

오가노이드 바이오뱅크 현황과 과제

박봉현 과장 한국바이오협회 산업정책본부 정책분석팀
장세진 교수 울산의대

☞ 시작하며

실험동물은 비임상시험에 유용한 모델이지만 시간과 비용이 많이 들며 여러 가지 제한점이 있다. 최근에는 여러 나라에서 동물시험의 윤리적 문제와 사람과의 종간 차이로 인한 예측오류 가능성 등으로 동물시험을 금지하는 것을 고려하고 있어서 실험동물을 사용한 시험을 대체하고 실험실에서 인체와 유사한 환경을 시뮬레이션할 수 있는 시스템에 대한 연구의 필요성이 증가하고 있다. 체외 2차원 세포배양 모델은 상대적으로 저렴하고 구현이 용이하며 상당한 양의 참조 데이터를 확보할 수 있어 많이 사용되었지만 평면적 환경에서 배양하는 조건에서는 실제 생리학적 세포환경을 제시하기에는 한계가 있다. 줄기세포, 조직공학 등 기술의 발전으로 다양한 3차원(3D) 세포배양 모델이 개발되었는데, 특히 생체 구조를 모사하는 오가노이드는 만능줄기세포, 성체 줄기세포, 암세포에서 유래한 장기 특이적 조직구조를 가진 세포 배양체로 개발되어, 약물 스크리닝과 비임상 시험을 위한 유망한 모델로 여러 국가에서 연구 개발하여 활용하고 있다. 암조직 유래 오가노이드 즉 종양오가노이드는 암 환자를 위한 맞춤형 의약품에 대한 수요가 증가함에 따라 최적의 비임상모델로 사용되면서 그 생산이 늘어나고 있다. 종양 오가노이드의 체계적인 수집 및 보관을 위한 바이오뱅크가 점차 구축되고 있으며 이는 암 연구 및 임상시험을 위한 기본적인 모델이 될 것으로 전망된다. 본 브리프에서는 종양 오가노이드의 현황과 바이오뱅크 및 이슈들에 대해 알아보도록 한다.

☞ 종양 오가노이드(Tumor Organoids)

최근 종양에 대한 면역치료 및 표적치료법이 상당한 진전이 있었지만 여전히 혁신적인 항암제 개발의 사회적 요구는 매우 크다. 항암 신약개발의 가장 큰 장애물은 생명과학적 연구성과를 임상으로 이행하기 위한 비임상 연구가 사람에서의 효과를 효율적으로 예측하지

못한다는 것이다. 이를 극복하는 핵심은 사람에서의 반응과 유사한 최적의 비임상 연구모델을 선택하는 것이다. 환자유래 이종이식 모델(PDX) 및 동물모델과 같은 기존 연구모델은 고유의 장점과 단점이 있다. PDX는 개별 환자의 약물 민감도를 결정하는 데 널리 사용되었으나 이식 성공률은 암종에 따라 큰 차이를 보이며, 원발 종양의 비균질성으로 인해 이식된 작은 종양조직 조각이 원발성 종양의 특성을 제대로 반영하지 못할 수 있다. 또한 시험에 적합한 수준으로 PDX를 계대 배양하여 구축하기에는 수개월 이상이 소요되고 비용이 많이 든다. 환자유래 종양 오가노이드 모델은 원발 종양의 조직학적, 유전체적 특성을 유지할 뿐만 아니라 종양의 이질성을 반영하며, 세포주 시험과 비슷하게 대량 고속시험이 가능하다는 장점이 있어 그 대안으로 떠오르고 있다. 기본적으로는 신선한 종양 조직에서 종양세포를 추출하여 특정 기질 내에서 3차원으로 배양함으로써 형성되며 암종에 따라 다양한 배양조건이 보고되어 있다.

종양 오가노이드 기술의 발전과 함께 암 정밀의료의 맥락에서 환자 유래 종양 오가노이드(PDTO)를 환자의 항암제 반응성을 예측하는 검사도구로도 사용하고자 하는 시도가 있다. PDTO의 조직유형 과 유전자 변이 프로파일링을 보면 수 세대 계대배양 후에도 원래 종양의 특성을 잘 보존하고 있으며 핵심 암유전자 변이의 경우 동일한 유전자 돌연변이 스펙트럼을 유지하는 것으로 밝혀져서 암오가노이드 기술의 임상적용 가능성이 제시되고 있다. 그러나 임상적용을 위해서는 아직 몇 가지 주요 병목현상을 해결해야 한다.

