

## 자가 지방줄기세포의 정맥 내 투여를 통한 자가면역질환 재생의료 치료 허가 근거 자료

### 1. 최종 허가 받기까지의 과정

- 2007.08.23 : 사람 지방유래 중간엽 줄기세포 발암성 시험 완료
- 2009.02.18 : 사람 지방유래 중간엽 줄기세포 정맥 내 투여 독성 시험 완료
- 2009.04.29 : 자가 지방유래 중간엽 줄기세포 정맥 내 투여 임상 1상 식약처 승인
- 2010.02.15 : 자가 지방유래 중간엽 줄기세포 정맥 내 투여 임상 1상 종료
- 2011.08.05 : 자가 지방유래 중간엽 줄기세포 정맥 내 투여 안전성 논문 발표
- 2011.10.21 : 자가면역질환 환자의 줄기세포 치료 논문 발표
- 2012.03.09 : 사람 지방유래 중간엽 줄기세포 정맥 내 반복 투여 독성 시험 완료
- 2015.03.10 : 특정세포가공물 제조허가 신청
- 2015.05.18 : 일본 의약품 및 의료기기 종합기구(PMDA) 현장 실태 조사
- 2015.06.29 : 특정세포가공물 제조허가 승인
- 2015.11.24 : 자가면역질환에 대한 계획서 최종 승인

### 2. 특허 목록

No	국문 명칭	출원 및 등록 수
1	인간 지방조직 유래 다분화능 줄기세포 및 이를 함유하는 세포치료제	11
2	정맥 투여용 줄기세포 조성물	3
3	줄기세포 배양을 위한 배지조성물	2
4	줄기세포를 접게 만들기 위한 배지 조성물	13
5	줄기세포의 재생능 향상을 위한 배지 조성물 및 이를 이용한 줄기세포의 배양방법	5
6	줄기세포의 파쇄 및 응집 방지 방법 및 조성물	9
7	지방조직 유래 성체 줄기세포 이동을 유도하는 방법	4
8	혈관 내 투여에 적합한 크기를 가지는 줄기세포의 제조 방법	9
		총 56 건

### 3. 관련 논문

(1) 정맥 내 투여 및 자가면역질환 대상 연구 논문

No	논문명 / 저자 / 저널정보	비고
1	Safety of intravenous infusion of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells in animals and humans. Ra JC, Shin IS, Kim SH, Kang SK, Kang BC, Lee HY, Kim YJ, Jo JY, Yoon EJ, Choi HJ, Kwon E.	임상

	Stem Cells Dev. 2011 Aug;20(8):1297-308.	
2	Stem cell treatment for patients with autoimmune disease by systemic infusion of culture-expanded autologous adipose tissue derived mesenchymal stem cells.	임상
	Ra JC, Kang SK, Shin IS, Park HG, Joo SA, Kim JG, Kang BC, Lee YS, Nakama K, Piao M, Sohl B, Kurtz A.	
	J Transl Med. 2011 Oct 21.	
3	Transplantation of CTLA4Ig gene-transduced adipose tissue-derived mesenchymal stem cells reduces inflammatory immune response and improves Th1/Th2 balance in experimental autoimmune thyroiditis.	비임상
	Choi EW, Shin IS, Lee HW, Park SY, Park JH, Nam MH, Kim JS, Woo SK, Yoon EJ, Kang SK, Ra JC, Youn HY, Hong SH.	
	J Gene Med. 2011 Jan;13(1):3-16.	
4	The therapeutic efficacy of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells on experimental autoimmune hearing loss in mice	비임상
	Zhou Y, Yuan J, Zhou B, Lee AJ, Lee AJ, Ghawji M Jr, Yoo TJ.	
	Immunology. 2011 May;133(1):133-40.	
5	Administering human adipose-derived mesenchymal stem cells to prevent and treat experimental arthritis.	비임상
	Zhou B, Yuan J, Zhou Y, Ghawji M Jr, Deng YP, Lee AJ, Lee AJ, Nair U, Kang AH, Brand DD, Yoo TJ.	
	Clin Immunol. 2011 Dec;141(3):328-37.	
6	Transplantation of human adipose tissue-derived stem cells delays clinical onset and prolongs life span in ALS mouse model.	비임상
	Kim KS, Lee HJ, An J, Kim YB, Ra JC, Lim I, Kim SU.	
	Cell Transplant. 2013 Sep 18.	
7	Reversal of serologic, immunologic, and histologic dysfunction in mice with systemic lupus erythematosus by long-term serial adipose tissue-derived mesenchymal stem cell transplantation.	비임상
	Choi EW, Shin IS, Park SY, Park JH, Kim JS, Yoon EJ, Kang SK, Ra JC, Hong SH.	
	Arthritis Rheum. 2012 Jan;64(1):243-53.	
8	Transplantation of Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stem Cells Prevents the Development of Lupus Dermatitis.	비임상
	Choi EW, Shin IS, Song JW, Yun TW, Yang J, Choi KS, Seong JK.	
	Stem Cells Dev. 2015 Sep 1;24(17):2041-51.	
9	Ameliorative effects of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells on myelin basic protein-induced experimental autoimmune encephalomyelitis in Lewis rats	비임상
	Ko MS, HG Park, YM Yun, JC Ra, T Shin, KK Lee	
	Neural Regen Res. 2011;6(16):1205-1210.	
10	Treatment of progressive supranuclear palsy with autologous adipose tissue-derived mesenchymal stem cells: a case report.	임상
	Choi SW, Park KB, Woo SK, Kang SK, Ra JC.	
	J Med Case Rep. 2014 Mar 4;8:87.	

1) Safety of intravenous infusion of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells in animals and humans.

Ra JC, Shin IS, Kim SH, Kang SK, Kang BC, Lee HY, Kim YJ, Jo JY, Yoon EJ, Choi HJ, Kwon E.

Stem Cells Dev. 2011 Aug;20(8):1297-308.

본 연구에서는, 임상적용을 위해 인간의 지방유래 중간엽 줄기세포의 독성과 발암성을 연구하였다. 배양한 인간 지방유래 중간엽 줄기세포는 전형적인 중간엽 줄기세포의 외향과 면역표현형 (immunophenotype) 및 분화 능력을 보여주며, 12 계대를 배양하면서도 유전적으로 안정적이었다. 생리식염수 내 세포 혼탁액은 저온 상태에서 3일 까지도 중간엽 줄기세포의 능력이 유지되었다. 인간 지방유래 중간엽 줄기세포의 독성을 실험하기 위해, 면역 결핍 실험용 쥐에게 각기 다른 용량의 인간 지방유래 중간엽 줄기세포를 정맥 내로 투여하고, 13주 동안 관찰하였다. 가장 높은 세포 용량( $2.5 \times 10^8$  cells/kg) 조차도 부작용 없이 생존하였다. 발암성 실험은 실험용 생쥐 (Balb/c-nu mouse, 전신 무모증 및 흉선 유래 임파구 결핍증 모델)를 이용하여 26주간 시행하였다. 가장 높은 세포 용량( $2.5 \times 10^8$  cells/kg)에서 조차도 암의 진행이 발견되지 않았다. 사람 임상 시험을 통해 8명의 남성 척수 손상 환자에게 정맥 내로 자가 지방유래 중간엽 줄기세포 ( $4 \times 10^8$  cells)를 단 회 투여하였다. 3개월 간 추적 관찰한 결과, 인간 지방유래 중간엽 줄기세포의 투여와 관련된 어떠한 심각한 부작용 (serious adverse events, SAE)도 관찰되지 않았다. 결론적으로, 사람 지방유래 중간엽 줄기세포의 전신성 투여는 암을 유발시키지 않으며 안전하다고 판단된다.

2) Stem cell treatment for patients with autoimmune disease by systemic infusion of culture-expanded autologous adipose tissue derived mesenchymal stem cells.

Ra JC, Kang SK, Shin IS, Park HG, Joo SA, Kim JG, Kang BC, Lee YS, Nakama K, Piao M, Sohl B, Kurtz A.

J Transl Med. 2011 Oct 21.

수명의 연장, 생활습관 등 환경의 변화는 퇴행성 및 자가면역 질환의 증가를 야기시켰다. 줄기세포는 자가면역질환에 의해 손상된 조직의 복구 및 보호에 대한 치료 효과를 기대할 수 있다. 자가 줄기세포는 면역 거부반응을 유발하지 않으며, 동종 줄기세포 치료에서 발생할 수 있는 과민성 반응에 대한 위험 없이 안전하게 치료를 진행할 수 있다. 본 논문에서는 자가면역질환 관련 조직손상 및 자가면역성내이질환, 다발성근염 및 피부근염, 아토피성 피부염과 류마티스 관절염을 포함한 10명의 환자에게 자가 지방유래 중간엽 줄기세포의 치료 결과를 보고한다. 소량의 지방 조직에서 줄기세포를 분리 배양하여, 줄기세포 다 회 투여를 위한 충분한 세포를 제공할 수 있었다. 결과를 통해 알 수 있는 사실은 줄기세포 치료에 대한 예비 효과만을 확인할 수 있었으나, 치료적 관점에서 자가 지방유래 중간엽 줄기세포 투여의 안전성 및 효과에 대한 설득력 있는 증거들을 제시한다. 결론적으로, 자가 지방유래 중간엽 줄기세포는 자가면역질환 치료에 대한 가능성

을 확인할 수 있었다.

