Establishment and Application of Human Pluripotent Stem Cell Line

(인간 전분화능세포주의 확립과 응용)

정 형 민

포천중문의과대학교 세포유전자치료연구소

I. 서론

전분화능 세포주 (pluripotent stem cells)란 착상전 배아 (preimplantatiion embryo)의 내부세포괴 또는 기관형성중인 후기배아의 원시생식선세포 (primodial germ cell)로부터 유래된 세포주로서 무한대의 증식능과 몬든 조직으로의 분화능을 갖는 세포를 의미하며 착상전배아유래의 경우 배아줄기세포 (embryonic stem cell: ES cell)로 후기배아 유래세포의 경우 배아생식줄기세포 (embryonic germ cell: EG cell)로 구분된다. 1981년 Evans, Kaufman (Evans & Kaufman, 1981) 그리고 Martin등에 의해 생쥐배아줄기세포가 확립된 후 배아줄기세포에 대한 연구는 유전학과 발생학등 과학분야에서 지대한 공헌을 이루었다. 특히, DNA 재조합과 상동 재조합 기술과의 접목을 통해 유전자의 생체내 기능을 이해하는데 가장 효율적인 방법으로 이용되어 왔다. 현재, 대부분의 동물에서 배아줄기세포의 확립이 보고되었고, 이를 이용한 특정세포로의 분화유도와 세포이식을 통한 질병의 치료방법의 개발에 대해 보고되고있다. 그러나, 인간 배아줄기세포는 기본적인 재료인 인간 배아 확보의 어려움 등으로 인해 그 제작과 확립에 대한 활발한 연구가 이루어지지 못하였다. 체외인공수정 (*in vitro* fertilization, IVF)분야의 활발한 연구 결과로 인해 지난 1998년 University of Wisconsin의 James Thomson등에 의한 인간 배아줄기세포의 확립과 Johns Hopkins University의 Shamblott등에 의한 인간 배아생식줄기세포의 확립이 최초로 보고되었고, 이후 몇몇 연구진에 의해 인간 배아줄기세포의 분리 및 확립이 보고되었다. 2001년 8월 미국 행정부는 전 세계 연구기관에서 확립된 총 72 개의 인간 배아줄기세포주를 이용한 연구를 조건부로 승인

하였다. 그밖에 영국, 일본등 여러 선진국가에서 인간 배아줄기세포에 대한 연구를 법적으로 인정하고 있다. 이와 함께, 현재 세계적으로 인간 배아줄기세포의 단독 배양법을 개발한 미국의 Geron등, 30 여개 이상의 생명공학 벤처회사가 배아 또는 성체줄기세포의 산업적 이용을 위한 연구를 진행하고 있다. 미국의 Nexell, Aastrom, ACT, Osiris, Layton, NeuroNova, Neuronyx, 영국의 ReNeuron, 독일의 Cardion, BioTissue, 호주의 Stem Cell Sciences, 그리고 캐나다의 Stem Cells 사 등이 대표적인 줄기세포를 이용한 첨단의료, 산업기술 개발 회사들이며, 수억 달러에 이르는 대규모 투자가 진행되고 있다.

인간 전분화능세포는 이미 언급한 바대로 인체를 구성하는 모든 종류의 세포 및 조직으로 분화할 수 있는 능력이 있는 관계로 이를 이용한 난치성 질환에 대한 세포대체이식기술 (cell replacement therapy) 개발에 연구의 관심이 집중되고 있다. 이를 위해서는 아직 많은 난관이 존재하지만 이 분야의 과학자들에게서는 적어도 10년이내에 일부의 질병을 치료할 수 있는 단계에 도달할 것으로 예측되고 있다. 이를 위해서는 무엇보다도 생체내 기능성 획복이 가능한 특정세포 및 조직으로서의 분화유도가 우선적으로 수행되어야만 한다. 인위적 또는 자발적 유도에 의해 분화된 특정 세포는 질환 모델 동물에 이식되어 그 세포의 생체 내 생물학적 기능이 검증되었다. 그 예로, 척수 손상에 따른 운동장애의 개선 (McDonald et al, 1999), myelin 생성의 증가 및 증상 호전 (Brustle et al, 1999), 혈당량 조절을 통한 당뇨병의 개선 (Soria et al, 2000), dopaminergic 신경세포의 이식을 통한 파킨슨병의 치료 (Deacon et al, 1998) 등 그 가능성을 시사해주는 보고가 있다. 그러나, 인간 배아줄기세포를 이용한 연구는 신경세포의 질환 모델 동물에 대한 이식 (Kerr et al, 2001)의 실험이 보고되어 있다. 인간 전분화능줄기세포를 이용한 연구는 연구의 역사가 4년 정도에 지나지 않아 실험동물 배아줄기세포에 비해 초기 단계의 연구 수준에 있으며, 진행의 속도 또한 느린 편이다. 연구의 성장 속도가 느린 이유는 인간 전분화능줄기세포주의 확보의 필수적 재료라 할 수 있는 인간 배아 및 후기배아의 확보가 매우 어렵기 때문이다. 따라서, 인간 배아줄기세포주의 확립 및 유지는 필수적인 기초연구재료의 확보라는 의미에서 매우 중요하다. 또한, 면역억제방법의 개발이 완성되지 않은 현실에서는 다수의 배아줄기세포를 확보하는 것이 의학적 응용을 위해서는 전재조건이 될 수 있다. 실험동물

