

RESEARCH UPDATE

장관신경능선줄기세포를 선천거대결장증의 치료에 이용할 수 있을까?

오정환

가톨릭대학교 의과대학 내과학교실

Can Enteric Neural Crest Stem Cells Be a Useful Option as an Alternative Therapy in Hirschsprung Disease?

Jung Hwan Oh

Department of Internal Medicine, College of Medicine, The Catholic University of Korea, Seoul, Korea

Article: Postnatal intestinal engraftment of prospectively selected enteric neural crest stem cells in a rat model of Hirschsprung disease. (*Neurogastroenterol Motil* 2011;23:362-369)

요약: 줄기세포 연구가 활발해지면서, 소화기내과 영역에서도 장관신경계(enteric nervous system) 질환의 줄기세포 치료에 대한 관심이 증가하고 있다. 선천거대결장증(Hirschsprung disease, HD)은 대표적인 선천성 장관신경계 질환으로 신경능선세포(neural crest cell)가 원위부 장에 정착하지 못해 생기는 병이다. Tsai 등¹은 HD 쥐 모델에서 장관신경능선 줄기세포(enteric neural crest stem cell)를 선별하여 출생 후 장에 착상시킨 연구결과를 보고하였다.

배아시작으로부터 14.5일된 배아로부터 추출한 장세포 또는 장관신경능선 줄기세포를 신생 HD 쥐와 건강한 쥐의 복강 내로 주입하였다. 배아 14.5일 된 쥐는 사람 태반알칼리인산 분해효소(human placental alkaline phosphatase, hPAP) 표지가 있는 전이유전자를 포함하고 있다. 전 장을 3주 뒤에 분석하였는데 장막 표면과 점막근 사이에 hPAP 양성 세포의 존재를 조사하였다. 착상된 세포를 다음과 같은 신경표지자들, 즉 HuC/D, S-100B, neuropeptide Y, neuronal nitric oxide synthase (nNOS), vasoactive intestinal peptide (VIP)에 대해서 분석하였다. 선별되지 않은 전체 장세포가 주

입된 쥐 중 어떤 쥐도 신경, 아교 표지자가 존재하는 장관 신경계에 hPAP+ 세포를 가지고 있지 않았다. 반면, 선별된 장관신경능선 줄기세포 집단에서는 건강한 쥐의 45% (5/11)와 HD 쥐의 80% (4/5)에서 hPAP를 확인할 수 있었다. 또한, 신경세포는 nNOS와 VIP를 가지고 있었다. 대장에는 HD 쥐와 건강한 쥐 모두 착상이 없었다. 이번 연구에서, 저자들은 장관신경능선 줄기세포를 복강 내로 주입했을 때 세포들이 HD 쥐의 생후 장을 통해 널리 퍼져 착상되고 신경과 아교세포로 분화하는 것을 보여주었다. 그 방법적인 문제로 복강 내 주사는 쉽게 행할 수 있어 장관신경계 세포를 주입하는 유용한 기법이 될 것이다.

해설: 장관신경계는 자율적인 기능을 하는 신경과 주변 지지조직의 그물조직으로 소화관의 운동, 분비, 흡수를 조절한다. 점막밀, 근육층신경얼기에 존재하는 신경세포, 아교세포는 신경능선세포(neural crest cell)에서 기인하며, 임신 7주에 앞창자에서 뒤창자의 방향으로 발달을 하게 된다.² 장관신경계의 질환은 선천 비대성 유문협착(congenital hyper-

© This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

교신저자: 오정환, 130-709, 서울시 동대문구 전농 1동, 성바오로병원 내과

Correspondence to: Jung Hwan Oh, Department of Internal Medicine, St. Paul's Hospital, The Catholic University of Korea College of Medicine, Jeonnon 1-dong, Dongdaemun-gu, Seoul 130-709, Korea. Tel: +82-2-958-2114, Fax: +82-2-968-7250, E-mail: oj@caholic.ac.kr

Financial support: None. Conflict of interest: None.

