

# 줄기세포 연구의 현황과 의공학 기술과의 접목

박용두

고려대학교 의과대학 의공학교실

## Current Status of Stem cell Research and its Connection with Biomedical Engineering Technologies

Yongdoo Park

Department of Biomedical Engineering, College of Medicine, Korea University,  
(Received April 14, 2010. Accepted April 19, 2010)

### Abstract

Researches for stem cells have been focused on scientists in biomedical sciences as well as clinical application for its great therapeutic potentials. Stem cells have two distinct characteristics: self-renewal and differentiation. In this short review, the links between stem cell research and biomedical engineering is discussed based on the basic characteristics of stem cells. This concept can be extended to the fundamental questions of biological sciences for cells such as proliferation, apoptosis, differentiation, and migration. For understanding proliferation and apoptosis of stem cells, techniques from biomedical engineering such as surface patterning, MEMS, nanotechnologies have been used. The advanced technologies such as microfluidic technologies, three dimensional scaffold fabrication, and mechanical/electrical stimulation have also been used in cell differentiation and migration. Basic and unsolved questions in the stem cell research field have limitations by studying conventional technologies. Therefore, the strategic fusion between stem cell biology and novel biomedical engineering field will break the barriers for understanding fundamental questions of stem cells, which can open the window for the clinical applications of stem cell based therapeutics as well as regeneration of damaged tissues.

**Key words :** stem cell, biomedical engineering, differentiation, proliferation

### 1. 서론

21세기로 넘어오면서 줄기세포만큼 과학 및 사회적인 이슈가 끊임없이 대두된 연구분야는 없다. 성체 줄기세포를 이용한 임상실험 결과의 유효성, 배아줄기세포연구의 윤리등과 같이 줄기세포 연구는 이와 관련된 연구분야뿐 아니라, 윤리 도덕을 다루는 사회학적으로도 다양한 이슈들을 생산해 내고 있다.

줄기세포를 이용한 치료 및 연구는 골수세포이식으로 거슬러 올라가며 초기의 다양한 연구들을 통하여 현재 임상에서는 백혈병과 같은 혈액 기반의 질병의 세포치료에 줄기세포를 이식하는 골수이식 방법이 사용되어지고 있다[1,2]. 골수세포를 이식하면서 쌓인 다양한 임상결과들중 특히 인체의 특정 기관의 조직세포에서도 공여자의 세포가 발견된다는 것이 밝혀지면서 골수세포가 조혈모세포 혹은 혈액세포로만 분화하여 진행되는 것이 아니라 다른 세포로도 분화가능하다는 가능성이 제기되어 왔다. 또한, 성체줄기세포

뿐만 아니라 200여개에 달하는 인체의 모든 조직세포로의 분화가 능성이 높은 배아줄기세포가 *in vitro*에서 확립되면서 증식 및 분화에 관한 기초연구들도 활발하게 진행되었다[3,4].

줄기세포 연구에서 2000년대 초반은 줄기세포의 세포치료제로서의 가능성이 대두되면서 다양한 청사진들이 제시되었다. 줄기세포가 심장 조직을 재생하고 기능을 복원하는 것이 밝혀졌으며, 골 조직 재생 및 신경, 간 그리고 뼈에 이르는 다양한 조직으로 분화 가능하다는 것이 밝혀지면서 줄기세포는 손상된 장기 및 조직을 재생시킬 수 있는 마법의 치료제로 부상하기 시작했다[5-9]. 순수 분리된 줄기세포가 아니라 골수에서 채취한 mononuclear cell들을 혼합물을 주사 형태로 주입하거나 다양한 지지체에 섞어 인체 내에 적용하는 초기의 실험들은 줄기세포가 손상된 조직내에 들어가서 그 조직에 맞는 세포로 분화하여 조직의 재건에 도움을 줄 것이라는 가능성에서부터 시작되었다.

