

## 유전자 조작기법을 통한 돼지 뇌종양 질환모델 개발의 필요성

황선웅<sup>1,2</sup> · 현상환<sup>1,2,†</sup>

<sup>1</sup>충북대학교 수의과대학 수의학과, <sup>2</sup>줄기세포 · 재생의학연구소

### The Need for the Development of Pig Brain Tumor Disease Model using Genetic Engineering Techniques

Seon-Ung Hwang<sup>1,2</sup> and Sang-Hwan Hyun<sup>1,2,†</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of Veterinary Embryology and Biotechnology, College of Veterinary Medicine, Chungbuk National University, Cheongju 28644, Korea

<sup>2</sup>Institute of Stem Cell & Regenerative Medicine, Chungbuk National University, Cheongju 28644, Korea

#### ABSTRACT

Although many diseases could be treated by the development of modern medicine, there are some incurable diseases including brain cancer, Alzheimer disease, etc. To study human brain cancer, various animal models were reported. Among these animal models, mouse models are valuable tools for understanding brain cancer characteristics. In spite of many mouse brain cancer models, it has been difficult to find a new target molecule for the treatment of brain cancer. One of the reasons is absence of large animal model which makes conducting preclinical trials. In this article, we review a recent study of molecular characteristics of human brain cancer, their genetic mutation and comparative analysis of the mouse brain cancer model. Finally, we suggest the need for development of large animal models using somatic cell nuclear transfer in translational research.

(Key words : porcine, SCNT, disease-model animal, brain tumor)

#### 서 론

오늘날 현대 의학의 발전으로 상당수 질환에 대한 퇴치가 이루어졌고, 그로 인해 인간의 평균수명도 증가하였다. 하지만 아직까지 당뇨병, 고혈압, 알츠하이머, 암 등과 같은 극복하지 못한 많은 질병들이 있다. 그것을 극복하기 위해 많은 연구를 하고 있지만, 인간을 대상으로 연구하기에는 높은 위험성과 윤리적인 문제, 한 세대가 길어서 유전적 질병의 확인이 어려운 문제 등이 있다. 따라서 인간질환연구를 위해서는 질환모델동물 개발 및 전임상연구가 우선되어야 한다. 질환모델동물이란 인간과 비슷한 질병에 걸리도록 만들거나, 유전자 조작을 통해 선천적으로 인간과 비슷한 질병에 걸리도록 만든 동물이다. 이를 통해 몇 세대를 걸쳐 확인해야 하는 장기간의 유전연구나 질병의 기전을 연구하는 기초분야와 질환을 예방, 진단, 치료를 위한 방법을 개발하기 위해 사용된다(강영희, 2008). 질환모델동물로 가장 널리 쓰이고 있는 동물은 마우스와 랫트인데, 이는 관리와 유지비용이 적게 들고, 윤리적

인 문제도 피할 수 있으며, 유전자조작이 다른 동물에 비해 손쉽고, 한 세대가 매우 짧아서 유전연구에도 매우 용이하기 때문이다. 하지만 사람과 매우 다른 생리적 유전적 특성을 가지므로 그 결과를 바로 임상 적용하기에는 그 한계가 명확하다(Huszthy 등, 2012).

최근에는 유전자 조작기술의 발달로 대동물의 유전자조작도 용이해짐에 따라 인간과 해부학적, 생리적으로 비슷한 돼지가 이종 간 장기이식과 인간질환연구에 있어 최적의 모델 동물로 각광을 받고 있다(Kararli, 1995; Schuurman과 Pierson, 2008). 현재까지 형질전환돼지 개발은 이종장기 분야에 중점적으로 진행되고 있으며, 대사증후군, 간암 등 일부 질환모델 개발도 제한적으로 진행되고 있다(Hara 등, 2006; Li 등, 2006; McNeil 등, 2007). 머지않아 돼지는 이종 간 장기이식 연구와 인간 종양질환과 같은 난치성 질환연구를 위한 우수한 모델로 발전할 수 있을 것이다(Fig. 1) (Suzuki 등, 2012).

2013년도 미국 통계에 의하면, 원발성 뇌종양은 인구 10만 명당 21.03명이 발병하여 약 62,820명이 발생하였으며, 악성

This work was supported by the intramural research grant of Chungbuk National University in 2015 and a grant from the National Research Foundation of Korea Grant funded by the Korean Government (NRF-2013R1A2A2A04008751), Korea.

† Correspondence : shhyun@cbu.ac.kr

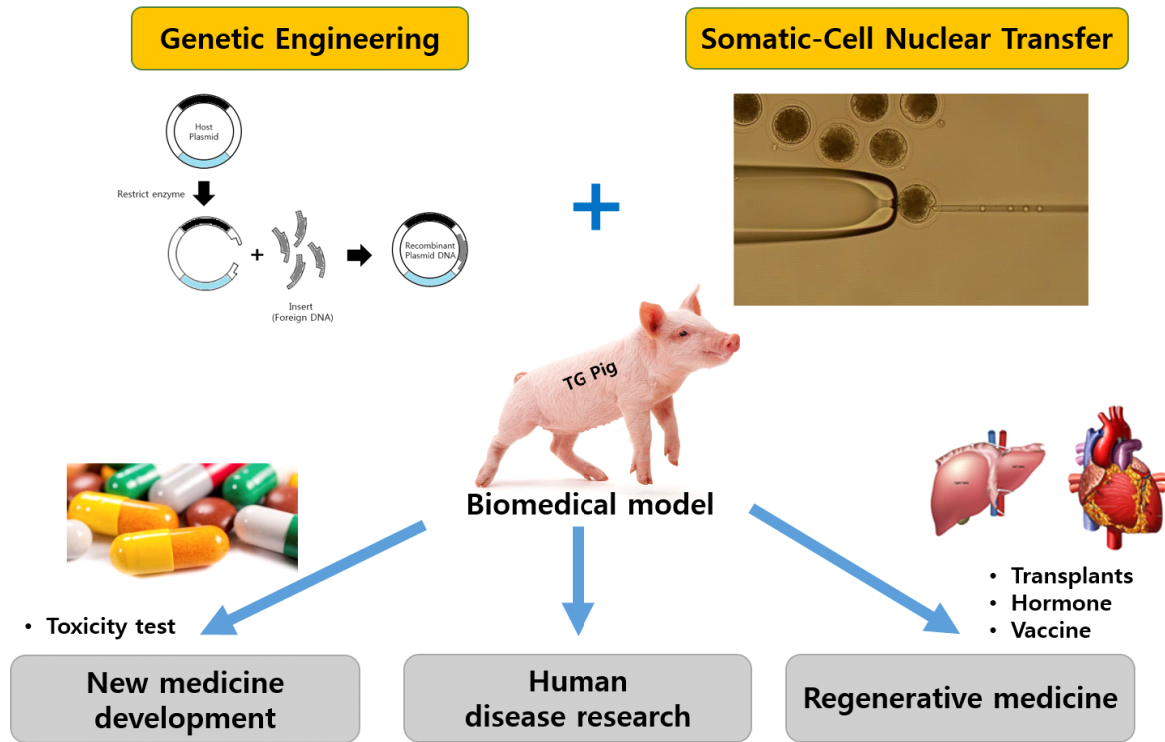


Fig. 1. Various applications of animal disease models that have been produced by genetic engineering and somatic cell nuclear transfer.

