

## Development of Cell Therapeutics against Ischemic Vascular Diseases Using Mesenchymal Stem Cells: From Bench to Bed

Eun Ji Lee<sup>1</sup>, Shin Hu Park<sup>2</sup>, Jeong Ho Seo<sup>2</sup>, Hyo Gyung An<sup>2</sup>, Si Hyun Nam<sup>2</sup> and Sang-Mo Kwon<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Physiology, Laboratory for Vascular Medicine and Stem Cell Biology, Convergence Stem Cell Research Center, Medical Research Institute, Pusan National University School of Medicine, Yangsan 50612, Korea

<sup>2</sup>Pusan National University School of Medicine, Yangsan 50612, Korea

Received May 27, 2022 / Revised July 15, 2022 / Accepted July 18, 2022

Recently, the prevalence of ischemic diseases, such as ischemic heart disease, cerebral ischemia, and peripheral arterial disease, has been continuously increasing due to the aging population. The current standardized treatment for ischemic diseases is reperfusion therapy through pharmacotherapy and surgical approaches. Although reperfusion therapy may restore the function of damaged arteries, it is not effective at restoring the function of the surrounding tissues that have been damaged due to ischemia. Therefore, it is necessary to develop a new treatment strategy that can safely and effectively treat ischemic damage and restore the function of surrounding tissues. To overcome these limitations, stem cell-based therapy to regenerate the damaged region has been studied as a promising strategy for ischemic vascular diseases. Mesenchymal stem cells (MSCs) can be isolated from diverse tissues and have been shown to be promising for the treatment of ischemic disease by regenerating damaged tissues through immunomodulation, the promotion of angiogenesis, and the secretion of various relevant factors. Moreover, new approaches to enhancing MSC function, such as cell priming or enhancing transplantation efficiency using a 3D culture method, have been studied to increase stem cell therapeutic efficacy. In this review, we provide various strategies by which MSCs are used to treat ischemic diseases, and we discuss the challenges of MSC transplantation, such as the differentiation, proliferation, and engraftment of MSCs at the ischemic site.

**Key words :** Ischemic heart disease, Ischemic stroke, Mesenchymal stem cells, Peripheral artery disease, stem cell therapy

### 서 론

허혈성 혈관질환은 전 세계적으로 사망률과 발생률이 높은 질환 중 하나이다. 이 질병은 특정 조직의 혈관이 좁아지거나 막힘으로써 혈액 공급이 제한되어 심근세포나 신경세포 등 세포들이 괴사하여 발생하는 질환이다. 대표적인 질환으로 뇌혈관질환과 심장질환을 포함하여 하지정맥류, 혈관종, 혈전증, 부정맥, 협심증 등이 있다. 주요 발생 원인으로 산소공급이 제한된 조직에서 영양분 공급과 노폐물 배출 능력이 떨어지기 때문에 세포사멸과 조직 괴사를 촉진함으로써 기능장애를 유발하여 종종 허혈성 혈관질환이 발생하게 되며 심각하게는 갑작스러운

죽음에 이르게 한다. 현재 허혈성 혈관질환을 위한 주된 치료방법은 약물치료를 통해 혈관이 막히지 않도록 예방하고 혈관이 막혔을 때 혈전용해제를 처리하거나 수술요법으로 신속히 뚫어주는 재관류 요법이 있다. 그러나 이러한 방법은 수술 후에도 세포가 계속 죽어가고, 치료가 아닌 예방이라는 점과 혈관의 재협착 등 근본적인 원인 해결을 못하는 것이 한계점으로 남아 있다. 이와 같은 한계를 극복하기 위해 줄기세포를 이용한 치료방법이 꾸준히 연구되고 있다[89, 91].

줄기세포는 자가재생능력과 분화능을 가진 미분화 세포로 정의되며 기원에 따라 배아줄기세포와 성체줄기세포 등으로 나눌 수 있다. 최근에는 성체줄기세포의 한 종류인 중간엽줄기세포(Mesenchymal Stem Cell, MSC)를 사용한 세포 치료가 각광받고 있으며[38, 50], 이는 염증과 조직 손상을 막는 데 도움을 주는 면역조절제로서 손상된 조직에 혈류가 공급될 수 있도록 혈액 네트워크를 재조직하는 성장인자를 생성하여 주변 세포들의 증식과 분화를 촉진하는 등의 간접적인 역할을 한다고 알려져 있다[45]. 이러한 능력을 바탕으로 다양한 허혈성 혈관질환에서

#### \*Corresponding author

Tel : +82-51-510-8070, Fax : +82-51-510-8076

E-mail : [smkwon323@pusan.ac.kr](mailto:smkwon323@pusan.ac.kr)

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.

MSC의 임상적 이용가능성에 대한 연구가 진행되어 회복된 기능과 조직에 대한 안전성과 효과를 입증하였다[22, 38, 46, 47, 50]. 그러나 허혈성 손상 부위에 MSC 이식 시 생체 내의 낮은 생존율, 환자의 면역체계, 그리고 손상된 부위와 이식된 MSC의 상호작용 등에 의한 문제들로 인해 MSC를 활용한 세포치료제로서 한계가 있다[18, 58, 82, 93]. 이러한 문제를 극복하기 위하여, 연구자들은 MSC를 이식 후 직접적인 세포로 분화를 유도하는 방법과 더불어 간접적인 사이토카인(Cytokine) 등을 통한 치료, 손상된 조직에서 MSC의 낮은 생착능력과 줄기세포의 생존능을 향상시키기 위하여 세포 외 기질(Extracellular Matrix, ECM) 또는 3D 프린팅을 통하여 세포의 치료 효과 개선 등 다양한 접근법으로 연구를 진행하고 있다.

본 논문에서는 먼저, 세포치료제로서 MSC의 특징을 비교하고, 이를 적용할 때 세포 프라이밍 기술의 개념에서의 세포치료제 개발을 위한 학문적인 이해를 돕고자 하며 실제 임상 적용을 통해 MSC를 사용한 세포 치료의 가능성과 동향을 소개하고자 한다.

## 본 론

### MSC의 정의 및 특성

MSC는 1974년 Friedenstein과 연구자들이 골수에서 조혈모세포의 분화 및 성장에 필수적인 미세환경 역할을 하는 섬유아세포의 전구세포(Precursors of Fibroblast) 발견을 시작으로 1990년대에 MSC라 명명하게 되었다[18, 82]. MSC는 골수, 탯줄, 지방조직, 양수, 말초혈액 등에서 분리될 수 있다(Fig. 1A). 분리된 MSC는 뇌, 심장, 혈관, 간, 폐, 신장, 근육 등과 같은 다양한 세포들로 분화할 수 있을 뿐 아니라 자가증식능도 갖고 있다. 또한 항 염증 반응과 면역조절 그리고 손상된 부위로 이동할 수 있는 능력과 면역거부반응을 피할 수 있는 장점으로 인해 재생

의학(Regenerative Medicine)에서 세포 치료를 위한 세포로서 각광받고 있다[58]. 다양한 위치에서 분리된 MSC의 표지자(Immunophenotype)는 아직까지 명확하게 제시되지 않았으며, 일반적으로 국제세포치료학회(International Society for Cellular Therapy)에서 정의된 MSC의 표지자는 CD73, CD90, CD105는 발현되 CD34, CD45, CD11B 또는 CD 14, CD19 또는 CD79α, HLA-DR은 발현되지 않아야 한다고 정의되었으며 많은 논문들에 의하면 일반적으로 CD9, CD105, CD73, CD44, CD90, CD71, CD106, CD166, ICAM- 1, CD29가 발현된다(Table 1).

다분화능은 MSC의 가장 중요한 특성 중 하나로서 조골 세포, 근육세포, 지방세포 등과 같은 중배엽 세포(Mesodermal Cells)로 분화할 수 있으며 신경세포 및 피부세포와 같은 외배엽 세포(Ectodermal Cells)와 간세포, 신장세포와 같은 내배엽 세포(Endodermal Cells) 또는 혈관내피세포를 형성할 수 있다[55, 63]. 각 세포들로 분화유도 방법은 각각 다르며, 다양한 방법으로 분화된 세포를 확인할 수 있다.

또한 내피층을 재생시키는 방법이 허혈성 혈관질환으로 인해 손상된 조직 재생에 기여하며, 이는 MSC를 이용한 세포 치료에서 내피세포로 분화를 유도하는 중요한 기작(Mechanism)이라 알려져 있다[75]. MSC가 내피세포로 분화하기 위한 전사 조절 인자로서 SOX18, HOXA7, HOXB3, HOXB5, NOTCH1이 내피세포로의 분화유도에 기능적인 영향을 미치는 것으로 보고되었으며 VEGF-A 및 ATII를 처리 시 특정 조절인자의 발현이 증가된다[3, 11, 35, 36, 72, 74](Table 2).

