



역분화줄기세포의 연구현황과 임상적용을 위한 과제

윤 병 선 · 유 승 권* | 고려대학교 생명과학대학 세포기능조절실험실

Trends and clinical application of induced pluripotent stem cells

Byung Sun Yoon, PhD · Seungkwon You, PhD*

Laboratory of Cell Function Regulation, Korea University College of Life Sciences and Biotechnology, Seoul, Korea

*Corresponding author: Seungkwon You, E-mail: bioseung@korea.ac.kr

Received February 7, 2011 · Accepted February 21, 2011

The generation of induced pluripotent stem cells (iPSCs) from somatic cells demonstrated that adult mammalian cells can be reprogrammed into a pluripotent state by introducing defined transcription factors. iPSCs show almost identical properties in self-renewal and pluripotency, and can circumvent ethical concerns because they do not use embryonic materials. Therefore, iPSCs from a patient's somatic cells have great potential in studying drug development and regenerative medicine. Several human disease models have already been established using patient-specific iPSCs from Parkinson's disease and familial dysautonomia. Moreover, the correction of genetic defects by homologous recombination has already been accomplished with Fanconi anemia patient-specific iPSCs. However, the generation of patient-specific iPSCs for clinical application requires alternative strategies, because genome-integrating viral vectors may raise tumorigenic risk after transplantation. Moreover, the use of iPSCs for eventual clinical application is limited by the low efficiency of current methods for reprogramming. Studies on the mechanism underlying the reprogramming and on establishment of non-integration methods contribute evidence toward resolving the safety concerns associated with iPSCs. Small molecules involved in the epigenetic modification and signaling pathway not only improve reprogramming efficiencies, but also bypass the addition of certain reprogramming factors. However, reprogramming somatic cells purely by small molecule treatment still remains a challenge. Here, we review recent progress made by the use of transcription factors and small molecules that can either replace reprogramming factors or enhance reprogramming efficiency. We also discuss the progress that has been made in the rapidly moving iPSC field, with an emphasis on understanding the mechanisms of cellular reprogramming and its potential application to cell therapy.

Keywords: Induced pluripotent stem cells; Reprogramming; Drug development; Regenerative medicine; Tissue therapy

서 론

줄기세포가 처음 발견된 초기에는 조직 및 기관 형성과 관련된 유전적 정보를 밝히는 데에 초점을 두었으나 최근의 줄기세포 연구는 줄기세포가 인간의 몸을 구성하는 모든 조직으로 분화할 수 있는 능력으로 인하여 재생의학을 통한 세포치료의 관점으로 바뀌게 되었다. 이러한 줄기세포는 크게 배아줄기세포(embryonic stem cells), 체세포 복제 배아줄기세포(somatic cell nuclear transfer), 성체줄기세포(adult stem cells), 그리고 최근에 보고된 역분화줄기세포(induced pluripotent stem cells, iPSCs)로 나눌 수 있다. 이들은 인체를 구성하는 세포로 분화가 가능하여 난치병, 유전적 질병 등을 치료할 수 있는 도구로서 전세계적으로 각광을 받고 있다. 배아줄기세포 및 복제배아줄기세포는 발생단계에서 수정란 포배기 시기의 내부세포괴로부터 유래하며 자가재생능력이 뛰어나 많은 양의 미분화 세포를 획득할 수 있다. 게다가 인간의 몸을 구성하는 외배엽, 중배엽, 내배엽으로의 분화 능력이 뛰어나 세포치료의 가능성을 제시하였으나 난자를 이용해야 하는 점 때문에 윤리적인 문제가 대두되고 있다. 성체줄기세포는 성체의 골수, 제대혈, 혈액, 태반 등에서 추출한 줄기세포로 윤리적인 문제가 전혀 없으며 조직적합성을 고려해 추출하면 면역거부반응을 해결할 수 있다는 장점에도 불구하고 체외증식의 한계로 인하여 많은 양의 미분화 세포를 얻을 수 없고 분화능력이 배아줄기세포에 비해 제한적이라는 단점을 가지고 있다. iPSCs는 일본 교토대학의 Yamanaka 박사팀이 2006년과 2007년에 마우스와 인간 체세포의 인위적 리프로그래밍 유도방법에 대한 논문을 발표한 이후에 4년 동안 전세계에서 많은 연구자들이 관심을 갖고 매우 빠르게 발전하고 있는 분야이다[1]. 난자를 사용하지 않는 iPSCs는 성체 세포를 이용하므로 윤리적인 문제 및 자신에게서 세포를 추출하므로 면역거부 반응이 없다. 또한 배아줄기세포와 유사하게 자가재생능력 및 분화능력이 뛰어나지만 주로 레트로바이러스나 렌티바이러스를 사용하여 역분화를 유도하기 때문에 환자에 적용하기 위해서는 바이러스를 사용하지 않는 새로운 역분화 방법을 강구해야 한다는 단점이 있다. 그러나 지금까지 환자 맞춤형 세포치료에 적합한 여러 종류의 줄기세포의 장단

점을 고려한 결과 특히 환자 특이적 iPSCs는 난치병, 유전적 질병 치료를 위한 가장 근접한 대안이며 최근에 전세계적으로 각광을 받고 있는 분야이다. 본 보고에서는 이러한 iPSCs의 최근 전세계 연구 동향과 임상적용을 위한 역분화 방법 및 해결해야 할 과제에 대해 논의하고자 한다.

