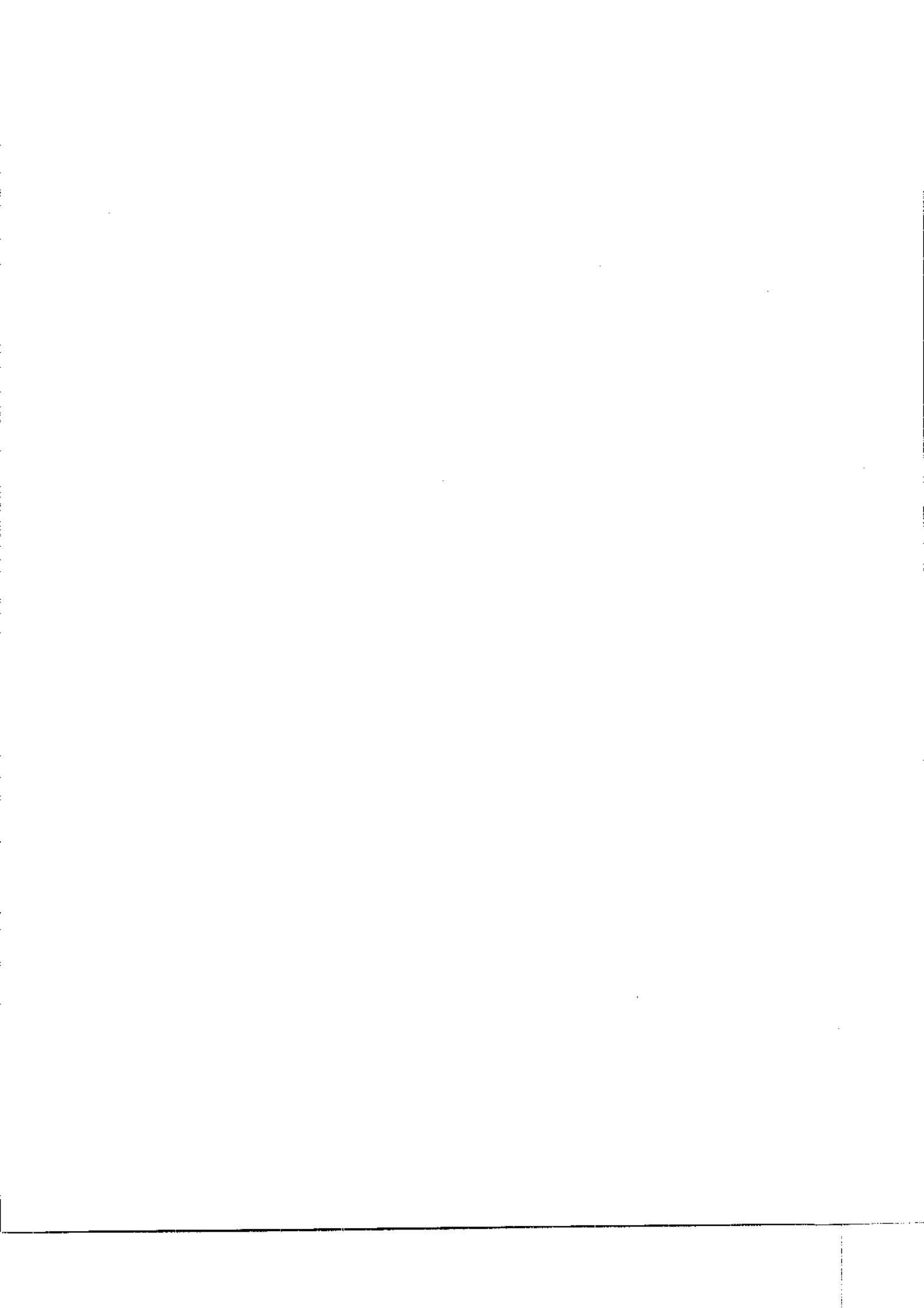




Tissue Engineering and Gene Therapy in Spinal Cord Injury

가톨릭의대 이지열







Tissue Engineering and Gene Therapy in Spinal Cord Injury

가톨릭의대 이지열

I. Introduction

미국과 캐나다의 경우 매년 만 명 이상의 척수 손상 환자가 새로이 발생하고 있으며 이를 위하여 수백만 달러의 의료비용이 소요되고 있다고 한다¹.

