엔테로이드, 오가노이드 모델과 식품 안전 연구

Organoid Model and Food Safety Research

여다슬[1], 정순탁[1], 권효진[1], 윤단비[1], 황성원[1], 임동재[1], 김송봉[1], 최창순[1]

Daseul Yeo[1], Soontag Jung[1], Hyojin Kwon[1], Danbi Yoon[1], Seongwon Hwang[1], Dong Jae Lim[1], Songfeng Jin[1], Changsun Choi[1*]

[1]중앙대학교 생명공학대학 식품공학부 식품영양학과

[1]Department of Food and Nutrition, School of Food Science and Technology, College of Biotechnology and Natural Resources, Chung-Ang University

최 창 순

Correspondence to

Changsun Choi, DVM, PhD.
Department of Food and Nutrition, School of Food Science and Technology, College of Biotechnology and Natural Resources, Chung-Ang University
E-mail: cchoi@cau.ac.kr

서론

21세기 초반 인플루엔자 바이러스(Influenza virus), 에볼라 바이러스(Ebola virus), 지카 바이러스(Zika virus)를 포함한 신종 인수공통바이러스의 출현은 공중보건에 막대한 위협이 되었다. 특히, 팬데믹을 일으킨 중증급성호흡기증후군 코로나바이러스 2(Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2, SARS-CoV-2)는 신종 바이러스가 초래하는 공중보건 위협의 심각성을 여실히 보여주었다[1]. 동시에 도시화, 기후변화, 야생동물 거래 등으로 인해 향후에도 신종 바이러스성 질병의 출현 가능성이 더욱 증가할 것으로 예측된다[2,3].

이러한 새로운 감염병 시대에 대비하기 위해서는 신종병원체를 연구하고 치료제를 개발하기 위한 실험 모델의 개발이 요구된다. 기존 연구에 활용되던 세포주 배양법, 동물모델의 한계점을 극복하기 위하여 최근 오가노이드와 엔테로이드 모델이 급격히 개발되고 있다 [4,5]. 본 논단에서는 식품안전 분야에서 활용되고 있는 오가노이드와 엔테로이드 모델을 연구 동향과 난배양성 병원체 및 바이러스 연구 응용에 대하여 살펴보고자 하였다.

본론

1. 오가노이드 모델

오가노이드(Organoids)는 줄기세포(Stem cell) 또는 전구세포(Progenitor cells)에서 유래한 다세포 구조체 또는 "미니 장기"로 정의되며, 세포 분류와 공간적으로

제한된 계통 결정을 통해 자가 조직화 할 수 있는 능력을 가진 장기 특이적 세포 유형으로 구성된다~~[23,24]~~[6,7]. 오가노이드 모델은 일반적으로 세포외기질(Extracellular matrix, ECM) 젤에 포매되거나 배지에 부유하는 3차원(3D) 구조이며, 줄기세포 증식에 필수적인 성장인자의 외인성 보충이 필요하다.

최근에는 ECM 코팅 유무와 관계없이 평면에 직접 배양된 세포로 구성된 2D 오가노이드 모델도 많이 확립되었다[8,9]. 오가노이드는 배아줄기세포(Embryonic stem cells, ESCs) 또는 유도만능줄기세포(Pluripotent stem cells, PSCs)나 성체줄기세포(Adult stem cells, ASCs)에서 유래할 수 있다(그림 1). PSC 유래 오가노이드는 각 단계에서 특정 성장인자의 보충이 필요한 단계적 분화 과정을 통해 생성된다[10,11]. 또한 PSC는 세 배엽 모두에서 다양한 조직 유형으로 분화될 수 있다.

