

줄기세포의 근골격계 임상적용

민 병 현^{1*} · 이 천 주² | ¹아주대학교 의과대학 정형외과, ²아주대학교의료원 세포치료센터

Stem cells in musculoskeletal system for clinical application

Byoung-Hyun Min, MD^{1*} · Tian Zhu Li, PhD²

¹Department of Orthopedic Surgery, Ajou University School of Medicine, ²Cell Therapy Center, Ajou University Medical Center, Suwon, Korea

*Corresponding author: Byoung-Hyun Min, E-mail: bhmin@ajou.ac.kr

Received January 26, 2011 · Accepted February 15, 2011

Mesenchymal stem cells (MSCs) play a crucial role in the proliferation and differentiation of human tissue such as bone, cartilage, muscle, fat, and fibroblasts. Various surgical techniques have been developed for the repair of the musculoskeletal system, but they can be often limited. Thus, the efforts that can be employed in treatment for MSCs population of degenerative musculoskeletal diseases are underway. Patients who have a musculoskeletal disease with low numbers of functional MSCs will be treated using a focus on cell-based therapy. The ideal clinical application is to engineer material/scaffolds that are capable of delivering therapeutic cells that can regenerate and repair damaged tissue. The ability related to MSCs differentiation using biomaterial systems offers a minimally invasive therapeutic option for diseases of the musculoskeletal system and tissue repair. Understanding the natural mechanisms for this delivery is essential to the success of tissue engineering biomaterials that deliver therapeutic cells.

Keywords: Stem cells; Musculoskeletal system; Tissue engineering

서 론

신 줄기세포는 인간 조직의 발생과 재생에 있어서 아주 중요한 역할을 한다. 줄기세포 중 성체줄기세포인 중간엽줄기세포(mesenchymal stem cell, MSC)는 다능성(mutipotent) 세포이며, 뼈, 연골, 근육, 지방 및 섬유아세포로 분화가 가능하다. 이러한 MSC는 조직의 항상성(homeostasis)을 유지시켜주고 손상 받은 조직을 치료할 수 있다. MSC는 여러 성체조직에서 분리할 수 있기 때문에 진행되고

있는 퇴행성 근골격계(골, 연골, 골격근, 인대, 건 등) 질환을 치료하는데 사용하려고 시도하고 있다[1]. 골수에서 추출한 MSC는 10,000-100,000개의 골수세포 중 1개의 MSC가 들어있어 그 수가 아주 적다[2]. 환자에서 추출한 MSC의 분화 능력과 세포의 수는 환자의 건강상태에 따라 다르며 환자의 나이가 증가함에 따라 MSC의 증식, 분화 그리고 세포의 수는 감소한다[3].

MSC의 조직 재생에 있어 분자 수준에서 기전을 밝히려고 많이 시도하고 있지만 충분히 밝혀져 있지 않다. 간단하게

말하면, 손상받은 조직에서 사이토카인(cytokine)들이 분비되면 이들은 niche에 머물고 있는 MSC를 활성화시켜 동원한다. 활성화된 MSC는 상처 입은 조직으로부터 추가적인 homing 신호를 받고 MSC가 성숙된 세포로 증식 및 분화되도록 촉진한다. 새롭게 형성된 성숙 세포는 상처 받은 조직으로 이동하여 손상을 입은 조직을 재생시키는데 기여한다[4-7]. 이처럼 MSC 치료의 메커니즘은 대부분 알려져 있지 않은 상태이며 기능적인 MSC의 수가 적기 때문에 근골격계 치료에 있어서 세포-기반 치료를 초점을 두고 있다[8]. 이상적인 임상적 적용은 공학적으로 접근하여 치료적 세포를 전달할 수 있는 재료/지지체(scaffold)를 이용하여 손상 받은 조직을 재생 및 치료하는 것이다. 게다가 나이에 따라 골수 유래 MSC의 수, 분화능력이 감소하기 때문에 중장년층 환자에서 추출하게 되면 임상적으로 비효율적일 것이다. 손상 받은 조직의 치료를 강화하기 위한 세포-기반 치료의 효율은 충분한 양의 MSC에 의존 할 뿐만 아니라 또한 목표로 하는 조직에로의 효율적인 전달에 의존한다. 생체 내에서 줄기세포는 3차원 미세환경에서 존재하며 분화한다. 현재, 다양한 생체재료(알긴산염, 교원질, 하이알루론산, 수산화인회석, polyethylene glycol [PEG])들이 3차원 지지체로 이용되면서 줄기세포의 증식, 이동, 자가재생산 및 분화에 미치는 영향에 대한 연구가 진행되었다[9-12]. 이러한 생체재료는 생물학적, 화학적, 물리적 신호를 제공하여 줄기세포의 만능성(pluripotency)을 유지시켜 주거나 줄기세포가 보다 특화된 lineages로 분화되도록 인도하여 새로운 조직 형성을 돕는 작용을 한다. 전달체로서 이용되는 공학적인 생체재료가 치료적 세포를 성공적으로 전달하는 메커니즘을 밝히는 것이 필요하다.

줄기세포를 이용한 골 재생의 임상적 적용

전통적으로 골결손의 치료방법으로는 자가골 이식(auto-grafting)과 동종골 이식(allografting)등이 시도되고 있다. 자가골 이식이 지금까지는 골 형성 측면에서 가장 효과적인 방법으로 알려져 있으나 골 채취 부위의 감염, 동통, 혈종등과 같은 합병증이 발생할 수 있고 동종골 이식은 공여자로부

터 질병의 전염, 감염, 그리고 자가골 이식에 비해 골유합 및 골형성 효과가 저조한 단점을 가지고 있다[13-16]. 줄기세포를 이용한 골형성이 이러한 단점을 극복하고 골결손 치료에 이용될 수 있도록 많은 연구가 진행되고 있다. Lee 등[17]은 근골격계 손상(musculoskeletal injury)을 치료하기 위해 지방줄기세포에서 유래한 줄기세포를 주입한 결과, 주입한 세포들이 골질 부위로 이동하였고 손상된 부위의 재생이 증가됨을 보고하였다. Granero-Molto 등[18]은 경골골절(tibia fracture) 모델에 줄기세포를 이식한 후 마이크로 컴퓨터단층촬영으로 대조군과 비교하였을 때, 전체 골량(total bone tissue), 신생골 형성(new bone formation), 가골양(callus volume) 등이 증가함을 알 수 있었고, 또한 조직학적 결과를 통해 새로운 골조직 형성이 증가됨을 보고하였다. 이처럼 골 재생을 위한 줄기세포의 역할이 명확히 밝혀지고 있으므로, 골 재생을 위한 줄기세포의 임상적용 가능성이 제시되고 있다.

