

CSHL_Stem Cell Biology 2019 참석 후기

최 은 비

Brigham and Women's Hospital, Harvard Medical School

E-mail: echoi15@bwh.harvard.edu

요약문

2019년 9월 17일부터 21일까지, 미국 뉴욕주, 콜드 스프링 하버(Cold Spring Harbor, NY)에서 콜드 스프링 하버 연구소(Cold Spring Harbor Laboratory, CSHL)가 주최하는 줄기세포 학회(Stem Cell Biology)가 개최되었다. 이번 콜드 스프링 하버 학회는 5번째로 개최되는 학회이며, 2년 마다 열리고 있어 이번 해로 10년째 이어지고 있는 비교적 최근에 생긴 학회이다. 이번 년도에는 특히 줄기세포의 기초적 특성 연구와 줄기세포와 그의 주변 미세 환경(Microenvironment)과의 역동적인 상호작용에 학회의 초점이 맞추어졌다. 또 다른 주제로는 줄기세포의 성장, 분화, 줄기세포성의 유지, 역 분화 등을 조절하는 기전 연구가 포함되었고, 최근에 주목을 받고 있는 초기 배아 발달 과정, 조식 재생 과정, 그리고 종양 발생 과정에서의 다 분화성 세포(Multipotent cells)의 조절도 비중 있게 다루어졌다. 비교적 작은 규모의 학회인 만큼, 각 세션의 발표 마다 매우 활발한 질문과 답변이 오고 갔다. 170명 정도 되는 참석자들이 매 발표 세션과 포스터 세션까지 열정적으로 참여하여 작지만 알찬 분위기의 학회였다.

Key Words: : stem cell, multipotency, pluripotency, stem cell niche, cell heterogeneity, cell plasticity, organoid, reprogramming

목 차

I. 주요 발표 내용

1. 9월 17일 주요 내용

- a. Keynote Speaker: Luis Parada (Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, US)
- b. Session 1: Stem cell regeneration

2. 9월 18일 주요 내용

- a. Session 2: Stem cell transitions *in vivo*

- b. Session 4: Organoid for modeling stem cell transition and disease
 - 3. 9월 19일 주요 내용
 - a. Session 5: The Stem Cell Niche
 - b. Session 7: Pluripotency and reprogramming
 - 4. 9월 20일 주요 내용
 - a. Session 8: Stem cell differentiation *in vitro* for modeling disease
 - b. Session 9: Stem cell epigenetics and transcription
 - 5. 9월 21일 주요 내용
 - a. Session 10: Tissue engineering and stem cell mechanics
- II. 총평



< CSHL-줄기세포 학회 포스터 >

I. 주요 발표 내용

1. 9월 17일 주요 내용

a. Keynote Speaker: Luis Parada (Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, US)

조직 내에서 아주 작은 군집(Population)을 형성하고 있는 성체 줄기세포(Adult stem cells)가 악성 종양 발생에 영향을 끼칠 수 있는 지에 대해서는 아직 많은 논란의 여지가 있다. 이번 학회의 키 노트 스피커로 선정된 Luis Parada 교수는 성체 신경 줄기세포(Adult neural stem cells)와 초기 전 발생세포(progenitor cells)가 뇌종양 중 하나인 교모 세포종(Glioblastoma, GBM)의 기원이 될 수 있다는 것을 규명한 결과에 대하여 발표하였다. Luis 교수는 GBM이 걸린 마우스에서 조직을 분리하여 single cell RNA sequencing을 통하여 population 분석을 수행하였고, 이 중에 줄기세포 특성을 가진 새로운 cell population을 발견하였다. 이 cell population의 유전자 발현을 분석한 결과, 이 population은 151개의 mitotic gene과 관련된 유전자 발현 패턴을 특징으로 가지고 있었고, 이 결과가 인간 GBM 환자의 샘플에서도 유의미함을 확인하였다. 또한 이와 같은 유전자 발현 패턴을 통해서 GBM 환자들의 세부 유형을 더욱 더 세밀하게 분리할 수 있었으며, 이 유형을 기반으로 하여 특정 drug에 대한 반응성을 예측할 수 있음을 확인하였다. 그동안 잘 알려져 있지 않았던 휴지기의 줄기세포 군집(quiescent cell population)이 종양 발생에 매우 필수적인 역할을 하며, 이 작은 수의 군집의 분석을 통해서 암 환자의 약물 반응성까지 검증할 수 있다는 매우 흥미로운 연구 결과를 보고하였다.

b. Session 1: Stem cell regeneration

-Zebrafish chemical compound screen uncovers inducers of skeletal muscle engraftment across species (Sahar Tavakoli, Harvard University, US).