1) 조직 획득

수술검체를 이용하여 종양 오가노이드를 구축하려는 시도는 충분한 양의 조직을 확보할 수 있다는 장점이 크지만 체취로부터 배양까지의 시간관리가 안 될 경우 성공률이 떨어지고, 조직생검(Biopsy)을 통해 채취한 작은 조직으로 종양 오가노이드를 구축하는 경우는 시작물질이 부족하여 종양 오가노이드의 생존을 위한 세포 상호작용이 제한되어 성공률이 떨어질 수 있다. 전이성 암의 경우 원발 조직과 전이 조직 사이에 나타날 수 있는 종양의 이질성을 고려하여 PDTO 확립을 위한 조직을 얻을 부위를 선정해야 한다.

2) 성공률

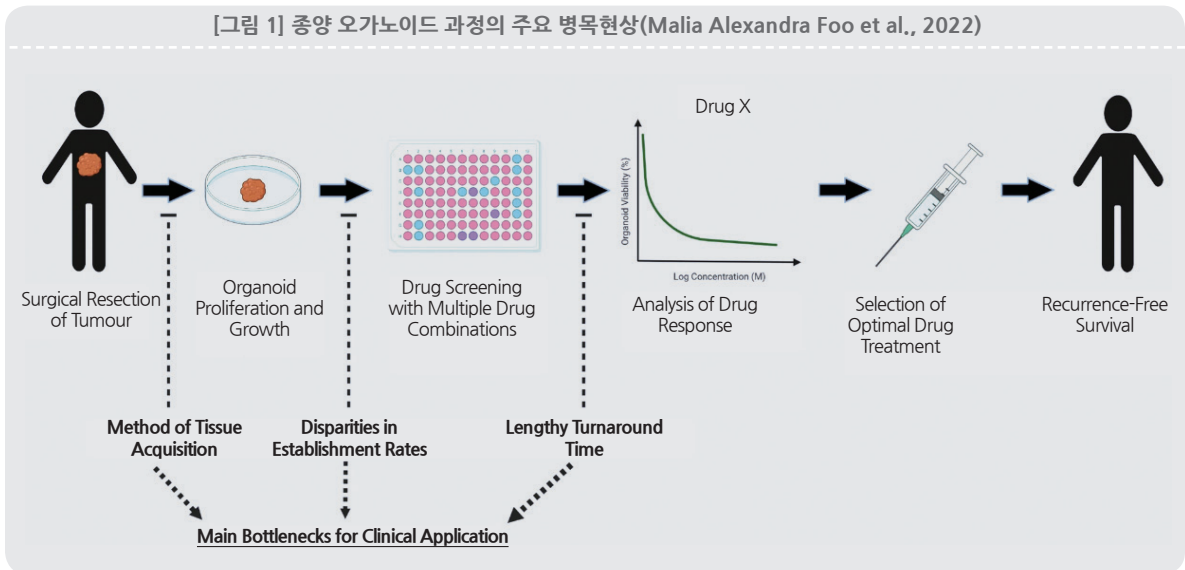
PDTO는 다양한 암에서 구축되었지만 성공률은 16%에서 100%까지 큰 차이를 보인다. 실패의 주요 요인은 정상세포가 섞여 들어가 종양 오가노이드 보다 빠르게 성장하는 경우, 섬유조직이 채워져 종양오가노이드 성장을 방해하는 경우 등 다양하다. 특히 정상세포의 오염을 최소화하기 위해 조직 추출과정을 개선하려는 노력에도 불구하고 모든 오가노이드 배양을 어렵게 하는 문제 중 하나이다. 두 번째로는 특정 종양 오가노이드를 성장시키기 위한 일관된 배양조건이 없다. 현재 종양 오가노이드를 구축하는데 사용되는 배양 프로토콜은

초기에 Lgr5+ 장 줄기세포 형태의 장 오가노이드를 성장시키는 데 사용되었던 Sato 연구를 기반으로 암종에 따라 다양하게 변형하여 사용하고 있으며 종양 오가노이드 확립을 위한 검증된 배양배지는 없다. 연구자들은 종양 오가노이드 성장에 필요한 성장인자들을 포함하여 배양 프로토콜을 자체적으로 수정하여 사용하고 있다. 마지막으로 표준화된 배양 프로토콜이 부족하다. 이는 배치 간 변동과 연구기관 내 전반적인 품질관리 부족으로 이어질 수 있다. 더욱이, PDTO를 확립하기 위해 환자 암조직을 처리하고 준비하는 것이 기술적으로 어렵기 때문에 훈련된 인력이 필요하다.

