodge, M. Carretta, S. J. Sullivan, T. E. Muller, B. A. Solomon, T. Maki, A. P. Monaco, and W. L. Chick, *Transplant. Proc.*, **24**, 2935 (1992).
30. R. P. Lanza, K. M. Borland, P. Lodge, M. Carretta, S. J. Sullivan, T. E. Muller, B. A. Solomon, T. Maki, A. P. Monaco, and W. L. Chick, *Diabetes*, **41**, 886 (1992).
31. R. P. Lanza, D. H. Butler, K. M. Borland, J. M. Harvey, D. L. Faustman, B. A. Solomon, T. E. Muller, R. G. Rupp, T. Maki, A. P. Monaco, and W. L. Chick, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **88**, 11100 (1991).
32. T. Aung, K. Inoue, M. Kogire, S. Sumi, T. Fujisato, Y. J. Gu, S. Shinohara, H. Hayashi, R. Doi, and M. Imamura, *Transplant. Proc.*, **26**, 790 (1994).
33. M. Mtsuo, K. Inoue, I. Kakai, T. Oda, Y. Gu, S. Shinohara, M. Kogire, T. Fujisato, S. Maetani, Y. Ikada, T. Tobe, and T. Oka, *Transplant. Proc.*, **24**, 2939 (1992).
34. T. Aung, M. Kogire, K. Inoue, S. Sumi, T. Fujisato, Y. J. Gu, S. Shinohara, H. Hayashi, R. Doi, and M. Imamura, *ASAIO J.*, **39**, 93 (1993).
35. K. Inoue, T. Fujisato, Y. J. Gu, K. Burczak, S. Sumi, M. Kogire, T. Tobe, K. Uchida, I. Nakai, S. Maetani, and Y. Ikada, *Pancreas*, **7**, 562 (1992).
36. T. Aung, K. Inoue, M. Kogire, R. Doi, H. Kaji, T. Tun, H. Hayashi, Y. Echigo, M. Wada, M. Imamura, and T. Fujisato, *Transplant. Proc.*, **27**, 619 (1995).
37. R. S. Ward, K. A. White, C. A. Wolcott, A. Y.

- Wang, R. W. Kuhn, J. E. Taylor, and J. K. John, *ASAIO J.*, **39**, 261 (1993).
39. H. Yang, H. Iwata, H. Shimizu, T. Takagi, T. Tsuji, and F. Ito, *Biomaterials*, **15**, 113 (1994).
 39. T. Takezawa, Y. Mori, and K. Yoshizato, *Biotechnology*, **8**, 854 (1990).
 40. Y. H. Bae, C. K. Han, B. Vernon, and S. W. Kim, *J. Control. Rel.*, **53**, 29 (1998).
 41. C. K. Han and Y. H. Bae, *Polymer*, **39**, 2809 (1998).
 42. B. Vernon, S. W. Kim, and Y. H. Bae, *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, **10**, 183 (1999).
 43. J. S. Hwang, S. Y. Chae, M. K. Lee, and Y. H. Bae, *Biomaterials*, **19**, 1189 (1998).
 44. A. Kikuchi, Y. H. Bae, and S. W. Kim, *Biotechnol. Prog.*, **10**, 630 (1994).