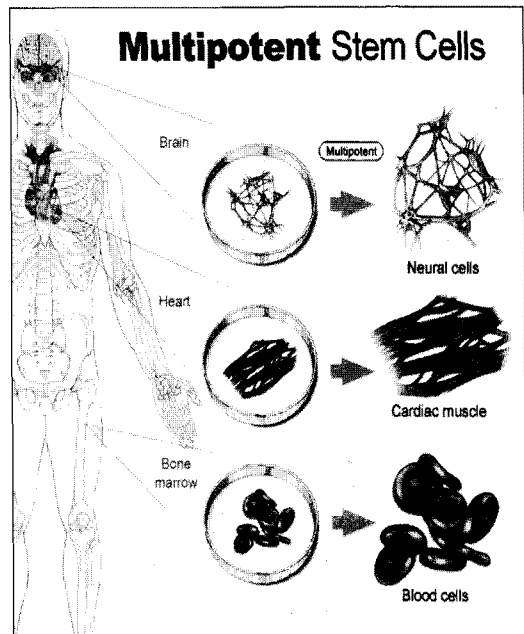
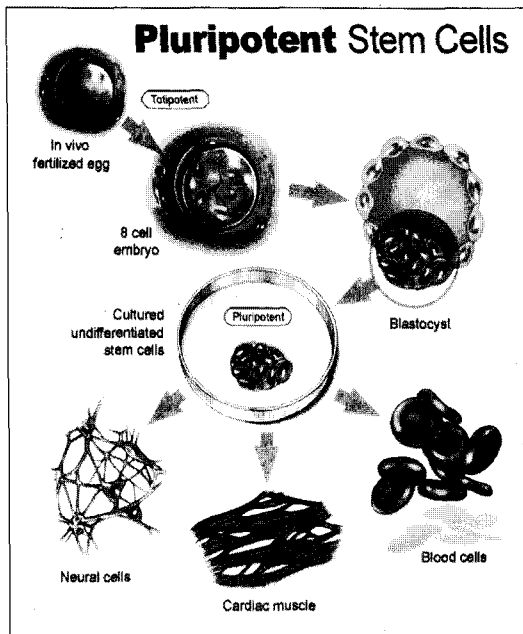


Hematopoietic Stem Cell Plasticity and Therapeutic Applications

김 현 옥

연세대학교 의과대학 진단검사의학과

성체에서도 일생동안 살아가면서 계속 손상된 조직을 재생하기 위해 아주 소량의 줄기세포가 존재한다. 이런 줄기세포의 성상을 보이는 세포는 주로 뇌, 간, 골수 등에서 발견된다. 그러나 이 성체줄기세포는 배아줄기세포에 비해 자기 갱신 잠재력이 작고 분화해 갈 수 있는 세포의 종류가 정해져 있으며, 원론적으로는 줄기세포가 속해있는 조직 또는 기관 이외의 다른 세포로는 분화할 수 없는 것으로 보고되고 있다. 그러나 최근, 성체에서도 특히 골수에 조직분화 유연성 (pluripotency)를 갖는 줄기세포가 존재한다는 주장이 제기되고 있다.



Stem cell research foundation, 2005

1. 조혈줄기세포 (조혈모세포, hematopoietic stem cell)

1) 조혈모세포의 생물학적 특성

모든 혈액의 구성 성분은 림프계나 골수계를 불문하고 한 개의 다능 원시조혈모세포 *pluripotential stem cell*로부터 유래한다. 이 세포는 연속적으로 자기 갱신 *self renewality* 및 증식과 점진적으로 분화 *proliferation*의 특징을 갖는다. 이들은 처음부터 보유한 자기 갱신 능력을 계속 유지하면서 자기와 같은 특성의 조혈모세포의 증식도 유도하지만, 성숙의 단계에 들어서면서 과립구-단핵구 계열 또는 림프계열과 같이 하나 이상의 혈액계열세포로 분화한다. 즉 부분적으로 특정 계열에 속한 조혈모세포들은 자기 재생 능력으로 증폭된 후 서서히 자기 갱신 능력을 상실하면서 특정한 세포로 완전 분화하게 되어 최종적으로는 과립구, 단핵구, B 세포, T 세포와 같은 혈액성분세포로 성숙하게 된다. 조혈모세포는 하루에 4×10^{11} 개의 혈액세포를 0.25~0.3배가 (doubling)로 생성하는 것으로 추정된다. 성인의 경우 조혈모세포는 주로 골수 내에 존재하지만 말초혈액에서도 소수가 존재하며, 골수억제 후 회복기 또는 조혈성장인자로 자극이 가해지는 경우 말초혈액 내의 조혈모세포가 증가하는데 이는 골수 내 조혈모세포의 이동 (mobilization)의 결과이다. 조혈모세포는 특징적으로 골수를 찾아가는 즉, 귀소 (homing)하는 본능이 있는데, 이러한 특성이 조혈모세포이식을 가능케 한다.