3) 기간

항암제 약물 스크리닝을 위해서는 PDTO를 확립하는데 걸리는 4~6주의 시간과 항암제 처리 및 평가 시간도 고려해야 하고, 평가방법도 확립된 것이 없다. 또한 각 유형의 암에 대해 스크리닝 할 약물의 확립된 참고 데이터가 없어 종양 오가노이드 약물 스크리닝의 총 예상기간이 모호해지기도 한다.

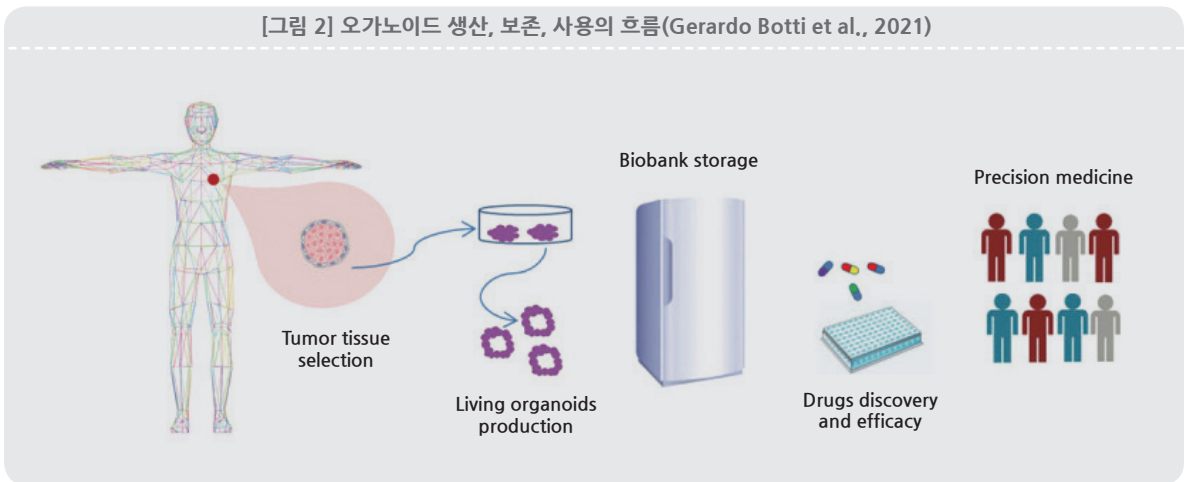
[그림 1] 종양 오가노이드 과정의 주요 병목현상(Malia Alexandra Foo et al., 2022)



바이오뱅크 개요

비임상모델로서의 오가노이드 잠재력과 환자 맞춤형 항암제를 만들려는 필요성이 증가함에 따라 암의 다양성을 고려할 때 다수의 암 환자로부터 확립한 다양성을 갖춘 살아있는 종양 오가노이드 컬렉션을 구축해야 할 필요성이 대두된다. 다양한 암조직을 바이오뱅크에 저장하는 것이 향후 연구를 위해 광범위한 기회를 제공한다는 것은 오랫동안 인식되어 왔다. 이러한 바이오뱅크의 가치는 환자의 임상정보와 함께 암 조직의 처리 및 저장을 포함하는 품질관리가 엄격하게 된 암조직과 대조군으로서의 정상조직 등을 확보하고 있을 때 극대화된다. 오가노이드 바이오뱅크는 바이오뱅크에 암조직 뿐만 아니라 세포주 은행처럼 살아있는 암오가노이드를 보관 관리하는 고도화된 형태의 바이오뱅크라 할 수 있다. 이를 이용하면 종양 바이오마크 개발 등 기존의 암 바이오뱅크를 이용한 연구 뿐만 아니라 항암제 약물 스크리닝 및 항암 후보약물 유효성 평가와 관련된 연구를 지원할 수 있다. 동시에 약물 반응과 관련된 특정 바이오마커를 식별할 수 있다. 종양 오가노이드 바이오뱅크는 질병 모델링, 신약 개발, 고속 약물 스크리닝 등 종양 생물학적 기초연구와 항암제 개발에 활용될 수 있다. 오가노이드의 임상적 활용과 대규모 적용을 위해서는 우수한 품질관리 시스템을 갖추는 것이 필요하다.

