

Recent Trends and Strategies in Stem Cell Therapy for Alzheimer's Disease

Jong Wook Chang

Biomedical Research Institute, MEDIPOST Co. Ltd., Seoul, Korea

The human mesenchymal stem cell (MSC) has been regarded as a fascinating candidate of stem cell therapy in neurodegenerative disorders such as Alzheimer disease (AD). Recently, many groups reported that mesenchymal stem cell is a robust source, not only of regeneration, but also of secretion of various soluble factors for damaged or lost host cells. Several groups have observed paracrine action of mesenchymal stem cells in transgenic mice models of AD. From non-clinical studies we can conclude that human mesenchymal stem cells could participate in anti-apoptosis, beta-amyloid removal, anti-inflammation and anti-tau aggregation via paracrine action. Based on these findings, several clinical trials have been performed or completed worldwide. Since safety and efficacy have been confirmed from various non-clinical and clinical trials, we can expect emerging use of stem cells for AD in the near future.

Key Words: Alzheimer Disease; Mesenchymal Stem Cells; Paracrine

책임저자: 장 종 욱
우 137-874 서울시 서초구 서초대로
50길 18, 메디포스트(주) 생명공학연구소
Tel: +82-2-3465-6771
Fax: +82-2-475-1991
E-mail: jwc@medi-post.co.kr

투고일자: 2012년 5월 21일
심사일자: 2012년 6월 8일
게재확정일자: 2012년 7월 18일

서 론

알츠하이머 치매는 다양한 병인기전에 의해 발병하고 있으며 특히 뇌 속에 축적된 베타 아밀로이드 단백질이 신경독성을 유발하여 신경세포사(neuronal cell death)를 유도하므로 결국 뇌가 파괴되고 모든 정신활동이 저하되는 질환이다[1]. 노령화 시대를 맞아 환자 수가 급격히 늘어가고 있으나 근본적인 치료약이 없어 미래의 삶의 질(quality of life)을 심각하게 위협하고 있다[2]. 최근 세계적으로 인체에서 유래한 다양한 줄기세포를 이용하여 알츠하이머병을 치료하고자 하는 비임상연구 및 임상연구가 활발히 실시되고 있으므로 본 종설에서는 줄기세포를 이용한 알츠하이머병 치료연구의 동향과 치료 가능성에 대해 소개하고자 한다.

본 론

1. 알츠하이머병을 타깃으로 하는 많은 신약개발의 연이은 실패

알츠하이머병의 근본적 치료제가 없는 실정으므로 많은 다국적 제약사들은 알츠하이머병의 분자적 발병 기전 중 베타 아밀로이드 단백질의 생성을 억제하거나 분해를 촉진키는 약물들의 개발에 집중해 왔다[3]. 특히 화이자(Pfizer, New York, USA)의 디메본(Dimebon)의 경우 베타 아밀로이드의 독성을 억제하며 좋은 효과를 보이는 듯하여 주목을 받았으나 2010년 결국 임상3상에서 실패하였다[4]. 알츠하이머병이 다양한 기전에 의해 발생한다는 것은 베타 아밀로이드 가설, 타우 가설, 미토콘드리아 이상설, 산화적 스트레스 가설, 염증 관련설을 보면 알 수 있다[5]. 이처럼 알츠하이머병은 다양한 병인기전에 의해 병이 진행되므로 기존의 화학약물을 기초로 단일 타깃에 작용하는 약물로 알츠하이머병을 정복하는 것은

한계점을 드러내고 있다. 따라서 알츠하이머병을 치료하기 위해서는 다양한 타겟에 동시에 작용하는 약물의 조합이 필요하므로 기존 신약개발 방향에 패러다임 전환이 필요한 시점이다.

