

질병치료제로서 줄기세포의 특성

서검석

원광대학교 의과대학 내과학교실, 소화기질환연구소

Stem Cell Properties of Therapeutic Potential

Geom Seog Seo

Department of Internal Medicine, Digestive Disease Research Institute, Wonkwang University College of Medicine, Iksan, Korea

Stem cell research is a innovative technology that focuses on using undifferentiated cells able to self-renew through the asymmetrical or symmetrical divisions. Three types of stem cells have been studied in laboratory including embryonic stem cell, adult stem cells and induced pluripotent stem cells. Embryonic stem cells are pluripotent stem cells derived from the inner cell mass and it can give rise to any fetal or adult cell type. Adult stem cells are multipotent, have the ability to differentiate into a limited number of specialized cell types, and have been obtained from the bone marrow, umbilical cord blood, placenta and adipose tissue. Stem cell therapy is the most promising therapy for several degenerative and devastating diseases including digestive tract disease such as liver failure, inflammatory bowel disease, Celiac sprue, and pancreatitis. Further understanding of biological properties of stem cells will lead to safe and successful stem cell therapies. (Korean J Gastroenterol 2011;58:125-132)

Key Words: Pluripotent stem cell; Multipotent; Digestive tract disease; Stem cell properties

서 론

줄기세포(stem cell)는 미분화 세포로서 대칭적(symmetrical) 또는 비대칭적(asymmetrical)인 세포 분열 방식을 통해 특정한 기능을 가지는 세포로 분화 및 자가재생산(self-renewal)을 유지할 수 있는데, 자가재생산이란 미분화성과 다중분화능(multipotent)을 가진 줄기세포를 세포분열을 통해 재생산하는 과정을 말한다.^{1,2} 줄기세포는 태아의 발생 과정에서 모든 조직에 존재하고, 성인에서는 골수, 상피조직 등 일부 조직에서 발견되고 있다. 1998년 최초로 인간 배아줄기세포 배양이 성공한 이후,³ 줄기세포에 대한 관심이 높아지고 있는데, 줄기세포는 크게 배아줄기세포(embryonic stem cells), 성체줄기세포(adult stem cells), 유도만능줄기세포(induced pluripotent stem cells, iPSCs)로 구분할 수 있다. 줄기세포는 분화 가능한 세포의 종류에 따라 수정란이 첫 분열을 시작

할 때 형성되는 전능성 줄기세포(totipotent stem cell), 초기 수정란세포가 분열하면서 여러 장기로 분화되기 전 단계의 세포로서 태아나 성체의 모든 세포로 가는 만능성 줄기세포(pluripotent stem cell), 제한된 장기로만 분화가 가능한 다능성 줄기세포(multipotent stem cell)로 분류할 수 있다.

줄기세포를 이용한 세포치료는 퇴행성, 난치성 질환을 앓고 있는 많은 환자들에게 희망이 되는 치료법이기도 하지만, 배아줄기세포를 이용한 치료의 경우 인간 배아를 사용해야 하는 생명윤리적 논란과 함께 종양 발생의 가능성이 있다는 것이 문제점으로 지적되고 있다. 소화기 관련 질환 중 염증성 장질환, 셀리악병(celiac disease), 급성 간 부전, 간경변, 광범위 간 절제술 후 간 부전, 췌장염 등에 대해 줄기세포 치료를 시도하여 일부 효과를 보고 있으나, 미분화 상태의 지속유지를 위한 작용기전, 분자생물학적 이해, 유전형에 따른 줄기세포 확보, 면역거부 반응 해결 등 더 많은 연구가 필요한 상

© This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

교신저자: 서검석, 570-711, 전북 익산시 신용동 344-2, 원광대학교 의과대학 내과학교실, 소화기질환연구소

Correspondence to: Geom Seog Seo, Department of Internal Medicine, Digestive Disease Research Institute, Wonkwang University College of Medicine, 344-2, Shinyong-dong, Iksan 570-711, Korea. Tel: +82-63-859-2565, Fax: +82-63-855-2025, E-mail: medsgs@wonkwang.ac.kr

Financial support: This paper was supported by Wonkwang University in 2011-09-05. Conflict of interest: None.

황이다. 이번 원고에서는 줄기세포의 일반적 특성 및 소화기 영역과 관련된 줄기세포의 세포학적 특성에 대해서 기술하고자 한다.

본 론

1. 줄기세포의 일반적 특성

1) 배아줄기세포(embryonic stem cells)