[그림 2] 오가노이드 생산, 보존, 사용의 흐름(Gerardo Botti et al., 2021)



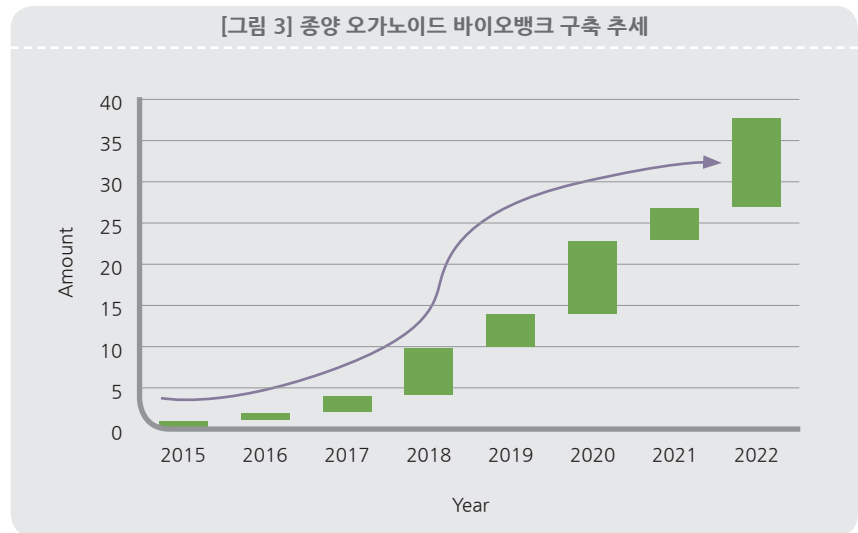
국제적으로는 네덜란드 후브레흐 대학(Hubrecht Institute) 및 네덜란드 왕립 예술 과학 아카데미(KNAW) 등이 협력하여 설립한 오가노이드 바이오뱅크는 최대 규모의 컬렉션을 보유한 가장 잘 알려진 오가노이드 바이오뱅크이다. 유방, 결장, 두경부 종양, 장, 간, 폐, 난소 및 체장 종양을 포함하여 다양한 기관 및 질병에서 1,000개 이상의 오가노이드를 수집했을

뿐만 아니라 낭포성 섬유증 환자 다수의 장 오가노이드를 확립하여 보유하고 있다. 낭포성 섬유증 환자 유래 오가노이드의 경우 치료전략을 위한 특정 약물에 대한 민감도 정보와 함께 모든 계열의 유전적 및 조직학적 데이터를 이용할 수 있다. 학술기관 외에도 Sigma-Aldrich, ATCC(American Type Culture Collection), Cellesce, DefiniGEM 등 상업기관이 설립한 바이오뱅크는 건강한 개인과 환자를 대상으로 유도만능줄기세포(iPSC) 또는 1차 조직에서 얻은 대량의 환자유래 오가노이드를 저장하고 있다. 생성된 오가노이드 배양물과 기증자 모두에 대한 자세한 정보도 제공되며 분자 프로파일링, 약물 스크리닝 결과 등의 정보가 포함된다.

바이오뱅크 현황

PDTO 바이오뱅크는 점점 더 많이 설립되고 있으며 이는 오가노이드 배양 기술의 성숙도가 높아짐을 반영하고 있다.