그러나, 몇몇 연구에서는 줄기세포의 *in vivo*에서 분화정도가 5% 이하로 생각보다 낮다는 것이 관찰되었으며, 줄기세포가 자신이 속한 lineage뿐 아니라 다른 lineage로도 분화 가능하다고 주장

Corresponding Author : 박용두  
Anam 5 Ga, Sungbuk-Gu, Seoul, 136-705, Korea  
Tel : +82-2-920-6460 / Fax : +82-2-922-4204  
E-mail : ydpark@kumc.or.kr

한 plasticity도 역시 많은 논쟁에 직면하게 되었다[10,11]. 줄기세포를 치료제로 이용하여 체내에 주입하였을때, 줄기세포가 주변 환경을 인식하여 특정한 세포로 분화되는 것이 아니라, 기존의 조직에 존재하는 세포와 융합됨으로써 분화된 것처럼 보인다는 연구 결과들도 발표되었다[12-16]. 또한 줄기세포가 in vivo 에서 특정 세포로 자신이 분화하는 것이 아니라, 살아있는 cytokine의 공급원으로 작용을 하여 주변 환경에 맞는 적합한 성장인자나 물질들을 분비하여 조직의 재건 및 재생을 돕는 helper의 기능을 한다는 주장도 설득력 있게 받아들여지고 있다[17].

현재 줄기세포 연구는 줄기세포가 가지고 있는 다양한 가능성 만큼 아직도 해결되지 않은 연구 주제가 많은 매력적인 연구분야임에는 틀림 없다고 할 수 있을 것이며, 본 리뷰에서는 줄기세포 연구가 의공학분야와의 접목 가능성에 관하여 고찰해 보도록 한다.

## II. 줄기세포의 특성

줄기세포의 특성은 두가지로 요약될 수 있다. 하나는 self-renewal 이며, 다른 하나는 differentiation (분화)이다. Self renewal 이란 말과 같이 자기 자신을 만들 수 있다는 말로, 줄기세포가 증식 혹은 분화를 하더라도 특정개체를 유지하기 위하여 자신과 같은 클론세포를 만들 수 있는 능력을 말한다. 줄기세포의 self-renewal의 특성이 없었다면, 줄기세포는 증식 혹은 분화하면서 대부분 소진되므로 특정 조직에서 특정한 시기에 필요로하는 세포가 외부에서 공급되어지지 않는 한 얻지 못하게 된다[18]. 두번째의 특징은 분화로서 생체 내에서 특정 신호 체계에 따라 원하는 세포로 분화가능하다. 특히, 이 분화능에 따라서 줄기세포는 unipotent, multipotent, 및 pluripotent 등으로 나눌 수 있다. 특히 pluripotent는 내배엽, 중배엽, 외배엽 유래의 세포 중 특정한 배엽으로만 분화가능한 것이 아니라 다른 배엽의 세포로 분화가능하므로 세포 치료 뿐 아니

라 기본 연구를 하는데 있어 중요한 개념이다[19].

줄기세포는 위의 특징을 가지고 있지만, 또한 세포의 기본적인 성질을 공유하고 있으므로 대표적인 세포의 성질인 증식 (proliferation), 분화 (differentiation), 이동 (migration), 및 사멸 (apoptosis)의 과정을 거친다[20]. 일반 세포에서도 이 네가지 개념은 조직 세포의 기능을 연구하는데 중요한 역할을 하지만 줄기세포에서도 중요한 역할을 한다. 증식은 한정된 세포에서 출발하는 세포치료에서 가장 큰 이슈중의 하나로 환자에서 얻어낸 소량의 줄기세포를 변형시키지 않고 어떻게 대량 증식하는가를 연구하는데 중요한 이슈중의 하나이다. 분화는 줄기세포연구에서 다루는 가장 큰 연구 주제중의 하나로, 세포가 분화하는데 필요한 다양한 외부적인 자극과 이를 통한 최적의 분화 카테일은 줄기 세포를 증식시킨 후 특정 기능을 가진 세포로 분화시킬때 필수적인 인자중의 하나이다. 이동은 줄기세포 연구분야에서 활발하게 다루어지지 않는 분야중의 하나이지만, 줄기세포의 증식과 더불어 일어나는 현상중의 하나인 세포의 이동은 복잡한 조직을 구성하는데 있어 필수적으로 연구가 필요한 분야이다. 마지막으로 사멸은 줄기세포와 암세포를 연결시키는 링크 중의 하나로 줄기세포의 불멸성이 암세포의 그것과 비슷하므로 어떻게 세포의 사멸을 유도할 것인가 하는 점이 세포치료 뿐 아니라 세포 사멸 유도를 통한 암세포 치료에도 사용 가능하다. 따라서, 그림 1에서 나타나듯이 줄기세포의 연구는 줄기세포의 특징인 self renewal 및 differentiation뿐 아니라 일반적인 somatic cell의 네가지 특징인 증식, 사멸, 분화, 이동의 연구를 통해서 줄기세포의 특성을 밝힐 수 있다.

