태아치료를 위한 줄기세포의 활용전망

이 시 원

단국대학교 의과대학 제일병원 산부인과

Use of Stem Cell in Fetal Therapy: Current Status and Future Perspectives

Si Won Lee

*Department of Obstetrics and Gynecology, Cheil General Hospital and
 Women's Healthcare Center, Dankook University, College of Medicine, Seoul, Korea*

During the past decades, there has been a great evolution in the field of fetal therapy for congenital defects. Prenatal screening or diagnostic methods including non-invasive and invasive methods and fetal ultrasound have led to earlier and more accurate diagnosis of congenital anomalies. Recent advances in several therapeutic techniques including ultrasound-guided needle therapy, laser therapy or fetal endoscopy, have allowed some fetuses at risk with anatomical defects, to be corrected in utero but still, its clinical indications remain limited. Over the last 30 years, many researchers found usefulness of pluripotent stem cells from amniotic fluid and placenta because they are sources of diverse progenitor cell populations called mesenchymal stem cells. In some human conditions like severe combined immunodeficiency syndrome and chronic granulomatous disease, fetal therapy using stem cell replacement showed some promising results in researches but more studies are required to apply in clinical settings. The aim of this article is to summarize a current status and future perspective of stem cell therapy for treatment of congenital fetal anomalies.

Key Words: amniotic fluid stem cell, fetal therapy, congenital anomalies

서 론

염색체 이상은 수정된 모든 배아 혹은 태아의 약 8%를 차지하는 것으로 보고되고 있고 이 중 약 50% 정도가 임신 제1분기에 자연유산이 되고 있으며, 약 5~7%는 자궁 내 태아 사망 혹은 신생아 사망으로 이어지는 경우가 많다(Pearson & Flake, 2013). 이외에도 선천성 기형은 약 3~5% 정도의 빈도로 보고되고 있으며 이는 태아 및 신생아의 질병 이환률 및 사망률의

증가에 기여를 하고 있다. 염색체 이상을 진단하는데 가장 많이 이용되고 있는 방법은 전통적인 산모의 혈액을 이용한 선별 검사 외에도 침습적인 양수 검사 및 융모막 검사 등으로 시행되고 있고, 최근에는 산모의 혈액에서 태아의 DNA를 검출하여 좀 더 이른 주수에 정확하게 선별하는 방법도 임상적 이용이 증가되고 있는 상황이다. 임신 중 시행하는 초음파 혹은 자기공명영상 등의 발전에 따라 태아의 구조적인 이상 또한 조기에 발견하게 되었고 최근에는 태아치료에 대한 관심이 높아지면서 자궁 내 태아 사망률을 줄이고 신생아 예후를 증진시키기 위한 방법으로 다양한 태아 치료가 시도되고 있다. 예를 들면 이분척추(spina bifida)에서 개복수술로 교정을 하는 방법, 쌍태아 수혈 증후군에서 태아 내시경을 이용한 레이저 치료, 선천성 기도 폐색에서 기도를 막는 방법(tracheal occlusion) 등이 시도되고 있다(Pearson and Flake, 2013). 하지만 선천성 기형의 범위가 매우 넓고, 대부분이 자궁 내에서 치료하기 불가능한 경우

교신저자: 이시원, 서울시 중구 서애로 1길17
 단국대학교 의과대학 제일병원 산부인과
 전화번호: 02-2000-7174, 팩스번호: 02-2000-4796
 E-mail: c1loveya@gmail.com

접수일자: 2017년 3월 23일, 수정일자: 2017년 5월 10일
 게재확정일자: 2017년 5월 10일

Copyright © 2017 by The Korean Society of Maternal and Child Health

가 많다는 점이 한계였다. 생명을 유지하기 힘든 유전질환에 대해서 태아치료는 현재까지 확실하게 효과가 검증되어 있거나 임상적으로 적용되고 있는 것이 없는 상황이고, 실험적으로 동종이계의 조혈세포를 이용한 자궁 내 이식(in utero transplantation using allogeneic hematopoietic stem cell)만이 일부 면역 결핍이 있는 태아에서 시도가 된 바가 있다. 하지만 이 또한 면역학적 거부반응 등의 문제로 한계가 있는 상태이다.

중간엽 줄기세포(mesenchymal stem cell)는 조혈세포(hematopoietic cell)에 비해 면역반응이 약하다고 보고되고 있고 한 동물실험에서는 골형성부전(osteogenesis imperfecta)이 있는 쥐에서 골질의 확률을 감소시키는 것도 발견하였다(Horwitz et al., 2002).

