

4. 줄기세포/하이드로젤을 이용한 조직재생

최근 키토산 하이드로젤을 이용한 hMSC의 연골조직으로의 분화에 대한 연구가 보고되었다. 키토산과 demineralized bone marrow(DBM)를 섞어 하이드로젤을 형성하는 경우, elastic modulus 값이 증가하는 것을 확인할 수 있었고 면역염색을 통하여 연골 조직으로의 분화도 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 연골조직 분화 마커인 콜라겐 type-2를 염색하여 확인한 결과, 키토산 하이드로젤에 DBM을 섞어 하이드로젤을 형성한 그룹에서 다른 조직에 비하여 콜라겐 type-2의 발현이 눈에 띄게 증가한 것을 확인할 수 있었다[1].

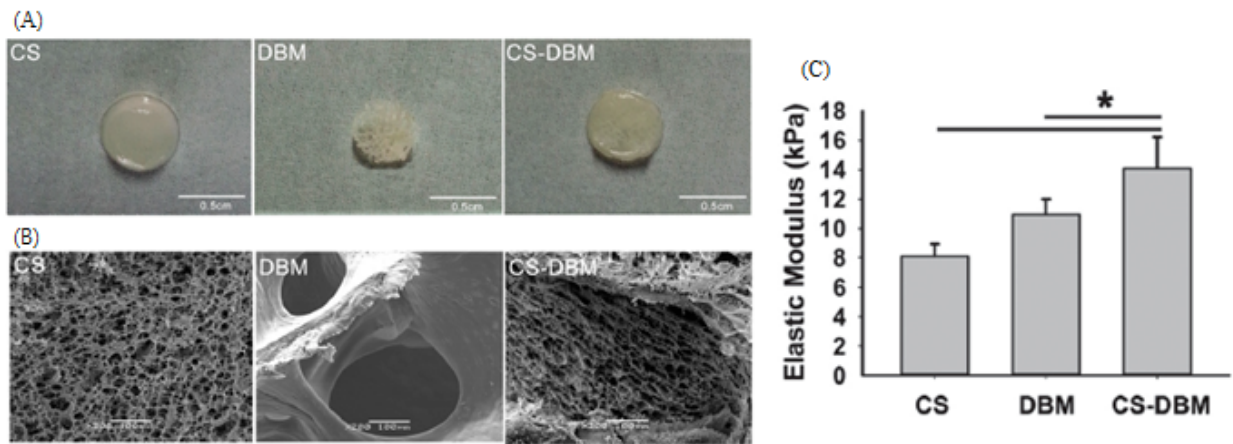


Fig. 1. 키토산 하이드로젤과 탈미네랄화된 골수가 혼합된 하이드로젤 특성.

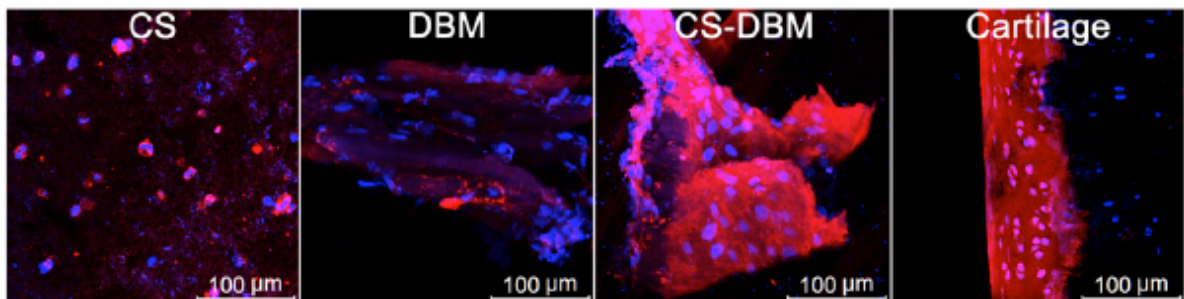


Fig. 2. 키토산 하이드로젤을 이용한 골수 유래 줄기세포의 연골조직 형성 평가 (red: collagen type 2).

