

급성 척수손상 환자의 치료 - 최근의 세포치료 연구 결과를 중심으로 -

연세대학교 의과대학 신경외과학교실¹, 인하대학교 의과대학 신경외과학교실², 생리학교실³

윤도흠¹ · 하 윤² · 윤승환² · 김은영² · 현동근² · 박종운²
박소라³ · 구성욱¹ · 김긍년¹ · 조용은¹ · 박형천^{1,2,3}

Treatment of Acute Spinal Cord Injury

**Do Heum Yoon¹, Yoon Ha², Seung Hwan Yoon², Eun Young Kim², Dong Keun Hyun², Jong Woon Park²,
So Ra Park³, Sung Wook Goo¹, Keung Nyun Kim¹, Yong Eun Cho¹ and Hyung Chun Park^{1,2,3}**

Department of Neurosurgery¹, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Department of Neurosurgery², Physiology³, Inha University College of Medicine, Inchon, Korea

A therapy to treat injuries to the central nervous system is, to date, a major clinical challenge. The devastating functional consequences they cause in patients have encouraged many scientists to search, in animal models, for a repair strategy that could, in the future, be applied to humans.

To highlight the current understanding of traumatic spinal cord injury, we provide information regarding state-of-the-art care for the acute spinal cord injured model, and explore future treatments aimed at neural preservation and reconstruction.

This article also reviews recent phase I clinical trials in neural and nonneural cell transplantation, stressing that the transition from basic science to clinical applications.

Key Words: Spinal cord injury(SCI), Transplantation

서 론

급성 척수손상은 인체에 발생하는 치명적인 질환 중의 하나로 주로 젊은 연령의 사회적 활동이 왕성한 사람들에게서 발생하여 환자 개인에게 육체적 정신적 및 경제적인 커다란 부담을 줄 뿐 아니라, 사회적으로도 막대한 부담을 안기는 질병이다. 미국의 통계를 보면 매년 약 10,000명의 새로운 환자들이 발생하고 연간 1억달러 이상의 막대한 의료비가 소

Address for Correspondence: Hyung Chun Park, M.D.,
Department of Neurosurgery, Inha University College of Medicine,
7-206, Shinheung-dong 3-ga, Chung-gu, Inchon, Korea
Tel: 82-32-890-3508, Fax: 82-32-890-3099
E-mail: phchun@inha.ac.kr

요되는 질환이다. 최근의 역학조사에 의하면 주로 16세에서 30세 사이의 남성에서 발생하고, 점차로 발생 연령이 높아지는 경향을 보이며, 특히 완전 손상의 경우 젊은 연령의 남자환자에서 호발하는 것으로 조사되고 있다. 특히 완전 척수손상(American spinal injury association; ASIA grade A) 환자의 예후는 매우 불량하여 내원 당시 완전손상 환자의 경우 현재까지 어떠한 치료를 하더라도 1년 뒤 일부의 운동기능 회복을 기대할 수 있는 확률은 불과 8.1% 정도로 매우 낮다(Table 1).²²

비록 환자들이 정상적인 보행기능의 회복 및 일상생활로의 복귀를 원하나 현실적으로는 불가능하며, 따라서 현재 연구되고 있는 치료 방법들은 환자들의 삶의 질을 향상시키는 연구에 초점을 맞추고 있다. 즉, 약간의 신경기능의 호전만으로도 삶의 질을 향상시킬 수 있는데, 자기호흡의 회복과

Table 1. AIS grade changes from admission to 1year.²²(AIS: American spinal injury association impairment scale)

| | 1-year AIS grade | | | | |
|---------------------|------------------|--------|---------|---------|--------|
| Admission AIS grade | A | B | C | D | E |
| A(n=482) | 84.6% | 7.3% | 5.8% | 2.3% | 0% |
| B(n=129) | 7.8% | 19.4% | 38.0% | 33.3% | 1.5% |
| C(n=159) | 3.1% | 1.3% | 25.1% | 66.7% | 3.8% |
| D(n=72) | 0% | 0% | 1.4% | 94.4% | 4.2% |
| Total(n=842) | (n=423) | (n=62) | (n=118) | (n=228) | (n=11) |

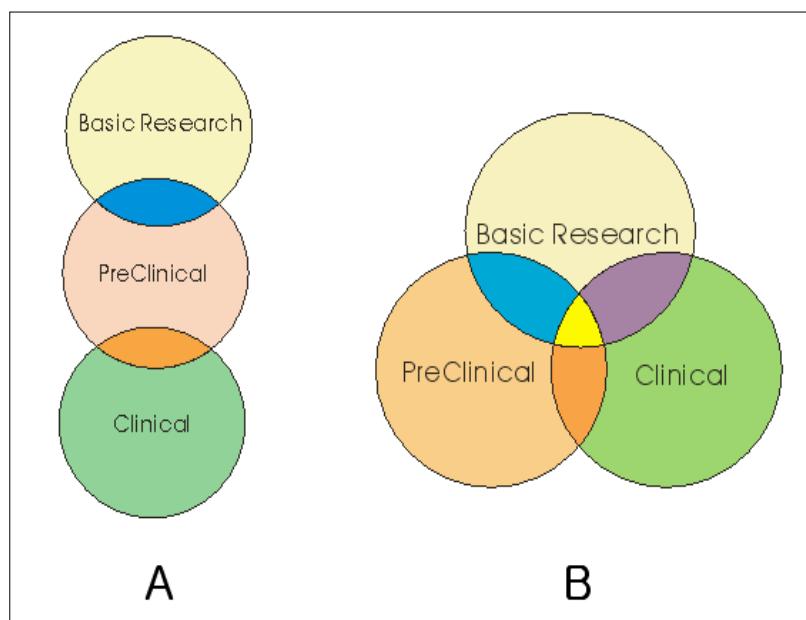


Fig. 1. Three basic steps are required to translate basic science into effective treatment for humans. **A:** Classical concept of serial steps required to clinical study(eg. Xenial®, Viagra®). **B:** Three steps must occur in parallel, if rapid transition to potential clinical therapies is desired(eg. Gleevec®). Spinal cord injury research is close to parallel study rather than serial study.

손의 균력회복 만으로도 비교적 독립적인 생활을 가능하게 하며, 배변 배뇨기능 및 성기능의 회복은 모든 척수손상환자들의 삶의 질 회복에 가장 중요하게 생각하는 부분으로 이에 대한 치료 방법의 개발은 환자의 삶의 질 개선과 만족도 증진에 중요한 요소가 될 것이다. 현재 매년 약 30%의 척수손상환자들은 척수손상의 합병증인 폐렴 및 요도감염, 골절, 욕창 등으로 입원치료를 필요로 한다. 따라서 환자들의 삶의 질을 향상시키고, 합병증의 병발을 예방할 수 있는

치료 방법의 개발이 절실히 요구되는 상태이다.

