

지방, 제대혈, 태반조직에서 분리된 간엽 줄기세포의 특성 규명

연세대학교 의과대학¹외과학교실, ²산부인과학교실, ³진단검사의학교실, ⁴세브란스 병원 세포 치료센터

최봉희¹, 김성훈¹, 권지영^{2,4}, 최유정⁴, 조진아¹, 김경식^{1,4}, 김현옥^{3,4}

The characterization of the mesenchymal stem cells derived from fat, cord blood, placenta tissues

Feng Ji Cui¹, Sung Hoon Kim¹,
Ja-Young Kwon, M.D.^{2,4}, You Jeong Choi⁴,
Jin A Cho¹, Kyung Sik Kim, M.D.^{1,4},
Hyun Ok Kim, M.D.^{3,4}

Dept. of ¹Surgery, Dept. of ²Obstetrics and Gynecology,
Dept. of ³Laboratory Medicine, ⁴Cell therapy center,
Severance Hospital, Yonsei University College of
Medicine, Seoul, Korea

Purpose: Mesenchymal stem cells, which exist in every part of the human body, have the ability to differentiate into various kinds of tissue. If cells isolated from these tissues can differentiate into hepatocytes, they can be used to supply a secure source of cells, which is a major limitation in liver targeted cell therapy. Prior to evaluating the possibility of differentiating these cells into hepatocytes, cells from fat, cord blood and placenta tissues were tested to see if they have stem cell characteristics.

Method: After the fat tissue had been chopped into small piece and treated with collagenase I for 60 minutes, the fat derived mesenchymal stem cells were separated. Umbilical cord blood monocytes were separated from the umbilical cord blood following centrifugation for 25 minutes in 2000 rpm. Using Percoll density gradient centrifugation, following treatment with trypsin and DNAase, monocytes were isolated from the placental tissues. Cells isolated from each tissue were immunophenotyped by Flow cytometry, using CD14, 29, 31, 34, 44, 45, 73, 90, 105 and 106 antibodies, to search for mesenchymal stem cells markers after 3 - 5 orders of cultivation in each special culture media.

Result: The cultured cells all had a single nucleus and square shape. The CD29, 44 and 73 antibodies were all positive in the cells detached from the umbilical cord blood, placenta and fat tissues. The CD 14, 31, 34, 45 and 106 antibodies were negative in all the cells. The CD90 antibody was positive in the cells isolated from the placenta and fat tissues, but the CD105 antibody was only positive in the cells from fat tissue.

Conclusion: Cells isolated from the umbilical cord blood, placenta and fat tissues are assumed to be mesenchymal stem cells, but have no characteristics of hematopoietic cells. Especially, cells from fat tissue

seem to have more mesenchymal stem cell characteristics. Validations, through differentiation into the various cell types, will be required to confirm their special quality as stem cells.

Key words:

Fat,
Cord blood,
Placenta tissues,
Mesenchymal stem cell,
Characterization

중심 단어: 지방, 제대혈, 태반조직, 간엽 줄기세포, 특성규명

서론

줄기세포(stem cell)는 발생초기에 배반포에서 얻은 배아 줄기세포(embryonal stem cell)와 조직이나 기관의 분화된 세포들 사이에서 발견되는 미분화 세포인 성체 줄기세포(adult stem cell)로 구분할 수 있으며 간세포(幹細胞)라 불리기도 한다. 성체 줄기세포에는 조혈모 줄기세포(Hematopoietic Stem Cell)와 간엽 줄기세포(Mesenchymal Stem Cell), 신경 줄기세포(Neural stem cell) 등이 있다. 간엽 줄기세포란 배아기에는 골격계의 생성 및 성장에 관여하고, 성장이 끝나면 조골세포(osteoblast) 이외에도 연골세포, 근육세포, 섬유세포, 지방세포 등 여러 가지 종류의 골격계 세포들로 분화할 수 있는 능력을 가진 세포이다. 즉 줄기 세포라는 포괄적인 의미로 사용되는 간세포(幹細胞, stem cell)와 간(Liver)에 있는 간세포(肝細胞, hepatocyte)와의 혼란이 있을 수 있어 명확한 규정이 필요할 것으로 생각되어 본 논문에서 용어의 혼란을 피하기 위하여 간엽 줄기세포라는 용어를 사용하였다.