최근에는 재생의학(regenerative medicine)이 발전하면서 줄기세포를 이용한 태아 치료 연구가 더 많이 진행되고 있다. 연구 초기단계에서 다양한 배아 세포 및 성인 세포(embryonic and adult tissue)를 이용하여 여러 종류의 줄기세포를 분리하는 연구가 진행되었지만 분리 및 배양 방법이 복잡하고 여러 윤리적인 문제들 때문에 실제 임상에서 적용하지 못하고 있는 상태이다. 이런 여러 가지 문제들 때문에 최근에는 양수와 태반에서 줄기세포를 얻는 방법이 연구 되고 있다. 양수 및 태반은 둘 다 최소한의 침습적인 방법으로 배아 및 태아의 줄기세포를 얻을 수 있다는 장점이 있으며 윤리적인 문제를 완전히 배제시킬 수는 없겠지만 최소화시킬 수 있다는 장점이 있다. 양수와 태반은 공통적으로 상실배(morula)의 안쪽에서 기원하였으므로, 배아 자체, 융모막의 중간엽세포, 융모막 및 양막의 기원이 된다. 그렇기 때문에 양수 및 태반에서 분리되는 대부분의 줄기세포들은 공통적인 특징들을 가지는 경우가 많다.

본 문헌에서는 양수에서 분리 된 줄기세포를 이용한 태아 치료의 합리적인 근거, 현재의 발전 단계 및 논란점에 대한 소개 및 미래의 응용 가능 여부 등에 대해 정리해 보고자 한다.

본 론

줄기세포란 무엇이며 어디에서 기원되는가?

줄기세포란 한마디로 체내 세포들의 원재료라고 할 수 있겠다. 즉, 이 세포들은 체내 혹은 실험실에서 적절한 조건이 주어지면 특별한 기능을 가지는 세포들로 발생할 수 있는데 줄기세포가 분열하여 더 많은 세포로 발생한 것을 딸세포(daughter cells)라고 한다. 이런 딸 세포들은 스스로 재생하여 새로운 줄

기세포가 되거나, 분화하여 특수한 기능을 가지는 특별한 세포들 즉, 혈액세포, 뇌세포, 심장 근육 혹은 골격 등으로 분화하게 된다. 다음은 다양한 줄기세포의 종류와 특징에 대해 알아보고자 한다.

배아줄기세포는 3~5일 사이의 배아에서 기원되며, 이 단계의 배아는 주머니배(blastocyst)라고도 하며 약 150개의 세포로 구성이 된다. 이런 세포들은 다양한 세포로 분화 가능한(pluripotent) 줄기세포로 분화하거나 체내의 다른 종류의 세포로 분화할 수 있는 특징이 있다. 이런 다재다능한 배아줄기세포는 여러 연구에서 질병을 가진 조직 혹은 기관을 재생하거나 재건하는데 사용되고 있다.

성체줄기세포의 대표적인 것으로는 현재까지 임상적으로 가장 많이 사용되고 있는 조혈모세포(hematopoietic stem cell)가 있다. 현재까지는 골수나 말초혈액에서 얻어진 동종 이형 기증자(allogenic donor)의 세포, 즉 유전적으로 동일하지 않은 세포를 이용하여 혈액학적인 질환이 있는 환자의 치료에 사용되는 것이 가장 많이 시도 되고 있다. 이 방법의 가장 큰 문제는 면역학적으로 적합하지 않아 생기는 합병증의 증가인데 성체조직의 경우 이미 성장이 끝난 경우가 많아 골수 혹은 지방의 일부에서만 줄기세포가 검출 될 수 있다는 단점이 있다(Weissman, 2008; Michlitsch & Walters, 2008). 최근 여러 연구에서 성체줄기세포도 다양한 종류의 세포들, 예를 들어 골수세포에서 골세포 혹은 심장근육세포로 분화가 될 수 있다는 증거들이 있지만 여전히 성체줄기세포는 배아줄기세포에 비해 제한적인 기능을 가지는 경우가 많다.

최근에는 여러 연구자들이 유전적 재프로그래밍(genetic reprogramming) 기술을 이용하여 일반적인 성체세포를 줄기세포로 변환하는데 성공하였고 성체세포에서 유전자를 조작하여, 변환된 세포들이 줄기세포와 비슷한 역할을 할 수 있도록 재프로그래밍 하는데 성공하였다(Patel & Yang, 2010). 이 방법은 배아줄기세포 대신에 유도만능줄기세포를 이용함으로써 인체에서 일어날 수 있는 면역학적 거부반응을 줄일 수 있다고 이론적으로 설명되고 있으나 현재까지는 인체에 미칠 수 있는 부작용에 대한 근거자료가 부족한 실정이다.

임신 전후에 채취하는 검체를 이용하여 줄기세포를 배양하는 방법은 예전부터 시도되어 왔다. 그 중 태아줄기세포의 기원이 되는 태반은 임신 11~13주 사이 융모막 검사 시 혹은 출산 후에 얻을 수 있고, 이를 이용하여 상피세포, 조혈세포, 중간엽세포를 얻을 수 있다(Pipino et al., 2013; Jones et al., 2014).

