

Current Status and Therapeutic Perspectives for the Stem Cells Treatment of Ischemic Stroke

Hyun Young Kim

Department of Neurology, Hanyang University College of Medicine, Seoul, Korea

Recent attention has focused on the use of stem cells for therapy following ischemic stroke. Our understanding of brain injury following ischemic stroke has benefitted from a number of studies elucidating the causes and pathways leading to neuronal injury and death after anoxic insult. Other paths of research have provided the technology to create and manipulate stem cells along specific neuronal pathways. Therefore, researchers and clinicians have begun basic studies in the use of stem cell therapies to limit injury to the central nervous system and repair and regenerate injured neural tissues following hypoxia due to stroke. These therapies are showing promise and potential in improving the outcome of the stroke patient. This review covers our current knowledge and views concerning mechanisms of tissue damage following ischemic stroke, and the mechanisms by which stem cell therapy is predicted to benefit patients facing potential brain damage and loss of function. Recent reports of clinical trials using stem cells for stroke therapy are evaluated and critical points requiring further work and research are discussed.

Key Words: Stem Cells; Brain Ischemia; Transplantation

책임저자: 김 현 영
우 133-791, 서울시 성동구 왕십리로 222
한양대학교병원 신경과
Tel: +82-2-2290-8373
Fax: +82-2-2299-2391
E-mail: hyoungkim1@hanyang.ac.kr

투고일자: 2012년 6월 23일
심사일자: 2012년 6월 23일
게재확정일자: 2012년 7월 26일

서 론

뇌졸중은 전세계적으로 사망원인 2위를 차지하는 중요한 질환이다[1]. 현재까지 뇌경색 환자의 급성기 치료로 공인된 유일한 치료법인 혈전용해술은 시간적 문제, 접근성의 문제 등으로 인해 전체 뇌졸중 환자의 3%에서만 적용이 가능한 것이 현실이다. 초기 뇌졸중 사망률은 8-50%로 나라마다 다양하며 생존하는 환자들은 재활치료에 기초한 기능적 회복을 도모하게 된다. 그러나 약 50%의 환자는 지속적인 기능적 장애를 겪게 되는데 이들 중 30%는 요양원에 입소하거나 비슷한 환경에서 생활하게 되며 약 20% 이상의 환자는 일상생활 영유에 보호자, 간병인 등의 도움이 필요하게 된다[2]. 그러므로 뇌졸중 후 발생하는 신경학적 장애를 최소화하고 회복시킬 능력이 있는 복구능력과 재생능력을 갖춘 새로운 치료법

이 반드시 필요한 실정이다.

뇌졸중은 줄기세포 치료 대상으로 몇 가지 장점을 가지고 있다. 다른 신경계 질환과는 달리 하나의 국소적인 손상부위가 있어 직접적인 세포주입 목표점이 되고 질병의 안정화나 악화의 완화가 아니라 기능의 회복을 기대해 볼 수 있다는 점이다[3]. 뇌졸중 동물연구 결과에 의하면 줄기세포 치료는 세포이식, 뇌조직으로의 분화유도, 기능적 호전 등의 재생능력을 발휘하고 있다[4]. 이와 같이 줄기세포 치료는 뇌졸중 후 복구를 위한 치료전략으로 최상의 조건을 갖추었으나 다른 신경재생치료법과는 구별되는 윤리적인 문제, 기술적인 한계, 임상적 어려움이 있다. 본 논고에서는 허혈성 뇌졸중으로 인한 조직 손상의 기전과 변화, 현재까지의 연구결과들, 그리고 기능적 해부병태생리를 고려한 줄기세포 치료의 나아갈 방향에 대해 기술하였다.

본 론

1. 허혈성 뇌졸중으로 인한 조직 손상과 재생

뇌졸중의 85%는 혈관의 폐색으로 인한 뇌경색 형태로 오며 폐색의 주된 원인은 혈전의 형성, 심장이나 큰 혈관에서 기인한 색전이다. 혈관이 막히면 비가역적인 손상의 중심이 되는 허혈중심부(ischemic core)가 발생하고 여러 요인들에 의해 생존에 영향을 받는 허혈중심부 주변의 허혈반음영(ischemic penumbra)이 나타난다. 이후에 조직에서는 여러 기전들에 의해 괴사(necrosis)와 세포자멸사(apoptosis)가 발생한다[5]. 기전을 요약해 보면 신경세포 이온채널의 붕괴로 인해 흥분성 신경전달물질인 글루탐산염(glutamate)이 방출되고 이로 인해 N-methyl-D-aspartate (NMDA) 수용체와 전압의존성 칼슘채널(voltage-dependent calcium channel, VDCC)을 통한 과도한 칼슘의 유입이 발생한다[5,6]. 또한 DNA 손상에 대한 반응으로 nuclear protein poly (ADP-ribose) polymerase가 활성화되어 NAD⁺의 세포내 농도가 감소하고 에너지 생산도 감소한다[7,8]. 그러므로 재관류 즉 혈류의 빠른 복구가 뇌조직의 손상을 최소화시키는 최상의 방법이다.