조직의 재생에서 조직을 형성할 수 있는 세포가 필요하듯이, 골조직의 재생 시에도 충분한 수의 조골세포들이 필요하며 조골세포는 골아세포(osteoblasts)나 골세포(osteocytes), 골전구세포들(osteoprogenitor cells)로 구성되었는데 골세포는 순수하게 분리하기가 어려우며, 이미 성숙한 세포로서 골조직 생성에 도움이 주지 않는 것으로 보고되었다[19]. 따라서 줄기세포를 이용한 골조직 재생에서 성숙한 골세포보다는 골전구세포를 이용하는 것이 효과적일 것으로 사료된다. 골전구세포들은 골수(bone marrow)나 골막(periosteum)에 많이 존재한다[20,21]. 골수 내에는 여러 세포들이 공존하고 있어 쉽게 골수 내 세포들이 골형성에 직접적인 영향을 미치고 있는지를 알기는 쉽지 않으나, 골막 세포에서의 골형성은 쉽게 관찰될 수 있는데, 예를 들어, 소아들의 대퇴골 골절 등에서 흔히 볼 수 있는 가골(callus)형성은 주로 골막에서 일어난다. 그래서 대퇴골이 부러질 경우 한쪽에는 골막이 떨어져 있고 반대쪽에는 골막이 붙어 있어 골형성이 붙어 있는 골막으로부터 골형성이 되고 있음을 관찰할 수 있다. 이러한 다분화성 골전구세포들은 골수에 존재하는 MSC에서 기원하며 이러한 세포들은 골생성과 연골생성세포를 포함한 다양한 간엽조직들로 분화할 수 있는

능력을 가지고 있다[22]. 임상적으로 골 결손 부위에서 바람직한 골형성을 일으키기 위해서는 이식부위의 이러한 간엽줄기세포들이 골 표현형(bone phenotype)쪽으로 진행될 수 있도록 하는 자극이 필요한데, 세포에서 분비되는 다양한 성장인자나 기계적 부하로부터의 자극과 이식된 소재의 표면에 포함된 생체활성분자 등으로부터의 골 유도성 자극(osteoinductive stimuli)이 시도되고 있다[23].

1. 중간엽줄기세포를 이용한 골절제 후 재건

MSC를 이용한 골결손을 치료함에 있어서 Bruder 등[24]이 제시한 재건 모식도에 의하면 성인 쥐 대퇴골에서 골절편을 잘라내어 불유합을 만든 후 polyacetate plate로 붙여 고정시킨 후 구멍이 많은 calcium phosphate ceramic을 골결손부에 삽입하는데 이때 실험군으로 배양된 MSC를 세라믹에 같이 넣어서 함께 골결손부에 삽입하였다. 수술 후 일정 시간 뒤 대퇴골 결손부의 방사선 사진에서 골간 말단부의 빈 공간은 새로운 골이 형성되어 골성 유합(bony union)을 이루었고 간엽줄기세포 없이 ceramic implant만 사용한 경우 숙주골에 유합되지도 않고 새로운 골의 형성도 없었다. 한편 ceramic implant에 간엽줄기세포를 같이 주입하면 이식편의 양 끝에서 새로운 골의 생성이 관찰되며 일정시간 후 방사선 사진에서 골성 유합을 나타내는 골막성 가교를 관찰할 수 있었다.

2. 효과적인 골형성을 위한 골조직공학

조직공학을 위한 골 형성 모델은 생체내의 골 결손 부위를 재생하는 모델(bone repair model)과 생체내의 새로운 부위에 골을 형성하는 모델(ectopic ossification model), 시험관내에서의 골을 형성하는 모델(*in vitro* bone formation) 등이 있다. 예를 들어 생체 내에 작은 골 결손은 경우에 따라서는 골 전도체만을 이식해도 주위의 골조직으로부터 골생성 세포들(osteogenic cells)과 골유도 성장인자들이 들어와서 골 형성을 하게 된다. 또한 강력한 골유도 성장인자만을 주입하여도 골 형성을 기대할 수 있는데, 보다 효과적인 골 형성을 위해서 골수나 골수세포 또는 간엽 줄기세포를 같이 이식하는 경우도 있다. 생체 내에서 기존에 골이

없던 부위에 새로운 골을 형성하려는 경우에는, 강력한 골유도 성장인자만을 생체내의 근육이나 연부조직에 삽입하여도 주위 조직이나 혈관내의 조골세포를 유도하여 골을 형성시킬 수 있지만, 단순히 골전도체만을 삽입하여서는 골의 형성이 불가능하다. 최소한 골형성 세포와 골형성 세포가 살면서 골을 형성할 수 있는 공간, 즉 기질(matrix) 또는 지지체가 필요하다. 시험관내에서의 골형성을 유도하기 위해서는 조골세포와 지지체, 그리고 골 성장인자들과 함께 충분한 영양공급이 필요한데, 지금까지 생체 내에서의 골형성을 위한 다양한 조직공학적 시도가 보고되고 있다. Tiedeman 등[13]은 아이들의 골 결손, 분쇄골절, 불유합, 그리고 관절 고정술 등과 같은 다양한 골결손을 치료하는데 있어서 demineralized bone matrix와 골수의 이식이 자가골이식과 유사한 효과를 보이는 것으로 보고하였다. Takagashi 등[25]은 자체적으로 합성한 다공성의 hydrox-yapatite와 bone morphogenetic protein (BMP)를 사용하여 multi-level의 전방경추관절 고정술을 시행 받은 14마리의 염소에서 100% 유합을 얻었음을 보고하였고, Asahina 등[26]은 HA/collagen/bovine BMP 합성물을 영장류의 골결손 모델에 인위적으로 만들어진 하악 손상에 삽입하였을 때 대조군보다 더 좋은 골형성을 나타냄을 발견하였다.

줄기세포를 이용한 골격근 재생의 임상적 적용

골격근은 자가치료가 가능하지만 외상, 선천적 결손, 종양 제거 등으로 조직이 손실되었을 시에는 원래의 조직으로 회복할 수 없다. 자가 혹은 동종 근원세포(myogenic cell)를 근육 내에 주사하는 방법이 있으나 적은 수의 세포가 유지되고 생존율이 낮거나 면역 거부반응을 일으키기 때문에 효율적이지 못한 것으로 보고되고 있다. 이러한 원인에 따라 줄기세포 및 조직공학을 이용한 골격근 재생을 위한 연구가 시도되고 있지만 임상적 사용에는 아직 큰 한계를 보이고 있다. Barberi 등[27]은 배아줄기세포에서 추출한 골격근 전구세포(progenitor)로부터 골격근으로의 분화를 유도하였으나 분화된 세포는 극히 적었다. 근원 전구세포인 근육위

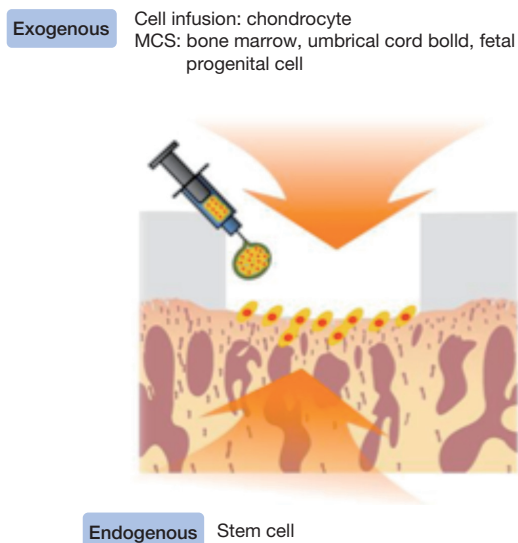


Figure 1. Exogenous and endogenous stem cell therapy for cartilage injury. MSC, mesenchymal stem cell.