trophic pyloric stenosis), 선천거대결장증과 같은 선천적인 질환에서 당뇨병위병증(diabetic gastropathy), 식도이완불능(achalasia), 장거짓폐쇄(intestinal pseudoobstruction)와 같은 질환에 이르기까지 다양하다. 약물치료와 수술치료가 가능하지만 치료결과는 만족스럽지 못하다. 줄기세포 연구로 신경병성질환(neurodegenerative disorder), 척수손상(spinal cord injury), 당뇨, 기관부전(organ failure) 치료에 대한 연구가 시도되고 있다. 소화기내과 영역에서도 장관신경계 손상으로 생기는 소화관 운동질환 치료에 대한 연구가 있고, 특히 HD에 대한 줄기세포치료에 대한 연구가 활발하다.²

장관신경계 질환의 치료에 있어 가능한 후보로 만능줄기세포(pluripotent stem cell)인 배아줄기세포(embryonic stem cell)와 유도만능줄기세포(induced pluripotent stem cells)가 있고, 다능줄기세포(multipotent stem cell)로는 중추신경계에서 기인한 신경줄기세포(CNS derived neural stem cell), 중추신경계에서 기인하지 않은 신경줄기세포(non-CNS derived neural stem cell), 장관신경계 줄기세포(ENS stem cell)가 있다.³ 배아줄기세포는 모든 배엽층으로의 분화가 가능하지만 기형종의 발생 가능성이 있다. 2006년 발표된 유도만능줄기세포에 대한 개념은 줄기세포치료에 큰 발전을 가져왔다.⁴ 유도만능줄기세포는 줄기세포관련 유전자를 비줄기세포 유전자에 형질주입(transfection)시켜 배아줄기세포의 특징을 가지게 한다. 배아줄기세포를 이용한 연구와 비교하여 윤리적으로 문제가 적고, 암에 대한 위험성도 더 낮다. 이 세포를 이용한 연구에서 파킨슨병 쥐 모델이 기능적인 호전을 보였다.⁵ 다능조혈세포로 분류되는 신경줄기세포는 이미 신경계통의 특징을 지니고 있어 장관신경계의 착상이 효과적으로 이루어진다. 위마비 쥐 모델에서 중추신경계에서 기인한 신경줄기세포를 주입하여 신경세포, 아교세포로의 분화를 보여주었으며 일부 기능도 회복시켰다.⁶ 중추신경계가 아닌 장에서 기인한 신경줄기세포를 이용한 연구가 있다. 내시경 조직검사에서 얻은 사람의 장 점막을 줄기세포치료의 한 도구로 이용하였고,⁷ 사람의 배아줄기세포에서 신경능선세포의 특징을 가진 세포를 만들어 내게 되었다.⁸

이번 연구는 건강한 쥐와 HD 쥐의 복강 내로 배아의 장에서 선별되지 않은 장세포 또는 선택 추출한 신경능선줄기세포를 주입하였다. 선별되지 않은 장세포를 주입하였을 때 건강한 쥐와 HD 쥐 모두에서 어떤 세포도 발견할 수 없었다. 반면 선별된 신경능선줄기세포를 주입하였을 때 건강한 쥐와 HD 쥐 모두에서 착상과 분화의 가능성을 보여주었다. 이 사실은 선별된 신경능선줄기세포를 줄기세포치료의 한가지 방법으로 사용할 수 있으며, 건강한 쥐와 HD 쥐 모두에서 발현함으로써 ednrb 유전자(endothelin-B receptor gene, HD는 ednrb 유전자의 돌연변이와 연관이 있다)의 유무가 착상에 영향을

미치지 않았다는 것을 보여준다. 즉 저자들의 생각과는 달리 내부에 존재하는 ednrb 유전자 존재여부가 착상 성공여부에 영향을 미치지 않았다. 장관신경계부위에 도달하지 못한 세포는 또한 신경세포, 아교세포 표지자를 가지고 있지 않았다.

