

## 태아간의 조혈모세포 집락형성

계명대학교 의과대학 소아과학교실<sup>1</sup>, 의과학연구소<sup>1</sup>, 의학유전연구소<sup>1</sup>,  
성균관대학교 의과대학 마산삼성병원 소아과<sup>2</sup>, 김택훈 산부인과의원<sup>3</sup>, 이탁 산부인과의원<sup>4</sup>

강진무<sup>1</sup> · 김천수<sup>2</sup> · 박근수<sup>1</sup> · 김홍식<sup>1</sup> · 김택훈<sup>3</sup> · 이 탁<sup>4</sup>

### Hematopoietic Stem Cell Colony Formation of the Fetal Liver

Chin Moo Kang, M.D.<sup>1</sup>, Chun Soo Kim, M.D.<sup>2</sup>, Geun Soo Park, M.D.<sup>1</sup>,  
Heung Sik Kim, M.D.<sup>1</sup>, Taek Hoon Kim, M.D.<sup>3</sup> and Tak Lee, M.D.<sup>4</sup>

*Department of Pediatrics<sup>1</sup>, Keimyung University, School of Medicine  
and Institute for Medical Science<sup>1</sup>, Institute of Medical Genetics<sup>1</sup>, Taegu,  
Department of Pediatrics<sup>2</sup>, School of Medicine, Sungkyunkwan University,  
Samsung Hospital Masan, Kim's Clinic of Obstetrics and Gynecology<sup>3</sup>,  
Lee's Clinic of Obstetrics and Gynecology<sup>4</sup>, Taegu, Korea*

**Background :** Hematopoietic stem cells of the human fetal liver prior to 15 weeks gestation have remarkable advantages for successful engraftment due to embryological immune immaturity, especially in-utero transplantation. This study was undertaken to obtain objective assessment data about the possibility of fetal liver hematopoietic stem cell transplantation in the future.

**Methods :** Six cases of the fetal liver tissue were obtained from therapeutic abortions at 12~20 weeks gestation. The fetal liver was collected in RPMI media containing 10% fetal calf serum and the cell suspensions were obtained by centrifugation following physical disruption. The number of nucleated cells in each case was counted and the colony numbers in methyl cellulose media were scored according to incubation period with or without growth factors. Some of the cells were cryopreserved in the liquid nitrogen tank, thereafter cell viability and colony numbers were evaluated according to cryopreservation period.

**Results :** The nucleated cell numbers obtained from each fetal liver increased with gestational age. The colony numbers after incubation increased with gestational age and the erythroid lineage was predominant in 3 cases which are under 15 weeks gestation. The colonogenic activity after incubation with combination of hematopoietic growth factors increased in only one case. The cell viability and the colony numbers after cryopreservation was decreased compare to the value before cryopreservation.

**Conclusion :** The number of nucleated cells and hematopoietic stem cell colony formation were increased with gestational age and viability of the cells after cryopreservation was decreased. Further systematic studies using more cases would be needed to obtain objective assessment data for fetal liver transplantation program in the future.

**Key Words :** Fetal liver, Hematopoietic stem cell, Colony

본 연구는 1997년도 계명대학교 비사연구비 기금으로  
이루어졌음.

접수 : 1998년 11월 25일, 승인 : 1999년 2월 9일

책임저자 : 강진무, 대구시 중구 동산동 194

계명대학교 동산의료원 소아과

Tel : 053)250-7521, Fax : 053)250-7783

서 론

태생기동안 조혈모세포는 임신 4주경에 난황낭  
에서 처음으로 발견되고 임신 6~7주경에는 간과

비장으로 옮겨졌다가 임신 20주경에는 종착지인 골수로 파종(seeding)이 된다고 한다.<sup>1)</sup> 간성조혈(hepatic hematopoiesis)은 임신 6주경에 시작하여 임신 약 7개월까지 태생기 조혈의 중추적 역할을 하며, 태아간에 있는 조혈모세포는 골수의 조혈모세포와 마찬가지로 후에 적혈구, 과립구 및 단핵구, 혈소판계열로 분화할 수 있는 다기능 모세포(pluripotent stem cell)이나 임신 15주까지는 림프구계통은 발달되지 않아 적혈구계통이 대부분이며,<sup>2,3)</sup> 또한 면역학적으로도 미숙하다고 한다.<sup>4~6)</sup> 따라서 태아간은 이식에 따른 거부반응이나 이식편대 숙주반응이 잘 일어나지 않을 것이므로 이식에 필요한 충분한 기초지식과 기술이 확립된다면 골수나 제대혈과 더불어 조혈모세포 이식의 좋은 공여세포로 이용될 수 있을 것이다.<sup>4)</sup> 특히 치명적인 선천성 대사질환, 면역결핍질환, 혈액질환, 신경학적 유전질환 등이 산전진단 되었을 때 태아간을 이용한 자궁내 조혈모세포 이식이 이러한 질환들을 치료할 수 있는 방법이 될 수 있으며, 이 세포들을 냉동보관해 두면 필요시에 해동하여 이식에 이용할 수도 있을 것이다.<sup>7~9)</sup>

저자들은 태아간조직을 수집하여 냉동보존한 후에 집락형성능과 세포생존율을 조사하여, 향후 태아간을 이용한 조혈모세포 이식과 태아세포 및 조직은행 설립의 기초자료를 마련하고자 본 연구를 시행하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 태아간조직의 수집 및 단핵세포수의 측정

치료적 유산시 수집한 재태기간 12주에서 20주 사이의 태아간조직을 10% 우태아혈청(Hyclone, Utah, USA)이 함유된 RPMI(GIBCO, N.Y., USA) 배지에 넣어 두었다가 수술용 가위와 칼을 사용하여 잘게 부수고 섬세한 철망으로 거른 후 원심분리하여 간부유세포를 얻었다. 간부유세포중  $20\ \mu\text{L}$ 를 채취하여 도립현미경 하에서 100배율로 단핵세포수를 측정한 후 이를 근거로 전체적인 단핵세포수를 산정하였다.