배아 줄기세포는 모든 세포로 분화할 수 있는 전분화능(toti-potential)이 있고 자가 재생산 능력(self-renewal)이 강하여 생체 내에 세포치료를 위해 배아줄기세포를 이식하였을 경우 암이 형성될 가능성이 있다. 성체줄기세포는 본래 자신이 있던 조직과는 다른 세포로 분화할 수 있는 능력에는 한계가 있지만 배아 줄기 세포를 이용할 경우 생길 수 있는 윤리적인 문제가 없고 기형종 발생의 위험이 없

책임저자: 김경식
서울시 서대문구 신촌동 134
120-752, 연세대학교 의과대학 외과학교실
Tel: 02-2228-2125, Fax: 02-313-8289
E-mail: kskim88@yumc.yonsei.ac.kr

*본 논문의 요지는 2006년 제24차 한국간담체외과학회에서 발표되었음.

다는 점에서 향후 주력 세포로 평가받고 있다.¹ 성체 줄기세포는 각각의 조직에 소량으로 존재하지만 뇌, 골수, 말초혈액, 혈관, 근육, 피부와 간 등 신체의 다양한 조직에서 얻을 수 있다. 1998년 Ferrari 등²이 골수 줄기세포(bone marrow stem cell)가 근육 세포로 변화될 수 있다고 보고한 이래로 Lagasse 등³은 골수 줄기세포가 간세포(肝細胞, hepatocyte)로 분화하는 것을 관찰하였다. 골수에서 유래되는 줄기 세포로부터 지방조직으로 분화함이 알려지면서 지방조직 역시 골수유래 전골모세포(promyelocyte)를 대신하여 줄기세포의 원천으로 사용될 수 있음을 시사하였다.⁴ Lee 등은 골수유래줄기세포와 지방유래 줄기세포의 표현형의 비교연구에서 두 세포가 전반적으로 유사하지만 지방유래 줄기세포는 CD29, CD44, CD90, CD105가 더 표현되며 HLA-DR과 c-kit은 표현되지 않아 골수유래 줄기세포와 다소 차이가 있음을 보였으며, 분화능력의 유지에 지방유래 줄기세포가 더 유리할 수 있다고 제시하였다.⁵ Ferrari등은 근육에 존재하는 근육 유래 간엽 줄기세포가 골수유래 비수염(uncommitte) 간엽 줄기세포로부터 유래되었으며, 근육 내 성상 세포(astrocyte)와는 다르다고 보고하였다.² 또한 제대혈, 태반, 골막, 해면골, 결합조직 등에서도 간엽줄기세포를 얻을 수 있다. 제대혈은 태반과 탯줄 안에 있는 혈액으로서 채취가 용이하고 산모와 신생아에게 영향을 주지 않으며 조혈모세포도 다량 함유하고 뼈, 연골, 골수간질세포, 지방세포, 건, 신경세포 등으로 분화할 수 있는 간엽줄기세포를 포함하고 있어 이를 이용한 조직재생용 세포치료제의 개발 가능성이 높아지고 있다.⁶⁻⁸ 또한 태반에서 분리된 세포에서도 간엽줄기세포의 능력을 갖고 있는 세포가 분리되고 골수유래 줄기세포의 특징을 갖고 있어 또 다른 간엽 줄기세포의 제공처로 이용될 수 있다고 하였다.⁹

간엽 줄기세포의 표지자로 CD9+, CD10+, CD13+, CD14-, CD34-, CD44+, CD45-, CD49-, CD54+, CD55+, CD59+, CD73+, CD90+, CD105+, CD117+, CD146+, CD166+, STRO-1 등이 알려졌다.¹⁰

즉 이들 간엽세포는 여러 가지 조직으로 분화할 수 있는 능력을 가진 줄기 세포로 이들 세포를 분리하여 간세포(肝細胞, hepatocyte)로 분화시킬 수 있다면 이것은 간세포(肝細胞, hepatocyte) 이식에 있어서 한계점인 세포의 공급원을 안정적이며 충분하게 확보할 수 있다는 점에서 매우 고무적일 수 있다. 그러나 분화를 유도하기에 앞서 분리된 세포가 줄기세포로서의 특성을 가지고 있는가에 대한 규명은 필수적이다.