그러나 재관류 자체에 의해서도 복합적인 조직 손상이 발생할 수 있다. 허혈성 혹은 재관류 손상에는 염증반응 과정이 중요하게 작용한다[9-11]. 손상된 조직에서 방출되는 interleukin-8 (IL-8), monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1)과 같은 화학물질인자(chemotactic factor)에 의해서 다핵백혈구와 단핵백혈구가 모여 들고, 혈관내피에서 발현하는 세포부착분자(cell adhesion molecule, CAM)에 의해 염증세포들이 뇌 실질 내로 침투해 들어가서 기질금속단백질분해효소(matrix metalloproteinases, MMPs), 반응산소기(reactive oxygen species), 여러 염증매개체들을 분비하여 염증을 더욱 조장하게 된다. 이에 대한 반응으로 뇌조직 내에서는 내재된 염증억제매개체들(예를 들어, glucocorticoid-induced calcium, phospholipid-binding protein, annexin A1, eicosanoid-derived lipoxin A4)을 통해 염증을 억제한다. 줄기세포는 허혈성 뇌 손상에 의한 이러한 일련의 염증과정에 관여하여 항염증작용을 나타내는 것으로 알려져 있다.

수주 내지 수개월이 지난 손상조직에서는 괴사된 세포가 제거되고 흉터조직이 형성된다. 뇌경색 주변부가 새로운 신경세포와 혈관이 생성되는 주요 부위가 된다[12]. 이러한 내재된 신경생성(neurogenesis)은 신생세포(newborn cell)가 뇌경색 부위로 이주하고 필요한 형태로 분화하면서 증가되는데 혈관재형성(vascular remodeling)과도 연관된다. 이 과정에서 신경생성과 혈관생성(angiogenesis)은 신생 혈관에 의한 stromal-derived factor 1 (SDF1)과 angiopoietin 1 (Ang1)을 통해 밀접하게 연결되어 있다[13]. 이식된 줄기세포는 위에 언급한 일련의 과정에서 주변분비(paracrine) 기전을 통해 신경조절 및 면역조절 작용을 한다.

2. 뇌손상에 의한 뇌조직의 해부학적, 기능적 변화

뇌졸중은 대개 복잡한 연결도(connectivity)를 가진 다양한 종류의 세포 손상을 가져온다. 이미 뇌졸중으로 인한 손상이 고착화된 후에는 해부학적 조건과 연결도가 원래대로 환원되길 기대하기는 어렵다. 그럼에도 불구하고 기본적인 해부학적 구조물과 섬유연결을 회복시켜서 신경세포의 재생을 기대해 볼 수 있다. 이를 실현하기 위해서는 뇌경색에 의해 손상된 기능적으로 중요한 뇌 부위를 확인할 필요가 있다.

해부학적 측면에서 뇌손상 후 변화를 관찰한 연구결과들을 보면 체성감각피질부(somatosensory cortex) 손상 이후 지연성 이차적 신경 퇴행이 배쪽기저부 시상(thalamus)에서 관찰된다[14]. 시상부는 체성감각, 운동, 시각 기능에 필수적인 부분이므로, 단순한 피질부의 복구가 기능의 회복을 가져올 수 있을지는 의문이다. 또한, 이러한 소견들은 시상부 이외의 뇌심부, 예를 들어 줄무늬체(striatum)와 뇌간(brainstem)에서도 마찬가지이다. 요약하자면 뇌 피질부와 뇌심부는 서로 다른 형태의 조직형태와 신경세포 형태를 가지고 있지만 해부학적, 기능적으로 밀접하게 연결되어 있다. 그러므로 줄기세포를 이용한 세포, 조직대체치료를 하고자 할 때 반드시 고려해야 할 부분이다.

기능적인 측면에서 뇌손상 후 변화 및 회복과정을 살펴볼 때는 피질 형성력(cortical plasticity)을 고려해야 한다. 생리적이거나 병적인 상황 모두에서 피질 형성력이 관찰되는데, 생리적인 조건에서는 전 일생에 걸쳐서 체성감각부위, 운동관련부위 및 행동과 학습에 관련된 부위 등에 걸쳐서 관찰된다[15,16]. 뇌경색 이후의 뇌에서는 다른 형태의 피질 형성력이 관찰되는데 특히 뇌경색 부위 바로 주변부에 중점적으로 나타나지만 반대편 피질부를 포함한 멀리 떨어진 부위에서도 신경생리학적, 신경해부학적 변화가 관찰된다. 또한 피질부 연결형태를 정량화한 결과를 보면 뇌졸중 후 새로운 투사 섬유가 반대측 피질부와 줄무늬체까지 유도된 것을 볼 수 있다[2]. 동물 연구에 의하면 이러한 신경 형성력(neuroplasticity)은 뇌졸중 발생 후 14-30일째에 저명하게 나타난다[17]. 사람에서는 이 기간이 좀더 길 것으로 생각되며 뇌졸중 후 기능의 향상이 수개월에 걸쳐 나타나는 이유로 판단된다. 재생치료의 관점에서 보면 이 기간이 줄기세포 등의 치료를 이용할 수 있는 최적의 시기라고 볼 수 있다.

