

줄기세포와 조직공학의 융합; 지지체

이 희 영

강남성형외과

Combination of Stem Cells and Tissue Engineering; Scaffolds

Hee Young Lee, M.D., Ph.D.

Kangnam Plastic Surgery, Seoul, Korea

Scaffold is a representative word in tissue engineering. Also, it is very important in stem cell research because it is an essential factor. It can stimulate proliferation, and induce differentiation, thus being regarded as one of the strongest influencing factor. Scaffolds are 3-D structure composed with biocompatible polymers on which cells attach and grow. For an optimal environment, scaffolds would contain almost all the cellular environments, including growth factors. Presently, scaffolds are combined with drug, and cells as a composite environment. Scaffolds can be used as effective implants because they induce stem cells and replace initial volume with regenerated tissues, similar to permanent autogenous graft.

(J Korean Soc Aesthetic Plast Surg 15: 199, 2009)

Key Words: Tissue scaffolds, Stem cells, Polymers

I. 서 론

고전적 줄기세포 연구는 줄기세포의 기능을 유도하고 관여하는 물질을 찾아내며 세포 표면의 성분으로 반응 특성을 규명하려는 노력이 주종을 이룬다. 여기서 문제되는 것은 세포환경 중 3차원 구조들의 배치와 특성에 대한 연구는 드물어서 실제 인체를 반영하는데 어려움이 있다는 것이다. 줄기세포의 기능적 범위와 가능성을 발견하였다 하더라도 그것이 순간 바뀌어 나타날 수 있을 정도의 특성 결정 요소인 3차원 환경이 배제되었다면 오류를 만들게 되므로 단순한 평면 배양을 거치는 세포 특성 연구보다는 필수적으로 3차원 환경을 거치도록 하는 것이 현명하다. 이러한 문제가 조직공학 영역에서도 제기되어 이제 3차원 환경에서의 줄기세포 연구가 다양하게 시도되고 있다.

조직공학은 전반적으로 1990년대 초부터 급격히 발달하여 초기에는 보형물 등 장기 대체 물질에 관한 공학적 연구와 기능적 이식물의 조직반응이나 약물 전달을 주제로 많은 연구가 있었다. 그러나 1980년대부터 이미 피동적으로 결정된 세포의 형태가 세포의 표현형을 바꾸는 연구가 있었고 1990년대 이를 의도된 지지체 (scaffold)로 유도하였으며¹ 2000년대에는 세포 환경의 분석을 통해 세포 주변의 구조물만으로도 세포의 분화를 유도해내는 것을 체계적으로 입증할 수 있어² 최근에는 줄기세포 분화 인자 중 가장 강력한 인자로서 연구되고 있다.

최근의 생명과학 연구는 공학적 발달과 더불어 더욱 미세한 대상에 대한 연구가 가능해짐으로써 세포의 반응과 변화를 직시할 수 있게 되고 세포 환경의 조성이 가능해지면서 환경 조건의 파악은 필수조건이 되고 있다.

Received September 30, 2009
Accepted October 5, 2009

Address Correspondence : Hee Young Lee, M.D., Ph.D., Kangnam Plastic Surgery, Gujeong Building 3F, 577-7 Shinsa-dong, Gangnam-gu, Seoul 135-891, Korea.
Tel: 82-2-514-0681, Fax: 82-2-514-0756 / E-mail: pslhy@medimail.co.kr

이희영 약력

1991 가톨릭대학교 의과대학 졸업
1996 성형외과 전문의 취득
1999 강남성형외과 개원
2005 성형외과학 박사

의학과 같은 고전적 생명과학에서는 종합적 현상만을 목격할 뿐이고 마지막 분석 단계에서 활용해야 할 기초과학적 접근은 불가능하다. 생체실험에서 구현할 수 있는 의도적 변수는 제한적이기 때문에 물질 제조나 미세조형 등 공학적 지식의 접목이 불가능하다면 중대 변수를 의도한 대로 생성하고 나머지를 분석하는 효율적 연구기법 활용도 어렵다. 거꾸로 조직공학 영역에서 줄기세포를 연구하는 것은 몇 가지 세포 샘플만 있으면 무한한 연구의 설계가 가능하다. 세포는 의학에서 익숙하지 않은 nanoscale에 반응하기 때문에 공학적 분석방식을 활용하는 것이 유리하다. 실험장비나 진단장비들이 공학에 의해 만들어지고 연구는 그 범위에서 이루어지는데 최근의 조직공학은 이미 수십 나노미터의 조형물을 이용하고 있으며 컴퓨터의 발달로 수학적 정보 누적과 분석도 쉽다.