일반적으로 치료법의 개발에 이르는 연구 절차의 단계는 시험관 실험 및 소형동물에서의 치료 효과 판정을 기반으로 하는 기초연구(basic research), 중대형 동물을 대상으로 하는 안정성 및 효능 검사와 소수의 환자를 대상으로 하는 전임상과정(preclinical study)에 이어 본격적인 임상 연구 과정(clinical study)인 phase I, II, III 순서로 순차적으로 이루어진다. 그러나 척수손상은 매우 불량한 예후를 가지며 환자, 가족 및 사회에 미치는 사회경제적 부담의 심각성으로 인하여 기초 단계의 연구에서 임상 연구로의 진행이 매우 빠르고 일부의 경우 기초 단계의 연구와 임상 연구가 거의 동시에 이루어지기도 한다(Fig. 1).

특히 척수손상 치료법 개발의 임상 연구는 대량의 환자군을 대상으로 한 대형 임상실험으로 multicenter trial의 형태로 이루어지며 많은 시간과 비용이 요구된다. 이러한 임상 연구는 환자라는 연구 표본집단의 특성상 동물 실험과는 달리 다양한 변수를 통제하기가 힘들며, 실험동물과 인간과의 개체간의 생물학적 차이로 인하여 실제 효과적인 치료법을 발굴해내기는 매우 어렵다. 이러한 점 때문에 효과적인 치료법 개발을 위하여 임상의사와 실험 연구자간의 자유로운 의사소통과 개념의 공유가 필요하며, 이를 위하여 일부 선진 국의 경우 척수손상 연구소를 척수손상 환자 병동 내에 위치하게 하여 임상 연구와 실험 연구사이의 원활한 의사소통을 도모한다.

저자들 역시 척수손상의 치료법 개발이 신경외과 의사들만의 노력으로는 불가능하다는 사실에 착안하여 유전자치료, 줄기세포 연구, 인공조직 공학자 등 연관학문분야 연구자들과의 다학제간 연구를 통해 효율적인 연구 절차를 구성하고, 효과적인 치료 방법 개발에 노력하고 있다.

본 종설에서는 척수손상의 병태생리에 대하여 요약해 보고, 최근 급격하게 변화하고 있는 척수손상 환자의 치료 개념을 세포 치료를 중심으로 소개하고자 한다.

본 론

1. 병태생리(Pathophysiology)

1) 일차손상과 이차손상(Primary and secondary injury)

척수손상의 신경손상 기전을 설명하는 고전적인 이론으로 일차 손상(primary injury)이란 척추운동분절의 급격한 탈골과 골절편의 변위로 말미암아 발생하는 척수의 압박손상을 말한다. 대부분 압박손상의 형태로 발생하며, 척수의 완전한 횡절단(transection)은 매우 드물다. 일차 손상은 최초에 가속도를 가지며, 급격히 발생하는 척수압박과 이후 압박골편에 의하여 지속적으로 눌려서 발생하는 지연손상으로 구분된다. 예후에 영향을 미치는 인자로 척수압박에 가해지는 힘과 운동량, 압박기간, 척수의 편위 여부 등이다.²⁸ 이차손상(secondary injury)은 1911년 Allen이 개를 대상으로 한 실험에서 척수 내 혈종을 제거함으로써 신경기능의 회복을 확인하였는데, 그는 혈종 내에 있는 독성물질이 척수손상을 더욱 악화시키므로 혈종을 제거함으로써 신경기능의 회복을 촉진시킬 수 있다고 분석하였다. 최근의 발달된 신경과학으로 말미암아 일차 손상 후 생화학적인 기전의 활성화를 통해 지속적인 신경세포고사(apoptosis)가 촉발됨을 확인하여 이차손상이론을 뒷받침 해주고 있다.

2) 조직학적변화(Neuropathology)

손상받은 척수조직은 시간에 따라 출혈, 부종, 신경괴사, 신경축삭의 분절화(fragmentation), 탈수초화 등의 병리학적 변화를 보인다. 전자현미경으로 관찰해 보면 5분 이내에 정맥의 확장이 관찰되며, 15분에서 30분 사이에 점상 출혈과 축삭의 변화가 관찰된다. 1시간 이내에 핵파괴(chromatolysis)와 허혈성 변화를 척수전각세포(anterior horn cell)에서 관찰할 수 있다. 4시간 이내에 출혈성 괴사병소가 점차 커져서 척수의 종축으로 진행한다. 백질에도 괴사가 진행되어 스폰지양상의 괴사(spongiform necrosis)를 일으키고 축삭의 부종으로 말미암아 축삭 내부의 미토콘드리아, 신경세사(neurofilament) 및 소포체 등의 정체가 관찰된다. 초기에 다형핵 백혈구(PML: polymorphonuclear cells)의 침윤이 관찰되며, 수 일 내 이들 세포는 대식세포(macrophage)로 대치된다.³ 1주 이내에 중심부 괴사조직은 낭성변화(cystic change)를 하며, 4주 이내

에 이들 낭성 조직은 성상세포의 증식(gliosis)과 남아있는 축삭의 탈수초화의 진행등 만성 손상조직으로 변화한다(Fig. 2)¹⁰.

3) 혈관계의 변화(Systemic vascular change)

교감신경기능의 둔화로 말미암아 부교감신경의 상대적인 기능강화로 인하여 신경인성 속(neurogenic shock), 저맥(bradycardia), 저혈압, 심박출량 저하 등의 증상을 보인다. 손상 후 발생하는 척수조직의 저산소증은 아직까지 뚜렷한 기전은 규명되고 있지 않으나, 척수혈류의 자가조절 능력 소실과 noradrenalin과 같은 신경전달물질의 축적으로 인한 혈관연축(vasospasm)으로 인하여 발생하는 것으로 보인다.¹² 동물실험에서도 척수압박으로 인한 저혈류 현상을 조기에 회복시킴으로써 신경기능의 회복을 촉진시킬 수 있음을 알 수 있다.

2. 세포내부의 생화학적 변동(Biochemical alterations)

척수외상은 신경세포의 세포막을 통한 이온이동의 변화를 초래한다. Sodium-potassium intracellular balance의 붕괴는 세포부종, 세포내 산성화, 세포내 칼슘의 축적을 야기하여 궁극적으로 세포사멸을 야기한다. 척수손상 초기에 유입된 칼슘은 미토콘드리아의 ATP 생산을 억제하고, free radical의 생산을 촉진한다. 이렇게 형성된 free radical은 결과적으로 세포막파괴, 혈소판 응집, 혈관연축 및 lysosome내의 소화효소를 분비하여 세포사망을 야기한다⁸.