역분화줄기세포란?

역분화(dedifferentiation)는 이미 분화된 세포들이 초기 미분화 상태로 되돌아가는 상태를 말하며 이러한 역분화 현상은 일련의 후생학적 역행과정인 ‘리프로그래밍(reprogramming)’을 통해 이루어진다. 따라서 iPSCs는 이미 분화된 체세포에 외부에서 인위적인 자극을 주어 우리 몸을 이루는 모든 기관의 세포로 분화 가능한 배아줄기세포와 비슷한 만능성(pluripotency)을 획득한 세포를 의미한다. 이러한 역분화 유도는 1997년 영국의 Wilmut 박사팀에서 핵이식으로 복제동물인 돌리를 만드는데 성공하였으며, 이는 난자의 세포질에 존재하는 물질들에 의해 인위적인 역분화가 가능함을 제시하였다[2]. 또한 2005년 Collas 박사팀에서는 배아줄기세포나 배아종양세포의 추출물을 체세포에 처리하여 배아줄기세포와 비슷한 형태의 콜로니를 형성할 수 있고 삼배엽으로 분화능력 또한 가능함을 제시하였으며[3], 같은 해에 하버드 대학의 Eggan 박사팀은 배아줄기세포와 섬유아 세포를 융합시켰을 때 섬유아 세포가 리프로그래밍 과정을 통하여 만능성을 재획득하는 것을 보고하였다[4]. 이러한 결과들은 난자 및 배아줄기세포 내에 역분화 인자가 존재한다는 것을 알 수 있다. 이러한 배경하에 2006년 Yamanaka 박사팀은 생쥐 체세포에 배아줄기세포의 특성을 유지하는 24개의 후보 유전자들중 Oct4, Sox2, Klf4, c-Myc 4가지 유전자를 선별하여 레트로 바이러스로 도입하여 만능성을 가진 세포를 만들어 내는데 성공하였으며 이를 iPSCs라 명명하였다(Figure 1) [1,5]. 이 연구팀은 1년 뒤 같은 방법을 통해 인간의 체세포에서도 iPSCs를 확립하였으며 신경, 심장세포로의 분화가 가능하다는 것을 보고하였다[6]. 이러한 보고들은 체세포를 통해 환자와 동일한 유전자를 가지는 iPSCs를 대량으로 생산할 수 있음을 시사하였다.

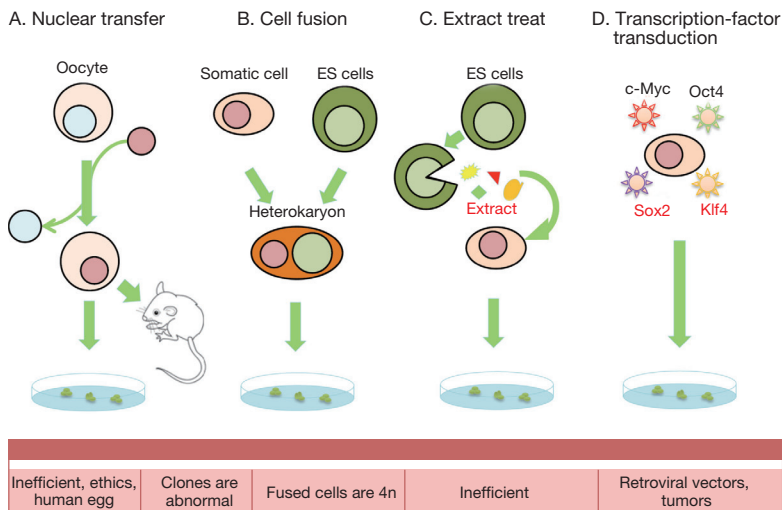


Figure 1. Four strategies to induce reprogramming of somatic cells. ES cell, embryonic stem cell.

임상적용 가능한 역분화줄기세포를 확립하기 위한 최근 동향

iPSCs의 핵심기술은 체세포에 역분화 유전자(Oct4, Sox2, klf4, C-myc)를 도입하여 세포의 생물학적 특성을 배아줄기세포와 유사하게 만드는 데 있다. 그러나 유전자 도입 방법에 있어 바이러스가 매개가 되기 때문에 그로 인해 나타날 수 있는 부작용이 제기되고 있으며 또한 역분화 유전자 자체로부터 올 수 있는 암 유발 가능성으로 임상 적용에 걸림돌이 되고 있다[7]. 따라서 이를 극복하기 위해 바이러스를 이용하지 않는 유전자 도입방법의 이용, 종양유전자를 배제한 역분화 유도 기술개발, 역분화 효율성 증가를 위한 연구들이 진행되고 있다(Figure 2).