세포에 근접한 연구에서 이처럼 의도된 변수를 자유롭게 설계할 수 있다는 것이 얼마나 강력한 연구의 수단이 되는지 알 수 있다면 의학자들은 지금이라도 조직공학에 뛰어들거나 도움을 요청해야 할 것이다. 반면에 의학자들이 임상에서 얻은 결과를 분석하여 가설을 세우는 방식은 수많은 연구를 생략하고 방향을 잡아주기도 하므로 가장 빠른 적용을 실현할 수 있는 장점이 있어 중요한데 의학자들의 연구에서 조직공학적 분석기법을 활용하고 가설을 세운다면 생명과학 전반의 발전 속도는 배가 될 것이다.

본문에서는 줄기세포의 임상적용에 가장 먼저 뛰어들어 치료 효과 증진에 몰두하고 있는 의학자들이 반드시 알아야 할 필수 소재로서 조직공학의 산물인 지지체에 대해 간략한 정의와 종류를 소개하고 현재 성형외과에서 어떤 단계의 임상적용이 가능한지를 소개하고자 한다.

또한 이들 공학 연구는 의학에서 아직 익숙하지 않은 특허 제도를 근거로 진행될 수 있어 자칫 연구나 치료의 결과가 특허 권리를 침해하거나 자신의 권리를 주장하지 못하는 결과를 낳을 수 있다. 또한 아주 중요한 연구결과는 논문으로 발표하지 않고 특허를 출원함으로써 기술의 공개를 늦추면서도 모든 권리와 원천성 (originality)을 공식적으로 보장 받게 되어 최근에는 특허 제도를 활용하는 연구자가 늘고 있다. 따라서 선행기술 조사 시에는 논문뿐 아니라 특허도 검색해야 하며 예로서 몇몇 특허를 참고문헌으로 소개한다.

II. 본 문

가. 조직공학과 지지체 (scaffold)

현재 거의 모든 조직공학의 산물은 세포와의 친화성을

연구하므로 넓은 의미에서는 세포와 인접하여 지지하는 지지체로 표현할 수 있으며 지지체라는 용어는 의학, 세포학에서 ‘세포’와 같은 단어처럼 조직공학의 핵심으로서 관여되는 학문은 광범위하다.

조직공학 (tissue engineering)이라는 용어를 처음 사용한 것은 1993년 Langer R 등에 의해, ‘조직공학은 조직기능을 복구하고 유지하며 개선하는 생물학적 물질을 개발하기 위해 공학의 원리와 생명과학이 포함된 융합 학문의 영역이다’로 표현되었다.³

지지체는 1999년 윌리엄 백과사전에 조직재생의 기초 물질과 통로 (guide)가 되는 기공성, 고분자 물질로 표현되었다. 기공 구조의 형태를 격자로 보아 lattice라고 표현하기도 한다.

세포가 분열하거나 조직을 형성하기 위해서는 부착할 장소와 통로가 필요하고 이들 세포의 물질을 충칭하여 지지체라 한다. 보통은 세포보다 경도가 높은 고체로 구성되며 최근 gel형태가 다양하게 시도되고 있다. 특정 형상의 반복 패턴과 화학적 특성을 갖게 되며 세포에 따라 요구되는 조건이 달라지게 된다. 이들은 생체 적합성 물질로서 인체 3차원 세포외기질 (ECM; extra cellular matrix) 환경을 모방하고 있으며,⁴ 적절한 기공성 (porosity)를 통해 단기간의 기계적 안정성 (short term mechanical stability), 세포 이동 (migration)을 위한 충분한 면적 등을 제공한다.⁵ 또한 세포들이 자라 들어오면서 서서히 녹아 흡수되는 성질을 갖는 것이 이상적이며 성장인자와 같은 보조 물질을 함유하도록 설계되기도 한다.⁶

나. 설계를 위한 일반 사항

지지체를 설계할 때는 알려진 물질의 특성 외에도 예측할 수 없는 현상이 많으므로 생체물질이나 기존에 데이터가 확립된 소재를 활용하고 가능한 한 자연상태의 구조를 모방하는 것이 현재의 시도이며 반복하여 생산할 수 있는 공정 재현성도 중요하다. 지지체를 실험에 적용할 때 지지체외의 환경들에 대한 적용 역시 인체와 유사할수록 유리하므로 의학과 기초학문의 여러 영역이 필요함을 알아야 한다.