기관 이식의 효율을 높이는 것은 임상적으로 매우 중요한 과제이다. 골격근(Skeletal muscle)은 매우 특성화된 섬유로 이루어져 있어 조직 재생과 이식에 있어 매우 효율이 낮은 조직인데, zebrafish 모델을 플랫폼으로 사용하여 이 골격근 조직 이식 및 재생에 도움이 되는 화합물(compound)을 스크리닝한 결과를 발표하였다. 총 230개의 화합물을 스크리닝한 결과 Lysophosphatidic acid (LPA)와 Niflumic acid (NFA) 라는 두 가지 lipid가 골격근 조직 이식 효율을 크게 향상시킨다는 사실을 밝혀냈고, 이 약물의 복합적 사용은 그 효율을 더욱 증가시키는 데 기여함을 확인했다. 또한, 마우스 모델에서도 이러한 결과가 동일하게 적용되는 것을 확인하였고, 이를 통하여 두 화합물의 작용이 임상적으로 큰 가능성이 있음을 확인하였다.

-Procr-expressing progenitor cells in pancreas islet (Yi Ariel Zeng, Institute of Biochemistry and Cell Biology, Shanghai, China).

Protein C receptor (Procr)는 Ovarian epithelium이나 mammary epithelium과 같은 다양한 조직에서 성체 줄기세포를 나타내는 마커 단백질로 알려져 있다. Procr는 본래 single pass transmembrane protein인데, 이것을 발현하는 세포는 뛰어난 재생능력을 가진다. 또한, lineage development 과정에서 다 분화성(multipotent)을 나타낸다는 것을 본 교수팀에서 밝힌 바 있다. 이번 발표는 이 Procr가 pancreas islet에서도 성체 줄기세포의 마커 단백질로 기능할 수 있다는 연구에 관한 것이었다. 이 교수는 single cell RNA sequencing을 통하여 pancreas islet을 분석한 결과, Procr⁺인 새로운 cell population을 분리했고, 이 population이 Epithelial-Mesenchymal transition (EMT)과 관련된 유전자 발현 패턴을 가지고 있음을 발표하였다. 이 세포를 분리하여 organoid를 형성해본 결과 Procr⁻인 세포에 비해 월등히 우수한 organoid 형성 능력을 나타내었으며 이 Procr⁺ organoid를 당뇨를 가진 마우스에 이식한 결과 당뇨의 증상을 향상시키는 효과를 확인할 수 있었다. 줄기세포 성을 가진 성체 줄기세포 population의 유전자 발현적 특징을 규명하고 이를 통하여 질병 치료까지 응용 가능성을 제시한 매우 흥미로운 연구였다.

-Regeneration of tendon pattern through the recruitment of progenitor cells from neighboring connective tissues (Jenna L. Galloway, MGH, Harvard Medical School, US).

힘줄(Tendon)의 progenitor 세포는 아주 조직적으로 짜여진 매트릭스 속에 쌓여진 구조로 되어 있기 때문에 힘줄의 재생은 매우 느리고 완벽하게 완성되기 어렵다. 힘줄이 재생되기 위해서는 progenitor 세포를 주변 조직으로부터 모집하는 과정이 필요한데, 이 과정에 관한 연구는 잘 밝혀져 있지 않았다. 본 발표자는 zebrafish 모델을 이용하여 BMP signaling이 attachment junction 부분에서 발현되고 힘줄 재생에 필수적인 역할을 한다는 것을 발견하였고, Scxa⁺cell이 BMP signaling의 자극을 받아 주변 조직의 progenitor 세포로부터 모집되어 힘줄 재생에 매우 중요한 역할을 한다는 내용을 발표하였다.



< 학회장 모습 >

2. 9월 18일 주요 내용

a. Session 2: Stem cell transitions *in vivo*

-Regeneration of the lung alveolar niche (Edward Morrissey, University of Pennsylvania, US).

폐는 damage나 injury에 의해 손상을 입어도 비교적 재생이 잘 되는 기관 중 하나이다. 본 발표자는 이러한 폐 재생과정에서 세포와 세포 간의 상호작용이 매우 중요한 역할을 하며, lung alveolar niche가 중요하다는 연구 결과를 보고 하였다. single cell RNA sequencing을 통하여 lung epithelium의 cell population을 분석한 결과, mouse가 E17.5가 되기 전 lung epithelial cell이 AT1과 AT2 cell로 분류될 수 있음을 확인하였다. 이 중에 AT2 cell이 성체 폐 기관에서 Alveolar epithelial progenitor (AEP) cell이 되는 것이고, 이것이 epithelial alveolar niche를 유지하여 바이러스 감염 같은 급성의 손상이 일어날 경우 폐의 재생을 촉진하는데 중요한 역할을 한다는 것을 규명하였다. 또한 이러한 폐 재생 작용은 AEP가 다른 세포들과 세포-세포 상호작용(cell-cell crosstalk)을 통해 폐 세포들의 생성을 촉진함으로써 이루어진다는 흥미로운 기전 역시 보고하였다.

-Dynamic uni- and multi-potent progenitors contributes to airway glandular tissue regeneration (Yoshihiko Kobayashi, Duke University, US).