### MSC의 세포 이동(Cell Homing)

MSC를 이식하게 되면 손상된 조직으로 세포가 이동하게 되는 것을 세포 이동이라고 한다. 조직 내부로 세포의 이동 현상은 MSC의 주요 치료 기전 중 하나이며 이러한 과정을 돕는 다양한 마커(Marker)가 발현되고 손상된 조

Table 1. Typical markers of MSCs

MSCs	Origin of MSC	Marker	References
Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells (BM-MSCs)	Coronal Bone, Iliac Crest	CD29+, CD44+, CD73+, CD90+, CD105+, Sca-1+, CD14-, CD34-, CD45-, CD19-, CD11b-, CD31-, CD86-, HLA-DR-	[15, 56, 93]
Adipose Derived Mesenchymal Stem Cells (AD-MSCs)	Subcutaneous Fat in The Abdomen	CD29+, CD44+, CD73+, CD90+, CD105+, CD146+, CD166+, MHC-I+, CD31-, CD45-, HLA-DR-	[12, 30, 76, 94]
Synovium Derived Mesenchymal Stem Cells (SD-MSCs)	Synovial Membrane of The Knee	CD10+, CD13+, CD49+, CD44+, CD73+, CD90+, CD105+, CD147+, CD166+, CD14-, CD20-, CD31-, CD34-, CD45-, CD62-, CD68-, CD113-, CD117-, HLA-DR-, ALP-	[92]
Umbilical Cord Blood Mesenchymal Stem Cells (UC-MSCs)	Umbilical Cord Blood	CD29+, CD44+, CD73+, CD90+, CD105+, CD166+, CD14-, CD31-, CD34-, CD45-, CD106-, HLA-DR-	[74]

Table 2. Differentiation method of MSCs into diverse cells

Differentiation cell	Induced drug	RT-PCR	References
Osteoblast	Glycerophosphate Ascorbic acid Dexamethasone	Col I, OCN, OPN, ALP, BSP, RUNX2	[8]
Chondrocyte	Ascorbic acid Dexamethasone TGF-β1 / TGF-β3	Col II, SOX-9, Aggrecan, SOX-5, SOX-6, NOX 4, Col X, Chondroitin 4-sulfotransferase	[62]
Neurocyte	EGF, HGF, VEGF, BHA, KCl, Valproic acid, Forskolin, Hydrocortisone, Insulin	Tubulin-βIII, GFAP, Enolase, NeuN, NCAM, Glial cell marker, NANOG, OCT4, SOX-2, MAP2, NF-M, GAP 43	[2, 10, 33]
Cardiomyocyte	b-FGF, 5-azacytidine	Desmin, MYOD1, MYOG, MHC, α-cardiac actin, cTnT, MYF5/6, MEF2C, TNNI1/2, CKM, Myosin2, HCN2, HCN4	[49, 86, 87]

직이나 원하는 부위로 이동하는 능력은 지속적으로 연구되었다[16]. MSC의 세포 이동은 먼저 MSC에 발현한 CD44와 내피세포 표면의 셀렉틴(Selectin)의 상호작용을 통해 내피세포(Endothelial Cells, EC) 벽에 부착하고 MSC가 혈관 벽을 따라 이동할 수 있게 한다. 이동하다 멈춘 부위에서 MSC가 내피막을 통과하기 위해 내피막의 기저막을 용해시키고 기질금속단백질분해효소(Matrix Metalloproteinase, MMP)가 활성화되어 손상된 조직으로 들어갈 수 있다. 혈관 내부로 들어간 MSC는 내피세포의 SDF-1과 함께 MSC표면에 있는 CXCR4와 CXCR7 및 분비된 CCR2, CCR3, CXCR4와 같은 사이토카인은 SDF-1, PDGF, IL-8 및 IGF 및 케모카인(Chemokine)의 효과를 통해 활성화되어 손상된 부위로 이동한다[13, 16]. 손상된 조직에 도달한 MSC는 인테그린(Integrin) α4와 β1의 인테그린 이량체(Very Late Antigen-4, VLA-4)와 혈관세포부착분자1(Vascular Cell Adhesion Molecule 1, VCAM-1)의 상호작용에 의해 이동이 저지된다(Fig. 1C - Fig. 1D).

**MSC 프라이밍(Priming)**

MSC의 다분화능력과 사이토카인을 분비하여 허혈성 질환의 세포치료제로서 임상연구가 지속적으로 진행되고 있다. 그러나 생체 내에 이식된 MSC의 기능 감소와 손상된 부위에서 발견된 세포는 이식된 세포 수 보다 훨씬 적은 양의 세포만 살아남게 되는 문제가 있다. 이러한 문제를 극복하기 위해 다양한 방법으로 MSC 프라이밍 기술이 연구되고 있다[39, 59].

여러 연구에서 MSC의 생존율이 생화학적 및 물리학적 니쉬(Niche)에 영향을 받는다고 말한다[34, 85]. 이러한 정보를 바탕으로 ECM 기반의 3D 배양, 패치 개발 등의 연구가 진행되고 있다. 2010년에 게재된 연구자료에서 연구자들은 체외 배양 시 미소구체(Microsphere)에 ECM의 아미노산 서열인 아르기닌, 글리신, 아스파테이트(Arg- Gly- Asp, RGD) 모티프를 붙여 MSC를 배양함으로써 증가된 MSC의 생존율 및 혈관형성을 확인했다[90]. 또한 심근경

색 모델에서 성장인자에 의해 프라이밍된 MSC를 이식했을 경우, 국소부위에 증가된 세포생존율과 혈관재생으로 인해 회복된 심장기능을 보인 결과가 있다[60].

니쉬를 조절하는 방법과 달리 다른 연구에서 전염증성 사이토카인의 분비량을 조절하여 치료 효과를 극대화시키는 연구가 꾸준히 진행되고 있다. 연구자들은 지질 다당류(Lipopolysaccharide, LPS)를 전처리함으로써 IL-6나 TNF-α와 같은 사이토카인의 분비량을 증가시켜 MSC의 활성을 유도하여 손상된 조직을 재생시킨다는 결과를 보았다[48, 69].

멜라토닌(Melatonin)은 뇌 내의 송과선과 다른 여러 기관에서 생성되는 분자이며, 생체주기 리듬을 조절하는데 중요한 역할을 한다. 연구자들은 MSC에 멜라토닌이라는 약물과 함께 장기간 계대배양 시 MSC의 손실을 방지하며, 세포의 노화를 억제한다고 보고하였다[73]. 또한 멜라토닌을 전처리 후 질병 마우스 모델에 이식한 결과, MSC만 이식한 그룹과 비교하여 치료 효과가 증가한 결과를 보고하였다[68].

이외에도 세포 치료의 한계를 개선하는 다양한 연구 결과에서 증가된 세포생존율과 회복률을 바탕으로 MSC의 세포치료제로서 사용 가능성을 제시하고 있다(Fig. 1B) [43].

**임상연구**

**허혈성 심질환**

허혈성 심질환은 동맥이 좁아지거나 막힘으로써 심장 근육에 혈액 공급이 부족하여 발생하는 질환으로 급성심근경색이나 협심증이 이에 해당한다. 허혈성 심질환은 수술이나 약물을 통해 치료하는 것이 대중적이거나 완전한 회복이 아닌 일시적 효과라는 단점이 있다. 최근에 MSC의 특성을 이용하여 허혈성 심질환의 회복에 대한 연구를 꾸준히 시도해왔다[7]. 연구자들은 MSC 이식의 안전성을 확인하기 위해 급성심질환(Acute Heart Failure) 환자를 대

상으로 실시한 임상 결과를 확인하였다. STEMI (ST-Elevation Myocardial Infarction) 환자의 정맥에 BM-MSC를 투여 후 2년간 추적관찰을 한 결과 대조군 그룹에 비해 큰 부작용은 없었다고 말하며 MSC 이식의 안전성과 우수성을 확인함으로써 적절한 투여 경로와 용량에 대한 결과는 추가해야 할 필요가 있다고 말했다[9, 27]. 또한, 다른 연구자들은 이식한 MSC가 심근 안에 더 잘 분포될 수 있도록 카테터를 활용하여 120명의 환자에게 이식 후 추적관찰을 통해 안전성이 입증되었고[6], 심부전 환자를 대상으로 외과적 수술과 함께 MSC를 이식 후 확인하였을 때 부작용은 보이지 않았으며 대조군 환자보다 증가된 심기능을 확인하였다[1].

