

배아줄기세포를 이용한 퇴행성 뇌신경질환 치료기술 개발

노성일* · 이주영

울산대학교 의과대학 신경과 및
아산생명과학연구소
미즈메디병원 의학연구소*

Address for correspondence

Joo-Yong Lee, M.D.
Asan Institute for Life Sciences and Department
of Neurology, Asan Medical Center, University of
Ulsan College of Medicine, 388-1 Poongnapdong,
Songpa-gu, Seoul 138-736, Korea
Tel: +82-2-3010-4143
Fax: +82-2-3010-4182
E-mail: jlee@amc.seoul.kr

Embryonic Stem Cell Therapy for Neurodegenerative Brain Diseases

Sung Il Roh, M.D.*, Joo-Yong Lee, Ph.D.

Asan Institute for Life Sciences and Department of Neurology, Asan Medical Center, University of Ulsan College of Medicine, Seoul; Division of Stem Cell Biology, Medical Research Center, MizMedi Hospital*, Korea

Recent finding that neural stem cells exist, divide, and differentiate into neurons or glia in adult mammalian brain, has raised hope for the therapeutic application of stem cells for neurodegenerative brain diseases. This is because transplanted stem cells may functionally or pathophysiologically compensate for neural cell loss or stimulate endogenous neurogenesis in the injured brain. Since the reconstruction of a damaged brain would require a large graft of neural cells, the neural differentiation of stem cells (adult or embryonic) is very important in cell replacement therapy for brain disorders. We here make a brief description of stem cells, and review the methodological development of neural differentiation in embryonic stem cells. Moreover, the current application and obstacles of cell therapy for some brain diseases are also demonstrated.

Key Words: Cell replacement therapy, Neural differentiation, Self-renewal, Pluripotency

서 론

줄기세포 생물학(stem cell biology)은 현재 신경생물학(neurobiology) 분야에서도 가장 현대적이며 주목받는 학문중의 하나이다. 줄기세포 생물학이 일반인뿐만 아니라 신경생물학자들의 관심을 끌게 된 것은 아마도 지난 십수년간에 걸친 연구결과, 발생(development) 중은 물론 인간을 비롯한 성체 포유동물(mammals)의 뇌에도 신경줄기세포(neural stem cells)가 존재하며 끊임없이 분열, 증식할 수 있다는 사실이 발견되었기 때문일 것이다[1, 2]. 즉, 성체 중추신경계(central nervous system, CNS)에도 신경세포의 재생능력(regenerative neurogenesis)이 존재한다는 사실은 각종 퇴행성 중추신경질환(neurodegenerative CNS disorders)의 원인이 되는 신경세포(neural cells)의 사망과 신경망(neural network)의 파괴를 건강한 세포의 공급이나 대체를 통해 근본적으로 복구할 수 있을 것이라는 기대를 심어주었다. 이른바, 세포대체기술(regenerative cell replacement)이라 불리는 이러한 치료법은 미분화 세포(undifferentiated cells)를 특수한 방법으로 배양하여 특정 신경세포로 분화(directed neural differentiation)시킨 다음 신경상해지역(lesion)에 이식(transplantation)하거나 또는 미분화 상태의 세포를 직접 손상부위에 이식하여 신경조직 자체의 신호기작(signals)에 따라 증식과 분화를 유도함으로써 수행할 수 있다. 따라서 퇴행성 중추신경질

환의 세포치료를 위한 재료로써 목적에 맞는 신경세포로 분화시킬 수 있는 미분화 세포가 필수적이며, 이를 위해 신경전구세포(neural precursor cells), 성체줄기세포(adult stem cells)와 배아줄기세포(embryonic stem cells, ESCs)에 대한 연구가 집중적으로 진행되고 있다.

이 글에서는 퇴행성 뇌신경질환 치료에 이용하기 위해 배아줄기세포로부터 신경세포 분화(neural differentiation)을 유도하는 기술에 대해 알아보고, 세포대체기술을 이용한 전임상 및 임상 적용이 얼마나 진전되었는지, 그리고 그 잠재적 가치가 어느 정도인지 논의하고자 한다.

배아줄기세포

줄기세포(stem cells)란 미분화 상태를 유지하며 무한히 증식(proliferation)할 수 있지만 일정한 환경과 조건이 주어질 경우 특정 기능과 형태를 갖도록 분화할 수 있는 세포를 일컫는다. 이러한 줄기세포 고유의 특성을 자가재생력(self-renewal)과 다능성(pluripotency)이라 하며 stemness란 이러한 특성을 총칭하는 것이다. 주변 환경과의 교류나 영향에 따라 줄기세포는 다양한 양상으로 분화할 수 있는데 세포가 갖는 분화능력에 따라 다음과 같이 구분된다. 즉, 분열(division)을 거듭하여 온전한 형태의 개

체(organism), 또는 대부분의 조직(tissue)을 형성할 수 있도록 무한정 분화할 수 있는 세포로서 수정란(fertilized eggs) 등과 같은 totipotent 줄기세포, 수정 후 배아발생과정(embryogenesis) 중 형성되는 배반포(blastocyst)내 세포내괴(inner cell mass, ICM) 구성세포들처럼 완전한 개체를 형성할 수는 없으나 모든 내외중배엽(endo-, ecto-, mesoderm) 유래 조직으로 분화가 가능한 pluripotent 줄기세포, 그리고 제한된 특정 계통의 세포로만 분화가능한 multipotent 줄기세포 등이다. 따라서 우리가 일반적으로 말하는 성체줄기세포는 어느 정도 결정된 운명에 따라 분화할 수 있는 multipotent 줄기세포로서 조혈모세포(hematopoietic stem cells)와, 중간엽 줄기세포(mesenchymal stem cell), 신경줄기세포(neural stem cell) 등이 해당되며, 이미 구성을 끝마친 조직 및 장기 내에 존재하여 정상적인 생리 기능 중 손실되는 세포들을 보완하는 역할을 한다. 성체줄기세포는 특정 장기 특화적인(organ-specific) 분화가 비교적 용이하고 생체에 이식하더라도 기형종(teratoma)이라는 양성종양(benign tumor)을 만들지 않으며 윤리적 논쟁을 피할 수 있다는 장점이 있으나, 증식이나 장기보관이 어려워 일시에 대량의 세포를 얻기 곤란하므로 필요할 때마다 생체에서 직접 추출해야 하는 번거로움이 있고, 실제 추구하는 분화와 다른 자연적 분화(spontaneous differentiation)의 빈도가 높으며, 치료과정에서 요구될 수 있는 유전자 조작(genetic manipulation)이 쉽지 않다는 단점을 갖는다. 이에 비해 pluripotent 줄기세포인 배아줄기세포(embryonic stem cells, ESCs)는 성체줄기세포에 비해 전혀 반대의 장단점을 갖고 있으며 실제 줄기세포 고유의 stemness를 완벽하게 유지하는 세포로서 무한히 증식할 수 있어 실험실에서 대량으로 생산하고 장기 보관할 수 있기 때문에 미래 세포치료기술을 위한 세포공급원으로서 그 잠재 가치가 매우 크다.

