

신경계 질환들에 대한 치료법으로써 성체줄기세포의 치료적 유용성 증강을 위한 방법들



고 성 호

한양의학대

How to enhance therapeutic efficacy of adult stem cells for the treatment of neurological diseases

Seong-Ho Koh, MD, PhD

Department of Neurology, Hanyang University Guri Hospital, Hanyang University College of Medicine, Seoul, Korea

Stem cell therapy is considered to be a promising future treatment for intractable neurological diseases including ischemic stroke and Alzheimer's disease, although all the clinical trials using stem cells have not yet shown any good results. Finding the ways to improve efficacy of stem cell therapy is one of the most important topics when it comes to stem cell therapy. I'd like to share some results of my researches about how to use late passage mesenchymal stem cells (MSCs) and how to track transplanted stem cells in vivo condition. First, large amount of late passage MSCs could be obtained at lower cost than the same amount of early passage MSCs but their efficacy would be a big hurdle for clinical trials. My colleagues and I confirmed that late passage hMSCs could be efficiently induced into glia-like cells (ghMSCs) with better neuroprotective effect on ischemic stroke. Moreover, it was also confirmed that IGFBP-4 released from ghMSCs may serve as one of the key neuronal survival factors secreted from ghMSCs. Second, *in vivo* tracking of transplanted stem cells has been a central aim of stem cell therapy. Although many tracking systems have been introduced, no method has yet been validated for clinical applications. A novel sophisticated peptide (GV1001) that mimics hTERT (human telomerase reverse transcriptase) was used to track and protect stem cells after transplantation. Ferrocenecarboxylic acid-conjugated GV1001 (Fe-GV1001) efficiently penetrated stem cells with no adverse effects. Moreover, Fe-GV1001 improved the viability, proliferation, and migration of stem cells under hypoxia. After Fe-GV1001-labelled stem cells were transplanted into the brains of rats after stroke, the labelled cells were easily tracked by MRI. These findings indicate that Fe-GV1001 can be used for the *in vivo* tracking of stem cells after transplantation into the brain and can improve the efficacy of stem cell therapy by sustaining and enhancing stem cell characteristics under disease conditions.

서론

뇌경색은 우리나라에서 심각하고 장기적인 신경학적 후유증을 유발하는 가장 흔한 질환이다. 통계청 자료에 따르면 매년 약간의 차이는 있으나 사망원인의 2위 내지 3위를 차

지할 정도로 뇌경색은 심각한 문제를 야기하고 있다. 뇌경색을 야기하는 다양한 위험인자들이 알려져 있는데 고혈압, 심장질환, 동맥경화, 당뇨병, 흡연 등이 대표적이다. 뇌경색의 병리기전을 설명하기 위해 지금까지 셀 수 없이 다양한 병리기전들이 제시되어 왔다. 대표적인 예를 들자면, 어떤 원인에 의해서든 뇌혈관이 막히면, 뇌로 가는 혈류가 떨어지게 되고, 이는 뇌에 공급하는 산소와 포도당의 감소를 야기하게 된다. 이렇게 되면 뇌세포들은 세포의 생명 유지에 필요한 대사를 할 수가 없어지고 결과적으로 세포의 생명을 유지할 수 있게 하는 에너지 생성이 불가능해져서 세포 막의 변화가 일어나고 세포 손상이 진행된다. 세포 손상의 정도에

Seong-Ho Koh, M.D., Ph.D.

Department of Neurology, Hanyang University College of Medicine 249-1 Guri Hospital, Gyeonggi-do, Guri-si, Gyeonggi-do, 471-701, Korea