3) Transplantation of CTLA4Ig gene-transduced adipose tissue-derived mesenchymal stem cells reduces inflammatory immune response and improves Th1/Th2 balance in experimental autoimmune thyroiditis.

Choi EW, Shin IS, Lee HW, Park SY, Park JH, Nam MH, Kim JS, Woo SK, Yoon EJ, Kang SK, Ra JC, Youn HY, Hong SH.

J Gene Med. 2011 Jan;13(1):3-16.

배경 : 자가면역성 갑상선염은 대표적인 장기 특이적 자가면역성 질환이다. 본 연구의 목적은 자가면역성 갑상선염에 대한 지방줄기세포와 CTLA4Ig 유전자 삽입 지방줄기세포의 효과를 관찰하는 것이다.

방법 : 자가면역성 갑상선염 동물모델은 thyroglobulin 면역법을 통해 유도하였다. 동물모델들은 사람지방줄기세포 5x10(5) cells 투여군, 쥐 CTLA4Ig 유전자 삽입 사람지방줄기세포 5x10(5) cells 투여군, 생리식염수(대조군)의 3 그룹으로 구분하였으며, 3주 간에 걸쳐 4회 정맥 내 투여하였다. 혈액 및 조직 샘플은 마지막 세포 투여 1주 후에 채취하였다.

결과 : CTLA4Ig 유전자 삽입 사람지방줄기세포 투여군에서의 혈청 티로글로블린(thyroglobulin) 자가 항체의 흡광도는 다른 그룹에 비해 상당히 낮게 나타났다. LPS로 자극한 비장 세포의 배양 상층액에서, 모든 지방줄기세포 투여군은 대조군에 비해 티로글로블린(thyroglobulin) 자가 항체의 흡광도가 상당히 낮게 나타났다. 비장 세포의 유세포 분석을 통해 CTLA4Ig 유전자 삽입 사람지방줄기세포 투여군에서 CD3+ 와 CD11b 비율이 상당히 감소된 것으로 확인되었다. 모든 지방줄기세포 투여군에서 갑상선 내 림프구 침윤이 상당히 감소하였으며, 사이토카인 분석에서는 중간엽 줄기세포가 염증성 사이토카인의 생성을 감소시키고, Th1 사이토카인의 조절을 통해 Th1/Th2 균형을 개선시키는 것으로 나타났다.

결론 : 비록 CTLA4Ig 유전자 삽입 사람지방줄기세포 투여군에서 혈청 티로글로블린(thyroglobulin) 자가 항체의 감소가 더 나은 결과를 보였으나, 조직병리학적 분석 및 사이토카인 분석의 결과로 보았을 때, 두 가지 지방줄기세포 투여 모두 자가면역성 갑상선염 치료에 있어서 유망한 것으로 확인되었다.

4) The therapeutic efficacy of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells on experimental autoimmune hearing loss in mice

Zhou Y, Yuan J, Zhou B, Lee AJ, Lee AJ, Ghawji M Jr, Yoo TJ.

Immunology. 2011 May;133(1):133-40.

자가면역성 내이(inner ear) 질환은 진행성이며, 양측성이지만 비대칭적이고, 감각신경성(sensorineural)의 청력 손실이 특징이다. 자가면역성 내이 질환 환자는 일반인보다 인터페론-감마(interferon- $\gamma$ ) 생성 T 세포가 더 높은 빈도로 나타난다. 사람 지방 유래 중간엽 줄기세포는 최근, 효과기 T 세포(effector T cell)와 염증 반응을 억제함으로써 인해 다양한 자가면역 질환에서 이로운 효과를 보이는 것으로 알려졌다. 본 연구의 목적은 자가면역성 난청 동물 모델 유래의 자가반응성 T 세포에 대한 지방줄기세포의 면역 억제 활성을 시험하는 것이다. 실험용 쥐(BALB/c mouse)에게 자가면역성 난청을 유발시키기 위하여  $\beta$ -tubulin 면역법을 시행하였다. 이 동물모델에게 6주간 1주일에 한번씩 사람지방줄기세포 또는 식염수를 복강 내 투여하였다. 청성 뇌간 반응검사(auditory brainstem response, ABR)로 초과 시간을 측정하였다. Th1/Th17 매개성 자가반응 반응(autoreactive response)은  $\beta$ -tubulin으로 자극된 지라세포(splenocyte)의 증식반응 및 사이토카인 양상의 평가를 통해 시험하였다. 조절 T (Treg) 세포의 빈도와 자가반응 T 세포에 대한 이들의 억제 능력 또한 평가하였다. 지방줄기세포의 정맥 내 투여는 청각 기능을 확연히 개선시켰으며, 유모세포(hair cell)를 보호하였다. 사람 지방줄기세포는 항원 특이적 Th1/Th17 세포의 증식을 감소시켰으며 지라세포에서의 항 염증 사이토카인 인터루킨-10(interleukin-10)의 증식을 유도하였다. 또한, 항원 특이적 T 세포 반응을 억제하는 능력을 갖고 있는 항원 특이적 CD4(+) CD25(+) Foxp3(+) Treg 세포의 발생을 유도하였다. 본 연구는 사람 지방줄기세포가 효과기 T 세포를 억제하고 항원 특이적 Treg 세포의 발생을 유도하는 능력을 갖고 있는 면역 내성의 중요한 조절자 중 하나라는 것을 증명하였다.

5) Administering human adipose-derived mesenchymal stem cells to prevent and treat experimental arthritis.

Zhou B, Yuan J, Zhou Y, Ghawji M Jr, Deng YP, Lee AJ, Lee AJ, Nair U, Kang AH, Brand DD, Yoo TJ. Clin Immunol. 2011 Dec;141(3):328-37.

류마티스 관절염은 만성적인 자가면역성 질환이며, 인구의 약 1%가 이 질환으로 고통받고 있다. 사람 지방 유래 중간엽 줄기세포가 효과기 T 세포와 염증 반응을 억제한다는 것이 최근 발견되었다. 본 연구에서는 사람 지방줄기세포가 콜라겐 유도성 관절염(collagen-induced arthritis, CIA)에서 보호 및 치료 효과를 보일 수 있는지를 조사하였다. 그 결과, 사람 지방줄기세포는 관절염의 발생과 그 강도를 확연히 감소시켜 콜라겐 유도성 관절염을 예방하고 치료하는 것으로 확인되었다. 또한, 사람 지방줄기세포 치료가 다양한 염증 매개체의 생성을 억제하고, 항원 특이적 Th1/Th17 세포 확장을 감소시키며, 항 염증 사이토카인 IL-10의 생성을 유도시킨다는 것을 증명하였다. 더불어, 사람 지방줄기세포는 콜라겐 특이 T 세포 반응을 억제하는 능력과 함께 항원 특이적 Treg 세포의 발생을 유도할 수 있다

6) Transplantation of human adipose tissue-derived stem cells delays clinical onset and prolongs life span in ALS mouse model.

Kim KS, Lee HJ, An J, Kim YB, Ra JC, Lim I, Kim SU.

Cell Transplant. 2013 Sep 18.

루게릭병 또는 근위축성 측삭경화증(Amyotrophic lateral sclerosis, ALS)는 신경퇴행성 질환으로서, 선택적으로 대뇌 피질, 뇌줄기(뇌간), 척수의 운동신경세포만 사멸시킨다. 정확한 발병 기전은 불분명하며, 현재까지도 효과적인 치료법은 없다. 본 연구에서는 루게릭병 동물모델에게서 사람 지방줄기세포의 치료 효과를 평가하였다. 사람 복부의 피하 지방조직을 간단한 지방흡입술로 획득한 뒤, 기질혈관분획(stromal vascular fraction, SVF)으로 부터 지방줄기세포를 분리하였다. 지방줄기세포는 지방세포, 연골세포, 골세포, 신경세포로 분화되는 것을 확인하였다. 루게릭병 동물모델(mouse)은 가짜 수술군, 정맥 내 투여군(IV), 뇌실 내 투여군(ICV)의 3 그룹으로 구분하였다. 사람 지방줄기세포는 임상적 증상이 발현되기 전인 생후 70일 경의 루게릭병 동물모델에게 투여하였다. 투여받은 동물들의 행동을 rotarod test, paw grip endurance (PaGE), reflex index를 이용하여 평가하였다. 모든 그룹의 동물모델들은 투여 4주 후 안락사시켰다. 투여된 지방줄기세포는 허리 척추 내에서 발견되었으며, 신경세포와 성상세포의 특이적 마커를 발현하였다. 지방줄기세포의 정맥 내 투여군과 뇌실 내 투여군의 동물모델에게서 임상적 증상의 발현이 지연되었으며 수명이 증가하였다. 지방줄기세포는 NGF, BDNF, IGF-1, VEGF 등과 같은 신경영양 인자들을 상당량 분비하였다. 이러한 인자들에 의해 세포 사멸이 감소하였다는 것을 확인하였다. 이러한 결과는 루게릭병 동물모델에게서 지방줄기세포의 투여가 사이토카인 및 성장 인자들을 생성함으로써 신경 보호 효과를 보인다는 것을 의미하며 루게릭병 동물모델에게서 질병의 진행을 지연시키고, 수명을 연장시킨다는 것을 보여준다.