설계기술이 발달하면 인체와 유사하지 않아도 의도한 효과를 내게 되겠지만 그 전 단계에서는 장점을 가진 지지체 조합의 다양성을 활용하는 것이 옳은 방향이다. 만약 다섯 가지를 조합하고 그 기본 지지체가 100가지 라면 약 4억 5천 가지의 조합이 가능하므로 실제 가능한 조합은 천문학적인 숫자이다. 인체의 환경 역시 다양한 조건들로 결합되어 경우의 수를 제한할 수 없으므로 두 조건의 무작위 결합

은 무한대에 가까우나 법적으로나 경제적으로 임상 적용이 쉬운 소재들이 시도되고 있다.

지지체는 세포 환경을 모두 포함하다 보니 설계에 필요한 항목을 모두 나열하기란 불가능하지만 몇 가지 중요한 1차 고려사항을 소개하면, 임상에서의 목적, 소재의 성분, 구조, 기계적 특성, 표면의 미세형상(기하학; topology), 분해 특성 등을 들 수 있다.

상기의 조건들은 각각도 다른 조건들에 관여하는데 예를 들어 기계적 특성이 적절하다면 2차적으로 보다 기초적 개념인 강도, 경도, 탄성도 등을 형성하게 된다.⁷

분해 특성 역시 상당히 중요한데 디자인한대로 분해가 되어 흡수되고 조직이 자라오는 속도에 맞추어 지지체는 흡수되고 결국 지지체는 전량 조직으로 대체 되게 된다. 그러나 이들 특성들이 완벽하다 하여도 체액의 확산능(diffusion capacity) 제한을 고려해야 하는데 예를 들면 4 cm가 넘는 지지체 이식편에서는 중앙부의 확산능이 부족한 문제를 일으킨다는 보고가 있다.⁸

결국 지지체는 모두가 확산을 통한 양분 교환이 필수적이고 젤과 같이 얇게 디자인 된 특수 형태가 아니라면 기공 구조를 필수로 한다. 다시 말해 기공 구조가 없는 지지체는 거의 불가능하다는 의미이다. 이런 의미에서 지지체의 특성으로서 기공성을 언급하고 기공의 크기, 모양, 교통성(interconnectivity), 방향성에 의해 분류하기도 한다.^{9,10}

최근 이러한 특성을 조절할 수 있도록 특성이 다른 지지체를 조합하고 필요에 따라 제거하는 방식으로 줄기세포의 밀도 등을 조절할 수 있는 지지체에 대한 특허도 공개되었다.¹¹

다. 성분

티타늄, 세라믹 등 무기물을 포함하여, 다양한 합성 고분자와, 생체 유래 고분자 등 다양한 원료가 활용하여 시도되었으며 이들 물질의 친수성, 용해성, 전도성, 물리적 탄성 및 경도 등 고유한 특성들이 역할을 하게 된다. 분류는 다양하지만 보통은 원료에 따라 크게 천연 및 합성소재로 나눈다.

라. 천연물질

무세포세포외기질(decellularized ECM), 콜라겐(collagen), 파이프린(fibrin), 아가(agar), 젤라틴(gelatine), 히알루론산(hyaluronates), 키토산(chitosan), 알지네이트(alginate), cellulose 형태의 다당류 등과 천연 세라믹 등을 포함하는 산호(coral)가 있다.

가장 많이 사용하는 콜라겐은 피부, 뼈, 연골, 건, 인대, 혈관 등에서 추출하며 양적 제한이 문제가 되었으나 최근에는

다량으로 구할 수 있는 지방조직에서의 활용도 보고된다.^{12,13} 이들은 세포가 부착하고 자랄 수 있는 기본 결합원자단(ligand) 구조를 가지며 이들은 활성물질(bioactive material)과 반응하는 기본 단위이다. 그 외에도 casein 등 천연단백질의 활용도 시도되고 있다.

