ORIGINAL ARTICLE

1

투고일 : 2017. 7. 18 심사일 : 2017. 8. 21 게재확정일 : 2017. 9. 1

구강조직유래 유도만능줄기세포-생체재료 복합체의 재생의료 동향

[1)]단국대학교 생체재료학교실, [2)]단국대학교 조직재생공학연구원, [3)]경동대학교 치위생학과
[4)]단국대학교 나노바이오의학과 BK21 plus 재생의학 글로벌리서치센터

전 수 경[1, 2, 3], 이 해 형[1, 2], 김 해 원[1, 2, 4], 이 정 환[1, 2]

ABSTRACT

Regenerative medicine using dental tissue derived induced pluripotent stem cell-biomaterials complex

[1)]Department of Biomaterials Science, College of Dentistry,
[2)]Institute of Tissue Regeneration Engineering (ITREN), Dankook University,
[3)]Department of Dental Hygiene, Kyungdong University, Woonju,
[4)]Department of Nanobiomedical Science and BK21 PLUS NBM Global Research Center for Regenerative Medicine, Dankook University
Soo-Kyung Jun[1, 2, 3], Hae-Hyoung Lee[1, 2], Hae-Won Kim[1, 2, 4], Jung-Hwan Lee[2]*

In recent years, many researchers and clinicians found interest in regenerative medicine using induced pluripotent stem cells (iPSCs) with biomaterials due to their pluripotency, which is able to differentiate into any type of cells without human embryo, which of use is ethically controversial. However, there are limitations to make iPSCs from adult somatic cells due to their low stemness and donor site morbidity. Recently, to overcome above drawbacks, dental tissue-derived iPSCs have been highlighted as a type of alternative sources for their high stemness, easy gathering, and their complex (ectomesenchymal) origin, which easily differentiate them to various cell types for nerve, vessel, and other dental tissue regeneration. In other part, utilizing biomaterials for regenerative medicine using cell is recently highlighted because they can modulate cell adhesion, proliferation and (de)differentiation. Therefore, this paper will convey the overview of advantages and drawbacks of dental tissue-derived iPSCs and their future application with biomaterials.

Key words : Regenerative medicine, dental tissue derived, induced pluripotent stem cell, biomaterials

Corresponding Author
Jung-Hwan Lee, DDS, PhD, Researcher,
Institute of Tissue Regeneration Engineering (ITREN), Dankook University, Cheonan 31116, Republic of Korea,
Tel : +82 41 550 3081, Fax : +82 41 559 7839, E-mail : ducious@gmail.com

This research was supported by Basic Science Research Program through the National Research Foundation of Korea (NRF) funded by the Ministry of Science, ICT & Future Planning (NRF-2015R1C1A1A01052127)

Ⅰ. 서론

유도만능줄기세포(iPSC, induced pluripotent stem cells)는 말 그대로 유도된 만능줄기세포로서 직접 성인의 체세포로부터 만들어 배아줄기세포를 대신하여 외배엽, 중배엽, 내배엽 세포로 모두 분화가 가능한 세포이다. 유도만능줄기세포는 손상되거나 병이 있는 조직이나 기관을 대체하기 위해 배아줄기세포를 (또는 배아) 사용하지 않을 수 있고, 신체의 여러 세포로 분화가 가능하기에(예 : 신경 세포, 심장 세포, 췌장 세포 및 간세포) 재생 의학 분야에서 큰 기대를 갖고 있는 분야이다[1]. 세포치료제로써 유도만능줄기세포가 소개되기 이전에는 배아줄기세포를 사용하여 왔지만, 정자와 난자가 합쳐져 발생 과정을 거쳐 만들어진 배아줄기세포를 사용한다는 생명윤리적 문제를 가지고 있어 그 연구적 임상적 활용가능성이 제한되고 있었다. 따라서 유도만능줄기세포는 생명윤리적 문제가 없이 일반인을 위한 재생분야 뿐만 아니라 당뇨병, 혈소판 결핍증, 파킨슨 병, 황반 변성증, 기타 전신 질환 및 증후군 환자의 치료를 위한 재생분야에 쓰일 수 있는 적절한 세포치료 도구로 각광받고 있다[2~6]. (유전학적)질병을 지닌 환자의 세포에서(유전학적)질병 특이적 유도만능줄기세포를 생산하여 유전학적 장애 및 (전신)질환을 연구 및 치료할 수 있는 세포 모델을 만들 수 있기 때문이다[7, 8].

유도만능줄기세포를 만들기 위한 과정은 다음과 같다. 먼저, 만능분화능을 가지고있는 배아줄기세포로부터 (최종)분화가 진행된 체세포들을(주로 인간 섬유아세포, human fibroblast) 다양한 생물학 기술을 도입하여 인위적으로 역분화시켜 다시 만능분화능을 가질 수 있도록 세포를 배양하는 과정을 거친다[9]. 일본의 신야 야마나까(Sinya Yamanaka) 연구그룹은 2006년에 처음으로 유도만능줄기세포를 생쥐의 성체 섬유모세포로부터 Oct3/4, Sox2, Klf4, 그리고 c-MYC의 네 가지 유전자를 임의로 도입하여 배아줄기세포와 유사한 특성을 가지도록 만들어졌다[9]. 그리고 다음해인 2007년도에 같은 연구그룹이 같은 방법을 통해 사람의 성체 섬유모세포로부터 유도만능줄기세포를 성공적으로 만들었다[10]. 또한 같은 시기에 영국의 톰슨 (Thomson) 연구그룹 또한 사람의 성체 섬유모세포로부터 Oct3/4, Sox2, Nanog, 그리고 Lin28의 네 가지 유전자를 도입하여 유도만능줄기세포를 만들어 냈다[11].

