

MARS and Bioartificial Liver

성균관대학교 의과대학 삼성서울병원 외과학교실

권 준 혁

서 론

급성 간부전으로 간기능이 상실되어 단백질, 효소, 비타민 합성되지 못하고 독성 물질의 중화 작용이 되지 않아 신체 내에 독성물질이 축적되고 고빌리루빈혈증, 간성혼수, 신부전, 응고장애 등 합병증이 발생하여 대부분 1~2주 내에 사망하는 질환이다. 간이식은 급성간부전의 유일한 치료 방법으로 기술적인 발전에 힘입어 좋은 성적을 얻을 수 있으나, 적절한 시기에 장기를 구할 수 없을 경우가 많아 아직 많은 환자는 급성 간부전으로 사망한다. 또한 빠른 임상 진행과 높은 합병증 발병률로 인해 이식 후 이환율이 일반 만성 간부전 환자에 비해 높은 편이다. 이런 문제를 해결하기 위해 수 십년 동안 많은 연구자들은 간기능을 일시적으로 보조하는 시스템으로 인공간을 개발하려 노력하였다. 인공간은 크게 투석기 같이 독성물질을 여과시키는 시스템인 인공간(artificial liver)과 생물학적 간세포가 내포되어 간의 기능을 대체하는 생인공간(bioartificial liver)으로 나눌 수 있다. 본고에서는 현재까지 임상적으로 가장 많이 시행되어 온 MARS (Molecular Adsorbent Recirculating System)과 가장 완성도가 높은 생인공간 5 시스템과 본원에서 동국대학교, 라이프리버(주) 의학연구소와 공동으로 개발한 인공간 시스템에 대해 기술하도록 하겠다.

MARS

MARS (Molecular Adsorbent Recirculating System)은 스웨덴의 Gambro사에서 개발한 인공간으로 두 개의 폐쇄된 회로로 연결되어 있는 구조로 먼저 환자의 혈액이 albumin-coated polysulfone hemodialyzer로 관류되면 독성물질과 독성물질이 결합되어 있는 albumin이 투석액으로 여과되고 이 투석액은 다시 중탄산염완충액(bicarbonate buffer)으로 되어 있는 회로로 관류시켜 투석하도록 되어 있다(Fig. 1). MARS는 혈청 내에 용해되어 있는 수용성 독성뿐만 아

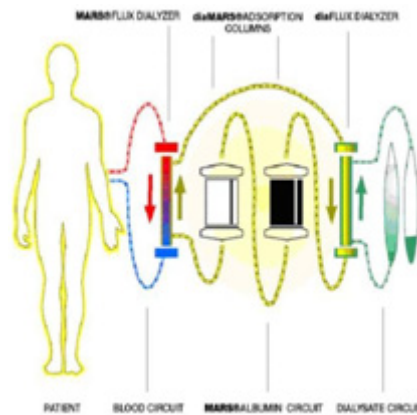


Fig. 1. Schematic illustration of Molecular Absorbent and Recirculating System (MARS).

니라 albumin에 결합되어 있는 지용성 독성물질도 농도경사를 이용해 제거할 수 있는 특성을 갖고 있어 보다 효과적으로 독소를 제거할 수 있다. 인공간 중에서 임상시험을 가장 많이 진행한 시스템으로 간성 혼수, 혈청 빌리루빈, 혈중 암모니아, 혈청 크레아티닌 및 혈압이 개선된다고 보고하였다. 비록 급성 간부전 환자 중 간신증후군(hepatorenal syndrome)을 동반하고 있는 환자군에 국한해지지만 인공간 중에서 유일하게 생존율의 향상을 보인 시스템이다(1). MARS는 기존 보존요법으로 효과가 없었던 acute-on-chronic환자 또는 예후가 좋지 않을 것으로 예상되는 급성간부전 환자에게 초기에 사용하는 것을 권고하고 있으며 혈소판이 50,000/mL이하이거나 prothrombin time (INR)이 2.3 이상인 경우와 신기능 감소로 곧 혈액투석이 예상되는 환자에서는 효과 적을 것으로 보고 있다(2).