그 외에도 태아의 제대에서 채취한 제대혈을 이용한 줄기세포에 대한 연구도 다양하게 진행되어 왔는데 그 이유는 출산 직후 제대혈의 채취가 비교적 용이하기 때문이었다. 최근에는 임신 중 태아의 염색체 이상 등을 진단할 때 이용이 되는 양수를 이용한 줄기세포를 임상에 적용하는 조직 공학(tissue engineering), 세포 이식 및 유전자 치료 등의 연구가 활발히 진행되고 있다(Kaviani et al., 2001, 2003; Fauza, 2004; Tsai et al., 2004). 양수란 임신 중 성장하고 있는 태아를 둘러싸고 있는 양막 안에 고여 있는 액체로 태아를 보호하는 역할을 하며 주로 태아가 배설하는 소변으로 구성이 되며 임신 중에 비교적 어렵지 않게 채취가 가능하다는 장점이 있지만 줄기세포로서의 유용성에 대한 임상연구는 아직 부족한 실정이다.

줄기세포를 이용한 치료방법

재생의학이란 선천적 혹은 후천적으로 손상이 된 조직 혹은 장기를 조직공학, 세포 치료, 인공 장기 등을 이용해 구조적으로 혹은 기능적으로 회복시키는 광범위한 분야를 뜻하는데 줄기세포를 이용한 치료 또한 재생의학의 한 부분으로 알려져 있다. 이는 실험실에서 배양된 독창적인 단일 줄기세포에서 기원한 줄기세포주(stem cell line)를 이용하여 치료하는 것인데 줄기세포주에 있는 세포들은 유전적인 결함이 없으면서 지속적으로 줄기세포로 성장을 하지만 특수한 세포로 분화되지는 않는 특징을 가진다. 이를 이용하여 줄기세포 치료를 하게 되면 손상되어 기능이 떨어진 조직에서 재생반응을 기대할 수 있게 된다. 이런 줄기세포를 이용한 치료가 활발한 연구 및 임상적 적용을 통해 발전을 하게 되면, 장기 이식을 통해서만 가능했던 병들의 치료가 가능해질 것으로 예상되며, 이는 부족한 장기기증의 수요로 인해 치료를 받지 못했던 환자들에게서 치료의 기회를 제공해줄 수 있다는 점에서 기대가 된다.

자궁내 줄기세포치료의 이론적인 배경은 분화가 완성되지 않은 줄기세포의 특징을 이용하여 출생 전에 이식을 함으로써, 이상이 있는 태아가 정상적으로 자랄 수 있게 도와주고, 출생 후에 이식했을 때 생길 수 있는 다양한 합병증들을 감소시켜 동종이형(allogeneic) 줄기세포의 접목을 수월하게 한다는 데 있다. 배아기, 즉 임신 초기에 면역계는 흉선에서 스스로 교육(self-education)이라는 과정에 의해 완성이 된다(Flake, 2014). 이 과정에서 항원은 pre-T cell 클론에 표현이 되어 자가 항원에 대해 높은 친화력을 가지는 클론은 삭제되고, 이질적인 항원(foreign antigen)을 인식하는 T 세포만 남게

된다. 게다가 흉선에서 삭제되지 않고 살아남은 스스로 반응하는 T 세포는 조절 T 세포(Treg)에 의해 지배를 받게 되는데 이 과정을 내성(tolerance)이라고 하며 이것이 자가면역(auto-immunity)이 생기는 것을 방지해준다.

그러므로 항원을 인식할 수 있는 동종 이형 공여세포는 이 과정이 끝나기 전에 태아에게 이식이 되어서 공여세포 항체에 대한 내성이 완전하게 생기게 되는 것이다.

태아치료의 현재

현재까지 태아치료는 심각한 구조적 혹은 기능적 이상이 있는 경우에만 국한적으로 시행되어 왔었다. 하지만 최근 기술의 발전에 따라 자궁 내에서 개복수술 혹은 태아 내시경 등을 이용한 다양한 시술 및 수술이 성공적으로 가능해졌고 선천성 기형이 있는 태아에서 태아치료의 적응증이 증가 하고 이에 따른 생존률이 높아지고 있다(Pearson & Flake, 2013). 이 뿐만 아니라 최근에는 산전에 태아의 기형 혹은 염색체 이상, 유전 질환 등을 초기에 발견하는 기술이 발전하면서 출생 후에 치료하는 것보다 발달 과정에 있는 태아의 이상을 초기에 발견하여 초기에 치료하는 것에 대한 관심 및 연구가 활발하게 진행되고 있다.

양수내 줄기세포를 이용한 자궁내 태아치료

양수란 태아에서 근원하는 양막, 태아의 피부, 호흡기계 등에서 기원하는 세포들로 구성이 되며 비교적 어렵지 않게 임신 15~18주 사이에 산전 검사 중 채취할 수 있는 검체이다(Gosden, 1983; Delo et al., 2006; Tsai et al., 2004). 최근에 양수를 이용한 줄기세포 연구가 활발해지면서 조직공학, 세포이식, 유전자 치료를 임상적으로 적용하고자 하는 연구가 많아지고 있다.