PSC 오가노이드는 배아 발생에 고유한 과정을 통해 형성되기 때문에 다양한 유래의 세포를 포함하는 특징이 있다. 따라서 기관 발생, 생체 내 발달, 그리고 이러한 과정에 영향을 미치는 것으로 알려진 바이러스 질환을 연구하는 데 이상적인 모델로 평가 받고 있다. ASC 유래 오가노이드는 성체 조직이나 장기의 조직 거주 줄기세포에서 조직 재생 또는 손상 복구 중 성체 줄기세포 틈새를 모방하여 생성할 수 있다. 따라서 ASC 유래 오가노이드는 생체 내 성체 세포를 높은 정확도로 모델링하지만 일반적으로 상피세포만 으로 구성된 오가노이드로 생성된다(그림2).

2. 노로바이러스 연구에서 Human Intestinal Enteroids (HIEs)와 Human Intestinal Organoids (HIOs)의 활용과 차이점

인체 노로바이러스(HuNoVs)는 전 세계적으로 급성 및 식품 매개 위장염의 주요 원인이다. 일차 및 연속 세포주를 사용한 HuNoVs 배양 시도가 실패하면서 30년 이상 질병 병태생리에 대한 이해와 치료제 개발이 지연되었다.

최근 개발된 인간 장 엔테로이드(HIEs)와 인간 장 오가노이드(HIOs)는 노로바이러스 연구에 중요한 돌파구를 제공하였다. HIEs는 성체 줄기세포에서 유래한 모델로, 최초로 체외에서 인간 노로바이러스(HuNoVs)의 복제를 재현 가능한 방식으로 구현했으며, 장세포가 HuNoV 감염과 복제의 주요 표적임을 확인하였다. 또한 담즙이 체외 바이러스 복제를 위한 균주 의존적 필수 요소임을 밝혔지만, 특정 노로바이러스 유전형과의 상관성만 알려지고 있어 추가적인 연구는 더 필요한 상태이다. 그럼에도 불구하고 HIEs는 다양한 HuNoV 균주에 대한 바이러스 불활성화 전략의 효과를 평가하는 플랫폼을 제공했으며, 조직혈액형 항원

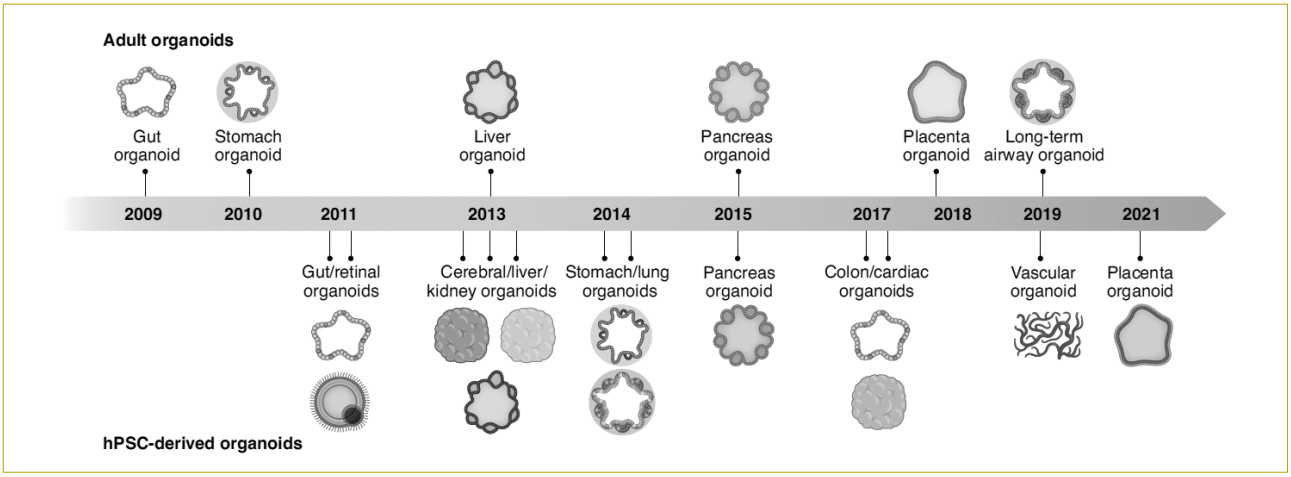

그림 1. 다양한 장기를 모사한 오가노이드 모델 개발 연구 동향 (used from [12] Nature Methods (2022) 19:418–428)