의 수준에서, 배아줄기세포를 이용하여 특정한 세포로의 분화유도 방법의 개발은 상당한 발전을 이루어 왔다. 현재까지 1) 조혈 및 면역세포 (Fraichard et al, 2000; Wiles & Keller, 1991; Johansson & Wiles, 1995; Perkins et al, 1998; Potocnik et al, 1994; Lieschke & Dunn, 1995; Tsai et al, 2000; Rathjen et al, 1998; Fairchild et al, 2000), 2) 심근세포 (Dinsmore et al, 1996; Doetschman et al, 1985; Maltsev et al, 1993; Wobus et al, 1995; Bader et al, 2000; Klug et al, 1996; Westfall et al, 1997;), 3) 신경세포 및 신경 보조세포 (Brustle et al, 1999; Bain et al, 1995; Strubling et al, 1995; Li et al, 1998; Lee et al, 2000; Kawasaki et al, 2000; Stager et al, 1993; Fraichard et al, 1995; O'Shea, 1999; Liu et al, 2000; Gottlleb et al, 1999), 4) 근육세포 (Dinsmore et al, 1996; Yamashita et al, 2000; Prelle et al, 2000; Slager et al, 1993; Rohwedel et al, 1994; Drab et al, 1997; Yamashita et al, 2000; hirashima et al, 1999), 5) 뼈 및 연골세포 (Kramer et al, 2000; Buttery et al, 2001), 6) 혈관내벽세포 (Risau et al, 1988; Yamashita et al, 2000), 7) 지방세포 (Dani, et al 1997), 8) 췌장베타세포 (Soria et al, 2000; Lumelsky et al, 2001), 9) 피부세포 (Bagutti et al, 1996), 10) 색소세포 (Yamane et al, 1999)등으로 분화 시킬 수 있음이 보고 되었다.

전분화능 분석을 통한 분화제어연구는 2000년 Itskovitz-Eldor 등이 인간 배아줄기세포를 심근 및 조혈모세포로 분화시키는데 성공함으로서 기틀이 확립되었다. 이어 Shundiner 등 (2000) 이 배아줄기세포를 뇌, 피부, 간, 췌장, 근육, 뼈, 심근 및 조혈모세포들로 분화시킬 수 있다고 보고하였으며, Rumelsky (2001) 는 생쥐 배아줄기세포를 인슐린 생산 췌도 및 췌도유사세포, 근육, 혈구, 그리고 신경 세포로 분화시키는데 성공하였다. 한편, Assady 등 (2001)은 배아줄기세포를 췌장 β-세포로 분화시켰으며, Kahat 등 (2001)은 상이한 방법을 이용하여 심근세포, Kaufmann 등은 조혈모세포, 그리고 Reubinoff 등 (2001)은 신경세포들로 분화 유도시킬 수 있다고 발표하였다. Geron 사의 경우 Affymetrix 사와 함께 대량으로 배아줄기세포 유전자 발현 분석을 수행 중이며, 이를 통하여 줄기세포 분화 및 역분화 기전을 규명하고 있다.