Tel: +82-31-560-2267 Fax: +82-31-560-2267

E-mail: ksh213@hanyang.ac.kr

따라, 세포괴사 (necrosis), 세포자연사 (apoptosis), 염증 (inflammation) 등이 일어날 수 있으며 서로 유기적으로 영향을 주고 받으며 뇌경색의 진행에 관여한다.¹ 이밖에도 지금까지 뇌경색의 병리기전을 설명할만한 매우 중요한 연구 결과들이 있어 왔다. 저자도 뇌경색 기전에 대하여 다양한 연구들을 진행해오고 있다. 예를 들어 뇌경색의 기전에 있어서 Poly(ADP-ribose) polymerase,² glycogen synthase kinase 3 beta,³ phosphatidylinositol 3 kinase,⁴ extracellular signal regulated kinase⁴ 등 다양한 기전들이 뇌경색에 있어서 세포사멸의 기전에 관여한다는 사실을 보고한 바 있다. 이처럼 뇌경색을 야기하는 위험인자들과 병리기전들이 밝혀지고 있으므로 이론적으로는 뇌경색이 야기되는 각 단계에 따라 뇌경색을 예방하거나 치료하기 위한 다양한 시도들 가능하다. 구체적으로 설명하면, 앞서 기술한 다양한 위험인자들이 확인된다면 이를 적극적으로 치료하여 뇌경색이 발생하는 것을 막을 수 있다. 그러나, 실제 진료현장에서 보면 이는 불가능에 가깝다. 다음으로 혈관이 막혀서 뇌경색이 시작되는 매우 초기단계에 환자가 병원에 내원한다면 적극적인 혈전용해술이나 혈전제거술을 통하여 뇌경색의 진행을 멈출 수 있다. 안타깝게도 이런 적응증에 해당하는 환자들은 전체 뇌경색 환자들의 10% 미만으로 알려져 있다. 이시기를 놓친 환자들 경우에는 지금까지 다양한 병리기전들이 밝혀짐에 따라, 이를 바탕으로 뇌경색에 의한 세포사멸을 막는 새로운 치료법을 개발하기 위해 많은 연구들이 시도되었다. 그러나 수많은 노력에도 불구하고 대부분의 연구들이 임상시험 단계에서 실패하였음을 우리는 잘 알고 있다. 따라서, 뇌경색에 의한 세포 사멸을 막을 수 있는 방법은 현재 없으며 뇌경색이 생기면 결과적으로 그에 의한 신경학적 후유증을 가지고 살아가게 된다. 이 단계에 이르면 자연스럽게 생각해볼 수 있는 치료법이 죽은 세포를 대신해줄 수 있는 세포를 이용한 치료법 즉 줄기세포를 이용한 치료법 일 것이다.

인구의 고령화에 따라 뇌경색 못지않게 심각한 사회적 문제로 대두되고 있는 질환이 알츠하이머 치매이다. 2017년 대한민국은 공식적으로 고령사회에 진입하였으며, 치매를 앓고 있는 환자들의 숫자도 2020년 현재 75만명을 넘을 것으로 예상되고 있다. 이런 문제는 전세계적인 현상으로 알츠하이머 치매를 극복하기 위한 다양한 연구들이 진행되고 있다. 알츠하이머 치매의 병리기전으로 아밀로이드 베타에 의한 신경반과 타우단백질의 비정상적인 인산화에 의한 신경섬유다발이 중심으로 이야기되고 있으며, 여기에 유전적인 요인, 병

적노화, 산화성 손상, 글루타메이트 신경독성, 미토콘드리아 이상, 신경보호인자 감소, 염증 등이 함께 관여할 것이라고 받아들여지고 있다.^{5,6} 그러나, 알츠하이머병의 가장 중요한 병리기전으로 생각되는 아밀로이드 베타를 타겟으로 한 수많은 임상시험들이 모두 실패하면서 아밀로이드 베타 이외의 다양한 기전들에 대한 관심도 증가하고 있다. 저자는 이와 관련하여 알츠하이머병의 기전에 있어서 glycogen synthase kinase 3 beta,⁷ phosphatidylinositol 3 kinase⁸ 등의 역할을 밝히는 연구결과를 보고한 바 있다. 알츠하이머병의 증가로 인한 다양한 사회경제적 문제들이 제기됨에 따라, 이를 치료하고자하는 수많은 연구들이 시도되었다. 역시 이론적으로는 각 단계에 따라 다양한 치료법들이 시도될 수 있다. 위험인자들이 발견되면 이를 적극적으로 관리하고 질병이 시작되면 초기에 발견하여 대증적인 치료를 시작할 수 있다. 또한, 앞서 기술한 바와 같이 다양한 병리기전들이 밝혀지면서 이의 조절을 통한 새로운 치료법들이 시도되었으나 아직 임상에 적용 가능한 방법은 없는 상황이다. 이처럼 알츠하이머병이 진단되면 소수의 대증적인 치료법 이외에 특별한 치료법이 없으므로 손상된 신경세포를 대체할 수 있는 줄기세포 치료법에 대한 관심이 역시 증가하고 있다. 본고에서는 줄기세포를 이용한 신경계 질환 치료법의 문제점들과 이를 극복할 수 있는 다양한 방법들에 대하여 다루고자 한다.

