

연골 세포를 이용한 췌도의 캡슐화

건국대학교 수의과대학 수의학과¹, 의생명과학과², 연세대학교 의과대학 장기이식연구소³, 연세의료원 세브란스병원 이식외과⁴이정익^{1,2,3} · 김준예³ · 이재근⁴ · 김유선^{3,4}

Islet Encapsulation Using Chondrocyte

Jeong Ik Lee, D.V.M.^{1,2,3}, Joon Ye Kim, M.S.³, Jae Geun Lee, M.D.⁴ and Yu Seun Kim, M.D.^{3,4}Departments of Veterinary Medicine, College of Veterinary Medicine¹ and Biomedical Science and Technology², Konkuk University, The Research Institute for Transplantation, Yonsei University College of Medicine³, Department of Transplantation Surgery, Severance Hospital, Yonsei University Health System⁴, Seoul, Korea

Diabetes mellitus is one of the leading metabolic diseases that cause an increasing rate of mortality and morbidity. Recently, rather than the current drug treatment, pancreatic islet transplantation has been regarded as a potentially promising strategy for insulin-dependent diabetes mellitus while preventing complications such as kidney damage, vascular damage, nerve damage, and blindness. Recently, a number of advanced islet encapsulation techniques have been designed to enhance the efficiency of islet transplantation, including cell sheet engineering and generation of 3D islet spheroids by high density suspension system (HDSS). Chondrocytes derived from cartilage sources have been used as an encapsulation biomaterial for islets not only for autograft but also for allograft and xenograft transplantation. Cartilage is an avascular, white connective tissue that is rich in extracellular matrix, and expandable *in vitro*. Hence, this tissue might have immunologically privileged properties that make it an intelligent cell source for manufacture of encapsulation biomaterials. However, cell sheet engineering and HDSS still have their respective limitations, which need to be elucidated. This review will describe the advantages and disadvantages of the current encapsulation techniques in order to provide a comprehensive foundation for further modifications and improvements of tissue engineering for islet transplantation.

Key Words: Islet transplantation, Immunoisolation, Chondrocyte, Encapsulation**중심 단어:** 췌도 이식, 면역격리, 연골 세포, 캡슐화

서론

췌도 이식(islet transplantation)은 췌장 이식과 더불어

인체 자체에서 인슐린을 분비하는 생체 시스템을 이식하는 방식으로 궁극적인 당뇨병의 치료 방법이 될 수 있다. 그러나 췌장 이식과 달리 여러 분리 정제의 과정을 거쳐 세포집합체의 형태로 용액과 같이 이식되기 때문에, 장기 이식에서 필요한 복잡한 술기 없이 간단하고 저 침습적인 시술로 환자에게 이식이 가능하며 반복적으로 시행할 수 있는 큰 이점을 가진다. 또한 분리 후 이식되기 전까지 췌도 생존율 및 기능을 증가시키기 위한 다양한 전 처리가 가능하기 때문에 좀더 효율적인 이식을 가능하게 할 수 있다(1,2).

그러나 이러한 췌도 이식 또한 장기 이식과 마찬가지로 이식 후 지속적인 면역억제제의 복용이 필수적이다(3). 더

Received September 19, 2014

Revised October 3, 2014

Accepted October 3, 2014

Corresponding author: Yu Seun Kim

Department of Transplantation Surgery, Severance Hospital, Yonsei University Health System, 50-1 Yonsei-ro, Seodaemun-gu, Seoul 120-752, Korea

Tel: 82-2-2228-2115, Fax: 82-2-313-8289

E-mail: yukim@yuhs.ac

붙어 췌도 분리 과정에서 발생하는 세포 자체에 가해지는 스트레스성 손상으로 이식할 췌도의 기능 저하가 발생하며 이식을 한 후에도 이식 초기에 바뀐 주변 환경에 성공적으로 정착, 적응하지 못하게 되면 다양한 원인으로 이식된 췌도가 손상 또는 소실 될 수 있는 문제점을 가지고 있다(4). 또한 이식 후 정착에 성공한 췌도라 하더라도 이식된 환자의 체내 환경에서 지속적인 고혈당과 면역억제제에 노출되는 이유 등으로 비특이 면역반응(non-specific immune response) 및 면역반응에 관여하는 대식세포, 호중구 및 T-림프구에 의한 면역작용으로 인하여 췌도 세포사가 야기되어 결과적으로 이식 췌도가 대량 소실되어 버리기도 한다(5-7). 또한 이식환경에 적응하여 정착한 췌도라 하더라도 이식면역반응을 회피하기 위하여 사용되는 면역억제제가 다양한 기전으로 인해 췌도의 손상과 독성을 초래할 가능성도 있다(8-11). 따라서 성공적인 췌도 이식을 위해서는 면역억제제를 사용하지 않으면서도 이식 환경의 면역 반응을 피할 수 있는 면역격리(immunoisolation) 능력을 갖춘 이식 전 췌도 조작 기술 개발이 필요하며(11), 이는 현행의 췌도 이식이 향후 보편적인 제 1형 당뇨병의 근치요법으로 채택되기 위한 당면과제를 상당히 해결할 수 있는 도전적인 연구가 될 수 있다. 이러한 면역격리의 방법으로는 다양한 생체재료를 이용한 면역격리막의 제작이 시도되고 있으며, 다양한 재료가 연구자 사이에서 제안되고 있다. 본 논문에서는 췌도의 캡슐화를 이용한 췌도 이식 시 사용되는 여러 가지 면역격리막에 대하여 소개하고, 생체 유래의 세포를 면역격리막으로 이용하는 새로운 개념의 면역격리법을 설명하고자 한다. 나아가, 저자들이 그 동안 연구해온 새로운 방식인 자가유래 연골세포를 생체 재료로 하여 이식 후 접하게 되는 환자의 면역체계가 이식 조직을 자신으로 착각할 수 있도록 고안된 면역착각면역격리(Immunodelusive immunoisolation)법을 기술하고자 한다.