배아줄기세포는 Evans and Kaufman, 그리고 Martin 등이 자궁에 착상(implantation)하기 이전의 초기 배아(early embryo) 상태인 배반포내 세포내괴 세포들을 생체외부의 in vitro 상으로 끄집어내 배양함으로써 생쥐배아줄기세포(mouse embryonic stem cells)를 확립한 것이 시초이며[3, 4], 1998년 Thomson 등이 유사한 방법을 사용하여 사람배아줄기세포(human embryonic stem cells)를 만드는데 성공하였고[5], 현재까지 전세계에서 많은 종류의 배아줄기세포가 계속 만들어지고 있다. 이 배아줄기세포세포들은 필수적으로 자가재생력(self-renewal)과 다능성(pluripotency)을 온전히 유지한 채 무한히 증식하고 있으며, 특정 조건에서의 배양에 의해 자연적으로 3배엽(내, 외, 중배엽)을 형성할 수 있는 구형(球形, spherical) 구조물 embryoid body를 형성하고, SCID 생쥐 등 면역기능이 차단된 동물의 체내에 이식하면 비제한적인 증식과 분화(uncontrolled differentiation)를 반복하여 다양한 3배엽성 유래 조직을 만들어 낸다(기형종, teratoma). 이런 의미에서 핵형분석(karyotyping)을 비롯한 유전적 안정성(genetic instability)과 self-renewal, 기형종(teratoma) 형성을 통한 다능성(pluripotency) 검증은 배아줄

기세포가 안전하게 stemness를 유지하고 있는가를 평가하는 중요한 잣대가 된다[6].

한편, 2001년 8월 9일 미국의 Bush 대통령은 자체 기준에 부합되며 이미 당일까지 확립된 사람줄기세포를 이용하는 연구에 한해서만 미국내 연방연구기금을 지원할 것이라고 발표한 바 있다. 이 발표를 만족하는 사람줄기세포는 발표 당시 6개국 15개 기관에서 만들어진 총 72종이었으나, 2005년 9월 현재는 22종으로 줄어든 상태로 이 중에는 우리나라의 미즈메디 병원에서 확립된 Miz-hES1 세포가[7] 포함되어 국내외에 연구목적으로 공급되고 있다(<http://stemcells.nih.gov/research/registry>).

신경세포분화기술(Neural differentiation)

정상적인 배아발생과정(embryogenesis) 중에는 비교적 빠른 단계에 신경판(neural plate)과 신경외배엽(neuroectoderm) 형성 등 신경계 발생이 나타난다. 마찬가지로 배아줄기세포를 embryoid body로 분화시키면 가장 먼저 형성되는 분화세포가 각종 neuronal marker들을 뚜렷하게 발현하는 신경세포들이다[8]. 하지만 이러한 자연적 분화(spontaneous differentiation)는 다양한 형태(subtype)의 신경세포(neural cells) 뿐만 아니라 다른 계통의 세포들까지 복잡하게 뒤섞인 이질적인 혼합세포군(heterogeneous cell population)으로 구성되어 있기 때문에 신경계 내부의 특정 지역에서 특정형태와 기능을 갖는 신경세포가 손상되어 나타나는 신경질환의 치료를 위해서 적합하지 않다. 하지만 embryoid body를 estrogen, B27, hEGF, hFGF2를 함유하고 있는 특수배양액에서 지속적으로 배양하면 완벽하진 않지만 비교적 순도높은 신경원세포(neural progenitor cells)를 갖는 neurospheres를 유도할 수 있으며[9-11], 이들을 갖 출생한 생쥐(newborn mice)의 측뇌실(lateral ventricle)에 이식(engraftment)하면 뇌조직(brain parenchyma)으로 스며들어가 neurons와 glia로 분화한다[12].

Retinoic acid (RA, vitamin A)가 배아발생과정에 있어서 신경분화에 관여한다는 사실은 이미 잘 알려진 사실이다. 마찬가지로 TERA2, SP12, F9 배아암세포(embryonic carcinoma cells)와 배아줄기세포에 RA를 처리하면 신경계통(neural lineage) 세포로 분화가 촉진되어 각종 신경세포 markers (nestin, TuJ1, NeuN, GFAP 등)를 발현한다[13, 14]. 비록 RA 처리에 의해 많은 세포들이 죽거나 생존세포 중 50-70%만이 신경세포이고 나머지는 다른 계통의 세포로 구성된 이질적인 세포군(heterogeneous cell population)을 형성한다는 단점이 있긴 하나[15], RA는 배아줄기세포로부터 신경분화를 유도하기 위해 가장 많이 쓰이는 약물이다. 특히 RA처리된 배아줄기세포가 척수(spinal cord) 신경세포 고유의 markers를 발현하며 전기생리(electrophysiology) 활성을 보이는 신경세포로 분화하는 경향이 크다는 점에서 이 약물은 척수손상(spinal cord injury)에 적용할 수 있

