

바이오리액터(Bioreactor) 시스템을 이용한 조직 공학

신정욱, 허수진 | 인제대학교

1. 서 론

사고나 질병에 의해 인체의 장기, 조직이 손상되었을 경우, 가장 효과적인 치료 방법은 조직이나 장기를 대체하거나 이식하는 것이다. 하지만 공급될 수 있는 장기는 한정되어 있고 표 1 에서 보듯이 우리나라뿐만 아니라 세계적으로 엄청나게 많은 수의 환자가 대기하고 있으며 이 수가 점점 증가하는 심각한 불균형이 초래되고 있다. 이에 인체의 장기나 조직을 재생하여 이를 치료하고자 조직 공학적 연구가 수십 년 전부터 시도 되고 있다. 이러한 조직 공학은 각 조직의 세포를 기본으로 하여 손상된 장기의 역할을 회복, 유지, 기능 향상을 목표로 하고 있다. 세포를 기본으로 한 조직적 치료 방법은 크게 (I) 자신의 조직에서 세포를 분리하여 직접 세포만을 이식하는 경우, (II) 손상된 조직 주위 세포들의 성장 촉진을 위해 생체활성 물질을 이식하는 경우 (bioactive-scaffold), (III) 체외에서 배양된 조직이나 세포를 3차원 구조의 지지체에 파종하여 몸속에 이식하는 경우로 나눌 수 있다^[4,5].

특히 3차원 지지체에 각 조직의 세포를 파종하여 체외에서 조직을 재생하고자 하는 경우 그림 1에서 보듯이 세포의 증식이나 분화를 원활하게 하기 위한 일반적인 생물학적 자극뿐만 아니라 바이오리액터 (bioreactor) 와 같은 개념의 새로운 세포의 배양 방법이 요구된다. 인공장기의 재생에 있어서 바이오리액터 (bioreactor)는 동적 배양 (dynamic culture)을 가능하게 하여 일반적인 정적 배양 (static culture)로 해결할 수 없었던 세포나 조직에 인장 (tension), 압력 (compression), 전단 응력 (shear stress) 등의 물리적, 기계적 자극을 가하는 새로운 형태의 세포 및 조직 배양 방법이다^[6]. 또한 in-vitro에서 세포 배양 시 적절한 pH, 온도, 산소의 농도, 영양분 등의 공급을 통하여 in-vivo의 상황과 유사한 환경을 제공하여 세포의 증식이나 분화를 더욱더 활발하게 하여 조직재생을 원활하게 만들어 준다^[6,7]. 이러한 바이오리액터를 이용한 조직공학의 목표는 외부에서 생체 내와 유사한 환경을 유지시켜 소량의 세포를 배양하여 대량으로 증식시키거나, 효율적으로 생체 내 목표 조직의 특성을 그대로 가진 조직을 재생 또는 제작하여 이식함으로써 손상된 장기를 대체하거나 보조하는데 있다^[8]. 바이오리액터는 피부, 뼈, 혈관, 연골 등 조직의 재생을 위해 각 조직의 기능에 적절한 디자인이 필요하고 이를 위해서는 각 조직의 생물학적 개념과 공학적인 측면에 대한 이해가 동시에 필요하다. 이를 통해 다가올 미래에는 IT, BT 가 결합된 분야의 조직 공학이 급격하게 성장하게 될 것이다^[8,9].

본고에서는 3차원 지지체에 파종된 세포의 in-vitro 배양과 조직 재생 시 사용되고 있는 바이오리액터의 종류와 국내외 연구 현황을 살펴보고 다가올 미래의 조직 공학 분야에서의 중요성에 관하여 고찰해 보고자 한다.

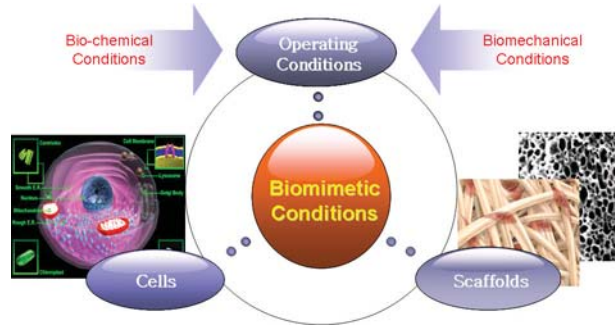


그림 1. 조직공학 연구에서 필요한 구성요소

표 1. 우리나라의 장기이식 대기자 수 현황 (단위: 명, 2004년)^[2]

