

관절연골 재생을 위한 골수유래 중간엽 줄기세포의 특이적 케모카인

연세대학교 BK21 의과학 사업단¹, 연세대학교 의과대학 정형외과학교실²

박민성^{1,2} · 김윤희² · 이진우^{1,2}

Mesenchymal Stem Cell-Specific Chemokines for Articular Cartilage Repair

Min Sung Park^{1,2}, Yun Hee Kim², Jin Woo Lee^{1,2}

Brain Korea 21 Project for Medical Science¹, Department of Orthopaedic Surgery²,
Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Objectives: Bone marrow-derived mesenchymal stem cells (BMSCs) are a good source for cartilage repair. Chondral defects do not heal spontaneously due to a lack of chondrocytes at the defect site and migration of surrounding chondrocytes to the injury site. The purpose of this study was to determine the expression of 19 chemokine receptors in human BMSCs stimulated by IL-1 β and TNF- α as an *in vitro* cartilage-injury condition.

Materials & Methods: MSCs isolated from human bone marrow were expanded for the experiments. Specifically, cells were grown either in the presence or absence of pro-inflammatory cytokines, such as IL-1 β and TNF- α . RT-PCR was performed to evaluate the expression of 19 chemokine receptors. To evaluate changes in the expression of chemokine receptors, a reverse dot-blot assay was performed.

Results: We observed increased expression of CCR4, CCR6, CCR7, CCR9, CCR10, CXCR1, CXCR4, CXCR6, and CXCR7 in untreated BMSCs, while inflammation-induced BMSCs exhibited enhanced expression of CCR9, CCR10, CXCR1, CXCR4, CXCR5, CXCR6, and CXCR7. Collectively, the results showed CCR9/CYA-25, CCR10/SCYA-28, CXCR1/IL-8, CXCR4/SDF-1, CXCR6/CXCL-16, and CXCR7/SDF-1 (receptor/ligand) were expressed in normal BMSCs and showed a gradual increase upon treatment with pro-inflammatory cytokines.

Conclusions: We suggest that chemokines, including SCYA-25, SCYA-28, IL-8, CXCL-16 and SDF-1 can be useful in repairing damaged articular cartilage.

Key Words: Articular cartilage repair, Mesenchymal stem cells, Chemokines, Chemotaxis

관절 연골은 단백다당과 제2형 교원질로 주로 구

성된 무혈성 조직이며, 조직부피의 약 5%의 연골세포를 포함하고 있다.¹ 관절 연골 손상, 결손 부위로의 연골세포의 이동이 거의 일어나지 않으며 손상된 관절 연골은 자발적인 치유가 일어나지 않는 단점이 있다.² 손상된 관절 연골을 치료하기 위한 대표적인 생물학적 방법으로 자가연골세포이식법과 골수천공술등이 있다. 자가연골세포 이식법은 자가연골세포를 배양하여 결손부위로 이식하는 방법으로써 비교

Received: April 20, 2010 **Revised:** May 10, 2010
Accepted: June 21, 2010
Corresponding Author: Jin Woo Lee, Department of Orthopaedic Surgery-29 Yonsei University College of Medicine, Seoul 120-752, Korea
Tel: +82-2-2228-2190, Fax: +82-2-363-1139
E-mail: ljwos@yuhs.ac

* 본 연구는 21세기 프론티어 연구개발사업단인 세포응용연구사업단의 연구비지원 (과제번호 SC3210) 의해 수행되었음.

적 좋은 결과를 보이거나, 반복된 수술과 공여부의 제한성이 단점이다. 골수천공술은 연골결손부의 연골하골을 천공하여 골수와 함께 결손부위로 유입된 골수유래 간엽 줄기세포(bone marrow-derived mesenchymal stem cell)를 이용하여 손상된 연골을 치료하는 방법이다. 이 방법은 비교적 간단하고 경제적이거나 결과가 일정하지 못하며 유입되는 간엽 줄기세포의 수가 충분치 못할 경우 조직재생이 원활하지 못하다는 단점이 있다.³⁻⁷

간엽 줄기세포는 뼈, 연골, 지방세포로 분화할 수 있으며 연골세포에 비해 빠르게 증식하기 때문에 관절 연골재생을 위해 중요한 세포원이며, 또한 기존 관절 연골 치료법의 단점을 극복하기 위하여 간엽 줄기세포를 주목하고 있다. 손상된 관절 연골이 간엽 줄기세포에 의해 재생되기 위해서는 충분한 수의 간엽 줄기세포가 연골결손부위로 유입되고, 모여든 간엽 줄기세포가 관절 연골기질에 부착하여 증식 및 연골세포로 분화하여 연골기질을 생성해야 한다. 자연치유과정에서 간엽 줄기세포는 관절연골손상부위로 이동하여 연골세포로의 분화과정을 거치게 된다. 간엽 줄기세포의 연골분화를 위해서는 모여든 간엽 줄기세포의 응집과 세포-세포 및 세포-연골기질간의 상호작용이 필수적이다.⁸ 간엽 줄기세포의 연골분화에 있어서 세포주위 미세환경은 중요한 역할을 한다. 간엽 줄기세포와 세포와 인접한 교원질의 상호작용이 간엽 줄기세포의 연골분화를 촉진시킨다.^{9,10}