는 신경세포를 분화 유도하는데 많이 쓰이고 있다[15, 16]. 실제로 RA가 없는 배양액에서 4일 동안 배양한 후 다시 4일 동안 RA 첨가 배양액에서 embryoid body를 키위(4-/4+ protocol) 이식하면 손상된 척수의 형태와 기능을 회복시킬 수 있는 신경세포가 대량으로 만들어진다[16]. 이외에도 RA 처리된 embryoid body를 insulin, transferrin, fibronectin (ITSFn), FGF2 첨가 배양액에서 연속하여 배양할 경우 신경외배엽성 전구세포(neuroectodermal precursor cells)의 분화가 촉진되며[17], 복측신경관(ventral neural tube) 형성인자인 sonic hedgehog (Shh)를 추가 처리하여 운동신경세포(motor neurons) 분화를 증대시킬 수 있다[18]. 특히 배아줄기세포를 RA 외에 neural supplements (B27, N2), hEGF, hFGF2, hPDGF-AA, hIGF-1, 또는 bone morphogenetic protein 4 (BMP4), β -NGF 등 각종 성장인자(growth factors)를 첨가한 배양액에서 배양하거나[19], 골수유래 기질세포주(stromal cell line) PA6와의 동시배양(stromal cell-derived inducing activity, SDIA)[20], 성상세포(astrocyte)로 만든 feeder-layer[21]상에서의 배양, 또는 간암세포주(hepatocellular carcinoma cell line) HepG2를 키웠던 conditioned media MEDII[22]와 함께 배양하면 신경세포로의 분화율을 크게 향상시킬 수 있다. 더불어 최근에는 embryoid body를 Wnt 및 nodal 신호전달경로의 antagonist인 Dkk1, LeftA를 첨가한 optimized serum-free suspension culture media에서 배양함으로써 중뇌전구신경세포(telencephalic precursor neurons)의 분화를 촉진하는 것처럼 좀더 특화된 분화를 유도하는 기술(directed neural differentiation)에 관한 연구도 지속적으로 진행되고 있다[23].

그러나 신경세포 분화율의 극대화를 꾀하려는 기술적 발달에도 불구하고 완벽하게 균일한 신경세포군(homogeneous neural cell population)의 확보는 여전히 불가능한 상태이다. 따라서 이를 위한 새로운 기술방안이 모색되고 있는데, 특정계통 세포로의 분화(lineage-specific neuronal differentiation)를 유도하거나 분화된 세포만을 손쉽게 골라 모으기(isolation, selection) 위해 배아줄기세포 내부의 유전자를 조작(genetic manipulation)하는 것이 대표적인 예이다. 예컨대 dopaminergic neurons의 분화에 중요한 전사인자(transcriptional factor) Nurr1의 발현을 촉진하도록 배아줄기세포를 유전자 조작하면 dopamine 생성이 활발한 neurons로 분화가 유도되며 이를 Parkinson's disease (PD) 동물모델의 뇌에 이식하여 뇌 기능을 다소 회복시킬 수 있다[24]. 또한 신경세포의 균일한 동정을 위해 신경외배엽 marker인 Sox1 유전자, 성숙된 신경세포(mature neuronal) marker인 Tau 유전자, 또는 신경줄기세포 marker인 nestin 유전자 등에 형광단백질(green fluorescent protein, GFP) 유전자를 결합시켜 이들을 배아줄기세포에 transfection시키는 전략도 많이 시도되고 있다[25, 26]. 특히 세포내 유전자 조작과 관련하여 각종 유전자 이상이나 단백질발현 이상으로 발생하는 뇌신경 질환의 경우 해당 유전자를 적절히 통제하도록 조작하거나 분화시킨 배아줄기세포

를 세포치료제로 이용할 경우 이는 현재 담보상태에 머무르고 있는 유전자 치료분야를 더욱 빠르게 발전시킬 수 있는 토대가 될 것으로 기대된다.

반면에 in vitro상에서 배아줄기세포의 신경분화를 유도하는 것보다는 신경계 내부의 자연적인 분화체계를 이용하는 것이 훨씬 효율적일 수 있다. 즉, 배아줄기세포를 직접 신경계에 이식하여 주변환경과의 상호반응에 의해 분화를 유도하는 방법으로, 미분화 사람배아줄기세포를 닭 배아(chick embryo)의 체축(axial structure) 형성구조체에 이식하면 배아줄기세포가 신경계통으로 분화하며[27], 사람배아줄기세포로부터 분화된 신경세포를 갖 태어난 생쥐의 뇌실(ventricle)로 이식하면 이 세포들이 죽지 않고 분열을 거듭하여 다양한 특성을 갖는 신경계통 세포(neuronal lineages)로 분화할 수 있음이 관찰되어 in vivo상에서의 신경계 분화가 가능함이 입증되었다[17, 28].

뇌신경질환을 대상으로 한 세포치료기술의 현재

1. 파킨슨병(Parkinson's disease, PD)

PD가 발병하는 병인은 중뇌(midbrain)의 흑색질 치밀부(substantia nigra pars compacta, SNc)에 존재하는 dopaminergic neurons이 퇴화하여 선조체(striatum)내 dopamine 생성이 차단되기 때문이다. 아직까지 dopaminergic neurons이 왜 퇴화하는지 명확히 알 수 없지만 다른 종류의 퇴행성신경질환과 비교하면 PD는 해부학적, 생화학적인 특성이 잘 규명된 비교적 선택적 병변과 병인을 갖는 질병으로 여겨진다. 따라서 소멸된 dopamine 생성세포를 다시 재생시키거나 보완하지만 한다면 근본적인 치료가 가능할 수도 있기 때문에 PD는 세포대체치료기술(cell replacement therapy) 개념을 적용하기에 아주 좋은 뇌신경질환 중의 하나이다. 이러한 기대하에 PD환자 자신의 부신(adrenal gland)으로부터 채취하거나 별도로 배양한 dopamine생산 chromaffin cells를 SNc에 이식하여 효능을 시험하였으며, 논란이 있긴 하지만 일부 의미있는 개선효과가 보고되었다[29, 30]. 또한 도파민 신경세포에 선택적 독성을 나타내는 6-hydroxydopamine (6-OHDA), 혹은 1-methyl-4-phenylpyridinium (MPP+)를 흰 쥐의 SNc에 주입하거나 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP)를 생쥐의 복강, 혹은 정맥에 주입하여 만든 동물모델의 선조체에 태아에서 추출한 도파민성 신경조직(fetal dopaminergic neuronal tissues)을 이식하면 도파민 생성이 증가하며 운동성 검사(locomotive test)에서 개선효과가 나타났다. 이 결과 태아조직 이식기술이 효과적인 PD치료기법으로 이용될 수 있을 것이라는 희망을 PD환자나 연구자들에게 심어주었으며, 실제로 대규모 환자를 대상으로 한 임상연구가 수년에 걸쳐 수행되었다. 하지만 연구초기에는 이 방법이 매우 효과적인 것으로 평가되었음에도 불구하고, 최근까지의 결과들을 종합한 바에 의