뇌종양은 21,716명 이상이 진단되었다. 2010년 기준, 미국에서는 뇌종양으로 43,800명의 새로운 환자가 등록되어, 매년 발병률이 증가추세를 보이고 있으며, 매년 13,000명 이상이 사망하고 있다. 특히 소아의 경우, 소아암 발병 중 1/4을 차지하고 있는 악성종양으로 현재까지 치료기법이 전무한 질환이다(Ostrom 등, 2013). 국내의 경우, 2015년에 발표된 중앙암등록본부 자료에 의하면, 2012년 연 196,987건의 암이 발생되었으며, 뇌종양은 연 1,402건으로 보고된 바 있다(Jung 등, 2015). 뇌종양은 높은 치사율과 유병율을 보이며, 특히, 소아기 뇌종양은 소아기의 악성종양의 12~24%, 전체 고형종양의 40~50%를 차지하고 있다(Lim, 2012).

원발성 뇌종양은 발생학적 다양한 세포 계통에서 파생된 다양한 형태의 종양이다(Huse과 Holland, 2010). 장기의 종양과 마찬가지로, 뇌종양은 조직형태학적으로 분류하고 있으며, 최근 분자병인에 따른 면역조직화학(immunohistochemistry) 특성으로 분류되고 있는 중추신경계(CNS) 종양이다. 지난 20여 년 동안, 성인 및 소아의 일반적인 뇌종양 유형인 악성 신경교종(glioma)과 수모세포종(medulloblastoma)에 관한 기초연구가 많은 진전을 보여왔다. 하지만, 악성 신경교종(glioma)의 경우, 조직학적 실체가 다양하게 구성되어 있어 표준치료기법은 제한적이다. 예를 들어, 가장 공격적인 신경교종(glioma)의 일반적 변형인 교아종(glioblastoma) 환자는 평균 15개월만 생

존할 수 있으며(Stupp 등, 2005; Wen과 Kesari, 2008), 수모세포종(medulloblastoma) 소아환자는 방사선 및 화학치료 요법을 통하여 5년 생존율이 70~80%를 보인다. 하지만, 기존의 치료 기법으로는 장기적인 부작용이 심각한 상황이다(Gilbertson, 2004).

뇌종양 환자는 발생부위에 따라 다양한 신경학적 결손을 나타내고 있으며, 특히 전두엽 병변이 있는 경우, 성격변화, 식성 변화, 도덕관념 상실, 과격한 언어사용, 감정변화, 우울증 등의 증상으로 환자뿐만 아니라, 환자의 가족 구성원 전체가 고통을 받는 사회적 관심과 국가관리가 필요한 주요 질환 중 하나이다(Longo 등, 2011; Organization, 2014).

본 총설에서는 현재까지 뇌종양 분야의 연구 현황 중 뇌종양 유전체 변이 및 발병기전 연구, 원발성 뇌종양 연구를 위한 모델동물 선정 및 개발에 관한 최신 연구 동향과 질환모델동물 중 돼지를 이용한 뇌종양모델 개발의 필요성을 제시하고자 한다.

### 뇌종양 유전체 변이 및 발병기전 연구

최근 20여 년간 암의 진단 및 치료에 있어서는 괄목할 만한 기술적 진보가 있었지만, 암으로 인한 치사율은 아직까지도 높은 현실이며, 현재 암 치료에 가지고 있는 가장 중요한 기술적인 한계성은 암 치료에 대한 저항성을 가진 암세포의

출현과 이러한 세포에 의한 암 재발이 가능하다는 것이다(Jeon 등, 2008). 한 예로서 신경교종(glioma)은 원발성 뇌종양(primary brain tumor)의 60%를 차지하는 종양이며, 현재까지도 방사선 치료 외엔 특별한 치료법이 없는 악성 종양으로서, 특히 가장 악성으로 분류되는 교모세포종(glioblastoma)은 다른 암과 비교하여 방사선 및 항암제 치료에 대한 저항성이 매우 높아, 일단 진단되면 기대 생존기간이 1년에 불과하다(McLendon 등, 2008). 대부분의 종양과 마찬가지로 악성 뇌종양 발생 원인은 특정 종양유발유전자(oncogenes)나 종양억제유전자(tumor suppressor genes)들의 돌연변이에 의한 기능적 활성 및 억제에 기인하는 것으로 보고되고 있으며, 최근 악성뇌종양의 생성 및 발달 과정 중에 일어나고 있는 일련의 유전자 변이의 발견 및 이에 따른 유전자 기능의 변화에 대한 종합적인 분석을 통해 새로운 암 치료에 대한 해법이 제시되고 있다.

성숙된 glia cell 또는 전구세포에서 유래된다고 짐작되는 신경교종(glioma)은 astrocytic, oligodendroglial 및 혼합 oligo-astrocytic 유형으로 분류된다. 무정형의 핵을 보이고, 암세포 증식, 미세혈관 증식 및 괴사가 증가되는 조직학적 특성이 존재하는 경우, 일반적으로 역형성신경교종(anaplastic glioma) 또는 교모세포종(glioblastoma) 중 하나로 높은 등급으로 분류된다(Huse과 Holland, 2010). 교모세포종(glioblastoma)은 diffuse glioma의 악성 변종으로서, 일반적으로 신경교섬유질산성단백질(gliofibrillary acidic protein, GFAP)와 같은 단백질 마커를 발현하여 조직학적으로 astrocytic class로 범주 내에 있지만, 조직발생학적 기원에 대해선 현재 불분명한 상태이다(Huse과 Holland, 2010). 신경교종(glioma)의 발병에 있어 관련 유전자의 경로는 상피성장인자 수용체(EGFR)와 혈소판 유래 성장인자 수용체(PDGFR)와 같은 Receptor tyrosine kinases(RTKs)를 통하고, 종양 발생 신호는 PI3K-AKT-mTOR 및 Ras-MAPK 네트워크에 의해 증대되며, p53의 RB 종양 억제 경로의 결함도 일반적이다(Huse과 Holland, 2010).

소뇌의 미성숙한 신경세포 전구체에서 발생하는 것으로 여겨지는 수모세포종(medulloblastoma)은 원시 신경외배엽성 종양이며, 조직학적으로 밀접하게 포장된 작고 둥근 파란색 세포의 왕성한 세포분열이 특징이다. 모든 수모세포종(medulloblastoma) 유형은 WHO 기준에서 가장 심각한 등급 IV에 포함되며, 유형별 서로 다른 형태학의 특성은 상당한 차이를 보인다(Huse과 Holland, 2010). 결절상 또는 desmoplastic subtype과 밀접하게 관련된 과도한 결절유형을 보이는 수모세포종(medulloblastoma)은 소아에서 발병율이 높게 나타난다(Ghim, 2002). 수모세포종(medulloblastoma)의 pathogenesis 관련 유전자 수준의 경로는 SHH 및 Wnt pathways를 통한 비정상적 신호전달에 기인되며, Wnt signalling 관련 CTNBN1 변이, SHH signalling 관련 PTCH1 변이 또는 SUFU 변이 등을 가져온다

(Huse과 Holland, 2010).

