

# 당뇨병 연구를 위한 3D 바이오프린팅 기술 기반의 줄기세포 유래 맞춤형 췌도-혈관 플랫폼의 개발



장진아

포항공과대학교  
기계공학과 교수

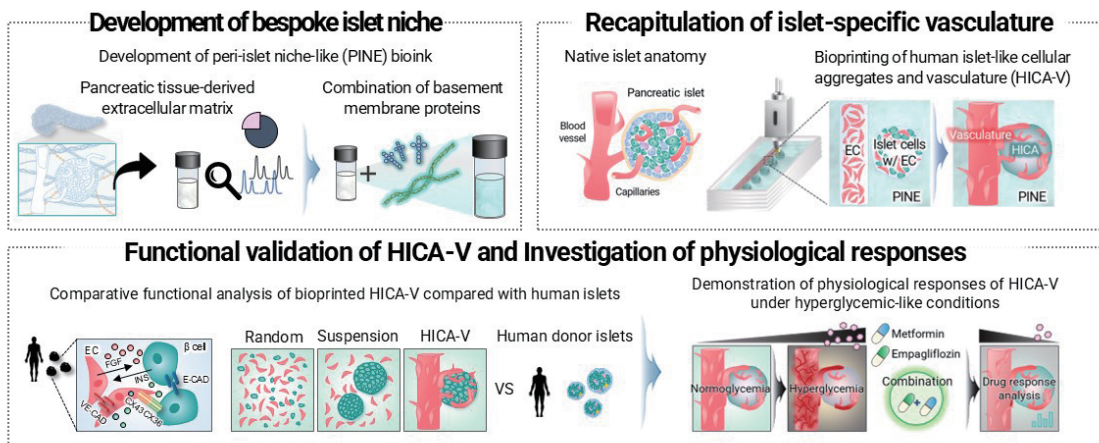


김명지

포항공과대학교  
바이오테크놀로지  
연구센터 박사



## Graphical Abstract



## 연구 배경

췌도세포는 혈당조절의 핵심 기관으로, 세포외기질(extracellular matrix, ECM)과 혈관이 세포 간 신호 전달과 인슐린분비를 정밀하게 조절한다. 그러나 체외에서 유도된 췌도세포 유래 췌도세포는 이러한 3차원 ECM 환경과 혈관주위 니치(perivascular niche)가 결여되어 있어 포도당 자극에 대한 반응성과 인슐린 분비 능력이 미성숙하다. 미성숙성은 췌도세포 유래 췌도세포를 실제 당뇨병 치료에 적용하는 데 있어 가장 큰 한계로 작용된다. 당뇨병은 인슐린 분비 또는 작용의 결함으로 발생하는 대표적 대사질환으로, 환자에게 안정적으로 기능하는 인슐린 분비 세포의 확보가 절실하다. 따라서 체외에서 췌도세포를 성숙화하고, 동시에 당뇨병과 유사한 병태생리적 환경을 재현할 수 있는 플랫폼 개발이 필요하였다.

이를 해결하기 위하여 췌장조직 유래의 탈세포화된 ECM을 활용하거나 혈관세포와 공동 배양하는 접근이 시도되었다. 그러나 각각 췌도 특이적 기저막 단백질의 손실과 췌도세포 특이적 3차원 혈관 구조 재현 부족이라는 한계를 가지고 있다. 이로 인해 당뇨병 발병 기전 규명이나 새로운 치료제 평가에서 활용하기 어려운 부분이 있었다. 따라서 ECM과 혈관 구조를 동시에 고려한 맞춤형 췌도 니치(bespoke islet-specific niche)의 필요성이 제기되었다.

본 연구에서는 췌장조직 유래 ECM과 기저막 단백질을 최적 비율로 조합한 PINE(peri-islet niche-like) 바이오잉크를 개발하였다. 또한 바이오프린팅 기술을 활용하여 췌도와 혈관을 실제 췌장조직과 유사하게 정밀하게 배열한 HICA-V(human islet-like cellular aggregate-vasculature)를 제작하였다. 이를 통해 췌

도세포 유래 췌도의 성숙과 기능적 회복을 유도함과 동시에, 당뇨병 환경을 체외에서 재현하고 신약 평가에도 활용할 수 있는 가능성을 제시하고자 하였다.

