

## 급성 TNBS-유발 대장염에서 동종 골수이식에 의한 치료 효과

가톨릭대학교 의과대학 내과학교실, 병리학교실\*, 진단검사의학교실<sup>†</sup>

맹이소\* · 장은덕\* · 채현석 · 김진수 · 민정요 · 손혜숙 · 노상영 · 김형근 · 조영석 · 최규용 · 이해경<sup>†</sup>

### Therapeutic Effect of Allogenic Bone Marrow Transplantation in Acute TNBS-induced Colitis

Lee So Maeng, M.D.\*, Eun Duck Chang, M.D.\*, Hiun Suk Chae, M.D., Jin Soo Kim, M.D.,  
Jeong Yo Min, M.D., Hye Sook Sohn, M.D., Sang Young Rho, M.D., Hyung Keun Kim, M.D.,  
Young Suk Cho, M.D., Kyu Yong Choi, M.D., and Hae Kyung Lee, M.D.<sup>†</sup>

Departments of Internal Medicine, Pathology\*, Laboratory Medicine<sup>†</sup>,  
The Catholic University of Korea College of Medicine, Seoul, Korea

**Background/Aims:** Bone marrow-derived cells (BMDC) contribute to tissue maintenance under many kinds of pathologic conditions. We carried out a study to see how BMDC play a role in the treatment of experimental murine colitis. **Methods:** We divided the animals into 3 groups and treated them with 50% ethanol (control group), 2,4,6-trinitrobenzene sulfinic acid colitis (TNBS group), and TNBS+bone marrow transplant (BMT group). To induce colitis, TNBS (5.0 mg/mouse) dissolved in 50% ethanol was injected into anus weekly for two weeks. Bone marrow transplantations were performed using bone marrow of male transgenic mouse (donor) with green fluorescence protein (GFP) into female wild type mouse (recipient) three weeks before TNBS instillation. All animals were sacrificed, and colons were extracted one week after the last TNBS instillation. We measured microscopic scores of mucosal injury and investigated the GFP expression for bone marrow engraftment. The immunostaining of vimentin and  $\alpha$ -smooth muscle actin ( $\alpha$ -SMA) for myofibroblasts was performed. **Results:** The score of mucosal injury in the TNBS group was much more severe than those in control, and reduced significantly by BMT ( $p < 0.05$ ). GFP-positive cells were almost deposited in pericryptal niche of BMT group but not at all in both control and TNBS group. Most of myofibroblasts stained with both vimentin and SMA also infiltrated into pericryptal niche. But, the number of myofibroblasts stained with vimentin and SMA in both control and TNBS group was smaller than that in BMT group. **Conclusions:** BMDC deposited on pericryptal niche might have a significant role in repairing acute experimental murine colitis. (**Korean J Gastroenterol 2009;54:20-27**)

**Key Words:** Bone marrow transplantation; TNBS-induced colitis

접수: 2008년 8월 14일, 승인: 2009년 6월 10일  
연락처: 채현석, 480-717, 경기도 의정부시 금오동 65-1  
가톨릭대학교 의과대학 의정부성모병원 내과  
Tel: (031) 820-3019, Fax: (031) 847-2719  
E-mail: chs@catholic.ac.kr

\* 이 연구는 가톨릭대학교 의과대학 세포치료사업단의 연구비로 이루어졌음.

Correspondence to: Hiun Suk Chae, M.D.  
Department of Internal Medicine, Uijeongbu St. Mary's  
Hospital, The Catholic University of Korea College of  
Medicine, 65-1, Geumo-dong, Uijeongbu 480-717, Korea  
Tel: +82-31-820-3019, Fax: +82-31-847-2719  
E-mail: chs@catholic.ac.kr

## 서 론

만성 염증성 장질환은 서양인에서 발병률이 높다고 알려져 있으나 식생활이 서구화된 동양인들에서도 발병률이 점차 증가하고 있다. 아직 이 질환의 정확한 발병원인은 밝혀지지 않았고 면역이상과 유전적인 요인, 외부 요인 등에 관련이 있다고 한다. 치료제로는 염증을 완화시키는 약물인 5-aminosalicylate, 부신피질호르몬제(corticosteroid), 6-mercaptopurine 등의 면역억제제를 사용하기도 하지만 근본적인 치료방법은 아직 없고 치료에 반응을 했던 환자나 반응이 없었던 환자 모두에서 질환과 관련한 동반 질환이나 치료로 인한 합병증이 생길 수 있다.<sup>1,2</sup>

최근에는 크론병에 대한 동물모델을 토대로 골수나 그 이외의 줄기세포 치료법 등의 새로운 치료를 시도하고 있으며 그 근거는 약 10년 전부터 백혈병과 크론병이 함께 있었던 환자를 골수 이식한 결과 크론병이 치유된 경우가 보고되면서이다.<sup>3,5</sup> 그러나 골수이식을 통한 크론병의 치료는 아직 제한적이어서 기존의 약제에 대해 반응을 하지 않거나 약제에 대한 부작용이 있는 경우 혹은 기존의 치료에 반응하지 않는 크론병과 관련한 항문 누공의 치료에서만 일부 이용하고 있다.<sup>3,4</sup>

이러한 치료에 대한 기전은 3가지로서, 골수유래 세포 중 성체줄기세포(adult stem cell)가 골수이식 시에 분화능력이 우수하고 다양한 종류의 조직세포로 분화한다는 이론인 전환분화(transdifferentiation)이며 이 경우에 정상 조직에서는 이식(engraftment)이 낮아 상피세포로 분화하는 정도가 높지 않지만 장염 등의 점막 손상으로 인한 상피세포의 증식과 더불어 이식도 증가하여 장상피세포로 분화한다는 것이다.<sup>6,9</sup> 다른 이론으로는 골수유래세포(bone marrow-derived cells, BMDC)가 기존의 세포와 융합(fusion)하여 전사인자(transcription factor)의 변화를 일으킨다는 것이다. 마지막으로 골수유래세포들이 선와의 하부에 존재하는 줄기세포 근처의 선와 니쉬 부위에 침착하여 기존의 상피세포들과의 상호작용에 의해 세포증식에 필요한 사이토카인(cytokine)을 생성한다는 이론이다.<sup>10-13</sup>

