

Efficacy Test of Chondrogenic Stem Cells Transplantation on Osteoarthritis Rat Model

Kyung Suk Kim¹, Hyun Soo Yoon²

¹Bioengineering Institute, CoreStem Inc,

²Dept. of Anatomy, College of Medicine, Hanyang University

We established chondrogenic stem cells from human articular cartilage and tested whether these chondrogenic stem cells would show therapeutic potential for treatment of bone diseases or bone inflammatory diseases such as osteoarthritis (OA) and rheumatoid arthritis (RA).

Chondrogenic stem cells were isolation from the articular cartilages during human bone formation process. Established chondrogenic stem cells were appeared that morphologically homogeneous cell population of spindle shape like fibroblastic cells, similar to mesenchymal stem cells (MSCs) and immunocytochemical analysis demonstrated the expression of undifferentiated stem cell markers (Oct 3/4, Nanog, Sox2), adhesion molecule marker [CD44 (HCAM), CD54 (ICAM)], and vimentin. The chondrogenic stem cells do not expressed immunologically relevant cell surface marker, HLA-DR in class II major histocompatibility complex (MHC class II) antigen. Therefore they seem available for HLA-independent therapeutical strategies. For identification of in vitro chondrogenic differentiation potential ability, specific gene expression analyses, histological analyses and ultrastructural analyses confirmed that the chondrogenic stem cells produced abundant cartilaginous matrix such as collagen, proteoglycan and glycosaminoglycan.

We investigate the transplantation of chondrogenic stem cells and their ability to promote regeneration after transplantation into an experimentally created cartilage defect in the intra-joint capsular of OA rat model. The results obtained that similar or more favorable effects on fibrotic stiffness and cartilage losses induced by OA rat model were detected in chondrogenic stem cells as compared with anti-inflammatory drug (diclofnac sodium). Although diclofenac sodium did not influenced on the BrdU uptakes, chondrogenic stem cells increase the BrdU uptakes when observed the BrdU-immunoreactive cells on both femur and tibia articular cartilages at 84 days after treatment of chondrogenic stem cells. The transplanted chondrogenic stem cells were localized as femur and tibia articular cartilage in OA rat model, as confirmed by human specific mitochondria antigen staining with human specific type II collagen.

This study demonstrates that chondrogenic stem cells transplantation improves chondrocyte proliferation and differentiation by facilitating cartilage regeneration in rat model of osteoarthritis. Thus, chondrogenic stem cells might be useful as an alternative cell source for bone disease therapy.

G-CSF Based Peripheral Blood Stem Cell Therapy in Myocardial Infarction: Results of MAGIC Cell Clinical Trial

강 현 재

서울대학교병원 순환기내과

심장 질환 특히 심근경색증에 대한 줄기세포 치료는 각 임상분야 중에서 가장 빠른 진행과 성과를 보이고 있는 분야 중 하나이다. 현재까지의 줄기세포를 이용한 임상연구는 주로 골수 기원의 줄기세포를 이용하여 이루어지고 있으며, 다수의 임상연구 성적에 대한 메타 분석 결과를 통해 임상적 효능이 입증되고 있다. 골수 줄기세포를 이용한 줄기세포 치료법 중 Granulocytes-colony stimulating factor (G-CSF)를 이용하여 골수 줄기세포를 동원하여 심근 재생 및 혈관신생을 유도하는 방법은 비침습적인 치료법이라는 장점을 바탕으로 많은 주목과 관심을 받아 왔다. 특히 G-CSF의 세포 및 조직 보호효과가 알려지면서 더욱 유망한 치료법으로 부각되어 왔다. 그러나 G-CSF 단독 치료에 대한 전임상 연구에서의 효능이 임상연구로 이어질 수 있는지에 대해서는 회의적인 시각이 많은 것이 현실이다. G-CSF를 이용한 심근경색증 치료법은 다음과 같은 작용 기전을 통해 심기능 개선 효과를 낼 수 있다고 알려지고 있다.

첫째, 동원된 골수 줄기세포의 직접분화에 의한 효과이다. G-CSF의 골수 줄기세포 동원 능력은 잘 입증되어 있으며, 말초혈액으로 동원된 줄기세포에는 혈관 신생능을 가진 다수의 세포가 포함되어 있음이 알려져 있다. 최근에는 중간엽 줄기세포도 골수에 비해 낮은 비율이기는 하나 말초혈액으로 동원될 수 있음이 알려지고 있다. 동물실험에서는 G-CSF 단독투여만으로도 동원된 줄기세포의 분화를 통해 심근재생과 혈관신생을 유발할 수 있음이 알려지고 있다. 그러나, 동원된 골수 줄기세포의 기능이 고령이나 심질환을 가진 사람에게서는 건강한 젊은이에 비해 떨어진다는 것이 알려지고 있어, 제한점이 되고 있다. 그리고 G-CSF가 줄기세포의 CXCR-4 수용체 발현을 저하시킬 수 있다는 문제가 있다. CXCR-4 수용체는 SDF-1에 결합하여 허혈 조직으로의 줄기세포 회귀에 중요한 역할을 하므로, CXCR-4 수용체의 발현저하는 줄기세포의 허혈 조직으로의 회귀 저하로 이어질 수 있다.

둘째, G-CSF에 의해 동원된 줄기세포에 의한 paracrine 효과를 고려할 수 있다. 대다수의 줄기세포는 단순히 직접 분화뿐 아니라 혈관신생이나 세포 성장을 촉진하고, 세포의 손상을 억제하는 다양한 사이토카인을 분비할 수 있다는 것이 알려지고 있다.

