

## 콜라겐을 알긴산으로 교차 결합시킨 인공진피의 창상치유 효과

장재훈<sup>1</sup> · 박대환<sup>1</sup> · 신정임<sup>2</sup> · 안기영<sup>1</sup> · 송철홍<sup>1</sup>

대구가톨릭의과대학 성형외과학교실<sup>1</sup>, 조직공학센터<sup>2</sup>

### The Wound Healing Effects of Alginate-crosslinked Collagen Dermal Substitute of Artificial Skin

Jae Hoon Chang, M.D.<sup>1</sup>, Dae Hwan Park, M.D.<sup>1</sup>,  
Jeong Im Shin, M.D.<sup>2</sup>, Ki Young Ahn, M.D.<sup>1</sup>,  
Chul Hong Song, M.D.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Plastic and Reconstructive Surgery, <sup>2</sup>School of Medicine & Tissue Engineering Center, Daegu Catholic University, Daegu, Korea

Alginate, which is isolated from brown seaweed, is a bioabsorbable long chain polysaccharides,  $\beta$ -D-mannuronic acid and  $\alpha$ -L-guluronic acid. The authors produced alginates and alginate-collagen as a disc form. Then, to evaluate the efficacy of alginate and alginate-collagen complex as a wound healing material, three full-thickness skin defects of 2 cm in diameter were made at the back of the New Zealand white rabbits. Three groups of dressing materials - alginate, alginate-collagen complex and vaseline gauze as control group - were applied on the wound and the results were evaluated grossly and histopathologically. The authors compared gross findings of sizes of healed wound, wound epithelization and wound contraction by tracing the remaining wound area at 5th, 10th, 15th, 20th, 25th day after wound introduction, and wound biopsy was performed at 3rd, 7th, 14th, 21st day, respectively.

Alginate and alginate-collagen complex showed statistically higher percentage of wound contraction and wound healing compared to control group ( $p < 0.05$ ). Alginate-collagen complex showed statistically higher percentage of wound contraction, epithelization and wound healing compared to alginate alone. In conclusion, the

result suggests that alginate has a good effect of wound healing and that alginate-collagen complex is more effective in wound healing than alginate alone.

**Key Words:** Alginate, Alginate-collagen complex, Wound healing

### 1. 서 론

알긴산은 해조류에서 분리한 mannuronic acid와 guluronic acid의 block으로 이루어진 hetero다당류로 생체에 적합하고 친수성인 중합체로 알려져 있다.<sup>1</sup>

알긴산은 세포 독성이나 면역반응을 일으키지 않으며 조직 내에 이식되었을 때 염증의 정도가 감소하고 조직세포의 접근, 부착, 함입 및 성장을 촉진<sup>2</sup>할 뿐만 아니라 mannuronic acid와 guluronic acid의 성분비 및 여기에 더해지는  $\text{CaCl}_2$ , sodium ion 등의 농도에 따라 그 강도가 달라지는 성질을 갖고 있어 성형외과 및 기타 영역에서 조직 재생을 위한 지지구조물(Scaffold)로서의 그 사용범위가 넓어지고 있다. Atala 등<sup>3</sup>은 내시경을 이용한 방광-요관 역류의 치료에서 알긴산의 세포외 지지체로서의 안전성 및 치료효과를 입증한 바 있다.

최근에 조직공학 영역에서 주로 사용하는 세포외기질로서 피브린, 콜라겐, glycosaminoglycan 등의 생체추출물질과 알긴산 키틴 등의 천연물질 및 polyacetic acid, polyglycolic acid 등과 같은 합성 중합체를 들 수 있는데 그 중 알긴산은 세포의 배양 및 분화를 위한 삼차원적 세포지지구조물임은 확인되었지만, 세포와 친화성이 적은 음이온을 띄어 세포증식에 적절한 미세환경을 조성하지 못하는 것으로 알려져 있다.<sup>4,5</sup> 이러한 점을 극복하기 위해 세포부착에 도움을 주는 PLL(poly-L-lysine) 등의 합성물질을 알긴산에 이용하여 지방전구세포의 배양효과를 실험한 예도 있다.<sup>6</sup>

이에 저자는 이미 창상치유 및 조직재생에 이미 그 효과가 입증된 알긴산에 보다 세포와 친화성이 높아 세포에 잘 부착하는 생체 추출물질인 콜라겐을 합성한 알긴산-콜라겐 복합체를 제작하여 알긴산 단독으로 사용한 군과 알긴산-콜라겐 복합체를 사용한 군 그리고 대조군으로 고식적인 바세린거즈를 이용한 것으로 나누어서 각각의 드레싱

Received July 29, 2005

Revised November 17, 2005

**Address Correspondence:** Chul Hong Song, M.D., Department of Plastic and Reconstructive Surgery, College of Medicine, Daegu Catholic University, 3056-6 Daemyung 4-dong, Nam-gu, Daegu 705-718, Korea. Tel: 053) 650-4583 / Fax 053) 650-4584 / E-mail: andrews@cu.ac.kr

\* 본 논문은 제 57차 대한성형외과학회 학술대회에서 구연 발표되었음.

\* 본 논문은 2001년도 대구가톨릭대학교 교내 연구비 지원에 의하여 연구되었음.

군을 가토의 등에 유발한 전층피부결손 창상에 적용하여 그 창상치유의 효과를 비교분석 하기 위하여 본 실험을 시행하였다.