성세포(muscle satellite cell, SC)는 단일 근육섬유에서 추출할 수 있고 근원세포로의 분화 가능성이 높으며 생체 외에서 증식이 가능하지만 배양기간이 짧다. Beauchamp 등[28]은 SC를 생체 외에서 배양하여 근육 내에 주입하였을 때 증식, 이동 및 재생능력이 낮게 관찰되었다고 보고하였다. 이와 같은 문제점을 해결하기 위해 알긴산염(alginate), 교원질(collagen), 하이알루론산(hyaluronate) 등 생체재료를 이용하여 근원 줄기세포를 3차원 미세환경에서 골격근으로의 분화를 유도하는 연구가 진행되고 있다. Rossi 등[29]은 마우스 위성세포를 하이알루론산에 embedding하여 부분적으로 제거된 전경골근(tibialis anterior muscle)에 이식하였더니 제거된 근육의 기능이 다시 회복하였음을 관찰하였다.

줄기세포를 이용한 연골 재생의 임상적 적용

연골은 혈관, 신경, 임파관이 없기 때문에 손상을 받은 후에 세포를 보충할 수 있는 길이 매우 제한적이다. 따라서 손상된 연골은 조기에 재생시켜주는 것이 매우 중요한데, 현재 연골 결손의 재생을 위한 치료방법이 다양하게 제시되고 있

으나, 아직 정상적 초자 연골(hyaline cartilage)의 재생에는 부족한 면이 많다. 이러한 연골의 재생을 위해 시행되는 치료 방법으로 결손된 부위에 세포를 공급하는 방법이 이용되고 있다. 손상된 연골을 치료하기 위해서는 여러 가지 방법으로 제공된 세포를 이용하게 되는데, 크게는 외부로부터 세포를 주입하는 방법과 생체 내 존재하고 있는 줄기세포를 이용하는 두 가지 방법으로 나눌 수 있다(Figure 1). 임상에서 많이 사용되는 미세골절술(microfracture)은 골수의 줄기세포를 손상된 부위로 노출시켜 조직재생을 유도하는 치료방법으로, 주변의 환경에 의해 연골세포로 분화하게 되어 연골조직으로의 재생을 기대할 수 있다. 이와 같은 줄기세포는 골수 또는 제대혈 등에서 쉽게 분리 가능한 장점을 가져 외부에서 직접 이식이 가능하며, 연골세포 또한 체외 배양 후 손상부위에 직접 주입을 통한 세포 이식술이 사용되고 있다.

1. 내재 줄기세포를 이용한 임상적용

1) 현재의 치료법: 골수자극(Bone marrow stimulation)을 통한 미세골절술

비교적 혈관이 풍부한 골간단(metaphysis)의 골수와 관절연골 사이에 있는 연골하골판(subchondral bone plate)에 천공을 시행함으로써 골수로부터의 출혈을 유도하여 연골결손부위는 혈괴(blood clot)로 채워지게 된다. 이때 형성되는 혈괴에는 충분한 수의 줄기세포가 존재하게 되는데, 이 줄기세포는 주위 환경의 영향을 받아 연골세포로 분화되고 점차 관절연골을 형성하게 된다. 하지만 골수자극 후 형성된 혈괴는 관절 내에 정상적으로 존재하는 활액에 의해 쉽게 세척되거나 하중에 의해 손실되어 정상 연골인 초자연골로의 재생이 어렵고, 1형 교원질(type I collagen)과 주형인 섬유연골(fibrous cartilage)로 재생되어 비정상적인 물리적 내구력을 갖게 된다[30].

2) 개량된 치료법: 생체소재를 이용한 미세골절술

앞서 기술된 바와 같이 미세골절술에 의해 유출된 혈괴에는 줄기세포, 성장인자와 같은 연골조직으로의 재생을 위한 성분들이 포함되어 있다. 이러한 성분들의 손실을 최대한 줄이고 손상된 조직 내에서 정상과 같은 연골조직으로의 분

화를 유도하기 위하여 콜라겐(collagen)과 같은 생체재료를 이용한 치료방법들이 고안되었다[31-33]. 이들 수술법 모두 골수유래 줄기세포가 연골조직으로 재생되기 위한 분화환경을 제공하여, 미세골절술 단독으로 진행된 방법에 비해 재생 정도가 훨씬 월등한 결과를 보이고 있다[32,33]. 필자는 현재 막(membrane) 형태의 생체재료를 이용하여 골수자극술 후 덮음으로써 골수에 있는 줄기세포가 활액으로 빠져나가는 것을 막고 생체 내와 유사한 환경을 조성하여 연골을 재생하는 방법을 시도하고 있다.

2. 줄기세포의 이식을 이용한 임상적용

현재 연골손상 치료를 위해 줄기세포를 사용하는 것이 많은 효과가 있음이 보고되고 있다. Wakitani [34]는 전층 연골결손(full-thickness defect) 동물 모델에서 손상된 부위의 연골 재생을 위해 제1형 교원질 지지체와 줄기세포를 손상부위에 이식하여 연골 재생에 효과가 있음을 보고하였다. 또한 골관절염 환자에서 경골 근위부 절골술(proximal tibial osteotomy)과 함께 줄기세포를 주입하거나[35] 슬개골의 연골 결손 모델에서 줄기세포를 주입한[36] 임상 결과를 통해 연골재생을 위한 줄기세포의 적용가능성을 보고하였다.

줄기세포를 주입하는 방법에는, 배양된 세포를 직접 손상 부위에 주입하는 방법[37] 및 세포를 전달할 수 있는 지지체를 이용하여 손상 부위에 이식하는 방법이 시도되고 있다. 줄기세포를 전달하는 지지체는 히알루론산(hyaluronan) [38], 피브린(fibrin) [39], 콜라겐[40], polyglycolic acid (PGA) [41], polylactic acid (PLA) [42] 등과 같은 다양한 재료들이 사용되고 있는데, 막, 스폰지(sponge), 수화젤(hydrogel)과 같은 형태를 취하고 있다. 가능한 외과적 침습을 최소한으로 하기 위하여 관절경 하에서 시술할 수 있는 방법이 선호되고 있다[43].

미분화된(undifferentiated) 줄기세포를 직접 이식했을 때 이식된 세포는 석회화(calcification), 혈관침투(vessel invasion), 섬유조직의 형성(fibrogenesis), 이소성 조직의 형성(heterotopic tissue formation) 등과 같은 원치 않는 결과를 초래할 수 있다[44]. 이런 문제점을 해결하고자 이식 전 분화 방향을 미리 조절하는 방법이 연구되고 있다. 연골

세포와 함께 공동 배양(co-culture)한 줄기세포에서 연골화 특성이 증가함이 보고되었으며[44], 기계적 자극을 처리하여 줄기세포의 연골세포로의 분화 방향을 사전에 설정하는 연구들이 보고되고 있다[41]. 이와 같이 이식 후 예정된 방향으로 분화를 진행시킬 수 있도록 사전 처리(preconditioning)하는 방법이 성공적으로 개발되면 줄기세포가 연골의 재생을 위한 세포치료제로 매우 높은 이식 성공률을 보이게 될 것이다.