이와 같이 섬유모세포 및 기타 다른 종류의 체세포에서 유도만능줄기세포를 생성할 수 있음에도 이것들의 채취가 쉽지 않다는 단점 그리고 효율이 극히 낮다는 단점(~0.01%)으로 임상적 적용에 제한이 많은 실정이었다[8]. 특히, 사람에서 섬유모세포를 채취하기 위해서는 생검을 통해야 하며, 가장 피부 바깥에 존재하여 채취가 쉬운 각질세포의 경우에도 생검을 통하지 않으면 유도만능줄기세포를 만들기가 매우 어려운 실정이다[12]. 이러한 생검을 통한 침습적인 세포획득은 환자로 하여금 두려움을 가지게 하여, 이것을 대체할 수 있는 방법에 대한 연구가 되고 있다. 또한, 유도만능줄기세포의 효율을 높이기 위한 방법으로 모세포의 줄기세포능이 높은 것을 이용하는 방법이 제시되어, 태아에서 체세포를 채취하거나 태아 및 성인에서 줄기세포능이 있는 세포를 사용하는 연구가 되고 있다[13]. 하지만 태아의 체세포 및 줄기세포를 생검 또는 채취하여 사용하는 것 또한 의료윤리적 문제를 일으킬 수 있다.

이것을 극복하기 위한 한가지 방법으로, 연구자들은 구강 내에서 얻을 수 있는 세포에 대해서 주목하기 시작하였다. 구강 내 세포는 면봉으로 닦아내면 쉽게 얻을 수 있고, 얻는 위치도 혀, 구강 점막, 잇몸 조직 등 다양하며, 의료폐기물로 처리 된 유치 영구치 및 제3대구치 등에서 치수, 치주 인대 및 치간유두 줄기세포를 추출하여 사용할 수도 있다[14]. 이러한 치아 조직 유래 체세포 및 줄기세포는 줄기세포능이 풍부하여 다른 일반적인 체세포인 섬유 아세포보다 유도만능줄기세

포로 쉽게 그리고 효율적으로 분화할 수 있다[7]. 또한, 치아 줄기세포 조직은 외간엽기원으로 유도만능줄기세포로 역분화 된 이후에 다시 외배엽 및 중배엽인 신경, 혈관 그리고 구강조직으로의 분화가 다른 체세포 조직보다 쉽다[15, 16]. 따라서, 생검 없이 쉽게 얻을 수 있고, 역분화 효율을 높여줄 수 있는 줄기세포능이 있으며, 외간엽기원으로 역분화 이후 분화가 쉬운 구강조직유래 유도만능줄기세포는 그 임상적 활용가능성이 매우 큰 실정이다.

또한, 구강조직유래 유도만능줄기세포를 재생의료에 임상적용 하기 위해서는 식립할 때 필요한 생체재료에 대한 연구가 필수적이다. 왜냐하면 세포 자체만을 식립하게 되면 쉽게 흩어져서 재생이 도움이 되지 않기 때문이다. 그렇기 때문에, 유도만능줄기세세포를 생체재료에 부착시켜 유도만능줄기세포-생체재료 복합체를 만들어 실험실상에서 원하는 부위의 조직재생을 도모할 수 있다[17]. 그 이후 유도만능줄기세포를 원하는 세포로 분화시키고 이를 다시 신체 내에 식립하게 되는 것이다. 이를 위해서 생체재료는 단순한 전달체 역할을 벗어나 세포의 부착, 증식, 분화에 영향을 줄 수 있고 이러한 연구가 최근 10년간 매우 많이 되고 있는 실정이다[18].

그러므로, 이번 종설 논문에서는 유도만능줄기세포 개발의 역사 및 생체재료를 이용한 리프로그래밍, 구강조직유래 유도만능줄기세포 장단점, 구강조직유래 유도만능줄기세포-생체재료 복합체를 이용한 재생의료 적용에 관한 것을 고찰해 보려고 한다. Figure 1에서는 앞으로 이 종설 논문에서 이야기하고자 하는 바를 간략하게 모식도를 이용하여 표시한 것으로, 구강조직유래 유도만능줄기세포와 생체재료의 장점들을 상호 융합하여 연구되고 있는 재생의료 분야를 소개하고 있다.

Ⅱ. 유도만능줄기세포 역사 및 생체재료를 이용한 리프로그래밍

iPSCs 기술은 수많은 발견을 바탕으로 만들어졌다. 연구자들로 하여금 iPSCs을 생산하게 한 3가지 주요 연구 흐름이 있었다. 첫 번째 물줄기로 1962년

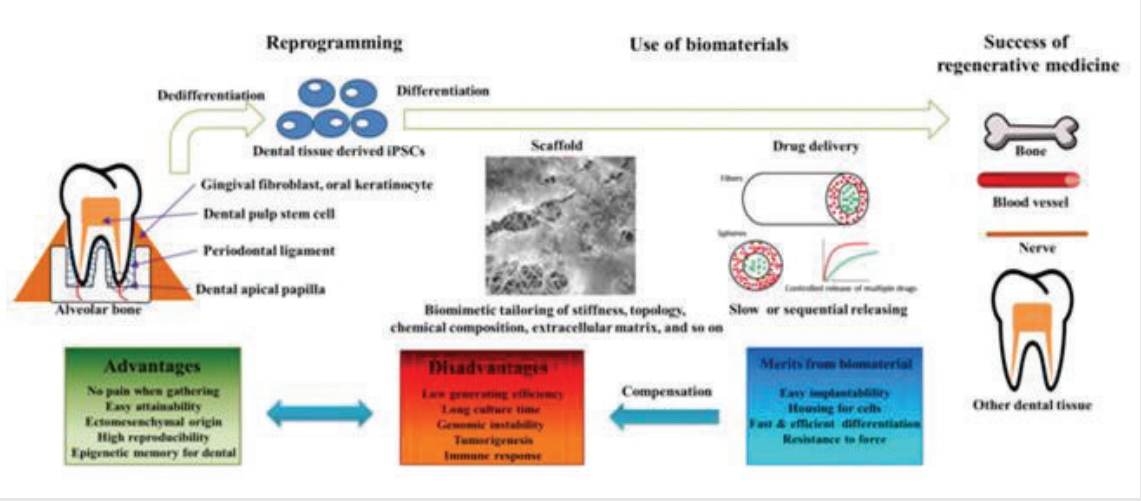

Fig. 1. Schematic image showing sources for dental tissue derived iPSCs, advantages and disadvantages, merits from biomaterials, and their regenerative application. Images are modified with permission from[19-21]