## II. 재료 및 방법

### 가. 실험재료

#### 1) 실험동물

체중 1.5 - 2 kg의 흰색 가토(New Zealand white rabbit) 수컷 20마리를 사용하였다. 실험동물은 온도  $24 \pm 0.5^\circ\text{C}$ , 습도 55 - 65% 및 12시간 주기로 명암이 자동으로 조절되는 사육조건 하에서 관리되었으며, 약 14일간 환경에 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

#### 2) 실험시료의 제작 및 정제

##### a. 알긴산 스폰지의 제작(Fig. 1)

대구가톨릭 의과대학 조직공학센터에서 제조한 알긴산을 1 M HCl 용액에 0.5% w/v(weight per volume)의 농도로 첨가 후 1시간 30분 또는 3시간동안  $121^\circ\text{C}$ 에서 열처리하였다. 알긴산용액을 pH 7.0으로 보정 후 활성탄을 0.2% 첨가 후 12시간 진동혼합 한 뒤  $0.2 \mu\text{m}$  (pore-size) 크기의 반투막여과기를 이용하여 2-3번 여과하였다. 이들 여과된 알긴산을 2배량의 에탄올을 첨가하여 원심분리 침전물을 회수하였다. 실제 실험에 있어서 편의성을 위해서 겔상태의 알긴산은 전층결손 부위에서 유지가 어려운 관계로 회수된 알긴산을 동결 건조된 디스크 형태로 제작한 후에 E.O. 가스로 멸균 처리하여 사용하였다.

b. 콜라겐의 추출 및 알긴산-콜라겐 복합체 스폰지의 제작  
콜라겐은 상용화된 콜라겐(Matrixen™-ASL, source: rat

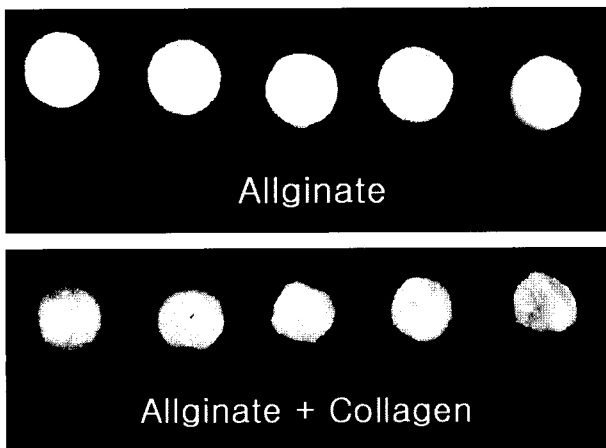


Fig. 1. (Above) Alginate sponge and (Below) alginate-collagen complex sponge.

tail tendon, type: pepsin treated type I atelo collagen, content: 0.3% 100 ml collagen solution, pH 3.0(Bioland사, 한국)을 사용하였으며 액체상태의 콜라겐 추출물 형태로 냉장 보관하여 사용하였는데, 알긴산 용액 1%를  $\text{H}_2\text{O}$ 에 녹인 후 0.3% 콜라겐 용액을 1:1의 비율로 섞어 물리적으로 혼합하였다. 혼합된 용액을 96 well 배양용기에 3 ml씩 넣고 영하 0도에서 냉동시킨 후 24시간 동안 동결 건조하였다. 다시 영하 20도에 냉동시킨 후 3일간 냉동 건조하였다.

### 나. 실험방법

#### 1) 실험군의 설정

실험군은 알긴산과 일긴산-콜라겐 복합체의 창상치유 효과를 알아보기 위해서 토끼의 등(back)에 직경 2 cm의 원형의 피부전층창상을 3곳 만들어서 각 창상에 적용한 드레싱 재료에 따라서 A, B, C군으로 세분화하였다.

A군: 바세린 거즈(fine mesh vaseline gauze)

고식적인 드레싱 재료로서 창상을 습윤하게 유지시켜주지만 성장인자나, 항염증작용을 돕는 성분이 없는 대조군으로 사용하였다.

B군: 2)의 a의 과정을 통해 제작된 알긴산을 냉동건조한 알긴산 디스크

C군: 2)의 b의 과정을 통해 제작된 알긴산-콜라겐 복합체 디스크

#### 2) 실험과정

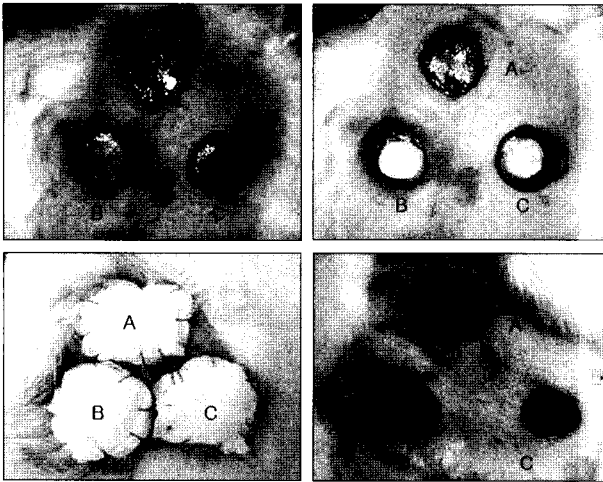
20마리의 토끼의 등에 지름 2 cm의 원형의 피부전층창상을 3곳에 만들어서 각각의 창상에 3가지 드레싱 재료를 무작위로 할당하여 모든 창상이 치유될 때까지 관찰하였다.

