

Strategy for Maximizing Therapeutic Efficacy of Adult Stem Cells

Seong-Ho Koh

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

Stem cells have been suggested for the treatment of intractable neurological diseases. In spite of numerous clinical trials using autologous mesenchymal stem cells (MSCs), unfortunately, clinical efficacy has not yet been proved except for its safety. Although there are several reasons for unsuccessful efficacy of stem cell therapy using adult stem cells, we should consider the exact factors that may improve the therapeutic efficacy of adult stem cells. One of the most important factors is the patient's age when MSCs are obtained from patients. It is associated with decreased functions of MSCs. Several reports have shown that MSCs from elderly persons have decreased capacities in the secretion of neurotrophic factors and migration to the lesion site. Therefore, procedures potentiating MSCs need to be studied during ex-vivo expansion. To suggest diverse procedures to improve capacities of MSCs for improvement of therapeutic efficacy, I will discuss previously reported methods potentiating MSCs and will suggest further experiments.

Key Words: Neurodegenerative Diseases; Stem Cells; Tissue Therapy

서론

알츠하이머병, 파킨슨병 및 루게릭병을 대표로 하는 신경퇴행성 질환들과 허혈성 뇌졸중 등은 신경계 질환들 중 대표적인 난치성 질환들이다. 20세기 이후 현대의학의 눈부신 발전으로 여러 가지 질병들에 대한 이해가 높아지고 이를 토대로 다양한 치료법들이 개발되어 인류의 삶에 큰 도움이 되고 있지만, 아직 난치성 신경계 질환들에 대한 치료법 개발은 요원한 상태이다. 물론, 난치성 신경계 질환의 치료를 위한 다양한 치료법들이 개발되어 임상연구들이 진행되고 있으며, 그 중 일부는 증상 개선에 다소간 도움이 되어 임상에서 사용되고 있다. 예를 들어 파킨슨병 환자들에 사용되는 L-DOPA (Levodopa)와 dopamine agonist들, 알츠하이머병 환자들을 위한 아세틸콜린 분해효소 억제제들, 루게릭병 환자들을 위한 릴루텍 및 뇌경색 환자들을 위한 다양한 항혈소판제 등은 근본적인 치료는 아니지만 증상을 개선하고 예방하는데 미미하게나마 도

책임저자: 고성호
우 471-701, 경기도 구리시 경춘로 153
한양대학교 구리병원 신경과
Tel: +82-31-560-2267
Fax: +82-31-560-2267
Email: ksh213@hanyang.ac.kr

투고일자: 2012년 5월 30일
심사일자: 2012년 6월 8일
게재확정일자: 2012년 7월 14일

움이 되고 있다. 그러나 이런 치료법들은 질병의 경과를 바꾸거나 개선하는 데는 아직 한계가 있으며, 따라서 근본적인 치료법이라고 할 수 없는 상태이다.

많은 사람들을 고통스럽게 만들고 생명을 위협하는 난치성 신경계질환들에 대한 새로운 치료법으로 20세기 후반부터 줄기세포를 이용한 세포치료법이 제시되어 많은 연구들이 진행되고 있다. 줄기세포를 이용한 치료법은 자가증식력과 다분화능을 가진 줄기세포를 이용하여 손상된 신경세포의 재생을 도움으로써 환자의 질병을 치료하고 증상을 개선할 수 있을 것이라는 이상적인 이유로 각광을 받게 되었다. 세포치료에 이용될 수 있는 줄기세포는 크게 성체줄기세포, 배아줄기세포, 역분화줄기세포로 나눌 수 있다. 각 세포들마다 장단점이 있으나 현재 임상에서 치료목적으로 주로 이용되고 있는 것은 성체줄기세포이다.

성체줄기세포를 세포치료제로 현재 가장 많이 사용하는 이유는 다음과 같다.

