

인간 피부조직에서 멜라닌 줄기세포 확인 및 분리방법에 관한 연구

김난형 · 염윤희 · 최애진 · 양현원 · 이에영*

울지의과대학 생명과학연구소, *울지병원 피부과

사람의 피부는 기저층에서 새로운 세포가 증식하고 표면으로 이동할수록 분화하여 죽어가는 과정을 일생동안 끊임없이 되풀이하는데 새로운 세포는 줄기세포에서 만들어진다고 생각한다. 피부의 주된 구성세포는 각질형성세포이지만 이 세포와 긴밀한 연결을 하고 있는 멜라닌세포 역시 새로운 세포로의 대치가 불가피하고 실제 각질형성세포와 멜라닌세포의 줄기세포가 피부와 모낭에 존재함이 보고되었다. 그러나 아직 각각의 줄기세포를 확인할 수 있는 표식자가 확실하게 밝혀지지 않았고 멜라닌세포의 경우 tyrosine related protein-1 (Trp-1)이 발현되는 반면 줄기세포는 Trp-2에 양성인 것으로 알려져 있다. 만약 이러한 표식자보다 근원적인 줄기세포의 표식자인 CD133에 양성인 세포가 존재한다면 훨씬 의미가 있다고 생각된다. 따라서 본 연구에서는 줄기세포의 표식자로 잘 알려진 CD133 일차항체를 이용하여 인간 피부조직에서 줄기세포를 확인하고, 또한 MACS 방법으로 멜라닌 줄기세포만을 분리할 수 있는 방법을 찾고자 하였다. 먼저 표피조직에서 줄기세포의 존재를 확인하기 위하여 CD133 일차항체를 이용하여 면역조직화학적 방법으로 염색한 후 confocal scanning image system으로 관찰한 결과, CD133 양성을 보이는 세포는 상피조직의 아래쪽에 극히 일부 세포들에서만 염색되는 것을 관찰할 수 있었다. 또한 이들 세포가 멜라닌 세포로 분화하는 세포라면 멜라닌세포의 표식자인 c-kit에도 양성을 나타내리라 생각하여 c-kit에 대한 일차항체로 염색한 결과 CD133 양성을 보인 세포에서 c-kit도 함께 발현됨을 확인할 수 있었다. 이상의 결과에서 확인된 멜라닌 줄기세포를 순수 분리하여 위하여 magnetic microbeads를 이용한 세포 분리방법(MACS)을 이용하여 분리하였다. 획득한 피부조직은 먼저 효소를 처리하여 단일세포로 만든 후 CD133에 대한 일차항체가 결합되어 있는 magnetic microbeads와 함께 반응시켰다. 반응이 끝난 magnetic microbeads는 강한 자기장이 형성된 컬럼에 통과시켜 microbeads에 결합되어 있는 세포들만을 분리하였다. 분리된 세포가 CD133에 양성을 보이는지 확인하기 위하여 위와 동일한 방법으로 염색한 후 관찰하였다. 먼저 magnetic microbeads에 의해 분리된 세포 수는 분리 전 전체 세포 수에 1% 내외로 아주 적은 수가 분리되는 것을 알 수 있었고, 그 중 70-80%에서 CD133 양성을 보였다. 이러한 결과는 상피조직에 존재하는 극소수의 줄기세포를 MACS 방법에 의해 분리해 낼 수 있다는 것을 보여주고 있으며, 앞으로 이러한 방법으로 분리된 멜라닌 줄기세포를 배양하면서 피부세포로 분화되는 과정을 연구해 보고자 한다.

* 본 연구는 21세기 프론티어 사업 세포 응용 연구단 연구비(M102KL010001-02K1201-01730) 지원으로 수행되었음