

# 미세유체시스템을 이용한 암전이 연구

이 글에서는 미세유체시스템을 이용하여 암의 전이과정을 분석하고 관련된 치료제 및 기술을 개발하는 다양한 연구 성과에 대해 소개하고자 한다.

**신 유 진** 고려대학교 기계공학부, 석사과정  
**한 세 운** 고려대학교 기계공학부  
**정 석** 고려대학교 기계공학부, 조교수

e-mail : jinyana@korea.ac.kr  
e-mail : einstein.email@gmail.com  
e-mail : sidchung@korea.ac.kr

암이란 유전적인 돌연변이와 결합, 환경적인 요인, 기타 여러 가지 다양한 복합적인 요인으로 인하여, 정상세포가 비정상적으로 성장 및 분열을 멈추지 못할 때 발생하는 질병이다. 인간의 평균 수명이 증가하는 상황에서, 암은 발병률 및 사망률이 가장 높은 질병 중 하나로, 치료 및 예방에 많은 사회적인 비용이 지속적으로 투자되는 중이다. 암의 발병을 억제하거나 발생한 암을 치료하고, 전이되는 것을 막기 위한 연구가 다각적으로 진행되고 있으며, 많은 성과를 거두고 있지만, 위험성은 여전히 증가하는 상태다. 암은 종양이 있는 부위를 떼어내는 등의 수술과 화학 혹은 방사선 치료 등으로 제거가 가능하며, 제거 후에도 환자의 삶의 질 향상 및 수명 증가를 위한 다양한 치료 요법 및 기술들이 개발되어 있다. 그러나 암은 성장 단계에서 신체의 다양한 부위로 전이(metastasis)될 수 있으며, 수술 후에도 미처 제거되지 못하고 남은 암세포들이 다른 부위로 전이될 수 있다. 이러한 전이암의 경우, 일반적으로 발견하기가 무척 어려우며, 이로 인해 환자의 사망률에 미치는 영향 역시 크다. 따라서 암의 전이 과정을 이해하고 억제하는 방법을 찾는 것은 무척 중요하며 그 필요성 역시 계속 증가하고 있다.

## 암전이

암의 전이는 암세포가 처음 발생한 부위에서 림

프관이나 혈관을 따라서 다른 장기로 이동하여 다시 증식하는 현상으로, 혈관신생(angiogenesis), 침투(invasion), 혈관 내 침입(intravasation), 순환 및 이동(circulation & transport), 혈관 벽 부착 및 혈관 밖 유출(extravasation), 전이군락형성(metastatic colonization) 등의 과정을 거친다. 모든 과정에서 압력, 전단력, 주변의 세포외 기질(ECM: extracellular matrix), 침입형 유동(interstitial flow) 등과 같은 세포의 물리적인 환경과 성장인자(growth factor)와 같은 화학적인 환경이 많은 역할을 하며, 대부분의 경우 여러 가지 인자들이 복합적으로 작용하면서 다양한 현상을 유발한다.

일례로 혈관신생과정에서는 VEGF(Vascular endothelial growth factor), bFGF(Fibroblast growth factor), aFGF, EGF(Epidermal growth factor), TGF $\alpha$ (Transforming growth factor), ANG-1(angiopoietin-1) 등의 다양한 화학적 인자들이 작용하며, 침입형 유동과 같은 물리적인 인자들도 작용하는 것이 알려져 있다. 암의 침투 과정에서는 유전자 변화로 인해 정상세포가 암세포화 되는 EMT(Epithelial Mesenchymal Transition)현상이 핵심적인 역할을 하며, 이 EMT 과정에서는 또한 FGF, HGF, PDGF, IGF 등을 포함한 수많은 화학적 인자들이 작용하는 것이 또한 알려져 있다. 게다가 주변에 있는 CAF(Carcinoma Associated Fibroblast)이나

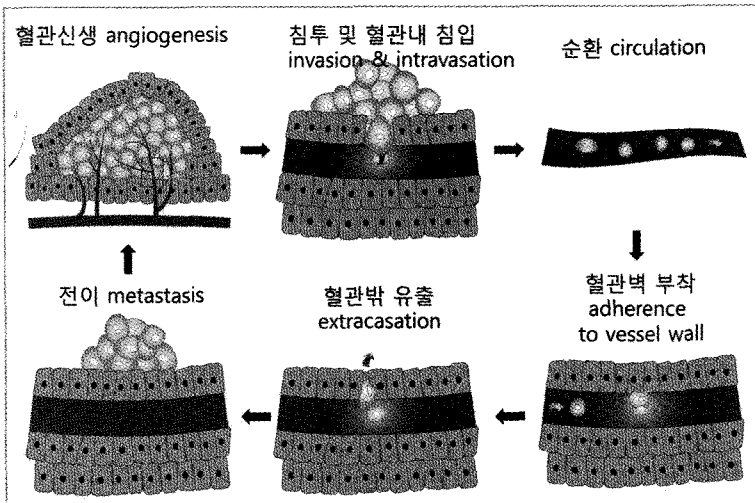


그림 1 암 전이의 전체 과정

stromal cell과 같은 다른 종류의 세포들 역시 암의 전이의 각 단계에서 암세포와 상호작용하며 전이를 억제하거나 혹은 촉진시키는 역할을 한다.

