

## 인간 자궁내막에서 발견되는 극소형 추정줄기세포

부산대학교 의학전문대학원 산부인과학교실<sup>1</sup>, 부산대학교병원 의학연구소<sup>2</sup>, 부산대학교병원 불임클리닉<sup>3</sup>,  
부산대학교 생명자원과학대학 동물생명자원과<sup>4</sup>, 고신대학교 의과대학 산부인과학교실<sup>5</sup>

최종렬<sup>1</sup> 주종길<sup>1</sup> 전은숙<sup>2</sup> 고경래<sup>3</sup> 이홍구<sup>4</sup> 이규섭<sup>1\*</sup> 김원규<sup>5</sup>

### Very Small Putative Stem Cells Detected in Human Endometrium

Jong-Ryeol Choi<sup>1</sup>, Jong-Kil Joo<sup>1</sup>, Eun-Sook Jun<sup>2</sup>, Kyoung-Rae Ko<sup>3</sup>, Hong-Gu Lee<sup>4</sup>,  
Kyu-Sup Lee<sup>1\*</sup>, Won-Gyu Kim<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Department of Obstetrics and Gynecology, Pusan National University School of Medicine,  
<sup>2</sup>Medical Research Institute, Pusan National University Hospital, <sup>3</sup>Infertility Clinic, Pusan National  
University Hospital, <sup>4</sup>Department of Animal Science & PNU-Special Animal Techology Center,  
Pusan National University, <sup>5</sup>Department of Obstetrics and Gynecology, Kosin University  
College of Medicine, Busan, Korea

**Objective:** It has been recently reported that very small stem cells with pluripotency are detected in murine and human. The purposes of this study are to confirm whether very small putative stem cells (VSPSCs), which have the proper characteristics of stem cells as well as the expression of stem cell markers, are detected in human endometrium.

**Methods:** The endometrial cells of 5 women, which were obtained by endometrial biopsy, were cultured for 2 weeks and were confirmed for the expressions of alkaline phosphatase, OCT-4 and CXCR4 by immunohistochemistry. Subsequently VSPSCs were separated by percoll density gradient method and were cultured. Also VSPSCs and their derived cells were confirmed for the expressions of OCT-4 and CXCR4.

**Results:** The colonies, which is composed with VSPSCs less than 3  $\mu$ m and the 5~15  $\mu$ m sized hyperchromatic round cells, were detected in the endometrium of all of women and showed the strong expressions of alkaline phosphatase, OCT-4 and CXCR4. In culture after the separation of VSPSCs by percoll, these cells showed the morphological and functional characteristics of stem cells; self-renewal, colony formation, embryoid body-like formation and differential plasticity. VSPSCs formed gradually the 5~15  $\mu$ m sized hyperchromatic round cells and the 10~20  $\mu$ m sized sphere-shaped cells by cell-to-cell aggregation or cell fusion. Then these cells differentiated the various cells including fibroblast-like cells, nerve-like cells and endothelium-like cells. VSPSCs and their derived cells often showed the strong expressions of OCT-4 and CXCR4.

**Conclusion:** VSPSCs less than 3  $\mu$ m and their derived cells are detected in human endometrium and these cells have the proper characteristics of stem cells and the expressions of stem cell markers as alkaline phosphatase, OCT-4 and CXCR4.

[Korean. J. Reprod. Med. 2010; 37(2): 99-113.]

**Key Words:** Endometrium, Stem cells, Alkaline phosphatase, OCT-4, CXCR4

접수일: 2010년 2월 13일, 수정일: 2010년 5월 6일, 게재확정일: 2010년 6월 3일

주관책임자: 이규섭, 우) 602-739 부산광역시 서구 구덕로 305, 부산대학교 의학전문대학원 산부인과학교실

Tel: (051) 240-7288, Fax: (051) 248-2384, e-mail: kuslee@pusan.ac.kr

\*본 연구는 보건복지부 보건의료기술진흥사업의 지원에 의하여 이루어진 것임 (A080416).

최근 인간 자궁내막에서 줄기세포 (stem cell)와 전구세포 (progenitor cell)의 존재가 알려지고 월경혈에서도 미분화 줄기세포와 전구세포의 존재가 알려지면서 자궁에서 유래한 증식성 질환을 이해하기 위한 새로운 전환점을 맞이하고 있다.<sup>1,2</sup> 지금까지 밝혀진 바로는 자궁내막의 줄기세포 및 전구세포는 자궁내막의 기저층과 기질의 혈관조직 주위에 많이 위치하며 자궁내막조직의 성장, 증식 및 분화에 관여하는 것으로 알려져 있다.<sup>1,3,4</sup>

줄기세포는 반복 분열하여 자가재생하는 능력이 있으며 더욱 분화된 세포를 생산할 수 있는 미분화 세포로서 일반적으로 배아줄기세포와 성체줄기세포로 크게 나눈다. 배아줄기세포는 배반포 유래의 세포로서 3배엽으로 모두 분화할 수 있는 다능성 줄기세포 (pluripotent stem cell)이며, 성체줄기세포는 발생이 끝난 이후에도 신체의 각 부분에 남아 있는 다분화능 줄기세포 (multipotent stem cell)이다. 대표적인 성체줄기세포의 예로는 조혈모세포, 중간엽줄기세포, 신경줄기세포, 체대혈줄기세포, 각종 조직 특유의 줄기세포 (tissue committed stem cell) 등이 있으며 자궁에서도 줄기세포가 발견되었다.<sup>5-8</sup>

그런데 최근에는 기존의 알려진 줄기세포 이외에도 극소배아양 줄기세포 (very small embryonic-like stem cell)가 쥐의 모든 장기, 인간의 체대혈, 골수 및 말초혈액에서 존재한다고 보고되고 있는데, 이 세포는 신체에서 가장 작은 세포로 알려졌던 약 8  $\mu\text{m}$  크기의 적혈구나 조혈모세포보다 더욱 작은 6~8  $\mu\text{m}$  세포로서 태생기 낭배 (gastrula)의 상배엽 (epiblast)에서 유래한 다능성 줄기세포로 추정되고 있으며, 조혈모세포, 중간엽줄기세포, 신경줄기세포, 혈관내피전구세포, 조직 특유의 줄기세포로 분화할 수 있다고 알려져 있다.<sup>9-12</sup> 이외에도 4  $\mu\text{m}$  미만의 극소형 줄기세포 (very small stem cell)가 인간의 골수, 체대혈, 난소 표면 상피에 존재한다는 보고들도 있다.<sup>13-15</sup>

저자들도 이전에 진행성 자궁내막증 여성의 월경혈에서 채취한 자궁내막세포 중에 3  $\mu\text{m}$  미만의

극소형 추정줄기세포 (very small putative stem cell)가 다수 발견된다고 처음 보고한 바 있는데,<sup>16</sup> 이번 연구에서는 극소형 추정줄기세포가 정상 여성의 자궁내막조직에서도 존재하는지 조사하고, 이 세포가 줄기세포의 특성 및 줄기세포 표지자를 발현시키는지 확인하고자 하였다. 먼저 자궁내막조직검사에서 채취한 인간 자궁내막세포를 배양한 후, 극소형 추정줄기세포를 다시 분리 및 배양하여 줄기세포 고유의 특성을 나타내는지 관찰하였으며, 추가적으로 세포의 배양 과정 중 줄기세포의 특징적인 소견들이 관찰될 때 줄기세포의 표지자로 알려진 alkaline phosphatase, OCT-4, CXCR4 면역화학염색을 이용하여 줄기세포 여부를 재확인하였다.

## 연구대상 및 방법

### 1. 연구대상

2009년 3월부터 9월까지 본원 산부인과를 방문한 25세에서 40세 사이의 가임기 여성 5명을 대상으로 하였다. 자궁내막세포는 기저층 조직을 포함시키기 위하여 초기 증식기의 자궁내막을 채취하였으며, 조직검사상 자궁내막증식증, 자궁내막암, 자궁내막용종과 같은 부인과 질환이 없는 것으로 판명된 여성의 자궁내막세포를 연구대상으로 하였다.

### 2. 자궁내막세포의 배양

채취된 자궁내막세포들은 24시간 이내에 1  $\text{mm}^3$  이하의 크기로 세절하고, 이후 digestion 용액 (DMEM/F-12 + 5% fetal bovine serum [FBS, Hyclone, Logan, UT, USA] + 0.2% collagenase [Invitrogen, Carlsbad, CA, USA]) 10 ml를 첨가한 후 20분마다 부드럽게 피펫팅하면서 5%  $\text{CO}_2$ , 37°C 환경에서 1 시간 동안 배양하였다. 이후 1,000 rpm 조건에서 10분간 원심분리를 시행하였으며, 회수된 세포들은 10% FBS, 1% penicillin/ streptomycin이 첨가된 DMEM/F-12 배지로 옮겨 배양을 시작하였다. 48시간 배양 이후 적혈구 등의 부유물을 제거하기 위

해 phosphate buffered solution (PBS) 용액으로 3회 수세한 뒤 다시 10% FBS가 첨가된 DMEM/F-12 배지에서 배양하였다. 배양액은 1주일에 2회 간격으로 교체하였으며, 배양접시의 70~80% 가량 세포가 배양된 후에는 0.05% trypsin-EDTA (Invitrogen-Gibco) 처리하여 세포를 회수하였다. 회수된 세포의 일부는 10% FBS가 첨가된 DMEM/F-12 배지에서 다시 지속적으로 배양하면서 세포의 증식 양상을 관찰하였으며, 나머지 세포들은 percoll density gradient method 방법을 이용하여 극소형 추정줄기세포를 분리하였다.