### 2. 집락형성

0.8mL의 methylcellulose(Stem Cell Technologies Inc., Vancouver, B.C.) 배지에  $2 \times 10^5$ 개의 단핵세포를 주입한 후  $37^\circ\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$  배양기에서 배양하였다. 도

립현미경 관찰상 세포가 50개 이상 모여 있는 것을 집락으로 정의하였으며, 배양일수(7일/14일)에 따른 집락형성과 각 배지마다 stem cell factor(SCF), granulocyte-macrophage colony stimulating factor(GM-CSF), interleukin(IL)-3, IL-11 등의 성장인자를 각각  $100\ \mu\text{g}$  씩 단독 또는 병합투여한 후 성장인자 첨가여부에 따른 집락수를 조사하였다.

### 3. 냉동보관

세포 중 일부는 10% DMSO가 함유된 배지에 넣어서 프로그램 냉동기를 이용하여 냉동한 후 액화질소탱크 속에서 냉동보관 하였다. 냉동후 7일째, 14일째, 30일째에 액화질소탱크에서 각각 시료를 꺼내어 신속하게  $37^\circ\text{C}$  수조에 넣어서 해동한 후 trypan-blue dye exclusion법을 사용하여 세포생존율을 측정하고 methylcellulose 배지를 이용하여 집락형성을 조사하였다(Fig. 1).

## 결 과

총 6례의 태아간조직을 수집하였다. 재태연령은 12주부터 20주 사이였으며 단핵세포수는 재태연령 12주에  $2.8 \times 10^7$ 에서 20주에는  $49.4 \times 10^7$ 로 재태연령에 비례하였다(Table 1). Methylcellulose 배지에서 배양한 후 집락수는 재태연령에 비례하였으며, 임신 15주 이하인 3례에서는 주로 적혈구계 집락이 형성되었고, 14일 배양 후 제 5례에서도 적혈구계 집락

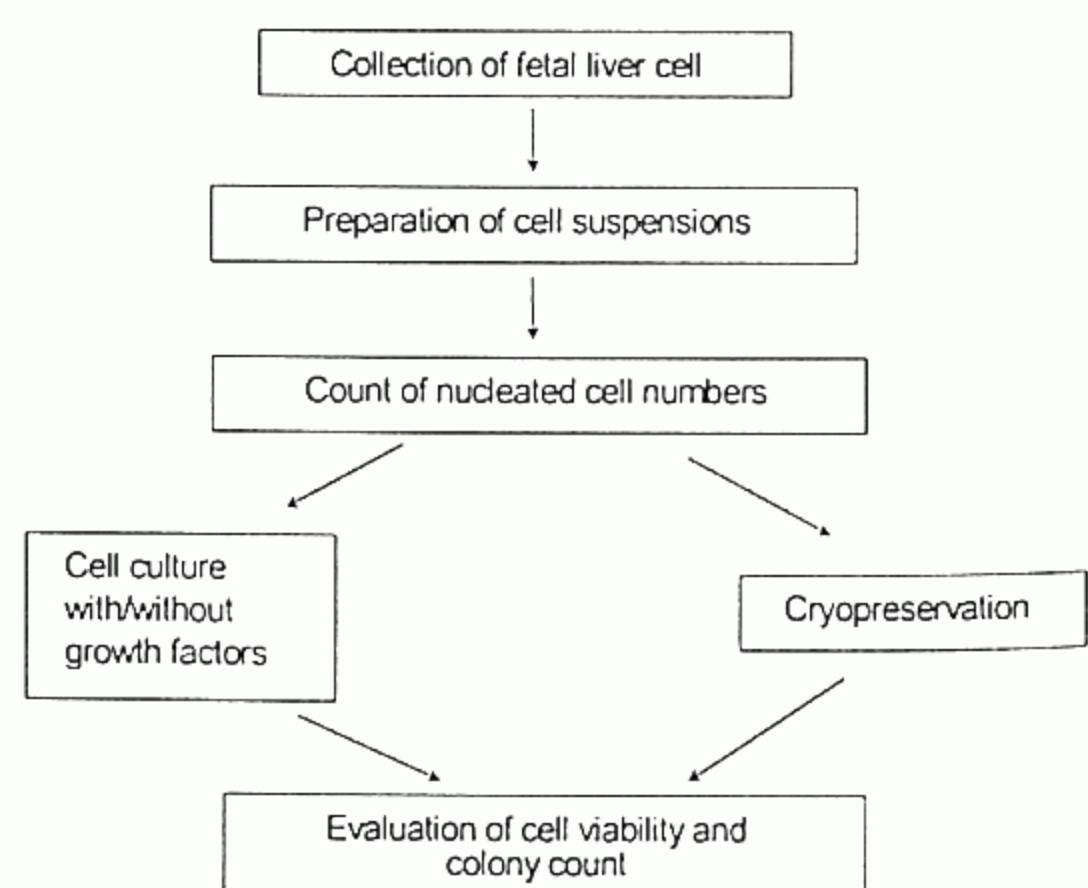


Fig. 1. Schematic diagram showing the course of preparation, culture and cryopreservation of the fetal liver cells.