## III. 의공학 기술을 이용한 줄기세포 연구에의 접근

고전적인 의공학의 개념에서 출발한다면 의공학 연구분야와 줄기세포는 간극이 있는 것처럼 보일 수 있다. 의공학 정의에서 볼 수

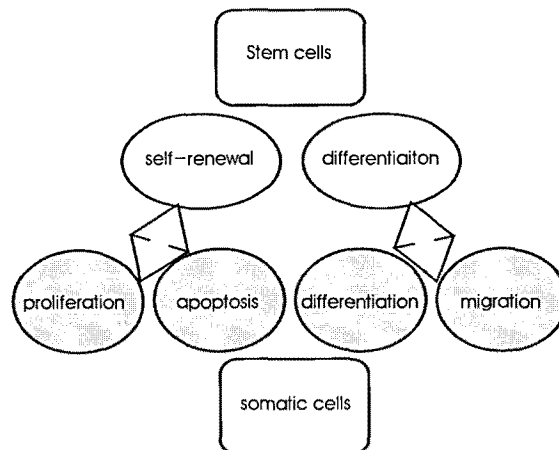


그림 1. 줄기세포 및 일반 세포의 특성과 각 특성간의 연관성  
Fig. 1. Correlations of characteristics between stem cells and somatic cells

있듯이 의공학은 공학적인 기본 개념과 기술을 의학 및 생명과학 분야에 적용하는 학문이며 특히 공학적인 디자인과 문제 해결의 기술들을 통하여 환자의 상태를 호전시키고, 개개인의 삶의 질을 향상시킨다는 기본 개념은 줄기세포연구가 궁극적으로는 환자에게 사용되는 신약의 스크리닝 및 손상된 장기 및 조직의 재건 및 복원이라는 개념에서 출발하기에 링크를 보이며 실제로도 몇몇 분야에서는 상당히 활발한 연구가 진행되고 있다. 의공학 연구분야와 줄기세포 연구분야의 연관성을 분석하는 다양한 시각이 있겠지만 본 리뷰에서는 위의 그림에 근거하여 줄기세포의 증식 및 사멸과 분화 및 이동을 각각 독립된 두개의 주제로 선정하여 의공학적 기술 분야가 줄기세포에 어떻게 이용되어져 왔으며, 향후 어떤 방향으로 이용가능한지 고찰하고자 한다.

#### IV. 줄기세포의 증식 및 사멸

세포의 증식과 사멸은 의학뿐 아니라 생물학 분야에서 중요한 주제이며 특히 어떻게 세포가 성장하고 어떤 신호에 의해 사멸하는지를 연구하는 많은 기본적인 연구들이 진행되어 왔다. 의생물 과학에서의 성장 사멸의 기본 개념은 외부의 신호에 기인한다고 알려져왔으며 특히 외부 신호중 성장인자 혹은 cytokine들을 in vitro에서 성장하는 세포에 적용하여 그 효과를 보는 방법이 일반적으로 그리고 현재까지 알려진 방법이다. 줄기세포의 증식과 성장 그리고 사멸은 세포 치료연구에서 중요한 주제이다. 실제 현재 임상적으로 적용 가능한 줄기세포는 증식이 무한정 이루어지는 배아줄기세포가 아니라 성체 줄기세포임을 감안한다면 성체줄기세포의 특성을 변화시키지 않으며 증식을 배가시키는 방법은 성체줄기세포를 이용한 세포치료법의 가장 기본이 되는 세포의 숫자를 늘린다는 측면에서 중요한 역할을 할 것이다. 줄기세포를 증식하는 일반적인 방법은 세포 배양용 petri dish에 세포를 2차원으로 배양하며 증식 및 성장에 필요한 영양분이 들어있는 세포배양용 배지를 첨가한 후 배양하는 방법이다. 그러나 passage가 증가하면

줄기세포의 증식능은 감소하며 더욱 더 문제가 되는 것은 줄기세포의 분화능도 이에따라 감소하며 세포가 변형한다는데 있다. 따라서 세포의 증식능을 증대시키며 in vivo상태와 유사한 환경에서 증식시키는 방법은 의공학적 기술을 이용하여 일부 연구되어지고 있다.