인체의 모든 세포를 만들어 낼 수 있는 전능성 줄기세포(totipotent stem cell)인 수정란은 여러 차례의 세포분열을 거쳐 배반포(blastocyst)를 형성한다. 배반포는 영양배엽세포(trophoblast cell)와 인체를 형성할 수 있는 내부세포괴(inner cell mass)로 구분하는데, 줄기세포를 얻기 위해서는 내부세포괴만을 분리해야 한다. 내부세포괴는 모든 필요한 세포로 분화하지만 완전한 기관을 형성하지는 못하는 다능성 줄기세포(pluripotent stem cells)로 구성되어 있으며, 주위환경 인자의 영향을 받아 내배엽(endoderm), 중배엽(mesoderm), 외배엽(ectoderm)으로 분화한다. 마우스의 배아영양세포층(mouse embryonal feeder layer, MEF)을 이용하여 내부세포괴를 공동배양(co-culture)하면 3-5일 후부터 콜로니(colony) 형성을 관찰할 수 있다.⁴ 원형의 콜로니 및 세포핵이 70% 이상인 세포의 형태를 보이면 줄기세포로 판정하고 확립된 세포에 대한 염색체 분석, 세포표면 특이항체 발현, 삼배엽성 세포분화, 특이 유전자 발현, 생체 이식 후 테라토마(teratoma) 형성을 확인하여 인간배아줄기세포를 확립할 수 있다.⁵ 배아줄기세포의 자가재생산을 위해서는 외부적 및 내부적 신호전달 이외에도 Chromatin 리모델링,^{6,7} 마이크로 RNA (microRNA),^{8,9} telomere reverse transcriptase (TERT)^{10,11} 등이 관여하는데, 외부적 신호전달에는 leukemia inhibitory factor (LIF),^{12,13} Wnt,^{14,15} fibroblast growth factor (FGF),^{3,16-19} bone morphogenic protein (BMP)²⁰가, 내부적 신호전달에는 octamer-binding transcription factor4 (Oct4),^{21,22} Nanog,²³⁻²⁵ forkhead box O1 (FOXO1)²⁶이 있다. 마우스와 인간배아줄기세포의 자가재생산 기전의 차이점은 인간에서는 LIF가 아닌 FGF 신호전달에 의해 유지된다는 것이다.^{3,27}

2) 성체줄기세포(adult stem cells)

비교적 짧은 기간의 배아줄기세포 연구에 비해, 성체줄기세포 연구는 수십 년 전부터 이루어져 왔으며,²⁸ 주요 치료 대상은 심혈관계질환(심근경색, 심부전), 암, 혈액질환(백혈병, 림프종) 및 뇌질환(뇌졸중, 알츠하이머병) 등이다. 성체줄기세포는 골수, 제대혈(umbilical cord blood), 태반, 혈액, 피부, 지방조직, 신경조직, 간, 췌장도 등에서 추출한 줄기세포의 집합체를 의미한다. 성체줄기세포의 종류 중에서 가장 많

이 연구가 이루어진 것은 조혈모세포(hematopoietic stem cell)이고, 그 외에 재생의학의 재료로 각광받고 있는 중간엽 줄기세포(mesenchymal stem cell), 신경줄기세포(neural stem cell) 등이 있다. 체외증식의 한계로 인하여 많은 양의 미분화 세포를 얻을 수 없고, 분화능력 측면에서도 배아줄기세포에 비해 제한적이라는 단점이 있지만, 윤리적인 문제가 없고, 조직 접합성을 고려하여 추출하면 면역거부반응도 해결할 수 있는 장점이 있다. 성체줄기세포의 특성으로는 자가재생산, 비대칭분열, 분화유연성(plasticity)을 들 수 있다. 비대칭분열이란 줄기세포가 자기복제를 유지해가면서 다른 세포로 분화하는 것을 말한다. 이에 비해 전구(progenitor) 세포는 자가재생산은 없으면서 다른 세포로 분화, 분열만을 하는 대칭분열을 하게 된다.²⁹

분화유연성은 한 개의 특수한 조직형을 띤 세포가 원래 기대되었던 세포가 아닌 다른 세포로 분화가 이루어지는 것을 의미하는데, 혈액세포에서 간세포 및 심장세포로의 분화가 대표적인 예다.^{30,31} CD34, CD38, CD133, c-kit, thy-1 등의 표면항원형을 보이는 조혈모세포³² 분화의 유연성은 간 및 심장 근육에만 국한된 것이 아니라, 연골세포, 신경세포, 근육세포, 뇌세포 등으로 분화될 수 있다.³³ 골수에서 비부착 세포가 조혈모세포인 반면, 부착 세포는 골수의 기질세포를 구성하는 중간엽줄기세포라 할 수 있는데, 제대혈줄기세포나 지방줄기세포 등도 여기에 포함된다.^{34,35}

3) 유도만능줄기세포(iPSCs)

2006년과 2007년에 마우스와 인간 체세포의 인위적 리프로그래밍(reprogramming)에 의해 이미 분화된 세포들이 초기 미분화 상태로 되돌아가는 역분화(dedifferentiation)현상을 증명하였는데, 마우스 체세포에 배아줄기세포의 특성을 유지하는 24개의 후보 유전자들 중에 Oct4, region Y-box 2 (Sox2), Krüppel-like factor4 (Klf4), c-Myc 등 4개의 유전자를 선별하여 레트로바이러스(retrovirus)에 도입 및 발현시켜 만능성(pluripotency)세포를 만들었고,³⁶ 인간 체세포에서도 신경세포, 심장세포로 분화 가능하다는 것을 증명하였다.³⁷ 역분화 유도에 대한 연구는 핵이식으로 탄생한 복제양 돌리와³⁸ 배아줄기세포와 섬유아세포를 융합하였을 때 섬유아세포가 리프로그래밍 과정을 통하여 만능성을 재획득하는 과정을 통해³⁹ 난자 및 배아줄기세포 내에 역분화 인자가 존재한다는 것을 알 수 있다. 역분화를 유도하기 위해 바이러스를 사용하여 하는 문제점이 있지만, 자기자신의 세포를 추출하여 체외 배양을 통해 무한 증식이 가능하고, 원하는 세포를 대량 생산할 수 있으므로, 거부 반응이 없고 자가재생산 및 분화능력이 좋아, 환자특이적 유전질환 및 난치병 치료에 활용될 것으로 기대하고 있다.⁴⁰