연골을 포함한 여러 가지 손상된 조직의 치료를 위해서는 조직손상부 내로의 골수유래 간엽 줄기세포의 충분한 유입이 매우 중요하다.¹¹⁻¹³ 혈액 또는 골수 내 순환하던 간엽 줄기세포가 조직손상부로 모여드는 현상을 homing이라고 하며, 간엽 줄기세포의 homing은 여러 단계에 걸쳐 세포부착단백과 주화성인자(chemokine)에 의해 이루어진다.¹⁴⁻¹⁷ 주화성인자(chemokine)는 약 8~10 kDa의 작은 사이토카인이다. 현재까지 약 50여 가지의 주화성인자가 알려졌으며, 다양한 세포들의 주화성을 유도하는 기능을 한다.¹⁸⁻²⁰ 주화성인자는 G-단백 수용체의 일종인 주화성인자수용체(chemokine receptor)에 부착하여 세포주화성을 유도한다. 현재 약 19가지의 주화성인자수용체가 보고되었으며, 간엽 줄기세포에서도 주화성인자

를 이용한 피부 등의 조직재생이 보고된 바 있다.²¹⁻²³

따라서 본 연구에서는 사람의 골수유래 간엽 줄기세포에서 발현하며 또한 연골손상 조건(*in vitro* injury)하에서도 발현이 증가하는 주화성인자수용체를 선별함으로써 간엽 줄기세포를 이용한 관절 연골재생에 효과적인 주화성인자를 발굴하고자 하였다.

대상 및 방법

1. 세포배양

사람의 골수유래 간엽 줄기세포는 자가장골 이식술이 필요한 환자의 동의하에 IRB심의를 거쳐 후 장골능(posterior iliac crest)에서 골수를 흡인하고 원심분리를 하여 골수 내 세포를 침전시켜 pellet을 만들고, 상층액을 제거한 후 Dulbecco's modified eagle's medium-low glucose (DMEM-LG, GIBCO-BRL, Grand Island, NY, USA) 배양액에 우 태아혈청(FBS, fetal bovine serum, GIBCO BRL, Grand Island, NY, USA) 10% (v/v), 100 units/ml penicillin G 및 0.1 mg/ml streptomycin이 첨가된 기본 배양액으로 세척한 후 T-75 cm² 세포 배양 플라스크에 분주시켰으며, 4일간 배양하였다. 이후, 플라스크 바닥에 부착되지 않은 세포들은 제거하였고, 바닥에 부착된 간엽 줄기세포는 3일 간격으로 배양액을 교환하여 플라스크에 약 90% 정도 차게 되면 계대 배양을 시행하였다. 분리된 골수 유래 간엽 줄기세포는 2 또는 3계대 배양까지 세포를 증식시켰으며, 모든 실험은 2 또는 3계대의 세포를 사용하였다.

2. 체외 연골손상 조건 형성

체외 연골손상 조건은 전염증성 사이토카인인 IL-1 β (R&D Systems Inc., Minneapolis, MN, U.S.A.) 또는 TNF- α (R&D Systems Inc.)를 처리함으로써 조성하였다. 간엽 줄기세포를 12시간 동안 우 태아혈청이 포함되지 않은 DMEM-LG 배양액에서 배양한 후, 10 ng/ml의 농도로 IL-1 β 또는 TNF- α 를 배양액에 첨가하여 4, 24, 48시간 동안 세포를 배양한 후 실험에 사용하였다.

3. 역전사-중합효소 연쇄반응기법(Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction)

정상 간엽 줄기세포에서 발현하는 주화성인자 수용체를 선별하기 위해 RNeasy kit (Qiagen, Valencia,

CA, U.S.A.)를 이용하여 간엽 줄기세포의 total RNA를 추출하여, 역전사-중합효소 연쇄반응기법을 통해 주화성인자 수용체의 유전자 발현을 분석하였다. 분석한 주화성인자 수용체는 CCR1~10, CXCR1~7, CX3CR, XCR1로서 총 19개이다(Table 1). 증폭된 주

