

이비인후과 영역에서 줄기세포의 적용

부산대학교 의학전문대학원 이비인후과학교실
황봉운 · 이윤세 · 이병주

Clinical Applications of Mesenchymal Stem Cells in the Otolaryngology Fields

Bong-Woon Whang, Yoon Se Lee, MD and Byung-Joo Lee, MD

Department of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery, Pusan National University, School of Medicine and Medical Research Institute, Busan, Korea

서 론

21세기 들어 현대의학과 생명과학의 발전으로 난치성 질환에 대한 다양한 치료 방법이 개발 되고 있다. 하지만 장기 자체에 비가역적인 손상이 발생하였을 경우 장기이식이 현재 사용되고 있는 대표적인 치료 방법이지만 기증 장기를 찾기 어렵다는 단점이 있다. 이러한 문제점을 극복하기 위해 줄기세포(stem cells)를 이용한 장기의 재생에 많은 관심이 집중되고 있다.

1981년 Evans 등¹⁾에 의해 처음으로 생쥐의 배아줄기 세포가 분리 배양된 이후, 장기손상 및 기능장애에 대한 새로운 치료 방법으로서 줄기 세포에 대한 많은 연구가 진행되고 있다. 줄기세포는 미분화 상태의 세포로서 지속적인 자가 분열능(self-renewal)과 특정 세포로 분화할 수 있는 분화능(differentiation capacity)을 가지고 있으며 면역성(immunogeneity)이 결여되어 있다는 특징이 있다. 줄기세포는 기원하는 조직의 종류에 따라 크게 배아줄기세포(embryonic stem cell ; ESC)와 성체줄기세포(adult stem cell ; ASC)로 분류할 수 있다. 인간 ESC는 1998년 Thomson 등²⁾에 의해 처음 확립되

었는데 이는 냉동 보존된 수정란을 이용하여 포배기 배아(blastocyst)로 배양한 후 내세포괴(inner cell mass, ICM)만을 분리하여 생쥐 배아섬유아세포(mouse embryonic fibroblast, MEF)와 공동 배양하여 확립된 것이다. ESC는 거의 모든 세포로 분화할 수 있는 분화능력을 가지고 있으며 미분화 상태에서의 자가생산 능력이 뛰어나고 증식이 용이하여 다량의 세포를 확보할 수 있다는 장점을 가지고 있다. 하지만 대량 증식을 위한 기술과 조직 특이적인 세포로의 분화를 유도할 수 있는 기술과 면역 거부반응을 해결하기 위한 많은 연구가 필요하다.

이에 반하여 ASC는 발생과정을 마친 후 조직이나 기관의 분화된 세포들 사이에서 발견되는 미분화 세포로서, 주된 역할은 이들 줄기세포가 있는 조직이나 기관의 세포를 유지하고 손상된 세포가 있으면 치료하는 것으로 생각되고 있다. 그동안 ASC는 ESC와는 달리 기원하는 조직의 세포로만 분화되는 것으로 이해되어 왔으나 최근에 하나의 조직에서 유래하는 줄기세포가 다른 종류의 세포로도 분화가 가능하다는 분화의 유연성(plasticity)이 밝혀지면서 재조명되고 있다. ASC는 조직 내에 소량으로 존재하며 체외배양을 통한 다량의 세포확보가 어렵고, 줄기세포 자체를 찾아내는 표지자가 특이적이지 않아 분리하기가 어렵다는 단점이 있다. 체내 이식시 면역 거부반응이 없고 장기 특이적 분화능(tissue-specific differentiation)이 뛰어나며, 줄기세포 확보에 있어서 윤리적인 문제가 적다는 장점이 있다.³⁾

교신저자 : 이병주, 602-739 부산광역시 서구 구덕로 179
부산대학교 의학전문대학원 이비인후과학교실
전화 : (051) 240-7335 · 전송 : (051) 246-8668
E-mail : voicelee@pusan.ac.kr

현재까지 이들 줄기세포를 이용한 생체 이식의 다양한 연구가 시도되고 있으며 그 성과들이 속속 발표되면서 임상에 적용 가능성이 더욱 높아지고 있다. 조혈줄기세포(hematopoietic stem cells)로 골수 이식에 이용되고 있으며, 신경줄기세포는 뇌졸중(stroke), 척수손상 및 파킨슨병 같은 신경퇴행성질환 등의 치료와,^{4,5)} 인슐린 주사를 필요로 하는 당뇨병의 치료에도 연구가 활발히 이루어지고 있다.^{6,7)} 이밖에도 조혈줄기세포와 함께 골수에 존재하는 중간엽 줄기세포(mesenchymal stem cells : MSC)도 골수아세포, 연골아세포, 지방세포, 심근세포, 골격세포, 신경세포 등으로 분화할 수 있는 능력을 가지고 있어 다양한 분야에서 많은 연구가 이루어지고 있으며 간조직의 재생에 관여하는 간줄기세포(liver stem cells)와 피부에 존재하는 피부상피줄기세포도 활발히 연구되고 있다.

이와 같은 연구에 힘입어 최근 이비인후과 질환과 관련하여 줄기세포에 대한 많은 연구가 이루어지고 있다. 비과 영역에서는 후각과 관련하여 세포 치료를 목적으로 줄기세포 연구가 이루어지고 있고 이과 영역에서도 난청에 대하여 배아줄기세포의 이식을 통한 청각회복과 유모세포의 재생에 대한 연구가 활발히 진행 중이다.^{1,7)} 그 외에도 난치성음성장애의 주요한 원인중 하나인 성대반흔에 대한 치료와 안면신경의 재생에 대해서도 줄기세포의 연구가 이루어지고 있다. 본문에서는 현재 이비인후과 영역에서 줄기세포를 적용하기 위해 진행되고 있는 대표적인 연구 결과들을 소개하고 임상적 적용에 대한 가능성을 알아보고자 한다.