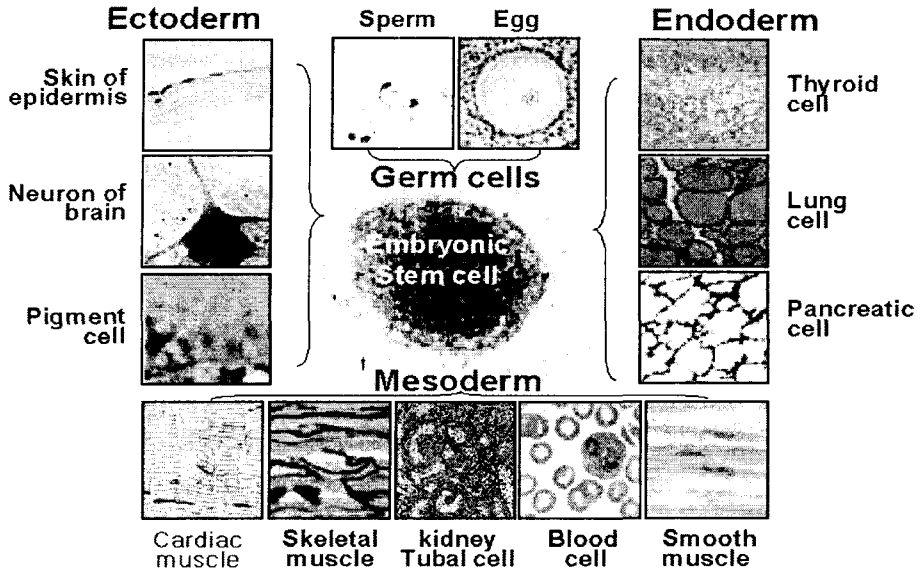

그림 1. 배아줄기세포로부터 분화가 확인된 세포

줄기세포를 이용한 세포치료법은 난치병 치료의 유일한 수단으로 인식되고 있으며 1) 체외에서 배아줄기세포를 분화시킨 후 특정조직에 이식하는 방법과, 2) 배아줄기세포를 직접 체내에 이식한 후 원하는 세포로 분화시키는 방법 등이 시도되고 있다. Kerr 등(2001)은 생쥐 배아줄기세포를 신경축삭경화증(일명, 루-게릭병) 모델 랫드 척수에 이식하였을 때 시술케이스의 약 70% 에서 신경운동 기능이 회복되었다는 결과를 발표하였다. Assady 등(2001)은 생쥐 배아줄기세포를 췌장 β-세포로 분화시켜 인슐린생산 및 당뇨병증 개선이 가능하였다고 발표하였고, Zhang 등(2001)은 배아줄기세포를 다양한 신경세포로 분화를 유도하는데 성공하였다. 또한, Morgan 등(2001)은 생쥐 배아줄기세포를 심근경색증 랫트에 이식하였을 때 이식세포의 일부가 심장세포로 분화하였으며, 이식거부반응이 발생하지 않았다고 보고하였다. 2002년 Isacson 등(2002)은 생쥐배아줄기세포를 신경뉴런으로 분화시킨 후 파킨슨병 모델동물에 이식 시, 세포수 증가에 따른 종양유도 등의 부작용이 일부 발견되었으나, 현저한 증상개선이 가능함을 발표하였다.

II. 인간 전분화능 줄기세포주의 확립 및 특성규명

1. 배아줄기세포 및 배아생식세포의 작성

1) 인간 배아줄기세포의 작성

기증받은 냉동배아는 통상 전핵기 (pronuclear stage) 또는 4~8세포기 배아 상태이므로 적절한 방법에 따라 해동한다. 생존이 확인된 냉동배아는 배반포 (blastocyst) 단계까지 발생할 수 있는 배양조건에서 배양함으로 내부세포괴가 존재하는 배반포 배아를 얻을 수 있다. 배반포기 배아는 0.05% pronase 처리에 의해 투명대를 제거한 다음 물리적 방법에 의해 ICM 만을 분리하거나 면역수술법 (immunosurgery)을 통해 ICM 만을 순수하게 분리할 수 있다. 분리된 ICM은 미리 mitomycin이나 radiation처리된 생쥐 배아섬유아세포 (mouse fetal fibroblast cell) monolayer상에 옮겨 배양한다. 이때 배양액은 단백질원으로 fetal bovine serum (FBS)와 분화억제물질인 leukemia inhibitory factor (LIF)등을 첨가하여 사용한다. 모든 배양액은 매 24시간 마다 교환하며 통상 7일간격으로 계대배양을 실시한다. 약 5~10번의 계대배양을 실시하면 비교적 많은 colony를 관찰할 수 있게 되는데 이때 이러한 cell colony가 배아줄기세포인지를 확인하는 절차를 거치게 되며 배아줄기세포임이 확인된 줄기세포는 지속적인 계대배양과 동결보존을 실시하게 된다.