무엇보다 중요한 것은 이 모든 과정에서 세포는 삼차원으로 이동하며, 주변 환경과 복합적으로 반응한다는 점이다. 세포는 이동단계에서 주변의 세포의 기질과 삼차원으로 반응하며, 주변의 다른 세포와도 삼차원으로 반응한다. 혈관신생과정에서는 혈관을 구성하는 정단세포(tip cell)와 stalk cell이 삼차원으로 반응하여 초기의 형태를 만들어가며, 민무늬근육세포(smooth muscle cell) 등의 다른 세포들이 생성된 혈관과 삼차원으로 반응하면서 혈관의 복잡한 형태가 구성된다. 암세포가 전이과정에서 혈관 내로 침입하는 과정에서는 세포의 기질 사이를 비집고 들어가며 이동하는 아메바 형태의 이동과(ameboid migration), 가늘고 긴 형태로 이동하는 중배엽성 이동(mesenchymal migration), 그리고 세포간의 연결을 유지한 채 단체로 이동하는 집단적 이동(collective migration) 등의 형태로 다양한 삼차원 이동현상이 관찰되는데, 그림 1과 2에 이 현상들을 간단하게 설명하였다.

이렇게 생화학, 물리적 기전에 유전자 발현 등의 복합적인 기전과 함께 일어나는 암 전이현상을 이해하고 항전이 신약, 치료법 등의 신기술 개발을 위해서는 위에서 설명된 세포의 삼차원 구조 및 이동을 실시간으로 관찰하고, 관련된 다양한 기전들을 정밀하게 조절하며, 정량화된 분석이 가능한 플랫폼이 필수적이다.

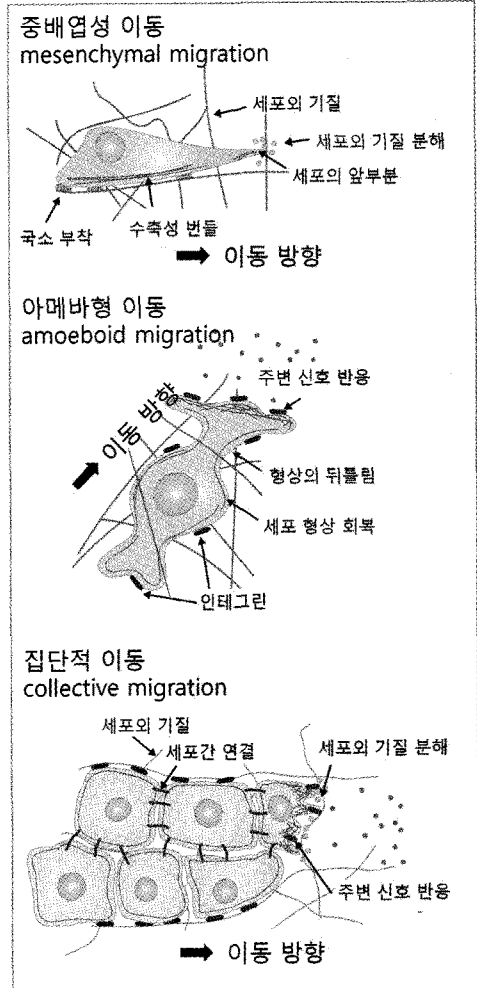


그림 2 다양한 형태의 세포 3차원 이동

### 암전이 연구를 위한 기존 플랫폼

암 전이에 대한 기존의 *in vitro* 연구들은 대부분 이차원에서 이루어져 왔다. 주로 이차원 표면에 성장요소(growth factor)들을 첨가하여 세포들의 움직임 관찰하거나, 표면에 배양된 세포 군집에 상처를 낸 후, 그 상처(wound)를 메우기 위해 이동하는 세포들의 이동도를 측정하는 wound healing assay도 있으며, 최근에는 미세유체 기술을 이용하여 세포를 이차원 표면에 패터닝하거나 선택적으로 배양하여 다중세포의 공동배양(co-culture) 과정에서 일어나는 상호작용을 분석하기도 한다. 많은 연구가 이러한 플랫폼으로 이루어졌고, 무척 흥미로운 연구성과들이 발표된 바 있으나, 이차원 표면에 세포를 배양한 후 분석하는 것은 실제 세포의 성장 환경과는 무척 다르다는 문제점을 가

지고 있다.