이러한 MSC의 이식에 의한 치료는 허혈성 심질환에서 임상적으로 접근하여 다양하게 연구되고 있다. 한 그룹에서 만성 허혈성 심부전(Chronic Ischemic Heart Failure) 환자에게 자가유래의 BM-MSC를 심근 주입 후 심장기능 회복을 확인하였고 이는 대조군 그룹에 비해 MSC를 이식한 심장의 좌심실 박출률, 좌심실 수축기말 부피, 좌심실 이완기말 부피의 회복을 보였다[28]. 또한 30-80세의 55명의 환자를 6개월간 추적하였으며 대조군 그룹에 비해 MSC를 이식한 환자의 심장에서 좌심실 박출률 증가, 좌심실 수축기말 부피 감소와 1회 심박출량, 1분간 심박출량, 좌심실 무게, 좌심실 벽 두께 등 좌심실 기능과 형태에

서 향상된 결과를 보였다[57]. 다른 연구에서는 MSC를 이식한 허혈성 심질환 환자의 심장에서 허혈 부위 크기 감소, 좌심실 회복, 부분적인 심근 수축력 향상, 좌심실 수축기말 부피와 이완기말 부피의 비율이 감소한 결과를 보였으며[84], 만성 관상동맥 질환 환자의 심근의 체외에서 배양한 MSC를 직접 이식 후 12개월 동안 추적한 결과 개선된 신체능력, 협심증 안전성 등을 확인하여 이 임상 결과 역시 MSC 이식 시 부작용은 발견되지 않았다고 보고하였다[26]. 또한 허혈성 심질환으로 인해 중증도의 좌심실 기능 이상이 보이는 환자에게 MSC를 이식한 결과 심장질환 환자의 운동능력과 증상을 확인하는 New York Heart Association (NYHA) 기능수행과 6분 보행 검사, 심기능을 확인하는 좌심실 박출률이 개선되었다[21]. 앞의 결과들을 바탕으로 MSC를 이식하여 허혈성 심질환이 재생되는 기전에 대한 연구도 진행되었다. 심부전 환자에게 MSC를 이식한 22명의 환자에서 3개월 뒤 심장의 기능을 정상적으로 회복시키는 결과를 보였으며, 이는 이식한 MSC가 내피 전구 세포(Endothelial Progenitor Cell, EPC)를 자극하여 심장 내피세포를 재생시킨다고 결론지었다[64].

앞서 결과들은 BM-MSC를 이식하였으며 이외 AD-MSC를 주입한 임상시험들도 있다. 허혈성 심근병이 있는 환자에게 AD-MSC를 주입하였고 이들의 결과는 대조군 환자와 비교하였을 때 심장의 기능개선과 심근관류(My-

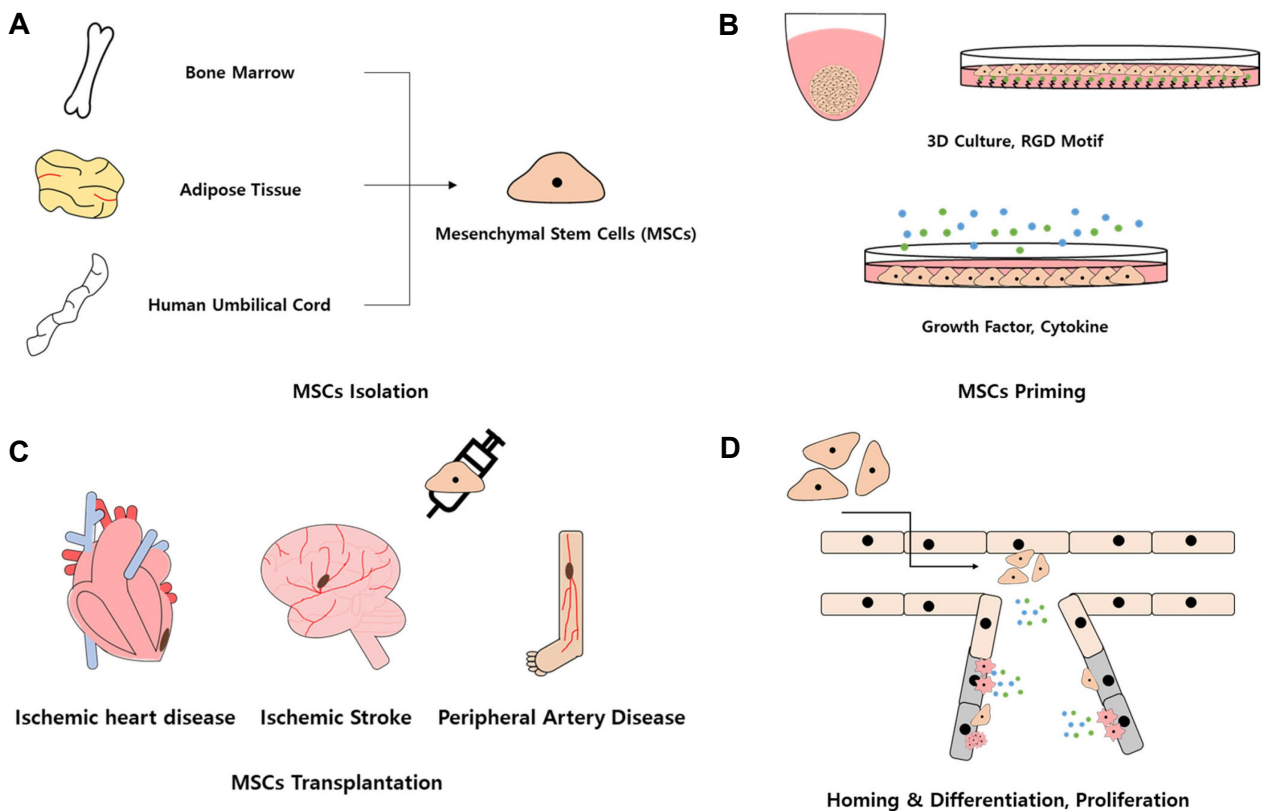


Fig. 1. The mechanism of MSCs therapy.

cardial Perfusion) 및 운동능력의 회복이 관찰되었다[61]. 또한 재발성 협심증을 가진 만성 관상동맥 질환 환자의 심근에 VEGF-A165로 프라이밍 된 AD-MSC를 주입한 뒤 심장의 운동기능과 손상된 부위가 개선된 결과를 확인하였다[65, 66]. 또한 만성 허혈 심근 모델에서 관상동맥 또는 정맥으로 UC-MSC를 주입하였으며 이는 증가된 혈관 내피세포 분화, 심근 박출 개선, 측부 혈관 발달, 심근의 섬유화 감소가 관찰되었다[53]. 이러한 결과를 바탕으로 다른 연구자들은 만성 심부전 환자에게 체외 배양한 UC-MSC를 정맥으로 주사하였다. 이 연구결과에서 MSC 이식 환자의 심장기능이 완화되었으며 치료 후 사망률, 재입원율, 부정맥 등의 부정적인 결과는 없었다[5].

앞에서 설명한 임상연구들을 확인하였을 때 다양한 조직에서 유래된 MSC를 허혈성 질환 환자에게 이식 시 완화되는 심장기능과 안전성을 확인하였으나 연구자들은 이러한 결과들에 비해 주입 빈도와 MSC의 양에 대한 연구가 필요하다고 설명하였다. 한 연구자들은 30명의 허혈성 심근질환 환자에게 각각  $2 \times 10^8$ 개와  $1 \times 10^9$ 개의 세포를 주입하였다. 두 그룹의 환자에게 부작용은 확인할 수 없었으며 심장의 손상된 부위의 크기는 비슷하게 감소되었으나 심장기능에 있어  $1 \times 10^9$ 개의 세포를 주사한 그룹에서 완화된 것을 확인하였다[17]. 이와 같은 연구결과를 확인함으로써 많은 양의 세포를 손상된 부위로 생착시키기 위한 연구는 계속 진행되고 있다. 임상연구에서 진행한 방법은 가장 대중적인 방법으로 진행되었으며 정맥주사로  $1 \times 10^9$ 개에서  $1.5 \times 10^9$ 개 사이의 세포 수가 긍정적인 효과를 나타내는 최소 양이고,  $7 \times 10^8$ 개 이하 또는  $2 \times 10^9$ 개 이상이면 효과적이지 않다고 제시했다[41]. 앞서 치료를 위해 연구된 MSC의 개수에 관해 연구되었으나 허혈성 심질환에서 이식하는 시기에 관해서는 여전히 논란의 여지가 있다. 이에 관하여 한 연구자들은 쥐의 심장에 허혈성 심근질환을 유도한 뒤 1시간, 1주일, 2주일 후에 MSC를 주입하여 확인한 결과로 심근경색(Myocardial Infarction) 유도 후, 1주일 된 쥐에서 MSC를 이식하는 것이 심기능, 혈관재생 등의 효과를 나타내기 위해 최적의 시간이라고 결론지었다[40].