## 연구 방법

본 연구에서는 먼저 췌장조직 유래의 탈세포화 ECM을 분석하여 단백질 구성을 확인하였다. 그 결과 췌도 기능과 연관성이 높은 기저막 단백질이 일반적인 탈세포화 과정에서 소실되는 한계를 확인하였다. 이를 보완하기 위하여 기저막 단백질(라미닌, 콜라겐 IV 등)을 최적의 농도로 보강한 PINE(peri-islet niche-like) 바이오잉크를 개발하였다.

다음으로 3D 바이오프린팅 기술을 활용하여 췌도세포와 혈관세포를 동시에 패터닝하였다. 이 과정을 통해 췌도와 혈관이 실제 췌장조직에서와 유사한 형태로 정렬되도록 설계하였다. 이렇게 제작된 구조물을 HICA-V(human islet-like cellular aggregate-vasculature)라 명명하였다.

HICA-V의 기능은 다양한 실험을 통해 평가하였다. 인슐린 및 관련 유전자 발현 분석, 포도당 자극 인슐린분비능(glucose-stimulated insulin secretion, GSIS) 시험, 세포 간 연결 단백질 발현 분석을 실시하였다. 또한 고혈당 환경을 모사하여 항당뇨병약물(엠파글리플로진, 메트포민) 처리에 따른 반응을 확인하였다.

