

별첨1. 바이오스타 발표 논문 (Journal of Translational Medicine)

Stem cell treatment for patients with autoimmune disease by systemic infusion of culture-expanded autologous adipose tissue derived mesenchymal stem cells

Jeong Chan Ra^{1*}, Sung Keun Kang¹, Il Seob Shin¹, Hyeong Geun Park¹, Sang Aun Joo¹, Jeong Geun Kim², Byeong-Cheol Kang³, Yong Soon Lee⁴, Ken Nakama⁵, Min Piao⁶, Bertram Sohl⁷, Andras Kurtz^{8**}

¹Stem Cell Research Center, RNL BIO, Seoul, 153-768, Republic of Korea

²Otorhinolaryngology, Bethesda Samsung Hospital, Yangsan, GyeongNam Province, 626-701, Korea

³Graduate School of Immunology, College of Medicine, Seoul National University and Department of Experimental Animal Research, Biomedical Research Institute, Seoul National University Hospital, 101 Daehang-ro, Jongno-gu, Seoul 110-744, Republic of Korea

⁴Semyung University, 579 Sinwoul-dong, Jecheon City, Chungbuk, 390-711, Republic of Korea

⁵Kyoto Bethesda Clinic, Minami-ku, Kyoto, 601-8475, Japan

⁶Yanji Chaoyang Zaisheng Hospital, Limin Street, Chaoyangchuan Town, Yanji City, Jilin Province, China

⁷St. Mary Medical Center, OB Clinic, Long Beach, 90813, CA, United States

⁸Berlin-Brandenburg Center for Regenerative Therapies, Augustenburger Platz 1, 13353 Berlin, Germany and Seoul National University, College of Veterinary Medicine, Seoul, Korea

*Corresponding author: Jeong Chan Ra, Stem Cell Center, RNL BIO, Gasandong, Geumcheon-Gu, Seoul, 153-768, Korea, jcra@rnl.co.kr

**Co-corresponding author: Andreas Kurtz, Berlin-Brandenburg Center for Regenerative Therapies, Augustenburger Platz 1, 13353 Berlin, Germany, Andreas.Kurtz@charite.de

Abstract

Prolonged life expectancy, life style and environmental changes have caused a changing disease pattern in developed countries towards an increase of degenerative and autoimmune diseases. Stem cells have become a promising tool for their treatment by promoting tissue repair and protection from immune-attack associated damage. Patient-derived autologous stem cells present a safe option for this treatment since these will not induce immune rejection and thus multiple treatments are possible without any risk for allogenic sensitization, which may arise from allogenic stem cell transplantations. Here we report the outcome of treatments with culture expanded human adipose-derived mesenchymal stem cells (hAdMSCs) of 10 patients with autoimmune associated tissue damage and exhausted therapeutic options, including autoimmune hearing loss, multiple sclerosis, polymyotitis, atopic dermatitis and rheumatoid arthritis. For treatment, we developed a standardized culture-expansion protocol for hAdMSCs from minimal amounts of fat tissue, providing sufficient number of cells for repetitive injections. High expansion efficiencies were routinely achieved from autoimmune patients and from elderly donors without measurable loss in safety profile, genetic stability, vitality and differentiation potency, migration and homing characteristics. Although the conclusions that can be drawn from the compassionate use treatments in terms of therapeutic efficacy are only

preliminary, the data provide convincing evidence for safety and therapeutic properties of systemically administered AdMSC in human patients with no other treatment options. The authors believe that ex-vivo-expanded autologous AdMSCs provide a promising alternative for treating autoimmune diseases. Further clinical studies are needed that take into account the results obtained from case studies as those presented here.

Keywords: Autologous adipose mesenchymal stem cells, autoimmune diseases, systemic stem cell infusion

The screenshot displays the homepage of the Journal of Translational Medicine. At the top, the journal's logo and name are visible, along with an Impact Factor of 3.51. A search bar is located in the upper right corner. Below the navigation menu, the 'Articles' section is highlighted, featuring a list of recent publications. The article of interest is highlighted with a black box:

Review [Open Access](#)
Stem cell treatment for patients with autoimmune disease by systemic infusion of culture-expanded autologous adipose tissue derived mesenchymal stem cells
 Ra JC, Kang SK, Shin IS, Park HG, Joo SA, Kim JG, Kang BC, Lee YS et al.
Journal of Translational Medicine 2011, **9**:181 (21 October 2011)

Below the article list, there is an advertisement for GenXPro, a platform for deep sequencing solutions in transcriptomics, genomics, and epigenomics. The main content area shows the full article page for the highlighted review, including the title, authors (Jeong Chan Ra, Sung Keun Kang, Il Seob Shin, Hyeon Geun Park, Sang Aun Joo, Jeong Geun Kim, Byeong Cheol Kang, Yong Soon Lee, Ken Nakama, Min Piao, Bertram Sohl and Andreas Kurtz), and a provisional abstract. The abstract discusses the use of culture-expanded human adipose-derived mesenchymal stem cells (hAdMSCs) for treating autoimmune diseases. On the right side of the article page, there are sections for 'Viewing options' (Abstract, Provisional PDF), 'Associated material', 'Related literature', and 'Tools' (Download references, Email to a friend, Order reprints, Post a comment, Share this article).

<들어가는 말>

21 세기 현재, 우리는 눈부신 의학기술에 힘입어 수명연장으로 말미암아 고령화 시대가 급속히 진행되고 있으며, 수많은 인간의 생활을 편리하게 하고 즐겁게 하는 도구들의 개발과 함께 이전에는 예기치 못한 우리 신체를 불구로 만드는 사고 또한 늘고 있다. 이러한 끔찍한 사고와 고령화와 함께 수많은 난치병이 증가되고 있는 것도 사실이다. 현대의학에서는 이러한 난치병 치료를 위해 각각의 난치병 원인을 규명하고 치료제를 개발하여 왔다. 이러한 치료제 개발은 특정 질병의 치료를 위한 특정 의약품의 개발에 초점이 맞추어져 있다. 그렇지만 최근에 줄기세포 기술의 발전으로 인해 우리 몸 속의 성체줄기세포를 잘 활용함으로써 여러 가지 난치병을 치료할 수 있다는 사실을 저자들은 발견하였다. 특히 환자 자신의 지방조직 속에 포함되어 있는 중간엽 줄기세포를 안전하게 고순도로 활성이 높게 많은 수를 배양하는 기술을 개발함으로써 수술 없이 정맥 내 투여를 통해 손상된 신체조직으로 줄기세포가 이동함으로써 난치병을 치료하는 기술을 개발하였다. 자가 지방 유래 중간엽 줄기세포는 하나님께서 예비하신 난치병 치료를 위한 선물임에 틀림없다고 생각된다. 이번의 난치병 치료를 위한 새로운 발견은 어린아이부터 노인까지 피부색과 관계없이 인류에게 건강한 삶을 제공하는데 크게 기여할 것이다.