2. 소화기관 관련 영역에서 줄기세포의 특성

1) 위장관줄기세포(gastrointestinal stem cells)

태생학적으로 위장관계는 내배엽(endoderm)에서 기원하며, 배아중층상피(embryonic stratified epithelium)는 점차적으로 용모를 덮는 단층으로 전환된다. 장 음와(crypt)는 산후 초기에 위장관줄기세포의 미세환경(niche)이 된다. 구조가 만들어지면 장관을 덮고 있는 상피는 구조-기능적 특성과 증식 동력적(proliferation kinetics) 측면에서 서로 이질적인 구성이 되어 다른 기능을 나타내게 된다.^{41,42} 대부분의 상피는 2-5일만에 교체가 되는데, 이는 조혈기관에 이어 두 번째로 높은 증식률을 보이는 것이다.⁴³ 장의 자가생산력은 장 음와와 위선에 존재하는 다중분화능 위장관줄기세포에 의해 결정되는데,^{44,45} 장줄기세포는 Lieberkuhn 음와의 기저부위에 위치하고 있다. 미세환경에서 장줄기세포는 비대칭적 분화 방법을 통해 전이증폭세포(transit-amplifying cell)가 된다. 이러한 장 전구세포는 상층으로 이동하여 성숙되고, 동시에 고유의 증식능은 소멸되어 최종적으로 완전 분화된 용모성 상피세포가 된다.⁴³ 위에서 줄기세포는 위선의 경부와 협부(isthmus)부위에 있는 것으로 보고하고 있는데, 이동은 양방향이며, 상부로는 소와(foveola)로 이동하여 점막 상피를 형성하고 아래로는 위선의 기저부로 이동하여 벽세포(parietal cell)와 주세포(chief cell)를 이루게 된다.^{44,45}

대장염 동물모델 마우스에 골수세포를 투여하면 골수세포가 위장 상피에 콜로니를 형성하고 재구성할 수 있으므로 위장관계 질환에서 골수유래줄기세포를 질환의 치료에 적용해 볼 수 있을 것이다.^{46,47} 골수줄기세포가 위장관골수세포의 역할을 담당할 뿐만 아니라, 근섬유모세포(myofibroblast)와 같은 지지 요소를 제공해 줌으로써 장관 손상 회복에 참여하여 장관 회복에 관여할 것으로 생각하고 있다. 위장관줄기세포의 분자 특성은 아직 잘 파악하고 있지 못하지만, 위장관줄기세포의 증식 및 분화를 조절하는 상피-간질 세포의 신호전달이 중요할 것으로 생각하고 있다. 대장염에 대한 CD34⁺ 줄기세포,⁴⁸ 기능성질환에 대한 CD34⁺/c-kit^{low+} 카할 간질세포(interstitial cell of Cajal) 관련 줄기세포 연구가 흥미를 끌고 있으며,⁴⁹ 향후 이 분야에 대한 더 많은 연구가 필요할 것이다.

2) 간줄기세포(hepatic stem cells)

간은 간세포, 담관세포 외에도 쿠퍼세포, 간성상세포(hepatic stellate cell), 혈관내피세포로 구성되어 있고, 문맥내담관은 문맥역내에 국한되나, 말단 담도세관인 canal of Hering은 간내 담관을 간세포삭(hepatic cord)과 연결시킨다(Fig. 1).⁵⁰ 간세포삭은 모세혈관과 모세혈관 사이의 간 세포가 일렬로 줄지어 배열되어 있는 모양을 말하며, 1990년대 초까지는 장상피세포와 같이 줄기세포가 간세포삭의 문맥주변부

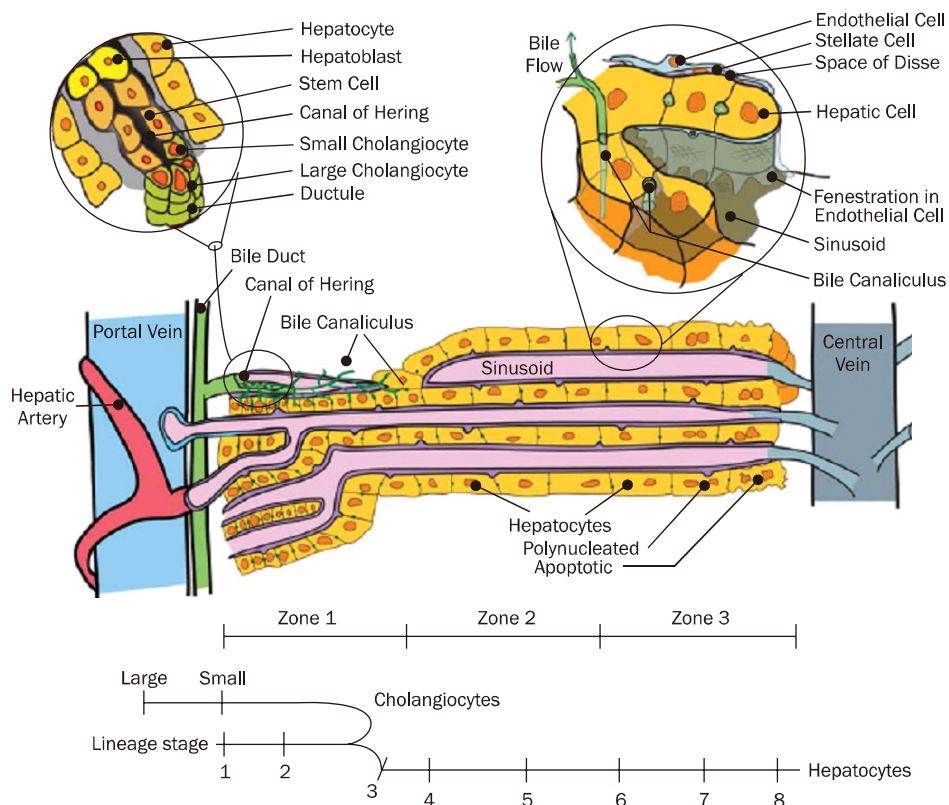
에서 분열하여 서서히 중심정맥 쪽으로 이동해가면서 수명을 다한다는 “stream liver 가설”이 제기되었으나,^{51,52} 후속 실험에서 정상 간세포가 인접한 판의 여러 개에 걸치는 자손세포(progeny)를 형성하고, 중심정맥으로 이동하지 않는다고 증명하였다.⁵³