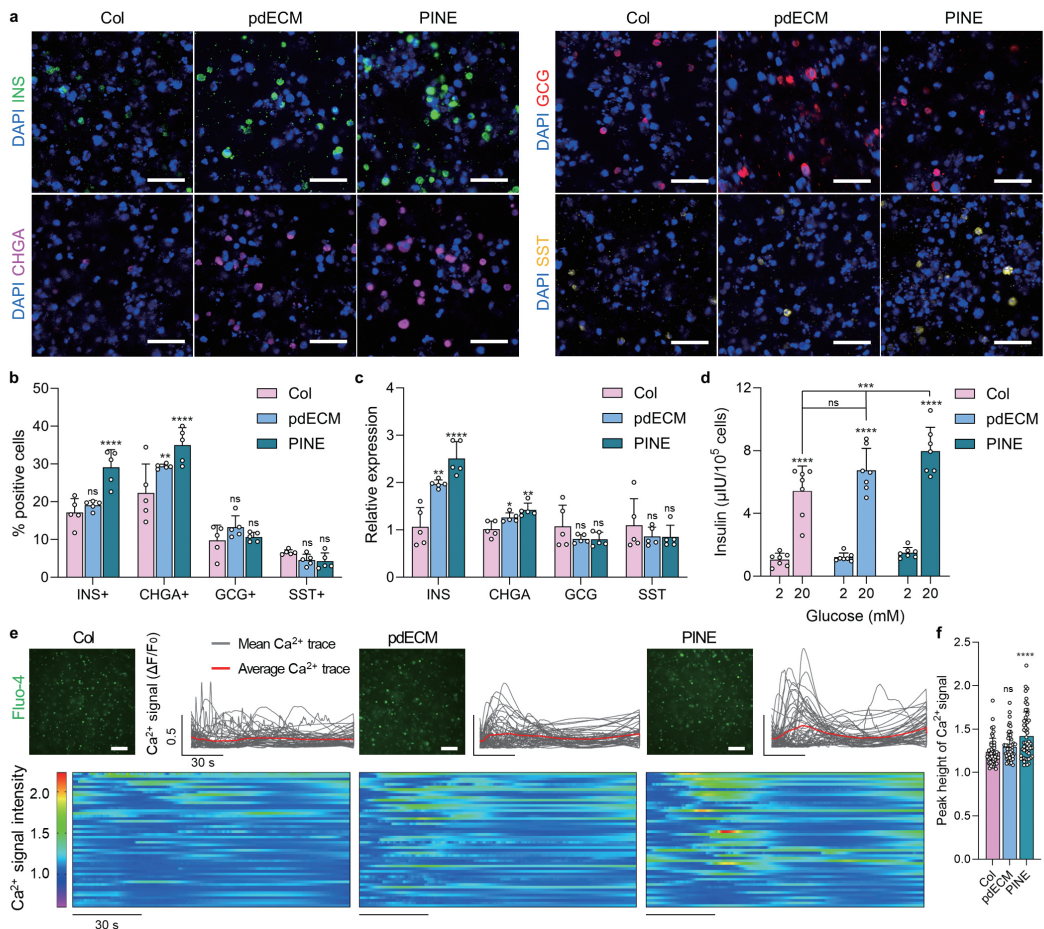
## 연구 결과

PINE 바이오잉크의 효과를 먼저 확인하였다. 췌장 유래 ECM에 기저막 단백질을 보강한 PINE은 단순

콜라젠 기반 바이오잉크와 비교하여 줄기세포 유래 췌도세포의 인슐린 유전자 발현을 2배 이상 증가시켰다. 포도당 자극 인슐린분비능(GSIS) 분석에서도 PINE 환경에서 배양된 췌도세포가 뚜렷하게 향상된 반응성을 보였다(그림 1). 이러한 결과는 기저막 단백질이 췌

도세포의 생존과 기능적 성숙에 중요한 역할을 하고 있음을 보여주었다. 또한, 3D 바이오프린팅 기술을 통해 제작된 HICA-V에서는 췌도세포와 혈관세포가 실제 췌장조직과 유사하게 정렬되었다. 혈관세포는 내강(lumen)을 형성하며 안정적으로 구조를 유지하였고,

〈그림 1〉 a Immunostaining of encapsulated cells for INS, CHGA, GCG, and SST (scale bar, 50  $\mu$ m). b Quantification of hormone+ cells across bioinks (n = 5, mean  $\pm$  SD). c Relative hormone gene expression levels (n = 5, mean  $\pm$  SD). d Glucose-stimulated insulin secretion (GSIS) of encapsulated cells (n = 7, mean  $\pm$  SD). e  $Ca^{2+}$  imaging of encapsulated cells under high glucose with exendin-4 (scale bar, 100  $\mu$ m). f Quantification of  $Ca^{2+}$  signal peak height (n = 50 cells, mean  $\pm$  SD).