우리 나라에서도 의료 기술의 발달로 인하여 뇌졸중, 척수 손상 및 각종 사고에 의하여 이들 환자들의 생존율은 늘어났으나 후유증으로 인한 신경인성 방광 환자는 증가 추세에 있다. 또한 평균 연령의 증가로 인하여 방광기능저하, 전립선비대증등의 하부 요로 폐쇄과 같은 노인성 질환과 당뇨병 등의 만성질환에 의한 신경인성 방광 환자 또한 증가하고 있다.

신경인성 방광 환자의 배뇨장애(voiding dysfunction)는 난치성 영역으로 이들의 의료비 또한 전체 의료비의 상당 부분을 차지하고 있으며, 이에 대한 치료로는 자가도뇨법(CIC)과 항콜린성 약제의 투여 이외에 실질적인 치료 방법이 없는 실정이다.

이에 이러한 난치성 영역으로 생각되었던 신경인성 방광의 치료에 최근 들어 각광을 받고 있는 조직 공학(Tissue engineering), 유전자 치료(Gene therapy) 및 세포 이식(Cell transplantation)의 기법을 이용한 새로운 치료의 시도들에 대하여 알아보하고자 한다.

II. Repair of Injured Spinal Cord

1. Summary Statement : management of injured spinal cord

척수 손상의 병태생리학적 기전은 1) 척수 손상 초기의 물리적인 손상 (initial mechanical

injury)과 2) 그로 인한 이차적인 손상 (secondary injury events)인 허혈(ischemia), derangements of sodium and calcium homeostasis, free radical-mediated oxidative injury, glutamatergic excitotoxicity 와 programmed cell death(apoptosis)에 의하여 이루어진다. 최근까지 가장 효과적인 신경보존적인 치료 방법 (neuroprotective treatments)은 methylprednisolone 과 GM-1 ganglioside이다. 최근 개발 중인 potassium channel blocker 인 4-aminopyridine는 척수 손상 후 demyelination을 예방하여 axonal conduction block을 예방할 수 있는 약품으로 최근 임상 연구 중이다. 그러나 대다수의 약제들이 많은 문제점을 안고 있어, 이차적인 척수 손상 기전을 예방하고 신경의 재생을 극대화할 수 있는 치료 방법이 절실한 실정이다.

최근에는 조직 공학과 유전자 치료의 개념을 도입하여 척수 손상 후 척수 신경의 회복에 대한 적극적인 치료를 시도하려 하고 있다.

지금까지 이러한 목적으로 연구 발표된 것들을 정리해 보면 1) the use of neurotropic factors to limit cell atrophy/death and promote a regenerative response, 2) the use of cellular bridge such as stem cells, olfactory-ensheathing glia, fetal tissue, or genetically modified fibroblasts, 3) stimulation or modification of intracellular growth cone signaling pathways and 4) techniques to overcome the inhibitory effects of myelin on axonal regeneration.의 네 가지로 크게 나눌 수 있다 (그림 1).