2. 성체줄기세포의 질병 치료 메커니즘 중 하나인 주변분비작용 (paracrine action)

줄기세포가 난치병의 극복에 해결방안으로 제시되면서 주목 받은 것은 줄기세포의 강력한 재생능력 때문이다. 실제 배아줄기세포와 성체줄기세포는 분화능력의 차이는 있으나 다양한 조직을 구성하는 세포들로 분화하므로 손상된 부분을 재생하는 효과를 기대할 수 있다. 이러한 면에서 줄기세포 치료제가 척수손상과 같은 환자에게 적용되면 치료가 가능할 수 있다[6]. 그러나 분화능이 뛰어난 배아줄기세포의 경우 신경세포들로 분화가 가능하지만 환자에게 이식 되었을 경우 면역거부반응이나 발암의 위험성을 내재하고 있으며 이를 극복하기에는 현실적으로 기술적 한계가 있어 배아줄기세포를 이용하여 임상을 진행하는 경우는 거의 없는 실정이다[7]. 최근 보고에 의하면 성체줄기세포의 경우 다양한 소스 즉, 제대혈, 골수, 지방, 양수 등에서 얻어지고 이러한 중간엽 줄기세포(mesenchymal stem cell, MSC)들이 다양한 질병모델에서 치료효능을 보이고 있음이 보고되었다[8]. 중간엽 줄기세포는 배아줄기세포에 비해 상대적으로 윤리적 문제에서 자유롭고 면역학적 안전성과 발암성에 대한 연구결과가 확보되었으므로, 현재 전 세계적으로 진행되는 대부분의 임상시험은 성체줄기세포를 이용하고 있다.

성체줄기세포 역시 중요한 재생치료의 재료이지만 최근 중간엽 줄기세포들이 병변부위에 노출되었을 때 미세환경(microenvironment)에 반응하여 다양한 치료 단백질들을 분비(secretion) 한다는 보고가 늘고 있다[9]. 즉, 중간엽 줄기세포가 분비하는 다양한 단백질들이 병변부위를 회복시키는 주변분비작용(paracrine action)을 한다는 말이다. 중간엽 줄기세포가 분비하는 치료 단백질들은 성장인자(growth factor), 시토카인(cytokine), 세포외기질(extracellular matrix), 항산화 단백질 등을 포함하고 있는데 이것들은 다양한 프로테오믹스의 기술을 통하여 분석, 보고되고 있다[10-12]. 따라서 주변분비작용을 수행하는 중간엽 줄기세포들을 다양한 질병모델에 적용하였을 때 위의 단백질들을 통하여 치료효능을 나타낸다는 보고가 늘고 있다[9]. 최근, 특히 알츠하이머병 모델의 경우에도 이러한 보고가 늘어가고 있으며 치료 메커니즘이 활발히 보고되고 있다.

3. 알츠하이머병 동물모델에서의 줄기세포의 치료효과 및 작용기전

1) 인간 제대혈 세포(umbilical cord blood cells) 및 인간 제대혈 유래 중간엽 줄기세포(human umbilical cord blood-derived MSC, hUCB-MSC)를 이용한 효과: 아밀로이드 제거 및 항세포사멸, 항염증작용

2008년 Nikolic 등[13]의 보고에 의하면 제대혈 세포를 7개월령

알츠하이머병 생쥐(Tg2576)의 꼬리정맥에 첫 두 달은 2주에 한번씩 주사하고 나머지 4개월은 1달에 한번씩 투여하였을 때 베타 아밀로이드의 양이 뇌조직에서 감소하였고 미세아교세포(microglia)에 의해서 베타 아밀로이드의 대식작용(phagocytosis)이 증가되어 있음을 확인하였다. 2010년에는 제대혈 유래 중간엽 줄기세포를 알츠하이머병 생쥐의 양쪽 해마에 반복 이식하였을 경우 기억력을 향상 시키고 뇌 내 베타 아밀로이드의 양을 감소 시킨다는 결과가 보고되었다[14]. 이때에 생쥐의 뇌조직에서 베타 아밀로이드를 생성시키는 효소인 β -secretase 1의 양이 감소하였다. 또한 미세아교세포의 염증성 시토카인의 분비가 억제되고 항염증 시토카인의 분비가 증가됨을 확인하였다. 위의 결과들로 인하여 타우 단백질의 과인산화도 억제되었다고 보고하였다.