이 주로 형성되었으나 제 6례에서는 적혈구계 집락수는 아주 적고 과립구 및 단핵구계 집락이 많았다 (Fig. 2, 3). 성장인자 첨가여부에 따른 집락형성능의 변화는 1, 2, 4, 5례에서는 뚜렷한 변화를 관찰할 수 없었고 재태기간 20주인 제 6례에서만 병합사용 하였을 때 부가적인 효과를 나타내었다(Table 2). 냉동보관시 세포생존율은 냉동보관전의 평균 85.0%에서 7일간 냉동 후 해동하였을 때 54%이었고 30일간 냉동 후 해동한 2례에서 54.5%로 감소하였다(Table 3),

집락형성도 7일 보관시 냉동전에 비해서 평균 51.7%로 감소하였는데, 제 1례는 냉동보관 7일에 별 변화가 없었고, 제 2, 4, 5례는 냉동보관전에 비하여 감소하였으나 제 4례에서는 냉동보관 7일째, 14일째, 30일째에서의 집락수에는 서로 큰 차이가 없었다 (Fig. 4).

Table 1. Mononuclear cell numbers of fetal liver tissues according to the gestational age

Case	Gestational age (weeks)	Cell numbers ( $\times 10^7$ )
1	12	2.8
2	13	5.7
3	14	9.6
4	15	10.2
5	18	31.6
6	20	49.4

colony(number)

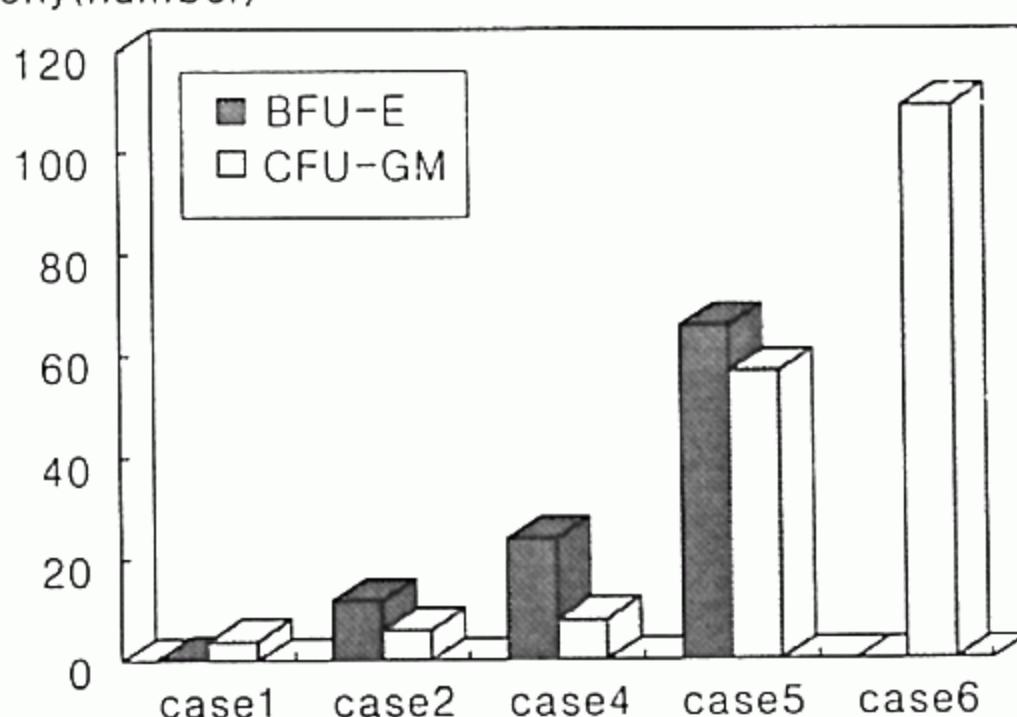


Fig. 3. Numbers and type of colony after incubation for 14 days in each case.

colony(number)

