

미세전류 제어를 통한 세포재생 촉진

박진호, 이근영, 여운기, 이은, 정미영, 방유림, 이정수, 김영식
Cellumed

Promotion of cell regeneration through micro current control

Jin-Ho Park*, Keun-Young Lee**, Woon-Gi Yeo**, Eun Lee**, Mi-Yeong Jeong**, You-Lim Bang**,
Jung-Soo Lee**, Young-Sik Kim**
Cellumed

Abstract - 피부 만성창상(족부궤양, 화상)은 우리 주변에서 흔히 볼 수 있는 질병중 하나가 되었다. 이를 치료하기 위해 다양한 창상피복제 및 성장인자들이 개발되고 있다. 하지만 아직은 치료 기간이나 효과가 기대에 미치지 못함으로, 이 부분을 보완하기 위해 미세전류를 통한 세포 재생 및 성장인자의 효과 증진의 가능성을 검증해 보고자 한다.

1. 서 론

의학과 과학의 발달로 인하여 인간의 삶은 윤택해지고 수명은 연장되었다. 하지만 특수질환의 증가나 안전사고 등으로 조직 및 장기 의 기능 상실 혹은 손상이 증가되었다. 그중에서 피부 결손은 인간에게 발생하는 가장 흔한 질병 중의 하나이다. 피부 결손 질환의 치료법으로, 원인 과 질환에 따라 보존적인 상처 치유로부터 피부 이식 혹은 절단 등 다양한 치료법이 적용되고 있다. 하지만 피부 만성창상의 경우 치료에 많은 비용과 시간이 소모된다. 이는 환자에게 부담으로 다가 올 수 있는 부분이며, 이를 줄이기 위해 치료효율을 증진 시킬 수 있는 다양한 방법이 검토 되고 있다. 그중 한 방법인 미세전류 제어를 활용하여 세포 재생을 촉진 시키고, 이를 통하여 피부 만성창상 치료의 효율 증진 가능성을 검증해 보고자 한다.

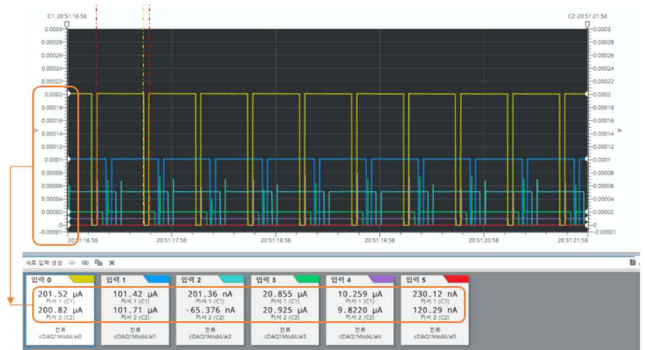
2. 본 론

2.1 미세전류(uA) 구현 및 시험환경 구축

기존의 미세전류(uA) 통한 피부 및 세포 재생 관련 실험 및 논문들이 100 ~ 800 uA에서 주로 진행되어 왔다. 또한 전류에 노출되는 시간 또한 비교적 짧고 자주 충격을 주는 방식으로 진행되고 이를 통하여 미세전류에 치료의 효율성을 검증하였다. 하지만 본 원고 에서는 더 낮은 전류 1 ~ 100 uA 대역의 미세전류에 대해서 검증하고자 하며, 전류 파형도 direct current, pulsed current 두 가지를 검증하는 것을 목표로 회로를 구현 하였다. 그리고 경 전압 방식이 아닌 경 전류 방식으로 구현하여, 부하가 변동하여도 출력 전류는 일정하게 유지한다. 전류 제어는 1uA , 100us 단위로 제어함으로 다양한 조건의 출력 전류에 대해 실험을 진행하였다.



<그림 1> Direct current (1~500uA)



<그림 2> Square wave current (1~200uA)

<그림 1> Direct current 는 구현 회로의 출력전류를 측정 한 사진으로, 오실로스코프 전류 프로브로는 측정에 어려움이 있어 LabVIEW DAQ 에 저 전류 측정모듈을 활용하여 측정 한 사진이다. <그림 2> Square wave current 는 동일한 회로로 구현과를 측정 한 사진으로 출력전압, Duty, 주파수, 동작시간 및 휴식 시간 등을 설정 출력 여부를 검증 한 사진이다.