존 거든(John Gurdon) 박사는 체세포 핵 이식방법으로, 난자의 핵을 제거한 뒤 올챙이의 소장 상피에서 분리된 세포의 핵을 이식시키자 몇몇의 올챙이들이 성공적으로 발생됨을 보고했다[22]. 수십 년 후 이안 윌머트(Ian Wilmut) 박사팀은 양에서 체세포 핵 이식방법을 통해 복제에 성공하였다. 이 복제된 양의 이름은 돌리이고, 난자에 존재하고 있는 전체 유기체의 발달에 필요한 정보를 포함하는 분화 된 세포가 배아상태와 같은 미분화 상태로 되돌려 지게 되어 복제에 성공할 수 있었으며, 이는 역분화를 유도하는 인자들에 의해 새로 세포핵을 리프로그래밍(reprogramming)하여 역분화를 유도할 가능성이 있다는 것을 밝혔다[23]. 2001년에 다카시 다다(Takada Tada) 연구팀도 성체 세포와 배아줄기세포(Embryonic stem cells, ESCs)의 융합이 체세포 핵 리프로그래밍의 가능성을 제시했다[24].

두 번째 흐름은 "마스터" 전사인자의 발견과 관련이 있다. 많은 연구자들이 세포의 분화 및 역분화를 유도하는 등 세포의 운명을 결정하여, 다양한 세포들을 리프로그래밍하기 위한 "마스터" 조절인자를 찾기 시작했다. 1987년에 Drosophila transcription factor(Antennapedia)는 외부적으로 발현 시켜, 초파리에서 더듬이 대신에 다리 형성을 유도하였으며, 포유류 전사 인자중의 하나인 MyoD를 외부적으로 도입하여 배아 섬유아세포를 근아세포(myoblast)로 전환시키는 것에 성공하였다[25, 26]. 이러한 결과를 바탕으로 세포의 운명을 결정하는 리프로그래밍에 깊숙이 관여하는 "마스터" 전사 인자의 개념이 발생되었다.

세 번째 흐름은 배아줄기세포(Embryonic stem cells, ESC)에 관한 것이다[27]. 배아줄기세포(Embryonic stem cells, ESC)의 최초 생성물인 쥐의 배아줄기세포가 백혈병 억제 인자(LIF)와 함께 배양 시 만능분화능(pluripotency)을 지속적으로 유지할 수 있는 것을 밝혀, 배아줄기세포 배양 조건을 확립하여 연구에 사용되기 시작하였다[28].

연구의 처음 두 가지 흐름을 결합하여 2006년 신야 야마나카(Sinya Yamanaka) 그룹은 난자 및 배아줄기세포에서 발현되는 여러(전사)인자들을 동시에 외부에서 도입하여 체세포를 배아줄기세포 상태로 되돌아가는 리프로그래밍을 가정하였다. 그래서 24가지 후보 유전자를 도입하여 그 중에 OSKM(Oct4, Sox2, Klf4, c-Myc) 유전자로 결정되는 4가지 유전자의 결합과 적절한 배양조건이 체세포를 배아줄기세포로 유도함을 밝혀내어 이 세포를 유도만능줄기세포라고 명명하였다. 유도만능줄기세포의 첫 번째 성공은 레트로바이러스(retroviruses)를 이용하여 OSKM 의 4종류 유전자를 넣어줌으로써 효율적으로 유도만능줄기세포를 만들었다[9]. 4년 후인 2010년 OSKM 또는 다른 4개 인자(Oct3/4, Sox2, Nanog, Lin[28])를 사용하여 치아에서 박리된 치수줄기세포와 치간유두 줄기 세포에서 치아 조직 유래된 역분화 유도만능줄기세포를 최초로 성공적으로 만들어 치아 조직 유래 유도만능줄기세포연구의 시작을 알렸다[8].

현재까지 유도만능줄기세포를 만들기 위해 유전자를 외부에서 전달하려면 레트로 바이러스 또는 렌티바이러스(lentiviruses)를 삽입시켜 사용하는 것이 일반적이다. 하지만 이는 돌연변이 유발이 일어나거나 신체가 바이러스에 대해 면역 반응을 일으킬 수 있기 때문에 이러한 바이러스 형질 도입 방법을 적용하기에는 임상적인 위험성을 배제할 수 없다[29, 30]. 그래서 숙주 세포의 게놈에 통합되지 않는 유도만능줄기세포 인자 전달 방법의 시도가 cDNA, miRNA, PiggyBac, cell-penetrating peptide를 이용하여 이루어지고 있다[31~35]. 하지만 이를 효율적으로 세포에 전달하기 위해서는, 생체적합성이 뛰어나면서 세포 내로 유전자 전달이 가능한 나노생체재료가 필수적이다. 최근까지 시도된 나노입자의 형태는 자성 나노 입자(magnetic nanoparticles), 양이온 볼라형 양친매성 입자(cationic bolaamphiphile), 폴리 -

β- 아미노 에스테르(poly-β-amino esters), 폴리 케탈 나노 입자(polyketal nanoparticle), 인산 칼슘 나노 입자(calcium phosphate nanoparticle) 및 폴리 아미드 아민 나노 입자(polyamidoamine nanoparticles)등 이다[36~40]. 위의 나노입자와 더불어 전자기장(electromagnetic fields, EMF)과 같은 외부 힘을 리프로그램되고 있는 세포에 부여하거나 모세포를 키우는 생체재료의 표면에 (비)정렬된 나노 표면(topology)를 도입하여 동적 에피 제네틱(dynamic epigenetic)에 변화를 직접 유도하는 리프로그래밍 효율성 배가 연구가 활발히 진행되고 있다[41]. 이와 같이 치아 조직 또는 일반적인 체세포 조직 유래 유도만능줄기세포를 임상적으로 이용하기 위해서 생체재료의 도입은 필수적으로 이와 관련된 기술개발이 최근까지 활발하게 되고 있다. 앞으로도 재생의료에 사용하기 위해 적절한 담체 기질(carrier) 물질 및 생체재료의 표면 특성 및 외력으로 구성된 최적의 비 바이러스 시스템을 갖는 세포리프로그래밍 최적화에 대한 추가 연구가 필요하다[42].