또한, 키토산 하이드로젤은 심근조직의 재생에 많은 연구가 진행되었다. 심근 결손 마우스 모델에 키토산 하이드로젤과 지방 유래 줄기세포를 동시에 주입하여 4주간 경과를 지켜본 결과, 세포만 전달한 경우 결손 부위에서 대부분의 세포가 죽거나 손실된

것을 확인할 수 있었으나, 키토산 하이드로젤을 같이 전달한 경우 상대적으로 많은 세포가 결손부위에 유지되어있는 것을 확인할 수 있었다[2]. 결손 부위를 추출하여 콜라겐과 근조직을 염색하여 확인한 결과, 키토산 하이드로젤과 줄기세포를 동시에 전달한 그룹에서 다른 조직에 비해서 더 많은 근조직이 형성된 것을 확인할 수 있었다.

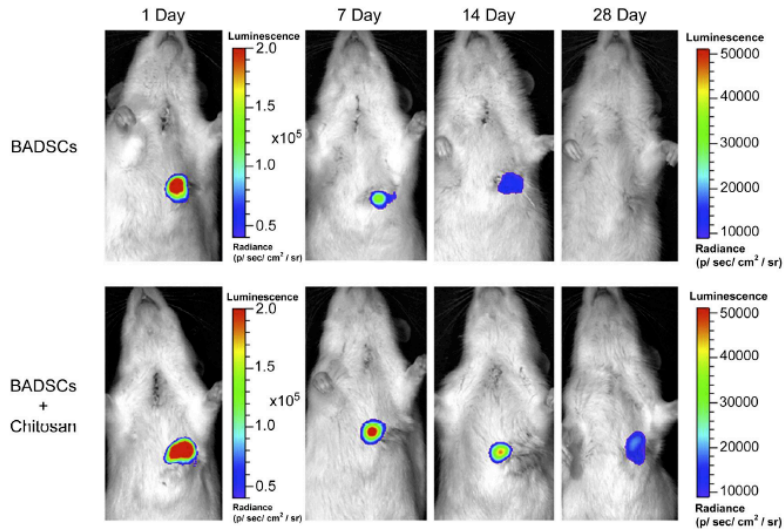


Fig. 3. 동물 모델에 주입한 키토산 하이드로젤과 줄기세포의 생체내 조직 유지력 평가.

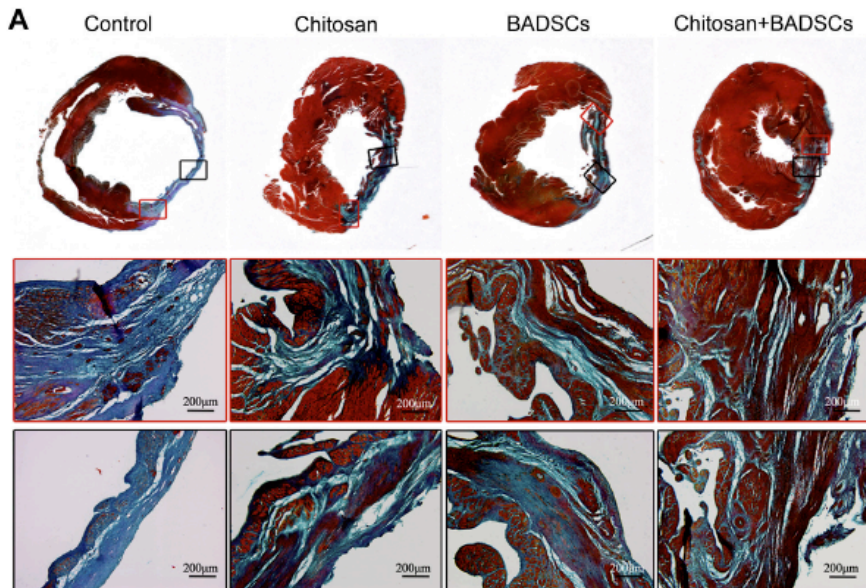


Fig. 4. 심근 결손 부위에 전달한 키토산 하이드로젤과 줄기세포의 조직형성능 평가 (green: collagen, red: muscle).