이에 저자들은 급성 TNBS 장염에서 골수 이식으로 인해 골수유래세포가 대장 점막 손상의 치료와 관련이 있는지를 알기 위해 이 연구를 시행하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 대상 동물

골수피이식 생쥐(recipient mouse, C57BL/6)는 특정 병원균이 없는 생후 8주 암컷 야생형 생쥐(wild type mice, SLC,

Shizuoka, Japan)였으며 골수 공여 생쥐(donor mouse)는 생후 6주의 green fluorescence protein (GFP) 유전자를 지닌 수컷 유전자 도입 생쥐(transgenic mice, C57BL/6 (CAG-eGFP-Tg), SLC, Shizuoka, Japan)를 사용하였다. 모든 쥐들은 자유로이 물과 먹이를 섭취하도록 하고 사육실 온도는 22±1°C로 유지하였으며 연구를 시행하기 전에 동물실험위원회의 허가를 받았다.

### 2. BMT (동종골수이식)

GFP를 지닌 이식 골수세포는 수컷 유전자 도입 쥐의 대퇴골과 정강이뼈에서 2% 우태아 혈청(fetal bovine serum)과 2 μg/mL gentamicin을 포함하고 있는 medium199를 이용하여 추출하였다. 50 mL 튜브에 수집한 골수세포들은 1×10<sup>8</sup>/200 μL씩 정맥주사 할 수 있도록 인산완충식염수(phosphates buffered saline) 안에 담아서 준비하였다. 골수 피이식 암컷 야생형 생쥐에 치사량의 방사선(10 Gy)을 조사하여 면역을 제거하고 꼬리 정맥에 미리 준비한 1×10<sup>8</sup>/200 μL의 골수세포를 주사하여 주입하였다.<sup>10</sup>

### 3. 급성 대장염 모델

전체 대상의 흰쥐는 30마리였고 대조군(7마리), TNBS만을 투여한 군(TNBS군, 12마리), BMT군(11마리)으로 나누었다. 골수이식 후 3주에 급성 대장염을 화학적으로 유발하기 위해서 TNBS군과 BMT군에 TNBS 5.0 mg을 50% E-OH에 녹인 용액을 polyethylene catheter (직경 1.5 mm)로 항문을 통해 100 μL를 대장에 골고루 퍼지도록 서서히 주입하였다. 대조군은 50% E-OH 100 μL를 같은 방법으로 항문을 통해 주입하였다. 일주일 후에 같은 방법으로 TNBS와 E-OH을 한 번 더 주입하였다. TNBS 주입 후 염증이 심해지는 시기인 7일 후 모든 동물을 희생시켜 대장을 추출한 후, 4% 포르말린에 하루 동안 고정시키고, 흐르는 물에 하루 동안 씻은 후 파라핀에 포매시켜 조직절편을 만들었다.

### 4. 현미경 소견 및 면역조직화학염색법(microscopic findings and immunohistochemical staining, IHC)

현미경 소견을 보기 위해 H&E 염색을 시행하였고 심한 정도에 따라 5단계로 나누어 손상이 없는 경우를 '0', 부분적이며 점막표면에만 손상이 있는 경우를 '1', 전체적으로 점막표면에 손상이 있는 경우를 '2', 부분적이며 깊은 궤양이 있는 경우를 '3', 광범위한 깊은 궤양을 형성한 경우를 '4'로 정량화하여 점수를 계산하였다. 면역조직화학검사를 위해 사용한 항체는 Mouse Anti-GFP Monoclonal Antibody (Millipore Co., Bedford, USA) Mouse Monoclonal vimentin Antibody (ABR Affinity BioReagents Inc., Colorado, USA)를

사용하였다. 면역조직화학염색 과정은 탈파라핀과 탈수과정을 거치면서 조직에 포매되어 있는 파라핀을 완전히 제거시키고 흐르는 물에 수세 후 필터로 걸러낸 Harris hematoxylin 용액에 7분간 담가둔 다음 염산에 3-4회 수세과정을 거쳤다. 이후 Eosin에 30초 반응시킨 후 수세과정, 탈수와 투명과정을 거친 다음 현미경을 통해 관찰하였다. 일차 항체(primary antibody)는 GFP 1:500, vimentin 1:500으로 3시간 동안 반응시킨 후 Histostain-plus immunodetection 키트(Zymed Laboratories, CA, USA)로 처리 후 현미경으로 관찰하였다. 면역형광염색법은 제작한 슬라이드를 자일론으로 파라핀을 알코올(100-50%)에서 흡수한 후 TBST buffer (TBS + 0.1% tween 20)에서 세척 후 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에서 10분 동안 처리하였다. 여기에 alpha-smooth muscle actin ( $\alpha$ -SMA)에 대한 Rabbit polyclonal antibody (Abcam, Cambridge, UK)을 1:100으로 희석하여 4°C에서 하루 밤 동안 반응하여 제작하였다.