1) 연골재생에 연구되는 성체줄기세포원

MSC는 성인의 다양한 중간엽 조직에서 채취 가능하며, 여러 번의 계대 배양 후에도 분화능을 유지하면서 증식이 가능하여 손상된 연골을 치료하기 위한 재생의학에 매우 중요한 세포원으로 주목 받고 있다. 또한 손상이 깊어 연골하골까지 재생이 되어야 하는 경우, 연골뿐 아니라 뼈로도 동시에 분화되어 재생되는 장점을 갖고 있기도 하다. 줄기세포는 면역반응이 없거나, 혹은 기존의 면역거부반응을 현저하게 저하시키는 기능이 있는 것으로 알려져 최근 동종의 줄기세포를 이용하여 연골재생에 적용하고자 하는 노력이 경주되고 있다. 줄기세포는 채취부위에 따라 세포 수와 연골로의 분화능이 다른 것으로 보고되고 있으나, 임상적인 이용을 위해서는 잉여 세포를 이용하는 것이 매우 유리하므로 제대혈, 지방 조직, 혹은 활막 등으로부터 유래하는 줄기세포가 많이 연구되고 있다.

(1) 제대혈 줄기세포

제대혈은 기본적으로 세포치료가 가능한 모든 질병에 사용할 수 있고, 다른 조직에 비해 채취가 용이하고 윤리적인 문제를 피할 수 있기 때문에, 치료목적의 좋은 세포 공급원이 될 수 있다. 골수 유래줄기세포는 환자의 연령에 따라 분화능력에서 많은 차이를 보이나 제대혈 줄기세포는 연령에 크게 제한 받지 않으며, 환자가 필요로 하면 언제든지 맞춤형 세포치료가 가능하다. 또한 다른 조직의 줄기세포에 비해 면역거부반응의 가능성이 매우 낮아 다양한 많은 환자를 대상으로 치료를 할 수 있다는 점에서 상업적 이용 가치가 매우 높다. 골수유래중간엽 줄기세포와 같은 분화능력을 가지고 있어 제대혈 줄기세포를 이용한 관절연골 손상의 치료제가 국내외 여러 기업에서 제품으로 개발 중이다. 최근

골수 유래 중간엽 줄기세포의 특징인 CD34 세포가 제대혈에서 같은 특징을 보이고, 이러한 간엽줄기세포를 이용한 관절연골 손상의 치료 제품이 개발 중이다[45].

(2) 지방유래 줄기세포

지방유래 줄기세포는 인체의 어느 조직에서든지 쉽게 얻을 수 있다는 장점이 있다. 최근 들어 지방조직이 골수에 비해 더 많은 양의 줄기세포를 포함하고 있다고 보고되었다[46]. 우리 몸 어느 곳이나 존재하는 지방조직은 골수로부터의 수집에 비해 비교적 간단한 지방 흡입 등으로 많은 양을 얻을 수 있어 세포 증식에 많은 시간이 소요되지 않으며, 공여부의 이환을 적게 남기고, 반복적으로 채취가 가능한 장점들을 가지고 있어 세포치료의 재료로써 적합하다고 할 수 있다. 최근의 연구에 의하면 골 및 연골을 형성하는 능력이 골수기원의 간엽줄기세포와 같은 분화 능력에 대한 가능성을 보이고 있어 임상적인 유용성에 대해서도 기대되고 있다[47]. 또한 동물실험에서 지방줄기세포는 토끼의 골연골 결손을 치유하는데 사용되어 왔다. Nathan 등[48]은 토끼의 대퇴골에 결손을 만들고, 결손부위에 지방줄기세포와 혈청 섬유소로 처치하여 기존의 방법과 비교 관찰한 결과 골연골 치유 능력이 우수하다는 결과를 보고하였다.

(3) 활막줄기세포

관절강을 싸고 있는 활막줄기세포는 활막의 표면을 덮고 있는 세포로 synovial lining derived stem cells로 불리고 있다. 다른 세포와는 달리 독특하게 높은 uridine diphosphoglucose dehydrogenase 활성과 상대적으로 현저히 높은 CD44의 표현형 발현을 보이고 있기 때문에 연골세포로의 분화가 쉬운 세포로 알려져 있다. 또한 연골세포와 가장 근접한 환경에 위치하고 있으며, 연골세포와 유사한 cartilage oligomeric matrix protein (COMP), link protein 그리고 glycosaminoglycan (GAG) 등의 기질인자들을 발현하고 있어서 다른 어떤 조직의 줄기세포보다 연골세포로의 분화가 뛰어난 장점을 가지고 있다[49-51]. 실제로 생체 내에서 활막줄기세포는 인근의 부분연골결손의 재생에 기여를 하는 것으로 보고되고 있다[52]. 활막줄기세포는 높은 재생능력을 가지고 있는데 관절 내에서 채취된 후에도 완벽하게 재생이 되며, 약 2주간의 배양만으로도 많은 수의

세포를 얻을 수 있다. 또한 체외(*in vitro*) 배양에서도 뛰어난 재생능력을 가지고 있다. 이러한 이유들 때문에 활막줄기세포는 연골재생을 위한 세포치료제와 조직공학적 연구에서 많은 기대를 모으고 있으며, 최근 Pei 등[52]은 동종의 활막줄기세포로 제작된 미성숙 연골조직을 연골 전층 결손에 이식하여 성공한 결과를 보고하였다.

(4) 근육줄기세포

근육줄기세포는 성체줄기세포의 하나이며, 근육 손상 시 근육조직의 재생에 관여하는 근육 위성세포(satellite cell) 중 일부분에서 분리된다. 이러한 근육세포는 뼈, 연골, 지방, 인대, 근육 등으로 분화가 유도됨을 이미 확인하였고, 또한 뼈 형성 단백질-4 (BMP-4)를 생산하도록 유전자 조작하여 관절염으로 연골 손상을 당한 동물을 치료하는데 성공하였다[53].

2) 배아줄기세포를 이용한 연골재생: 임상적용의 미래가능 세포

배아줄기세포(embryonic stem cell)는 착상 전 배반포(blastocyte)의 내세포괴(inner cell mass)를 분리하여 미분화 상태에서 배양 후 수립된 세포주이다. 배아줄기세포는 체외에서 계대 배양이 가능하며, 부유 배양하면 세포들이 서로 응집하여 embryoid bodies (EBs)라는 구상의 세포 덩어리를 형성한다. EBs는 배아(embryo)의 발생과 유사한 분화 양상을 나타내며 여러 형태의 세포로 분화가 가능하다. 이러한 세포 분화 체계는 지방세포, 연골세포, 신경세포 등 여러 형태의 세포분화 연구에 이용되고 있다. 미국 라이스대학의 Kyriacos A. Athanasious 교수팀은 인간배아줄기세포에서 연골을 성장 시키는 기술을 개발하여 임상적용에 있어 새로운 가능성을 제시하였다[54,55].