본 론

난청에 대한 줄기세포치료 연구

감각신경성 난청은 전 세계적으로 약 2억 7천 8백만 명의 인구가 앓고 있으며, 신생아의 경우에도 1,000명당 0.9명부터 5.9명까지 유병율이 보고되고 있다. 우리나라에서는 해마다 대략 700명 정도의 새로운 난청 환자가 태어나고 있으며 노령 인구의 증가로 난청 환자의 증가는 더욱 커지고 있는데 65세 이상 인구 중 거의 40%가 난청을 호소하고 있다.⁸⁾ 현재 난청에 대한 치료로 보청기를 이용한 재활 치료와 와우 이식을 통한 치료가 주류

를 이루고 있다. 하지만 보청기는 난청을 근본적으로 치료하는 것이 아니라 청각 재활의 방법으로써 외부 소리를 증폭하여 외이, 중이를 통하여 내이에 전달해주는 역할을 한다고 볼 수 있는데, 소리의 되울림, 폐쇄감, 과증폭, 주위 소음, 언어 청취능력의 감소 및 소리의 변형과 같은 불편함이 있고 고도 난청을 가진 환자와 같이 상당수 난청 환자는 보청기로 충분한 효과를 보지 못하고 있다. 와우이식은 일반적으로 양측 귀에 고도의 감각신경성 난청이 있고 보청기로 청력재활을 하여도 효과가 없을 경우 시행하는데, 현재까지 나온 와우이식기는 각각의 단일 청신경을 아직 독립적으로 자극하지 못하고, 또 구체적으로 어떤 방법으로 음압에 실린 정보를 각각의 단일 신경에 전달해야 하는지 정확히 알려져 있지 않기 개개인마다 효과가 다를 수 있다는 단점이 있다.⁹⁾ 이와 같은 이유 때문에 많은 연구자들이 난청에 대한 근본적인 치료방법을 개발하려 하고 있다.

감각신경성 난청은 내이의 와우에서 유모세포와 와우신경절(spiral ganglion neurons) 손상이 주요 원인이다.⁹⁾ 와우를 구성하는 세포들 중 감각세포는 출생 시 15,000개 조금 못 되는데 내유모세포와 외유모세포로 대변되는 이 감각 세포가 가장 취약한 부분이다. 한번 소실된 유모세포는 내이의 다른 상피세포들이 대체할 수 없기 때문에 손상을 받으면 비가역적인 청력 손실이 발생한다. 또한 일단 감각세포가 소실되면 코르티씨 기관의 지지세포들 역시 점진적으로 탈분화에 빠진다. 그러므로 손상 받은 감각세포 및 지지세포, 청신경의 재생이 감각신경성 난청의 궁극적 치료방법이라 할 수 있다.⁹⁾

2003년 Li 등¹⁰⁾이 배아줄기세포와 내이의 줄기세포를 이용하여 유모세포를 분화시킴으로써 난청 치료에 대한 새로운 접근방법을 제시해주었다. 이 연구에서 평형 기관인 난형낭반의 감각신경세포층에서 줄기세포가 존재함을 증명함과 동시에 유모세포로의 분화 뿐 아니라 내배엽 및 중배엽 기원의 세포로도 분화 가능한 다잠재능성(pluripotent)을 가지고 있음을 증명하였다. Malgrange 등¹¹⁾은 신생아 쥐의 코르티씨 기관에서 물리적으로 해리된 세포를 상피세포성장인자(epidermal growth factor, EGF), 섬유아세포성장인자(fibroblast growth factor 2, FGF2)하에서 성체줄기세포를 분리 배양하여 myosin VIIA의 발현이 보이는 유모세포와 p27(KIP1)

의 발현이 보이는 지지세포(supporting cell)의 재생이 이루어지는 것을 보여주어 와우의 재생능력 가능성을 보여주었다. 또한 Rask-Andersen¹²⁾와 Bostrom 등¹³⁾은 기니아피그와 인간의 와우신경절(spiral ganglion)에서 특이적인 신경원세포와 신경교세포로 분화될 수 있는 신경줄기세포를 분리 배양하는데 성공하였다. 이 연구에서 얻어진 신경줄기세포는 신경구의 형태를 가지고 있으면서 내이 특이적인 신경원세포(neuron)와 신경교세포(schwann cell)로 분화되는 것이 확인되었다.

이러한 연구를 바탕으로 줄기세포를 이용한 난청에 대한 다양한 치료 연구가 활발히 이루어지고 있다. Hu 등¹⁴⁾은 mouse의 성체신경줄기세포(neural stem cell, NSC)를 기니아피그의 내이에 이식하여 생각과 분화를 확인하였다. 이들은 정상 기니아피그와 화학적으로 청력을 손상시킨 기니아피그에 mouse의 성체신경줄기세포를 이식하여 각각 이식 후 약 2주와 4주까지 생존함을 확인하였고, 또한 이들 줄기세포가 기능적으로 중요한 구조물인 코르티 기관, 와우신경절, 청신경로(auditory nerve tract)으로 이동하였고 그곳에서 특이적인 세포로 분화됨을 확인하였다.

