성체 줄기세포를 이용한 치주영역에서의 조직공학

원광대학교 치과대학 치주과
부교수 유 형 근

치주 질환이란 치주 조직의 파괴가 일어나는 만성 염증성 감염 질환으로써, 그 원인이 되는 치태나 치석의 세균을 제거하고, 소실된 치아 지지조직을 재생시키는 것이 치주 치료의 목적이라 할 수 있다[1,2]. 치주조직을 재생시키기 위한 방법으로 재생형 골수술 등이 있으며, 조직 재생을 위해서는 자가골, 동종골, 합성골, 조직재생용 차단막 등을 사용하고 있다. 그러나, 치주 조직은 경조직인 치조골과 백악질, 연조직인 치주인대가 공존하는 특이한 구조적 특성으로 인해 과거의 방법만으로는 조직 재생을 완전하게 이뤄내기가 쉽지 않았다. 재생형 골 수술 후 치주조직 재생이라는 성공적인 결과를 만들어 내기 위해 골이식재를 처리하는 것과 함께 조직공학을 이용하여 술후 예견성을 높이기 위한 시도가 계속 되어져 왔으며 최근에는 성체 줄기세포를 활용한 연구가 이루어지고 있다.

줄기세포란 인간의 몸을 구성하는 세포나 장기로 성장하는 일종의 모세포로서 간세포라 불리기도 한다. 줄기세포에는 사람의 배아를 이용해 만들 수 있는 배아줄기세포, 그리고 다 자란 성체(사람)의 몸에서 얻어낼 수 있는 성체 줄기세포가 있다. 수정한지 14일이 안된 배아기의 세포인 배아줄기세포(Embryonic Stem Cell)는 장차 인체를 이루는 모든 세포와 조직으로 분화할 수 있기 때문에 만능세포로 불리우지만, 윤리적인 이유 등으로 인해 사용에 제한이 있다[3]. 즉, 배아줄기세포는 대부분의 조직과 장기를 만들어 낼 수 있는 가능성이 매우 높지만, 사람으로 성장할 수 있는 배아를 파괴해서 장기를 얻어낸다는 생명윤리 논쟁을 야기 시키고 있다. 반면, 성체 줄기세포(Adult Stem Cell)는 산모의 제대혈이나 성인의 골수, 혈액 및 지방 등에서 추출해낸 것으로, 뼈와 간, 근육, 신경, 혈구 세포 등 우리 몸을 구성하는 세포로 분화되기 직전의 원시세포이다. 이러한 성체 줄기세포는 줄기세포의 성질을 쉽게 상실한다는 단점이 있지만 배아줄기세포의 사용에 따른 윤리적인 제한이 없어 조직공학에도 널리 사용되고 있는 등 새로운 치료 대안으로 떠오르고 있다(표 1). 이 두 가지 줄기세포는 약간의 서로 다른 특징이 있는데, 미분화 상태의 배아줄기세포는 자가재생산 능력이 뛰어나서 증식이 쉽게 되는 반면, 생체내에 세포 치료를 위해 이식할 경우 미분화 상태의 세포가 증식하여 암(teratoma)이 발생할 가능성이 있으며, 배아줄기 세포의 조직적합성 불일치에 따라 면역학적 거부반응을 일으킬 수 있다. 반면, 성체 줄기세포는 쉽게 분화에 빠져 체외배양이 어렵고, 대량증식이 어려운 측면이 있

표 1. 배아줄기세포와 성체줄기 세포의 비교

	배아줄기세포	성체줄기세포
세포 존재	수정된 배아를 사용하여 줄기세포를 만듬	인체의 성숙된 조직에 줄기세포 존재
분화된 정도	전혀 미성숙되고 미분화된 아주 원시의 상태	어느 정도는 성숙되고 미분화된 상태
분화 능력	몸을 구성하는 모든 종류의 세포로 분화할 수 있어 전분화능(全分化能)	본래 자신이 있던 조직과는 성격이 다른 세포로 분화할 수 있는 능력에는 한계
세포 증식	세포배양을 통해서 쉽게 증식	대량 증식에 기술적 어려움-많이 개선됨
면역 반응	면역거부 반응 가능성	본인의 줄기세포를 사용하므로 면역거부 반응 없음
임상 적용 가능성	아직까지 활용 못하고 있음	일부에서 임상 시험 중

으나, 생체 내에 이식된 후 장기의 특성에 맞게 분화하는 장기 특이적 분화(site-specific differentiation) 및 본래의 세포 특성과 다른 종류의 장기세포로 전이분화(trans-differentiation) 할 수 있는 분화의 유연성(plasticity of differentiation)을 가지고 있다[4].