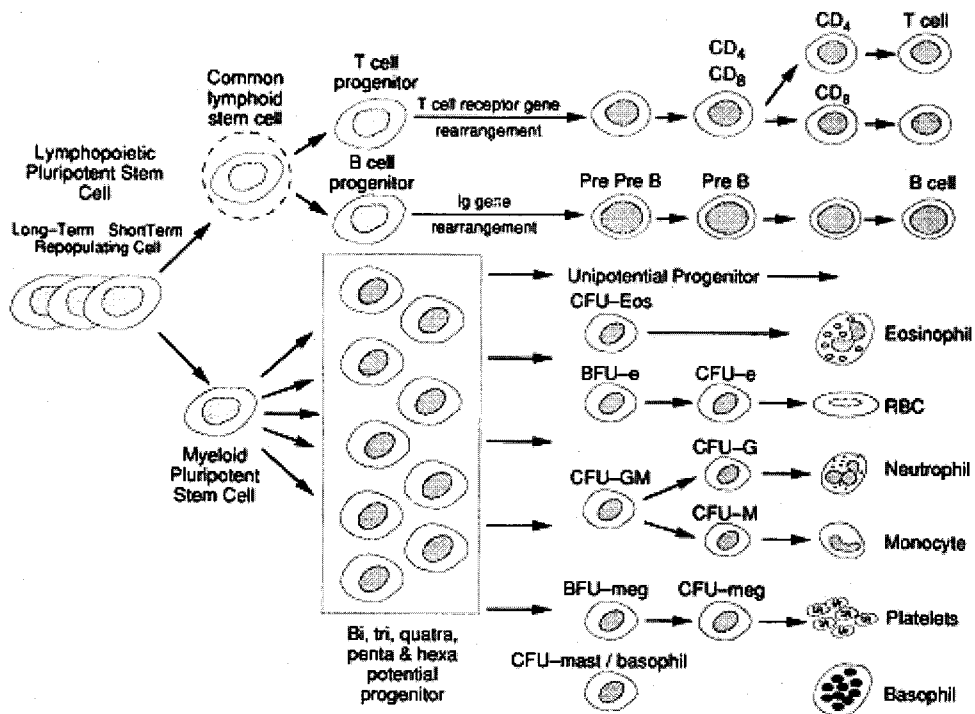


Figure 1. 조혈모세포의 분화

2) 중간엽줄기세포 (mesenchymal stem cell)

골수로부터 중간엽줄기세포를 분리하고 이들의 시험관내 분화잠재력을 증명한 것은 1991년 Freidenstein 등이 처음이다. 그들은 이 세포를 골수섬유아세포 (bone marrow fibroblast)라 칭하였다. 이 세포는 후일 골수기질세포 (bone marrow stromal cell), 중간엽줄기세포 (mesenchymal stem cell) 또는 골격줄기세포 (skeletal stem cell) 등으로 불리게 되었다. 중간엽줄기세포가 줄기세포로 인정되는 것은 이 세포들이 조골세포 (osteoblast), 연골세포 (chondrocyte), 내피세포 (endothelial cell), 더 나아가서는 배엽의 기원이 다른 신경유사세포 (neuron-like cell) 또는 심장근육세포 등으로 분화할 수 있다는 사실이 보고되면서 부터이다.

중간엽줄기세포는 외관상으로는 섬유아세포와 유사한 방추형이고, 시험관 내에서 집락을 형성한다 (colony-forming unit-fibroblast, CFU-f). 이들 세포는 조혈세포의 표면항원인 CD34, CD45, CD14, CD31 및 CD133은 발현하지 않고, CD105, CD166, CD54, CD55, CD13, CD44 등을 발현한다.