한편 골수에 존재하는 간엽줄기세포가 신경세포로 분화될 수 있음이 알려지면서 난청환자에 대한 치료 연구에도 이용될 수 있음을 보여주었다. Naito 등¹⁵⁾은 난청 동물 모델에서 와우 내에 이식된 골수 간엽줄기세포는 와우의 다양한 부위 즉 고실계, 전정계, 나선인대, 혈관선조, 와우신경절, 와우신경등에생착 되었으며, 일부 생존된 세포들은 신경원세포와신경교세포 특이 표지자가 발현되어 이들이 기관 특이적인 신경 세포로 분화가 될 수 있음을 보여주었다. Ito 등¹⁶⁾은 배아의 뇌 조직(해마, hippocampus)으로부터 신경줄기세포를 분리, 배양하여 이들을 실험적으로 난청 동물 모델에 주입하여 신경세포의 재생과 줄기세포의 생착 및 내이 특이적인 세포들로 분화됨을 확인하였다. 한편 유모세포의 재생과 함께 와우신경절(spiral galnglion) 내의 신경원세포의 재생이 난청에 대한 세포 치료 연구에 중요한 목표가 될 수 있다.¹⁷⁾ 배아줄기세포로부터 얻은 신경줄기세포를 이용한 이식 실험에서 이식된 줄기세포가 와우신경절에생착되며, 이렇게 생착된 줄기세포들은 신경원세포와신경교세포(schwann cell)로 분화됨이 증명되었다.¹⁸⁾

위에 소개된 줄기세포 연구를 통해 내이의 유모세포와 와우신경절의신경원세포 및 신경교세포의 재생이 가능해지면 난청의 치료에 있어 진일보한 성과를 가져다 줄 것은 자명하다. 하지만 이것만으로는 와우 및 청신경계에서 일어나는 복잡한 청각생리를 회복시킬 수 없기 때문에 단순히 감각세포를 재생하는 것이 줄기세포 연구의 최종 목표는 아니다. 감각세포의 재생도 중요하지만 이들 감각세포와 주변의 여러 종류의 지지세포들과의 유기적인 결합, 나아가서는 청신경과의 연결까지도 고려되어야 할 것이다.⁹⁾ 따라서 난청에 있어서 줄기세포의 연구는 이제 시작 단계이며 앞으로 더 많은 연구가 진행되어야 할 것으로 판단된다.

성대 재생에 대한 줄기세포 연구

성대 반흔(vocal fold scar)은 발성장애를 일으키는 원인중 하나로 과도한 음성 사용이나 감염, 방사선 조사, 수술이나 기관 삽관등에 의한 점막손상등 다양한 원인에 의해 발생한다.¹⁹⁾ 하지만 아직까지 성대 반흔에 대해 만족스런 치료 성과를 보이는 방법이 없는 상황이다.²⁰⁾ 성대에 반흔이 생기면 성대점막의 유연성이 떨어지고 발성을 위한 공기흐름의 조절 능력이 감소하여 발성장애가 초래된다.

성대 반흔이 발생 장애를 유발하게 되는 이유는 1) 성대 고유층에 증가된 그리고 비정상적인 구조의 collagen, 2) 중요한 성대 점막의 세포외기질의 감소, 3) 성대 점막의 부피감소, 4) 성대의 유연성의 감소, 5) 성문 폐쇄 부전 등이다.²¹⁾ 성대 반흔에서 가장 중요한 부분은 세포외기질의 성분 변화이고, 이러한 세포외기질 성분 변화의 기전과 섬유화 기전에 대해 많은 연구가 진행되고 있다.

성대 고유층의점탄성을 유지하기 위해서는 세포외기질의 조성이 중요한데 이중 가장 중요한 성분 중의 하나가 콜라겐(collagen)이다. 성대 반흔은 일반적으로 성대 고유층에collagen과 fibronectin이증가하면서점탄성이 감소하고 조직 결합, 유착, 강도가 증가하여 성대 진동을 방해한다.¹⁹⁾ Hyaluronic acid(HA)는 성대 고유층에 전반적으로 광범위하게 존재하는 점질다당류(glycosaminoglycans)로 성대의 점탄성을 유지하는데 중요한 물질이며 collagen의 생성을 억제하는 역할도 한다. HA는 조직 손상후 상처 치유에도 중요한 역할을 하는데 HA가

높게 유지되는 경우에는 반흔없이 상처가 치유되어 성대 반흔의 치료나 예방에 HA의 농도가 중요하다. Decorin은 성대 고유층의 상부에 존재하는 proteoglycans으로 콜라겐의 섬유 크기와 밀도를 감소시키는 항섬유화효과(antifibrotic effect)가 있는 물질이다. Elastin은 성대 고유층의 중간에 존재하는데, 점막 파동의 유연성에 관여한다.^{21,22)}

성대 반흔을 치료하기 위한 기존의 방법은 음성치료나 발생치료에 의한 방법, 약물 주입, 그리고 수술방법이었다.¹⁹⁾ 음성치료나 발생 치료에 의한 방법은 음성 장애훈을 유발한 성대 반흔을 직접 치료하는 것이 아니고 여러 가지 발생법을 이용하여 성대의 접촉을 좋게 하여 발성을 호전 시키는 방법이다. 약물 주입에는 부신피질호르몬 주입법이 있는데 부신피질호르몬 주사는 초기 상처에 주사하면 반흔을 감소시킬 수 있다는 연구는 있으나 완성된 성대 반흔에서는 효과가 미미하다. 수술 방법으로는 제1형 감상성형술과 여러 가지 물질을 이용한 성대 내 주입술이 현재 사용되고 있지만 치료 성적은 아직 만족스럽지 못하다.¹⁹⁾ 이러한 치료는 세포외기질의 변화를 조절하기 보다는 전체적인 성대 부피를 변화시키는 치료법으로 근본적으로 성대 점막의 세포외 기질의 변화시키는 방법은 아니다. 성대 반흔의 궁극적인 치료는 성대 점막의 세포외기질에 대한 치료법으로 성대 점막의 진동을 향상시키기 위해 HA, decorin, elastin을 증가시키면서, collagen과 fibronectin을 감소시키는 방향으로 진행되어야 한다.²³⁾ 따라서 세포외기질의 변화를 통한 성대 반흔의 치료에 줄기세포의 도입이 이루어지게 되었다.