### 허혈성 뇌졸중

허혈성 뇌졸중은 뇌졸중 원인의 87%를 차지한다. 이는 색전이나 혈전으로 인해 동맥이 막혀서 뇌에 공급되는 산소가 줄어들어 뇌의 손상으로 발생하며 현재까지 플라스미노겐 활성화인자(Plasminogen Activator)를 이용해 혈전을 용해하는 내과적 치료와 막힌 혈관에 접근해 직접 혈전을 제거하는 외과적 치료가 허혈성 뇌졸중 치료법으로 이용되고 있다[20, 42, 51, 78]. 하지만, 발병 이후 수술적 치료 접근에 대해 여전히 논란이 있으며 회복을 위해서 이용 가능한 방법은 거의 없다는 것이 현존하는 치료

법의 한계점이다[42, 70]. 이와 대조적으로 MSC를 이용한 치료법은 손상된 신경계를 재생시키는 특징이 있어 혈관 재생을 유도하고 손상 이후 뇌 재생(Brain Regeneration)을 촉진하는 새로운 전략이다[81]. MSC 기반 뇌졸중 치료의 메커니즘은 아직 완전히 밝혀지지 않았지만, 크게 세 가지로 추정된다. MSC가 신경세포나 별아교세포로 분화하거나, 성장인자나 사이토카인 등을 분비하여 손상된 조직에서 혈관재생, 신경 손상 복구를 유도하는 방법 그리고 손상된 세포의 기능을 회복하는 방법으로 재생할 수 있다[51].

보고에 따르면 2005년에 연구자들은 최초로 급성 뇌졸중 환자 다섯명에게 BM-MSC를 정맥 주입했고, 이에 대한 부작용은 나타나지 않았다고 보고했다[4]. 이를 시작으로 임상연구자들은 MSC의 이식 후 장기간 안전성을 확인하였다. 16명의 허혈성 뇌졸중 환자에게 BM-MSC를 정맥 주입하여 최대 5년간 경과를 관찰했다. BM-MSC를 이식 받은 환자의 누적 생존율(Cumulative Surviving Portion)은 대조군 환자 그룹과 비교하였을 때 증가한 결과를 보였으며 심각한 부작용은 관찰되지 않았다[47]. 앞에서 MSC를 이식 시 환자에 대한 안전성을 확인하였으며 이를 바탕으로 연구자들은 12명의 뇌졸중 환자에게 체외에서 배양한 MSC를 이식했다. MSC는 허혈성 뇌졸중이 발병 후 36-133일 이후 이식되었으며 이식된 환자의 NIHSS (National Institutes of Health Stroke Scale)에 따른 신경학적 상태 점수의 평균은 이식 전 상태와 비교하였을 때 완화된 결과를 보였고 MRI (Magnetic Resonance Imaging)를 통해 손상된 부위 또한 20% 감소를 확인하였다[32]. 최근 Open-label Randomized Controlled Trial 연구에서 자가 BM-MSC 정맥 주입이 운동기능을 개선시킨다는 결과가 보고되었다. 연구자들은 16명의 급성 허혈성 뇌졸중 발병 후 2주 이내로 환자에게 자가 BM-MSC를 이식하여 연구를 진행하였다. 치료 효과는 이식 후 12개월 뒤에 추적관찰 했으며 Barthel Index, NIHSS, Modified-Rankin 점수와 같이 뇌의 기능적 회복 평가에서 유의미한 차이는 없었지만, Motor-NIHSS, F-M Motor Scale 점수, MI-4a와 MI-4p 영역의 업무 수행 MRI 활성화에서 BM-MSC가 이식된 환자 그룹에서 대조군 환자 그룹에 비해 개선된 결과를 확인했다[37].

대중적으로 임상연구에서 진행된 방법은 BM-MSC를 정맥주사로 이식한다. 그러나 한 임상연구에서 만성 허혈성 뇌졸중을 앓고 있는 18명의 환자에게 BM-MSC를 스트로크 영역(Subcortical Stroke Region)에 이식 후 24개월간 치료를 받았다. 그 결과 부작용은 확인할 수 없었으며 European Stroke Scale (ESS) 점수, NIHSS 점수, Fugl-Meyer (F-M) 총 점수, F-M Motor Scale 점수는 모두 대조군 환자와 비교하였을 때 향상된 결과를 확인했다[77].

AD-MSC는 분리가 더 쉽고 부작용이 적다는 장점이 있어 최근 이를 이용한 연구도 활발히 진행되고 있다[24,

25, 67]. 2014년에 게재된 임상 2상 연구에서 급성 뇌졸중 환자 20명에게 AD-MSC를 정맥으로 이식하였다. 이후 2년 동안 추적 관찰한 결과, 신경학적 합병증, 전신 합병증, 종양 발생 등의 부작용이 관찰되지 않았으며 AD-MSC 주입이 뇌졸중 치료제로서 실현 가능성이 있다는 것을 보고하였다[14]. UC-MSC 또한 항원성이 낮고 윤리적 문제가 거의 없다는 장점으로 인해 많은 연구가 진행되고 있다. 한 임상연구에서 급성 뇌졸중 환자 10명에게 UC-MSC를 정맥 주입한 임상연구에서 유의미한 기능 회복이 보고됨으로써 BM-MSC, AD-MSC 뿐만 아니라 UC-MSC 또한 치료제로서 안전하며, 실현 가능하다는 것을 보여주었다[88].

### 말초 동맥 질환

말초 동맥 질환(Peripheral Artery Disease, PAD)은 죽상 경화증에 의해 대동맥과 그 주변 혈관의 기능과 구조에 이상이 있는 혈관질환으로 최근까지 MSC를 말초 동맥 질환 환자에 이식하여 많은 임상연구가 진행되고 있다[52]. 보고된 연구에 따르면 말초 동맥 질환 환자에게 BM-MSC를 이식하여 3년 동안 추적관찰을 하여 효과를 확인하였다. BM-MSC가 이식된 41명의 환자는 대조군 환자 그룹과 비교하였을 때 재발률이 낮았고 손상된 부위가 더욱 빠르게 치유되었으며 재생된 혈관과 개선된 기능을 보였다[54]. 또 다른 임상연구에서 말초 동맥 질환 환자 18명에게 BM-MSC를 이식하였을 때 대조군 환자 그룹과 비교하여 통증감소, 손상부위 개선 등을 확인하였다. 이러한 결과와 함께 연구자들은  $2 \times 10^6$ 개를 근육 주사하는 것이 좋다고 말하며 적정 용량을 규명하기 위해 추가적인 연구가 필요하다고 말한다[23].

자가유래(Autologous)뿐 아니라 동종(Allogenic)의 UC-MSC도 말초 동맥 질환 치료를 위해 꾸준히 연구되고 있다. 2019년에 게재된 한 임상연구에서 UC-MSC의 치료 효과를 평가하기 위해 23명의 말초 동맥 질환 환자의 근육에 UC-MSC를 주입하였고 6개월 동안 추적 관찰하였다. 그 결과 이식 전과 비교하였을 때 혈관과 통증, 궤양이 개선된 결과를 보였다. 또 다른 임상연구에서는 UC-MSC를 이식 후, 말초 동맥 질환 환자의 치료 기작을 확인하였다. 8명의 말초 동맥 질환 환자를 치료 전과 치료 후 1개월 뒤 결과를 비교하였을 때 면역 조절 인자들인 TNF- $\alpha$ 와 IL-6의 감소와 면역세포인 T세포 및 NK세포의 감소를 확인함으로써 MSC를 이용한 치료 효과는 항 염증(Anti-Inflammatory)과 면역조절(Immunomodulation)에 의한 것이라고 보고되었다[19, 52]. 다른 연구자들은 UC-MSC를 4명의 말초 동맥 질환을 가진 당뇨병자에게 주입 후 4주간격으로 확인하였다. 치료 후 24주 동안 부작용은 관찰되지 않았으며, 허혈부위가 개선되고 동시에 통증, 수족냉증 등 이식 전과 비교하였을 때 향상된 결과를 보였다

[83].