천연소재는 이중 유래 물질의 경우 면역반응, 이중 바이러스에 대한 가능성이 존재하며 동종 물질은 바이러스 전이 또는 유전자 전이 등을 고려하여 선정하므로 단적으로 양이 충분치 않은 것이 문제이다.

마. 합성물질

linear polyesters (e.g. polylactic acid (PLA) and polyglycolic acid (PGA: DexonTM) and their derivatives), polyethylene, polypropylene, polydioxanone (PDSTM), polycaprolactones (PCL: MonocrylTM) 등의 고분자와 co-polymers로서 poly(ethylene oxide)terephthalates (PEOT) 등이 있으며 여러가지 기공성 세라믹인 calcium phosphate 복합체도 보고되었다. 복합형태로서 polyethylene glycol (PEG), Hydroxyapatite/polycaprolactone (HA/PCL), polylactic acid and polyglycolic acid co-polymers, poly lactic-co-glycolide (PLGA: VicrylTM), polymethyl methacrylates (PMMA), polyhydroxyalkanoates (PHA), poly-4-hydroxybutyrates, polypropylene fumarates (PPF), polyethylene glycol-dimethacrylates, beta-tricalcium phosphate 등 수많은 종류의 복합체가 존재하고 시도되고 있으며 최근에는 비 흡수성인 polytetrafluoroethylene (PTFE) poly-anhydrides, poly-phosphazenes, PMMA/polyhydroxyethylmethacrylate 계열도 시도되고 있으며 linear aliphatic polyesters인 poly(lactic acid), poly(glycolic acid) 등과 복합하는 것이 일반적이다.

이들 합성물질의 경우 여전히 해결해야 할 문제는 분해 산물이다. 분해 시에는 짧은 시기에 걸쳐 bulk degradation을 보이기 쉬어 국소 염증반응을 일으킬 수 있고 세포 환경에 의도하지 않은 영향을 줄 수 있다.¹⁴

바. 구조

Pore, fiber, bead, plane 등의 형상이 조합되어 sponge, sheet, fiber, particle, block 등 일상적인 형상으로 표현되므로 그 구조를 표현하는 데는 많은 언어가 필요하지 않으나 honeycomb, twisting 등 세부적 단위 형상을 언어로 구분 짓기에는 객관적이기 어려워서 정확한 단일 척도나 명칭은 없는 상태이다. 같은 형태라도 크기가 다르거나 물질이 다르면 전혀 다른 현상을 일으킬 수 있지만 공학적으로 쉽게 반복적으로 만들 수 있는(good processability)조합은 극히

제한되어 있어 아직 3차원 환경 연구가 불충분한 이유이기도 하다.

연골 분화 또는 베타선세포 (beta-islet cell)에 사용되는 지지체는 젤 상태로서 자가조립단백질 (self-assembling peptide) 구조를 특징으로 하고 어느 정도의 확산도 가능하지만 형상의 유지가 어렵고 분해 속도 예측이 어려우며 약물 방출 속도 역시 조절이 힘들지만 분자구조의 분석과 나노 기술을 통해 다양한 조합이 이루어지고 있다.

사. 공정

일반적 공정으로서 주형 (moulding and casting), 방사 (spinning), 소결 (sintering), 압출 (extrusion) 등이 있고 기공 형성으로는 녹여내기 (leaching) (Fig. 1), 상분리 (phase separation), 가스형성 (gas forming) 등을 사용하고, 직조형 (textile)으로는 braiding, weaving, knitting 등을 사용한다. 최근에는 레이저를 이용한 selective laser sintering (SLS), selective laser ablation (SLA)과 미래의 가장 유력한 방법으

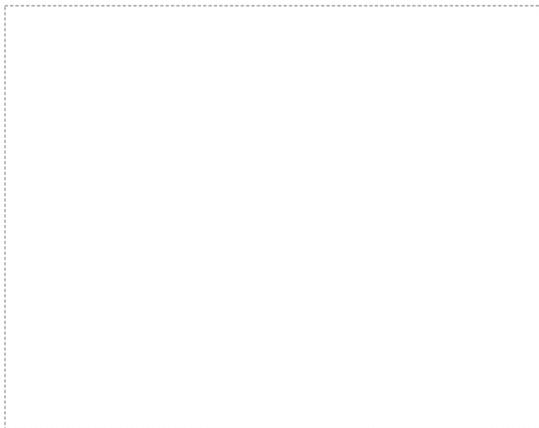


Fig. 1. PLLA (poly L co-lactic acid) scaffold manufactured by salt leaching.