자가 지방유래 중간엽 줄기세포의 정맥 내 투여를 통해 치료할 수 있는 난치병의 종류는 매우 다양하다. 지금까지 동물모델을 이용한 실험과 사람에서의 사례를 통해 확인된 치료 가능 난치병은 대표적으로 자가면역질환을 첫 번째로 들 수 있다. 본 연구팀은 자가면역 질환 중에서 전신 홍반성 루프스, 다발성경화증, 류마티스증, 베체트병, 자가면역성난청, 자가면역성 갑상샘염, 강직성 척수염에 대한 탁월한 효과를 확인하였고 만성퇴행성난치병인 당뇨병, 폐 섬유화증 퇴행성관절염의 자가 줄기세포 치료법을 개발하였다. 또한 뇌신경계 난치병인 파킨슨병, 척수손상, 치매에 대한 치료가능성을 제시하였다. 이러한 성과는 많은 제약여건들로 인해 매우 어렵게 성취되었다. 줄기세포에 대한 이해부족으로 동물과 사람에서의 연구가 매우 어렵게 진행되었고 한국에서는 지난 몇 년 전의 줄기세포 스캔들 때문에 배아 줄기세포가 아닌 환자 자신의 성체줄기세포를 이용한 임상적용도 매우 힘든 것이 사실이다. 이에 따라 사람에서의 효과 확인은 자가 성체줄기세포 치료가 비교적 자유로운 일본과 중국에서 이루어졌다. 저자들은 본 논고에서 소개된 결과가 전 세계의 난치병 환자들에게 희망과 실질적 도움이 되기를 바라며 이번 새로운 발견을 계기로 전 세계 보건의료 규제기관에서 보다 개선되고 자유로운 자가 줄기세포 치료규정과 기준이 조속히 마련되기를 촉구한다.

그 옛날 중국의 진시황제가 찾아 헤매던 불로초, 성경에서 가장 오래 살았던 무드셀러의 비밀을 풀어가는 중요한 하나의 열쇠가 지금 우리의 몸 속에서 활동하고 있다. 한국의 다발성경화증 환자 협회장인 다발성경화증환자 유지현씨는 자가지방유래줄기세포 투여 후 다음과 같은 소감을 이야기 하였다. "극심한 통증이 줄어들어 살 것 같습니다." 자가 면역성 난청환자 미국인 여대생 클로이 소울은 청력이 정상으로 되돌아와 본인이 꿈꾸었던 뮤지컬 싱어에 대한 희망을 다시 가지게 되었다. 손의 통증으로 그림 그리기를 그만두었던 화가 존 컬리슨은 지금 미국 플로리다에서 그림작업과 바다낚시를 즐기고 있다. 류마티스에 의해 환자 수술을 포기했던 의사 스탠리 존스는 이제 발병전보다 수술 건수를 늘리게 되었고 산소 호흡기에 의존했던 폐 섬유화증 환자 주디스는 손자, 손녀들과 수영과 탁구를 함

게 즐기고 있다. 또한 파킨슨병으로 사역활동을 포기할 지경에 이르렀던 한국의 유명한 목사인 조용기 순복음교회 원로목사는 지금 더 활발히 국내외 선교활동에 전념하고 있다.

본 논고에서는 우리 몸의 항상성 유지를 위한 보호자로서의 중간엽 줄기세포, 특히 자가지방유래 중간엽 줄기세포를 이용한 자가면역질환을 비롯한 여러가지 난치병 치료 사례를 소개하고자 한다. 저자들은 지방유래 중간엽 줄기세포를 고순도로 많이 배양하는 방법의 표준화를 시도하였고 배양된 지방유래 중간엽 줄기세포의 안전성 시험을 수행하였다. 아울러 연령에 따른 지방유래 중간엽 줄기세포의 활성을 비교하였고, 정맥 내 투여 후 줄기세포의 이동을 연구하고 자가 지방유래 중간엽 줄기세포의 컴페션 치료를 통해 자가면역질환 및 다른 난치병에 대한 자가 줄기세포 치료의 효과를 발견하고자 하였다.

2. 중간엽 줄기세포란?

중간엽 줄기세포는 프라이덴스타인과 그 동료들에 의해서 최초로 골수에서 분리되었으며 그 명칭은 뼈, 연골 및 지방 등의 다양한 중배엽 조직으로의 분화능력에서 유래되었다. 중간엽 줄기세포는 골수 이외에 지방, 골막, 활막, 관절 낭액, 근육, 진피, 유치, 주피세포, 해면골, 무릎밀 지방체, 관절연골, 탯줄, 제대혈 그리고 태반 등의 다양한 장기 및 조직에서 발견된다. 중간엽 줄기세포는 자가 복구 및 지방 세포, 골세포, 연골세포, 간세포, 신경세포, 근육세포 및 내피 세포 등의 다양한 세포로의 분화가 가능하다. 또한 중간엽 줄기세포는 면역 조절 및 항염증 능력을 갖고 있다는 것이 증명되었다. 이러한 중간엽줄기세포의 면역조절 능력은 자가 면역 질환이나 염증성 질환의 치료에 근거가 된다. 중간엽 줄기세포는 다양한 세포로의 분화, 여러 인자들의 분비와 국소 환경의 조절 및 내생의 전구세포 활성화 등의 능력이 증명되어 이식편대숙주병, 전신성 홍반성 낭창, 류마티스성 관절염, 다발성 경화증, 당뇨병, 심근경색증, 갑상선염 그리고 다양한 종류의 질환 치료에 이용 가능하다.