Table 1. The primers used in RT-PCR

Gene	Size (BPs)		Sequence
CCR1	560	Sense	5'-AGGTTCTGACTCTTGGCACA
		Antisense	5'-TCTCGTTAGGTCTCAACTCT
CCR2	580	Sense	5'-CCAAACTACCTTCCAGTTCC
		Antisense	5'-AGCTTCTCCACCTTCCATTC
CCR3	699	Sense	5'-CCTAGTGAGAAGCTGGAAAG
		Antisense	5'-CCTCTGCAATGTCAGATTGG
CCR4	501	Sense	5'-CTTGACCAAAGAAGGCATC
		Antisense	5'-GGAGTTGAGAGAGTACTTGG
CCR5	550	Sense	5'-TTCTATGAGGCAACCACAGG
		Antisense	5'-TTCCCTCACCTTACCTGTAC
CCR6	540	Sense	5'-CTCCGATCCAGAACACTACC
		Antisense	5'-CCACAGGTCCTTCAAGATCT
CCR7	548	Sense	5'-CAAGAGGCTCAAGACCATGA
		Antisense	5'-ACCACAGCGATGATCACCTT
CCR8	560	Sense	5'-AGTTCAGCATGAAGGATGCC
		Antisense	5'-TGAGGCATTGTGTTTGTATGG
CCR9	580	Sense	5'-TGACATCTGCTTCCAGGTCA
		Antisense	5'-CTGAAGCCACAGAAGTTCAC
CCR10	489	Sense	5'-TCTTCTGGCCTGTATCAGC
		Antisense	5'-AGTGCACATCCTTGCCTTT
CXCR1	520	Sense	5'-GACCAACATCGCAGACACAT
		Antisense	5'-GTGAGCTCACATAGCTTGAG
CXCR2	520	Sense	5'-GTTCTCCCTTCTCTTACA
		Antisense	5'-CTGAGACAGAGTCTCACTGT
CXCR3	528	Sense	5'-CCAGACTTCATCTTCTCTGTC
		Antisense	5'-AGGTCTCAGACCAGGATGAA
CXCR4	517	Sense	5'-ACACAGTCAACCTCTACAGC
		Antisense	5'-CTCGGTGATGGAAATCCACT
CXCR5	490	Sense	5'-GAAACGCATGCCTGGTTCAC
		Antisense	5'-ACCTAGAACGTGGTGAGAGA
CXCR6	516	Sense	5'-TTCTTCTTGCCACTGCTCAC
		Antisense	5'-AAACAAAGCCTGCCTCACCA
CXCR7	518	Sense	5'-AACTTCTCGGACATCAGCTG
		Antisense	5'-GGTCTTCAGGTAGTAGGTGT
CX3CR	539	Sense	5'-GATCTGCTGTTTGTAGCCAC
		Antisense	5'-CATAGAGCTTAAGCGTCTCC
XCR1	550	Sense	5'-GAGTCCCTCACCAACATCTT
		Antisense	5'-ACAGGGTGAAGTTGTAGGGA
GAPDH	444	Sense	5'- ATCACTGCCACCCAGAAGAC
		Antisense	5'- ATGAGTCCACCACCCTGTT

화성인자 수용체의 DNA는 3100 Genetic Analyser (Applied Biosystems Inc., Foster City, CA, USA)를 이용한 DNA 염기서열분석법기법을 이용하여 서로 중복된 서열이 없음을 확인하였다.

4. 역반점-탐본 부합법(Reverse Dot-Blot Hybridization)

IL-1 β 또는 TNF- α 에 의해 발현이 증가하는 주화성인자 수용체를 선별하기 위해 역전사-중합효소 연쇄반응기법을 이용하여 19개의 주화성인자 수용체의 DNA를 합성하여 sample DNA로 사용하였고, 4, 24, 48시간 동안 IL-1 β 또는 TNF- α 의 자극을 받은 간엽 줄기세포의 cDNA를 Omniscript RT Kit (Qiagen)를 이용하여 합성하여 probe cDNA로 사용하였다. 주화성인자 수용체의 DNA를 nylon membrane에 dotting한 후, 자외선(1200x100 μ jules)을 조사하여 고정하였고, 전염증성 사이토카인의 자극을 받은 간엽 줄기세포의 cDNA를 Rediprime II random prime labeling system (GE Healthcare UK Limited, Amersham Place, Little Chalfont, Buckinghamshire, UK)과 γ^{32} P-dCTP를 이용하여 labeling하였다. Membrane에 고정된 주화성인자 수용체의 DNA와 label된 간엽 줄기세포의 cDNA는 42°C에서 15시간 동안 교잡하였다. Membrane을 wash한 후, fluorescent image analyzer (FLA-

7000, Fujifilm, Japan)로 signal을 detection하여 densitometry (TINA pixel analyzer version 2.10, Raytest Isotopenme gerate GmbH, Straubenhardt, Germany)를 이용하여 정량화하였다. 정량화된 결과값은 paired t-tests로 통계학적 검증을 하였다(P -value<0.05).