1. 역분화 유전자 감소

역분화 유도 인자는 2006년 Yamanaka 박사팀에서 보고한 Oct4, Sox2, Klf4, c-Myc 유전자와 2007년 Thomson 그룹에서 보고한 Oct4, Sox2, Nanog, Lin28이다[1,8]. 이러한 역분화 인자중 Klf4, c-Myc 유전자가 발암유전자로 암을 일으키는 위험성이 있다는 문제가 제기되면서 발암 유전자를 제거하는 연구가 진행되었다[1]. 먼저 c-Myc을 제거한

3가지 유전자로 iPSCs를 확립하였고[9], 다른 발암 유전자인 Klf4를 제거한 Oct4, Sox2 만을 이용하여 iPSCs를 확립하는데 성공하였다[10]. 최근에는 내생적으로 Sox2 유전자가 발현하는 신경줄기세포에서 Oct4 유전자만을 이용하여 iPSCs를 확립하였지만 인간의 신경줄기세포를 획득하는데에는 한계가 있다[11]. 2010년 인간 체세포에서 저분자성 물질과 Oct4 유전자만을 이용하여 iPSCs를 확립함으로써 유전자 도입이 없는 역분화가 가능함을 시사하고 있다[12]. 따라서 궁극적으로는 세포에 직접적인 유전자 조작 없이 세포 내생(endogenous)의 유전자 발현 조절을 통한 역분화 유도기술의 확립이 필요할 것으로 생각한다.

2. 바이러스를 배제한 역분화 유도 방법

기존의 iPSCs를 확립하는 방법에서 유전자를 도입하는데 주로 사용한 바이러스는 계놈상에 불규칙적으로 끼어들어가 돌연변이를 일으키고 발암 유전자의 활성화 및 항암유전자의 발현을 억제시켜 종양을 유발할 가능성이 크다. 따라서 iPSCs를 세포치료의 목적으로 사용하기 위해서는 바이러스를 배제한 유도방법이 필수적이다. 바이러스 유래 벡터가 아닌 플라스미드를 이용한 방법이 보고되고[13], 비삽입성 에피솜 벡터를 이용하여 인간 iPSCs를 확립하였으며 외부로부터 삽입한 유전자를 완전히 제거하는 것에 성공하였다[14]. 그리고 역분화 4개의 인자를 세포에 삽입한 후 여기서 만들어진 역분화 단백질을 추출하여 피부세포에 처리하여 iPSCs를 제작하였다[15]. 최근에는 역분화 유전자 단백질을 생산하는 유전정보 중간 매개체인 mRNA를 합성하여 직접 세포에 주입하는 방법으로 iPSCs를 확립하였다[16]. 이렇게 비바이러스성 물질을 이용한 방법들이 최근 많이 보고되고 있지만 iPSCs를 만드는 효율적인 면에서는 상당히 떨어지는 경우가 많아 효율적인 측면을 올리기 위한 연구들이 많이 진행되고 있다.

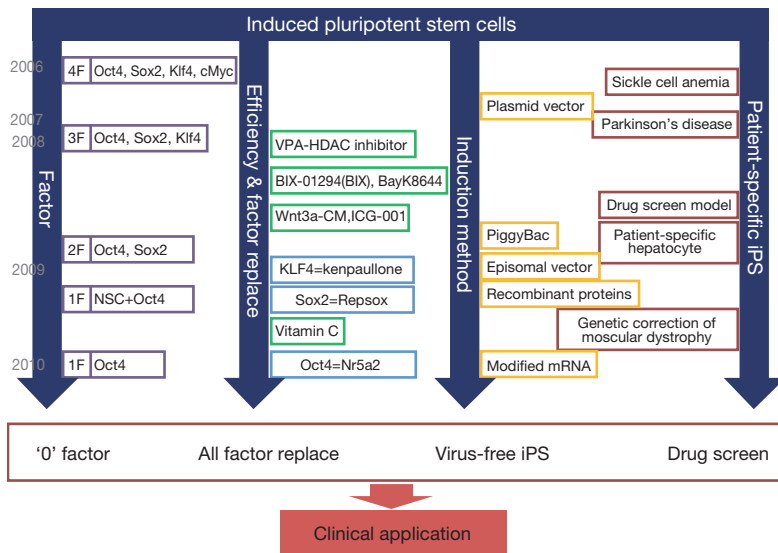


Figure 2. Trends and clinical application of induced pluripotent stem cells. iPS, induced pluripotent stem.

3. 효율성 증가 및 유전자 대체 물질 발굴

위에서 보고한 역분화 유전자들을 사용하지 않고 iPSCs를 생성하기 위해서는 무엇보다도 각각의 유전자들을 대체할 수 있는 저분자성 물질(small molecules)이 필요하다. 또한 바이러스 매개 방법 및 유전자를 배제하는 방법들을 이용한 iPSCs의 생성효율은 상당히 낮기 때문에 이러한 문제점을 해결할 수 있는 효율성을 증가시키는 연구들이 진행되고 있다. 우선 유전자들을 대체할 수 있는 저분자성 물질들 kenpaulone (Klf4 유전자 대체)[17], repsox (Sox2대체)[18]를 발굴하였다. 유전자 발현은 transcription factors와 DNA 메틸레이션, 히스톤 메틸레이션/아세틸레이션과 같은 후생학적 변이(epigenetic modifications)에 의해 조절된다. 이러한 iPSCs는 줄기세포와 후생학적 변이가 비슷하며 피부세포에서 Oct4와 Nanog의 promoter부분은 DNA가 메틸화 되어있어서 유전자 발현이 억제되며 iPSCs에서는 탈메틸화로 유전자가 발현이 된다. 최근에는 이러한 DNA methyltransferase inhibitor (5'-azacytidine, RG108), Histone deacetylase inhibitor (valproic acid, trichostatin A), G9a histone methyltransferase inhibitor (BIX-01294)를 역분화 유도 시에 첨가하였을 경우 효율이

증가하였다[19,20]. 이러한 연구 결과로 후생학적 변이가 iPSCs 유도에 중요하다는 것을 알 수 있다.