7) Reversal of serologic, immunologic, and histologic dysfunction in mice with systemic lupus erythematosus by long-term serial adipose tissue-derived mesenchymal stem cell transplantation.

Choi EW, Shin IS, Park SY, Park JH, Kim JS, Yoon EJ, Kang SK, Ra JC, Hong SH.

Arthritis Rheum. 2012 Jan;64(1):243-53.

목적 : 본 연구의 목적은 루푸스에 대한 사람 지방유래 중간엽 줄기세포 투여의 효과와 질병 발생 전후 최적의 줄기세포 투여 적기를 조사함에 있다.

방법 : 루푸스 동물모델에게 6주령부터 60주령이 될 때까지 사람 지방유래 중간엽 줄기세포 (5x10<sup>5</sup>cells)를 2주 간격으로 정맥 내 투여하였다. 대조군은 똑 같은 일정으로 식염수를 투여하였다. 다른 시험군에는 6주령또는 32주령부터 치료가 시작이 되도록 일정을 수정하여 투여하였다.

결과 : 사람 지방유래 중간엽 줄기세포를 총 28회 반복 투여한 장기간 연속 투여한 루푸스 동물

모델은 그 어떤 부작용이 발생하지 않았다. 대조군과 비교하여, 사람 지방유래 중간엽 줄기세포 투여군에서 조직학적, 혈청학적 이상, 면역학적 기능이 개선됨에 따라 생존율이 확연히 증가하였으며, 단백뇨(proteinuria)의 발생 또한 감소하였다. 사람 지방유래 중간엽 줄기세포 투여군에서 항 dsDNA 항체와 요소질소(BUN, blood urea nitrogen)의 수준이 크게 감소하였으며, 과립구 마크로파지콜로니 자극인자(GM-CSF, granulocyte-macrophage colony-stimulating factor), IL-4, IL-10의 혈청 내 양이 증가하였다. 사람 지방유래 중간엽 줄기세포 투여군의 비장 내에서 CD4+FoxP3+ 세포의 비율이 증가하고 사이토카인 생성 능력이 복구되었다. 두번째 실험에서, 초기 단계 치료군은 후기 단계 치료군에 비해 생존율과 단백뇨 발생에 있어서 더 나은 결과를 보였다.

결론 : 사람 지방유래 중간엽 줄기세포의 연속 투여는 부작용 없이 루푸스 치료에 긍정적인 효과를 보인다. 특히, 질병이 발생하기 이전부터 사람 지방유래 중간엽 줄기세포를 투여하는 것은 루푸스 개선과 면역학적 항상성 복구에 있어서 더 나은 결과를 보였다.

#### 8) Transplantation of Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stem Cells Prevents the Development of Lupus Dermatitis.

Choi EW, Shin IS, Song JW, Yun TW, Yang J, Choi KS, Seong JK.

Stem Cells Dev. 2015 Sep 1;24(17):2041-51.

실험용 쥐(MRL/lpr)는 자연적으로 높은 역가의 anti-dsDNA Ab와 사구체신염(glomerular nephritis) 및 장기 무게 증가 등의 증상이 발달된다. 이 동물은 또한, 자연적으로 사람 루푸스와 유사한 피부 염증이 발달된다. 본 연구의 목적은 이 동물(MRL/lpr mouse)에게서 사람 지방유래 중간엽 줄기세포, CTLA4Ig 과다발현 지방유래 중간엽 줄기세포, 시클로포스파미드(cyclophosphamide)의 장기 반복 투여 효과를 비교하는 것이다. 동물모델은 식염수(C), 시클로포스파미드(Y), 초기 지방줄기세포 투여군(E), 후기 지방줄기세포 투여군(L), CTLA4Ig 과다발현 지방줄기세포 투여군(CT)으로 분류하였다. 식염수를 투여한 MRL/MPJ 동물모델(N) 또한 비교하였다. 치료 기간은 5~23주였음, 후기 지방줄기세포 투여군은 예외적으로 15~23주의 치료기간을 가졌다. 혈액 및 조직 샘플은 24 주령이 되었을 때 채취하였다. 장기 무게, anti-dsDNA Ab, 뇨 단백, 피부 및 신장 조직학적 이상, 섬유주(trabecular bone) 용량을 평가하였다. 시클로포스파미드 투여군은 anti-dsDNA Ab, 장기 무게, 신장 염증 정도, C3의 신사구체 침윤 및 단백뇨 발생률에서 가장 크게 감소하였다. 초기 지방줄기세포 투여군, 후기 지방줄기세포 투여군 및 CTLA4Ig 과다발현 지방줄기세포 투여군은 식염수 투여군에 비해 더 나은 결과를 보였다. 지방줄기세포 투여는 anti-dsDNA Ab 수치를 유의적으로 감소시켰다. 초기 단계에서 치료를 시작한 지방줄기세포 또는 CTLA4Ig 과다발현 지방줄기세포 투여군의 동물모델들은 육안으로 확인하였을 때 피부염이 발생하지 않았다. 이 동물모델들은 과각화증(hyperkeratosis), 표피종(acanthosis) 및 조직학적 염증 세포 침윤 점수가 확연히 개선되었다는 것을 확인하였다. Micro-CT 분석 결과, 시클로포스파미드 투여군이 섬유주(trabecular bone)에

서 뼈 부피를 확연히 감소시키고, 뼈 공간을 확연히 증가시켰다. 즉, 본 연구 결과에서는 지방줄기세포와 CTLA4Ig 과다발현 지방줄기세포 치료가 동물모델에게서 부작용 없이 루푸스 피부염의 발달을 예방할 수 있다는 것을 증명하였다.

9) Ameliorative effects of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells on myelin basic protein-induced experimental autoimmune encephalomyelitis in Lewis rats

Ko MS, HG Park, YM Yun, JC Ra, T Shin, KK Lee

Neural Regen Res. 2011;6(16):1205-1210.

중간엽 줄기세포는 면역 조절 기능을 보인다는 것은 이미 확인된 사실이다. 본 연구에서는 수초염기성 단백질(myelin basic protein)로 유도한 자가면역성 뇌척수염(EAE, experimental autoimmune encephalomyelitis) 동물모델에서의 질병 진행과 사이토카인 발현에 대한 사람 지방유래 중간엽 줄기세포의 효과를 조사하였다. 대조군 및  $1 \times 10^6$  cells 투여군에 비해 사람 지방유래 중간엽 줄기세포  $5 \times 10^6$  cells을 투여한 그룹에서 자가면역성 뇌척수염 마비 지속 기간이 확연히 감소하였다.  $5 \times 10^6$  cells 투여군 중, 자가면역성 뇌척수염 유도 후 1일과 7일째에 투여한 그룹은 대조군과 7일/10일째 투여한 그룹에 비해 자가면역성 뇌척수염 마비 지속 기간이 더 감소되었다. 대조군에 비해 사람 지방유래 중간엽 줄기세포를 투여한 그룹에서 IL-10과 IDO(indoleamine 2, 3-dioxygenase)의 mRNA 발현은 확연히 감소하였다. 이 결과는 자가면역성 뇌척수염 증상에 대한 사람 지방유래 중간엽 줄기세포의 개선 효과는 용량 및 치료 시간에 의존하여 작용하며, 항 염증 사이토카인의 충분한 생성에 의해 부분적으로는 작용한다는 것을 의미한다.

10) Treatment of progressive supranuclear palsy with autologous adipose tissue-derived mesenchymal stem cells: a case report.

Choi SW, Park KB, Woo SK, Kang SK, Ra JC.

J Med Case Rep. 2014 Mar 4;8:87.

개요 : 진행성핵상마비는 신경퇴행성 질환으로서 임상적으로 파킨슨 증후군으로 분류된다. 최근, 지방유래 중간엽 줄기세포는 신경계통 질환의 치료에 대한 가능성이 증명되었다. 따라서, 자가 지방유래 중간엽 줄기세포 투여는 진행성핵상마비 치료의 대안이 될 수 있다.