2. 성체줄기세포의 유연성 (adult stem cell plasticity)

앞서 언급된 바와 같이 성체줄기세포의 경우 분화해 갈수 있는 세포의 종류가 한정되어 있다고 알려져 왔다. 그러나 최근 성체줄기세포도 세포가 속해 있는 조직 또는 장기 이외의 다른 세포로, 심지어는 발생학적으로 분엽이 다른 세포로의 성숙이 가능하다는 가설이 제기되어 이에 대한 연구가 매우 활발히 진행되고 있다. 대표적인 예로는 골수에 존재하는 줄기세포가 골격근, 심장근육, 혈관내피세포, 심지어는 위장관 점막상피세포의 형성에 관여한다는 것이다. 이러한 현상을 성체줄기세포의 유연성이라 하는데, 그 기전으로는 다음과 같은 것들이 거론되고 있다. 첫째, 어느 조직 또는 기관에 여러 가지 줄기세포가 같이 존재한다. 둘째, 세포끼리의 융합 (fusion)이 이러한 현상을 유발한다. 셋째, 세포가 이행분화 (transdifferentiation) 또는 탈분화 (dedifferentiation)을 통해 다른 세포로 변환된다. 넷째, 성체의 조직 또는 기관에도 일반적으로 알려진 바와 달리 실제로 pluripotency를 갖는 줄기세포가 존재한다.

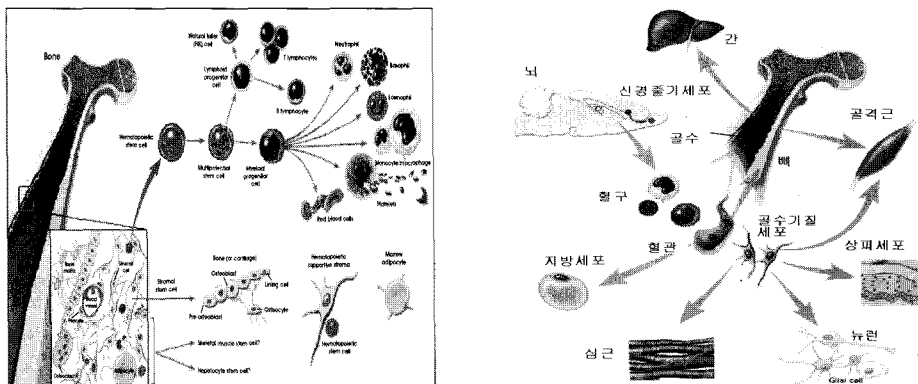


Figure 2. 골수내 세포의 성상과 조혈모세포의 분화 유연성

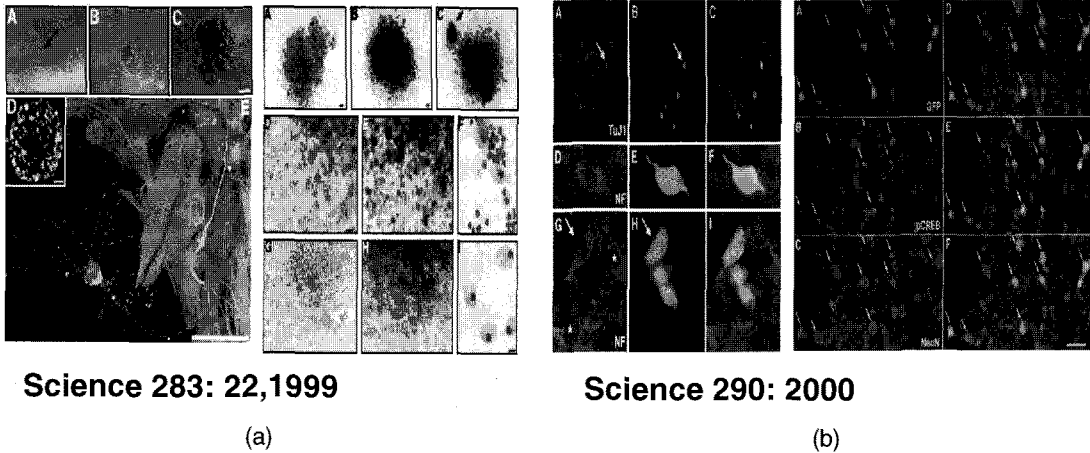


Figure 3. 조혈모세포의 tissue plasticity를 확인한 보고로서, 뇌의 줄기세포가 골수에서 혈액세포로의 분화 확인 (a)된 것과 뇌조직을 손상받은 동물 모델에서 tail vein을 통해 이식된 조혈모세포가 뇌조직에서 확인함 (b).