수술 시에는 토끼의 대퇴근에 체중 kg당 60 mg의 ketamine hydrochloride(케타라, 유한양행, 서울, 한국)을 근육 주사하여 마취한 후 토끼를 복외위로 고정하고 엎드린 자세에서 털을 면도한 후 베타딘과 알코올로 소독하고 15번 칼과 조직가위를 이용하여 3곳에 동일한 크기(지름 2 cm의 원형창상)와 동일한 깊이의 피부 전층창상을 만들었다(Fig. 2). 원칙적으로 모든 군에서 술후 10일까지는 이틀에 한번씩, 그 이후에는 3-4일에 한 번씩 드레싱 하였다.

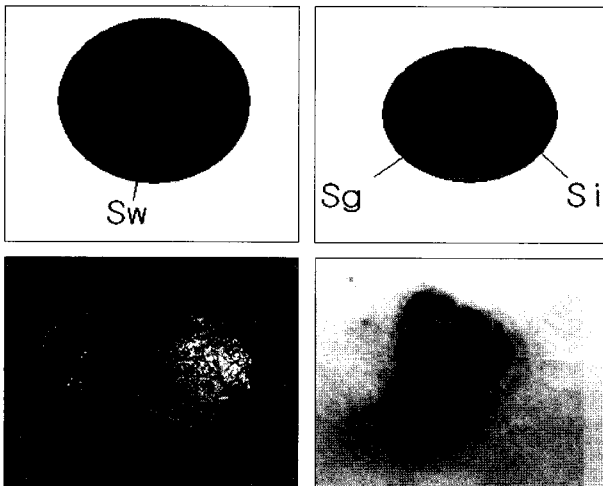
### 다. 실험 평가

#### 1) 육안적 평가

총 20마리의 토끼 중 16마리를 육안적으로 평가하였다. 피부전층창상을 만든 후에 창상의 테두리를 투명한 OHP 필름(미리 E.O gas를 이용하여 멸균 처리한 것)에 그린 후 그 면적을  $S_w$ 라고 정하였다. 피부전층창상 시술 후 5, 10,



**Fig. 2.** Introduction of wound and processing of dressing. (Above, left) Circular shape full thickness skin defect ( $\phi=2$  cm) was made on the back of a white rabbit. (Above, right) Each dressing material was applied(Fine mesh vaseline gauze: A, covalent cross linked alginate disc: B and alginate-collagen complex disc: C)(Below, left) Above each dressing material, aseptic gauze was laid and sutured with Nylon 3-0 or Stapler. (Below, right) Change in wound size according to dressing materials at day 10 after operation. Most of the wounds were healed between 25th and 30th day after operation.



**Fig. 3.** Calculation of wound size. (Above, left)  $S_w$ =the initial wound. (Above, right)  $S_i$ =the wound on the day measured.  $S_g$ =the area of granulation wound which is unepithelized on the day measured. Evaluation of each parameter associated wound healed can be found; Size of wound healed= $S_w-S_g$ , Size of wound contraction= $S_w-S_i$ , Size of wound epithelization= $S_i-S_g$ .

15, 20, 25일째에는 수술시와 동일한 방법으로 토끼를 마취시켜서 상피화가 진행되지 않은 미상피화육아조직창상의 면적을  $S_g$ 로 하고  $S_g$ 와 상피화로 치유된 신생상피의 면적을 합하여  $S_i$ 로 하여 술후 5, 10, 15, 20, 25일째의  $S_g$ 와  $S_i$

값을 컴퓨터 스캔과 영상 분석장치(i-SOLUTION, iMTechnology, 한국)를 이용하여 구하였다(Fig. 3). 위와 같이 구한 값을 토대로 창상치유 면적(size of wound healed), 창상 상피화면적(size of wound epithelization), 창상수축 정도(size of wound contraction)을 구하였다. 측정된 값들은 술후 측정된 시간에 따라서 각 드레싱재제군 간의 비교를 위해서 분산 분석법(ANOVA test)과 쉐페법(Scheffe's test)을 이용하여 평가하였다.

### 2) 조직학적 관찰

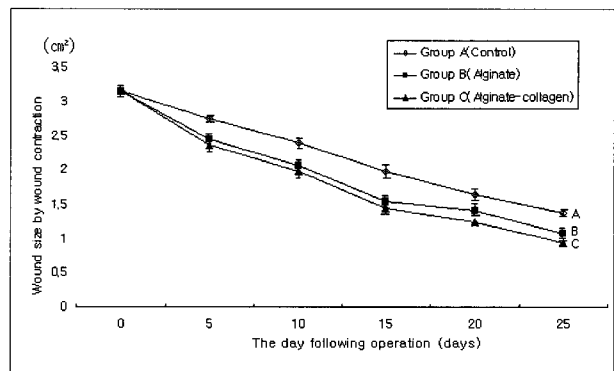
총 20마리 중 4마리의 토끼는 조직학적인 평가를 위하여 창상을 만든 후 3, 7, 14, 21일째에 전체 창상을 적출하여 즉시 10% 포르말린에 고정하고 파라핀에 포매한 후 6  $\mu$ m 두께로 잘라 헤마톡실린에오진(Hematoxylin-Eosin) 및 마손의 트리크롬(Masson's trichrome) 염색을 하여 관찰하였다. 각 사용물질들의 시간에 따른 창상치유 효과는 크게 네 가지 항목으로 나누어 관찰하였는데 재상피화, 섬유아세포의 증식, 다핵구와 림프구의 침윤 그리고 혈관생성의 정도를 관찰하였다.