5. 통계 분석

TNBS군과 BMT군에서 체중변화는 unpaired t-test로 하였고 H&E 염색에 의한 세 군 간의 염증 정도 및 손상 정도의

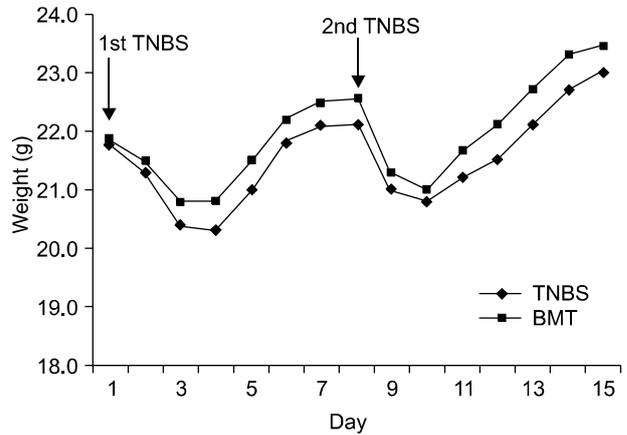


Fig. 1. Serial body weight changes of TNBS and BMT group.

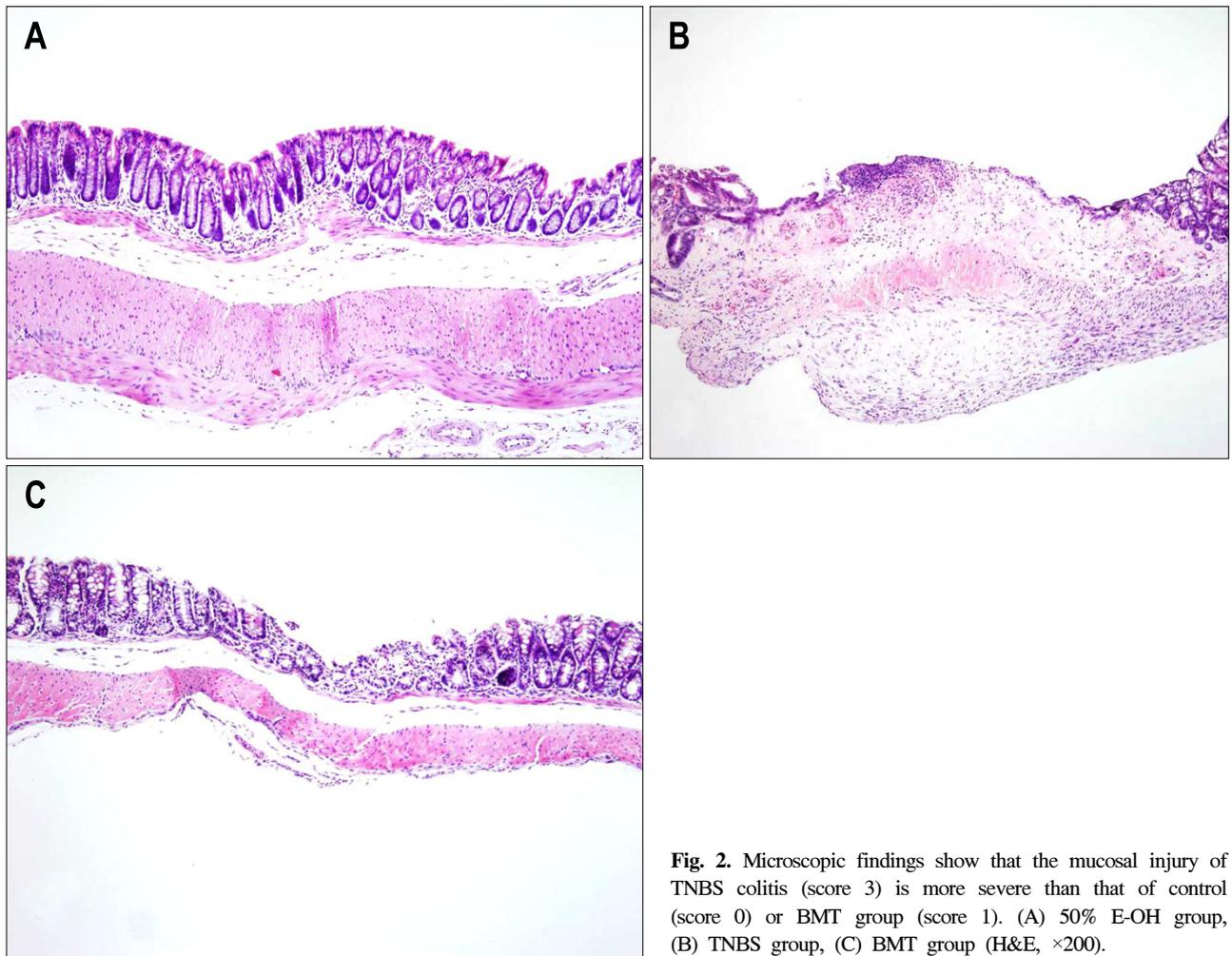


Fig. 2. Microscopic findings show that the mucosal injury of TNBS colitis (score 3) is more severe than that of control (score 0) or BMT group (score 1). (A) 50% E-OH group, (B) TNBS group, (C) BMT group (H&E, ×200).

비교는 ANOVA 검정을 시행하여  $p < 0.05$  일 때 유의한 것으로 판정하였다. 통계소프트웨어는 SPSS version 13.0 (SPSS Inc. Illinois, USA)을 이용하였다.

## 결 과

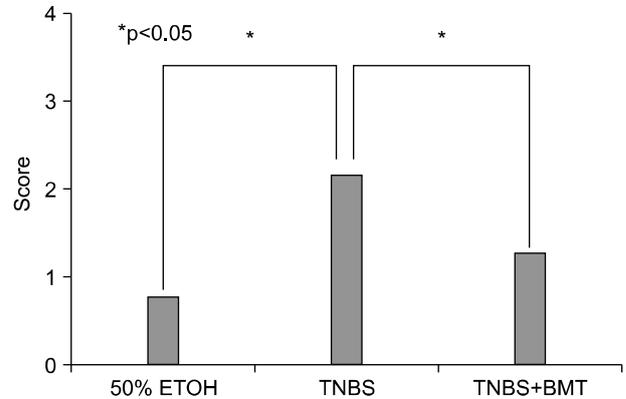
### 1. 실험 동물의 체중 변화

실험 동물들은 TNBS군과 BMT군에서 TNBS 주입 후 3-4일간 체중 감소가 있었으나 5일 후부터는 체중 감소가 회복되었고 두 군 간에는 통계적인 차이는 없었다(Fig. 1).