3. 조혈모세포의 출처 (Sources of hematopoietic progenitor cells) 및 채집

1) 골수 채집

보편적으로 골수 채취는 수차에 걸친 피부 천자를 통한 200~300번의 주사 흡입 (pulls)을 수반한다. 골수의 채집은 다른 대부분의 수술실과 같은 정도의 무균 시설을 갖춘 수술실에서 행해진다. 골수 채집 시 골수막 천자와 관련된 통증 때문에 자가 수혈 환자나 동종 이식 공여자의 경우 모두 적절한 마취를 필요로 한다. 전신, 척추 또는 경내막외 (epidural) 마취 중 선택은 의학적인 고려와 함께, 기관 및 환자의 선호에 따라 결정하는 것이 일반적이다. 비록 1박 입원이 관행이었지만, 최근에는 공여자는 진통제에 의한 무통 채혈 요법과 붕대 관리의 설명 및 여성의 경우 철분 보강을 통해 당일 오후에 퇴원하는 것이 보통이다. 후 장골릉의 경피 골수 채집은 환자가 엎드린 자세에서 수행하는 것이 일반적이긴 하지만, 환자가 임신 또는 다른 신체상의 이유로 자세를 취하기 어려운 경우 다른 자세 (예를 들면 측부)로 진행되기도 한다. 수술 및 마취 시간은 공여자의 양쪽에서 두 명의 시술자가 작업함으로써 단축할 수 있다.

2) 말초 조혈모세포 채집

말초 조혈세포전구포가 혈액의 단핵구 (mononuclear cell) 성분에 포함되기 때문에, 이들 세포의 채집에는 여러 가지 혈액 채혈 및 성분채집기가 이용될 수 있다. CS3000plus, Amicus Separator (Baxter Healthcare, Deerfield, IL) 또는 Spectra Apheresis System (COBE BCT, Lakewood, CO)와 같은 연속성 원심 분리 (continuous flow centrifugation) 장비들이 V50이나 MCS (Haemonetics Corp., Braintree, MA)와 같은 비연속성 원심분리 장비 보다 처리 소요 시간이 짧기 때문에 일반적으로 더 많이 사용되고 있다. 공여

자의 전혈 (whole blood)을 분당 50~70 mL의 속도로 처리된다고 가정하면 2~3 공여 혈액량 (10~15 L) 처리에는 대략 3~5시간이 소요될 것이다. 처리 과정에 따라 회수되는 말초 조혈세포의 수는 혈액 내의 조혈모세포의 함량, 전 과정의 소요 시간 및 성분채집기의 효율성에 의해 크게 좌우된다. 채집되는 혈액에서 회수될 수 있는 세포의 수로 정의되는 채집 효율성의 전형적인 수치는 단핵구 또는 CD34 양성세포의 40~80% 정도이다.

3) 제대혈 채집

태반/제대혈 (placental/umbilical cord blood)은 출산직후 태반과 제대의 정맥에 남아 있던 태아의 순환 혈액의 일부이다. 제대혈을 이용한 최초의 이식은 1988년 Fanconi 빈혈증을 앓고 있는 6세 남아에게 형제로부터 받은 제대혈을 이식하여 성공한 후 종양 및 유전 질환의 치료에 제대혈 이식이 폭 넓게 이용되고 있다. 제대혈은 혈액이나 골수보다 성장능 (proliferation capacity)과 자기 갱신 능력 (self-renewal capacity)이 더 높은 조혈모세포와 조혈전구세포를 더 많이 포함하고 있을 가능성이 높고 최근의 많은 연구에서 조혈줄기세포와 다른 장기로의 교차분화 등이 증명되면서 제대혈에 대한 관심이 높아지고 있다. 비록 제대혈이 쉽게 구해지고 채집이 단순하지만, 채집 시점은 중요하다. 이식에 필요한 용량을 확보하기 위해서는 채집이 태반 분만 중 또는 직후 15분 이내에 수행되어야 한다. 일반적으로 제대혈은 각 의료기관에서 이루어지고 있으나 이에 대한 보관은 각 기관의 혈액은행이나 지역 blood center에 보관되고 있으며 세계적으로 제대혈보관을 가장 많이 하고 있는 기관은 뉴욕혈액센터이다. 국내 제대혈은행은 벤처기업을 중심으로 비교적 활성화되고 있는데 비해 제대혈 이식은 현재까지 약 30~40에 정도의 수준에 머물고 있다. 제대혈 채집은 CPDA-1이 25 mL 들어가 있는 채혈백이 국내에서도 생산되고 있으며 제대혈을 최대 200 mL까지 받을 수 있다.