3. 뇌졸중에서 줄기세포 치료 효과의 기전

뇌경색이 발생하고 조금 지나서부터 조직이 가지고 있는 자체 복구전략이 발휘된다. 즉 성인 뇌조직에서도 신경재생이 생리적인 상황 및 병적인 상황에서 나타나는데, 치아이랑(dentate gyrus)의 과립하영역(subgranular zone, SGZ)과 외측뇌실(lateral ventricle)의 입쪽 subventricular zone (SVZ)에 있던 전구세포들이 새로운 신경세포의 주된 원천이 되며 이외에 줄무늬체, 척수, 신피질에서도 신

경줄기세포가 발견된다[18,19]. 여러 연구들에 의하면 뇌경색 후 이러한 세포들의 증가와 증식이 있어서 회복에 도움이 된다고 보고하고 있다[20,21]. 신경재생과 함께 뇌조직의 복구를 위한 기전으로 시냅스형성(synaptogenesis)과 축삭의 분지(axonal branching) [22], 보호적인 염증반응(protective inflammation)이[23] 중요한 역할을 하고 있다. 줄기세포 치료에 의한 기능회복 기전으로는 이러한 내재된 세포의 기능을 돕고 혈관생성과 성장인자의 분비가 중요하게 작용한다. Bystander 효과라고도 불리는데 사멸된 신경세포의 직접적인 대체효과가 아니라 치료적인 형성력(therapeutic plasticity)을 촉진시켜 기능적인 보상을 이끌어 내는 것으로[24] 앞서 기술한 바와 같이 신경영양 보조(neurotrophic support), 염증조절(immunomodulation), 혈관생성이 주된 기전으로 생각된다.

정상적인 뇌의 기능을 유지하기 위해서는 충분한 혈관신생에 의한 혈류공급이 필수적이다. 뇌졸중 모델 연구에서 혈관성장인자(vascular growth factor)의 증가가 줄기세포 치료 후 기능향상을 설명하고 있다. 특히 뇌경색 부위에 인접하여 새로운 신경생성과 혈관생성 부위가 나타나며[13] 이는 내재된 재생능력과 함께 주입된 줄기세포의 기전으로 설명된다. 줄기세포의 기능이 충분히 발휘되기 위해서는 줄기세포가 정확한 위치에 도착해야 하며 여러 케모카인(chemokine)들이 뇌경색 주변부로 줄기세포가 모이게 하고 줄기세포의 재생환경 개선작업을 가능하게 한다. 또한 뇌경색으로 인한 국소적 염증이 줄기세포를 끌어들이는 역할을 한다[25]. 특히 신경생성, 혈관생성이 활발히 일어나는 부위에서는 여러 인자들에 예를 들어 brain-derived neurotrophic factor (BDNF), glial cell derived neurotrophic factor (GDNF), SDF1, Ang1, vascular endothelial growth factor (VEGF)가 증가되고[26-29] 또한 basic fibroblast growth factor (bFGF), transforming growth factor beta (TGF-beta), insulin-like growth factor (IGF), epidermal growth factor (EGF)도 관여하고 있다[30-32]. 이식된 줄기세포들이 이러한 인자들의 증가를 유도한다.

또한 주입된 줄기세포는 뇌경색 부위의 염증 상태를 호전시키고

즉 허혈지역의 상태를 변화시킴으로써 신경보호 효과를 나타낸다. 한 연구에 의하면 중뇌동맥 폐색 후 주입된 중간엽 줄기세포(mesenchymal stem cell)는 항염증 시토카인인 interleukin-10 (IL-10)을 증가시키고 염증을 유도하는 종양괴사인자-알파(tumor necrosis factor-alpha, TNF-alpha)의 발현을 억제한다[33].

4. 뇌졸중 환자에서 줄기세포를 이용한 임상연구

아직까지 줄기세포를 이용한 뇌졸중 환자의 치료는 초기단계에 있다(Table 1). 1998년 미국의 FDA에서 최초로 승인하여 12명의 뇌졸중 환자를 대상으로 open-label 1상 줄기세포 임상연구가 진행되었다[34]. Neuroteratocarcinoma (NT2N) 세포를 사용하였으며 기저핵부위에 뇌졸중이 발생하여 6개월에서 4.5년이 지난 환자가 대상자였다. 치료 8주 전부터 면역억제제로 전치치를 하였으며 수술적인 방법으로 직접 줄기세포를 뇌손상 부위에 주입하였고 5년이 지난 시점에서 치료와 관련된 이상반응은 없다고 보고하였다. 주입 후 27개월 시점에 심근경색으로 한 명의 환자가 사망하여 부검을 한 결과 면역반응을 나타내는 세포가 발견되었고 염증이냐 암을 시사하는 소견은 없었다[35]. 6개월 시점에 PET검사를 한 결과 6명의 환자에서 주입부위에 F-18 fluorodeoxyglucose의 흡수량 증가가 관찰되어 주입된 세포의 생존이나 염증반응을 추정해 볼 수 있었다[36]. 같은 연구자들은 안전성, 유효성을 확인하기 위해 동일한 세포를 이용한 2상 연구를 하였다[37]. 기저핵부위 뇌졸중이 발생한 후 1-6년이 지난 시점의 환자 18명이 연구에 참여하였다. 무작위 배정으로 5×10^6 , 10×10^6 개의 세포가 주입된 각각 7명의 환자와 시술을 하지 않은 4명의 대조군으로 연구되었다. 한 명의 환자가 수술당일 발작을 보였으며 다른 한 명은 경막하출혈을 경험하였다. 줄기세포와 연관된 이상반응은 없었다. Savitz 등[38]은 기저핵 뇌졸중 후 1.5-10년이 지난 5명의 환자를 대상으로 정위수술을 이용하여 fetal porcine 세포를 주입하였다. 그러나, 한 명의 환자는 수술 후 3주째에 운동능력의 악화를 경험하였고 다른 한 명은 수술 후 1주째에 발작을 하여 FDA에 의해 연구가 종료되었다. 우리나라