하면 조직이식을 받은 환자에서 운동장애(dyskinesia)가 다발하고 효과도 개인차가 크게 나타나는 등 그다지 만족스럽지 않은 것으로 판명되었다. 다만 현재 태아신경조직 이식이 실패한 원인들을 집중적으로 분석하고 있어서 이식된 조직자체에 이미 도파민을 형성할 수 있는 세포가 차지하는 비율이 매우 적고 또 이식된 신경세포들의 극히 일부분만이 살아 기능하기 때문에 효과가 적게 나타났을 가능성이 크며 이식을 위한 수술과정 중 규명되지 않은 원인으로 인해 부작용이 나타나거나 치료효과가 달라진 것으로 추정된다. 따라서 이식할 조직을 선정할 때 좀더 dopaminergic neurons의 비율이 높은 부위를 채취하고 이식 후 조직거부 반응을 제한하며, 수술을 좀더 정교하게 한다면 태아 신경조직 이식기술은 PD환자들에게 제한적으로나마 효과를 발휘할 수 있을 것으로 보인다. 다만 사산된 것이라 하더라도 태아로부터 신경조직을 얻는다는 행위 자체가 도덕적 논란 대상이 될 수 있기 때문에, 다른 세포 공급원이 요구되며 현재 제대혈 세포(umbilical cord blood cells)나 골수세포(bone marrow cells)와 같은 성체 줄기세포를 이용한 기초 및 임상시험이 꾸준히 전개되고 있다. 특히 무궁한 세포공급원으로써 배아줄기세포를 이용하려는 연구가 다양하게 진행되고 있어서 면역을 억제시킨 쥐의 선조체로 단순히 이식만 하여도 dopaminergic neurons로 분화가 이뤄지지만 생쥐의 배아줄기세포에 Shh와 FGF8를 동시에 처리하거나, ascorbic acid, interleukin-1 β , TGF β , GDNF, neurotrophic factors 등을 배양액에 첨가함으로써 dopaminergic neurons로의 분화율을 훨씬 높일 수 있다. 또한, 골수유래 기질세포주(stroma-derived cell line)인 PA6 세포와 동시배양하거나, 유전자 조작에 의해 Nurr1, Pitx3, Lmx 1B 유전자[31, 32]), 또는 Bcl-XL의 발현을 증가시켜도 dopaminergic neurons로의 분화율을 증진시킬 수 있으며, 이 분화세포들을 PD동물모델의 선조체(striatum)에 이식할 경우 비록 소량의 세포들만이 생존하지만 dopamine 분비가 정상적으로 이뤄지고 일부 행동장애를 회복할 수 있음이 확인되었다. 또한 BMP 길항제인 noggin을 이용하여 사람배아줄기세포를 분화시켰을 때도 이 분화신경세포는 쥐의 PD 모델에서 유효한 효과를 나타냈다[33]. 그러나 배아줄기세포가 이처럼 PD동물모델에서 유의한 효과를 보이고 있음에도 불구하고 아직까지도 사람에게로의 적용을 주저케 하는 가장 심각한 문제점은 뇌안에서 염색체 이상(chromosomal aberrations)을 포함하는 유전적 불안정성(genetic instability)과 기형종(teratoma)이 자주 발생된다는 사실로 현재 왜 이러한 현상이 발생하는지, 그리고 어떻게 이를 차단할 수 있는지에 대한 연구가 전혀 진척되지 못하고 있다.

2. 뇌졸중(Stroke)

PD가 선택적 유형의 신경세포, 즉 흑색질(substantia nigra)과 선조체(striatum)의 dopaminergic neurons가 점진적으로 파괴되어 발현된다는 측면에서 세포치료기술의 좋은 적용대상이

될 수 있다면, 뇌혈관(cerebral artery)의 폐색(occlusion)에 의해 국지적인 허혈(focal ischemia)이 나타나고 결과적으로 한정된 뇌구역이 파괴되는 뇌졸중 역시 줄기세포를 이용한 치료의 좋은 대상이 될 것으로 기대된다. 하지만 반대로 생각하면 뇌졸중은 PD와 달리 수많은 유형의 신경세포(neurons)와 glia가 죽거나 기능을 잃는 질환이기 때문에 이들을 동시에 회복시키기란 여간 어려운 문제라 할 수 있다. 그럼에도 불구하고 외부에서 이식된 세포들이 뇌졸중 상태의 뇌를 복구할 수 있다는 기대가 여전한 것은, 뇌졸중 직후 뇌의 뇌실인접 구역(subventricular zone, SVZ)에 위치한 신경줄기세포(neural stem cells)로부터 신경세포(neurons) 생성이 증가되고 이 신경세포들이 손상부위로 이동하여 이미 죽은 신경세포들과 유사한 형질(phenotypes)을 발현하며 분화되는 것이 확인되었기 때문이다. 더욱이 이러한 신경세포의 신생(neurogenesis)과 생존율을 FGF2, EGF, EPO (erythropoietin), BDNF, VEGF, 항아포토시스(anti-apoptotic) 약물, 항염증(anti-inflammatory) 약물 등을 처리하여 향상시킬 수 있으며, 신경망의 기능적 재생도 활성화시킬 수 있음이 보고된 바 있다. 결과적으로 뇌졸중으로부터 뇌를 복구시킬 수 있는 가장 이상적인 세포치료 전략은 상해부위에 이식된 세포들이 정상적으로 자리를 잡고 최대한 생존하여 죽어 없어진 원래 신경세포들의 특성에 가깝게 분화해야 하며, 환자자신의 뇌에 원래 존재하는 신경줄기세포들의 활성을 증가시켜 새로운 신경세포로의 증식, 이동, 분화를 촉진하고, 이들과 주변 생존 신경세포들과 연계하여 신경망을 복구하며 더욱이 파괴된 주변부의 혈액공급망을 새롭게 형성함(neovascularization)으로써 뇌의 정상적 기능을 회복하는 것이다.