성대 재생에 대한 줄기세포 연구는 Kanemaru 등²⁴⁾에 의해 처음 보고 되었다. 이들은 8마리의 개의 성대를 손상시킨 후 왼쪽 성대에는 골수에서 유래한 중간엽 줄기세포(bone marrow-derived mesenchymal stem cells, BM-MSC)를 주입하고 오른쪽 성대에는 atelocollagen만을 주입하여 양쪽을 비교하였다. 연구결과 BM-MSC를 주입한 성대가 그렇지 않은 성대에 비해 성대 위축, 육아종 형성, 성대 섬유화 등이 감소된 것으로 나타났다. 또한 주입한 BM-MSC가 손상 후 2개월에도 성대에 존재하는 것을 증명하였으며, 성대 근육에서 BM-MSC로부터 유래된 것으로 추측되는 미분화 세포가 관찰됨을 보고하였다. Lee 등²⁵⁾은 지방유래 중간엽 줄기세포(ad-

ipose-derived mesenchymal stem cells, A-MSC)를 이용하여 성대 재생을 관찰하였다. 이들은 A-MSC를 주입한 성대에 손상을 주면, 그렇지 않은 성대에 비해 육아종 발생, 성대위축, 성대 반흔의 발생등이 감소함을 보고하였다. 이 연구는 BM-MSC를 이용한 Kamemaru 등의 연구와 그 결과가 일치하며 중간엽 줄기세포를 얻기 어려운 골수를 대신할 수 있다는 점에서 의의가 있다. Hertegard 등²⁶⁾은 토끼의 성대 손상을 주어 반흔을 만든 1개월 후에 인간 골수유래 중간엽 줄기세포(human BM-MSC, hBM-MSC)을 주입하였다. 줄기세포 주입 후 4주에도 hBM-MSC는 토끼의 성대에서 생존하는 것이 관찰되었고, 제1형 콜라겐이 감소하고 성대의 점탄성이 호전되었다. Svensson 등²⁷⁾도 토끼 성대에 상처를 내어 만든 성대 반흔에 hBM-MSC를 주입하여 성대 점성과 탄성이 증가하여 정상과 비슷하다는 결과를 보고하였다. 또한 Cedervall 등²⁸⁾은 인간배아줄기세포(human embryonic stem cells, hESC)를 손상된 토끼의 성대에 주입하여 성대 반흔이 감소한 것을 관찰하였고 hBMSC보다 높은 생착율을 보임을 보고하였다.

최근 Kumai 등²⁹⁾은 AMSC와 섬유아세포를 동시에 배양하면 hepatocyte growth factor(HGF)의 분비와 HA 합성이 증가하고, collagen 합성, 세포증식, alpha-SMA 발현이 감소한다고 보고하였다.

이러한 다양한 연구에도 불구하고 인간을 대상으로 연구하기 어렵고 줄기 세포가 성대에 생착하는 비율이 매우 낮으며 배아줄기세포의 경우 성대에서 다른 조직의 세포가 발견되고 있어 아직까지 한계가 있다. 또한 주입한 줄기세포가 어떤 기전으로 손상된 성대를 재생하고 치유하고 성대 반흔을 감소시키는 지에 대한 연구가 아직 없어 더 활발한 연구가 필요할 것으로 보인다.¹⁹⁾

안면신경 재생에 대한 줄기세포 연구

안면신경은 얼굴표정근육에 대한 운동지배, 눈물과 침의 분비, 혀 앞쪽의 1/2의 맛, 외이의 감각 등을 담당한다. 안면신경은 염증, 외상, 종양 절제를 포함한 수술 과정 등 다양한 경로로 손상 받을 수 있다. 안면신경은 여러 가지 기능을 하고 있기 때문에 안면신경을 손상 받은 환자는 기능적, 심미적, 정신적으로 많은 고통을 받을 수밖에 없다.³⁰⁾ 수술을 포함한 의학의 진보에도 불구하

고 안면신경 손상의 기능적 회복은 어렵고 특히 완전히 신경이 절단된 경우 더욱 어렵다.³¹⁾

안면신경을 포함한 말초신경의 손상 치료에 최근까지 가장 주요한 치료 방법은 미세 현미경 수술법으로 손상된 신경 말단부를 접합시키는 것이었다. 하지만 연결할 신경 사이의 거리가 길면 적용하기 어렵다. 그 대안으로서 자가 신경이식이 사용되어 왔지만 제한된 신경 길이로 인해 자가 신경이식으로 치료되기 어려운 심한 신경 결손에는 적용하기 어렵다.³²⁾ 최근 여러 가지 합성 또는 비합성 신경도관이 개발되어 절단된 신경 간격을 이어주는 데 사용되어 왔는데, collagen, lactic acid와 caprolactone의 혼성중합체 등이 알려져 있다. 그러나 신경도관 자체는 신경원성 단백질이 포함되어 있지 않기 때문에 재생될 수 있는 신경의 길이에는 제한이 있다. 따라서 신경도관을 통한 신경 재생의 효능을 증가시키는 방법으로 신경성장인자(nerve growth factor), Schwann cell 등을 같이 이식하는 방법이 제안되었고 이를 통해 쥐의 말초신경 재생능을 향상시켰다는 보고들이 있다.³³⁾ 그러나 이식하기 위한 공여세포의 관점에서 볼 때 많은 양의 Schwann cell을 추출하기가 어렵고, 증식 및 장기간의 보존이 어려운 단점이 있다.^{31,32)} 따라서 자연히 줄기세포가 말초신경의 재생에 있어 Schwann cell의 대체자로 대두되었다. 특히 줄기세포는 신경계열에 있어 신경세포 뿐 아니라 별아교세포(astrocyte), 희소돌기아세포(oligodendrocyte) 등으로 분화될 수 있어 뇌졸중, 척수손상 등과 같은 질환의 치료에 실험적으로 이용되고 있어 슈만씨 세포의 대체자로 많은 관심을 받고 있다.