Ⅲ. 구강조직유래 유도만능줄기세포의 장점

구강상피세포, 치수줄기 세포, 치주인대줄기세포, 치낭 줄기세포, 치근단 줄기세포 및 탈락된 치아에서의 성체 줄기세포 등에서 만들어진 유도만능줄기세포를 구강조직 유래 유도만능줄기세포라고 할 수 있다. 주로 발치 된 제3대구치 또는 치아에서 유래되는 여러 가지 줄기세포가 해당되며, 구강 내에서 쉽게 면봉을 통해 채취할 수 있는 구강상피세포도 사용할 수 있는 예 중의 하나이다. 구강조직유래 유도만능줄기세포의 첫 번째 장점으로는 일반적인 구강조직 유래 줄기세포 및 기타조직유래 유도만능줄기세포들에 비해 비교적 자원이 제한적이지 않고 상대적으로 비침습적이며, 구강조직줄기세포에 비해서 모든 세포형태로 다양하게 분화할 수 있다는 점이다[37, 38]. 구강조직 유도만능줄기세포는 발치 된 치아 뿐만 아니라 구강 점막, 치주 및 치주주변 조직에서 채취된 세포를 쉽게 이용 할 수 있어 모세포를 채취할 수 있는 가용자원이 상대적으로 풍부하다. 또한 타액에서도 발견되는 구강조직세포를 이용할 수 있다는 점과 구강 내 상피세포를 면봉으로 긁어 채취할 수 있다는 점에서 침습적인 생검을 통해 모세포를 얻어야 하는 기타조직세포보다 환자친화적인 방법이라 할 수 있다.

더 중요한 것은, 구강조직유래 유도만능줄기세포는 체외에서 배양 된 구강조직유래 줄기세포보다 증식성 및 줄기세포능이 높기 때문에 치과 또는 의학의 재생치료에 사용되기 쉽다[43]. 또한 구강조직유래 줄기 세포에 비해 임상에서 재현성을 보장 할 수 있다는 점인데, 이는 구강조직유래 줄기세포의 경우 세대수가 증가되면 쉽게 줄기세포능을 잃게 되어 다른 사람의 구강조직에서 채취한 줄기세포를 쓰게 되면 줄기세포능의 재현성이 일정하지 않게 된다. 반면 구강조직유래 유도만능줄기세포는 최적화된 배양조건하에서 장기간 만능줄기세포능을 유지할 수 있기 때문에 한가지 세포주를 계속해서 사용할 수 있다.

기타조직유래 유도만능줄기세포들과 대비하여 또 다른 장점으로 구강조직유래 유도만능줄기세포는 모세포인 구강조직의 에피제네틱 기억(epigenetic memory)을 보존한다는 것이다[14, 44]. 에피제네틱 기억은 유도만능줄기세포에 모세포 계통 특이적 분화를 유도하는 것으로, 이는 생성된 유도만능줄기세포가 원래의 세포로 우선적으로 분화한다는 것을 의미한다. 따라서 외간엽조직에서 분화된 치아조직에서 유래된 유도만능줄기세포는 신경, 혈관, 치아 경조직, 연조직 및 기타 중배엽과 외배엽에 속한 다른 종류의(구강)조직으로 분화 할 수 있는 능력이 더 뛰어나다.

한편, 배아줄기세포에서는 에피제네틱 기억의 부족으로 인해 특정 유형의 세포 조직으로 분화 할 수 있는

능력이 낮다. 따라서 재생 의학, 특히 구강 내 조직과 관련된 재생의학에 사용할 때 큰 장애물이 된다는 점을 발견하였지만 구강조직유래 유도만능줄기세포는 그렇지 않다[45]. 또 다른 배아줄기세포에 비하여 구강조직유래 유도만능줄기세포의 장점은 환자 자신의 치주 조직에서 얻을 수 있으며, 그로 인하여 이식 후 면역 거부 및 배아줄기세포 사용에 대한 윤리적 우려를 방지 할 수 있다는 것이다[46]. 또한 구강조직유래 유도만능줄기세포는 기증자의 게놈을 따르고 있어서, 그 기증자가 지닌 질병에 따른 생물학적 특성 분석 및 이 질병의 치료를 위한 약물 테스트를 하기 위해 동물 모델 및 초대배양세포 이용보다 재현성이 있으며 임상적으로도 큰 연관성을 가질 수 있는 질환 특이적(유도만능줄기)세포를 제조 할 수 있다[7, 10]. 동물 모델 사용시 사람에서의 임상적 효과와 그 유사도가 언제나 의문을 지니며, 초대배양세포는 증식 능력의 제한으로 장기적 실험이 어려운 실정이다.

따라서 유도만능줄기세포는 인간 관련 장애 또는 질환을 연구하는 유망한 줄기 세포 후보로 간주되고 있으며, 구강조직유래 유도만능줄기세포는 쉽게 접근 할 수 있고 쉽게 유도만능줄기세포를 얻을 수 있다는 장점으로 주목 받고 있는 실정이다. 지금까지 파킨슨 병(Parkinson's disease), 헌팅턴 병(Hunting ton's disease), 다운 증후군(Down syndrome), 소아당뇨병(Juvenile diabetes mellitus), 슈와크만 증후군(Shwachman-Bodian-Diamond syndrome) 등의 질환에 특이적인 유도만능줄기세포가 섬유아세포를 이용하여 대부분이 연구되어 왔지만, 구강조직유래 유도만능줄기세포를 이용한 질환 특이적 세포주 개발은 (구강)질병의 메커니즘 발견, 환자맞춤형 맞춤형 치과의료기기, 신약 개발, 및 치료 연구를 위한 든든한 기초를 제공 할 것으로 기대한다[47].