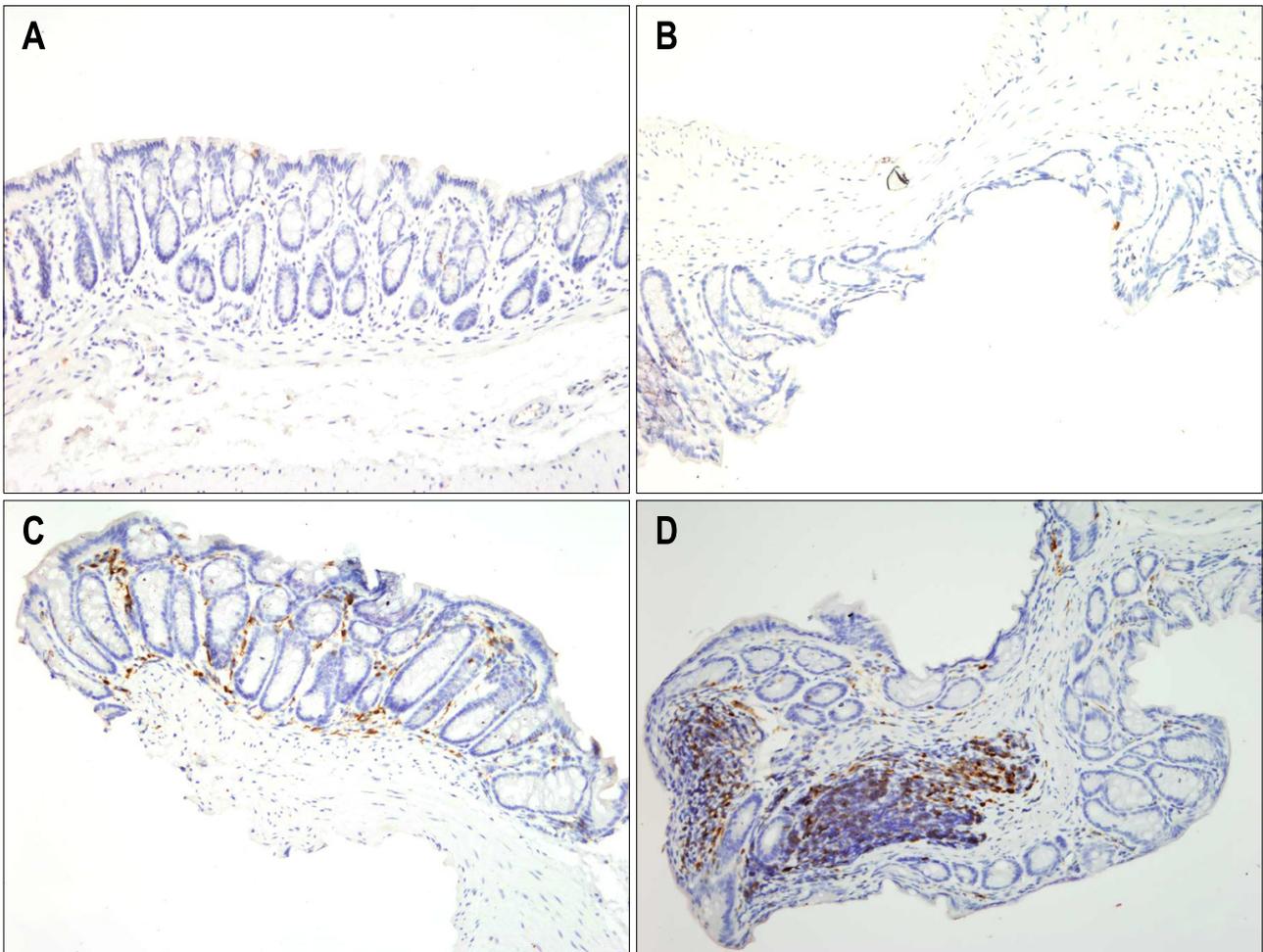
### 2. 현미경 소견

H&E 염색에 의한 세 군 간의 염증 정도 및 대장의 손상 정도를 보면 대조군에서의 손상 정도의 점수는  $0.73 \pm 0.65$ 였고 TNBS군에서는  $2.17 \pm 1.11$ 였으며 BMT군에서는  $1.23 \pm 1.13$

