

X

Lung Organoids: Current Approaches and Future Promise

김정현, 홍석호

강원대학교 의과대학 호흡기내과학교실

Numerous external stimulants including smoking, environmental pollution and virus lead to acute and chronic respiratory diseases, which are characterized by infiltration of immune cells, epithelial-to-mesenchymal transition, destruction of alveolar structure and reduction of lung function. Despite increased awareness of fatal respiratory diseases, molecular and physiological mechanisms of respiratory diseases remain to be elucidated due to lack of biologically relevant human *in vitro* lung model that recapitulate unique architecture and function of native lung tissue. In recent years, three-dimensional lung organoid derived from human lung tissues and pluripotent stem cells have great attention as an alternative source to recapitulate tissue architecture with high fidelity and served for various basic and preclinical studies. In this review, we will overview the current lung organoid technology for respiratory disease modeling, drug screening, virus research and future direction.

Key Words: Organoid, Pluripotent stem cells, Lung, Disease modeling

Corresponding author: Seok-Ho Hong, Ph.D.

Department of Internal Medicine, School of Medicine, Kangwon National University, 1 Kangwondaehakgil, Chuncheon 24341, Korea

Tel: +82-33-250-7819, Fax: +82-33-244-2367, E-mail: shhong@kangwon.ac.kr

1. 서론

폐의 발생 및 폐질환 연구를 위해 오랫동안 불멸화(immortalized)된 세포주의 2차원 세포배양법 또는 실험동물이 널리 사용되어 왔다. 그러나 2차원 세포배양은 실제 3차원 구조의 폐 조직의 구조와 기능을 모사하는데 한계가 있으며, 인간과 실험동물 간 존재하는 중간 차이로 인해 폐질환의 발생 기전 및 약물 반응을 정확히 이해하고 예측하는데 제한이 있다¹. 최근 이런 단점을 극복하기 위해 인간 1차 배양세포(primary cell culture) 또는 전분화능줄기세포(pluripotent stem cells)를 이용한 3차원 구조의 생체모사체, 즉 “오가노이드(organoid)” 제조 및 응용 기술이 급속도로 발전하고 있다. 오가노이드 제조는 2종 이상의 조직의 구성세포를 물리적으로 혼합하여 제조하는 “top-down” 접근방법과 조직특이적(tissue specific) 줄기세포 또는 전구세포를 이용하여 특정 조직으로 분화유도하는 “bottom-up” 접근방법이 있다. 현재 미국, 일본 및 유럽 등 선도연구팀을 중심으로 간, 뇌, 폐, 신장, 심장 등 다양한 종류의 오가노이드 제조 및 이를 이용한 다양한 활용에 대한 연구가 매우 활발히 이루어지고 있다. 더불어 실험동물 이용이 점차 제한될 것으로 전망되고 있어 향후 오가노이드를 활용한 연구가 새로운 대안으로 확대될 것으로 생각된다. 이 종설에서는 최근 폐 오가노이드를 이용한 기초 및 임상연구의 활용예와 향후 전망에 대해 논하고자 한다.

2. 본론

1) 초기 폐 발생 연구

오랜 연구기간 동안 인간 초기 폐 발생 및 재생과 관련된 중요한 분자생물학적 조절인자의 발굴 및 기능 연구는 대부분 실험동물에 의존해 왔다. 실제로 초기 폐 발생과정에서 중요한 역할을 하는 NKX2.1, GATA6 및 FOXA2와 같은 전사조절인자(transcription factor)들은 유전자 조작된 생쥐 모델을 통해 규명되었다. 그럼에도 불구하고, 인간과 실험동물 간 존재하는 폐 발생과정 및 조직학적 고유한 중간 차이는 인간 초기 폐 발생과정을 이해하는데 한계로 작용한다². 그로 인해 인간 초기 폐 발생과정을 모사할 수 있는 새로운 대안이 지속적으로 요구되어 왔다. 1998년 미국 위스콘신 대학의 James Thomson 연구팀은 인간 포배기배아로부터 전분화능(pluripotency)을 보유하고 있는 내세포괴(inner cell mass)를 분리하여 체외배양을 성공함으로써 최초의 인간 전분화능줄기세포를 보고하였다³. 인간 전분화능줄기세포는 무한한 자기증식능(self-renewal activity)과 인체를 구성하는 모든 세포로 분화가 가능한 전분화능을 보유하고 있어 재생의학 뿐만 아니라 초기 배아발생을 모사할 수 있는 매우 유용한 대안으로 주목받고 있다⁴. 실제로 인간 전분화능줄기세포로부터 분화 유도된 1형 및 2형 폐상피세포(alveolar epithelial cell)를 폐섬유화 또는 만성폐쇄성폐질환이 유도된 생쥐 모델에 주입 시 조직병리학적 폐 손상의 회복이 관찰되며, 이는 전분화능줄기세포로부터 기능성 폐상피세포 생산이 가능함을 시사한다^{5,6}. 더 나아가 최근 미국을 비롯한 해외 선도연구팀은 전분화능줄기세포로부터 폐 오가노이드 제조기술을 확립하고, 이를 활용하여 인간 초기 폐 발생 연구와 호흡기질환 치료 가능성을 평가하고 있다. 미국 Darrell Kotton 연구팀은 인간 전분화능줄기세포로부터 폐포 오가노이드 형성과정 중 Wnt 신호전달의 활성화 정도에 따라 초기 폐 전구세포(lung progenitor) 분화와 상하기도 세포 운명이 결정됨을 보고한 바 있다⁷. 미국 Spence 연구팀은 인간 전분화능줄기세포로부터 폐 조직을 구성하는 다양한 세포로 분화가 가능하며 이를 기반으로 세포 종류에 따라 미세한 발생조절인자의 고유한 역할을 규명한 바 있다⁸. 또한 폐 오가노이드로부터 분비체(secretome)와 엑소좀(exosome)을 회수하여 폐섬유화 생쥐 모델에 주입함으로써 치료제로서의 가능성을 보여 주었다⁹. 이는 인간 초기 폐 발생 과정의 분자생물학적 조절 기전의 이해와 손상된 폐 조직을 재생하기 위해 전분화능줄기세포 유래 폐 오가노이드가 매우 유용한 대안임을 시사하고 있다¹.