대표적인 방법은 세포를 생장시키는 표면에 공학적인 기법을 사용하여 micro patterning을 하거나 nano patterning을 하여 세포의 생장 정도를 조절하는 것이다[21]. 특히, MEMS 기술을 이용한 표면 패터닝의 크기에 따라 일반 세포뿐 아니라 줄기세포의 증식률에 영향을 미친다는 연구는 줄기세포의 증식 및 성장을 조절하는 기술을 의공학분야에서 제공할 수 있음을 알 수 있다[22,23]. 또한 표면의 나노패턴의 경우도 세포의 부착뿐 아니라 증식에도 영향을 미치므로 표면의 topology에 따라서 세포의 증식이 조절 가능하다는 결과들이 보고되도 있을뿐만아니라, 세포의 분화도 조절 가능함을 알 수 있다[24,25].

두번째 방법은 세포의 증식을 전기자극을 통하여 조절하는 방법이다. 세포는 다양한 신호에 의해 반응하며 특히 임상결과에 의하면 전기적인 자극은 in vivo에서 세포의 증식을 돕는다는 보고들이 있으며, 이를 통하여 치료의 한 방법으로 사용하기도 한다. 이와 같은 맥락에서 줄기세포를 in vitro에서 배양할 때 전극이 삽입되어 있는 다양한 환경에서 줄기세포를 배양한 결과 세포의 증식이 관련이 있다는 연구결과가 발표되고 있다[26,27]. 조금 더 확장한다면 전기 자극뿐 아니라 다양한 외부적인 신호가 세포의 증식을 조절하는 인자로서 사용될 수 있으며 공학적으로 익숙한 다양한 신호들도 적용해 볼 가치가 있다고 생각할 수 있다.

세번째 방법은 줄기세포의 특성을 유지하면서 증식시키는 방법이다. 현재 대부분의 줄기세포의 증식은 2차원 배양 용기에서 이루어진다. 그렇지만, 세포가 증식하고 분화하는 in vivo 상황을 고려해 본다면 세포들은 주변환경과 3차원 혹은 최소한 가 3차원 환경에서 이루어지므로 세포의 특성을 유지하며 증식 배양하는 방법은 in vivo 환경과 유사한 3차원 배양법을 이용할 때 가장 효율이

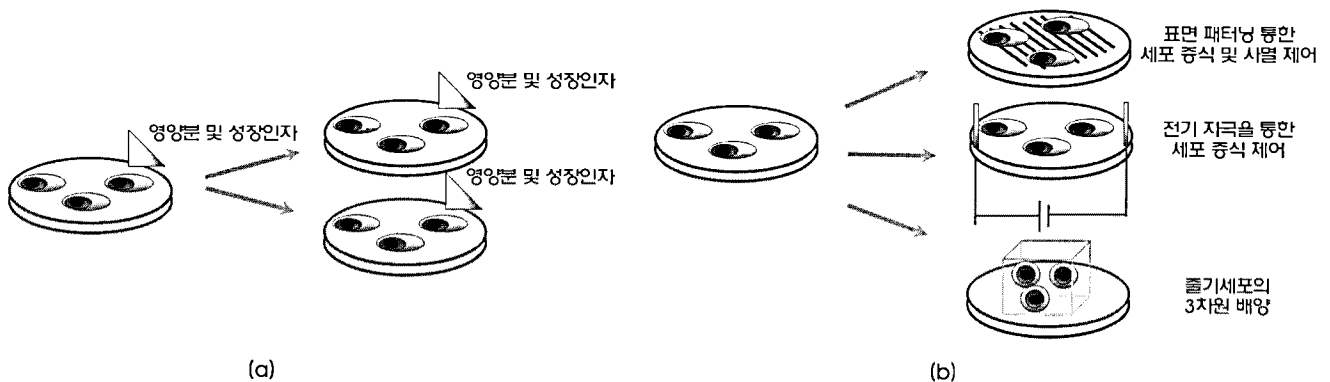


그림 2. 의공학적 기법을 통한 세포의 증식과 사멸 제어 방법 (a) 고전적인 세포 증식 기술. (b) 의공학적 기술이 융합된 세포 증식 및 사멸 제어 기술  
 Fig. 2. Biomedical technologies controlling cell proliferation and apoptosis (a)conventional cell proliferation methodology (b) Fusion technologies for controlling cell proliferation and apoptosis