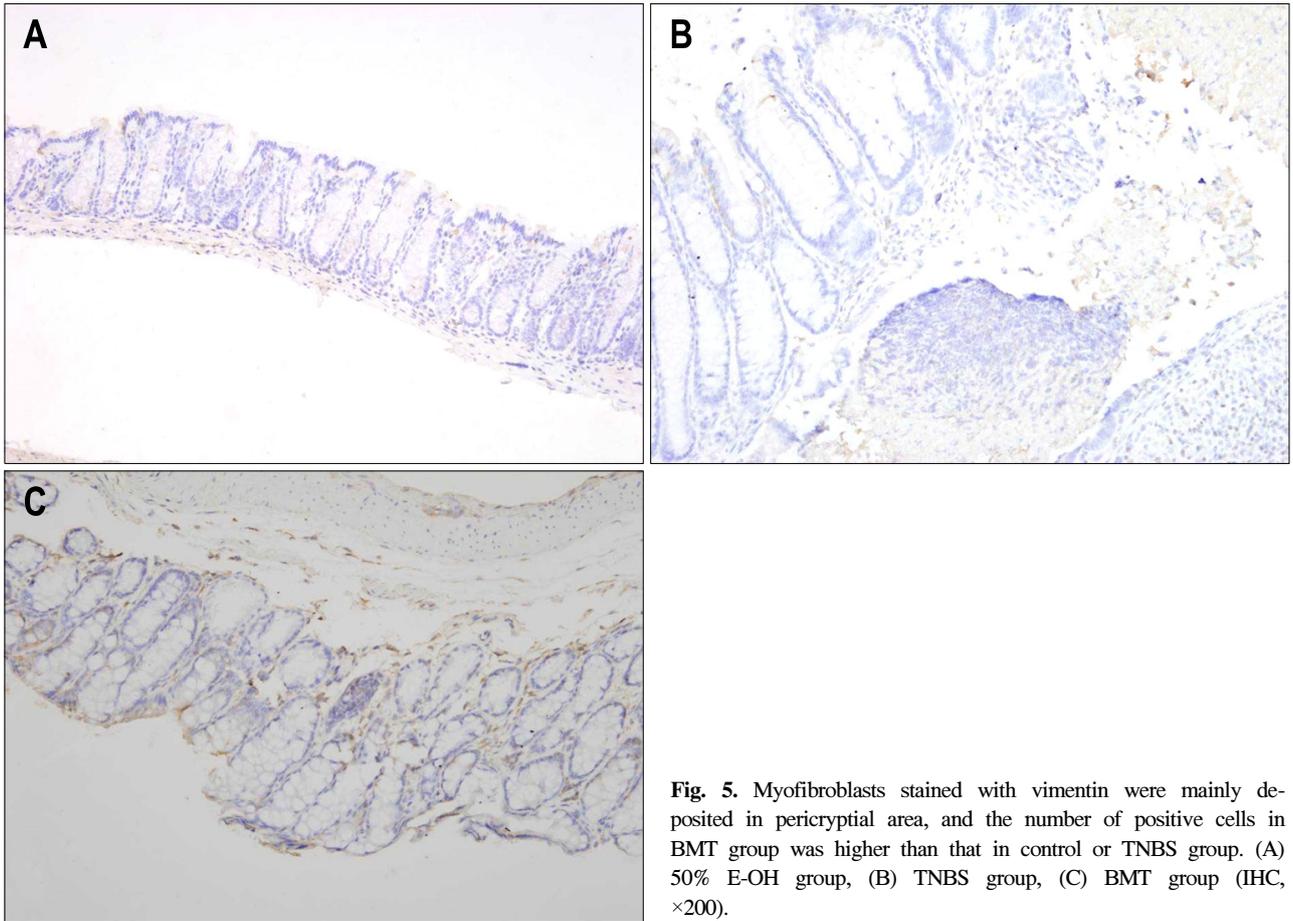
로서 대조군이나 BMT군에 비해 TNBS군에서 염증이나 손상 정도가 심하였으나 대조군과 BMT군 간에는 유의한 차



**Fig. 3.** Comparison of the mean ulcer score among three groups by H&E staining. It showed that the mean ulcer score of TNBS group is higher than those of control and BMT group.



**Fig. 4.** GFP positive cells providing evidence for successful bone marrow transplantation were found only in BMT group but not in both control and TNBS group. (A) 50% E-OH group, (B) TNBS group, (C, D) BMT group (IHC,  $\times 200$ ).



**Fig. 5.** Myofibroblasts stained with vimentin were mainly deposited in pericryptal area, and the number of positive cells in BMT group was higher than that in control or TNBS group. (A) 50% E-OH group, (B) TNBS group, (C) BMT group (IHC,  $\times 200$ ).

이가 없었다(Fig. 2, 3).

### 3. 골수 이식 확인

골수세포가 이식되었는지를 알기 위한 방법으로 골수공여 쥐의 GFP 인자가 피이식 쥐에서 발현하는지를 GFP 항체를 이용한 IHC 염색으로 알아보았다. 대조군, TNBS군에서는 GFP 양성세포를 발견할 수 없었고 BMT군 대장점막의 선과 니체를 따라 고유 판에 염색된 많은 양성 세포를 발견할 수 있었다(Fig. 4).