2) 폐섬유화 모델링

호흡기질환의 병인과 분자생물학적 조절기전을 연구하기 위한 가장 좋은 접근방법은 인간 폐 조직을 활용하는 것이지만 공여자의 부족과 공여자 간 조직병리학적 편차 등 접근성이 매우 희박하거나 재연성이 낮을 수 있다. 최근 전분화능줄기세포와 CRISPR/Cas9 기반 유전자 편집(gene edition) 기술을 접목하여 특정 폐질환과 관련된 유전자 변형을 유도함으로써 질환 모사(disease modeling) 폐 오가노이드 활용이 가능해졌다⁷. 그러나 일반적인 전분화능줄기세포 유래 오가노이드는 유전적, 기능적 성숙도가 낮아 주로 중년기 이후의 성인에서 유발되는 폐질환을 모사하거나 재생의학 목적으로 사용하기에는 아직 불충분하다. 그럼에도 불구하고 성인에서 유발하는 폐질환의 원인이 유전자 변형(genetic mutation)에 기인할 경우 초기 폐 발생과정 중 나타나는 유전자 변형이 성인이 된 후 폐질환 유발에 반영될 가능성이 있을 것이다. 따라서 유전자 편집 기술을 통한 폐 오가노이드의 유전자 변형은 특정 폐 질환을 모델링하고, 이는 신약개발 및 발병 기전을 이해하는데 매우 중요할 것으로 생각된다. 최근 연구에서는 CRISPR/Cas9 기술을 통해 Hermansky-Pudlak syndrome 모사 폐 오가노이드를 생산하고, 이를 이용하여 폐섬유화 모델링 및 섬유화와 관련된 IL-11의 기능을 규명한 바 있다^{10,11}. 그러나 폐 오가노이드 기반 폐섬유화 모델이 실제 폐섬유화 환자의 폐 조직에서 관찰되는 모든 조직병리학적 및 분자유전학적 특성을 모사하는 수준은 아니다. 따라서 향후 폐 오가노이드를 이용한 호흡기질환 모델은 조직 유사도 및 고도화가 필요하며, 이는 신약개발(drug discovery)과 독성 평가를 위한 high throughput screening (HTS) 플랫폼 개발에 매우 중요할 것이다.

3) 감염병 연구

2000년대 이후 중증호흡기증후군, 신종플루 및 메르스와 같은 새로운 감염병 등장은 호흡기질환 발병과 함께 막대한 사회적 비용을 초래하고 있다. 세계보건기구에서 지난 2019년 12월 중국 우한지역에서 신종 코로나 바이러스(SARS-Cov-19)로 인한 폐렴이 보고된 이후 2020년 11월 현재 전세계 총 감염자는 약 5천만 명, 사망자는 약 1백 3십만명에 육박하고 있다. 이러한 신종 감염원의 호흡기 노출에 의한 건강 영향 및 병리 기전을 규명하기 위한 동물실험과 체외 세포실험이 실행되고 있지만 인체 영향을 정확하게 예측하는데 한계가 있다. 최근 인간 전분화능줄기세포 유래 폐 오가노이드를 이용하여 홍역, HPIV3 및 RSV 감염 연구가 진행된 바 있으며 RSV로 감염된 폐 오가노이드의 경우 인체 폐 감염에서 관찰되는 유사한 임상학적 소견이 관찰되었다^{12,13}. 또한 최근 영국과 한국 연구자의 공동연구를 통해 2형 폐상피세포로 구성된 폐포 오가노이드를 이용하여 SARS-Cov-19의 표적 세포와 폐 손상 기전을 규명하였다^{14,15}. 이는 폐 오가노이드가 다양한 신종 감염원의 병인과 유효한 치료제 및 백신을 개발하기 위한 플랫폼으로 활용가능함을 제시하고 있다.