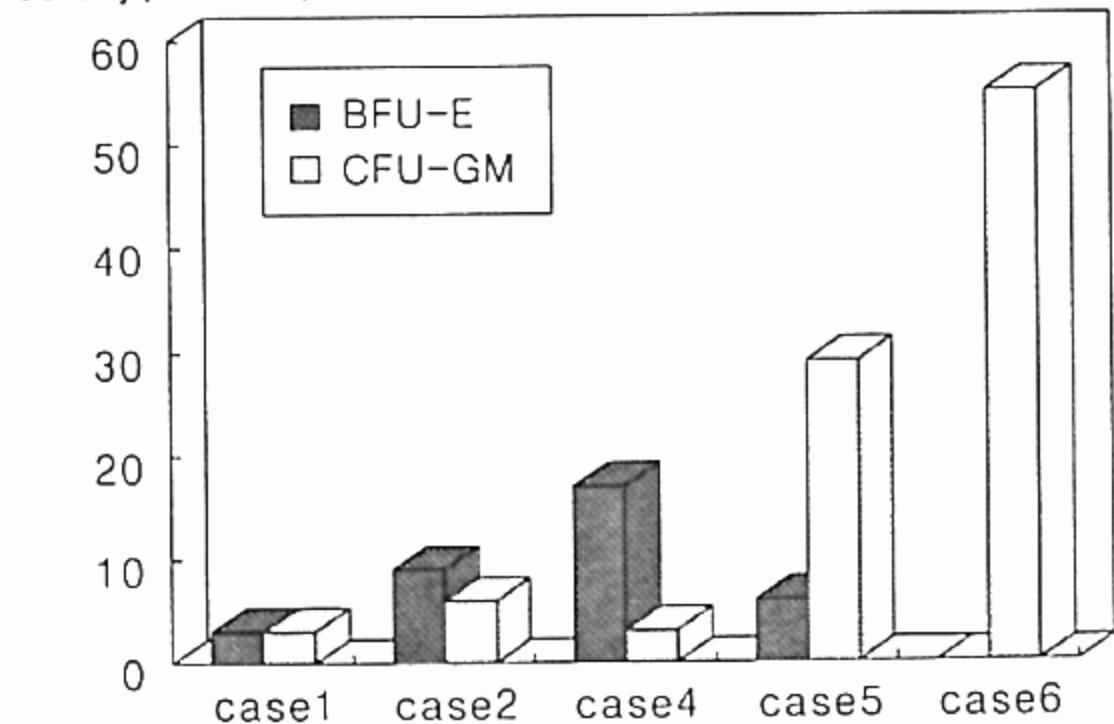


Fig. 2. Numbers and type of colony after incubation for 7 days in each case.

colony(number)

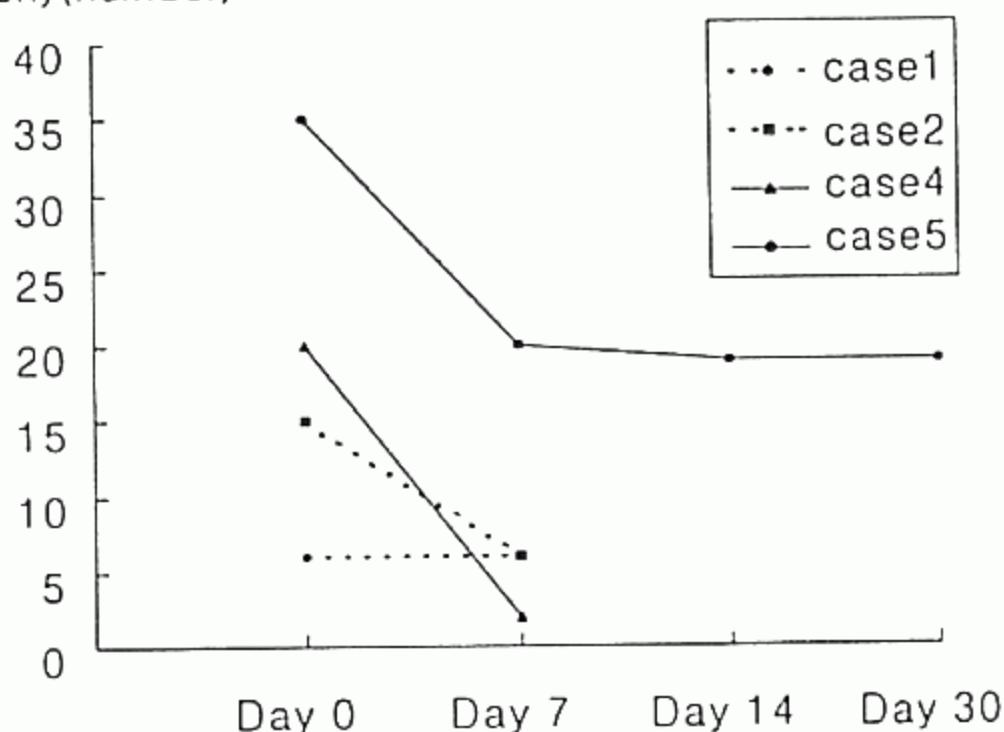


Fig. 4. The colony numbers after cryopreservation.

Table 2. Colony numbers according to incubation period (7 days/14 days) with or without growth factors

Case	Case Control	SCF	GM <sup>*</sup>	IL-3	IL-11	SCF + GM <sup>*</sup>	IL-3 + IL-11	SCF + GM <sup>*</sup> + IL-3	SCF + GM <sup>*</sup> + IL-3 + IL-11
1	6/ 5	10/9	8/14	10/7	7/8	8/8	3/5	5/1	8/10
2	15/ 18	6/ <sup>t</sup>	3/ <sup>t</sup>	5/ <sup>t</sup>	3/ <sup>t</sup>	2/ <sup>t</sup>	3/ <sup>t</sup>	3/ <sup>t</sup>	4/ <sup>t</sup>
4	20/ 32	4/ <sup>t</sup>	14/ <sup>t</sup>	6/ <sup>t</sup>	18/ <sup>t</sup>	20/ <sup>t</sup>	10/ <sup>t</sup>	13/ <sup>t</sup>	4/ <sup>t</sup>
5	35/123	51/ <sup>t</sup>	11/ <sup>t</sup>	50/ <sup>t</sup>	42/ <sup>t</sup>	31/ <sup>t</sup>	†/ <sup>t</sup>	†/ <sup>t</sup>	†/ <sup>t</sup>
6	55/109	61/109	56/108	47/116	59/109	63/125	83/160	119/82	118/189