1) 신경세포의 사멸(Apoptosis)

Apoptosis는 유전적으로 프로그래밍 된 세포사망의 한 형태로 apoptosis과정에 관여하는 특이 단백질의 합성으로부터 시작된다. 조직학적으로 핵의 분절화(nuclear fragmentation)로 인한 호염기성 세포핵내 봉입체(inclusion body)를 관찰 할 수 있다. 세포부종과 핵내 봉입체 형성 없이 핵위축이 나타나는 세포괴사(necrosis)와는 달리 apoptosis는 세포질의 위축과 대식세포에의 포식현상이 관찰된다. 척수손상에서도 apoptosis가 관찰되는데, 주로 oligodendrocyte, microglia 및 neuron에서 나타나며 손상 후 발생하는 Wallerian degeneration의 발생기전의 하나로 설명되기도 한다¹¹.

2) 흥분독성(Excitotoxicity)

흥분성 신호전달물질인 glutamate와 aspartate의 과도한 분

비로 인하여 세포사망이 촉진되는 현상을 말한다. 저산소증에 의한 신경세포사망에 glutamate가 관여한다. 척수조직에 glutamate를 주사하면 주입부위 주변으로 신경세포의 감소를 관찰할 수 있다³². Glutamate는 NMDA 수용체와 결합하여 apoptosis를 유발하는 것으로 알려져 있다. NMDA 수용체 길항제인 MK-801은 apoptosis를 감소시키는 효과를 가지며, 척수신경기능회복을 촉진시키는 것으로 알려져 있다.

3) Free radical injury

Oxygen free radical과 lipid peroxidation은 척수조직으로의 혈류량 감소, 부종, energy metabolism의 변화를 야기하여 신경손상을 악화시킨다. 약물치료제를 이용한 Oxygen free radical과 lipid peroxidation의 억제 효과는 현재 동물 및 임상실험 중에 있다¹⁴.

그밖에도 척수손상으로 인하여 발생하는 척수조직내의 세포 생리학적 변화는 매우 다양하여 신경생물학의 발전으로 하나씩 그 베일을 벗겨가고 있는 중이고, 각각의 병태생리과정에 대한 약물 치료제의 개발 역시 다국적 제약회사들을 중심으로 이루어지고 있다.

3. 약물치료(Pharmacological therapies)

1) Methylprednisolone

Methylprednisolone은 척수손상 이후 신경예후를 개선시키는 효과가 있다고 알려진 최초의 약물이다. Methylprednisolone은 급성기 척수손상의 병태생리 과정 중 면역 및 염증반응을 감소시키고, 과홍분성과 지질과산화로 인한 조직손상을 억제시키는 목적으로 개발되었다. 임상실험(National acute spinal cord injury study 2; NASCIS-2)에서 methylprednisolone (30 mg/kg IV bolus, 5.4 mg/kg/hr for 23 hrs)은 초기 손상 8시간 이내에 치료가 시작될 경우 naloxone, placebo 보다 신경기능의 개선 효과가 있음을 보였다^{4,6,34}. 그러나 운동기능의 개선 효과는 매우 미약하다는 실망스런 결과를 보이기도 하였다. Steroid의 작용기전은 세포막의 안정성을 증가시키고, lipid peroxidation을 감소시키며, 항염증작용과 척수부종의 감소효과를 가진다. 그러나 고용량의 methylprednisolone 치료에 따르는 각종 심각한 부작용(감염, 창상치유 지연, 위장관 파열 등)으로 말미암아 많은 연구자들이 고용량 methylprednisolone 치료법의 문제점을 제기하고 있다.

2) Tirilazad mesylate

Tirilazad mesylate는 합성 21-aminosteroid로 lipid peroxidation의 강력한 억제제로 알려져 있다. 동물실험에서 Tirilazad는 세포막의 안정성을 증가시키며, oxygen radical의 합성억제와 lipid peroxidation을 억제하여 척수혈류를 개선시키는 효과를 보였다². NASCIS-3에서 24시간 methylprednisolone 투약군, 48시간 methyprednisolone 투약군 및 48시간 Tirilazad 투약군의 치료 효과를 비교하였는데, 48시간 methylprednisolone 치료군의 치료 효과가 가장 뛰어났으며, Tirilazad는 methylprednisolone에 비하여 부작용이 적다는 장점이 있으나, 치료 효과는 48시간 methylprednisolone 치료군의 효과에 비하여 떨어지는 것으로 평가되고 있다⁷.

3) Gangliosides

Acidic glicolipd로 신경 세포막의 주된 구성 성분 중 하나이다. 중추신경세포에 주로 분포며 세포이중막의 바깥쪽에 주로 분포한다. Ganglioside는 신경세포 재생을 촉진하여 신경기능회복을 촉진시키는 것으로 알려져 있다. 시험관 실험에서 GM-1 ganglioside는 특히 흥분성 아미노산에 의하여 유발되는 신경독성에 효과가 좋은 것으로 알려져 있다²⁷. 임상실험에서도 척수손상 후 신경기능의 회복 효과가 있음이 확인되었다. 100 mg의 GM-1 ganglioside를 손상 후 18일에서 32일 사이에 매일 주사 받은 환자들에게 신경기능의 회복을 확인하였다¹⁶. 특히 척수완전손상 환자(AIS grade A) 보다는 불

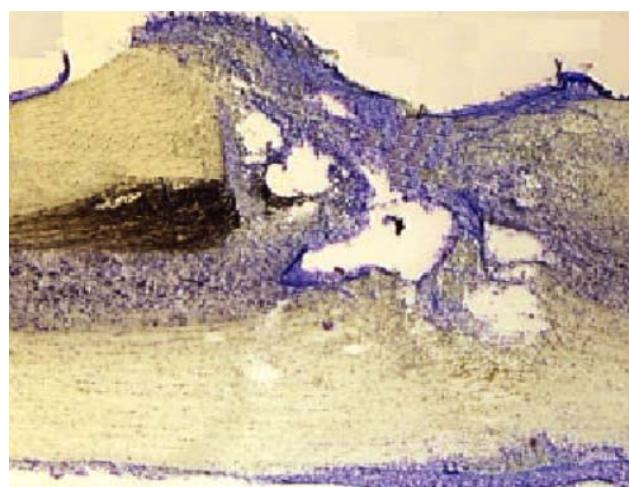


Fig. 2. Pathologic findings of chronic stage spinal cord injury. Glial scar and cystic degeneration block axonal regeneration.

완전손상 환자들에게서 운동기능, 감각기능의 회복 뿐 아니라, 내장 및 방광기능의 회복을 촉진시키는 것으로 알려져 있다¹⁵.