쥐의 복강 내로 신경능선세포를 주입하였을 때 그 세포가 장에 넓게 착상하였으며, 장 특이적인 특징을 보인다.⁹ 반면, 근육 내 주사를 하는 경우 고농도의 세포를 얻을 수 있으나,¹⁰ 착상되는 분포가 넓지 않다는 단점이 있다. 이번 연구 또한 복강 내로 주입된 신경능선줄기세포가 착상하는 과정에서 장의 넓은 영역에 걸쳐 착상이 될 수 있음을 보여주므로, 복강 내로 주사하는 것이 세포주입의 유용한 방법임을 제시하였다. 또한, 착상된 세포가 신경과 아교세포로 분화하는 것을 보여주었다. 그러나, 저자들의 기대와는 달리, 착상이 위에서 소장을 거쳐 맹장까지는 이르렀으나, 대장의 원위부 쪽으로 가지 못했다. 신경능선줄기세포가 분화하는 것은 단지 ednrb 유전자가 존재하는가의 여부가 중요한 것이 아니라, 대장의 미세 환경이 영향을 미친다.¹¹

이번 연구의 제한점은 착상된 세포가 균등하게 분포하지 못했고, 신경절을 많이 포함하지 못했으며, 위장관 기능을 변화시키는 증거를 밝히지 못했다는 것이다. 장관줄기세포가 임상적으로 사용하려면, 몇가지 사항을 고려해야한다. 착상 후 세포가 신경발생을 잘 해야 하고, 자가조직으로부터 장관세포를 이식하는 것이 면역억제에 대한 필요를 줄일 수 있어 좋을 것이다.¹² 또한 기능적인 부분에서 유용한 결과를 보여주어야 할 것이다.

결론적으로, 저자들은 복강을 통해 주입된 신경능선줄기세포가 광범위하게 착상이 되었고, 신경과 아교세포로 분화함을 보여줌으로써 장관신경능선 줄기세포가 선천거대결장증을 치료하는 한가지 도구로 이용될 가능성을 제시하였다. 선천거대결장증 치료로 이용하기 위해서는 기능적인 부분의 회복까지 보여주는 연구 결과를 기다리며, 여전히 치료가 어려운 장관신경계의 운동질환에 임상적으로 이용할 수 있기를 기대한다.

REFERENCES

1. Tsai YH, Murakami N, Garipey CE. Postnatal intestinal engraftment of prospectively selected enteric neural crest stem cells in a rat model of Hirschsprung disease. *Neurogastroenterol Motil* 2011;23:362-369.
2. Heanue TA, Pachnis V. Enteric nervous system development and Hirschsprung's disease: advances in genetic and stem cell studies. *Nat Rev Neurosci* 2007;8:466-479.
3. Becker L, Mashimo H. Further promise of stem cells therapies in the enteric nervous system. *Gastroenterology* 2009;136:2055-2058.
4. Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells

- from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 2006;126:663-676.
5. Wernig M, Zhao JP, Pruszak J, et al. Neurons derived from re-programmed 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.
6. Micci MA, Kahrig KM, Simmons RS, Sarna SK, Espejo-Navarro MR, Pasricha PJ. Neural stem cell transplantation in the stomach rescues gastric function in neuronal nitric oxide synthase-deficient mice. *Gastroenterology* 2005;129:1817-1824.
7. Metzger M, Caldwell C, Barlow AJ, Burns AJ, Thapar N. Enteric nervous system stem cells derived from human gut mucosa for the treatment of aganglionic gut disorders. *Gastroenterology* 2009;136:2214-2225.
8. Hotta R, Pepdjonovic L, Anderson RB, et al. Small-molecule induction of neural crest-like cells derived from human neural progenitors. *Stem Cells* 2009;27:2896-2905.
9. Martucciello G, Brizzolara A, Favre A, et al. Neural crest neuroblasts can colonise aganglionic and ganglionic gut in vivo. *Eur J Pediatr Surg* 2007;17:34-40.
10. Kruger GM, Mosher JT, Tsai YH, et al. Temporally distinct requirements for endothelin receptor B in the generation and migration of gut neural crest stem cells. *Neuron* 2003;40:917-929.
11. Morrison SJ, Csete M, Groves AK, Melega W, Wold B, Anderson DJ. Culture in reduced levels of oxygen promotes clonogenic sympathoadrenal differentiation by isolated neural crest stem cells. *J Neurosci* 2000;20:7370-7376.
12. Estrada-Mondaca S, Carreón-Rodríguez A, Belkind-Gerson J. Biology of the adult enteric neural stem cell. *Dev Dyn* 2007;236:20-32.