2.2.1 미세전류를 통한 세포재생 실험

미세전류 1 ~ 100 uA가 세포재생에 미치는 영향을 확인하기 위해서 다양한 조건으로 실험을 진행하였다. 공통으로 적용될 기본적인 세포 실험 환경을 설정 후 전류의 실험조건 만 변경하여 실험을 반복하였다. 공통으로 적용될 실험조건은 세포 및 세포 재생 관련 환경 조건이다. 변경 조건은 출력 전류 및 전류 자극 시간 혹은 기간에 관련된 조건이다. 내용은 아래 <표 1>과 같다.

<표 1> 실험 시 공통 및 변경 조건

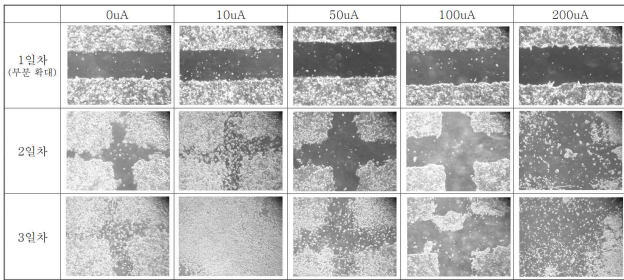
	분류	상세 조건
공통 조건	Materials	HaCa T cell , FBS, DMEM medium, DPBS, T-75 flask, 1ml steril tip
	Terms of experiment	Cell seeding cons : 1×10^6 Parameters of incubator : 5% CO ₂ , 37°C
변경 조건	Electrical options	output current, pulsed. Duty, frequency, Operating time, Operation period

<표 1>과 같은 조건으로 direct current 와 pulsed current (Square wave current) 의 세포 재생 성능비교는 pulsed current가 더 좋게 나왔다. 오히려 direct current의 경우 세포 재생의 성능향상 효과가 미비하였다. pulsed current를 기준으로

output current, Duty, frequency, Operating time, Operation period 의 조건들을 각 cell 마다 변경 실험을 진행 하였으며, 그중 세포재생 결과가 좋은 조건은 다시 5회 반복하여 효과를 검증하였다.

<표 2> 세포재생 성능 결과 및 실험조건

실험조건
Materials - HaCa T cell, DMEM medium, Trypsin, FBS, DPBS, T-75 flask, 1ml sterile tip
Terms of experiment - cell seeding cons : 1 X 10 ⁶ , Parameters of incubator : 5% CO ₂ at 37 °C
Electrical stimulation options - Control(0 uA),10,50,100,200 uA pulsed current
Duty cycle : 90 %, frequency : 2 Hz, 3 hours per day stimulation



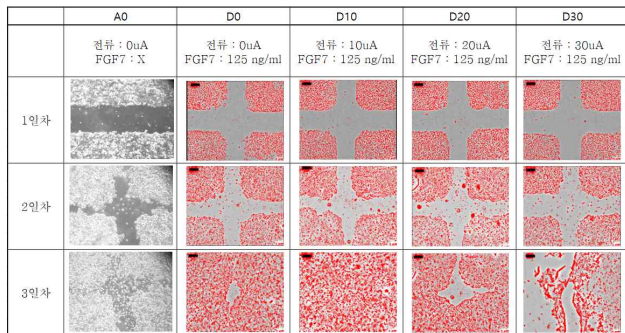
<표 2>의 0uA는 어떠한 전류 자극도 없는 비교군으로써 이 결과 보다 좋은 결과의 전류 자극 조건을 찾는 것을 목표로 실험을 진행하였다. <표 2>에서 확인할 수 있듯 필요 이상의 전류에서는 오히려 세포재생을 억제하는 것을 확인 할 수 있었다. 또한 특정 전류 조건 즉 10uA, Duty 90%, 2Hz, 하루에 동작시간 3시간 에서는 비교군보다 빠르게 세포가 재생되어가는 것을 확인 할 수 있었다. 이 결과를 참고하여 성장인자와 함께 사용 시 세포재생의 성능 실험을 진행 하였다.

2.2.2 성장인자 와 미세전류를 통한 세포 재생 실험

성장인자는 피부 만성창상에 보편적으로 사용되는 치료법이다. 그렇기 때문에 미세전류의 자극이 성장인자의 세포재생에 효과를 증대시킬 수 있다면, 그것만으로도 미세전류 자극의 효용성을 검증해볼 가치가 있다. <표 3>은 성장인자(FGF7)와 미세전류의 효용성을 실험해 결과를 정리한 표이다. <표 2>의 외부적 요소가 없는 세포재생 데이터 값을 기준으로 다양한 조건의 외부적 요소를 추가 변경하여, 세포 재생 결과를 비교하였다. 실험의 환경조건과 미세전류의 실험조건은 이전 <표 2>의 조건과 동일하다.