4) IN-1

척수손상 후 손상 부위내의 신경축삭의 재생은 매우 어렵다. 이는 손상조직에서 나오는 myelin associated protein이 신경 축삭의 재생을 억제하기 때문으로 동물실험에서 myelin associated protein에 대한 중화항체(neutralizing antibody)인 IN-1을 처리하여 신경축삭의 재생이 촉진됨을 확인하였다.³⁰ Myelin associated protein은 백질의 oligodendrocyte의 과괴에 의하여 생산되며, 이에 대한 중화항체인 IN-1을 주사 함으로써 축삭의 재생 뿐만 아니라, 신경기능 회복을 촉진시킬 수 있다. 최근에는 IN-1과 함께 acidic fibroblastic growth factor(aFGF)와 같은 성장촉진인자를 동시에 주입하여 치료효과를 강화시킬 수 있음을 보고하고 있다.

5) 신경세포 성장촉진인자(Neurotrophin)

신경세포 성장촉진인자는 척수손상 부위 신경세포의 생존을 증가시키고 신경축삭의 재생을 촉진시킨다. Nerve growth factor(NGF), brain-derived neurotrophic factor(BDNF), neurotropin-3(NT-3)와 같은 성장촉진인자는 손상으로부터 신경세포의 생존능력을 강화시킴이 입증되었다²³. 신경세포 성장촉진인자는 축삭의 성장을 촉진할 뿐 아니라, 신경전달물질의 생합성에 관여하는 중요 효소(key enzyme)의 합성을 증가시킴으로써 척수손상으로 인한 신경연접(synapse)의 감소에 따른 신경전달물질 감소에 보상작용을 한다. BDNF와 NT-3를 동시에 주입하여 oligodendrocyte의 myelination 촉진 현상이 관찰된다. FGF는 손상된 신경의 생존을 촉진시키는 효과 외에도 손상조직의 혈관재생을 촉진시키는 효과를 보인다. 신경세포 성장촉진인자와 FGF의 동시 투약은 손상조직의 범위를 축소시키고²⁵, 신생 혈관의 숫자를 증가시키고 신경기능의 회복을 촉진시킨다.

6) 이식수술(Transplantation)

척수손상 치료의 중요한 방법 중의 하나이며, 최근 가장 활발하게 연구되고 있는 분야로 중추신경계의 자체 재생능력의 한계로 인하여 보충되지 못하는 손상된 신경세포를 외부에서 보충해 주는 치료 방법이다. 최근 가장 활발하게 연구되고 있는 이식세포로는 슈반세포, olfactory ensheathing

cell, 성체줄기세포, 태아 신경세포 및 배아줄기세포 등이다. 이중 가장 많이 연구되고 있는 세포인 배아줄기세포, olfactory ensheathing cell 및 본 연구자들이 연구하고 있는 분야인 골수줄기세포의 기초 및 임상 연구 현황에 대하여 알아보겠다.

배아줄기세포는 노화현상없이 자기분열과 종식 및 다양한 종류의 자손세포를 만들어내는 다형성능(pluripotency)를 가지는 세포로서 상실기(blastocyst)의 inner cell mass로부터 분리한 세포이다²⁹. 배아줄기 세포는 이론적으로 모든 종류의 세포로 분화가 가능하며, retinoic acid를 처리하면 신경세포로의 분화도 가능하다¹⁹. 이렇게 분화를 유도한 세포를 척수신경 손상동물의 신경조직내에 이식하면 대부분 oligodendrocyte로 분화되는 것이 확인된다²¹. 또한 이식 후 신경기능의 회복촉진도 관찰할 수 있다. 그러나 아직까지 윤리적인 문제가 해결되지 않고 있으며, 끊임없는 자기분열 능력으로 인한 악성 종양의 발생 위험 때문에 아직까지 임상 이용에는 많은 어려움을 보이고 있다. 그러나 향후 의학기술의 발전여부에 따라서 가장 효과적이고, 안전한 이식세포로 이전될 가능성성이 매우 높다.

현재 세계적으로 제한된 수의 연구자들을 중심으로 척수손상 환자를 대상으로 한 임상연구가 진행되고 있다(Table 2). 많은 사회적, 법률적인 제약과 식품의약품 안정청(Food and drug administration)의 공식적인 허가를 받아야 하는 어려움 속에서도 끊임없는 시도들이 있어왔다. Reir 등은 만성 척수손상 환자를 대상으로 신경이식 임상 연구를 시도하였는데, 8명의 만성 척수손상 환자를 대상으로 human fetal spinal cord tissue 이식술을 시행하였다. 아직까지 장기간 추적관찰 결과는 발표되고 있지는 않으나, 시술에 따른 부작용 및 합병증이 거의없는 비교적 안전한 방법으로 보고되고 있다^{31,33}. Craig Hospital(Denver, Co)의 Falci 등과 Karolinska institute는 진행성 척수공동증(progressive syringomyelia) 환자에게서 척수공동증의 진행을 막기 위해 fetal spinal cord cell을 척수공동내에 주입하는 임상실험을 시행하고 있다^{1,13}. Cord detethering 을 이식과 같이 시행하여 6 cm의 공동을 없앨 수 있다고 보고하였다. Washington대학의 McDonald와 Albany group은 만성기 척수손상 환자에게 fetal pig spinal cord로부터 추출한 oligodendrocyte precursor cell 이식의 phase I 임상 연구를 끝낸 상태이다. oligodendrocyte 이식술의 목적은 신경축삭의 재생에 있어 축삭의 myelination 과정이 필요하기 때문이다. 이미 동물실험을 통하여 oligodendrocyte precursor 이식이 신경축삭의 재생을 촉진시키고 신경기능 회복을 촉진한다는 보

Table 2. Groups evaluating the safety of neurotransplantation

| Purpose | Cellular Source | Outcome | Centers |
|---|--|------------------------|--|
| Safety of human fetal spinal cord transplantation in chronic SCI with progressive syringomyelia | Human fetal spinal cord(embryonic week 6~9) | Safe | - Gainseville, FL - Thompson et al., 1998 - Wirth et al., 1999 |
| Safety of stem cell transplantation in chronic SCI | Porcine fetal spinal cord oligodendrocyte progenitor | In progress | - Washinton University, St. Louis, MO - Albany, NY |
| Safety of macrophage transplantation in acute SCI | Autologous activated macrophage | In progress (phase II) | - Proneuron biotechnology - Craig Hospital, Denver, CO - Mount Sinai Hospital, New York - Kessler Institute, New Jersey |
| Safety of OEG transplantation in chronic SCI | Autologous peripheral OEG and Schwann cell | In progress | - Carlos Lima, Lisbon, Portugal |
| Safety of OEG transplantation in Chronic SCI | Autologous central OEG cells | In progress | - Brisbane, Australia |
| Safety of Bone marrow cells transplantation in acute SCI | Autologous bone marrow cells and GM-CSF | In progress | - Yonsei University, Seoul, Korea - Inha Univerisity, Inchon, Korea |

SCI: spinal cord injury, OEG: olfactory ensheathing glial cells, GM-CSF: Granulocyte macrophage colony stimulating factor

고가 있으나, 현재까지의 임상 연구 결과는 신경기능 회복의 긍정적인 결과는 보고되고 있지 않고, 다만 우려했던 여러 가지 합병증의 병발은 없는 것으로 알려지고 있다.