줄기세포를 이용한 질병 치료 방법으로 정맥, 동맥, 뇌내 투여 등의 중간엽 줄기세포의 다양한 투여 방법은 보고되었다. 이들 중 정맥 내 투여는 다수의 세포가 폐에 머무른다 하여도, 편리한 방법임과 동시에 손상된 부위에 대한 훌륭한 치료 효과를 보인다. 골수유래 중간엽 줄기세포와 지방유래 중간엽 줄기세포의 상처부위로의 생체 내 이동 능력 (homing)에 대한 최근 연구가 치료 목적의 중간엽 줄기세포 정맥 내 투여를 더욱 자극하였다.

3. 지방유래 중간엽 줄기세포

골수유래 중간엽 줄기세포가 최초로 치료에 적용되었다. 하지만 골수의 채취는 침습적인 방법을 사용하며 적은 수의 세포 (골수 유핵 세포 1×10^5 당 1~10 또는 0.0001-0.01%)만 얻을 수 있다. 더욱이, 골수유래 중간엽 줄기세포의 치료 가능성은 기증자의 나이가 증가함에 따라 감소하게 되며, 이에 따라 분화 능력과 세포 활력이 감소하게 된다. 지방 조직은 자가 줄기세포 치료를 위한 중간엽 줄기세포의 원천으로서 매력적인 조직으로서 충분한 양을 최소한의 침습적인 방법으로 쉽게 얻을 수 있다. 또한, 지방 조직은 골수보다 많은 양의 중간엽 줄기세포를 포함하고 있다 (지방 1그램 당, 약 1십만 개의 중간엽 줄기세포 포함). 지방유래 중간엽 줄기세포의 국소 또는 전신성 투여는 심근경색, 간 손

상, 저산소증 허혈성 뇌손상, 알리지성 비염, 근이영양증에서 복구 능력이 보고되었으며 중간엽 줄기 세포는 이식편대숙주병, 다발성경화증, 류마티스성 질환, 갑상선염등의 자가 면역 질환들의 치료를 위한 면역 조절 능력을 가진 것으로 알려졌다.

3.1 임상 적용에 적합한 지방유래 중간엽 줄기세포 표준배양법 확립

조직내의 중간엽 줄기세포는 적은 수만이 존재하므로, 중간엽 줄기세포의 치료적 효과를 얻기 위해서는 충분한 숫자를 생산하기 위한 체외배양법이 요구된다. 골수유래 중간엽 줄기세포의 경우, 장기간 배양시, 형태적 변화, 세포표면의 특수표시인자의 변화, 증식능력 및 분화능력의 감소, 세포활성물질의 분비능력의 변화와 같은 중간엽 줄기세포의 질적 변화가 일어난다. 본 연구팀은 많은 양의 지방을 얻을 수 없는 난치성 질환으로 고통받은 환자로부터 얻은 최소량의 지방조직에서 충분한 줄기세포수를 얻을 수 있도록 사람 지방유래 중간엽 줄기세포의 최적 배양법을 개발하였다. 지방조직의 채취는 특수한 캐뉴라를 이용하여 지방조직내의 줄기세포의 생존률을 최대화하여, 다른 방법과 비교시 초기 줄기세포를 최대 3배까지 획득할 수 있었다. 지방유래 중간엽 줄기세포의 증식 및 분화능력을 향상시키기 위해 상업적으로 판매되는 배양배지 15종 이상을 실험하였으며, 결국 능력이 향상된 RCME (중간엽 줄기세포 선택배양배지)과 RKCM (중간엽 줄기세포 증식용 배양배지) 라고 명명된 사람지방유래 중간엽 줄기세포 배양배지를 개발하였다. 이러한 최적화된 세포배양 증식방법 개발을 통해 5g의 지방에서 3계대 이상 배양하였을 때, 최소 10억개의 세포를 얻을 수 있다. 또한 본 연구팀이 개발한 이러한 배지들은 다른 기존의 배양배지와 비교시 더욱 더 적합한 세포배양상태를 만들어 높은 세포활성능력, 짧은 배양시간, 줄기세포의 형태유지 및 능력을 향상시킨다.

이러한 규격화된 배양기술에 의해 배양증식된 사람지방유래 중간엽 줄기세포의 특성, 안정성, 독성 및 종양원성에 대해 규명하였다. 배양증식된 중간엽 줄기세포의 안전성을 증명하기위해 중간엽 줄기세포의 계대별 유전적 안정성, 중간엽 줄기세포의 형태학적, 면역표현형 및 분화능력의 특성에 대해 알아보았다. 배양된 지방유래 중간엽 줄기세포는 중간엽 줄기세포의 전형적인 면역표현형과 분화능력이 있음을 입증되었다; 지방유래 중간엽 줄기세포는 CD90, CD105, CD44와 CD29와 같은 중간엽 줄기세포 표지 면역표현형을 발현하나, 조혈모세포 혹은 내피상피세포의 표지인자인 CD31, CD34와 CD45는 발현하지 않음을 확인하였다. 지방유래 중간엽 줄기세포는 지방세포, 골모세포, 신경세포, 근육세포 및 연골세포로 분화될 수 있는 능력을 확인하였다. 배양증식된 사람지방유래 중간엽 줄기세포가 적어도 12계대 배양까지 유전적으로 안정하다는 것을 핵형분석과 단일염기다형성 검사 (SNP assay)을 통하여 입증하였다.

생리식염수에 부유된 지방중간엽 줄기세포는 섭씨 2~8도의 냉장보관상태에서 중간엽 줄기세포의 특성, 활성도 및 능력이 줄기세포가 병원으로 전달되는데 소요되는 임계시간인 최소한 72시간 동안 유지 되었다. 줄기세포 이송 전에 세포, 진균 및 마이코플라스마에 오염되지 않음을 확인하였으며, 트리판 블루검사법으로 세포의 활성도가 95%이상 됨을 확인하였다.