### 3. 극소형 추정줄기세포 분리 및 배양

0.05% trypsin-EDTA를 처리하여 회수한 일부 자궁내막세포들은 percoll density gradient method를 이용하여 극소형 추정줄기세포를 분리한 뒤 배양하였다. 먼저 45° 각도로 기울인 conical tube에 100%, 75%, 50% percoll을 각각 섞이지 않도록 0.5 mL씩 순서대로 담은 후에 자궁내막세포를 마지막으로 가장 위에 흘려 올려놓았으며, 이후 1,450 rpm에서 20분간 원심분리를 시행한 후 가장 아래에 위치한 극소형 추정줄기세포들을 따로 회수하였다. Percoll을 최대한 걸러내기 위해 DMEM/F-12 배지로 다시 희석한 뒤 1,000 rpm에서 10분간 원심분리를 시행하였으며, 이후 분리된 극소형 추정줄기세포들은 10% FBS가 첨가된 DMEM/F-12 배지에서 배양하였다.

### 4. Alkaline phosphatase, OCT-4, CXCR4 면역화학염색

배양 과정 중 줄기세포의 특징적인 소견을 나타내는 세포들이 관찰될 때, alkaline phosphatase, OCT-4, CXCR4 염색을 시행하여 줄기세포 표지자 발현 여부를 확인하였다.

#### 1) Alkaline phosphatase 면역화학염색

자궁내막세포를 cover glass 위에서 배양 후 alkaline phosphatase kit (Sigma, St. Loise, MO, USA)를

사용하여 면역조직화학염색을 시행하였다. 먼저 배양액을 제거하고 PBS로 수세한 후 자궁내막세포 슬라이드를 Citrate-Aceton-Formaldehyde로 30초 동안 고정시킨 다음 deionized water에 45초 동안 부드럽게 세척하였다. 이후 알칼라인 염색 혼합액 (sodium nitrate solution 1 mL + FRV-alkaline solution 1 mL + deionized water 45 mL)에 슬라이드를 넣은 다음 직사광선을 차단한 실온에서 15분 동안 염색시킨 후 deionized water에서 2분 동안 세척하였다. 이후 Hematoxylin 용액으로 2분 동안 대비 염색을 시행하였으며, 물로 세척 후 건조시킨 다음 발색반응 결과를 현미경으로 관찰하였다.

#### 2) OCT-4, CXCR4 면역화학염색

자궁내막세포를 cover glass 위에서 배양 후 배양액을 제거하고 4% paraformaldehyde로 15분간 고정하였다. PBS로 수세한 후 0.2% triton X-100을 15분간 처리하여 permeabilization시킨 후 PBS로 수세하였다. Antibody의 비특이적인 결합을 막기 위하여 PBS에 녹인 2% bovine serum albumin (BSA)을 실온에서 30분간 반응시켰다. 2% BSA에 20 µg/mL 농도로 희석된 일차항체 rabbit polyclonal-Oct4 (ab18976, abcam, Cambridge, UK)와 1/300로 희석시킨 goat polyclonal-CXCR4 (ab1671, abcam)를 처리하여 4°C에서 overnight한 뒤 PBS로 10분씩 3회 세척하였다. 이차항체 anti rabbit IgG-FITC (sc-2365, Santa cruz, CA, USA)와 anti goat IgG-TRITC (sc-2094, Santa cruz)를 1/200로 희석하여 45분간 반응시키고 10분씩 3번 세척한 후 형광현미경 (Axioskop2 plus, ZEISS, Thornwood, NY, USA)으로 관찰하였다.<sup>10</sup>

## 결 과

가임기 여성 5명의 자궁내막세포의 배양 결과는 모두 유사하였으며, 극소형 추정줄기세포의 분리 배양 시에는 세포의 농도가 높을수록 빠른 분화 현상이 일어나는 차이점을 나타내었다.

## 1. 자궁내막세포의 배양 특징과 면역화학염색

배양 2~4일 째, 다각형 과립모양의 상피세포들과 이질적 형태의 기질세포가 배양접시에 부착된 것을 관찰할 수 있었다. 배양 초기 기질세포들은 편평형, 원형, 원주형, 방추형, 아메바형, 별모양형 등으로 다양하게 관찰되었으며, 이후 지지세포들이 배양접시를 가득 채울수록 길쭉한 섬유아세포 유사세포들이 흔히 관찰되었다.

특징적으로 군집성 세포군이 발견되는데, 이 군집의 바깥쪽 세포들은 변연부로 이동하면서 세포질 발달이 잘 된 세포로 부착하였다 (Figure 1A). 배양 4일 이후에도 군집으로 남겨진 세포들은 핵이 진하고 세포질 발달이 거의 없는 원형세포들이었는데, 주로 적혈구보다 더욱 작은 3  $\mu\text{m}$  미만 극소형 추정줄기세포들과 5~15  $\mu\text{m}$  과다염색질 원형세포들 (hyperchromatic round cells)로 구성되어 있었다 (Figure 1B). 극소형 추정줄기세포들은 배양 초기에 군집성 세포군에 많이 포함되어 있다 시간이 지날수록 배양접시에 전반적으로 분포하는 것을 확인할 수 있었다. 이 세포들은 지지세포 없이 단독으로 움직이거나 지지세포 위를 타고 이동하거나 지지세포 위에 부착되어 있었으며, 어떤 세포들은 다발적으로 존재하거나 점차 응집되어 구형세포 (sphere-shaped cells)를 형성하기도 하였다 (Figure 1C). 극소형 추정줄기세포들의 구형세포 형성은 섬유아세포 유사세포 내에서 흔히 관찰되었다 (Figure 1D).

배양 5~7일 째, 극소형 추정줄기세포들은 지지세포 위에서 서로 응집되어 10~20  $\mu\text{m}$  구형세포를 형성한 후, 지지세포에서 분리되어 이주 및 부착하는 것을 흔히 발견할 수 있었다. 일부 구형세포들은 지지세포에서 분리되던 형태 그대로 부착하였으며, 또 다른 일부 구형세포들은 지지세포에서 이주 및 부착하는 과정 중에 세포융합 및 핵의 재조합으로 전혀 다른 세포로 분화하였다. 이 때 구형세포 내에서 흔히 일어나는 과정은 마치 상질배, 배반포, 부화를 거치는 배아의 발달 과정과 흡사하

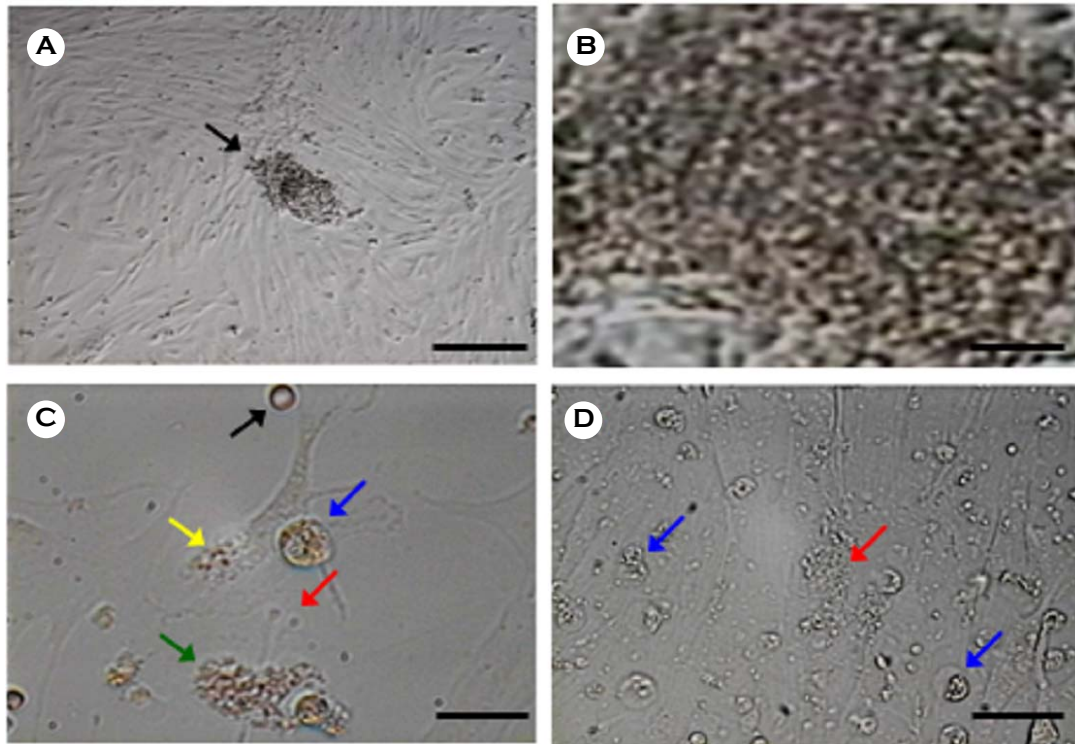
였으며, 이주하는 도중 혹은 부착하는 과정 중에 주변여건에 따라 세포질이 잘 발달된 다양한 세포로 분화하였다 (Figure 2). 구형세포는 초기에는 세포들이 없는 장소로 이주하여 부착하였으며, 세포들이 배양접시를 가득 채울수록 극소원형세포들, 과다염색질 원형세포들 혹은 구형세포들끼리 서로 부착하는 것을 관찰할 수 있었다.