1926년, Cushing와 Bailey는 발생학적 뇌세포 분화 단계에서의 glial 세포 또는 신경세포 전구체 등이 특정 발달시기에 정지되어 중추신경계(CNS) 종양으로 발생함을 제시하여, 원기세포 및 조직발생학 개념을 이끌어냈다(Cushing과 Bailey, 1926). Kernohan과 Ringertz는 다양한 신경교종(glioma)을 유형별 및 등급별 분류체계로 단순화하였다(Kernohan과 Mabon, 1949; Ringertz, 1950). 1979년, Zulch 등은 WHO 보고서를 통하여 CNS 종양의 조직학적 분류를 보고하였다(Zulch, 1979). 2007년, Louis 등은 기존의 WHO 분류 안에서 개선된 “2007 WHO classification of tumors of the CNS”를 보고: 조직발생학에 기초한 형태학적 분류 및 예상되는 생물학적 행동을 반영하는 수단으로 개체별 뇌종양 유형을 I~IV 등급으로 분류하였다(Louis 등, 2007). 위 기준안에 따라, 낮은 등급인 I 및 II 등급보다 위급하고 치료방법이 없는 III 및 IV 등급의 뇌종양 환자의 경우, 보다 공격적 임상시험이 적용되고 있다.

## 원발성 뇌종양 연구를 위한 모델동물 선정 및 개발

뇌종양 관련 발병기전 및 분자학적 수준에서의 유전자 작동 기전, 종양화 과정 등을 이해하기 위해선 *in vivo* 및 *in vitro* 실험시스템 개발이 필수적이다. 이에 많은 연구자들이 지난 20년간 뇌종양 관련 유전자 변형 마우스(Genetic engineering mouse, GEM) 모델 개발 연구를 활발히 진행하였다(Table 1).

기초적인 유전체 연구성과, 유전자 발현 조절시스템 개발 및 유전자 녹아웃 기술 등이 발전을 통하여 다양한 GEM 모델이 소개되어, 다수의 종양유전자 후보군 검증, 세포수준의 종양억제인자 발굴 등의 연구에 기반 연구수단으로 사용되고 있다. 또한, 이러한 시스템에서는 주로 바이러스벡터를 이용한 체세포 내 유전자 전달기술을 사용하고 있으며, 이는 신경섬유종증(neurofibromatosis)과 같은 tumour-predisposing syndromes에 가까운 종양화라기보다는 국소적 종양화 과정을 재현한 수준의 정보를 제공하고 있다.

Nf1과 Trp53은 종양억제유전자(Tumor-suppressor gene)인데, 2000년에 Reilly 등이 처음으로 마우스모델에서 발암유전자(oncogene)을 과발현시키지 않고, 종양억제유전자(Tumor-suppressor gene)인 Nf1과 Trp53의 기능을 상실시킴으로써 낮은 등급의 성상세포종(Astrocytoma)에서 다형성신경교아종(glioblastoma multiforme)을 발생시켰다(Reilly 등, 2000). 이후 2005년에 Zhu 등이 다형성신경교아종(glioblastoma multiforme)의 특징을 보이는 마우스 모델을 생산하였고, 최근에는 Pten signaling도 억제함으로써 높은 등급의 성상세포종(astrocytomas)을 형성하는 모델을 생산하였다(Kwon 등, 2008; Zhu 등, 2005) (Table 2).

Table 1. List of reported GEM models for study of primary brain tumors

Model	Study	Reference
V12Ha-ras	GFAP를 이용한 V12Ha-ras 유전자 삽입 mice	(Federspiel <i>et al.</i> , 1994; Talmadge <i>et al.</i> , 2007)
SV40 T-antigen	Glial fibrillary acidic protein promoter (GFAPR)를 이용한 SV40 T antigen 발현 TG mice	(Danks <i>et al.</i> , 1995)
CDKN2/p16 or RB	교모세포종(glioblastoma) 유형내 CDKN2/p16 or RB 유전자 변이 연구	(Ueki <i>et al.</i> , 1996)
Ink4a-Arf $-/-$ , K-ras and Akt	교모세포종(glioblastoma) 모델 연구를 위한 RCAS/tv-a; GFAP를 이용한 Ink4a-Arf $-/-$ , K-ras 및 Akt 유전자 TG mice	(Uhrbom <i>et al.</i> , 1998)
PDGF-B	Astrocytomas 및 neurofibromas 개체에서의 Ras 활성화	(Uhrbom <i>et al.</i> , 1998)
PDGF-B	PDGF-B 유전자 삽입된 MoMuLV-injected C57B16 mice	(Macleod & Jacks, 1999)
Nf1 and Trp53	교모세포종(glioblastoma) 모델 Nf1; Trp53 mutant mice	(Reilly <i>et al.</i> , 2000)
Ras and Akt	신경전구체 세포내 Ras 및 Akt 유전자 복합 활성화 mice	(Holland <i>et al.</i> , 2000)
PDGF-B	Oligodendrogliomas 관련 신경전구세포 및 astrocytes 분석	(Dai <i>et al.</i> , 2001)
p53 $-/-$ , Nf1 $-/-$	Cre-lox system를 이용한 p53 $-/-$ , Nf1 $-/-$ mice	(Zhu <i>et al.</i> , 2002a)
S100 $\beta$ -v-erbB	S100 $\beta$ 를 이용한 v-erb (EGFR) TG rats	(Ohgaki <i>et al.</i> , 2006)
PDGF-B	PDGF-B 유전자 삽입된 RCAS/tv-a mice를 이용한 cyclooxygenase-2 inhibition 분석	(Talmadge <i>et al.</i> , 2007)
p53 $-/-$ , Nf1 $-/-$ , PTEN $+/-$	GFAP-driven cre-lox system를 이용한 p53 $-/-$ , Nf1 $-/-$ , PTEN $+/-$ mice	(Kwon <i>et al.</i> , 2008)
PDGF-B	Spinal glioma 연구를 위한 Tetracycline system를 이용한 PDGFB 유전자 삽입 척수종양 mice	(Hitoshi <i>et al.</i> , 2008)
IDH1 and IDH2	신경교종(glioma)에서의 IDH1 and IDH2 mutations 보고	(Yan <i>et al.</i> , 2009)
PDGF-B and Ink4a-Arf $-/-$	성인 신경교종(glioma)모델용 RCAS/tv-a; cre-lox system를 이용한 PTEN deletion mice	(Hambardzumyan <i>et al.</i> , 2009)
v-src	교모세포종(glioblastoma) 유래 세포 연구를 위한 GFAP를 이용한 v-src 발현	(Wee <i>et al.</i> , 2011)

PDGF-B = platelet-derived growth factor B-chain, PTEN = phosphatase and tensin homolog, RCAS/tv-a = replication competent avian leucosis virus splice acceptor/receptor for avian leukosis virus subgroup A.