SCF : stem cell factor, \*GM : GM-CSF, <sup>t</sup>not done

Table 3. Cell viability (%) after cryopreservation in liquid nitrogen tank

Case	Day 0	Day 7	Day 30
1	83	52	*
2	86	53	*
5	87	60	60
6	84	51	49
Mean	85.0	54.0	54.5

\*not done

## 고 찰

모세포란 어떤 조직의 영속적 계통(permanent lineage)을 가지는 원시적 전구세포로, 비교적 덜 분화된 세포이기 때문에 특정조직의 분화에 따른 표지자(specific differentiation marker)가 없고, 자가복제(self-renewal)에 의해 자신을 존속시키면서 한편으로 증식과 분화를 하여 다수의 기능적 분화된 전구세포를 생산할 수 있는 세포로 정의할 수 있다.<sup>10)</sup> 조혈모세포는 20~40 μL 크기의 둥근 림프구형 단핵구로서 핵은 작으나 핵소체가 저명하고 세포질이 풍부하며 세포질내 약간의 호염기 과립을 가지는 형태학적 특징이 있고,<sup>11)</sup> 면역학적으로는 과립구나 림프구로의 분화 또는 수임전구세포(committed progenitor cell)와 관련된 표지자는 발현하지 않으므로 lineage 음성이며 Thy-1 항원의 낮은 발현, HLA-DR 음성 및 CD34 항원 양성의 특징을 갖고 있는 것으로 알려져 있다.<sup>12)</sup>

정상인에서의 조혈작용은 조혈모세포의 자가복제와 더불어 세포의 증식 및 분화, 성숙세포로서의 일정기간 생존 후 파괴되는 일련의 과정이 한결같이 이루어짐으로써 항상성이 유지되는데 이러한 조혈모세포는 전체 골수세포의 1~2% 정도를 차지하며 골수 외에도 태아 간, 제대혈 및 말초혈액에서 발견할 수 있다.<sup>13, 14)</sup>

Kelemen 등<sup>15)</sup>에 의하면 태아간의 무게는 임신 8주경에는 0.1g 미만이나 10주에는 1.0g, 16~18주에는 10g, 32~34주에는 100g, 임신말기에는 160~180g 정도이고, 재태연령에 따른 태아간의 조혈모세포수는 임신 6주에 10<sup>6</sup>개, 9~10주에 10<sup>8</sup>개, 13~15주에 10<sup>9</sup>개, 20~28주에 10<sup>10</sup>개로 최고치를 보이다가 임신 말기에는 10<sup>9</sup>개로 감소하며, 전체세포중 조혈모세포가 차지하는 비율은 임신 5주경에는 10% 미만이나

점차 증가하여 8주경에 70%에 도달하여 21주까지 이러한 비율로 유지되다가 그 후 점차 감소한다고 한다. 본 연구에서는 태아간의 단핵세포수가 임신 12주에  $2.8 \times 10^7$ 에서 20주에  $49.4 \times 10^7$ 개로 재태연령에 비례하였으나 기대치보다는 적었다. 이는 아마도 조직을 조작하는 과정에서 세포손실이 있었을 가능성도 있으며, 이에 대한 객관적 자료를 얻기 위해서는 추후 보다 많은 연구가 필요할 것으로 생각된다. 임신 15주 미만의 태아간에서의 조혈은 발생학적으로 림프구계통의 발달이 미약하여 적혈구계통이 대부분일 뿐 아니라, 이때 발견되는 T-림프구 전구세포는 임신 18~20주경부터 일어나는 흉선에서의 추가적 발달과정을 거치지 않기 때문에 면역학적으로 미숙하다고 알려져 있는데,<sup>5, 16, 17)</sup> 본 연구에서도 임신 15주 이하인 3례에서의 집락형성은 적혈구계통(BFU-E)이 대부분이었으며 18~20주인 2례에서는 과립구 및 단핵구 전구세포(CFU-GM)가 높은 비중을 차지하였다.

조혈모세포 이식은 1950년대 실험쥐에서 방사선 조사로 조혈계를 파괴시킨 후 동종골수를 주입하여 조혈계를 회복시킬 수 있음이 밝혀지고 주요 조직적 합 복합체의 중요성을 알게 되어 임상적용의 가능성이 대두되었으며,<sup>18)</sup> 그 후 1970년대 Thomas 등<sup>19)</sup>에 의해 동종 골수이식이 성공적으로 시행되었다. 태아 간을 이용한 조혈모세포 이식은 1976년 Buckley 등<sup>7)</sup>이 중증 복합면역결핍증(SCID)을 가진 8개월된 영아에게 재태연령 8~10주 사이의 신선한 태아간세포의 복강내 주입으로 면역학적 회복을 이룬 것을 계기로 심한 선천성 면역결핍증을 가진 환아들에게 제한적으로 시행되어 왔었다.<sup>20)</sup>

최근 태아질환을 발견하기 위한 여러가지 진단적 검사방법의 발달과 더불어 SCID, Wiskott-Aldrich 증후군, 만성 육아종성 질환과 같은 면역결핍질환, 지중해 빈혈, 겸상 적혈구성 빈혈 등의 선천성 혈액질환, Chediak-Higashi 증후군, Maroteaux-Lamy 증후군, 영아 대리석 골증 등의 대사이상 질환이나 신경학적 유전질환의 산전진단이 가능하고 태아간 자궁내 조혈모세포 이식 또는 태아흉선세포와의 병합이식이 이러한 질환들의 치료에 효과적인 한 방법이 될 수 있다고 하여,<sup>4)</sup> 실제로 1988년 이후 Touraine 등<sup>8)</sup>은 임신 12주된 지중해 빈혈 및 28주된 bare lymphocyte 증후군 태아들에게 재태연령 10주 미만의 태아간세

포를 초음파영상 유도하에 제대정맥으로 주입하여 혈액학적, 면역학적 회복을 이루었으며 임신 26주 된 SCID 태아에게 태아간과 태아흉선세포를 병합이식하여 출생 후 건강한 혈액학적 chimerism을 만들었으므로 치료적 효과를 거두었다고 보고하였다.

