

## 도약연구사업(舊 국가지정연구실) 최종보고서

① 부처사업명(대)	기초연구사업		보안등급(보안, 일반)	일반
② 사업명(중)	중견 연구자 지원사업		공개가능여부(공개, 비공개)	공개
③ 세부사업명(소)	도약연구사업			
④ 과제성격(기초, 응용, 개발)	기초	④-1 실용화 대상여부(실용화, 비실용화)		실용화
⑤ 과제명	국문	허혈성 심혈관질환에서 줄기세포를 이용한 혈관-근육 재생치료 기술 개발		
	영문	Stem cell therapy for angiomyogenesis in ischemic cardiovascular disease		
⑥ 주관연구기관	서울대학교 의과대학			
⑦ 협동연구기관				
⑧ 주관연구책임자	성명	김효수	직급(직위)	교수
	소속부서	서울대학교 의과대학	전공	내과학 (순환기)

## □ 연구의 개요 및 필요성

허혈성 심혈관질환은 심근으로의 혈류가 감소하여 심하면 심근의 괴사로 이어져 심장기능이 떨어지거나 사망에 까지 이르는 중증 만성질환으로서, 전 세계 사망원인 1위, 한국에서의 사망원인 2위를 차지한다. 허혈성 심혈관질환을 근원적으로 치료하기 위해서는 심장으로 가는 혈류의 개선뿐만 아니라 실제 심장의 펌프 운동을 담당하고 있는 심장근육의 재생이 필수적이다. 그러나 현재까지의 표준 치료로써는 근본적인 개선을 도모하지 못하고, 생존의 연장 효과도 한계가 있다. 이 같은 근본적인 문제를 해결할 수 있는 현실적 대안으로 부각되고 있는 것이 세포치료법이다. 최근 2년 동안 허혈성 심혈관질환자의 세포치료 임상연구가 세계적으로 진행되고 있으나, 그 효과에 한계가 있으며, 한계를 극복할 해결책도 모호한 상태이다. 즉 치료 효과를 발휘하는 줄기세포의 정체도 정확히 모르고 있으며, 줄기세포 기능을 조절하는 기술도 개발되지 않았다. 이에, 효과를 발휘하는 줄기세포를 순수분리해서 그 종류를 파악하고 이들의 분화기전을 규명하는 기초기술이 필요하며, 이 세포들의 재생 능력 표적장기로의 회귀 능력을 향상시킬 응용기술도 절실한 상황이다. 즉, ‘줄기세포를 동정’하고 ‘이의 기능을 개선’시키는 기술이 접목된다면, 세포치료 효과를 현저히 개선시킬 것이며, 임상 연구의 수준을 한 단계 높일 수 있을 것이다. 허혈성 심혈관질환의 세포치료 효과를 현저히 개선시킬 수 있는 기술개발이 성공한다면 향후 의료 경제적으로 큰 부담이 될 허혈성 심혈관질환의 치료비용을 해소할 수 있고, 기술의 제품화를 통해 엄청난 경제적 수입과 함께, 국가경제의 차세대 성장 동력으로 발전시킬 수 있을 것이다. 또한 허혈성 심혈관질환의 세포치료 효과를 현저히 개선시킬 수 있는 기술개발이 성공한다면 환자 개인적으로는 심장기능 개선, 활동량 증가, 및 삶의 질 개선으로 이어질 것이고, 사회적으로는 경제활동 인구의 부담 감소, 인류의 수명 연장 및 복지 증진에 기여할 것이다.

### 나. 현재 기술의 문제점

현재의 줄기세포요법은 [1]혈관-근육 재생을 동시에 이룰 수 있는 순도 높은 심혈관 줄기세포를 분리/배양하기 어렵고, [2]심혈관 줄기세포가 체내에 극히 소량 존재하여 많은 양을 얻을 수 없으며, [3]체내로 투여 시 장시간 효과를 나타내지 못하고, [4]주입한 줄기세포 중 극소량만 필요한 조직으로 침투한다는 근본적인 문제점을 가지고 있다.