조직공학에서 많이 이용되는 성체 줄기세포 중 골수유래 성체 줄기세포는 부착성 세포이며 자가 재생능력이 있어 생체 내에서 환경에 따라 여러 가지 세포로 분화됨이 밝혀짐에 따라 많은 주목을 받고 있다(그림 1). 골수에는 골항상성과 말초성숙 혈구세포의 재생에 관여하는 여러 세포가 있으며, 이중 줄기세포도 포함되는데, 이 줄기세포는 미분화세포로 변화되거나 연골, 지방, 뼈, 근육과 같은 간엽성 조직의 계통으로 분화할 수 있는 잠재성을 지니고 있다[5-7]. 줄기세포의 골형성 능력은 1968년 Friedenstein 등[8]이 보고한 후 인간과 동물을 대상으로 한 여러 연구에서 골형성 세포로 분화되는 것이 보고 되었다. 최근의 연구에서는 골수로부터 분리한 줄기세포를 배양하여 골아세포로 분화 증식시키는 방법에 진전이 있었으며, 이를 통하여 일부 국가에서는 실제 임상에서도 적용을 하고 있다.

즉, 성체줄기 세포의 짧은 생명 주기와 세포 배양시 분화능력의 감소 등과 같은 이유로 임상 적용을 하지 못하고 있었으며, 또한, 임상적용을 위한 대량의 골수를 환자 자신으로부터 쉽게 얻을 수 없다는 것도 커다란 제한점 중의 하나였다. 그러나, 2001년 Tsutsumi 등[9]은 사람의 골수에서 추출해 낸 성체 줄기세포에 성장인자인 fibroblast growth factor - 2(FGF-2)를 투여 시 성체 줄기세포의 성장속도와 생명주기가 뚜렷이 증가된다고 하였고, FGF-2가

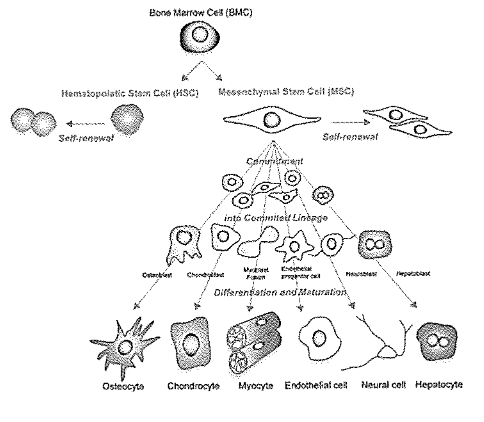
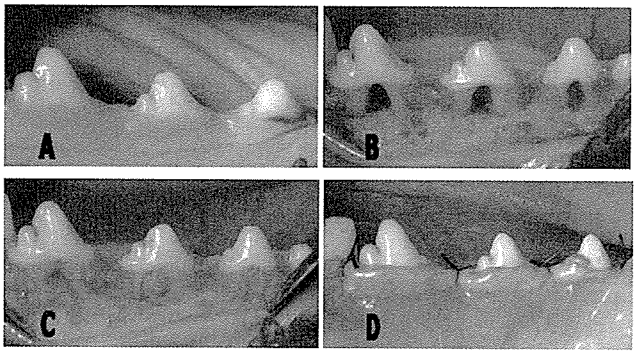
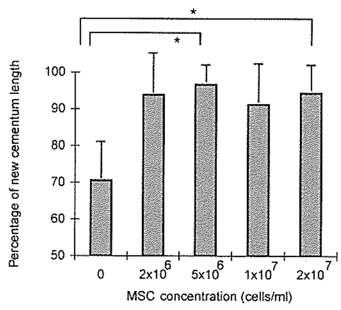


그림 1. 성체줄기세포의 분화 과정 (인용 : 참고문헌 13)

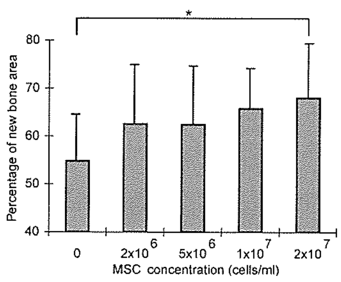


2-1. A : 비글견 소구치 부위, B : 골결손부 형성, C : 성체줄기세포 이식, D : 봉합

2-2. 성체줄기세포 이식 1달후 소견. 신생 골, 백악질, 치주인대등이 생성되었다.