태아간을 이용한 조혈모세포의 자궁내 이식은 면역학적으로 미숙한 임신 15주 미만의 태아간을 공여세포로 이용하여 이식거부반응이나 이식편대 숙주반응이 적다는 것 외에도 수여자도 면역학적으로 미숙한 태아이기 때문에 이식시 면역학적 내성을 기대할 수 있어서 거부반응이 적으며, 수여자가 모체의 자궁내에 있기 때문에 이상적인 격리가 가능하여 감염을 예방할 수 있으며, 이식된 조혈모세포는 자연스럽게 수여자측 태아체내의 성장인자의 영향을 받아 착상이 잘 될 수 있어 이식 성공률이 높다고 한다.<sup>21~24)</sup>

이식되는 조혈모세포의 수가 많을수록 이식의 성공률이 높지만, 태아간세포수는 제한되어 있으므로 증폭을 위해서 성장인자를 투여하거나 간질세포주(stromal cell line)의 존재하에서 세포를 배양하는 방법 등을 사용한다.<sup>25)</sup> Zanjani 등<sup>26)</sup>은 태아간 조혈모세포를 태생기 양에게 자궁내 이식하여 chimerism을 만든 후 IL-3와 GM-CSF 등의 성장인자를 투여한 결과 태생기 양에서 공여세포수가 증가하였으며 특히 병합투여시 대조군의 2.1~3.4배까지 현저히 증가했다고 보고하였다. 본 연구에서는 5례 중 4례에서 배양 7일째 보다 14일째에서 집락수가 많았으며, 1례에서는 성장인자의 병합투여시 부가적인 효과를 나타내었으나 좀 더 객관적인 자료를 얻기 위해서는 추후 보다 많은 연구가 필요할 것으로 생각된다.

성공적인 태아간 조혈모세포 이식을 위해서는 저장방법의 개발이 중요하다. 조혈모세포의 저장방법으로는 냉동보관이 가장 유용하며 냉동 후에는 냉동전에 비해서 태아간의 세포아형(subset) 구성비율에는 큰 변화가 없으나 골수나 제대혈의 냉동보관에서 와 마찬가지로 세포생존율이나 집락형성은 감소한다고 알려져 있다.<sup>27)</sup> 실례로 1994년 Tocci 등<sup>28)</sup>은 실험 쥐 태아간을 대상으로하여 10% DMSO와 25% 우태아혈청, rate-controlled 냉동기를 사용하여 액화질소탱크 속에서 -196°C로 4주간 보관하였을 때 세포생존율은 66.2±11.1%였고, 집락형성률은 냉동전에 비하여 30.2±13.0%로 감소하였다고 보고하였다. 본 연

구에서도 냉동 후 세포생존율은 평균 85.0%에서 54.0%(7일째) 및 54.5%(30일째)로 감소하였으며, 1주 보관시 집락형성도 냉동전에 비하여 평균 51.7%로 감소하였다. 냉동후 세포소실을 최소화하기 위해서는 냉동방법이나 보존제의 선택이 중요한데, 지금까지는 10% DMSO 용액을 섞어서 프로그램 냉동기를 사용하여 서서히 냉동시킨 후 액화질소탱크 속에서 -196°C로 보관하는 방법이 세포소실을 최소화할 수 있는 보존법으로 보편적으로 사용되어 왔으나, 최근 다른 보고들에 의하면 고농도의 DMSO는 조혈모세포에 세포독성을 나타내어 세포생존율을 감소시키며 해동시 세포응집을 일으켜 세포소실을 증가시킬 뿐 아니라 수여자에게 고삼투압, 심장기능 이상, 과민증과 같은 부작용을 일으킬 수 있다고 한다.<sup>29, 30)</sup> 또한 Makino 등<sup>31)</sup>은 냉동보호제로 10% DMSO 대신에 5% DMSO와 6% hydroxy ethyl starch, 4% albumin을 사용하여 직접 -80°C로 급속 냉동보관한 후 필요시 곧바로 37°C에서 해동하여 사용하는 방법이 세포생존율이 더 높을 뿐만 아니라 세포응집도 더 적다고 하였으며, Gorline<sup>32)</sup>은 너무 빠른 속도로 냉동하는 것은 세포생존율에 나쁜 영향을 줄 수 있으며 프로그램 냉동기를 이용하여 1~3°C/min의 속도로 냉동할 때 세포생존율을 최대화할 수 있다고 하였다. 저자들은 10% DMSO를 사용하여 프로그램 냉동기를 이용하였으나 다른방법과 비교연구가 필요하리라 생각된다.