현재 진행되고 있는 Phase I 임상 연구로 슈반세포와 Olfactory ensheathing glial cell(OEG)을 이용한 myelination 촉진 임상연구이다. 1994년 동물의 dorsal root 손상 후 신경재생을 촉진시킨다는 보고 이후 OEG에 대한 광범위한 연구가 이루어지고 있다. 척수완전손상 모델에서도 OEG가 신경로(tract)의 재생을 촉진시키는 것으로 보고되고 있다. 또한 급성손상뿐 아니라, 아급성(subacute) 신경손상에서도 효과가 보고되고 있으며, 현재 임상적으로 광범위하게 사용되는 약제인 methylprednisolone과의 병행치료에도 효과를 보이고 있어 많은 임상 연구자들로부터 주목을 받고 있다.

OEG는 다른 일반적인 glial cell과는 달리 일생을 두고, 지속적으로 분열하는 세포로서 배아줄기세포와는 달리 종양형성 가능성이 없으며, 자가세포이식이라는 장점을 가진다. 이러한 장점은 동물실험의 양호한 결과를 바탕으로 인체를 대상으로 한 임상 연구에 쉽게 진입할 수 있도록 하였다. 현재 호주, 포루투갈 및 중국에서 만성기 척수손상 환자를 대상으로 한 임상 연구가 진행 중으로 일부에서는 신경증상의 개선을 보고하고 있다.

세포치료기업인 ProNeuron(<http://www.proneuron.com>)은 급

성척수손상 환자를 대상으로 말초혈액 대식세포를 cytokine으로 처리한 activated macrophage 세포이식을 연구하고 있다. Activated macrophage는 앞서 언급한 바와 같이 신경재생을 억제하는 것으로 알려진 myelin debris를 조기에 제거시킴으로써 치료효과를 얻고자 하는 것으로 현재 phase II 임상연구 단계에 있다. 기존의 다른 임상 연구가 만성기 척수손상 환자를 대상으로 한 점과는 달리 activated macrophage 이식술은 급성기 척수손상 환자를 대상으로 연구를 진행 중이다. 그러나 이미 신경증상이 고착되어 있는 만성기와는 달리 급성기 척수손상 환자의 경우 임상경과가 매우 다양하기 때문에 회복의 정도를 비교하여 평가하는 기준을 만들기 매우 어려운 단점이 있다.

본 연구진들은 척수손상 부위에 자가골수세포이식 및 비교적 안정성이 입증되어 있는 약물인 GM-CSF를 이용하여 현재 기초 단계의 연구와 본격적인 임상 연구에 들어가기 위한 준비단계로 소수의 환자를 대상으로 한 안정성 연구를 시행하고 있다. 골수 내에 풍부하게 존재하는 골수 줄기세포는 현재까지 혈액질환의 치료를 위한 골수이식에 이용되고 있다. 최근 골수줄기 세포가 적절한 환경조건을 맞추어주면 혈액세포 뿐만 아니라, 근육세포, 피부세포, 간세포, 심근세포 및 신경세포로의 분화가 가능하다는 연구 결과들이 잇달아 발표되고 있다²⁰. 이러한 형질전환 현상은 동물에서만 아니

라 인간의 골수줄기세포에서도 발견되는데, Mezey 등은 악성 백혈병으로 골수이식을 받은 환자의 사망 후 뇌조직 내에서 공여자의 골수로부터 유래된 신경세포의 존재를 규명하

여 인간의 신경질환의 치료에 골수세포를 이용할 수 있는 실증적 근거를 제시하기도 하였다²⁴.

앞서 소개한 배이줄기세포나 fetal spinal cord를 이용한 척수손상의 치료에 비하여 골수줄기세포는 여러 가지 장점을 가진다. 자신의 골수세포를 이용함으로써 allogeneic cell 이식에서 발생하는 거부 반응, 이식편대 숙주반응 등의 합병증을 원천적으로 피할 수 있다. 골수줄기 세포와 같은 성체줄기 세포는 배이줄기세포 치료의 문제점으로 항상 대두되고 있는 악성종양 생성의 가능성이 없다. 또한 1950년대부터 이루어진 골수 이식수술로 말미암아 광범위한 임상연구데이터 및 기초 연구 결과들이 축적되어 있어 비교적 짧은 기간 내에 임상 연구를 시행할 수 있다는 장점을 가진다.

현재 본 연구진을 비롯하여 미국, 일본, 스웨덴을 중심으로 골수세포를 이용한 척수손상 치료법의 개발의 동

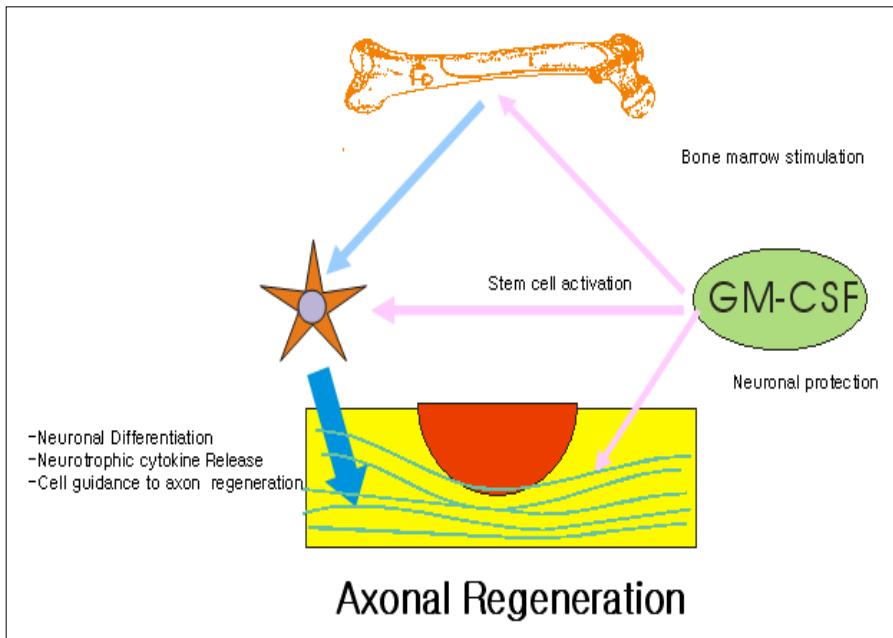


Fig. 3. Therapeutic principles of autologous bone marrow cell transplantation with GM-CSF treatment.