사람에서 유래된 양수 줄기세포는 다양한 세포의 기원이 될 수 있는 세포이다. 예를 들면 골격, 근육, 지방, 내피세포, 간세포, 신경세포 등으로 분화할 수 있는데 이들의 분화는 계통 특이성 유전자(lineage specific genes)에서 메신저 RNA(mRNA)의 표현에 의해 증명이 되었다(Tsai et al., 2004; De Coppi et al., 2007). 설치류(rodent) 및 쥐파(murine)의 양수줄기세포는 인간의 줄기세포와 유사한 성장 및 분화 특징을 가진다(De Coppi et al., 2007). 여기서 얻어진 줄기세포는 기존의 세포특징을 잃지 않으면서 형질이 변환된다는 점

이 장점이며, 특별한 면역학적인 특징, 즉 흉선에서 자가 항원에 대한 프로세싱이 일어나기 전의 미숙한 상태의 태아 면역 체계를 가지기 때문에 골수억제(myeloablation)가 필요하지 않아 치료적인 이식에 적합한 자원으로 이용될 수 있다는 장점이 있다(Ditadi et al., 2009; Shaw et al., 2011).

C-kit+ 세포는 양수에서 쉽게 분리할 수 있는 것으로 확장(expansion)이 잘되며 특징적인 표현형을 가지는 세포이다(Tsai et al., 2004; Delo et al., 2006). 표면 항원인 c-kit (CD117)은 줄기세포 인자의 수용체로 잘 알려져 있으며 생식 발생(gametogenesis), 멜라닌생성(melanogenesis), 조혈(hematopoiesis) 과정에 매우 중요한 역할을 한다(Fleischman, 1993; De Coppi et al., 2007). 양수내 c-Kit+ 세포를 성공적으로 확장하여 얻은 것이 특징적인 세포형인 양수내중간엽세포(AFMSCs)와 조혈모세포(hematopoietic progenitors) 이다(Prusa & Hengstschlager, 2002; De Coppi et al., 2007; Ditadi et al., 2009). 양수내 줄기세포의 면역학적인 특징은 이 세포들을 인터페론 감마(IFN-gamma) 및 종양 괴사인자 알파(TNF-alpha)로 프라이밍을 하여 자연살해세포 독성(natural killer cytotoxicity)에 대해 저항성을 가지는 특징이 있고, 제태연령이 증가함에 따라 림프구가 증식하는 것을 조절하는 능력이 있다는 점이다(Di Trapani et al., 2014). 예를 들면, 인터페론 감마는 주요 조직 적합 유전자 복합체 I과 II (Major histocompatibility complex I and II)의 표현을 다 증가시키기 때문에 동종 이형 숙주(allogeneic host)의 거부반응에 크게 기여는 하지 않을 것으로 생각이 된다(Moorefield et al., 2011). 또한 양수 내 줄기세포는 면역 반응의 강도와 지속기간을 조절하는 다양한 사이토카인을 대량으로 분비하기 때문에, 활성화됐을 경우 자체적으로 면역 반응 조절이 가능하다는 것을 보여주고 있다(Perin et al., 2010; Moorefield et al., 2011).

양수내 줄기세포의 성장 및 특징

양수내 줄기세포는 배가시간(doubling time)이 36시간이며 배양보조세포층이 없이 자랄 수 있다(De Coppi et al., 2007). 양수내 중간엽세포는 방추모양의 섬유아세포와 비슷한 형태를 유지하며, 증식 속도 및 분화능력을 유지한다. 양수내 중간엽세포는 평균 배가시간이 25~38시간으로, 배가시간이 30~90시간인 골수에서 얻은 중간엽세포에 비해 빠른 증식속도를 보인다(Kaviani et al., 2001; Roubelakis et al., 2007; Di

Trapani, 2015). 또한 양수에서 얻은 중간엽세포는 골수에서 얻은 것에 비해 클론원성 잠재력(clonogenic potential)이 높다(86 ± 4.3 vs 70 ± 5.1 colonies) (Nadri & Soleimani, 2007). 양수내 중간엽세포의 또 하나의 장점은 높은 증식속도에도 불구하고 종양발생의 증가 없이 정상 염색체를 유지하는 능력이 있다는 점이다(Roubelakis et al., 2007).

인간의 양수내 줄기세포는 중간엽세포 및 다분화 세포의 기원이 되는 다양한 마커들을 둘다 표현하는 특징을 가진다. 하지만 일단 배양이 되고 나면, CD45, CD34, CD133과 같은 조혈세포계의 마커는 더 이상 표현하지 않게 되며 대신 CD29, CD44, CD73, CD90, CD105를 표현하게 된다(De Coppi, 2013). 양수내 줄기세포는 성체줄기세포에 비해 가소성(plasticity)이 매우 좋기 때문에 양수에서 얻은 세포를 유도만능줄기세포로 재프로그래밍 할 수 있다(Pipino et al., 2014; Ramachandra, 2014). 이런 특징이 특히나 중요한 이유는 양수내 줄기세포는 환자 특이적인 다분화 세포를 보관하여 이를 동종이계의 세포 교체(allogeneic cellular replacement therapy) 및 약학적인 스크리닝(pharmaceutical screening) 그리고 질병의 제작(disease modeling) 등에 사용할 수 있다는 점이다(Moschidou et al., 2013).