높다고 할 것이다. 현재 세포를 3차원으로 배양하는 방법은 의공학분야의 한 기술인 생체재료분야에서 활발하게 이루어지고 있다 [28]. 특히, 최근에 각광을 받고 있는 3차원 지지체중 수화젤은 생체내 환경과 유사한 환경을 손쉽게 구현하여 세포를 다양한 3차원 환경에서 배양하는 것이 가능하며, 이를 통하여 세포를 증식시키고 세포의 특성을 유지할 수 있다[29,30]. 이의 대표적인 예가 연골세포의 배양으로 연골세포는 체내에서 분리하여 2차원으로 배양할 경우 원래의 특성을 잃고 dedifferentiation이 일어난다. 차후 3차원 배양을 할 경우 원래 특성으로 돌아가지만, 초반부터 3차원 환경에서 증식 배양한 후에 분화시키는 것이 효율적이라 보고들이 있어왔다[31]. 따라서, 줄기세포도 마찬가지로 3차원 배양 시스템을 활용한 줄기세포의 증식은 의공학의 기술과 접목시킬 수 있는 좋은 분야이며 미래의 다양한 3차원 배양시스템의 자동화 및 신호 주입방법들은 공학적 시스템 구축기술이 적용될 수 있는 무한한 가능성을 가진 분야이다[32].

### V. 줄기세포의 분화 및 이동

줄기세포의 분화는 세포치료 뿐 아니라 기초 의생명과학에서 가장 중요한 이슈중의 하나이다. 특히 성체줄기세포뿐 아니라 배아 줄기세포의 이동 및 분화는 생명체가 어떻게 생성되며 어떻게 발생이 이루어지는지 알 수 있는 기초 지식을 제공하므로 많은 연구진들에 의해서 다양한 연구가 진행되어 왔다. 현재 의생명과학에서 일반적으로 분화를 위해 특정 인자를 처리하는 방법은 위에서 언급한 바와 같이 2차원 배양방법에 기초하고 있다. 세포를 배양 용기에 넣고 여기에 특정한 성장인자 혼합물을 추가하며, 필요에 따라 시간에 따라 성장인자 혼합물의 조성을 바꾸어 가며 세포의 증식을 유도한다. *in vivo*에서 성장인자가 전달되는 방법을 고려한다면 아직도 공학적인 기술이 접목될 여지가 많은 기술이다. 우선 *in vivo*에서 세포의 분화 혹은 이동을 위하여 성장인자가 전달

되는 방법은 공간과 시간의 제어이다. 특정 위치에 특정 성장인자가 원하는 기간 동안 발현되고 전달되며 이를 통해 세포들은 기능성 조직으로 발달하게 된다.

최근에 공학적인 기술의 접목을 통하여 공간과 시간을 통한 성장인자의 농도구배를 실현하는 방법들이 제시되었다[33]. 특히 성장인자의 공간적인 배열에 따른 농도구배는 MEMS기술을 이용한 microfluidics 기술과의 접목에서 활발하게 이루어지고 있다. microfluidic chip을 통하여 하나 혹은 그 이상의 성장인자의 농도구배를 구현하는 것이 가능하며, 이를 통하여 특정 세포로 분화하는데 필요한 최적 조건을 찾으려는 시도들이 행해지고 있다[34]. 또한 세포내 수준인 sub cellular 농도구배도 기술의 정밀성에 의해 구현 가능하므로 특정한 성장인자의 농도에 따른 하나의 세포 내에서의 반응도 관찰하는 것이 가능하게 되었다. 동일한 기술을 사용하여 세포의 이동도 또한 모니터링하는 것이 가능하다[35]. 농도구배가 구현된 미세유체칩에서 세포를 넣고 세포의 이동 및 반응을 모니터링 하는 것을 손쉽게 구현할 수 있게 되었으며, 이를 통하여 세포의 이동에 필요한 중요한 물질이 무엇인지 손쉽게 모니터링하게 되었다[36,37].

두번째 방법은 시간에 따른 성장인자의 주입으로 현재 성장인자는 특정 농도에 맞춰서 한번에 배지에 첨가되며 이후 얼마간의 시간이 지나면 다시 새로운 배지로 갈아주는 방식을 취하고 있다. 그러나, 생체 내에서는 끊임없이 미세량의 성장인자가 발현되고 특정 위치에 전달되므로 이를 구현하기 위하여 배양하는 줄기세포에 성장인자를 전달하는 방법도 소량으로 끊임없이 전달하는 방법도 필요하다. 이 기술은 미세작동 펌프에 의해 손쉽게 구현 가능하며, 세포 배양 배지에 하나 혹은 그 이상의 미세량의 성장인자를 시간에 따라서 다르게 전달함으로써 *in vivo* 상황과 유사하게 특정 성장인자의 농도를 특정시간에 맞출 수 있음을 알 수 있다.