이러한 문제점을 해결하기 위해 미세한 구멍이 있는 멤브레인(membrane) 위에 세포를 배양한 후 아래쪽에 화학적 유도인자(chemoattractant)를 더함으로써, 세포가 화학적 유도인자에 반응하여 멤브레인을 통과한 후 아래로 이동하는 현상을 관찰하며, 통과한 세포의 수를 측정하여 정량화하는 트랜스웰/보이든챔버(transwell/Boyden chamber) 플랫폼이 이용되고 있다. 또한 멤브레인 상단에 세포의 기질층을 만든 후 그 위에 세포를 배양하여, 세포가 화학적 유도인자에 반응하면서 기질 안으로 이동하는 것을 관찰하는 삼차원 침투 분석(3D invasion assays) 플랫폼 또한 활발하게 사용되고 있다. 이러한 방법들은 기존 이차원 분석보다는 실제 세포 배양환경에 보다 더 유사하지만, 관찰하고 결과를 수치화하기가 어려우며 화학유인물질과 같은 화학적 기전의 그라디언트(gradient)를 포함한 세포의 미세환경을 정밀하게 조절하는 데 많은 한계점을 가지고 있다. 암세포의 저산소증(hypoxia) 역시 최근 암세포 혹은 암조직의 구조 및 형태와 밀접한 관련이 있다고 밝혀지고 있는데, 이러한 응용분야의 경우에도 암세포 부근의 미세환경을 보다 정밀하게 조절하는 것이 무척 중요하다. 이 외에도, 최근 연구에서 이차원 세포와 삼차원 세포는, 유전자 발현(gene expression)의 정도 및 종류, 세포의 형태, 화학적 자극과 기계적 자극에 대한 반응, 특정 치료제에 대한 반응 등에 대하여 많은 차이

가 있는 것이 계속 밝혀지고 있어, 암세포 전이 연구에서도 삼차원 미세환경 도입의 필요성이 점차 증가하고 있는 추세이다.

### 암전이 연구를 위한 미세유체시스템

최근 세포를 배양하고 분석하기 위한 미세유체시스템이 다양하게 개발되고 있으며, 암전이 연구에도 활발하게 응용되고 있다. 미세유체기술은 세포의 움직임을 실시간으로 관찰하는 데에 용이하며, 정량화된 분석이 쉽다. 또한 세포의 미세 환경을 정밀하게 조절할 수 있고, 화학적 자극과 기계적 자극의 정도 및 시간, 종류도 쉽게 조절할 수 있다. 무엇보다도 미세유체기술은 세포의 수 및 배양액의 양, 사용되는 단백질 및 시약을 절약할 수 있고, 반응시간을 줄일 수 있으므로 다양한 조건의 실험을 한 번에 수행하거나, 한 번의 실험에서 다층적인 정보를 얻어내는 것도 가능하다. 최근 피속의 종양세포들을 감지하고 분리해 내는 마이크로칩에 대한 연구와, 암 전이에 관여하는 여러 단백질들의 상호작용을 검증할 수 있는 미세유체소자에 대한 연구가 활발하게 진행 중이며, 또한 약물전달 평가의 한 톨로서도 미세유체시스템이 다양하게 응용되고 있다.

최근에는 미세유체채널 내에 세포의 기질을 고정한 후 세포를 배양함으로써, 세포와 기질의 삼차원 상호작용을 유도하는 기술도 활발하게 개발되고 있는데, 본 시스템을 활용했을 경우, 세포가 주변 환경과 반응하면서 기질 내로 삼차원 이동을 하기 때문에 기존의 플랫폼보다 실제 세포에 가까운 반응을 유도할 수 있으며, 정량화된 분석이 또한 가능하다. 그림 4를 보면 미세유체시스템 내의 이차원 표면에서 자란 유방암 세포와 미세유체 채널 내의 세포와 기질에 삼차원으로 침투한 유방암 세포의 형상 차이를 관찰할 수 있으며, 그림 5를 보면, 미세유체채널 내 배양된 유방암 세포가 영양분과 산소를 공급받기 위해 혈관내피세포성장인자(VEGF: Vascular Endothelial Growth Factor)를 발현하고, 이에 반응하여 함께 배양되어 있던 혈관내피세포들이 세포와 기질 내부로 새로운 혈관을 삼차원으로 형성하는 것을 볼 수 있다. 또한 미세유체채널 내에 배양된 혈관내피세포로 구성된 인조혈관 내부로 뇌암세포들이 이