많은 임상연구결과에서 주로 MSC를 혈관과 근육 내로 직접 주입하는 방식으로 진행하였다. 그러나 이러한 방법은 MSC의 기능을 잃고, 극소수의 세포들만 손상된 부위에서 살아남게 된다. 이러한 결점을 극복하기 위해 MSC의 효율성을 높이기 위한 생체 내 미세환경을 반영한 3D 스페로이드(Spheroid)의 연구가 계속 진행되고 있으며[44] 허혈성 하지(Critical Hindlimb Ischemia, CLI) 질병에도 적용되고 있다. 한 연구에서는 MSC 스페로이드를 체외 배양 후 말초 동맥 질환을 유도한 토끼의 뒷다리에 주입하였고, 대조군 그룹과 비교하여 생체 내 세포의 모양(Morphology), 크기 분포(Size Distribution), 역학적 안전성과 외부에서 MRI를 통한 추적능력(Trackability)과 분포도(Distribution)가 평가되었다. 결과적으로 3D 스페로이드를 통한 주입은 훨씬 안정적인 역할을 보였고 줄기세포 표현형을 유지하였으며 MRI를 통해 쉽게 추적할 수 있었다[71]. 앞서 말한 결점을 보완하기 위해 생체 내의 MSC의 세포 사멸을 억제하여 세포의 생존율을 높이기도 한다. 2020년 게재된 연구 자료에 의하면 JH4라는 lamin A-Progerin Binding 억제제가 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>로부터 유도되는 활성산소(Reactive Oxygen Species, ROS) 생산 및 세포사멸로부터 AD-MSC를 보호하며, 말초 동맥 질환 모델인 쥐에서 JH4와 AC-MSC의 공동 투여는 AC-MSC의 세포사멸을 억제하였고 이로 인해 혈관재생 및 손상 부위의 기능을 회복했다[29]. 세포의 생존율을 증가시키는 연구뿐만 아니라 주입된 MSC가 국소 부위로 호밍하기 위한 연구도 진행되고 있다. 한 연구자들은 쥐의 허혈성 하지 모델에 MSC를 정맥으로 이식 후 외부에서 초음파를 이용하여 골격근에 Mechanotransduction을 유도하였다. 연구 결과는 이식 후 7주까지 확인하였으며 MSC만 단독 이식한 그룹과 비교하여 혈관재생 및 CD31, VEGF와 IL-10 발현을 증가시키면서 개선된 혈관과 혈관 밀도를 보였다. 연구자들은 손상된 조직에서 사이토카인과 케모카인등의 발현을 증가시켜 MSC의 호밍능력을 향상시킨다고 주장했다[79].

## 결론

최근 다양한 원인으로 허혈성 혈관질환 발병과 이로 인한 사망률이 증가하고 있다. 허혈성 혈관질환은 혈관이 손상되어 순환하는 혈류량을 감소시켜 장기의 기능이 떨어지는 질병이다. 질병 회복을 위한 수술적 치료나 약물로 치료하는 방법이 있으나 완전히 회복시키는 것이 아닌 일시적 회복과 더 심한 손상을 막아주는 임시방편에 불과하다. 이러한 한계점을 극복하기 위해 현재까지 많은 연구자들은 MSC를 이용한 줄기세포 치료에 관한 연구를 진행하고 있다.

MSC는 다양한 조직에서 분리될 수 있으며 자가재생능

(Self-Renewal), 증식(Proliferation), 다양한 세포로의 분화(Differentiation), 목표 장기로의 세포 이동(Cell Homing), 면역을 조절할 수 있어 최근 여러 분야에서 사용되고 있다. 이러한 특성으로 인해, 허혈성 심질환, 허혈성 뇌졸중, 말초 동맥 질환 등 다양한 허혈성 혈관질환을 위한 세포 치료제로 각광받고 있다.

많은 장점을 가진 MSC를 이용한 세포 치료에 관한 임상연구는 꾸준히 진행되고 있으며 허혈성 심질환, 허혈성 뇌졸중, 말초 동맥 질환에서 임상적 안전성과 회복능력을 보여 세포치료제로서 가능성을 확인하였다. 앞서 설명한 임상 데이터에서 이식된 MSC에서 수개월간 추적검사를 진행하였고 이는 심질환에서 좌심실 박출률, 6분 걷기 등의 심장기능과 운동능력의 회복과 뇌졸중에서 손상된 부위의 감소와 기능, 운동능력의 회복을 보였으며 말초 동맥 질환 또한 회복된 손상부위와 낮은 재 입원율을 보였다. 그러나 환자의 상태, 발병 이후 시간, 이식에 필요한 충분한 수의 MSC 확보 등의 문제와 생체 내에서 낮은 생존율로 인한 한계가 있으나 이러한 문제를 극복하기 위해 많은 연구자들은 발병 이후 이식 시점, 이식 세포 수, 다양한 유래의 MSC, 이식 부위 등의 연구와 체외 배양 시 3D 스페로이드 배양을 하거나 약물을 처리하여 세포 사멸을 억제하는 방식으로 세포생존율을 개선하려는 연구가 계속 진행되고 있다. 실제로 MSC의 수를 너무 적거나 많이 이식하면 회복되지 않은 결과를 보였으며[40], 3D 스페로이드 이식 또한 줄기세포의 특성을 유지하며 회복하는 결과를 보였다.

MSC 이식 시 훌륭한 회복률을 보임과 함께 다양한 개선 방안에도 불구하고 아직 생체 내 이식 후 MSC의 증식 능력에 대한 연구와 일관되지 않은 임상결과, 그리고 치료 이후 개선에 대한 데이터 부족 등으로 인해 대규모 임상시험에 적용되기에는 부족하다. 따라서 허혈성 혈관 질환을 위한 세포 치료 적용은 생체 내에서 MSC의 기능을 유지하며 증식, 분화의 조절뿐만 아니라 환자 수, 필요한 세포 수와 이식 방법, 임상 증상 평가 도구 등을 통일하여 최적화된 대규모 중심(Multicenter)연구 환자의 질병 상태 등에 대한 임상연구가 진행될 필요가 있다[31, 80].

## 감사의 글

이 연구는 부산대학교 기본연구지원사업(2년)에 의하여 연구되었음.

## The Conflict of Interest Statement

The authors declare that they have no conflicts of interest with the contents of this article.

## References

1. Ascheim, D. D., Gelijns, A. C., Goldstein, D., Moye, L. A., Smedira, N. and Woo, Y. J. 2014. Mesenchymal precursor cells as adjunctive therapy in recipients of contemporary left ventricular assist devices. *Circulation* **129**, 2287-2296.
2. Bae, K. S., Park, J. B., Kim, H. S., Kim, D. S., Park, D. J. and Kang, S. J. 2011. Neuron-like differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Yonsei Med. J.* **52**, 401-412.
3. Bago, J. R., Alieva, M., Soler, C., Rubio, N. and Blanco, J. 2013. Endothelial differentiation of adipose tissue-derived mesenchymal stromal cells in glioma tumors: implications for cell-based therapy. *Mol. Ther.* **21**, 1758-1766.
4. Bang, O. Y., Lee, J. S., Lee, P. H. and Lee, G. 2005. Autologous mesenchymal stem cell transplantation in stroke patients. *Ann. Neurol.* **57**, 874-882.
5. Bartolucci, J., Verdugo, F. J., Gonzalez, P. L., Larrea, R. E., Abarzua, E. and Khoury, M. 2017. Safety and efficacy of the intravenous infusion of umbilical cord mesenchymal stem cells in patients with heart failure: a phase 1/2 randomized controlled trial (RIMECARD Trial [Randomized Clinical Trial of Intravenous Infusion Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells on Cardiopathy]). *Circ. Res.* **121**, 1192-1204.
6. Bartunek, J., Terzic, A., Davison, B. A., Filippatos, G. S., Radovanovic, S. and Program, C. 2017. Cardiopoietic cell therapy for advanced ischaemic heart failure: results at 39 weeks of the prospective, randomized, double blind, sham-controlled CHART-1 clinical trial. *Eur. Heart J.* **38**, 648-660.
7. Chang, D., Fan, T., Gao, S., Jin, Y., Zhang, M. and Ono, M. 2021. Application of mesenchymal stem cell sheet to treatment of ischemic heart disease. *Stem Cell. Res. Ther.* **12**, 384.
8. Choudhery, M. S., Badowski, M., Muise, A. and Harris, D. T. 2013. Comparison of human mesenchymal stem cells derived from adipose and cord tissue. *Cytotherapy* **15**, 330-343.
9. Chullikana, A., Majumdar, A. S., Gottipamula, S., Krishnamurthy, S., Kumar, A. S. and Gupta, P. K. 2015. Randomized, double-blind, phase I/II study of intravenous allogeneic mesenchymal stromal cells in acute myocardial infarction. *Cytotherapy* **17**, 250-261.
10. Chung, C. S., Fujita, N., Kawahara, N., Yui, S., Nam, E. and Nishimura, R. 2013. A comparison of neurosphere differentiation potential of canine bone marrow-derived mesenchymal stem cells and adipose-derived mesenchymal stem cells. *J. Vet. Med. Sci.* **75**, 879-886.
11. Chung, N., Jee, B. K., Chae, S. W., Jeon, Y. W., Lee, K. H. and Rha, H. K. 2009. HOX gene analysis of endothelial cell differentiation in human bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Mol. Biol. Rep.* **36**, 227-235.
12. Connick, P., Kolappan, M., Crawley, C., Webber, D. J., Patani, R. and Chandran, S. 2012. Autologous mesenchymal stem cells for the treatment of secondary pro-