안면신경 재생에 관한 줄기세포 치료의 최초 보고는 유양돌기근치술(mastoidectomy)을 받던 도중 안면신경이 절단된 20세 여자 환자에 대한 증례이다.³⁴⁾ 환자는 수술도중 안면신경의 유양돌기 부분이 완전히 절단되어 약 8 mm 간격이 발생하였고 곧바로 대이개신경(great auricular nerve)로부터 신경이식술을 시행 받았으나 합병증이 발생하여 House-Brackmann 분류상 Grade VI으로 나타났다. 수술 후 42일째 골수로부터 추출한 중간엽 줄기세포가 이식되었고 이식후 5일 만에 Gade V, 7일만에 Grade IV, 5개월 만에 Gade III로 호전되었다는 결과를 보고하였다.

또한 Cho 등³¹⁾은 기니아피그의 안면신경을 절단하여

손상시킨 후 봉합하면서 인간 중간엽 줄기세포(human mesenchymal stem cell, hMSC)을 처리하여 안면신경의 재생정도를 관찰하였다. 이들은 골수에서 중간엽 줄기세포를 추출하여 in vitro에서 신경세포로 분화시킨 후 기니아피그에 주입하였다. 연구결과 중간엽 줄기세포를 주입한 동물의 안면신경에서 신경성장인자(neurotrophic factor)인 NT-3 발현이 증가됨이 나타났고 이로써 중간엽 줄기세포가 신경성장인자의 원천으로 작용할 수 있음을 증명하였다. 또 조직학적 평가에서도 안면신경의 유수화(myelination)의 증가와 축색돌기(axon)수의 증가가 관찰되어 중간엽 줄기세포가 안면신경 재생에 쓰일 수 있다는 가능성을 제시하였다.

최근 Sun 등³⁵⁾은 지방줄기세포를 포함하는 동맥 혈관 이식(artery graft)를 이용하여 쥐의 안면신경 재생에 관한 연구를 발표하였다. 이들은 지방줄기세포를 포함하는 동맥 혈관 이식이 동맥혈관을 단독으로 이식하는 것보다 안면신경 손상부위에서의 유수신경섬유(myelination fiber)의 숫자 및 밀도가 유의하게 증가함을 증명하였고 지방줄기세포가 안면신경 재생에 중요한 역할을 할 수 있음을 보여주었다.

위에 소개한 바와 같이 안면신경에 대한 재생에 있어서 줄기세포에 관한 연구가 안면신경 손상에 대한 새로운 치료방법을 제시해 줄 수 있으리라 생각된다.

방사선 조사 후 타액선의 기능 회복에 대한 줄기세포 연구

방사선치료는 두경부 암을 가진 환자에게 중요한 치료중의 하나지만 자가면역질환인 쇼그렌 증후군과 함께 타액선을 비가역적으로 손상시키는 대표적인 원인으로 알려져 있다.³⁶⁾ 타액선과 같이 비교적 방사선감수성이 높은 장기에 방사선이 조사되면, 구강점막을 보호하고, 윤활작용, 항균작용, 소화작용 및 수분대사의 조절등을 담당하는 타액의 분비가 저하되어 구강건조증(xerostomia), 삼킴곤란, 구강내 감염, 점막 상처의 치유 지연등의 합병증이 나타나게 된다.³⁷⁾

현재 약물학적 치료의 접근법은 남아있는 선포세포(acinar cell)의 분비능력을 증가시키는 방법이지만 타액선에 남아있는 선포세포가 적거나 없다면 사용할 수 없는 방법이다.³⁸⁾ 따라서 방사선에 의한 타액선의 손상을 회복하거나 재생시키는데 유전자 치료를 비롯한 조

직공학, 세포치료등의 다양한 시도가 이루어지고 있으며 줄기세포를 이용한 치료 역시 연구되고 있다. Sugito 등³⁹⁾은 쥐의 타액선으로부터 얻은 상피세포를 배양하여 위축된 타액선에 이식하여 4주동안 생존할 수 있음을 보여주었고, Lombaert 등⁴⁰⁾은 원시 타액선 줄기세포(primitive salivary gland stem cell)를 체외 배양하여 손상된 타액선에 이식했을 때 이식된 세포가 타액선의 기능을 회복시킬 수 있음을 보여주었다. 하지만 이러한 방법은 환자로부터 충분한 줄기세포를 얻기가 어렵고 각 환자들의 세포를 배양하기 위한 적당한 조건을 찾기가 쉽지 않다는 단점이 있다.