Table 2. A number of GEM model for studying tumor pathogenesis induced with combined loss of neurofibromin 1 (NF1) and p53 on malignant glioma

Genetic modification	Title	Reference
Combined loss of neurofibromin 1 (NF1) and p53	Nf1; Trp53 mutant mice develop glioblastoma with evidence of strain-specific effects.	(Reilly <i>et al.</i> , 2000)
	Early inactivation of p53 tumor suppressor gene cooperating with NF1 loss induces malignant astrocytoma.	(Zhu <i>et al.</i> , 2005)
	Pten haploin sufficiency accelerates formation of high-grade astrocytomas.	(Kwon <i>et al.</i> , 2008)
	Malignant astrocytomas originate from neural stem/progenitor cells in a somatic tumor suppressor mouse model.	(Llaguno <i>et al.</i> , 2009)

또한 Xiao 등은 2002년에 GFAP 프로모터로 조절되는 transgenic SV40 T antigen으로 정상세포(astrocytes) 내에 pRb, p107, p130을 불활성화시켜 비정상적인 증식과 광범위한 세포사멸을 유도하였다. 그 결과, 높은 등급의 정상세포종(astrocytoma)을 유도할 수 있었다(Xiao 등, 2002). 이후 2005년에는 aggressive한 정상세포종(astrocytoma)에서만 빈번히 변이되는 Pten 유전자를 추가로 조절함으로써, 종양진행의 증상인 세포사멸 억제, 세포침입 증가, 신생혈관 생성(angiogenesis)과 같은 높은 등급의 정상세포종(astrocytoma)의 특징을 확인하였다. 이로써 정상세포종(astrocytoma) 억제에 있어 Pten 매커니즘에 대한 정보를 제공하였다(Xiao 등, 2005) (Table 3).

모든 등급의 oligodendrogliomas에서 EGFR이 과발현되고, 반면 ink4a/arf의 결실은 높은 등급에서만 발견된다고 알려졌다(Weiss 등, 2003). 혈소판유래증식인자(Platelet derived growth factor, PDGF)는 많은 종양들에서 발현되는데, Shih 등은 PDGFR signaling이 종양의 등급을 조절하고, 높은 등급의 oligodendrogliomas를 유지한다고 보고하였다(Dai 등, 2001; Shih 등, 2004; Uhrbom 등, 1998). 그리고 다형성교아종(glioblastoma multiformes, GBM)에서 RTK 수용체의 비정상적 발현은 중추 신경계에서 발생하는 종양들의 시작과 유지에 역할을 암시하고, 실제로 orphan RTK ROS의 이소성 발현은 인간의 뇌종양에서

빈번하게 나타나는 이벤트라고 보고된 바 있다. 또한 2006년에 Charest 등은 FIG-ROS가 발현되는 마우스 모델을 만들어 교모세포종(glioblastoma)의 형성을 이끌고, 이러한 종양의 형성이 종양 억제유전자들(p16Ink4a;p19Arf)의 부재로 크게 가속되는 것을 보였다(Charest 등, 2006) (Table 4).

많은 인간 GBMs에서 RAS의 활성이 증가됨이 발견되었다(Guha 등, 1997). 이후 2000년에 Holland 등은 Ras와 Akt의 활성화된 형태를 encoding하는 유전자를 마우스의 정상세포(astrocytes)와 신경전구세포(neural progenitors)로 이식했다. 그 결과, 각각의 활성화된 Ras 또는 Akt는 홀로 GBM 형성을 유도하지 못하였다. 하지만 Ras와 Akt가 함께 활성화 되었을 경우, 높은 등급의 인간 GBM의 조직학적 특징을 가지는 신경교종(glioma)이 유도되었다고 보고하였다(Holland 등, 2000). 2001년에 Ding 등은 신경교섬유질산성단백질(glial fibrillary acidic protein, GFAP) 프로모터를 사용하여 정상세포(astrocytes) 부분에서 특이적으로 oncogenic V12Ha-ras가 발현되는 정상세포종(astrocytoma) GEM 모델을 생산하였다. 정상세포(astrocytes)에서 V12Ha-ras의 높은 발현을 보인 마우스는 2주내에 악성 정상세포종(malignant astrocytomas)으로 죽었지만, 적절한 V12Ha-ras의 높은 발현을 보인 마우스는 생식선 전달(germline transmission)도 가능했다. 이중에 95%는 2~6개월 내에 높은 등급

Table 3. A number of GEM model for studying tumor pathogenesis induced with RB depletion on malignant glioma

Genetic modification	Title	Reference
RB depletion	Astrocyte inactivation of the pRb pathway predisposes mice to malignant astrocytoma development that is accelerated by PTEN mutation.	(Xiao <i>et al.</i> , 2002)
	Somatic induction of Pten loss in a preclinical astrocytoma model reveals major roles in disease progression and avenues for target discovery and validation.	(Xiao <i>et al.</i> , 2005)

Table 4. A number of GEM model for studying tumor pathogenesis induced with augmented RTK signaling on malignant glioma

Genetic modification	Title	Reference
Augmented RTK signaling	PDGF autocrine stimulation dedifferentiates cultured astrocytes and induces oligodendrogliomas and oligoastrocytomas from neural progenitors and astrocytes <i>in vivo</i> .	(Dai <i>et al.</i> , 2001).
	Genetic determinants of malignancy in a mouse model for oligodendroglioma.	(Weiss <i>et al.</i> , 2003)
	Dose-dependent effects of platelet derived growth factor-B on glial tumorigenesis.	(Shih <i>et al.</i> , 2004)
	Induction of brain tumors in mice using a recombinant platelet-derived growth factor B-chain retrovirus.	(Uhrbom <i>et al.</i> , 1998)
	Modeling adult gliomas using RCAS/t-va technology.	(Hambardzumyan <i>et al.</i> , 2009)
	ROS fusion tyrosine kinase activates a SH2 domain-containing phosphatase-2/ phosphatidylinositol 3-kinase/mammalian target of rapamycin signaling axis to form glioblastoma in mice.	(Charest <i>et al.</i> , 2006)

의 성상세포종(astrocytomas)으로 죽었다. 여기서 발생한 성상 세포종은 인간의 성상 세포종에 병적으로 유사한 특징을 보였다(Ding 등, 2001) (Table5).

하지만 동물분류학적 인간과 먼 마우스 및 랫트를 이용한 이러한 GEM 모델은 인간과의 유전자, 세포, 조직, 장기 및 생물분류학적인 이질성으로 인간의 다양한 뇌종양 유형을 재현하기에는 제한적이다 (Howells 등, 2010). 따라서 종양유발유전자(oncogenes)나 종양억제유전자(tumor suppressor genes)들의 특성 규명과 항암제의 효능, 독성 연구에 설치류만을 사용하는 것에는 그 한계가 명확하다. 하지만 현재까지 다른 대안이 없어 현재 대부분의 GEM 모델은 개발된 치료제에 특정 신경교종(glioma) 또는 수모세포종(medulloblastoma)에만 국한되어, 생물학적 모델 수준에서 행하여지는 전임상단계 초기 시험에만 적용되고 있는 실정이다.

