

골수줄기세포가 배양된 생분해성 매트릭스를 이용한 소구경 인공혈관 개발

조승우^{1,2}, 임상현³, 김일권¹, 홍유선³, 유경종³, 박현영³, 최차용², 김병수¹
¹한양대학교 화학공학과, ²서울대학교 응용화학부, ³연세의대 심혈관센터
전화 (02) 2297-0838, FAX (02) 2298-4101

Abstract

Although Dacron and ePTFE have most widely been used for artificial vascular grafts, these materials cannot be used for small-diameter grafts (I.D.<6mm) due to thrombotic occlusion. To overcome this limitation, a small-diameter vascular graft was developed with stem cell and tissue engineering method. Autologous bone marrow stem cells were cultured and seeded onto small-diameter (4mm) collagen tubular matrices. The matrices were anastomosed to carotid arteries in canine models. Prior to implantation, histological and electron microscopical examination revealed stem cell adhesion and growth on the matrices. Angiography indicated that the vascular grafts maintained patent for 8 weeks. Histological examination showed the regeneration of endothelium, media and adventitia in the grafts. This study may allow us to step forward to the development of tissue-engineered small-diameter vascular graft appropriate for clinical applications.

1. 서론

직경이 6 mm 이상인 대구경 인공혈관의 경우 Dacron과 ePTFE가 이미 상품화되어 임상에 많이 적용되고 있으나 직경이 6mm 이하인 소구경 인공혈관은 혈액응고에 의한 혈관막힘 현상으로 인해 기존의 고분자재료를 이용한 인공혈관이 임상적으로 사용되지 못하고 있는 실정이다.¹ 이를 극복하기 위해 생체재료에 혈전생성을 억제하는 기능을 가진 혈관 내피세포등을 배양함으로써 기존의 고분자재료의 단점을 보완하는 조직공학적인 연구가 활발히 진행되고 있다.^{2,3} 최근에는 골수나 제대혈에서 분리한 줄기세포를 혈관 내피세포 전구체로 분화시킬 수 있음이 밝혀지면서^{4,5} 생체재료에 항혈전성 기능을 갖도록 분화시킨 자가 줄기세포를 배양해서 제작한 혈액적합성 혈관재료가 기존의 소구경 혈관 재료의 새로운 대안이 될 수 있음이 증명되었다.⁶⁻⁸ 이 연구에서는 임상적으로 적용이 가능한 소구경 인공혈관 개발을 위해 생분해성 교원질 튜브형 매트릭스에 골수줄기세포를 배양하여 소구경 인공혈관을 제조

하였고 개 모델에서 임상시험을 하였다.

2. 재료 및 방법

개 자가 골수줄기세포를 배양한 교원질 튜브형 매트릭스(내경: 4mm, 길이: 40mm)와 줄기세포를 배양하지 않은 매트릭스를 개의 경동맥에 이식하였다. 이식하기 전에 주사전자현미경과 조직학 검사를 통하여 매트릭스에 세포의 부착 여부를 조사하였다. 수술실 문합용이성을 테스트하기 위해 Instron을 이용하여 인공혈관에 대한 수술실 문합강도 시험을 실시하였다. 화학 조직학 검사와 면역화학 조직학 검사를 실시하였고, 혈관조영술로 인공혈관 개통 여부를 조사하였다.

3. 결과 및 고찰

개 자가 골수줄기세포를 유착시켜 배양중인 혈관조직의 주사전자현미경사진과 조직학적 분석을 통해 혈관 내벽에 세포가 제대로 부착되어 성장하고 있음을 확인하였다. Instron을 이용한 수술실 문합강도 테스트 결과 대조군인 개의 경동맥과 비교하여 통계학적으로 중요한 차이가 나지 않았다. 개 모델에 자가 골수줄기세포를 배양한 매트릭스를 이식했을 경우 최대 8주까지 혈관막힘 현상이 일어나지 않은 반면에 자가 골수줄기세포를 배양하지 않은 매트릭스의 경우에는 최대 2주 안에 모든 매트릭스에 혈관막힘 현상이 발생하였다. 수거한 인공혈관 조직에 대한 조직학적 분석, 전자현미경 분석 등에 대한 추가실험을 통해 임상적으로 응용가능한지에 대한 여부를 조사하였다.

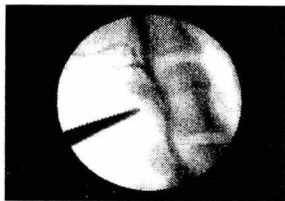


그림 1. Patent Graft (실험군)

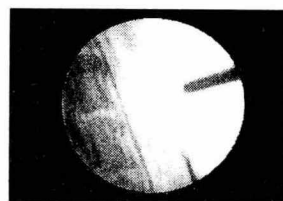


그림 2. Occluded Graft (대조군)

4. 요약

직경이 6mm 이하인 소구경 인공혈관의 경우 혈전생성으로 인한 혈관막힘으로 인해 Dacron이나 ePTFE와 같은 비분해성 고분자 재료를 이용할 수가 없다. 이러한 문제점을 극복하기 위해 본 연구에서는 생분해성 생체재료와 자가 골수줄기세포를

결합시켜 소구경 인공혈관을 개발하였고, 동물 임상시험에서 골수 줄기세포의 배양은 소구경 인공혈관의 혈관개통율을 향상시켰다. 줄기세포로부터 혈관내피세포의 분화와 매트릭스에 세포부착과 배양에 대한 추가 보완 실험을 거친다면 기존의 소구경 혈관 재료를 대체하여 많은 혈관질환 치료에 적용이 가능할 것이다.

5. 참고문헌

1. Simon PH, Gregor Z, et al. Tissue engineering of small caliber vascular grafts. (2001), European Journal of Cardio-Thoracic Surgery, 20, 164-169
2. Laura AP, Klaus S, et al. Performance of small diameter synthetic vascular prostheses with confluent autologous endothelial cell linings. (1996), Journal of Biomedical Materials Research, 30, 221-229
3. Walluscheck KP, Steinhoff G, et al. Endothelial cell seeding of de-endothelialised human arteries: Improvement by adhesion molecule induction and flow-seeding technology. (1996), European Journal of Vascular and Endovascular Surgery, 12, 46-53
4. Morayma R, Arkadiusz D, et al. Origin of endothelial progenitors in human postnatal bone marrow. (2002), Journal of Clinical Investigation, 109(3), 337-346
5. Qun S, Shahin R, et al. Evidence for circulating bone marrow-derived endothelial cells. (1998), Blood, 92(2), 362-367
6. Vishwanath B, Peter A, et al. Enhanced endothelialization and microvessel formation in polyester grafts seeded with CD34+ bone marrow cells. (2000), Blood, 95(2), 581-585
7. Frechette E, Dion YM, et al. Fat-and bone marrow-impregnated small diameter PTFE grafts. (1999), European Journal of Vascular and Endovascular Surgery, 18, 308-314
8. Sunjay K, Gilad EA, et al. Functional small-diameter neovessels created using endothelial progenitor cells expanded *ex vivo*. (2001), Nature Medicine, 7(9), 1035-1040