증례보고 : 본 연구는 한국 식품의약품안전처로부터 임상시험용의약품 응급상황 사용으로 승인받아 진행하였다. 대한민국의 71세의 진행성핵상마비 환자는 GMP 시설하에 배양한 자가 지방유래 중간엽 줄기세포를 5번을 정맥 내 반복 투여(회당  $2 \times 10^8$  cells)받았으며, 4번을 척수강 내 투여(회당  $5 \times 10^7$  cells)받았다. 치료 전과 치료 후 6개월 간 추적관찰하며 다음의 임상 검사를 수행하였다: 1) Progressive Supranuclear Palsy Rating Scale(PSPRS); 2) Berg Balance Scale(BBS); 3) Korean Mini



Mental State Examination(K-MMSE); 4) Modified Barthel Index(MBI); 5) grip strength; 6) Box and Block Test; and 7) Nine-Hole Peg Test. PSPRS 측정 결과, 서서히 감소하였으며, Berg Balance Scale 과 K-MMSE, MBI 검사 결과는 점차 증가하였다. 악력은 유지되었다. Box and Block Test와 Nine-Hole Peg Test 결과는 지방유래 중간엽 줄기세포 투여 후 개선되었다. 추적관찰 기간 동안, 간헐적 미열과 일시적 혈압 증가를 제외하고는 자가 지방유래 중간엽 줄기세포 치료와 관련된 이상반응은 확인되지 않았으며, 기능적인 개선과 더불어 신경결손 진행이 지연되었다.

결론 : 자가 지방유래 중간엽 줄기세포를 이용한 진행성핵상마비 환자에서의 본 연구 결과는 안전하고 효과적인 치료법으로서 앞으로의 연구에 힘을 실어 주었다. 본 증례보고는 지방유래 중간엽 줄기세포가 안전하게 진행성핵상마비의 진행을 지연시켜 주었으며, 기능적 개선을 보였다는 첫번째 연구보고이다.

## (2) 바이오스타 외 줄기세포의 자가면역질환 효과 추정 논문

1) Autologous mesenchymal stem cells foster revascularization of ischemic limbs in systemic sclerosis: a case report.

Ann Intern Med. 2010 Nov 16;153(10):650-4.

Guiducci S, Porta F, Saccardi R, Guidi S, Ibba-Manneschi L, Manetti M, Mazzanti B, Dal Pozzo S, Milia AF, Bellando-Randone S, Miniati I, Fiori G, Fontana R, Amanzi L, Braschi F, Bosi A, Matucci-Cerinic M.

중간엽 줄기세포는 내피세포로 분화할 수 있으며, 혈관신생에 참여한다. 급성 심근경색 동물모델에게서 중간엽 줄기세포는 새로운 혈관 네트워크의 형성을 통해 심장 기능을 복구시킨다. 본 연구의 목적은 경피증으로 인한 중증하지허혈(critical limb ischemia) 환자 1명에게서 자가 중간엽 줄기세포의 정맥 내 투여에 대한 치료 효과를 평가하는 것이다. 환자는 경피증을 앓고 있는 34세의 여성으로서, 상지 및 하지의 급성 괴저로 발전되었다. 자가 중간엽 줄기세포는 배양 후, 3회에 걸쳐 정맥 내 투여하였으며, 혈관조영검사(angiography), 피부 조직검사, 면역조직화학염색법을 통해 그 효과를 평가하였다. 괴저성 피부 구역은 첫번째 중간엽 줄기세포 투여 후 감소하였다. 3번째 투여 후, 혈관조영검사를 통해 환자의 사지에서 혈관재생이 관찰되었다. 피부 절편 분석을 통해 관 구조의 세포 군집을 확인하였으며, 혈관신생 인자들이 강하게 발현되었다. 결론적으로, 극심한 말초 허혈을 갖고 있는 경피증 환자에게서 배양된 자가 중간엽 줄기세포의 정맥 내 투여는 혈관 네트워크와 혈류를 회복시키며, 피부 괴사를 감소시킨다.

2) Allogenic mesenchymal stem cells transplantation in refractory systemic lupus erythematosus: a pilot clinical study

Ann Rheum Dis. 2010 Aug; 69(8):1423-9.

Liang J, Zhang H, Hua B, Wang H, Lu L, Shi S, Hou Y, Zeng X, Gilkeson GS, Sun L.

2007년 3월 11일부터 2008년 11월 4일 까지 15명의 루프스 환자들을 등록하였으며 이들에게 중간엽 줄기세포를 투여하였다. 평균 추적관찰 기간은  $17.2 \pm 9.5$  개월이었다. 총 13명의 환자를 12개월 이상 추적관찰하였다. 모든 환자는 중간엽 줄기세포 투여 이후 SLEDAI 점수가 감소하고 단백뇨가 24시간 이내에 감소하여 임상적으로 개선된 것으로 나타났다. 추적관찰 12개월 때에, SLEDAI 점수는  $12.2 \pm 3.3$ 에서  $3.2 \pm 2.8$ 로 감소하였으며 단백뇨도  $2505.0 \pm 1323.9$  mg/24h 에서  $858.0 \pm 800.7$  mg/24h으로 감소하였다. 추적관찰 1년 때에 13명의 환자 중 2명에게서 단백뇨가 악화되었으나 다른 11명은 계속 감소하였다. Anti-dsDNA 수치는 감소하였다. 사구체 여과율은 두명의 환자에게서 개선됨이 관찰되었으며 신장과 관련되지 않은 징후들도 역시 확연히 개선되었다. 심각한 이상반응은 보고된 바 없었다. 난치성 루프스 환자에게서 타가 중간엽 줄기세포의 투여는 질환 활성의 개선을 가져왔으며, 혈청학적 마커들이 개선되고 신장 기능이 안정되었다.

3) Umbilical cord mesenchymal stem cell transplantation in severe and refractory systemic lupus erythematosus.

Arthritis Rheum. 2010 Aug;62(8):2467-75.

Sun L, Wang D, Liang J, Zhang H, Feng X, Wang H, Hua B, Liu B, Ye S, Hu X, Xu W, Zeng X, Hou Y, Gilkeson GS, Silver RM, Lu L, Shi S.

2007년 4월부터 2009년 7월 까지 루프스 환자 16명을 등록하고 탯줄 유래 중간엽 줄기세포를 투여하였다. 평균 추적관찰 기간은 8.25개월이었다. SLEDAI 점수, 혈청 ANA 수치, 항 dsDNA 항체, 혈청 알부민, 보체 C3, 신장 기능에 있어서 확연한 개선이 관찰되었다. 임상적 차도가 Treg 세포의 증가 및 Th1- 이나 Th2- 사이토카인 균형이 함께 동반되었다. 질병 활성 역시 모든 환자에게서 확연한 감소가 보였으며, 재발이나 치료와 관련된 사망이 없었다.

4) Mesenchymal stem cell transplantation reverses multiorgan dysfunction in systemic lupus erythematosus mice and humans.

Stem Cells. 2009 Jun;27(6):1421-32.

Sun L, Akiyama K, Zhang H, Yamaza T, Hou Y, Zhao S, Xu T, Le A, Shi S.

동물모델에게 투여한 줄기세포에 의해 골수 골아세포 미세환경이 복원되며, 다기관 기능장애가 면역억제제를 사용한 것보다 더 효과적으로 치료된다. 줄기세포에 의해 복원된 골아세포 미세환경은 조절 T 세포 및 면역 항상성의 복원에 기여한다. 동물모델에서의 결과를 토대로 루프스 환자에게 투여하여, 모든 환자에게서 안정화 되는 것을 확인하였다. 환자들은 질병 활동성이 개선되

었으며, 혈청학적 마커와 신기능이 개선되었다.

5) Mesenchymal stem cell transplantation accelerates hearing recovery through the repair of injured cochlear fibrocytes.

Am J Pathol. 2007 Jul;171(1):214-26.

Kamiya K, Fujinami Y, Hoya N, Okamoto Y, Kouike H, Komatsuzaki R, Kusano R, Nakagawa S, Satoh H, Fujii M, Matsunaga T.

난청을 복구하기 위해, 중간엽 줄기세포를 외측반규반에 투여하였으며, 이 줄기세포의 대다수는 외측의 손상된 지역에서 탐지되었다. 외측에 중간엽 줄기세포를 투여한 동물모델은 대조군에 비해 확연히 청력복구율이 높은 것으로 확인되었다. 이러한 결과는 이 동물모델에서 급성 감각신경성 난청 후 달팽이관 섬유세포의 재생이 청력 복구를 가능하게 해준다는 것과 내이로의 중간엽 줄기세포 투여가 달팽이관 섬유세포의 퇴행으로 인한 감각신경성 난청 환자에게 좋은 치료법이 될 것이라는 것을 말해준다.