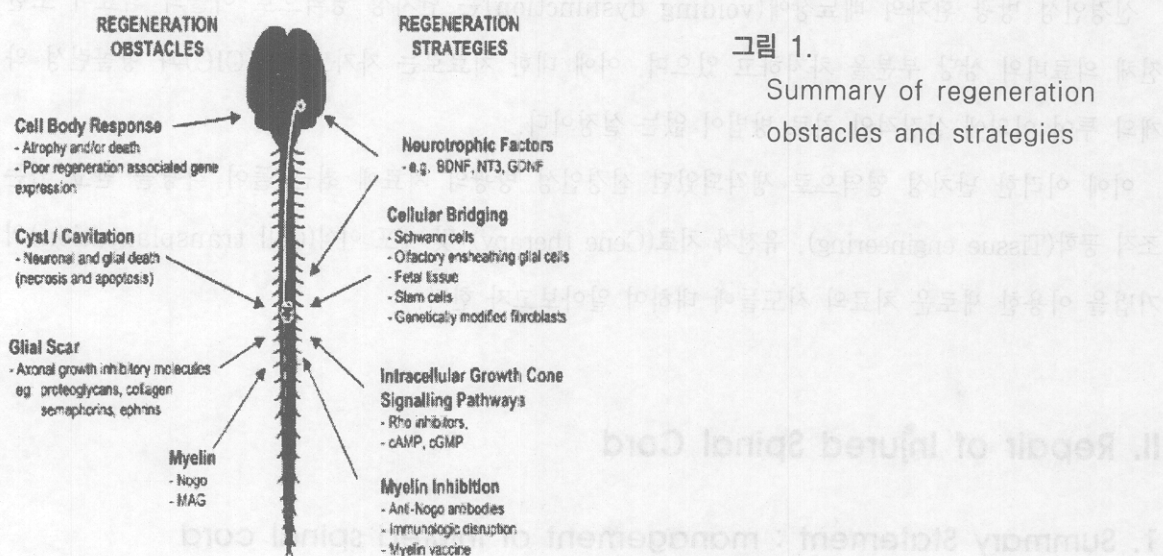


그림 1.
Summary of regeneration obstacles and strategies

2. Spinal Cord Regeneration : from Gene to transplants

손상된 척수 신경의 재생을 위하여 여러 가지 벡터를 이용하거나 줄기세포를 비롯한 여러 유형의 세포들에 유전자(gene)나 성장 인자(growth factor)등을 형질전환(transfection) 시켜 손상된 척수 부위에 이식시키는 방법들을 이용하고 있다³⁻¹¹.

척수 손상 후에는 glial scarring and subsequent development of cavities, prevention of neuronal regeneration 과 promotion of axonal regeneration 등의 변화(post-injury events)가 발생하는데 Logan 등은 gene-activated matrices(GAM)의 개념으로 신경세포의 생존 과 axonal regeneration을 증진시키기 위하여 DNA encoding NTF (neurotropic Factor)를 손상 직후(acute phase injury)의 척수 손상 부위의 dorsal columns에 주입하였다. 이러한 GAM 방법을 통한 NTF(fibroblast growth factor-2, neurotrophin-3, brain-derived neurotropic factor)의 유전자 치료는 손상 초기의 환자에 적합할 것으로 생각했으며, 척수 손상 후 시간이 지난 경우에는 줄기세포를 이용한 방법들이 더 적합할 것으로 생각된다고 하였다.

gliotic barrier를 극복하고 손상 부위를 가로지르는 기능적인 재생의 효과를 얻기 위해서는 척수 내의 세포치료 (intraspinal cellular transplantation)가 필요하다. 이들이 손상 부위를 가로지르는 다리 (cellular bridging) 역할을 할 것으로 기대된다. 여기에는 neural stem cell (그림 2), fetal cells, Schwann cells 과 olfactory ensheathing cells 등이 사용되고 있으며, 최근 근육줄기세포, 지방줄기세포등 여러 가지 성체 줄기세포가 밝혀지고 있어 많은 종류의 줄기세포들을 사용할 수 있을 것으로 생각된다. 이들 세포 치료는 급성기 척수 손상 환자뿐 아니라 만성적인 척수 손상 환자의 치료에서도 많은 역할을 할 것으로 생각된다.

- ◆ 척수신경의 재생에 관련된 Neurotrophic factor (NTF)
 - 1) Nerve growth factor (NGF)
 - 2) brain-derived neurotrophic factor (BDNF)
 - 3) neurotrophin-3 (NT-3)
 - 4) neurotrophin 4/5 (NT-4/5)
 - 5) ciliary-derived neurotropic factor (CNTF)
 - 6) glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF)

• 척수신경의 재생에 관련된 각종 세포 및 벡터

1) intraspinal cellular transplants

: neural stem cells, fetal cells, Schwann cells, olfactory ensheathing cells
engineered fibroblasts, Muscle derived stem cell or myogenic cells