본 론

1. 췌도의 캡슐화(islet encapsulation)

췌도 이식은 대표적인 세포이식술로 다양한 조직공학 기술을 이용하여 소정의 목표를 달성하고자 하는 도전의 대상이 되고 있다. 세포이식 후 이식면역관련 거부반응을 회피하기 위해 지속적으로 복용해야 되는 면역억제제로부터 벗어나기 위해서는 조직공학에서 제안해온 기술인 면역격리법(Fig. 1) 이론이 있다. 이상적인 면역격리막을 이식에 적용하게 되면, 면역격리막으로 둘러싸인 이식편은 숙주에게 이식되더라도 이론적으로는 면역거부반응을 유발하지 않게 된다. 이러한 면역격리법은 췌도 이식에도 적용될 수 있는데(12,13), 이식할 췌도를 분리 정제한 후, 인위적이지만 보호해 줄 수 있는 막(barrier)을 이용하여 췌도를 캡슐화시키는 과정을 부가하는 방식을 고려할 수 있다. 이를 통해 면역억제제를 사용하지 않으면서 거부반응을 일으키는 이식면역의 야기 없이, 이식편의 보호가 가능하며, 췌도의 경우에도 면역관련 세포 및 면역관련분자를 차단함으로써 면역격리의 목적을 달성할 수 있게 된다. 그러나 면역격리막으로 인하여 숙주와 췌도 이식편 사이에 물리적인 격리가 가능하여 이식면역으로부터 자유로워질 수 있다고 하더라도, 이러한 인위적인 환경 속에서 생존하기 위해서는 충분한 산소 및 필수 영양소의 공급이 필요하며, 대사가 활발한 췌도에서 생성되는 이산화탄소 및 대사물 등의 제거가 원활해야 할 필요가 있다. 면역격리법을 통한 췌도의 캡슐화에 있어서도 채택하는 면역격리막은 분자의 크기에 따라 필요한 분자들이 자유롭게 막을 통과할 수 있고, 불필요한 분자들은 차단할 수 있는 크기의 간극(pore)을 가지고 있어야 한다. 췌도의 생존을 위한 호흡과 대사에서 관여하는 산소, 이산화탄소 및 영양분은 격리막을 중심으로 안팎으로의 이동이 가능하지만, 면역반응을 야기하는 큰 분자량의 자연 항체(natural antibody), 보체(complement) 등의 면역관련분자와 림프구 등의 면역세포의 투과는 불가능해야 한다. 이식된 췌도가 항당뇨의 치료 효과를 충분히 발휘하기 위해서는 췌도에서 생산된 혈당 조절 호르몬인 인슐린, 글루카곤이 확산을 통해서 면역격리막을 통과하여 숙주의 체내로 들어가야 한다(11,14,15). 다행히 혈당조절 호르몬과 췌도 생존에 필요한 분자들은 면역에 관련된 세포 및 분자들 보다 작기 때문에 이들의 출입을 크기의 차이로 분리할 수 있는 간극을 보유한 격리막을 이용하게 된다면, 면역억제제의 사용 없이 이식이 가능할 수 있게 된다.

면역격리의 방법은 한번에 포함하는 췌도의 양을 기준으

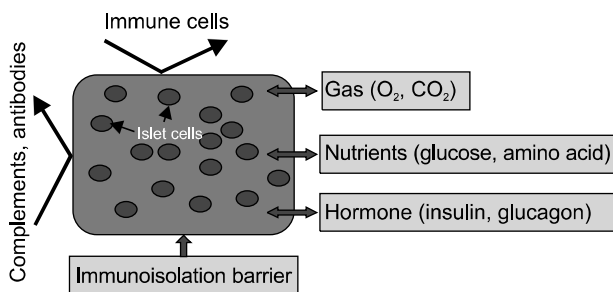


Fig. 1. Schematic illustration of the immune-isolation principle.