배양 1주일 이후, 초기에 군집성 세포들이 있었던 장소 위주로 자갈돌 모양의 세포군 형성을 관찰할 수 있었으며, 시간이 흐를수록 더욱 큰 군집을 형성하는 것을 확인할 수 있었다. 이러한 군집을 구성하는 세포들은 극소형 추정줄기세포들과 5~15  $\mu\text{m}$  과다염색질 원형세포들이 대부분이었다. 부유한 세포들 중에는 극소원형세포들, 5~15  $\mu\text{m}$  과다염색질 원형세포들, 10~20  $\mu\text{m}$  구형세포들이 많이 관찰되며, 이 세포들은 서로 응집되어 배아체양 형성 (embryoid body-like formation)을 나타내기도 하였다. 이 시기에 alkaline phosphatase, OCT4, CXCR4 면역염색을 시행한 결과, 배양접시에 부착한 군집성 세포군이 가장 강한 발색을 나타내었다 (Figure 3).

## 2. 극소형 추정줄기세포의 배양 특징과 면역화학염색

3  $\mu\text{m}$  미만의 극소형 추정줄기세포들을 percoll density gradient method로 분리시켜 배양해보면 줄기세포의 전형적인 특징인 자가재생과 비대칭 분열을 관찰할 수 있었다. 초기에는 지속적으로 자가재생하는 극소형 추정줄기세포들을 관찰할 수 있었으며, 이후 배양액 내에 세포의 농도가 높아질수록 점진적으로 세포융합을 통하여 분화된 세포들을 형성시켰다.

배양 1~2일 째, 극소형 추정줄기세포들은 부유 상태로 활발한 운동성을 나타내었고, 배양 3~4일 째, 운동성 극소형 추정줄기세포들은 점차 응집하면서 운동성을 잃어가거나 배양접시에 부착하였다. 배양 1주일 째, 극소형 추정줄기세포 군집들이 배양접시를 가득 채운 것을 관찰할 수 있는데, 대부분 세포들은 서로 밀집되어 운동성을 보이지 않으



**Figure 1. Very small putative stem cells, hyperchromatic round cells and sphere-shaped cells.**

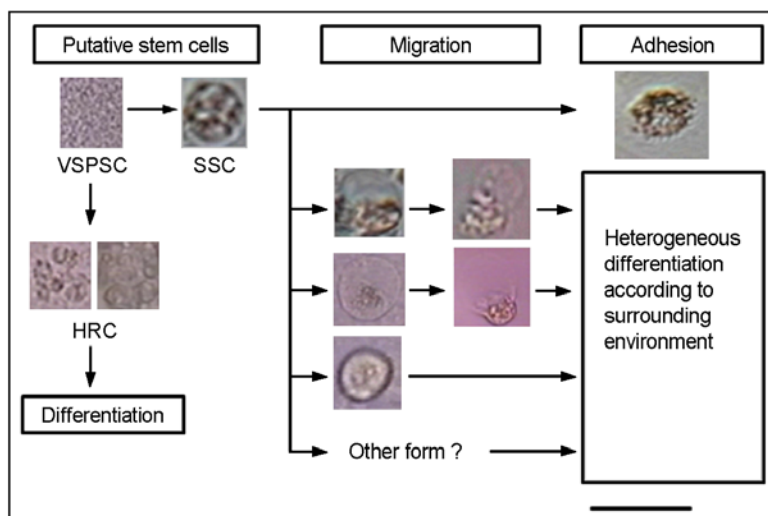
(A) The colonies were often observed in endometrial cell culture (scale bar: 100  $\mu$ m).

(B) The colonies were composed with very small putative stem cells less than 3  $\mu$ m and the 5~15  $\mu$ m sized hyperchromatic round cells (scale bar: 25  $\mu$ m).

(C) Very small putative stem cells had the following characteristics; smaller size than erythrocyte (black arrow), mobility (red arrow), adhesion to supportive cells (yellow arrow), cell-to-cell aggregation (green arrow), or the formation of sphere-shaped cells (blue arrow) (scale bar: 25  $\mu$ m).

(D) Very small putative stem cells (red arrow) frequently were aggregated in fibroblast-like cells and formed sphere-shaped cells (blue arrow) (scale bar: 50  $\mu$ m).

*Jong-Ryeol Choi. Very Small Putative Stem Cells Detected in Human Endometrium. Korean J Reprod Med 2010.*

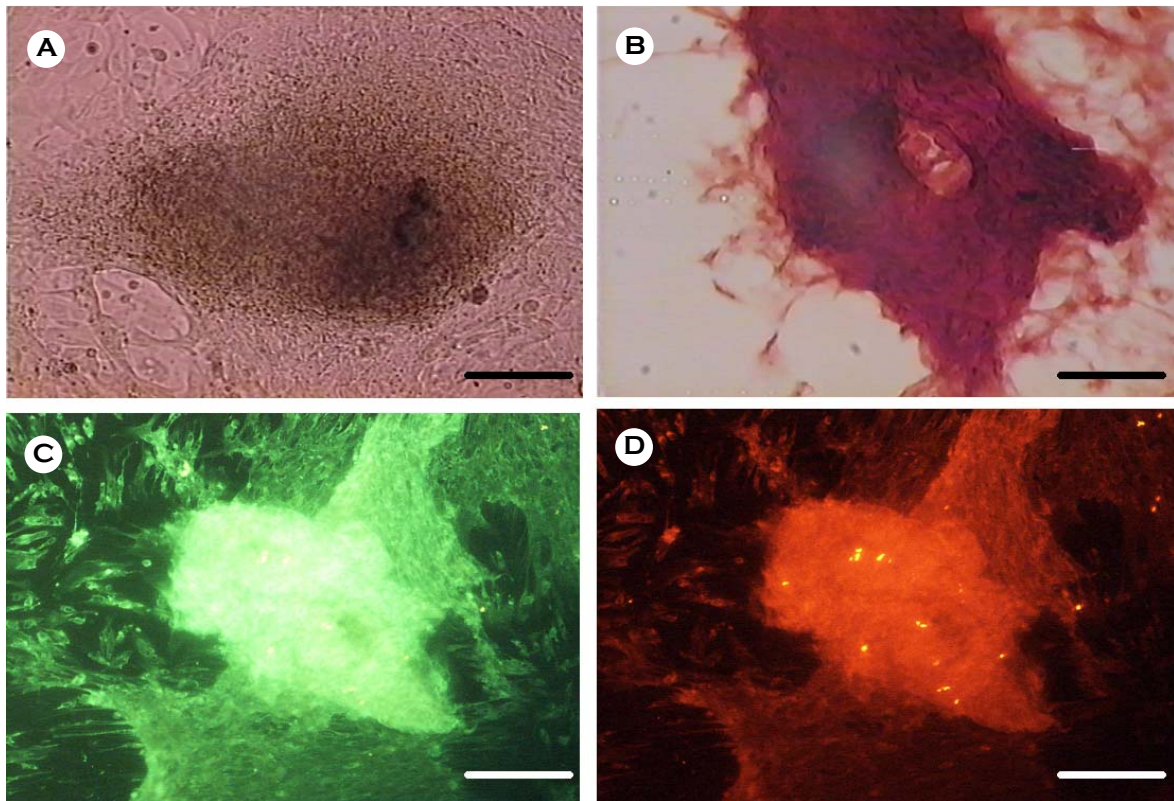


**Figure 2. The morphological changes of very small putative stem cells, hyperchromatic round cells and sphere-shaped cells in the process of migration and adhesion.**

Very small putative stem cells (VSPSC) were able to form hyperchromatic round cells (HRC) or sphere-shaped cells (SSC). Also sphere-shaped cells were able to change the variety forms by cell fusion or transformation in the process of migration or adhesion, and then these cells differentiated heterogeneously according to surrounding environment as Figure 8 (scale bar: 25  $\mu$ m).