2) 인간 배아줄기세포의 특성규명

작성된 배아줄기세포는 다양한 세포-유전학적 특성을 규명해야 함과 더불어 배반포기 배아에 이식하여 작성된 배아를 대리모에 이식하여 얻어지는 제1세대를 유전분석함으로서 그 형질이 생식선으로 전달됨을 확인해야만 한다. 그러나 인간의 경우 윤리적 문제등으로 인해 germ line transmittion은 확인할 수 없다. 따라서 작성이 완료된 인간 배아줄기세포는 그밖의 세포-유전학적 특성규명을 반드시 수행해야만 한다. 즉, 세포표면에 특이적으로 발현되는 alkaline phospatase (AP), SSEA-3, SSEA-4 및 transcription factor인 Oct-4 등의 발현이 확인되어야 하며 아울러 염색체 분석을 통하여 정상염색체 상을 갖는지 또한 면역결핍 mouse에 이식하여 teratoma 형성과 각종 다양한 세포 또는 조직으로 분화가 이루어졌는 지를 관찰하여야 한다. 이러한 배아줄기세포의 특성규명은 배아줄기세포의 계대배양 10~15번 마다 수행하는 것이 바람직하다 (Thomson 등, 1998; Reubinoff 등, 2000).

3) 배아생식세포의 분리와 배양

배아생식세포는 주로 시험관아기 시술로서 발생되는 다태임신 환자에게 시행하는 치료목적의 선택적 유산술 (therapeutic selective abortion)로부터 채취되는 조직으로부터 채취할 수 있는 원시생식선세포 (primordial germ cell; 이하 PGC)을 사용하여 제작한다. 선택적 유산술로 채취된 임신 6~10주사이의 유산조직은 해부현미경하에서 원시생식선 융기 (germinal bridge)를 분리하고 이로부터 효소처리등의 방법을 통해 PGC를 분리한다. 분리된 PGC는 전술한 배아줄기세포 작성과 동일한 방법에 준해 세포배양을 실시하므로서 배아생식세포를 작성할 수 있다.

4) 배아생식세포의 특성규명

작성된 배아생식세포는 강한 alkaline phosphastase 염색 및 SSEA-1, SSEA-3 및 SSEA-4 발현이 나타나야 하며 transcription factor인 Oct-4의 발현도 확인되어야 한다. 또한 배아줄기세포와 마찬가지로 정상의 염색체와 면역결핍 mouse에 이식시 teratoma 형성과 각종 세포/조직으로의 분화가 확인되어야 한다 (Shamblott 등, 1998).

Table 1. Characteristics of pluripotent stem cell

	Mouse	Human	
	ES cells	ES cells	EG cells
Undifferentiated			
Unlimited, undifferentiated proliferation	Yes	Probable	Probable
Compact, multilayerd colonies	Yes	Yes	Yes
High nuclear to cytoplasmic ratio	Yes	Yes	Yes
Alkaline phosphatase activity	Yes	Yes	Yes
High levels of telomere activity	Yes	Yes	Not tested
Stable developmental potential	Yes	Yes	Possible
Differentiated			
Potential for in vitro differentiation	Yes	Yes	Yes
Express conserved epitope markers	Yes	Yes	Yes
Ability to give rise to multiple cell types	Yes	Yes	Yes
Ability to contribute to germline	Yes	Unknown	Unknown

ES cells : Embryonic stem cells
EG cells : Embryonic germ cells

2. 인간배아(생식) 줄기세포의 응용

인간 배아(생식) 줄기세포는 인체를 구성하는 모든 종류의 세포로 분화할 수 있는 능력을 갖는 세포이므로 향후 이러한 세포를 이용하여 현재 치료가 매우 어렵거나 불가능한 각종 질환을 치료할 수 있는 유용한 수단으로 활용될 수 있다는 점에서 그 의미가 매우 크다. 많은 학자들은 미분화 상태의 배아줄기세포로부터 특정질환을 치료할 수 있는 세포로 분화시켜 이를 이식하는 세포대체요법 (cell replacement therapy)이 적어도 10년내에는 가능하다고 예측하고 있다. 배아줄기세포 연구는 단순히 질병치료를 위한 세포제공 뿐만아니라 다양한 세포나 조직으로 분화하는 과정을 경시적으로 관찰가능하기 때문에 인간 발생의 이해나 질병의 발병원인을 해석하는 좋은 재료로 이용될 수 있다. 또한 배아유래의 세포는 각종 신약의 검증이나 독성물질의 스크리닝 시스템을 개발하는 데에도 유용하게 이용될 수 있다 (Donovan과 Gearhart, 2001; Lovell-Badge, 2001).