6) Bone Marrow mesenchymal stem cell transplantation in patients with multiple sclerosis: a pilot study

J Neuroimmunol. 2010 Oct 8;227(1-2):185-9.

Yamout B, Hourani R, Salti H, Barada W, El-Hajj T, Al-Kutoubi A, Herlopian A, Baz EK, Mahfouz R, Khalil-Hamdan R, Kreidieh NM, El-Sabban M, Bazarbachi A.

본 연구에서는 다발성경화증 환자 10명에게 자가 골수 유래 중간엽 줄기세포의 척수강내 투여에 대한 안전성과 치료 효과를 평가하였다. 환자들은 3, 6, 12개월 째에 평가하였다. 줄기세포 투여 후, 3~6 개월 째에 EDSS(Expanded Disability Scale Score)를 평가하여 7명 중 5명의 환자가 개선되었고, 안정이 1명, 악화가 1명으로 확인되었다. 3개월째 MRI에서는 새롭거나 확대된 병변이 5명에게서 가돌리늄(Gadolinium, Gd+) 강화 병변이 3명이 확인되었다. 3개월째의 대비감도검사(contrast sensitivity test) 결과, 6명 중 5명이 개선되고, 1명이 악화된 것이 확인되었다. 단기간 결과상으로는 다발성경화증 환자에게 줄기세포 투여가 안전하고 심각한 부작용이 없는 것으로 나타났다.

7) Allogeneic mesenchymal stem cells transplantation in treatment of multiple sclerosis.

Mult Scler. 2009 May;15(5):644-6.

Liang J, Zhang H, Hua B, Wang H, Wang J, Han Z, Sun L.

다발성 경화증은 중추신경계의 만성적인 자가면역성 질환이다. 태줄 유래 중간엽 줄기세포는 면역 억제 능력을 갖고 있다. 본 연구에서는 난치성 진행성 다발성 경화증 환자에게 중간엽 줄기세포를 투여하였고, 투여 후, GVHD 나 투여와 관련된 독성은 나타나지 않았으며 감각 장애가 9일 후 완화되었다. 또한 근력이 증가하였으며 52일째 되는 날에는 신경학적 증상이 개선되었다. EDSS 검사 결과, 점수가 감소하였으며 MRI 검사 결과, T2 병변 부위가 감소된 것으로 나타났다.

8) Safety and immunological effects of mesenchymal stem cell transplantation in patients with multiple sclerosis and amyotrophic lateral sclerosis.

Arch Neurol. 2010 Oct;67(10):1187-94.

Karussis D, Karageorgiou C, Vaknin-Dembinsky A, Gowda-Kurkalli B, Gomori JM, Kassis I, Bulte JW, Petrou P, Ben-Hur T, Abramsky O, Slavin S.

본 연구의 목적은 다발성 경화증 및 루게릭병 환자에게서 자가 중간엽 줄기세포의 척수강 및 정맥 내 투여의 가능성, 안전성, 면역학적 효과를 평가하는 것이다. 임상 1/2상 안정성 임상 연구로서, 다발성 경화증 환자 15명, 루게릭병 환자 19명을 등록하였다. 중간엽 줄기세포는 평균  $63.2 \times 10(6)$  ( $2.5 \times 10(6)$ )개의 세포를 척수강내 (n=34) 및 정맥 내(n=14) 투여하였다. 주요 평가도구는 부작용의 기록이었다. 25개월 이하의 추적관찰 동안 이상 반응 평가, EDSS를 통한 신경학적 장애 평가, MRI, 중간엽 줄기세포 투여의 단기간 면역 조절 효과를 확인하기 위한 면역학적 평가를 시행하였다. 21명의 환자에게서 일시적인 열과 같은 투여와 관련된 이상반응이 나타났으며 15명은 두통을 호소하였다. 추적관찰기간 동안 주요 이상 반응은 없었다. 평균 ALSFRS(Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale, 루게릭병(근위축성측색경화증) 평가도구) 점수는 초기 6개월 관찰 동안 안정적이었으며, 반면에 EDSS 점수는 6.7에서 5.9로 개선되었다. MRI를 통해 중간엽 줄기세포는 심실의 후두각에서 관찰되었으며, 이는 뇌막, 지주막하강, 척수에서 중간엽 줄기세포의 이주가 가능하다는 것을 말해준다. 면역학적 분석을 통해 중간엽 줄기세포 투여 24시간 째에 CD4(+)/CD25(+) 조절 T 세포의 비율이 증가하였고 림프구의 증식반응과 골수 수지상세포에서 CD40(+), CD83(+), CD86(+), HLA-DR의 발현이 감소하였음을 확인하였다. 결론적으로, 다발성경화증 및 루게릭병 환자에게 중간엽 줄기세포의 투여는 임상적으로 실현 가능하며 비교적 안전하다.

9) Human bone marrow-derived mesenchymal stem cells induce Th2-polarized immune response and promote endogenous repair in animal models of multiple sclerosis

Glia. 2009 Aug 15;57(11):1192-203.

Bai L, Lennon DP, Eaton V, Maier K, Caplan AI, Miller SD, Miller RH.

세포 치료는 미엘린(myelin) 복구를 촉진하는데 있어서 매력적인 방법이다. 최근 연구들이 중간엽

줄기세포를 이용한 알리지성 뇌척수염(experimental allergic encephalomyelitis, EAE) 동물모델 치료에서 질병부담(disease burden)을 감소시킨다는 것을 증명하였다. 본 연구에서는 사람 골수 유래 중간엽 줄기세포가 만성 및 재발-이장성 뇌척수염 동물모델의 기능 복구를 촉진한다는 것을 증명하였으며, 손상된 중추신경계로 이동하는 것을 추적하고 질병 진행과 숙주의 면역 반응을 조절하는 능력을 분석하였다. 투여된 골수 중간엽 줄기세포는 중추신경계에 축적되어 손상의 크기를 감소시켰고 손상 부위의 희돌기교세포(oligodendrocyte) 계통 세포를 증가시켰다. 손상부위의 희돌기교세포의 증가는 골수 중간엽 줄기세포로 유도된 신경세포의 변화를 반영한다. 치료된 동물모델 유래의 뉴로스피어(neurosphere, 뇌 중추신경계 줄기세포)는 비치료그룹에 비해 더 희돌기교세포를 발생시켰으며 성상세포(astrocyte)는 덜 발생시켰다. 또한, 숙주 면역 반응 역시 골수 중간엽 줄기세포에 의해 영향을 받았다. Th2 세포를 생성하는 IL-4와 항 염증 사이토카인들을 증가가 됨에 따라, Th1 세포를 생성하는 인터페론 감마와 Th17 염증 세포를 생성하는 IL-17 등의 염증성 T 세포와 이들과 관련된 사이토카인들은 감소하였다.

10) Autologous mesenchymal stem cells for the treatment of secondary progressive multiple sclerosis: an open-label phase 2a proof-of-concept study.

Lancet Neurol. 2012 Jan 9.

Connick P, Kolappan M, Crawley C, Webber DJ, Patani R, Michell AW, Du MQ, Luan SL, Altmann DR, Thompson AJ, Compston A, Scott MA, Miller DH, Chandran S.

다발성 경화증(multiple sclerosis) 환자들의 절반 이상이 신체적 장애가 점점 늘어나는 진행성의 특징을 갖고 있다. 진행성 다발성 경화증을 위한 치료법의 개발이 절실하다. 중간엽 줄기세포가 급성 및 만성 다발성 경화증 동물모델에게서 이로운 효과를 보인다는 증거를 기반으로, 본 연구에서는 진행성 다발성 경화증을 위한 신경 보호 치료로서 중간엽 줄기세포의 안전성 및 효능을 평가하였다. 영국의 동앵글리아(East Anglia) 및 북런던(north London) 지역의 장애 상태 지수 5.5~6.5의 진행성 다발성 경화증 환자들을 모집하였다. 참가자들은 본 연구에서 자가 골수 유래 중간엽 줄기세포를 정맥 내 투여받았다. 1차 평가는 가능성 및 안전성을 평가하는 것으로서 치료 전 20개월부터 투여 후 10개월까지의 이상 반응(adverse events)을 비교하였다. 2차 평가는 효능 평가로 전시각 전도계 장애(anterior visual pathway)를 평가하는 것을 선별하였다. 본 연구에서는 10명의 환자들의 중간엽 줄기세포를 분리하고 배양한 뒤, 특성을 파악하여 투여하였다. 평균 투여량은 kg 당  $1.6 \times 10^6$  개의 세포였다. 한 환자는 치료 후 일시적인 발진이 일어났으며, 두명의 환자는 치료 후 3~4주간 스스로 제어할 수 있는 정도의 세균 감염이 발생하였다. 어떤 심각한 이상 반응은 나타나지 않았다. 시력과 시각유발전위 잠복기(visual evoked response latency) 및 시신경 범위가 치료 후 개선을 보였다. 색각, 시야, 황안부 용적(macular volume), 망막 신경섬유층 두께, 시신경 자화전달비율(optic nerve magnetisation transfer ratio)이 확인한 효과를 보이지는 못했다.