*Jong-Ryeol Choi. Very Small Putative Stem Cells Detected in Human Endometrium. Korean J Reprod Med 2010.*





**Figure 3.** The immunochemical staining of alkaline phosphatase, OCT-4 and CXCR4 for colony (scale bar: 100  $\mu$ m). The colony (A) showed the strong expressions of alkaline phosphatase (B), OCT-4 (C), and CXCR4 (D) by immunochemistry.

*Jong-Ryeol Choi. Very Small Putative Stem Cells Detected in Human Endometrium. Korean J Reprod Med 2010.*

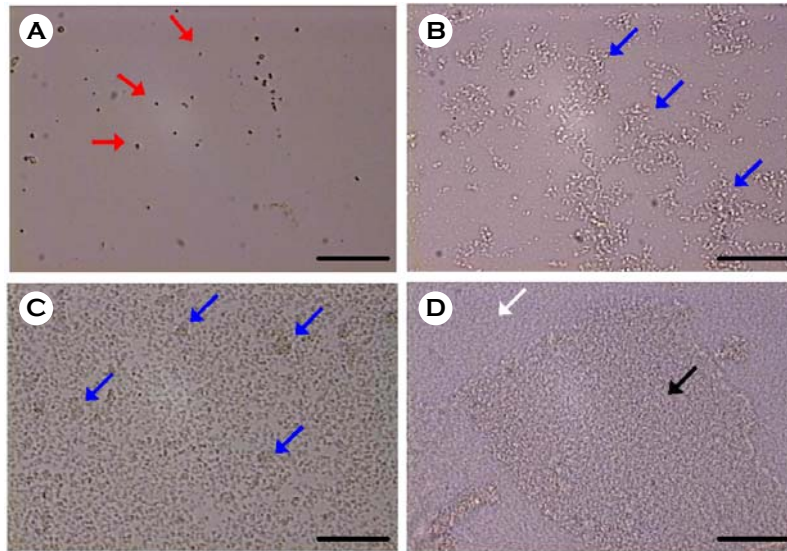
나 일부 세포들은 여전히 활발한 운동성을 나타내었다. 이후 바닥에 밀집된 극소형 추정줄기세포 군집들은 농도가 높아질수록 배양액 위로 떠오르면서, 바닥에 부착한 세포군과 배양액 내에 부유한 세포군으로 관찰할 수 있었다 (Figure 4).

배양 1~2주일 쯤, 바닥에 부착한 극소형 추정줄기세포들과 배양액 내에 부유한 극소형 추정줄기세포들은 서로 융합되면서 5~15  $\mu$ m 과다염색질 원형세포, 10~20  $\mu$ m 구형세포, 혹은 세포질이 발달한 분화된 세포를 형성시켰다 (Figure 5).

배양 2주 이후, 극소형 추정줄기세포들이 지지세포 내에서 응집하거나 부유한 채로 응집하면서 10~20  $\mu$ m 구형세포를 형성하는 것을 흔히 관찰할 수 있었는데, 이 세포는 percoll로 분리하기 이전의 자궁내막세포 배양에서 관찰되었던 구형세포와 유

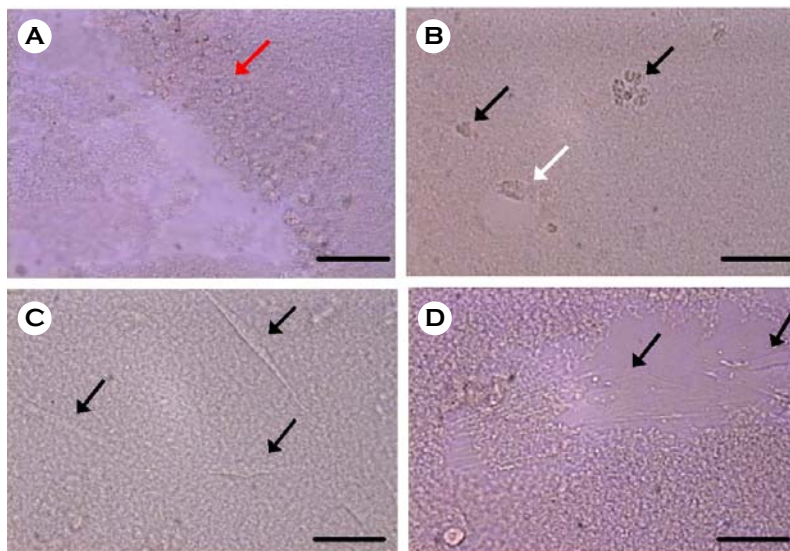
사하였다. 간헐적으로 많은 극소형 추정줄기세포들이 응집되어 형성된 10~20  $\mu$ m 과다염색질 구형세포도 관찰할 수 있었는데, 이 세포가 부착할 때에는 현저하게 핵이 진하게 나타났다 (Figure 6).

구형세포는 내부에 존재하는 극소형 추정줄기세포들의 세포융합 없이 이주하여 다른 부위에 부착하기도 하였으며, 이주하는 도중에 세포융합으로 전혀 다른 분화된 세포를 만들어 내기도 하였다. 세포융합으로 발생하는 분화된 세포는 이주하는 도중 혹은 부착 시에 결정되는 것으로 보였으며, 이렇게 부착한 세포는 세포질이 잘 발달된 세포이었다. 한편 분화하지 않은 채로 배양액 내에 부유한 극소형 추정줄기세포 군집은 점진적으로 판 형태에서 구 형태의 배아체양 형성을 나타낸 후 배양접시 바닥에 부착하는 것을 관찰할 수 있었다 (Figure 7).



**Figure 4. The self-renewal of very small putative stem cells** (scale bar: 50  $\mu$ m). Continuously, very small putative stem cells showed the self-renewal on day 1 (A), 3 (B), 5 (C), and 7 (D) *in vitro*. Arrows in A: very small putative stem cells with mobility. Arrows in B and C: very small putative stem cells with cell-to-cell aggregation. White arrow in D: the clone of very small putative stem cells adhered on petri dish. Black arrow in D: the clone of very small putative stem cells suspended in media.

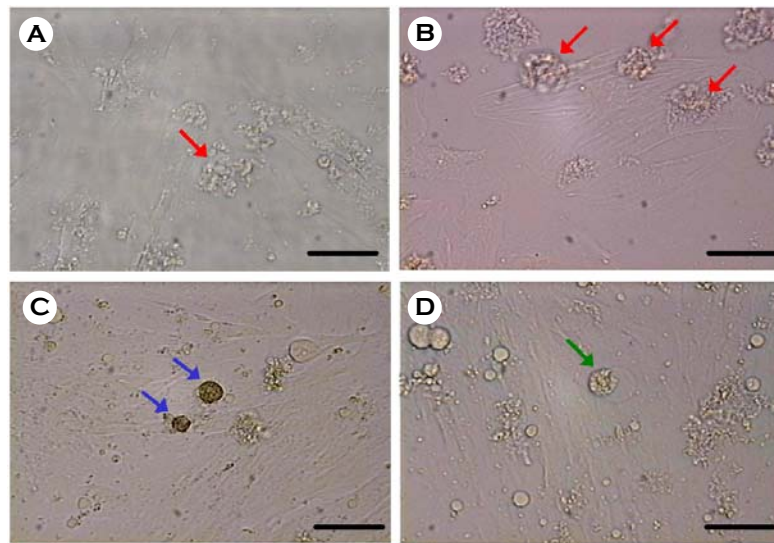
Jong-Ryeol Choi. Very Small Putative Stem Cells Detected in Human Endometrium. Korean J Reprod Med 2010.



**Figure 5. Hyperchromatic round cells and the new differentiated cells derived from very small putative stem cells** (scale bar: 50  $\mu$ m). (A) The suspended very small putative stem cells were able to form hyperchromatic round cells (arrow). (B) The adhered very small putative stem cells were able to form hyperchromatic round cells (black arrow) and more differentiated cells by cell fusion (white arrow). (C) The suspended very small putative stem cells were able to form the new differentiated cells (arrow). (D) The adhered very small putative stem cells were able to form the new differentiated cells (arrow).

Jong-Ryeol Choi. Very Small Putative Stem Cells Detected in Human Endometrium. Korean J Reprod Med 2010.