- gressive multiple sclerosis: an open-label phase 2a proof-of-concept study. *Lancet Neurol.* **11**, 150-156.
13. De Becker, A. and Riet, I. V. 2016. Homing and migration of mesenchymal stromal cells: How to improve the efficacy of cell therapy? *World J. Stem Cells* **8**, 73-87.
  14. Diez-Tejedor, E., Gutierrez-Fernandez, M., Martinez-Sanchez, P., Rodriguez-Frutos, B., Ruiz-Ares, G. and Gimeno, B. F. 2014. Reparative therapy for acute ischemic stroke with allogeneic mesenchymal stem cells from adipose tissue: a safety assessment: a phase II randomized, double-blind, placebo-controlled, single-center, pilot clinical trial. *J. Stroke Cerebrovasc. Dis.* **23**, 2694-2700.
  15. El-Ansary, M., Abdel-Aziz, I., Mogawer, S., Abdel-Hamid, S., Hammam, O. and Wahdan, M. 2012. Phase II trial: undifferentiated versus differentiated autologous mesenchymal stem cells transplantation in Egyptian patients with HCV induced liver cirrhosis. *Stem Cell Rev. Rep.* **8**, 972-981.
  16. Eseonu, O. I. and De Bari, C. 2015. Homing of mesenchymal stem cells: mechanistic or stochastic? Implications for targeted delivery in arthritis. *Rheumatology (Oxford)* **54**, 210-218.
  17. Florea, V., Rieger, A. C., DiFede, D. L., El-Khorazaty, J., Natsumeda, M. and Hare, J. M. 2017. Dose Comparison Study of Allogeneic Mesenchymal Stem Cells in Patients With Ischemic Cardiomyopathy (The TRIDENT Study). *Circ. Res.* **121**, 1279-1290.
  18. Friedenstein, A. J., Deriglasova, U. F., Kulagina, N. N., Panasuk, A. F., Rudakowa, S. F. and Ruadkow, I. A. 1974. Precursors for fibroblasts in different populations of hematopoietic cells as detected by the *in vitro* colony assay method. *Exp. Hematol.* **2**, 83-92.
  19. Gao, W. H., Gao, H. Y., Li, Y. T. and Huang, P. P. 2019. Effectiveness of umbilical cord mesenchymal stem cells in patients with critical limb ischemia. *Med. Clin. (Barc.)* **153**, 341-346.
  20. Gralla, J., Brekenfeld, C., Mordasini, P. and Schroth, G. 2012. Mechanical thrombolysis and stenting in acute ischemic stroke. *Stroke* **43**, 280-285.
  21. Guijarro, D., Lebrin, M., Lairez, O., Bourin, P., Piriou, N. and Roncalli, J. 2016. Intramyocardial transplantation of mesenchymal stromal cells for chronic myocardial ischemia and impaired left ventricular function: Results of the MESAMI 1 pilot trial. *Int. J. Cardiol.* **209**, 258-265.
  22. Gupta, P. K., Chullikana, A., Parakh, R., Desai, S., Das, A. and Majumdar, A. S. 2013. A double blind randomized placebo controlled phase I/II study assessing the safety and efficacy of allogeneic bone marrow derived mesenchymal stem cell in critical limb ischemia. *J. Transl. Med.* **11**, 143.
  23. Gupta, P. K., Krishna, M., Chullikana, A., Desai, S., Murugesan, R. and Majumdar, A. S. 2017. Administration of adult human bone marrow-derived, cultured, pooled, allogeneic mesenchymal stromal cells in critical limb Ischemia due to Buerger's disease: Phase II study report suggests clinical efficacy. *Stem Cells Transl Med.* **6**, 689-699.
  24. Gutierrez-Fernandez, M., Rodriguez-Frutos, B., Otero-Ortega, L., Ramos-Cejudo, J., Fuentes, B. and Diez-Tejedor, E. 2013. Adipose tissue-derived stem cells in stroke treatment: from bench to bedside. *Discov. Med.* **16**, 37-43.
  25. Gutierrez-Fernandez, M., Rodriguez-Frutos, B., Ramos-Cejudo, J., Teresa Vallejo-Cremades, M., Fuentes, B. and Diez-Tejedor, E. 2013. Effects of intravenous administration of allogeneic bone marrow- and adipose tissue-derived mesenchymal stem cells on functional recovery and brain repair markers in experimental ischemic stroke. *Stem Cell. Res. Ther.* **4**, 11.
  26. Haack-Sorensen, M., Friis, T., Mathiasen, A. B., Jorgensen, E., Hansen, L. and Kastrup, J. 2013. Direct intramyocardial mesenchymal stromal cell injections in patients with severe refractory angina: one-year follow-up. *Cell Transplant.* **22**, 521-528.
  27. Hare, J. M., Fishman, J. E., Gerstenblith, G., DiFede Velazquez, D. L., Zambrano, J. P. and Lardo, A. 2012. Comparison of allogeneic vs autologous bone marrow-derived mesenchymal stem cells delivered by transendocardial injection in patients with ischemic cardiomyopathy: the POSEIDON randomized trial. *JAMA.* **308**, 2369-2379.
  28. Heldman, A. W., DiFede, D. L., Fishman, J. E., Zambrano, J. P., Trachtenberg, B. H. and Hare, J. M. 2014. Transendocardial mesenchymal stem cells and mononuclear bone marrow cells for ischemic cardiomyopathy: the TAC-HFT randomized trial. *JAMA.* **311**, 62-73.
  29. Heo, S. C., Kwon, Y. W., Park, G. T., Kwon, S. M., Bae, S. S. and Kim, J. H. 2020. Mesenchymal stem cell-mediated therapy of peripheral artery disease is stimulated by a lamin A-Progerin binding inhibitor. *J. Lipid Atheroscler.* **9**, 460-473.
  30. Herrmann, R., Sturm, M., Shaw, K., Purtill, D., Cooney, J. and Cannell, P. 2012. Mesenchymal stromal cell therapy for steroid-refractory acute and chronic graft versus host disease: a phase 1 study. *Int. J. Hematol.* **95**, 182-188.
  31. Hess, D. C., Wechsler, L. R., Clark, W. M., Savitz, S. I., Ford, G. A. and Mays, R. W. 2017. Safety and efficacy of multipotent adult progenitor cells in acute ischaemic stroke (MASTERS): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial. *Lancet Neurol.* **16**, 360-368.
  32. Honmou, O., Houkin, K., Matsunaga, T., Niitsu, Y., Ishiai, S. and Kocsis, J. D. 2011. Intravenous administration of auto serum-expanded autologous mesenchymal stem cells in stroke. *Brain* **134**, 1790-1807.
  33. Hou, L., Cao, H., Wang, D., Wei, G., Bai, C. and Pei, X. 2003. Induction of umbilical cord blood mesenchymal stem cells into neuron-like cells *in vitro*. *Int. J. Hematol.* **78**, 256-261.
  34. Huang, Z., Noeaid, P., Kohl, B., Roether, J. A., Schubert, D. W. and Schulze-Tanzil, G. 2015. Chondrogenesis of human bone marrow mesenchymal stromal cells in highly porous alginate-foams supplemented with chondroitin sulfate. *Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl.* **50**, 160-172.