줄기세포의 분화조절

흔히 줄기세포는 일단 이식이 되면 주위 환경에 의해 이식된 조직과 유사한 세포로 분화한다고 믿고 있으나, 아쉽게도 손상된 조직은 정상 조직이 아닌 섬유성 조직으로 구성되어 있는 경우가 많다. 따라서 줄기세포가 이식된 후 원하는 세포로 분화를 시키는 것은 임상적 성공을 좌우하는 중요한 요인이다. 줄기 세포의 분화를 조절하기 위해 이식 부위를

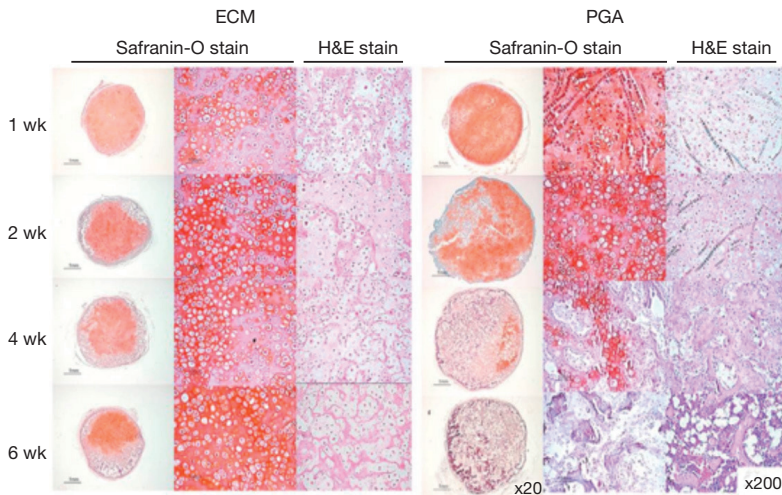


Figure 2. Accumulation of sulfated proteoglycans in the specimens *in vivo*. The extracellular matrix (ECM) and polyglycolic acid (PGA) samples were cultured for 1 week *in vitro* before implantation in the backs of nude mice. The implanted specimens (n=5/time point/group) were retrieved at 1, 2, 4 and 6 weeks after implantation. The specimens were processed to prepare thin sections, each 4 mm in thickness. The sections were stained with Safranin-O/fast green (first two columns) and hematoxylin/eosin (last column) to observe accumulation of sulfated proteoglycans and the distribution of cells, respectively. The stained images are presented as a whole sample (first columns, x20) and at high magnification (second and last columns, x200).

줄기세포가 분화되는 환경으로 만들어 주는 방법이나 줄기세포의 분화를 이식 전에 결정 지운 후 이식하는 방법이 시도될 수 있다. 전자를 위해서 줄기세포가 전달되는 지지체의 재료적 특성을 이용하거나 성장인자 및 사이토카인과 같은 생리적 인자가 방출되도록 지지체를 제조하는 방법이 연구되고 있고, 후자를 위해서 생리적 인자나 기계적인 자극을 이용하여 이식 전에 분화 방향을 미리 결정한 후 이식하는 방법이 연구되고 있다.

1. 생체재료를 이용한 줄기세포 분화조절

줄기세포의 연골세포로의 분화를 위해서 제공되는 삼차원 환경에는 다양한 재료들이 사용된다. 알긴산염, 아가로스, 히알루론산, 피브린, 콜라겐과 같은 다양한 천연지지체나 PGA, PLA, polylactic-co-glycolic acid 등과 같은 생분해성 고분자 합성 지지체에 줄기세포를 접종하여 체외나 체내(*in vivo*)에서 연골세포로의 분화를 유도할 수 있다. 이러한 재료는 화학적 구조나 물리적 형태에 따라 줄기세포의 분화에 영향을 미칠 수 있다. 예를 들면 알긴산 수화젤은 높은

친수성 및 낮은 세포친화성 때문에 세포와의 상호작용이 매우 제한적인 단점을 가지고 있다. 즉 알긴산 수화젤은 친수성이 높기 때문에 단백질의 흡착이 방해되고, 이로 인해 세포와의 직접적인 상호작용이 제한될 수밖에 없다 [56]. 그러나 알긴산에 세포부착 리간드인 arginine-glycine-aspartic acid (RGD) 펩티드를 결합시켜 세포의 증식 및 분화를 향상시킬 수 있으며 [57], 또한 RGD는 PEG나 여러 종류의 수화젤에서 MSC의 생존율을 유지시켜주어 [58,59] 연골세포의 분화의 시작에 있어서 중요한 역할을 한다고 보고되었다 [60,61]. 필자는 동물 연골세포의 세포외기질(extracellular matrix, ECM)을 이용하여 다공성의 ECM 지지체를 제작한 후, 줄기세포가 연골세포로 분

화하는 데 미치는 영향을 관찰하였다 [62,63]. 즉 토끼의 중간엽 줄기세포를 ECM 지지체에 접촉하여 6주 동안 체외 배양하여 관찰한 결과, 조직학적 분석과 면역 염색에서 정상연골과 유사할 만큼 단백질과 GAG의 함량이 증가하였으며, 제 2형 교원질(type II collagen)의 발현도 증가하였다. 이를 대표적인 합성 고분자인 PGA와 비교한 결과, PGA는 배양기간이 오래될수록 오히려 골 형성이 촉진되는 반면에 연골세포에서 분비된 세포외기질로 만들어진 ECM 지지체는 연골 형성능이 오랫동안 유지되고 있음을 확인하였다 (Figure 2) [63].

2. 기계적 자극을 이용한 줄기세포의 분화 조절

연골은 발달 단계에서부터 물리/화학적 자극에 대한 연골세포의 반응과 연관되어 있다. 정상 연골조직은 항상 기계적 자극을 받는 환경에 있으며 기계적 자극이 없을 시 쉽게 사멸하거나 정상 기능을 하지 못하는 것으로 알려져 있다. 특히 관절운동(joint loading)시 발생하는 다양한 물리적 자극은 세포막을 통해 화학적 자극으로 전환되어 연골구조

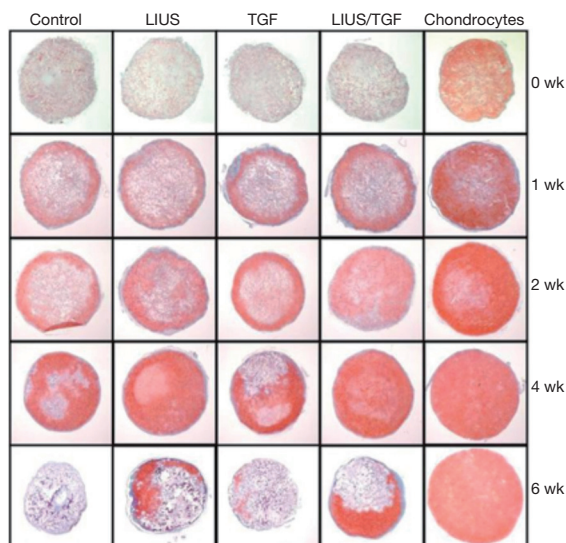


Figure 3. Histologic features of Safranin O/fast green staining for the implanted constructs at different time points. The specimens in the low-intensity ultrasound (LIUS) groups were better with regard to accumulation of cartilage-specific extracellular matrix than were those in the non-LIUS groups. The effect of transforming growth factor (TGF)- β 1 on chondrogenic differentiation seemed to be insignificant, regardless of LIUS.