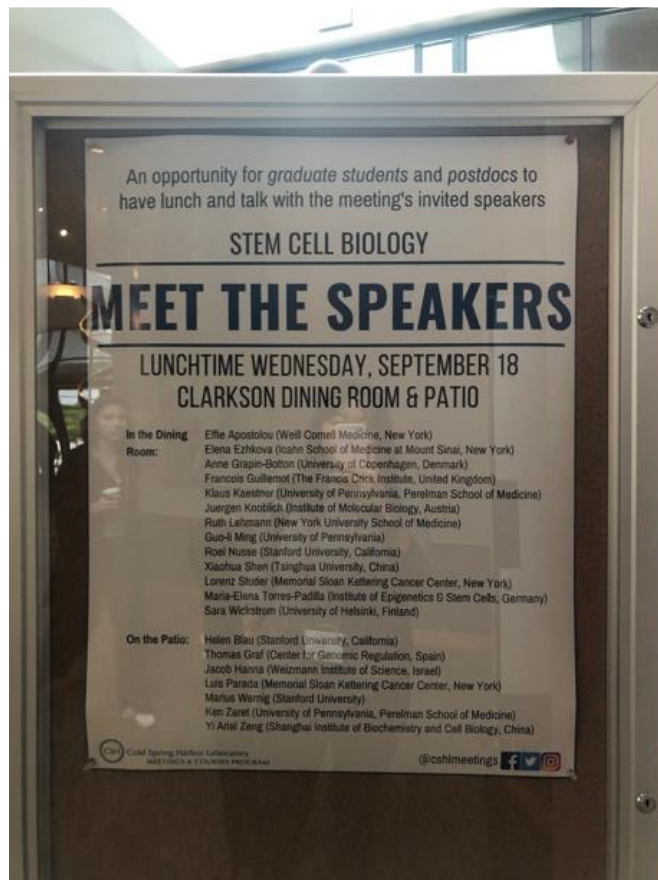
이 발표자 역시 폐 상피 세포의 cell type을 single cell RNA sequencing을 통하여 분석한 결과를 발표하였다. Lung epithelium 내에는 submucosal glands가 존재하고 이것은 다시 serous cell과 mucous cell로 나눌 수 있는데 이 연구팀은 serous cell을 다시 3 종류의 세포 타입으로 세분화 하였고, 그 중 2가지 세포의 특성을 더 심도 있게 분석한 결과를 발표하였다. 또한 Naphthalene을 이용한 injury model에서 새로운 sero-mucous cell population이 세포 재생을 위해 새롭게 생성된다는 사실을 밝혀서 조직 재생에서의 dynamics에 대해 보고하였다.

-Development of chemosensory tuft cells in the distal lung after severe influenza injury (Andrew E. Vaughan, University of Pennsylvania, US).

심각한 인플루엔자 발병이 일어나면 이로 인해 폐에도 심한 손상을 입을 수 있는데, 이 과정에서 tuft cell이라는 특정 세포의 형성이 유발된다는 것을 보고하였다. 인플루엔자 발병은 만성적인 염증 반응을 일으킬 수 있다. 이것은 type2 immune environment와 유사한 특징을 보이며, type 2 mucosal immunity에 필요한 것으로 알려진 tuft cell이 이 폐 손상 과정에서도 조직 재생에 중요한 역할을 할 수 있음을 발표하였다.

-Epigenetic mechanisms of cellular plasticity and reprogramming to totipotency (Maria-Elena Torres-Padilla, Helmholtz centre Munich, Germany).

이 발표자는 초기 포유류 발생에서의 후성유전학적 기전에 대해 발표하였다. 현재 많은 연구자들이 주로 사용하고 있는 줄기세포는 pluripotent cell로서, 이는 다 분화성(multipotency)을 가지고 있을 뿐 전분화성(totipotency)을 가지지는 못한다. 따라서 이 연구팀은 전분화성을 가진 세포를 유도하거나 만들어낼 수 있는지에 대한 질문을 가지고 연구를 진행하였다. 그 결과, 2cell like cell (2CLC) 이라는 전분화성에 가까운 특징을 가지고 있는 세포의 상태를 발견하였고, 이에 대한 특성을 분석한 결과를 보고 하였다. 2CLC는 줄기세포성을 유지시키는 OCT4, SOX2, PRDM14 같은 주요 인자들의 발현이 낮아져 있었으며, 다섯 가지의 주요한 chromatin pathway가 2CLC의 발생 및 유지에 중요하다는 사실을 규명하였다. 특히, chromatin assembly에 관여하는 인자인 CAF1의 발현 저해 시, 2CLC의 발생을 더 촉진 시킬 수 있음을 확인하였다. 또 다른 흥미로운 사실은 2CLC는 보통 배아 줄기세포에 비해 DNA replication 속도가 느려져 있다는 것이었다. 또한 DNA replication을 조절하는 인자를 인위적으로 조작하여 배아줄기세포에서 DNA replication 속도만 낮춰도 2CLC를 유도할 수 있다는 사실을 밝혔다. 이러한 연구를 통해 후성유전학적 조절이 줄기세포의 전분화성과 연결될 수 있으며, 이렇게 유도된 전분화성의 줄기세포를 통해 다양한 임상적 시도를 할 수 있다는 가능성을 제시하였다.



< 9월 18일 점심에 진행된 발표자와의 점심식사 >

b. Session 4: Organoid for modeling stem cell transition and disease

-Gene signatures and stemness in the liver controlled by local Wnt signals (Roel Nusse, Stanford University, US).