2) Viral vector : Herpes simplex virus, adenovirus, poliovirus

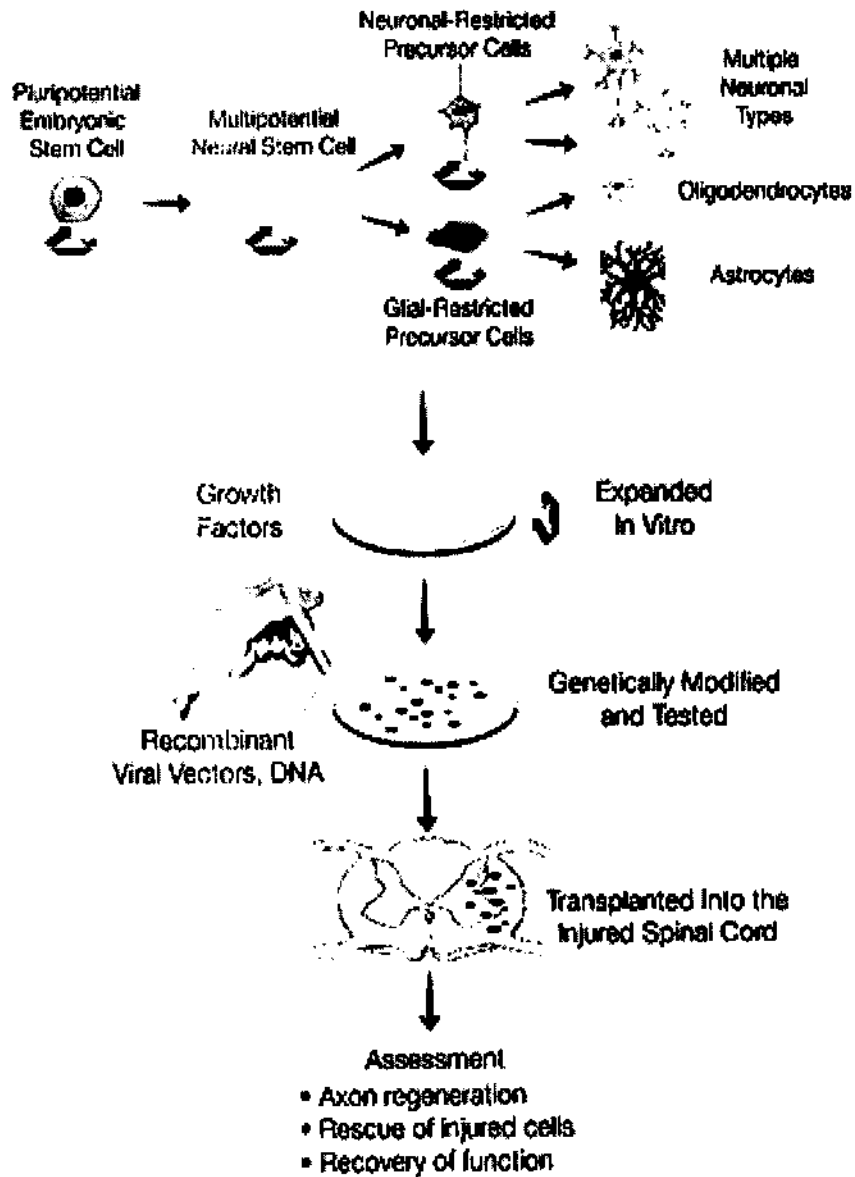


그림 2. 신경줄기세포 (neural stem cell)

III. Tissue engineering and gene therapy in Neurogenic bladder

최근에는 각종 줄기세포를 이용하여 하부 요로에서 분화하고 생존할 수 있는지를 알아보고, 또한 줄기세포를 이용한 유전자치료 및 조직공학적 기법을 이용하여 방광의 기능을 향상시킬 수 있는지 연구하고 있다.

1. Summary statement: Management of Neurogenic bladder after spinal cord injury

지금까지의 척수손상 환자의 급성기(post-acute phase) 이후 신경인성 방광의 주된 치료로는 비침습적인 치료인 1) 자가도뇨법(catherterization), 2) 콘돔 배뇨법(condom drainage), 3) 발살바 법(suprapubic tapping and suprapubic pressure)등과 침습적인 치료법인 4) 신경자극치료법(sacral stimulator), 5) entero-cystoplasty.등이 시행되어 왔다².

이러한 치료는 주된 목적이 신장 기능을 보존하고, 감염등의 합병증 없이 낮은 압력으로 적절한 저장 기능을 가지는 방광(continent bladder with adequate low pressure storage capacity)을 유지하는 것이다. 이와 같은 방법들에 의해 과거 renal related mortality가 95% 이었던 것이 현재는 3%로 낮추어졌다.

2. Tissue engineering of Neobladder

신경인성 방광으로 인하여 방광 기능을 소실하였을 때 여러 가지 장기(위, 소장, 대장등)를 이용하여 새로운 방광 (entero-cystoplasty)을 만들어 왔다. 최근에는 조직공학적인 방법을 이용하여 자신의 방광 세포의 일부분인 요로상피세포와 평활근세포를 실험실(in vitro)에서 배양하여 방광 모양의 지지체(scaffold)에 부착시켜 새로운 방광을 만들고 있다.