Ⅳ. 구강조직유래 유도만능줄기세포의 단점 및 개선노력

재생의료분야에서 유도만능줄기세포를 사용할 때 가장 문제가 되는 것은 안전성의 문제이다. 구강조직유래 유도만능줄기세포도 근본적으로 같은 방법을 통해 유도만능줄기세포를 만들기 때문에 이러한 문제를 해결할 수 없다. 그 중에서 가장 주목 받는 문제점은 유도만능줄기세포의 생성을 위한 바이러스의 사용이 게놈 불안정 및 종양형성능을 증가 시킨다는 것이다[48, 49]. 이것들을 줄이기 위해 많은 연구들에서 바이러스 없이 사용할 수 있는 유도만능줄기세포 개발 방법이 생체재료를 이용하여 시도되고 있다[37, 40, 50]. 또한 유도만능줄기세포의 종양형성능은 유도만능줄기세포를 식립 전 원하는 단계로 분화하여 재생의료를 위해 식립함으로써 최소화 시킬 수 있다. 예를 들어 성체 세포 또는 재생 치료에 사용하기 위해 중배엽 줄기세포 MSC(Mesenchymal stem or stromal cells) 의 계통 특이적 전구 세포로 분화시키고 이를 식립할 수 있었다[51]. 구강조직유래 유도만능줄기세포도 역시 원하는 치수줄기세포 또는 MSC로 분화를 유도하여 (구강조직)재생의료에 사용시 발생할 수 있는 종양형성과 관련 주요 안전 문제를 극복하는데 도움이 될 수 있다.

또한 일반적인 유도만능줄기세포와 마찬가지로 구강조직유래 유도만능줄기세포 역시 재생의료 임상적용을 위한 프로토콜을 작성하는데 있어서, 동물유래 단백질에서의 바람직하지 않은 감염의 위험이나 면역원 제공에 관한 문제가 제기되고 있기 때문이다[52]. 현재의 프로토콜은 동물 유래 시약(주로 소 태아 혈청, FBS)를 사용하여 감염성 질환 및 바람직하지 않은 면역원 제공 등의 다양한 안전관련 문제를 잠재적으로 가지고 있다[53]. 정확한 구성성분이 정확히 알려져 있지 않을 뿐만 아니라, 매 생성단계마다 성분이 변화하는 혈청은 유도만능줄기세포 재현성의 높은 생성을 막을 뿐만 아니라, 바이러스, 마이코 플라스마(mycoplasma), 프리온(prions) 또는 다른 병원성, 독

성 또는 면역원성 물질로 오염되어있을 가능성이 있어 임상적 적용을 위한 안정성에 문제가 있을 수 있다[54]. 또한 세포를 배양접시배양 채취할 때 사용하는 트립신(trypsin)의 경우도 돼지에서 추출한 성분이기에 생물학적 안전의 위험성이 있을 수 있다. 따라서 최근에 유도만능줄기세포의 임상적 안전성과 효율성을 보장하기 위해 동물 혈청 세포 기반 생성프로토콜을 화학적 약물 기반 프로토콜로 교체하는 등의 노력이 지속되고 있다[55].

다음의 단점은 아직까지 임상에 적용하기에 어려운 낮은 유도만능줄기세포 습득률에 있다. 비록, 치수세포와 같은 치아에서 유래된 조직은 섬유아세포보다 (약 0.01%) 유도만능줄기세포 발생 효율이 4~10 배 증가 하여 0.1 %까지 발생효율을 높였다[56]. 그러나 아직도 재생의료에 사용하기에 충분한 습득률을 지니고 있다. 또한 유도만능줄기세포 획득을 위한 프로세스의 복잡성 및 긴 생성 시간(약 2~4주)과 또다시 원하는 조직으로 분화시키는 시간(1~3주) 등 원하는 조직의 재생을 위해서 너무 많은 시간이 소요된다. 최근에, 이를 극복하기 위하여 유도만능줄기세포를 거치지 않고 직접(구강 내)세포에서 뼈세포, 신경세포, 근육세포로 분화시키는 직접교차분화(Direct conversion)에 대한 연구가 되고 있다. 이와 더불어 유도만능줄기세포 생성 및 임상적 사용을 위해 깊은 생물학적 이해가 필요할 것으로 사료된다[57, 58]. 지금까지 살펴본 줄기세포에 관한 특징들을 Table 1에 요약 하여 나타내었다.

Ⅴ. 구강조직유래 유도만능줄기세포-생체재료 복합체의 바이오 메디칼 적용

구강조직유래 유도만능줄기세포는 치수세포와 같은 외간엽기원에서 역분화하여 만들기 때문에 중배엽 세포(혈액, 관, 근육, 연골 등) 및 신경세포 같은 외배엽 세포로의 재분화가 다른 체세포 조직 보다 더 쉽고 효율적으로 할 수 있다[54, 59, 60]. 하지만, 이러한 성질을 이용하여 여러 조직의 재생의료를 위해 구강조직유래 유도만능줄기세포를 활용하기 위한 노력에도 불구하고 여러 가지 한계가 존재하여 임상적 응용이 어렵다[8, 10, 46]. 그 한계로, 유도만능줄기세포를 원하는 조직의 세포로 분화시키는데 배양하는 시간이 길다는 점, 분화된 세포를 생체 내에 식립 시 쉽게 분산되어 생체 내에서의 재생의료가 쉽게 되지 못한다는 점, 생체 내의 외

Table 1. Summary of characteristics from dental pulp stem cells, embryonic stem cells, and dental tissue derived iPSCs.

	Dental pulp stem cell	Embryonic stem cell	Dental tissue derived iPSCs
Collection(site)	Limited	Very limited	Anywhere
Collection(level)	Invasive	Ultimately invasive	Non-invasive
Ethics	No relevant	Highly relevant	No relevant
Cost	Low	High	High
Differentiation potential(General)	Very limited	Unlimited(3 germ layers)	Unlimited(3 germ layers)
Differentiation potential(oral tissue)	Easy	Moderate	More easily
Reproducible	Relatively bad	Good	Good
Possibility of customized regenerative medicine	Moderate	High	High
Risks for clinical usage	Low	Low	High

부 응력, 장력 등의 극한 환경하에서 재생이 쉽지 않은 점 등이 있다. 이를 극복하기 위해서는 유도만능줄기세포와 생체재료 복합체를 이용한 재생의료가 필수적이다[18].