자궁 내에 줄기세포를 주입하여 태아 치료하는 것의 가장 큰 장점은 자궁 내에서 일어날 수 있는 비가역적인 손상을 산전에 방지한다는 점이다(David and Peebles, 2008). 최근에 양수내 중간엽세포를 이용하여 자궁 내에 줄기세포를 주입하여 2건의 골형성부전증을 치료한 보고도 있다(Gotherstrom et al., 2014). 현재까지는 자궁 내 줄기세포 치료의 위험성에 대한 보고는 확실하게 밝혀진 바가 없고 그 효과에 대한 것도 많은 질병군에서 근거가 필요한 실정이다. NIH Recombinant DNA advisory committee report (RAC, 2000)에 의하면 자궁내 줄기세포 및 유전치료의 적응증이 되는 경우로는 자궁 내에서 및 출생 후에서 모두 신생아 사망률 및 치사율이 심각하게 좋지 않은 경우, 출생 후 효과적인 치료방법이 없는 경우, 현재까지 알려진 출생 후 치료방법의 예후가 좋지 않은 경우, 자궁내에서 확실히 진단이 가능하면서 유전자형/표현형간의 관계가 확실히 정의가 되어 있는 경우, 동물실험에서 자궁 내 유전 치료로 심각한 질병을 치료한 증거가 있는 경우로 들 수 있다.

실험적인 근거

출생 후 이식에 비해 자궁 내 줄기세포이식은 잠재적인 장

점이 많지만, 현재까지 여러 동물 실험에서 예상했던 것보다 치료적인 효과도 적으면서 일부에서만 적응증이 되는 경우가 많았다(Peranteau WH, 2007). 이런 연구 결과는 산전 조혈모세포 혹은 다른 줄기세포의 이식에 있어 성공적인 접목을 방해하는 장벽이 있다는 것을 시사한다. 이 중 가장 만만치 않은 장벽은 숙주세포의 경쟁이다. 이는 특히 자궁 내 줄기세포 이식에서 중요한데 그 이유는 태아에서 사용될 수 있는 안전한 면역억제방법이 아직은 없기 때문이다.

줄기세포를 이식 받는 태아는 면역체계가 미숙한 상태라고 생각이 되고 있음에도 불구하고, 여러 보고에서 지적하는 것은 여전히 자궁 내 줄기세포 이식 후 면역학적인 장벽에 대한 문제이다. 현재까지 임상적으로 자궁 내 줄기세포이식이 면역결핍 질환에서만 성공한 것을 보아도 자궁 내 줄기세포이식이 가능한 시기쯤 태아는 이미 어느 정도의 면역체계가 생겨 있지 않을까 생각이 되고 있다(Ramachandra et al., 2014).

실험에서 임상적인 적용으로의 변형

양을 이용한 동물실험에서 처음으로 자궁내줄기세포이식이 성공한 이후 전세계적으로 여러 연구실에서 다양한 인간의 선천성 혈액학적 이상에서의 치료가 시도되었다. 현재까지는 약 50여개의 조혈세포를 이용한 이식이 보고되었고, 동물실험에서 이 방법을 이용하여 치료가 시도되었던 경우들로는 중증 복합형 면역 부전증(Severe combined immunodeficiency disease), 만성육아종병(chronic granulomatous disease), 지중해빈혈(thalassemia), 리소좀 축적 질환(lysosomal storage disease) 등이 있다(Flake, 1996; Wilson, 2005) 하지만 이중에서 유일하게 성공한 것은 중증 복합형 면역 부전증으로 나머지는 아직 성공적인 결과를 보여주지 못하고 있는 실정이다(Flake, 1996).

자궁 내 줄기세포 이식은 면역질환 및 혈액질환 뿐 아니라 다른 선천성 질환의 치료로서도 가능성을 보여주고 있는데 그 예가 척수수막탈출증(myelomeningocele) (Danzer et al., 2012), 낭포성 섬유증(cystic fibrosis) 그리고 근육위축병(muscular dystrophy) (David et al., 2003) 등이 있다. 이런 경우는 중간엽 줄기세포를 이용하여 이식 하는 것이 적합하다고 생각이 되며 그 이유는 조혈세포에 비해 면역반응이 약하고, 이식에 대한 거부반응이 적을 것으로 생각이 되기 때문이다(O'Donoghue & Fisk, 2004).