결 과

1. 간엽 줄기세포에서 발현하는 주화성인자 수용체

역전사-중합효소 연쇄반응기법을 수행하기 위해 제작한 사람의 주화성인자 수용체에 대한 primer 서열은 다음과 같다(Table 1). Table 1의 primer에 의해 증폭된 유전자의 염기서열은 DNA 염기서열분석법을 통해 다른 주화성인자 수용체의 서열과 서로 중복되지 않음을 확인하였다(data not shown). RT-PCR을 통해 사람의 골수 유래 정상 간엽 줄기세포에서 19개의 주화성인자 수용체의 발현을 분석하였다(Fig. 1). 5명의 공여자(donor)로부터 얻은 간엽 줄기세포에서 주화성인자 수용체의 발현을 분석한 결과, CXCR2, CXCR3은 사람의 골수유래 간엽 줄기세포에서 발현을 하지 않았고, CCR1, CCR2, CCR3, CCR5, CCR8, CXCR5, CX3CR, XCR1 등의 주화성인자 수용체들 1명 또는 2명의 간엽 줄기세포에서 발현이 확인되었으며, CCR4, CCR6, CCR7, CCR9,

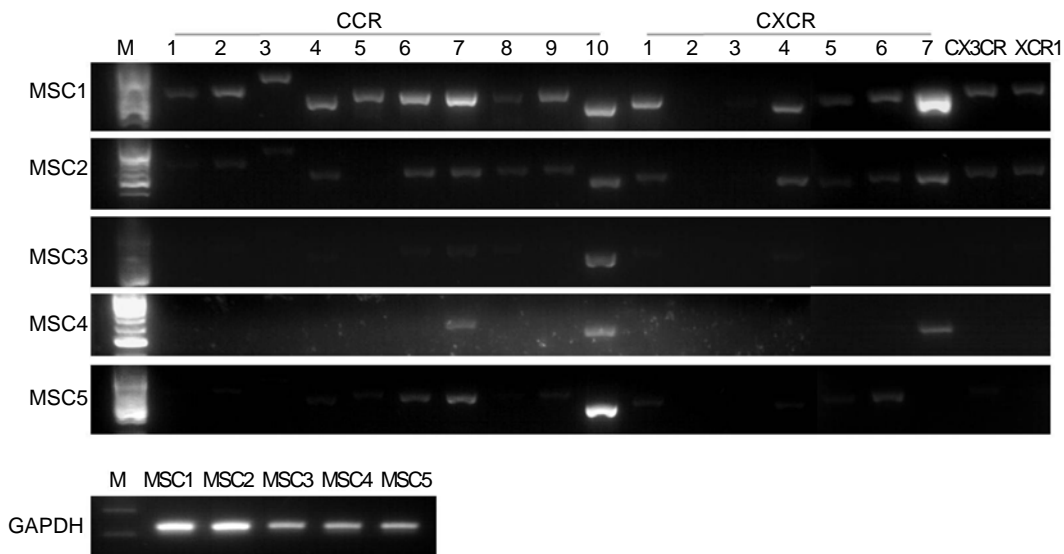


Fig. 1. Gene expression of chemokine receptors in human BMSCs. This is the result of RT-PCR against human chemokine receptors using cDNA of human bMSCs. M: size marker, MSC1~5: MSCs obtain from donor 1~5.

CCR10, CXCR1, CXCR4, CXCR6, CXCR7이 3명 이상의 간엽 줄기세포에서 공통적으로 발현하였다 (Table 2).

2. 관절 연골 손상 시 골수 유래 간엽 줄기세포에서 발현이 증가하는 주화성인자 수용체

관절연골이 손상되면 전염증성 사이토카인들(IL-1β 또는 TNF-α)이 분비되고 이에 자극받은 연골세포 등에 의해 다양한 화학주성인자의 분비가 증가한다.³³ 따라서 관절연골 손상모델에서 간엽 줄기세포에서 발현하는 주화성인자 수용체 중에서 어떤 수용체가 증가하는지 알아보기 위하여 역반점-탁본 부합법을 이용하여 3명의 공여자로부터 얻은 간엽 줄기세포에서 4, 24, 48시간째에 IL-1β 또는 TNF-α의 자극에 의해 증가하는 주화성인자 수용체를 분석하였