Table 1. Completed Clinical Stem Cell Trials for Stroke

Study	Cell type	Source	No.	Delivery	Stroke	Location	Stroke age	Results
Kondziolka, 2000 [34]	NT2N	Immortalized cell line	12	IC (1x)	IS	Striatum	6 mo to 6 yr	Feasibility proven, Adverse effects in 2 patients; unclear if related to transplant surgery
Kondziolka, 2005 [37]	NT2N	Immortalized cell line	18	IC (1x)	IS + HS	Striatum	12 mo to 6 yr	Feasibility proven, Adverse effects in 2 patients; unclear if related to transplant surgery
Savitz, 2005 [38]	Fetal porcine cell	Xeno/swine	5	IC (1x)	IS	Striatum	3 mo to 10 yr	Terminated by the FDA due to possible side effects
Bang, 2005, 2010 [39,40]	BMSC	Autologous	52 (BMSC; 16)	IV (2x)	IS	Striatum + cortex	< 1 wk	Feasibility proven. No surgery-related adverse effects
Rabinovich, 2005 [41]	Human fetal cell	Allogenic	10	Subarachnoid injection	IS + HS	Striatum + cortex	4 mo to 24 mo	Fever and meningismus after transplantation

NT2N, human neuroteratocarcinoma; BMSC, bone marrow-derived mesenchymal stem cell; IC, intracerebral injection; IV, intravenous injection; IS, ischemic stroke; HS, hemorrhagic stroke.

에서도 자가 중간엽줄기세포를 이용한 무작위배정 1, 2상 연구가 진행되었다[39,40]. 총 85명의 환자가 등록되어 이중 52명이 연구를 완료하였으며 이중 16명이 줄기세포를 주입한 군이었다. 중뇌동맥 영역에 뇌경색이 발생한지 7일 이내인 환자가 등록되었으며 줄기세포는 체외 증식과정을 거친 후에 정맥 내로 2차례 주입되었다. 세포와 연관된 이상반응은 없어서 안전한 방법이며 치료효과를 기대해 볼 수 있다고 보고되었다. 또한 Rabinovich 등[41]은 중뇌동맥 영역의 뇌졸중 후 4-24개월이 지난 10명의 환자에게 지주막하공간에 human fetal 세포를 주입하였다. 일부의 환자에서 주입 후 48시간 동안 발열과 수막증(meningismus)이 나타났다. 결론적으로 이상의 임상시험들은 치료군 선정, 세포의 종류, 주입방법이 서로 달라서 비교가 불가능하나 뇌졸중에서 줄기세포치료가 기술적으로 가능함을 입증하고 있다. 그러나 피험자수가 적고 이중맹검이 이루어지지 않았으며 일부 환자에서는 이상반응이 나타나고 있어 임상적인 유효성에 대해서는 아직 답을 내기 어렵다고 판단된다.

최근 2010년부터 신경줄기세포를 이용한 임상연구가 영국에서 진행되고 있다[42]. 뇌경색이 발생한 후 6개월 내지 5년이 지난 시점에서 중등도 이상의 신경학적 결손이 있는 60세 이상 남성 환자를 대상으로 하며 손상된 뇌부위에 직접 신경줄기세포를 주입하고 있다(Pilot Investigation of Stem Cells in Stroke, PISCES trial). 1상으로 연구 설계가 되어 있고 안전성을 주요 결과변수로 사용하고 있으며 유효성도 일부 검증할 예정이나 아직 연구결과가 발표되지 않았다.

5. 뇌졸중에 사용되는 줄기세포의 종류, 주입시기 및 방법

지금까지 임상연구에 사용된 줄기세포의 종류에 비해 뇌졸중 동물모델에서는 더 많은 종류의 세포가 실험에 사용되었다.

신경줄기세포는 세 개의 주된 중추신경계 세포형태로 분화가 가능하다. Reynolds에 의해 성체 및 배아 쥐의 중추신경계에서 처음으로 분리하고 EGF처리로 더욱 증식하여 neurosphere의 형태를 띠게 됨이 확인되었다[43]. 이후에도 포유류에서 신경줄기세포를 분리하여 특성이 분석되고 있다[44]. 나아가서 사람이나 쥐의 태아 신경줄기세포를 뇌졸중 모델에서 기질내 주입 혹은 혈관내 주입하였을 때 신경세포, 별아교세포로 분화되고 기능적인 호전도 보였다[45,46]. 단순한 신경줄기세포를 이용한 연구 외에도 Guzman 등[47]은 뇌졸중 후 발현이 증가하는 혈관내피세포의 부착분자인 vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1)의 수용체인 CD49d를 발현하는 신경줄기세포를 이용하였다. 동물실험 결과 뇌경색 부위에 줄기세포가 더욱 증가 유도됨을 밝혀냈다. 다른 연구자들은 성체 쥐의 SVZ에서 추출된 신경줄기세포를 사용하였는데 수조내(intracistern)로 주입하였을 때 뇌경색 부위로 이동하여 생존하며 이를 조직학적 그리고 영상학적으로 MRI를 이용하여 확인하기도 하였다[48]. 이와 같이 줄기세포의 종류 중 중추신경계에서 기원하는

신경줄기세포를 이용한 뇌졸중 치료 기초 연구가 진행되고 있으며 앞서 언급한 바와 같이 뇌졸중 환자를 대상으로 하는 1상 임상연구가 진행 중이다.