로 분류할 수 있는데, 이들은 구사하는 방식과 과정 및 재료 등에서 차이가 생긴다. 췌도를 한 개 혹은 두 개 정도의 소수를 봉입하는 미세캡슐화방법(microencapsulation)과 보다 많은 췌도를 동시에 봉입시키는 거대캡슐화(macroencapsulation) 기술이 면역격리 인공 췌장을 제작할 수 있는 대표적인 방법이다(16-18). 면역격리막에서 사용되는 재료의 개발은 역사가 길며, 신체 내에 이용 가능성을 갖는 생체 재료라면 모두 면역격리막으로서 성공여부를 확인하기 위하여 테스트의 대상이 되어 왔다. 일반적으로 생산이 간편하고 조작성이 간편한 인공 물질로 조제된 격리막을 중심으로 관련 연구가 주로 이루어 지고 있다(19). 대표적인 생체재료로서 키토산(chitosan) (20), 알지네이트(alginate) (7,21), agarose (22,23) 등 생물체에서 추출한 생합성 재료를 이용하고 있지만, 그 밖의 poly (hydroxyethylmetacrylate-methyl methacrylate, HEMA-MMA) (24), polyethylene glycol (PEG) (25,26), polytetrafluoroethylene (PTFE) (27) 등의 합성물질들도 있다(21). 그러나 이들 생체재료에 포함된 폴리아미노산(poly amino acid)이 유발하는 세포독성과 재료자체의 불안정한 물성 등으로 인하여 적용 시 생체적합성(biocompatibility)이 떨어진다는 커다란 문제점을 가지고 있다(12,28). 따라서 이러한 점을 개선하기 위하여 세포 및 조직 등의 실제 생체 유래의 물질을 조직공학적인 방법을 이용하여 격리막으로 사용하는 방법을 고려할 수 있는데(28), 면역학적으로 거부반응 일으키지 않도록 이식편을 수용하는 숙주 자신의 소량의 생체조직을 이용할 수 있다면 궁극적으로 이상적인 격리막의 역할을 기대할 수 있게 된다(28-30). 이렇게 이용 가능한 후보 세포로는 피부유래의 자가 섬유아세포와 연골세포(29,30) 등을 들 수 있다.

2. 연골세포와 캡슐화

정상 연골조직에는 혈관, 신경, 림프조직이 분포하고 있지 않아 림프구 등의 면역세포와의 접촉의 기회가 적고, 다른 조직에 비해 대사 수준이 낮아, glucose, 산소 등 대사에 필요한 물질이 부족한 조건하에서도 비교적 효율적으로 생존할 수 있다(29). 따라서 연골조직은 면역학적으로 면역특권(immunoprivilege)의 특성을 보유한 조직이라고 할 수 있으며, 연골조직을 어떠한 방법이든 면역격리막으로 채택할 수 있다면, 효과적인 면역격리법을 기대할 수 있다. 이식 후의 췌도가 이식 부위에 정착할 때까지 면역반응으로 인한 보호 역할을 기대할 수 있을 뿐만 아니라, 세포외기질을 이용해서 췌도를 캡슐화했을 때, 좋은 결과를 얻을 수 있었다는 과거의 보고(31,32)를 바탕으로 고려해 보아도, 연골조직은 연골세포가 분비하는 콜라겐

(collagen)이나 프로테오글리칸(proteoglycan) 등 다른 조직보다 세포외기질을 풍부하게 보유하고 있기 때문에 이들로 복잡하게 구성된 연골조직을 이용한다면 췌도의 보호는 물론 기능 향상 효과 또한 기대할 수 있다.

일반적으로 연골세포를 대상으로 하는 연구는 무릎 연골조직을 이용한 방법이 주를 이루고 있는데(33,34) 이는 건강한 무릎을 대상으로 재료채집을 위한 수술을 위하여 전신마취를 감행해야 하는 등 수술에 대한 위험성과 침습성이 커서 환자 측의 부담과 위험성을 감수해야 한다. 반면에 보다 덜 침습적이면서 부분마취로도 채취가 가능한 연골 조직으로 이개연골(auricular cartilage)은 엘라스틴, 콜라겐, 프로테오글리칸 등의 세포외기질이 다량으로 존재할 뿐만 아니라 콜라겐 섬유가 비환원성 가교 물질인 피리디놀린(pyridinoline)이나 히스티노알라닌(histidino-alanine)에 의해서 성숙, 안정화 되는 성질을 갖는 탄성연골로서 물성자체가 가지는 탄성은 이를 면역격리막으로 이용했을 때, 체내에서 섬유화 등에 의한 실패의 요인으로부터 회피할 수 있으며 동시에 세포 배양에도 유리하기 때문에 소량만을 채취하여도 계대배양의 반복 작업을 통해서 충분한 수의 세포로 늘려 회수할 수 있다(35-37). 게다가 충분한 수의 증식된 연골세포는 조직공학적인 기법을 사용하면 다양한 형태의 이식체로 제작할 수 있다. 이러한 이개연골은 고통 없이 최소한의 침습적 방법으로 환자로 부터 간단하게 조직을 떼어낼 수 있으며 간단한 배양과정을 통하여 재료로서 세포를 준비할 수 있는 이점으로 이미 성형외과 영역에서는 환자 자신의 안면의 함몰 등의 결함을 충전하기 위하여 이개연골을 재료로 상당히 많이 선택하고 있다. 이러한 사실은 이개연골 사용시 안전성과 적용 가능성을 확인해주고 있다(38,39). 따라서 이개연골을 면역격리막으로 이용하여 췌도를 봉입할 수 있는 방법을 개발한다면 인공합성재료를 사용하지 않고 환자유래의 생체 재료만을 이용한 이상적인 췌도 이식체를 개발할 수 있는 가능성을 가지게 된다.