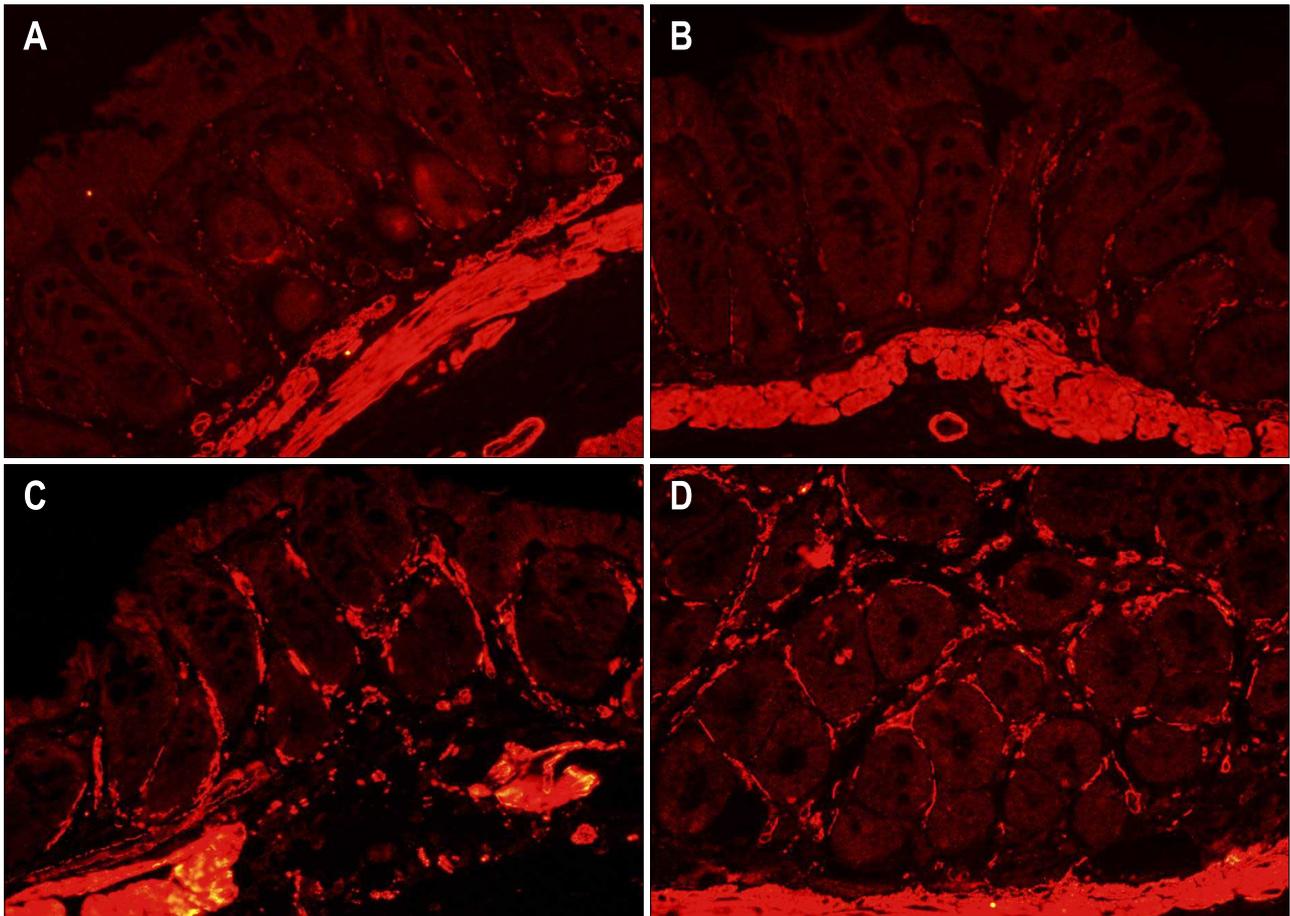
### 4. 근섬유모세포(SEMF)의 확인

고유 판에 침윤한 간질세포의 종류를 알기 위해 vimentin (Fig. 5)에 대한 IHC와  $\alpha$ -SMA (Fig. 6)에 대한 형광염색을 시행하였다. 대조군이나 TNBS군에 비해 BMT군에서 vimentin과  $\alpha$ -SMA에 대한 양성 세포들은 GFP 양성 세포의 분포와 같이 대장점막의 선과 니체 부위를 따라 많은 침윤이 있어서 상피하 근육섬유모세포(subepithelial myofibroblast, SEMF)임을 알 수 있었다.

## 고 찰

크론병은 아직 완치를 할 수 없는 질환으로 최근에 기존 치료에 반응이 없는 크론병이나 항문 누공 등의 합병증에 대한 치료로써 일부에서 골수이식을 시행하고 있다.<sup>1,3</sup> 크론병의 동물 실험 모델로 TNBS를 투여한 대장염이 이용되고 있으며 저자들은 생쥐의 TNBS 유도 대장염에서 BMT가 장염의 치료와 관련이 있는지를 보고자 이 연구를 시행하였다. 이번 실험에서는 Brittan 등<sup>14</sup>의 방법에 따라 골수이식 후 5주에 TNBS를 실험동물에게 주입하였다. 또한 저자들은 Komori 등<sup>10</sup>의 방법에 따라 골수유래세포의 이식을 증가시키기 위해 피이식생쥐를 골수이식 전에 전신 방사선조사를 하였으나 Khalil 등<sup>12</sup>은 생쥐의 염증 대장염의 치료에 방사선조사를 시행하지 않은 치료방법을 연구하여 발표하기도 하였다. 앞으로 어떤 모델이 더 효과적이며 인간의 장염에 좋은 치료 방법인지는 더 연구가 필요할 것으로 생각한다.

이번 연구 결과에서 대조군, TNBS군, BMT군 중에서 TNBS군이 점막 손상의 정도가 가장 심하였고 이는 BMT에 의해 손상 정도가 감소하였다. 이는 BMT 시에 골수유래세포들이 대장염의 치료에 관여한다는 것이며 어떤 세포들이



**Fig. 6.**  $\alpha$ -SMA positive cells for detection of myofibroblasts are also located in pericryptal area and the number of positive cells is much higher in BMT group than in control or TNBS group. (A) 50% E-OH group, (B) TNBS group, (C, D) BMT group (Immunofluorescence staining,  $\times 400$ ).

관련이 있는가를 알기 위해 골수 공여 쥐에서 유래한 세포가 대장의 어느 부위에 침착하는지를 관찰하였다. BMT군에서 유래한 세포들은 GFP에 양성임을 이용하여 이들에 대한 항체를 이용하여 염색하였고 그 결과 이들의 침착 부위는 주로 선와 주위의 니쉬 부위였다. 이러한 결과는 과거의 연구와도 일치하는 소견이었으며<sup>10,11</sup> 니쉬 부위에 침착한 간질 세포의 특성을 알기 위해 SEMF에 특이하다고 알려진 물질인 vimentin과  $\alpha$ -SMA에 대한 염색을 시행하였다.<sup>15</sup> 그 결과 BMT군에서 GFP가 염색된 부위를 따라서 동일한 부위에 vimentin과  $\alpha$ -SMA 양성발현을 관찰할 수 있었다. 그러나 선와 상피세포나 선와 줄기세포 부위에서는 양성 세포를 발견할 수 없었다. 이러한 소견은 Komori 등<sup>10</sup>의 연구와 같이 골수유래세포들은 선와 줄기세포 근처의 니쉬에서만 확인할 수 있었다는 점에서 같은 소견이다. 또한 Brittan 등은 생쥐의 장염에서 점막의 고유판에 선와를 따라 골수에서 유래한 SEMF를 확인하였으며 대장염의 심한 부위와 그 주위의 정상 점막에서 SEMF의 침착을 비교하여 염증이 심한 부위

