

‘남성 탓... 불임’ 사라진다

글 _ 김계성 포천중문의대 생식세포연구실장 ks66kim@chawc.co.kr

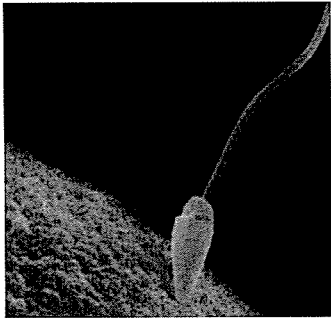
이동률 차병원 불임연구실장 drleedr@hanamil.net

줄기세포를 채워서 배양, ‘정자세포’ 만들어

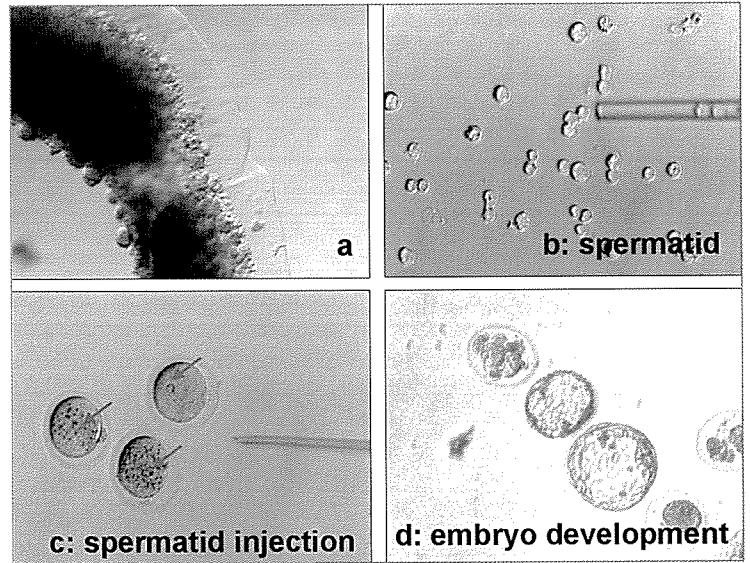
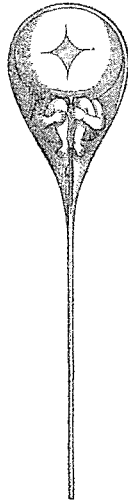
포 유동물의 종보존은 부모의 유전형질을 가지고 있는 정자(sperm)와 난자(oocyte)의 결합, 수정(fertilization)에 의해 이루어진다. 정자와 난자의 형성과정 및 수정과정에 관한 연구는 과거 수백년 전부터 시작되었으나, 아직까지 그 생명의 신비를 완전히 풀지 못한 상태이다. 우리가 잘 아는 학자 아리스토텔레스는 정액이 암컷의 생체내에서 일정한 과정을 거쳐 새로운 배아를 형성한다고 보았으며, 그림1에서 보는 바와 같이 17세기 말에 제작된 관화에서는 정자 속에 인간이 들어 있다고도 생각했다. 그 후 여러 학자들에 의해 포유류에서도 난자의 존재가 알려지고 정자와 난자 그리고 수정이라는 과정에 의해 새로운 개체가 만들어 진다는 것을 알게 되었다. 본 글에서는 정자형성 부전에 의한 남성불임과 치료법을 찾기 위한 새로운 연구에 관해 얘기해 보고자 한다.

정자형성과정(spermatogenesis)은 고환내 세정관에서 일어나는 일련의 세포 증식과 분화과정을 일컫는 말이다. 태아시기에 형성된 원시생식세포가 고환으로 이동하여 생식줄기세포를 형성하게 되고, 성숙기가 되면 정자형성과정을 시작한다. 생식줄기세포는 지속적인 자체 증식을 통해 줄기세포를 유지하는 한편 분화와 분열과정을 통해 정원, 제1차 정

〈그림 1〉 니콜라스 하르트시의 1694년 판화. 정자 속에 작은 인간이 들어있다.



