

조직공학적 연골 재생

강선웅, 유성필, 박정호¹, 김병수

한양대학교 화학공학과, 고려대학교 정형외과¹

전화 (02) 2291-0838, FAX (02) 2298-4101

Abstract

Cartilage defects are common and painful conditions that affect people of all ages. Although many techniques have developed, none of the current available treatment options is satisfactory. Recent advances in biology and materials science have pushed tissue engineering to the forefront of new cartilage repair techniques. The purpose of this study is to determine effective regeneration method for tissue-engineered cartilage. A serum free medium was developed for cartilage tissue engineering. Chondrocyte passage number was found to influence greatly on cartilage tissue formation in vivo. Injectable, biodegradable polymer matrix was developed for chondrocyte transplantation through injection. Transplantation of chondrocytes mixed with the injectable matrices resulted in the cartilage formation in nude mice's subcutaneous sites and rabbit knees. This study may lead to the development of tissue-engineered cartilage appropriate for clinical applications.

Key words: chondrocyte, cartilage, tissue engineering, injectable polymer matrix

서 론

연골 손상은 많은 치료방법이 있지만 완치될 수 있는 방법은 아직 없고, 부작용 또한 다양하다. 최근 조직공학을 통한 연골 재생이 매우 효과적인 치료 방법으로 인정되고 있다. 효율적인 연골 재생을 위해선 적절한 연골세포 배양과 연골조직 형성을 촉진시키는 매트릭스 개발이 필요하다.^{1,2)} 이 실험에는 효율적인 세포조건, 배지, 세포이식용 매트릭스^{4,7)}를 찾기 위해 실험을 행하였다.

재료 및 방법

연골세포는 뉴질랜드 화이트 토끼의 무릎 연골 조직을 떼어내어 collagenase 효소 처리를 하여 분리하였고, DMEM/F12 에 혈청 10%가 첨가된 배지를 이용하여 배양하였다. 무혈청 배지를 개발하기 위하여 DMEM/F12에 몇 가지 호르몬과 성장인자

³⁾를 첨가하여 연골세포의 성장을 조사하였다. 세포배양 passage수가 1과 5인 연골 세포를 생분해성 매트릭스와 혼합하여 면역 결핍생쥐의 피하조직에 이식하였고 5주 후 조직을 떼 내어 조직학적 검사를 하였다. 조직학적 검사는 GAG의 생성 여부를 알아보기 위해 safranin-O/fast green와 alcian blue로 염색했고, collagen의 생성 여부는 Masson's trichrome method로 알아보았다. 연골세포를 주사요법으로 이식하기 위하여 생분해성 고분자인 poly(lactic-co-glycolic acid)(PLGA)를 재료로 주사가 가능한 매트릭스를 개발하였다. 연골세포를 이 매트릭스와 혼합하여 면역결핍 생쥐의 피하조직과 토끼부릎에 이식한 후 6주째에 재생된 연골 조직을 조직학적 검사를 하였다.^{5,6)}

결과 및 고찰

연골세포는 토끼 무릎 연골 조직으로부터 효율적으로 분리되었고 대량 배양되었다. 개발된 무혈청 배지로 연골세포를 배양한 결과 연골세포가 잘 성장 하였고, 세포성장 속도가 혈청배지를 사용할 때 보다 다소 높았다. 무혈청 배지에서 배양된 연골세포를 면역결핍 생쥐의 피하조직에 이식하였을 때 연골조직을 형성하였고, 혈청배지에서 배양된 연골세포의 이식에 의해서 형성된 연골 조직과 비교하여 차이가 없었다. 세포배양 passage 수가 1인 연골세포는 이식후 생체 내에서 연골조직을 잘 형성 하였지만, passage 수가 5인 연골세포는 이식후 연골조직을 형성하지 않았다. 생분해성 고분자인 PLGA를 재료로 주사가 가능한 매트릭스를 제조하였고, 주사기 통과 실험 결과 모든 크기의 주사바늘을 통해 매트릭스를 전달할 수 있었다. 주사가 가능한 매트릭스와 혼합하여 면역결핍 생쥐의 피하조직과 토끼무릎에 이식한 결과 연골 조직이 잘 형성됨을 확인하였고 조직학적 검사를 통하여 glycosaminoglycan과 collagen의 연골 조직 내 생성을 확인하였다. 이 연구에서 개발된 조직공학적인 연골 재생술은 연골 손상의 새로운 치료법으로 사용되어질 수 있을 것이다.

참고문헌

1. Seal BL, "Polymeric biomaterials for tissue and organ regeneration"(2001), Materials Science and Engineering R Vol(34), 147
2. Passaretti D. et al. "Cultured chondrocytes produce injectable tissue-engineered cartilage in hydrogel polymer"(2001), Tissue Engineering, Vol(7)6, 805
3. Wim B, et al. "Tissue engineering, cells, scaffolds, and growth factors"(2001), Clinical Orthopaedics and Related Research, Vol(391S), 244
4. Noushin S. et al. "Cartilage Production by Rabbit Articular Chondrocytes on Polyglycolic Acid Scaffolds in a Closed Bioreactor System"(1995), Biotechnology and bioengineering, Vol(46), 299

5. Davis II, et al. "In Vitro Generation of Scaffold Independent Neocartilage"(2001), Clinical Orthopaedics and Related Research, Vol(391S), 280
6. Johnna S. et al. "Tissue engineering for regeneration of articular cartilage"(1999), Biomaterials, Vol(21), 431
7. Lichun Lu, et al. "Biodegradable Polymer Scaffolds for Cartilage Tissue Engineering"(2001), Clinical Orthopaedics and Related Research, Vol(391S), 251