3. 연골세포를 이용한 거대캡슐화(macroencapsulation)

일본의 동경여자의과대학의 오카노 교수 연구팀에서는 32°C의 임계온도 이하에서는 친수성을 가지나 32°C 이상에서는 소수성을 띠는 고분자 poly (N-isopropylacrylamide, PIPAAm polymer)를 세포배양접시에 결합시켜 세포배양에 이용할 수 있는 온도 반응 특수배양접시(temperature-responsive culture dish)를 개발하여, 보통 배양접시에서 증식시킨 세포는 트립신 등의 단백소화효소에 의하여 배양접시에서 회수한 후 다음의 과정에 이용하게 되는 것과

달리 이 특수배양접시를 이용하게 되면 온도에 따라 이 고분자는 가역적으로, 20~60 나노미터의 길이로 변화하게 되며, 배양된 세포는 단백질소화효소가 없이도 온도를 낮추어 주는 것만으로, 시트 형태의 세포 군집체로 회수 가능한 세포시트공학법(cell sheet engineering)을 개발하였다(40,41). 연골세포를 통한 췌도의 거대캡슐화를 위한 면역격리막을 준비하기 위하여, 37°C의 배양조건 하에 세포를 온도 반응 특수배양접시에서 배양하여 콘플루언시(confluency) 상태에 도달하면 임계온도 이하로 온도를 낮추어주어 고분자를 친수성의 성질로 변환시켜 물분자와 결합에 용이한 성질을 나타내도록 하게 되면, 온도강하만으로 연골 조직이 연속성을 유지한 채로 시트 형태를 형성한 연골세포조직을 회수할 수 있게 된다. 그러므로 배양 접시의 접합 부위의 selectin, integrin, 또한 cadherin 등의 세포부착단백질의 손실이 없이 회수 되기 때문에 이런 방법으로 제작된 세포시트를 추가적인 접합 물질을 가하지 않고도 여러 장 쌓아 적층화 시킬 수 있다.

따라서, 상기의 방법을 이용하면 환자의 이개 연골조직을 세포시트공학법을 이용하여 세포시트 형태로 제작 후 시트와 시트 사이에 여러 개의 췌도를 봉입하는 거대캡슐

화로 췌도를 봉합한 뒤 다시 연골세포를 적층화 하면 3차원 형태의 인공췌장기(bioartificial pancreas, BAP)를 제작할 수 있다. 즉, 장기의 표면은 췌도 이식을 받을 환자 자신의 조직에서부터 유래된 연골세포로 되어 있고, 내부는 인슐린 생산을 하는 췌도 조직이 위치하고 있기 때문에 면역 거부반응의 회피가 가능한 인슐린 생산 시스템의 인공 췌장기를 제작할 수 있다(29,42). 본 연구팀은 이 인공 췌장기를 chondrocyte sheeting immunoisolated -bioartificial pancreas (CSI-BAP)라고 명명하였다(Fig. 2).

이렇게 제작된 CSI-BAP은 동종 혹은 이종 모델 모두 제작 가능하였고, 배양 조건하에서 52일 이상의 인슐린 분비를 확인하였고, 이는 정제 분리된 췌도가 일반 배양조건하에서 2주정도 생존이 가능한 성적보다 상당히 긴 기간 인슐린 분비능력을 유지하며 당부하 검사를 통해 인슐린 분비능을 확인할 수 있었으며, 실험동물을 이용한 이식실험의 결과 거부반응 없는 생착을 확인할 수 있었다.

CSI-BAP의 경우에는 연골세포 시트 사이에 봉입하는 세포의 종류가 췌도만으로 국한 되지 않고 다양한 세포로의 적용이 가능하다는 장점이 있다. 본 연구팀은 이러한 적용 가능성을 확인하기 위해서 생체에서 분리된 췌도뿐

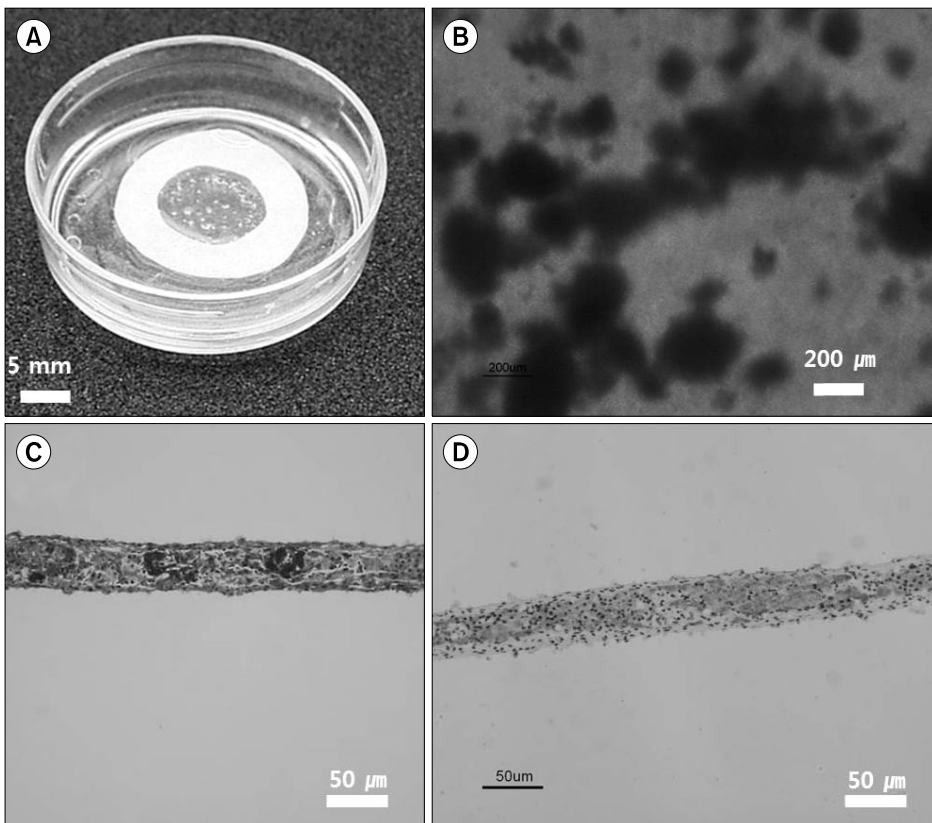


Fig. 2. Morphology of chondrocyte sheeting immunoisolated-bioartificial pancreas (CSI-BAP). (A) The gross observation of CSI-BAP, (B) phase contrast at day 5, and (C, D) hematoxylin and eosin stain and azan staining ($\times 40$).