실제로 태아간을 이용한 조혈모세포 이식을 효율적으로 이용하기 위해서는 첫째, 태아간 수집에 따른 부작용이나 윤리적 문제를 해결할 수 있는 제도적 장치가 필요하고 둘째, 공여세포로 부터의 감염전파를 막기 위한 사전 선별검사를 해야하며 셋째, 공여되는 세포수가  $1 \times 10^9$  cell/kg 이상일 때 이식의 성공률이 높으므로 공여세포수의 증가를 위한 cell pooling이 필요하며 넷째, 필요할 때에 태아간을 원활하게 얻을 수 있어야 한다는 등의 선결과제가 따른다.<sup>33)</sup> 이와같은 문제를 해결하기 위해서는 태아세포 및 조직은행의 설립이 필수적인데 이미 일부 국가에서는 기존의 실험적 단계로 운용되고 있는 태아조직은행을 체계를 갖춘 국가적 기관으로 발전시키려는 논의가 활발히 진행되고 있다.<sup>34, 35)</sup>

저자들은 본 연구를 통하여 태아간을 이용한 조혈모세포 이식의 가능성은 일부 확인하였으나 실제적

인 임상적용을 위해서는 태아간의 수집과 세포배양, 냉동보관, 공여세포의 투여방법 등 이식에 관계되는 전과정에 걸친 보다 많은 연구와 함께 태아세포 및 조직은행의 설립을 위한 사회적 공감이 선행되어야 하리라 생각된다.

## 요 약

**배경 :** 임신 15주 미만의 태아간은 면역학적으로 미숙하여 이식편대 숙주반응이 잘 일어나지 않으므로 조혈모세포 이식을 위한 좋은 공여세포가 될 수 있으며, 특히 여러종류의 선천성 대사질환, 면역결핍 질환, 혈액질환, 신경학적 유전질환 등이 산전진단 되었을 때 태아간을 이용한 자궁내 조혈모세포 이식이 치료를 위한 한 방법이 될 수 있다. 저자들은 치료적 유산에 따른 임신중절 때 태아간조직을 수집하여 세포수를 측정한 후 성장인자 첨가여부에 따른 배양을 시행하고, 냉동보존에 따른 집락형성능과 세포생존율을 조사함으로서, 향후 태아간 조혈모세포 이식과 태아세포 및 조직은행 설립의 기초자료를 마련하고자 하였다.

**방법 :** 치료적 유산에 따른 임신중절시 수집한 임신 12~20주 사이의 태아간조직 6례를 주사기로 흡인채취한 후 10% 우태아혈청이 함유된 RPMI 배지에 넣어 두었다가 잘게 부순 후 원심분리하여 간부유세포를 얻었으며, 단핵세포수를 측정한 후 methyl cellulose와 섞어 petri dish에 넣고 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 배양하였다. 배양일수와 성장인자 첨가여부에 따른 집락형성능을 조사하였고, 프로그램 냉동기를 이용하여 냉동한 후 액화질소탱크 속에서 -196°C로 냉동보관 하였다가 해동한 후 세포생존율과 집락형성을 조사하였다.

## 결과 :

- 1) 태아간조직 6례의 재태연령은 12~20주였으며 태아간 단핵세포수는  $2.76 \times 10^7$ 부터  $49.4 \times 10^7$ 로 재태연령에 비례하였다.
- 2) 배양에 따른 집락수는 재태연령에 비례하였고, 임신 15주 이하의 3례에서는 주로 적혈구계 집락이 형성되었다.
- 3) 성장인자 첨가여부에 따른 집락형성능의 변화는 1례에서 병합투여하였을 때 부가적인 효과를 나타내었다.

4) 냉동보관시 세포생존율은 평균 85.0%에서 54.0%(7일째) 및 54.5%(30일째)로 감소하였고, 집락형성도 7일 보관시 냉동전에 비해서 평균 51.7%로 감소하였다.

**결론 :** 태아간세포를 채취하여 세포수와 배양후 조혈모세포의 집락의 수는 재태연령에 비례하였고 냉동보관 후 세포생존율은 감소하였다. 태아간은 조혈모세포 이식 특히, 자궁내 조혈모세포 이식을 위한 좋은 공여세포가 될 수 있으나 실제적 임상적용을 위한 객관적인 자료를 얻기 위해서는 이식에 관계되는 전과정에 걸친 보다 많은 연구가 필요하리라 생각된다.

## 참 고 문 헌

- 1) Luken J L : *Blood formation in the embryo, fetus and newborn. Clinical hematology*. 9th ed. Philadelphia, Lea and Febiger, 1993, pp79-100
- 2) Hann IM, Bodger MP, Hoffbrand AV : *Development of pluripotent hematopoietic progenitor cells in the human fetus*. Blood 62:118-123, 1983
- 3) Muench MO, Roncarolo MG, Namikawa R : *Phenotypic and functional evidence for the expression of CD4 by hematopoietic stem cell isolated from human fetal liver*. Blood 89:1364-1375, 1997
- 4) Crombleholme TM, Langer JC, Harrison MR, Zanjani ED : *Transplantation of fetal cells*. Am J Obstet Gynecol 164:218-230, 1991
- 5) Gale RP : *Development of the immune system in human fetal liver*. Thymus 10:45-56, 1987
- 6) Royo C, Touraine JL, Bouteller DE : *Ontogeny of T lymphocyte differentiation in the human fetus : Acquisition of phenotype and functions*. Thymus 10:57-73, 1987
- 7) Buckley RH, Whisnant JK, Schiff RI, Gilbertsen RB, Huang AT, Platt MS : *Correction of severe combined immunodeficiency by fetal liver cells*. N Engl J Med 294:1076-1081, 1976
- 8) Touraine JL : *In utero transplantation of fetal liver stem cells in human*. Blood Cells 17:379-387, 1991
- 9) Good RA : *Stem cells : Sources and potentials for treatment of human disease*. Blood Cells 17:388-390, 1991
- 10) Potten CS, Loeffler M : *Stem cells and cellular pedigrees- a conceptional introduction*. Stem