## III. 결 과

### 가. 창상부의 육안적 소견

창상면적은 창상치유기간 동안 감소하여 술후 30일 전 후에 대부분의 창상이 치유되었는데 첫 7일 동안 다량의 삼출물이 배출되었는데 그 양은 알긴산-콜라겐 복합체 군과 공유결합시킨 알긴산군에서 대조군에 비해 빨리 감소하였다.

창상수축률(Fig. 4, Table I)과 창상치유율(Fig. 5, Table II)에 있어서 알긴산군과 알긴산-콜라겐 복합체 군이 술후 5일째 창상수축률이 각각 22.06%( $2.4556 \pm 0.1414$  cm<sup>2</sup>),

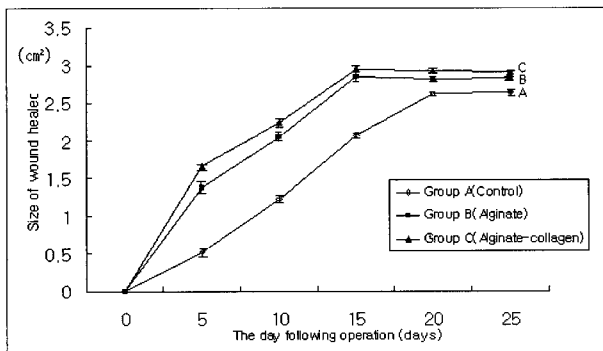


**Fig. 4.** Size of wound contraction. Alginate disc group and alginate-collagen complex group present statistically higher percentage of wound contraction compared to control group at 5th, 10th, 15th, 20th and 25th day after operation( $p<0.05$ ,  $n=16$ ).

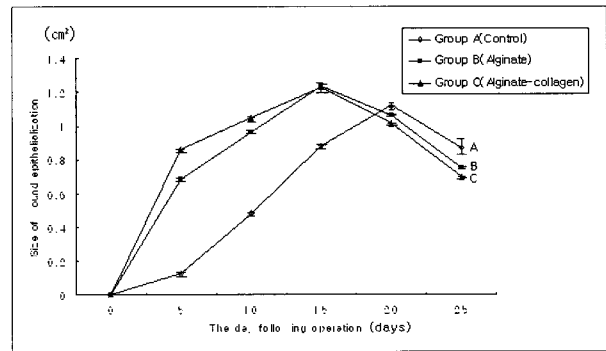
**Table I.** The Change of Wound Size by Wound Contraction on Days Following Operation(cm<sup>2</sup>)

Group	Days					
	0	5	10	15	20	25
Group A (Control)	3.1506 ± 1.181E-02	2.7544 ± 0.1192*	2.4075 ± 7.819E-02*	1.9706 ± 8.177E-02*	1.6469 ± 8.284E-02*	1.3769 ± 9.776E-02*
Group B (Alginate)	3.1519 ± 1.905E-02	2.4556 ± 0.1414*	2.0577 ± 0.1337*	1.5431 ± 7.761E-02*	1.4069 ± 0.1020*	1.0775 ± 7.066E-02*
Group C (Alginate-collagen complex)	3.1563 ± 1.586E-02	2.3514 ± 8.315E-02*	1.9713 ± 0.1487*	1.4359 ± 5.994E-02*	1.2425 ± 6.050E-02*	0.9334 ± 8.245E-02*

\*: p<0.05 by ANOVA & Scheffe test, n=16



**Fig. 5.** Size of the healed wound. Alginate group and alginate-collagen complex group show statistically higher percentage of healed wound compared to control group(p<0.05, n=16).



**Fig. 6.** Size of wound epithelization. There is a statistically significant difference between the 3 groups from 5th day after operation(p<0.05, n=16).

**Table II.** Size of Wound Healed on Days Following Operation(cm<sup>2</sup>)

Group	Days					
	0	5	10	15	20	25
Group A (Control)	0	0.52276 ± .12837*	1.22548 ± 8.1086E-02*	2.06094 ± 0.16315*	2.62982 ± 7.1454E-02*	2.645 ± 5.087E-02*
Group B (Alginate)	0	1.37843 ± .14856*	2.05801 ± 0.13553*	2.84692 ± 8.8598E-02*	2.80812 ± 7.9349E-02*	2.8232 ± 1.957E-02*
Group C (Alginate-collagen complex)	0	1.66946 ± 8.3438E-02*	2.23412 ± 0.15067*	2.94728 ± 5.2599E-02*	2.9289 ± 2.2892E-02*	2.9185 ± 3.646E-02