다. 본 논문에서는 대표공여자 1인에 대한 결과만을 보였으나 반복실험을 통해 세 공여자의 간엽 줄기세포에서 주화성인자 수용체의 발현 양상이 모두 유사함을 확인하였다(Fig. 2). 역반점-탁본 부합법의 결과를 각 공여자의 간엽줄기세포에 대한 결과를 densitometry를 이용하여 정량하여 2배 이상(fold change ≥2) 증가한 수용체를 자극시간에 따라 정리한 결과, 각 공여자의 간엽줄기세포에서 5가지의 CCR 계열과 5가지의 CXCR 계열의 수용체 그리고 CX3CR 수용체가 증가했으며, 이들 중 CCR9, CXCR5, CXCR8 등이 4시간째에 증가했고 CCR1, CCR9, CCR10, CXCR1, CXCR5, CX3CR 등이 24시간째에 증가했으며 48시간째에는, CCR5, CCR8, CCR9, CCR10, CXCR1, CXCR4, CXCR5, CXCR6, CXCR7, CX3CR 등이 증가했다(Fig. 2). 또한 각 공여자마다

Table 2. The list of chemokine receptors expressed in human BMSCs from five donors

Number of donors (n)	Chemokine receptors
3 ≤ n ≤ 5	CCR4, CCR6, CCR7, CCR9, CCR10, CXCR1, CXCR4, CXCR6, CXCR7
1 ≤ n ≤ 2	CCR1, CCR2, CCR3, CCR5, CCR8, CXCR5, CX3CR, XCR1
n=0	CXCR2, CXCR3

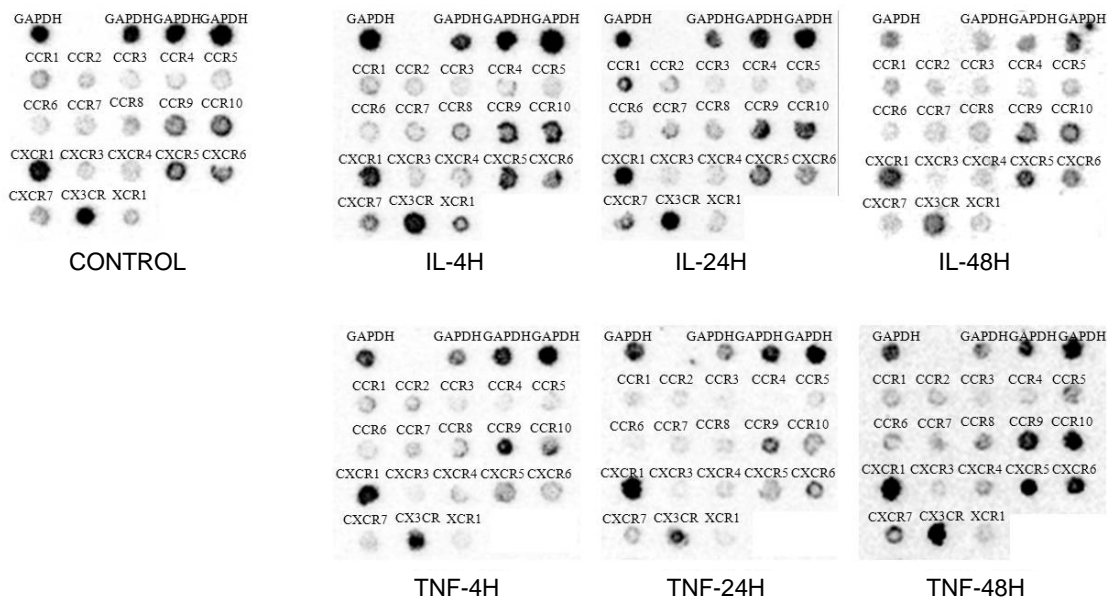


Fig. 2. Altered gene expression of chemokine receptors in human BMSCs stimulated by proinflammatory cytokines. CONTROL: normal BMSCs, IL-4H: BMSCs stimulated by IL-1β for 4 hours, IL-24H: BMSCs stimulated by IL-1β for 24 hours, IL-48H: BMSCs stimulated by IL-1β for 48 hours, TNF-4H: BMSCs stimulated by TNF-α for 4 hours, TNF-24H: BMSCs stimulated by TNF-α for 24 hours, TNF-48H: BMSCs stimulated by TNF-α for 48 hours.

Table 3. Chemokine receptors expressed in unstimulated BMSCs or increased in stimulated BMSCs

Stimulation	Chemokine receptors
None	CCR4, CCR6, CCR7, CCR9, CCR10, CXCR1, CXCR4, CXCR6, CXCR7
IL-1 β & TNF- α (Fold change ≥ 2)	CCR9, CCR10, CXCR1, CXCR4, CXCR5, CXCR6, CXCR7

유전자발현양상의 차이가 있으므로 이에 의한 오차를 줄이기 위해 전염증성 사이토카인에 의해 2배 이상 증가하는 주화성인자 수용체를 공여자에 따른 확률로서 정리하면, CCR9, CCR10, CXCR1, CXCR4, CXCR5, CXCR6, CXCR7 등이 세 명의 공여자의 간엽 줄기세포에서 공통으로 발현이 증가하였으며 이외의 수용체들은 발현 증가율이 통계적으로 유의하지 않았다(Table 3).