간에는 성숙한 간세포와 난원세포(hepatic oval cell, hepatic progenitor cell)라는 두 종류의 줄기 세포가 있으며, 이 가운데 성숙한 간세포는 높은 재생력으로 자가증식함으로써 간 재생에 중요한 역할을 하기 때문에 과거부터 줄기세포로 불리워졌다. 부분 간절제, 사염화탄소(CCl₄) 또는 galactosamine 손상을 입은 간에서는 손상된 간세포를 복원하기 위해 중심 정맥 주위부에 위치한 간세포에서 재생이 일어난다.^{54,55} 간내줄기세포는 canal of Hering에 위치하며 난원 세포로 불리는데, 핵이 크고 세포질이 적다. 사염화탄소/2-acetylaminofluorene (2-AAF) 또는 Furan과 같은 약물로 인해 중심 정맥성 간세포 손상을 심하게 받게 되면, 간세포와 담관상피세포로 증식할 수 있다. 간내줄기세포는 발달과정에 따라 다양한 특징을 보이고 있고(Fig. 1),⁵⁰ 간실질세포와 중간엽세포 간의 상호 조절에 있어서 주요한 형태는 측분비 신호전달(paracrine signaling)로, 세포상호 간의 작용을 통하여 각각의 발달 단계를 조절하게 된다(Fig. 2).⁵⁰ 간 난원 세포의 반응을 활성화, 증식, 이동, 분화의 4 단계로 나눌 수 있으며, 몇 가지 인자가 이에 관여하는 것으로 알려져 있으나(Fig. 3),⁵⁶ 세포들이 만들어내는 물질이 무엇이며 또한 어떠한 신호전달을 받는 지는 추후 연구가 필요하다.

간외줄기세포(extra-hepatic stem cell)의 공급원으로 배아줄기세포, 성체줄기세포 중 조혈모세포와 중간엽줄기세포, 그 외에 만능분화줄기세포가 이용될 수 있다. 손상받은 간에 조혈모세포를 투여하면, 간세포로 전위분화(transdifferentiation)되어 간 분화 및 증식이 증가한다는 주장이 있는 반면,⁵⁷⁻⁵⁹ 전위분화한 골수세포의 빈도와 효능성이 낮고 분화속도가 느려, 간세포 내에서 융합(cell fusion)현상에 의해 간세포가 발생한다는 다른 의견도 제시되고 있다.^{60,61}

3) 췌장줄기세포(pancreatic stem cells)

췌관조직을 배양하여 췌도전구세포(islet progenitor cell)를 증폭하고 베타세포로 분화, 유도하는 연구가 이루어진 후,^{62,63} 마우스로부터 무혈청, 집락-형성 분석법(serum free, colony-forming assay)을 통해 췌장줄기세포를 동정하여 신경세포와 췌장세포로 분화할 수 있는 다능성을 갖는 전구세포 분리까지 가능하게 되었다.⁶⁴ Cytokeratin19 (CK19)와 pancreatic and duodenal homeobox1 (PDX1)을 발현하는 췌관세포(pancreatic duct cell)와 췌도세포(islet of Langerhans)는 내분비기능을 가지는 췌도세포로 분화가능하며,^{65,66} nestin-positive islet-derived progenitor cells (NIPs)의 경우



Lineage stage (of viable cells)	1	2	3	4	5	6	7
Parenchymal cells	Hepatic stem cells (hHpSCs)	Hepatoblasts (hHBs)	Committed progenitors	Diploid adult cells			Tetraploid pericentral parenchymal cells
Mesenchymal cells	Angioblasts	Endothelial and stellate cell precursors		Endothelia (hepatocytes) Stellate cells (cholangiocytes)	Endothelia	Endothelia	Endothelia
Size	7-10 μm	10-12 μm	"Small cholangiocytes" 6-7 μm Hepatocytic progenitors 12-15 μm	"Large cholangiocytes" -14 μm Hepatocytes 18-20 μm	22-25 μm	25-30 μm	>30 μm
Growth	Maximum (complete cell division)			Intermediate (complete cell division)		Negligible DNA synthesis but with little, if any cytokinesis	
Genes	Early			Intermediate		Late	
Matrix	Type III, IV, and V collagens, laminins, hyaluronans, CS-PGs, HS-PGs			<<<<Gradient>>>>		Type III, IV, VI collagens, HP-PGs	