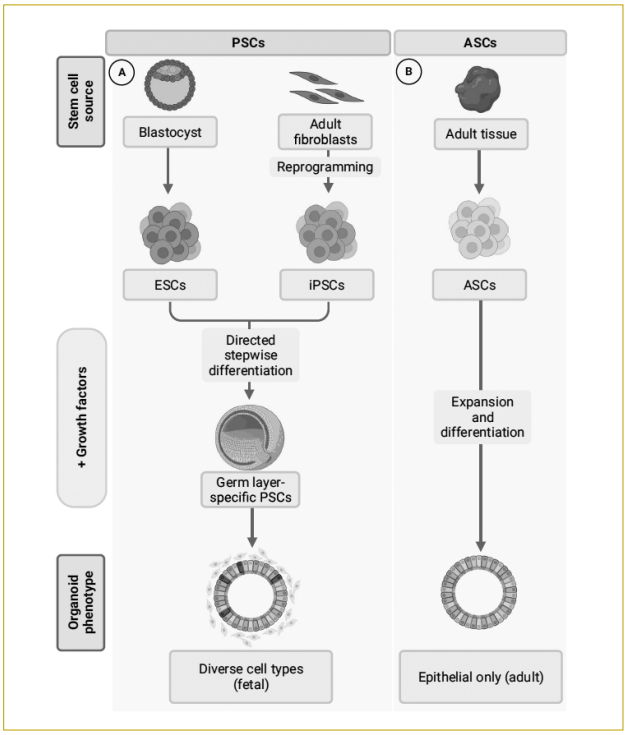

그림 2. 성체줄기세포와 유도만능줄기세포를 이용한 오가노이드 제작 (Used from [13] npj Viruses (2024) 2:5)

에 대한 균주 의존적 HuNoV 결합 특이성을 보여주었다.

최근 개발된HIOs는 유도만능줄기세포에서 유래한 오가노이드 모델로, HIEs와 마찬가지로 HuNoV 연구에 활용되었다. HIE와 HIO 모델의 공통점과 차이점은 다음 표 1과 같다 (표1). HuNoVs 연구의 성공에 이어 HIO모델은 인체 로타바이러스, 에코바이러스(E11), 콕사키 B 바이러스(CVB), 엔테로바이러스 71과 같은 다른 장내 바이러스의 감염성과 숙주 반응을 비교하는 데도 채택되었다[14,15,16,17]. 동일한 연구에서 수행된 감염된 2D 장 세포주에서의 관찰과 달리, HIO 모델에서 각 장내 바이러스에 의해 유발된 감염성과 염증 반응 프로파일은 뚜렷한 차이를 보였다. 특히 CVB와 E11은 장 오가노이드에서 더 높은 효율로 복제할 수 있었지만, 항바이러스 신호와 관련된 ISG, 사이토카인, 케모카인 전사체의 강력한 유도는 E11 감염 후에만 관찰되었다[17]. 이는 HIOs가 위장관 세포 장벽에서의 중요한 숙주-병원체 상호작용을 밝히는 데 유망한 인체 관련 모델임을 보여주었다.

두 모델 모두 인체 장 조직의 특성을 잘 반영하며 다양한 연구에 활용될 수 있지만, 각각의 특성에 따라 연구 목적에 맞게 선택하여 사용할 수 있을 것으로 보인다.