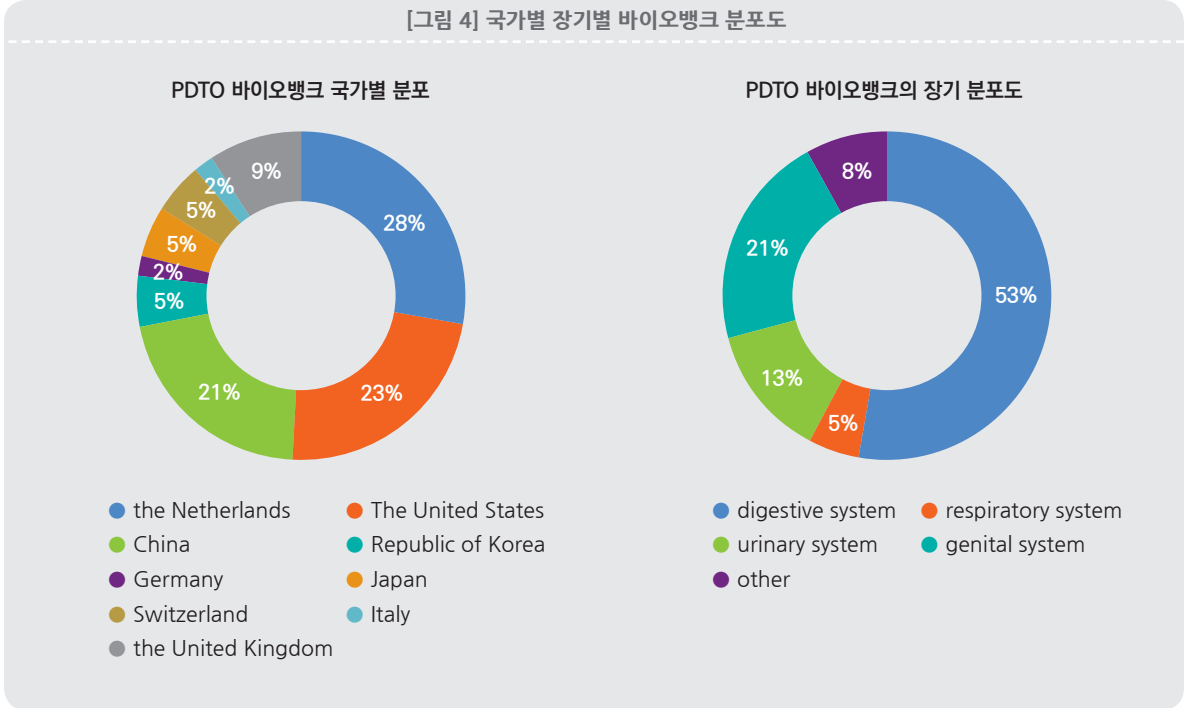
[그림 3] 중앙 오가노이드 바이오뱅크 구축 추세



PDTO 바이오뱅크를 구축한 모든 국가 중에서 네덜란드, 미국, 중국이 상위 3개국을 차지하였으며 소화기 및 생식기 부분이 가장 많은 바이오뱅크를 구축하였다. 국내에서도 서울아산병원의 경우 2016년도 부터 산업자원부에서 지원한 연구개발과제를 통해 폐암, 대장암, 위암, 간암 및 난소암을 포함하는 오가노이드 바이오뱅크를 확립하여 800 종 이상을 확보하고 있고, 바이오벤처에 기술을 이전하여 암 오가노이드를 이용한 항암제 효능평가 기술

개발과 항암제 개발에 활용하고 있으며, 폐암 오가노이드 바이오뱅크로는 세계 최대 최고의 바이오뱅크로 평가되고 있다.

[그림 4] 국가별 장기별 바이오뱅크 분포도



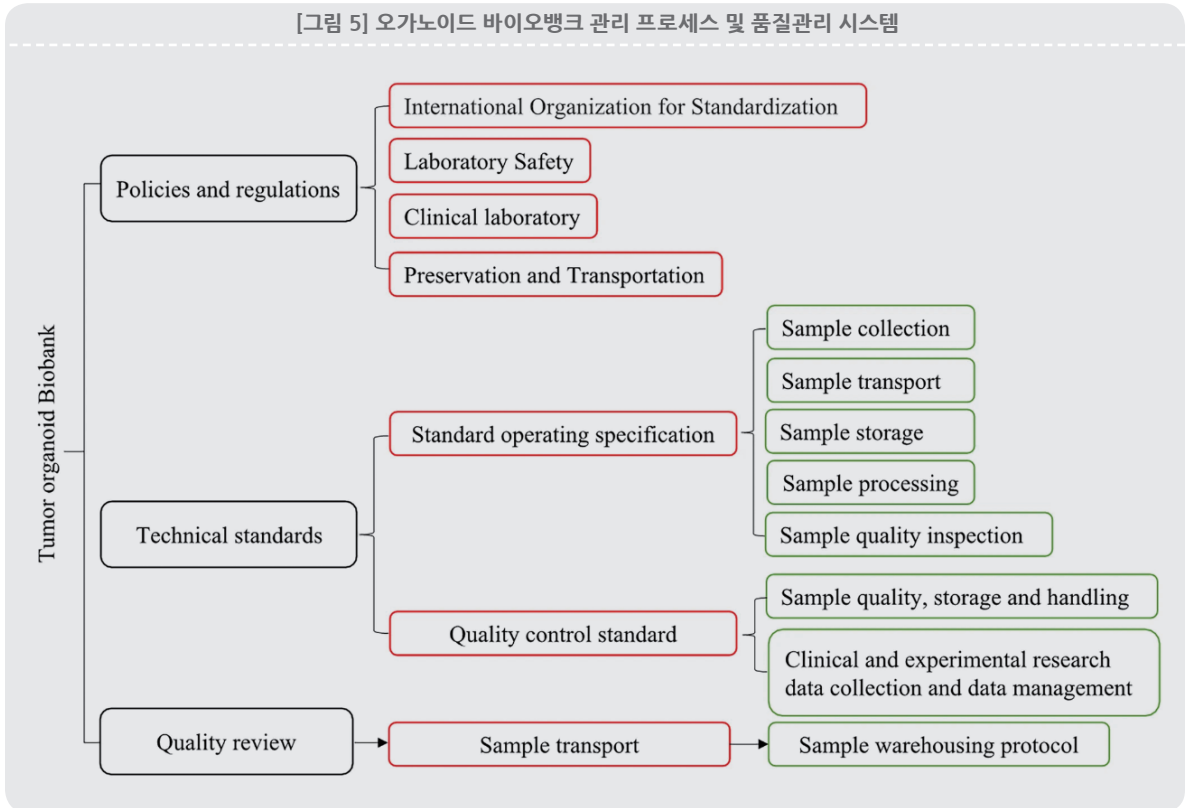
통계 분석에 따르면 바이오뱅크에는 조직소스 및 유형, 임상특성 및 오가노이드 수에 대한 정보가 포함되어 있다. 그러나 많은 경우에 오가노이드 소생 성공률과 세균오염 등 품질관리 데이터가 문서화 되어 있지 않은 것으로 조사되었다.