신장	간장	췌장	심장	폐	소계
4,678	1,229	132	137	44	6,220

표 2. 미국의 장기 이식 대기자 수 현황 (단위: 명, 2004년)^[3]

신장	간장	췌장	신장/췌장	심장	폐	심장/폐	장	소계
60,751	17,789	1,590	2,498	3,503	3,926	190	191	90,438

2. 연구 개발의 중요성

손상된 조직의 치유의 경우, 자가이식 (autograft), 동종이식 (allograft), 이종이식 (xenograft) 등 다양한 방법이 소개 되고 시술되어 왔다. 하지만 이는 때로는 생체 적합성의 문제를 야기 시키기도 하고, 제공자나 제공 부위의 부족을 발생시키기도 하며, 면역 거부반응이나 질병의 감염을 유발하기도 한다. 최근에는 이러한 치료방법의 한계를 극복하기 위하여 자신의 세포를 이용하여 자가 조직을 재생하여 치료하고자 하는 조직공학적인 치료 방법에 대한 연구가 활발하게 이루어지고 있다^[10]. 이상과 같은 이유로 세계시장 규모 수천억불에 가까운 세포에서 유래된 의약품 및 치료의 목적에 의한 cell line 개발과 더불어 세포의 대량 배양 공학기술에 대한 관심이 선진각국에서 고조되고 있는 실정이다. 미래에 엄청난 시장성 때문에 선진각국에서는 앞 다투어 세포를 이용한 치료 방법을 개발하고자 하고 있으며 수많은 기업들이 치열한 경쟁을 벌이고 있다. 현재 미국이 600 여 이상의 업체가 관여하고 일본이 100여개 이상의 기업들이 관여하고 있으나 우리나라는 그 선진국 수준에 미치지 못하고 있다. 하지만 세계적인 추세로 보아 수년 내에 우리나라의 대기업 및 제약회사들이 참여하지 않을 수 없는 실정이다^[11]. 따라서 세포를 물리적 자극에 의해 대량으로 배양할 수 있는 배양기의 국내 수요도 급격히 늘어날 것이며, 이에 따른 다양한 세포 배양기의 기술개발이 요구된다. 이는 미래 조직공학 산업에 가장 중요한 부분이며 다양한 연구와 정부차원에서의 투자가 지속적으로 이루어져야 할 것이다.

3. 이론적 배경

인체 내의 조직을 이루는 다양한 세포들은 일정한 물리적 영향을 받고 있는데, 혈액의 흐름에 따른 혈관 내피세

포는 전단응력, 연골 세포의 경우 압축하중, 그리고 인대 세포의 경우 인장자극 등에 주로 영향을 받는다. 이에 실제 생체와 유사한 환경을 체외에서 제공하고 생체 적응 능력을 향상시키기 위해 바이오리액터를 이용한 물리적 자극을 세포에 직접 추가하는 시스템이 도입되었다^[12,13]. 이러한 생체 외부에서의 물리적 환경이 세포의 증식과 분화 등의 기능에 많은 영향을 끼치며 이에 대한 많은 연구가 이루어져 왔다. Pauwel 이나 Roux, 그리고 Cartel 등은 물리학적 자극에 의한 세포의 분화에 대해 관심을 가지고 많은 연구들을 실시하였다^[14,15]. Pauwel 등은 hydrostatic compression이 연골의 형성에 큰 영향을 주며, 뼈의 형성에도 어느 정도의 영향을 준다고 밝혔다. 그는 그림 3 과 같이 역학적인 자극과 조직 분화의 관계에 관한 이론을 정립하였다^[14]. 이는 Hydrostatic compression이 뼈나 연골 형성에 영향을 미치나 hydrostatic tension의 경우에는 skeletal tissue 형성에 큰 영향을 주지 않는다고 밝혔다. 이와 같이 생체 내 각 조직은 각각 특이한 물리적 자극을 일정하게 받고 있으며, 조직의 분화와 형성에도 각각의 조직 마다 특이한 물리적 자극이 영향을 준다. 그러므로 바이오리액터를 이용한 물리적, 기계적 자극이 일반적인 화학적인 자극과 함께 세포의 성장과 분화에 꼭 필요한 부분이다.