**Figure 6. Sphere-shaped cells derived from very small putative stem cells** (scale bar: 50  $\mu$ m).

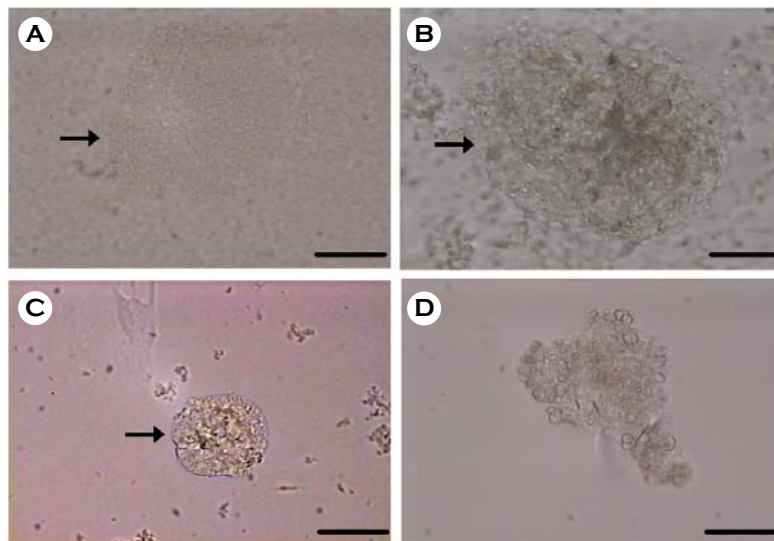
(A) Very small putative stem cells were able to migrate and aggregate in supportive cells (arrow).

(B) Very small putative stem cells were able to form sphere-shaped cells (arrows).

(C) The hyperchromatic sphere-shaped cells were derived from the aggregation of many very small putative stem cells (arrows).

(D) Sphere-shaped cell were hatched as embryo before the attachment on other site (arrow).

*Jong-Ryeol Choi. Very Small Putative Stem Cells Detected in Human Endometrium. Korean J Reprod Med 2010.*



**Figure 7. The embryoid body-like formation of very small putative stem cells.**

(A) The suspended very small putative stem cells were able to form embryoid body-like body (arrow) at 14 days of culture (scale bar: 50  $\mu$ m).

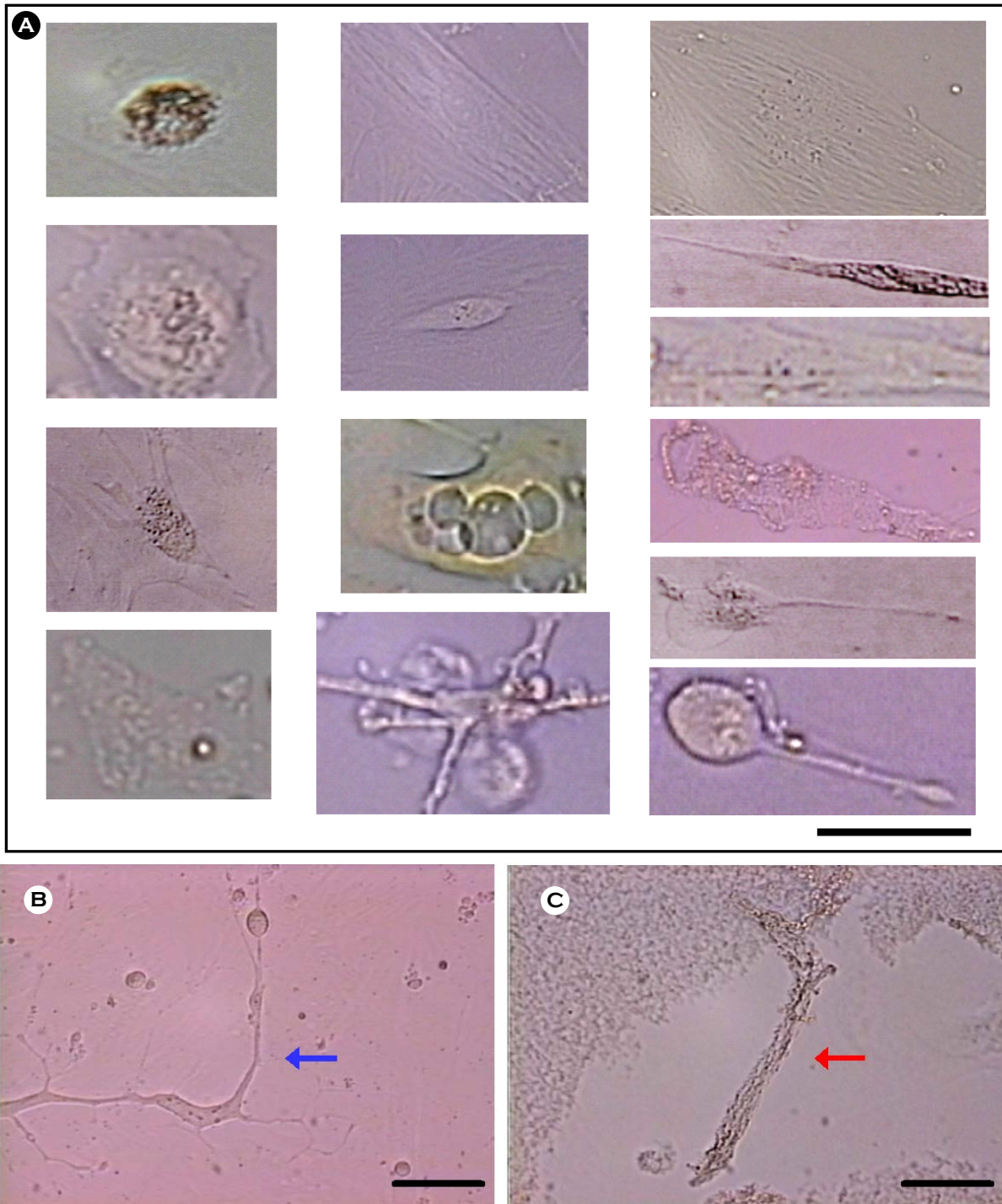
(B) The suspended very small putative stem cells were able to form hyperchromatic round cells in embryoid body-like body (arrow) at day 21 of culture (scale bar: 25  $\mu$ m).

(C) Embryoid body-like body (arrow) were able to adhere on petri dish (scale bar: 50  $\mu$ m).

(D) The suspended hyperchromatic round cells also were able to form embryoid body-like body with very small putative stem cells (scale bar: 50  $\mu$ m).

*Jong-Ryeol Choi. Very Small Putative Stem Cells Detected in Human Endometrium. Korean J Reprod Med 2010.*





**Figure 8. The heterogeneously differentiated cells including nerve-like cells and endothelium-like cells derived from very small putative stem cells.**

(A) The heterogeneously differentiated cells (scale bar: 25  $\mu$ m).

(B) Nerve-like cells (blue arrow) (scale bar: 50  $\mu$ m).

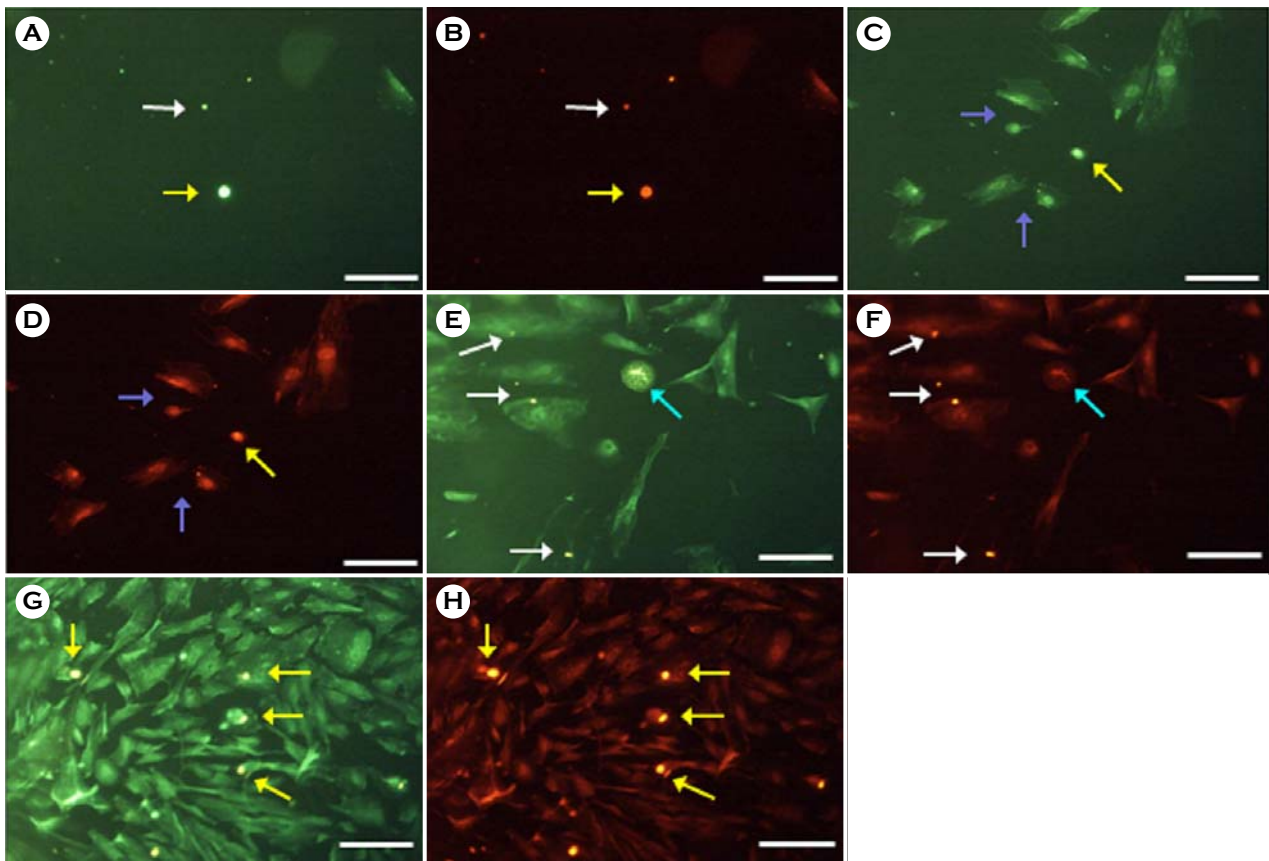
(C) Endothelium-like cells with tubular structure (red arrow) (scale bar: 50  $\mu$ m).