- 1) 안전성이 확보되어 있다: 배아줄기세포나 역분화 줄기세포의 경우 이식 후 암 발생 가능성이 높는데 비하여 성체줄기세포는 이식 후 암을 유발할 가능성이 거의 없고 안전한 것으로 알려져 있다.
- 2) 윤리적인 면에서 우월성을 가진다: 배아줄기세포의 경우 성체줄기세포에 비하여 우월한 성능을 가지지만 생명윤리의 측면에서 부정적인 부분이 있는 반면, 성체줄기세포는 이런 부분을 피할 수 있어 유리한 측면이 있다. 반면, 역분화 줄기세포는 윤리적으로 자유로운 반면 아직 임상에 사용되기에는 극복해야 할 과제들이 많이 남아있는 상태이다.

여러 가지 이유로 현재 세포치료제 연구에 있어서 가장 많이 사용되는 것은 안전성 및 윤리적 측면이 확보된 성체줄기세포이다.

본고에서는 성체줄기세포를 이용한 다양한 임상연구들과 이를 통하여 얻어진 결과들을 토대로 성체줄기세포의 가능성 및 한계를 살펴보고 성체줄기세포의 치료한계를 극복할 수 있는 다양한 방법들에 대하여 논하고자 한다.

본 론

1. 난치성 신경계질환의 치료를 위해 성체줄기세포를 이용한 다양한 임상연구들

1) 허혈성 뇌졸중의 치료를 위한 성체줄기세포 임상연구들

허혈성 뇌졸중의 경우 일단 병이 발생하여 증상이 생기고 나면 증상발생 3시간 이내(유럽기준: 4시간 30분 이내)에 혈전용해제를 사용하는 방법 이외에 이렇다 할 치료법이 없는 상태이다. 다양한 항혈소판제들과 뇌기능개선제들이 뇌경색의 재발 방지와 증상 개선을 위해 사용되고 있지만 그 효과는 아직 미미한 것으로 생각되고 있다. 특히, 뇌경색에 의해 발생한 신경학적 후유증을 개선할 치료법은 아직 없는 상태여서 이를 개선하기 위한 다양한 세포치료법 연구가 진행 중이다. 이런 여러 연구 결과들을 종합하여 메타 분석한 Boncoraglio 등[1]의 연구결과에 의하면 성체줄기세포를 이용한 뇌경색의 치료는 안전하기는 하지만 임상적인 효과는 통계적으로 확인되지 않았다. 일부 소규모 임상연구에서는 특정 조건을 가진 뇌경색 환자들에게 효과가 있을 수 있다는 가능성을 보여주는 연구결과가 있기는 하지만[2] 뇌경색 치료를 위한 성체줄기세포는 안전성에 비해 임상적인 치료효과는 아직 확인되지 않았다.

2) 루게릭병의 치료를 위한 성체줄기세포 임상연구들

루게릭병의 치료를 위해 현재까지 공인된 약제는 릴루텍이 유일한 상태이다. 그러나 릴루텍의 치료효과는 다른 신경퇴행성질환들의 치료를 위한 약제들에 비해 현저하게 떨어져서 일부 소수의 환자들에게 6개월 미만의 생명연장 효과가 있을 뿐인 것으로 알려져 있다[3]. 따라서 이를 극복하기 위해 줄기세포를 이용한 치료법 개

발에 관한 다양한 임상연구들이 진행 중이다[4]. 그러나 이런 임상 연구들의 결과를 종합 메타 분석한 연구에서도 역시 안전하기는 하지만 임상적 유효성은 확인되지 않는 것으로 보고하고 있다[5].

3) 다양한 난치성 신경퇴행성질환들의 치료를 위한 성체줄기세포 임상연구들

파킨슨병이나 알츠하이머병과 같은 난치성 신경퇴행성질환들의 치료 역시 아직은 증상의 조절을 목표로 하고 있는 상태이다. 파킨슨병의 경우 죽어가는 도파민성 신경세포의 재생 및 이를 통한 질병의 회복을 위해 다양한 줄기세포 치료법이 연구되고 있다[6]. 그러나 이 연구들에서도 성체줄기세포는 안전하지만 임상효과는 아직 기대 이하인 것으로 보고되고 있다[7]. 알츠하이머병의 경우 넓은 영역에서 신경세포들이 죽어가고 이로 인하여 인지기능이 떨어지기 때문에 아직은 동물실험 수준의 연구가 진행되고 있다[8].