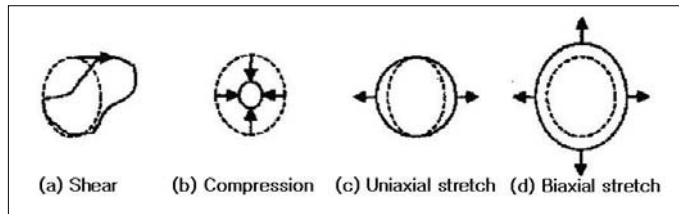


그림 2. 세포에 직접 가해진 물리적 자극의 형태

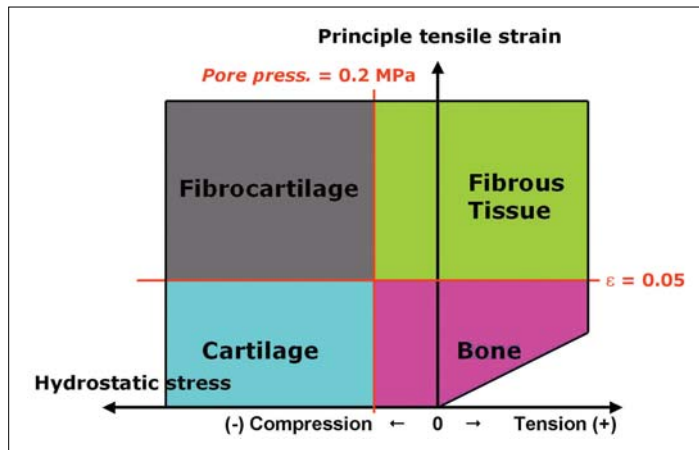


그림 3. 역학적 자극과 분화에 대한 Carter의 이론

4. 바이오리액터의 연구 동향^[1]

4.1 인공피부

바이오 인공피부는 그 제조 방식이 수공업적 공정에서 자동화 공정으로 넘어가 대량화에 초점을 맞춘 연구가 진

행되는 단계까지 와있다. 주로 인장 자극을 주는 바이오리액터 시스템이 이용되고 있으며, 압력을 가하는 경우도 있다.

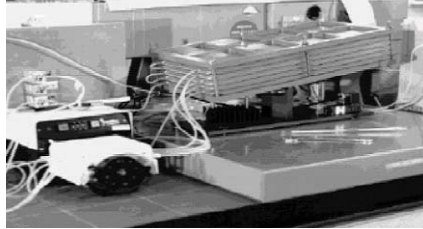


그림 4. 바이오 인공피부 증식 chamber와 부속품으로 구성된 자동화장치

4.2 인공 연골

바이오 인공연골은 인공장기 중 가장 먼저 바이오리액터가 접목된 분야이고 다양하게 발전되어 왔다. 주로 정수압을 이용하는 경우가 많으며, 단순한 동적 배양법을 지나 현재는 전단응력이나, 압력 등이 정확하게 조절되는 환경 하에서 연구가 진행되고 있다.

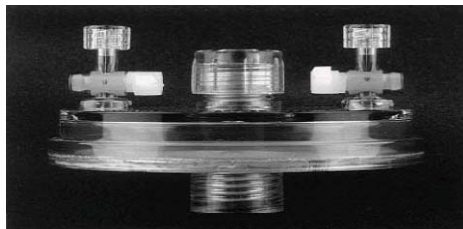


그림 5. 바이오 인공연골 재생을 위한 회전 배양 용기 (synthecon 社)

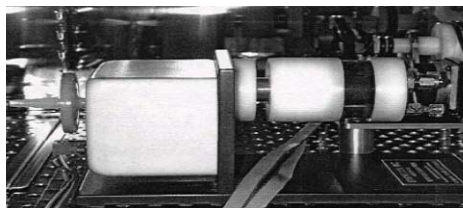


그림 6. 수력을 이용한 바이오리액터를 이용한 인공연골 제조(Celdyne 社)

4.3 인공 골

Hydroxyapatite 나 β -TCP 등의 무기물이나 PCL, PLGA 등 생분해성 고분자, 콜라겐 등의 천연고분자로 제작된 3차원 지지체에 골수 중간엽 줄기세포를 파종한 후 관류형 바이오리액터를 이용하여 전단응력, 압력 등을 동시에 부여하여 미네랄화가 더욱더 촉진된 바이오 인공 골을 재생하고 있다.