하지만 Tran 등⁴¹⁾이 건강한 남성 공여자의 BM-MSc를 이용하여 환자의 구강 상피세포로의 분화를 성공하고, Metaxas 등⁴²⁾은 공여자의 말초혈액의 줄기세포를 환자에게 이식하여 구강 상피세포로 분화시키는데 성공함으로써 타액선의 재생에 필요한 충분한 MSC를 확보할 수 있다는 가능성을 제시하였다. 이 밖에도 과립세포군추진인자(G-CSF)가 경부에 방사선을 조사받은 쥐의 골수유래 줄기세포를 타액선으로 이동시킬 수 있으며 이 연구에서 BM-MSc가 골수로부터 손상 받은 타액선으로 이동하여 재생 과정에 참여하고 타액선의 기능과 형태를 회복시켰다.⁴³⁾ 또한 Sumita 등⁴⁴⁾도 두경부에 방사선을 조사한 쥐에 BM-MSc를 정맥 주사하여 이들이 타액선의 기능회복을 보고하였다. 이 연구에서 BM-MSc를 이식받은 쥐는 그렇지 않은 쥐에 비해 타액의 생성, 타액선의 무게, 선세포의 양이 증가하는 것으로 나타나 줄기세포가 방사선 조사에 의한 타액선의 손상에 치료로 사용될 수 있는 가능성이 있음을 보여주었다.

이렇게 살펴본 바와 같이 방사선 조사에 의한 타액선 손상에 대해서도 줄기세포를 이용한 다양한 시도가 이루어지고 있다. 아직까지 인간을 대상으로 한 연구는 없지만 여러 가지 증거가 밝혀지면서 곧 임상에서의 도입도 이루어 질 수 있을 것이라 생각된다.

알레르기 비염에서 줄기세포의 연구

알레르기 비염은 반복적인 재채기, 가려움증, 수양성 비루, 비피색이 주요 증상인 비점막의 제 1형 과민반응성 질환이다. 이러한 과민반응은 다양한 원인 항원과 이에 대한 특이 면역글로불린 E에 의해 발생하며 면역학적

으로 호산구의 유출과 T2 보조세포의 활성화를 특징으로 한다. 알레르기 비염은 유병률이 전 인구의 10~25%를 차지할 정도로 매우 흔한 데다, 삶의 질을 저하시키고 학습능률과 작업능률을 떨어뜨리는 등 일상생활에도 지장을 줄 수 있으며 치료에 드는 비용까지 감안한다면 사회경제학적으로 매우 중요한 질환이다. 현재 알레르기 비염을 치료하는 방법으로는 항원과 자극물질에 노출되지 않도록 조심하는 회피요법과 항히스타민제, 스테로이드제, 혈관수축제, 항콜린제, 류코트리엔조절제 등을 사용하는 약물요법 그리고 면역요법 및 수술치료 등이 있다. 하지만 이들 치료 방법의 대부분은 비특이적으로 염증반응을 감소시키는 것으로 근본적인 치료가 아니며 여러 가지 부작용 또한 보고되고 있어 이들을 대체할 새로운 치료법에 대한 요구가 일어나고 있다.

그러던 중 MSC가 강력한 면역억제 효과(immunomodulatory effect)가 있음이 보고되면서 MSC가 알레르기 비염의 치료에 새로운 대안이 될 가능성을 보여주었다.⁴⁵⁾ 또한 Puissant 등⁴⁶⁾은 A-MSc가 분열촉진제(mitogen)에 대한 림프구의 분열 및 면역반응을 억제한다고 발표하면서 이러한 주장에 더욱더 힘을 실어주었다. Cho 등⁴⁷⁾은 알레르기비염 유발 마우스 모델을 이용하여 지방줄기세포의 면역학적 효과를 발표하였다. 이들은 마우스의 지방조직에서 MSC를 분리 배양하여 알레르기비염 유발 마우스에 정맥 주사하여 비강점막에서 줄기세포가 발견되는 지 그리고 이들 줄기세포가 어떤 면역조절효과를 가지는 가를 관찰하였다. 연구결과 A-MSc는 대조군에 비해 알레르기비염 유발군의 비강점막에서 더 많이 발견되었으며 재채기와 코를 비비는 동작 같은 알레르기 증상을 호전시켰다. 또한 비강 점막에서 호산구의 침윤이 감소하였으며 Th1 반응은 증가시키면서 Th2 반응은 억제한다고 발표하였다. 이는 지방줄기세포가 비강점막으로 직접 이동하여 알레르기 반응에 특징적인 호산구 침윤과 Th2 반응을 직접 억제함으로써 줄기세포가 알레르기 비염 치료의 새로운 대안이 될 수 있음을 보여준 것이라고 할 수 있다. 알레르기 비염에서 줄기세포에 대한 연구는 아직 초기단계에 있다. 그러나 줄기세포와 면역 조절에 관한 증거가 보다 축적되고 다양한 연구 결과가 발표된다면 임상에서의 도입도 곧 이루어 질 수 있을 것이다.

결론

자가 분열능력, 분화능력, 면역조절 기능 때문에 줄기 세포는 임상적 다양한 분야에서 장기 및 기관의 손상에 대한 기능회복을 목표로 활발한 연구가 진행되고 있다. 최근 이비인후과 질환과 관련해서도 줄기세포에 대한 많은 연구가 이루어지며 다양한 성과들과 함께 일부에서는 임상 적용을 위한 단계에 도달하였다. 향후 기존의 치료법에 더하여 줄기세포를 이용한 치료가 환자 삶의 질을 향상시킬 수 있으리라 기대된다. 하지만 임상에 적용하기 위해서는 아직 넘어야 할 문제들이 남아있다. 줄기세포 이식에 있어 낮은 생착율의 문제, 생착한 곳에서 원하는 세포로의 분화문제, 그리고 인접 세포들과의 상호작용, 면역학적 거부반응 등은 앞으로 연구를 통해 해결해 나가야 할 점이다. 또한 치료에 따른 기능적, 해부학적 치료 결과를 객관적으로 판단할 수 있는 방법의 개발과 임상적으로 줄기세포를 사용하는데 따른 제도적 장치를 마련하는 것도 해결해야 할 숙제이다.