### 다. 연구방법 및 목표

이 같은 현재 기술의 문제점들을 극복하기 위해서는 [1] 혈관-근육재생을 동시에 이룰 수 있는 원천적인 줄기세포를 발굴하여 이를 분리/배양할 수 있어야 하며, [2] 심혈관 줄기세포의 계통결정, 즉 분화에 중요한 master regulatory gene을 찾아서 이를 조절할 수 있어야 하며, [3] 심혈관 줄기세포의 종류의 특성을 명확하게 규명하고, 성질을 비교하여 가장 효능이 우수한 분획을 얻을 수 있어야 하고, [4] 줄기세포의 체내 생존 기전을 규명하고, 기능적 변형을 통해 생존을 향상시킬 수 있는 기술이 있어야 한다. 그리고 [5] 줄기세포의 회귀 기전을 규명하고, 기능적 변형을 통해 회귀를 극대화할 수 있어야 한다. 본 연구에서는 이 같은 문제점들을 해결하기위하여 [1] 심혈관 줄기세포(angiomyogenic stem cell)의 분리/배양 및 분화 유도 기술을 확립하고, [2] 심혈관 줄기세포의 포괄적 기능향상 기술을 개발하여, 최종적으로 최적의 심혈관 줄기세포와 기능향상기술을 결합하여 “허혈성 심질환의 줄기세포 치료법의 기반 기술”을 확립하고자 한다.

즉, 제 1 단계에서는 [1] 심혈관 줄기세포의 분리 배양 및 분화 유도 기술(기초기술)과 [2] 심혈관 줄기세포의 “포괄적 기능 향상 기술”(응용기술)을 확립하고자 한다.

**[1] 기초기술의 개발과제에서는**

1. 심혈관 줄기세포의 분리/배양 기술 확립 및 생물학적 특성을 규명하고,
2. 심혈관 줄기세포의 상호작용과 혈관 재생의 조절네트워크를 규명하며,
3. 심혈관 줄기세포의 기능 및 계통 결정(lineage determination)의 유전자 조절 기전을 규명하고자 한다.

**[2] 응용기술의 개발과제에서는**

1. 유전자 조절을 통한 기능 향상법을 개발 (세포-유전자 병행 요법 개발)하고,
2. 생물학적 제제(예; cytokine)를 통한 기능 향상법을 개발 (줄기세포 primer 개발)하며,
3. 약물을 통한 기능 향상법을 개발(세포-약물 요법 개발)하고자 한다.

제 2 단계에서는 위 연구성과를 통합하여 **종합기술**을 확립하고자 한다. 즉, [1] 심혈관 줄기세포의 “선별적 분화 유도”를 통한 순도 극대화 및 분화 최적화 기술과 [2] 심혈관 줄기세포별 “선택적 기능 조절”을 통한 효능 강화 기술을 개발하고 이를 바탕으로 최종적으로 전임상 연구를 통해 “최적화된 줄기 세포 조합과 줄기세포 기능 조절 기술의 병합요법”을 확립하고자 한다.

**라. 연구개발의 경제 · 사회 · 기술적 중요성**

**(1) 기술적 측면**

양식 3
<p>허혈성 심혈관질환자의 세포치료 임상연구가 세계적으로 진행되고 있으나, 그 효과에 한계가 있으며, 해결책도 모호한 상태이다. 즉 치료 효과를 발휘하는 줄기세포의 정체도 모르고, 줄기세포 기능을 조절하는 기술도 개발되지 않았다. 이에, 효과를 발휘하는 줄기세포를 순수분리해서 그 종류를 파악하고 이들의 분화기전을 규명하는 기초기술이 필요하며, 이 세포들의 재생 능력과 표적장기로의 회귀 능력을 향상시킬 응용기술도 절실한 상황이다. 즉, ‘줄기세포를 동정’하고 ‘이의 기능을 개선’시키는 기술이 접목된다면, 세포치료 효과를 현저히 개선시킬 것이며, 임상 연구의 수준을 한 단계 높일 중요한 단서가 될 것이다</p>

**(가) 경험에 바탕을 둔 창조적이고 실질적인 기술이다.**

본 제안기술은 지난 4년간 줄기세포의 세포생물학적 연구 외에도, 3년간 200명의 심근경색증 환자를 대상으로 임상연구를 수행하여 얻은 경험(Kang, Lancet 2004, Circulation 2006.을 비롯하여 10편의 국외논문)을 기초로 한 실질적인 기술이다. 우리 연구 결과, 환자의 혈액에서 줄기세포를 분리해서 이를 경색심근의 관상동맥으로 주입할 경우, 혈관과 심근이 재생되어 심장기능이 호전되나 동시에 한계점도 있었다. 우리의 경험을 바탕으로, 줄기세포 치료술이 성공하기 위해서는 다음과 같은 기술적인 발전이 있어야 한다.