생체재료는 표면의 유도만능줄기세포를 생체 내에 식립할 때 임플란트용 세포 전달체로 쓸 수 있을 뿐만 아니라, 생체재료의 표면특성, 물리 화학적 특성을 변화시켜서 유도만능줄기세포로의 역분화 및 원하는 조직으로의 분화를 촉진시킬 수 있다. 최근에 생체재료의 탄성계수, 세포외기질, 표면거칠기, 삼차원 구조 등에 의해 세포의 분화 및 역분화가 결정됨이 밝혀졌기 때문이다[17]. 예를 들어, 유도만능줄기세포로 역분화를 빨리 시키기 위해서는 배아줄기세포와 같은 낮은 탄성계수를 갖는 하이드로젤 형태의 소프트한 표면이 유리하며, 이러한 유도만능줄기세포를 경조직 세포로 분화시키기 위해서는 딱딱한 표면의 높은 탄성계수를 가지는 생체재료가 유리하다[61]. 또한, 생체모방적으로 접근하여 재생의료에 필요한 원하는 조직세포가 신체 내에서 많이 접하는 세포외기질의 형태 및 성분을 생체재료에서 구현해준다면 훨씬 효율적으로 세포를 분화시키고 이를 재생의료에 쓰일 수 있다. 마지막으로, 나노표면형태를 생체모방적으로 생체재료에 도입하게 되면 이 또한 원하는 조직의 재생의료에 활용될 수 있다[62]. 또한, 지금까지 살펴본 재생의료를 위한 생체재료의 최적화 조건들을 Table 2로 요약하였다.

이 뿐만 아니라, 생체재료 그 자체 또는 나노케리어를 이용하여서 생체분자 또는 약물 등을 담침 및 전달할 수 있다[63]. 생체재료공학을 이용하여 이러한 생체분자 또는 약물 등을 원하는 시기에 서방형으로 방출하여 원하는 시기에 원하는 방향으로 세포의 운명을 결정할 수 있기 때문이다. 또한 생체재료 중 유연한 성질을 가지는 고분자를 이용하여 근육 및 피부와 같이 일정하게 장력을 받는 곳의 조직재생에 활용할 수 있으며, 경조직 재생의 경우 외부적 힘에 저항하는 물리력을 지니게 할 수 있고, 신경재생의 경우 신경이 자라나는 방향을 가이드 할 수 있는 구조를 만들어 신경재생을 유리하게 진행할 수 있다[64].

Ⅵ. 결론

구강조직유래 유도만능줄기세포에 관한 연구는 2006년 신야 야마나카 연구팀의 유도만능줄기세포 개발 이후 2010년 치수세포에서의 유도만능줄기세포 개발, 그리고 현재에 임상적용을 위한 유도만능줄기세포-생체재료 복합체에 이르기 까지 많은 발전을 해오고 있다. 구강조직유래 유도만능줄기세포는, 모세포를 비침습적으로 얻을 수 있는 점, 모세포의 줄기세

Table 2. Summary of utilized parameters of biomaterials for accelerating regenerative medicine in conjunction with dental tissue derived induced pluripotent stem cell

	Examples (or utilized range)
Surface charge & chemistry	Positive or negative charge, amine, carboxyl groups,
Stiffness(Elastic modulus)	0.05~2000 kPa
Roughness(Ra, arithmetic average)	0.01~10 ㎛
Surface geometry	Nano(micro)-pit, groove, other patterns…
Extracellular matrix composition	Collagen, fibronectin, laminin, materigel…
3D geometry	Hydrogel, salt-leached, fibrous, sponge like, 3D printed structure…

포능과 증식성이 타 체세포 보다 좋은 점, 모세포가 구강조직의 에피제네틱 기억이 존재하여 구강조직으로의 분화가 쉬우며, 외간엽 기원으로 다른 중배엽 및 외배엽으로의 분화가 쉬운 점등이 있어 각광받고 있다. 하지만, 아직까지 임상적용을 위해서는 바이러스 사용으로 인한 게놈 불안정성 및 종양형성능 증가, 동물유래 단백질로 인한 감염의 위험, 낮은 유도만능줄기세포 습득률 등을 해결해야 하는 등 넘어야 할 산이 존재 한다. 마지막으로 이를 생체 내에 식립 시 필연적으로 세포-생체재료 복합체가 필요한데, 이를 위해 유도만능줄기세포가 생체재료 위에서 자라고 분화 될 때, 조직재생을 위한 최적화 연구가 필요하다. 이러한 최적화 연구는 재생의료를 위해 해당 조직을 생체모방하여 이식 될 생체재료의 여러가지 특성(탄성계수, 표면의 화학적 특성, 표면 구조, 부착된 생체 세포외기질의 종류 등)을 최적화 시키는 것으로 요약될 수 있다. 이러한 연구를 지속적으로 하게 된다면 불치병환자의 치료, 현재의 기술로 재생하기 어려운 넓은 손상범위의 성공적인 조직 재생, 재생능이 떨어진 노령인구 및 전신질환 환자에서의 조직재생에 적용될 수 있는 줄기세포-조직재생공학체의 개발이 가능할 것으로 전망된다. 더 나아가 국내외적으로 안정성 및 유효성 검토를 바탕으로 줄기세포-조직재생공학체 임상시술의 법적인 토대가 마련된다면, 성공적인 임상 적용으로 이어져 재생의료의 전성기를 맞이할 것으로 기대해 본다.