의 발생 및 유지에 중요한 영향을 미치게 된다[64,65]. 체외 배양 시 TGF- β , IGF 등과 같은 성장인자의 처리와 마찬가지로 다양한 기계적 자극이 연골조직 형성에 매우 효과적이다[66]. 필자는 저장도 초음파로 기계적 자극을 주어 중간엽 줄기세포의 연골세포 분화 유도에 처음으로 성공한 바 있다[41,67]. 삼차원 지지체로 알지네이트를 이용한 삼차원 배양 시 저장도 초음파 자극을 주어 연골세포로의 분화를 유도한 뒤, 다시 단층배양(monolayer culture)을 하여 탈분화(de-differentiation)를 유도한 결과 초음파 처리된 세포들은 연골 분화 환경이 아님에도 불구하고 연골세포의 표현형을 오랫동안 유지하는 것을 확인하였다[67]. 이는 체내 분화 결과에서도 마찬가지로 PGA 삼차원 환경에서 중간엽 줄기세포 배양 시 저장도 초음파를 1주 동안 전처리한 결과 연골조직의 표현형을 계속 유지할 수 있었다(Figure 3) [41].

3. 줄기세포의 전처리

분화를 유도하기 위한 전처리 기술은 줄기세포를 이식 후

원하는 조직으로의 효율적인 분화를 유도하기 위해 매우 중요하다. MSC는 특별한 분화 환경에서 뼈, 연골, 근육 등의 다양한 조직으로 분화할 수 있는 잠재력을 지니고 있다. 이러한 줄기세포는 원하는 조직으로 분화를 유도하기 위해 배양 환경이나 성장인자 및 사이토카인 등뿐만 아니라 기계적인 자극을 이용하여 적절한 배양 조건을 찾아야 한다 [68,69]. Das 등[70]은 중간엽 줄기세포에 대한 hypoxia condition의 역할에 대해 보고하였다. 체내 배양에서 hypoxia condition은 세포 사멸을 유도하지만, 중간엽 줄기세포에 대한 hypoxic state의 전처리는 세포의 증식을 증가시키며 원하는 조직으로는 분화를 강화시킨다. 또한 hypoxia는 MSCs의 이동과 homing에 대한 중요한 역할을 한다는 보고가 있다. 심근경색을 치료를 위해 사용되고 있는 줄기세포에 대한 전처리 기술은 이식된 세포의 pro-survival protein과 cardiogenic marker를 증가시켜 세포사멸을 방지함으로써 치료의 효과를 높이고 있음이 보고되고 있다 [71]. 또한 세포에 대한 기계적 자극은 안전성이 높아 이식 시에 응용할 수 있을 것으로 보인다. 즉 줄기세포를 이식 전, 즉 배양 상태에서 기계적 자극으로 처리하여 연골세포로의 분화 방향을 설정할 수 있거나, 혹은 이식한 후 기계적 자극으로 줄기세포가 연골세포로 분화될 수 있다면 매우 높은 이식 성공률을 보이게 될 것이다. 필자는 PGA/중간엽 줄기세포의 조직을 생체 내로 이식하기 이전에 생체 외 배양에서 초음파를 전처리하여 마우스에 이식한 결과(Figure 3), 초음파 전처리 그룹은 대조군에 비해 골분화가 지연되면서 연골 분화 정도를 오랫동안 유지하고 있는 것을 확인하였다. 또한 PGA/중간엽 줄기세포의 조직을 누드 마우스에 이식하여 저장도 초음파로 자극한 결과 저장도 초음파 처리 그룹에서 GAG와 콜라겐 양이 대조군에 비해 크게 증가함을 확인하였다[41].

결론

줄기세포는 많은 세포원이 있으며 표현형이 변화되지 않으면서 증식할 수 있는 세포로 근골격계 재생에 있어서 매우 매력적인 세포이다. 더욱이 이식 후 면역거부반응을 보이지

않아 동종의 세포치료제 혹은 배양 조직 이식으로의 가능성이 열리고 있다. 줄기세포의 배양시 다양한 분화층이 보고되고 있지만 이식 후 원하는 조직으로의 분화 조절 기술이 충분치 않아 이에 대한 많은 연구가 필요하다. 이러한 이유들도 인해 줄기세포는 아직 임상적 이용에 있어서 매우 초보 단계에 있으나 배양 기술의 발달과 함께 세포분화를 조절하는 기술이 개발되고 있으며 또한 우수한 세포전달체 혹은 지지체가 개발되고 있어 근골격계 임상적응을 위한 줄기세포의 미래는 매우 밝다고 할 수 있다.

핵심용어: 줄기세포; 근골격계; 조직공학

REFERENCES

- Deans TL, Elisseeff JH. Stem cells in musculoskeletal engineered tissue. *Curr Opin Biotechnol* 2009;20:537-544.
- Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, Moorman MA, Simonetti DW, Craig S, Marshak DR. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* 1999;284:143-147.
- Kuo CK, Li WJ, Mauck RL, Tuan RS. Cartilage tissue engineering: its potential and uses. *Curr Opin Rheumatol* 2006;18:64-73.
- Liu ZJ, Zhuge Y, Velazquez OC. Trafficking and differentiation of mesenchymal stem cells. *J Cell Biochem* 2009;106:984-991.
- Abarbanell AM, Coffey AC, Fehrenbacher JW, Beckman DJ, Herrmann JL, Weil B, Meldrum DR. Proinflammatory cytokine effects on mesenchymal stem cell therapy for the ischemic heart. *Ann Thorac Surg* 2009;88:1036-1043.
- Haider HK, Jiang S, Idris NM, Ashraf M. IGF-1-overexpressing mesenchymal stem cells accelerate bone marrow stem cell mobilization via paracrine activation of SDF-1alpha/CXCR4 signaling to promote myocardial repair. *Circ Res* 2008;103:1300-1308.
- Karp JM, Leng Teo GS. Mesenchymal stem cell homing: the devil is in the details. *Cell Stem Cell* 2009;4:206-216.
- Tuan RS, Boland G, Tuli R. Adult mesenchymal stem cells and cell-based tissue engineering. *Arthritis Res Ther* 2003;5:32-45.
- Kavalkovich KW, Boynton RE, Murphy JM, Barry F. Chondrogenic differentiation of human mesenchymal stem cells within an alginate layer culture system. *In Vitro Cell Dev Biol Anim* 2002;38:457-466.
- Radice M, Brun P, Cortivo R, Scapinelli R, Battaliard C, Abatangelo G. Hyaluronan-based biopolymers as delivery vehicles for bone-marrow-derived mesenchymal progenitors. *J Biomed Mater Res* 2000;50:101-109.
- Nuttelman CR, Tripodi MC, Anseth KS. In vitro osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells photoencapsulated in PEG hydrogels. *J Biomed Mater Res A* 2004;68:773-782.
- Williams CG, Kim TK, Taboas A, Malik A, Manson P, Elisseeff J. In vitro chondrogenesis of bone marrow-derived mesenchymal stem cells in a photopolymerizing hydrogel. *Tissue Eng* 2003;9:679-688.
- Tiedeman JJ, Garvin KL, Kile TA, Connolly JF. The role of a composite, demineralized bone matrix and bone marrow in the treatment of osseous defects. *Orthopedics* 1995;18:1153-1158.
- Gepstein R, Weiss RE, Hallel T. Bridging large defects in bone by demineralized bone matrix in the form of a powder. A radiographic, histological, and radioisotope-uptake study in rats. *J Bone Joint Surg Am* 1987;69:984-992.
- Summers BN, Eisenstein SM. Donor site pain from the ilium: a complication of lumbar spine fusion. *J Bone Joint Surg Br* 1989;71:677-680.
- Coventry MB, Tapper EM. Pelvic instability: a consequence of removing iliac bone for grafting. *J Bone Joint Surg Am* 1972;54:83-101.
- Lee SW, Padmanabhan P, Ray P, Gambhir SS, Doyle T, Contag C, Goodman SB, Biswal S. Stem cell-mediated accelerated bone healing observed with in vivo molecular and small animal imaging technologies in a model of skeletal injury. *J Orthop Res* 2009;27:295-302.
- Granero-Molto F, Weis JA, Miga MI, Landis B, Myers TJ, O'Rear L, Longobardi L, Jansen ED, Mortlock DP, Spagnoli A. Regenerative effects of transplanted mesenchymal stem cells in fracture healing. *Stem Cells* 2009;27:1887-1898.
- Caplan AI. Mesenchymal stem cells. *J Orthop Res* 1991;9:641-650.
- Haynesworth SE, Baber MA, Caplan AI. Cell surface antigens on human marrow-derived mesenchymal cells are detected by monoclonal antibodies. *Bone* 1992;13:69-80.
- Haynesworth SE, Goshima J, Goldberg VM, Caplan AI. Characterization of cells with osteogenic potential from human marrow. *Bone* 1992;13:81-88.
- Beresford JN. Osteogenic stem cells and the stromal system of bone and marrow. *Clin Orthop Relat Res* 1989;(240):270-280.
- Brighton CT. The biology of fracture repair. *Instr Course Lect* 1984;33:60-82.
- Bruder SP, Eames BF, Haynesworth SE. Osteogenic induction of purified human mesenchymal stem cells in vitro: quantitative assessment of the osteoblastic phenotype. *Trans Orthop Res Soc* 1995;20:464.
- Takahashi T, Tominaga T, Watabe N, Yokobori AT Jr, Sasada H, Yoshimoto T. Use of porous hydroxyapatite graft containing recombinant human bone morphogenetic protein-2 for cervical fusion in a caprine model. *J Neurosurg* 1999;90(2 Suppl):224-230.