역분화줄기세포를 이용한 신약개발

많은 퇴행성 질병의 치료(1형 당뇨병, 치매, 파킨슨병) 등의 연구는 손상된 조직의 접근성 및 그와 관련된 세포를 체외에서 오랜 시간 배양하는데 있어 잘 자라지 않는다는 점의 한계가 있다. iPSCs는 체외배양을 통해 무한 증식이 가능하고 원하는 세포를 대량으로 제공할 수 있으며, 환자의 피부세포에서 유래한 iPSCs를 체외에서 분화시

켜 그 병을 재현하는 '질병모델'을 만들어 질병을 치료하는 신약을 만들 수 있다. 예를 들어, 근위축성 측삭경화증(amyotrophic lateral sclerosis)과 척수근위축증(spinal muscular atrophy, SMA)으로 고통 받는 환자의 질병으로 인해 운동 뉴런이 사멸하는 것을 막는 약을 개발한다든가, 당뇨병 환자들이 인슐린을 만드는 β cell을 비정상적으로 잃는 것을 막는 약을 개발할 수 있다(Figure 3) [21]. 지금까지 iPSCs로 신약을 얼마나 밝혀내었을까? 실제로, 여러 연구팀들이 이미 헌팅턴병과 파킨슨병, 소아당뇨병, 근육병, 판코니 빈혈, 다운증후군 등의 질병[22-25]을 가진 환자로부터 유래한 iPSCs를 보유하고 있으며 신약개발 연구를 가능하게 해줄 것으로 생각한다. 게다가 치명적 장애인 SMA [26], 가족성 자율신경 실조증(familial dysautonomia) [27], 레오파드 증후군(LEOPARD syndrome) [28]을 겪는 환자로부터 유래한 iPSCs를 이용해서 환자들이 보여준 세포의 이상증상과 똑 같은 증상을 체외에서 재현해내는데 성공했으며, 놀랍게도 체외에서 배양된 세포가 이들 질병을 위한 실험 약물을 처리했을 때 완화된다는 결과를 보아 iPSCs는 치료약이 없는 많은 다른 질병들에 있어서 신약개발 및 세포 치료제로서 많은 환자들에게 도움이 될 수 있을 것이다.

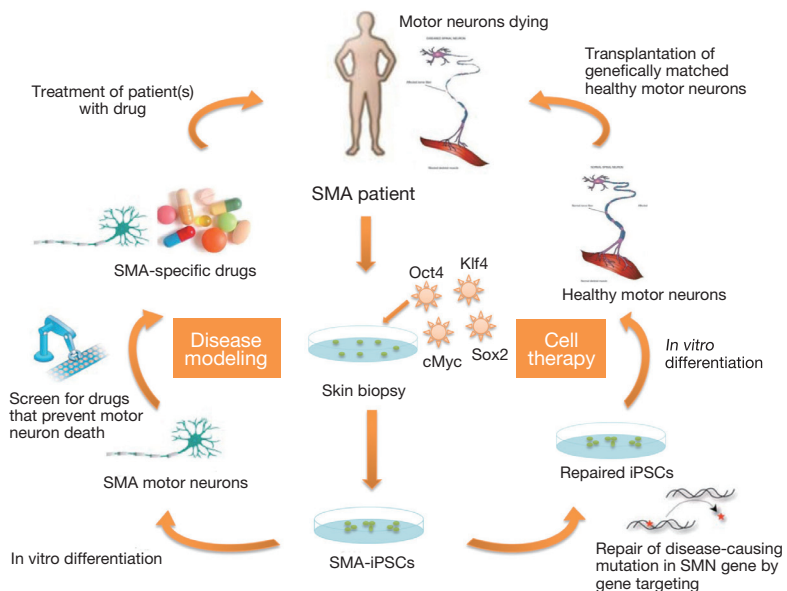


Figure 3. Potential clinical application of induced pluripotent stem cells (iPSCs). SMA, spi-nal muscular atrophy.