🏥 바이오뱅크 이슈들

1) 품질관리

(시스템) 바이오뱅크 구축의 기본 기준은 안전성, 정확성, 편의성이다. 정확하고 완전하며 추적이 가능한 고품질 샘플 데이터는 임상연구의 정확성과 신뢰성에 중요한 역할을 한다. 바이오뱅크 활동, 프로세스 및 절차와 관련된 정보는 이해하기 쉬운 형식으로 문서화 되어야 하며 샘플링에 의한 오염 여부를 관리하고 정기적으로 테스트하기 위해서는 전담 인력이 필요하다. 관리 시스템의 내용에는 정책 및 규정, 기술기준 및 시료관리가 포함된다.

[그림 5] 오가노이드 바이오뱅크 관리 프로세스 및 품질관리 시스템



(배양공정) 종양 오가노이드 배양 및 소생의 성공률은 바이오뱅크 구축에 매우 중요하며 이는 PDO 배양과정의 품질관리로 이어진다. 신선한 조직을 얻는 것이 첫 번째 단계이다. 원칙적으로 신선한 조직은 보존액에 3일 동안 보관할 수 있지만 허혈성 시간을 최소화해야 하며 조직 불순물 제거, 물리적 및 효소적 해리, 플레이트 파종 등의 단계를 거쳐 배양하게 된다. 현재 장기보관 후에도 조직샘플을 냉동 보존한 후 오가노이드를 성공적으로 확립할 수 있는 여러 프로토콜이 발표되었다. 그러나 경험에 따르면 냉동조직 샘플에서 생성된 오가노이드는 신선한 조직에서 파생된 배양과 동일한 성장특성 및 형태를 나타내는 것으로 보이지만, 동결-해동 주기 및 장기보관은 생성된 오가노이드의 세포기능에 영향을 미칠 수 있다. 이 문제를 해결하기 위해 냉동방법과 보관기간에 대한 상세한 정보를 문서화하여 기록해야 한다.

또한 오가노이드의 오염 이슈도 품질관리에 중요한 요소이다. 플레이트를 심은 후 3일 이내에 주의를 기울여야 하며 교차오염을 방지하기 위해서는 적시에 처리해야 한다.