이에 지방 제대혈 및 태반에서 간엽 줄기세포를 분리하여 분리된 세포가 간엽 줄기세포의 특성을 가지고 있는가에 대해 알아보려고 하였다.

방 법

1. 간엽 줄기세포 분리 및 배양

1) 지방조직 유래 간엽 줄기세포

복부 지방조직은 PBS에 세척한 뒤 잘게 잘라 0.075% collagenase type I (Roche, Penzberg, Germany)를 첨가하여 37 °C에서 30분간 반응시킨다. 효소활성은 10% FBS가 함유된 α -MEM로 불활성하고 4 °C 1200G에서 10분간 원심 분리한다. 상층 지방을 버리고 RBC를 제거하기 위하여 적혈구 용해용액(RBC lysis buffer) (54mM NH₄Cl, 10mM KHCO₃, 0.1mM EDTA)¹²를 넣고 5분 동안 반응시킨 후 원심 분리하여 α -MEM에서 배양한다. 세포는 1000cells/cm²의 밀도로 2차 배양되고 분리된 세포의 증식을 위해 다음과 같은 배지 60% DMEM-LG (GibcoBRL, Grand Island, NY, USA), 40% MCDB-201 (Sigma), 1X insulin transferrin-selenium (ITS) (GibcoBRL, Grand Island, NY, USA), 10⁻⁸M dexamethasone (Sigma), 10⁻⁴M ascorbic acid 2-phosphate (Sigma), 10ng/ml rhEGF (Daewoong Pharmaceuticals, Korea), antibiotic/antimycotic fibronectin (GibcoBRL, Grand Island, NY, USA) 및 5% FBS (WeiGENE, Daegu, Korea)를 사용하여 3-5세대 계대배양하였으며 1주마다 증식배지를 교환하였다.

2) 제대혈(Cord blood) 유래 간엽 줄기세포

제대혈을 2000 rpm에서 25분간 원심분리하고 Ficoll (Amersham, Uppsala, Sweden)을 이용하여 단핵세포층을 분리하고 EGM-2 배지(Cambrex, New Jersey, USA)를 사용하여 3-5세대 계대배양하고 3일마다 배지교환하였다.

3) 태반(Placenta) 유래 간엽 줄기세포

혈관과 태반 조직을 박리하여 트립신과 DNAase (Sigma, Saint Louis, USA) 처리하고 Percoll 밀도 구배 원심분리(percoll density gradient centrifugation)를 이용하여 분리 후 M199배지(Sigma, Saint Louis, USA)로 3-5세대 계대 배양하여 3일마다 배지교환한다.

2. 각 조직에서 유래된 간엽 줄기세포의 냉동 보관 및 해동

각각의 조직에서 유래된 간엽 줄기세포를 냉동 보관한 뒤 해동하여 형태학적 변화의 차이를 비교하기 위하여 각각의 선택 배지에 10% DMSO (Edwards Lifesciences, Irvine, USA) 첨가하여 -70 °C에서 1일간 보관하여 질소 탱크에 넣어 동결한 후 60일 경과 후 신속히 해동하여 각각의 선택된 배지에서 현탁하여 원심분리 후 각각의 선택된 배지에 배양하여 세포의 형태를 확인하였다.

3. 세포증식능력 측정

세포 증식 능력에 대한 평가 및 차이를 비교하기 위하여 6-well culture plate에 104 개/cm² 씩 세포를 넣고, 여러 조직에서 분리된 세포를 각각의 선택된 배지에서 5% CO₂ 배양기에서 37℃로 1일, 2일, 3일을 배양한 뒤 세포수를 측정하였다.