위 두 결과들을 종합하면, CCR9, CCR10, CXCR1, CXCR4, CXCR6, CXCR7 등의 수용체들이 정상 간엽 줄기세포에서 유의하게 발현하면서 전염증성 사이토카인에 의해 그 발현이 세 공여자의 간엽 줄기세포에서 유의하게 증가하였다(2배 이상).

고 찰

관절 연골조직은 관절의 부드럽고 원활한 움직임을 가능케 한다. 다양한 원인에 의해 관절 연골이 손상되면 관절의 운동성이 떨어지고 통증을 유발하여 정상적인 생활이 어려워지기 때문에 손상된 관절 연골의 수복은 매우 중요하다. 현재까지 관절 연골의 손상원인은 아직 규명되지 않았으며 그 치료법 또한 완전하지 않다.^{24,25} 손상된 관절연골 및 골-연골조직을 치료하기 위해 자가연골세포이식법, 골수천공술 등이 임상적으로 사용되고 있으며 지지체 등의 인공 기질, 성장인자, 연골세포, 간엽 줄기세포 등을 이용한 방법들이 시도되고 있다.²⁶⁻³¹

본 연구에서는 연골재생에 간엽 줄기세포를 효과적으로 이용하기 위해 사람의 골수 유래 간엽 줄기세포에서 발현하며, 관절연골 손상 시 발현이 증가하는 주화성인자 수용체를 발굴함으로써 관절연골 손상에 따른 골수 유래 간엽 줄기세포의 주화성을 유도할 수 있는 화학주성인자를 선별하였다.

연골세포로의 분화능을 지닌 간엽 줄기세포는 골수 내 존재하는 세포수의 약 0.001~0.01%로서 매우

적은 수로 존재한다.³² 따라서 손상된 관절 연골조직의 원활한 재생을 위해서는 골수로부터 많은 수의 간엽 줄기세포를 연골 손상부위로 유입시키는 것이 중요하다. 골관절염 등이 발병하여 관절연골이 손상되면 치유 초기반응으로 전염증성 사이토카인들(IL-1 β 또는 TNF- α)이 분비되고 이에 자극받은 연골세포 등에 의해 다양한 화학주성인자 및 기질분해 효소 등이 분비된다.³³ 본 연구에서는 관절연골 손상 시 분비되는 전염증성 사이토카인을 이용하여 체내 골관절염 질환모델과 유사한 체외 연골조직 손상환경을 조성하여 간엽 줄기세포에서 발현이 증가하는 주화성인자 수용체를 선별하고, 이에 해당하는 리간드를 분석한 결과 CCR9, CCR10, CXCR1, CXCR4, CXCR6, CXCR7 등의 수용체가 선별되었고, 이에 특이적으로 결합하는 리간드인 SCYA-25, SCYA-28, IL-8, CXCL-16, SDF-1 등의 주화성인자들이 골수유래 간엽줄기세포의 주화성을 촉진시킬 것으로 사료된다. 또한, 동물의 특정 부위에 이식된 간엽 줄기세포는 주변 조직 특이적 미세환경으로부터 받는 세포 자극에 의해 주변조직 세포로 분화하는 것으로 알려져 있다.³⁴ 즉, 선별된 주화성 인자를 관절 손상부위에 처리하면, 간엽 줄기세포의 세포이동을 촉진하여 간엽 줄기세포를 체내에서 직접 충분히 유입시킴으로써 손상된 연골 조직을 보다 효과적으로 재생할 수 있을 것으로 사료된다.

다분화능을 지닌 골수 유래 간엽 줄기세포는 골, 연골 또는 지방조직 등의 특정 미세환경(niche)에 노출되면 주변조직의 세포로 분화하는 특성이 있다. 골수 내에는 주화성인자를 포함한 다양한 사이토카인이 존재하며 이들에 의해 염증반응 및 조직수복이 조절된다.^{34,35} 최근에는 골수 내 간엽줄기세포가 피부 등의 조직 손상부위에서 분비되는 주화성인자를 향해 이동하여 해당조직 손상부위를 재생하는 것이 보고되고 있으며, 주화성인자에 의해 다수의 간엽줄기세포가 모여들고 재생기전이 촉진되는 것이 확인

되었다.³⁶ 따라서 본 연구를 통해 선별된 관절 연골 손상 시 간엽줄기세포에서 증가하는 주화성인자는 손상된 연골조직재생을 촉진할 것으로 사료된다.