성숙한 간 세포는 diploid에서 polyploid를 갖는 특성을 보이는데, 이는 cell cycle 중 특히 mitosis 과정에서 많은 오류가 생기기 때문으로 알려져 있다. 본 발표자는 간의 postnatal growth 과정을 single cell RNA sequencing으로 분석을 하였고, 이를 통해 간 세포가 9 layers 혹은 zones으로 구성되어 있다는 결과를 발표하였다. 그 중 peri-central cell의 marker인 Tbx3가 간세포의 polyploid에 기여한다는 사실을 규명하였는데, Tbx3의 발현을 저해하면 세포 성장 속도가 감소하고 ploidy가 증가한다는 것을 확인하였다. 이 연구팀은 *in vivo* 시스템을 통해서 발견한 사실을 *in vitro* culture system에서 검증하였는데, Tbx3가 작용하는 과정에서 Wnt signaling이 또 중요한 역할을 한다는 것을 확인하였다. 그리고 세포가 조직을 형성하는 과정에서 short-range niche signal의 중요성을 검증했다는 중요한 발견을 보고하였다.

-Extra-embryonic endoderm cells induce neural tubes and increase complexity in gastruloids (Noemie N. Berenger-Currias, Leiden University, the Netherlands).

Gastrulation과 Neurulation은 발생 과정에서 매우 중요한 과정이지만, 그 단기적인 존재 기간의 특성상 *in vivo* 에서 연구하기가 매우 어렵기 때문에, *in vitro* model로 구현하는 것이 매우 중요하다고 할 수 있다. 배아 줄기세포 aggregate에 CHIR을 처리했을 시, gastruloids model을 만들 수 있다는 보고가 있다. 하지만 실제 *in vivo* 상에서 배아는 extra-embryonic tissue로부터 중요한 signaling cue 받는다는 점에서 실제 상황을 충분히 모방하지 못한다는 한계가 있었다. 본 연구팀은 extra-embryonic endoderm (XEN)의 기능을 연구하기 위하여, 배아 줄기세포와 XEM cell을 이용하여 gastruloids model을 구축하여 primitive endoderm enhanced gastruloids (PEG)를 형성시킬 수 있다는 연구를 보고하였다. PEG 모델을 확립한 후 이를 single cell RNA seq를 통해 분석한 결과, 기존의 gastruloids model보다 더 많은 셀 타입의 다양성을 지니고 있었고 PEG를 통해 분화된 세포는 *in vitro* culture system을 통해 분화된 세포에 비해 더욱 향상된 유전자 발현 패턴을 나타냄으로써 PEG가 기존 보고된 모델에 비해 향상된 모델로 기능할 수 있는 가능성에 대해 발표하였고, gastrulation 과정에서 XEN의 중요성에 대해서도 제시하였다.

-Cerebral Organoids-Modelling human brain development and tumorigenesis in stem cell derived 3D culture (Juergen A. Knoblich, Institute of Molecular Biotechnology, Vienna, Austria).

지카 나 허피스 바이러스 등은 태아의 뇌에 심각한 손상을 일으키는 것으로 잘 알려져 있지만, 이것이 어떤 기전을 통해서 저해 및 방어될 수 있는지는 아직까지 잘 알려지지 않았다. 보통 안티 바이러스 방어 기작으로는 interferon system이 알려져 있다. 그렇지만, human 배아 줄기세포나

embryo 상태로는 이러한 interferon 시스템이 잘 유도되지 않기 때문에, 태아 상태에서 이러한 바이러스에 의한 뇌 손상이 효과적으로 방어되지 못하는 것이다. 이 발표자는 phospho-IRF3가 바이러스에 반응하여 interferon 생성을 유도할 수 있으며, brain organoid 모델을 이용하여 phospho-IRF3가 nuclear에 잘 accumulation 되지 못할 때 interferon 생성이 지연될 수 있음을 밝힌 결과를 발표하였다. 또한 이러한 IRF3를 통한 interferon 생성을 강화시켜주었을 때, 바이러스에 대한 방어 기전이 강화됨을 확인하였다. 또한 organoid 생성 자체에는 큰 영향을 주지 못함을 확인하여 바이러스에 의한 뇌 손상 방어 기작으로써 가능성을 보고하였다.

3. 9월 19일 주요 내용

a. Session 5: The Stem Cell Niche

-Functional diversity within the human haematopoietic stem cell compartment at homeostasis and under stress (Elisa Laurenti, University of Cambridge, UK).

Haematopoiesis는 single haematopoietic stem cell (HSC)과 progenitor cell 간의 균형 상태에서 이루어진다는 것으로 알려져 있다. 본 발표자는 그동안 잘 알려져 있지 않았던 HSC의 non-classical stem cell population에 대해 발표하였다. HSC를 *in vitro* culture system에서 배양하면, quiescent status의 cell population이 존재하게 되는데 이러한 quiescent 상태의 셀 상태를 적정 수준으로 유지하고 조절하는 것이 HSC 전체 cell pool을 유지하는데 굉장히 중요하다는 것을 보고하였다.

-Foxl1-positive telocytes in the intestinal stem cell niche (Klaus Kaestner, University of Pennsylvania, US).