3.2 배양된 지방유래 중간엽 줄기세포의 생체내 안전성

사람지방유래 중간엽 줄기세포의 생체독성여부를 검사하기위해, 다양한 용량의 줄기세포를 면역결핍 마우스에 꼬리정맥으로 정맥투여 한 후, 13주 동안 이상 여부를 관찰하였다. 최고용량인 체중 kg 당 2.5×10^8 의 세포수를 투여한 마우스에서도 이상증세는 관찰되지 않았다. 누드 마우스에 사람지방유래 중간엽 줄기세포를 피하 투여한 후, 26주간 증양원성에 대해 관찰한 결과, 최고투여용량인 체중 kg 단위당 2×10^8 세포수를 투여한 경우에도 증양 생성은 없었다. 사람지방유래 중간엽 줄기세포의 정맥내 투여 안전성은 척수손상 환자에게 4×10^8 세포수의 자가지방유래 중간엽 줄기세포를 정맥투여 후 12주간 관찰한 임상 1상 실험에서 심각한 이상증세는 발생하지 않았다. 척수손상 환자에게서 일반적으로 발생하는 미미한 이상증세가 관찰되었으나, 곧 이상 증세는 사라졌거나 의료적 처리로 완화되었다. 이러한 연구를 바탕으로, 사람지방유래 중간엽 줄기세포의 전신투여는 안전하며 증양을 생성하지 않는다는 것이 입증되었다.

3.3 연령별 사람지방유래 중간엽 줄기세포의 신경분화능력의 비교

줄기세포를 이용하여 치료하고자 하는 많은 질환들은 노화에 의한 퇴행성 질환이므로, 나이가 든 환자에게 분리한 줄기세포는 치료적 효과를 얻기 위해서는 줄기세포의 능력이 유지 되어야 한다. 골수유래 중간엽 줄기세포는 연령에 따라 효과가 논란이 되고 있다. 멘데스등은 청년기와 성년에서 분리한 골수유래 중간엽 줄기세포를 삼차원 지지체에 배양한 비교한 연구에서 연령이 증가함에 따라 골형성능력이 유의적으로 감소한다고 보고하고 있다. 스텐더업등은 사람 골수유래 중간엽 줄기세포는 비록 실험실적 및 생체내에서 골형성능력은 비슷하지만, 증식능력과 세포의 수명이 연령이 증가함에 따라 감소된다고 보고하고 있다. 하지만, 지방유래 중간엽 줄기세포는 골수 유래 세포와 같은 연령에 따른 노화가 진행되지 않는 것 같다. 평균 연령 71.4 세와 36.4 세로부터 분리한 지방중간엽 줄기세포를 비교해 본 결과 증식 능력, 골 분화 능력과 노화 마커 발현에 있어서 연령별 차이가 없었으나, 골수 유래 중간엽 줄기세포는 이러한 능력이 연령별에 차이가 있음이 확인되었다. 본 연구팀은 사람지방유래 중간엽 줄기세포의 능력을 측정 하기 위해 30 대, 40 대, 50 대의 공여자에게서 분리한 지방유래 중간엽 줄기세포의 증식능력과 신경세포로 분화하는 능력을 측정하였다. 그 결과, 사람지방유래 중간엽 줄기세포의 세포수, 생존율, 세포의 형태와 신경세포로의 분화능력은 연령 및 배양계대간의 차이가 없었다. 이는, 지방유래 중간엽 줄기세포는 노화에 따른 세포능력의 차이가 없이, 나이 든 사람으로부터 얻어진 지방 줄기세포도 젊은 사람에서 얻어진 세포와 마찬가지로 능력으로 자가 세포 치료제로 사용될 수 있으며, 충분히 능력을 발휘할 수 있다는 가능성을 의미한다.

4. 정맥내 투여한 중간엽 줄기세포의 손상된 부위로의 이동 능력

다수의 생체 내 연구에 의하면 전신으로 투여된 중간엽 줄기세포는 손상된 염증성 조직으로 이동하여 치료 효과를 발휘한다는 것을 확인해 준다. 심근경색을 유발한 쥐의 정맥내로 투여된 골수 중간엽줄기세포는 병변 부위로 모이며 심실 기능을 향상시키는데 반해, 심근경색을 유발하지 않은 쥐에 투여한 줄기세포는 골수로 향한다. 생쥐의 복부에 국소적으로 방사선을 조사하면 중간엽

줄기세포가 방사선-손상 조직에 집중적으로 모여든다. 최근의 연구에서 알려지성 비염 동물 모델을 대상으로 정맥내 투여한 사람 지방 중간엽줄기세포가 세포-손상 부위로 모이는 특성도 밝혀졌다. 본 연구팀은 척수 손상 모델 쥐에게 형광으로 염색한 사람 지방 중간엽줄기세포를 정맥내 투여 후 뇌, 척수, 비장, 흉선, 신장, 간, 폐 및 심장과 같은 장기 내 존재하는 줄기세포의 상대적 분포를 관찰한 결과 대부분의 세포가 비장(40%) 및 흉선(21%)에 존재하였지만, 손상된 척수 부위에서도 상대적으로 많은 지방 중간엽줄기세포(13%)가 발견되었다.

중간엽줄기세포가 손상된 부위로 향하는 과정에 케모카인과 성장인자가 연관있다는 많은 연구 결과가 보고되었다. 왼쪽 신경 손상 모델쥐에 투여한 골수 중간엽줄기세포의 이주에 SDF-1 α 와 CXCR4의 상호작용이 관련되어 있었다. 골수 중간엽줄기세포가 사람 채도 배양시 상층액에 존재하는 케모카인에 의해 이끌린다는 *in vitro* 및 *in vivo* 연구가 있었다. 본 연구팀은 지방 중간엽줄기세포의 화학주성을 유도하는 수용성 인자와 수용체에 대한 연구를 실시하였다. 그 결과, 사람 지방줄기세포의 이주능에 큰 영향을 미친 것은 PDGF-AB 및 TGF- β 1이었으며, 지방 중간엽줄기세포는 TNF- α 로 미리 자극시켰을 때 가장 뛰어난 이주능을 보였다. 유동세포계측법 및 RT-PCR로 분석한 결과, 사람 지방 중간엽줄기세포는 C-C chemokine receptor type 1 (CCR1), CCR7, C-X-C chemokine receptor type 4 (CXCR4), CXCR5, CXCR6, EGFR (EGF receptor), FGFR1 (FGF receptor 1), TGFBR2 (TGF receptor 2), TNFRSF1A (TNF receptor 1), PDGFRA (PDGF receptor A) 및 PDGFRB (PDGF receptor B) 단백질과 mRNA를 발현하였다. 이러한 본 연구팀의 결과는 사람 지방 중간엽줄기세포의 이주 능력이 여러 성장인자와 케모카인에 의해 조절될 수 있다는 것을 의미하며, 세포 자극을 통해 정맥내 투여 후 줄기세포가 손상된 부위로 이주하는 능력을 촉진시킴으로써 치료 효과를 향상시킬 수 있다는 것을 말해주고 있다.