\*: p< 0.05 by ANOVA & Scheffe test, n=16

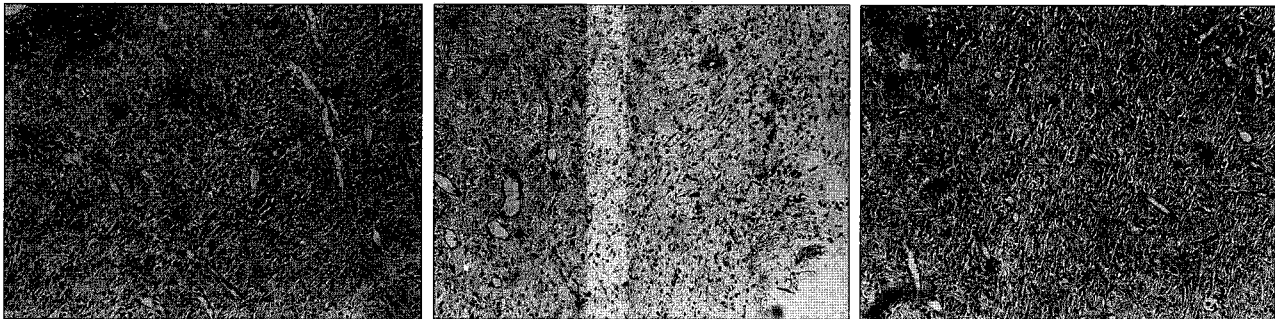
25.5%(2.3514 ± 8.315E-02 cm<sup>2</sup>)이고 창상치유율이 각각 43.7%(1.37843 ± 0.14856 cm<sup>2</sup>), 52.9%(1.66946 ± 8.3438-02 cm<sup>2</sup>)으로 대조군인 바세린 거즈군의 술후 5일째의 창상 수축률 12.6%(2.7544 ± 0.1192 cm<sup>2</sup>) 및 창상 치유율 27.9%(0.52276 ± 0.12837 cm<sup>2</sup>)보다 통계학적으로 높았으며 술후 10, 15, 20, 25일째에서도 모두 통계적으로 유의(p<0.05)하게 높았다. 창상 상피화율(Fig. 6, Table III)은 술후 5일

째 알긴산-콜라겐 복합체 군과 알긴산군이 각각 21.6%(0.68213 ± 9.6047E-03 cm<sup>2</sup>), 27.4%(0.86456 ± 1.4024E-02 cm<sup>2</sup>)로 대조군인 바세린 거즈군의 31.7%(0.12656 ± 1.0494 E-02 cm<sup>2</sup>)보다 통계학적으로 유의(p<0.05)하게 높았고, 술 후 10일째 알긴산-콜라겐 복합체 군과 알긴산군이 각각 33.2%(1.04912 ± 2.1725E-02 cm<sup>2</sup>), 30.6%(0.96381 ± 1.0653E-02 cm<sup>2</sup>)로 대조군인 바세린 거즈군의 15.3%(0.48238 ±

**Table III.** Size of Wound Epithelization on Days Following Operation(cm<sup>2</sup>)

Group	Days					
	0	5	10	15	20	25
Group A (Control)	0	0.12656 ± 1.0494E-02*	0.48238 ± 1.0256E-02*	0.88094 ± .12625*	1.12612 ± 3.9620E-02*	0.8713 ± 7.204E-02*
Group B (Alginate)	0	0.68213 ± 9.6047E-03*	0.96381 ± 1.0653E-02*	1.23812 ± 5.8903E-02*	1.06312 ± 6.1179E-02*	0.7488 ± 6.859E-02*
Group C (Alginate-collagen complex)	0	0.86456 ± 1.4024E-02*	1.04912 ± 2.1725E-02*	1.22688 ± 3.8073E-02*	1.0151 ± 6.4665E-02*	0.6956 ± 6.271E-02*

\*: p<0.05 by ANOVA & Scheffe test, n=16



**Fig. 7.** Histological findings of full-thickness excisional wounds in white rabbits at 7th day after operation(Hematoxyline and Eosin stain, × 200). (Left) Note that alginate group and (Center) Alginate-collagen complex group (Right) show less inflammatory cell infiltration than control group.

**Table IV.** The Comparison of Histopathologic Finding after Wound Made(n=4)

Group	Angiogenesis			Inflammatory cell		
	Control	Alginate	Alginate - collagen	Control	Alginate	Alginate - collagen
POD 3	-	-	-	+++	+++	+++
POD 7	±	+	+	+++	++	++
POD 14	+	++	+++	±	-	-
POD 21	++	+++	+++	-	-	-

-: none, ±: trace, +: slight, ++: mild, +++: moderate, ++++: severe  
POD=postoperative day

1.0256E - 02 cm<sup>2</sup>)보다 통계학적으로 유의(p<0.05)하게 높았다.

**나. 창상부의 조직학적 소견**

창상치유 초기에 모든 군에서 전층피부결손부 상층에 삼출물과 염증세포가 충을 이루어 관찰되었는데, 염증세포충이 대조군에 비해 알긴산군과 알긴산-콜라겐 복합체 군에서 소량이었다.

술후 3일째부터 알긴산군과 알긴산-콜라겐 복합체 군에

서 염증세포의 침윤이 감소하기 시작하였고, 술후 7일째부터는 창상의 경계부에서 신생혈관과 섬유아세포가 처음으로 나타나기 시작하였으나 대조군인 바세린거즈 군에서는 염증반응이 좀 더 오래 지속되어서 술후 5-7일째에 염증세포의 침윤이 감소하고 신생혈관과 섬유아세포의 출현도 늦었다. 술후 약 14일 이후에는 각 군에서 유의할 만한 특성은 없이 이미 이루어진 창상치유부가 성숙됨을 공통으로 보여주었다(Fig. 7, Table IV).