〈그림 2〉 정자가 수정되기 전에 난자에 부착된 상태



〈그림 3〉 체외배양을 통해 생산한 정자세포를(a, b) 생쥐 난자 세포질내에 미세주입하여 (c) 수정시킨 후 정상적인 생쥐 배아발생 (d) 확인

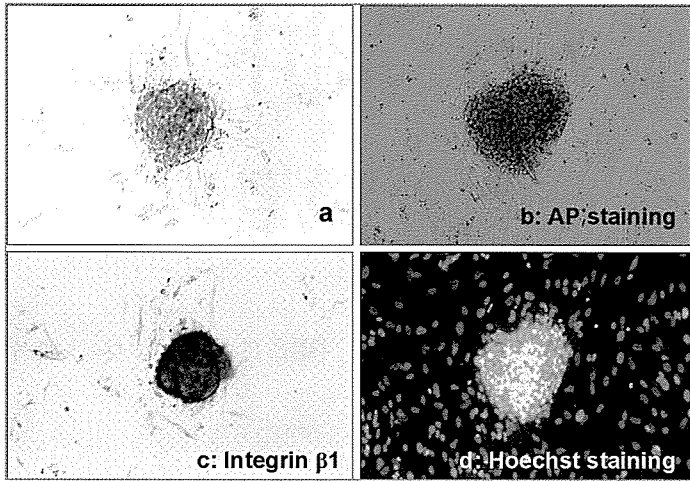
모, 제2차 정모, 정자세포, 정자를 형성하게 된다. 흥미 있는 것은 남성의 경우 생식줄기세포의 자가증식과 분화에 의해 생존하는 동안 계속적으로 정자를 생산할 수 있는 능력을 가지고 있는 것이다. 이에 반해 여성의 경우에는 출생시에 일정한 수의 원시생식세포를 가지고 태어나 성 성숙 후부터 배란을 통해 난자를 생산하고 이를 모두 소진하게 되면 폐경이라는 과정을 통해 활동이 중지되게 되는 것이다. 최종적으로 형성된 정자는 난자와 만나 수정을 하고(그림 2), 배아발생을 통해 자궁에 착상하여, 개체로 발생하게 된다.

현재 임신 가능 연령 부부의 약 15%가 불임으로 고통받고 있고, 이 중 40~50%가 남성 요인의 불임이다. 남성불임은 희소정자증, 무력정자증, 기형정자증 그리고 무정자증으로 나뉘는데 이 중 사정된 정액내에 정자가 없는 무정자증은 약 20% 정도를 차지한다. 무정자증은 다시 폐색성과 비폐색성으로 나눌 수 있는데 정자형성은 정상적이거나 선천적 또는 후천적인 요인으로 정자가 사출되는 관이 막혀 정자가 나오지 않는 경우를 폐색성, 고환내 정자의 형성장애로 인해 정자가 없는 경우를 비폐색성이라 하고, 약 60~80% 정도가 비폐색성에 의한 불임이다. 비폐색성 무정자증의 경우 대부분 현재의 의학로는 치료가 불가능해서 치료를 포기하거나 비배우자 인공수정 또는 입

양을 고려할 수밖에 없는 상황이다.

본 연구진은 정자형성과정의 생물학적 기전을 연구하기 위한 연구시스템을 마련하고, 현재로서는 치료가 불가능한 비폐색성 무정자증 환자의 치료법을 개발하기 위해 체내에서 이루어지는 정자형성과정을 체외에서 구현할 수 있는 시스템을 만들기 위해 연구를 시작하게 되었다. 비폐색성 무정자증 환자의 일부에서는 고환내에 극소수의 생식줄기세포가 존재한다는 점에 착안해서, 생식줄기세포를 체외에서 분리해 증식시키고, 다시 정자세포로 분화시켜 수정을 시킬 수 있는 방법을 개발한다면 정자형성과정에 대한 이해를 증진시킬 수 있을 뿐 아니라 치료가 불가능한 비폐색성 무정자증으로 인한 불임환자의 치료에 가능성을 제시할 것으로 가정하였다.