Lineage stage 8 consists of apoptotic cells located near the central vein

Fig. 1. Structure of the hepatic lobule. The portal triad consists of bile ducts, hepatic artery, and portal vein.⁵⁰ Mixed blood from the hepatic artery and portal vein flows past hepatocytes through the sinusoids, covered with fenestrated endothelial cells to the central vein. Bile produced by the hepatocytes is collected in the bile canaliculus and flows towards the bile duct. The Canal of Hering is the junction between the hepatic plate and the bile ducts. This is the region where oval cell precursors reside.⁵⁰

ATP-binding cassette transporter를 발현한다.^{67,68} HGF (hepatocyte growth factor)는 배아세포의 발생, 기능, 분화, 증식을 조절하며,⁶⁹ c-kit은 췌도세포와 유사한 전구체에서 발현되어 관련 표지자로 생각하고 있다.^{70,71}

췌장 주위장기 기원 줄기세포 중에서, 간세포,^{72,73} 사람 지방세포유래 중간엽줄기세포,⁷⁴ 장줄기세포⁷⁵ 등이 췌도세포로

분화할 수 있다. 분화된 배아세포로부터 분비되는 인슐린의 양이 적어 이를 극복하기 위한 기술적 향상과 더 많은 기능연구가 필요하다. 최근에는 중간엽줄기세포를 이용하여 췌장염 치료에 좋은 효과를 보인다는 연구도 있어⁷⁶ 이에 대한 추가적인 연구도 필요할 것이다.

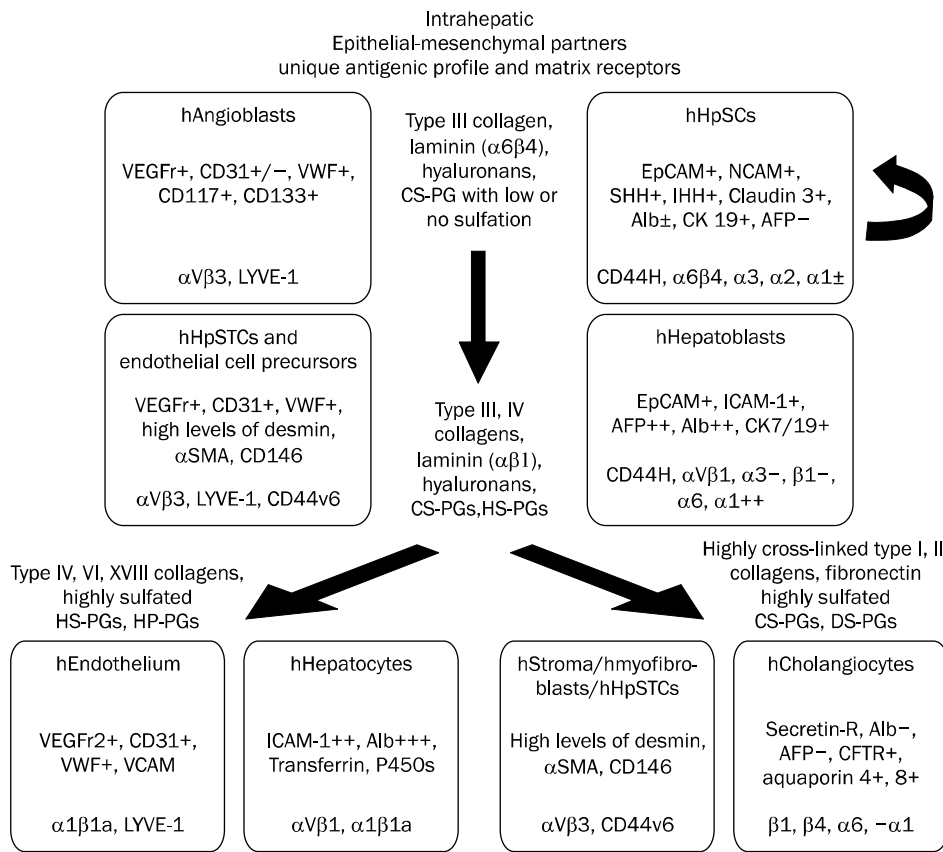


Fig. 2. Schematic image indicating the coordinate maturation of the epithelia (parenchymal cells) and their mesenchymal partners and some of the identified extracellular matrix components found at the particular lineage stages.⁵⁰ Not shown in the figure are the soluble signals that also are lineage dependent. Some of the lineage dependent soluble signals identified are noted in parentheses beside the lineage stage at which they are found: hepatic stem cells (LIF, IL-6, IL-11, and acetylcholine); hepatoblasts (HGF, EGF, β FGF, IL-6, IL-11, and acetylcholine); hepatocytes (HGF, EGF, β FGF, T3, glucagon, and hydrocortisone); cholangiocytes (VEGF, HGF, β FGF and acetylcholine).⁵⁰