에서 더 많은 골수유래세포와 SEMF를 발견하였다.<sup>14,16</sup> 이러한 소견은 이번 연구와 유사한 결과이다. 이번 연구에서는 정상점막, 심한 염증부위, 그 주위 점막에 따른 차이를 비교하지는 않았지만 BMT군의 골수에서 유래한 SEMF가 TNBS 유도 장염의 치료에 관여함을 알 수 있었다. 또한 이번 연구에서 SEMF를 증명하기 위해 vimentin과 SMA를 동시에 염색하여 관찰하는 것이 더 확실한 방법이지만 염색 방법의 기술적인 문제로 인해 이들을 동시에 염색하여 관찰할 수 없었다.

한편, 정상 대장에서 상피세포의 재생은 선와 하부 줄기세포의 세포분열에 의해 일어나며 4종류 세포(상피세포, 배외세포, paneth세포, enteroendocrine세포)로 분화한다.<sup>17</sup> 이러한 재생 및 분화는 점막 손상이 일어나는 경우 더 증가하며 손상 정도가 경미하여 기저막이 보존된 경우에 기존의 기저막을 따라 손상된 상피가 치유되는 상환(restitution)이 일어나고 손상의 정도가 더 심하여 기저막의 파괴되는 경우는 재구성(reconstitution)이 일어나 선와 하부의 줄기 세포가 증

식하여 기저막을 다시 형성하고 상피세포도 재생한다.<sup>15</sup> 위에 설명한 점막 상피세포의 성장과 분화에서 기저막과 근접한 부위에 존재하는 SEMF는 중요한 역할을 하며 점막의 손상 시 평활근육을 이용하여 용모를 수축하는 역할 및 점막 재생작용에 관여하며 TGF- $\beta$ , TGF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  등의 사이토카인을 분비하여 치유과정에 참여한다.<sup>11,17</sup> 이외에도 SEMF는 수분과 전해질의 이동에 관여하며 장종양의 발생에도 관여한다고 알려져있다.<sup>18</sup> 이번 연구에서도 BMT에 의해 침착된 SEMF가 점막 손상의 치료에 이용되었을 것으로 생각하며 앞으로 치료에 관여하는 사이토카인들에 대한 연구가 더 필요할 것으로 생각한다.

줄기세포는 두 가지 종류로 배아줄기세포(embryonic stem cell)와 성체줄기세포(adult stem cell)가 있으며, 우선 이번 연구에서는 성체줄기세포(adult stem cell) 중에서 가장 많이 이용되는 골수를 이용하여 급성 장염 치료효과를 보고자 하였다. 골수에서 유래하는 줄기세포는 여러 종류로 공여자의 골수에는 조혈모세포(hematopoietic stem cell), 내피줄기세포(endothelial stem cell), 중간엽줄기세포(mesenchymal stem cell), 조직수입줄기세포(tissue committed stem cell) 등 여러 종류의 세포에 의해 손상된 장기의 치료에 관여한다.<sup>19,20</sup> 이 연구에서는 BMT에 의해 대장염의 손상이 감소한 기전을 보면, 첫째, 골수유래세포가 염증으로 인해 빠른 상피세포의 재생동안에 세포 융합이나 전환분화를 통해 선와줄기세포의 세포 재생에 관여하는 경우와<sup>6,9</sup> 둘째, 골수유래세포가 점막의 고유 판에서 SEMF로 전환하여 기존의 줄기세포나 상피세포와 교차대화(cross-talking)를 통해 재생에 필요한 사이토카인들을 분비하여 상피 세포의 재생을 돕는 역할을 한다는 것이다.<sup>10,11</sup> 이외에도, 골수에서 유래한 내피전구세포(endothelial precursor cell)는 염증부위에 침착하여 혈관신생(neo-angiogenesis)을 유발하여 점막의 손상부위에 풍부한 혈류를 공급함으로써 손상된 점막을 치유하는 데 참여하기도 한다.<sup>10,16</sup> 저자들의 연구에서는 대장염의 치료에서 SEMF와 선와상피세포 사이의 관계를 연구한 것으로 위에 언급한 기전 이외의 다른 기전들에 대한 연구가 앞으로 더 필요하다고 생각한다. 저자들은 쥐의 급성 장염에서 골수 이식 시에 골수유래세포들이 염증부위에 침착하는 것을 보기 위해 GFP의 발현을 보았고 대조군이나 TNBS군에서는 GFP의 발현이 전혀 보이지 않았으나 골수 이식군에서만 발현하는 것을 보아 골수 이식이 성공적으로 시행되었다는 것을 알 수 있었다. 골수유래세포들이 주로 대장염의 염증 부위, 특히 선와 주위의 니취에 침착되는 것을 알 수 있었으나 골수이식이 성공적으로 이루어졌는가를 알 수 있는 방법으로서 골수공여자(수컷)의 Y 염색체를 in-situ hybridization법을 통해 확인하기도 한다.

결론으로 흰쥐의 골수 이식 시 골수유래세포가 점막의 니

취 부위에 증가함으로 급성 대장염 상피세포의 재생을 유도함으로써 급성 대장염의 경우 치료가 가능하다는 것을 알 수 있었다.