26. Asahina I, Watanabe M, Sakurai N, Mori M, Enomoto S. Repair of bone defect in primate mandible using a bone morphogenetic protein (BMP)-hydroxyapatite-collagen composite. *J Med Dent Sci* 1997;44:63-70.
27. Barberi T, Bradbury M, Dincer Z, Panagiotakos G, Socci ND, Studer L. Derivation of engraftable skeletal myoblasts from human embryonic stem cells. *Nat Med* 2007;13:642-648.
28. Beauchamp JR, Morgan JE, Pagel CN, Partridge TA. Dynamics of myoblast transplantation reveal a discrete minority of precursors with stem cell-like properties as the myogenic source. *J Cell Biol* 1999;144:1113-1122.
29. Rossi CA, Elvassore N, Flaibani M, Pozzobon M, Blaauw B, Reggiani C. Freshly isolated mouse satellite cells embedded in hyaluronan-based hydrogel allow histological and functional recovery of partially ablated tibialis anterioris muscle. *International Society for Stem Cell Research 7th Annual Meeting*; 2009 Jul 8-11; Barcelona, Spain.
30. Kang SW, Bada LP, Kang CS, Lee JS, Kim CH, Park JH, Kim BS. Articular cartilage regeneration with microfracture and hyaluronic acid. *Biotechnol Lett* 2008;30:435-439.
31. Breinan HA, Martin SD, Hsu HP, Spector M. Healing of canine articular cartilage defects treated with microfracture, a type-II collagen matrix, or cultured autologous chondrocytes. *J Orthop Res* 2000;18:781-789.
32. Kramer J, Bohrsen F, Lindner U, Behrens P, Schlenke P, Rohwedel J. In vivo matrix-guided human mesenchymal stem cells. *Cell Mol Life Sci* 2006;63:616-626.
33. Dorotka R, Bindreiter U, Macfelda K, Windberger U, Nehrer S. Marrow stimulation and chondrocyte transplantation using a collagen matrix for cartilage repair. *Osteoarthritis Cartilage* 2005;13:655-664.
34. Wakitani S, Goto T, Pineda SJ, Young RG, Mansour JM, Caplan AI, Goldberg VM. Mesenchymal cell-based repair of large, full-thickness defects of articular cartilage. *J Bone Joint Surg Am* 1994;76:579-592.
35. Wakitani S, Imoto K, Yamamoto T, Saito M, Murata N, Yoneda M. Human autologous culture expanded bone marrow mesenchymal cell transplantation for repair of cartilage defects in osteoarthritic knees. *Osteoarthritis Cartilage* 2002;10:199-206.
36. Wakitani S, Mitsuoka T, Nakamura N, Toritsuka Y, Nakamura Y, Horibe S. Autologous bone marrow stromal cell transplantation for repair of full-thickness articular cartilage defects in human patellae: two case reports. *Cell Transplant* 2004;13:595-600.
37. Im GI, Kim DY, Shin JH, Hyun CW, Cho WH. Repair of cartilage defect in the rabbit with cultured mesenchymal stem cells from bone marrow. *J Bone Joint Surg Br* 2001;83:289-294.
38. Liu Y, Shu XZ, Prestwich GD. Osteochondral defect repair with autologous bone marrow-derived mesenchymal stem cells in an injectable, in situ, cross-linked synthetic extracellular matrix. *Tissue Eng* 2006;12:3405-3416.
39. Hui JH, Chen F, Thambyah A, Lee EH. Treatment of chondral lesions in advanced osteochondritis dissecans: a comparative study of the efficacy of chondrocytes, mesenchymal stem cells, periosteal graft, and mosaicplasty (osteochondral autograft) in animal models. *J Pediatr Orthop* 2004;24:427-433.
40. Kuroda R, Ishida K, Matsumoto T, Akisue T, Fujioka H, Mizuno K, Ohgushi H, Wakitani S, Kurosaka M. Treatment of a full-thickness articular cartilage defect in the femoral condyle of an athlete with autologous bone-marrow stromal cells. *Osteoarthritis Cartilage* 2007;15:226-231.
41. Cui JH, Park SR, Park K, Choi BH, Min BH. Preconditioning of mesenchymal stem cells with low-intensity ultrasound for cartilage formation in vivo. *Tissue Eng* 2007;13:351-360.
42. Yan H, Yu C. Repair of full-thickness cartilage defects with cells of different origin in a rabbit model. *Arthroscopy* 2007;23:178-187.
43. Lee KB, Hui JH, Song IC, Ardany L, Lee EH. Injectable mesenchymal stem cell therapy for large cartilage defects-a porcine model. *Stem Cells* 2007;25:2964-2971.
44. Chen WH, Lai MT, Wu AT, Wu CC, Gelovani JG, Lin CT, Hung SC, Chiu WT, Deng WP. In vitro stage-specific chondrogenesis of mesenchymal stem cells committed to chondrocytes. *Arthritis Rheum* 2009;60:450-459.
45. Erices A, Conget P, Minguell JJ. Mesenchymal progenitor cells in human umbilical cord blood. *Br J Haematol* 2000;109:235-242.
46. Winter A, Breit S, Parsch D, Benz K, Steck E, Hauner H, Weber RM, Ewerbeck V, Richter W. Cartilage-like gene expression in differentiated human stem cell spheroids: a comparison of bone marrow-derived and adipose tissue-derived stromal cells. *Arthritis Rheum* 2003;48:418-429.
47. Im GI, Shin YW, Lee KB. Do adipose tissue-derived mesenchymal stem cells have the same osteogenic and chondrogenic potential as bone marrow-derived cells? *Osteoarthritis Cartilage* 2005;13:845-853.
48. Nathan S, Das De S, Thambyah A, Fen C, Goh J, Lee EH. Cell-based therapy in the repair of osteochondral defects: a novel use for adipose tissue. *Tissue Eng* 2003;9:733-744.
49. Recklies AD, Baillargeon L, White C. Regulation of cartilage oligomeric matrix protein synthesis in human synovial cells and articular chondrocytes. *Arthritis Rheum* 1998;41:997-1006.
50. Fife RS, Caterson B, Myers SL. Identification of link proteins in canine synovial cell cultures and canine articular cartilage. *J Cell Biol* 1985;100:1050-1055.
51. Hamerman D, Smith C, Keiser HD, Craig R. Glycosaminoglycans produced by human synovial cell cultures. *Coll Relat Res* 1982;2:313-329.
52. Pei M, He F, Boyce BM, Kish VL. Repair of full-thickness femoral condyle cartilage defects using allogeneic synovial