*Jong-Ryeol Choi. Very Small Putative Stem Cells Detected in Human Endometrium. Korean J Reprod Med 2010.*

배양 4주 이후, 지지세포의 형태는 편평형, 원형, 원주형, 방추형, 아메바형, 별모양형 등의 이질적 양상이었고, 이중에서도 길쭉한 섬유아세포 유사세포들이 가장 흔했다. 특징적으로 신경유사세포들과 관 모양의 혈관내피유사세포들이 간헐적으로 관찰되었으며, 다각형 과립모양의 자궁내막 상피세포들은 거의 관찰되지 않았다 (Figure 8).

배양 과정 중 OCT-4, CXCR4 면역화학염색을 시행하여 각각의 세포들을 확인한 결과, 극소형 추정줄기세포가 응집되어 형성된 5~15  $\mu\text{m}$  과다염색질 원형세포, 10~20  $\mu\text{m}$  구형세포, 그리고 세포질이

발달된 지지세포들은 대부분 발색을 나타내는 것을 확인할 수 있었다. 이 중에서도 과다염색질 원형세포들과 구형세포들이 가장 강한 발색을 나타내었으며, 세포질이 잘 발달된 세포일수록 발색 정도가 약해졌다. 극소형 추정줄기세포 단독으로 각각 발색하는지는 크기가 너무 작아 정확히 판단하기 힘들었으나, 일부 지지세포나 구형세포 내에 존재하는 극소형 추정줄기세포들은 OCT-4, CXCR4 염색에서 발색을 나타내는 것으로 관찰되었다 (Figure 9).



**Figure 9. The immunochemical staining of OCT-4 and CXCR4.** Very small putative stem cells and their derived cells showed generally the expression of OCT-4 (A, C, E, G) and CXCR4 (B, D, F, H). Very small putative stem cells (white arrow), hyperchromatic round cells (yellow arrow) and sphere-shaped cells (blue arrow) often showed the strong expressions of OCT-4 and CXCR4. But more differentiated cells (violet arrow) showed the weak expressions of OCT-4 and CXCR4 (scale bar: 50  $\mu\text{m}$ ).

Jong-Ryeol Choi. Very Small Putative Stem Cells Detected in Human Endometrium. Korean J Reprod Med 2010.

## 고 찰

줄기세포란 개체를 구성하며 조직의 근간이 되는 세포로서 반복 분열하여 자가재생할 수 있고, 환경에 따라 특정한 기능을 지닌 세포로 분화할 수 있는 미분화세포다. 성체줄기세포에는 대표적으로 조혈모세포와 중간엽줄기세포가 있으며, 그 외에 뇌, 신경조직, 말초혈액, 혈관, 근육, 피부, 간, 췌담도, 양수, 체대혈 등 다양한 조직에서 성체줄기세포가 발견되었다.<sup>1,5</sup> 성체줄기세포는 손상된 조직의 재생 과정에서 필수적으로 관여하는 것으로 알려져 있는데, 조직의 증식, 분화, 탈락이 활발한 자궁내막에서도 줄기세포의 존재 가능성이 인식되어 연구가 활발히 진행되고 있다. 그러나 아직까지 자궁내막 줄기세포를 손쉽게 동정 및 분리할 수 있는 방법에 대한 연구가 완전히 이루어지지 않아, 자궁내막 줄기세포로 추정되는 세포들의 특성을 연구하는 단계에 머무르고 있다.

성체줄기세포의 기능적인 특징으로는 대표적으로 자가재생 (self-renewal), 비대칭 분열 (asymmetric cell division), 분화 가소성 (differential plasticity)이 있다. 자가재생은 줄기세포가 미분화된 줄기세포를 재생산 해내는 것을 말하고, 비대칭 분열은 일부는 미분화된 줄기세포로 분열하고 나머지 일부는 분화된 세포로 분열이 일어나는 것을 말하며, 분화 가소성은 본래 세포가 가지고 있던 분화의 프로그램과는 다른 종류의 세포로 분화하는 것을 말한다. 이 외에도 줄기세포는 배양 시 군집 형성과 배아체 형성을 나타내는 형태학적 특징이 있으며, 이 세포들이 배양 여건 혹은 주변 분화된 세포에 따라 각종 세포로 분화되는 특징이 있다.<sup>5-7</sup>

이러한 대표적인 성체줄기세포의 특징들은 줄기세포 여부를 확인할 때 사용하게 되는데, 크게 *in vitro* 평가방법과 *in vivo* 평가방법으로 나눈다. *in vitro* 평가방법에는 군집형성 능력 (clonogenicity), 증식 능력, 자가재생 능력, 분화 능력을 조사하는 방법 등이 있고, *in vivo* 평가방법에는 조직재구성

법, label-retaining cell (LRC), 자가재생 능력을 조사하는 방법 등이 있다.<sup>17-22</sup> 이 외에도 줄기세포를 확인하기 위해 alkaline phosphatase, OCT-4, SOX-2, Nanog, CXCR4, SSEA-3/4, c-kit, CD marker 등과 같은 줄기세포 표지자를 보조적으로 이용하기도 하는데, 궁극적으로 줄기세포를 정의하기 위해서는 여러 평가방법을 사용해야 한다.<sup>9-12</sup>

Alkaline phosphatase는 뉴클레오티드, 단백질, 알칼로이드와 같은 여러 물질에서 탈인산화 역할을 하는 가수분해효소로서 배아줄기세포, 극소배아양 줄기세포, 성체줄기세포에서 강한 발현을 하는 것으로 알려져 있다.<sup>23</sup> OCT-4는 배아줄기세포의 자가재생, 다능성 유지 및 분화 방지에 관여하는 전사인자로서 배아줄기세포의 미분화 표지자 단백질로 알려져 왔는데, 최근에는 극소배아양 줄기세포, 성체줄기세포, 종양에서도 발견되는 것으로 알려져 있다.<sup>10,11,24</sup> CXCR4는 기질에서 유래하는 SDF-1 (stromal cell-derived factor-1) 리간드와 상호 결합하는 수용체로서 저산소성 손상 시 기질에서 SDF-1을 분비하면 CXCR4를 지닌 줄기세포들이 유입되는 것으로 알려져 있으며, 배아줄기세포, 원시생식세포 (primordial germ cell), 극소배아양 줄기세포, 조혈모세포, 중간엽줄기세포, 혈관내피줄기세포, 신경줄기세포, 간, 근육, 상피 등에서 발견되며 일부 종양에서도 발현이 증가하는 것으로 알려져 있다. 이외에도 배아의 착상시기 동안에 자궁내막 내에서 증가되는 것으로 알려져 있으며, CXCR4 표면에 극성을 띄는 경우 이 수용체가 배아의 부착을 조장하는 것으로 알려져 있다.<sup>9-11</sup>

저자들은 줄기세포 여부를 평가하기 위해 *in vitro* 에서 줄기세포의 형태학적 및 기능적 특징을 응용하여 평가하였으며, 보조적으로 줄기세포의 특징적 소견을 나타내는 세포들이 관찰될 때 줄기세포 표지자인 alkaline phosphatase, OCT-4, CXCR4 면역화학염색을 통하여 줄기세포 여부를 재확인하였다. 기존에 알려진 *in vitro* 평가방법을 일부 사용하지 못한 이유는 세포가 3  $\mu\text{m}$  미만의 극소형 크기이고, 부유세포와 부착세포가 활발하게 공존하며, 세포

간 응집 및 새로운 분화세포 형성이 짧은 기간에도 매우 흔하여 기존의 방법으로는 한계가 있었다.