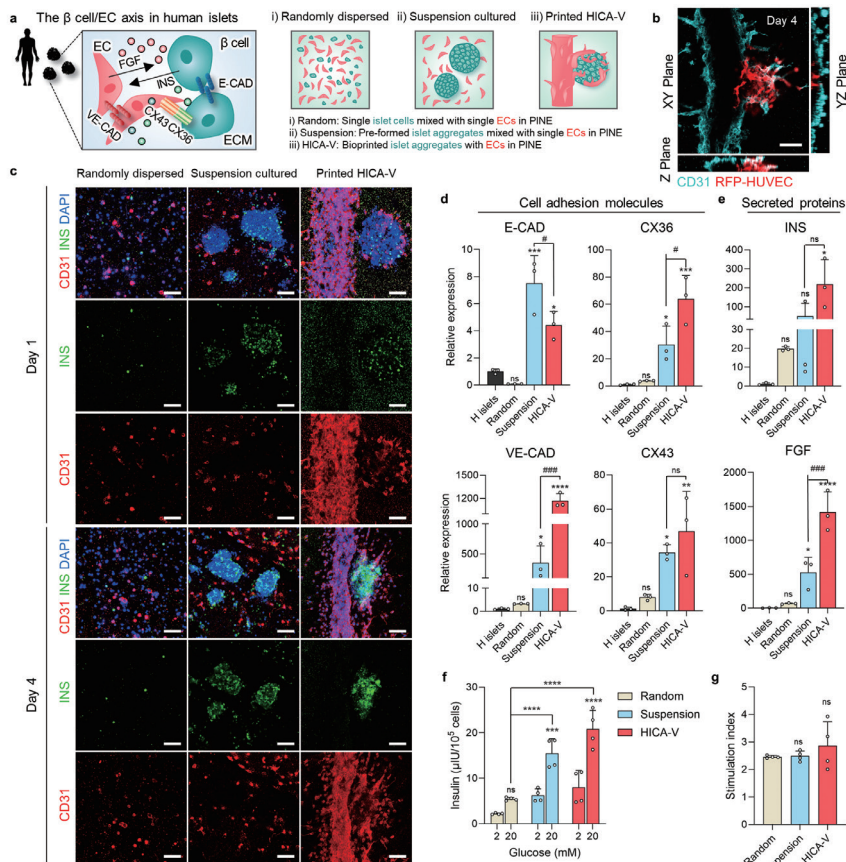


췌도세포 주변에 3차원적으로 자리잡아 ECM과 혈관 요소가 동시에 반영된 미세환경을 구현하였다. 이는 기존 2차원 공동 세포 배양 시스템이 재현하지 못했던 췌도-혈관 구조를 충실히 모사한 결과였다.

기능적 분석에서는 실제 췌도-혈관 구조가 모사된 HICA-V가 무작위로 분산된 췌도세포나 단순 췌도세

포 집합체보다 월등한 성능을 보였다. 인슐린 유전자와 단백질 발현이 크게 증가하였으며, 세포-세포 및 세포-혈관 접합에 중요한 CX36, CX43과 E-CAD, VE-CAD 발현도 높게 나타났다. 이는 췌도세포와 혈관세포가 밀접하게 상호작용하고 있음을 의미하였다. 대사 기능 평가에서도 HICA-V는 고포도당 조건에서 모두 안정적인 인슐린분비능을 나타냈다(그림 2).

**〈그림 2〉** a Schematic of  $\beta$  cell-EC interactions and experimental groups. b Immunostaining for CD31 in HICA-V at day 4 (scale bar, 100  $\mu$ m). c Immunostaining for INS and CD31 at day 1 and 4 (scale bars, 100  $\mu$ m). d, e qPCR analysis of junctional and hormone genes in H islets, Random, Suspension, and HICA-V (n = 3). f GSIS comparison among groups (n = 4, mean  $\pm$  SD). g Stimulation index of each group (n = 4, mean  $\pm$  SD).