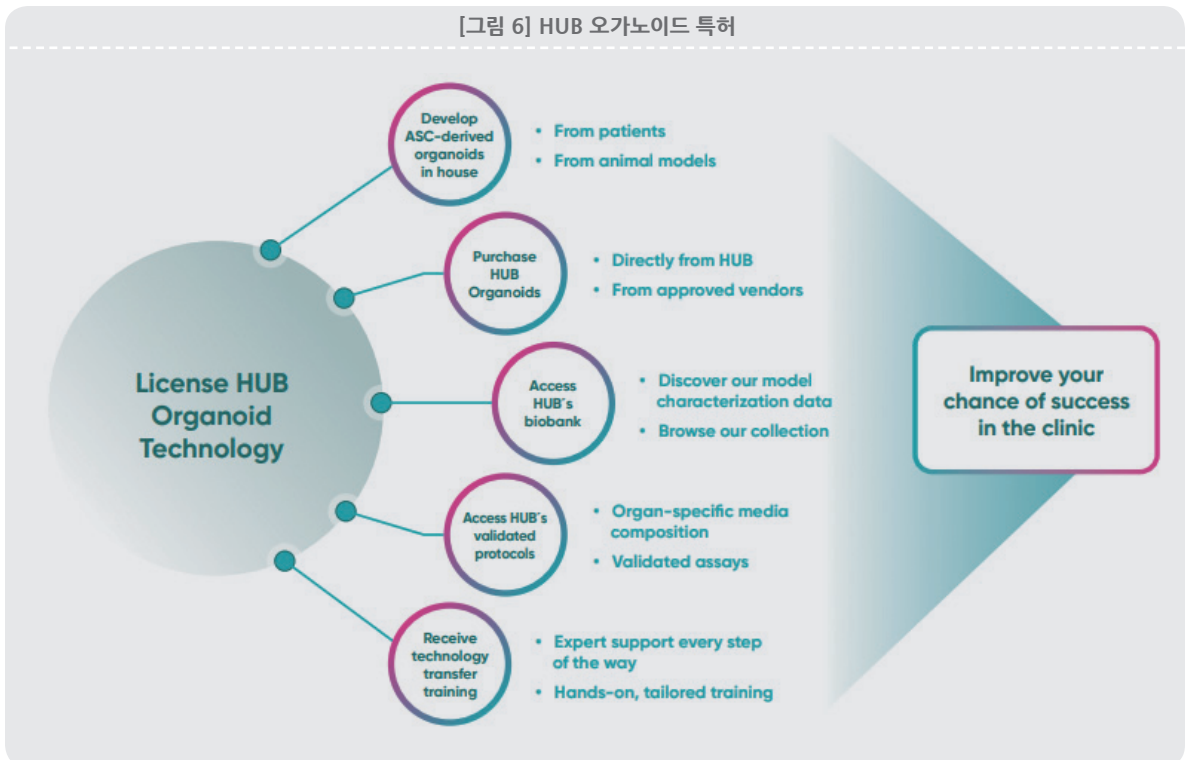
2) 특허

성체 줄기 세포로부터 오가노이드를 만드는 기술에 대한 특허는 네덜란드 휘브레흐트 오가노이드 테크놀로지(Hubrecht Organoid Technology, HUB)가 독점 라이선스를 보유하고 있다. 네덜란드 왕립 과학아카데미와 위트레흐트 의과대학이 공동으로 설립한 재단으로 14개 특허 클래스의 50개 이상의 광범위한 범위로 특허를 소유하고 있다.

HUB 오가노이드 기술은 오가노이드의 모든 측면을 다루며 다음의 4가지가 포함된다. 1) 제품: 인간 및 동물 상피 모두에서 추출한 성체줄기세포 유래 오가노이드 2) 배지구성: 맞춤형 장기별 배양 조성물 3) 활용: 약물개발, 진단, 재생의학에 이르기까지 모든 분야에서 오가노이드 기술의 사용 4) 방법론: 설립, 확장 및 차별화를 위한 최적화된 프로토콜

HUB 오가노이드 기술은 오가노이드(제조)의 모든 측면을 포괄하고 있어 오가노이드를 사용하려는 회사가 이를 피하기 어렵다, 기술을 사용하기 위해서는 약 5억 원의 라이선스 비용과 러닝 로열티 그리고 임상시험마다 마진료를 지불해야 하는 것으로 알려져 있다.

[그림 6] HUB 오가노이드 특허



3) 윤리적 고려사항

연구목적으로 인체 조직을 2차적으로 사용하는 경우 생명윤리 및 안전에 관한 법률에 의해 서면 동의를 받아야 하고 익명화를 해야 한다. 즉, 연구자는 기증자의 동의를 얻거나 샘플의 신원을 삭제해야 한다. 대개 바이오뱅크의 경우 인체자원은 기증에 의해 수집이 되며 연구 목적으로 인체자원을 활용할 때 관례상 동의를 구하거나 익명화하는 것이 일반적이거나, 현재 빅데이터 연구와 유전체학의 발전을 고려할 때 완전한 익명화가 보장되는지는 의문인 상황이다.

하지만 다른 관점으로는 인체 조직의 완전한 익명화는 바람직하지 않다는 주장도 있다. 비식별화는 오가노이드의 과학적, 임상적 유용성을 감소시키기 때문이다. 예를 들어, 오가노이드와 개인 및 생물학적 데이터의 결합이 누락된 경우 진단, 약물 가능성 또는 기타 관련 연구결과를 기증자에게 적용할 수 없기 때문에 정밀의학에 적합하지 않다.