역분화줄기세포를 이용한 세포치료

세포 치료(cell therapy)란 손상된 세포와 조직의 기능을 복원시키기 위해 세포를 체외에서 증식, 선별하여 손상된 조직에 세포를 이식함으로써 질병을 치료하는 치료법이다. 이는 파킨슨병, 치매 등의 퇴행성 질환을 비롯하여 심근경색, 척추손상, 당뇨병 등 현재 치료가 어려운 수많은 난치병들을 치료하기 위한 하나의 대안으로 각광받고 있다. 약물에 의존하는 치료법에 비해 근본적인 치료가 가능하다. 그러나 2006년 이전까지 세포치료의 재료로 이용될 수 있었던 성체 줄기세포와 배아줄기세포는 각각이 가지는 단점으로 인해 제한을 가질 수 밖에 없었다. 성체줄기세포는 세포를 획득하기는 용이하나 분화능력과 분열능력에 한계를 가져 기능성 세포의 대량 생산이 어려운 반면, 배아줄기세포는 이를 획득하기 위해 배아를 파괴해야 하는 윤리적 문제와 면역 거부반응 등의 문제점을 가지고 있다. 반면 iPSCs는 배아줄기 세포처럼 모든 세포로 분화할 수 있고 분열 능력에 한계가 없으면서도 환자 자신의 세포를 이용하기 때문에 윤리적 문제나 면역거부반응의 문제점들을 극복할 수 있는 기술로 각

광받고 있다. 최근 iPSCs를 이용하는 데 있어 가장 큰 관심을 모으는 분야는 재생의학분야로 특히, 환자 자신의 세포를 이용하여 치료하는 자가세포치료에 있다. 즉 환자 자신의 피부세포에서 iPSCs를 만들어 필요한 세포로 분화시켜 환자 자신의 치료에 사용하는 방법을 말하며 다른 사람의 세포를 이식하였을 때 생기는 심각한 부작용인 면역 거부반응이 일어나지 않는다. 또한 난치병이나 유전적 질환 치료에도 큰 도움을 줄 것이다. 난치병이나 유전적 질환을 갖는 환자의 피부세포로부터 iPSCs를 제작하고 그 환자가 가지는 유전자 부위를 정상으로 만든 후에 필요한 세포로 분화시켜 환자 몸에 이식함으로써 정상적으로 기능을 재생시킬 수

있다. 마우스를 이용한 실험에서 유전적 장애를 iPSCs로 치료하는 것이 실현 가능하다고 제안하고 있다. 특히 미국 MIT의 Jaenisch 박사팀은 겸상적혈구빈혈증(sickle cell anemia)의 동물 모델에서 iPSCs가 그러한 결함을 치료해내는데 사용할 수 있다고 보고하였다[29]. 즉, 겸상적혈구 빈혈증 마우스의 피부 세포로부터 iPSCs를 제작하여 이를 유전적으로 변형 한 후, 조혈모세포의 전구체로 분화시켜 겸상적혈구 빈혈증 마우스에 이식한 결과 정상적인 적혈구를 생성하고 질병을 치료하였다. 이러한 접근을 통해 세포치료가 가능해 진다면 돌연변이가 알려져 있는 인간의 어떠한 질병에도 적용 될 수 있다고 생각한다.

질병 모델과 세포치료에서의 과제

동물모델에서의 성공에도 불구하고 iPSCs 기술은 아직 환자에게 세포이식을 하기에는 아직은 이르다. 가장 중요한 문제는 안전성에 관한 문제이다. iPSCs는 배아줄기세포와 같이 기형종을 형성하는 경향이 있으며 현재의 분화방법 또한 분화되지 않은 미분화 세포들이 존재해 있다[30]. 그러나

이런 문제점들을 해결하기 위한 노력은 배아줄기세포의 연구에서부터 연구가 진행되고 있으며 유세포분석기(FACS)를 이용하여 양성, 음성선별을 통해 어느 정도 문제점을 해결하는 과정에 있다[31]. 대부분의 환자맞춤형 iPSCs는 바이러스의 벡터주입을 통해 만들어지고 있다. 이러한 바이러스를 이용하는 방법은 인간에게 적용 시 감염의 문제가 있어 iPSCs를 세포치료에 이용하는데 있어 큰 장애물이 된다. 따라서 전이유전자를 배제한 새로운 환자맞춤식 iPSCs의 생산이 중요한 과제가 된다. 또한 돌연변이된 유전자를 고치는 유전자 적중술(gene targeting)이 요구되는 질병들에 있어서도 더 효율적인 유전자 적중술의 개발이 필요하다. 인간 배아줄기세포에 적용되는 통상적인 유전자 적중술은 매우 비효율적이며 오랜 기간의 배양으로 인해 비정상적인 핵형이 발생할 수 있다[32]. 인간 배아줄기세포의 내생적인 유전자를 표적화하는 일에서 아연집게핵산가수분해효소(zinc finger nuclease)의 사용은 주목할 만한 효율성의 증가를 가져오기 때문에, iPSCs를 조작하는 방법 중 하나의 선택이 될 수 있다[33]. 또 다른 방법으로 인간 배아줄기세포나 iPSCs에서 역분화 인자를 과발현시키거나 특정 배양조건에서 쥐의 배아줄기세포와 같은 단일세포로 배양할 수 있는 조건을 확립하면 이러한 유전자 적중술이 쉬워지는 장점이 있다[34]. 마지막으로 많은 쥐의 iPSCs가 후생학적 이상(epigenetic abnormalities), 공여세포의 일시적인 후생학적 기억(epigenetic memory) 남아있기 때문에 인간 iPSCs 또한 유사한 잠재적인 이상을 가질 수 있으므로 조심스러운 분자적, 기능적인 평가가 필요하다[35]. 질병 모델링 또한 세포치료와 같은 문제에 직면하고 있으며 추가적인 문제 또한 지니고 있다. 단일 유전자적 질병의 모델링의 경우 좋은 결과가 보이는 자료가 나오고 있으나, 당뇨병이나 알츠하이머 증후군 같은 다유전자적 질병이 생체 외 실험관 내 상황에서 동일하게 다뤄질 것이라는 데에는 논란의 여지가 있다. 또 다른 문제는 고령에 발병하는 알츠하이머증후군이나 파킨슨병 같은 경우 체외에서 몇 주 정도 배양된다고 해서 세포의 성격이 비슷할 수 있는지 다른 종류의 환경적, 유전적 스트레스로 인해 가속화시킬 필요가 있는지에 대한 문제이다. 이 문제는 파킨슨병 환자로부터 유래한 iPSCs에서 얻어진

