

## 캡슐화 간세포 구상체 충전형 생인공간의 쥐 *in vivo* 성능 평가

이두훈<sup>1</sup>, 이지현<sup>2</sup>, 이광웅<sup>3</sup>, 이석구<sup>3</sup>, 김성구<sup>2</sup>, 박정극<sup>1</sup>

<sup>1</sup>동국대학교 화학공학과, <sup>2</sup>부경대학교 생물공학과, <sup>3</sup>삼성서울병원 일반외과

(e-mail:jkpark@dongguk.edu, Tel: 02-2260-3365, FAX: 02-2271-3489)

### 서 론

최근 말기 간부전 환자의 간이식 대기기간이나 급성 간부전 환자의 수명을 연장하기 위하여 돼지의 간세포를 이용한 체외순환형 간 보조장치(생인공간, bioartificial liver)의 연구가 활발하다(1). 생인공간의 성능은 핵심 요소인 간세포 반응기에 충전된 간세포의 활성에 좌우된다. 간세포의 구형 응집체(구상체)는 단층으로 배양된 간세포 보다 간기능 활성이 높다고 알려지면서(2) 간세포 구상체를 이용하는 생인공간이 등장하고 있다.

본 연구에서는 최적화된 응집정도를 가지는 간세포를 Ca-alginate bead에 고정화하고 이를 충전한 형태의 생인공간 시스템을 제조하였으며 약물에 의해 간부전이 유도된 쥐에 연결하여 *in vivo* 성능 평가를 실시하였다.

### 재료 및 방법

#### 간세포 반응기

체중 200-250g의 SD rat에서 two step collagenase perfusion 방법으로 간세포를 분리하여 하루 동안 spinner flask에서 부유 배양하여 직경 40-70 $\mu$ m의 응집체 형성하고 총  $5 \times 10^7$ 개의 간세포를 Ca-alginate bead(1.5% alginate, 평균직경 1.2mm)에 고정화 한다. 고정화된 bead는 직경 16mm, 높이 6cm의 반응기에 충전한다.

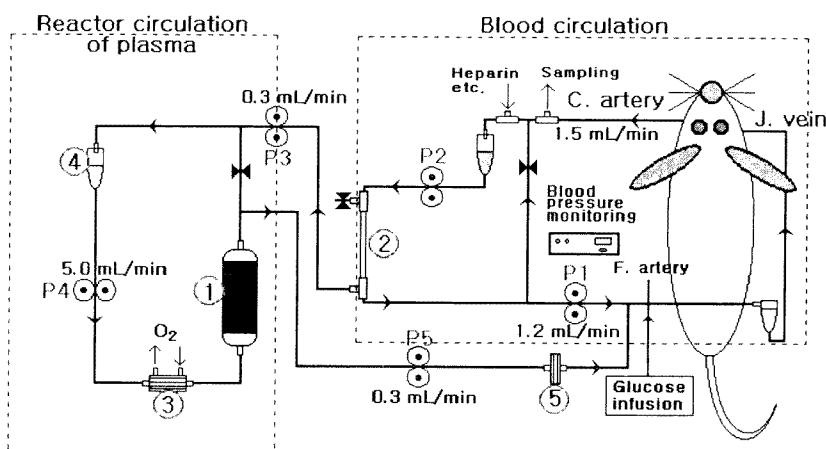
#### 간부전 모델

체중 300~350g의 SD rat을 사용하였다. D-galactosamin을 100mg/mL 의 농도로 생리 식염수에 녹이고 1N NaOH로 pH를 7로 보정한 후 멸균 여과한 후에 1.5g/kg body weight의 양으로 복강에 1회 주사하였으며 24시간 후에 꼬리에서 혈액을 채취하여 혈액 중의 암모니아, 전체 빌리루빈, GOT, GPT 농도를 측정하여 간부전이 일어난 것을 확인한 후에 실험에 사용하였다. 초기 마취는 케타민 0.2mL과 에테르를 사용하였으며 마취유지는 에테르만을 사용하였다.

#### Rat *in vivo* test 용 체외 순환형 생인공간 시스템

전체 시스템은 그림 1과 같이 혈장분리 순환과 간세포 반응기 순환으로 구성된다.

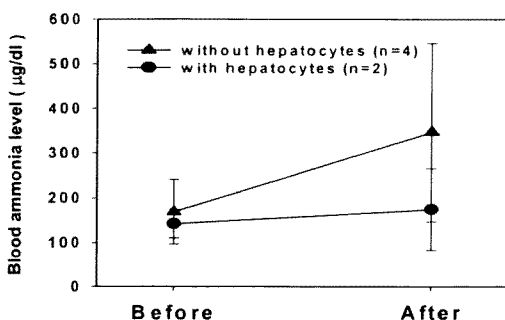
체의 순환을 위한 혈관은 경동맥과 경정맥을 사용하였으며 22G 정맥 catheter를 사용하였다. 튜빙은 내경 0.5~2mm의 실리콘관을 사용하였으며 혈액의 체외 순환 부피는 2.5ml, 혈장의 체외 순환 부피는 4.5ml이다. 시스템 내부는 쥐 혈장과 하트만 용액을 1:2로 혼합하여 사용하였으며 mL당 10unit의 heparin을 첨가하였다. 혈장 분리기는 0.2  $\mu\text{m}$  pore, 막면적 26cm<sup>2</sup>의 중공사막 모듈을 사용하였으며 혈액과 분리되는 혈장의 유속은 각각 1.5ml/min, 0.3ml/min이다. 총 3시간동안 순환하였다.



**Figure 1.** Bioartificial liver system for rat *in vivo* performance test  
 (1. Bioreactor 2. Plasma separator 3. Oxygenator  
 4. Bubble trapper 5. Membrane filter)

### 간기능 측정

생인공간 처리 전후에 혈액을 채취하여 GOT, GPT, 혈중 암모니아, 전체빌리루빈, 혈당 등을 측정하여 성능을 평가하였다.



**Figure 2.** Change of blood ammonia level of hepatic failed rats treated with bioartificial liver system.

## 결과 및 고찰

GOT, GPT, total bilirubin의 수치는 생인공간 처리 전후로 큰 변화를 보이지 않았으나 혈중 암모니아 수치는 간세포를 충전하지 않은 경우에 크게 증가되었다.

간세포 반응기 전후의 암모니아 농도를 측정된 결과 간부전 쥐에서 분리된 혈장에 포함되어 있는 암모니아를 효과적으로 제거함을 확인할 수 있었다.

## 참고문헌

- (1) V. Dixit and G. Gitnick, "Artificial liver support : State of the art", *Scand. J. Gastroenterol.* Vol.31, Suppl. **220**, 101-14, 1996
- (2) A.P.Li, Dale J.Beck, "A Simplified Method for the Culturing of Primary Adult Rat and Human Hepatocytes as Multicellular Spheroids", *In Vitro Cell. Dev. Biol.*, **28A**: 673-677, 19921.