5. 중간엽 줄기세포의 면역조절 및 항염증 효과

많은 연구들에 의해 중간엽줄기세포의 면역 조절 능력과 항염증 효과가 확인되었다. 이러한 중간엽줄기세포의 특성으로 인해, 자가면역갑상샘염, 류마티스관절염 및 다발성경화증과 같은 여러가지 자가면역성 질환 및 이식편대숙주병의 치료에 사용되었고, 타가 세포 이식으로도 확대 적용될 수 있었다. 동종관계 조혈모줄기세포를 이식받아 치명적 이식편대숙주병이 발생한 생쥐에게 빠른 시간내에 지방 중간엽 줄기세포를 전신 투여하면 효과적이었다. 다발성경화증 동물 모델에서 골수 중간엽줄기세포의 치료 효과도 보고되었다. 실험적으로 유발한 자가면역 뇌척수염 동물모델에서 질병 발병 시점이나 혹은 그 이전에 중간엽줄기세포를 정맥 투여하면 탈수초화로 인한 임상 증상이 감소하였다. 콜라젠을 이용하여 실험적으로 관절염을 유발한 연구에서, 골수 중간엽 줄기세포를 복강내로 단회 투여하였을 때 혈액 내의 염증성 시토카인 수준이 낮아져 심한 관절염의 발생이 예방되었다. 사람 지방 중간엽줄기세포가 Th1 시토카인을 하향조절하여 실험적으로 유발한 자가면역갑상샘염을 개선시켰다. 전신으로 투여된 지방 중간엽 줄기세포가 흉선 내 림프구의 침윤을 예방하였으며 염증성 시토카인의 생성을 감소시키고 Th1/Th2 밸런스를 향상시켰다. 중간엽줄기세포는 타가 항원이나 비특이적 항원에 대한 반응으로 유발되는 T 림프구 증식 및 시토카인 생성을 억제하였으며 *in vivo*로 이식된 피부의 생존을 지속시켰다. 또한, 여러 연구결과에

의하면 중간엽줄기세포는 B림프구, NK세포 및 수지상세포의 기능을 억제한다.

6. 자가면역질환에서의 중간엽 줄기세포의 임상 적용

앞서 기술한 바와 같이 중간엽줄기세포가 면역조절능과 항염증 성질을 가지고 있고 체내 안전성이 확인되었다는 이론적 근거를 바탕으로, 여러가지 자가면역 질환 치료를 위한 동정적 사용(compassionate-use)을 진행하였다.

6.1. 자가면역성 난청

자가면역내이질환은 비대칭적 양측성으로 진행되는 감각신경난청으로 주된 치료는 항염제, 특히 코르티코스테로이드이다. 하지만 스테로이드 치료에 반응을 보이지 않는 환자들도 있어, 이러한 환자를 위한 대체 치료가 필요하다. 이러한 관점에서, 생쥐에게 실험적으로 자가면역성 난청을 유발한 후 사람 지방 중간엽줄기세포의 효능을 확인하였다. 자가면역성 난청 생쥐에 사람 지방 중간엽줄기세포를 일주일에 한 번씩 6주간 정맥 투여한 결과, 청각 기능과 털세포 안정화가 유의적으로 향상되었고 자가 면역을 조절하는 면역조절 T 세포의 생성이 촉진되었다.

임상 사례

스테로이드와 면역조절약물 치료에 반응을 보이지 않는 자가면역내이질환 환자에게 자가 지방 중간엽줄기세포 치료가 제공되었다. 이 환자는 2009년 1월, 자가면역내이질환으로 진단받아 Dyazide와 Lipoflavonoids을 처방받았다. Solumedrol 100 mg을 정맥내 펄스 주사하였다. 자가면역난청을 주로 다루는 류마티스전문의를 추천받아 Plaquenil 200 mg과 Azulfadine 500 mg을 처방받았다. 2009년 2월, 두 번째 이비인후과 의사의 진료에 따라 Plaquenil과 Azulfadine을 중지하고 일주일에 한 번 Methotrexate 15 mg 및 Leucovorin 5 mg 복용과 함께 한 달에 3일 간 Solumedrol 1 g씩 투여받았다. 2009년 3월, Methotrexate와 Leucovorin은 중지하고 2009년7월 17일까지 한 달에 3일 간 Solumedrol 1 g 정맥 주사와 함께 2주 간격 Humira 40 mg 근육내 주사 치료를 받았다. 하지만 이러한 치료가 효과가 없어 2009년 6월 8일, 환자 자신의 지방조직 5 g을 채취하여 RNLBIO GMP시설에서 지방 중간엽줄기세포를 배양하도록 하였다. 환자는 2009년 7월 27일, 8월 3일, 8월 10일, 3회에 걸쳐 지방줄기세포 치료를 받았는데, 한번에 2억 개씩, 총 6억 개의 지방 중간엽줄기세포를 정맥 주사하였다.