만 아니라 인슐린을 분비하는 세포주(Rin-5F)를 이용하여 세포 군집체 형태로 배양하여 3차원 구형의 인공 췌도의 형태로 만드는데 성공하였으며(43,44) 이를 이용하여 연골세포 시트 사이에 봉입하여 인공적인 CSI-BAP을 제작하였다(44). 더불어 인슐린 분비능력과 실험 동물을 통한 생체 적합성과 인슐린 분비의 기능 유지를 확인할 수 있었다.

4. 연골 세포를 이용한 미세캡슐화방법(microencapsulation)

췌도는 일반적인 세포와 달리 수천개의 세포가 모여있는 군집체로 직경 수십에서 천 마이크로미터까지 다양한 크기의 3차원 구형이기 때문에 췌도를 캡슐화 할 때에는 췌도 중심부의 산소 및 영양분 공급이 원활 하지 못할 수 있다. 이러한 문제점을 보완하기 위해 한 개 혹은 소수의 췌도를 단위로 캡슐화하면 이식 후 환경에 많은 표면을 노출 시켜 산소 및 영양분 공급에 유리하도록 최적의 상태로 유지시킬 수 있는 확률이 높아지게 된다(15,18,28).

이렇게 미세캡슐화방법으로 제작된 췌도는 크기가 작기 때문에 현재 췌도 이식 시 시행되고 있는 방법인 간문맥 주입법과 같이 저침습적인 방법으로 이식방법을 선택이 가

능하며 다양한 부위에 이식할 수 있다는 장점이 있다(45).

이와 더불어 저침습적으로 중심혈류에 이식된 췌도는, 간문맥과 같이 혈류량이 풍부한 환경의 경우 긴밀하게 혈류와의 접촉이 가능하며 혈류에서의 산소, 췌도의 생존에 필요한 에너지원 접촉이 용이할 뿐만 아니라 이식 췌도가 분비하는 인슐린 등의 항 당뇨병물질이, 보다 효과적으로 분비, 이동 되어 필요한 부위에서 기능을 할 수 있게 된다. 또한 이러한 이상적인 환경은 췌도 생존을 높여줌으로써 이식 효율을 높일 수 있다는 장점이 된다.

본 연구진은 분리된 췌도와 연골세포를 공동 배양하여 연골세포를 재료로 췌도의 미세캡슐화가 가능함을 보고한 바 있다(46). 일반적으로 제작되는 알지네이트-폴리라이신-알지네이트(arginate-polylysine-arginate) 등의 생물체에서 추출한 생합성 조직을 재료로서 이용한 캡슐화 방법은 완벽한 봉입을 위해서 공기분사법 등의 복잡한 물리적 혹은 화학적 공정을 통한 캡슐화 과정을 거쳐야 제작이 가능하다(17,18). 그러나 이러한 제작 방법들은 췌도 이식을 위하여 공여자로 부터 여러 단계에 걸쳐 분리된 상태의 췌도에 또 다시 면역격리화를 위해 스트레스를 가하게 되므