#### IV. 고 찰

창상치유는 염증과 세포반응에 의해 치유가 되는데, 이 과정에는 재생피화, 수축, 육아조직 형성 및 교원질 합성 등이 포함된다. 창연 면적의 감소는 재생피화와 수축이라는 상이한 치유기전에 의해 동시에 유도되는 현상인데 창연의 감소는 우선적으로 창상 수축을 통해 일어나며 이러한 현상은 섬유아세포의 수축력에 의해 일어나는 것으로 알려져 있다.<sup>7,8</sup> 피부손상 후 정상표피세포가 유사분열하여 기저세포를 대체해 주고 기저세포는 피부결손부를 향해 이동하게 되는데, 이 기저세포는 섬유소 그물을 따라 창상 경계면에서부터 창상 중심부로 이동하며 창상연 양쪽에서 이동해오던 기저세포가 서로 만나게 되면 이동을 멈추고 표피의 두께가 정상인 될 때까지 유사분열을 계속하여 표피세포의 밀도를 증가시킴으로써 상피화가 이루어지게 된다.<sup>8</sup>

한편 이상적인 드레싱 재료는 창상의 외부 노출을 차단하여 감염을 예방하며, 초기 삼출물을 적절히 흡수하여야 하며, 염증 반응을 억제할 수 있어야 한다. 이에 저자는 예비실험을 통해 창상치유 및 연부조직 재생에 있어 적합한 물질로 밝혀진 알긴산에 알긴산의 단점인 낮은 세포친화력을 보완해 줄 수 있는 물질인 콜라겐을 공유결합시켜 알긴산-콜라겐 복합체를 합성, 전술한 드레싱 재료로서의 효과 및 그 효용성을 비교 분석하고자 본 실험을 시행하였다.

본래 알긴산은 갈색조류의 세포벽을 이루는 성분이며 가지 사슬이 없는  $\beta$ -1 결합의 만누로닉산과 글루로닉산이 그 조성과 함량 면에서 무작위로 결합되어 형성된 고분자이며, 각 성분의 구성 비율은 채취한 원료에 따라 달라진다.<sup>9</sup> 알긴산은 섭취한 후에는 알긴산 산화효소가 없기 때문에 대사되지 않으나 생체조직 내에서는 만누로닉산과 글루로닉산으로 분해되어 흡수되어진다. 알긴산은 농도에 따라 경화 및 경도에 영향을 미치며 칼슘과 같은 2가의 금속이온과 접하게 되면 신속하게 경화되는 특성을 가지고 있다. 알긴산에 칼슘이온이 존재하면 교차 결합되어 중합체인 겔을 형성하는데,<sup>10</sup> 칼슘 알지네이트 겔은 약물 전달 물질과 세포고정에 대한 연구를 통해 생물학적인 안전성이 입증되었으며, 세포배양에서 독성 없이 세포의 고유 형질을 유지시키기 때문에 세포 배양을 위한 적절한 기질로 이용되고 있다.<sup>14</sup> 알긴산의 생체 적합성 및 조직공학 영역에서 세포지지체로서의 효능에 대한 연구는 그간 꾸준히 발전되어 왔는데 Grandolfo 등<sup>4</sup>은 알긴산이 생체에 적합하고 친수성인 중합체로 세포를 성공적으로 배양할 수 있는 물질이라 하였고, Shapiro와 Cohen은 알긴산을 스폰지 형태로 만들어 섬유모세포를 배양한 결과 세포가 잘 자랄 수 있을 뿐만 아니라 다공성 구조는 혈관 신생을 용이하게 하여 좋은 세포지지체가 된다고 하였다.<sup>11</sup> 근래에는 연골

세포의 배양과 지방전구세포의 성장, 분화 등의 지지체로서의 알긴산의 효용성이 입증되고 있다.<sup>9,12</sup> 또 알긴산 칼슘 겔과 폴리에틸렌 산화물 겔을 이용한 주입식 연골조직공학기술이 처음 소개된 이후, 알긴산과 콜라겐 겔을 지지체로 이용하여 연골세포를 생성한 바 있다.<sup>4,5</sup>

그러나 Thie 등<sup>13</sup>은 알긴산이 세포와 친화력이 약하여 세포가 겔에 부착되지 못하고 형태가 원형을 이루며, 겔이 단순히 세포를 고정하는 기계적 감금(mechanical confinement)을 하므로 겔 내에서 세포 증식이 억제된다고 하였다. 또한 Susante 등<sup>5</sup>은 알긴산 이 세포와의 접착에 부적합한 음전하를 띠고 있어 초기세포의 성장에 많은 저해요인이 된다고 하였다.

이에 반하여 조직 배양을 위한 세포지지구조물(Scaffold)로 사용되는 세포외기질(extracellular matrix) 중의 하나인 콜라겐에 대하여 Hilliou 등<sup>14</sup>은 콜라겐 겔이 세포와 친화성이 높아 세포가 잘 부착하고, 또한 세포로부터 분비된 콜라겐 분해효소에 의해 콜라겐 섬유 사이로 세포돌기를 쉽게 뺄 수 있어 세포의 증식에 좋은 환경을 형성한다고 하였고, Susante 등<sup>5</sup>은 콜라겐 겔 내에서 배양된 연골 세포도 섬유모세포 모습이나 다극형의 모습을 띤 세포로 변화하며 잘 증식하여 수적으로 많은 성장을 한다고 보고한 바 있다.