조혈모세포는 출처에 관계없이 채집의 최종 목표는 되도록 많은 수의 조혈모세포를 확보하여 자가 또는 동종 이식 환자에게 빠르고, 완전하며 지속적으로 생착 (engraftment)할 수 있도록 하는 것이다. 실제 임상에서 어떠한 종류의 조혈모세포를 사용할 지는 임상 연구계획, 각 채집법의 경험 정도, 담당 주치의의 선호도, 공여자 및 환자의 특성, 임상적 환경, 조혈모세포의 획득가능성에 의해 결정된다. 예를 들면, 환자의 체구가 작을 때는 말초혈액보다는 골수를 쓰는 경우가 많고, 조직 적합한 공여자를 찾기 어려운 경우 제대혈을 사용할 수도 있다. 1980년대 후반 대개 유방암과 림프종 환자에서 시행되던 자가 이식은 조혈모세포를 주로 말초혈액에서 채집하였다. 1995년에는, 자가 이식의 70%가 말초혈액의 조혈모세포를 사용한 반면, 동종 이식의 90%가 골수의 조혈모세포를 사용하였다. 하지만, HLA가 일치하는 친족 또는 비혈연 공여자에서 골수를 대신하여 말초혈액 조혈모세포의 사용이 더 증가하는 추세이다.

4. 골수유래 줄기세포에 관련된 연구

1) 심근재생

과거에는 성인 심근세포의 손상시 재생이 불가능한 것으로 알려져 왔으나 몇몇 약물에 의해 줄기 세포로부터 심근세포로의 분화가 이루어짐이 알려지고, 심근경색 후 심근괴사 부위에서 부분적이거나

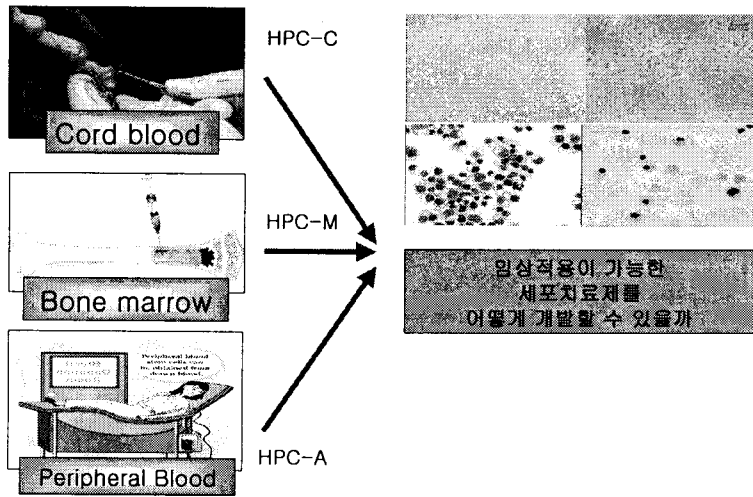


Figure 4. 조혈모세포의 출처

심근재생이 보고되면서 성인 심근도 재생될 수 있다는 증거가 확인되었다. 허혈성 심근에서 혈관 생성과 심근재생에 이용될 수 있는 줄기세포로는 성인의 골수와 말초혈액에서 분리한 줄기세포와 인간 배아줄기세포로부터 유래한 줄기세포 및 제대혈로부터 유래한 줄기세포가 가장 많이 이용되고 있다. 그러나 최근 골수 줄기세포가 심근재생에 중요한 역할을 하는 것으로 추정되면서 전세계적으로 다양하게 조혈모세포를 이용한 심근재생에 관련된 연구가 진행되고 좋은 결과를 얻고 있다. 사람에게 시도된 임상적인 연구는 골수자가세포 이식을 시작으로 2003년에는 CD34+ 세포 또는 혈관내피기원세포의 전구세포로 생각되는 AC133+ 세포 등을 분리하여 이식함으로써 좋은 임상경과를 보고하였다. 그 후 이런 조혈줄기세포의 심근재생을 위한 이식의 결과는 상당히 희망적으로 보고되고 있으나 아직까지 줄기세포의 병태생리가 완전히 규명된 것이 아니기 때문에 지속적인 연구가 이어져야 할 것이다.

