

## TGF- $\alpha$ 로 분화 유도된 인간 배아줄기세포 이식에 따른 파킨슨 동물 모델 생쥐의 행동 개선

이근실 · 김용식<sup>1</sup> · 신현아 · 조황윤 · 김은영 · 이원돈<sup>2</sup> · 박세필 · 임진호<sup>2</sup>

마리아 기초의학연구소/마리아 생명공학연구소,

<sup>1</sup>서울대학교 의과대학, <sup>2</sup>마리아병원

본 실험은 TGF- $\alpha$ 를 처리하여 분화가 유도된 인간배아 줄기세포를 파킨슨 동물모델에 이식하여 숙주 세포에서의 생존 및 이식효과를 검토하고자 실시하였다. TGF- $\alpha$ 로 분화된 세포의 이식효과를 판정하고자 배양시 TGF- $\alpha$  처리군과 처리하지 않은 군으로 나누어 분화를 유도한 인간배아 줄기세포를 hoechst33342로 표지하여 병변 유발과 동일한 방법으로 동측 선조체내에  $4 \times 10^4$ 개/ $2\mu\text{l}$ 가 되도록 이식하고(이식 위치: AP 0.7, ML 2.0, DV3.4) 이식 후 2, 4주에서 행동학적 변화를 관찰하고 4주에 동물을 희생시켜 4% PFA를 이용하여 뇌 조직을 고정하고 뇌 조직은  $40\mu\text{m}$  두께로 동결 절편을 만들어 면역조직화학염색을 시행하여 신경세포로의 분화 및 TH 발현 여부를 관찰하였고 분화의 표지물질로 nestin, NF200, GFAP, TH를 사용하여 형태학적 변화를 관찰하였다. 도파민 신경 세포체를 손상시킨 파킨슨병 생쥐 모델에서 일측성 회전운동의 시간당 순 회전수는 0.5% glucose/PBS를 주입한 이식 대조군은 증가한 반면, TGF- $\alpha$ 로 분화가 유도된 세포를 이식한 동물의 행동학적 호전이 2주부터 현저하고 4주까지 지속된 반면 TGF- $\alpha$ 를 처리하지 않은 세포를 이식한 동물의 경우 2주에는 호전되는 양상을 보였으나 4주에는 다시 증가하는 양상을 보였다. 이식 4주 후 숙주조직의 이식부위에서 이식되어진 세포가 생존하고 있고 동일한 부위에서 TH 발현도 나타남을 확인할 수 있었는데 TGF- $\alpha$ 로 분화가 유도된 세포를 이식한 경우 처리하지 않은 세포를 이식한 경우보다 많은 세포가 생존해 있었다. 이식 부위에서 관찰되는 TH 양성세포는 TGF- $\alpha$ 를 처리하지 않은 세포를 이식한 경우 대부분 round type의 세포들로 axon fiber 또는 dendrite를 가지는 전형적인 신경세포의 형상은 관찰하기 어려웠으나 TGF- $\alpha$ 로 분화가 유도된 세포를 이식한 경우 세포의 neurite가 관찰되는 등 좀 더 성숙한 모양의 TH 양성세포가 관찰되었다. 또한 이식부위에서 NF200와 GFAP를 발현하는 세포도 관찰되어 이식되어진 세포가 신경세포 뿐만 아니라 성상세포로도 분화함을 알 수 있었고 일부는 nestin을 발현하여 간 세포로도 존재함을 알 수 있었다. 이상의 결과로 보아 hES 세포를 외부에서 신경세포로 분화 시킨 후 이식을 한 경우 특히 TGF- $\alpha$ 를 함께 사용한 경우 이식 부위에서 도파민 신경세포로 분화하여, 파킨슨병 증상을 호전시킴을 알 수 있었다.

**Key words:** 인간배아줄기세포, 파킨슨병, TGF- $\alpha$ , TH 양성세포