11) Favorable response to Human Adipose Tissue-derived mesenchymal stem cells in steroid-refractory acute graft-versus-host disease.

Fang B, Song Y, Liao L, Zhang Y, Zhao RC.

Transplant Proc. 2007 Dec ;39(10):3358-62.

스테로이드 저항성 급성 이식편대숙주병 환자에게서 지속된 효과를 보이는 치료법은 존재하지 않는다. 항흉선세포글로불린(antithymocyte globulin), 미코페놀레이트 모페틸(mycophenolate mofetil, MMF), 펜터스타틴(pentostatin) 및 단클론성항체(monoclonal antibodies) 등과 같은 다양한 대안 치료법이 시도되고 있으나, 아직까지 온전히 성공적인 결과를 보인 연구는 없다. 본 연구의 목적은 스테로이드 저항성 급성 이식편대숙주병 환자에서의 사람 지방유래 중간엽 줄기세포의 효능을 평가하는 것이다. 6명의 스테로이드 저항성 grade III-IV 급성 이식편대숙주병 환자들은 지방유래 중간엽 줄기세포를 정맥 내 투여받았다. 투여 용량은  $1 \times 10^6$  cells/kg 이었다. 지방유래 중간엽 줄기세포 투여 후 나타난 부작용은 없었다. 5명의 환자들은 한 차례 치료받았고, 한 명의 환자만이 두 차례 치료받았다. 2명의 환자들은 일배수 동종 가족 공여자의 지방유래 중간엽 줄기세포를 투여 받았으며, 4명의 환자들은 친족이 아닌 공여자의 지방유래 중간엽 줄기세포를 투여받았다. 급성 이식편대숙주병은 6명 중 5명에게서 완전히 사라졌다. 이 중 4명은 평균 40개월 이후에도 생존하였다. 생존하고 있는 4명의 환자 모두 좋은 상태를 유지하였으며, 혈액학상의 악성증상이 감소되었다. 사망한 2명의 환자 중 한 명은 다기관 기능 부전에 의해 사망하였으며 다른 한 명은 백혈병의 재발로 사망하였다. 본 연구 결과는 지방유래 중간엽 줄기세포가 극심한 스테로이드 저항성 급성 이식편대숙주병 치료에 유용하다는 것을 증명한다.

12) Using Human Adipose Tissue-derived mesenchymal stem cells as salvage therapy for hepatic graft-versus-host disease resembling acute hepatitis.

Fang B, Song Y, Zhao RC, Han Q, Lin Q.

Transplant Proc. 2007 Jun; 39(5):1710-3.

만성 간 이식편대숙주질환(graft-versus-host disease, GVHD)을 앓고 있는 43세의 여성은 시클로스포린(cyclosporine, 거부반응방지제)과 프레드니손(prednisone, 부신피질호르몬제)를 이용하여 면역억제를 시행하였으나 실패하였고, 이후 조혈모줄기세포 투여 165일 후에 타크로리무스(tacrolimus, 면역억제제) 치료를 시작하였다. 다시 15일 후, 신장 기능의 지속적인 악화 때문에 타크로리무스(tacrolimus) 치료를 중단하였다. 그러나 이후, 지방줄기세포 투여 치료로 변경하여 간 이식편대숙주질환과 신장 독성이 빠르고 완벽하게 회복되었다.

13) Resolution of refractory chronic autoimmune thrombocytopenic purpura following mesenchymal stem cell transplantation: a case report.

Fang B, Song YP, Li N, Li J, Han Q, Zhao RC.

Transplant Proc. 2009 Jun;41(5):1827-30.

본 연구는 만성 자가면역성 혈소판감소증(autoimmune thrombocytopenia, AITP) 남성 환자에 대한 증례 보고이다. 본 환자는 T-cell 감소 자가 말초혈액 줄기세포 투여를 받았음에도 효과를 보지 못하였다. 질병에 차도가 있었으나 불행히도 3개월 후 재발되었다. 결국 사람 지방유래 중간엽 줄기세포를 투여하였으며, AITP를 치료할 수 있었다.

14) Adipose Tissue-derived mesenchymal stem cells have in vivo immunosuppressive properties applicable for the control of the graft-versus-host disease.

Yañez R, Lamana ML, García-Castro J, Colmenero I, Ramírez M, Bueren JA.

Stem Cells. 2006 Nov;24(11):2582-91.

기존 연구들에서는 동종 이식 이후 발생하는 이식편대숙주병(GVHD, graft-versus-host disease)을 조절하기 위해 골수유래 중간엽 줄기세포의 적절성을 다루었다. 지방유래 중간엽 줄기세포가 골수유래 중간엽 줄기세포를 대체제로 대두됨에 따라, 본 연구에서는 사람 지방유래 중간엽 줄기세포와 쥐의 지방유래 중간엽 줄기세포를 배양하여 면역 조절 능력을 조사하고, 이식편대숙주병 동물모델에서의 조절 능력을 평가하였다. 배양된 사람 지방유래 중간엽 줄기세포의 표현형(phenotype)과 면역조절능력은 사람 골수유래 중간엽 줄기세포와 유사하였다. 더욱이, 사람 지방유래 중간엽 줄기세포는 미토겐(mitogen) 및 동종 T 세포(allogeneic T cell)에 반응한 사람 일차 T 세포의 증식 및 사이토카인 분비를 억제하였다. 또한, 배양된 쥐의 지방유래 중간엽 줄기세포는 사람 지방유래 중간엽 줄기세포와 동등한 면역표현형(immunophenotype)과 면역 조절 능력을 보였다. 더 나아가, 쥐의 지방유래 중간엽 줄기세포의 투여는 HLA 부분불일치 조혈모 이식(haploidentical hematopoietic graft)을 시행한 동물모델에게서 이식편대숙주병을 조절하도록 하였다. 이러한 연구 결과는 지방유래 중간엽 줄기세포가 동종 조혈모 이식 시 발생가능한 이식편대숙주병을 치료하는데 유용하다는 것을 증명한다.

15) Adipose-derived mesenchymal stem cells ameliorate chronic experimental autoimmune encephalomyelitis.

Constantin G, Marconi S, Rossi B, Angiari S, Calderan L, Anghileri E, Gini B, Bach SD, Martinello M, Bifari F, Galiè M, Turano E, Budui S, Sbarbati A, Krampera M, Bonetti B.

Stem Cells. 2009 Oct;27 (10):2624-35.

중간엽 줄기세포는 신경성 자가면역 질환에 대해 치료 가능성을 보여주고 있다. 골수유래 중간엽 줄기세포를 이용한 이전의 연구들에서 다발성 경화증의 동물 모델 형태인 자가면역성 뇌척수염 동물모델의 면역 조절을 유도하였으며, 질병의 상태를 호전시킨 바 있다. 본 연구에서는 발병 이전에 지방줄기세포를 정맥 내 투여하여 면역 조절과 척수 감염 및 수초탈락을 감소시켜 뇌척수염의 발병도를 확연히 감소시켰다. 지방줄기세포는 임파상기관(lymphoid organs)으로 우선 이동할 뿐 아니라 중추신경계로도 이동한다. 가장 중요한 것은, 만성적인 뇌척수염에 있어서 지방줄기세포의 투여가 확연히 질병의 경과를 완화시키고 수초탈락과 축색돌기 소실 모두를 감소시키며 T세포에서 유도된 Th2 형 사이토카인을 감소시킨다는 것이다. 흥미롭게도 지방줄기세포의 일부가 활성화된 알파 4 인테그린 ( $\alpha 4$ -integrin)를 발현하고 생체 현미경 실험을 통해 염증이 발생한 뇌소정맥에 부착된 것을 확인하였다. 생체발광 영상으로 관찰된 알파 4 인테그린이 염증이 발생한 중추신경계에 지방줄기세포 축적을 조절하는 것으로 보인다. 더욱이, 수초탈락된 위치로의 지방줄기세포 투여는 내생의 희돌기교세포(oligodendrocyte) 전구세포의 수를 증가시킨다. 결론적으로, 본 연구에서는 지방줄기세포가 질병 초기에 자가면역반응을 억제하고 국소 신경 재생을 유도하는 두 가지 기전에 의해 치료 가능성을 보여주고 있다는 것을 말해준다. 종합하여 본다면, 본 연구 데이터는 지방줄기세포가 중추신경계의 만성 염증성 질환에 좋은 재료가 될 것이라는 것을 말해준다.

16) IFATS collection: Immunomodulatory effects of Adipose Tissue-derived stem cells in an allergic rhinitis Mouse model.