키토산 하이드로젤의 경우, 신장결손 모델에서도 높은 치료효과를 나타내었다. 신장결손 모델에 키토산 하이드로젤과 지방유래 줄기세포를 동시에 전달한 경우, 다른 그룹에 비교하여 많은 수의 미세혈관을 형성하는 것으로 확인되었다. 이는 신장조직의 ischemia-reperfusion(허혈 재관류)를 감소시키는 것으로 확인되었고, 이러한 연구결과로 하이드로젤과 줄기세포를 이용한 연구는 특정 조직을 형성하는 것 뿐만 아니라, 결손부위의 치료효과도 나타낼 수 있다는 것을 확인할 수 있었다[3].

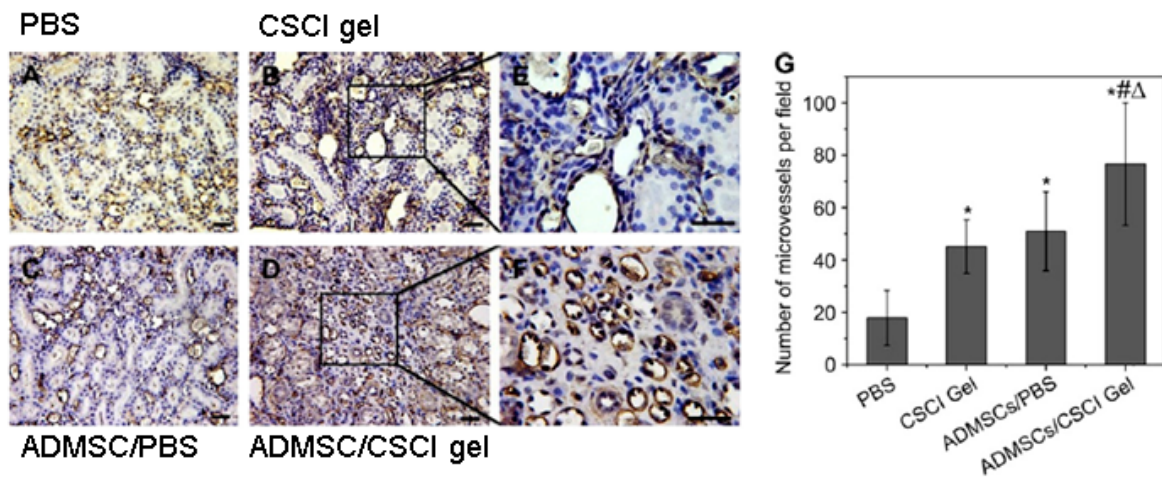


Fig. 5. 신장에 전달한 하이드로젤과 줄기세포의 미세혈관 형성능 평가.

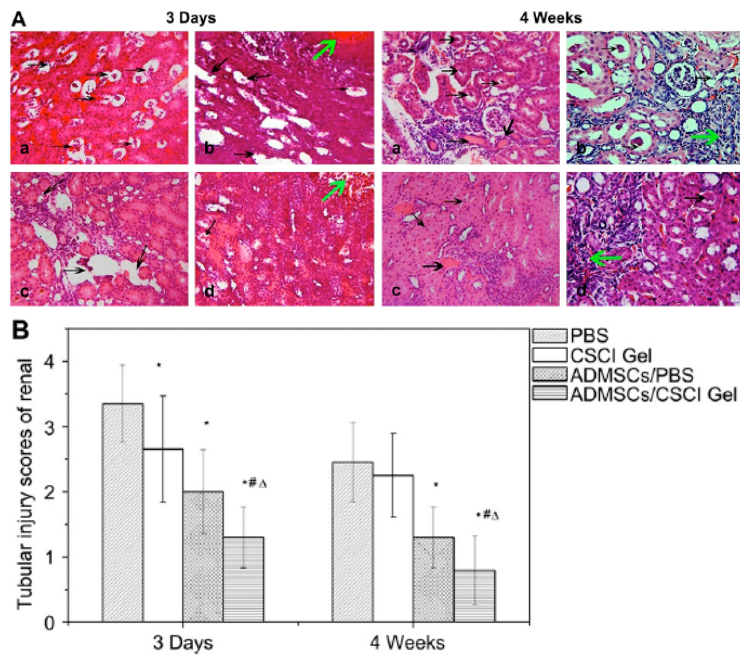


Fig. 6. 신장에 전달한 하이드로젤과 줄기세포의 허혈 재관류 평가.