생인공간의 종류와 특성

위에서 언급한 것과 같이 인공간은 간의 기능 중 독소 중화작용을 대체하는 시스템으로 간의 합성기능은 보조하지 않기 때문에 생화학적 검사나 일부 증상은 호전시킬 수는 있으나 생존율을 증가시키는 데는 한계를 보였다. 이런 문제점의 보완책으로 인공간 시스템에 간세포를 포함시켜 간의 기능을 보다 온전히 대체시키는 장치가 생인공간이다. 현재까지 30종류가 넘는 생인공간의 종류가 보고되고 있으나 임상시험을 시행한 생인공간의 종류는 11가지 밖에 되지 않으며 이 중 아직 2종류만 무작위대조시험을 시행하였다.

생인공간의 성능은 생화학적 기능을 담당하는 생물반응기(bioreactor)에 의해 좌우되는데, 반응기 내의 간세포의 생활력(viability), 간세포의 수와 반응기의 구조에 의해 결정된다. 간의 기

능을 대체하기 위해 필요한 간세포수는 보통 간의 10~30%에 해당하는 150~450 g의 간세포 (1,010개)가 필요하며, 숙주의 면역반응으로부터 간세포 파괴를 방지하고 간세포와 혈장 또는 혈액 간의 물질이동이 잘 되도록 하기 위해 면역글로불린보다 작고 알부민보다 큰 100~150 kD 사이 크기의 극공을 가진 반투과막을 사용한다(3). 또한 대부분의 생인공간은 과도한 독성 물질의 노출로 인한 간세포괴사를 방지하기 위해 보조적으로 활성탄 및 이온교환레진을 구비하고 있다. 각 생인공간의 특징과 임상결과를 Table 1과 Table 2에 기술하였다.

1. ELAD (Extracorporeal liver assist device)

ELAD는 간모세포암주인 HepG2세포에서 유래한 C3A 세포주를 이용한 생인공간으로 C3A 세포주는 타 세포주에 비해 높은 알부민 생산 능력을 가진 특성을 이용한 것이다. ELAD는 암 세포주를 이용하는 시스템으로 환자에게 암세포가 주입될 수 있는 단점을 갖고 있으나 이종세포가 아닌 인체세포를 사용하므로 수인성 감염이나 이종세포 간의 면역반응 문제가 없는 장점이 있다. C3A세포들을 중공사(hollow fiber) 모듈의 세관외 공간에 위치시키고 환자의 혈액을 중공사막의 내강으로 흐르게 하여 70 kD 막을 통하여 여과된 환자의 혈장이 세포와 직접 접하

Table 1. Characteristics of Bioartificial Liver Devices

Device	Bioreactor type	Hepatocyte source	Cell amount	Membrane cut-off	Perfusion (plasma separation rate, ml/min)	Bioreactor flow rate (ml/min)
ELAD (Vitagen/Hepatitis)	Hollow fiber	Human, tumor cell line (C3A)	60/400 g	70/120 kD	Blood (NA)/plasma	200/2,000
HepatAssist/HepatAssist2	Hollow fiber	Cryopreserved porcine	5~7×10 ⁹ / 15×10 ⁹	3,000 kD	Plasma (50)	400/800
BLSS	Hollow fiber	Freshly isolated porcine	70~120 g	100 kD	Blood (NA)	100~250
MELS	Hollow fiber	Freshly isolated porcine/human	~600 g	400 kD	Plasma (31)	100~200
AMC-BAL	Porous matrix	Freshly isolated porcine, immortalized human fetal	10×10 ⁹	Direct contact	Plasma (40~50)	150
LifeLiver	Encapsulation	Freshly isolated porcine	20×10 ⁹	600 kD	Plasma (40)	300