윤리적인 측면

태아의 조직을 임상적으로 사용하는 것에 대한 것은 윤리적인 문제에 항상 부딪혀 왔다. 과거에는 이런 문제 때문에 윤리적인 문제가 적은 자연유산이 된 조직을 이용하여 태아 세포를 사용해 왔는데 문제는 유산이 된 조직은 염색체 이상 등 기저 질환이 있는 경우가 많아 치료 목적으로 적합하지 않는 경우가 많다는 점이 있었다. 그래서 이용된 것이 고의적으로 유산을 시켜(induced abortion) 조직을 이용하는 방법이었었는데 이는 과학적인 증거자료도 불충분하지만 배아에 대한 종교 및 관례적인 신념에 대한 문제에 봉착하였고, 여러 국가 및 세계적인 윤리 위원회 및 국가기관에서도 아직 의견 일치가 이뤄지지 못하고 있는 실정이다. 이러던 중 태아 줄기세포의 근원이 되는 양수 및 태반 조직에서 세포를 채취하는 다양한 방법이 개발되기 시작하였고 태아 조직 프로세싱을 통해 태아의 조직을 치료 목적 및 연구 목적으로 사용하는데 새로운 측면을 열어주었다. 양수나 태반 조직은 일반적인 산전 검사에서도 쉽게 얻을 수 있고, 유산을 시킨다거나 태아 자체에서 조직을 채취할 필요는 없다는 장점이 있다(Fauza DO, 2004).

임상적인 적용

양수 혹은 태반에서 추출한 줄기세포를 사용할 수 있는 첫 번째가 태아조직 공학(fetal tissue engineering)이다(Fauza, 2004). 선천성 기형에서 수술적인 치료를 할 때 가장 큰 문제 중 하나가 수술적인 교정 시 조직이 불충분한 경우였는데 이런 경우 복원을 위해 대부분 인공 삽입물이 사용되었다. 인공 삽입물의 문제는 합병증으로 감염 및 이식한 조직의 분열 등으로 치사율이 높아 예후가 나쁘다는 점이 있었다. 최근에 태아조직을 이용한 공학이 발전을 하면서 선천성 기형의 수술적 재건이 굉장히 촉망되는 개념으로 대두되고 있다(Fauza, 2003).

이 방법은 최소한의 침습적인 방법(minimally invasive method)으로 태아조직을 체외에서 수확, 조작 및 배양하여 임신이 진행되는 동안 태아와 같이 키워서 자가 생체 인공 삽입물(autologous cellular bioprosthesis)을 출생 직후 혹은 자궁 안에서 부착시켜 치료하는 방법이다. 자가 생체인공삽입은 최초의 보고들에서 매우 미래가 촉망되어 보이는 듯 했으나, 조기전통, 감염 그리고 직접적인 태아 손상 등의 합병증이 적지 않게 동반되었다. 그렇기 때문에 이 방법은 생명에 지장을 줄만

한 심각한 선천성 기형의 경우에서만 정당화될 수 있었다(Walsh, 2000).

줄기세포가 가진 간세포적 본성(progenitor nature)은 조직 공학을 이용해 다양한 질환들을 치료할 수 있는 가능성을 보여준다. 예를 들면 체내에서 양수 세포를 이용하여 조직 공학을 하여 얻어진 결과물을 이용하여 임상적으로 적용한 첫번째 예를 보고했던 Fuchs JR 등에 따르면 중간엽 양수세포에서 자가 조직 공학을 통해 얻은 조직으로 실험적으로 선천성 횡경막 탈장의 복구에 성공한 바가 있고 이는 비세포성 생체인공삽입물을 이용한 복구에 비하면 훨씬 기능적인 예후가 좋은 것을 볼 수 있었다(Fuchs, 2004). 또 다른 연구에서는 양수 중간엽 세포를 이용하여 조작한 결과물을 이용하여 임신 중 조기양막과수를 치료한 보고도 있다(Ochsenbein-Kölble, 2003).

최근에 한 연구기관에서는 동물실험에서 양수에서 추출한 양수 중간엽세포를 프로세싱 후 단순하게 양수 내에 주입하여 신경관세포결손증의 손실부위를 성공적으로 자궁 내에서 복구한 보고도 있다(Dionigi, 2015).

결론 및 미래의 전망

최근에 산전 선별검사 및 분자 생물학적 진단방법의 기술이 발전하면서 대부분의 선천성 기형 및 유전질환이 점점 더 조기에 발견되고 있다. 임신 중 조기에 질환이 진단되면서 태아의 상태에 따라 자궁 내 혹은 출생 후 치료하는 방법에 대한 연구 및 임상적인 적용도 활발하게 시행되고 있는 실정이다.

자궁 내 줄기세포치료는 출생 후 치료에 비해 이론적인 장점이 있는 것으로 생각이 되지만, 임상적으로 적용이 되기 위해서는 산모 및 태아에게 모두 안전하면서 문제가 있는 태아에서 확실히 효과가 있는 치료 방법이어야 한다. 지난 30여년 동안 이 분야에서 많은 연구와 발전이 이루어져 왔지만 여전히 해결해야 할 문제들이 남아있다. 이 중 가장 큰 숙제는 동물모델 및 사람에서 이식 시 나타날 수 있는 면역 장벽을 정복해야 한다는 점이다. 현실적으로 현재까지 임상적으로 시행되는 방법으로는 2단계로 공여자에 특이한 저항력(donor specific tolerance)을 먼저 유도 한 후, 따로 면역억제 방법을 쓰지 않고 출생 후 이식을 하는 방법을 사용하고 있다. 자궁 내 이식은 이런 일련의 과정 없이 한번의 단계로 쉽게 치료수준의 레벨에 도달할 수 있다는 장점이 있어 앞으로는 더 선호되는 방법이 될 것으로 예상된다. 아마도 줄기세포의 숙성 및 모체태아 생리에 대한 이해가 더 깊어지고 새로운 과학기술의 발전이 있으면서 면역학

적 문제를 극복하는 다양한 방법들도 개발이 될 것으로 생각이 된다.