조직이 상처를 입으면, 생체는 곧 반응해서 상처를 빨리 회복하려고 한다. 상처 치유과정에 있어서 염증반응은 필수적이다. 주화성 인자 등을 포함한 전염증성 인자의 분비 또는 염증성 세포의 유입을 유도하는 염증반응은 다양한 감염이나 조직손상에 대해 반응하는 정상적인 생리과정이지만, 오히려 과도하거나 지속적인 염증반응이 조직손상을 유도하고 결과적으로 질병을 유발한다. 한편 간엽 줄기세포는 다양한 기전을 통하여 염증반응을 조절하여 정상적인 상처치유가 일어나도록 유도하는 것으로 알려져 있다.³⁷⁻³⁹ 앞으로 추가적인 실험이 더 수행되어야 하겠지만, 본 저자들은 본 연구를 통해 선별된 주화성인자를 손상된 관절연골의 치료에 응용했을 때 주화성인자에 의해 유입되는 염증성 세포에 의해 유발될 가능성이 있는 과도한 염증반응은 염증성 세포와 함께 관절 연골 손상부위로 유입된 간엽 줄기세포에 의해 적절하게 조절될 것으로 예상된다.

본 연구를 통해 선택된 주화성인자(SCYA-25, SCYA-28, IL-8, CXCL-16, SDF-1)를 사용하면 체내에서 직접 간엽 줄기세포를 유입하기 때문에 질 좋은 세포원을 확보할 수 있으며, 거둬진 수술 등의 기존 방법의 단점을 보완할 수 있으므로 보다 효과적인 관절연골의 치료법을 개발하는 데에 도움을 줄 것으로 기대된다.

참 고 문 헌

- Hunter W. Of the structure and disease of articulating cartilages. 1743. *Philos Trans R Soc Lond* 1995;42b:514-21.
- Buckwalter JA, Mankin HJ. Articular cartilage repair and transplantation. *Arthritis Rheum* 1998;41:1331-42.
- Pridie K. A method of resurfacing osteoarthritis knee joints. *J Bone Joint Surg Br* 1959;41:618-9.
- Steadman JR, Rodkey WG, Briggs KK, Rodrigo JJ. The microfracture technic in the management of complete cartilage defects in the knee joint. *Orthopade* 1999;28:26-32.
- Brittberg M, Lindahl A, Nilsson A, Ohlsson C, Isaksson O, Peterson L. Treatment of deep cartilage defects in the knee with autologous chondrocyte transplantation. *N Engl J Med* 1994;331:889-95.
- Pelttari K, Lorenz H, Boeuf S, Templin MF, Bischel O, Goetzke K, et al. Secretion of matrix metalloproteinase 3 by expanded articular chondrocytes as a predictor of ectopic cartilage formation capacity in vivo. *Arthritis Rheum* 2008;58:467-74.
- Kessler MW, Ackerman G, Dines JS, Grande D. Emerging technologies and fourth generation issues in cartilage repair. *Sports Med Arthrosc* 2008;16:246-54.
- DeLise AM, Fischer L, Tuan RS. Cellular interactions and signaling in cartilage development. *Osteoarthritis Cartilage* 2000;8:309-34.
- Dickhut A, Gottwald E, Steck E, Heisel C, Richter W. Chondrogenesis of mesenchymal stem cells in gel-like biomaterials in vitro and in vivo. *Front Biosci* 2008;13:4517-28.
- Steck E, Fischer J, Lorenz H, Gotterbarm T, Jung M, Richter W. Mesenchymal stem cell differentiation in an experimental cartilage defect: restriction of hypertrophy to bone-close neocartilage. *Stem Cells Dev* 2009;18:969-78.
- Zhao LR, Duan WM, Reyes M, Keene CD, Verfaillie CM, Low WC. Human bone marrow stem cells exhibit neural phenotypes and ameliorate neurological deficits after grafting into the ischemic brain of rats. *Exp Neurol* 2002;174:11-20.
- Jin HK, Carter JE, Huntley GW, Schuchman EH. Intracerebral transplantation of mesenchymal stem cells into acid sphingomyelinase deficient mice delays the onset of neurological abnormalities and extends their life span. *J Clin Invest* 2002;109:1183-91.
- Turgeman G, Pittman DD, Muller R, Kurkalli BG, Zhou S, Pelled G, et al. Engineered human mesen-