- [1] 혈관-근육재생이 모두 가능한 원천적 줄기세포를 분리/배양해야 한다.
- [2] 보고자마다 조금씩 다른 심혈관 줄기세포의 종류와 특성을 명확하게 규명해야 한다.
- [3] 혈관-근육재생에 가장 효과적인 분획으로 순도 높게 분리/배양하고 분화시켜야 한다.
- [4] 줄기세포가 체내에서 최대한 오래 생존할 수 있도록 기능적으로 변형을 시켜야 한다.
- [5] 최대한 많은 양의 줄기세포를 의도한 조직으로 귀환시켜야 한다.

**(나) 심혈관질환 줄기세포치료술의 핵심적이고 원천적인 기술이다.**

줄기세포 치료술에 사용 가능한 세포 중, 배아줄기세포는 조직 특이적으로 분화시키기가 어렵고, 면역거부와 기

형종 형성의 문제가 있어서, 현실에서 사용하기는 아직 이르다. 성체줄기세포가 대안이 되고 있지만 조직특이 성체줄기세포는 분리 배양 기술이 취약하며, 줄기세포를 얻어도 그 수가 워낙 적기 때문에 치료효과를 나타내기에는 부족하며 세포의 기능적 변형이 필요하다. 따라서 우리의 제안기술은 과거의 한계점을 극복하여 효과적인 세포 치료법을 확보하는데, 핵심적이고 원천적이 기술이다.

**(다) 타 질환 치료기술 개발에 응용 가능한 기반기술이다.**

타 질환의 치료에도 응용이 가능하다. 우리의 제안기술은 신경 질환, 골 관절 질환, 류마티스 질환, 내분비질환 등 다양한 타 질환의 세포치료법 개발에 기반이 되는 기술이다. 또, 혈관신생/재생을 조절할 수 있다면, 혈관신생을 억제하는 기술이 필요한 암 치료 분야에서도 응용 가능할 것이다. 그 외에 인공 생체조직 개발에도 이러한 줄기세포 기술이 널리 이용될 것이다.

**(라) 개발과정에 임상과 기초과학 지식이 접목되는 복합기술이다.**

우리가 개발하고자 하는 기술은, 개발 과정에 기초과학적 지식뿐만 아니라 임상 과학적 지식이 접목되어야 하는 복합적 기술이다. 과학자와 더불어 실제 환자를 진료하는 임상 의사도 적극적으로 연구에 참여하여 상호 유기적인 의견 교환과 문제 해결 모색이 필요하다. 실제로 우리의 연구에서 줄기세포를 심장의 관상동맥에 주입한 후 일부에서 신생내막이 증식하는 사실을 포착하여, 약물방출 스텐트를 통해 그 부작용을 극복한 선례가 있다. 그런 의미에서 본 연구진은 줄기세포 치료법의 기술 개발을 현실화시킬 수 있는 책임자라고 생각된다.

**(2) 경제 · 산업적 측면**

<b>양식 4</b>
<p>허혈성 심/뇌/혈관질환은 국내 사망원인의 2위를 차지하고, 그 기저질환인 고혈압, 당뇨병, 고지혈증 등은 유병율 1위의 질환이다. 즉, 의료계에서 가장 경제적 부담이 큰 영역이다. 따라서 허혈성 심혈관질환의 세포치료 효과를 현저히 개선시킬 수 있는 기술이 개발된다면 향후 의료 경제적으로 큰 부담이 되는 허혈성 심혈관질환의 치료비용을 대폭 경감시킬 수 있다. 그리고 기술의 제품화를 통해 엄청난 경제적 수입을 올릴 수 있으며, 이를 국가경제의 차세대 성장 동력으로 발전시킬 수 있을 것이다.</p>

**(가) 증가하는 허혈성 심질환의 치료 및 치료비용 해소**

허혈성 심질환은 전 세계적으로 사망 원인의 1위를 점유하고 있다. 미국 내 심장 질환자 수는 6천만 명 이상이고 한해 2,000억 달러 (약 200조원) (2001년 통계자료) 이상이 심장질환 치료비로 쓰이고 있어, 다가오는 고령화 사회에서 가장 심각한 의료경제학적 문제 질환으로 인식되고 있다. 우리나라도 심혈관질환이 증가하여 사망원인의 2위를 차지하고 있다. 따라서 심혈관질환의 획기적 치료기술 개발로 이어질 본 제안기술은 심혈관질환 치료에 드는 천문학적 비용을 해소할 수 있을 것이다.

**(나) 제품화 산업화로 차세대 성장 동력으로 발전 가능성**

줄기세포의 분리 Kit, Priming Kit 등으로 상품화 가능성이 있는 기술 개발은 경제적 수입과 함께, 국가경제의 차세대 성장 동력으로 발전할 것이다. 심혈관질환 치료시장은 향후 줄기세포 핵심 기술을 선점한 국가의 블루 오션이 될 것이다.