천연고분자를 이용한 하이드로젤뿐만 아니라 합성고분자 하이드로젤을 이용한 연구도 진행되었다. 최근, methoxy polyethylene glycol-polycaprolactone block copolymer(MPEG-PCL)를 이용한 하이드로젤에 human turbinate mesenchymal stromal cells(hTMSCs)를 전달하여 뼈조직으로의 분화를 관찰한 연구가 발표되었다. 마우스의 피하에 주입하여 12주간 뼈조직으로의 분화를 유도하여 alizarin red-s와 von Kossa 면역염색을 하여 관찰한 결과, 줄기세포와 하이드로젤을 같이 전달한 그룹에서 다른 그룹에 비하여 뼈조직의 분화가 활발히 진행된 것을 확인할 수 있었다[4].

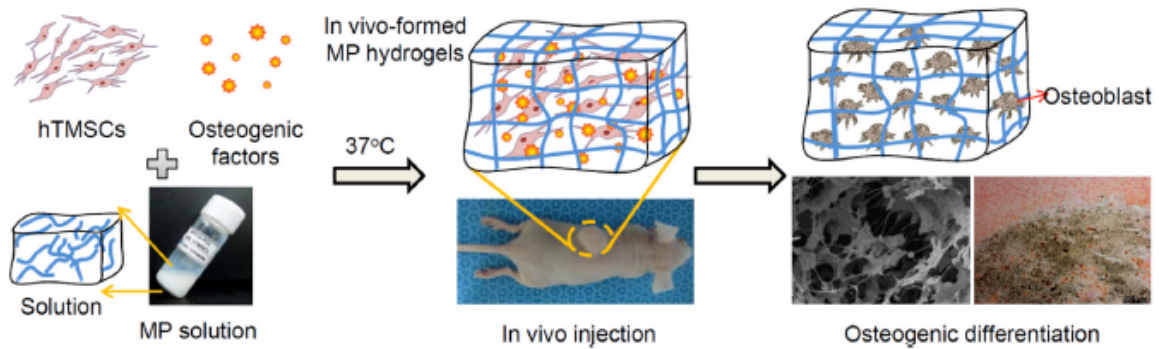


Fig. 7. 뼈조직 형성을 위한 MPEG-PCL 젤과 줄기세포를 이용한 조직 재생.

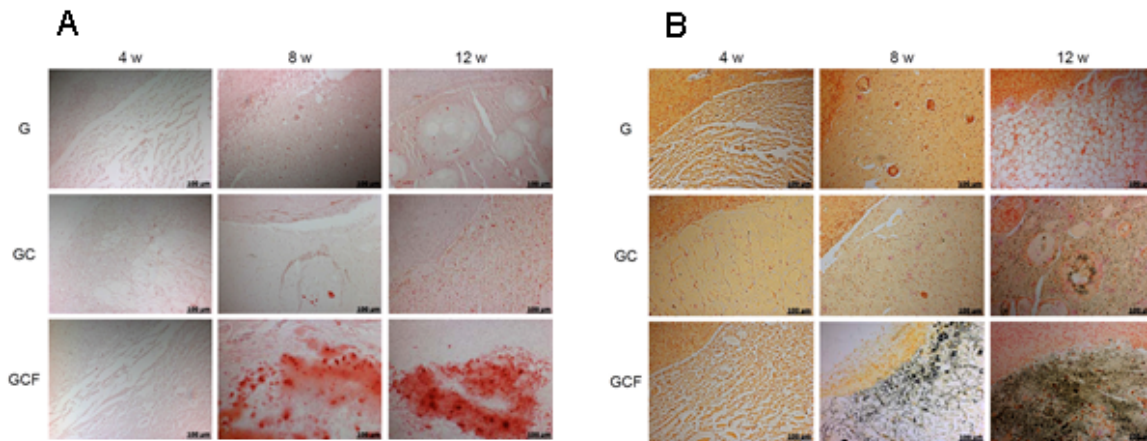


Fig. 8. 생체내 주입한 줄기세포와 하이드로젤의 뼈조직 형성능 평가 (A: alizarin red-s, B: von Kossa staining).