3. nerve growth factor(NGF) gene therapy

Chancellor등은 당뇨병성 신경인성 방광에 herpes simplex virus를 이용한 NGF 치료를 시행

하였다(그림 3, 4). 당뇨병성 신경인성 방광에서는 방광 조직 내의 NGF가 감소하고 retrograde axonal transport of NGF도 감소하여 이것 역시 neuropathy의 한 원인이 된다. Apfel등은 외부에서 주입해 준 NGF가 neuropathy를 예방하는 효과가 있고, dorsal root ganglia(DRG)의 substance P의 감소도 예방할 수 있다고 하였다. 신경인성 방광에서 신경 손상 후 NGF는 신경의 재생과 조직 손상을 예방 할 수 있을 것으로 생각된다.

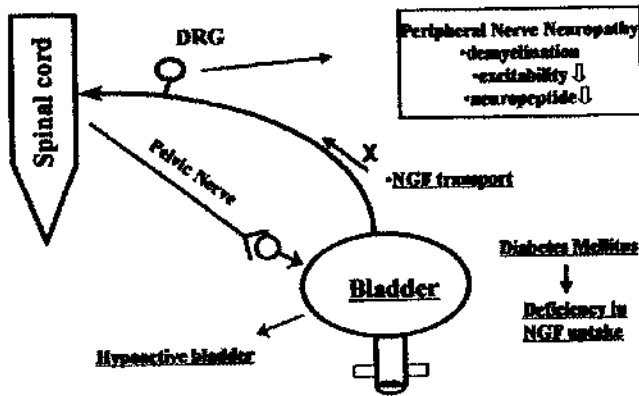


그림 3. 당뇨병성 신경인성 방광의 병인

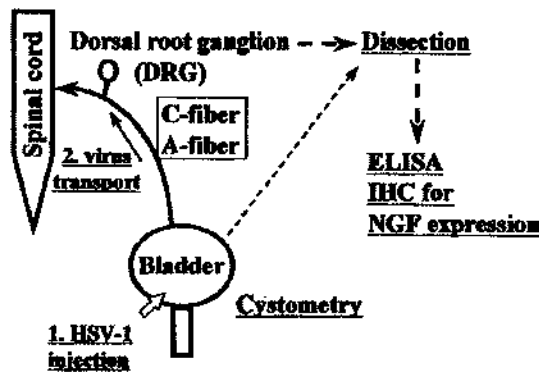


그림 4. DRG와 방광에서 NGF 측정

4. Myogenic cell therapy

1) 근육줄기세포를 이용한 신경인성 방광의 기능 향상

방광의 수축력이 감소되어 있는 신경인성 방광에 근육줄기세포를 주사하면, 주사된 세포들은 방

광에서 새로운 신경의 재지배(reinnervation)를 받게 되고, 주입된 근육줄기세포의 일부는 평활근 육섬유로 분화하여 방광 기능을 향상시킬 수 있을 것으로 기대된다(그림 5).