줄기세포 투여 전 (2009년 7월 27일)에 오른귀의 pure-tone 가청역치가 83 dB로 심각한 청력 손실을 나타냈으며, 왼귀의 경우 계측 범위를 벗어나 측정 불가의 귀먹음 상태였다. 공기전도검사에서 오른귀의 역치는 125, 250, 6000 및 8000 Hz 에서 계측 범위를 벗어났고 왼귀는 측정 불가의 귀먹음 상태였다. 뼈전도 검사에서 오른귀는 250 Hz 에서 30 dB, 왼쪽 귀는 500 Hz 에서 45 dB 시 각각 반응하였다. 첫 번째 줄기세포를 투여한지 약 3개월이 경과 (2009년 10월 16일) 하였을 때 오른귀의 pure-tone 가청역치가 22 dB로 정상 청력 수준이었고, 왼쪽 귀는 62 dB로 중등도로 심각한 청력

소실 단계를 나타내었다. 공기전도검사에서 오른귀는 8000 Hz 를 제외한 모든 주파수에서 정상 청력 수준인 20-25 dB을 나타냈으며 오른쪽 귀의 공기전도 가청역치는 50 dB로 중등도의 청력 손실 수준이었다. 뼈전도 검사에서 오른귀는 정상 청력을 나타내었다. 왼쪽 귀는 공기전도와 뼈전도검사 시 1000 Hz 이하일 경우 역치가 45-50 dB로 중등도의 청력 손실 수준이었으며 2000 Hz 이상에서는 80 dB로 심각한 난청 수준이었다. 줄기세포 치료 11개월 후 (2010년 6월 29일), 오른귀의 pure-tone 가청역치는 30 dB로 가벼운 난청 상태였고 왼쪽 귀는 17 dB로 정상 수준이었다. 종합하자면, 줄기세포 치료 후 오른귀는 심각한 감각신경난청에서 가벼운 난청으로 (83 dB 30 dB), 왼쪽 귀는 측정불가 귀먹음 수준에서 정상 청력으로 (scaled out to 15 dB) 호전되었다.

6.2. 다발성 경화증

다발성 경화증은 사지의 마비, 화끈거림, 성기능장애 및 배뇨 배변이상의 임상증상을 보이는 중추신경계에 다발하는 만성 염증성 질환으로, 주로 20대에서 40대의 젊은 여성에서 많이 발생한다. 비록, 자가면역성 항 마이엘린 반응을 억제하고 재발의 빈도를 감소시키는 면역억제제 치료가 이루어지고 있으나, 질병의 진행을 멈추게 하고 손상된 마이엘린 (수초)를 재생시키기 위한 효과적인 치료법은 없다. 다발성 경화증의 동물모델인 만성 자가면역성 뇌척수염 동물에서의 다양한 종류의 줄기세포를 이용한 치료법 연구가 이루어지고 있으며, 골수유래 및 지방유래 중간엽 줄기세포가 신경활성을 회복시키고 새로운 신경세포를 재생할 수 있는 능력이 있음이 보고되고 있다. 본 연구팀은 사람지방유래 중간엽 줄기세포가 자가면역성 뇌척수염을 가지고 있는 동물에서 투여한 결과, 투여한 줄기세포수에 따라, 투여시기에 따라 증상을 호전시키며, 이러한 증상의 호전은 항염증성 사이토카인의 증가에 의한 것임을 확인하였다.

임상사례

46세의 여성 (2009년 당시)은 1992년에 재발-완화형 다발성 경화증을 진단받았으며, 1992년 당시에는 가벼운 감기 증세 후 양쪽 다리 근육의 강직과 약화되는 증상보였으며, 고용량 스테로이드 제제 복용 후 증상이 호전되었다. 그러나, 증상을 보인 3개월 후에 하지 근위축, 근력약화, 왼쪽 시력 상실, 배뇨, 배변 장애가 재발되었으며, 1년에 2-3차례의 재발과 완화가 반복되어, 증상이 재발될 때마다 고용량의 스테로이드제제를 복용하였다. 다발성 경화증 진단을 받은 후 10년째 (2002년) 부터는 휠체어를 사용하게 되었다. 2009년 4월, 당시에는 하지 근육 강직과 허약으로 스스로 서는 것조차 불가능하였고 외부 활동 없이 거의 집안에서 휠체어로 생활하고 있는 상태였다. 또한, 하지 감각 장애, 배뇨, 배변장애, 양쪽 시력저하, 심한 전신적 피로와 통증으로 고통받고 있었다. 스테로이드제제는 2004년 이후 복용하지 않고 있었으며, 배변을 돕기 위해 관장 또는 변비약 제제만을 복용하고 있었다. EDSS(다발성경화증 확장장애 상태척도)에서 8등급으로 체크되었다. 2009년 4월 지방조직 5g을 채취하였으며, 혈청내의 사이토카인의 양을 측정하였다. 지방조직은 알앤엘바이오 GMP 시설로 수송되었으며, 지방유래 중간엽 줄기세포의 분리 배양이 이루어졌다. 2009년 6월 16일 에서 7월 11일 사이에 자가지방유래 중간엽 줄기세포를 5차례의 정맥투여와 3차례의 척수강내 투여로 총 10억개의 세포를 투여받았다. 자가지방유래 중간엽 줄기세포 투여 4개월 후 다발성 경화증 확장 장애 상태척도가 1등

급정도 향상되었으며, 타인의 도움으로 보조도구를 이용하여 2~3분간 서 있는 것이 가능해졌으며, 대략 10미터 정도 보행이 가능해졌다. 근력검사와 근전도검사를 자가지방유래 줄기세포를 투여 1개월, 4개월 후에 각각 측정하였다. 근전도 검사에서는 왼쪽 팔의 정중신경의 감각신경의 감각능력이 58.4에서 73.8 μ V로 증폭되었으며, 운동신경의 전도속도가 66.7에서 72.7m/s로 빨라졌다. 또한, 왼쪽 다리의 경골신경의 운동신경의 반응시간이 4.65에서 3.65(ms)로 짧아졌으며, 전도속도는 47.7에서 50m/s로 빨라졌다. 비골신경의 운동신경의 반응시간도 5.75에서 3.95(ms) 호전되었고, 전도속도도 42.4에서 53.9m/s로 빨라졌다. 줄기세포 투여 이후로는 피로감이 감소하고 에너지 상태와 몸상태가 호전된 것을 느꼈다. 자가줄기세포를 투여한 전 (2009년 4월)과 투여 후 (2010년 8월)에 혈청내의 사이토카인의 양 (pg/ml)을 검사 비교할 결과 GM-CSF (333.25에서 0.49이하), IL-1 β (687.88에서 0.46이하), IL-6 (3322.05에서 0.77이하) 와 TNF- α (64.25에서 5.86로) 매우 감소되었다.