자궁 내 줄기세포치료는 여전히 실험 단계에 있지만, 이미 여러 동물실험 연구에서 의미 있게 치료적인 잇점을 증명할 수 있었던 만큼 다양한 유전병의 발생자체를 예방할 수 있는 가능성이 있을 것이라 생각이 된다. 하지만 실제 임상에 적용하기 위해서는 안전성에 관한 문제를 해결하는 것이 첫번째 숙제인데 그 예로 이식에 따른 종양의 발생 증가(tumorigenesis), 성장하는 태아의 기관에 미치는 영향(치료에 의한 태아 기형 유발), 의도치 않게 변형된 세포가 생식세포계역(germline)에 전과 되는 경우 등이 있을 수 있겠다. 조직특이적인 촉매(tissue specific promotor) 혹은 규제된 이식유전자 발현(regulated transgene expression) 등을 이용하여 조직에 대한 특이도 및 안전성이 많이 증진되긴 했지만, 이 문제를 해결하기 위해 여전히 좀 더 안전한 이식방법의 개발은 필요할 것으로 생각된다. 마지막으로 기술과 관련되어 생길 수 있는 자궁 내 태아 사망, 조기진통 그리고 감염 등의 합병증을 최소화 시킬 수 있는 방법을 개발하는 것이 중요한데, 아마도 자궁 내 줄기세포 이식 등의 최소 침습적인 방법은 그것을 가능하게 할 수 있으리라고 생각이 된다. 현대의학에서 가지고 있는 여러 문제점에도 불구하고 여전히 태아의 세포를 이용한 자궁내 줄기세포 치료는 구조적 혹은 기능적인 선천성 태아 기형의 출산을 감소시키는데 앞으로 가능성을 보여줄 수 있으리라고 기대된다.

참고문헌

- Danzer E, Johnson MP, Adzick NS. Fetal surgery for myelomeningocele: progress and perspectives. *Dev Med Child Neurol* 2012;54:8-14.
- David AL, Peebles D. Gene therapy for the fetus: is there a future? *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2008;22: 203-18.
- David AL, Themis M, Waddington SN, Gregory L, Buckley SMK, Nivsarkar M, et al. The current status and future direction of fetal gene therapy. *Gene Ther Mol Biol* 2003; 7:181-209.
- De Coppi P, Bartsch G Jr, Siddiqui MM, Xu T, Santos CC, Perin L et al. Isolation of amniotic stem cell lines with potential for therapy. *Nat Biotechnol* 2007;25:100-6.
- Delo DM, De Coppi P, Bartsch G. Amniotic fluid and placental stem cells. *Methods Enzymol* 2006;419:426-38.
- Dionigi B, Brazzo III JA, Ahmed Azra, Feng Christina, Wu Yaotang, Fauza DO, et al. Trans-amniotic stem cell therapy (TRASCET) minimizes Chiari-II malformation in