중심 단어 : 간엽줄기세포 · 재생 · 난청 · 성대반흔 · 방사선 · 비염.

This work was supported by a 2-Year Research Grant of Pusan National University.

REFERENCES

- 1) Evans MJ, Kaufman M. *Establishment in culture of pluripotent cells from mouse embryos. Nature* 1981;292(5819):154-6.
- 2) Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Wakniz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS, et al. *Embryonic stem cell lines derived from human blastocyst. Science* 1998;282(5391):1145-7.
- 3) Choi OH, Jang SK. *Current status and concepts of stem cell therapy. Korean J Obstet Gynecol* 2007;50(4):569-79.
- 4) Zhang SC, Wernig M, Duncan ID, Brustle O, Thomson JA. *In vitro differentiation of transplantable neural precursors from human embryonic stem cells. Nat Biotechnol* 2001;19(12):1129-33.
- 5) Rodriguez-Gomez JA, Lu JQ, Velasco I, Rivera S, Zoghbi SS, Liow JS, et al. *Persistent dopamine functions of neurons derived from embryonic stem cells in a rodent model of Parkinson's disease. Stem Cells* 2007;25(4):918-28.
- 6) Assady S, Maor G, Amit M, Itskovitz-Eldor J, Skorecki KL, Tzukerman M. *Insulin production by human embryonic stem cells. Diabetes* 2001;50(8):1691-7.
- 7) Bonner-Weir S, Taneja M, Weir GC, Taterkiewicz K, Song KH, Sharma A, et al. *In vitro cultivation of human islets from expanded ductal tissue. Proc Natl Acad Sci USA* 2009;97(14):7999-8004.
- 8) Korean Society of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery. *Otorhinolaryngology. 1st ed. Seoul: ilchokak;2005. p.163-73.*
- 9) Lee DH. *The Past and present of the research on cochlear stem cell. Korean J Otorhinolaryngol-Head Neck Surg* 2011;54(4):247-56.
- 10) Li H, Liu H, Heller S. *Pluripotent stem cells from the adult mouse inner ear. Nat Med* 2003;9(10):1293-9.
- 11) Malgrange B, Belachew S, Thiry M, Nguyen L, Rogister B, Alvarez ML, et al. *Proliferative generation of mammalian auditory hair cells in culture. Mech Dev* 2002;112(1-2):79-88.
- 12) Rask-Andersen H, Bostrom M, Gerdin B, Kinnefors A, Nyberg G, Engstrand T, et al. *Regeneration of human auditory nerve. In vitro/in vivo demonstration of neural progenitor cells in adult human and guinea pig spiral ganglion. Hear Res* 2005;203(1-2):180-91.
- 13) Bostrom M, Anderson M, Lindholm D, Park KH, Schrott-Fischer A, Pfaller K, et al. *Neural network and ganglion formations in vitro: a video microscopy and scanning electron microscopy study on adult cultured spiral ganglion cells. Otol Neurotol* 2007;28(8):1109-19.
- 14) Hu Z, Wei D, Johansson CB, Holmstrom N, Duan M, Frisen J, et al. *Survival and neural differentiation of adult neural stem cells transplanted into the mature inner ear. Epc Cell Res* 2005;302(1):40-7.
- 15) Naito Y, Nakamura T, Nakagawa T, Iguchi F, Endo T, Fujino K, et al. *Transplantation of bone marrow stromal cells into the the cochlea of chinchillas. Neuroreport* 2004;15(1):1-4.
- 16) Ito J, Murata M, Kawaguchi S. *Regeneration and recovery of the hearing function of the central auditory pathway by transplants of embryonic brain tissue in adult rats. Exp Neurol* 2001;169(1):30-5.
- 17) Kim SW, Park KH. *Stem cell research in Otolaryngology. J Clinical Otolaryngol* 2008;19(2):259-66.
- 18) Coleman B, Hardman J, Coco A, Epp S, de Silva M, Crook J, et al. *Fate of embryonic stem cells transplanted into the deafened mammalian cochlea. Cell Transplant* 2006;15(5):369-80.
- 19) Lee BJ. *Tissue engineering for treatment of vocal fold scar. J Clinical Otolaryngol* 2010;21(2):191-8.
- 20) Ohno S, Hirano S, Tateya I, Kanemaru S, Umeda H, Suehiro A, et al. *Atelocollagenspohge as a stem cell implantation scaffold for the treatment of scarred vocal folds. Annals of Otolaryngology, Rhinology & Layngology* 2009;118(11):805-10.
- 21) Allen J. *Cause of vocal fold scar. Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* 2010;18(6):475-80.