신경세포가 정상 신경세포와 비교했을 때 이상이 발견되지 않음으로써 많은 질병들이 세포 스스로의 이상보다는 많은 다른 세포들과의 상호작용함으로써 발생한다는 것이다[25]. 이론적으로, iPSCs로부터 질병에 관련된 모든 세포종을 얻는 것이 가능하다고 해도, 현재의 분화기술로는 기능을 갖춘 세포를 얻는 것은 쉽지 않은 일이며 그마저도 몇몇 조직에 한정되어 있다.

결론

현재 iPSCs 자체도 완성된 기술이라 볼 수 없고 그에 뒤따르는 분화기술 역시 마찬가지이다. 모든 세포로 분화할 수 있다는 만능 줄기세포의 특성 상, 재생의학 분야에서 응용 범위를 한계를 둘 수 없으며 iPSCs의 실제 활용 시기는 각각의 질병에 따라 다르게 나타날 것이라 생각하나, 임상과정을 거치는데 많은 시간이 소요되므로 iPSCs가 세포치료에 적용되는 것은 십 년 이상 걸릴 것으로 예상되며 실제 적용 방법은 크게 세 가지 정도로 생각해 볼 수 있다. 첫째로, 환자 개개인의 세포를 채취하여 직접 iPSCs를 만들고 이를 다시 기능성 세포로 분화하여 치료하는 방법이 있다. 그러나 획득한 환자의 체세포로부터 iPSCs를 만들어 내는 데에만 최소 한 달 정도의 시간이 소요되므로 긴급한 환자의 경우 치료에 어려움이 있을 수 있다. 두 번째로는 iPSCs은행을 만들어 환자가 생겼을 경우 그 환자와 면역적으로 가장 일치하는 세포를 이용하여 치료하는 방법이 있을 수 있다. iPSCs는 무한 증식이 가능하기 때문에 일일이 환자마다 iPSCs를 만드는 번거로움 없이 인구분석을 통해 면역타입이 일치하는 최소한의 조합을 분석하여 그 수 만큼의 iPSCs를 확립한 iPSCs은행 시스템을 구축한다면, 긴급한 환자더라도 세포은행으로부터 환자의 면역타입에 적합한 세포를 찾아 이를 이용한 세포치료가 가능할 것이다. 마지막으로 현재 활발히 연구가 진행되고 있는 조직공학 기술이 발달할 경우 인공장기의 생산을 기대할 수 있다. 이는 현재와 같이 장기이식이 필요한 환자가 장기제공자가 나타나기를 기다리는 것이 아니라, iPSCs를 이용해 환자에게 맞는 장기를 주문제작하여 이식수술만으로 완쾌할 수 있는 치료법이 될 수 있을 것이

다. iPSCs에 관한 연구는 바이러스를 이용하지 않는 유전자 도입방법, 종양유전자를 배제한 역분화 유도 기술개발, 효율성 증가 등을 위해 많은 연구가 활발히 진행되고 있으며 난치성 질병 환자를 또한 이러한 기술들이 질병치료에 효과적일 것으로 기대하고 있다. 하지만 이러한 기술들이 치료에 적용되기 위해서는 iPSCs를 이용하였을 때에 일어날 수 있는 면역거부, 종양 유발 등 부작용에 대한 연구 또한 간과하지 않고 활발히 진행되어야 할 것으로 생각한다.