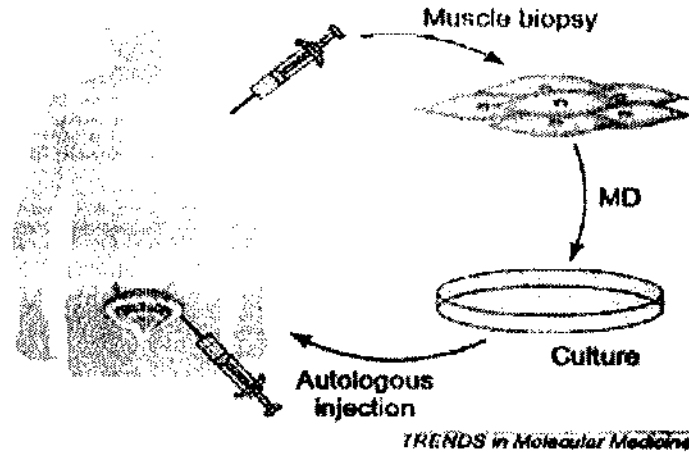


그림 5. Autologous ex vivo muscle derived stem cell(MDSC)-based tissue engineering

IV. Conclusions

1. 척수 손상의 급성기에는 neurotropic factor를 이용하면 물리적 손상 이후의 이차적인 손상을 감소시켜 axonal function을 유지하고 신경세포 괴사를 예방할 수 있다. 줄기세포를 이용한 세포 치료는 cellular bridge 역할을 하여 axonal growth와 neuronal relay를 증진시킬 것으로 생각된다. 이러한 세포 치료는 추후에 만성적인 척수 손상 환자의 치료에도 이용될 수 있을 것으로 생각된다.
2. 방광의 수축력이 감소된 신경인성 방광에서는 유전자 치료 및 줄기세포를 이용한 세포 치료가 방광 기능을 향상시킬 수 있을 것으로 생각되며, 방광의 기능을 상실한 경우에는 조직공학적 기법으로 새로운 방광의 대체가 가능할 것이다.

결론적으로 아직까지 임상에 적용하기에는 많은 문제점이 있지만, 최근 각광을 받고 있는 조직 공학과 줄기 세포를 이용한 유전자 치료 및 세포 치료가 향후 척수 손상의 신경인성 방광의 치료에 이용되어 더욱 적극적인 치료가 이루어 질 것으로 생각된다.

◆ References

1. Fehlings MG, Tetzlaff W. Summary statement: repair of the injured spinal cord. *Spine*. 2001 Dec 15;26(24 Suppl):S23.
2. Jamil F. Towards a catheter free status in neurogenic bladder dysfunction: a review of bladder management options in spinal cord injury (SCI). *Spinal Cord* 2001 Jul;39 (7) : 355-61.
3. Clark S. Is gene-based therapy the way forward for spinal cord injury? *Lancet* 2002 Mar 16;359(9310):950
4. Poulsen DJ, Harrop JS, Doring MJ. Gene therapy for spinal cord injury and disease. *J Spinal Cord Med*. 2002 Spring;25(1):2-9.
5. Kwon BK, Tetzlaff W. Spinal cord regeneration: from gene to transplants. *Spine*. 2001 Dec 15;26(24 Suppl):S13-22
6. Romero MI, Rangappa N, Garry MG, Smith GM. Functional regeneration of chronically injured sensory afferents into adult spinal cord after neurotrophin gene therapy. *J Neurosci*. 2001 Nov 1;21(21):8408-16.
7. Murray M, Fischer I. Transplantation and gene therapy: combined approaches for repair of spinal cord injury. *Neuroscientist*. 2001 Feb;7(1):28-41.
8. Akamatsu W, Okano H. Neural stem cell, as a source of graft material for transplantation in neuronal disease. *No To Hattatsu*. 2001 Mar;33(2):114-20.
9. Liu Y, Murray M, Tessler A, Fischer I. Grafting of genetically modified fibroblasts into the injured spinal cord. *Prog Brain Res*. 2000;128:309-19.
10. Miura T, Tanaka S, Seichi A, Arai M, Goto T, Katagiri H, Asano T, Oda H, Nakamura K. Partial functional recovery of paraplegic rat by adenovirus-mediated

- gene delivery of constitutively active MEK1. *Exp Neurol*. 2000 Nov;166(1):115-26.
11. Han SS, Fischer I. Neural stem cells and gene therapy: prospects for repairing the injured spinal cord. *JAMA*. 2000 May 3;283(17):2300-1
 12. Oberpenning F, Meng J, Yoo JJ, Atala A. De novo reconstitution of a functional mammalian urinary bladder by tissue engineering. *Nat Biotechnol* 1999 Feb;17(2):149-55
 13. Falke G, Caffaratti J, Atala A. Tissue engineering of the bladder. *World J Urol* 2000 Feb;18(1):36-43
 14. Chancellor MB, Yoshimura N, Pruchnic R, Huard J. Gene therapy strategies for urological dysfunction. *Trends Mol Med* 2001 Jul;7(7):301-6
 15. Goins WF, Yoshimura N, Phelan MW, Yokoyama T, Fraser MO, Ozawa H, Bennett N JR, de Groat WC, Glorioso JC, Chancellor MB. Herpes simplex virus mediated nerve growth factor expression in bladder and afferent neurons: potential treatment for diabetic bladder dysfunction. *J Urol* 2001 May;165(5):1748-54