BAL, bioartificial liver; ELAD, Extracorporeal Liver Assist Device; BLSS, Bioartificial Liver Support System; MELS, Modular Extracorporeal Liver Support; AMC-BAL, Academic Medical Center-Bioartificial Liver; NA, not available. Adapted from Table 30.1 of reference (12)

Table 2. Results of Clinical Studies of Bioartificial Liver Devices

Device	Liver disease	No. of patients	Clinical phase	Treatment	Outcome	References
ELAD	Acute liver failure	24	I/II; one center RCT	Median 72 hours	↓ Encephalopathy, ↓ NH ₄ , ↓ Bilirubin	Ellis et al.(4)
	Fulminant liver failure	24	I/II; one center	Approx 50 hours	↑ Survival	Millis et al.(13)
HepatAssist/ HepatAssist2	Acute liver failure	171	II/III; multicenter RCT	6 hours daily	↓ Risk of pretransplant death	Demetriou et al.(6)
BLSS	Acute liver failure and acute-on-chronic liver failure	4	I/II; one center	12 hours	↓ NH ₄ , ↓ Bilirubin	Mazariegos et al.(7)
MELS	Acute liver failure	8	I/II; one center	Porcine, Mean 27 hours	↓ Encephalopathy, ↑ coagulation, OLT	Sauer et al.(8)
	Acute liver failure	8	I/II; one center	Human, Mean 79 hours	↓ Encephalopathy, ↑ coagulation, OLT	Sauer et al.(9)
AMC-BAL	Acute liver failure	12	I/II; one center	8~35 hours	↓ Encephalopathy, ↓ NH ₄ , ↓ Bilirubin and improvement of hemodynamic status	V de Kerkhove et al.(10)

BAL, bioartificial liver; ELAD, Extracorporeal Liver Assist Device; BLSS, Bioartificial Liver Support System; MELS, Modular Extracorporeal Liver Support; AMC-BAL, Academic Medical Center-Bioartificial Liver; RCT, randomized controlled trial; No., number; approx, approximately. Adapted from Table 2 of reference (14)

도록 제작되어 있다. 24명의 환자에게 평균 72시간 ELAD를 적용시킨 예비시험에서 간성혼수는 개선되었으나 혈청 암모니아 및 빌리루빈 수치의 감소가 일부 관찰되었다(Table 2)(4). 이후 ELAD의 성능을 개선시켜 중공사막의 극공크기를 70kD에서 120kD로 확대하고 100g의 간세포가 함유된 반응기를 4개 사용함으로써 간세포 수를 증가시켜 30일 생존율을 80%까지 향상시키는 좋은 결과를 얻었으나 실험군이 5명 밖에 되지 않아 추가적인 임상결과를 기다려야겠다(5).

2. HepatAssist

UCLA에서 개발한 시스템으로 냉동 보관한 돼지 간세포를 $5 \sim 7 \times 10^9$ 개 이용한 모델로써 냉동보관의 특성상 간세포의 생활력은 감소하는 단점이 있으나 보관과 이동이 용이한 장점이 있

다. 또한 생인공간 중 극공이 가장 큰(3,000 kD) 중공사막을 사용하고 있어 혈장과 간세포 간의 물질교환이 좋은 장점이 있다. 초기 임상시험에서 혈중 암모니아와 혈청 빌리루빈이 감소하였고, 뇌압 감소로 인한 간성 혼수가 개선되는 좋은 결과를 얻었으나 이후에 171명을 대상으로 시행한 다기관 무작위 시험에서 30일 생존율이 대조군에 비해 차이가 없어서(71% 대 62%, $p=0.28$) FDA 승인을 얻는데 실패하였다. 다만, acetaminophen 과다복용에 의한 급성 간부전의 경우 대조군에 비해 생존율이 높다고 보고하였다(70% 대 33%, $p=0.018$)(6).

3. BLSS (Bioartificial liver support system)

피츠버그대학교에서 개발한 시스템으로 혈장 대신 혈액이 반응기로 유입되는 특징을 갖고 있다. 아직 임상경험이 제한적이나 암모니아와 빌리루빈이 감소하는 것으로 보고하였다(7).