4. 유세포분석

3-5세대 계대배양 한 후 유세포분석은 FACSscan argon laser cytometer (Beckman Coulter, Inc. Fullerton, USA)로 실시하였다. 일차 배양한 미분화 간엽 줄기 세포의 배양액을 제거하고 PBS로 세척하고 0.25% trypsin/EDTA로 분리한 후 2000rpm에서 5분간 원심분리하고 0.2% BSA가 첨가된 PBS (FC Buffer)로 세척하고 4×10⁵개로 정량한 세포를 사용하여 각각의 항체 즉 골수 유래 간엽줄기/전구세포 관련 항원(CD73, CD105), 조혈 모세포의 항원인 (CD14, CD34, CD45), integrin 수용체 관련항원 (CD29), matrix 수용체 관련항원 (CD44, CD106), 내피세포항원(CD31), 및 기타 항원(CD90) 에 대한 항체를 포함한 FC buffer에서 반응시킨 후 분석하였다.

5. 통계학적 분석

통계 프로그램인 SPSS 10.0 (SPSS, Chicago, USA)을 사용하여 실험설계에 대한 분산분석은 ANOVA로 검정하였고, 각 처치군 간의 비교는 student t-test를 실시하였다. 결과를 Mean ± SEM으로 표시하였고, p<0.05인 경우 통계적 유의성이 있는 것으로 간주하였다.

결 과

1. 각각의 조직에서 분리된 줄기세포의 양상

지방, 제대혈, 태반조직에서 분리한 세포를 관찰하면 단핵의 방추상의 균일한 세포 양상을 보였으며 서로 유사하였다(Fig. 1a, b, c). 냉동보관한 세포를 해동 후 다시 배양하였을 때도 방추상의 동일한 형태의 세포성장이 관찰되었고 생존율은 70-80% 정도였다 (Fig. 1d, e, f).

2. 세포 증식 능력의 비교

3-5세대 계대 배양한 지방, 제대혈, 태반에서 분리한 간엽 줄기세포를 24시간, 48시간, 72시간 경과후 세포수를 측정하였다. 지방에서 분리한 세포는 48시간 경과후 2.2배 증가

하고 72시간 경과후 4.2배 증가하였고 제대혈에서 분리한 세포는 48시간 경과후 1.5배 증가하고 72시간 경과후 2.3배 증가하였으며 태반에서 분리한 세포는 48시간 경과후 1.8배 증가하고 72시간 경과후 3배 증가하였다(Fig. 2). 세포의 배가 시간(doubling time)은 지방에서 유래된 세포가 0.89일, 제대혈 유래 세포가 1.24일, 태반에서 유래된 세포가 2.19일로 지방에서 분리한 세포가 제대혈 및 태반에서 분리한 세포보다 더 빨리 자라는 것을 알 수 있었다 (p<0.05).

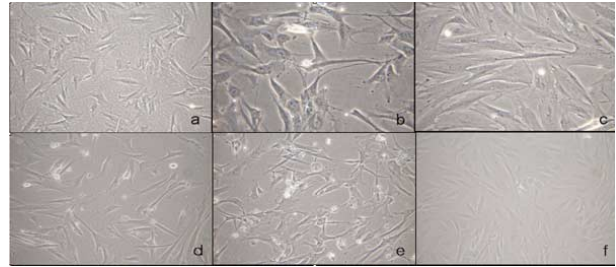


Fig. 1. Morphology of prime culture hMSC. (X 100) (a-c) attached cells a) fat derived b) cord blood derived c) placenta derived. (d-f) cells after replating cryopreserved cells d) fat derived e) cord blood derived f) placenta derived.