현재 뇌졸중의 세포치료기술과 관련하여 태아 기형암(teratocarcinoma) 세포주인 NTera-2 세포로부터 분화시킨 신경세포(neurons)를 이용한 임상시험이 진행 중이며[34], 생쥐의 신경상피조직 줄기세포(neuroepithelial stem cells), NTera-2 세포, 생쥐의 소뇌 전구세포(cerebellar precursor cells), 사람이나 생쥐의 골수세포(bone marrow stromal cells), 사람의 제대혈세포(human cord blood cells), 사람의 태아 뇌에서 채취한 신경줄기세포를 배양하여 유도한 neurospheres를 뇌졸중 동물모델에 다양한 방법으로 이식하여 그 효능을 검색하고 있다. 이들 연구들은 대부분 정도의 차이가 있긴 하지만 이식된 세포들이 뇌경색 부위로 이동하여 신경세포로 분화되고 해부학적인 구조를 복구했으며 신경학적인 행동 분석에서도 진전된 양상을 보여 주었다. 특히 이들 연구에서 눈에 띄는 것은 골수유래 중간엽 줄기세포와 제대혈세포를 이용한 것으로 국내외에서 적잖은 임상시험이 이미 활발히 진행되고 있다. 그러나 이러한 다양한 세포적용이 뇌졸중 동물모델에서 뚜렷하게 효력을 나타내는 것으로 확인됐지만 그 효능이 어떻게 나타나는지 정확한 기전에 대해서는 아직까지는 전혀 규명된 바가 없으며 그 부작용에 대한 평가도 제대로 이뤄지지 않은 상태이다. 따라서 앞으로 성체줄기세포나 신경조직, 배양신경세포 등을 이용한 연구에서 얻어지는 정보들을 종합적

으로 분석하여 뇌졸중에 있어서의 세포치료기술의 적용 가능성이 검토될 것이며, 배아줄기세포가 이 질환 치료에 상대적으로 어떤 유리한 특성을 갖고 있는가도 판단될 것이다. 현재까지 뇌졸중과 관련하여 배아줄기세포를 이용한 연구는 뇌졸중 동물모델에서 상해를 입은 구역의 반대 뇌반구(contralateral hemisphere)에 이식된 생쥐 배아줄기세포가 뇌량(corpus callosum)을 타고 상해를 갖는 뇌반구(ipsilateral hemisphere)로 넘어와 뇌경색(infarct) 부근으로 이동하여 일부가 신경세포로 분화하지만[35] 잔존하는 미분화 배아줄기세포로 인한 기형암(teratocarcinoma)의 형성이 빈번하게 나타난다는 정도[36]만이 알려졌을 뿐이다.

3. 근위축성 측삭경화증(Amyotrophic lateral sclerosis, ALS)

ALS는 뇌와 척수에 존재하는 운동신경 및 뇌와 척수를 연결하는 상하운동 신경로(corticospinal or corticobulbar system)가 퇴화하는 질환으로 근력약화 및 근위축으로 고통을 받다가 끝내 사망하는 질환이다. 이 질병의 병인으로는 신경전달물질(neuro-transmitter)인 글루타메이트(glutamate)가 재흡수되지 않고 운동신경 주위에 지속적으로 축적되어 신경독성을 발휘하여 척수 신경 또는 간뇌의 운동세포를 서서히 파괴하여 발병하는 것으로 알려져 있다. 정상적인 신경세포에는 글루타메이트의 활성화에 의해 형성되는 산화화합물(reactive oxygen species)의 공격을 막아내는 항산화효소 SOD1 (superoxide dismutase)가 존재하지만 일부 유전적 소인을 보이는 ALS 환자의 신경세포에서는 불활성의 SOD1 변이체가 관찰된다. 따라서 최근에 ALS를 연구하기 위한 동물모델로서 SOD1 변이단백질을 과다발현시킨 SOD1 G93A 형질전환 동물(transgenic animal)이 도입되었으며, ALS 환자에게서 나타나는 병리학적, 신경학적 특성을 완벽히 재현하는데 한계가 있지만 세포치료기술이나 약물효능을 검증하기 위한 모델로 널리 쓰이고 있다.

최근 SOD1 G93A 형질전환 동물을 이용한 연구에서 사람제 대혈세포와 사람의 기형암(teratocarcinoma) 세포주 NTera2/D1가 행동장애를 회복시키고 동물의 생존수명도 증가시켰으며[37], 인간의 배아생식선유래 줄기세포(human embryonic germ cells)를 이용해 만든 embryoid body 유래세포(EBD cells)가 또다른 ALS 동물모델인 Sindblis virus 감염 동물의 척수에 이식하였을 때 신경세포로 분화하여 운동장애를 극복할 수 있었다[38]. 더불어 성체줄기세포로서 환자자신의 조혈모 줄기세포(haematopoietic stem cells), 골수유래 중간엽 줄기세포(bone marrow derived mesenchymal stem cells)도 환자의 신경학적 이상을 크게 개선시킨 바 있다.

4. 헌팅턴병(Huntington Disease, HD)

HD는 상염색체 우성(autosomal dominant) 유전되는 뇌신경

질환으로 4번 염색체에 위치한 huntingtin (htt) 유전자내에 CAG 반복서열 증가와 밀접한 관련이 있다. 보통 사람의 CAG 서열이 19-30번 정도 반복되는데 비해 HD 환자의 경우는 36에서 최대 240번까지 증가되며 그 빈도가 증가할수록 HD의 발병 시기가 앞당겨 진다. 이 질환을 앓는 환자의 뇌에서는 선조체와 기저핵(basal ganglia) 부위에 존재하는 신경세포 내에 huntingtin 단백질이 비정상적으로 축적되어 덩어리를 형성하며 세포의 죽음을 초래한다. 증상은 자신의 의지와는 상관없는 움직임이나 무도병(chorea) 증상을 보이며, 치매(dementia)와 함께 수반되는 경우가 많으나 현재까지 별다른 치료법이 없어 대개 발병 후 10-20년 후에 사망하게 된다. HD에 대한 동물모델로는 kainic acid, ibotenic acid, quinolinic acid 등 흥분신경독성 약물(excitotoxins)을 선조체에 직접 투여하여 선택적인 신경세포 손상을 유도한 쥐나, 미토콘드리아(mitochondria)의 에너지대사를 파괴하는 3-nitropropionic acid, 또는 malonate 등 신경세포내 대사저해 화합물(metabolic toxins)을 선조체에 직접 투여한 동물, 그리고 반복된 CAG 서열을 갖는 유전자의 형질전환 생쥐 등을 사용한다.