저자들은 먼저 자궁내막세포를 배양시켜 특징적으로 나타나는 군집성 세포들을 면역화학염색으로 확인하였는데, 이 세포들은 alkaline phosphatase, OCT-4, CXCR4 염색에서 강한 발색을 나타내는 것을 확인할 수 있었다. 이후 군집성 세포들 중 다수 관찰되는 3  $\mu\text{m}$  미만의 극소형 추정줄기세포들이 줄기세포인지를 다시 확인하기 위하여 percoll을 이용하여 분리 및 배양하였더니 자가재생, 세포 응집 및 구형세포 형성, 비대칭 분열, 군집 형성, 배아 체양 형성, 세포융합 혹은 핵의 재조합을 통한 새로운 분화세포 형성과 같은 줄기세포의 전형적인 특징들을 관찰할 수 있었다. 이 때 면역화학염색을 시행해보면 극소형 추정줄기세포에서 유래하여 형성된 5~15  $\mu\text{m}$ 의 과다염색질 원형세포, 구형세포, 그리고 세포질이 발달된 지지세포들 모두에서 OCT-4, CXCR4 발색을 나타내는 것을 확인할 수 있었다. 극소형 추정줄기세포 그 자체에서 발색하는지는 세포의 크기가 너무 작아 정확히 판단하기 힘들었지만, 일부 지지세포나 구형세포 내에 존재하는 극소형 추정줄기세포들은 발색하는 것으로 관찰되었다.

자궁내막 추정줄기세포에 대한 문헌들을 살펴보면, Meng 등<sup>2</sup>은 월경혈에서 존재하는 핵이 진한 단핵세포 (mononuclear cell)를 배양하여 증식성이 강한 섬유아세포 유사세포를 얻어냈으며 이후 이 세포들을 이용하여 9가지 조직으로 분화시키는데 성공하였는데, 이 단핵세포는 저자들이 관찰한 Figure 2의 분화하지 않은 채로 부착한 구형세포의 형태와 매우 유사하다. Chan 등<sup>4</sup>은 자궁내막조직을 배양하여 50개 이상의 세포로 이루어진 큰 군집과 작은 군집을 보고하였는데, 이 중 큰 군집은 세포의 개수가 4,000개를 초과하며 세포질 발달이 적은 고핵성의 작은 세포들이 치밀하게 있었으며 자궁내막 줄기세포 및 전구세포로부터 생성되었을 것이라고 추정하였다. 이러한 큰 군집은 저자들이 관찰한 Figure 3의 군집과 형태학적으로 유사하며 줄기

세포 표지자를 강력히 발현하는 것으로 볼 때 줄기세포 및 전구세포 군집일 것으로 생각된다. 그러나 Meng과 Chan이 보고한 내용에서 극소형 추정줄기세포와 관련된 설명은 없는데, 저자들은 극소형 추정줄기세포가 기존에 알려진 성체줄기세포들보다 더욱 원시적인 세포라고 생각된다.

적혈구 혹은 조혈모세포보다 더욱 작은 극소형 줄기세포에 대한 여러 문헌들을 살펴보면, Hung 등<sup>13</sup>은 3  $\mu\text{m}$ 보다 더욱 작은 줄기세포가 인간의 골수에 존재한다고 보고하였고, McGuckin 등<sup>14</sup>은 인간의 제대혈에서 OCT-4, SOX-2를 발현하는 2~3  $\mu\text{m}$  크기의 줄기세포가 존재한다고 보고하였으며, Virant-Klun 등<sup>15</sup>은 인간의 난소 표면 상피에서 SSEA-4, OCT-4, Nanog, SOX-2, c-kit를 발현하는 2~4  $\mu\text{m}$  크기의 줄기세포가 존재한다고 보고하였다. 이러한 보고들은 저자들이 관찰한 3  $\mu\text{m}$  미만의 극소원형세포와 유사한 세포라고 생각된다. 한편 Kucia 등<sup>10</sup>은 생쥐의 모든 조직과 인간의 골수에서 OCT-4, SSEA-4, CXCR4 등을 발현하는 6~8  $\mu\text{m}$  크기의 다능성 줄기세포가 존재한다고 보고하고 이 세포를 극소배아양 줄기세포라고 명명하였는데, 저자들이 관찰한 바에 의하면 3  $\mu\text{m}$  미만의 극소형 추정줄기세포들이 서로 응집 및 융합되어 극소배아양 줄기세포가 발생하는 것으로 생각된다.

한편 저자들이 관찰한 3  $\mu\text{m}$  미만의 극소형 추정줄기세포들이 세포융합 혹은 핵의 재조합으로 완전히 다른 세포로 분화하는 과정은 성체줄기세포에서 일어나는 비대칭 분열의 원리와 다른 조직으로 분화할 수 있는 분화 가소성을 설명할 수 있을 것으로 생각된다.

비대칭 분열의 원리는 줄기세포가 함요세포 (niche cell) 내에서 세포 증식을 할 때에는 대칭 분열을 통하여 두 개의 줄기세포로 증식하고, 줄기세포가 함요세포와 분화된 세포 사이에서 증식을 할 때에는 하나의 줄기세포와 또 다른 하나의 분화된 세포로 비대칭 분열을 한다는 개념인데,<sup>25</sup> 저자들의 관찰에 의하면 Figure 3A처럼 군집을 형성하면서 증식하는 과정은 줄기세포의 함요세포 내의 자



가재생으로 생각되며, Figure 2처럼 구형세포를 형성하여 분화하는 과정은 비대칭 분열로 딸세포가 발생하는 과정이라고 생각된다. 이러한 근거는 군집성 세포군 중 대다수를 차지하는 5~15  $\mu\text{m}$  과다염색질 원형세포가 줄기세포 표지자를 가장 강력히 발현하고, 분화하기 직전의 10~20  $\mu\text{m}$  구형세포도 역시 줄기세포 표지자를 강하게 발현하며, 세포질이 발달한 분화된 세포일수록 줄기세포 표지자 발현이 점차 약해지기 때문이다.

분화 감소성에 대한 개념은 상당한 논란이 있지만, 성체줄기세포의 운명은 상주하는 조직이나 각각의 배엽에 국한되지 않고 교차분화 (trans-differentiation)할 수 있다는 것이 중론이다. 교차분화란 세포가 원래 가지고 있던 조직 특이적 표지자와 기능을 동시에 소실하고 새로운 세포의 형태, 기능, 표지자를 얻음으로써 한 조직의 세포 주가 다른 조직의 세포주로 분화되는 것이다.<sup>26,27</sup> 또한 교차분화가 일어날 때 핵의 재구성이 일어나며, 화생 형태로 나타나기도 하며, 발생의 핵심적인 유전자의 변화가 일어나기도 한다.<sup>27,28</sup> 대표적인 예로 골수줄기세포는 혈류로 이동하며 손상된 세포에 결합되어 골격 근육세포, 신경세포, 아교세포, 간세포, 혈관내피세포, 심장근세포, 장 상피세포, 피부, 폐로 분화될 수 있으며, 신경줄기세포는 혈액, 근골격계세포로 분화될 수 있다.<sup>29</sup> 저자들의 관찰에 의하면 극소형 추정줄기세포들은 Figure 2처럼 새로운 세포막을 획득하여 구형세포를 형성하고, 다시 구형세포의 세포막을 빠져나와 전혀 다른 세포로 분화하였는데, 이는 교차분화에서 설명하는 세포의 조직 특이적 표지자 소실 및 획득하는 과정을 설명할 수 있으리라 생각된다. 뿐만 아니라 극소형 추정줄기세포가 구형세포 내에서 세포융합을 통하여 전혀 다른 세포로 분화하는 과정은, 교차분화에서 설명하는 핵의 재구성과 유전자 변화를 설명할 수 있으리라 생각된다. 저자들의 실험에서 극소형 추정줄기세포가 세포 간 응집 및 세포융합 과정을 거쳐 결국에는 자궁내막과는 전혀 다른 신경유사세포,<sup>30,31</sup> 관 모양의 혈관내피유사세포<sup>32,33</sup> 등을 포

함한 다양한 형태의 세포를 형성시키는 것으로 볼 때, 줄기세포의 분화 감소성을 설명할 수 있을 것으로 생각된다.

한편 극소형 추정줄기세포에서 유래한 지지세포들 중에서 섬유아세포 유사세포들이 가장 흔히 발견되는데, 이들 중 상당수가 중간엽줄기세포로 추정된다. 그 이유는 극소형 추정줄기세포들이 응집되어 구형세포를 형성하는 과정이 섬유아세포 유사세포 내에서 흔히 발견되며, 중간엽줄기세포도 OCT4, CXCR4를 발현하는 것으로 알려져 있기 때문이다, 향후 이에 대한 추가 확인 과정이 필요할 것으로 생각된다.<sup>9~11</sup>

이번 연구에서 발견된 자궁내막에 존재하는 극소형 추정줄기세포의 특성을 자세히 규명한다면, 자궁내막세포가 어떻게 다양한 조직으로 분화할 수 있는지를 이해할 수 있을 것으로 생각되며, 성체줄기세포를 이용한 재생 의학의 발전에도 기여할 수 있을 것으로 생각된다. 더 나아가 자궁내막증, 자궁선근증, 자궁근종, 자궁내막증식증, 자궁내막암과 같은 증식성 자궁내막질환을 이해하는데 도움이 될 수 있을 것으로 생각된다.