위의 결과들에서 제대혈 유래 중간엽 줄기세포가 알츠하이머병 모델에서 치료 효능이 있음을 밝혔으나 어떤 기전에 의하여 매개되는지는 알 수 없었다. 2011년 당사 연구소 Kim 등[15]의 보고에 의하면 제대혈 유래 중간엽 줄기세포를 베타 아밀로이드에 노출된 랫드 신경세포와 공동 배양하면 베타 아밀로이드의 독성에 의한 신경세포의 죽음을 억제한다고 보고하였다. 공동배양챔버에서 관찰된 위의 결과를 이해하기 위해 줄기세포와 신경세포를 배양한 후 배지를 분석한 결과 줄기세포가 분비한 많은 치료단백질들이 동정되었고 그 중 galectin-3가 제대혈 중간엽줄기세포에서 분비되고 있음을 알게 되었다. 제대혈 유래 중간엽 줄기세포의 신경세포 사 억제작용은 galectin-3의 small interfering RNA (siRNA)를 이용한 knock-down 실험에 의해 그 효과가 증명되었다.

위의 결과는 줄기세포의 주변분비작용의 예를 보여주는 결과인데 연이어 2012년 당사 연구소에 Kim 등[16]의 보고에 의하면 제대혈 중간엽 줄기세포에 의한 베타 아밀로이드의 감소는 제대혈 중간엽줄기세포가 분비하는 수용성 세포간부착분자-1 (soluble intercellular adhesion molecule-1, sICAM-1)이 미세아교세포를 자극하여 베타 아밀로이드를 제거하는 효소로 알려진 neprilysin (NEP)의 발현을 증가시키는 것으로 알려졌다. 실제 공동배양챔버에서 제대혈 중간엽 줄기세포에 siRNA를 이용하여 sICAM-1의 발현을 억제시키면 미세아교세포에서 NEP의 발현이 증가하지 않음을 확인하였다. 위의 결과들을 종합해볼 때 제대혈 중간엽 줄기세포에서 분비되는 단백질 즉, galectin-3와 sICAM-1은 알츠하이머병 환경하에서 신경세포의 세포사멸을 억제하고 미세아교세포의 능력을 증가시켜 독성 베타 아밀로이드의 제거를 유도하는 것으로 판단된다. 또한 아직 밝혀지지 않은 제대혈 유래 중간엽 줄기세포들의 분비 단백질들에 의해 β -secretase 1의 발현과 타우 단백질의 인산화가 조절되고 항염증, 항산화 작용이 매개되고 있을 것으로 추정된다(Fig. 1).