2) 척수손상 질환

- Sasaki 등 (2001, Japan, Glia)은 x-irradiation 후 ethidium bromide을 투여하여 유발한 demyelinated 척수손상 모델에 Ficoll-Paque 원심분리한 골수세포 fraction을 이식하였을 때, 수초가 재생되는 소견을 보고함.
- Akiyama 등 (2002, Japan, Glia)은 상기 척수손상 모델에 골수세포 fraction을 정맥내 투여 시에도 수초화가 다시 형성되었다고 보고함.
- Satake 등 (2004, USA, Spine)은 대퇴골 (femur)에서 채취한 mesenchymal stem cell을 요추 부위 subarachnoid space로 투여 시에도 조직학적 효과가 있음을 보고함.
- Bakshi 등 (2004, USA, J Neurosurg Spine)도 골수세포를 lumbar puncture로 투여 시 조직학적 효과가 있으며, 정맥내 투여보다 효과적인 투여법이라고 보고함.
- Ha 등 (2005, Korea, J Neurosurg Spine)은 bone marrow stromal cell 투여 시도하였고, granulocyte-macrophage colony-stimulation factor (GM-CSF) 투여가 척수손상 모델에서 apoptosis를 예방하고 기

능적 효과가 있음을 보고함.

3) 뇌졸중 질환

- Chen 등 (2001, USA, Stroke)은 정맥 내로 BM stromal cell을 투여 시에 기능적 회복 효과가 있다고 보고함.
- Zhao 등 (2002, USA, Exp Neurol)은 허혈성 손상된 대뇌로 BM mesenchymal stem cell를 이식 시 조직학적 및 기능적 효과가 있었으나, 이식된 세포에 의한 integration 조건은 관찰되지 않아 이들 세포에서 분비되는 신경성장 인자에 의한 효과라고 보고함.
- Willing 등 (2003, USA, J Neurosci Res)은 허혈성 뇌졸중 손상 1일 후 정맥내 및 뇌조직내 인간 제대혈세포를 투여한 결과, 정맥내 투여가 기능적 회복에 보다 효과적임을 보고함.
- Taguchi 등 (2004, Japan, J Clin Invest)은 허혈성 뇌졸중 모델에서 손상 2일 후 CD34+ 양성 제대혈 세포를 정맥내 투여하였을 때, 신생 혈관 생성 및 신경세포 생성의 효과가 있으며, 기능적 회복이 향상되었다고 보고함.
- Peterson (2004, USA, J Clin Invest)은 CD34+ 양성 제대혈세포 투여에 의한 신생 혈관 생성 및 신경세포 생성의 효과를 강조함.

5. 간부전 치료

간에서 분리한 전구세포에는 Dipeptidylpeptidase IV (DPPIV) 결핍 쥐에서 골수세포가 간세포로 만들어지는 능력이 처음으로 증명된 선택적인 조혈 표지자가 존재한다는 것은 생쥐뿐만 아니라 사람에서도 입증되었다. 그러나 간세포군의 확장이 결국에는 치료적으로 되지만 골수에서 유래된 간세포군의 수는 매우 적다. 몇몇의 연구결과에서 약간의 간세포는 이식된 조혈세포에서 기원된다고 보고되고 있다. 또한 간에서의 기질세포 (stromal cell) 혹은 내피세포 (endothelial cell)는 조혈세포에서 기원되는 것으로 알려져 있다. 또한 FAH 생쥐를 이용한 서로 독립적인 실험실에 의한 골수에서 유래된 세포에 대한 연구는 자연적인 세포와 합침으로써 간세포를 생성한다는 것을 입증되었으며 합체된 세포의 연속적인 이식이 분명한 종양 생성과 연관이 없지만 이 과정은 암성 변화와 관련이 있는 다배수성 (polyploidy) 심지어는 비정배수성 (aneuploidy)과 연관이 있는 것으로 알려져 있다. 사람 조직 이식에 있어서 성별이 일치하지 않는 생쥐로의 사람세포의 이식에 관한 연구에서 골수세포가 세포의 fusion 없이 간세포를 생성을 확인한 바 있기 때문에 아직까지는 조혈모세포의 간세포로의 분화는 아직 많은 기초연구가 더 수반되어야 할 것이다.