- cells. San Diego, Academic press, 1997, pp4-29
- 11) Sieff CA, Nathan DG, Clark SC : *The anatomy and physiology of hematopoiesis. Hematology of infancy and childhood.* Philadelphia, WB Sanders Co., 1998, pp161-236
  - 12) Ema H, Suda T, Miura Y, Nakauchi H : *Colony formation of clone-sorted human hematopoietic progenitors.* Blood 75:1941-1963, 1990
  - 13) Serke S, Sauberlich S, Abe Y, Huhn D : *Analysis of CD34-positive hematopoietic progenitor cells from normal human adult peripheral blood : Flow- cytometrical studies and in-vitro colony (CFU-GM, BFU-E) assays.* Ann Hematol 62:45-53, 1991
  - 14) Thorne ED, Michejda M : *Fetal tissue from spontaneous abortions : A new alternative for transplantation research?* Fetal Ther 4:37-42, 1989
  - 15) Kelemen E, Janossa M, Clavo W, Fliedner TM, Bofill M, Janossy G : *What kind of morphologically recognizable haemopoietic cells do we inject when doing fetal liver infusion in man?* Thymus 10:33-34, 1987
  - 16) Simpson TJ, Golobus MS : *In utero fetal hematopoietic stem cell transplantation.* Semin Perinatol 9:68-74, 1985
  - 17) EK S, Ringden O, Markling L, Westgren M : *Immunologic capacity of human fetal liver cells.* Bone Marrow Transplant 14:9-14, 1994
  - 18) Uphoff DE : *Preclusion of secondary phase of irradiation syndrome by inoculation of fetal hematopoietic tissue following lethal total body X irradiation.* J Natl Cancer Inst 20:625-632, 1958
  - 19) Thomas ED, Storb R, Fefer A : *Aplastic anemia treated by marrow transplantation.* Lancet 1: 284-289, 1972
  - 20) Touraine JL, Roncarolo MG, Royo C, Touraine F : *Fetal tissue transplantation, bone marrow transplantation and prospective gene therapy in severe immunodeficiencies and enzyme deficiencies.* Thymus 10:75-87, 1987
  - 21) Szymanski IO, Tilley CA, Crookston MC : *A further example of human blood group chimerism : Case report.* J Med Genet 14:279-291, 1977
  - 22) Flake AW, Harrison MR, Adzick NS, Zanzani ED : *Transplantation of fetal hematopoietic stem cell in utero : The creation of hematopoietic chimeras.* Science 233:776-778, 1986
  - 23) Harrison MR, Slotnick RN, Crombleholme TM, Golbus MS, Tarantal AF, Zanjani ED : *In-utero transplantation of fetal liver hematopoietic stem cells in monkeys.* Lancet 16:1425-1427, 1989
  - 24) Touraine JL : *The fetal liver as a source of stem cells for transplantation into fetuses in utero.* Curr Top Microbiol Immunol 177:187-193, 1992
  - 25) Metcalf D, Nicola NA : *General introduction to hematopoiesis. The hematopoietic colony stimulating factors.* London, Cambridge Univ Press, 1994, pp11-32
  - 26) Zanjani ED, Pallavicini MG, Ascensao JL, Flake AW, Langloss RG, Reisma M, Mackintosh FR : *Engraftment and long-term expression of human fetal hematopoietic stem cells in sheep following transplantation in utero.* J Clin Invest 89:1178-1188, 1992
  - 27) EK S, Ringden D, Markling L, Dahlberg N, Pschera H, Seiger A, Sundstrom E, Westgren M : *Effect of cryopreservation on subsets of fetal liver cells.* Bone Marrow Transplant 11: 395-398, 1993
  - 28) Tocci A, Rezzoug A, Touraine JL : *Comparison of fresh, cryopreserved and cultured hematopoietic stem cells from fetal liver.* Bone Marrow Transplant 13:641-648, 1994
  - 29) Rowley SD, Anderson GL : *Effect of DMSO exposure without cryopreservation on hematopoietic progenitor cells.* Bone Marrow Transplant 11:389- 393, 1993
  - 30) Thome S, Craze J, Mitchell C : *Dimethylsulphoxide-induced serum hyperosmolality after cryopreserved stem-cell graft.* Lancet 344:1431-1432, 1994
  - 31) Makino S, Harada M, Akashi K, Taniguchi S, Shibusawa T, Inaba S, Niho Y : *A simplified method for cryopreservation of peripheral blood stem cells at -80 degrees C without rate-controlled freezing.* Bone Marrow Transplant 8: 239-244, 1991
  - 32) Gorlin J : *Stem cell cryopreservation.* J Infus Chemother 6:194-198, 1996
  - 33) Westgren M, EK S, Bui H, Hagenfeldt L, Markling L, Pschera H, Seiger A, Sundstrom E, Ringden O : *Establishment of a tissue bank for fetal stem cell transplantation.* Acta Obstet Gynecol Scand 73:385-388, 1994
  - 34) Cohen CB, Jonsen AR : *The future of the fetal tissue bank.* Science 262:1663-1665, 1993
  - 35) Liu DTY : *Fetal tissue banking- the right time is now.* Br J Obstet Gynecol 101:1031-1032, 1994