익명화가 바람직하지 않거나 불가능한 경우 적절한 사전 동의 모델이 있어야 한다. 하지만 다양한 이유로 달성하기 어려울 수 있다. 첫째, 오가노이드의 잠재적 임상적용이 알려져 있지 않아 사전동의 과정의 일부로 기증자 샘플의 향후 사용 및 보관 가능성을 예측하고 설명하기 어렵다. 둘째, 연구용 오가노이드 구축 과정에 많은 주체가 참여하므로 정보에 관련된 주체들의 가치, 이익 및 장기적인 참여를 보장하고 균형을 맞추기 어렵다. 예를 들어, 오가노이드 바이오뱅크는 과학적 지식의 창출을 목표로 하고 기업은 기증자 조직에서 생성된 오가노이드의 상업화에 관심이 있는 반면 기증자는 자신이나 다른 환자의 건강상태를 개선하기 위한 오가노이드 유용성에 관심이 많다. 셋째, 기증자로부터 채취한 조직을 사용하여 뇌 유기체와 같은 윤리적으로 민감한 조직물을 생성할 수 있다. 조사에 따르면 뇌 유기체가 감정과 같은 기증자의 개인적인 측면을 드러낼 것으로 우려하는 환자 또는 비전문가들이 있다. 넷째, 기증자와 샘플간의 연결은 오가노이드 연구에서 임상적 관련성이 있지만 개인정보 보호를 어렵게 만든다. 추적 가능성의 위험 및 잠재적 결과가 알려지지 않은 경우가 많다는 사실은 이러한 측면을 사전동의의 프로세스에 적절히 통합할 필요가 있음을 시사한다.

맺음말

많은 연구자들이 다양하고 효율적인 오가노이드 배양 시스템을 개발하여 오가노이드 바이오뱅크를 구축하기 위해 노력을 기울여왔다. 하지만 여전히 어려움도 존재한다. 대부분의 PDTO는 상피층만 포함하고 있고 혈관내피, 기질세포, 면역세포 및 신경계

등 종양미세환경은 포함하지 못하고 있다. 그래서 면역관문억제제와 항혈관치료제 연구에는 한계를 보인다. 여러 미세기관을 서로 연결된 다양한 마이크로챔버에 통합하는 공동배양시스템 이나 추가적인 미생물 및 세포를 더하여 종양미세환경을 부분적으로 재현하는 기술로 극복될 수 있다. 다른 어려움으로는 일관성 및 표준화이다. PDTO 오가노이드를 배양할 때 유전적 배경이 불확실한 경우가 많다. 다양한 종양 유형의 배양 성공률을 높이려면 성장인자의 다양한 조합이 필요한데 연구팀마다 다양하여 결과의 일관성에 대해 의문이 제기될 수 있다. 오가노이드 연구 결과의 균일성과 정확성은 향후 전문가들이 합의한 표준실험 가이드라인 및 분석에 따라 달라질 것이다.

국내에서도 오가노이드 연구를 위해 산업부에서 오가노이드를 활용한 3D 생체조직칩 기반 신약개발 플랫폼 사업 및 맞춤형 진단·치료제개발 지원 사업을 추진하고 있다. 또한 규제개선을 위해 식약처에서 오가노이드 기반 첨단 독성 평가법 사업을 추진하여 국제 표준화를 위해 노력하고 있는 등 차세대 혁신기술로 오가노이드를 지원하고 있다.

오가노이드 기술 표준의 통일성과 우수한 품질감독 시스템을 기반으로 안전하고 정확하며 편리한 PDTO 바이오뱅크 구축을 기대하며 점차, 다양한 종양 오가노이드 바이오뱅크가 확립되고 있다. 기초 및 임상연구를 위한 신뢰할 수 있는 모델을 지속적으로 제공하여 이는 정밀의학의 새로운 시대를 열 수 있는 핵심이 될 것이다.

< 참고자료 >

1. Trends in the development of human stem cell-based non-animal drug testing models, synapse, 2020.11.01
2. Clinical translation of patient-derived tumour organoids- bottlenecks and strategies, Biomarker Research, 2022.03.10.
3. Organoid biobanks as a new tool for pre-clinical validation of candidate drug efficacy and safety, Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol, 2021.02
4. Biobanking of human gut organoids for translational research, nature, 2021.10.18.
5. Tumor organoid biobank-new platform for medical research, nature, 2023.02.01.
6. HUB (Hubrecht Organoid Technology), The Netherlands, phc Europe
7. Organoids: a systematic review of ethical issues, Stem Cell Research & Therapy, 2022.07.23.
8. 2023년 WG 이슈페이퍼_7호_오가노이드, 한국생명공학연구원, 2023.10.18

Writer

박봉현 한국바이오협회, 과장

Reviewer

장세진 울산의대, 교수

BIO ECONOMY BRIEF

발행 : 2024년 4월 | 발행인 : 오기환 | 발행처 : 한국바이오협회 한국바이오경제연구센터
 13488 경기도 성남시 분당구 대왕판교로 700 (삼평동, 코리아바이오파크) C동 1층, www.koreabio.org
 * 관련 문의 : 한국바이오협회 한국바이오경제연구센터 e-mail : kberc@koreabio.org



Innovating Data Into Strategy & Business



9 772508 681005 87
 ISSN 2508-6812