장 상피세포의 줄기세포성은 Wnt signaling에 의존하는 것으로 알려져 있다. 따라서 Wnt signaling관련 유전자인 APC의 mutation이 일어나게 되면 colon cancer가 발병하게 된다. 이러한 장 상피세포 발달과정에서의 Wnt 단백질의 근원은 어떤 세포가 되는지 밝히기 위해 single cell RNA seq을 진행하였고, Foxl⁺ telocyte라는 세포가 그 근원이 될 수 있다는 연구 결과를 발표하였다. Foxl⁺ cell은 아주 적은 수의 population을 유지하고 있고, gastrulation 과정에서 mesoderm에 가까운 endoderm에 위치하고 있었다. 또한 이 세포는 다른 세포에 비해 굉장히 큰 세포의 크기를 나타내었다. 이 Foxl⁺ cell로부터 나온 Wnt는 발생 과정과 성체 장 상피세포에서 줄기세포성을 유지하는 데 매우 중요한 역할을 하고 있었고, 이러한 Wnt를 생산함으로써 Foxl⁺ cell이 장 상피세포 niche를 형성하는데 필수적인 역할을 한다는 결과를 보고하였다.

-Stress-mediated hyperactivation of sympathetic nerves drives melanocyte stem cell depletion (Ya-Chieh Hsu, Harvard University, US).

Stress를 받으면 흰머리가 유발된다는 사실은 상식적으로 매우 잘 알려진 사실인데, 이 연구 팀에서 그 기작에 대해 규명하여 발표하였다. melanocyte stem cell (Mesc)과 hair follicle stem cell (HFSC)은 머리카락의 색을 형성하는 데 매우 중요한 성체 줄기세포인데, 스트레스를 받게 되면 Mesc의 손실이 일어나게 되고 이로 인해 머리카락의 색이 바뀌어 흰머리가 생성된다는 사실을 최초로 밝혀 보고하였다. 이것은 주변의 면역 세포와의 상호 작용과는 관계가 없었고, 교감 신경 (sympathetic nerves)에 작용하는 호르몬과 연관이 되어있다는 사실 또한 밝혔는데, 이러한 호르몬으로는 corticosterone과 norepinephrine 등이 있었다. 마우스 모델을 사용하여 이러한 교감 신경 호르몬의 투여 만을 통하여 Mesc의 손실을 유도하여 검은 쥐의 털을 흰색을 바꿀 수 있다는 재미있는 결과를 보고하였다.

-Single cell reconstruction of stem cell lineages and their niche (Ruth Lehmann, HHMI and Skirball Institute, US).

본 발표자는 초파리 Gonad development 과정에서 중요한 cell population인 Swarm cell을 밝힌 내용을 보고하였다. Swarm cell은 adult ovary에서는 존재하지 않는, 발생 과정에 잠깐 존재했다 없어지는 cell population으로서, 그 population 크기가 상당히 큼에도 불구하고 지금까지 특별한 기능이 알려지지 않았다. 이 연구팀은 single cell RNA seq 분석을 통하여 Swarm cell 특정 transcript pattern이 존재한다는 사실을 규명하였고, 그중에 Swarm cell이 발현하는 호르몬인 Ecdysone이 PGC differentiation을 조절하는 데 매우 중요하다는 사실을 보고하였다. 따라서 발생 과정에서 Swarm cell이 한시적으로 존재하며 분비하는 호르몬에 의해서 PGC differentiation의 timing이 적절하게 조절된다는 사실을 발표하였다.

-Pluripotency-dependent regulation of cell cycle in embryonic stem cells (Ali Shariati, Stanford University, US).

줄기세포 내에 전사 인자(Transcription factor, TF)는 특정 시퀀스에 binding 하여 유전자 발현을 활성화 혹은 저해하게 된다. 전사 인자가 결합하는 특정 시퀀스는 유전자 발현에 매우 중요하다. 따라서 뱀의 팔다리를 조절하는 유전자의 TF binding sequence를 마우스에 적용 시, 마우스의 팔다리가 사라지게 된다는 보고는 매우 유명하다. 이 발표자는 dCas9 테크닉을 사용하여 줄기세포의 매우 중요한 TF인 OCT4 binding sequence를 파괴시켜 nanog 및 그의 타겟 유전자의 발현을 조절하여 배아 줄기세포의 cell cycle 또한 조절 할 수 있음을 보고하였다.



< 아름다운 Cold Spring Harbor Lab 캠퍼스 >

b. Session 7: Pluripotency and reprogramming

-Whsc1 links pluripotency exit and mesendoderm specification (Thomas Graf, Center for Genomic Regulation, Spain).

CTCF는 cell fate conversion에서 매우 중요한 것으로 알려져 있다. 특히 B cell에서 macrophage로 분화하는 과정에서 전사적 유전자 발현 패턴이 전체적으로 변화하는데, 이 때 CTCF가 중요한 역할을 한다는 사실을 보고하였다. CTCF는 sequence specific 하게 DNA에 결합하는 인자로 알려져 있는데, HiC 테크닉을 이용해 전체 genome의 TAD 분석을 하게 되면 TAD loop인 TAD border에 CTCF가 주로 결합한다는 사실을 확인할 수 있었다. 또한 CTCF의 발현을 저해시키게 되면 이 TAD border가 약해지게 되고 이와 같은 genome의 3D structure의 변화는 macrophage로 분화되는 과정에서 매우 중요한 역할을 하게 된다는 결과를 보고하였다.