**(3) 사회 · 문화적 측면**

허혈성 심혈관질환의 세포치료 효과를 현저히 개선시킬 수 있는 기술개발이 성공한다면 환자 개인적으로는 심장기능 개선, 활동량 증가, 및 삶의 질 개선으로 이어질 것이고, 사회적으로는 경제활동 인구의 부담 감소, 인류의 수명 연장 및 복지 증진에 기여할 것이다.

#### (가) 사회경제적 부담해소 및 인류 수명 연장과 복지 증진에 기여

고령화 사회에 의한 사회구성원 평균연령 증가, 우리나라에서 식습관의 서구화 및 현대인의 스트레스 등으로 인해 고혈압, 동맥경화, 심부전과 같은 심혈관질환들이 기하급수적으로 증가하고 있다. 이들의 치료에 드는 막대한 비용은 미래사회의 경제활동 인구에 큰 사회적 부담이 될 것이다. 또한 심혈관질환에 이환되어 있는 개개인에게는 심장 기능의 감소로 인한 운동 능력 저하로 활동이 위축되어, 삶의 질 저하로 이어진다. 본 기술 개발이 성공한다면 많은 심혈관질환자들이 치료적 혜택을 보게 될 것이다. 이들의 이환율을 낮추고 심장기능을 개선시켜 개인적으로는 활동의 증가 및 삶의 질 개선으로 이어질 것이고 사회적으로는 경제적인 부담 감소, 인류의 수명 연장, 및 복지 증진에 기여할 것이다.

## □ 연구성과의 활용 방안

양식 12

본 연구를 통해 개발되는 기술은 효과적인 심혈관질환 줄기세포 치료술 개발에 활용될 것이다. 특히 다기관 임상연구로 발전할 경우, 본 실험실이 core stem cell facility의 역할을 할 수 있다. 줄기세포를 쉽게 다룰 수 있는 각종 'kit'의 개발을 통해 줄기세포 치료제 상품화에도 활용이 가능하다. 조직공학 기술과 접목된다면 인조 심혈관조직의 개발에도 활용 가능하고, 혈관신생 기전에 대한 규명은 암 연구에 기초지식으로 활용될 가능성이 높다.

### 가. 심혈관질환 줄기세포 치료술 개발에 활용

본 연구를 통해 개발되는 기술은 효과적인 심혈관질환 줄기세포 치료술 개발에 활용될 것이다. 그 효능 검증을 위해 다기관 임상연구를 진행할 경우, 서울대학교병원 순환기내과와 연계하여 본 실험실은 줄기세포를 manipulation하여 다시 병원에 최적의 세포를 제공하는 core stem cell facility의 역할을 할 수 있다.

### 나. 줄기세포 치료제 상품화에 활용

환자의 혈액에서 손쉽게 줄기세포를 얻을 수 있는 '줄기세포 추출 kit' 또는 줄기세포를 뽑아 필요할 때 세포의 기능을 극대화할 수 있는 '심혈관 줄기세포 priming kit' 개발에 활용 가능하다.

### 다. 인조 심혈관 조직 개발에 활용

조직공학과 접목되어 인조 심혈관 조직 개발에 활용할 수 있다.

### 라. 암의 혈관신생 연구에 기초 지식으로 활용

암 연구에 기초 자료로 활용될 수 있다. 특히 암의 전이를 막는 신생혈관 억제제 개발에도 활용될 수 있다.