본론

지난 수십년 동안 줄기세포 연구는 매우 빠르게 발전해오고 있다. 이론적으로는 손상되어 역할을 하지 못하는 신경세포들을 대신할 수 있으므로 지금까지와는 전혀 다른 방법의 치료법이 될 수 있을 것이다. 그러나 수없이 많은 연구들에도 불구하고 아직 임상에서 뇌경색 및 알츠하이머병에 대하여 성공적으로 사용되고 있는 줄기세포 치료법은 없다. 줄기세포 치료에 사용 가능한 줄기세포는 크게 우리 뇌 안에 존재하는 신경줄기세포와 체외에서 인공적인 증식을 이용한 줄기세포를 들 수 있다. 우리의 뇌 안에 존재하는 신경줄기세포가 분명히 존재하고 많은 역할을 할 수 있을 것으로 예상하나 나이가 들어감에 따라 그 수가 많이 감소하고 이 세포들 역시 다양한 병리현상들에 영향을 받아 그 기능이 많이 떨어진다는 사실을 잘 알려져 있다. 따라서, 뇌 안에 존재하는 신경줄기세포만을 이용하고자 하는 치료법은 많은 어려움이 있을 것으로 예상된다. 이런 점들을 극복하고자 체외에서 배양된 다양한 줄기세포들을 환자에게 이식하고 이를 이용한 치료법

을 개발하고자하는 다양한 연구들이 진행 중에 있다. 체외배양 줄기세포들로는 배아줄기세포, 역분화줄기세포, 신경줄기세포, 중간엽줄기세포 등 다양한 줄기세포들이 있다.⁹ 또한, 체외배양된 신경줄기세포를 이식한 경우 1달 이후에도 뇌 안에서 생존할 수 있다는 사실이 알려지면서 새로운 치료법으로의 가능성이 더욱 높아지고 있다.¹⁰ 다양한 신경계 질환들에 체외배양 줄기세포를 이식할 때 기대하는 것은 제일 먼저 손상된 신경세포들을 대체하는 것이다. 물론 가장 이상적이기는 하지만 수십년 간의 연구결과들을 고려할 때 아직까지는 그 가능성에 대하여 매우 희박할 것으로 여겨진다. 두 번째는 이식된 줄기세포에서 다양한 신경영양인자들을 분비하는데 이를 이용하여 신경조직의 회복을 기대해볼 수 있다. 세 번째는 이식된 줄기세포의 신경보호효과 및 신경영양인자 분비 효과들을 통하여 내재된 신경줄기세포의 기능을 개선하고 이를 이용하여 신경재생을 돕는 것이다. 마지막으로 체외배양 줄기세포에 다양한 유전자 조작을 통하여 원하는 치료물질의 분비를 증가시키고 이를 체내 이식하는 것이다. 이 방법은 줄기세포를 치료물질의 전달자로 사용하고자 하는 방법인 것이다.

이처럼 다양한 효과를 기대할 수 있기에 다양한 줄기세포들이 신경계 질환들의 치료법 개발을 위한 연구에 사용되고 있다. 몇가지 예를 들자면, Yamasaki 등은 신경줄기세포를 치매 동물모델에 이식하여 기억력을 개선하였다는 보고를 하였으며,¹¹ Vogel 등은 배아줄기세포를 파킨슨병 동물모델에 이식하여 치료효과가 있음을 확인하였고,¹² Bae 등은 중간엽줄기세포를 치매 동물모델에 이식하여 기억력이 개선되고 뇌 내 병리기전이 개선됨을 보고한 바 있다.¹³ 본 저자도 다양한 연구진들과 줄기세포를 이용한 신경계질환 치료법 개발에 관한 다양한 공동연구들을 해오고 있으며, 예로 중간엽줄기세포가 뇌경색 동물모델에서 치료효과를 보인다는 사실을 보고하였고,¹⁴ 중간엽줄기세포를 루게릭병 치료에 이용할 수 있음을 증명하였으며,¹⁵ 신경줄기세포의 재생을 통하여 뇌손상에 의한 신경학적 손상을 개선할 수 있음을 보고한 바 있다.¹⁶ 이런 연구들을 진행하면서 저자는 줄기세포의 치료효과를 개선하는 것이 반드시 필요하고 이를 위해 이식된 줄기세포가 어떻게 병변 부위로 이동하는지, 줄기세포에서 분비되는 어떤 종류의 효소들에 의하여 세포외질이 분해되는지, 줄기세포 내의 어떤 신호들이 줄기세포의 이동에 관여하는지 확인할 필요가 있음을 느꼈다. 이런 질문들에 답하기 위해 세포 및 동물들을 이용한 실험들과 환자에서 얻어진 체액들을 이용한 연구들을 진행하였다. 그 결과 뇌경색 환자