-The signaling foundations of human naïve pluripotency (Jacob H. Hanna, Weizmann Institute of Science, Israel).

In vivo 상에서 pluripotency라는 상태는 매우 한시적이지만 또한 역동적으로 존재하게 된다. 실험실에서 이와 같은 pluripotency를 *in vivo*와 유사하게 재현한다는 것은 실험적으로 매우 중요하며, 많은 연구들이 *in vivo* pluripotency를 *in vitro*에서 재현하고 유지시키는 기전을 규명하고 있다. 특히 mouse에 비해 human 배아 줄기세포를 naïve 상태로 유지하는 것은 더 어려운 것으로 알려져 있다. 본 발표자는 기존에 알려진 Wnt inhibitor나 Activin을 대체할 수 있는 다른 저해제를 이용함으로써, human 배아줄기세포를 더욱 naïve상태로 유지하는 방법과 기전을 연구하여 발표하였다. 이 연구팀은 Tankyrase 와 Src inhibitor를 Wnt inhibitor와 Activin 대신 사용한 후 줄기세포 성을 분석한 결과, *in vivo* 상태에 더욱 가까운 줄기세포를 얻어낼 수 있었다. 그리고 Erk inhibitor를 대체하여

notch inhibitor를 시도한 결과 DNA methylation pattern이나 imprinting pattern이 *in vivo* 상태와 더욱 유사하게 만들 수 있다는 결과를 발표하였다.

-*In vitro* capture of embryonic rosette-stage pluripotency-A novel naïve-primed pluripotency intermediate displaying a unique epigenome (Derk ten Berge, Erasmus MC University Medical Center, the Netherlands).

보통 embryo의 *in vitro* 상 상태를 정의할 때, E4의 Blastocyst를 naïve 상태, E6.5의 Epiblast를 primed 상태로 정의한다. 본 발표자는 E4와 E6.5 사이의 'E5'의 상태를 새로운 naïve-primed의 중간단계인 Rosette stage로 정의하고 *in vivo* 상태에서의 Rosette stage의 특성을 분석하여 발표하였다. Rosette stage의 유전자 발현 패턴을 분석한 결과 naïve에서 발현되지 않던 Otx2가 Rosette에서는 발현되었고, Klf4 같은 경우는 naïve, Rosette에서는 발현되지만 분화된 세포에서는 발현되지 않았다. 또한 naïve 에서 primed로 전환되는 과정에서 중요하다고 알려진 Wnt 와 Mek signaling이, 사실은 Wnt는 naïve에서 Rosette으로, Mek은 Rosette에서 primed로 전환되는데 중요하다는 사실로 좀 더 세분화될 수 있음을 보고하였다. 또한 *in vivo* 상태에서 rosette stage에 중요한 인자들을 이용해 *in vitro*에서 rosette-like stem cell을 확립하여 *in vivo* Rosette와 그 특성이 비슷하다는 결과 역시 발표하였다.

4. 9월 20일 주요 내용

a. Session 8: Stem cell differentiation *in vitro* for modeling disease

-Cell identity conversion and liver regeneration (Lijian Hui, Shanghai Institute for Biological Science, China).

간은 재생이 잘 이루어지는 기관 중 하나이다. 그러나 hepatocyte는 culture 상에서 유지나 확장하는 것이 어려운 세포이기 때문에, 배아 줄기세포나 역 분화 줄기세포 등을 이용해 hepatocyte를 분화 시켜 사용하기도 하며, 최근에는 fibroblast 등과 함께 3D organization을 만들어 배양하기도 한다. 이 연구팀은 hepatocyte를 3D organoid로 배양하는 것에 성공하였으며, big machine을 이용하여 배양하여 실제 acute liver failure를 가진 돼지에 이식하는 것에 성공하였다. 그리고 임상적으로도 응용하기 위해 준비 중이라는 상황을 보고하였다.

-An *in vitro* human segmentation clock model derived from embryonic stem cells (Li-Fang Chu, Morgridge Institute for Research, US).

이 발표자는 human segmentation clock의 *in vitro* 모델에 대해 발표하였다. 사람과 마우스는 특정한 segmentation clock을 가지게 되는데, 마우스와 사람은 development process는 비슷하지만,

그 timing은 상당히 다른 것으로 알려져 있다. 본 발표자는 human segmentation model을 사용하여 human 줄기세포를 mesoderm과 somite cell state로 분화시킨 후, 30분마다 12시간 동안 샘플을 채취하여 bulk RNA seq으로 분석을 하였다. 그 결과, somitogenesis gene인 NOTCH와 EMT signaling이 somite marker가 나타남과 동시에 매우 급격하게 발현이 감소하는 것을 발견할 수 있었다. HES7 유전자를 과 발현 시켜 NOTCH signaling의 조절을 저해 시켰더니 이 segmentation timing을 저해시킬 수 있다는 실험을 통하여 NOTCH signaling이 human segmentation clock에 매우 중요한 역할을 한다는 사실을 발표하였다.