따라서 본 연구진은 고환내에 생식줄기세포만 존재하는 3~5일령 생쥐 고환으로부터 효소를 이용해서 생식줄기세포와 지지세포인 미성숙 세르톨리세포를 분리하였고, 이를 젤라틴이 코팅되어 있는 배양접시에서 줄기세포의 증식에 필요한 영양분이 들어 있는 배양액을 첨가하여 배양하였다. 5~7일간 배양 후에 생식줄기세포가 모여서 된 콜로니(군집)의 형성을 관찰할 수 있었고, 이를 여러 가지 영양물질과 성장인자가 들어있는 배양액에서 여러 차례 계대 배양을 통해 증식시키고 이



〈그림 4〉 인간 비폐색성 무정자증 환자로부터 생식줄기세포의 분리 및 증식 후 생성된 생식세포군 (a). 특징적으로 발현하는 표지인자를 면역조직화학법으로 확인 (b, c).

것이 생식줄기세포임을 확인하였다. 5~6차 계대 배양 후 증식이 확인된 생식줄기세포를 락틴을 이용해서 뭉친 후 Calcium alginate라는 hydrogel을 이용하여 인공적인 3차원 세정관 구조를 만들고, 난자성숙호르몬 (FSH)과 정자형성과정에 필요한 영양분이 들어있는 배양액내에서 약 6주간 장기 배양하여 정자세포로의 분화를 유도하였다. 정자형성과정 중 각 단계세포의 유전자 표지인자인 Oct-4, c-kit, testis-specific histone protein, transition protein (TP)-1의 발현을 확인하였고, 배양된 세포내에 정자세포를 찾아내어 확인하였을 뿐 아니라, 이를 생쥐 난자에 주입해서 정상적인 포배기 배아로 발생이 가능한지를 확인하였다(그림 3).

이 기술을 남성불임의 치료에 적용하기 위해 비폐색성 무정자증 환자의 고환 조직을 얻어 동일한 방법으로 배양한 결과 일부 환자의 고환내 생식줄기세포의 분리와 증식에 성공하였고(그림 4), 이를 정자세포로 분화시키는 연구를 현재 진행중이다.

본 연구가 가지는 기존 연구와의 차별점은 정자형성과정의 여러 단계, 즉 생식줄기세포의 증식, 분화, 정자세포로의 분열과 분화과정을 그 특성에 맞게 체외에서 재현할 수 있는 다단계 배양시스템의 개발이라는 점이다. 또한 기존 불임 분야의 연구가 주로 고환내에서 극소수의 정자를 찾아내려는 연구인데 반해 이를 체외배양을 통해 정자를 생산해 내고, 원천적으로 치료하려는 시도라는 새로운 방향을 설정한 점에 있다. 또

한 본 연구는 이 배양시스템을 통해 유전적으로 변형된 생식줄기세포로부터 형질전환된 정자세포의 생산이 가능할 것으로 여겨져, 새로운 형질전환동물 생산의 모델시스템으로 발전할 가능성을 가지고 있다는 점이다. 그러나 본 배양시스템을 통한 생식줄기세포의 증식 효율과 정자세포로의 분화도 아직 저조한 편이다. 그리고 정자로의 마지막 분화단계가 아직 체외에서 관찰되지 않아, 정자 형성과정의 모델시스템의 확립과 남성불임의 치료를 위해서는 보다 많은 연구가 장기적으로 진행되어야 할 것으로 사료된다.

이상에서 살펴본 바와 같이 정자, 난자 및 수정과 관련된 일련의 연구는 포유류의 초기발생과정의 규명이라는 기초학문적인 성과 외에도 유전자 조작에 의한 형질전환동물의 생산, 인간 유전질환의 유전자치료 그리고 불임의 고통 속에 살고 있는 남성불임환자에게 새로운 치료가능성을 제시할 수 있다는 응용가능성 속에서 현재도 세계 많은 나라의 우수한 연구진이 연구를 수행하고 있다. ㉔



글쓴이 김계성은 서울대 수의과대학에서 박사학위를 받았고 현재 포천중문의대 조교수로 재직중이다.



글쓴이 이동문은 한양대에서 박사학위를 받았고 현재 포천중문의대에서 조교수로 재직중이다.