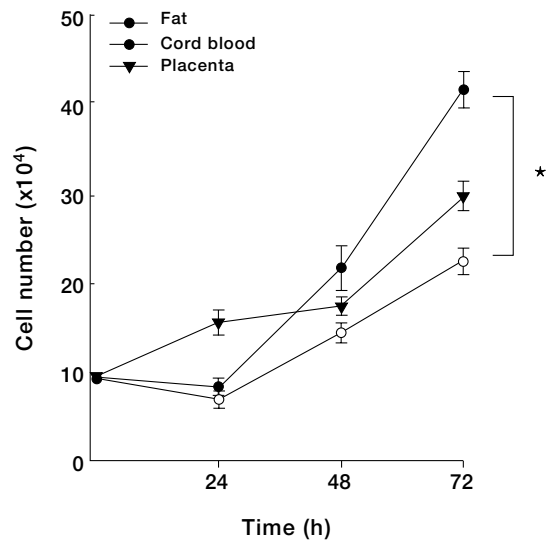


Fig. 2. Fat, cord blood, placenta plated at 10,000 cells/cm² density were cultured in each medium. cells were counted at indicated times. Results are mean±SEM of cell number of cells counted after 24 hours, n=3; *p<0.05.

3. 유세포 분석

지방, 제대혈, 태반으로부터 분리한 세포가 간엽 줄기세포 인지를 확인하기 위하여 간엽 줄기세포에 양성표 음성을 보이는 항체들을 이용하여 유세포분석을 시행하였다. 지방 조직에서 분리한 세포에서 간엽 줄기세포의 표지자로 알려진 CD73, CD105, CD29, CD44, CD90에서는 평균 89%

고 찰

에서 염색이 되었지만 CD106에서는 2.6%만 염색이 되었다, 음성 표지자로 알려진 CD34, CD45, CD31, CD14에서는 평균 2.9%가 염색이 되어 분리한 세포가 CD106이 없는 것을 제외하고 간엽 줄기세포임을 확인하였다(Fig. 3). 제대혈에서 분리한 세포에서 간엽 줄기세포의 표지자로 알려진 CD73, CD29, CD44에서는 평균 73.2%에서 염색이 되었고 CD105, CD90, CD106에서는 각각 13%, 9.18%, 8.15% 염색이 되고 음성 표지자로 알려진 CD34, CD45, CD31, CD14에서는 평균 7.6%가 염색이 되어 CD106, CD105, CD90이 없는 것을 제외하고 간엽줄기세포임을 확인하였다(Fig. 4). 태반에서 분리한 세포에서 간엽줄기세포의 표지자로 알려진 CD73, CD29, CD44, CD90에서는 평균 94.2%에서 염색이 되었고 CD105, CD106에서는 각각 32.3%, 1.84%가 염색이 되고 음성 표지자로 알려진 CD34, CD45, CD31, CD14에서는 평균 2%가 염색이 되어 CD106, CD105이 없는 것을 제외하고 간엽줄기세포임을 확인하였다(Fig. 5).

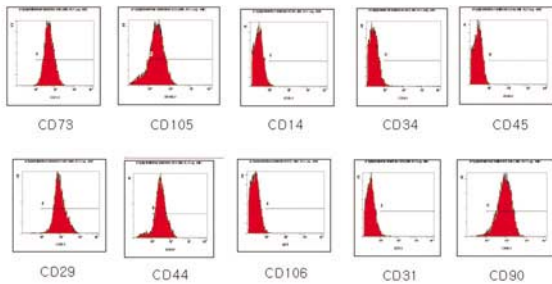


Fig. 3. Immunophenotypic characterization of the MSCs derived from fat.

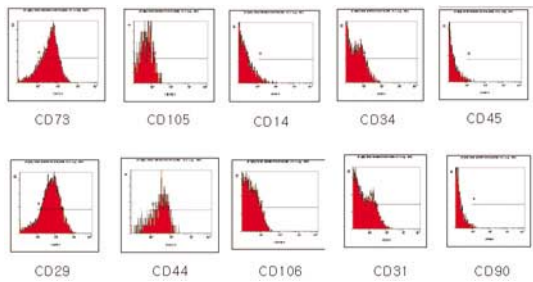


Fig. 4. Immunophenotypic characterization of the MSCs derived from cord blood.