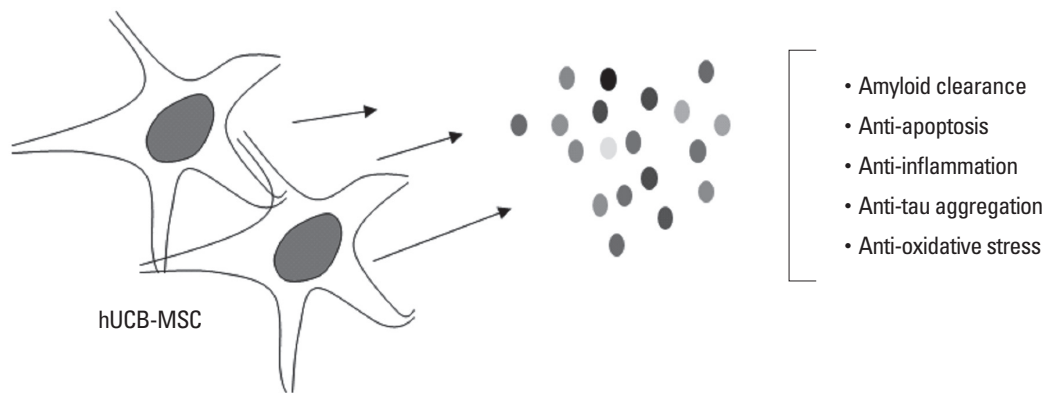


Fig. 1. Therapeutic effect of hUCB-MSC for AD via paracrine action. When hUCB-MSC enters to microenviroment of AD, hUCB-MSC secretes bunch of proteins which are involved in amyloid clearance, anti-apoptosis, anti-inflammation, anti-tau aggregation and anti-oxidative stress etc. Therefore, we expect that these proteins act simultaneously in damaged brain of AD patient. hUCB-MSC, human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cell.

2) 신경줄기세포(neural stem cell)를 이용한 효과: 분비된 brain-derived neurotrophic factor (BDNF)에 의한 시냅스 밀도 증가

2009년 Blurton-Jones 등의 보고에 의하면 쥐의 신경줄기세포를 배양하여 18개월령 알츠하이머병 유전자삽입 생쥐(3XTg-AD)의 양쪽 해마(hippocampus)에 이식하고 1개월 후 Morris water maze 실험을 수행한 결과 생쥐의 인지능력이 향상되었는데 이때 베타 아밀로이드와 타우 단백질의 변화는 없었다. 그러나 놀랍게도 생쥐의 synaptic density가 신경 줄기세포 투여 후 증가 되었는데 이것은 신경줄기세포가 분비하는 BDNF의 효과임이 확인되었다. 신경줄기세포에 BDNF에 대한 small hairpin RNA (shRNA)를 발현하여 분비를 억제하였을 때 신경줄기세포의 효능이 감소함을 관찰하였다[17]. 이 역시 신경줄기세포의 주변분비작용을 통한 치료효과를 보여주는 결과라 할 수 있다. 그러나 신경줄기세포의 경우 사산된 태아의 뇌 조직에서 유래하여 세포를 얻는데 윤리적 한계에 부딪히고 있으므로 줄기세포 치료제로 사용하기에는 현실적으로 한계가 있다.

3) 골수줄기세포(Bone marrow-derived MSC)를 이용한 효과: 아밀로이드 제거

2010년 Lee 등[18]의 보고에 따르면 생쥐의 골수 유래 중간엽 줄기세포를 알츠하이머병 유전자삽입 생쥐의 양쪽 해마에 투여 했을 때 생쥐의 인지능력의 향상이 되었는데 이때 뇌 조직내에 베타 아밀로이드의 분해를 촉진하는 효소가 증가되고 있음을 확인하였다. 이것은 Kim 등[15,16]의 결과로 미루어 볼 때 줄기세포가 분비한 단백질에 의해 미세아교세포가 자극 받아 일어난 현상과 유사한 결과로 생각된다. 현재 골수 줄기세포를 이용한 알츠하이머병 연구에서 분비된 단백질을 생화학적 기술로 동정하여 단백질 기능을 통한 치료효과의 메커니즘을 설명하는 방향의 연구들이 가속화되고 있다.

4. 줄기세포를 이용한 알츠하이머병 임상시험 진행 상황

현재 알츠하이머병을 대상으로 하는 줄기세포치료 임상시험은 한국에서 당사와 삼성서울병원이 수행한 제대혈 유래 중간엽 줄기세포를 이용한 임상1상(NCT01297218)이 2011년 12월에 완료되었고 2012년에 3월부터 중국에서 뱃줄에서 유래한 중간엽 줄기세포(umbilical cord-derived MSC)를 이용한 임상1/2상 연구(NCT01547689)가 시작되었다. 알츠하이머병의 경우 뇌의 특정 부위가 아닌 전체적 손상이 일어나므로 치료 목표가 뇌의 재생을 목적으로 하는 것이 아닌 주변분비작용을 통한 알츠하이머병의 진행 저해를 시험해보고 있다. 당사의 임상연구의 경우는 9명의 환자를 대상으로 해마와 우측뺨기소엽에 신경외과 수술을 통하여 제대혈 유래 중간엽 줄기세포를 직접 이식하였고, 중국의 임상연구에서는 정맥투여로 반복 주입을 계획하고 있다. 두 임상시험 모두 1차 평가변수로 안전성 확인과 ADAS-Cog을 지정하고 있으며 당사 임상연구의 경우 2차 평가변수로 Pittsburgh compound B-Positron emission tomography (PIB-PET), fluorodeoxyglucose-PET (FDG-PET), cerebrospinal fluid (CSF) 검사 등을 실시하여 탐색적 효능을 시험하고 있다.