로서 3차원 프린팅 기술인 RP (rapid prototyping)의 활용도 시도되고 있다 (Fig. 2).

이러한 공정들을 통해 형성된 지지체의 표면 형상과 물질의 특성은 세포증식, 분화와 이식물로서의 반응을 결정 짓게 되므로 상당히 중요하지만 아직 통일된 원칙을 세우기에는 어려운 단계이다.

아. 임상적용

현재의 임상적용 증가장 많은 예는 정형외과, 치과, 성형외과 등의 골유도 지지체들을 들 수 있으나 성형외과에서 부피대체용으로의 사용이 가장 다양하다고 볼 수 있다. 무세포 세포 유도 지지체로서 무세포 동종진피를 활용하고 있으며 히알루론산, 콜라겐 등 지지체 소재와 bead 구조물들이 사용되고 있으며 지방조직 자체를 캐리어 및 지지체로 활용하는 기술과 지방조직에 적합성 고분자를 혼합하거나 다른 안정적 물질을 혼합하여 지지체로 활용하는 기술이 이루어지고 있다.

아직 연부조직에서는 골조직처럼 조직 유도를 전제로 한 완전한 지지체 개념의 소재가 아직은 활발히 활용되고 있지 않으나 성형용 임플란트를 조직 대체형으로 바꾸려는 노력이 시도되어 왔고 곧 진보된 지지체를 보형물이나 필러로 사용할 수 있을 것이라 예상된다.

III. 결론

지지체는 세포가 부착하는 구조물로서 세포 성장의 필수조건이며 줄기세포의 성장 분화 환경은 조직 인자나 호르몬 외에도 지지체의 형상, 성분에 의해 지배되며 성장인자, 약물 등 다양한 활성 요소를 포함할 수 있고 지지체 외의 다른 요소들과 결합하여 존재하게 되므로 지지체는 분리된 세포인자가 아니라 모든 영향 요인을 포함하고 세포에



Fig. 2. Illustration of 3-dimensional printing methods and result of product (PLLA cubes).

가장 효율적으로 영향을 줄 수 있는 조직재생의 기본 물질이다. 따라서 모든 줄기세포 연구와 조직재생 연구는 지지체를 배제한 채 진행되어서는 안 되며 잘 설계된 지지체는 체외에서 줄기세포와 결합하지 않고 지지체만을 이식하여도 체내 줄기세포의 유도 및 분화를 일으키며 흡수되므로 의도한 자생조직으로만 부피 또는 기능적 장기를 대체 복원하는 이상적인 이식 소재로 사용될 수 있다.

성형외과에서 활용되는 보형물 또는 필러는 지지체의 소재로 활용되는 소재이나 각각 뼈나 연부조직을 대체하는 목적이지만 아직 부피만을 대체하고 있고, 흡수되면서 의도한 부피를 생성해내는 지지체형 보형물이 거의 개발되어 있지 않으면서도 사용빈도가 높아 지지체로서의 보형물 개발이 유력한 영역이다.

현재 사용되는 여러 형태의 보형물과 필러, 인체 삽입 물질들에 대한 임상경험에서 이식물의 효과에 대한 고찰을 통해 합병증이 적은 보형물을 개발함과 동시에 지지체를 통해 줄기세포의 효과를 적절히 사용하려는 노력이 필요한 시점이다.

IV. 고 찰

최근의 지지체 연구는 composite scaffold의 방향으로 진행되고 있으며 단독 물질의 지지체는 기초연구에 적합하지만 실제 활용에서는 절대적으로 불리하다. 특히 bioactive factor¹⁵로서 성장인자나 이미 입증된 세포 증식성 물질들을 가미하고 약물전달 체계와 추적 기능은 물론 줄기세포 역시 한 인자로서 포함하는 형태의 지지체가 개발되고 있어 지지체의 발전은 조직공학 이외의 영역을 모두 흡수할 수 있는 잠재력을 보여주고 있다.