4. MELS (Modular extracorporeal liver support)

베를린의 Charité에서 개발한 생인공간으로 여러 개의 중공사가 병렬로 배열되어 있는 독특한 3차원 구조를 가졌으며 비교적 큰 극공 크기와 간세포를 600 g까지 채울 수 있어 성능 면에서 좋은 시스템이다(Table 1). 돼지의 간세포와 인체 간세포를 모두 사용한 유일한 생인공간이며 1상 시험에서 간성 혼수와 생화학적 검사 개선이 관찰되었다(Table 2)(8,9).

5. AMC-BAL

Amsterdam Medical Center에서 개발한 시스템으로 세포부착을 위한 부직포 형태의 친수성 폴리에스터 기질과 산소공급을 위한 중공사막, 그리고 기질간의 공간으로 구성되어 있다. 생인공간 중 유일하게 환자의 혈장이 직접 세포에 노출되어 있어 물질교환이 잘 이뤄지도록 되어 있으며, 이런 배열 구조에도 불구하고 다른 생인공간과 같이 수인성 감염은 발견되지 않았다. 초기 모델에선 간성 혼수, 암모니아, 빌리루빈 감소 등 비교적 양호한 임상 결과를 발표하였다(10). 하지만 2008년도에 유럽연합에서 이종세포를 이용한 임상시험이 제한됨에 따라 최근 인체 태아 간세포(cBAL111)를 이용한 생인공간을 새로 개발 중에 있다(11).

6. 생인공간의 최근 동향과 국내 현황

생인공간의 초기 임상시험은 porcine endogenous retrovirus (PERV) 등의 수인성 감염에 대한 걱정과 이종세포 이용에 따른 면역학적 이상 반응에 대한 부작용에 대한 우려가 커서 안정성

확인 위주로 임상시험이 진행되어 왔다. 그러나 현재까지 PERV의 인체 감염은 보고되지 않았고 여러 종류의 생인공간에 대한 안전성이 초기 결과에서 확인됨에 따라 최근에는 생인공간의 기능을 향상시키는 방향으로 생인공간 모델이 개발되고 있다. 반응기에 주입되는 간세포는 냉동 보관되지 않은 신선한 돼지 간세포로 대체하거나 간세포 수를 2~4배 증량시키고 치료 기간을 12시간 이상으로 늘리고 있다(12). 또한 이중조직을 이용한 임상시험이 점차 제한됨에 따라 돼지 간세포 대신 인체 간세포를 사용하는 인공간 개발도 시도하고 있다.

국내에서는 서울대학교 이진욱교수팀과 경북대학교 황운진교수팀 및 본원에서 생인공간 개발에 참여하였다. 본 연구진이 개발한 생인공간(LifeLiver)는 2007년 2월에 전임상실험을 완료하여 2009년 10월에 식약청에서 임상시험 허가를 얻었고 임상 1/2a상을 작년 9월부터 진행 중에 있다. 국내에선 최초로 개발에 성공한 생인공간이며 처음으로 이중조직을 이용한 임상시험이 되겠다.

LifeLiver는 생인공간의 성능을 향상시키기 위해 단일 간세포 대신 세포를 9~12시간 배양시켜서 70 μm 크기의 구상체(spheroid)를 만든 후 칼슘 알지네이트에 고정시킴으로써 간세포의 생존력을 향상시키고 물질교환을 극대화시킬 수 있었다. 칼슘 알지네이트로 형성된 막은 숙주의 면역 세포나 면역글로불린이 간세포를 파괴시키는 것을 방지하고 수인성감염을 예방하는 역할을 한다(Fig. 2).