35. Ikhapoh, I. A., Pelham, C. J. and Agrawal, D. K. 2015. Sry- type HMG box 18 contributes to the differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells to endothelial cells. *Differentiation* **89**, 87-96.
36. Ikhapoh, I. A., Pelham, C. J. and Agrawal, D. K. 2015. Synergistic effect of angiotensin II on vascular endothelial growth factor-A-mediated differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells into endothelial cells. *Stem Cell. Res. Ther.* **6**, 4.
37. Jaillard, A., Hommel, M., Moisan, A., Zeffiro, T. A., Favre-Wiki, I. M. and Detante, O. 2020. Autologous mesenchymal stem cells improve motor recovery in subacute Ischemic stroke: a randomized clinical trial. *Transl Stroke Res.* **11**, 910-923.
38. Jeong, H., Yim, H. W., Park, H. J., Cho, Y., Hong, H. and Oh, I. H. 2018. Mesenchymal stem cell therapy for Ischemic Heart Disease: Systematic review and meta-analysis. *Int. J. Stem Cells* **11**, 1-12.
39. Ji, S. T., Kim, H., Yun, J., Chung, J. S. and Kwon, S. M. 2017. Promising therapeutic strategies for mesenchymal stem cell-based cardiovascular regeneration: from cell priming to tissue engineering. *Stem Cells Int.* **2017**, 3945403.
40. Jiang, C. Y., Gui, C., He, A. N., Hu, X. Y., Chen, J. and Wang, J. A. 2008. Optimal time for mesenchymal stem cell transplantation in rats with myocardial infarction. *J. Zhejiang Univ. Sci. B.* **9**, 630-637.
41. Kabat, M., Bobkov, I., Kumar, S. and Grumet, M. 2020. Trends in mesenchymal stem cell clinical trials 2004-2018: Is efficacy optimal in a narrow dose range? *Stem Cells Transl. Med.* **9**, 17-27.
42. Khazaei, M., Davoodian, A., Taheri, M. and Ghafouri-Fard, S. 2020. Former antiplatelet drug administration and consequences of intravenous thrombolysis in acute ischemic stroke. *Hum. Antibodies* **28**, 53-56.
43. Kim, J. Y., Lee, J. S., Han, Y. S., Lee, J. H., Bae, I. and Lee, S. H. 2015. Pretreatment with lycopene attenuates oxidative stress-induced apoptosis in human mesenchymal stem cells. *Biomol. Ther. (Seoul)*. **23**, 517-524.
44. Kouroupis, D., Willman, M. A., Best, T. M., Kaplan, L. D. and Correa, D. 2021. Infrapatellar fat pad-derived mesenchymal stem cell-based spheroids enhance their therapeutic efficacy to reverse synovitis and fat pad fibrosis. *Stem Cell. Res. Ther.* **12**, 44.
45. Kyurkchiev, D., Bochev, I., Ivanova-Todorova, E., Mourdjeva, M., Oreshkova, T. and Kyurkchiev, S. 2014. Secretion of immunoregulatory cytokines by mesenchymal stem cells. *World J. Stem Cells* **6**, 552-570.
46. Lalu, M. M., McIntyre, L., Pugliese, C., Fergusson, D., Winston, B. W. and Canadian Critical Care Trials, G. 2012. Safety of cell therapy with mesenchymal stromal cells (SafeCell): a systematic review and meta-analysis of clinical trials. *PLoS One* **7**, e47559.
47. Lee, J. S., Hong, J. M., Moon, G. J., Lee, P. H., Ahn, Y. H. and Collaborators, S. 2010. A long-term follow-up study of intravenous autologous mesenchymal stem cell transplantation in patients with ischemic stroke. *Stem Cells* **28**, 1099-1106.
48. Lee, S. C., Jeong, H. J., Lee, S. K. and Kim, S. J. 2015. Lipopolysaccharide preconditioning of adipose-derived stem cells improves liver-regenerating activity of the secretome. *Stem Cell. Res. Ther.* **6**, 75.
49. Lei, H., Yu, B., Huang, Z., Yang, X., Liu, Z. and Chen, D. 2013. Comparative analysis of mesenchymal stem cells from adult mouse adipose, muscle, and fetal muscle. *Mol. Biol. Rep.* **40**, 885-892.
50. Li, S., Wang, X., Li, J., Zhang, J., Zhang, F. and Li, Q. 2016. Advances in the treatment of Ischemic Diseases by mesenchymal stem cells. *Stem Cells Int.* **2016**, 5896061.
51. Li, W., Shi, L., Hu, B., Hong, Y., Zhang, H. and Zhang, Y. 2021. Mesenchymal stem cell-based therapy for stroke: current understanding and challenges. *Front. Cell. Neurosci.* **15**, 628940.
52. Liew, A. and O'Brien, T. 2012. Therapeutic potential for mesenchymal stem cell transplantation in critical limb ischemia. *Stem Cell. Res. Ther.* **3**, 28.
53. Liu, C. B., Huang, H., Sun, P., Ma, S. Z., Liu, A. H. and Zhang, X. Z. 2016. Human umbilical cord-derived mesenchymal stromal cells improve left ventricular function, perfusion, and remodeling in a porcine model of chronic myocardial Ischemia. *Stem Cells Transl. Med.* **5**, 1004-1013.
54. Lu, D., Jiang, Y., Deng, W., Zhang, Y., Liang, Z. and Xue, Y. 2019. Long-term outcomes of BMMSC compared with BMMNC for treatment of critical limb Ischemia and foot ulcer in patients with diabetes. *Cell Transplant.* **28**, 645-652.
55. Mackenzie, T. C. and Flake, A. W. 2001. Multilineage differentiation of human MSC after in utero transplantation. *Cytotherapy* **3**, 403-405.
56. Mao, P., Joshi, K., Li, J., Kim, S. H., Li, P. and Nakano, I. 2013. Mesenchymal glioma stem cells are maintained by activated glycolytic metabolism involving aldehyde dehydrogenase 1A3. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **110**, 8644-8649.
57. Mathiasen, A. B., Qayyum, A. A., Jorgensen, E., Helqvist, S., Fischer-Nielsen, A. and Kastrup, J. 2015. Bone marrow-derived mesenchymal stromal cell treatment in patients with severe ischaemic heart failure: a randomized placebo-controlled trial (MSC-HF trial). *Eur. Heart J.* **36**, 1744-1753.
58. Najar, M., Raicevic, G., Fayyad-Kazan, H., Bron, D., Toungouz, M. and Lagneaux, L. 2016. Mesenchymal stromal cells and immunomodulation: A gathering of regulatory immune cells. *Cytotherapy* **18**, 160-171.
59. Noronha, N. C., Mizukami, A., Caliar-Oliveira, C., Cominal, J. G., Rocha, J. L. M. and Malmegrim, K. C. R. 2019. Priming approaches to improve the efficacy of mesenchymal stromal cell-based therapies. *Stem Cell. Res. Ther.* **10**, 131.
60. Park, B. W., Jung, S. H., Das, S., Lee, S. M., Park, J. H. and Park, H. J. 2020. *In vivo* priming of human mesenchymal stem cells with hepatocyte growth factor-en-