배아줄기세포는 자가재생성(self-renewal) 능력과 어느 종류의 세포로도 분화가 가능한 장점으로 뇌졸중 영역에서도 가장 이상적인 줄기세포의 종류로 받아들여지고 있다. Endothelin으로 유도된 중뇌동맥 폐색 후에 쥐 뇌에 주입된 배아줄기세포유래 전구세포가 신경교세포(neuroglia)로 분화되며 기능적 신경생리학적 향상이 관찰되었다[49]. 원숭이의 배아줄기세포에서 유래된 전구세포들을 쥐 뇌졸중 모델에 주입하였을 때 재생표적부위와의 연결성이 재확립되고 운동기능의 향상이 보였다[50]. 또한 줄기세포의 치료효과를 높이기 위한 방법으로 항-세포사멸사 유전자가 과발현되는 배아줄기세포 연구가 시도되고 있다[51]. 비슷한 예로 저산소상태로 전처치를 한 배아줄기세포유래 신경전구세포는 뇌경색에서 줄기세포의 효과를 끌어올릴 수 있을 것으로 판단되는데 한 연구에 의하면 뇌경색이 일어난 뇌에 주입되었을 때 3일 이상 줄기세포가 생존하고 있었으며 광범위한 신경분화와 감각 운동 기능의 향상이 관찰되었다[52].

조혈줄기세포에 대한 연구도 활발히 진행되고 있다. 골수, 제대 및 제대혈, 과립구집락자극인자(granulocyte colony-stimulating factor, G-CSF)에 동원된 말초혈액 등 다양한 기원을 가진 조혈줄기세포가 뇌경색 손상 후 주입하였을 때 재생능력을 발휘한다[53]. 골수유래중간엽줄기세포는 쥐 뇌경색 모델에 전신적으로 정맥 내 주입하였을 때 SDF-1 alpha에 의해 뇌경색 부위로 이동함이 밝혀졌으며[54] 다른 여러 기초연구들과 함께 임상연구결과가 발표되어 주목을 받고 있다[40]. 본 교실에서는 제대유래 중간엽 줄기세포를 이용한 실험을 진행하였는데, 신경세포로 분화 후 뇌경색 반대편에 주입되었을 때 뇌경색 부위로 이동할 뿐 아니라 기능적인 호전과 뇌경색 크기의 감소를 가져왔으며 이는 원래의 신경세포와 새로이 주입된 세포의 신경망이 생성된 것이 아니라 주로 줄기세포가 가진 신경보호 효과 때문임을 밝혀내는 연구성과를 보여 주목을 받았다[55]. 사람의 제대혈에서 유래된 단핵구세포는 손상된 신경세포와의 직접적 접촉에 의해 항-세포사멸사 기능이 발휘됨이 제안되었다[56]. 또한 사람의 골수유래 중간엽 줄기세포와 안지오제닌(angiogenin) 유전자 변형 골수유래 중간엽 줄기세포는 뇌경색 이후 정맥 내로 주입되었을 때 혈관신생과 해당부위의 뇌혈류 증가를 유도하여 효과를 발휘하였다[57]. 이상과 같이 많은 종류의 줄기세포가 뇌졸중 실험 연구에 사용되고 있어서 조만간 가장 효과적인 줄기세포의 종류와 유전자 변형이나 전처치를 통한 효과 역가를 증진시키는 방안들이 발표될 것으로 기대된다.

줄기세포를 뇌졸중 급성기에 이식하면 염증이나 기능적인 용해가 깨어진 급성기 환경으로 인해 이식된 세포의 생존이 어려워질 수 있다[49]. 반대로 축삭생성이나 시냅스 재형성에 관여하는 유전

자 표지자 연구에서는 신경재형성에 의한 기능적 호전이 1-4주에 최고조에 달한다고 보고되었다[58]. 그러므로 기능적인 측면에서 보면 이 시기가 세포이식에 가장 적기로 여겨지고 있다. 또한 이식된 세포의 생존을 극대화하기 위해서는 숙주의 신경망과 빠르게 신경망이 연결되어야 하며[59] 좀더 성숙된 세포를 이식하거나[60] scaffold를 이용한 조직공학적인 접근도 유용할 것이다[61].

결론

뇌졸중 이후 발생하는 반신마비, 감각이상 등의 신경학적 결손을 역전시켜 돌리키는 것이 임상적으로 최종목표이다. 환자들이 겪는 고통을 덜어주기 위해 수많은 후보물질과 화합물들이 연구되고 있으나 애석하게도 급성기에 혈류를 재관류하는 것이 거의 유일한 방법이다. 그러나 재관류를 위해 사용되는 혈전용해제도 자체가 가지고 있는 출혈성 위험이 있을 뿐만 아니라 뇌경색이 발생하고 3-6 시간 이상 지나면 효과가 없어서 실제 임상에서 사용되는 예는 전체 뇌경색 환자의 3%정도이다.