참 고 문 헌

1. Yamanaka S. Induced pluripotent stemcells: past, present, and future. Cell Stem Cell 2012;10(6):678?684
2. Kriks S, Shim JW, Piao J, et al. Dopamine neurons derived from human ES cells efficiently engraft in animal models of Parkinson's disease. Nature 2011;480(7378):547-551
3. Takayama N, Nishimura S, Nakamura S, et al. Transient activation of c-MYC expression is critical for efficient platelet generation from human induced pluripotent stem cells. J Exp Med 2010;207(13):2817-2830
4. Nori S, Okada Y, Yasuda A, et al. Grafted human-induced pluripotent stem-cell-derived neurospheres promote motor functional recovery after spinal cord injury in mice. Proc Natl Acad Sci U S A 2011;108(40):16825-16830
5. Okamoto S, Takahashi M. Induction of retinal pigment epithelial cells from monkey iPS cells. Invest Ophthalmol Vis Sci 2011;52(12):8785-8790
6. Kunisada Y, Tsubooka-Yamazoe N, Shoji M, Hosoya M. Small molecules induce efficient differentiation into insulin-producing cells from human induced pluripotent stem cells. Stem Cell Res 2012;8(2):274-284
7. Srijaya TC, Pradeep PJ, Zain RB, et al. The promise of human induced pluripotent stem cells in dental research. Stem Cells Int 2012;2012:423868
8. Yan X, Qin H, Qu C, et al. iPS cells reprogrammed from human mesenchymal-like stem/progenitor cells of dental tissue origin. Stem Cells Dev 2010;19(4):469-480
9. Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. Cell 2006;126(4):663-676
10. Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. Cell 2007;131(5):861-872
11. Yu J, Vodyanik MA, Smuga-Otto K, et al. Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells. Science 2007;318(5858):1917-1920
12. Aasen T, Raya A, Barrero MJ, et al. Efficient and rapid generation of induced pluripotent stem cells from human keratinocytes. Nature biotechnology 2008;26(11):1276-1284
13. Kang R, Zhou Y, Tan S, et al. Mesenchymal stem cells derived from human induced pluripotent stem cells retain adequate osteogenicity and chondrogenicity but less adipogenicity. Stem Cell Research & Therapy 2015;6(1):144
14. Hynes K, Menichanin D, Bright R, et al. Induced Pluripotent Stem Cells: A New Frontier for Stem Cells in Dentistry. J Dent Res 2015;94(11):1508-1515
15. Yoo CH, Na HJ, Lee DS, et al. Endothelial progenitor cells from human dental pulp-derived iPS cells as a therapeutic target for ischemic vascular diseases. Biomaterials 2013;34(33):8149-8160
16. Chen J, Lin M, Foxe JJ, et al. Transcriptome comparison of human neurons generated using induced pluripotent stem cells derived from dental pulp and skin fibroblasts. PLoS One 2013;8(10):e75682
17. Crowder SW, Leonardo V, Whittaker T, et al. Material Cues as Potent Regulators of Epigenetics and Stem Cell Function. Cell Stem Cell 2016;18(1):39-52
18. Perez RA, Choi S-J, Han C-M, et al. Biomaterials control of pluripotent stem cell fate for regenerative therapy. Progress in Materials Science 2016;82:234-293
19. Lee J-H, Seo S-J. Biomedical Application of Dental Tissue-Derived Induced Pluripotent Stem Cells. Stem Cells International 2016;2016:7
20. Perez RA, Kim H-W. Core-shell designed scaffolds for drug delivery and tissue engineering. Acta Biomaterialia 2015;21:2-19
21. Kim HW, Song JH, Kim HE. Nanofiber Generation of Gelatin?Hydroxyapatite Biomimetics for Guided

참 고 문 헌

Tissue Regeneration. Advanced Functional Materials 2005;15(12):1988-1994

22. Gurdon JB. The developmental capacity of nuclei taken from intestinal epithelium cells of feeding tadpoles. J Embryol Exp Morphol 1962;10:622-640
23. Wilmut I, Schnieke AE, McWhir J, et al. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. Cloning Stem Cells 2007;9(1):3-7
24. Tada M, Takahama Y, Abe K, et al. Nuclear reprogramming of somatic cells by in vitro hybridization with ES cells. Curr Biol 2001;11(19):1553-1558
25. Schneuwly S, Klemenz R, Gehring WJ. Redesigning the body plan of Drosophila by ectopic expression of the homoeotic gene Antennapedia. Nature 1987;325(6107):816-818
26. Davis RL, Weintraub H, Lassar AB. Expression of a single transfected cDNA converts fibroblasts to myoblasts. Cell 1987;51(6):987-1000
27. Evans MJ, Kaufman MH. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. Nature 1981;292(5819):154-156
28. Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. Science 1998;282(5391):1145-1147
29. Nayak S, Herzog RW. Progress and prospects: immune responses to viral vectors. Gene Ther 2010;17(3):295-304
30. Aoi T, Yae K, Nakagawa M, et al. Generation of pluripotent stem cells from adult mouse liver and stomach cells. Science 2008;321(5889):699-702
31. Okita K, Nakagawa M, Hyenjong H, et al. Generation of mouse induced pluripotent stem cells without viral vectors. Science 2008;322(5903):949-953
32. Warren L, Manos PD, Ahfeldt T, et al. Highly efficient reprogramming to pluripotency and directed differentiation of human cells with synthetic modified mRNA. Cell Stem Cell 2010;7(5):618-630
33. Kim D, Kim CH, Moon JI, et al. Generation of human induced pluripotent stem cells by direct delivery of reprogramming proteins. Cell Stem Cell 2009;4(6):472-476
34. Fusaki N, Ban H, Nishiyama A, et al. Efficient induction of transgene-free human pluripotent stem cells using a vector based on Sendai virus, an RNA virus that does not integrate into the host genome. Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci 2009;85(8):348-362
35. Miyoshi N, Ishii H, Nagano H, et al. Reprogramming of mouse and human cells to pluripotency using mature microRNAs. Cell Stem Cell 2011;8(6):633-638
36. Montserrat N, Garreta E, Gonzalez F, et al. Simple generation of human induced pluripotent stem cells using poly-beta-amino esters as the non-viral gene delivery system. J Biol Chem 2011;286(14):12417-12428
37. Lee CH, Kim JH, Lee HJ, et al. The generation of iPS cells using non-viral magnetic nanoparticle based transfection. Biomaterials 2011;32(28):6683-6691
38. Zhu K, Li J, Lai H, et al. Reprogramming fibroblasts to pluripotency using arginine-terminated polyamidoamine nanoparticles based non-viral gene delivery system. Int J Nanomedicine 2014;9:5837-5847
39. Sohn YD, Somasuntharam I, Che PL, et al. Induction of pluripotency in bone marrow mononuclear cells via polyketal nanoparticle-mediated delivery of mature microRNAs. Biomaterials 2013;34(17):4235-4241
40. Khan M, Narayanan K, Lu H, et al. Delivery of reprogramming factors into fibroblasts for generation of non-genetic induced pluripotent stem cells using a cationic bolaamphiphile as a non-viral vector. Biomaterials 2013;34(21):5336-5343
41. Baek S, Quan X, Kim S, et al. Electromagnetic fields mediate efficient cell reprogramming into a pluripotent state. ACS Nano 2014;8(10):10125-10138
42. Yoo J, Kim J, Baek S, et al. Cell reprogramming