5. 줄기세포 치료제를 이용한 알츠하이머병 치료 전략

줄기세포를 이용하여 알츠하이머병 치료제를 개발하는 일에 가장 큰 bottleneck은 투여경로이다. 뇌를 타깃으로 하는 약물은 반드시 뇌혈관장벽(Blood-Brain Barrier, BBB)을 통과해야 하는 어려움이 있다. 줄기세포의 경우도 마찬가지로 뇌로 효과적으로 전달되어야 기능을 발휘할 수 있다. 줄기세포의 전달 효율을 가장 최우선으로 한다면 뇌수술을 통한 줄기세포의 직접이식이 가장 좋은 방법이지만 환자가 신경외과수술을 받아야 하는 위험부담이 있고 반복 투여가 요구될 시 현실적으로 한계성이 있다. 많은 그룹들이 다양

한 경로 즉, 뇌척수액을 통한 요추천자(spinal tapping)나 정맥투여 혹은 경동맥(carotid artery) 투여를 통하여 뇌 속으로 줄기세포를 효과적으로 전달하고자 노력하고 있다. 정맥투여의 경우 투여과정은 용이하나 뇌로의 줄기세포 전달 효율이 떨어지므로 투여용량을 증가시키고 폐나 간, 심장에서 불필요한 줄기세포의 capture가 예상된다. 또한 정맥투여와 같은 전신투여가 반복될 경우 환자의 면역반응을 야기시키고 이에 따른 줄기세포의 효능이 감소될 가능성도 배제할 수 없다. 결론적으로 줄기세포 투여에 적합한 최적경로를 확보하여 최적의 용법 및 용량을 설정하는 것이 알츠하이머병 치료제 개발에 가장 중요한 포인트라 할 수 있다.

결론

알츠하이머병은 전 세계적으로 노령화와 더불어 급속히 발병하고 있으나 현재 근본적인 치료제가 없다. 또한 최근 기대를 모았던 디메분의 임상실패에 이어 아밀로이드 백신의 개발 결과의 보고들에 의하면 아밀로이드의 양이 백신에 의해 감소할 수 있으나 뇌 내 미세출혈이나 부종이 발생하는 부작용이 보고되고 있다[19,20]. 줄기세포를 이용한 알츠하이머병의 치료는 줄기세포가 가지는 재생 능력뿐만 아니라 분비된 단백질들의 동시다발적 작용에 의해서 병변부위가 치유되는 주변분비작용이 기대된다. 세계적으로 줄기세포 연구가 가속화 되고 있고 많은 연구결과들이 축적되고 있으므로 가까운 미래에 안전성과 효능이 입증된 알츠하이머병 줄기세포 치료제가 출현할 것으로 사료된다.