6.3. 다발성 근염

다발성 근염은 그 발병원인이 알려져 있지 않은 만성 염증성 근육의 질환으로, 백혈구세포들이 근육 조직내로 침습하면서 발병하며, 피부근염과 봉입체성 근염과 관련있다. 임상증상으로 통증을 동반한 몸통 가까운 쪽의 사지 근력 특히 어깨 와 골반부위의 근육의 약화, 근소실 및 근력저하가 특징적이다. 비록 발병원인에 대해 알려진 것은 없으나, 자가면역성, 바이러스성 감염 혹은 유전적 원인등이 발병과 연관되어 있다고 추정되고 있다. 치료법은 스테로이드제제와 면역억제제를 사용이 주로 이루어지나 치료효과가 없거나 재발하는 경우가 많다. 재발성 다발성 근염 환자에게 조혈모세포이식을 효과적인 임상결과를 얻은 경우는 있으나, 이식조건에 따라 이상반응을 보인다는 보고도 있다. 다른 보고에 의하면, 약물치료에 효과를 보이지 않는 환자 10명에게 골수와 제대혈 유래의 타가 중간엽 줄기세포를 이식한 후 1년 이상 관찰한 결과, 비록 면역억제제 치료를 중단하거나 치료된 경우는 없었으나, 중간엽 줄기세포의 이식은 면역억제제의 효과를 발휘할 수 있도록 도와주는 보조제 역할로의 가능성을 제시하고 있다.

임상사례

35세의 여성 (2010년 당시)은 1998년 어깨 위로 손을 들어 올리는 것이 힘들어 병원을 방문하였고, 근전도 검사와 근육 생검을 통해 다발성 근염으로 진단받았다. 2010년 당시, 그녀는 상하지 근력 소실로 일상생활에 불편을 겪고 있었으며, 옆에서 밀면 중심을 잡지 못하고 쓰러졌다. 평지를 걷는 것은 가능하였지만, 경사가 있는 곳을 걷는 것과 계단을 오르는 것은 불가능하였다. 스테로이드제 (solondo 하루 80 mg)의 장기복용으로 몸무게의 증가, 골다공증 (골밀도 검사상 3.0이하), 생리중단, 빈뇨, 잔뇨감, 피부가 얇아져서 햇빛에 쉽게 화상을 입는 것과 같은 부작용을 겪고 있었다. 그녀는 2010년 1월에 채취된 5g의 지방조직이 알앤엘바이오 GMP 시설로 이송되어 지방유래 중간엽 줄기세포의 배양이 이루어졌다. 2010년 3월에서 4월 사이에, 자가지방유래 중간엽 줄기세포를 2주 간격으로 4차례 각각 5×10^8 세포를 총 2×10^9 세포를 정맥투여 받았다. 근력검사, 근전도 검사, 실험실적 혈액화학적 검사 및 삶의 질평가 (SF-36)을 자가지방유래 중간엽줄기세포 시술 전과 시술 3개월 후에 실시하였다. 자가지방유래 중간엽 줄기세포 투여 후 허리부위 근력의 굽힘과 펴는 힘은 4단계에서 5

단계로 1단계 상승하였고, 무릎의 펴는 힘 (3단계에서 4단계로) 과 발목 부위의 굽히는 힘 (4단계에서 5단계로)로 1단계 상승하였다. 줄기세포 투여 후, 스테로이드제제 Solondo는 하루 20 mg을 복용하게 되었으며, 일상생활이 보다 독립적으로 되었으며, 경사가 완만한 곳이나 폭 10 cm 이하의 계단은 난간을 붙잡고 걷을 수 있게 되었다. 화장실 사용, 혼자 샤워하기, 옷 입기가 가능하게 되었으며, 운전이 가능하게 되었다.

6.4. 아토피 피부염

아토피피부염(AD)은 습진과 가려움증이 악화되었다 가라앉기를 반복하는 만성적이며 치유가 어려운 흔한 피부 질환으로 병인은 아직 밝혀지지 않았다. 현재 이 질환에 대한 대책은 코르티코스테로이드 및 타크롤리무스를 국소적으로 도포하여 피부 염증 빈도를 낮추고 피부 발적을 예방하는데 목표를 두고 있다. 이러한 치료들로 증상을 조절할 수는 있으나 빈번히 재발한다. 게다가 코르티코스테로이드를 광범위하게 장기간 사용하면 피부 위축을 일으킬 수 있는 등 국소적인 부작용의 위험을 안고 있어, 상당수의 아토피 환자가 코르티코스테로이드 사용에 대한 공포를 갖고 있기도 하다. 중간엽줄기세포의 면역조절 효과가 알려졌음에도 불구하고 아토피 환자에 대한 줄기세포 치료 보고는 아직 없다.

임상 사례

27세의 여성 환자는 유아기 시절부터 아토피로 고생하였다. 2009년 7월 내원 당시 아토피 병변 범위가 두피, 안면, 앞뒤 체간, 및 팔다리에 이를 정도로 광범위하게 퍼져 있었다. 병변 정도는 홍반, 구진화, 진물, 찰상, 태선화, 건조증 모두 중증이었다. 환자는 또한 일상생활을 방해할 정도의 가려움증과 이로 인한 수면 장애를 호소하였다. 아토피 평가 (SCORAD) 지표로는 총 93.1점의 중증이었다. 환자는 자신의 지방 중간엽 줄기세포를 2억 개씩 3회에 걸쳐 (2009년 9월 26일, 11월 10일 및 18일) 총 6억 개의 세포를 정맥 내로 투여 받았다. 첫 번째 줄기세포 투여한지 5.5 개월이 지났을 때 아토피 증상을 다시 평가한 결과, 심각했던 증상들이 중등도 또는 경증으로 완화되었다. 가려움증도 가라앉아 수면을 방해하지 않게 되었다. 줄기세포 투여 후의 SCORAD지표는 총 61.1점을 나타냈다. CBC상 호산구 수도 26.6%에서 5.8%로 낮아졌다. 이 환자는 복용 중이었던 약물을 중단하였다.