아마도 이것이 실제 신약개발에 있어 임상단계에서 실패하고 있는 주된 요인이라고 생각된다. 따라서 인간에게 적용되어야 할 항암제의 효능과 독성 연구를 해부 생리학적으로 인간과 가장 유사하여 이종장기 이식에도 사용되는 돼지를 사용하여 확인할 수 있는 모델을 만든다면, 뇌종양 관련 발병기전 및 종양화 과정에 대한 연구와 나아가 고부가가치 산업인 항암제 개발도 큰 기여를 할 것으로 여겨진다.

### Translational Research 분야에서 형질전환 돼지의 활용도 증대

의약학 및 기초생명과학계 등 다양한 최신 생명공학분야로 응용 가능한 고부가가치 수익모델인 형질전환동물 개발분야

는 국가의 차세대 성장동력으로 전세계 무한경쟁 속에서 바이오산업을 주도할 수 있는 주요 기술이다. 최신 생명공학 기술의 발전으로 분화가 종료된 체세포를 체세포핵이식(Somatic Cell Nuclear Transfer, SCNT) 기법을 이용하여 미분화 상태의 원기세포로 환원하여 생명체를 유도할 수 있는 세포의 특성을 전능세포(Totipotent cells)라 하며, 태반형성은 불가능하여 생명체를 형성할 수 없으나 신체를 구성하고 있는 모든 세포로 시험관내에서 분화 가능한 세포의 특성은 만능세포(Pluripotent cells)라 한다(Jaenisch과 Young, 2008). 탈핵된 난모세포질 내 목적으로 하는 체세포의 핵을 이식하여 발생시키는 기술인 SCNT 기법은 세포의 전능성 재현을 통하여 유전적으로 동일한 특정 동물을 개발하며, 시험관내 만능성 재현을 통하여 배아줄기세포와 같은 특수세포를 분리하기 위한 방법으로 적용되고 있다. 최근, 세포의 전능성을 응용하여 유전적으로 우수한 가축의 대량생산, 고가의 유용물질을 생산하기 위한 bio-reactor system 개발, 의학 분야에서 이종 간 장기 이식을 목적으로 한 바이오 장기 공여 동물의 생산, 질병저항성모델 및 질환모델 동물의 생산 등 매우 광범위한 분야에서 활발히 연구되고 있다(McGregor 등, 2005; Ramirez 등, 2005; Suzuki 등, 2012).

이러한 형질전환 동물 대상 중 돼지는 해부학적 생리학적 으로 사람과 가장 유사한 동물로 주된 대상동물로 주목을 받고 있으며, 이를 위한 형질전환돼지의 생산에 관한 연구가 전세계적으로 활발히 진행되고 있다(Kararli, 1995). 그러나 현재 형질전환 돼지의 생산효율은 매우 낮은 실정이다. 태어난 산자를 기준으로 산정할 경우, Walker 등(2002)이 보고한 5.5% (28두/511개 핵 이식란 이식)의 산자생산율을 제외하면 대부분 1~2%의 효율을 보이고 있다(Bethausser 등, 2000; Coleman,

Table 5. A number of GEM model for studying tumor pathogenesis induced with targeted activation of Ras-MAPK pathway on malignant glioma

Genetic modification	Title	Reference
	mTOR promotes survival and astrocytic characteristics induced by Pten/AKT signaling in glioblastoma.	(Hu <i>et al.</i> , 2005)
	Oligodendrogliomas result from the expression of an activated mutant epidermal growth factor receptor in a RAS transgenic mouse astrocytoma model.	(Ding <i>et al.</i> , 2003)
Targeted activation of Ras-MAPK pathway	Ink4a-Arf loss cooperates with KRas activation in astrocytes and neural progenitors to generate glioblastomas of various morphologies depending on activated Akt.	(Uhrbom <i>et al.</i> , 2002)
	High-grade glioma formation results from postnatal Pten loss or mutant epidermal growth factor receptor expression in a transgenic mouse glioma model.	(Wei <i>et al.</i> , 2006)
	Astrocyte-specific expression of activated p21-ras results in malignant astrocytoma formation in a transgenic mouse model of human gliomas.	(Ding <i>et al.</i> , 2001)
	Combined activation of Ras and Akt in neural progenitors induces glioblastoma formation in mice.	(Holland <i>et al.</i> , 2000)

1999; Hoshino 등, 2005). 이러한 낮은 임신 및 산자생산 효율 저하는 형질전환배아 작성과정에서 사용되는 난자의 체외성숙 및 체세포의 처리 등의 형질전환 기법이 현재까지는 불완전하기 때문이다. 또한, 형질전환 배아의 낮은 발육능과 임신이 성립되기 위해서는 최소한 3~4두 이상의 태아가 착상해야 하는 돼지의 생리적 특성도 주요 원인이다(Walker 등, 2002).

이렇게 어렵게 형질전환동물이 태어나도 복제동물의 13.3%가 거대산자가 생산되고 있으며, 이를 “거대산자증후군(Large offspring syndrome, LOS)” 또는 “기형산자증후군(abnormal offspring syndrome)”이라 하며, 주된 임상증상으로 간비대, 진피출혈, 넷째 뇌실의 수두증 등을 보인다(Farin 등, 2015; Park 등, 2001). 복제동물 중 주로 소, 양 및 마우스에서 태반의 병리학적 보고가 주를 이루고 있으며, 복제돼지 및 형질전환돼지의 태반형성 및 착상기전 연구는 전무한 실정이다(Young 등, 1998).

이러한 매우 낮은 산자생산율 및 비정상 산자가 태어나는 원인을 규명하기 위해, 주로 형질전환 배아의 DNA 메틸화 및 히스톤 단백질의 아세틸화 유형을 분석하는 연구가 몇몇 연구자에 의한 진행되어 왔으나, 아직까지 정확한 원인은 규명되고 있지 않고 있다(Ogura 등, 2013; Whitworth과 Prather, 2010). 따라서 뇌종양 질환모델 돼지를 생산하기 위해서는 외래유전자를 도입할 세포질의 체외성숙 배양, 외래유전자를 체세포 내로 운반하는 효과적인 벡터의 개발, 외래유전자가 도입된 형질전환 SCNT 전능세포의 체외배양, 형질전환 SCNT 전능세포의 이용효율 증대 및 형질전환 SCNT 전능세포의 대리모로의 이식에 의한 형질전환동물의 생산효율 증대 등에 관한 기초 연구와 기술개선이 필요하다.

