

## 임상단계 진입전단계의 줄기세포 연구 - 백반증 세포치료

이 애 영  
동국의대 피부과

### 백반증의 정의와 특성

백반증은 후천적으로 멜라닌세포가 사멸하여 피부색이 하얗게 변하는 피부질환으로 인종이나 성별에 관계없이 인구의 1-2% 유병율을 보이는 비교적 흔한 질환이다. 반 이상에서 20대에 발병하며 얼굴이나 손 발 같이 노출부위에 호발하므로 생명을 위협하지는 않지만 삶의 질을 나쁘게 한다 (Figure 1). 대부분의 만성질환이 그러하듯이 백반증도 발생원인이 불확실하여 특별한 치료방법이 없을 뿐 아니라 병변의 재발을 막기 어렵다. 멜라닌세포의 사멸이 면역기전에 의하리라는 근거가 있으므로 염증을 억제하거나 주위 멜라닌세포의 증식을 촉진하는 방법이 치료를 위하여 사용되는데 멜라닌세포는 분화된 기능을 가지는 세포로 성장이 느리므로 크기가 작은 병변이라도 회복하기까지 많은 시간을 요한다.



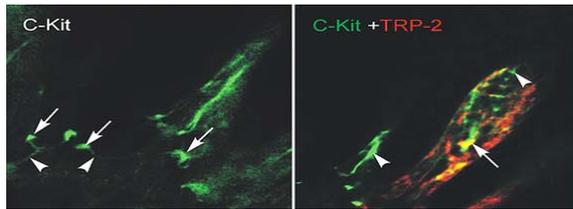
Figure 1. 백반증의 임상증상

### 백반증 치료를 위한 세포이식 및 문제점

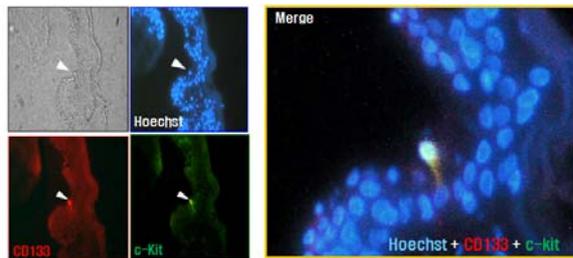
병변이 번지지 않고 안정된 경우는 표피이식을 시행할 수 있는데 이는 표피에 존재하는 자신의 멜라닌세포를 이식하기 위함이다. 1980년대에 이르러 멜라닌세포의 배양이 가능해지면서 후반부터는 배양한 멜라닌세포로의 세포이식을 시도하였는데 예상과는 달리 그 효과가 표피이식과 비교하여 좋지 않았다. 그 이유로는 지지체의 부족과 줄기세포의 고갈을 생각할 수 있다. 즉, 생체내에서 멜라닌세포는 각질형성세포와 표피구조단위를 형성하는데 단독으로 이식할 경우 지지체가 없는 것이 관여하리라는 것은 제1형 콜라겐, 히알루론산을 함께 사용하거나 각질형성세포 등과 함께 이식함으로써 효과를 높일 수 있었다는 연구결과로 짐작할 수 있다. 멜라닌세포 이식에서 줄기세포 존재가 치료결과에 영향을 준다는 보고는 없으나 화상 치료에 각질형성세포를 배양하여 사용할 경우 표피줄기세포가 고갈된 경우 결과가 좋지 않았다는 보고가 있다. 줄기세포는 오랫동안 지속적인 성장을 할 능력을 가진 세포이므로 이들을 사용할 경우 분화되어 여명이 얼마 남지 않은 세포를 사용하는 것보다 좋은 결과를 가져오리라는 것은 예상할 수 있으므로 줄기세포의 존재에 따른 결과 차이는 비단 각질형성세포뿐 아니라 멜라닌세포를 포함한 다른 세포이식에도 해당되리라 생각한다.

### 피부에 존재하는 멜라닌줄기세포

멜라닌세포는 신경세포와 같이 신경능선(neural crest)에서 유래하며 표피하부로 이동하여 주위 각질형성세포와 구조적인 단위를 형성하여 자신이 생산한 멜라닌을 공급함으로써 피부 색 결정과 일광으로부터 신체를 보호하는 역할을 한다. 이들 줄기세포를 확인할 수 있는 표지자는 정확하지 않지만 tyrosine-related protein-2 (Trp-2), BRN2 등이 보고되었고 최근 악성흑색종과의 비교연구에서 CD133, nestin, CD166 등이 거론되었다. 다른 신체 조직이나 기관에서와 마찬가지로 피부에 존재하는 멜라닌세포도 줄기세포가 있어 여러 단계의 분화를 거치게 되지만, 생쥐의 경우 멜라닌줄기세포가 모낭에 존재함이 밝혀져 있고 인간도 이들 세포의 대부분이 모낭에 존재하리라고 알려졌다. 그러나 현실적인 측면에서 버려지는 부분을 배양에 사용하는 피부조직과 달리 모낭으로부터의 세포배양은 정상조직의 일부를 떼어내어야 한다는 문제점이 있다. 본 연구는 인간 피부의 표피에 존재하는 멜라닌줄기세포를 배양하여 백반증 치료에 이용하고자 진행한 것으로 먼저 표피에 멜라닌줄기세포가 존재하는지를 확인한 결과 비율이 적지만 Trp-2/c-kit 양성 (Figure 2a)이나 CD133/c-kit 양성세포 (Figure 2b)가 존재함을 확인하였다.