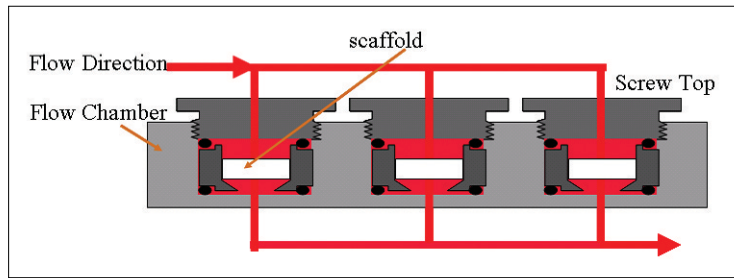


그림 7. 인공골 제조를 위한 관류형 바이오 리액터

4.4 인공 심근

심근세포를 콜라겐 지지체에 피종하여 3차원 역동적 배양으로 수축/이완 능력이 있는 바이오 인공심근을 재생하고 있다. 인장자극을 부여하는 바이오리액터가 주로 이용되고 있다.



그림 8. 수축 능력이 있는 바이오 인공 심근

4.5 인공 판막

액체를 박동성(pulsatile)이 있는 형태로 조직에 자극을 부여하여 체내의 환경과 유사하게 유지하여 인공판막을 재생하고 있다. 판막을 이루는 세포나 조직을 배지의 흐름이 있는 부분에 위치시키고 박동성의 압력을 가함으로써 생체 내에서와 유사한 환경을 제공하여 조직을 재생한다.

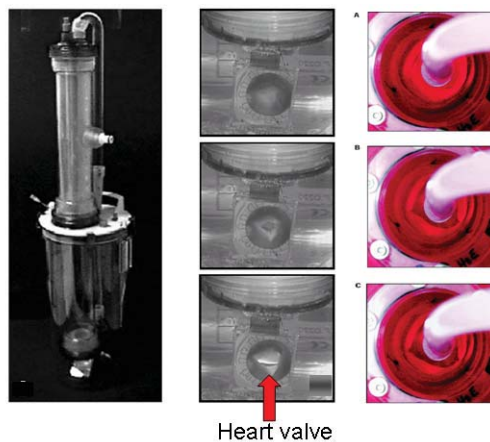


그림 9. 인공판막 재생을 위한 pulsatile 형식의 bioreactor

4.6 그 외의 바이오리액터

최근에는 세포 배양이나 조직 재생 시 바이오리액터의 역할이 필요해짐에 따라 여러 업체에서 상품화하여 시판하고 있다. 종래의 한 종류의 세포만을 배양하는 시스템에서 서로 다른 여러 종류의 세포를 동시에 배양할 수 있는 시스템도 시판되고 있으며, 세포가 자랄 수 있는 여러 가지 조건의 환경의 monitoring이 가능하여 최상의 조건으로 세포가 자랄 수 있게 상황에 따라 자동적으로 조절할 수 있는 시스템이 개발되어 시판되고 있다. 또한 부착 세포(adherent cell) 뿐만 아니라 부유세포(suspension cell), 줄기세포(stem cells)의 경우에도 최적의 조건에서 배양 가능한 바이오리액터가 시판되고 있다.

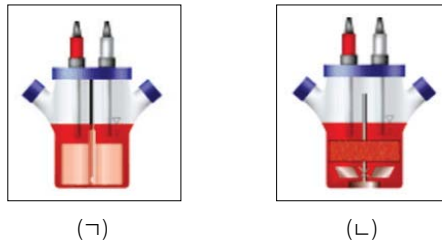


그림 10. (A) Suspension cell 용 바이오리액터, (L) adherent cell line 에 적합한 바이오 리액터, JC Biotech 社