3. 결론

요약한 바와 같이 폐 오가노이드는 호흡기질환 모사 및 감염병 연구 모델 뿐만 아니라 신약 발굴, 약물 효능 및 유해물질 독성 평가 등 활용범위가 점차 증가할 것으로 예상된다. 그러나 인체 폐 조직과의 유사도, 세포의 기능 및 성숙도 면에서 아직 조직 모사의 수준이 낮은 편이며, 특히 폐섬유화증과 만성폐쇄성폐질환과 같은 만성호흡기질환의 발병 및 재생과정에서 중요한 대식세포와 같은 면역세포와 모세혈관이 포함된 오가노이드 개발이 절실하다. 또한 향후 폐 오가노이드의 구조적, 기능적 고도화는 live imaging, 유전자 편집 및 생체재료공학과와의 최신 융합기술의 접목을 통해서 가능할 것으로 생각된다.

References

1. Tian L, Gao J, Garcia IM, Chen HJ, Castaldi A, Chen YW. Human pluripotent stem cell-derived lung organoids: Potential applications in development and disease modeling. *Wiley Interdiscip Rev Dev Biol* 2020:e399.
2. Kim J, Koo BK, Knoblich JA. Human organoids: model systems for human biology and medicine. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2020;21:571-84.
3. 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.
4. Yamanaka S. Pluripotent stem cell-based cell therapy-promise and challenges. *Cell Stem Cell* 2020;27:523-31.
5. Alvarez-Palomo B, Sanchez-Lopez LI, Moodley Y, Edel MJ, Serrano-Mollar A. Induced pluripotent stem cell-derived lung alveolar epithelial type II cells reduce damage in bleomycin-induced lung fibrosis. *Stem Cell Res Ther* 2020;11:213.
6. Fieldès M, Ahmed E, Bourguignon C, Mianné J, Vernisse C, Fort A, et al. [Modelling the bronchial epithelium in chronic obstructive pulmonary disease using human induced pluripotential stem cells]. *Rev Mal Respir* 2020; 37:197-200. French.
7. McCauley KB, Hawkins F, Serra M, Thomas DC, Jacob A, Kotton DN. Efficient derivation of functional human airway epithelium from pluripotent stem cells via temporal regulation of Wnt signaling. *Cell Stem Cell* 2017;20: 844-57.e6.
8. Miller AJ, Hill DR, Nagy MS, Aoki Y, Dye BR, Chin AM, et al. In vitro induction and in vivo engraftment of lung bud tip progenitor cells derived from human pluripotent stem cells. *Stem Cell Reports* 2018;10:101-19.
9. Dinh PC, Paudel D, Brochu H, Popowski KD, Gracieux MC, Cores J, et al. Inhalation of lung spheroid cell secretome and exosomes promotes lung repair in pulmonary fibrosis. *Nat Commun* 2020;11:1064.
10. Strikoudis A, Cieślak A, Loffredo L, Chen YW, Patel N, Saqi A, et al. Modeling of fibrotic lung disease using

- 3D organoids derived from human pluripotent stem cells. *Cell Rep* 2019;27:3709-23.e5.
11. Korogi Y, Gotoh S, Ikeo S, Yamamoto Y, Sone N, Tamai K, et al. In vitro disease modeling of hermannsky-pudlak syndrome type 2 using human induced pluripotent stem cell-derived alveolar organoids. *Stem Cell Reports* 2019;12:431-40.
 12. Porotto M, Ferren M, Chen YW, Siu Y, Makhsous N, Rima B, et al. Authentic modeling of human respiratory virus infection in human pluripotent stem cell-derived lung organoids. *mBio* 2019;10:e00723-19.
 13. Chen YW, Huang SX, de Carvalho ALRT, Ho SH, Islam MN, Volpi S, et al. A three-dimensional model of human lung development and disease from pluripotent stem cells. *Nat Cell Biol* 2017;19:542-9.
 14. Youk J, Kim T, Evans KV, Jeong YI, Hur Y, Hong SP, et al. Three-dimensional human alveolar stem cell culture models reveal infection response to SARS-CoV-2. *Cell Stem Cell* 2020;27:905-19.e10.
 15. Katsura H, Sontake V, Tata A, Kobayashi Y, Edwards CE, Heaton BE, et al. Human lung stem cell-based alveolospheres provide insights into SARS-CoV-2-mediated interferon responses and pneumocyte dysfunction. *Cell Stem Cell* 2020;27:890-904.e8.