줄기세포를 뇌졸중으로 인한 기능적 장애를 극복하기 위한 후보 치료법으로 본다면 아직 넘어야 할 과제가 많다. 이식된 줄기세포가 뇌손상으로 인한 염증반응, 세포사멸사에 어떤 효과를 보이는지 더 많은 자료와 연구가 필요하다. 그리고 단순한 세포나 조직의 대체이식은 중추신경계의 특성상 기능적 호전을 가져오는데 한계가 있다. 신경세포는 무수한 신경연결망과 신경로로 연결되어 있고 혈관세포들을 포함한 신경세포, 신경아세포들이 혼재되어 있으므로 뇌졸중으로 인해 손상된 조직을 복구하기 위해서는 사멸된 세포 및 조직의 대체와 함께 신경세포의 회복과 세포 간 연결이 동시에 이루어져야 한다. 또한 뇌졸중 이후 줄기세포의 투입시기, 방법, 세포의 종류, 세포수에 대한 연구가 더 필요하다. 이와 같이 효과를 극대화할 수 있는 방법이 정립되어야 하며 체계화된 임상시험을 통해 객관적인 유효성과 안전성이 확립되어야 한다.

그럼에도 불구하고 줄기세포치료는 뇌졸중 환자들에게 최적의 치료 후보물질임에 틀림없다. 줄기세포가 가진 조직대체능력을 최대한 이끌어내고 신경보호 효과를 발휘할 수 있는 최적의 조건이 확립된다면 운동기능마비, 감각마비 등으로 고통받는 환자들에게 새로운 희망이 될 수 있다고 생각된다.

REFERENCES

- Donnan GA, Fisher M, Macleod M, Davis SM. Stroke. *Lancet* 2008;371:1612-23.
- Carmichael ST. Plasticity of cortical projections after stroke. *Neuroscientist* 2003;9:64-75.
- Kalladka D, Muir KW. Stem cell therapy in stroke: designing clinical trials. *Neurochem Int* 2011;59:367-70.
- Borlongan CV, Tajima Y, Trojanowski JQ, Lee VM, Sanberg PR. Transplantation of cryopreserved human embryonal carcinoma-derived neurons (NT2N cells) promotes functional recovery in ischemic rats. *Exp Neurol* 1998;149:310-21.
- Mattson MP, Culmsee C, Yu ZF. Apoptotic and antiapoptotic mechanisms in stroke. *Cell Tissue Res* 2000;301:173-87.
- Sims NR, Muyderman H. Mitochondria, oxidative metabolism and cell death in stroke. *Biochim Biophys Acta* 2010;1802:80-91.
- Abdelkarim GE, Gertz K, Harms C, Katchanov J, Dirnagl U, Szabo C, et al. Protective effects of PJ34, a novel, potent inhibitor of poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) in in vitro and in vivo models of stroke. *Int J Mol Med* 2001;7:255-60.
- Li X, Klaus JA, Zhang J, Xu Z, Kibler KK, Andrabi SA, et al. Contributions of poly(ADP-ribose) polymerase-1 and -2 to nuclear translocation of apoptosis-inducing factor and injury from focal cerebral ischemia. *J Neurochem* 2010;113:1012-22.
- Gavins FN, Dalli J, Flower RJ, Granger DN, Perretti M. Activation of the annexin 1 counter-regulatory circuit affords protection in the mouse brain microcirculation. *FASEB J* 2007;21:1751-8.
- Matsuo Y, Onodera H, Shiga Y, Shozuhara H, Ninomiya M, Kihara T, et al. Role of cell adhesion molecules in brain injury after transient middle cerebral artery occlusion in the rat. *Brain Res* 1994;656:344-52.
- Zhang RL, Chopp M, Zhang ZG, Phillips ML, Rosenbloom CL, Cruz R, et al. E-selectin in focal cerebral ischemia and reperfusion in the rat. *J Cereb Blood Flow Metab* 1996;16:1126-36.
- Arvidsson A, Collin T, Kirik D, Kokaia Z, Lindvall O. Neuronal replacement from endogenous precursors in the adult brain after stroke. *Nat Med* 2002;8:963-70.
- Ohab JJ, Fleming S, Blesch A, Carmichael ST. A neurovascular niche for neurogenesis after stroke. *J Neurosci* 2006;26:13007-16.
- Dihne M, Grommes C, Lutzenburg M, Witte OW, Block F. Different mechanisms of secondary neuronal damage in thalamic nuclei after focal cerebral ischemia in rats. *Stroke* 2002;33:3006-11.
- Murphy TH, Corbett D. Plasticity during stroke recovery: from synapse to behaviour. *Nat Rev Neurosci* 2009;10:861-72.
- Sur M, Leamey CA. Development and plasticity of cortical areas and networks. *Nat Rev Neurosci* 2001;2:251-62.
- Biernaskie J, Chernenko G, Corbett D. Efficacy of rehabilitative experience declines with time after focal ischemic brain injury. *J Neurosci* 2004;24:1245-54.
- Kaplan MS, Bell DH. Mitotic neuroblasts in the 9-day-old and 11-month-old rodent hippocampus. *J Neurosci* 1984;4:1429-41.
- Kuhn HG, Dickinson-Anson H, Gage FH. Neurogenesis in the dentate gyrus of the adult rat: age-related decrease of neuronal progenitor proliferation. *J Neurosci* 1996;16:2027-33.
- Cramer SC, Chopp M. Recovery recapitulates ontogeny. *Trends Neurosci* 2000;23:265-71.
- Nakatomi H, Kuriu T, Okabe S, Yamamoto S, Hatano O, Kawahara N, et al. Regeneration of hippocampal pyramidal neurons after ischemic brain injury by recruitment of endogenous neural progenitors. *Cell* 2002;110:429-41.
- Shang J, Deguchi K, Ohta Y, Liu N, Zhang X, Tian F, et al. Strong neurogenesis, angiogenesis, synaptogenesis, and antifibrosis of hepatocyte growth factor in rats brain after transient middle cerebral artery occlusion. *J Neurosci Res* 2011;89:86-95.
- Sharma S, Yang B, Strong R, Xi X, Brenneman M, Grotta JC, et al. Bone marrow mononuclear cells protect neurons and modulate microglia in cell culture models of ischemic stroke. *J Neurosci Res* 2010;88:2869-76.
- Bacigaluppi M, Pluchino S, Peruzzotti-Jametti L, Kilic E, Kilic U, Salani G, et al. Delayed post-ischaemic neuroprotection following systemic neural