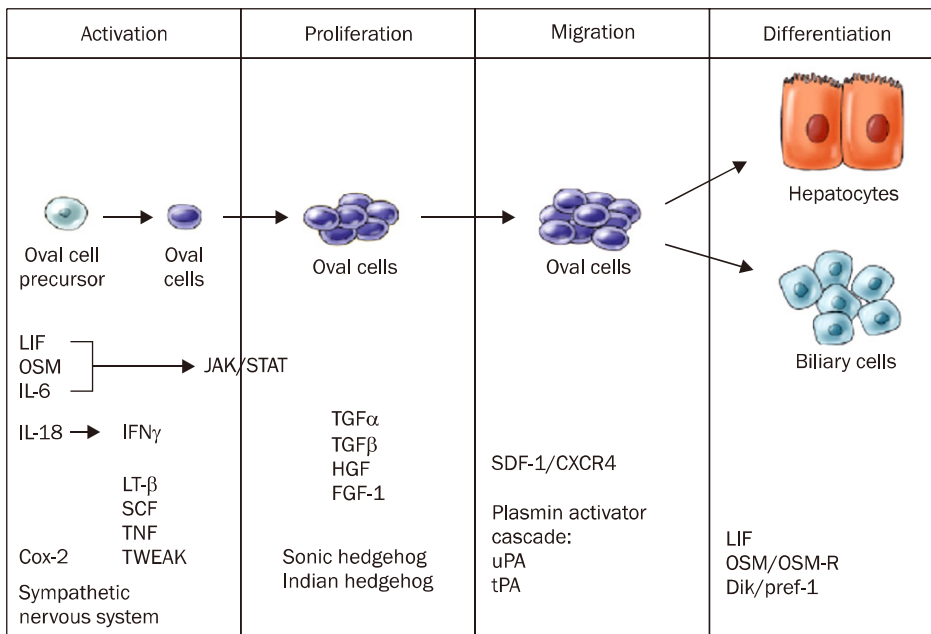


Fig. 3. Signaling events during the hepatic oval cell response.⁵⁰ A time line representing the stages of oval cell activation, proliferation, migration, and differentiation. The factors that are involved in each stage of the response are listed at the bottom.⁵⁶ LIF, Leukemia inhibitory factor; OSM, Oncostatin M.

결론

배아줄기세포, 성체줄기세포, 유도만능줄기세포를 이용한 세포치료 연구는 난치성 질환을 해결하고자 하는 측면에서 볼

때, 흥미로운 연구분야라고 할 수 있다. 분화유연성 및 다중분화능에 대한 연구가 진행 중인 성체줄기세포는 배아줄기세포와는 상이한 세포학적 특성을 가지므로, 다른 측면으로 접근해야 하며, 아직 밝혀지지 않은 생물학적 특성을 찾는 것이

과제로 남아있다. 소화기분야의 여러 질환에 줄기세포 치료법을 도입하고자 하는 시도가 이루어지고 있으나, 아직까지는 시작단계라 할 수 있다. 안전한 치료법으로 인정받기 위해서는 장기 추적 관찰 시 세포치료법으로서 안정성, 관용성 (tolerability), 효율성을 가질 수 있어야 하고 또한 암으로의 형질전환(transformation) 등의 문제도 해결하여야만 진정한 질환의 치료와 예방에 폭넓게 사용될 것이다.