3. SARS-CoV-2 연구와 오가노이드 활용

SARS-CoV-2 연구에 오가노이드가 광범위하게 활용되었다. 인체 기도 조직에서 유래한 기도 오가노이드(Airway organoid, AO)를 통해 ACE2와 TMPRSS2를 발현하는 섬모 세포가 초기 감염의 주요 표적임을 확인하였다. 또한 비강 상피 오가노이드 모델에서 SARS-CoV-2가 운동성 섬모의 ACE2 수용체에 결합하여 연장된 첨단 미세융모를 형성하고 이를 통해 점액층을 가로질러 바이러스가 전파됨을 발견했다. 폐포 오가노이드 연구를 통해 인터페론 매개 반응과 세포사멸 증가, AT2 세포

표 1. Human intestinal enteroids (HIEs)와 human intestinal organoids (HIOs)의 비교

특성	Intestinal Enteroid	Intestinal Organoid
기원	성체 장 조직의 줄기세포	유도만능줄기세포 (PSCs)
구조	상피세포로만 구성	상피세포와 간엽세포 모두 포함
세포 유형	장상피 세포 유형 모두 포함 (장줄기세포, 장세포, 고블렛세포, 파넷세포, 장내분비세포 등)	장상피 세포 유형과 간엽 세포 유형 모두 포함
성숙도	성체 장 조직과 유사	태아기 장 조직과 유사
분화 정도	높음	상대적으로 낮음
유지	장기간 계대배양 가능	장기간 계대배양 가능
유전적 안정성	원래 조직의 유전적 특성 유지	원래 조직의 유전적 특성 유지
장 부위 특이성	유지 (소장/대장 특이적 특성 보존)	유지 (소장/대장 특이적 특성 보존)

의 성숙 표현형 상실 및 세포사멸 등 폐포 감염 시 염증 상태의 주요 특징을 밝혔습니다[18,19,20].

소장 오가노이드(Human small intestinal organoid) 모델에서 장상피 세포가 SARS-CoV-2 복제를 지원하며, I형 및 III형 인터페론 반응과 관련된 유전자 발현이 유도됨을 확인했습니다[21]. 심장, 폐, 장 오가노이드를 이용한 약물 스크리닝을 통해 SARS-CoV-2 진입 억제제, 복제 억제제, 심장 보호 약물 등을 발굴했습니다[22, 23].

4. 지카 바이러스 (ZIKV)

ZIKV 연구에서 인간 PSC 유래 대뇌 오가노이드를 이용해 ZIKV 감염이 대뇌 피질층 파괴, 증식 영역 감소, 기능성 뉴런 감소를 유발함을 보여주었습니다[12,13]. 특히 뇌 오가노이드 연구를 통해 아시아 및 아프리카 ZIKV 균주가 신경 전구체를 선택적으로 감염시키고 조기 분화를 유발함을 확인했으며, ZIKV 감염 후 신경 전구체와 분화된 뉴런의 DNA 메틸화 변화를 관찰하였다.

5. 오가노이드의 한계점과 향후 전망

오가노이드가 바이러스 및 다양한 병원체 연구에 널리 활용되면서, 각 시스템의 장단점을 파악하고 한계를 극복하는 것이 중요해 졌다. 성체줄기세포 유래 오가노이드는 성인 조직 상피의 구조와 기능을 잘 대표하지만, 기질, 면역, 혈관 등 상피 외 구성요소가 부족하다. 반면 유도만능줄기세포 유래 오가노이드는 상피와 간엽 층을 모두 포함하지만, 완전히 분화된 상태에서도 태아나 신생아 세포 표현형을 유지하는 경향이 있다[24,25].

현재까지 개발된 오가노이드 모델의 공통적인 단점은 면역세포 집단의 부재입니다. 이는 바이러스 질병 모델링에 있어 중요한 요소입니다. 과도한 염증이나 기능 이상 면역반응이 직접적인 감염만큼이나 숙주 손상에 중요한 역할을 하기 때문입니다[26].