- chymal stem cells: a novel platform for skeletal cell mediated gene therapy. *J Gene Med* 2001;3: 240-51.
14. Lapidot T, Dar A, Kollet O. How do stem cells find their way home? *Blood* 2005;106:1901-10.
 15. Frenette PS, Subbarao S, Mazo IB, von Andrian UH, Wagner DD. Endothelial selectins and vascular cell adhesion molecule-1 promote hematopoietic progenitor homing to bone marrow. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:14423-8.
 16. Papayannopoulou T, Priestley GV, Nakamoto B, Zafiroopoulos V, Scott LM. Molecular pathways in bone marrow homing: dominant role of a(4)b(1) over b(2)-integrins and selectins. *Blood* 2001;98: 2403-11.
 17. Lapidot T, Kollet O. The essential roles of the chemokine SDF-1 and its receptor CXCR4 in human stem cell homing and repopulation of transplanted immune-deficient NOD/SCID and NOD/SCID/B2m (null) mice. *Leukemia* 2002;16: 1992-2003.
 18. Baggiolini M. Chemokines in pathology and medicine. *J Intern Med* 2001;250:91-104.
 19. Luster AD. Chemokines—chemotactic cytokines that mediate inflammation. *N Engl J Med* 1998; 338:436-45.
 20. Rollins BJ. Chemokines. *Blood* 1997;90:909-28.
 21. Richard H. Chemokine receptors. *Cytokine and Growth Factor Reviews* 2001;12:313-35.
 22. Ponte AL, Marais E, Gallay N, Langonné A, Delorme B, Héroult O, et al. The in vitro migration capacity of human bone marrow mesenchymal stem cells: comparison of chemokine and growth factor chemotactic activities. *Stem Cells* 2007;25:1737-45.
 23. Sasaki M, Abe R, Fujita Y, Ando S, Inokuma D, Shimizu H. Mesenchymal stem cells are recruited into wounded skin and contribute to wound repair by transdifferentiation into multiple skin cell type. *J Immunol* 2008;15:2581-7.
 24. Buckwalter JA. Osteoarthritis and articular cartilage use, disuse and abuse: Experimental studies. *J Rheumatol* 1995;22:13-5.
 25. Buckwalter JA, Martin JA, Mankin HJ. Synovial joint degeneration and the syndrome of osteoarthritis. *Instr Course Lect* 2000;49:481-9.
 26. Flynn JM, Springfield DS, Mankin HJ. Osteoarticular allografts to treat distal femoral osteonecrosis. *Clin Orthop* 1994;303:38-43.
 27. Garrett JC. Fresh osteochondral allografts for treatment of articular defects in osteochondritis dissecans of the lateral femoral condyle in adults. *Clin Orthop* 1994;303:33-7.
 28. Steadman JR, Rodkey WG, Singleton SB, Briggs KK. Microfracture technique for full-thickness chondral defects: Technique and clinical results. *Oper Tech Orthop* 1997;7:294-9.
 29. Buckwalter JA. Cartilage researchers tell progress: Technologies hold promise, but caution urged. *Am Acad Orthop Surg Bull* 1996;44:24-6.
 30. Buckwalter JA, Lohmander S. Operative treatment of osteoarthritis: Current practice and future development. *J Bone Joint Surg* 1994;76A:1405-18.
 31. Buckwalter JA, Mankin HJ. Articular cartilage II: Degeneration and osteoarthritis, repair, regeneration and transplantation. *J Bone Joint Surg* 1997; 79A:612-32.
 32. Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal K, Douglas R, Mosca JD, et al. Multi lineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* 1999;284:143-7.
 33. Borzì RM, Mazzetti I, Marcu KB, Facchini A. Chemokines in Cartilage Degradation. *Clin Orthop Relat Res* 2004;427S:53-61.
 34. Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, Schwartz RE, Keene CD, Ortiz-Gonzalez XR, et al. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature* 2002;418:41-9.
 35. Badiavas EV, Abedi M, Butmarc J, Falanga V, Quesenberry P. Participation of bone marrow-derived cells in cutaneous wound healing. *J Cell*

- Physiol 2003;196:245-50.
36. Inokuma D, Abe R, Fujita Y, Sasaki M, Shibaki A, Nakamura H, et al. CTACK/CCL27 accelerates skin regeneration via accumulation of bone marrow-derived keratinocytes. *Stem Cells* 2006;24:2810-6.
 37. Proudfoot AE. Chemokine receptors: multifaceted therapeutic targets. *Nat Rev Immunol* 2002;2:106-15.
 38. Lotz M, Terkeltaub R, Villiger PM. Cartilage and joint inflammation. Regulation of IL-8 expression by human articular chondrocytes. *J Immunol* 1992;148:466-73.
 39. Koç ON, Gerson SL, Cooper BW, Dyhouse SM, Haynesworth SE, Caplan AI, et al. Rapid hematopoietic recovery after coinfusion of autologous-blood stem cells and culture-expanded marrow mesenchymal stem cells in advanced breast cancer patients receiving high-dose chemotherapy. *J Clin Oncol* 2000;18:307-16.