전임상 실험 결과 세포의 활성도가 60시간 넘게 80% 이상 유지되면서 성능의 감소 없이 반응기가 기능하는 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 3A). 허혈성 간부전 모델을 사용한 대동물 실험에서는 생인공간군(BAL)이 대조군 또는 간세포가 없는 반응기를 사용한 blank군에 비해 유의하게 혈중 암모니아, 크레아티닌 및 뇌압을 낮췄고 신기능도 더 오래 동안 유지되어 돼지의 생존기간을 향상시켰다(중앙생존기간: 대조군 23시간, blank군 19시간, BAL군 29시간, $p < 0.05$) (Fig. 3B). 비글견을 이용한 독성시험에서는 IgG 또는 IgM의 농도에 변화가 없어 이상면역반응이 없음을 확인하였고 비글견에서 PERV 감염도 관찰되지 않아 이중조직에 따른 부작용이 없

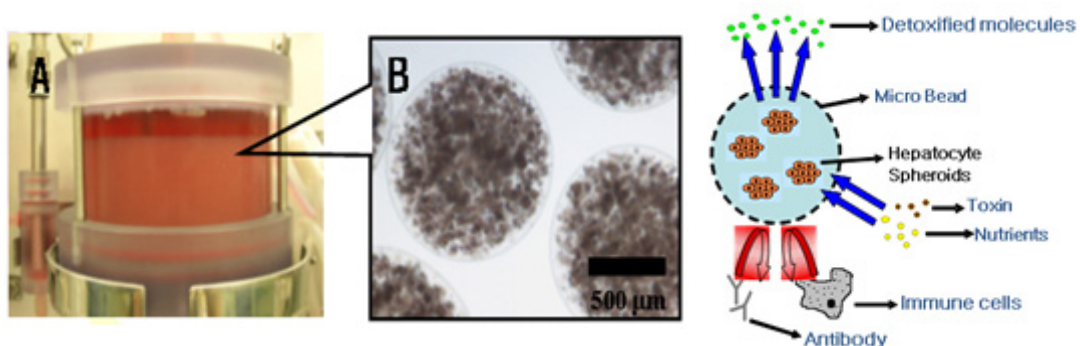


Fig. 2. Structural characteristics of LifeLiver.

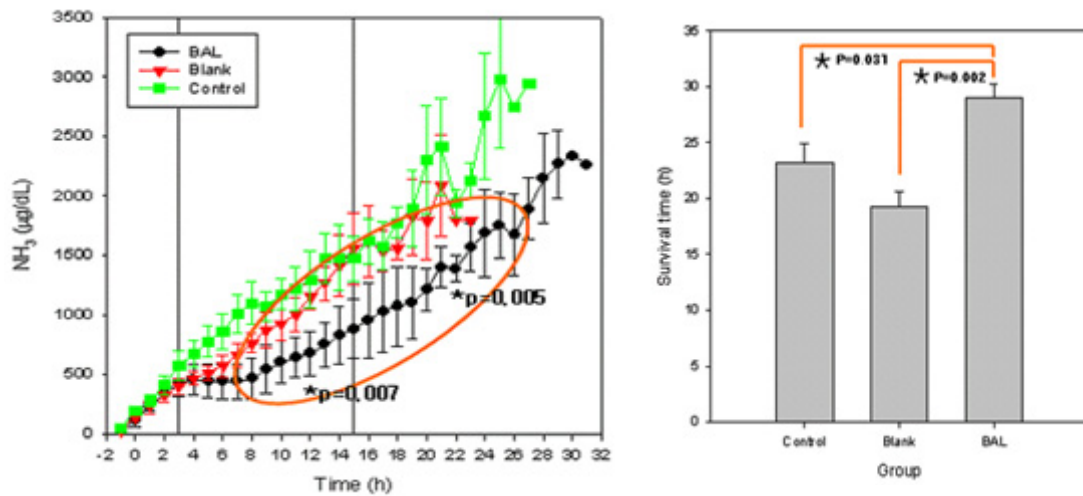


Fig. 3. Results of preclinical trial of LifeLiver.

음을 확인할 수 있었다.