세번째 방법은 앞에서 언급한 바와 같이 분화를 위한 3차원 배양 환경의 적용이다. 실제 세포들은 세포의 기질사이에 싸여있으며

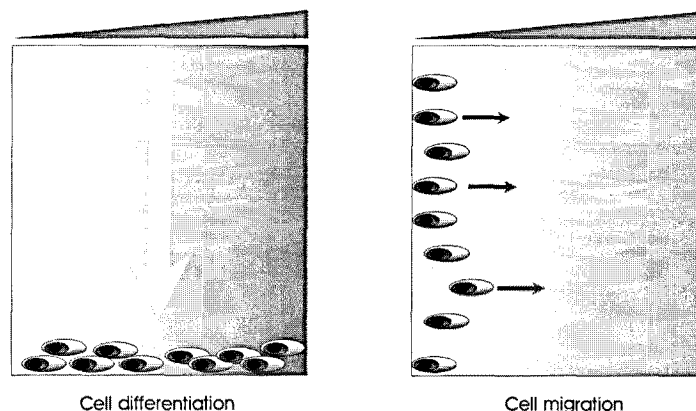


그림 3. 미세유체칩 기술을 이용한 농도구배 구현과 이를 이용한 줄기세포의 분화 및 이동 연구  
 Fig. 3. Concentration gradients using microfluidic chips and its application to stem cell differentiation and migration

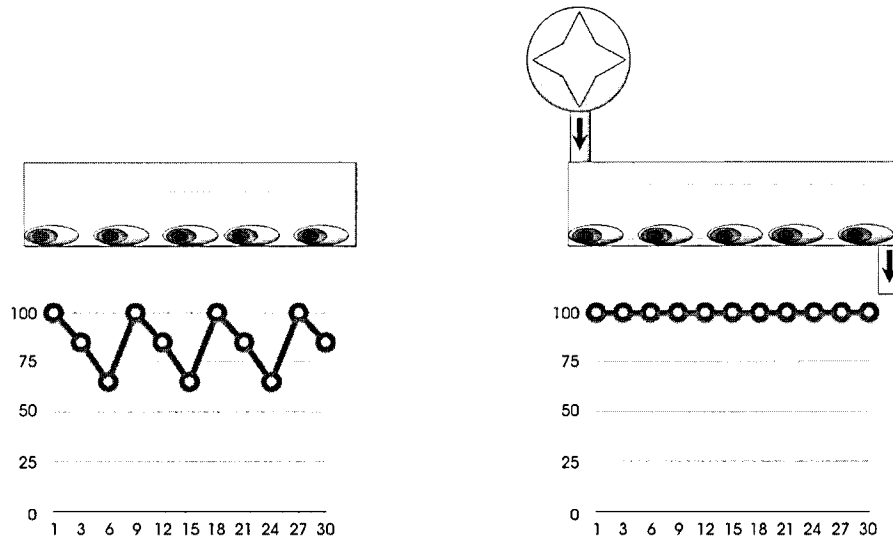


그림 4. 기존 성장인자 주입 방법과 마이크로 펌프 기술 기반의 성장인자 주입방법 비교 좌측: 간헐적인 성장인자 주입에 의한 농도 변화, 우측: 펌프 기술을 이용한 성장인자 농도 조절에

Fig. 4. Comparison of growth factor treatment methodology between conventional and micro pump based technologies

여기에서 분비 혹은 전달되는 성장인자를 통해 분화 및 이동 신호를 받는다. 그러므로 조직과 유사한 환경에서 분화시키는 기술이 필요하며 이를 통한 분화의 효율 및 특성 분석 또한 중요한 요인중의 하나이다[30]. 3차원 배양 가능한 수화젤은 위의 조건을 구현하는데 이상적인 지지체로 수화젤의 성분을 조절함으로써 특정 성장인자를 전달할 수 있으며, 세포의 분화를 촉진시키는 펩타이드와 같은 다양한 생활성 물질들을 제공하는 미세환경을 만들 수 있다 [38,39]. 특히 흥미로운 점은 세포가 배양되는 3차원 환경에서 세포에 의해 리모델링이 가능한 정도에 따라 세포의 분화 정도도 달라진다는 결과를 고찰해보면 3차원 배양의 중요성은 매우 크다고