Fig. 4. Expression of anti-human nuclear antibody(MAB 1281), nestin, glial fibrillary acidic protein(GFAP) and microtubule-associated protein 2(MAP-2) in the injured spinal cord[transplanted with bromodeoxyuridine (BrdU) incorporated HUCB]. **a)** MAB1281 antigens are found in injured spinal cord tissue suggesting transplanted HUCB cells are integrated well in rat spinal cord. **b)** Double immunohistochemical staining with MAB1281 and anti-nestin antibody shows transplanted HUCB form nestin expressing cell clusters. **c)** Double immunohistochemical staining with MAB1281 and anti-GFAP anti-body shows some transplanted HUCB differentiate astrocytes. **d-i)** Immunofluorescent Rhodamine(red) shows that anti-BrdU-reactive HUCB(**e, h)** express phenotypes of astrocytic marker GFAP(**d**) and neuronal marker MAP-2(**g**) in the recipient rat spinal cord. Laser confocal image shows that colocalization of immunofluorescent labels GFAP and BrdU(**f**), MAP-2 and BrdU(**i**). Approximately 2% of BrdU-reactive cells expressed GFAP(astrocytes) and less than 1% expressed MAP-2(neurons). Bar=10 μm

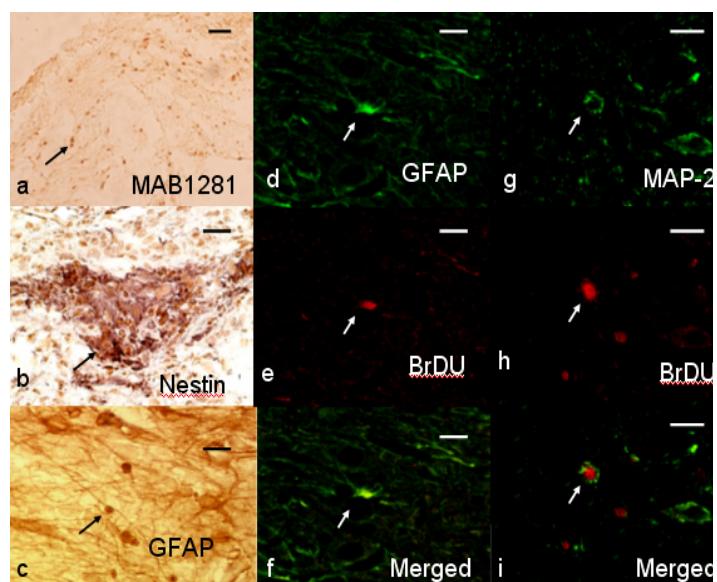


Table 3. Inclusion and exclusion criteria of autologous bone marrow cell transplantation with GM-CSF treatment for spinal cord injury patients.(modified from ProNeuron© study)**Inclusion Criteria**

- Traumatic spinal cord injury(within 14 days)
- Age between 16 and 65
- Complete spinal cord injury(ASIA Grade A)
- A single spinal cord lesion with last fully preserved neurological level from C-5 to T-11
- The location and size of the injury can be determined by MRI
- Informe consent obtained and consent form signed

Exclusion Criteria

- More than 14 days have elapsed since the injury
- Women who are pregnant or lactating
- Coma
- penetrating trauma
- Fever(temp. above 38.4°C) within the last 24 hours
- Ventilator assistance within the last 24 hours
- Anatomic transection of the cord visualized by MRI
- The longitudinal dimension of the injury determined by MRI is larger than 3 centimeters
- Serious pre-existing medical conditions
- Any disease, concomitant injury, condition or treatment that interferes with the performance or interpretation of the neurological examinations
- Patient is unlikely to be available for follow-up as specified in the protocol

Table 4. Summary of cases(AIS: American spinal injury association impairment scale)

| | Case 1 | Case 2 | Case 3 |
|--|---------------------|---------------------|---------------------|
| Frankel grade (72hr after admission) | A | B | A |
| AIS*grade (72hr after admission) | A | A | A |
| Time to AIS grade B (weeks after trauma) | 3 | 2(13days) | 8 |
| Time to AIS grade C (months after trauma) | 3 | 3 | 4 |
| Follow up duration(months) | 5 | 4 | 6 |
| Last F/U AIS grade | C | C | C |
| MRI | enhancement | enhancement | Increase T2 signal |
| Complication | Fever, leukocytosis | Fever, leukocytosis | Fever, leukocytosis |

물연구가 진행되고 있으며, 현재 크게 세 가지 기전으로 신경기능을 개선시키는 것으로 요약할 수 있다(Fig. 3). 첫째, 척수 손상조직에 이식된 골수세포는 신경세포 혹은 myelin 생성세포로 분화되어 기능회복을 촉진시킨다. Chopp 등은 척수손상 조직에 이식된 골수세포로 부터 신경세포 특

이 단백질의 발현을 확인하였고⁹, Sasaki 등은 골수 세포가 myelin 형성을 촉진하는 것을 검증하였다. 본 연구진도 골수줄기 세포와 유래가 같은 제대혈을 척수손상 부위에 이식하여 이식된 세포로부터 신경세포로의 분화를 확인할 수 있었다(Fig. 4).²⁶ 둘째, 이식된 세포로부터 분비되는 세포외 기질(extracellular matrix)¹⁰ 축삭재생을 인도하는 역할을 한다. Hofstetter 등은 척수손상 부위에 이식한 골수세포가 신경으로 분화하기 보다는 신경축삭의 재생을 보조하는 역할을 할 것으로 보았다.¹⁷ 셋째, 이식한 골수세포에서 분비되는

각종 cyto- kine¹¹ 기존에 척수 내에 존재하는 endogenous stem cell의 분화와 분열을 자극하여 신경기능 회복을 촉진시킨다.