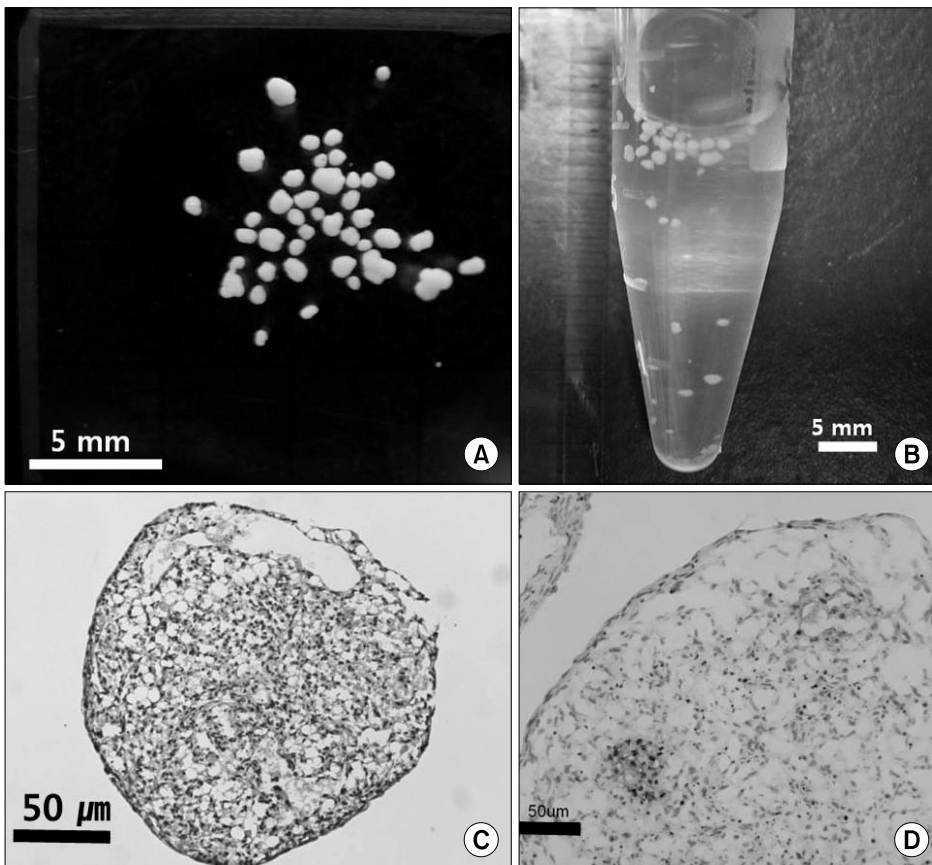


Fig. 3. Morphology of chondrocytes microencapsulating immunoisolated (CMI) islet. (A, B) Macroscopic observation, structure of CMI-islet were in the range of approximately 200~600 μm , (C) histological evaluation with azan stain, and (D) immunohistochemistry for insulin confirmed insulin secretion within the β cells of pancreatic islet showing islets of CMI-islets.

로 결과적으로 이식 전 처리 작업 중에 췌도 기능 저하가 불가피하게 된다. 본 연구팀에서 제안한 연골세포를 이용한 췌도의 미세캡슐화는 배양액 내에서 배양과정 중에 췌도와 연골세포를 동시에 공동 배양 하면서, 부유하는 췌도를 중심으로 고밀도로 파종된 연골세포가 췌도의 표면에 달라 붙어 자라면서 자연스럽게 캡슐화되는 방법이므로 상대적으로 가해지는 스트레스가 적기 때문에 기능 또한 높게 유지할 수 있게 된다.

이렇게 개발된 연골세포를 이용하여 미세캡슐화된 췌도를 연구진은 chondrocytes microencapsulating immunoisolated islets (CMI-islets)이라 명명하였으며 제작된 CMI-islets은 평균적으로 직경 200~600 μm 으로 일반적인 췌도에 비해 조금 큰 상태로 5일에서 6일 정도의 제작 기간을 거치게 된다(Fig. 3). CMI-islets은 연골세포에 의해 상호 보완 효과를 가지게 되어 연골세포와 공동배양 하지 않은 췌도 보다 높은 인슐린 분비능력을 보이는 것을 당부하 검사를 통해 확인이 가능하였다. 배양 조건하에서 최장 102일 동안의 인슐린 분비를 확인 할 수 있었는데 이는 정제 분리된 췌도가 일반 배양조건 하에서 2주정도 생존이 가능한 성적보다 상당히 긴 기간 인슐린 분비능을 유지한 것으로 연골세포에 의한 상호 보완 작용을 시사한다(44).

결론

1993년 조직공학(47)이 소개된 이후에 이 분야는 재생 의료라는 새로운 분야의 선도 기술로 자리매김하고 있으며, 조직공학에 주요한 재료가 되는 각종 세포자원에 대한 폭넓은 획득기술의 진보, 지식과 이해를 바탕으로 하는 기초연구성과에 힘입어 조직공학의 적용분야 및 이를 이용한 임상적용 품목도 세계적으로 늘어나고 있는 추세이다. 최근 줄기세포 제품을 비롯한 세포치료제는 식품의약품안전처의 발표에 의하면 한국에서만 허가된 20여건에 달한다고 한다. 췌도 이식은 수혈 및 조혈모세포 이식과 같이 비교적 연구 및 임상적용의 역사가 길어 조기임상화 및 상업화가 기대되었으나, 세포치료제의 형태로 아직 상업화되지 못하고 있다. 이는 사용되는 면역억제제의 문제와 췌도 분리 정제화 과정이 용이하지 않은 점 등 해결되어야 할 문제점이 많기 때문이다.

본 종설에서 언급한 면역격리법도 조직공학의 한 분야로 아직 임상적용에 합당한 완벽한 물성과 안전성이 담보되는 생체재료가 개발되지 않았기 때문에 임상적용에는 한계가 있다고 생각된다. 하지만, 본 연구팀은 새로운 개념의 면역착각면역격리법을 최선의 조직공학법을 이용하

여 시도 하고 있다(29,42,44,46,48). 즉 이는 이식편을 수용할 환자 유래의 생체조직에서 분리한 세포 자체를 면역격리막으로 이용할 수 있다는 가능성을 제시한 것으로, 이론적으로 이식편과 숙주가 만나는 경계를 숙주 유래의 세포로 감싸게 되면, 면역체계는 이를 자신으로 인식하게 되어 이식된 세포는 면역거부반응을 회피할 수 있다. 이렇게 개발된 신개념의 면역격리법을 적용한 인공 췌장은 설치류에서 동종간의 이식실험에 있어서 100일 이상의 생착이 보고된바 있다(44). 향후 본 기술의 임상적용의 가능성을 확인하기 위하여는 제1형 당뇨병 동물 모델을 이용한 동종 및 이종간의 실험이 필요하며, 연골세포의 채취에서 췌도의 캡슐화까지의 전 과정이 신속하고 간단하며 완벽하게 구축되어야 하고 인체를 대상으로도 본 기술이 적용될 수 있도록 제반 기술의 개발이 향후 필요할 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 연세대학교의료원 산학협력단 연구비(과제번호: 2011-31-0013)와 교육과학기술부-한국연구재단 2010년도 기초연구사업(과제번호: 2010-0024188)의 지원으로 이루어졌습니다.