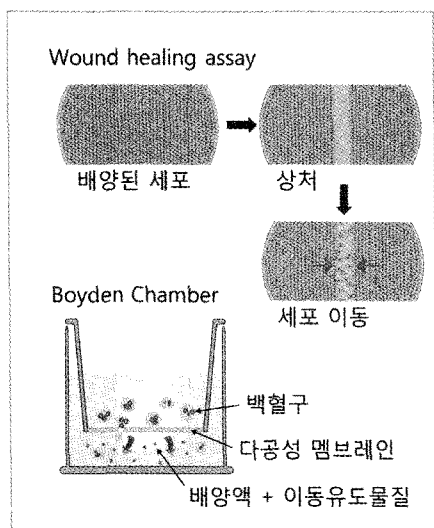
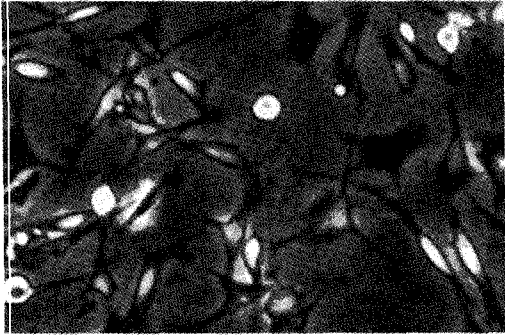


그림 3 암전이 연구를 위한 기존의 세포이동 분석 플랫폼

이차원 표면에서 자란 암세포의 형상



삼차원으로 침투한 암세포의 형상

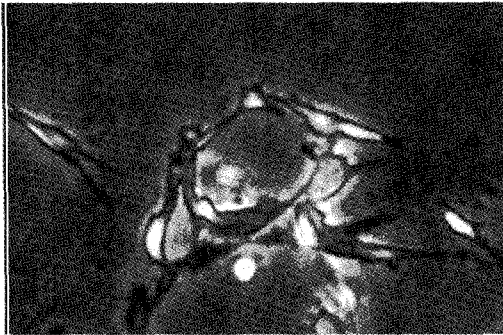
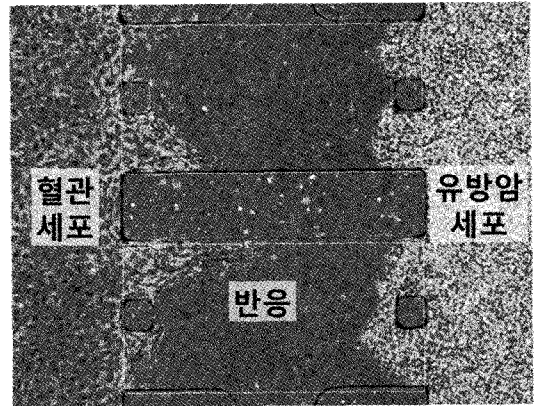


그림 4 이차원과 삼차원에서의 유방암 세포 형태의 차이

동하고 침입하는 과정을 관찰할 수 있다. 이렇게 암전이의 전체적인 과정을 미세유체시스템 내에서 구현하는 연구가 활발히 진행 중이며, 이러한 플랫폼은 암치료의 근간이 되는 항혈관신생제(anti angiogenesis drug)를 평가하거나, 암전이 관련 신약 개발에 획기적인 전기를 제공할 것으로 판단된다.

현재 미세유체시스템은 기존 플랫폼에서는 구현하지 못했던 암전이의 삼차원 현상을 구현하거나, 암세포 부근의 미세환경을 정밀하게 조절하며, 암세포, 혹은 조직에 암전이에 관련된 다양한 물리적, 화학적 기전들을 가한 후, 실시간 관찰과 정량화된 빠른 분석을 수행하고 있다. 이로써 기존에 관찰하지 못했던 새로운 현상을 관찰할 수도 있으며, *in vitro* 실험을 보다 *in vivo*에 가깝게 구현할 수도 있고, 신약개발이나 약물 평가 등에 보다 활용이 용이하고 정확한 틀을 연구자들에게 제공할 수 있기 때문에, 향후, 다른 분야에 폭넓게 그 응용 분야를 확장할 수 있을 것이다.

미세유체시스템에서의 혈관신생 angiogenesis 삼차원 모델



미세유체시스템에서의 혈관내 침입 intravasation 삼차원 모델



미세유체시스템을 이용한 암전이 연구. 위는 혈관신생, 아래는 혈관내 침입 현상을 보여주고 있음.