REFERENCES

- Morrison SJ, Shah NM, Anderson DJ. Regulatory mechanisms in stem cell biology. *Cell* 1997;88:287-298.
- Blank U, Karlsson G, Karlsson S. Signaling pathways governing stem-cell fate. *Blood* 2008;111:492-503.
- Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 1998;282:1145-1147.
- Martin GR. Isolation of a pluripotent cell line from early mouse embryos cultured in medium conditioned by teratocarcinoma stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1981;78:7634-7638.
- Chung HM. Clinical application of human embryonic stem cells. *J Korean Med Assoc* 2011;54:454-461.
- Hattori N, Nishimo K, Ko YG, et al. Epigenetic control of mouse Oct-4 gene expression in embryonic stem cells and trophoblast stem cells. *J Biol Chem* 2004;279:17063-17069.
- Jackson M, Krassowska A, Gilbert N, et al. Severe global DNA hypomethylation blocks differentiation and induces histone hyperacetylation in embryonic stem cells. *Mol Cell Biol* 2004;24:8862-8871.
- Houbaviy HB, Murray MF, Sharp PA. Embryonic stem cell specific MicroRNAs. *Dev Cell* 2003;5:351-358.
- Suh MR, Lee Y, Kim JY, et al. Human embryonic stem cells express a unique set of microRNAs. *Dev Biol* 2004;270:488-498.
- Carpenter MK, Rosler ES, Fisk GJ, et al. Properties of four human embryonic stem cell lines maintained in a feeder-free culture system. *Dev Dyn* 2004;229:243-258.
- Cheong C, Hong KU, Lee HW. Mouse models for telomere and telomerase biology. *Exp Mol Med* 2003;35:141-153.
- Smith AG, Heath JK, Donaldson DD, et al. Inhibition of pluripotent embryonic stem cell differentiation by purified polypeptides. *Nature* 1988;336:688-690.
- Williams RL, Hilton DJ, Pease S, et al. Myeloid leukaemia inhibitory factor maintains the developmental potential of embryonic stem cells. *Nature* 1988;336:684-687.
- Sato N, Meijer L, Skaltsounis L, Greengard P, Brivanlou AH. Maintenance of pluripotency in human and mouse embryonic stem cells through activation of Wnt signaling by a pharmacological GSK-3-specific inhibitor. *Nat Med* 2004;10:55-63.
- Bhattacharya B, Miura T, Brandenberger R, et al. Gene expression in human embryonic stem cell lines: unique molecular signature. *Blood* 2004;103:2956-2964.
- Chen Y, Li X, Eswarakumar VP, Seger R, Lonai P. Fibroblast growth factor (FGF) signaling through PI 3-kinase and Akt/PKB is required for embryoid body differentiation. *Oncogene* 2000;19:3750-3756.
- Deng CX, Wynshaw-Boris A, Shen MM, Daugherty C, Ornitz DM, Leder P. Murine FGFR-1 is required for early postimplantation growth and axial organization. *Genes Dev* 1994;8:3045-3057.
- Amit M, Carpenter MK, Inokuma MS, et al. Clonally derived human embryonic stem cell lines maintain pluripotency and proliferative potential for prolonged periods of culture. *Dev Biol* 2000;227:271-278.
- Song MR, Ghosh A. FGF2-induced chromatin remodeling regulates CNTF-mediated gene expression and astrocyte differentiation. *Nat Neurosci* 2004;7:229-235.
- Varga AC, Wrana JL. The disparate role of BMP in stem cell biology. *Oncogene* 2005;24:5713-5721.
- Pesce M, Schöler HR. Oct-4: gatekeeper in the beginnings of mammalian development. *Stem Cells* 2001;19:271-278.
- Niwa H, Miyazaki J, Smith AG. Quantitative expression of Oct-3/4 defines differentiation, dedifferentiation or self-renewal of ES cells. *Nat Genet* 2000;24:372-376.
- Chambers I, Colby D, Robertson M, et al. Functional expression cloning of Nanog, a pluripotency sustaining factor in embryonic stem cells. *Cell* 2003;113:643-655.
- Mitsui K, Tokuzawa Y, Itoh H, et al. The homeoprotein Nanog is required for maintenance of pluripotency in mouse epiblast and ES cells. *Cell* 2003;113:631-642.
- Chambers I, Smith A. Self-renewal of teratocarcinoma and embryonic stem cells. *Oncogene* 2004;23:7150-7160.
- Zhang X, Yalcin S, Lee DF, et al. FOXO1 is an essential regulator of pluripotency in human embryonic stem cells. *Nat Cell Biol* 2011.[Epub ahead of print]
- Reubinoff BE, Pera MF, Fong CY, Trounson A, Bongso A. Embryonic stem cell lines from human blastocysts: somatic differentiation in vitro. *Nat Biotechnol* 2000;18:399-404.
- Till JE, McCulloch EA. A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells. *Radiat Res* 1961;14:213-222.
- Guenechea G, Gan OI, Dorrell C, Dick JE. Distinct classes of human stem cells that differ in proliferative and self-renewal potential. *Nat Immunol* 2001;2:75-82.
- Lagasse E, Connors H, Al-Dhalimy M, et al. Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes in vivo. *Nat Med* 2000;6:1229-1234.
- Kocher AA, Schuster MD, Szabolcs MJ, et al. Neovascularization of ischemic myocardium by human bone-marrow-derived angioblasts prevents cardiomyocyte apoptosis, reduces remodeling and improves cardiac function. *Nat Med* 2001;7:430-436.
- Gallacher L, Murdoch B, Wu DM, Karanu FN, Keeney M, Bhatia M. Isolation and characterization of human CD34(-)Lin(-) and CD34(+)Lin(-) hematopoietic stem cells using cell surface markers AC133 and CD7. *Blood* 2000;95:2813-2820.
- Blau HM, Brazelton TR, Weimann JM. The evolving concept of a stem cell: entity or function? *Cell* 2001;105:829-841.
- Prockop DJ. Marrow stromal cells as stem cells for non-hematopoietic tissues. *Science* 1997;276:71-74.
- Kim YI, Oh IH. Cell biological characteristics of adult stem cells. *J Korean Med Assoc* 2005;48:993-1002.

36. Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 2006;126:663-676.
37. Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell* 2007;131:861-872.
38. Wilmot I, Schnieke AE, McWhir J, Kind AJ, Campbell KH. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature* 1997;385:810-813.
39. Cowan CA, Atienza J, Melton DA, Eggan K. Nuclear reprogramming of somatic cells after fusion with human embryonic stem cells. *Science* 2005;309:1369-1373.
40. Yoon BS, You S. Trends and clinical application of induced pluripotent stem cells. *J Korean Med Assoc* 2011;54:502-510.
41. Karam SM. Lineage commitment and maturation of epithelial cells in the gut. *Front Biosci* 1999;4:D286-D298.
42. Piscaglia AC, Novi M, Campanale M, Gasbarrini A. Stem cell-based therapy in gastroenterology and hepatology. *Minim Invasive Ther Allied Technol* 2008;17:100-118.
43. Wong WM, Wright NA. Cell proliferation in gastrointestinal mucosa. *J Clin Pathol* 1999;52:321-333.
44. Brittan M, Wright NA. Gastrointestinal stem cells. *J Pathol* 2002;197:492-509.
45. Brittan M, Wright NA. The gastrointestinal stem cell. *Cell Prolif* 2004;37:35-53.
46. Körbling M, Katz RL, Khanna A, et al. Hepatocytes and epithelial cells of donor origin in recipients of peripheral-blood stem cells. *N Engl J Med* 2002;346:738-746.
47. Krause DS, Theise ND, Collector MI, et al. Multi-organ, multi-lineage engraftment by a single bone marrow-derived stem cell. *Cell* 2001;105:369-377.
48. 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.
49. Sanders KM. Interstitial cells of Cajal at the clinical and scientific interface. *J Physiol* 2006;576:683-687.
50. Turner R, Lozoya O, Wang Y, et al. Human hepatic stem cell and maturational liver lineage biology. *Hepatology* 2011;53:1035-1045.
51. Zajicek G, Oren R, Weinreb M Jr. The streaming liver. *Liver* 1985;5:293-300.
52. Zajicek G, Schwartz-Arad D, Bartfeld E. The streaming liver. V: Time and age-dependent changes of hepatocyte DNA content, following partial hepatectomy. *Liver* 1989;9:164-171.
53. Bralet MP, Branchereau S, Brechot C, Ferry N. Cell lineage study in the liver using retroviral mediated gene transfer. Evidence against the streaming of hepatocytes in normal liver. *Am J Pathol* 1994;144:896-905.
54. Stowell RE, Lee CS. Histochemical studies of mouse liver after single feeding of carbon tetrachloride. *AMA Arch Pathol* 1950;50:519-537.
55. Bae SH. Clinical application of stem cells in liver diseases. *Korean J Hepatol* 2008;14:309-317.
56. Duncan AW, Dorrell C, Grompe M. Stem cells and liver regeneration. *Gastroenterology* 2009;137:466-481.
57. Theise ND, Badve S, Saxena R, et al. Derivation of hepatocytes from bone marrow cells in mice after radiation-induced myeloablation. *Hepatology* 2000;31:235-240.
58. Alison MR, Poulsom R, Jeffery R, et al. Hepatocytes from non-hepatic adult stem cells. *Nature* 2000;406:257.
59. Ng IO, Chan KL, Shek WH, et al. High frequency of chimerism in transplanted livers. *Hepatology* 2003;38:989-998.
60. Wagers AJ, Sherwood RI, Christensen JL, Weissman IL. Little evidence for developmental plasticity of adult hematopoietic stem cells. *Science* 2002;297:2256-2259.
61. Terada N, Hamazaki T, Oka M, et al. Bone marrow cells adopt the phenotype of other cells by spontaneous cell fusion. *Nature* 2002;416:542-545.
62. Bonner-Weir S, Taneja M, Weir GC, et al. In vitro cultivation of human islets from expanded ductal tissue. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97:7999-8004.
63. Ramiya VK, Maraist M, Arfors KE, Schatz DA, Peck AB, Cornelius JG. Reversal of insulin-dependent diabetes using islets generated in vitro from pancreatic stem cells. *Nat Med* 2000;6:278-282.
64. Seaberg RM, Smukler SR, Kieffer TJ, et al. Clonal identification of multipotent precursors from adult mouse pancreas that generate neural and pancreatic lineages. *Nat Biotechnol* 2004;22:1115-1124.
65. Liu T, Wang C, Wan C, Xiong J, Xu Y, Zhou F. PDX-1 expression in pancreatic ductal cells after partial pancreatectomy in adult rats. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 2004;24:464-466.
66. Ramiya VK, Maraist M, Arfors KE, Schatz DA, Peck AB, Cornelius JG. Reversal of insulin-dependent diabetes using islets generated in vitro from pancreatic stem cells. *Nat Med* 2000;6:278-282.
67. Zulewski H, Abraham EJ, Gerlach MJ, et al. Multipotential nestin-positive stem cells isolated from adult pancreatic islets differentiate ex vivo into pancreatic endocrine, exocrine, and hepatic phenotypes. *Diabetes* 2001;50:521-533.
68. Lechner A, Leech CA, Abraham EJ, Nolan AL, Habener JF. Nestin-positive progenitor cells derived from adult human pancreatic islets of Langerhans contain side population (SP) cells defined by expression of the ABCG2 (BCRP1) ATP-binding cassette transporter. *Biochem Biophys Res Commun* 2002;293:670-674.
69. Wang R, Yashpal N, Bacchus F, Li J. Hepatocyte growth factor regulates proliferation and differentiation of epithelial monolayers derived from islets of postnatal rat pancreas. *J Endocrinol* 2004;183:163-171.
70. Yashpal NK, Li J, Wang R. Characterization of c-Kit and nestin expression during islet cell development in the prenatal and postnatal rat pancreas. *Dev Dyn* 2004;229:813-825.
71. Wang R, Li J, Yashpal N. Phenotypic analysis of c-Kit expression in epithelial monolayers derived from postnatal rat pancreatic islets. *J Endocrinol* 2004;182:113-122.
72. Zalzman M, Anker-Kitai L, Efrat S. Differentiation of human liver-derived, insulin-producing cells toward the beta-cell phenotype. *Diabetes* 2005;54:2568-2575.
73. Kojima H, Fujimiya M, Matsumura K, et al. NeuroD-beta-cellulin gene therapy induces islet neogenesis in the liver and reverses

- diabetes in mice. *Nat Med* 2003;9:596-603.
74. Timper K, Seboek D, Eberhardt M, et al. Human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells differentiate into insulin, somatostatin, and glucagon expressing cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2006;341:1135-1140.
75. Fujita Y, Cheung AT, Kieffer TJ. Harnessing the gut to treat diabetes. *Pediatr Diabetes* 2004;5(Suppl 2):57-69.
76. Jung KH, Song SU, Yi T, et al. Human bone marrow-derived clonal mesenchymal stem cells inhibit inflammation and reduce acute pancreatitis in rats. *Gastroenterology* 2011;140:998-1008.