따라서 차세대 오가노이드 플랫폼으로 오가노이드에 면역세포를 포함시키는 방법이 시도되고 있음에 주목할 필요가 있다. 유도만능줄기세포 유래 심근세포와 단핵구/대식세포를 이용한 면역-심장 공배양 플랫폼 연구에서는 SARS-CoV-2 감염 시 심근세포가 분비하는 주요 케모카인으로 CCL2를 확인했다[27]. 또 다른 연구에서는 대식세포가 분비하는 IL-6와 TNF-α가 심근세포의 활성산소종 증가와 세포사멸을 유도함을 보여주었다[28].

최근 개발된 복합 폐 오가노이드 모델은 분화된 폐 상피계통, 간엽 구성요소, 조직 상주 면역세포 아형을 유지하며, SARS-CoV-2 감염 후 선천성 및 적응성 면역반응이 생체 내 임상 관찰과 유사함을 보여주었다[12]. 이외에도 다양한 호흡기 바이러스 연구에 면역 공배양 모델이 활용되고 있다[29].

미세유체 기반 장기-온-칩(Organ-on-a-chips)은 개별 조직이나 장기에서의 바이러스 질병 병태생리를 넘어 전신 질환을 재현할 수 있는 모델로 주목받고 있다. 이 기술은 조직 장벽, 혈관 흐름, 시공간적 기계적/화학적 구배, 순환 면역세포 동원 등 기존 오가노이드 플랫폼의 단점을 보완할 수 있을 것이다[30]. 최근에는 여러 장기를 통합한 "신체 칩"을 개발하여 장기 간 소통과 전신 기능을 시뮬레이션하려는 노력도 이루어지고 있다[31].

결론

지난 10년간 오가노이드 플랫폼은 바이러스-숙주 상호작용과 질병 병태생리에 대한 중요한 지식 격차를 해소하며 바이러스 연구에 크게 기여했습니다. 이러한 모델은 기존의 실험 플랫폼에 비해 다루기 쉽고 인체 생리학적 관련성이 높다는 장점을 보여주었다. 오가노이드가 바이러스학 연구 뿐만 아니라 다양한 병원체 연구를 위한 체외 모델로 더욱 중요해짐에 따라, 현재 플랫폼의 주요 단점들을 해결해야 할 것이다. 면역 공배양 모델, 미세유체 기반 장기 칩, CRISPR 편집 오가노이드 등 차세대 오가노이드 플랫폼은 바이러스와 식중독 병원체 연구에 더욱 적합한 오가노이드 기술을 개발하는 데 큰 도움이 될 것으로 기대되며, 식품안전 신기술로 적극 도입될 필요가 있을 것으로 사료된다.