6.5. 류마티스 관절염

류마티스관절염은 T 세포 매개의 전신적인 자가면역 질환으로 면역학적인 관용성이 소실되어 발생하는데 활막의 염증과 연골 파괴가 특징적이다. 본 연구팀은 콜라겐을 이용하여 실험적으로 유도한 관절염 모델 (CIA)에게 사람 지방중간엽 줄기세포를 전신으로 투여한 결과 관절염의 발생과 증상 정도가 의미있게 낮아졌다. 줄기세포 치료는 증상 발현 이전에 그리고 국소적 적용보다는 전신적 투여시에 치료 효과가 좋음을 확인하였다.

임상 사례

2009년 9월 5일, 미국의 66세 외과외과가 수술 집도 도중 갑작스런 손목 통증을 경험하였다. 며칠 후 통증은 무릎까지 급작스럽게 진행하여 환자는 걸음을 걸을 수도 없었다. 그는 자가면역성 관절염으로 진단을 받았는데 CRP는 14.03 mg/dl이었고 RA factor는 17 IU/ml이었다. 수술을 집도할 수 없을 정도로 증상이 너무 심하여 예정된 수술의 70%가 취소하였다. 통증을 경감시키기 위해 스테로이드 호르몬인 코르티손을 복용하였다. 코르티손은 CRP와 RA factor 수준을 낮춰주는 도움을 줬지만, 흉통과 식도염과 같은 부작용이 발생하였다. 2010년 5월부터 한 달 간격으로 자신의 지방 중간엽 줄기세포 2억 개씩을 정맥 내로 투여 받았다. 첫 번째 줄기세포 치료 5개월 후, 환자는 자신의 상태가 현저히 호전되었음을 느끼고 스테로이드와 면역억제제(methotrexate) 복용을 중지하였다. 또한 증상이 사라져 다시 수술 집도를 재개할 수 있게 되었다. 스테로이드 약물을 중지하였음에도 CRP와 RA factor는 각 0.20 mg/dl과 8 IU/ml 수준으로 성공적으로 유지되었다.

<나오는 말>

이상에서 살펴본 바와 같이 저자들은 자가지방유래 중간엽 줄기세포를 배양하여 정맥 내로 투여함으로써 간편하고도 안전하게 자가면역질환 및 여러 난치병 치료에 놀라운 효과를 확인하였다. 저자들은 새로운 의료기술이 보편화 되기 위해서는 통계가 뒷받침되는 증거에 근거한 의료기술 이어야 한다는 원칙에 당연히 동감한다. 하지만 지금 이 순간도 이 세상에는 수 많은 사람들이 난치병으로 고통받고 신음하고 있다. 줄기세포 연구는 이들 환자들에게 큰 희망이 되고 있다. 금번 저자들의 자가지방 줄기세포를 활용한 난치병 치료의 새로운 발견은 전세계의 난치병 환자들에게 희소식이며 미래가 아닌 현재 적용할 수 있는 의료 기술이다. 저자들은 내 몸안에 존재하는 자가지방유래 중간엽 줄기세포가 난치병 치료를 위한 하나님의 선물이라고 생각한다. 이번의 난치병 치료를 위한 줄기세포 치료의 새로운 발견은 어린아이부터 노인까지, 피부색과 관계없이, 세계 어느지역의 환자들에게도 새로운 희망을 제공할 것이다.

<참고 도서>

1. Parekkadan B, Milwid JM: Mesenchymal stem cells as therapeutics. *Annu Rev Biomed Eng* 2010, 12:87-117
2. García-Gómez I, Elvira G, Zapata AG, Lamana ML, Ramírez M, Castro JG, Arranz MG, Vicente A, Bueren J, García-Olmo D: Mesenchymal stem cells: biological properties and clinical applications. *Expert Opin Biol Ther* 2010, 10:1453-1468.
3. Ra JC, Shin IS, Kim SH, Kang SK, Kang BC, Lee HY, Kim YJ, Jo JY, Yoon EJ, Choi HJ, Kwon E. Safety of intravenous infusion of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells in animals and humans. *Stem Cells Dev* 2011, [Epub ahead of print].
4. Jo JY, Kang SK, Choi IS, Ra JC: Comparison of **neural cell differentiation** of human adipose

mesenchymal stem cells derived from young and old ages. *Devel Reprod* 2009, 13:227-237.

5. Nauta AJ, Fibbe WE: Immunomodulatory properties of mesenchymal stromal cells. *Blood* 2007, 110:3499-3506.

6. Mizuno H: Adipose-derived stem cells for tissue repair and regeneration: ten years of research and a literature review. *J Nippon Med Sch* 2009, 76:56-66.

7. Baek SJ, Kang SK, Ra JC: In vitro migration capacity of human adipose-derived mesenchymal stem cells and their expression of a distinct set of chemokine and growth factor receptors. *Exp Mol Med* 2011, [Epub ahead of print].

8. Choi EW, Shin IS, Lee HW, Park SY, Park JH, Nam MH, Kim JS, Woo SK, Yoon EJ, Kang SK, Ra JC, Youn HY, Hong SH: Transplantation of CTLA4Ig gene-transduced adipose tissue-derived mesenchymal stem cells reduces inflammatory immune response and improves Th1/Th2 balance in experimental autoimmune thyroiditis. *J Gene Med* 2011, 13:3-16.

9. Zhou Y, Yuan J, Zhou B, Lee AJ, Lee AJ, Ghawji Jr M, Yoo TJ: The therapeutic efficacy of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells on experimental autoimmune hearing loss in mice. *Immunology* 2011, 133:133-140.

10. Ko MS, Park HG, Yun YM, Ra JC, Shin T, Lee KK: Ameliorative effects of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells on myelin basic protein-induced experimental autoimmune encephalomyelitis in Lewis rats. *Neural Regeneration Research* 2011, *in press*.