- stem cell transplantation involves multiple mechanisms. *Brain* 2009;132:2239-51.
25. Jiang L, Newman M, Saporta S, Chen N, Sanberg C, Sanberg PR, et al. MIP-1alpha and MCP-1 induce migration of human umbilical cord blood cells in models of stroke. *Curr Neurovasc Res* 2008;5:118-24.
 26. Yamashita T, Deguchi K, Nagotani S, Kamiya T, Abe K. Gene and stem cell therapy in ischemic stroke. *Cell Transplant* 2009;18:999-1002.
 27. Jin G, Inoue M, Hayashi T, Deguchi K, Nagotani S, Zhang H, et al. Sendai virus-mediated gene transfer of GDNF reduces AIF translocation and ameliorates ischemic cerebral injury. *Neurol Res* 2008;30:731-9.
 28. Shirakura M, Inoue M, Fujikawa S, Washizawa K, Komaba S, Maeda M, et al. Postischemic administration of Sendai virus vector carrying neurotrophic factor genes prevents delayed neuronal death in gerbils. *Gene Ther* 2004;11:784-90.
 29. Kurozumi K, Nakamura K, Tamiya T, Kawano Y, Kobune M, Hirai S, et al. BDNF gene-modified mesenchymal stem cells promote functional recovery and reduce infarct size in the rat middle cerebral artery occlusion model. *Mol Ther* 2004;9:189-97.
 30. Chen J, Li Y, Katakowski M, Chen X, Wang L, Lu D, et al. Intravenous bone marrow stromal cell therapy reduces apoptosis and promotes endogenous cell proliferation after stroke in female rat. *J Neurosci Res* 2003;73:778-86.
 31. Capone C, Frigerio S, Fumagalli S, Gelati M, Principato MC, Storini C, et al. Neurosphere-derived cells exert a neuroprotective action by changing the ischemic microenvironment. *PLoS One* 2007;2:e373.
 32. Wakabayashi K, Nagai A, Sheikh AM, Shiota Y, Narantuya D, Watanabe T, et al. Transplantation of human mesenchymal stem cells promotes functional improvement and increased expression of neurotrophic factors in a rat focal cerebral ischemia model. *J Neurosci Res* 2010;88:1017-25.
 33. Liu N, Chen R, Du H, Wang J, Zhang Y, Wen J. Expression of IL-10 and TNF-alpha in rats with cerebral infarction after transplantation with mesenchymal stem cells. *Cell Mol Immunol* 2009;6:207-13.
 34. Kondziolka D, Wechsler L, Goldstein S, Meltzer C, Thulborn KR, Gebel J, et al. Transplantation of cultured human neuronal cells for patients with stroke. *Neurology* 2000;55:565-9.
 35. Nelson PT, Kondziolka D, Wechsler L, Goldstein S, Gebel J, DeCesare S, et al. Clonal human (hNT) neuron grafts for stroke therapy: neuropathology in a patient 27 months after implantation. *Am J Pathol* 2002;160:1201-6.
 36. Meltzer CC, Kondziolka D, Villemagne VL, Wechsler L, Goldstein S, Thulborn KR, et al. Serial [18F] fluorodeoxyglucose positron emission tomography after human neuronal implantation for stroke. *Neurosurgery* 2001;49:586-91; discussion 91-2.
 37. Kondziolka D, Steinberg GK, Wechsler L, Meltzer CC, Elder E, Gebel J, et al. Neurotransplantation for patients with subcortical motor stroke: a phase 2 randomized trial. *J Neurosurg* 2005;103:38-45.
 38. Savitz SI, Dinsmore J, Wu J, Henderson GV, Stieg P, Caplan LR. Neurotransplantation of fetal porcine cells in patients with basal ganglia infarcts: a preliminary safety and feasibility study. *Cerebrovasc Dis* 2005;20:101-7.
 39. Bang OY, Lee JS, Lee PH, Lee G. Autologous mesenchymal stem cell transplantation in stroke patients. *Ann Neurol* 2005;57:874-82.
 40. Lee JS, Hong JM, Moon GJ, Lee PH, Ahn YH, Bang OY. A long-term follow-up study of intravenous autologous mesenchymal stem cell transplantation in patients with ischemic stroke. *Stem Cells* 2010;28:1099-106.
 41. Rabinovich SS, Seledtsov VI, Banul NV, Poveshchenko OV, Senyukov VV, Astrakov SV, et al. Cell therapy of brain stroke. *Bull Exp Biol Med* 2005;139:126-8.
 42. Pilot Investigation of Stem Cells in Stroke (PISCES) [Internet]. Guildford (UK): ReNeuron Limited [cited 2012 Jun 20]. Available from: <http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01151124?term=NCT01151124&rank=1>
 43. Reynolds BA, Weiss S. Generation of neurons and astrocytes from isolated cells of the adult mammalian central nervous system. *Science* 1992;255:1707-10.