다른 뇌신경 질환에서와 마찬가지로 이 질병에 대한 세포치료 기술의 적용 또한 태아 신경조직을 동물모델의 선조체내에 이식함으로써 시작되었으며, 이 기술은 HD 환자에게 직접 적용되기까지 했다. 현재까지 이러한 동물 및 사람을 통해 이뤄진 시험결과와 뇌기능이 어느 정도 회복되었으며, 특히 동물실험에서는 이식된 태아조직에 의해 전기생리학적 기능이나 형태적 세포구조물이 유의성있게 개선되었다[39, 40]. 최근에는 in vitro에서 배양한 신경줄기세포를 뇌안에 직접 주입하거나 혈관을 통해 주입하더라도 동물모델의 선조체 내부로 이들 줄기세포가 스며들어가 손상조직 크기를 감시하며 신경세포나 glia로 분화하여 정상적인 기능을 장기간 유지할 수 있음이 보고되었다[41].

5. 알츠하이머병(Alzheimer's disease, AD)

세포대체치료기술을 일반대중에게 소개한다거나 줄기세포의 가치를 언급할 때마다 가장 빨리 적용할 수 있고 성공 가능성이 큰 난치성 질환으로 언급되는 것이 당뇨병과 AD이다. 하지만 앞서 논의한 뇌신경 질환들과 비교한다면 AD는 발현기작이나 신경세포의 퇴화과정이 매우 복잡하며 뇌전반에 걸쳐 무작위로 신경세포들이 죽어 없어지는 비선택적 퇴행성 뇌질환이라 할 수 있다. 따라서 현재까지 알려진 생물학적 지식만으로는 AD치료에 적용할 수 있는 신경세포를 분화시키거나 선정하는데 한계가 있다. 이러한 현실 때문에 다른 질병에서는 다양하게 시도되고 있는 태아신경조직이나 성체줄기세포 연구도 이 질병에서는 전혀 시도되지 않는 실정이다. 다만 2002년, 미국의 Alzheimer's Society는 골수유래 중간엽 줄기세포로부터 분화시킨 신경줄기세포를 광범위한 신경퇴화를 유도한 동물모델로 이식하여 이 세포들이 손상된 신경세포를 대체할 수 있는지 검증하는 3년간의 연구

를 지원하였다. 이 연구를 통해 세포대체기술이 AD치료에도 유효할지 평가하고자 함이지만 아직까지 그 결과는 발표되지 않고 있다. 그러나 AD발병의 가족력을 갖는 가계에서 사전 유전자 검사 결과 AD유발 가능성이 명확하게 입증된 환자가 발견된다면, 이 환자에게 AD병인의 활성 억제제를 위해 유전자 치료를 수행할 수 있는데 이 과정에 줄기세포를 이용한다면 그 가치가 클 것으로 기대된다. 또한 한편으로 AD관련 변이유전자(APP, tau, presenilins)를 포함하는 배아줄기세포를 확립하여 AD 치료제 개발을 위한 약효검색 시스템으로 이용할 수 있으며, 이 배아줄기세포를 이용하여 다양한 기초연구를 진행한다면 신경계 발생 및 AD의 발병과정 등에 대한 다양한 신경생물학적 이해와 잠재적인 치료방법에 대한 단서도 찾을 수 있을 것이다.

해결되고 고려되어야 할 문제들

이상에서 기술한 것처럼 다양한 신경학적, 또는 신경생물학적 연구들이 폭넓게 진행되고 있지만 실제로 배아줄기세포를 뇌신경질환 치료에 적용하기까지는 아직 이해하고 해결해야 할 난관이 너무나 많다. 실제로 앞서 설명한 대로 많은 뇌신경 질환에 대한 세포치료기술의 적용은 대부분 태아의 신경조직이나, 골수 유래 중간엽 줄기세포, 제대혈세포 등 성체줄기세포를 중심으로 진행되고 있고 이미 이들에 대한 임상시험도 활기차게 전개되고 있으며 또한 이들로부터 적잖이 희망적인 결과를 얻고 있는데 반해 배아줄기세포를 이용한 연구는 아직까지는 별다른 진전을 보이지 못하는 실정이다. 그럼에도 불구하고 일반인들이나 적잖은 줄기세포분야의 연구자들이 배아줄기세포에 끊임없는 기대를 남발하고 있는 이유는 아직까지도 질환치료방법이 전혀 제시되지 못하고 있는 현실을 조속히 타개하고 싶은 절박함과 무엇보다도 뇌신경계와 질환에 대한 신경생물학적 이해의 부족에서 비롯된 것으로 생각된다. 따라서 현재까지 생물학적, 의학적 지식과 기술수준을 고려한다면 배아줄기세포, 또는 나아가 줄기세포가 세포치료제로써의 유용성을 갖기 위해 다음과 같은 기술적 한계와 문제점을 시급히 해결돼야만 할 것이다.

1) 배아줄기세포 분야의 기술이 급속도로 진보되고 있다고 하더라도 현재까지 퇴행성 뇌신경 질환에 대해 세포치료제로 이용할 수 있을 만큼 기능적, 형태적 안정성이 보장된 신경세포로의 분화 및 신경세포 동정 기술이 미흡하다.

2) 배아줄기세포 및 그로부터 분화유도된 신경줄기세포를 실제 상해를 입은 뇌에 이식하였을 때 이들로 하여금 손상된 신경망을 복구시키기 위해서 어떤 조작이나 과정이 필요한지 규명되지 않았다.

3) 많은 퇴행성 뇌신경 질환에서 점진적으로 신경세포들의 손상을 야기하는 뇌신경 환경에 이식된 배아줄기세포나 분화신경세포가 새로이 직면하는 유해환경으로부터 어떤 영향을 받을 것이며, 또 이를 어떻게 극복해야 하는지 전혀 고려되지 않고 있다.

4) 많은 기술적 극복이 있다고는 하지만 현재까지의 분화기술로는 뇌신경에 이식된 배아줄기세포나 배아줄기세포유래 신경세포들이 기능성 neurons보다는 glia로 분화하는 경향이 큰 편이다.

5) 세포치료제의 효능을 검증하기 위해서는 이를 시험할 수 있는 질병관련 병리, 기능, 형태적 이상을 완벽하게 재현하는 동물모델이 요구되지만 현실적으로 그렇지 못 하다.

6) 특정 퇴행성 뇌신경질환에 있어 배아줄기세포나 신경세포를 어떤 경로로 뇌의 어느 부위에 이식시키는 것이 효율적인 것인지 검증되지 않았다.