-Forward genetic screens in hPSCs to interrogate endoderm and pancreatic differentiation (Danwei Huangfu, Memorial Sloan Kettering Institute, US).

이 발표자는 pancreatic development를 human 줄기세포와 역분화 세포를 모델로 이용하여 연구한 결과를 발표하였다. Human 줄기세포를 endoderm으로 분화시킨 후, CRISPR/Cas9 테크닉을 이용하여 스크리닝을 진행하였다. 그 결과, EOMES가 endoderm differentiation의 positive 조절 인자 역할을 하고 JNK가 negative regulator로서 관여한다는 사실을 밝혔고 이를 발표하였다. 또한 줄기세포가 endoderm으로 분화하는 과정에서 TGF-beta가 중요하다는 사실을 기반으로 줄기세포와 endoderm 분화 세포의 SMAD2/3의 ChIP-seq과 motif analysis를 비교한 결과, 줄기세포에서 endoderm으로 분화할수록 OCT4/NANOG motif에서 SMAD와 GATA motif로 SMAD2/3 binding pattern이 변화한다는 사실을 보고하였다.

b. Session 9: Stem cell epigenetics and transcription

-Role of transcription factors in 3D genomic reorganization during cell fate transitions (Effie Apostolou, Weil Cornell Medicine, US).

Cell fate transition은 global transcriptional, epigenetic, 그리고 topological change에 의해서 조절되는 것으로 알려져 있다. 세포가 분화되거나 혹은 역분화되는 과정에서 전사 인자가 어떻게 유전체 구조를 조절하여 그 타겟 유전자의 발현을 조절하는지는 아직 많이 밝혀진 바가 없다. 이 발표자는 역분화 줄기세포를 모델로 사용하였다. 그리고 H3K27ac HiChIP과 KLF4 HiChIP을 사용하여 역분화 과정에서 전사 인자가 어떻게 유전체의 구조를 조절하는지 그리고 그것이 유전자 발현 조절과 어떻게 연관되는지 밝혀 발표하였다. 특히 KLF4같은 경우 역분화 과정에서 3D enhancer reorganization에 관여하며, KLF4의 발현 저해 시, enhancer간의 상호작용이 감소하는 것을 확인하였다. 또 KLF4의 binding site 부위의 파괴만으로도 enhancer hub 전체의 저해를 일으켜 타겟 유전자들의 발현이 감소할 수 있음을 확인한 결과를 보고하였다.

-Polycomb complexes redundantly maintain epidermal stem cell identity during development (Elena Ezhkova, Icahn School of Medicine at Mount Sinai, US).

Polycomb complex는 PRC1과 PRC2 등 두 가지로 구성이 되는데, 이 발표자는 skin epidermis를 모델로 하여 PRC1과 PRC2의 새로운 functional redundancy에 대해 연구한 내용을 발표하였다. Epidermal stem cell에서 PRC1 이나 PRC2를 따로 knockout 시킨 경우에는 분화 능력에 문제가 없고, 정상적인 epidermal barrier를 형성시키는 반면, PRC1과 2가 동시에 없는 경우에는 non-epidermal lineage transcription factor의 de-repression이 일어난다. 결과적으로, epidermal fate determinant gene들이 제대로 발현될 수 없기에 epidermal lineage의 분화 또한 잘 이루어지지 않았다. 이러한 결과를 통해 PRC1 PRC2 각각 독립적으로, 혹은 합동으로 기능함으로써 줄기세포가 정상적인 cell identity를 갖는 데 중요한 역할을 한다는 사실을 보고하였다.

-Molecular, Spatial and functional single-cell profile of the maternal fetal interface (Jian Shu, Broad Institute, US).

태반(Placenta)은 성공적인 임신과 태아 발생을 위해 매우 중요한 기관이지만, 이것의 cellular architecture에 대해서는 많은 연구가 이루어지지 않았다. 이 연구자는 실험적인 방법과 또한 컴퓨터 프로그래밍적 방법을 바탕으로 태반의 single-cell atlas를 밝혔으며, 이것을 통해 태반의 세포들과 면역 세포간의 상호작용에 대해 밝힐 수 있었다. 이와 같은 태반의 cellular architecture 정보를 통해, 앞으로 태반 발달에 대한 연구와 태반과 주변 면역 세포 간의 상호작용 등에 대해 더욱 자세히 규명할 가능성에 대해 보고하였다.



< 마지막 저녁 만찬 >

5. 9월 21일 주요 내용

a. Session 10: Tissue engineering and stem cell mechanics

-Regulation of epidermal stem cell fate through niche-derived factors and forces (Sara A. Wickstrom, University of Helsinki, Finland).