2. 다양한 난치성 신경계질환 치료를 위한 성체줄기세포의 가능성 및 한계

앞서 성체줄기세포를 이용한 치료법 개발에 관한 다양한 임상연구들을 소개하며 간단히 기술한 바와 같이 일부 환자들에게서는 약간의 치료효과를 기대할 수 있으나 대부분의 경우는 아직 그 효과가 객관적으로 입증되지 못하고 있다. 이론적으로 성체줄기세포를 이용한 신경계질환의 치료는 죽어가는 신경세포의 대체가 아닌 성체줄기세포의 신경보호효과를 이용하는 것이다. 따라서 좋은 조건의 성체줄기세포를 치료에 이용하는 것이 성공적인 치료법 확립을 위해 필요하다. 현재까지 시도된 임상연구들에서 성체줄기세포의 문제점을 파악하고 이를 해결하기 위한 방법을 개발한다면 지금까지 성공적이지 못했던 세포치료법의 한계를 극복할 수 있을 것이다.

1) 현재까지 시행된 성체줄기세포를 이용한 세포치료법의 문제점들 중 우선 안전성을 높이기 위해 사용되고 있는 자가유래 성체줄기세포의 문제점을 살펴보자.

(1) 환자의 나이에 따른 성체줄기세포의 문제점

대개 난치성 신경퇴행성질환으로 고생하는 환자들은 고령인 경우가 많다. 그런데 알려진 바에 따르면, 고령인 환자에게서 얻는 성체줄기세포는 젊은 사람에게서 얻는 세포들에 비해 증식능력이 현저하게 떨어진다. Stolzing 등[9]의 보고에 의하면 체외 증식을 위해 성체줄기세포를 배지에 넣어두었을 때 사람의 연령이 증가할수록 처음 집락형성단위(colony forming unit, CFU)의 숫자부터 감소하여 이후 증식능력이 떨어짐이 확인된다. 또한, 본 저자의 연구결과에 의하면 나이가 많은 환자들에서 얻은 성체줄기세포는 신경보호 인자를 분비하는 능력이 감소함을 확인할 수 있었다[10].

(2) 환자의 상태에 따른 성체줄기세포의 문제점

Cho 등[11]의 연구결과에 의하면, 환자에게서 얻어진 성체줄기세포는 비슷한 연령의 정상인에서 얻어진 세포에 비해 신경보호인자들을 분비하는 능력이 떨어짐을 알 수 있다. 또한, 환자유래 성체줄기세포는 병변으로 이동능력도 떨어져 있어 필요한 부위에서 신경보호인자를 내는데 어려움이 있을 수 있다[12]. 환자의 예후가 좋지 않거나 상태가 나쁜 경우에 이런 현상은 더 심하여 세포치료제로서 좋은 조건이라 할 수 없을 것이다[10].

2) 동종성체줄기세포를 이용한 임상연구에 대한 보고는 다음과 같은 문제점들로 아직 많지 않은 실정이다.

(1) 동종성체줄기세포를 이식할 경우 면역 거부반응을 고려한 면역억제 치료가 필요할 수 있는데, 이는 난치성 신경계질환의 특성상 오히려 더 큰 위험이 될 수 있다.

(2) 건강한 성인에서 분리되어 좋은 환경에서 배양된 동종성체줄기세포를 열악한 환경을 가진 환자에게 이식할 경우 잘 적응하지 못하고 죽음으로써 기대한 치료효과를 얻지 못할 가능성이 있다.

3. 성체줄기세포의 기능개선을 위한 다양한 방법들

앞서 살펴본 바와 같이, 여러 가지 문제점들로 인하여 성체줄기세포를 이용한 치료효과가 떨어지는 것일 수 있다. 따라서 이런 문제점들을 개선하기 위해 다양한 방법들을 생각해보고 적용함으로써 치료효과를 높이기 위한 대책이 마련되어야 할 것이다.