- cell-engineered tissue constructs. *Osteoarthritis Cartilage* 2009;17:714-722.
53. Matsumoto T, Kubo S, Meszaros LB, Corsi KA, Cooper GM, Li G, Usas A, Osawa A, Fu FH, Huard J. The influence of sex on the chondrogenic potential of muscle-derived stem cells: implications for cartilage regeneration and repair. *Arthritis Rheum* 2008;58:3809-3819.
 54. Hwang NS, Varghese S, Lee HJ, Zhang Z, Ye Z, Bae J, Cheng L, Elisseeff J. In vivo commitment and functional tissue regeneration using human embryonic stem cell-derived mesenchymal cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;105:20641-20646.
 55. Hoben GM, Willard VP, Athanasiou KA. Fibrochondrogenesis of hESCs: growth factor combinations and cocultures. *Stem Cells Dev* 2009;18:283-292.
 56. Rowley JA, Madlambayan G, Mooney DJ. Alginate hydrogels as synthetic extracellular matrix materials. *Biomaterials* 1999;20:45-53.
 57. Yu J, Du KT, Fang Q, Gu Y, Mihadja SS, Sievers RE, Wu JC, Lee RJ. The use of human mesenchymal stem cells encapsulated in RGD modified alginate microspheres in the repair of myocardial infarction in the rat. *Biomaterials* 2010;31:7012-7020.
 58. Salinas CN, Cole BB, Kasko AM, Anseth KS. Chondrogenic differentiation potential of human mesenchymal stem cells photoencapsulated within poly(ethylene glycol)-arginine-glycine-aspartic acid-serine thiol-methacrylate mixed-mode networks. *Tissue Eng* 2007;13:1025-1034.
 59. Nuttelman CR, Tripodi MC, Anseth KS. Synthetic hydrogel niches that promote hMSC viability. *Matrix Biol* 2005;24:208-218.
 60. DeLise AM, Fischer L, Tuan RS. Cellular interactions and signaling in cartilage development. *Osteoarthritis Cartilage* 2000;8:309-334.
 61. Tavella S, Bellese G, Castagnola P, Martin I, Piccini D, Doliana R, Colombatti A, Cancedda R, Tacchetti C. Regulated expression of fibronectin, laminin and related integrin receptors during the early chondrocyte differentiation. *J Cell Sci* 1997;110(Pt 18):2261-2270.
 62. Jin CZ, Choi BH, Park SR, Min BH. Cartilage engineering using cell-derived extracellular matrix scaffold in vitro. *J Biomed Mater Res A* 2010;92:1567-1577.
 63. Choi KH, Choi BH, Park SR, Kim BJ, Min BH. The chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells on an extracellular matrix scaffold derived from porcine chondrocytes. *Biomaterials* 2010;31:5355-5365.
 64. Mobasheri A, Carter SD, Martín-Vasallo P, Shakibaei M. Integrins and stretch activated ion channels; putative components of functional cell surface mechanoreceptors in articular chondrocytes. *Cell Biol Int* 2002;26:1-18.
 65. Williams GM, Klisch SM, Sah RL. Bioengineering cartilage growth, maturation, and form. *Pediatr Res* 2008;63:527-534.
 66. Park K, Cho KJ, Kim JJ, Kim IH, Han DK. Functional PLGA scaffolds for chondrogenesis of bone-marrow-derived mesenchymal stem cells. *Macromol Biosci* 2009;9:221-229.
 67. Lee HJ, Choi BH, Min BH, Park SR. Low-intensity ultrasound inhibits apoptosis and enhances viability of human mesenchymal stem cells in three-dimensional alginate culture during chondrogenic differentiation. *Tissue Eng* 2007;13:1049-1057.
 68. Koay EJ, Athanasiou KA. Development of serum-free, chemically defined conditions for human embryonic stem cell-derived fibrochondrogenesis. *Tissue Eng Part A* 2009;15:2249-2257.
 69. Barry F, Boynton RE, Liu B, Murphy JM. Chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells from bone marrow: differentiation-dependent gene expression of matrix components. *Exp Cell Res* 2001;268:189-200.
 70. Das R, Jahr H, van Osch GJ, Farrell E. The role of hypoxia in bone marrow-derived mesenchymal stem cells: considerations for regenerative medicine approaches. *Tissue Eng Part B Rev* 2010;16:159-168.
 71. Haider HK, Ashraf M. Preconditioning and stem cell survival. *J Cardiovasc Transl Res* 2010;3:89-102.



Peer Reviewers' Commentary

본 논문은 최근 다양한 질환에 대한 신치료 기술로 많은 관심을 받고 있는 줄기세포를 이용한 근골격계 치료기술에 대한 최신 동향을 기술하고 있다. 골, 골격근, 연골을 중심으로 조직공학적인 재생기술과 임상적 치료기술에 대해 잘 설명하고 있으며, 특히 연골재생에 대해서는 다양한 세포원의 활용 가능성과 치료 적용 및 기존 수술적 치료와의 병합 치료기법 등에 대해 최신 연구 동향을 상세히 소개한다. 줄기세포 기술은 앞으로 근골격계 손상의 치료의 핵심 기술이 될 것으로 생각되지만, 아직 최적화된 치료기법이 확립되지 않았다는 한계점이 있다. 향후 치료방법 및 조건의 최적화를 통해 재현성이 높고 효능에 대한 예측이 가능한 치료기법을 확립하기 위해서는 많은 노력이 필요할 것이다.

[정리:편집위원회]