2-3. 신생 백악질 생성량



2-4. 신생 골 생성량

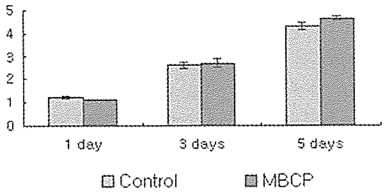
그림 2. 성체줄기세포에 의한 치주조직의 재생 (인용: 참고문헌 11)

성체 줄기세포의 자가재생(self-renewal)에 결정적인 역할을 한다고 하였다. 2003년에 Sugiyama 등[10]은 유전적으로 변형시킨 성체 줄기세포의 이식은 면역력이 존재하는 쥐에서 골형성을 촉진시켰으며, 골재생을 위한 치료기술로 사용할 수 있을 것으로 보고하였다. 그리하여 마침내 Kawaguchi 등[11]은 2004년에 개의 골수에서 추출한 성체 줄기세포를 치조골 결손부에 자가이식 하여 치주조직이 재생되는 지를 관찰하였다. 이 연구진은 비글견의 골수에서 성체 줄기세포를 분리 배양하여 원하는 수 만큼 증식을 시킨 후, atellocollagen이라는 물질에 섞어 실험적으로 만든 Class III 치근이개부 병변에 이식하였다. 그 결과 백악질, 치주인대, 치조골 등을 포함한 이상적인 치주조직의 재생이 치조골 결손부에서 일어남을 확인할 수 있었다.

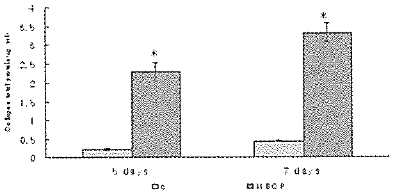
이 이후에 일본의 히로시마 대학 등에서는 치주질환자를 대상으로 자가 골수 유래 성체 줄기세포(autogenous bone marrow deived mesenchymal stem cells)를 만들어서 치주조직 재생을 위한 치료법으로 현재 임상실험 중에 있다.

한편, 본 교실에서도 최근에 성체 줄기세포를 활용하여 치주조직 재생을 위한 기초 실험을 진행하고 있다(그림 3). 골이식재로 많이 사용하고 있는 합성골 중의 하나인 biphasic calcium phosphate

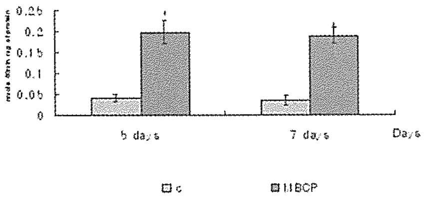
(MBCP®)를 사용하여 그 위에 사람의 골수에서 채취하여 증식시킨 성체줄기세포를 배양하였다. Biphasic calcium phosphate(BCP)는 hydroxyapatite와 β-tricalcium phosphate가 함께 존재하는 이식재로 개발되었다[12]. Hydroxyapatite는 결손부 내에서 신생골 조직이 형성되어 구조적으로 안정성을 유지할 때까지 지지대의 역할을 하며, β-tricalcium phosphate는 빠른 용해를 통한 이온교환으로 신생 골아세포가 이식재 사이로 잘 스며들 수 있도록 한다. 그리고 이식재내의 무수한 다공질은 이온교환을 가능하게 하며, 골결정체가 침전할 수 있도록 하여 세포유착을 위한 새로운 접촉면을 형성하고 또한, 혈관 형성 및 신생골의 리모델링과 성장 등에 도움을 준다는 연구결과가 있다. 이와 같은 연구 결과를 바탕으로 성체줄기세포를 배양하기 위한 지지대로 BCP를 선택하였으며, 차후에 자가골과 동종골에도 성체줄기세포를 배양하여 그 효과를 확인해볼 예정이다. 본 기초 실험 결과, 사람의 골수에서 채취한 성체줄기세포를 BCP에 배양을 할 경우, 성체줄기세포만을 단독으로 배양한 경우보다 증식이 조금 더 증가하였으며, 또한 골 재생에 임상적으로 사용할 수 있는 골아세포로도 충분히 분화하였음을 알 수 있었다. 위와 같은 연구는 성체줄기세포를 임상적으로 활용하기 위한 기본적인 실험이지만, 앞으로 골재생을 위한 조직공학에서의 활용도는 엄청나게 발전을 할 것이다. 그동안 골 재생을 위해서는 주로 골 이식재만을 사용하였지만, 단순 골이식에 성체줄기세포를 증식 배