### 체세포핵이식을 통한 복제동물생산의 문제점

현재까지의 체세포 복제동물 생산기술의 문제점으로 우선 외래유전자 도입기술 및 시험관내 형질전환체 생산의 비효율성이 있는데, 이는 형질전환 타겟 유전자의 불완전한 리프그

래밍으로 인해 형질전환기술이 불완전하기 때문이다(Rideout 등, 2001). 또한 이식될 형질전환배아의 생존성을 정확히 평가할 수 있는 기준의 부재로 인해 체내 수태율을 예측할 수 없다는 것과 형질전환배아의 체외 및 체내에 있어서 생존율을 향상시킬 수 있는 배양기술의 부재가 있다. 게다가, 생산된 형질전환배아의 동결보존기술이 확립되어 있지 않아 산업적 이용에 관한 시간적·공간적 제약이 극복할 수 없으며, 형질전환배아의 생산과 현장의 수요를 연계시킬 수 있는 체계가 미비하여 실험적 시도의 기회가 소수의 과학자들에게만 제공되고 있는 실정이다.

형질전환 복제 돼지 생산에 있어 착상의 실패, 유산, 조산, 사산 및 난산과 출생 후의 높은 폐사율이 나타나고 있으나, 이를 규명하기 위한 연구로 SCNT를 이용한 전능세포 제작 기술 요소에만 집중 연구되어 왔다(Jin 등, 2014). 하지만 유전자 과발현 시스템을 이용한 형질전환 동물 생산시, 착상 전배아 발달단계에서의 발달 저해, 기형 발생, 그리고 개체의 사망 등의 사례가 많은데, 이러한 현상은 발생학적 주요 유전자의 변이 및 도입 유전자의 제어가 불가능함으로써 발생되는 것으로 생각된다(Table 6).

따라서 이와 같은 도입된 유전자의 활성으로 인한 배아의 발달 저해를 피하기 위하여 타겟유전자 발현의 시간적 조절이 요구된다. 많은 연구자들이 목적 유전자의 시간적 전사 조절을 위하여 에크디손 유전자 조절 스위치, 락 활성저해 시스템, 그리고 유도성 Gal4/UAS 시스템 등과 같은 많은 전사 조절 시스템을 개발하였으나(Zhu 등, 2002b), 보다 정확한 전사 조절을 통해 배아의 발달저해를 방지할 수 있는 시스템이 필요하다. 예를 들면, Tet on/off 시스템은 유도 조절자에 의한 높은 반응민감도, 체내에서의 유도인자의 안정성 및 독성, 그리고 간편한 사용과 저렴한 가격, 무엇보다 발현유전자의 소실(leakiness)을 막는 효과적인 전사 조절 시스템으로 알려져 있다 (Jin 등, 2014).

### 향후 전략 및 전망

Table 6. Somatic cell nuclear transfer data according to the donor cell type

Donor cell line	No. of oocytes	Fused (%)	No.(%)* of embryos developed to	
			≥ 2-cell	Blastocyst
Normal fibroblast donor cell	250	169 (71.8±6.1)	124 (73.8±4.0) <sup>a</sup>	33 (19.5±1.2) <sup>a</sup>
Transgenic donor cell	246	141 (61.0±4.7)	69 (48.6±2.4) <sup>b</sup>	8 ( 5.6±1.8) <sup>b</sup>
Inducible-transgenic donor cell	240	174 (78.1±7.0)	112 (64.3±0.6) <sup>ab</sup>	34 (20.0±2.3) <sup>a</sup>

Values with different superscript letters (<sup>a,b</sup>) within a column differ significantly ( $P<0.05$ ).

Experiment was repeated three times. The data represent means±SEM.

\* Percentage of total fused oocytes.

돼지는 해부생리학적으로 인간과 유사하여 신약개발과 동물질병모델 및 재생의학분야에 있어 마우스나 랫트에 비해 적합하다고 알려졌다. 그에 많은 연구자들이 돼지를 이용한 연구모델을 개발하고자 노력하고 있다. 하지만 중대형 동물의 특성상 사육 및 처치가 어려워 그 개발에 시간 및 노력이 많이 필요하다. 따라서 좀 더 효율적으로 중계의학에 필수적인 동물모델을 개발하기 위해서, 우선 타겟유전자의 시기적 조절 장치를 통한 발생단계에서의 유해한 유전자 간섭을 줄이고, 다양한 공여핵원 세포주인 체세포, ES 및 iPS 등의 세포주를 이용한 타겟 유전자의 효율적 전달시스템 기술 개발이 시급하며, 형질전환체 생산용 생식세포 확보 및 착상 전 전능세포 발달의 제어기술 확립이 필요하다. 또한 inducible system을 이용하여 발생학적 시기에 정상발달을 유도하며, 질환모델로서 적합한 시기에 중앙유발 유전자를 활성화시킨다면 뇌종양과 같은 악성 질환모델도 개발할 수 있을 것으로 기대된다.

## REFERENCES

- Bethhauser J, Forsberg E, Augenstein M, Childs L, Eilertsen K, Enos J, Forsythe T, Golueke P, Jurgella G and Koppang R. 2000. Production of cloned pigs from *in vitro* systems. *Nat. Biotechnol.* 18:1055-1059.
- Charest A, Wilker EW, McLaughlin ME, Lane K, Gowda R, Coven S, McMahon K, Kovach S, Feng Y and Yaffe MB. 2006. ROS fusion tyrosine kinase activates a SH2 domain-containing phosphatase-2/phosphatidylinositol 3-kinase/mammalian target of rapamycin signaling axis to form glioblastoma in mice. *Cancer Res.* 66:7473-7481.
- Coleman A. 1999. Somatic cell nuclear transfer in mammals: Progress and application. *Cloning* 1:185-200.
- Cushing H and Bailey P. 1926. Classification of tumors of the glioma group on a histogenetic basis with a correlated study of prognosis. *Can. Med. Assoc. J.* 16:872.
- Dai C, Celestino JC, Okada Y, Louis DN, Fuller GN and Holland EC. 2001. PDGF autocrine stimulation dedifferentiates cultured astrocytes and induces oligodendrogliomas and oligoastrocytomas from neural progenitors and astrocytes *in vivo*. *Genes. Dev.* 15:1913-1925.
- Danks RA, Orian JM, Gonzales MF, Tan S-S, Alexander B, Mikoshiba K and Kaye AH. 1995. Transformation of astrocytes in transgenic mice expressing SV40 T antigen under the transcriptional control of the glial fibrillary acidic protein promoter. *Cancer. Res.* 55:4302-4310.
- Ding H, Roncari L, Shannon P, Wu X, Lau N, Karaskova J, Gutmann DH, Squire JA, Nagy A and Guha A. 2001. Astrocyte-specific expression of activated p21-ras results in malignant astrocytoma formation in a transgenic mouse model of human gliomas. *Cancer Res.* 61:3826-3836.
- Ding H, Shannon P, Lau N, Wu X, Roncari L, Baldwin RL, Takebayashi H, Nagy A, Gutmann DH and Guha A. 2003. Oligodendrogliomas result from the expression of an activated mutant epidermal growth factor receptor in a RAS transgenic mouse astrocytoma model. *Cancer Res.* 63:1106-1113.
- Farin CE, Barnwell CV and Farmer WT. 2015. Abnormal Offspring Syndrome. *Bovine Reproduction* 620-638.
- Federspiel MJ, Bates P, Young J, Varmus HE and Hughes SH. 1994. A system for tissue-specific gene targeting: transgenic mice susceptible to subgroup A avian leukosis virus-based retroviral vectors. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 91:11241-11245.
- Ghim TT. 2002. Childhood brain tumors. *Korean J. Pediatr.* 45:1055-1058.
- Gilbertson RJ. 2004. Medulloblastoma: Signalling a change in treatment. *The Lancet. Oncology* 5:209-218.
- Guha A, Feldkamp MM, Lau N, Boss G and Pawson A. 1997. Proliferation of human malignant astrocytomas is dependent on Ras activation. *Oncogene* 15:2755-2765.
- Hambardzumyan D, Amankulor NM, Helmy KY, Becher OJ and Holland EC. 2009. Modeling adult gliomas using RCAS/t-va technology. *Translational Oncology* 2:89-IN86.
- Hara H, Ezzelarab M, Rood PP, Lin YJ, Busch J, Ibrahim Z, Zhu X, Ball S, Ayares D and Zeevi A. 2006. Allosensitized humans are at no greater risk of humoral rejection of GT KO pig organs than other humans. *Xenotransplantation* 13:357-365.
- Hitoshi Y, Harris BT, Liu H, Popko B and Israel MA. 2008. Spinal glioma: Platelet-derived growth factor B-mediated oncogenesis in the spinal cord. *Cancer Res.* 68:8507-8515.
- Holland EC, Celestino J, Dai C, Schaefer L, Sawaya RE and Fuller GN. 2000. Combined activation of Ras and Akt in neural progenitors induces glioblastoma formation in mice. *Nat. Genet.* 25:55-57.
- Hoshino Y, Uchida M, Shimatsu Y, Miyake M, Nagao Y, Minami N, Yamada M and Imai H. 2005. Developmental competence of somatic cell nuclear transfer embryos reconstructed from oocytes matured *in vitro* with follicle shells in miniature pig. *Cloning Stem Cells* 7:17-26.



