

줄기세포 표면 MHC 분자의 발현 양상 및 유전자 도입에 의한 발현 변조

서울대학교 의과대학 장기이식연구소, 내과학교실¹, 미생물학교실²
산부인과학교실³, 수의과대학 수의학과⁴

김재영, 김동희, 양재석¹, 주권욱¹, 박정규², 김석현³, 강경선⁴, 김성권¹, 이정상¹, 안규리¹

목적: 줄기세포는 스스로 무한정 증식하고 적절한 환경에서 특정한 세포로 분화할 수 있는 특별한 종류의 세포이다. 따라서 줄기세포를 다양한 악성 질환의 세포대체 요법에 사용할 수 있을 것으로 기대하고 있다. 그러나 실제로 줄기세포를 이식할 경우 일반적인 체세포와 마찬가지로 이식된 세포는 환자에 의해 이물질로 인지되어 면역학적으로 거부될 가능성이 매우 높다. 이식 공여체와 수혜자간의 MHC 분자의 부적합성이 면역 거부반응을 유발하는 주된 요인이므로 분자 유전학적 방법을 통해 줄기세포의 MHC를 수혜자의 것과 동일하게 만들거나 그 발현을 낮추어 T 세포 매개성 거부반응을 회피할 수 있다. 따라서 저자들은 줄기세포의 MHC 발현을 조사하고, 인간 세포에 침투하여 인간 세포의 MHC class I 발현을 억제하는 것으로 알려진 인간 cytomegalovirus (hCMV) US 유전자를 줄기세포에 도입하여 세포치료를 위한 면역 거부반응 회피 방법으로서의 이용 가능성을 평가하고자 하였다.

방법: 실험에 사용된 성체 줄기세포는 불멸화된 유방 상피 (M13SV1), 신경 (HB1.F3) 줄기세포주이다. MHC의 mRNA 및 단백질 발현은 각각 RT-PCR 및 FACS 분석법을 이용하여 조사하였다. IFN- γ 를 처리하여 MHC 발현의 변화를 FACS 분석법을 이용해 조사하였다. hCMV US2, 3, 6 및 11 유전자를 전기천극법으로 줄기세포에 도입하고 세포 표면의 MHC 발현을 IFA 분석법으로 확인하였다.

결과: RT-PCR 분석 결과, HLA-A, B는 두 종류의 줄기세포 모두에서 발현하였으며 HLA-C는 유방상피 줄기세포에서만 발현하였다. HLA-DP, -DQ는 유방상피 줄기세포에서만 발현하였고 HLA-DR은 두 줄기세포 모두에서 발현하지 않았다. HLA-E는 두 줄기세포 모두에서 발현하였고, HLA-F는 유방상피 줄기세포에서만 발현하였으며 HLA-G는 두 줄기세포 모두에서 발현하지 않았다. FACS 분석 결과, HLA-ABC는 두 줄기세포 모두에서 발현하였으나 HLA-DP, -DQ, -DR, HLA-G는 발현하지 않았다. IFN- γ 처리에 의한 MHC 발현의 변화를 FACS 분석법으로 조사한 결과, HLA-ABC와 $\beta 2m$ 의 발현이 처리하지 않았을 때에 비해 유방상피 줄기세포의 경우 약 5배, 신경줄기세포의 경우 약 8배 가량 증가하였다. HLA-DP, -DQ의 경우 IFN- γ 처리에 영향을 받지 않았으나 HLA-DR의 발현은 두 줄기세포에서 각각 약 4배 및 8배 가량 증가하였다. HLA-G의 발현은 IFN- γ 처리에 영향을 받지 않았다. IFN- γ 농도에 따른 MHC class I 및 $\beta 2m$ 발현의 변화를 조사한 결과, 0.1 ng/ml의 IFN- γ 를 처리한 줄기세포에서, 처리하지 않은 줄기세포에서 보다 그 발현이 2배 가량 증가하였다. 처리 농도가 증가함에 따라 발현이 증가하여 10 ng/ml 농도에서 최고의 발현을 보였고, 그 이상의 농도에서는 더 이상의 발현증가를 나타내지 않았다. hCMV US 유전자 도입에 따른 MHC class I 분자 발현의 변화를 IFA로 조사한 결과, US3 및 6 유전자가 삽입된 세포에서는 HLA-ABC의 발현이 핵 주변에만 나타나고 세포막에는 발현되지 않았으며 US2 및 11이 삽입된 세포에서는 HLA-ABC의 발현이 세포질에 산재해 발현되어 세포막에 발현되지 않았다.

결론: 조사된 줄기세포들은 모두 MHC class I 분자를 발현하며 특히, IFN- γ 를 처리하였을 때 그 발현이 현저히 증가한다. 따라서 줄기세포를 이식할 경우 동종이식 면역 거부반응을 피할 수 없을 것으로 본다. 연구에 사용된 hCMV US2, 3, 6 및 11 유전자는 모두 줄기세포의 MHC class I 발현 억제에 효과적이며, 이를 이용하여 줄기세포 이식 시에 발생할 수 있는 T 세포 매개 면역거부반응을 피할 수 있을 것으로 기대한다.