## 참고 문헌

- Gargett CE. Uterine stem cells: what is the evidence? Hum Reprod Update 2007; 13: 87-101.
- Meng X, Ichim TE, Zhong J, Rogers A, Yin Z, Jackson J, et al. Endometrial regenerative cells: a novel stem cell population. J Transl Med 2007; 5: 57.
- Gargett CE. Stem cells in gynaecology. Aust N Z J Obstet Gynaecol 2004; 44: 380-6.
- Chan RW, Schwab KE, Gargett CE. Clonogenicity of human endometrial epithelial and stromal cells. Biol Reprod 2004; 70: 1738-50.
- Bongso A, Richards M. History and perspective of stem cell research. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol 2004; 18: 827-42.
- Potten CS, Loeffler M. Stem cells: attributes, cycles, spirals, pitfalls and uncertainties. Lessons for and from the crypt. Development 1990; 110: 1001-20.

7. Morrison SJ, Shah NM, Anderson DJ. Regulatory mechanisms in stem cell biology. *Cell* 1997; 88: 287-98.
8. Gage FH. Mammalian neural stem cells. *Science* 2000; 287: 1433-8.
9. Ratajczak MZ, Zuba-Surma E, Kucia M, Reza R, Wojakowski W, Ratajczak J. The pleiotropic effects of the SDF-1-CXCR4 axis in organogenesis, regeneration and tumorigenesis. *Leukemia* 2006; 20: 1915-24.
10. Kucia M, Reza R, Campbell FR, Zuba-Surma E, Majka M, Ratajczak J, et al. A population of very small embryonic-like (VSEL) CXCR4(+)SSEA-1(+)Oct-4+ stem cells identified in adult bone marrow. *Leukemia* 2006; 20: 857-69.
11. Ratajczak MZ, Zuba-Surma EK, Wysoczynski M, Ratajczak J, Kucia M. Very small embryonic-like stem cells: characterization, developmental origin, and biological significance. *Exp Hematol* 2008; 36: 742-51.
12. Zuba-Surma EK, Wu W, Ratajczak J, Kucia M, Ratajczak MZ. Very small embryonic-like stem cells in adult tissues-potential implications for aging. *Mech Ageing Dev* 2009; 130: 58-66.
13. Hung SC, Chen NJ, Hsieh SL, Li H, Ma HL, Lo WH. Isolation and characterization of size-sieved stem cells from human bone marrow. *Stem Cells* 2002; 20: 249-58.
14. McGuckin C, Jurga M, Ali H, Strbad M, Forraz N. Culture of embryonic-like stem cells from human umbilical cord blood and onward differentiation to neural cells in vitro. *Nat Protoc* 2008; 3: 1046-55.
15. Virant-Klun I, Rozman P, Cvjeticanin B, Vrtacnik-Bokal E, Novakovic S, Rulicke T, et al. Parthenogenetic embryo-like structures in the human ovarian surface epithelium cell culture in postmenopausal women with no naturally present follicles and oocytes. *Stem Cells Dev* 2009; 18: 137-49.
16. Choi JR, Joo JK, Na YJ, Ko KR, Lee HG, Lee KS, et al. The hyperexpressions of putative stem cells in the eutopic endometrium of patients with advanced endometriosis. *Korean J Obstet Gynecol* 2010; 53: 264-73.
17. Uchida N, Buck DW, He D, Reitsma MJ, Masek M, Phan TV, et al. Direct isolation of human central nervous system stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97: 14720-5.
18. Pellegrini G, Golisano O, Paterna P, Lambiase A, Bonini S, Rama P, et al. Location and clonal analysis of stem cells and their differentiated progeny in the human ocular surface. *J Cell Biol* 1999; 145: 769-82.
19. Stingl J, Eaves CJ, Zandieh I, Emerman JT. Characterization of bipotent mammary epithelial progenitor cells in normal adult human breast tissue. *Breast Cancer Res Treat* 2001; 67: 93-109.
20. van Os R, Kamminga LM, de Haan G. Stem cell assays: something old, something new, something borrowed. *Stem Cells* 2004; 22: 1181-90.
21. Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* 1999; 284: 143-7.
22. Morris RJ, Potten CS. Slowly cycling (label-retaining) epidermal cells behave like clonogenic stem cells in vitro. *Cell Prolif* 1994; 27: 279-89.
23. Kim EE, Wyckoff HW. Reaction mechanism of alkaline phosphatase based on crystal structures. Two-metal ion catalysis. *J Mol Biol* 1991; 218: 449-64.
24. Zaehres H, Lensch MW, Daheron L, Stewart SA, Itskovitz-Eldor J, Daley GQ. High-efficiency RNA interference in human embryonic stem cells. *Stem Cells* 2005; 23: 299-305.
25. Neumuller RA, Knoblich JA. Dividing cellular asymmetry: asymmetric cell division and its implications for stem cells and cancer. *Genes Dev* 2009; 23: 2675-99.
26. Wagers AJ, Weissman IL. Plasticity of adult stem cells. *Cell* 2004; 116: 639-48.
27. Tosh D, Slack JM. How cells change their phenotype. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2002; 3: 187-94.
28. Pomerantz J, Blau HM. Nuclear reprogramming: a key to stem cell function in regenerative medicine. *Nat Cell Biol* 2004; 6: 810-6.
29. Nilsson SK, Simmons PJ. Transplantable stem cells: home to specific niches. *Curr Opin Hematol* 2004; 11: 102-6.
30. Suh H, Consiglio A, Ray J, Sawai T, D'Amour KA, Gage FH. *In vivo* fate analysis reveals the multipotent and self-renewal capacities of Sox2+ neural stem cells in the adult hippocampus. *Cell Stem Cell* 2007; 1: 515-28.
31. Streckfuss-Bomeke K, Vlasov A, Hulsmann S, Yin D, Nayernia K, Engel W, et al. Generation of functional neurons and glia from multipotent adult mouse germ-line stem cells. *Stem Cell Res* 2009; 2: 139-54.
32. Mukai N, Akahori T, Komaki M, Li Q, Kanayasu-Toyoda T,

Ishii-Watabe A, et al. A comparison of the tube forming potentials of early and late endothelial progenitor cells. *Exp Cell Res* 2008; 314: 430-40.

33. Bellik L, Ledda F, Parenti A. Morphological and phenotypical characterization of human endothelial progenitor cells in an early stage of differentiation. *FEBS Lett* 2005; 579: 2731-6.

---

= 국문초록 =

**목적:** 최근 다능성을 가진 극소형 줄기세포가 생쥐와 인간에서 발견된다고 보고되었다. 이 연구의 목적은 극소형 추정줄기세포들이 인간 자궁내막에 존재하는지, 그리고 이 세포들이 줄기세포의 고유 특성들과 줄기세포 표지자들을 발현시키는지 확인하기 위함이다.

**연구방법:** 자궁내막조직검사로부터 채취한 여성 5명의 자궁내막세포를 2주 동안 배양하였으며, alkaline phosphatase, OCT-4, CXCR4 면역화학염색을 통해 줄기세포 표지자 발현 여부를 확인하였다. 이후 percoll density gradient method 방법으로 극소형 추정줄기세포들을 분리하여 배양하였으며, 또한 극소형 추정줄기세포들과 그 유래의 세포들이 OCT-4와 CXCR4를 발현시키는지 확인하였다.

**결과:** 3  $\mu\text{m}$  미만의 극소형 추정줄기세포들과 5~15  $\mu\text{m}$ 의 과다염색질 원형세포들로 구성된 군집들이 모든 여성의 자궁내막세포에서 발견되었으며, alkaline phosphatase, OCT-4 및 CXCR4를 강하게 발현시켰다. Percoll을 이용하여 극소형 추정줄기세포들을 분리 배양한 결과, 극소형 추정줄기세포들은 자가재생, 배아체양 형성, 군집 형성, 분화 감소성과 같은 줄기세포의 형태학적 및 기능적인 특성들을 나타내었다. 극소형 추정줄기세포들은 세포간 응집 혹은 세포융합을 통하여 약 5~15  $\mu\text{m}$  과다염색질 원형세포들과 약 10~20  $\mu\text{m}$  구형세포들을 점진적으로 형성시켰다. 이후 이 세포들은 섬유아세포 유사세포, 신경유사세포, 혈관내피유사세포를 포함하는 다양한 세포로 분화하였다. 또한 극소형 추정줄기세포들과 극소형 추정줄기세포에서 유래한 세포들은 흔히 OCT-4와 CXCR4를 강하게 발현시켰다.

**결론:** 3  $\mu\text{m}$  미만의 극소형 추정줄기세포들과 극소형 추정줄기세포에서 유래한 세포들이 인간 자궁내막에서 발견되며, 이 세포들은 줄기세포의 고유 특성들과 줄기세포 표지자인 alkaline phosphatase, OCT-4, CXCR4를 발현시킨다.

**중심단어:** 자궁내막, 줄기세포, Alkaline phosphatase, OCT-4, CXCR4

---