셋째는 G-CSF에 의한 직접적인 세포 보호 효과이다. 심근세포와 내피세포에서 G-CSF는 Jak2/STAT 1, 3를 활성화시켜 세포 보호 효과를 나타낼 수 있다. 또한 본 연구진의 연구에 의하면 AktNO의 활성화를 통해서도 세포 보호 작용을 나타낼 수 있음이 확인되었다.

넷째, 심근경색증의 주요한 병인(pathogenetic mechanism)인 병적인 심실 재형성(pathologic remodeling)을 억제하는 효과를 보일 수 있다. 심근경색증의 발병 초기에는 섬유화를 촉진하여 심실의 확장을 억제하고, 후기에는 과도한 섬유화를 억제하는 작용을 나타낼 수 있다. 이 같은 G-CSF의 다양한 심장 보호 작용기전에도 불구하고 임상연구에서는 G-CSF 단독 투여만으로는 임상적 효과를 입증되지 못하고 있다.

본 연구진은 2003년부터 MAGIC Cell program (Myocardial Regeneration and

Angiogenesis in Myocardial Infarction with G-CSF and Intra-Coronary Stem Cell Infusion)을 통하여 말초혈액의 줄기세포를 이용한 심근경색증의 줄기세포 치료법을 연구하여 임상연구를 진행하여 왔으며, 이를 통해 줄기세포치료법의 주요한 문제점들을 해결하기 위한 연구를 진행하여 왔다. 본 연구진은 초기 연구(MAGIC Cell-1 연구)를 통해 G-CSF 단독 투여와 G-CSF 투여를 골수 줄기세포 주입법에 병합한 치료법을 비교하였고, G-CSF 단독 투여에 비해 줄기세포 주입법을 병합한 경우에 더 심기능 향상능이 뛰어난 것을 확인할 수 있었다. 이 같은 효능의 차이는 회귀 효능의 차이가 주요한 원인의 하나임을 확인할 수 있었다. 이 후 본 연구진은 G-CSF를 이용한 골수내의 줄기세포를 말초혈액으로 동원한 후 이를 성분채혈장비를 통하여 선별적으로 분리 채집한 후 이를 관동맥을 통해 심장에 직접 주입하는 방법을 기본으로 이용하고 있다. 2004년 MAGIC Cell-1 임상연구에서 말초혈액 줄기세포의 효능과 혈관 재협착 (혈관성형술을 시행하여 확장한 혈관이 다시 좁아지는 현상)의 발생가능성을 확인한 바 있으며, 이를 약물방출 스텐트를 통해 극복할 수 있음을 동물실험에서 확인하였다. 이후 지속적인 연구를 통해 2006년에는 약 100명의 환자를 대상으로 진행된 MAGIC Cell-3-DES 임상연구를 통해 말초혈액 줄기세포 치료가 6개월 추적관찰 결과 급성 심근경색증의 환자에서 심장의 수축기 기능을 개선함을 보고한 바 있다. 그러나 현재의 말초혈액 줄기세포 치료법이 진구성 심근경색증 환자에게 있어서는 심장의 수축기 기능을 개선하지 못함을 확인하였으며, 현재에 치료법에 대한 개선의 필요성을 제기하였다. 또한 줄기세포치료를 통한 환자의 운동기능 개선과 심장의 수축기 기능 개선이 심장의 동기화된 수축능력의 회복을 통해 이루어짐을 확인하였다. 그리고 G-CSF를 이용한 줄기세포치료법의 동반될 수 있는 부작용으로 알려진 관동맥의 재협착을 약물방출스텐트를 적용함으로써 극복할 수 있음을 입증하였다.

이상과 같이 심근경색증에 대한 줄기세포 치료법은 급성 심근경색증 환자에게서는 임상적인 효능이 상당부분 입증된 상태이나, 진구성 심근경색증과 같은 치료반응이 떨어지는 환자들을 위한 효능 개선 노력도 지속적으로 필요한 상태이다. 최근에는 효능을 개선하기 위한 방안으로 erythropoietin과 병합 투여를 통해 환자와 세포를 모두 priming하는 치료법을 임상연구를 통해 평가, 검증하고 있다.

Clinical Application of Stem Cells with Scaffold in Orthopaedic Field

Hae-Ryong Song

Dept. of Orthopaedic Surgery, Korea University Medical School

In orthopaedic field, bone defects occurs commonly after fracture, osteomyelitis, bone tumor excision, and after deformity correction with limb lengthening for congenital diseases.

Segmental bone defects more than 6 cm can be treated by various procedures, including cancellous bone grafting, vascularized fibular grafting, and internal bone transport with an external fixator. Problems associated with bone grafting include resorption of the graft, delayed consolidation, stress fracture, and nonunion. Internal bone transport using Ilizarov method has problems including long duration of consolidation, pin-tract infection, joint contracture, and long period of external fixator application.

Cultured osteoblast or bone marrow cells or mesenchymal stem cells from the iliac crest have been used for treatment of atrophic nonunion. However, these stem cell therapy is not effective without scaffold which holds the cells until new bone formation at the bone defect site.

Our department performed reconstructive bony procedures for bone defects and shortening more than 1,000 cases and reported many complications of these procedures.

Recently we are investigating possibility of using scaffold to reduce these complications in orthopaedic field.

We reviewed our results using PCL-TCP combined with cord blood stem cells for bone defect of rabbits and mini-pigs.