본 실험에 앞서 실시한 예비 실험에서 저자는 국내산 해조류에서 비교적 어렵지 않게 알긴산을 추출할 수 있었으며 그 안정성을 위해 공유결합을 시킨 알긴산을 실험에 이용하였고, 앞에서 추출한 알긴산에 쥐의 꼬리에서 추출한 콜라겐을 더해 알긴산-콜라겐 복합체를 디스크 형태로 만들어 알긴산군과 알긴산-콜라겐 복합체 군 그리고 대조군으로 고식적인 바세린 거즈를 사용한 군과의 동물모델에서 창상치유 효과를 비교 분석하였다. 토끼의 등에 전층 창상을 만든 직후부터 모든 군에서 조직의 종창과 다량의 삼출물이 배출되었는데 창상유발 후 5일째부터 알긴산 단독으로 사용한 군과 알긴산-콜라겐 복합체 군에서 육안적으로 삼출물의 양이 상대적으로 빨리 감소하기 시작하였다. 술후 5-7일째 알긴산 단독으로 사용한 군과 알긴산-콜라겐 복합체 군에서 신생혈관 및 염증세포의 감소를 관찰할 수 있었으나, 바세린 거즈를 사용한 대조군에서는 다량 삼출물과 함께 염증반응이 지속되었다. 각 군에서의 창상치유정도를 조직학적으로 관찰한 결과에서도 술후 3일째부터는 알긴산 단독 사용군과 알긴산-콜라겐 복합체 군에서 대조군에 비해서 염증세포 침윤의 감소가 뚜렷하였고, 이는 삼출물 양의 감소와 염증단계의 빠른 종결을 뜻한다고 할 수 있다.

전층 창상이 치유되는 과정은 기전상으로 창상부의 크기가 감소하게 되는 창상 수축과 창상 변연의 기저세포가

창상부로 이동하는 창상 상피화를 통해 치유되게 되므로 전체적인 창상 치유의 정도는 창상 수축률과 창상상피화율의 합으로 수식화 할 수 있다. 본 실험에서도 알긴산 단독으로 사용한 군과 알긴산-콜라겐 복합체 군에서 대조군에 비해서 술후 5, 10, 15, 20, 25일의 창상 수축률과 창상치유율이 통계적으로 유의하게( $p < 0.05$ ) 높게 나타났다. Rowley 등은 알긴산을 세포의 합성 지지체로 사용하는 실험에서 근섬유모세포가 알긴산표면에 정착한 후 증식하여 다핵의 근원섬유로 진행될 뿐만 아니라 골격근의 판별인자인 heavy-chain myosin을 발현한다고 하였다. 이는 창상 치유시에도 창상치유 초기에 상대적으로 빠른 염증기의 소실 후에 창상 수축의 주된 역할을 하는 근섬유모세포가 조직 내에 접근, 부착 및 생성되면서 창상 수축을 진행할 때 알긴산이 근섬유모세포의 이런 역할을 촉진하고 따라서 창상수축이 활발히 이루어져서 창상치유가 촉진된 것으로 여겨진다. 또한 유결 등<sup>15</sup>은 지방전구세포를 알긴산 겔과 콜라겐 겔 내에서 배양하는 실험에서 콜라겐 겔에서는 지방전구 세포의 증식을 유도하는 효과가 있고, 이에 반하여 알긴산 겔 내에서는 지방전구세포의 증식은 방해되지만 지방전구세포의 분화를 유도하는 효과가 있음을 증명한 바 있다. 최근 조직공학에서 세포지지체로 많이 쓰이는 이 두 물질을 물리적으로 섞어 합성만 잘 이루어진다면 세포의 분화 및 증식에 있어서 서로의 문제점을 보완할 수 있을 것이고 이는 결국 창상치유에 있어서 두 물질의 상승작용을 나타낼 수 있을 것으로 판단되어 진다.

창상상피화율에서도 알긴산 단독으로 사용된 군과 알긴산-콜라겐 복합체 군에서 대조군에 비해 통계적으로 유의하게 ( $p < 0.05$ ) 높게 나타났으나 이는 전체적인 창상치유율에 미치는 영향은 크지 않았고 각 군과의 차이도 크지 않았다. 이처럼 각 군간에 창상상피화율의 차이가 뚜렷하지 않고 전체적인 창상치유율에 미치는 영향이 작은 것은 전층창상에서 활동이 비교적 활발한 가토에게 통상적인 드레싱 유지가 어려워 상대적으로 창상자체가 마르게 되면서 얇은 가피와 상피화 자체가 구별이 어렵게 되어 실험자가 판별하는 각 군간의 상피화율의 차이가 과소평가되는 측면이 있었으리라 여겨진다. 두 실험군간의 비교에서는 알긴산을 단독으로 사용한 군보다 알긴산-콜라겐 복합체 군에서 창상치유율과 창상상피화율 모두에서 통계적으로 유의하게( $p < 0.05$ ) 높게 나타났다.