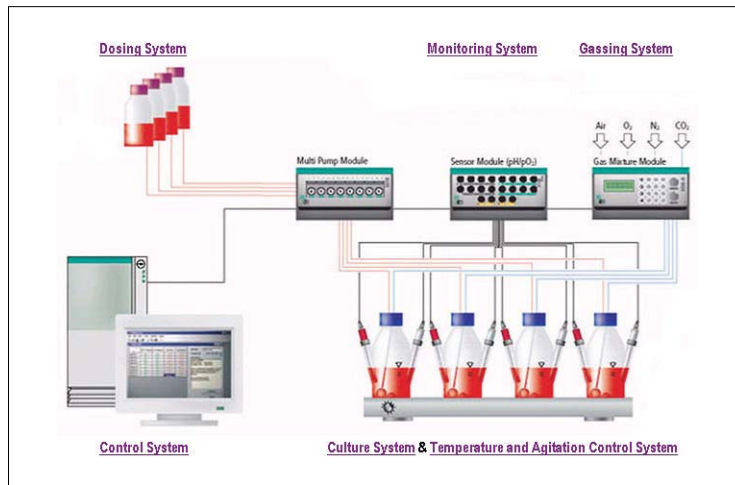


그림 11. 최상의 조건으로 세포 배양 환경을 control 해주는 자동화 system

최근 성체 줄기세포(adult stem cell)이나 배아 줄기세포(embryonic stem cell) 등의 줄기 세포(stem cell)을 이용한 치료방법에 대한 관심도가 커지고 있으며, 이에 따라 다양한 바이오리액터를 이용하여 기존의 화학적인 요인에 의한 분화 유도 뿐 아니라 물리적 자극에 의한 분화 유도에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있으며, 바이오리액터를 이용한 줄기세포의 분화에 대한 우수한 연구 성과가 보고되고 있다^[16,17].

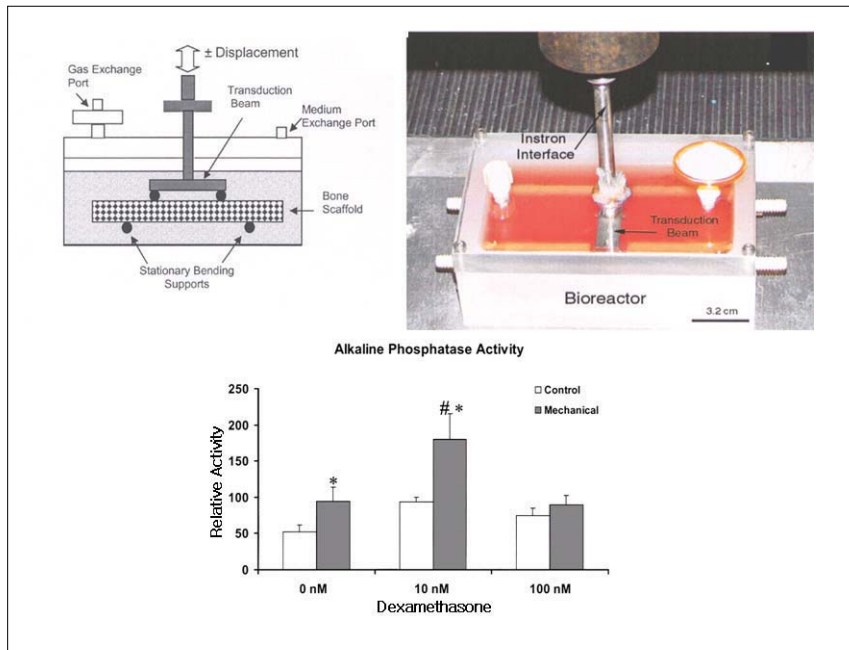


그림 12. 바이오리액터를 이용한 성체줄기세포의 골세포로의 분화^[17]

현재 국내에서는 3차원 구조의 지지체에 골아세포, 연골세포나 줄기세포를 파종하고 충분한 배지의 공급과 배양과 동시에 세포에 정수압과 전단응력을 동시에 부여 할 수 있는 시스템이 시판되고 있다(그림 13).

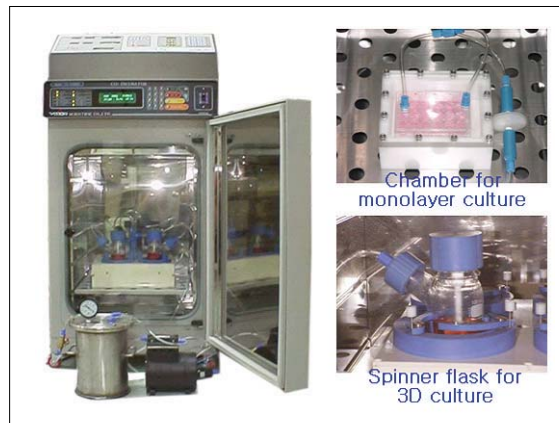


그림 13. 정수압과 전단응력을 동시에 부여할 수 있는 Bioreactor system

또한 나노파이버와 같은 sheet type의 지지체에 인대세포를 파종하여 주기적인 인장 자극을 부여하여 인대 조직을 재생하는 시스템 또한 시판중이며, 이는 혈관 조직 재생, 근육 조직 재생이나 신경조직 재생 등과 같은 부분에서 그 응용이 가능하다(그림14).