결 론

지금까지 많은 종류의 인공간과 생인공간이 개발되어 왔고 현재도 개발 중에 있다. 향후 임상적으로 효과가 있고 널리 사용할 수 있는 생인공간이 개발되기 위해선 많은 시간과 노력이 필요하겠으나 수년 내에 곧 가능하리라고 조심스럽게 예측해 볼 수 있겠다. 그 동안은 비록 효과가 제한적이어서 임상적 적응증도 제한적이지만, 일부 환자에서는 도움을 얻을 수 있으므로 그전까지는 환자에서 적극적으로 인공간의 치료가 필요하겠다.

참 고 문 헌

1. Mitzner SR, Stange J, Klammt S, Risler T, Erley CM, Bader BD, et al. Improvement of hepatorenal syndrome with extracorporeal albumin dialysis MARS: results of a prospective, randomized, controlled clinical trial. *Liver Transpl* 2000;6:277-86.
2. Mitzner SR, Stange J, Klammt S, Koball S, Hickstein H, Reisinger EC. Albumin dialysis MARS: knowledge from 10 years of clinical investigation. *ASAIO J* 2009;55:498-502.
3. Allen JW, Hassanein T, Bhatia SN. Advances in bioartificial liver devices. *Hepatology* 2001;34:447-55.
4. Ellis AJ, Hughes RD, Wendon JA, Dunne J, Langley PG, Kelly JH, et al. Pilot-controlled trial of the extracorporeal liver assist device in acute liver failure. *Hepatology* 1996;24:1446-51.
5. Millis JM, Cronin DC, Johnson R, Conjeevaram H, Conlin C, Trevino S, et al. Initial experience with the modified extracorporeal liver-assist device for patients with fulminant hepatic failure: system modifications and clinical impact. *Transplantation* 2002;74:1735-46.

6. Demetriou AA, Brown RS, Jr., Busuttil RW, Fair J, McGuire BM, Rosenthal P, et al. Prospective, randomized, multicenter, controlled trial of a bioartificial liver in treating acute liver failure. *Ann Surg* 2004;239:660-7; discussion 7-70.
7. Mazariegos GV, Kramer DJ, Lopez RC, Shakil AO, Rosenbloom AJ, DeVera M, et al. Safety observations in phase I clinical evaluation of the Excorp Medical Bioartificial Liver Support System after the first four patients. *ASAIO J* 2001;47:471-5.
8. Sauer IM, Kardassis D, Zeillinger K, Pascher A, Gruenwald A, Pless G, et al. Clinical extracorporeal hybrid liver support--phase I study with primary porcine liver cells. *Xenotransplantation* 2003;10:460-9.
9. Sauer IM, Zeilinger K, Pless G, Kardassis D, Theruvath T, Pascher A, et al. Extracorporeal liver support based on primary human liver cells and albumin dialysis--treatment of a patient with primary graft non-function. *J Hepatol* 2003;39:649-53.
10. van de Kerkhove MP, Hoekstra R, Chamuleau RA, van Gulik TM. Clinical application of bioartificial liver support systems. *Ann Surg* 2004;240:216-30.
11. Poyck PP, van Wijk AC, van der Hoeven TV, de Waart DR, Chamuleau RA, van Gulik TM, et al. Evaluation of a new immortalized human fetal liver cell line (cBAL111) for application in bioartificial liver. *J Hepatol* 2008;48:266-75.
12. Park JK LS, Lee DH, Kim YJ. Bioartificial Liver. In: Ulrich Meyer JH, Thomas Meyer, Jorg Handschel, Hans Peter Wiesmann, editor. *Fundamentals of tissue engineering and regenerative medicine*. 1st ed. New York, Springer; 2008. p.397-408.
13. Millis JM, Cronin DC, Johnson R, Conjeevaram H, Conlin C, Trevino S, et al. Initial experience with the modified extracorporeal liver-assist device for patients with fulminant hepatic failure: System modifications and clinical impact. *Transplantation* 2002;74:1735-46.
14. Sgroi A, Serre-Beinier V, Morel P, Buhler L. What clinical alternatives to whole liver transplantation? Current status of artificial devices and hepatocyte transplantation. *Transplantation* 2009;87:457-66.