온도 감응성 고분자를 이용하면 체온과 유사한 온도에서 하이드로젤을 형성할 수 있고, 이러한 기능성 고분자 하이드로젤과 줄기세포를 동시에 전달하여 조직을 형성하는 연구가 진행되었다. 천연고분자인 hyaluronic acid(HA)에 온도 감응성 합성고분자인 PNIPAAm을 결합하여 온도 감응성 하이드로젤을 제작하였다. 이러한 합성고분자는

체온과 비슷한 온도에서 하이드로젤을 형성하는 것을 확인할 수 있었다. 이렇게 제작된 온도 감응성 하이드로젤과 지방유래 줄기세포를 혼합하여 마우스 모델의 피하에 주입하여 관찰한 결과, 특이적인 면역반응이 형성되지 않는 것을 관찰할 수 있었고, 세포의 성장 및 세포 응집체를 형성하는데 큰 영향을 미치는 것을 확인할 수 있었다 [5]. 또한, HA-PNIPAAm 하이드로젤과 골수 유래 줄기세포를 이용한 연구의 결과, 뼈조직으로의 분화를 촉진시키는 것을 확인할 수 있었다[6].

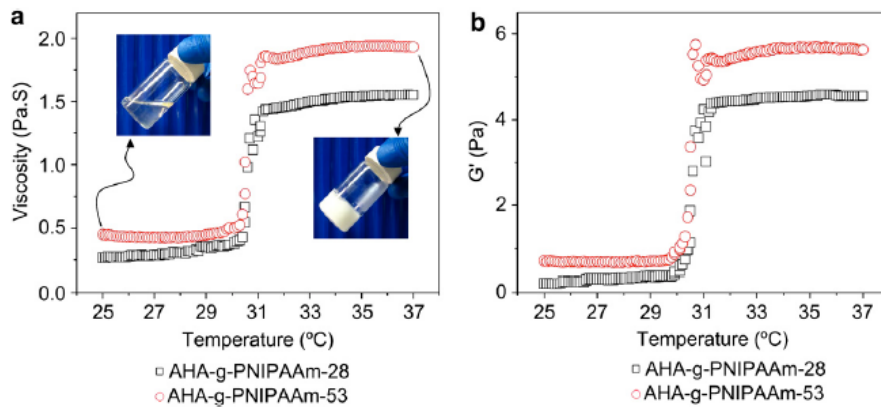


Fig. 9. PNIPAAm이 도입된 HA 젤의 온도감응성 평가.

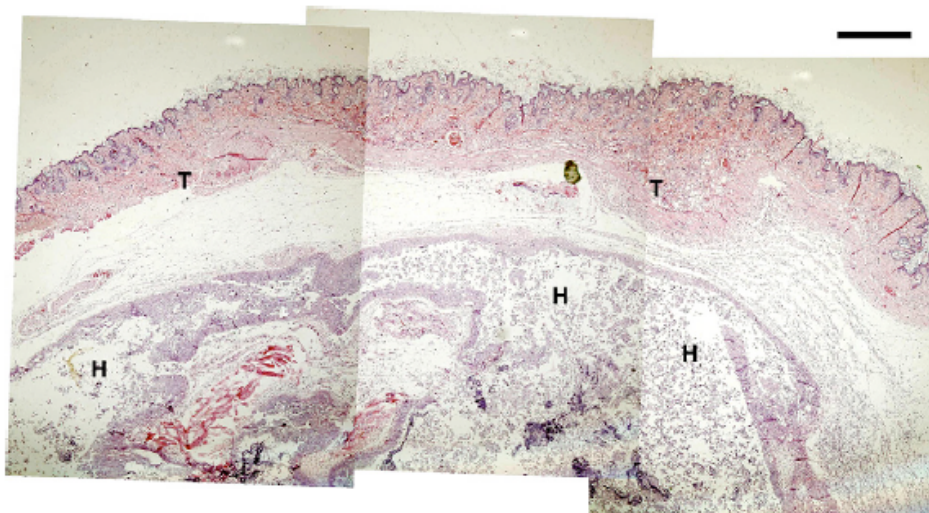


Fig. 10. 동물모델에 주입한 온도 감응성 하이드로젤과 줄기세포의 면역반응 평가.