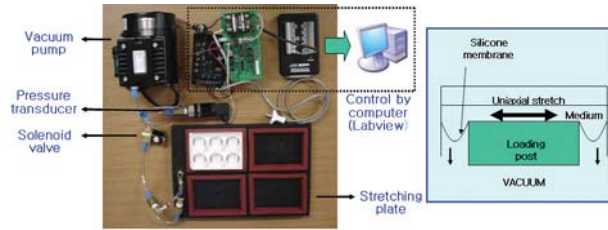


그림 14. 주기적인 인장 자극을 부여할 수 있는 Bioreactor system

5. 맺음말

인공장기의 재생 및 개발, 그리고 관련된 연구는 실로 생물학, 공학, 그리고 의학이 접목되어 있는 다학제간 융합 연구 분야이다. 따라서 각 분야 공히 주요한 역할을 하고 있으며, 최적의 융합조건하에서 훌륭한 결과를 도출할 것으로 사료된다. 여기에서 공학의 역할은 생물학, 의학적 연구를 정량적이면서 체계적인 방향으로 나아가게 하는 역할을 할 것으로 기대된다. 다시 말하자면, 재현가능한(repeatable) 시스템 및 실험방법의 구현이다. 이러한 역할은 한편으로 장기간을 요하는 실험 및 상품화에 가속을 붙일 것으로 사료된다.

우리나라의 경우, 조직공학을 이용한 인공 장기의 개발 수준은 그 기초에서는 생물학, 의학의 오랜 발전을 근간으로 우수하나, 경쟁력있는 상품화를 위해서는 공학의 역할이 절실한 것임은 자명하다. 이를 위해 정부, 기업에서 새로운 개념 정립 및 상품화를 위한 과감한 투자가 요구될 것으로 사료된다.

❁ 참고 문헌

- [1] 2004년 바이오 인공장기 기술동향 분석, 한국과학기술정보연구원
- [2] www.konos.go.kr: 국립장기이식관리센터, KONOS 2004. 3
- [3] www.unos.gov: 미국장기이식관리센터, UNOS 2004. 3
- [4] Ralf, P., et al., Bioreactor design for tissue engineering. J. Bioscience and bioengineering. 100(3), 235-245 (2005)
- [5] Cha,uleau, R. A., et al., Artificial liver support in the third millennium. Artif. Cells Blood Substit. Immobil. Biotechnol., 31, 117-126 (2003)
- [6] Ivan M., et al., The role of bioreactors in tissue engineering. Trends in Biotechnology. 22(2), 80-86 (2004)
- [7] Butler, D. L. et al., Functional tissue engineering: the role of biomechanics. J. Biomech. Eng. 112, 570-575 (2002)
- [8] Vunjak-Novakovic, G. et al. Dynamic cell seeding of polymer scaffolds for cartilage tissue engineering. Biotechnol. Prog. 14, 193-202 (1998)
- [9] Griffith, L. G. et al. Tissue engineering-current challenges and expanding opportunities. Science, 295,

- 1009-1014 (2002)
- [10] Shinichi, T. et al. Tissue Engineering in the twenty-first century. Yonsei Medical Journal, 41 (6), 685-691 (2000)
- [11] 동물세포 배양용 생물반응기의 제작 기술 (1992), 한국과학기술원
- [12] Sodian, R. et al. Tissue-engineering bioreactors: a new combined cell-seeding and perfusion system for vascular tissue engineering. Tissue Eng., 8, 863-870 (2002)
- [13] Freed, L. E. et al. Chondrogenesis in a cell-polymer bioreactor system. Exp. Cell Res. 240, 58-65 (1998)
- [14] Pauwels, F. Biomechanics of the normal and diseased Hip. Berlin, Springer-Verlag, (1980)
- [15] Denis, R. et al. Mechanobiology of skeletal regeneration. Clinical Orthopaedics and Related Research. 355s, s41-s55 (1998)
- [16] Michelle, R. et al. Fluid flow stimulates expression of osteopontin and bone sialoprotein by bone marrow stromal cells in a temporally dependent manner. Bone. 3, 1-9 (2005)
- [17] Mauney, J. R. et al. Mechanical stimulation promotes osteogenic differentiation of human bone marrow stromal cells on 3-D partially demineralized bone scaffolds in vitro. Calcif Tissue Int. 74(5), 458-68 (2004)



신 정 옥

· 인제대학교 의용공학과 교수
· 관심분야 : 역학적 자극을 이용한 인공 장기 재생
· E-mail : sjw@bme.inje.ac.kr



허 수 진

· 인제대학교 의용공학과 석사과정
· 관심분야 : 생체재료 제조 및 특성평가,
역학적 자극을 이용한 인공 장기 재생
· E-mail : hsj@bse.inje.ac.kr