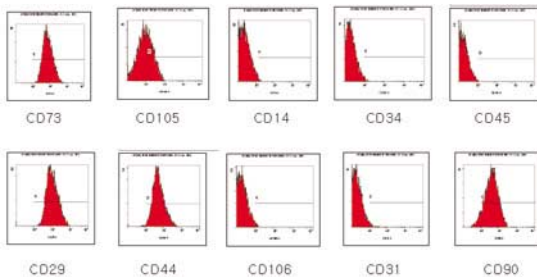


Fig. 5. Immunophenotypic characterization of the MSCs derived from placenta derived.

간엽 줄기세포는 연골세포, 골세포, 지방세포 및 근육세포 등으로 분화할 수 있는 세포로서, 다른 줄기세포와 마찬가지로 자기갱신과 다능성 장기로 분화할 수 있고, 여러 조직에서 쉽게 분리하여 일반 배지 조건에서 분화 없이 세포 배양을 통해서 충분한 양을 쉽게 확보할 수 있다는 점에서 이용 가치가 높다.¹² 또한 면역 관용을 유도하여 동종간 세포 치료에서 이식된 조혈모세포의 정착을 도와 조혈모세포와 동시에 이식할 때 동종 이식 세포의 생존 기간을 연장시켜 준다는 장점이 있다.¹³

간엽 줄기세포는 다양하고 높은 증식 능력을 보이는데 어떤 종류의 세포는 15회 정도의 계대 배양이 가능하기도 하며 또 어떤 종류의 세포는 4회의 계대 배양 후 증식을 멈추기도 한다.¹⁴⁻¹⁶ 간엽 줄기세포는 높은 증식성을 가지고 있으며 일정한 계대 배양 후에도 그의 핵형 telomerase 활동성을 유지한다.¹⁷ 하지만 과도한 계대 배양은 세포의 노쇠를 초래해 세포사멸(apoptosis)을 유발하여 그의 성질을 소실하게 하기도 한다. 본 연구에서도 지방, 제대혈, 태반에서 분리한 세포 모두 높은 증식 능력을 나타내는데 지방에서는 3일 후 약 3배의 증가를 나타내고 제대혈, 태반에서 3일 후에 약 2배 이상 증가하는 것을 알 수 있었고 계대배양이 5회이상 가능하였지만 장기간의 계대 배양을 시행하지 않아 핵형의 변화 및 telomerase의 활동성에 대한 평가는 할 수 없었다. 또한 과도한 계대 배양을 막기 위하여 3-5대 계대배양 한 세포들을 사용하고 남은 세포는 질소탱크에 냉동 보관하였다. 60 일간 냉동 보관한 뒤 세포를 해동하여 세포 모양의 변형에 대한 관찰을 시행한 결과 냉동보관하지 않은 세포주들과 큰 차이가 없어 어느 정도 안정화되면 냉동 보관하여 보존함으로써 세포 치료에 있어서 세포의 안정적 공급처의 확보라는 과제를 달성할 수 있을 것으로 생각되나 세포 기능에 관한 연구가 이루어 지지 않아 이에 대한 보완이 있어야 할 것이다.

간엽 줄기세포의 특성을 확인하기 위해 표지자를 이용하여 간엽 줄기세포를 규명하였다. 지방으로부터 분리된 균질성의 섬유 세포양 세포군은 골수 유래 간엽줄기/전구세포 관련 항원(CD73, CD105), integrin 수용체 관련항원(CD29), matrix 수용체 관련항원(CD44) 그 외 CD90이 평균 89%가 양성임을 보였고 조혈모세포 관련 항원(CD14, CD34, CD45), 내피세포항원(CD31)이 평균 2.9%가 음성인 것을 확인하였다. 그 중 matrix 수용체 관련항원(CD106)이 2.6% 음성을 나타내는 것을 제외하고 89%의 간엽 줄기세포 성질을 갖고 있음을 알 수 있다(Fig. 4). 제대혈로부터 분리한 세포군은 골수 유래 간엽줄기/전구세포 관련 항원(CD73), integrin 수용체 관련항원(CD29),