할 것이다. 또한 성체 줄기세포 뿐 아니라 배아줄기세포의 경우 증식을 위해서는 3차원의 embryonic body(EB)의 생성이 필수적인데 EB의 생성에서 세포와 세포간의 반응을 어떻게 억제하고 제어하는가에 따라 특정세포로의 분화 효율이 조절될 수 있다. 따라서 3차원 지지체를 이용한 EB의 형성 및 이를 통한 분화의 조절은 배아줄기세포 연구에서도 중요한 이슈중의 하나라고 할 것이다.

## VI. 결론

지금까지 줄기세포 연구에 있어서 중요 키가 되는 세포의 증식

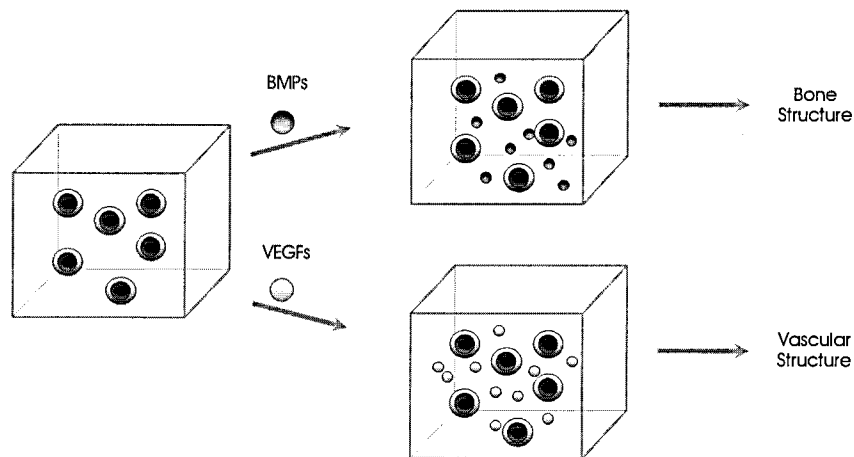


그림 5. 서로 다른 성장인자가 포함된 삼차원 지지체에서 배양을 통한 줄기세포의 분화 조절  
Fig. 5. Guiding stem cell differentiation in three dimensional scaffolds with various growth factors

과 사멸, 그리고 분화와 이동에 관하여 어떻게 의공학적인 연구가 적용될 수 있는지 알아보았다. 줄기세포 연구는 질환으로 고통받는 환자를 위한 임상적용에 기반을 둔 매우 중요한 연구임에 틀림 없으며, 이를 통하여 다양한 치료법이 개발 될 수 있다. 그러나, 현재까지 줄기세포만을 이용한 치료법의 결과가 임상에서는 유의적으로 개선된 보고들이 많지 않다. 따라서 줄기세포의 증식, 사멸, 분화, 이동 등 세포의 활성에 관한 기본적인 고찰들이 다시한번 요구되고 있으며, 이를 통하여 줄기세포를 원하는 방향으로 제어하는 것이 가능할 때 줄기세포를 이용한 세포치료 혹은 재생의학은 현재 당면한 한계점을 넘어설 수 있을 것이다. 의공학 기술은 고전적인 방법부터 현대의 선도적인 기술까지 다양하게 적용되어져 왔으며 특히 미세제어 기술과 신호 및 영상처리 기술들은 현대 의학의 발달을 선두해온 중요한 기술 중의 하나였다.

줄기세포를 이용한 조직재생 및 재생의학 분야의 최종 목표중의 하나는 손상된 장기를 복원하고 기능을 회복하여 환자의 삶의 질을 향상시키는 것이다. 현재는 단순히 줄기세포만을 체내에 주입하지만, 체내의 손상된 조직의 환경은 줄기세포가 증식하고 분화하여 특정한 장기의 기능을 복원할 정도로 세포에 우호적인 환경은 아니다. 따라서, 세포의 분화 능력, 증식 능력 및 생존 능력을 증대시키는 방법은 의공학 기술을 기반으로 하여 줄기세포 연구에의 적용되고, 이 기술들의 적재 적소의 사용은 현재 한계에 당면하거나 기술적인 문제로 해결하지 못하고 있는 줄기세포 연구의 새로운 탈출구가 될 것이라 생각된다.