Table 2. 배아줄기세포로 치유가능한 질병

인간 전분화능 줄기세포로 분화가능한 세포	치료가능 질병
신경세포	파킨슨병, 헌팅톤병, 알츠하이머, 간질, 뇌졸중, 루게릭병 등
척추신경세포	척추신경 손상 질병
간장세포	B형, C형 간염, 간경화
피부세포	화상치료, 피부이식이 필요한 모든 질병
췌장세포	당뇨병
혈관상피세포	동맥경화증
연골세포	퇴행성 관절염
골(뼈)세포	뼈를 이식해야 하는 모든 질병
혈액세포	백혈병, 빈혈, HIV
근육세포	근육위측증
소화기 상피세포	폐암, Cystic fibrosis
부신피질세포	에디슨병
유전자치료를 이용한 각종세포	현재 알려진 5,000여종의 유전병

1) 특정세포로의 분화유도, 분화유도물질 및 유전체의 탐색

배아줄기세포 연구에 있어 특정세포로의 분화 유도기술의 개발은 줄기세포의 응용범위를 결정할 수 있다는 점에서 매우 중요하다. 인간 배아줄기세포를 분화억제 물질인 LIF등을 제거한 상태로 배양하게 되면 자발적인 분화가 이루어져 신경, 심근, 연골, 근육 및 내장등과 같은 다양한 세포로 분화되는데 이를 자발적 분화 (sponteneous differentiation)이라 한다 (Itskovitz-Eldor 등, 2000). 그러나 배아 줄기세포로부터 자발적 분화가 이루어진 각각의 세포를 순수분리하는 것은 매우 어려운 일이다. 따라서 특정세포로 분화유도하는 기술적 체계가 개발되어야 하는데 이러한 연구는 인간 배아줄기세포의 생산이 이루어진지가 얼마되지 않은 관계로 전세계적으로도 초입단계의 수준에 머물러 있다고 해도 과언이 아니다. 다만 2000년도에 이르러 몇종류의 세포로의 분화유도 방법이 개발되었으나 아직 50%이상의 특정세포로의 분화성공 사례는 없는 실정이다 (Table 2. 참조).

Table 3. Published reports on differentiation of human ES and EG cells

Cell origin	Differentiation	Reference
hES cell	Cardiomyocyte, hematopoietic cell, neuron	Itskovitz-Eldor등 (2000)
hES cell	Brain, skin, hepatocyte, pancreatic cell, muscle, bone, cardiomyocyte, hematopoietic cell	Schundiner등 (2000)
hES cell	Pancreatic betal cell	Assady등 (2001)
hES cell	Cardiomyocyte	Kehat등 (2001)
hES cell	Hematopoietic cell	Kaufmann 등 (2001)
hES cell	Neuronal cell	Zhang 등 (2001) Reubinoff 등 (2001), Schundiner등 (2000), Carpenter 등 (2001)
hES cell	Cardiac cell	Morgan등 (2001)