### 마. 줄기세포 니쉬 (niche) 추구 연구의 필요성

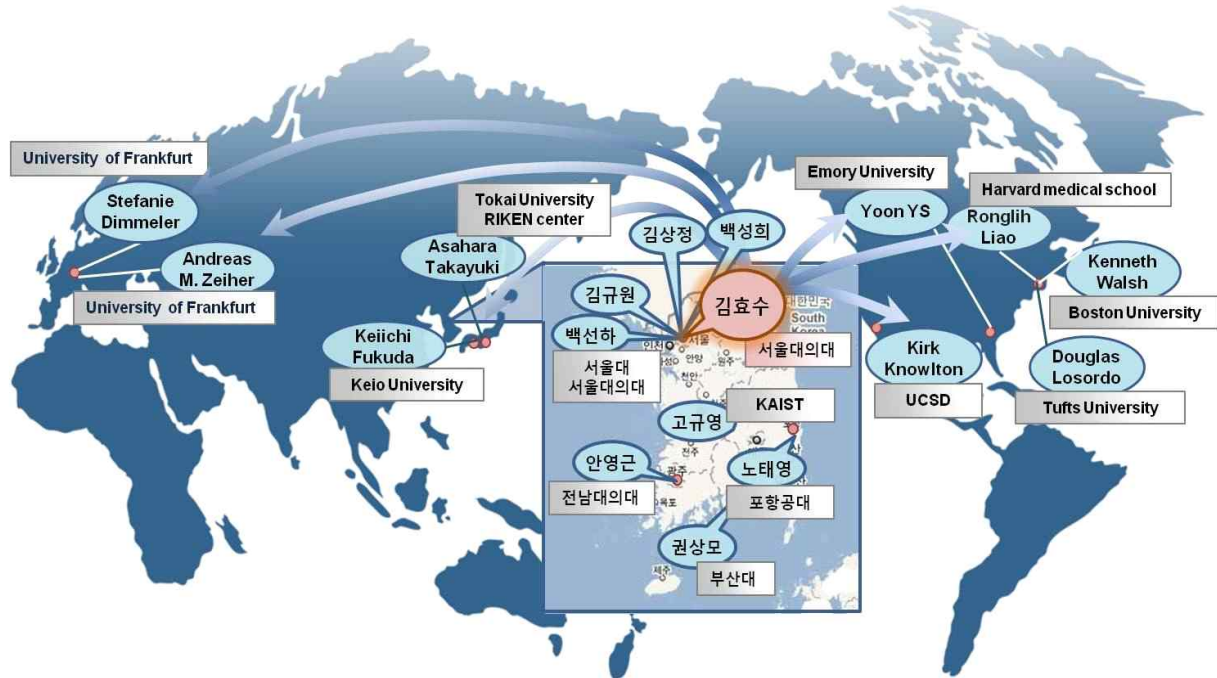
이러한 줄기세포 연구결과들을, 보다 실용적으로 기술개발을 이끌어 내기 위해서는, 줄기세포에 대한 연구뿐만 아니라, 2000년대부터 서서히 증가하고 있는, 줄기세포 니쉬의 연구를 병행하여, 궁극적인 줄기세포 치료술 개발 및 치료제 상품화를 앞당겨야 한다.

### 바. 국내외 연구기관과의 네트워크를 통한 성체줄기세포 허브로의 도약

국내 연구진 (8팀)과 국외 연구진 (9팀)과의 활발한 정보, 기술 및 인적 교류를 통해 성체줄기세포 연구 및 실용화의 메카로 자리매김 할 수 있다.

## 국내외 연구기관과의 네트워크

[성체줄기세포의 허브로 도약 - 국내:8팀, 국제:9팀]



### □ 관련 해외과학기술정보

**심혈관 줄기세포관련 해외과학 기술정보 :** Peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs)는 핵호르몬 수용체의 일종으로  $\alpha$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$  의 3가지 아형으로 구성된다. 이 중PPAR- $\delta$ 는 주로 지방질 항상성유지, 탄수화물 대사, 에너지 소모 등에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다 (Barish, *JCI*, 2006). 그러나 PPAR- $\delta$ 에 대한 본격적인 연구는 이제 걸음마 단계에 접어든 형편이고, 특히 심혈관 생물학분야에서의 연구는 최근에서야 주목을 끌기 시작했다. 본 연구진이 활발히 연구를 수행 중이던 시기에 해외에서 몇 가지 연구성과가 발표되었는데, 2006년 Liou 등과 2007년 Brunelli 등이 인간 혈관내피세포에서 PPAR- $\delta$ 의 활성화가 14-3-3 단백질의 발현을 촉진함으로써 생존능을 향상시킴을 보고하였다. 또한 2007년 Piqueras 등은 PPAR- $\delta$ 가 인간 혈관내피세포의 증식을 유도하고 이에 의한 혈관신생 (Angiogenesis)을 유발함을 보고하였다. 그러나 대표적 성체줄기세포의 하나인 혈관내피전구세포에서 PPAR- $\delta$ 의 역할은 규명된 바 없었다. 연구진이 조기혈관내피전구세포 (early endothelial progenitor cell (early EPC))에서 PPAR- $\delta$ 에 의한 혈관신생 (Vasculogenesis) 효과를 최초로 발표할 무렵 He 등은 후기혈관내피전구세포 (late EPC)에서 PPAR- $\delta$ 가 prostacyclin의 발현을 조절함으로써 혈관생성을 유도함을 밝힘으로써, PPAR- $\delta$ 에 의한 혈관의 신생이 혈관내피전구세포의 아형에 상관없이 보편적으로 관찰되는 현상임을 증명하였다.