들에서 줄기세포의 이동에 관여하는 인자들인 stromal cell-derived factor-1a¹⁷ vascular endothelial growth factor¹⁸가 높은 사람들이 증상이 더 많이 개선되는 것을 확인하여 보고하였고, beta-PIX라는 세포 효소가 중간엽줄기세포의 이동에 매우 중요한 역할을 한다는 사실도 확인한 바 있다.¹⁹

줄기세포를 이용한 치료법은 다양한 잠재적 가능성으로 인하여 현재 치료가 불가능한 많은 신경계 질환들에 대한 새로운 치료법으로 연구되고 있다. 앞에서 기술한 바와 같이 다양한 신경계 질환 동물모델들에서 치료효과를 보여주고 있으나 임상에서는 충분히 만족할만한 수준은 아직 아니며 따라서 온전한 치료법으로 사용되기위해 극복해야할 여러 문제들이 있다. 제시되고 있는 줄기세포 치료기전으로 신경보호효과, 신경조직재생, 항염증효과 및 신경세포 대체 등이 있으나 이 역시 가설일 뿐 생체 내에 이식된 줄기세포가 정확하게 어떻게 작용하는지 등에 대하여 명확하지 않은 상태이다. 따라서, 이식된 줄기세포를 생체 내에서 추적관찰할 수 있는 방법을 개발한다면 이런 문제를 해결하는데 도움이 될 수 있을 것이다. 본 저자도 이와 관련된 연구를 진행하여 새로운 펩타이드인 GV1001을 이용하여 이식된 줄기세포를 생체 내에서 추적 관찰하는 방법을 개발하였다. GV1001은 human telomerase reverse transcriptase의 catalytic site에 해당하는 16개 아미노산을 모방하여 만든 펩타이드로 이 펩타이드에 철 성분인 Ferrocenecarboxylic acid를 conjugation 시키고 이를 이식하고자하는 줄기세포에 처리하면 줄기세포를 효과적으로 표지할 수 있으며 표지된 줄기세포는 MRI를 이용하여 생체 내에서 어떻게 존재하는지, 이동하는지, 생존하는지 등을 효과적으로 확인할 수 있다.²⁰ 이 방법을 실제 임상에 사용한다면 줄기세포를 이식한 후 세포들이 체내에서 어떻게 움직이며 생존하는지 등을 밝힐 수 있으므로 줄기세포를 이용한 치료법을 향상하는데 크게 기여할 수 있을 것이다.

또한, 최근에는 신경염증의 역할이 신경계 질환들에서 매우 강조되고 있다. 최근 연구결과에 의하면 성상교세포의 역할이 신경염증에서 매우 중요하며 이를 잘 조절하면 신경계 질환의 새로운 치료법으로 충분히 이용할 수 있다고 한다.²¹ 이런 점을 고려하여 본 저자도 성체줄기세포를 적절하게 처리하여 성상교세포의 특성을 갖는 줄기세포로 분화 유도하였고 이 세포들을 뇌경색 동물모델에 이식하면 단순히 성체줄기세포를 이식하는 것보다 훨씬 뛰어난 치료효과를 얻을 수 있음을 확인하여 보고한 바 있다.²² 이 연구 결과를 토대로 현

재 보건산업진흥원의 지원을 받아 임상시험을 위한 전임상 연구를 진행중이기도 하다.

결론

결론적으로 줄기세포를 이용한 다양한 기술들이 매우 빠르게 발전하고 있으며 향후 다양한 신경계 질환들에 대한 치료법으로 충분히 사용가능 할 것이다. 여기에 사용될 줄기세포로는 뇌 안에 존재하는 신경줄기세포보다는 체외에서 배양 증식하여 이식하게 될 줄기세포들이 주를 이룰 것이며 이 경우 이식된 줄기세포의 기능을 개선하고 치료효과를 강화하기 위한 다양한 연구들이 동반되어야 한다. 최근 한국의 과학자가 줄기세포를 이용하여 파킨슨병 환자를 치료했다는 뉴스에서 보여지는 것처럼 줄기세포를 이용한 신경계 질환 치료법 개발이 멀리 있지 않으며 신경과 의사로서 줄기세포 치료법 개발에 보다 많은 관심을 가지고 적극적으로 참여할 필요가 있다.

Acknowledgements

This research was supported by the Basic Science Research Program of the National Research Foundation of Korea, funded by the Ministry of Science, ICT, and Future Planning (2018R1A2A2A15023219); by a grant from the Korea Health Technology R&D Project through the Korea Health Industry Development Institute (KHIDI) funded by the Ministry of Health & Welfare, Republic of Korea (grant number: HI20C0253), and by the Medical Research Center (2017R1A5A2015395).