REFERENCES

- 1) Sutherland DE. Pancreas and islet transplantation. II. Clinical trials. *Diabetologia* 1981;20:435-50.
- 2) Robertson RP. Islet transplantation as a treatment for diabetes—a work in progress. *N Engl J Med* 2004;350:694-705.
- 3) Naftanel MA, Harlan DM. Pancreatic islet transplantation. *PLoS Med* 2004;1:e58.
- 4) Shapiro AM, Lakey JR, Ryan EA, Korbutt GS, Toth E, Warnock GL, et al. Islet transplantation in seven patients with type 1 diabetes mellitus using a glucocorticoid-free immunosuppressive regimen. *N Engl J Med* 2000;343:230-8.
- 5) Kaufman DB, Gores PF, Field MJ, Farney AC, Gruber SA, Stephanian E, et al. Effect of 15-deoxyspergualin on immediate function and long-term survival of transplanted islets in murine recipients of a marginal islet mass. *Diabetes* 1994;43:778-83.
- 6) Bennet W, Sundberg B, Groth CG, Brendel MD, Brandhorst D, Brandhorst H, et al. Incompatibility between human blood and isolated islets of Langerhans: a finding with implications for clinical intraportal islet transplantation? *Diabetes* 1999;48:1907-14.
- 7) de Vos P, Faas MM, Strand B, Calafiore R. Alginate-based microcapsules for immunoisolation of pancreatic islets.

- Biomaterials 2006;27:5603-17.
- 8) Park YJ, Ahn HJ, Kim YS, Cho Y, Joo DJ, Ju MK. Illumina-microarray analysis of mycophenolic acid-induced cell death in an insulin-producing cell line and primary rat islet cells: new insights into apoptotic pathways involved. *Cell Signal* 2010;22:1773-82.
 - 9) Kim JY, Yoon SY, Park J, Kim YS. Mycophenolic acid induces islet apoptosis by regulating mitogen-activated protein kinase activation. *Transplant Proc* 2006;38:3277-9.
 - 10) Kim JY, Huh KH, Park YJ, Fang Y, Kang CM, Kim YS. Molecular mechanisms of cell death of mycophenolic acid-treated primary isolated rat islets: implication of mitogen-activated protein kinase activation. *Transplant Proc* 2008;40:2575-7.
 - 11) Lanza RP, Sullivan SJ, Chick WL. Perspectives in diabetes. Islet transplantation with immunoisolation. *Diabetes* 1992;41:1503-10.
 - 12) Wang T, Lacík I, Brissová M, Anilkumar AV, Prokop A, Hunkeler D, et al. An encapsulation system for the immunoisolation of pancreatic islets. *Nature Biotechnology* 1997;15:358-62.
 - 13) Mikos AG, Papadaki MG, Kouvroukoglou S, Ishaug SL, Thomson RC. Mini-review: Islet transplantation to create a bioartificial pancreas. *Biotechnol Bioeng* 1994;43:673-7.
 - 14) de Vos P, Marchetti P. Encapsulation of pancreatic islets for transplantation in diabetes: the untouchable islets. *Trends Mol Med* 2002;8:363-6.
 - 15) Beck J, Angus R, Madsen B, Britt D, Vernon B, Nguyen KT. Islet encapsulation: strategies to enhance islet cell functions. *Tissue Eng* 2007;13:589-99.
 - 16) Dufrane D, Goebbels RM, Gianello P. Alginate macroencapsulation of pig islets allows correction of streptozotocin-induced diabetes in primates up to 6 months without immunosuppression. *Transplantation* 2010;90:1054-62.
 - 17) Uludag H, De Vos P, Tresco PA. Technology of mammalian cell encapsulation. *Adv Drug Deliv Rev* 2000;42:29-64.
 - 18) de Vos P, Hamel AF, Tatarkiewicz K. Considerations for successful transplantation of encapsulated pancreatic islets. *Diabetologia* 2002;45:159-73.
 - 19) Orive G, Hernández RM, Gascón AR, Calafiore R, Chang TM, De Vos P, et al. Cell encapsulation: promise and progress. *Nat Med* 2003;9:104-7.
 - 20) Zielinski BA, Aebischer P. Chitosan as a matrix for mammalian cell encapsulation. *Biomaterials* 1994;15:1049-56.
 - 21) Lim F, Sun AM. Microencapsulated islets as bioartificial endocrine pancreas. *Science* 1980;210:908-10.
 - 22) Hunt NC, Grover LM. Cell encapsulation using biopolymer gels for regenerative medicine. *Biotechnol Lett* 2010;32:733-42.
 - 23) Iwata H, Amemiya H, Matsuda T, Takano H, Hayashi R, Akutsu T. Evaluation of microencapsulated islets in agarose gel as bioartificial pancreas by studies of hormone secretion in culture and by xenotransplantation. *Diabetes* 1989;38 Suppl 1:224-5.
 - 24) Dawson RM, Broughton RL, Stevenson WT, Sefton MV. Microencapsulation of CHO cells in a hydroxyethyl methacrylate-methyl methacrylate copolymer. *Biomaterials* 1987;8:360-6.
 - 25) Cruise GM, Hegre OD, Lamberti FV, Hager SR, Hill R, Scharp DS, et al. In vitro and in vivo performance of porcine islets encapsulated in interfacially photopolymerized poly(ethylene glycol) diacrylate membranes. *Cell Transplant* 1999;8:293-306.
 - 26) Weber LM, He J, Bradley B, Haskins K, Anseth KS. PEG-based hydrogels as an in vitro encapsulation platform for testing controlled beta-cell microenvironments. *Acta Biomater* 2006;2:1-8.
 - 27) De Vos P, Hillebrands JL, De Haan BJ, Strubbe JH, Van Schilfgaarde R. Efficacy of a prevascularized expanded polytetrafluoroethylene solid support system as a transplantation site for pancreatic islets. *Transplantation* 1997;63:824-30.
 - 28) Teramura Y, Iwata H. Islet encapsulation with living cells for improvement of biocompatibility. *Biomaterials* 2009;30:2270-5.
 - 29) Lee JI, Nishimura R, Sakai H, Sasaki N, Kenmochi T. A newly developed immunoisolated bioartificial pancreas with cell sheet engineering. *Cell Transplant* 2008;17:51-9.
 - 30) Pollok JM, Lorenzen M, Kölln PA, Török E, Kaufmann PM, Kluth D, et al. In vitro function of islets of Langerhans encapsulated with a membrane of porcine chondrocytes for immunoisolation. *Dig Surg* 2001;18:204-10.
 - 31) Beenken-Rothkopf LN, Karfeld-Sulzer LS, Davis NE, Forster R, Barron AE, Fontaine MJ. The incorporation of extracellular matrix proteins in protein polymer hydrogels to improve encapsulated beta-cell function. *Ann Clin Lab Sci* 2013;43:111-21.
 - 32) Davis NE, Beenken-Rothkopf LN, Mirsoian A, Kojic N, Kaplan DL, Barron AE, et al. Enhanced function of pancreatic islets co-encapsulated with ECM proteins and mesenchymal stromal cells in a silk hydrogel. *Biomaterials* 2012;33:6691-7.
 - 33) Brittberg M, Lindahl A, Nilsson A, Ohlsson C, Isaksson O, Peterson L. Treatment of deep cartilage defects in the knee with autologous chondrocyte transplantation. *N Engl J Med* 1994;331:889-95.
 - 34) Basad E, Ishaque B, Bachmann G, Stürz H, Steinmeyer J. Matrix-induced autologous chondrocyte implantation ver-