1) 유전자 조작을 통한 성체줄기세포의 기능 개선

성체줄기세포의 기능을 개선하기 위해 지금까지 제일 많이 연구된 방법은 유전자 조작을 하는 것이다. 다양한 신경보호인자들의 분비가 증가되도록 특정 유전자를 성체줄기세포에 삽입함으로써 그 기능을 개선하는 것이다. 많은 연구들 중 몇 가지 예를 살펴보면, Lu 등[13]은 다발성경화증 동물모델에 ciliary neurotrophic factor (CNTF)가 과발현되도록 유전자를 삽입한 성체줄기세포를 이식할 경우 그렇지 않은 성체줄기세포를 이식한 경우보다 훨씬 치료효과가 좋을 수 있다는 사실을 보여주고 있다. 또한, Yang 등[14]은 glial cell-derived neurotrophic factor (GDNF)의 과발현을 유도한 성체줄기세포를 뇌졸중 동물모델에 이식할 경우 의미 있는 보호효과가 확인되며 탁월한 증상 개선의 효과가 있음을 확인하였다. 본 저자의 연구에서도 성체줄기세포의 이동에 관여하는 β -PIX라는 단백질의 유전자를 삽입하면 성체줄기세포의 이동능력을 개선할 수 있음을 확인한 바 있다[12]. 또한, 다른 연구에서 우수한 신경보호효과를 갖는 에리스로포이에틴의 과발현을 유도한 성체줄기세포 역시 허혈성 뇌졸중에 의한 신경손상을 개선하는데 탁월한 효과가 있음을 확인하였다[15]. 이처럼 유전자 조작을 통한 다양한 신경보호인자의 분비능 개선은 성체줄기세포의 치료효과를 개선하

는데 도움이 될 수 있다. 그러나 지금까지 유전자 조작을 위해 바이러스를 이용한다는 점은 극복해야 할 과제이다. 바이러스를 이용하여 유전자 조작이 이루어진 성체줄기세포는 안전성 문제로 인해 아직 임상에서 사용할 수 없기 때문에 바이러스를 이용하지 않고 유전자 조작을 하려는 다양한 연구들이 진행되고 있어 머지않은 미래에 임상적용이 가능한 유전자 조작 방법이 개발되기를 기대해 본다.

2) 약제 처리를 이용한 성체줄기세포의 기능 개선

앞서 기술한 바와 같이 유전자 조작을 통한 성체줄기세포의 기능 개선은 효과적일 수 있으나 아직 임상에 이용하기에는 극복해야 할 문제점들이 많이 남아있다. 보다 현실적인 방법으로 현재 임상에서 안전성이 확보되어 사용되고 있는 약제들을 성체줄기세포의 배양과정에 처리함으로써 기능을 개선하는 것이다. 실제로, Tsai 등[16]의 보고에 의하면 임상에서 사용되고 있는 안전한 약제들인 발프로이트와 리튬을 성체줄기세포 체외 배양과정에 처리하면 기능개선 효과가 뛰어나며 특히 병변으로의 이동능력이 현저하게 개선된다는 사실을 확인할 수 있다. 본 저자의 연구에서 에리스로포이에틴을 성체줄기세포의 체외 배양 과정에 처리하면 성체줄기세포의 신경보호인자 분비능이 개선되고 이동능력이 향상되는 것을 확인하였다[17]. 이외에도 다양한 약제들의 처리를 통해 성체줄기세포의 기능을 개선하고자 하는 연구들이 진행 중이며 유전자 조작보다 안전한 방법임을 고려할 때 향후 임상적용 가능성 매우 높은 방법이라 생각한다.

3) 배양조건 변화를 통한 성체줄기세포의 기능 개선

기존에 확립된 성체줄기세포의 배양방법에 약간의 변화를 줌으로써 기능을 개선하고자 하는 다양한 연구들이 진행 중이다. 여러 연구들에서 배양과정 중 성체줄기세포를 짧은 기간의 저산소상태에 노출시키면 성체줄기세포의 이동능력이 개선되어 치료효과를 향상시키는데 도움이 될 수 있다고 보고하였다[18-20]. 또한, 저산소상태에 일시적으로 노출된 성체줄기세포는 허혈성 손상에 의한 혈관을 재생하는데 효과가 더 뛰어남을 보여준 연구 결과도 있다[21]. 이처럼 성체줄기세포의 체외 배양 과정에 가해지는 약간의 저산소상태는 오히려 성체줄기세포의 기능을 개선하는데 도움이 될 수 있다.