- experimental spina bifida. *J Ped Surg* 2015;50:1037–41.
- Ditadi A, de Coppi P, Picone O, Gautreau L, Smati R, Six E, et al. Human and murine amniotic fluid c-kit+Lin-cells display hematopoietic activity. *Blood* 2009;113:3953–60.
- Di Trapani M, Bassi G, Fontana E, Giacomello L, Pozzobon M, Guillot PV, et al. Immune regulatory properties of cd117 (pos) amniotic fluid stem cells vary according to gestational age. *Stem Cells Dev* 2015;24(1):132–43.
- Fauza DO. Amniotic fluid and placental stem cells. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2004;18:877–91.
- Fauza Do. Fetal tissue engineering: Current state of clinical application. *Current Opinion in Pediatrics* 2003;15:267–71.
- Flake AW. In utero stem cell transplantation. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2004;18:941–58.
- Flake Aw, Roncarolo MG, Puck JM, Almeida-Porada G, Evans MI, Johnson MP, et al. Treatment of X-linked severe combined immunodeficiency by in utero transplantation of paternal bone marrow. *N Engl J Med* 1996;335:1806–10.
- Fleischman RA. From white spots to stem cells: the role of the kit receptor in mammalian development. *Trends Genet* 1993;9:285–290.
- Fuchs JR, Kaviani A, Oh JT, Laan D, Udagawa T, Fauza DO, et al. Diaphragmatic reconstruction with autologous tendon engineered from mesenchymal amniocytes. *J Ped Surg* 2004;39:834–8.
- Gosden CM. Amniotic fluid cell types and culture. *Br Med Bull* 1983;39:348–54.
- Jones GN, Moschidou d, Abdulrazzak H, Kalirai BS, Vanleene M, Osatis S, et al. Potential of human fetal chorionic stem cells for the treatment of osteogenesis imperfecta. *Stem Cells Dev* 2014;23:262–76.
- Gotherstrom C, westgren M, Shaw SW, Astrom E, Biswas A, Byers PH, et al. Pre- and postnatal transplantation of fetal mesenchymal stem cells in osteogenesis imperfecta: a two-center experience. *Stem Cells Transl Med* 2014; 3:255–64.
- Kaviani A, Guleserian K, Perry TE, Hennings RW, Ziegler MM, Fauza DO, et al. Fetal tissue engineering from amniotic fluid. *J Am Coll Surg* 2003;196:592–7.
- Kaviani a, Perry TE, Dzakovic A, Jennings RW, Ziegler MM, Fauza DO. The amniotic fluid as a source of cells for fetal tissue engineering. *J Pediatr Surg* 2001;36:1662–5.
- Michlitsch JG, Walters MC. Recent advances in bone marrow transplantation in hemoglobinopathies. *Curr Mol Med* 2008; 8(7):675–89.
- Moorefield EC, McKee EE, Solchaga L, Orlando G, Yoo JJ, Walker S, et al. Cloned, CD117 selected human amniotic fluid stem cells are capable of modulating the immune response. *PLoS ONE* 2011;6:e26535.
- Moschidou D, Mukherjee S, Blundell MP, Jones GN, Atala AJ, Thrasher AJ, et al. Human mid-trimester amniotic fluid stem cells cultured under embryonic stem cell conditions with valproic acid acquire pluripotent characteristics. *Stem Cells Dev* 2013;22:444–58.
- Nadri S, Soleimani M. Comparative analysis of mesenchymal stromal cells from murine bone marrow and amniotic fluid. *Cytotherapy* 2007;9:729–37.
- O'Donoghue K, Fisk NM. Fetal stem cells. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2004;18:853–75.
- Ochsenbein-Köhlble N, Bilic G, Hall H, Huch R, Zimmermann R. Inducing proliferation of human amnion epithelial and mesenchymal cells for prospective engineering of membrane repair. *J Perinat Med* 2003;31:287–94.
- Patel M, Yang S. Advances in Reprogramming Somatic Cells to Induced Pluripotent Stem Cells. *Stem Cell Rev* 2010;6 (3):367–380.
- Pearson EG, Flake AW. Stem cell and genetic therapies for the fetus. *Semin Pediatr Surg* 2013;22:56–61.
- Peranteau WH, Endo M, Adibe OO, Flake AW. Evidence for an immune barrier after in utero hematopoietic-cell transplantation. *Blood* 2007;109:1331–3.
- Perin L, Sedrakyan S, Giuliani S, DaSacco S, Carraro G, Shiri L et al. Protective effect of human amniotic fluid stem cells in an immunodeficient mouse model of acute tubular necrosis. *PLoS ONE* 2010;5e9357.
- Pipino C, Shangaris P, Resca E, Zia S, Deprest J, Sebire NJ, et al. Placenta as a reservoir of stem cells: an underutilized resource? *Br Med Bull* 2013;105:43–68.
- Prusa AR, Hengstschlager M. Amniotic fluid cells and human stem cell research: a new connection. *Signature* 2002;8: 253–7.
- RAC. Regulatory issues: prenatal gene transfer: scientific, medical and ethical issues. A report of the Recombinant DNA Advisory Committee. *Hum Gene Ther* 2000;11: 1211–29.
- Ramachandra DL, Shaw S, Shangaris P, Loukogeorgakis S, Guillot P, De Coppi P, David AL. In utero therapy for congenital disorders using amniotic fluid stem cells. *Frontiers in Pharmacology* 2014;270(5):1–12.
- Roubelakis MG, Pappa KI, Bitsika V, Zagoura D, Vlahou A, Papadaki HA, et al. Molecular and proteomic characterization of human mesenchymal stem cells derived from amniotic fluid: comparison to bone marrow mesenchymal stem cells. *Stem Cells Dev* 2007;16:931–52.
- Shaw SWS, Bollini S. Autologous transplantation of amniotic fluid derived mesenchymal stem cells into sheep fetuses. *Cell Transplant* 2011;20:1015–31.
- Tsai MS, Hwang SM, Tsai YL, Cheng FC, Lee JL, Chang YJ. Clonal amniotic fluid-derived stem cells express characteristics of both. *Am J Obstet Gynecol* 2004;191:309–14.
- Walsh DS, Adzick NS. Fetal surgical intervention. *Am J Perinat* 2000;17:277–83.

Weissman IL, Shizuru JA. The origins of the identification and isolation of hematopoietic stem cells, and their capability to induce donor-specific transplantation tolerance and treat autoimmune diseases. *Blood* 2008;112(9):3543-

53.

Wilson RD, Desilets V, Gagnon A, Summers A, Wyatt P, Allen V, et al. Present role of stem cells for fetal genetic therapy. *J Obstet Gynaecol Can* 2005;27(11):1038-47.

K C I