참고 문헌

1. Rulli, M. C. et al. Land-use change and the livestock revolution increase the risk of zoonotic coronavirus transmission from rhinolophid bats. Nat. Food 2, 409 - 416 (2021).
2. Carlson, C. J. et al. Climate change increases cross-species viral transmission risk. Nature 607, 555 - 562 (2022).
3. Jones, K. et al. Global trends in emerging infectious diseases. Nature 451, 990 - 993 (2008).
4. Scherer, W. F., Syverton, J. T. & Gey, G. O. Studies on the propagation in vitro of poliomyelitis viruses. J. Exp. Med. 97, 695 - 710 (1953).
5. Sasaki, M. et al. SARS-CoV-2 variants with mutations at the S1/S2 cleavage site are generated in vitro during propagation in TMPRSS2-deficient cells. PLOS Pathog. 17, e1009233 (2021).
6. Lancaster, M. A. & Knoblich, J. A. Organogenesis in a dish: modeling development and disease using organoid technologies. Science 345, 1247125 (2014).
7. Sato, T. & Clevers, H. Growing self-organizing mini-guts from a single intestinal stem cell: mechanism and applications. Science 340, 1190 - 1194 (2013).
8. Chiu, M. C. et al. A bipotential organoid model of respiratory epithelium recapitulates high infectivity of SARS-CoV-2 Omicron variant. Cell Discov. 8, 57 (2022).
9. Braverman, J. & Yilmaz, Ö. H. From 3D organoids back to 2D enteroids. Dev. Cell 44, 533 - 534 (2018).
10. Takahashi, K. & Yamanaka, S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. Cell 126, 663 - 676 (2006).
11. Barker, N. et al. Identification of stem cells in small intestine and colon by marker gene Lgr5. Nature 449, 1003 - 1007 (2007).
12. Han, Y., et al. Human organoid models to study SARS-CoV-2 infection. Nature Methods 19:418-428 (2022).
13. Chu, J.T.S., & Lamers, M.M. Organoids in virology. Npj viruses 2:5 (2024).
14. Zhang, D. et al. Human intestinal organoids express histo-blood group antigens, bind norovirus VLPs, and support limited norovirus replication. Sci. Rep. 7, 12621 (2017).
15. Finkbeiner, S. R. et al. Stem cell-derived human intestinal organoids as an infection model for rotaviruses. mBio 3, e00159 - 12 (2012).
16. Saxena, K. et al. Human intestinal enteroids: a new model to study human rotavirus infection, host restriction, and pathophysiology. J. Virol. 90, 43 - 56 (2016).
17. Villenave, R. et al. Human gut-on-a-chip supports polarized infection of Coxsackie B1 virus in vitro. PLOS ONE 12, e0169412 (2017).
18. Katsura, H. et al. Human lung stem cell-based Alveolospheres provide insights into SARS-CoV-2-mediated interferon responses and pneumocyte dysfunction. Cell Stem Cell 27, 890 - 904.e8 (2020).
19. Mulay, A. et al. SARS-CoV-2 infection of primary human lung epithelium for COVID-19 modeling and drug discovery. Cell Rep. 35, 109055 (2021).
20. Youk, J. et al. Three-dimensional human alveolar stem cell culture models reveal infection response to SARS-CoV-2. Cell Stem Cell 27, 905 - 919.e10 (2020).
21. Lamers, M. M. et al. SARS-CoV-2 productively infects human gut enterocytes. Science 369, 50 - 54 (2020).
22. Han, Y. et al. Identification of SARS-CoV-2 inhibitors using lung and colonic organoids. Nature 589, 270 - 275 (2020).
23. Mills, R. J. et al. BET inhibition blocks inflammation-induced cardiac dysfunction and SARS-CoV-2 infection. Cell 184, 2167 - 2182.e22 (2021).
24. Camp, J. G. et al. Human cerebral organoids recapitulate gene expression programs of fetal neocortex development. Proc. Natl. Acad. Sci. 112, 15672 - 15677 (2015).
25. Hrvatin, S. et al. Differentiated human stem cells resemble fetal, not adult, β cells. Proc. Natl. Acad. Sci. 111, 3038 - 3043 (2014).
26. Liu, J. et al. Longitudinal characteristics of lymphocyte responses and cytokine profiles in the peripheral blood of SARS-CoV-2 infected patients. EBioMedicine 55, 102763 (2020).
27. Yang, L. et al. Cardiomyocytes recruit monocytes upon SARS-CoV-2 infection by secreting CCL2. Stem Cell Rep. 16, 2274 - 2288 (2021).
28. Yang, L. et al. An immuno-cardiac model for macrophage-mediated inflammation in COVID-19 hearts. Circ. Res. 129, 33 - 46 (2021).
29. Luukkainen, A. et al. A co-culture Model of PBMC and stem cell derived human nasal epithelium reveals rapid activation of NK and Innate T cells upon influenza a virus infection of the nasal epithelium. Front. Immunol. 9, 2514 (2018).
30. Bhatia, S. N. & Ingber, D. E. Microfluidic organs-on-chips. Nat. Biotechnol. 32, 760 - 772 (2014).
31. Picollet-D'hahan, N., Zuchowska, A., Lemeunier, I. & Le Gac, S. Multiorgan-on-a-Chip: a systemic approach to model and decipher inter-organ communication. Trends Biotechnol. 39, 788 - 810 (2021).