7) 이식된 세포들이 손상된 신경세포들을 보완하고 정상적인 신경망을 형성하는 것도 중요 하지만 그보다 중요한 것은 뇌신경내 생리적 기능을 완벽하게 재현할 수 있는지의 문제이다.

8) 아무리 분화효율을 증가시키고 분화된 신경세포만을 분리하여 뇌신경조직에 이식한다 하더라도 현재의 기술로는 여전히 미분화 상태로 남아있는 세포를 완벽하게 제거할 수 없으므로 이들은 결국 뇌안에서 기형종(teratoma), 혹은 기형암(teratocarcinoma)을 형성할 가능성이 상존하며 이를 방어할 기술적 방안이나 연구가 전무한 실정이다.

9) 세포이식 후 세포들이 안전하게 정착하여 분열하고 분화하기 위해서는 거부반응을 극복할 수 있는 면역학적 방안이 마련돼야 한다.

10) 무엇보다도 뇌신경 질환에 대한 세포치료제로써 이용되기 위해서는 현재까지 제안된 치료법보다 탁월하게 안전하고 우수한 효능을 보여야 하지만 기본적으로 세포치료법은 약물치료에 비해 외과적 수술 등을 병용해야 하는 불편을 수반한다.

결과적으로 적절한 방법을 통해 배아줄기세포로부터 신경계 세포(neural specific lineages)로의 분화를 유도할 수 있는 많은 기술적 발전이 이뤄졌고, 이들을 이용한 다양한 뇌신경 질환 치료제로써의 가치 검증이 지속적으로 진행 중이지만 세포치료기술을 이용한 퇴행성 뇌신경 질환의 치료가 현실화되기까지는 여전히 많은 노력과 시간이 필요하다. 사실, 생쥐배아줄기세포와 사람의 배아줄기세포가 처음 도입된 이후 초기 10여년이 줄기세포의 확립과 보관, 특성분석에 중점을 두고 연구를 진행해 왔던 태동기였고, 그 이후 5년여가 배아줄기세포의 다양한 분화능력을 검증하고 그 의학적 가치를 검토하는 성장기였다면 이제부터는 배아줄기세포를 실제 응용하기 위한 다양한 생물학적 기초지식과 정보를 집중적으로 연구해야 하는 성숙기에 접어들었다고 할 수 있다. 즉, 한동안 빠이른 기대로 줄기세포를 당장이라도 질병 치료에 도입하려는 조급함도 있었지만 최근 몇 년에 걸쳐 진행되는 연구들을 돌아보면 줄기세포에 대한 기초생물학적 연구를 더욱 심도있고 다양하게 진행하여 이로부터 얻어지는 정보와 지식, 그리고 면역학이나 신경생물학 등 인접학문과의 교류를 통해 그 잠재력을 이성적이고 과학적으로 활발하게 검토하는 시기에 돌입한 것이다. 따라서 이제 배아줄기세포를 뇌신경 질환 치료제로 이용할 수 있을 것인지 선불리 기대를 부풀리기 앞서 신경계 전반에 걸친 종합적인 이해와 줄기세포에 대한 생물학적 분석에

더욱 전념해야 하며, 양 연구진간의 기술 및 정보교류 활성화가 매우 중요할 것이다.

참고문헌

- Johansson CB, Momma S, Clarke DL, Risling M, Lendahl U, Frisen J. Identification of a neural stem cell in the adult mammalian central nervous system. *Cell* 1999; 96: 25-34.
- Magavi SS, Leavitt BR, Macklis JD. Induction of neurogenesis in the neocortex of adult mice. *Nature* 2000; 405: 951-5.
- Evans M, Kaufman MH. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature* 1981; 292: 154-6.
- Martin GR. Isolation of a pluripotent cell line from early mouse embryos cultured in medium conditioned by teratocarcinoma stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981; 78: 7634-8.
- Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 1998; 282: 1145-7.
- Shamblott MJ, Axelman J, Littlefield JW, Blumenthal PD, Huggins GR, Cui Y, et al. Human embryonic germ cell derivatives express a broad range of developmentally distinct markers and proliferate extensively in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 113-8.
- Park JH, Kim SJ, Oh EJ, Moon SY, Roh SI, Kim CG, et al. Establishment and maintenance of human embryonic stem cells on STO, a permanently growing cell line. *Biol Reprod* 2003; 69: 2007-14.
- Itskovitz-Eldor J, Schuldiner M, Karsenti D, Eden A, Yanuka O, Amit M, et al. Differentiation of human embryonic stem cells into embryoid bodies compromising the three embryonic germ layers. *Mol Med* 2000; 6: 88-95.
- Murashov AK, Pak ES, Hendricks WA, Tatko LM. 17 β -Estradiol enhances neuronal differentiation of mouse embryonic stem cells. *FEBS Lett* 2004; 569: 165-8.
- Murashov AK, Pak ES, Katwa LC. Parallel development of cardiomyocytes and neurons in embryonic stem cell culture. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 332: 653-6.
- Okabe S, Forsberg-Nilsson K, Spiro AC, Segal M, McKay RD. Development of neuronal precursor cells and functional postmitotic neurons from embryonic stem cells in vitro. *Mech Dev* 1996; 59: 89-102.
- Brustle O, Spiro AC, Karram K, Choudhary K, Okabe S, McKay RD. In vitro-generated neural precursors participate in mammalian brain development. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 14809-14.
- Horrocks GM, Lauder L, Stewart R, Przyborski S. Formation of neurospheres from human embryonal carcinoma stem cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 304: 411-6.
- Benazzouz A, Duprey P. The vimentin promoter as a tool to analyze the early events of retinoic acid-induced differentiation of cultured embryonal carcinoma cells. *Differentiation* 1999; 65: 171-80.
- Liu S, Qu Y, Stewart TJ, Howard MJ, Chakraborty S, Holekamp TF, McDonald JW. Embryonic stem cells differentiate into oligodendrocytes and myelinate in culture and after spinal cord transplantation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 6126-31.
- McDonald JW, Liu XZ, Qu Y, Liu S, Mickey SK, Turetsky D, et al. Transplanted embryonic stem cells survive, differentiate and promote recovery in injured rat spinal cord. *Nat Med* 1999; 5: 1410-2.
- Zhang SC, Wernig M, Duncan ID, Brustle O, Thomson JA. In vitro differentiation of transplantable neural precursors from human embryonic stem cells. *Nat Biotechnol* 2001; 19: 1129-33.
- Wichterle H, Lieberam I, Porter JA, Jessell TM. Directed differentiation of embryonic stem cells into motor neurons. *Cell* 2002; 110: 385-97.
- Brustle O, Jones KN, Learish RD, Karram K, Choudhary K, Wiestler OD, et al. Embryonic stem cell-derived glial precursors: a source of myelinating transplants. *Science* 1999; 285: 754-6.
- Kawasaki H, Mizuseki K, Nishikawa S, Kaneko S, Kuwana Y, Nakanishi S, et al. Induction of midbrain dopaminergic neurons from ES cells by stromal cell-derived inducing activity. *Neuron* 2000; 28: 31-40.
- Nakayama T, Momoki-Soga T, Inoue N. Astrocyte-derived factors instruct differentiation of embryonic stem cells into neurons. *Neurosci Res* 2003; 46: 241-9.
- Rathjen J, Haines BH, Hudson K, Nesci A, Dunn S, Rathjen PD. Directed differentiation of pluripotent cells to neural lineages: homogeneous formation and differentiation of a neuroectoderm population. *Development* 2002; 129: 2649-61.
- Watanabe K, Kamiya D, Nishiyama A, Katayama T, Nozaki S, Kawasaki H, et al. Directed differentiation of telencephalic precursors from embryonic stem cells. *Nat Neurosci* 2005; 8: 288-96.
- Kim JH, Auerbach JM, Rodriguez-Gomez JA, Velasco I, Gavin D, Lumelsky N, et al. Dopamine neurons derived from embryonic stem cells function in an animal model of Parkinson's disease. *Nature* 2002; 418: 50-6.
- Eiges R, Schuldiner M, Drukker M, Yanuka O, Itskovitz-Eldor J, Benvenisty N. Establishment of human embryonic stem cell-transfected clones carrying a marker for undifferentiated cells. *Curr Biol* 2001; 11: 514-8.
- Ying Q-L, Stavridis M, Griffiths D, Li M, Smith A. Conversion of embryonic stem cells into neuroectodermal precursors in adherent monoculture. *Nat Biotechnol* 2003; 21: 183-6.
- Goldstein RS, Drukker M, Reubinoff BE, Benvenisty N. Integration and differentiation of human embryonic stem cells transplanted to the chick embryo. *Dev Dyn* 2002; 225: 80-6.
- Reubinoff BE, Itsykson P, Turetsky T, Pera MF, Reinhartz E, Itzik A, et al. Neural progenitors from human embryonic stem cells. *Nat Biotechnol* 2001; 19: 1134-40.
- Drucker-Colin R, Verdugo-Diaz L, Morgado-Valle C, Solis-Maldonado G, Ondarza R, Boll C, et al. Transplant of cultured neuron-like dif-