- gineered mesenchymal stem cells promotes therapeutic potential for cardiac repair. *Sci. Adv.* **6**, eaay6994.
61. Perin, E. C., Sanz-Ruiz, R., Sanchez, P. L., Lasso, J., Perez-Cano, R. and Fernandez-Aviles, F. 2014. Adipose-derived regenerative cells in patients with ischemic cardiomyopathy: The PRECISE Trial. *Am. Heart J.* **168**, 88-95. e82.
  62. Pievani, A., Scagliotti, V., Russo, F. M., Azario, I., Rambaldi, B. and Serafini, M. 2014. Comparative analysis of multilineage properties of mesenchymal stromal cells derived from fetal sources shows an advantage of mesenchymal stromal cells isolated from cord blood in chondrogenic differentiation potential. *Cytotherapy* **16**, 893-905.
  63. Pittenger, M. F., Mackay, A. M., Beck, S. C., Jaiswal, R. K., Douglas, R. and Marshak, D. R. 1999. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* **284**, 143-147.
  64. Premer, C., Blum, A., Bellio, M. A., Schulman, I. H., Hurwitz, B. E. and Hare, J. M. 2015. Allogeneic Mesenchymal stem cells restore endothelial function in heart failure by stimulating endothelial progenitor cells. *EBioMedicine* **2**, 467-475.
  65. Qayyum, A. A., Mathiasen, A. B., Helqvist, S., Jorgensen, E., Haack-Sorensen, M. and Kastrup, J. 2019. Autologous adipose-derived stromal cell treatment for patients with refractory angina (MyStromalCell Trial): 3-years follow-up results. *J. Transl. Med.* **17**, 360.
  66. Qayyum, A. A., Mathiasen, A. B., Mygind, N. D., Kuhl, J. T., Jorgensen, E. and Kastrup, J. 2017. Adipose-derived stromal cells for treatment of patients with chronic Ischemic Heart Disease (MyStromalCell Trial): a randomized Placebo-controlled study. *Stem Cells Int.* **2017**, 5237063.
  67. Ra, J. C., Shin, I. S., Kim, S. H., Kang, S. K., Kang, B. C. and Kwon, E. 2011. Safety of intravenous infusion of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells in animals and humans. *Stem Cells Dev.* **20**, 1297-1308.
  68. Rashed, L. A., Elattar, S., Eltablawy, N., Ashour, H., Mahmoud, L. M. and El-Esawy, Y. 2018. Mesenchymal stem cells pretreated with melatonin ameliorate kidney functions in a rat model of diabetic nephropathy. *Biochem. Cell Biol.* **96**, 564-571.
  69. Sangiorgi, B., De Freitas, H. T., Schiavinato, J. L., Leao, V., Haddad, R. and Panepucci, R. A. 2016. DSP30 enhances the immunosuppressive properties of mesenchymal stromal cells and protects their suppressive potential from lipopolysaccharide effects: A potential role of adenosine. *Cytotherapy* **18**, 846-859.
  70. Saqqur, M., Uchino, K., Demchuk, A. M., Molina, C. A., Garami, Z. and Investigators, C. 2007. Site of arterial occlusion identified by transcranial Doppler predicts the response to intravenous thrombolysis for stroke. *Stroke* **38**, 948-954.
  71. Schmehl, J., Stoll, H., Danalache, M., Grozinger, G. C., Greiner, T. O. and Elser, S. 2021. Intravascular application of labelled cell spheroids: an approach for Ischemic peripheral artery disease. *Int. J. Mol. Sci.* **22**, 6831.
  72. Seifert, A., Werheid, D. F., Knapp, S. M. and Tobiasch, E. 2015. Role of Hox genes in stem cell differentiation. *World J. Stem Cells* **7**, 583-595.
  73. Shuai, Y., Liao, L., Su, X., Yu, Y., Shao, B. and Jin, Y. 2016. Melatonin treatment improves mesenchymal stem cells therapy by preserving stemness during long-term *in vitro* expansion. *Theranostics* **6**, 1899-1917.
  74. Sibov, T. T., Severino, P., Marti, L. C., Pavon, L. F., Oliveira, D. M. and Moreira-Filho, C. A. 2012. Mesenchymal stem cells from umbilical cord blood: parameters for isolation, characterization and adipogenic differentiation. *Cytotechnology* **64**, 511-521.
  75. Silva, G. V., Litovsky, S., Assad, J. A., Sousa, A. L., Martin, B. J. and Perin, E. C. 2005. Mesenchymal stem cells differentiate into an endothelial phenotype, enhance vascular density, and improve heart function in a canine chronic ischemia model. *Circulation* **111**, 150-156.
  76. Smadja, D. M., d'Audigier, C., Guerin, C. L., Mauge, L., Dizier, B. and Emmerich, J. 2012. Angiogenic potential of BM MSCs derived from patients with critical leg ischemia. *Bone Marrow Transplant.* **47**, 997-1000.
  77. Steinberg, G. K., Kondziolka, D., Wechsler, L. R., Lunsford, L. D., Kim, A. S. and Schwartz, N. E. 2018. Two-year safety and clinical outcomes in chronic ischemic stroke patients after implantation of modified bone marrow-derived mesenchymal stem cells (SB623): a phase 1/2a study. *J. Neurosurg.* **131**, 1462-1472.
  78. Su, Y. H., Chen, C. H., Lin, H. J., Chen, Y. W., Tseng, M. C. and Sung, S. F. 2017. Safety and effectiveness of intravenous thrombolysis for acute Ischemic stroke outside the coverage of national health insurance in Taiwan. *Acta Neurol. Taiwan* **26**, 3-12.
  79. Tebebi, P. A., Kim, S. J., Williams, R. A., Milo, B., Frenkel, V. and Frank, J. A. 2017. Improving the therapeutic efficacy of mesenchymal stromal cells to restore perfusion in critical limb ischemia through pulsed focused ultrasound. *Sci. Rep.* **7**, 41550.
  80. Ullah, M., Liu, D. D. and Thakor, A. S. 2019. Mesenchymal stromal cell homing: mechanisms and strategies for improvement. *iScience* **15**, 421-438.
  81. Urrutia, D. N., Caviedes, P., Mardones, R., Minguell, J. J., Vega-Letter, A. M. and Jofre, C. M. 2019. Comparative study of the neural differentiation capacity of mesenchymal stromal cells from different tissue sources: An approach for their use in neural regeneration therapies. *PLoS One* **14**, e0213032.
  82. Wakitani, S., Saito, T. and Caplan, A. I. 1995. Myogenic cells derived from rat bone marrow mesenchymal stem cells exposed to 5-azacytidine. *Muscle Nerve* **18**, 1417-1426.
  83. Wang, J., Zeng, X. X., Cai, W., Han, Z. B., Zhu, L. Y. and Xu, J. X. 2021. Safety and efficacy of placenta-derived mesenchymal stem cell treatment for diabetic patients with critical limb Ischemia: a pilot study. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes* **129**, 542-548.
  84. Williams, A. R., Trachtenberg, B., Velazquez, D. L., Mc Niece, I., Altman, P. and Hare, J. M. 2011. Intramyocardial

- stem cell injection in patients with ischemic cardiomyopathy: functional recovery and reverse remodeling. *Circ. Res.* **108**, 792-796.
85. Wu, Y. N., Law, J. B., He, A. Y., Low, H. Y., Hui, J. H. and Lee, E. H. 2014. Substrate topography determines the fate of chondrogenesis from human mesenchymal stem cells resulting in specific cartilage phenotype formation. *Nanomedicine* **10**, 1507-1516.
86. Xu, W., Zhang, X., Qian, H., Zhu, W., Sun, X. and Chen, Y. 2004. Mesenchymal stem cells from adult human bone marrow differentiate into a cardiomyocyte phenotype *in vitro*. *Exp. Biol. Med. (Maywood)* **229**, 623-631.
87. Yang, J., Song, T., Wu, P., Chen, Y., Fan, X. and Huang, C. 2012. Differentiation potential of human mesenchymal stem cells derived from adipose tissue and bone marrow to sinus node-like cells. *Mol. Med. Rep.* **5**, 108-113.
88. Yin, F., Wang, W. Y. and Jiang, W. H. 2019. Human umbilical cord mesenchymal stem cells ameliorate liver fibrosis *in vitro* and *in vivo*: From biological characteristics to therapeutic mechanisms. *World J. Stem Cells* **11**, 548-564.
89. Yu, H., Lu, K., Zhu, J. and Wang, J. 2017. Stem cell therapy for ischemic heart diseases. *Br. Med. Bull.* **121**, 135-154.
90. Yu, J., Du, K. T., Fang, Q., Gu, Y., Mihardja, S. S. and Lee, R. J. 2010. The use of human mesenchymal stem cells encapsulated in RGD modified alginate microspheres in the repair of myocardial infarction in the rat. *Biomaterials* **31**, 7012-7020.
91. Zhang, K., Zhao, X., Chen, X., Wei, Y., Du, W. and Li, Z. 2018. Enhanced therapeutic effects of Mesenchymal stem cell-derived exosomes with an injectable hydrogel for Hindlimb Ischemia treatment. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **10**, 30081-30091.
92. Zhao, D., Cui, D., Wang, B., Tian, F., Guo, L. and Yu, X. 2012. Treatment of early stage osteonecrosis of the femoral head with autologous implantation of bone marrow-derived and cultured mesenchymal stem cells. *Bone* **50**, 325-330.
93. Zhu, H., Guo, Z. K., Jiang, X. X., Li, H., Wang, X. Y. and Mao, N. 2010. A protocol for isolation and culture of mesenchymal stem cells from mouse compact bone. *Nat. Protoc.* **5**, 550-560.
94. Zuk, P. A., Zhu, M., Ashjian, P., De Ugarte, D. A., Huang, J. I. and Hedrick, M. H. 2002. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Mol. Biol. Cell* **13**, 4279-4295.

## 초록 : 중간엽줄기세포(MSC)를 이용한 허혈성 혈관질환 치료를 위한 세포치료제 개발: 기초연구에서 임상연구

이은지<sup>1</sup> · 박신후<sup>2</sup> · 서정호<sup>2</sup> · 안효경<sup>2</sup> · 남시현<sup>2</sup> · 권상모<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>부산대학교 의과대학 의학연구소 생리학교실, <sup>2</sup>부산대학교 의과대학)

최근 인구 고령화로 인해 허혈성 심장질환, 허혈성 뇌졸중, 말초 동맥 질환 등의 허혈성 혈관질환의 유병률이 지속적으로 증가하고 있다. 허혈성 질환에 대한 현재 표준화된 치료법은 약물 요법 및 수술을 통한 재관류요법이다. 재관류요법은 손상된 동맥의 기능을 회복시킬 수 있지만 허혈로 인해 손상된 주변 조직의 기능 회복에 있어 효율적이지 않다. 그러므로 허혈 질병을 안전하고 효과적으로 치료하고 주변 조직의 기능을 회복시킬 수 있는 새로운 치료전략의 개발이 필요하다. 이러한 한계를 극복하기 위해 손상된 부위를 재생하는 줄기세포 기반 치료가 허혈성 혈관질환의 유망한 전략으로 연구되어 왔다. 다양한 조직에서 분리할 수 있는 중간엽줄기세포(MSC)는 면역 조절, 혈관 신생 촉진 및 다양한 관련 인자의 분비를 통해 손상된 조직을 재생함으로써 허혈성 질환의 치료에 유망한 것으로 나타났다. 또한, 줄기세포 치료 효과를 높이기 위해 3D 배양법을 이용하거나 세포 프라이밍(Cell Priming)과 같은 MSC 기능을 강화하여 이식 효율을 높이는 새로운 접근법이 연구되고 있다. 이 논문에서는 MSC를 허혈성 질환 치료에 사용하는 다양한 전략을 제공하고 허혈성 부위에서 MSC의 분화(Differentiation), 증식(Proliferation) 및 생착(Engraftment)과 같은 이식의 문제에 대해 논의한다.