조직공학과 줄기세포의 연구는 필수적으로 동반되고 있으며 임상에서 사용되고 있는 고전적 물질인 콜라젠 등도 재분석되어 뼈 또는 골수에서 다량으로 추출되고 더욱 효율적인 형태의 지지체로 개발되고 있다.¹⁶

지지체의 임상활용에 있어 고민해야 할 사항으로서는 의도하지 않았던 조직의 이형성이 가장 문제가 된다. 지지체는 그 자체가 분화요소로서 작용하므로 실제 장기에서 변수가 발생하면 부드러운 조직이 있어야 할 곳에 딱딱한 조직이 생긴다든지 그 반대가 될 수도 있다. 심장에 줄기세포를 투여한 경우에 골 형성이 발생한 경우도 보고되었는데¹⁷ 이는 심장의 석회화가 지지체처럼 반응 한 것인지 줄기세포의 문제인지 명확하지 않으나 생체 투여 시 주의를 요

해야 한다는 것을 말해주고 있다.

REFERENCES

1. Ingber DE, Prusty D, Sun Z, Betensky H, Wang N: Cell shape, cytoskeletal mechanics, and cell cycle control in angiogenesis. *J Biomech* 59: 575, 1997
2. Thomas CH, Collier JH, Sfeir CS, Healy KE: Engineering gene expression and protein synthesis by modulation of nuclear shape. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99: 1972, 2002
3. Langer R, Vacanti J: Tissue engineering. *Science* 260: 920, 1993
4. Sittinger M, Bujia J, Rotter N, et al.: Tissue engineering and autologous transplant formation: practical approaches with resorbable biomaterials and new cell culture techniques. *Biomaterials* 17: 237, 1996
5. Griffith L, Naughton G: Tissue engineering - Current challenges and expanding opportunities. *Science* 295: 1009, 2002
6. Babensee J, McIntire L, Mikos A: Growth factor delivery for tissue engineering. *Pharm Res* 17: 497, 2000
7. Baltzer A, Lattermann C, Whalen J, et al.: Genetic enhancement of fracture repair: healing of an experimental segmental defect by adenoviral transfer of the BMP-2 gene. *Gene Ther* 7: 734, 2000
8. Verrie S, Meury T, Lipross S, Alini M: An engineered vascularized graft for large bone defects. *Eur Cell Mater* 13(Suppl 2): 38, 2007
9. Karande T, Ong J, Agrawal C: Diffusion in musculoskeletal tissue engineering scaffolds: Design issues related to porosity, permeability, architecture, and nutrient mixing. *Ann Biomed Eng* 32: 1728, 2004
10. Lee M, Wu BM, Dunn JC: Effect of scaffold architecture and pore size on smooth muscle cell growth. *J Biomed Mater Res A* 87: 1010, 2008
11. Healy KE, Irwin B, Pollock JF, et al.: *Controlling stem cell destiny with tunable matrices*: US20070026518 (2007).
12. Choi JS, Yang HJ, Lee HY, et al.: Human extracellular matrix (ECM) powders for injectable cell delivery and adipose tissue engineering. *J Control Release* 139: 2, 2009
13. Katz AJ, Lull R, Futrell WJ, Hedrick MH, Benhaim P, Lorenz HP, Zhu M: *Adipose-derived stem cells and lattices*: US6777231 (2004).
14. Moroni L, Wijn J, Van Blitterswijk A: Integrating novel technologies to fabricate smart scaffolds. *J Biomater Sci Polymer Ed* 19: 543, 2008
15. Perka C, Schultz O, Spitzer R, et al.: Segmental bone repair by tissue-engineered periosteal cell transplants with bioresorbable fleece and fibrin scaffolds in rabbits. *Biomaterials* 21: 1145, 2000
16. Freyman T: *Decellularized bone marrow extracellular matrix*: US 7326571 (2008).
17. Breitbach M, Bostani T, Roell W, et al.: Potential risks of bone marrow cell transplantation into infarcted hearts. *Blood* 110: 1362, 2007