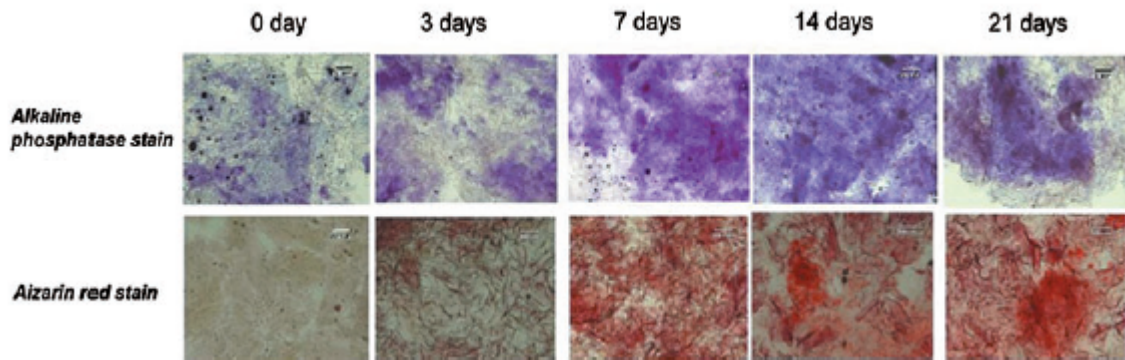


Fig. 11. 동물모델에 주입한 온도감응성 하이드로젤과 줄기세포의 뼈조직 형성능 평가.

참고문헌

- [1] Directing chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells with a solid-supported chitosan thermogel for cartilage tissue engineering, Hongjie Huang, Xin Zhang, Xiaoqing Hu, Linghui Dai, Jingxian Zhu, Zhentao Man, Haifeng Chen, Chunyan Zhou and Yingfang Ao, *Biomed. Mater.*, 9(3), 035008 (2014).
- [2] Promotion of cardiac differentiation of brown adipose derived stem cells by chitosan hydrogel for repair after myocardial infarction, Haibin Wang, Jinxin Shi, Yan Wang, Yujing Yin, Liman Wang, Jianfeng Liu, Zhiqiang Liu, Cuimi Duan, Ping Zhu, Changyong Wang, *Biomaterials*, 35(13), 3986–3998 (2014).
- [3] The use of chitosan based hydrogel for enhancing the therapeutic benefits of adipose-derived MSCs for acute kidney injury, Jiasheng Gao, Rongfu Liu, Jie Wu, Zhiqiang Liu, Junjie Li, Jin Zhou, Tong Hao, Yan Wang, Zhiyan Du, Cuimi Duan, Changyong Wang, *Biomaterials*, 33(14), 3673–3681 (2012).
- [4] In vivo osteogenic differentiation of human turbinate mesenchymal stem cells in an injectable in situ-forming hydrogel, Jin Seon Kwon, Sung Won Kim, Doo Yeon Kwon, Seung Hun Park, A. Reum Son, Jae Ho Kim, Moon Suk Kim, *Biomaterials*, 35(20), 5337–5346 (2014).
- [5] Thermosensitive injectable hyaluronic acid hydrogel for adipose tissue engineering, Huaping Tan, Christina M. Ramirez, Natasa Miljkovic, Han Li, J. Peter Rubin, Kacey G. Marra, *Biomaterials*, 30(36), 6844–6853 (2009).
- [6] Osteogenic Differentiation and Ectopic Bone Formation of Canine Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells in Injectable Thermo-Responsive Polymer Hydrogel, Han-Tsung Liao, Chien-Tzung Chen, and Jyh-Ping Chen. *Tissue Engineering Part C: Methods.*, 17(11), 1139–1149 (2011).