Cho KS, Park HK, Park HY, Jung JS, Jeon SG, Kim YK, Roh HJ.

Stem Cells. 2009 Jan;27 (1):259-65

지방 조직 유래 줄기세포는 동종이계 이식에서 면역 억제 효과를 보인다. 그러나, 알러지성 비염 동물모델에게서 지방줄기세포의 생체 내 면역 조절 효과를 증진시킨다는 보고는 없다. 본 연구에서는 지방줄기세포가 알러지성 동물모델의 비점막(nasal mucosa)내로 이동하여 면역 조절 효과를 증진시키는지에 대해 조사하였다. 배양된  $2 \times 10^6$ 의 지방줄기세포는 동물 모델의 첫번째 항원 노출 이전에 정맥 내 투여하였다. 지방줄기세포의 비점막으로의 이동은 면역형광법으로 평가하였다. 지방줄기세포의 면역 조절 효과는 코 증상, 조직검사, 혈청 오브알부민(ovalbumin, OVA) 특이 항체, 비장(spleen)의 사이토카인 양상을 통해 평가하였다. 그 결과, 지방 줄기세포는 동물 모델의 비점막으로 이동하였다. 지방줄기세포는 알러지 증상을 확연히 감소시켰으며, 비점막에서의 호산구성 염증(eosinophilic inflammation)을 억제하였다. 지방줄기세포는 혈청 알러지성 특이 IgE 수치와 IgG(1)/IgG(2a) 비율을 확연히 감소시켰으며, IgG(2a) 수치를 증가시켰다. 지방줄기세포는 OVA로 배양한 비장세포(splenocyte)로부터 IL-4와 IL-5 생성을 억제하였으나, IFN- $\gamma$ 의 생성은 증가시켰다. 결론적으로, 지방줄기세포는 알러지성 비염 동물모델에게서 비점막으로 이동하며, 호산구성 염증을 부분적으로 억제한다.



17) Adult Human Mesenchymal Stem Cells Added to Corticosteroid Therapy for the Treatment of Acute Graft-versus-Host Disease.

Kebriaei P, Isola L, Bahceci E, Holland K, Rowley S, McGuirk J, Devetten M, Jansen J, Herzig R, Schuster M, Monroy R, Uberti J.

Biol Blood Marrow Transplant. 2009 Jul 15(7):804-11

면역조절능력을 갖고 있는 중간엽 줄기세포는 이식편대숙주병(GVHD, graft-versus-host disease)을 연구하는데 적절하게 사용될 수 있다. 사람 중간엽 줄기세포는 급성 GVHD를 치료하는데 유용하다. II-IV 등급의 GVHD 환자들을 무작위로 분류하여 두가지 용량( $2 \times 10^6$ cells/kg 또는  $8 \times 10^6$ cells/kg)의 사람 중간엽 줄기세포를 코르티코스테로이드(corticosteroids)와 함께 2회 병용 투여하였다. 환자들은 GVHD 예방 목적으로 acrolimus, cyclosporine, (CsA) 또는 mycophenolate mofetil (MMF)를 투여받았다. 연구의 평가는 안전성을 포함하여, 투여에 따른 반응과 28일 째의 aGVHD에 대한 전체 반응 및 장기간 안전성을 평가하였다. 32명의 환자들을 스크리닝하여 31명이 등록되었고, 그 중 21명이 남성, 10명이 여성이었다. 평균 나이는 52세였다. 31명의 환자들 중, 21명은 grade II, 8명은 grade III 그리고 3명은 grade IV aGVHD였다. 전체 환자의 94%는 중간엽 줄기세포 투여에 따른 초기 반응을 보였으며, 투여에 따른 독성이나 종양 형성이 관찰되지 않았다. 저농도와 고농도 투여에 대한 안전성과 효능 면에서는 차이가 없었다. 따라서 중간엽 줄기세포 투여는 aGVHD 환자에 대해 안전하며 GVHD 환자의 대부분에게서 반응을 유도시킬 수 있다는 것을 확인하였다.

18) Cotransplantation of HLA identical sibling culture expanded mesenchymal stem cells and hematopoietic stem cells in hematologic malignancy patients.

Lazarus HM, Koc ON, Devine SM, Curtin P, Maziarz RT, Holland HK, Shpall EJ, McCarthy P, Atkinson K, Cooper BW, Gerson SL, Laughlin MJ, Loberiza FR Jr, Moseley AB, Bacigalupo A.

Biol Blood Marrow Transplant. 2005 May;11(5):389-98.

본 임상 연구에서는 46명의 혈액암 환자에게 중간엽 줄기세포를 투여하였으며, 투여와 관련된 부작용이 발생하지 않았다. 호중성 백혈구와 혈소판이 생착되는 평균 시간은 각각 14일과 20일 이었다. 46명의 환자 중 13명(28%)에게서 2~4 등급 급성 이식편대숙주병(GVHD)이 관찰되었다. 만성 이식편대숙주병은 90일째에도 생존하고 있는 36명의 환자중 22명(61%)에게서 나타났다. 11명(24%)의 환자는 평균 213.5일만에 재발되었다. 중간엽 줄기세포 투여 후 2년 째 생존하고 있는 환자의 비율은 53%이다. HLA 일치 혈연간 중간엽 줄기세포 및 조혈모 줄기세포 공동 투여는 본 연구를 통해 실현 가능하며 면역 거부 반응이나 독성 없이 안전하다고 판단되었다. 타가 조혈모 줄기세포를 이식하는 동안 발생하는 이식편대숙주병의 예방이나 치료하기 위한 최적의 중간엽 줄기세포 투여량과 투여 빈도는 앞으로 시행할 임상 2상에서 평가할 것이다.

19) Efficacy and Safety of Ex-vivo Cultured Adult Human Mesenchymal Stem Cells (Prochymal(TM)) in Pediatric Patients with Severe Refractory Acute Graft-Versus-Host Disease in a Compassionate Use study.

Prasad VK, Lucas KG, Kleiner GI, Talano JA, Jacobsohn D, Broadwater G, Monroy R, Kurtzberg J.

Biol Blood Marrow Transplant. 2010 May 7

사람 중간엽 줄기세포를 이용한 예비연구 결과를 통해 급성 이식편대숙주병의 치료에 유용할 것으로 평가되었다. 그러나 이 방법은 복잡하고 표준화가 어렵다. 본 논문을 통해 치료 저항성 grade III / IV 급성 이식편대숙주병 소아 환자(12명, 0.4~15세)에게 중간엽 줄기세포를 사용한 첫 경험을 설명한다. 중간엽 줄기세포는 4주간 1주일에 2회씩 1시간 이상 정맥 내를 통해 2명의 환자에게는 kg 당  $8 \times 10^6$ 개 그리고 나머지 환자들은 kg 당  $2 \times 10^6$ 개를 투여받았다. 중간엽 줄기세포는 평균 98일간 투여 받았으며(45~237일), 환자 한명 당 평균 8회의 투여(2~21회)를 받아 총 124회 투여를 시행하였다. 7명의 환자(58%)에게서 완전 반응을 보였으며 2명의 환자(17%)에게서는 부분 반응, 3명의 환자(25%)에게서는 혼합 반응을 보였다. 소화관 증상은 9명의 환자(75%)에게서 완전한 반응을 보였다. 2명의 환자는 초기반응 후 악화되었으며 재치료를 시도하여 부분 반응을 보였다. 중간엽 줄기세포 치료를 시작한 100일 째 되는 날, 생존의 누적발생률은 58%이다. 12명의 환자 중 5명(42%)은 평균 730일의 추적관찰(527~1,211일) 이후에도 여전히 살아있었다. 투여와 관련 되거나 기타 급성의 독성효과는 어떤 환자에게서도 관찰되지 않았다. 중간엽 줄기세포의 다회 투여는 아이들에게도 안전하게 보여진다. 특히, 소화관계에서의 임상 반응은 극심한 난치성 급성 이식편대숙주병 소아환자들에게 있어서 가장 많이 보이는 증상이다. 심각한 예후를 보이는 환자들에게서 얻은 호의적인 결과는 중간엽 줄기세포가 급성 이식편대숙주병 치료에 유용할 것이라는 결론을 내릴수 있으며, 소아 및 성인 환자들에게서 임상 3상 연구를 더 해야할 필요가 보인다.

20) Mesenchymal stem cells expanded in vitro with human serum for the treatment of acute and chronic graft-versus-host disease: results of a phase I/II clinical trial.

Pérez-Simon JA, López-Villar O, Andreu EJ, Rifón J, Muntion S, Diez Campelo M, Sánchez-Guijo FM, Martínez C, Valcarcel D, Cañizo CD.

Haematologica. 2011 Mar 10.