matrix 수용체 관련항원(CD44)이 평균 73.2%가 양성임을 조혈모세포 관련 항원(CD14, CD34, CD45), 내피세포항원(CD31)이 평균 7.6%가 음성인 것을 확인하였다. 그 중 CD106, CD105, CD90이 평균 10%가 음성인 것을 제외하고 간엽 줄기세포임을 확인하였다(Fig. 4). 태반으로부터 분리한 세포는 골수 유래 간엽줄기/전구세포 관련 항원(CD73), integrin 수용체 관련항원(CD29), matrix 수용체 관련항원(CD44) 그 외 CD90이 평균 94.2%가 양성임을 조혈모세포 관련 항원(CD14, CD34, CD45), 내피세포항원(CD31)이 평균 2%가 음성인 것을 확인하였다. 그 중 CD106, CD105에서는 각각 32.3%, 1.84%가 염색이 되어 CD106, CD105이 음성인 것을 제외하고 간엽줄기세포임을 확인하였다(Fig. 5).

지방조직은 지방세포 외에 많은 혈관내피세포, 내막세포, 섬유모세포, 근육세포, 지방전구세포로 구성된 것으로 알려져 왔다.¹⁸ 여러 세포의 작용과 영향으로 모든 세포가 간엽 줄기세포로 분화하지는 않는 것이라고 생각된다. 본 연구에서 관찰된 여러 조직에서 분리된 균질성 유착성 섬유세포양 세포군은 형태학적 및 유세포 분석상 간엽세포의 특성을 가진 것을 확인하였다. 지금까지의 간엽세포에 대한 연구로 알려진 표지자들과 비교해 볼 때 특히 지방으로부터 분리된 세포가 CD29, CD44, CD90, CD105가 더 표현되어 보다 간엽세포의 특성을 가진 것을 확인하였다 (Table 1).¹⁹

Table 1. Comparison cell surface phenotypes of mesenchymal cells from fat, cord blood and placenta to published results for hMSCs

Cell surface marker	Fat	Cord blood	Placenta Human	MSCs
CD73 (SH-3, SH-4)	+	+	+	+
CD105 (SH-2)	+	-	-	+
CD14	-	-	-	-
CD34	-	-	-	-
CD45	-	-	-	-
CD29	+	+	+	+
CD44	+	+	+	+
CD106	-	-	-	+
CD31	-	-	-	-
D90	+	-	+	+

특히 지방을 이용할 경우에는 구득률에 있어서 골수에 비해 빠른 성장을 나타내고 또한 비교적 손쉽게 얻을 수 있다는 장점이 있으며¹⁰ 자가지방을 사용하여 면역거부반응이 없기 때문에 세포치료에 매우 중요한 세포의 제공처가 될 수 있다는 점에서 매우 고무적이다. 본 저자들의 경우도 복부 피하지방에서 평균 g

당 약 10⁴개 정도의 간엽세포를 분리하였는데 약 1개월 동안에 3-5차례 계대배양하여 10⁸개 정도로 증식시킬 수 있어서 임상 적용의 가능성을 확인하였다. 간엽세포에서 지방, 골, 연골 등 원하는 세포로의 분화 기술이 소개되고 있지만²⁰ 그리 쉽지만은 않은 여러 가지 문제를 가지고 있다. 그러나 세포치료에 있어서 세포 공급처를 안정적으로 확보하고 기능이 좋은 세포를 얻기 위해서는 지방조직 뿐 만 아니라 다른 조직에서도 비수임 간엽줄기세포를 특성화 시키는 것이 생물학적으로 중요하다.

급성 전격성 간부전은 최근 의학의 발달에도 불구하고 70-90%의 높은 사망률을 보이는 심각한 질병으로 현재까지 간이식술 외에는 특별한 치료 방법이 없을 뿐 아니라 그 결과로 생기는 간성 혼수 등의 병인도 확실하게 밝혀지지 않은 상태이다.²¹ 따라서 간세포(肝細胞, hepatocyte)이식에 있어 한계점인 세포의 안정적인 공급원 확보 및 간세포(肝細胞, hepatocyte)로 분화를 위한 자가 여러 조직에서 분리된 간엽세포를 이용한 새로운 치료방법을 확립하는 것이 중요하다.