참 고 문 헌

into the pluripotent state using graphene based substrates. Biomaterials 2014;35(29):8321-8329

43. Potdar PD, Jethmalani YD. Human dental pulp stem cells: Applications in future regenerative medicine. World Journal of Stem Cells 2015;7(5):839-851
44. Bar-Nur O, Russ HA, Efrat S, Benvenisty N. Epigenetic memory and preferential lineage-specific differentiation in induced pluripotent stem cells derived from human pancreatic islet beta cells. Cell Stem Cell 2011;9(1):17-23
45. Nashun B, Hill PW, Hajkova P. Reprogramming of cell fate: epigenetic memory and the erasure of memories past. Embo j 2015;34(10):1296-1308
46. Chang YC, Li WC, Twu NF, et al. Induction of dental pulp-derived induced pluripotent stem cells in the absence of c-Myc for differentiation into neuron-like cells. J Chin Med Assoc 2014;77(12):618-625
47. I.-H. Park NA, H. Huo et al. Disease-specific induced pluripotent stem cells Cell Stem Cell 2008;134(5):877?886
48. Raab S, Klingenstein M. A Comparative View on Human Somatic Cell Sources for iPSC Generation. 2014;2014:768391
49. Nori S, Okada Y, Nishimura S, et al. Long-term safety issues of iPSC-based cell therapy in a spinal cord injury model: oncogenic transformation with epithelial-mesenchymal transition. Stem Cell Reports 2015;4(3):360-373
50. X. Cao WD, R. Qu et al. Non-viral co-delivery of the four yamanaka factors for generation of human induced pluripotent stem cells via calcium phosphate nanocomposite particles. Advanced Functional Materials 2013;23(43):5403?5411
51. Zhao Q, Gregory CA, Lee RH, et al. MSCs derived from iPSCs with a modified protocol are tumor-tropic but have much less potential to promote tumors than bone marrow MSCs. Proc Natl Acad Sci U S A 2015;112(2):530-535
52. Erickson GA, Bolin SR, Landgraf JG. Viral contamination of fetal bovine serum used for tissue culture: risks and concerns. Dev Biol Stand 1991;75:173-175
53. Takeda-Kawaguchi T, Sugiyama K, Chikusa S, et al. Derivation of iPSCs after culture of human dental pulp cells under defined conditions. PLoS One 2014;9(12):e115392
54. Gandia C, Arminan A, Garcia-Verdugo JM, et al. Human dental pulp stem cells improve left ventricular function, induce angiogenesis, and reduce infarct size in rats with acute myocardial infarction. Stem Cells 2008;26(3):638-645
55. Mannello F, Tonti GA. Concise Review: No Breakthroughs for Human Mesenchymal and Embryonic Stem Cell Culture: Conditioned Medium, Feeder Layer, or Feeder?Free; Medium with Fetal Calf Serum, Human Serum, or Enriched Plasma; Serum?Free, Serum Replacement Nonconditioned Medium, or Ad Hoc Formula? All That Glitters Is Not Gold! Stem cells 2007;25(7):1603-1609
56. Tamaoki N, Takahashi K, Tanaka T, et al. Dental pulp cells for induced pluripotent stem cell banking. Journal of dental research 2010;89(8):773-778
57. Szabo E, Rampalli S, Risueno RM, et al. Direct conversion of human fibroblasts to multilineage blood progenitors. Nature 2010;468(7323):521-526
58. Sekiya S, Suzuki A. Direct conversion of mouse fibroblasts to hepatocyte-like cells by defined factors. Nature 2011;475(7356):390-393
59. Nosrat IV, Widenfalk J, Olson L, Nosrat CA. Dental pulp cells produce neurotrophic factors, interact with trigeminal neurons in vitro, and rescue motoneurons after spinal cord injury. Dev Biol 2001;238(1):120-132
60. Graziano A, d'Aquino R, Laino G, Papaccio G. Dental pulp stem cells: a promising tool for bone regeneration. Stem Cell Rev 2008;4(1):21-26
61. Ballester-Beltran J, Cantini M, Lebourg M, et al. Effect of topological cues on material-driven fibronectin fibrillogenesis and cell differentiation. Journal of Materials Science: Materials in Medicine 2012;23(1):195-204
62. Yoo J, Noh M, Kim H, et al. Nanogrooved

참 고 문 헌

substrate promotes direct lineage reprogramming of fibroblasts to functional induced dopaminergic neurons. Biomaterials 2015;45:36-45

63. Panyam J, Labhasetwar V. Biodegradable nanoparticles for drug and gene delivery to cells and tissue. Adv Drug Deliv Rev 2003;55(3):329-347

64. Gilbert PM, Havenstrite KL, Magnusson KE, et al. Substrate elasticity regulates skeletal muscle stem cell self-renewal in culture. Science 2010;329(5995):1078-1081