참고문헌

- Chan, P.H. Reactive oxygen radicals in signaling and damage in the ischemic brain. *J Cereb Blood Flow Metab* 21, 2-14 (2001).
- Koh, S.H., et al. The effect of PARP inhibitor on ischaemic cell death, its related inflammation and survival signals. *Eur J Neurosci* 20, 1461-1472 (2004).
- Koh, S.H., Yoo, A.R., Chang, D.I., Hwang, S.J. & Kim, S.H. Inhibition of GSK-3 reduces infarct volume and improves neurobehavioral functions. *Biochem Biophys Res Commun* 371, 894-899 (2008).
- Kim, S., et al. Role of the phosphatidylinositol 3-kinase and extracellular signal-regulated kinase pathways in the neuroprotective effects of cilnidipine against hypoxia in a primary culture of cortical neurons. *Neurochem Int* 61, 1172-1182 (2012).
- Serrano-Pozo, A., Frosch, M.P., Masliah, E. & Hyman, B.T. Neuropathological alterations in Alzheimer disease. *Cold Spring Harb Perspect Med* 1, a006189 (2011).
- Chen, X.Q. & Mobley, W.C. Alzheimer Disease Pathogenesis: Insights From Molecular and Cellular Biology Studies of Oligomeric Abeta and Tau Species. *Front Neurosci* 13, 659 (2019).
- Koh, S.H., Noh, M.Y. & Kim, S.H. Amyloid-beta-induced neurotoxicity is reduced by inhibition of glycogen synthase kinase-3. *Brain Res* 1188, 254-262 (2008).
- Choi, H., et al. Coenzyme Q10 protects against amyloid beta-induced neuronal cell death by inhibiting oxidative stress and activating the P13K pathway. *Neurotoxicology* 33, 85-90 (2012).
- Han, F., Wang, W. & Chen, C. Research progress in animal models and stem cell therapy for Alzheimer's disease. *Journal of Neurorestoration* 3, 12 (2015).
- Lindvall, O. & Kokaia, Z. Stem cells for the treatment of neurological disorders. *Nature* 441, 1094-1096 (2006).
- Yamasaki, T.R., et al. Neural stem cells improve memory in an inducible mouse model of neuronal loss. *J Neurosci* 27, 11925-11933 (2007).
- Vogel, G. Stem cell research. Rat brains respond to embryonic stem cells. *Science* 295, 254-255 (2002).
- Bae, J.S., Jin, H.K., Lee, J.K., Richardson, J.C. & Carter, J.E. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells contribute to the reduction of amyloid-beta deposits and the improvement of synaptic transmission in a mouse model of pre-dementia Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res* 10, 524-531 (2013).
- Koh, S.H., et al. Implantation of human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells as a neuroprotective therapy for ischemic stroke in rats. *Brain Res* 1229, 233-248 (2008).
- Kim, H.Y., et al. Biological markers of mesenchymal stromal cells as predictors of response to autologous stem cell transplantation in patients with amyotrophic lateral sclerosis: an investigator-initiated trial and in vivo study. *Stem Cells* 32, 2724-2731 (2014).
- Choi, Y.K., et al. Dual effects of carbon monoxide on pericytes and neurogenesis in traumatic brain injury. *Nat Med* 22, 1335-1341 (2016).
- Kim, Y.S., et al. Association between serum stromal cell-derived factor-1alpha and long-term outcome of acute ischemic stroke. *Eur Neurol* 67, 363-369 (2012).
- Lee, S.C., et al. Serum VEGF levels in acute ischemic strokes are correlated with long-term prognosis. *Eur J Neurol* 17, 45-51 (2010).
- Koh, S.H., et al. beta-PIX is critical for transplanted mesenchymal stromal cell migration. *Stem Cells Dev* 21, 1989-1999 (2012).

20. Park, H.H., *et al.* Tracking and protection of transplanted stem cells using a ferrocenecarboxylic acid-conjugated peptide that mimics hTERT. *Biomaterials* 155, 80-91 (2018).
21. Liddel, S.A., *et al.* Neurotoxic reactive astrocytes are induced by activated microglia *Nature* 541, 481-487 (2017).
22. Son, J.W., *et al.* Glia-Like Cells from Late-Passage Human MSCs Protect Against Ischemic Stroke Through IGFBP-4. *Mol Neurobiol* 56, 7617-7630 (2019).