본 연구진은 골수에서 채취한 혈액 중 단핵구를 농도구획법을 이용하여 분리하여 이식에 이용하였다. 이는 단순히 단

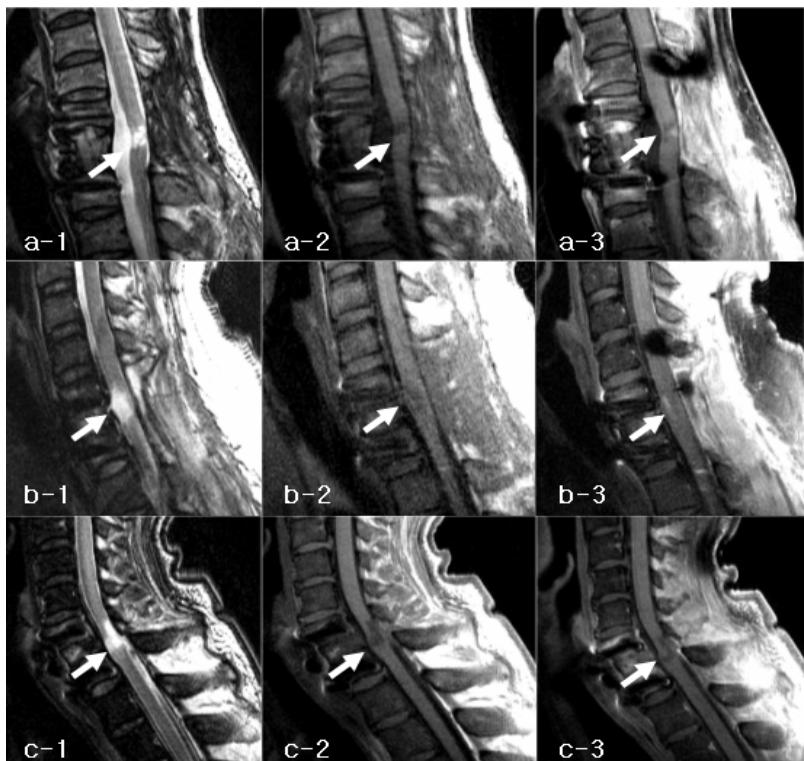


Fig. 5. Follow-up MRI findings of the patients treated with autologous bone marrow cell transplantation(a, b) and GM-CSF(c). (a-1) Sagittal T₁W MRI, (a-2) corresponding postcontrast image and (a-3)sagittal T₂W MRI images at 5 months postoperatively in case 1, showing a small patch enhancement in the bone marrow cell transplantation area. (b-1) Sagittal T₁W MRI, (b-2) corresponding postcontrast image and (b-3) sagittal T₂W MRI images at 4 months postoperatively in case 2, showing a small linear enhancement in the bone marrow cell transplantation area. (c-1) Sagittal T₁W MRI, (c-2) corresponding postcontrast image and (c-3) sagittal T₂W MRI images in case 3(GM-CSF treatment only), showing a small non-enhanced well defined cyst in the cord, which is associated with a slight cord expansion and adjacent myelomalacia.

핵구 세포만을 분리해서 사용함으로써 시험관내 배양 및 조작에 따르는 세포변형 및 유전자변이의 가능성을 없애고, 신선한 세포를 사용함으로써 세포의 생활성도를 높게 유지할 수 있기 때문이다. 아울러 현재 대한민국 식품의약품 안정청(Korea drug and food administration; KFDA)에서는 조작된 세포의 의학적 사용을 엄격히 금지하고 있다. 수술 전 후로 american spinal cord injury association의 분류를 이용하여 수상 후 2주 이내의 AIS grade A 환자를 대상으로 하였다. 저자들의 임상 연구 대상은 미국에서 시행중인 급성 척수손상 임상 연구의 기준을 응용하여 만들었으며, 내용은 Table 3에 요약되어있다.

현재 6명의 환자에게 시술이 이루어졌으며, 이중 4개월 이상 환자는 3인으로 이들 모두 AIS grade C로 호전되었으며, 수술 및 약물 치료와 연관된 합병증 및 부작용은 없었다(Table 4).

물론 현재까지의 임상 결과만으로는 골수세포 이식술의 치료 효과를 단정지을 수는 없다. 그러나 모든 환자에게서 수술과 연관된 단기간 합병증의 병발이 관찰되지 않고, 수술 후 신경기능의 악화가 없었다는 점에서 비교적 안전한 수술 방법으로 인정될 수 있을 것으로 사료된다.

본 연구진은 수술 4개월 후 시행한 MRI촬영 결과에서 최수 세포 이식부위에 조영증강을 확인할 수 있었는데(Fig. 5), 이는 줄기세포의 임상 치료에서 중요한 문제가 되고 있는 이식한 줄기세포의 장기간 생존 여부에 대한 증거의 하나로 제시될 수 있는 소견으로 보인다.

본 연구진은 골수세포 이식 뿐만 아니라, 골수조혈줄기세포의 분열 및 분화에 중요한 역할을 하는 것으로 알려진 세포 성장인자인 GM-CSF를 동시에 투여하였다. GM-CSF는 현재까지 혈액세포에 미치는 영향에 대한 연구는 광범위하게 이루어 졌으나, 신경계에 미치는 영향에 대하여서는 연구가 미진한 상태이다. 그러나 GM-CSF가 신경세포의 apoptosis를 억제 효과가 있는 등 GM-CSF가 직접적으로 척수신경 기능을 보호하는 역할을 하고 있어 향후 GM-CSF의 신경보호작용과 임상응용에 대하여 광범위한 연구가 필요할 것으로 사료된다¹⁸.

결 론

이상으로 척수손상 환자의 치료에 대한 세계의 연구 동태와 본 연구진의 일부 연구 결과를 중심으로 요약해 보았다. 현재 척수손상 환자의 치료를 어렵게 하는 요인으로는 myelin

associated inhibitor와 같은 신경축삭의 재생을 봉쇄하는 물질, 손상 받은 신경조직을 치유할 만한 충분한 양의 줄기세포가 척수조직 내에 존재하지 않는다는 점, 상처 반흔조직 형성으로 인한 축삭재생의 봉쇄와 비록 이러한 난관을 뚫고, 신경축삭이 재생되더라도 올바른 신경로를 찾아서 바른 신경연접을 이루기가 어렵기 때문이다. 아직까지의 연구결과와 임상결과는 완전한 척수신경 재생에는 실망스러운 점이 있다. 그러나 약간의 신경기능의 호전만으로도 환자의 삶의 질은 크게 향상될 수 있다는 점은 적극적인 기초 및 임상 연구의 필요성을 제시한다. 또한 세포치료 뿐만 아니라, 약물치료, 신경 전기 자극장치 등 다양한 방법의 연구는 향후 척수손상 환자에게 새로운 희망을 줄 것으로 생각된다.