- 22) Branski RC, Verdolini K, Sandulache V, Rosen CA, Hebda PA. *Vocal fold wound healing: a review for clinicians. J Voice* 2006;20(3):432-42.
- 23) Hirano S. *Current treatment of vocal fold scarring. Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* 2005;13(3):143-7.
- 24) Kanemaru S, Nakamura T, Omori K, Kojima H, Magruffov A, Hiratsuka Y, et al. *Regeneration of the vocal fold using autologous mesenchymal stem cells. Ann Otol Rhinol Laryngol* 2003;112(11):915-20.
- 25) Lee BJ, Wang SG, Lee JC, Jung JS, Bae YC, Jeong HJ, et al. *The prevention of vocal fold scarring using autologous adipose tissue-derived stromal cells. Cells Tissues Organs* 2006;184(3-4):198-204.
- 26) Hertegård S, Cedervall J, Svensson B, Forsberg K, Maurer FH, Vidovska D, et al. *Viscoelastic and histologic properties in scarred rabbit vocal folds after mesenchymal stem cell injection. Laryngoscope* 2006;116(7):1248-54.
- 27) Svensson B, Nagubothu RS, Cedervall J, Le Blanc K, Ahrlund-Richter L, Tolf A, et al. *Injection of human mesenchymal stem cells improves healing of scarred vocal folds: analysis using a xenograft model. Laryngoscope* 2010;120(7):1370-5.
- 28) Cedervall J, Ahrlund-Richter L, Svensson B, Forsgren K, Maurer FH, Vidovska D, et al. *Injection of embryonic stem cells into scarred rabbit vocal fold enhances healing and improves viscoelasticity: short term results. Laryngoscope* 2007;117(11):2075-81.
- 29) Kumai Y, Kobler JB, Park H, Lopez-Guerra G, Karajana S, Herrera VL, et al. *Cross talk between adipose-derived stem/stromal cells and vocal fold fibroblasts in vitro. Laryngoscope* 2009;119(4):799-805.
- 30) Vlastou C. *Facial paralysis. Microsurgery* 2006;26(4):278-87.
- 31) Cho HH, Jang S, Lee SC, Jeong HS, Park JS, Han JY, et al. *Effect of neural-induced mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma on facial nerve regeneration in an acute nerve injury model. Laryngoscope* 2010;120(5):907-13.
- 32) Koh JS, Lee JY, Lee JY. *The effect of human muscle derived stem cells on the induction of peripheral nerve regeneration. Korean J Urol* 2008;49(4):350-9.
- 33) Hadlock T, Sundback C, Hunter D, Cheney M, Vacanti JP. *A polymer foam conduit seeded with Schwann cells promotes guided peripheral nerve regeneration. Tissue Eng* 2000;6(2):119-27.
- 34) Caylan R, Bektas D, Dikmen T, Beltas O, Omay SB, Oval E. *Mesenchymal stem cells in iatrogenic facial nerve paralysis: a possible role in the future. Eur Arch Otorhinolaryngol* 2006;263:963-7.
- 35) Sun F, Zhou K, Mi WJ, Qiu JH. *Repair of facial nerve defects with decellularized artery allografts containing autologous adipose-derived stem cells in a rat model. Neuroscience Letters* 2011;499(2):104-8.
- 36) Tran SD, Sugito T, Dipasquale G, Cotrim AP, Bandyopadhyay BC, Riddle K, et al. *Reengineering primary epithelial cells from rhesus monkey parotid glands for use in developing an artificial salivary gland. Tissue Eng* 2006;12(10):2939-48.
- 37) Vissink A, Burlage FR, Spijkervet FK, Jansma J, Coppes RP. *Prevention and treatment of the consequences of head and neck radiotherapy. Crit Rev Oral Biol Med* 2003;14(3):213-25.
- 38) Tran SD, Sumita Y, Khalili. *Bone marrow-derived cells: A potential approach for the treatment of xerostomia. Int J Biochem Cell Biol* 2011;43(1):5-9.
- 39) Sugito T, Kagami H, Hata K, Nishiguchi H, Ueda M. *Transplantation of cultured salivary gland cells into an atrophic salivary gland. Cell Transplant* 2004;13(6):691-9.
- 40) Lombaert IM, Brunsting JF, Wierenga PK, Faber H, Stokman MA, Kok T, et al. *Rescue of salivary gland function after stem cell transplantation in irradiated glands. PLoS One* 2008;3(4):e2063.
- 41) Tran SD, Pillemer SR, Dutra A, Barrett AJ, Brownstein MJ, Key S, et al. *Differentiation of human bone marrow-derived cells into buccal epithelial cells in vivo: a molecular analytical study. Lancet* 2003;361(9363):1084-8.
- 42) Metaxas Y, Zeiser R, Schmitt-Graeff A, Waterhouse M, Faber P, Follo M, et al. *Human hematopoietic cell transplantation results in generation of donor-derived epithelial cells. Leukemia* 2005;19(7):1287-9.
- 43) Lombaert IM, Wierenga PK, Kok T, Kampinga HH, deHaan G, Coppes RP. *Mobilization of bone marrow stem cells by granulocyte colony-stimulating factor ameliorates radiation-induced damage to salivary glands. Clin Cancer Res* 2006;12(6):1804-12.
- 44) Sumita Y, Liu Y, Khalili S, Maria OM, Xia D, Key S, et al. *Bone marrow-derived cells rescue salivary gland function in mice with head and neck irradiation. Int J Biochem Cell Biol* 2011;43(1):80-7.
- 45) English K, Barry FP, Mahon BP. *Murine mesenchymal stem cells suppress dendritic cell migration, maturation and antigen presentation. Immunol Lett* 2008;115(1):50-8.
- 46) Puisant B, Barreau C, Bourin P, Clavel C, Corre J, Bousquet C, et al. *Immunomodulatory effect of human adipose tissue-derived adult stem cells: comparison with bonemarrow mesenchymal stem cells. Br J Haematol* 2005;129(1):118-29.
- 47) Cho KS, Park HK, Park HY, Jung JS, Jeon SG, Kim YK, et al. *IFATS collection: Immunomodulatory effects of adipose tissue-derived stem cells in an allergic rhinitis mouse model. Stem Cells* 2009;27(1):259-65.