REFERENCES

- Vetrivel KS, Thinakaran G. Amyloidogenic processing of beta-amyloid precursor protein in intracellular compartments. *Neurology* 2006;66:S69-73.
- Jonsson L, Lindgren P, Wimo A, Jonsson B, Winblad B. The cost-effectiveness of donepezil therapy in Swedish patients with Alzheimer's disease: a Markov model. *Clin Ther* 1999;21:1230-40.
- Carson JA, Turner AJ. Beta-amyloid catabolism: roles for neprilysin (NEP) and other metalloproteinases? *J Neurochem* 2002;81:1-8.
- Miller G. Pharmacology. The puzzling rise and fall of a dark-horse Alzheimer's drug. *Science* 2010;327:1309.
- Querfurth HW, LaFerla FM. Alzheimer's disease. *N Engl J Med* 2010;362:329-44.
- Salem HK, Thiemermann C. Mesenchymal stromal cells: current understanding and clinical status. *Stem Cells* 2010;28:585-96.
- Mitjavila-Garcia MT, Simonin C, Peschanski M. Embryonic stem cells: meeting the needs for cell therapy. *Adv Drug Deliv Rev* 2005;57:1935-43.
- Kern S, Eichler H, Stoeve J, Kluter H, Bieback K. Comparative analysis of mesenchymal stem cells from bone marrow, umbilical cord blood, or adipose tissue. *Stem Cells* 2006;24:1294-301.
- Lee RH, Pulin AA, Seo MJ, Kota DJ, Ylostalo J, Larson BL, et al. Intravenous hMSCs improve myocardial infarction in mice because cells embolized in lung are activated to secrete the anti-inflammatory protein TSG-6. *Cell Stem Cell* 2009;5:54-63.
- Parekkadan B, van Poll D, Suganuma K, Carter EA, Berthiaume F, Tilles AW et al. Mesenchymal stem cell-derived molecules reverse fulminant hepatic failure. *PLoS One* 2007; 2:e941.
- Choi YA, Lim J, Kim KM, Acharya B, Cho JY, Bae YC et al. Secretome analysis of human BMSCs and identification of SMOC1 as an important ECM protein in osteoblast differentiation. *J Proteome Res* 2010; 9:2946-56.
- Ranganath SH, Levy O, Inamdar MS, Karp JM. Harnessing the mesenchymal stem cell secretome for the treatment of cardiovascular disease. *Cell Stem Cell* 2012; 10:244-58.
- Nikolic WV, Hou H, Town T, Zhu Y, Giunta B, Sanberg CD, et al. Peripherally administered human umbilical cord blood cells reduce parenchymal and vascular beta-amyloid deposits in Alzheimer mice. *Stem Cells Dev* 2008;17:423-39.
- Lee HJ, Lee JK, Lee H, Carter JE, Chang JW, Oh W, et al. Human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells improve neuropathology and cognitive impairment in an Alzheimer's disease mouse model through modulation of neuroinflammation. *Neurobiol Aging* 2012;33:588-602.
- Kim JY, Kim DH, Kim DS, Kim JH, Jeong SY, Jeon HB, et al. Galectin-3 secreted by human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells reduces amyloid-beta42 neurotoxicity in vitro. *FEBS Lett* 2010;584:3601-8.
- Kim JY, Kim DH, Kim JH, Lee D, Jeon HB, Kwon SJ, et al. Soluble intracellular adhesion molecule-1 secreted by human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cell reduces amyloid-beta plaques. *Cell Death Differ* 2012;19:680-91.
- Blurton-Jones M, Kitazawa M, Martinez-Coria H, Castello NA, Muller FJ, Loring JE, et al. Neural stem cells improve cognition via BDNF in a transgenic model of Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106:13594-9.
- Lee JK, Jin HK, Endo S, Schuchman EH, Carter JE, Bae JS. Intracerebral transplantation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells reduces amyloid-beta deposition and rescues memory deficits in Alzheimer's disease mice by modulation of immune responses. *Stem Cells* 2010; 28:329-43.
- Ostrowitzki S, Deptula D, Thurfjell L, Barkhof F, Bohrmann B, Brooks DJ, et al. Mechanism of amyloid removal in patients with Alzheimer disease treated with gantenerumab. *Arch Neurol* 2012;69:198-207.
- Blennow K, Zetterberg H, Rinne JO, Salloway S, Wei J, Black R, et al. Effect of immunotherapy with bapineuzumab on cerebrospinal fluid biomarker levels in patients with mild to moderate Alzheimer disease. *Arch Neurol*. Forthcoming 2012.