REFERENCES

- Akesson E, Holmberg L, Jonhagen ME, Kjaeldgaard A, Falci S, Sundstrom E, et al: Solid human embryonic spinal cord xenografts in acute and chronic spinal cord cavities: A morphological and functional study. *Exp Neurol* 170:305-316, 2001
- Anderson DK, Hall ED, Braughler JM, McCall JM, Means ED: Effect of delayed administration of U74006F (tirilazad mesylate) on recovery of locomotor function after experimental spinal cord injury. *J Neurotrauma* 8:187-192, 1991
- Balentine JD, Greene WB: Ultrastructural pathology of nerve fibers in calcium-induced myelopathy. *J Neuropathol Exp Neurol* 43:500-510, 1984
- Bracken MB: Treatment of acute spinal cord injury with methylprednisolone: results of a multicenter, randomized clinical trial. *J Neurotrauma* 8 Suppl 1:S47-50; discussion S51-42, 1991
- Bracken MB, Holford TR: Effects of timing of methylprednisolone or naloxone administration on recovery of segmental and long-tract neurological function in NASCIS 2. *J Neurosurg* 79:500-507, 1993
- Bracken MB, Shepard MJ, Collins WF, Jr., Holford TR, Baskin DS, Eisenberg HM, et al: Methylprednisolone or naloxone treatment after acute spinal cord injury: 1-year follow-up data. Results of the second National Acute Spinal Cord Injury Study. *J Neurosurg* 76:23-31, 1992
- Bracken MB, Shepard MJ, Holford TR, Leo-Summers L, Aldrich EF, Fazl M, et al: Administration of methylprednisolone for 24 or 48 hours or tirilazad mesylate for 48 hours in the treatment of acute spinal cord injury. Results of the Third National Acute Spinal Cord Injury Randomized Controlled Trial. National Acute Spinal Cord Injury Study. *Jama* 277:1597-1604, 1997
- Braughler JM, Hall ED: Involvement of lipid peroxidation in CNS injury. *J Neurotrauma* 9(Suppl 1):S1-7, 1992
- Chopp M, Zhang XH, Li Y, Wang L, Chen J, Lu D, et al: Spinal cord injury in rat: Treatment with bone marrow stromal cell transplantation. *Neuroreport* 11:3001-3005, 2000
- Dohrmann GJ, Wagner FC, Jr., Wick KM, Bucy PC: Fine structural alterations in transitory traumatic paraplegia. *Proc Veterans Adm Spinal Cord Inj Conf* 18:6-8, 1971
- Emery E, Aldana P, Bunge MB, Puckett W, Srinivasan A, Keane RW, et al: Apoptosis after traumatic human spinal cord injury. *J Neurosurg* 89:911-920, 1998
- Faden AI, Jacobs TP, Mougey E, Holaday JW: Endorphins in experimental spinal injury: therapeutic effect of naloxone. *Ann Neurol* 10:326-332, 1981
- Falci S, Holtz A, Akesson E, Azizi M, Ertzgaard P, Hultting C, et al: Obliteration of a posttraumatic spinal cord cyst with solid human embryonic spinal cord grafts: first clinical attempt. *J Neurotrauma* 14:875-884, 1997
- Francel PC, Long BA, Malik JM, Tribble C, Jane JA, Kron IL: Limiting ischemic spinal cord injury using a free radical scavenger 21-aminosteroid and/or cerebrospinal fluid drainage. *J Neurosurg* 79:742-751, 1993
- Geisler FH, Coleman WP, Grieco G, Poonian D: The Sygen multicenter acute spinal cord injury study. *Spine* 26:S87-98, 2001
- Geisler FH, Dorsey FC, Coleman WP: Recovery of motor function after spinal-cord injury - a randomized, placebo-controlled trial with GM-1 ganglioside. *N Engl J Med* 324:1829-1838, 1991
- Hofstetter CP, Schwarz EJ, Hess D, Widenfalk J, El Manira A, Prockop DJ, et al: Marrow stromal cells form guiding strands in the injured spinal cord and promote recovery. *Proc Natl Acad Sci USA* 99:2199-2204, 2002
- Kannan Y, Moriyama M, Sugano T, Yamate J, Kuwamura M, Kagaya A, et al: Neurotrophic action of interleukin 3 and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor on murine sympathetic neurons. *Neuroimmunomodulation* 8:132-141, 2000
- Kawamorita M, Suzuki C, Saito G, Sato T, Sato K: In vitro differentiation of mouse embryonic stem cells after activation by retinoic acid. *Hum Cell* 15:178-182, 2002
- Krause DS: Plasticity of marrow-derived stem cells. *Gene Ther* 9:754-758, 2002
- Liu S, Qu Y, Stewart TJ, Howard MJ, Chakrabortty S, Holekamp TF, et al: Embryonic stem cells differentiate into oli-

- godendrocytes and myelinate in culture and after spinal cord transplantation. *Proc Natl Acad Sci USA* **97**:6126-6131, 2000
- 22. Marino RJ, Ditunno JF, Jr., Donovan WH, Maynard F, Jr.: Neurologic recovery after traumatic spinal cord injury: Data from the Model Spinal Cord Injury Systems. *Arch Phys Med Rehabil* **80**:1391-1396, 1999
 - 23. McTigue DM, Horner PJ, Stokes BT, Gage FH: Neurotrophin-3 and brain-derived neurotrophic factor induce oligodendrocyte proliferation and myelination of regenerating axons in the contused adult rat spinal cord. *J Neurosci* **18**: 5354-5365, 1998
 - 24. Mezey E, Key S, Vogelsang G, Szalayova I, Lange GD, Crain B: Transplanted bone marrow generates new neurons in human brains. *Proc Natl Acad Sci USA* **100**:1364-1369, 2003
 - 25. Moccetti I, Wrathall JR: Neurotrophic factors in central nervous system trauma. *J Neurotrauma* **12**:853-870, 1995
 - 26. Sasaki M, Honmou O, Akiyama Y, Uede T, Hashi K, Kocsis JD: Transplantation of an acutely isolated bone marrow fraction repairs demyelinated adult rat spinal cord axons. *Glia* **35**:26-34, 2001
 - 27. Skaper SD, Leon A: Monosialogangliosides, neuroprotection, and neuronal repair processes. *J Neurotrauma* **9**(Suppl 2): S507-516, 1992
 - 28. Stokes BT: Experimental spinal cord injury: A dynamic and verifiable injury device. *J Neurotrauma* **9**:129-131; discussion 131-124, 1992
 - 29. Suda Y, Suzuki M, Ikawa Y, Aizawa S: Mouse embryonic stem cells exhibit indefinite proliferative potential. *J Cell Physiol* **133**:197-201, 1987
 - 30. Tatagiba M, Brosamle C, Schwab ME: Regeneration of injured axons in the adult mammalian central nervous system. *Neurosurgery* **40**:541-546; discussion 546-547, 1997
 - 31. Thompson FJ, Reier PJ, Uthman B, Mott S, Fessler RG, Behrman A, et al: Neurophysiological assessment of the feasibility and safety of neural tissue transplantation in patients with syringomyelia. *J Neurotrauma* **18**:931-945, 2001
 - 32. Wada S, Yone K, Ishidou Y, Nagamine T, Nakahara S, Niijima T, et al: Apoptosis following spinal cord injury in rats and preventative effect of N-methyl-D-aspartate receptor antagonist. *J Neurosurg* **91**:98-104, 1999
 - 33. Wirth ED, 3rd, Reier PJ, Fessler RG, Thompson FJ, Uthman B, Behrman A, et al: Feasibility and safety of neural tissue transplantation in patients with syringomyelia. *J Neurotrauma* **18**:911-929, 2001
 - 34. Zur Nieden NI, Kempka G, Ahr HJ: In vitro differentiation of embryonic stem cells into mineralized osteoblasts. *Differentiation* **71**:18-27, 2003