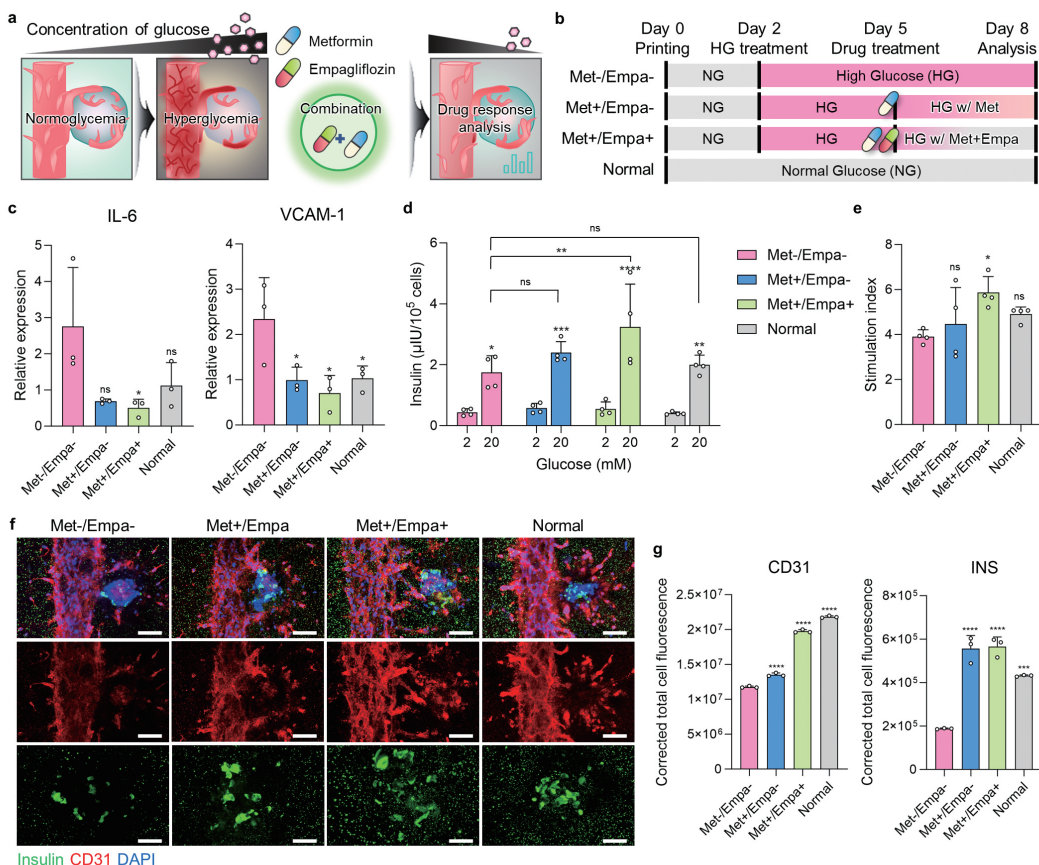


이러한 결과는 HICA-V가 당대사 기능을 체외에서 충실히 수행할 수 있는 모델임을 보여주었다.

고혈당 환경에서의 반응을 살펴본 결과, HICA-V에서는 염증성 유전자(IL-6, VCAM-1 등)의 발현이 증가하며 췌도세포의 기능 저하가 관찰되었다.

그러나 항당뇨약물인 엠파글리플로진과 메트포민을 병용 처리하였을 때 염증반응이 완화되고 인슐린 분비가 회복되는 결과가 나타났다(그림 3). 이를 통해 HICA-V는 당뇨병의 병태생리를 체외에서 재현하는 동시에, 항당뇨병약물의 효과를 평가할 수 있는 플랫폼으로서의 가능성을 입증하였다.

〈그림 3〉 a Schematic of hyperglycemic condition and drug treatments in HICA-V. b Timeline for high glucose and drug treatments. c qPCR of IL-6 and VCAM-1 in each treatment group (n = 3). d GSIS test results across conditions (n = 4, mean  $\pm$  SD). e Stimulation index comparison (n = 4, mean  $\pm$  SD). f Immunostaining for CD31 and INS at day 8 (scale bars, 100  $\mu$ m). g Quantification of CD31 and INS fluorescence intensity (n = 3).





## 해석 및 결론

이번 연구를 통해 ECM과 혈관을 동시에 고려한 맞춤형 체도 니치를 구축하면 줄기세포 유래 체도세포의 기능적 성숙을 크게 향상시킬 수 있음을 확인하였다. 특히 HICA-V는 체외에서 고혈당 환경과 약물 반응까지 재현할 수 있어, 당뇨병 병태생리 연구와 신약 평가를 위한 플랫폼으로 활용 가능성이 높음을 보여주었다.

또한 이 플랫폼은 단순히 실험 모델에 그치지 않고, 향후 환자 맞춤형 줄기세포를 활용한 이식 가능한 대체 치료제 개발로 이어질 수 있는 잠재력을 지

니고 있다. 이는 당뇨병환자의 인슐린주사 의존성을 근본적으로 줄일 수 있는 전략이 될 수 있다. 따라서 본 연구는 줄기세포 기반 당뇨병치료제 개발의 병목으로 지적되어 온 미성숙 문제를 해결하는 동시에, 새로운 체외 당뇨병 연구 및 치료제 검증 플랫폼을 제시하였다는 점에서 의미가 크다.○

### nature communications

본고는 <Nature Communications>지 제16권 제1430번에 게재된 Bioprinting of bespoke islet-specific niches to promote maturation of stem cell-derived islets를 간추려 정리한 내용입니다.