줄기세포의 행동은 주변 환경의 topology와 mechanics에 의해 결정되며 stress나 strain이 줄기세포의 유지와 분화에 직접적 영향을 끼칠 수 있다. 이 발표자는 다양한 주변 환경에 의해서 줄기세포의 특성이 변화된다는 결과를 보고하였다. 하나씩 떨어져 있는 세포보다는 뽁뽁하게 배양된 세포가 더 잘 분화되는 특성을 보였으며, 이는 cell-cell adhesion force와 cortical tension 등에 의해 결정된다는 결과를 발표하였다. 또한, mechanical stress를 준 후 RNA seq을 통해서 유전자 발현을 분석해본 결과 많은 유전자들의 발현이 저해된 것을 확인하였고, 이것이 H3K27me3와 관련이 있다는 것을 확인하였다. 또 다양한 tensional state는 분화의 threshold를 다양하게 변화시킨다는 것을 확인하였고, 이것은 단순히 chromatin 자체 구조뿐 아니라 nuclear architecture의 변화에 의해서 유발된다는 결과를 보고하였다.

-In vitro generation of structural and functional heart organoids from mouse embryonic stem cells (Jiyoung Lee, Tokyo Medical and Dental University, Japan).

심장의 발달을 모델링 하는 것은, 아주 복잡한 것으로 알려진 심장 발달 과정을 이해하는 데 아주 큰 도움이 된다. 하지만 지금까지 심장 발달 과정의 모델은 잘 알려지지 않았다. 이 연구자는 mouse 배아 줄기세포를 이용하여 심장의 발달과정을 모방할 수 있는 모델을 개발하였고, 이에 대한 내용을 발표하였다. 먼저 마우스 배아줄기세포를 이용해 embryonic body를 만들고, Laminin-entactin (LN/ET) complex와 fibroblast growth factor 4(FGF4)를 이용하여 3D culture를 하게 되면 10-15일 후에 heart organoid가 생성되는 프로토콜을 개발하였다. 이 organoid는 단순히 세포의 결합체가 아닌 atrium과 ventricle 구조를 형성하고, cardiac muscle, Purkinje cells, endothelial cell 등 실제 심장을 구성하는 세포들로 구성되어 있음을 확인하였다. 또한 유전자 분석을 한 결과 실제 심장과 매우 흡사한 유전자 발현 패턴을 나타내었으며, 무엇보다 칼슘 이미징을 해본 결과 myocardial contraction과 함께 autonomous beating을 나타냄을 통해 제대로 기능을 하는 심장을 모방하는 모델로 사용될 수 있음을 검증하였다.

II. 총평

2019년 9월 17일부터 21일까지 5일에 걸쳐 진행된 이번 CSHL-Stem cell Biology 미팅은 170명 정도 되는 작은 규모에도 불구하고 매우 열정적이고 활발한 분위기 속에 진행되었다. 이번 미팅에서 가장 주목을 받았던 주제는 cell population heterogeneity였으며, 가장 많이 사용된 테크닉은 single cell RNA sequencing이었다. *In vivo*를 모델로 사용하는 연구자들의 경우 아주 적은 population을 이루고 있는 줄기세포를 분리 혹은 분류하여 연구하는 것에 많은 어려움을 겪고 있었는데, 최근 NGS 기술의 발달로 single cell RNA sequencing 기술이 상용화되면서 각자의 모델과 기관에서 새로운 cell population type을 밝혀내고, 그 작은 population의 전 유전자 발현 분석을 하게 되면서 새로운 마커나 signaling pathway들을 밝혀내는 연구들이 다양하고 매우 빠르게 진행되고 있음을 알 수 있었다. 이번 학회의 *In vitro* culture system에서의 가장 돋보였던 주제는 genome 3D structure 또는 architecture에 대한 연구였다. 기존에 활발히 연구되어 왔던 OCT4, SOX2, KLF4 등 주요 전사 인자에 의한 pluripotent gene network에 연구에 더해서, enhancer 간 interaction이나 gene network의 3D적 접근에 대한 발표가 많이 있었고, CRISPR-Cas9의 발달에 힘입어 유전자 자체를 편집하는 것을 넘어 전사 인자의 binding site에 대한 편집으로 pluripotent gene network를 더욱 미세하게 조절하는 연구들이 매우 흥미로웠다. 그리고 많은 연구자들이 *in vivo*나 동물 모델 등의 한계점을 극복하기 위해 Brain, Liver, Heart 등 다양한 기관의 organoid를 구축하는 연구를 발표하였는데, 각각의 organoid들이 사람의 발생, 발달 과정이나 혹은 성체 상태를 매우 유사하게 모방할 수 있다는 사실이 놀라웠다. 그리고 어떤 연구자는 culture system을 통해 키운 organoid를 직접 이식하여 질병을 치료하는데 사용할 수 있다는 가능성을 발표하기도 하였다. 최근 다양한 생물학적 기술 발전과, 그에 따른 줄기세포 분야의 발전을 학술적인 부분에서부터 실제 임상에 응용될 수 있는 부분까지 다양하고 심도 있게 다루었던 좋은 학회였다고 생각된다.



< 캠퍼스 곳곳에 있는 생물학 관련 동상들 >

The views and opinions expressed by its writers do not necessarily reflect those of the Biological Research Information

최은비(2019). CSHL_Stem Cell Biology 2019 참석 후기. BRIC View 2019-C30.
Available from <https://www.ibric.org/myboard/read.php?Board=report&id=3383> (Dec. 05, 2019)

Email: member@ibric.org