급성 GVHD 환자 10명, 만성 GVHD 환자 8명에게 줄기세포 및 혈청을 투여한 결과, 급성 GVHD 환자 중에서는 한명이 완전반응, 6명이 부분반응을 보였으며, 3명은 반응을 보이지 않았다. 또한 만성 GVHD 환자에서는 1명이 완전한 개선을 보였고, 3명이 부분 반응을 보였으며, 4명은 반응이 나타나지 않았다.

21) Mesenchymal stem cells for treatment of steroid-resistant, severe, acute graft-versus-host disease: a phase II study.

Le Blanc K, Frassoni F, Ball L, Locatelli F, Roelofs H, Lewis I, Lanino E, Sundberg B, Bernardo ME, Remberger M, Dini G, Egeler RM, Bacigalupo A, Fibbe W, Ringdén O; Developmental Committee of the European Group for Blood and Marrow Transplantation.

Lancet. 2008 May 10;371 (9624):1579-86

2001년 10월부터 2007년 1월까지 총 55명의 환자가 치료를 받았다. 골수 유래 중간엽 줄기세포의 평균 투여량은 몸무게 kg 당 1백4십만개의 세포였다. 27명의 환자는 단 회 투여를, 22명의 환자는 2회 반복 투여, 6명의 환자는 3~5회 반복 투여를 하였다. 또한 이들 환자 중 HLA 일치 혈연간 투여가 5건, 일배수동종이 18건, 제 3자 HLA 불일치가 69건 이었다. 30명의 환자는 완전 반응을 보였고 9명은 개선되었다. 중간엽 줄기세포 투여 도중이나 투여 즉시 나타난 부작용은 없었다. 반응율은 HLA 일치와 관계있진 않았다. 3명의 환자는 악성 질환이 재발되었으며, 한명은 급성 골수성 백혈병에 걸렸다. 완전 반응 환자는 투여 1년 후 사망자 수가 1명이었으나 부분 반응이나 반응이 없었던 환자는 사망 환자가 각각 30명 중 11명(37%), 25명 중 18명(72%)이었다. 본 연구 결과를 통하여 중간엽 줄기세포의 투여는 스테로이드 저항성 급성 이식편대숙주병 환자를 치료하는데 효과적이라고 판단된다.

22) Multipotent Mesenchymal Stromal Cells for the Prophylaxis of Acute Graft-versus-Host Disease-A Phase II Study.

Kuzmina LA, Petinati NA, Parovichnikova EN, Lubimova LS, Gribanova EO, Gaponova TV, Shipounova IN, Zhironkina OA, Bigildeev AE, Svinareva DA, Drize NJ, Savchenko VG.

Stem Cells Int. 2012;2012:968213.

타가 조혈모 줄기세포 투여에 따른 급성 이식편대숙주병(acute graft-versus-host disease, aGVHD) 예방을 위한 다능성 중간엽 간질 세포 투여의 효능과 안전성을 연구하였다. 본 임상 연구는 기본적인 GVHD 예방을 받은 그룹(1)과 기본적인 GVHD 예방과 중간엽 간질세포 투여 그룹(2)으로 나눠 진행하였다. 골수 중간엽 간질세포는 조혈모 줄기세포 기증자로부터 획득 및 배양하였으며 적혈구 수치가 복구될 시기에 0.9~1.3X 10(6)/kg의 세포를 투여하였다. stage II-IV의 aGVHD는 그룹 1의 38.9%, 그룹 2의 5.3% 였다. 이식 거부반응률, 만성 GVHD 발진, 감염 합병증에서는 차이가 없었다. 전체 사망률은 그룹 1의 환자는 16.7%, 그룹 2의 환자는 5.3%였다. 급성 이식편대숙주병 예방을 위한 중간엽 간질세포 투여의 효능 및 안전성은 본 연구를 통해 증명하였다.

23) Mesenchymal stromal cell infusions as rescue therapy for corticosteroid-refractory adult autoimmune enteropathy.

Ciccocioppo R, Russo ML, Bernardo ME, Biagi F, Catenacci L, Avanzini MA, Alvisi C, Vanoli A, Manca R, Luinetti O, Locatelli F, Corazza GR.

Mayo Clin Proc. 2012 Sep;87(9):909-14.

성인 자가면역성 장병증(Adult autoimmune enteropathy, AIE)는 식사 제한에 반응이 없는 흡수장애 증후군(malabsorption syndrome)의 드문 발생 원인이다. 이 질환의 진단상 특징은 소장의 용모 위축(villous atrophy)과 항-장세포 자기항체(antienterocyte autoantibodies)이다. 치료는 영양 공급 및 면역 억제가 기본이다. 본 연구에서는 61세의 코르티코스테로이드 저항성 AIE 및 생명을 위협하는 상태의 흡수장애 증후군 여성 환자에게 자가 골수유래 중간엽 줄기세포를 정맥 내 투여하였다. 중간엽 줄기세포는 GMP 시설하에 배양을 하였으며,  $1.8 \times 10^6$  cells/kg의 용량으로 2주 간격을 두어 2회 반복 정맥 내 투여하였다. regulatory T 및 B 세포수와 혈청 및 분비되는 면역글로불린항체(immunoglobulin) 수준의 분석은 치료 전후로 수행하였다. 중간엽 줄기세포 투여는 안전하고 효과적이었으며, 질병의 증상이 사라지고, 생명을 위협하는 상태에서 호전되었다. 점막의 regulatory T 세포수와 분비되는 면역글로불린항체가 증가하였다. 그러나 효과는 일시적일 수 있으므로 추가적인 줄기세포 투여가 필요하다. 본 증례는 생명이 위태로운 코르티코스테로이드 저항성 AIE 환자에게 치료에 대한 기대감을 실어줄 수 있다.

#### 4. 별첨 목록

별첨 1. Ra JC. Stem Cells Dev. 2011 논문 (정맥 내 투여 안전성)

별첨 2. Ra JC. J Transl Med. 2011 논문 (자가면역질환)

별첨 3. Choi EW. J Gene Med. 2011 논문 (자가면역성 갑상선염)

별첨 4. Zhou Y. Immunology. 2011 논문 (자가면역성 난청)

별첨 5. Zhou B. Clin Immunol. 2011 논문 (류마티스 관절염)

별첨 6. Kim KS. Cell Transplant. 2013 논문 (루게릭병)

별첨 7. Choi EW. Arthritis Rheum. 2012 논문 (루푸스)

별첨 8. Choi EW. Stem Cells Dev. 2015 논문 (루푸스 피부염)

별첨 9. Ko MS. Neural Regen Res. 2011 논문 (자가면역성 뇌척수염)

별첨 10. Choi SW. J Med Case Rep. 2014 논문 (진행성 핵상안근마비)

별첨 11. Guiducci S. Ann Intern Med. 2010 논문 (전신성 경피증)

별첨 12. Liang J. Ann Rheum Dis. 2010 논문 (루푸스)

별첨 13. Sun L. Arthritis Rheum. 2010 논문 (루푸스)

별첨 14. Sun L. Stem Cells. 2009 논문 (루푸스)

- 별첨 15. Kamiya K. Am J Pathol. 2007 논문 (자가면역성 난청)
- 별첨 16. Yamout B. J Neuroimmunol. 2010 논문 (다발성 경화증)
- 별첨 17. Liang J. Mult Scler. 2009 논문 (다발성 경화증)
- 별첨 18. Karussis D. Arch Neurol. 2010 논문 (다발성 경화증)
- 별첨 19. Bai L. Glia. 2009 논문 (다발성 경화증)
- 별첨 20. Connick P. Lancet Neurol. 2012 논문 (다발성 경화증)
- 별첨 21. Fang B. Transplant Proc. 2007 논문 (GVHD)
- 별첨 22. Fang B. Transplant Proc. 2007 논문 (GVHD)\_2
- 별첨 23. Fang B. Transplant Proc. 2009 논문 (자가면역성 혈소판감소증)
- 별첨 24. Yañez R. Stem Cells. 2006 논문 (GVHD)
- 별첨 25. Constantin G. Stem Cells. 2009 논문 (자가면역성 뇌척수염)
- 별첨 26. Cho KS. Stem Cells. 2009 논문 (알려지성 비염)
- 별첨 27. Kebriaei P. Biol Blood Marrow Transplant. 2009 논문 (GVHD)
- 별첨 28. Lazarus HM. Biol Blood Marrow Transplant. 2005 논문 (GVHD)
- 별첨 29. Prasad VK. Biol Blood Marrow Transplant. 2010 논문 (GVHD)
- 별첨 30. Pérez-Simon JA. Haematologica. 2011 논문 (GVHD)
- 별첨 31. Le Blanc K. Lancet. 2008 논문 (GVHD)
- 별첨 32. Kuzmina LA. Stem Cells Int. 2012 논문 (GVHD)
- 별첨 33. Ciccocioppo R. Mayo Clin Proc. 2012 논문 (자가면역성 장병증)