Table 3에서 보는 바와 같이 아직까지 인간 배아(생식) 줄기세포를 이용하여 특정세포로의 분화유도에 관련된 연구보고는 많지 않다. 특히 미분화 상태의 배아(생식) 줄기세포로 부터 특정세포로 분화되는 과정에 관계하는 분화유도 물질이나 관련 유전체에 대한 분석은 극히 일부에서만 진행되고 있는 상황이다 (Shamblott 등, 2001). 대부분의 연구가 지난 20여년 동안 mouse ES cell을 이용하여 진행되어온 일부의 연구결과를 기초로하여 진행되어 온것이기 때문에 아직까지 완벽한 분화조절이 가능한 세포로의 분화성공 보고는 없는 실정이다. 이러한 특정세포로의 분화를 제어하기 위해서는 분화유도물질이나 관련 유전체의 발굴이 무엇보다도 중요하며 이를 위한 다양한 방법이 개발되어야 한다. 예를들어 최근 몇 년전부터 급속히 발전하고 있는 genomics와 proteomics 방법은 분화유도물질이나 유전체의 체계적 대량발굴에 매우 적합한 모델이 될 수 있다. 또한 특정 유전자의 과발현을 통한 분화유도 연구등도 유용한 수단이 될 수 있을 것이다. 이러한 분화관련 유도물질이나 유전체의 발굴은 이들의 기능해석 연구로 발전되어야 하는데 이를 위한 가장 효과적 방법은 ES 또는 EG cell에 대한 유전자적중 (knock-out)을 통한 모델동물의 생산이다. 예를 들어 신경으로 분화하는데 있어 결정적 역할을 하는 neurotropin이나 Nurr-1 유전자를 발굴하였다고 할때 ES 또는 EG cell에 이들 유전자를 적중시켜 chimera mouse와 같은 동물을 생산하게 된다면 이 동물을 통하여 이들 유전체의 기능을 쉽게 분석할 수 있게 된다. 이러한 연구는 단순히 특정 유전체에 대한 기능해석으로서 뿐만아니라 나아가 질병의 원인 규명 및 치료제 개발등에도 이용될 수 있게 된다.

2) 인간 배아(생식) 줄기세포의 이식과 기능성 회복

인간 배아(생식) 줄기세포에 대한 연구역사가 길지 않은 관계로 아직까지 인간을 대상으로 하는 줄기세포 치료이식은 전무하다. 다만 일부의 연구진에 의해 인간 배아(생식) 줄기세포 또는 이로부터 분화된 특정세포를 실제 질환 모델 동물에 이식하여 일부의 치료효과가 보고되고 있다. Kerr 등 (2001)은 virus로 ALS가 유발된 rat의 spinal cord에 hEG cell을 이식한 결과 이식동물의 70%정도가 다시 운동기능이 회복되었다는 보고를 하여 배아(생식) 줄기세포가 과학자들이 예측한 바대로 세포대체요법을 통해 질환을 치료할 수 있다

는 사실을 처음으로 증명하였다. 이루 Assady 등 (2001)은 hES cell로부터 분화된 췌장세포를 당뇨병모델 mice에 이식하여 혈당조절이 가능하다는 사실을 Zhang 등 (2001)과 Reubinoff 등 (2001)은 각각 hES cell로부터 신경세포로의 분화와 생체내 이식을 통해 일부 기능회복을 보고하였다. 또한 Morgan 등 (2001)은 hES cell을 이용하여 myocardiac infaction 모델 rat에 직접 이식한 결과 이식된 세포중 7.3%정도가 cardiac cell로 분화되었고 80%에서 myocardiac infarction의 치료효과가 나타났다고 발표하였다. 일부의 연구이기는 하지만 현재 각종 질환모델 동물을 대상으로하는 배아(생식) 줄기세포 이식에 따른 생체내 기능성 회복에 대한 연구보고가 속속 발표되고 있고 이에 따른 부작용 및 안정성 검토가 이루어지고 있어 줄기세포를 이용한 질병치료는 머지 않은 장래에 가능할 것으로 예측된다.

3) 문제점 및 해결방안

배아(생식) 줄기세포 연구가 미래의학의 핵심연구 분야로서 전세계적인 관심을 갖고 있기는 하지만 아직도 해결해야하는 많은 문제를 안고 있다. 특히 질병치료를 위한 세포대체요법 분야에서는 이식과정에서 나타날 수 있는 이식거부반응과 원치않는 세포나 조직의 형성 및 일부세포의 암세포화등은 임상적 응용을 위해서는 반드시 선결해야 하는 문제로 남아있다. 실제 동물연구이기는 하지만 최근 Song 등 (2001)과 Bjorklund 등 (2002)은 주입하는 세포의 수가 많을 경우 이들 세포는 암세포로 분화됨을 확인하였고 이를 조절하기 위해서는 적정한 수의 세포이식, 적정 이식부위 결정, 주입하는 줄기세포의 상태등을 면밀히 검토해야 한다고 보고하였다. 세포이식에 있어 가장 큰 문제중의 하나는 면역거부반응이다. 골수이식의 경우와 마찬가지로 인간의 경우 HLA class I과 class II 항원이 match되지 않으면 이식성공은 기대하기 어렵다. 다만 cord blood stem cell의 경우와 같이 면역체계가 미숙한 상태의 stem cell의 경우 HLA 항원 3개로도 이식이 가능한 예에서 경험한 것과 마찬가지로 인간 배아(생식)줄기세포는 아직 면역체계가 형성되지 않은 단계의 세포로부터 작성된 세포이므로 HLA 항원의 일부만 일치하더라도 거부반응은 적을 것으로 예측되고 있다. 그러나 이식거부반응을 근원적으로 해결하기 위해서는 이용가능한 많은 종류의 배아(생식)줄기세포를 만드는 것이 우선적으로 필요