핵심용어: 역분화줄기세포; 리프로그래밍; 신약개발; 재생의학; 세포치료

REFERENCES

- Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 2006;126:663-676.
- Wilmot I, Schnieke AE, McWhir J, Kind AJ, Campbell KH. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature* 1997;385:810-813.
- Taranger CK, Noer A, Sorensen AL, Hakelien AM, Boquest AC, Collas P. Induction of dedifferentiation, genomewide transcriptional programming, and epigenetic reprogramming by extracts of carcinoma and embryonic stem cells. *Mol Biol Cell* 2005;16:5719-5735.
- Cowan CA, Atienza J, Melton DA, Eggan K. Nuclear reprogramming of somatic cells after fusion with human embryonic stem cells. *Science* 2005;309:1369-1373.
- Jaenisch R, Young R. Stem cells, the molecular circuitry of pluripotency and nuclear reprogramming. *Cell* 2008;132:567-582.
- Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell* 2007;131:861-872.
- Okita K, Ichisaka T, Yamanaka S. Generation of germline-competent induced pluripotent stem cells. *Nature* 2007;448:313-317.
- Yu J, Vodyanik MA, Smuga-Otto K, Antosiewicz-Bourget J, Frane JL, Tian S, Nie J, Jonsdottir GA, Ruotti V, Stewart R, Slukvin II, Thomson JA. Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells. *Science* 2007;318:1917-1920.
- Nakagawa M, Koyanagi M, Tanabe K, Takahashi K, Ichisaka T, Aoi T, Okita K, Mochizuki Y, Takizawa N, Yamanaka S. Generation of induced pluripotent stem cells without Myc from mouse and human fibroblasts. *Nat Biotechnol* 2008;26:101-106.
- Huangfu D, Osafune K, Maehr R, Guo W, Eijkelenboom A, Chen S, Muhlestein W, Melton DA. Induction of pluripotent stem cells from primary human fibroblasts with only Oct4 and Sox2. *Nat Biotechnol* 2008;26:1269-1275.
- Kim JB, Greber B, Arauzo-Bravo MJ, Meyer J, Park KI, Zaeheres H, Scholer HR. Direct reprogramming of human neural stem cells by OCT4. *Nature* 2009;461:649-643.
- Zhu S, Li W, Zhou H, Wei W, Ambasudhan R, Lin T, Kim J, Zhang K, Ding S. Reprogramming of human primary somatic cells by OCT4 and chemical compounds. *Cell Stem Cell* 2010;7:651-655.
- Okita K, Nakagawa M, Hyenjong H, Ichisaka T, Yamanaka S. Generation of mouse induced pluripotent stem cells without viral vectors. *Science* 2008;322:949-953.
- Yu J, Hu K, Smuga-Otto K, Tian S, Stewart R, Slukvin II, Thomson JA. Human induced pluripotent stem cells free of vector and transgene sequences. *Science* 2009;324:797-801.
- Kim D, Kim CH, Moon JI, Chung YG, Chang MY, Han BS, Ko S, Yang E, Cha KY, Lanza R, Kim KS. Generation of human induced pluripotent stem cells by direct delivery of reprogramming proteins. *Cell Stem Cell* 2009;4:472-476.
- Warren L, Manos PD, Ahfeldt T, Loh YH, Li H, Lau F, Ebina W, Mandal PK, Smith ZD, Meissner A, Daley GQ, Brack AS, Collins JJ, Cowan C, Schlaeger TM, Rossi DJ. Highly efficient reprogramming to pluripotency and directed differentiation of human cells with synthetic modified mRNA. *Cell Stem Cell* 2010;7:618-630.
- Lyssiotis CA, Foreman RK, Staerk J, Garcia M, Mathur D, Markoulaki S, Hanna J, Lairson LL, Charette BD, Bouchez LC, Bollong M, Kunick C, Brinker A, Cho CY, Schultz PG, Jaenisch R. Reprogramming of murine fibroblasts to induced pluripotent stem cells with chemical complementation of Klf4. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009;106:8912-8917.
- Ichida JK, Blanchard J, Lam K, Son EY, Chung JE, Egli D, Loh KM, Carter AC, Di Giorgio FP, Koszka K, Huangfu D, Akutsu H, Liu DR, Rubin LL, Eggan K. A small-molecule inhibitor of tgfbeta signaling replaces sox2 in reprogramming by inducing nanog. *Cell Stem Cell* 2009;5:491-503.
- Huangfu D, Maehr R, Guo W, Eijkelenboom A, Snitow M, Chen AE, Melton DA. Induction of pluripotent stem cells by defined factors is greatly improved by small-molecule compounds. *Nat Biotechnol* 2008;26:795-797.
- Shi Y, Despons C, Do JT, Hahm HS, Scholer HR, Ding S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic fibroblasts by Oct4 and Klf4 with small-molecule compounds. *Cell Stem Cell* 2008;3:568-574.
- Stadtfield M, Hochedlinger K. Induced pluripotency: history, mechanisms, and applications. *Genes Dev* 2010;24:2239-2263.