- ferentiated chromaffin cells in a Parkinson's disease patient. A preliminary report. Arch Med Res* 1999; 30: 33-9.
30. Anaya-Martinez V, Montiel-Flores E, Espinosa-Villanueva J, Garcia-Hernandez F. *Effects of graft placement site on the survival of adrenal medulla transplants into the brain and its relation with the recovery of motor function. Arch Med Res* 2000; 31: 551-7.
31. Smidt MP, van Schaick HS, Lanctot C, Tremblay JJ, Cox JJ, van der Kleij AA, et al. *A homeodomain gene Ptx3 has highly restricted brain expression in mesencephalic dopaminergic neurons. Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 13305-10.
32. Smidt MP, Asbreuk CH, Cox JJ, Chen H, Johnson RL, Burbach JP. *A second independent pathway for development of mesencephalic dopaminergic neurons requires Lmx1b. Nat Neurosci* 2000; 3: 337-41.
33. Ben-Hur T, Idelson M, Khaner H, Pera M, Reinhartz E, Itzik A, et al. *Transplantation of human embryonic stem cell-derived neural progenitors improves behavioral deficit in Parkinsonian rats. Stem Cells* 2004; 22: 1246-55.
34. Nelson PT, Kondziolka D, Wechsler L, Goldstein S, Gebel J, DeCesare S, et al. *Clonal human (hNT) neuron grafts for stroke therapy: neuropathology in a patient 27 months after implantation. Am J Pathol* 2002; 160: 1201-6.
35. Hoehn M, Kustermann E, Blunk J, Wiedermann D, Trapp T, Wecker S, et al. *Monitoring of implanted stem cell migration in vivo: a highly resolved in vivo magnetic resonance imaging investigation of experimental stroke in rat. Proc Natl Acad Sci USA.* 2002; 99: 16267-72.
36. Erdo F, Buhrle C, Blunk J, Hoehn M, Xia Y, Fleischmann B, et al. *Host-dependent tumorigenesis of embryonic stem cell transplantation in experimental stroke. J Cereb Blood Flow Metab* 2003; 23: 780-5.
37. Garbuzova-Davis S, Willing AE, Milliken M, Saporta S, Zigova T, Cahill DW, et al. *Positive effect of transplantation of hNT neurons (NTera 2\1D1 Cell-Line) in a model of familial amyotrophic lateral sclerosis. Exp Neurol* 2002; 174: 169-80.
38. Kerr DA, Llado J, Shambloot MJ, Maragakis NJ, Irani DN, Crawford TO, et al. *Human embryonic germ cell derivatives facilitate motor recovery of rats with diffuse motor neuron injury. J Neurosci* 2003; 23: 5131-40.
39. Armstrong RJ, Watts C, Svendsen CN, Dunnett SB, Rosser AE. *Survival, neuronal differentiation, and fiber outgrowth of propagated human neural precursor grafts in an animal model of Huntington's disease. Cell Transplant* 2000; 9: 55-64.
40. Chen GJ, Jeng CH, Lin SZ, Tsai SH, Wang Y, Chiang YH. *Fetal striatal transplants restore electrophysiological sensitivity to dopamine in the lesioned striatum of rats with experimental Huntington's disease. J Biomed Sci* 2002; 9: 303-10.
41. Lee ST, Chu K, Park JE, Lee K, Kang L, Kim SU, et al. *Intravenous administration of human neural stem cells induces functional recovery in Huntington's disease rat model. Neurosci Res* 2005; 52: 243-9.