## 요 약

**목적:** 골수에서 유래한 세포들은 여러 병적인 환경에서 조직을 유지하는 데 기여한다. 저자들은 흰쥐의 실험 대장염에서 골수 이식 시 대장염의 치료에 대해 골수유래세포들의 역할을 알아보기 위해 연구를 시행하였다. **대상 및 방법:** 실험에 사용한 흰쥐는 3개의 군으로 나누어 대조군(50% ethanol), 2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS군) 장염군, TNBS + 골수이식군(BMT군)으로 하였다. 장염을 유발하기 위해 50% 알코올에 녹인 TNBS (5.0 mg/마리)를 일주일에 한 번씩 2주 동안 항문을 통해 투여하였다. 동종 골수 이식은 TNBS 투여 3주 전에 green fluorescence protein (GFP)를 지닌 수컷 유전자 도입 쥐의 골수 세포를 야생형 생쥐의 꼬리 정맥에 투여하였다. 모든 동물은 TNBS 투여 후 일주일 후에 희생하여 대장을 추출하였다. 골수이식이 되었는지를 확인하기 위해 GFP에 대한 면역조직화학검사를 시행하였고 상피하 근육섬유모세포의 존재를 확인하기 위해 vimentin과  $\alpha$ -SMA에 대한 면역조직검사를 시행하였다. **결과:** 장염의 정도는 TNBS군에서 가장 심하였고 골수이식에 의해 유의하게 감소하였다( $p < 0.05$ ). GFP 양성 세포는 주로 선와의 니취 부위에서 염색되었으며 골수 이식군에서만 양성이었다. 근육섬유세포에 대한 vimentin,  $\alpha$ -SMA에 대한 염색도 주로 선와 니취에서 양성이었고 대조군이나 TNBS군에 비해 골수 이식군에서 많았다. **결론:** 흰쥐의 급성 대장염 치료에 골수이식은 효과적이며 골수유래세포는 선와 니취 부위에서 근육섬유세포로 분화되어 장염의 치료에 관여한다.

**색인단어:** 골수이식, TNBS 유발 대장염

## 참고문헌

- Baumgart DC, Sandborn WJ. Inflammatory bowel disease: clinical aspects and established and evolving therapies. *Lancet* 2007;369:1641-1657.
- Katz JA. Management of inflammatory bowel disease in adults. *J Dig Dis* 2007;8:65-71.
- García-Olmo D, García-Arranz M, Herreros D, Pascual I, Peiro C, Rodríguez-Montes JA. A phase 1 clinical trial of the treatment of Crohn's fistula by adipose mesenchymal stem cell transplantation. *Dis Colon Rectum* 2005;48:1416-1423.
- Oyama Y, Craig RM, Traynor AE, et al. Autologous hema-

- topoietic stem cell transplantation in patients with refractory Crohn's disease. *Gastroenterology* 2005;128:552-563.
5. Talbot DC, Montes A, Teh WL, Nandi A, Powles RL. Remission of Crohn's disease following allogeneic bone marrow transplant for acute leukemia. *Hosp Med* 1998;59:580-581.
  6. Herzog EL, Krause DS. Engraftment of marrow-derived epithelial cells: the role of fusion. *Proc Am Thorac Soc* 2006; 3:691-695.
  7. Okamoto R, Yajima T, Yamazaki M, et al. Damaged epithelia regenerated by bone marrow-derived cells in the human gastrointestinal tract. *Nat Med* 2002;8:1011-1017.
  8. Okamoto R, Watanabe M. Prospects for regeneration of gastrointestinal epithelia using bone-marrow cells. *Trends Mol Med* 2003;9:286-290.
  9. Borue X, Lee S, Grove J, et al. Bone marrow-derived cells contribute to epithelial engraftment during wound healing. *Am J Pathol* 2004;165:1767-1772.
  10. Komori M, Tsuji S, Tsujii M, et al. Involvement of bone marrow-derived cells in healing of experimental colitis in rats. *Wound Repair Regen* 2005;13:109-118.
  11. Andoh A, Bamba S, Fujiyama Y, Brittan M, Wright NA. Colonic subepithelial myofibroblasts in mucosal inflammation and repair: contribution of bone marrow-derived stem cells to the gut regenerative response. *J Gastroenterol* 2005;40: 1089-1099.
  12. Khalil PN, Weiler V, Nelson PJ, et al. Nonmyeloablative stem cell therapy enhances microcirculation and tissue regeneration in murine inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2007;132:944-954.
  13. Bamba S, Lee CY, Brittan M, et al. Bone marrow transplantation ameliorates pathology in interleukin-10 knockout colitic mice. *J Pathol* 2006;209:265-273.
  14. Brittan M, Hunt T, Jeffery R, et al. Bone marrow derivation of pericryptal myofibroblasts in the mouse and human small intestine and colon. *Gut* 2002;50:752-757.
  15. Powell DW. Myofibroblasts: paracrine cells important in health and disease. *Trans Am Clin Climatol Assoc* 2000; 111:271-292.
  16. Brittan M, Chance V, Elia G, et al. A regenerative role for bone marrow following experimental colitis: contribution to neovascuogenesis and myofibroblasts. *Gastroenterology* 2005; 128:1984-1995.
  17. Brittan M, Wright NA. Stem cell in gastrointestinal structure and neoplastic development. *Gut* 2004;53:899-910.
  18. Powell DW, Mifflin RC, Valentich JD, Crowe SE, Saada JI, West AB. Myofibroblasts. II. Intestinal subepithelial myofibroblasts. *Am J Physiol* 1999;277:C183-C201.
  19. Verfaillie CM. Adult stem cells: assessing the case for pluripotency. *Trends Cell Biol* 2002;12:502-508.
  20. Marion NW, Mao JJ. Mesenchymal stem cells and tissue engineering. *Methods Enzymol* 2006;420:339-361.