22. Dimos JT, Rodolfa KT, Niakan KK, Weisenthal LM, Mitsumoto H, Chung W, Croft GF, Saphier G, Leibel R, Goland R, Wichterle H, Henderson CE, Eggan K. Induced pluripotent stem cells generated from patients with ALS can be differentiated into motor neurons. *Science* 2008;321:1218-1221.
23. Park IH, Arora N, Huo H, Maherali N, Ahfeldt T, Shimamura A, Lensch MW, Cowan C, Hochedlinger K, Daley GQ. Disease-specific induced pluripotent stem cells. *Cell* 2008;134:877-886.
24. Raya A, Rodriguez-Piza I, Guenechea G, Vassena R, Navarro S, Barrero MJ, Consiglio A, Castella M, Rio P, Sleep E, Gonzalez F, Tiscornia G, Garreta E, Aasen T, Veiga A, Verma IM, Surralles J, Bueren J, Izpisua Belmonte JC. Disease-corrected haematopoietic progenitors from Fanconi anaemia induced pluripotent stem cells. *Nature* 2009;460:53-59.
25. Soldner F, Hockemeyer D, Beard C, Gao Q, Bell GW, Cook EG, Hargus G, Blak A, Cooper O, Mitalipova M, Isacson O, Jaenisch R. Parkinson's disease patient-derived induced pluripotent stem cells free of viral reprogramming factors. *Cell* 2009;136:964-977.
26. Ebert AD, Yu J, Rose FF, Jr., Mattis VB, Lorson CL, Thomson JA, Svendsen CN. Induced pluripotent stem cells from a spinal muscular atrophy patient. *Nature* 2009;457:277-280.
27. Lee G, Papapetrou EP, Kim H, Chambers SM, Tomishima MJ, Fasano CA, Ganat YM, Menon J, Shimizu F, Viale A, Tabar V, Sadelain M, Studer L. Modelling pathogenesis and treatment of familial dysautonomia using patient-specific iPSCs. *Nature* 2009;461:402-406.
28. Carvajal-Vergara X, Sevilla A, D'Souza SL, Ang YS, Schaniel C, Lee DF, Yang L, Kaplan AD, Adler ED, Rozov R, Ge Y, Cohen N, Edelmann LJ, Chang B, Waghray A, Su J, Pardo S, Lichtenbelt KD, Tartaglia M, Gelb BD, Lemischka IR. Patient-specific induced pluripotent stem-cell-derived models of LEOPARD syndrome. *Nature* 2010;465:808-812.
29. Hanna J, Wernig M, Markoulaki S, Sun CW, Meissner A, Cassady JP, Beard C, Brambrink T, Wu LC, Townes TM, Jaenisch R. Treatment of sickle cell anemia mouse model with iPS cells generated from autologous skin. *Science* 2007;318:1920-1923.
30. Wernig M, Zhao JP, Pruszak J, Hedlund E, Fu D, Soldner F, Broccoli V, Constantine-Paton M, Isacson O, Jaenisch R. Neurons derived from reprogrammed fibroblasts functionally integrate into the fetal brain and improve symptoms of rats with Parkinson's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;105:5856-5861.
31. Schuldiner M, Itskovitz-Eldor J, Benvenisty N. Selective ablation of human embryonic stem cells expressing a "suicide" gene. *Stem Cells* 2003;21:257-265.
32. Draper JS, Smith K, Gokhale P, Moore HD, Maltby E, Johnson J, Meisner L, Zwaka TP, Thomson JA, Andrews PW. Recurrent gain of chromosomes 17q and 12 in cultured human embryonic stem cells. *Nat Biotechnol* 2004;22:53-54.
33. Hockemeyer D, Soldner F, Beard C, Gao Q, Mitalipova M, DeKolver RC, Katibah GE, Amora R, Boydston EA, Zeitler B, Meng X, Miller JC, Zhang L, Rebar EJ, Gregory PD, Urnov FD, Jaenisch R. Efficient targeting of expressed and silent genes in human ESCs and iPSCs using zinc-finger nucleases. *Nat Biotechnol* 2009;27:851-857.
34. Hanna J, Cheng AW, Saha K, Kim J, Lengner CJ, Soldner F, Cassady JP, Muffat J, Carey BW, Jaenisch R. Human embryonic stem cells with biological and epigenetic characteristics similar to those of mouse ESCs. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010;107:9222-9227.
35. Kim K, Doi A, Wen B, Ng K, Zhao R, Cahan P, Kim J, Aryee MJ, Ji H, Ehrlich LI, Yabuuchi A, Takeuchi A, Cunniff KC, Hongguang H, McKinney-Freeman S, Naveiras O, Yoon TJ, Irizarry RA, Jung N, Seita J, Hanna J, Murakami P, Jaenisch R, Weissleder R, Orkin SH, Weissman IL, Feinberg AP, Daley GQ. Epigenetic memory in induced pluripotent stem cells. *Nature* 2010;467:285-290.



Peer Reviewers' Commentary

본 논문은 역분화줄기세포의 최근 동향을 살펴봄과 함께 역분화세포의 문제점 및 임상적응을 위해 해결해야 할 과제에 대한 설명을 하고 있다. 줄기세포가 학문적 뿐 아니라 난치병을 치료하기 위한 주요 도구로 생각되어 지고 있는 시점에서, 임상적응 가능한 역분화줄기세포를 확립하기 위해 바이러스를 대체할 수 있는 매개체 및 역분화 효율을 높이기 위한 최근의 노력에 대해 체계적으로 서술하고 있다. 그리고 역분화 과정에서 후생학적 기억이 완전히 지워지지 않을 수도 있고 아직 밝혀지지 않은 문제점도 고려한다면 아직 만능줄기세포가 세포 치료제로 사용하는 데는 십 년 이상 걸릴 것이라는 것에 동의하는 바이다. 아울러 본 논문은 최근 줄기세포의 주요 축이 되고 있는 역분화 분야를 다루고 있어, 시기적으로 크게 조명할 필요가 있으며, 독자에게 쉽게 이해 할 수 있도록 써여져 있어 줄기세포 연구자 및 타분야 연구자에게 역분화줄기세포를 이해하는데 도움이 될 것으로 판단된다.

[정리:편집위원회]