- sus microfracture in the treatment of cartilage defects of the knee: a 2-year randomised study. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2010;18:519-27.
- 35) Mikuriya T, Sugahara K, Shimogori H, Miura M, Yamashita H. Evaluation of deformation after auricular cartilage collection. *Nihon Jibiinkoka Gakkai kaiho* 2002;105:887-92.
- 36) Van Osch GJ, Mandl EW, Jahr H, Koevoet W, Nolst-Trenité G, Verhaar JA. Considerations on the use of ear chondrocytes as donor chondrocytes for cartilage tissue engineering. *Biorheology* 2004;41:411-21.
- 37) Sun L, Reagan MR, Kaplan DL. Role of cartilage-forming cells in regenerative medicine for cartilage repair. *Orthop Res Rev* 2010;2010:85-94.
- 38) El Sayed K, Haisch A, John T, Marzahn U, Lohan A, Müller RD, et al. Heterotopic autologous chondrocyte transplantation—a realistic approach to support articular cartilage repair? *Tissue Eng Part B Rev* 2010;16:603-16.
- 39) Yanaga H, Imai K, Koga M, Yanaga K. Cell-engineered human elastic chondrocytes regenerate natural scaffold in vitro and neocartilage with neoperichondrium in the human body post-transplantation. *Tissue Eng Part A* 2012;18:2020-9.
- 40) Ohashi K, Yokoyama T, Yamato M, Kuge H, Kanehiro H, Tsutsumi M, et al. Engineering functional two- and three-dimensional liver systems in vivo using hepatic tissue sheets. *Nat Med* 2007;13:880-5.
- 41) Yamada N, Okano T, Sakai H, Karikusa F, Sawasaki Y, Sakurai Y, et al. Thermo-responsive polymeric surfaces; control of attachment and detachment of cultured cells. *Makromol Chem Rapid Commun* 1990;11:571-6.
- 42) Kim JY, Lee JI, Jeong JH, Park YJ, Kim SJ, Fang YH, et al. Functional evaluation of chondrocyte sheeting immunodelusive immunoisolated bioartificial pancreas. *Transplant Proc* 2010;42:903-6.
- 43) Kim JY, Kim HW, Bae SJ, Joo DJ, Huh KH, Fang YH, et al. Hybrid cellular spheroids from hepatocellular carcinoma and insulin-secreting cell lines. *Transplant Proc* 2012;44:1095-8.
- 44) Lee JI, Kim JY, Kim HW, Bae SJ, Joo DJ, Huh KH, et al. Long-term viability of transplanted hybrid cellular spheroids within chondrocyte sheets. *Transplant Proc* 2012;44:1162-5.
- 45) Vèriter S, Gianello P, Dufrane D. Bioengineered sites for islet cell transplantation. *Current diabetes reports* 2013;13:745-55.
- 46) Lee JI, Kim HW, Kim JY, Bae SJ, Joo DJ, Huh KH, et al. Microencapsulation of pancreatic islets with canine ear cartilage for immunoisolation. *Transplant Proc* 2012;44:1091-4.
- 47) Langer R, Vacanti JP. Tissue engineering. *Science* 1993;260:920-6.
- 48) Huh KH, Lee JI, Kim JY, Jeong JH, Fang Y, Park YJ, et al. Functional improvement of pig islet with exocrine encapsulation. *Transplant Proc* 2009;41:323-5.