결론적으로 지방, 제대혈, 태반에서 각각 분리된 세포는 조혈모세포의 특성이 없는 간엽 줄기세포로 추정되며 특히 지방세포에서 분리된 세포가 보다 간엽 줄기세포의 특성을 갖는 것으로 보이나 간엽 줄기세포의 특성을 확인하기 위해서는 여러 가지 조직으로의 분화 능력에 대한 검증이 필요할 것으로 사료된다.

참고 문헌

1. Son EH, Pyo SK. The use of stem cells as medical therapy. Korean J Biotechnol Bioeng 2005;1:1-11.
2. Ferrari G, Cusella-De Angelis G, Coletta M et al. Muscle regeneration by bone marrow-derived myogenic progenitors. Science 1998;279:1528-1530.
3. 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.
4. Zuk PA, Zhu M, Mizuno H et al. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. Tissue Eng 2001;7:211-228.
5. Lee RH, Kim B, Choi I et al. Characterization and expression analysis of mesenchymal stem cells from human bone marrow and adipose tissue. Cell Physiol Biochem 2004;14:311-324.
6. Erices A, Conget P, and Minguell JJ. Mesenchymal progenitor cells in human umbilical cord blood. Brit J Haemato 2000;109:235-242.

7. Mollah ZU, Aiba S, Manome H, Yoshino Y. and Tagami H. Cord blood CD34 cells differentiate into dermal dendritic cells in co-culture with cutaneous fibroblasts or stromal cells. *J. Invest. Dermatol* 2000;118:450-460.
8. Sanchez-Ramos JR. Neural cells derived from adult bone marrow and umbilical cord blood. *J. Neurosci. Res* 2002;69:880-893.
9. Zhang Y, Li CD, Jiang XX, Li HL, Tang PH, Mao N. Comparison of mesenchymal stem cells from human placenta and bone marrow. *Chin Med J* 2004;117:882-887.
10. Strem BM, Hicok KC, Zhu M et al. Multipotential differentiation of adipose tissue-derived stem cells. *Keio J Med* 2005; 54:132-141.
11. Bakker AH, Van Dielen FM, Greve JM, et al. Preadipocyte number in omental and subcutaneous adipose tissue of obese individuals. *Obesity research* 2004;12:488-498.
12. Gerson SL. Mesenchymal stem cells: no longer second class marrow citizens. *Nat Med* 1999;5:262-264.
13. Bruder SP, Jaiswal N, Haynesworth SE. Growth kinetics, selfrenewal, and the osteogenic potential of purified human mesenchymal stem cells during extensive subcultivation and following cryopreservation. *J Cell Biochem* 1997;64:278-294.
14. Digirolamo CM, Stokes D, Colter D, et al. Propagation and senescence of human marrow stromal cells in culture : A simple colonyforming assay identifies samples with the greatest potential to propagate and differentiate. *Br J Haematol* 1999;107:275-281.
15. Phinney DG, Kopen G, Righter W, et al. Donor variation in the growth proprieties and osteogenic potential of human marrow stromal cells. *J Cell Biochem* 1999;75: 424-436.
16. Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* 1999;284:143-147.
17. Conget PA, Minguell JJ. Phenotypical and functional properties of human bone marrow mesenchymal progenitor cells. *J Cell Physiol* 1999;181:67-73.
18. Haumer H, Schmid P, Pfeiffer EF. Glucocorticoids and insulin promote the differentiation of human adipocyte precursor cells into fat cells. *J Clin Endocrinol Metab* 1987;64:832-835.
19. Lee RH, Kim B, Choi I, et al. Characterization and expression analysis of mesenchymal stem cells from human bone marrow and adipose tissue. *Cell Physiol Biochem* 2004;14:311-324.
20. Majumdar MK, Thiede MA, Mosca JD, et al. Phenotypic and functional comparison of cultures of marrow-derived mesenchymal stem cells(MSCs) and stromal cells. *J Cell Physiol* 1998;176:57-66.
21. Hwang YJ, Kim JW, Lim JW, et al. Development of fulminant hepatic failure in pigs. *Korean J HBP Surg* 1999;3:5-10.