하다. 이러한 각종 배아(생식)줄기세포를 세포은행화하고 data base화 할 수 있다면 일부의 문제는 해결될 수 있다. 그러나 현실적으로 혈액은행이나 골수은행과 같은 방대한 종류의 배아(생식)줄기세포를 생산한다는 것은 현실적인 문제가 있다. 따라서 면역거부반응을 원천적으로 극복할 수 있는 대안으로 제시된 것이 치료목적의 복제 (therapeutic cloning)이다 (Cibelli 등, 2001). 치료복제는 복제양 Dolly를 생산한 방법을 이용하는 것으로서 환자의 체세포를 채취하여 이로부터 핵을 추출한 다음 난자의 핵과 치환하여 복제배아 (cloned embryo)를 만들고 이로부터 배아줄기세포를 만들어 원하는 세포로 분화시킨 다음 환자에게 이식하고자 하는 연구이다. 환자의 유전물질을 갖고 있는 배아줄기세포인 관계로 이식과정에서의 면역거부반응등과 같은 부작용은 거의 없다. 그러나 이 방법은 복제배아를 여성의 자궁에 이식할 경우 복제인간이 출생할 가능성이 있고 현 수준에서 아직까지 기술적 체계가 확립되어 있지도 않다. 다른 대안은 이용가능한 배아(생식) 줄기세포에 대한 유전자 조작이다. 즉 세표표면에 존재하는 이식거부반응을 나타내는 유전자의 전부 또는 일부를 없앤 다음 이를 세포이식에 이용한 다는 전략으로 궁극적으로는 모든 환자에 적용가능한 "universal stem cell"을 만드는 것이다. 지금까지 기술한 여러 다양한 방법이 가능해진다면 줄기세포를 이용한 세포치료는 바로 인간의 난치병 치료에 이용될 수 있을 것이다.

III. 결론

인간 전분화능 줄기세포연구는 미래의학의 핵심기술로 발전하게 될 것이라는 점은 어느누구도 부인하지 않는 사실이다. 아직 이 분야의 연구역사가 그리 길지 않은 까닭에 많은 연구가 이루어지고 있지는 않으나 일부의 연구결과는 이 분야 연구가 갖는 엄청난 효과를 미리 예측할 수 있는 충분한 근거가 되고 있다. 전세계적으로 치열한 연구경쟁을 벌이고 있는 이유가 바로 여기에 있다. 그러나 인간 배아를 주재료로 하는 까닭에 근원적인 윤리적 문제를 안고 있다는 점을 간과해서는 안된다. 따라서 현재 각국에서는 윤리적 문제를 최소화하면서 이 분야 연구를 장려하는 다양한 아이디어가 기획되고 있다. 무

엇보다도 배아줄기세포 연구를 위한 인위적 배아창출이나 비윤리적 배아공급 및 복제배아의 자궁내이식을 통한 생식복제등에 대해서는 철저한 통제가 필요하고 정부나 학회 또는 연구기관내에서 배아에 관련된 투명한 관리감독이 선행되어야할 것이다. 인간 배아(생식)줄기세포 연구는 우리나라도 충분한 국제경쟁력을 갖을 수 있는 연구분야임에는 틀림없다. 따라서 범정부적인 연구지원 정책과 투명한 연구 활동이 시급한 때이다.

IV. 참고문헌

Assady S, Maor G, Amit M, Itskovitz-Eldor J, Skorecki K, Tzukerman M. 2001. Insulin production by human embryonic stem cells. Diabetes 50:1691-1697.