(Figure 2a. 표피 Trp-2/c-kit 양성세포)



(Figure 2b. 표피 CD133/c-kit 양성세포)

### 멜라닌줄기세포의 순수배양

피부조직에서 멜라닌세포를 배양하면 분화가 다양한 세포들이 혼합되어 자라게 되는데 대다수가 Trp-1 양성의 분화된 세포다. 따라서 줄기세포를 찾기 위하여는 클로닝을 필요로 하리라 예상할 수 있는데 멜라닌세포는 상당히 분화된 세포이므로 하나의 세포로부터 군을 이루도록 성장하기까지는 많은 시간이 필요할 뿐 아니라 군을 이루기 전에 사멸할 수 있다. 본 연구는 이를 위하여 지방유래줄기세포를 이용하였고 클로닝이 가능함을 확인하였다. 다만 기존의 멜라닌세포 배양을 통하여 얻은 멜라닌세포로부터의 클로닝은 많은 시간을 소모할 수 있으므로 stem cell-niche의 개념을 이용하여 방법을 바꾸어 시행하였다.

### 배양한 멜라닌(줄기)세포 및 지방유래줄기세포의 임상예의 활용

배양한 세포를 생체에 이식하는 경우 가장 문제되는 것은 안전성이라 할 수 있고 줄기세포를 이식에 사용하는 경우는 특히 그러하다. 이러한 안전성을 고려할 때 줄기세포 이식을 먼저 시도할 수 있는 부분이 피부라 생각하는데 이는 피부조직의 구조와 기능과 무관하지 않다. 즉,

피부는 신체의 가장 바깥에 위치한 기관으로 특히 표피는 새로운 세포로 대체되면서 우리 몸 밖으로 탈락하는 과정을 일생동안 되풀이 하므로 설사 잘못되었다고 하더라도 어느 정도의 시간 후에는 자연 탈락하거나 인위적인 제거가 쉽다. 또한 장기 이식을 필요로 하는 심장, 신장, 간 등과는 달리 표피는 일생 새로운 세포가 자체 내에서 생산되어 정교한 과정에 따라 분화하여 일생을 마감하므로 외부로부터 세포를 이식하는 것으로 충분하다. 따라서 피부가 줄기세포 이식을 위한 가장 바람직하고 먼저 활용 가능한 조직 또는 기관이라 판단한다.

실제로 배양한 멜라닌세포의 이식은 전 세계적으로 1987년부터 시행되어 왔고 배양하지 않은 지방유래줄기세포의 경우는 수년동안 치료에 활용하고 있으나 심각한 부작용이 초래되었다는 보고가 없다. 기존의 방법과 멜라닌세포 배양방법이 다르지만 크게 다르지 않고 지방유래줄기세포의 경우 DMEM과 FBS를 사용하는데 이에 대한 논란은 있지만 많은 세포들의 배양에 사용되고 있고 동물에 이식실험에서 전 세계적으로 조직학적 이상도 보고된 바 없을 뿐 아니라 7세대 이상의 세포는 사용을 하지 않을 예정이므로 임상적용에 무리가 없으리라 예상하며 병원 임상시험심의위원회의 심사를 통과하여 조건을 보완한 후 임상시험을 할 예정이다.

#### 참고문헌

1. Lerner AB, Halaban R, Klaus SN, Moellmann GE. Transplantation of human melanocytes. *J Invest Dermatol.* 1987;89:219-224
2. Swope VB, Supp AP, Boyce ST. Regulation of cutaneous pigmentation by titration of human melanocytes in cultured skin substitutes grafted to athymic mice. *Wound Repair Regen.* 2002 Nov-Dec;10(6):378-86
3. Cook AL, Donatien PD, Smith AG, Murphy M, Jones MK, Herlyn M, Bennett DC, Leonard JH, Sturm RA. Human melanoblasts in culture: expression of BRN2 and synergistic regulation by fibroblast growth factor-2, stem cell factor, and endothelin-3. *J Invest Dermatol* 2003;121:1150-1159
4. Klein WM, Wu BP, Zhao S, Wu H, Klein-Szanto AJ, Tahan SR. Increased expression of stem cell markers in malignant melanoma. *Mod Pathol* 2007;20:102-107
5. Nishikawa S, Osawa M. Generating quiescent stem cells. *Pigment Cell Res* 2007; 20:263-270
6. Hedley S, Gawkrödger DJ, Weetman AP, MacNeil S. Investigation of the influence of extracellular matrix proteins on normal human melanocyte morphology and melanogenic activity. *Br J Dermatol* 1996;135:888-897