다른 방법으로는 약간의 저온상태에 성체줄기세포를 노출시키는 것이다. Saito 등[22]의 보고에 의하면, 적당한 저온에 성체줄기세포를 노출시키면 세포의 사멸을 억제하고 줄기세포의 특성, 즉 분화능력과 증식능력, 분비능력을 증진시킬 수 있다고 한다.

성체줄기세포의 분리 과정에 기능이 뛰어난 세포들만을 분리해서 사용하기 위한 연구들도 진행 중이며, 이 밖에도 다양한 방법들을 통해 성체줄기세포의 기능을 개선하고자 하는 연구들이 진행

중이다. 향후 이런 연구들이 성공적으로 진행된다면 현재 치료 효과에 있어서 그다지 성공적이지 못한 성체줄기세포 치료법이 개선되고 난치성 신경계질환을 겪는 환자들에게 도움이 될 수 있을 것이라 생각한다.

결론

지금까지 시행된 성체줄기세포를 이용한 난치성 신경계질환 치료법에 관한 임상연구들을 살펴보고 이 과정에서 드러난 문제점 즉, 안전하기는 하나 치료효과는 뚜렷하지 못하다는 사실을 통해 성체줄기세포의 이용에 있어서 고려해야 할 문제점들을 기술하였다. 이런 문제점들을 극복하고 성체줄기세포의 치료효과를 개선하기 위해 다양한 연구를 진행할 필요가 있으며, 이런 연구들에는 유전자 조작을 통한 기능 개선, 약제 처리를 통한 기능 개선, 배양 조건 변경을 통한 기능 개선 등이 반드시 포함되어야 할 것이다. 아직 난치성 신경계질환의 치료를 위한 뚜렷한 방법이 없는 우리에게 줄기세포를 이용한 치료법 개발은 분명 큰 희망이고 도전해볼 가치가 있는 연구주제이다. 향후 성체줄기세포의 문제점들이 극복되어 안전하게 사용되면서도 치료효과를 극대화할 수 있는 날이 올 것이라 확신하며 이런 날이 온다면 이는 환자뿐만 아니라 전인류에게 큰 희망이 될 것이다.

ACKNOWLEDGEMENT

This study was supported by a grant from the Korea Healthcare Technology R&D Project, Ministry for Health, Welfare & Family Affairs, Republic of Korea (A101712).