Bjorklund LM, Sanchez-Pernaute R, Chung S, Anderson T, Chen IY, McNaught KS, Brownell AL, Jenkins BG, Wahlestedt C, Kim KS, Isacson O. 2002. Embryonic stem cells develop into functional dopaminergic neurons after transplantation in a Parkinson rat model. Proc Natl Acad Sci

Carpenter MK, Inokuma MS, Denham J, Mujtaba T, Chiu CP, Rao MS. 2001. Enrichment of neurons and precusors from human embryonic stem cells. Exp Neurol 172:383-397.

Cibelli JB, Kiessling AA, Cunniff K, Richards C, Lanza RP, West MD. 2001. Somatic cell nuclear in human : pronuclear and early embryonic development. J Regenerative Med 2:25-31.

Evans MJ, Kaufman MH. 1981. Establishment in culture of pluripotent cells from mouse embryos. Nature 292:154-156.

Donovan PJ, Gearhart J. 2001. The end of the beginning for pluripotent stem cells. Nature 414:92-97.

Itskovitz-Eldor J, Schuldiner M, Karsenti D, Eden A, Yanuka O, Amit M, Soreq H, Benbenisty N. 2000. Differentiation of human embryonic stem cells into embryoid bodies compromising the three embryonic germ layers. Mol Med 6:88-95.

Kaufman DS, Hanson ET, Lewis RL, Auerbach R, Thomson JA. 2001. Hematopoietic colony-forming cells derived from human embryonic stem cells. Proc Natl Acad Sci 98:10716-10721.

Kehat I, Kenyagin-Karsenti D, Snir M, Serev H, Amit M, Gepstein A, Livne E, Binah O, Itskovitz-Eldor J, Gepstein L. 2001. Human embryonic stem cells can differentiate into myocytes with structural and functional properties of cardiomyocytes. J Clin Invest 108:407-414.

Lovell-Badge R. 2001. The future for stem cell research. Nature 414:88-91.

Martin GR. 1981. Isolation of pluripotent cell line from early mouse embryos in medium conditioned by teratocarcinoma stem cells. PNAS 78:7634-7638.

Reubinoff BE, Pera MF, Fong CY, Trounson A, Bongso A. 2000. Embryonic stem cell lines from human blastocysts: somatic differentiation in vitro. Nat Biotechnol. 18:399-404.

Reubinoff BE, Itsykson P, Turetsky, T, Pera MF, Reinhartz E, Itzik A, Ben-Hur T. 2001. Neural progenitors from human embryonic stem cells. Nature Biotechnology 19:1134-1140.

Schuldiner M, Yanuka O, Itskovitz-Eldor J, Melton DA, Benvenisty N. 2000. Effects of eight growth factors on the differentiation of cells derived from human embryonic stem cells. Proc Natl Acad Sci 97:11307-11312.

Schuldiner M, Eden ER, Yanuka O, Itskovitz-Eldor J, Doldstein RS, Benvenisty N. 2001. Induced neuronal differentiation of human embryonic stem cells. Brain Res 913:201-205.

Shamblott MJ, Axelman J, Wang S, Bugg EM, Littlefield JW, Donovan PJ, Blumenthal PD, Huggins GR, Gearhart JW. 1998. Derivation of pluripotent stem cells from cultured human primordial germ cells. PNAS 95:13726-13731.

Shamblott MJ, Axelman J, Littlefield JW, Blumenthal PD, Huggins GR, Cui Y, Cheng L, Gearhart JD. 2001. Human embryonic germ cell derivatives express a broad range of developmentally distinct markers and proliferate extensively in vitro. Proc Natl Acad Sci, 98:113-118.

Song JH. 2001. Isolation, differentiation and in vivo application of

embryonic stem cells. Proceeding on Seoul Sypmposium on Stem Cells & Therapeutic Cloning pp. 52.

Spradling A, Drumond-Barbosa D, Kai T. 2001. Stem cells find their niche. Nature 414:98-104.

Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS, Jones JM. 1998. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. Science 282:1145-1147.

Xu C, Inokuma MS, Denham J, Golds K, Kun여 P, Gold JD, Carpenter MK. 2001. Feeder-free growth of undifferentiated human embryonic stem cells. Nature Biotechnology 19:971-974.

Zhang SC,Wernig M, Duncan ID, Brustle O, Thomson JA. 2001. In vitro differentiation of transplantable neural precusors from human embryonic stem cells. Nature Biotechnology 19:1129-1133.

본 연구는 보건복지부 보건의료기술연구기획평가단 중점공동연구과제 지원하에 수행되었음.