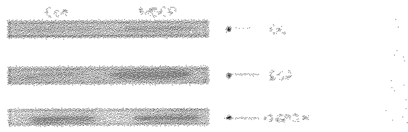
3-1. MBCP 시편위에서 성체줄기세포의 증식 비교 (X 10⁴)



3-2. MBCP 시편위에서 성체줄기세포의 교원질합성량 비교



3-3. MBCP 시편위에서 성체줄기세포의 ALP activity 비교



3-4. MBCP 시편위에서 성체줄기세포의 골형성 관련 유전자 발현

그림 3. MBCP를 활용한 성체줄기세포의 배양

양하여 추가로 세포 이식을 한다면, 치과의사가 원하는 훨씬 더 좋은 양질의 골이 재생될 것으로 생각된다. 이와 같은 새로운 골이식술의 발전은 치주질환의 치료시 뿐만 아니라, 임프란트 수술시 골이 부족한 상황에서도 완벽한 골재생을 위해 활용될 수 있을 것이다. 그리고, 심한 치주질환의 경우 발치할 필요없이 적절한 치주 치료 후 성체 줄기세포를 주입한다면 치주조직 재생이 일어날 수도 있을 것이다.

치과의사가 지금까지는 주로 재료공학적 접근에 의한 기계물리학적 방법으로 환자 진료를 하던 시대에서 줄기세포를 이용한 생물학적 치료도 시행할 수 있어야 하는 시대가 현실화될 가능성이 점점 높아지고 있는 것이다.

참 고 문 헌

1. Froum S.J. and Gomez C. : Periodontal regeneration. Curr Opin Periodontol 111-128, 1993.
2. Page R.C. : Periodontal therapy : Prospects for the future. J Periodontol 64:744-753, 1993.
3. Holm S. Embryonic stem cell research and the moral status of human embryos. Reprod Biomed Online. 2005;10 Suppl 1:63-67.
4. 오일환 : 조혈계 줄기세포 치료의 추세와 전망. 대한의사협회지 10:948-956, 2004
5. Song L., Baksh D., Tuan RS. Mesenchymal stem cell-based cartilage tissue engineering : cells, scaffold and biology. Cytotherapy. 2004;6(6):596-601.
6. Barry FP., Murphy JM. Mesenchymal stem cells: clinical applications and biological characterization. Int J Biochem Cell Biol. 2004;36(4):568-584.
7. Kassem M., Kristiansen M., Abdallah BM. Mesenchymal stem cells : cell biology and potential use in therapy. Basic Clin Pharmacol Toxicol. 2004;95(5):209-214.
8. Friedenstein AJ., Petrakova KV., Kurolesova AI., Frolova GP. Heterotopic of bone marrow. Analysis of precursor cells for osteogenic and hematopoietic tissues.Transplantation. 1968;6(2):230-247.
9. Tsutsumi S., Shimazu A., Miyazaki.K, Pan H., Koike C., Yoshida E., Takagishi K., and Kato Y. : Retention of Multilinege Differentiation potential of Mesenchymal Cells during proliferation in Response to FGF. Biochem Biophys Res Commun 288(2): 413-419, 2001
10. Sugiyama O., Orimo H., Suzuki S., Yamashita K., Ito H., and Shimada T.J. : Bone formation following transplantation of genetically modified primary bone marrow stromal cells. Orthop Res 21(4):630-637, 2003
11. Kawaguchi H., Hirachi A., Hasegawa N., Iwata T., Hamaguchi H., Shiba H., Takata T., Kato Y., and Kurihara H. : Enhancement of Periodental tissue Regeneration by transplantation of bone marrow mesenchymal stem cells. J Periodontol 75(9):1281-1287, 2004
12. Gauthier O., Bouler JM., Aguado E., Pilet P., Daculsi G. Micro-macro biphasic calcium phosphate ceramics: influence of macropore diameter and macroporosity percentage on bone growth. Biomaterials. 1998;19:133-139.
13. Kotobuki N., Hirose M., Takakura Y., and Ohgushi H. : Cultured Autologous Human Cells for hard tissue Regeneration:Preparation and characterization of Mesenchymal stem cells from bone marrow. Artif Organ 28(1):33-39, 2004