 44. Corti S, Locatelli F, Papadimitriou D, Donadoni C, Salani S, Del Bo R, et al. Identification of a primitive brain-derived neural stem cell population based on aldehyde dehydrogenase activity. *Stem Cells* 2006;24:975-85.
 45. Kelly S, Bliss TM, Shah AK, Sun GH, Ma M, Foo WC, et al. Transplanted human fetal neural stem cells survive, migrate, and differentiate in ischemic rat cerebral cortex. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;101:11839-44.
 46. Darsalia V, Kallur T, Kokaia Z. Survival, migration and neuronal differentiation of human fetal striatal and cortical neural stem cells grafted in stroke-damaged rat striatum. *Eur J Neurosci* 2007;26:605-14.
 47. Guzman R, De Los Angeles A, Cheshier S, Choi R, Hoang S, Liauw J, et al. Intracarotid injection of fluorescence activated cell-sorted CD49d-positive neural stem cells improves targeted cell delivery and behavior after stroke in a mouse stroke model. *Stroke* 2008;39:1300-6.
 48. Zhang ZG, Jiang Q, Zhang R, Zhang L, Wang L, Arniog P, et al. Magnetic resonance imaging and neurosphere therapy of stroke in rat. *Ann Neurol* 2003;53:259-63.
 49. Buhnenmann C, Scholz A, Bernreuther C, Malik CY, Braun H, Schachner M, et al. Neuronal differentiation of transplanted embryonic stem cell-derived precursors in stroke lesions of adult rats. *Brain* 2006;129:3238-48.
 50. Hayashi J, Takagi Y, Fukuda H, Imazato T, Nishimura M, Fujimoto M, et al. Primate embryonic stem cell-derived neuronal progenitors transplanted into ischemic brain. *J Cereb Blood Flow Metab* 2006;26:906-14.
 51. Wei L, Cui L, Snider BJ, Rivkin M, Yu SS, Lee CS, et al. Transplantation of embryonic stem cells overexpressing Bcl-2 promotes functional recovery after transient cerebral ischemia. *Neurobiol Dis* 2005;19:183-93.
 52. Theus MH, Wei L, Cui L, Francis K, Hu X, Keogh C, et al. In vitro hypoxic preconditioning of embryonic stem cells as a strategy of promoting cell survival and functional benefits after transplantation into the ischemic rat brain. *Exp Neurol* 2008;210:656-70.
 53. Zhang C, Li Y, Chen J, Gao Q, Zacharek A, Kapke A, et al. Bone marrow stromal cells upregulate expression of bone morphogenetic proteins 2 and 4, gap junction protein connexin-43 and synaptophysin after stroke in rats. *Neuroscience* 2006;141:687-95.
 54. Wang Y, Deng Y, Zhou GQ. SDF-1alpha/CXCR4-mediated migration of systemically transplanted bone marrow stromal cells towards ischemic brain lesion in a rat model. *Brain Res* 2008;1195:104-12.
 55. Koh SH, Kim KS, Choi MR, Jung KH, Park KS, Chai YG, et al. Implantation of human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells as a neuroprotective therapy for ischemic stroke in rats. *Brain Res* 2008;1229:233-48.
 56. Hau S, Reich DM, Scholz M, Naumann W, Emmrich F, Kamprad M, et al. Evidence for neuroprotective properties of human umbilical cord blood cells after neuronal hypoxia in vitro. *BMC Neurosci* 2008;9:30.
 57. Onda T, Honmou O, Harada K, Houkin K, Hamada H, Kocsis JD. Therapeutic benefits by human mesenchymal stem cells (hMSCs) and Ang-1 gene-modified hMSCs after cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab* 2008;28:329-40.
 58. Carmichael ST, Archibeque I, Luke L, Nolan T, Momiy J, Li S. Growth-associated gene expression after stroke: evidence for a growth-promoting region in peri-infarct cortex. *Exp Neurol* 2005;193:291-311.
 59. Tashiro A, Sandler VM, Toni N, Zhao C, Gage FH. NMDA-receptor-mediated, cell-specific integration of new neurons in adult dentate gyrus. *Nature* 2006;442:929-33.
 60. Dihne M, Bernreuther C, Hagel C, Wesche KO, Schachner M. Embryonic stem cell-derived neuronally committed precursor cells with reduced

teratoma formation after transplantation into the lesioned adult mouse brain. *Stem Cells* 2006;24:1458-66.

61. Dihne M, Hartung HP, Seitz RJ. Restoring neuronal function after stroke

by cell replacement: anatomic and functional considerations. *Stroke* 2011; 42:2342-50.