이상을 종합해 볼 때 가토의 전층 창상치유에 있어서, 알긴산 단독으로 사용한 군과 알긴산-콜라겐 복합체에서 창상의 염증단계가 빨리 종결되고 미상피육아조직의 면적 감소가 대조군에 비해서 빨랐을 뿐 아니라 창상수축률에 있어서도 알긴산-콜라겐 복합체 군에서 조직세포의 접근, 부착 및 생성을 촉진하여 근섬유모세포가 창상수축하는

작용을 유도하여 전체적인 창상치유율이 알긴산 단독군과 대조군에 비해서 높아졌다고 생각된다. 결국 창상치유 효과를 가진 알긴산에 콜라겐이 가해짐으로써 진피지지체로서의 기능이 한층 강화되어 섬유아세포의 합입, 창상자체 내에서의 알긴산의 빠른 소실의 감소 등 많은 장점을 주는 것으로 판단된다.

## V. 결 론

알긴산 스폰지와 알긴산에 세포에 더 친화적인 생체 지지체인 콜라겐을 합성하여 만든 알긴산 콜라겐 복합체 스폰지를 제작하여 바세린 거즈를 드레싱 재료로 사용한 대조군과 육안적 그리고 조직학적으로 비교하는 동물실험을 시행하여 알긴산 및 알긴산-콜라겐 복합체가 궁극적으로 창상치유를 촉진하는 것으로 판단하였으며, 또한 두 실험군의 결과 비교에 있어서는 통계학적으로 유의하게 알긴산-콜라겐 복합체 군에서 창상 수축률 및 창상치유율 모두 알긴산 군보다 높게 나타났다. 전술한 바와 같이 알긴산과 더불어 알긴산-콜라겐 복합체가 생체에 적합하며 창상치유 및 연부조직 재생에 관한 유용한 물질임이 확인되었고 앞으로 새로운 드레싱 재료 및 연부조직 재생의 지지체로서의 연구와 개발이 기대되는 바이다.

## REFERENCES

1. Grandolfo M, Andrea PD, Paoletti S, Martina M, Silvestrini G, Bonucci E, Vittur F: Culture and differentiation of chondrocytes entrapped in alginate gels. *Calcif Tissue Int* 52: 42, 1993
2. Halberstadt C, Austin C, Rowley J, Culbertson C, Loebbeck A, Wyatt S, Coleman S, Blacksten L, Burg K, Mooney D, Holder W Jr: A hydrogel material for plastic and reconstructive applications injected into the subcutaneous space of a sheep. *Tissue Eng* 8: 309, 2002
3. Atala A, Kim W, Paige KT, Vacanti CA, Retik AB: Endoscopic treatment of vesicoureteral reflux with a chondrocyte-alginate suspension. *J Urol* 152: 641, 1994
4. Paige KT, Cima LG, Yaremchuk MJ, Vavanti JP, Vacanti CA: Injectable cartilage. *Plast Reconstr Surg* 96: 1390, 1995
5. van Susante JL, Buma P, van Osch GJ, Versleyen D, van der Kraan PM, Van der Berg WB, Homminga GN: Culture of chondrocytes in alginate and collagen carrier gels. *Acta Orthop Scand* 66: 549, 1995
6. Kwon H, Song JK, Rhie JW, Cho YN, Lim JS, Chung SH, Ahn ST: The effect of Poly-L-lysine on proliferation and differentiation of preadipocyte in the alginate gels. *J Korean Soc Plast Reconstr Surg* 28: 367, 2001
7. Liu M, Warn JD, Fan Q, Smith PG: Relationships between nerves and myofibroblasts during cutaneous wound healing in the developing rat. *Cell Tissue Res* 297: 423, 1999
8. Baek RM, Song YT, Baek SJ, Lee JH, Im TG, Yoon BH: Effects of the Recombinant Human Epidermal Growth

- factor on Full-thickness Wound of the Rat Skin. *J Korean Soc Plast Reconstr Surg* 30: 201, 2003
9. Jeong JH, Kim KH, Kim HH, Moo YM, Lee DJ, Choi JH, Kim SY: Injectable cartilage tissue engineering techniques utilizing fibrin glue, liquid alginate and pluronic F-127. *J Korean Soc Plast Reconstr Surg* 30: 465, 2003
  10. Smidsrød O, Skjak-Bræk G: Alginate as immobilization matrix for cells. *Trends Biotechnol* 8: 71, 1990
  11. Shapiro L, Cohen S: Novel alginate sponges for cell culture and transplantation. *Biomaterials* 18: 583, 1997
  12. Yoo G, Lee CH, Rhie JW, Wee SS: The role of alginate sponge on growth and differentiation of preadipocytes. *J Korean Soc Plast Reconstr Surg* 28: 210, 2001
  13. Thie M, Schlumberger W, Rauterberg J, Robenek H: Mechanical confinement inhibits collagen synthesis in gel-cultured fibroblasts. *Eur J Cell Biol* 48: 294, 1989
  14. Hilliou F, Pairault J, Dominice J, Redziniak G: Growth and differentiation of 3T3-F442A preadipocytes in three-dimensional gels of native collagen. *Exp Cell Res* 177: 372, 1988
  15. Yoo G, Yea BH, Rhie JW, Kwon H, Wee SS, Ahn ST: Growth and differentiation of preadipocytes in alginate and collagen gels. *J Korean Soc Plast Reconstr Surg* 27: 386, 2000