<표 3> 성장인자 와 미세전류의 효용성 실험

실험조건
Materials - HaCa T cell, DMEM medium +FBS 1%
Terms of experiment - cell seeding cons : 1 X 10 ⁶ , Parameters of incubator : 5% CO ₂ at 37 °C
FGF7 treatment concentration : speedbio-system (각 125 ng/ml)
Electrical stimulation options - 0, 10, 20, 30 uA pulsed current
Duty cycle : 90 %, frequency : 2 Hz, 3 hours per day stimulation



<표 3> A0실험은 비교군인 외부적 요소가 없는 세포 재생의 실험 결과이다. D0은 성장인자(FGF7)를 세포재생 실험에 사용했을 때 실험 결과이다. 같은 조건의 3일후 재생된 세포의 분포나 밀도가 확연히 다른 것을 확인할 수 있다. <표 2>를 보면 가장 좋은 실험 결과를 보여준 10uA 기준의 square wave current를 입력 후 125 ng/ml의 성장인자(FGF7)를 처리한 실험군에서 세포 재생 결과가 가장 좋았으며, 그 결과는 <표 3>의 D10 실험에서 확인할 수 있다. 다만 일정 이상의 전류입력은 오히려 세포 재생을 억제하는 것 또한 확인할 수 있었다.

3. 결 론

피부 만성창상(족부궤양, 화상)은 우리 주변에서 흔히 볼 수 있는 질병중 하나가 되었다. 만성창상을 치료하기 위해 다양한 창상 치료제 및 인공피복재들이 개발되고 있다. 하지만 치료 기간이나 효과가 환자들의 기대에 미치지 못하는 부분이 존재한다. 치료기간 및 치료효과를 보완하기 위해 기존의 치료 방식이 아닌 다른 방식의 치료를 검토해 보았으며, 그 중 미세전류를 통한 세포재생의 효과증진의 가능성을 검증해 보았다. 이전의 미세전류를 활용한 세포재생 혹은 만성창상관련 실험 및 논문들은 주로 100 ~ 800 uA를 기준으로 이루어 졌다. 그리고 그보다 낮은 전류에서 세포재생의 효율을 높일 수 있다면, 이전의 방식보다 더 높은 안전성을 확보할 수 있다고 판단하였다. 100uA 이하의 전류에서 세포재생 효율을 높이기 위해 다양한 조건들을 변경하며 실험하였으며, <표 2>에서 보여 지듯이 특정 조건에서 세포재생의 효율이 증가한 것을 확인하였다. 또한 특정 조건 이상의 전류 충격은 세포재생을 억제하는 것을 확인 하였다. <표 2>의 실험을 토대로 만성창상 치료에 사용되는 성장인자와의 효용성을 검증해 보았다. <표 3>의 D0실험 결과에서 보여 지듯이 성장인자를 추가하면 외부적 요소가 없는 A0보다 재생된 세포의수가 확연히 다른 것을 확인할 수 있다. 그리고 같은 조건에서 10uA의 미세전류 추가 시 더 많은 세포가 재생된 것을 확인할 수 있었다. 이 실험 결과는 세포재생이라는 한 부분이 아닌 만성창상치료에도 충분히 적용될 수 있는 부분이라고 생각된다.

감사의 글

본 연구는 2021년도 산업통상자원부 및 산업기술평가원관리원(KEIT)의 연구비지원에 의하여 이루어진 연구(과제번호 : 20003560)로서, 관계부처에 감사드립니다.

[참 고 문 헌]

[1] KC Balakatounis, "Low-intensity Electrical Stimulation in Wound Healing", Eplasty.e28, 8 , 2008
 [2] 신현호 박석호, "피부 창상 치료를 위한 조직공학적 접근" KIC News, Volume 18, No. 6, 2015
 [3] Mohammed Ashrafi , "The efficacy of electrical stimulation in lower extremity cutaneous wound healing", experimental dermatology , Volume 26, Issue 2 , 25 , 2017
 [4] 오혜진. 김정우. 박정성 "미세전류전기자극이 흰쥐의 창상치유에 미치는 영향" Journal of the Korean Academy of Clinical Electrophysiology, Vol.6 , No. 1, 2008
 [5] Bayat M. Asgari-Moghadam Z. Maroufi M. Rezaie FS. Baya M. Rakhshan M. "Experimental cutaneous wound healing in rabbits" J Rehabil Res Dev, 43(2) 219-226, 2006.
 [6] Carley Py. Wainapel SF. "Electrotherapy for acceleration of wound healing" Arch Phys Med Rehabil, 66(7),443-46,1985