- Howells DW, Porritt MJ, Rewell SS, O'Collins V, Sena ES, van der Worp HB, Traystman RJ and Macleod MR. 2010. Different strokes for different folks: The rich diversity of animal models of focal cerebral ischemia. *J. Cereb. Blood Flow. Metab.* 30:1412-1431.
- Hu X, Pandolfi PP, Li Y, Koutcher JA, Rosenblum M and Holland EC. 2005. mTOR promotes survival and astrocytic characteristics induced by Pten/AKT signaling in glioblastoma. *Neoplasia* 7:356-368.
- Huse JT and Holland EC. 2010. Targeting brain cancer: Advances in the molecular pathology of malignant glioma and medulloblastoma. *Nat. Rev. Cancer* 10:319-331.
- Huszthy PC, Daphu I, Niclou SP, Stieber D, Nigro JM, Sakariassen PØ, Miletic H, Thorsen F and Bjerkvig R. 2012. *In vivo* models of primary brain tumors: Pitfalls and perspectives. *Neuro-oncol.* 14:979-993.
- Jaenisch R and Young R. 2008. Stem cells, the molecular circuitry of pluripotency and nuclear reprogramming. *Cell* 132:567-582.
- Jeon H-M, Jin X, Lee J-S, Oh S-Y, Sohn Y-W, Park H-J, Joo KM, Park W-Y, Nam D-H and DePinho RA. 2008. Inhibitor of differentiation 4 drives brain tumor-initiating cell genesis through cyclin E and notch signaling. *Genes Dev.* 22:2028-2033.
- Jin Y-X, Jeon Y, Lee S-H, Kwon M-S, Kim T, Cui X-S, Hyun S-H and Kim N-H. 2014. Production of pigs expressing a transgene under the control of a tetracycline-inducible system. *PLoS One.* 15:e86146.
- Jung K-W, Won Y-J, Kong H-J, Oh C-M, Cho H, Lee DH and Lee KH. 2015. Cancer statistics in Korea: Incidence, mortality, survival, and prevalence in 2012. *Cancer Research and Treatment: Official Journal of Korean Cancer Association* 47:127.
- Kararli TT. 1995. Comparison of the gastrointestinal anatomy, physiology, and biochemistry of humans and commonly used laboratory animals. *Biopharm Drug Dispos.* 16:351-380.
- Kernohan JW and Mabon R. 1949. A simplified classification of the gliomas. *Proceedings of the Staff Meetings Mayo Clinic* 24:71-75.
- Kwon C-H, Zhao D, Chen J, Alcantara S, Li Y, Burns DK, Mason RP, Eva Y-HL, Wu H and Parada LF. 2008. Pten haploinsufficiency accelerates formation of high-grade astrocytomas. *Cancer Res.* 68:3286-3294.
- Li X, Zhou X, Guan Y, Wang Y-XJ, Scutt D and Gong Q-Y. 2006. N-nitrosodiethylamine-induced pig liver hepatocellular carcinoma model: Radiological and histopathological studies. *Cardiovasc Intervent Radiol.* 29:420-428.
- Lim DH. 2012. 소아뇌종양의 치료 원칙. *J. Korean Med. Assoc.* 55:418-419.
- Llaguno SA, Chen J, Kwon C-H, Jackson EL, Li Y, Burns DK, Alvarez-Buylla A and Parada LF. 2009. Malignant astrocytomas originate from neural stem/progenitor cells in a somatic tumor suppressor mouse model. *Cancer Cell* 15:45-56.
- Longo D, Fauci A, Kasper D and Hauser S. 2011. *Harrison's Principles of Internal Medicine 18th edition* (McGraw-Hill Professional).
- Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavenee WK, Burger PC, Jouvet A, Scheithauer BW and Kleihues P. 2007. The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system. *Acta. Neuropathol.* 114:97-109.
- Macleod KF and Jacks T. 1999. Insights into cancer from transgenic mouse models. *J. Pathol.* 187:43-60.
- McGregor CG, Davies WR, Oi K, Teotia SS, Schirmer JM, Risdahl JM, Tazelaar HD, Kremers WK, Walker RC and Byrne GW. 2005. Cardiac xenotransplantation: Recent pre-clinical progress with 3-month median survival. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 130:844, e841-844, e849.
- McLendon R, Friedman A, Bigner D, Van Meir EG, Brat DJ, Mastrogiannis GM, Olson JJ, Mikkelsen T, Lehman N and Aldape K. 2008. Comprehensive genomic characterization defines human glioblastoma genes and core pathways. *Nature* 455:1061-1068.
- McNeil CJ, Nwagwu MO, Finch AM, Page KR, Thain A, McArdle HJ and Ashworth CJ. 2007. Glucocorticoid exposure and tissue gene expression of 11 $\beta$  HSD-1, 11 $\beta$  HSD-2, and glucocorticoid receptor in a porcine model of differential fetal growth. *Reproduction* 133:653-661.
- Ogura A, Inoue K and Wakayama T. 2013. Recent advancements in cloning by somatic cell nuclear transfer. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 368:20110329.
- Ohgaki H, Kita D, Favereaux A, Huang H, Homma T, Dessen P, Weiss WA, Kleihues P and Heppner FL. 2006. Brain tumors in S100 $\beta$ -v-erbB transgenic rats. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 65:1111-1117.
- Organization WH. 2014. *World Cancer Report, 2014*. WHO Report Geneva: WHO.
- Ostrom QT, Gittleman H, Farah P, Ondracek A, Chen Y,