REFERENCES

- Boncoraglio GB, Bersano A, Candelise L, Reynolds BA, Parati EA. Stem cell transplantation for ischemic stroke. *Cochrane Database Syst Rev* 2010; CD007231.
- Lee JS, Hong JM, Moon GJ, Lee PH, Ahn YH, Bang OY. A long-term follow-up study of intravenous autologous mesenchymal stem cell transplantation in patients with ischemic stroke. *Stem Cells* 2010;28:1099-106.
- Miller RG, Mitchell JD, Moore DH. Riluzole for amyotrophic lateral sclerosis (ALS)/motor neuron disease (MND). *Cochrane Database Syst Rev* 2012;3:CD001447.
- Gamez J, Carmona F, Ragner N, Ferrer-Sancho J, Martin-Henao GA, Marti-Beltran S, et al. Cellular transplants in amyotrophic lateral sclerosis patients: an observational study. *Cytotherapy* 2010;12:669-77.
- Soler B, Fadic R, von Bernhardi R. Stem cells therapy in amyotrophic lateral sclerosis treatment. A critical view. *Rev Neurol* 2011;52:426-34.
- Venkataramana NK, Kumar SK, Balaraju S, Radhakrishnan RC, Bansal A, Dixit A, et al. Open-labeled study of unilateral autologous bone-marrow-derived mesenchymal stem cell transplantation in Parkinson's disease. *Transl Res* 2010;155:62-70.
- Politis M, Lindvall O. Clinical application of stem cell therapy in Parkinson's disease. *BMC Med* 2012;10:1.
- Lee HJ, Lee JK, Lee H, Shin JW, Carter JE, Sakamoto T, et al. The therapeutic potential of human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells in Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* 2010;481:30-5.
- Stolzing A, Jones E, McGonagle D, Scutt A. Age-related changes in human bone marrow-derived mesenchymal stem cells: consequences for cell therapies. *Mech Ageing Dev* 2008;129:163-73.
- Koh SH, Baik W, Noh MY, Cho GW, Kim HY, Kim KS, et al. The functional deficiency of bone marrow mesenchymal stromal cells in ALS patients is proportional to disease progression rate. *Exp Neurol* 2012;233:472-80.
- Cho GW, Noh MY, Kim HY, Koh SH, Kim KS, Kim SH. Bone marrow-derived stromal cells from amyotrophic lateral sclerosis patients have diminished stem cell capacity. *Stem Cells Dev* 2010;19:1035-42.
- Koh SH, Huh YM, Noh MY, Kim HY, Kim KS, Lee ES, et al. Beta-PIX is critical for transplanted mesenchymal stromal cell migration. *Stem Cells Dev* 2012;21:1989-99.
- Lu Z, Hu X, Zhu C, Wang D, Zheng X, Liu Q. Overexpression of CNTF in Mesenchymal Stem Cells reduces demyelination and induces clinical recovery in experimental autoimmune encephalomyelitis mice. *J Neuroimmunol* 2009;206:58-69.
- Yang C, Zhou L, Gao X, Chen B, Tu J, Sun H, et al. Neuroprotective effects of bone marrow stem cells overexpressing glial cell line-derived neurotrophic factor on rats with intracerebral hemorrhage and neurons exposed to hypoxia/reoxygenation. *Neurosurgery* 2011;68:691-704.
- Cho GW, Koh SH, Kim MH, Yoo AR, Noh MY, Oh S, et al. The neuroprotective effect of erythropoietin-transduced human mesenchymal stromal cells in an animal model of ischemic stroke. *Brain Res* 2010;1353:1-13.
- Tsai LK, Wang Z, Munasinghe J, Leng Y, Leeds P, Chuang DM. Mesenchymal stem cells primed with valproate and lithium robustly migrate to infarcted regions and facilitate recovery in a stroke model. *Stroke* 2011; 42:2932-9.
- Koh SH, Noh MY, Cho GW, Kim KS, Kim SH. Erythropoietin increases the motility of human bone marrow-multipotent stromal cells (hBM-MSCs) and enhances the production of neurotrophic factors from hBM-MSCs. *Stem Cells Dev* 2009;18:411-21.
- Rosova I, Dao M, Capoccia B, Link D, Nolte JA. Hypoxic preconditioning results in increased motility and improved therapeutic potential of human mesenchymal stem cells. *Stem Cells* 2008;26:2173-82.
- Yang DC, Yang MH, Tsai CC, Huang TF, Chen YH, Hung SC. Hypoxia inhibits osteogenesis in human mesenchymal stem cells through direct regulation of RUNX2 by TWIST. *PLoS One* 2011;6:e23965.
- Liu L, Yu Q, Lin J, Lai X, Cao W, Du K, et al. Hypoxia-inducible factor-1alpha is essential for hypoxia-induced mesenchymal stem cell mobilization into the peripheral blood. *Stem Cells Dev* 2011;20:1961-71.
- Leroux L, Descamps B, Tojais NF, Seguy B, Oses P, Moreau C, et al. Hypoxia preconditioned mesenchymal stem cells improve vascular and skeletal muscle fiber regeneration after ischemia through a Wnt4-dependent pathway. *Mol Ther* 2010;18:1545-52.
- Saito K, Fukuda N, Matsumoto T, Iribe Y, Tsunemi A, Kazama T, et al. Moderate low temperature preserves the stemness of neural stem cells and suppresses apoptosis of the cells via activation of the cold-inducible RNA binding protein. *Brain Res* 2010;1358:20-9.