- Wolinsky Y, Stroup NE, Kruchko C and Barnholtz-Sloan JS. 2013. CBTRUS statistical report: Primary brain and central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2006-2010. *Neuro-oncol.* 15:ii1-ii56.
- Park K-W, Cheong H-T, Lai L, Im G-S, Kühholzer B, Bonk A, Samuel M, Rieke A, Day BN and Murphy CN. 2001. Production of nuclear transfer-derived swine that express the enhanced green fluorescent protein. *Anim. Biotechnol.* 12:173-181
- Ramirez P, Montoya M, Rios A, Palenciano CG, Majado M, Chávez R, Munoz A, Fernández O, Sánchez A and Segura B. 2005. Prevention of hyperacute rejection in a model of orthotopic liver xenotransplantation from pig to baboon using polytransgenic pig livers (CD55, CD59, and H-transferase). *Transplant Proc.* 37:4103-6.
- Reilly KM, Loisel DA, Bronson RT, McLaughlin ME and Jacks T. 2000. Nf1; Trp53 mutant mice develop glioblastoma with evidence of strain-specific effects. *Nat. Genet.* 26:109-113.
- Rideout WM, Eggan K and Jaenisch R. 2001. Nuclear cloning and epigenetic reprogramming of the genome. *Science* 293:1093-1098.
- Ringertz N. 1950. Grading of gliomas. *Acta. Pathol. Microbiol. Scand.* 27:51-64.
- Schuurman H-J and Pierson R. 2008. Progress towards clinical xenotransplantation. *Front Biosci.* 13:204-220.
- Shih AH, Dai C, Hu X, Rosenblum MK, Koutcher JA and Holland EC. 2004. Dose-dependent effects of platelet-derived growth factor-B on glial tumorigenesis. *Cancer Res.* 64:4783-4789.
- Stupp R, Mason WP, Van Den Bent MJ, Weller M, Fisher B, Taphoorn MJ, Belanger K, Brandes AA, Marosi C and Bogdahn U. 2005. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *N. Engl. J. Med.* 352:987-996.
- Suzuki S, Iwamoto M, Saito Y, Fuchimoto D, Sembon S, Suzuki M, Mikawa S, Hashimoto M, Aoki Y and Najima Y. 2012. Il2rg gene-targeted severe combined immunodeficiency pigs. *Cell Stem Cell* 10:753-758.
- Talmadge JE, Singh RK, Fidler IJ and Raz A. 2007. Murine models to evaluate novel and conventional therapeutic strategies for cancer. *Am. J. Pathol.* 170:793-804.
- Ueki K, Ono Y, Henson JW, Efrid JT, von Deimling A and Louis DN. 1996. CDKN2/p16 or RB alterations occur in the majority of glioblastomas and are inversely correlated. *Cancer Res.* 56:150-153.
- Uhrbom L, Dai C, Celestino JC, Rosenblum MK, Fuller GN and Holland EC. 2002. Ink4a-Arf loss cooperates with KRas activation in astrocytes and neural progenitors to generate glioblastomas of various morphologies depending on activated Akt. *Cancer Res.* 62:5551-5558.
- Uhrbom L, Hesselager G, Nistér M and Westermark B. 1998. Induction of brain tumors in mice using a recombinant platelet-derived growth factor B-chain retrovirus. *Cancer Res.* 58:5275-5279.
- Walker SC, Shin T, Zaunbrecher GM, Romano JE, Johnson GA, Bazer FW and Piedrahita JA. 2002. A highly efficient method for porcine cloning by nuclear transfer using *in vitro*-matured oocytes. *Cloning & Stem Cells* 4:105-112.
- Wee B, Charles N, and Holland EC. 2011. Animal models to study cancer-initiating cells from glioblastoma. *Front Biosci. (Landmark Ed).* 16:2243-2258.
- Wei Q, Clarke L, Scheidenhelm DK, Qian B, Tong A, Sabha N, Karim Z, Bock NA, Reti R and Swoboda R. 2006. High-grade glioma formation results from postnatal pten loss or mutant epidermal growth factor receptor expression in a transgenic mouse glioma model. *Cancer Res.* 66:7429-7437.
- Weiss WA, Burns MJ, Hackett C, Aldape K, Hill JR, Kuriyama H, Kuriyama N, Milshteyn N, Roberts T and Wendland MF. 2003. Genetic determinants of malignancy in a mouse model for oligodendroglioma. *Cancer Res.* 63:1589-1595.
- Wen PY and Kesari S. 2008. Malignant gliomas in adults. *N. Engl. J. Med.* 359: 492-507.
- Whitworth KM and Prather RS. 2010. Somatic cell nuclear transfer efficiency: How can it be improved through nuclear remodeling and reprogramming? *Mol. Reprod. Dev.* 77:1001-1015.
- Xiao A, Wu H, Pandolfi PP, Louis DN and Van Dyke T. 2002. Astrocyte inactivation of the pRb pathway predisposes mice to malignant astrocytoma development that is accelerated by PTEN mutation. *Cancer Cell* 1:157-168.
- Xiao A, Yin C, Yang C, Di Cristofano A, Pandolfi PP and Van Dyke T. 2005. Somatic induction of Pten loss in a pre-clinical astrocytoma model reveals major roles in disease progression and avenues for target discovery and validation. *Cancer Res.* 65:5172-5180.
- Yan H, Parsons DW, Jin G, McLendon R, Rasheed BA, Yuan W, Kos I, Batinic-Haberle I, Jones S and Riggins GJ. 2009.

- IDH1 and IDH2 mutations in gliomas. *N. Engl. J. Med.* 360:765-773.
- Young LE, Sinclair KD and Wilmut I. 1998. Large offspring syndrome in cattle and sheep. *Rev. Reprod.* 3:155-163.
- Zhu Y, Ghosh P, Charnay P, Burns DK and Parada LF. 2002a. Neurofibromas in NF1: Schwann cell origin and role of tumor environment. *Science* 296:920-922.
- Zhu Y, Guignard F, Zhao D, Liu L, Burns DK, Mason RP, Messing A and Parada LF. 2005. Early inactivation of p53 tumor suppressor gene cooperating with NF1 loss induces malignant astrocytoma. *Cancer Cell* 8:119-130.
- Zhu Z, Zheng T, Lee CG, Homer RJ and Elias JA. 2002b. Tetracycline-controlled transcriptional regulation systems: Advances and application in transgenic animal modeling. *Semin. Cell Dev. Biol.* 13:121-128.
- Zulch K. 1979. Histological typing of tumours of the central nervous system. *International Histological Classification of Tumours*, vol. 21. Geneva. World Health Organization.
- 강영희. 2008. 생명과학대사전. 서울: 아카데미서적.
- 
- Received January 21, 2016, Revised February 23, 2016, Accepted March 3, 2016