DNA를 기반으로 한 hybridization 기술과 반도체 기술이 만나 Biochip의 거대한 산업군이 이루어졌듯이 세포를 기반으로 한 재생의학 혹은 조직공학 기술과 의공학의 기술과 융합됨으로써 in vivo에서 조직의 재생뿐 아니라 in vitro에서 장기를 만드는 꿈의 기술의 개발도 멀지 않아 이루어질 것이라 생각된다.

## 참고문헌

- [1] Krupnick, A.S., Shaaban, A., Radu, A. & Flake, A.W. Bone marrow tissue engineering. *Tissue Eng* 8, 145-155 (2002).
- [2] Fuchs, E. & Segre, J.A. Stem cells: a new lease on life. *Cell* 100, 143-155. (2000).
- [3] Ahsan, T. & Nerem, R.M. Bioengineered tissues: the science, the technology, and the industry. *Orthod Craniofac Res* 8, 134-140 (2005).
- [4] Gurtner, G.C., Callaghan, M.J. & Longaker, M.T. Progress and potential for regenerative medicine. *Annu Rev Med* 58, 299-312 (2007).
- [5] Minguell, J.J., Erices, A. & Conget, P. Mesenchymal stem cells. *Exp Biol Med (Maywood)* 226, 507-520 (2001).
- [6] Cancedda, R., Bianchi, G., Derubeis, A. & Quarto, R. Cell therapy for bone disease: a review of current status. *Stem Cells* 21, 610-619 (2003).
- [7] Bjornson, C.R., Rietze, R.L., Reynolds, B.A., Magli, M.C. & Vescovi, A.L. Turning brain into blood: a hematopoietic fate adopted by adult neural stem cells in vivo. *Science* 283, 534-537 (1999).
- [8] Petersen, B.E., et al. Bone marrow as a potential source of hepatic oval cells. *Science* 284, 1168-1170 (1999).
- [9] Camargo, F.D., Green, R., Capetenaki, Y., Jackson, K.A. & Goodell, M.A. Single hematopoietic stem cells generate skeletal muscle through myeloid intermediates. *Nat Med* 9, 1520-1527 (2003).
- [10] Joshi, C.V. & Enver, T. Plasticity revisited. *Curr Opin Cell Biol* 14, 749-755 (2002).
- [11] Frisen, J. Stem cell plasticity? *Neuron* 35, 415-418 (2002).
- [12] Wang, X., et al. Cell fusion is the principal source of bone-marrow-derived hepatocytes. *Nature* 422, 897-901 (2003).
- [13] Forrester, J.S., Price, M.J. & Makkar, R.R. Stem cell repair of infarcted myocardium: an overview for clinicians. *Circulation* 108, 1139-1145 (2003).
- [14] Reinecke, H., Minami, E., Poppa, V. & Murry, C.E. Evidence for fusion between cardiac and skeletal muscle cells. *Circ Res* 94, e56-60 (2004).
- [15] Wagers, A.J., Sherwood, R.I., Christensen, J.L. & Weissman, I.L. Little evidence for developmental plasticity of adult hematopoietic stem cells. *Science* 297, 2256-2259 (2002).
- [16] Krause, D.S., et al. Multi-organ, multi-lineage engraftment by a single bone marrow-derived stem cell. *Cell* 105, 369-377 (2001).
- [17] Herzog, E.L., Chai, L. & Krause, D.S. Plasticity of marrow-derived stem cells. *Blood* 102, 3483-3493 (2003).
- [18] Verfaillie, C.M., Pera, M.F. & Lansdorp, P.M. Stem cells: hype and reality. *Hematology (Am Soc Hematol Educ Program)*, 369-391 (2002).
- [19] Krause, D.S. Plasticity of marrow-derived stem cells. *Gene Ther* 9, 754-758 (2002).
- [20] Hubbell, J.A. Materials as morphogenetic guides in tissue engineering. *Curr Opin Biotechnol* 14, 551-558 (2003).
- [21] Zhang, H., Huttmacher, D.W., Chollet, F., Poo, A.N. & Burdet, E. Microrobotics and MEMS-based fabrication techniques for scaffold-based tissue engineering. *Macromol Biosci* 5, 477-489 (2005).
- [22] Wang, N., Ostuni, E., Whitesides, G.M. & Ingber, D.E. Micropatterning tractional forces in living cells. *Cell Motil Cytoskeleton* 52, 97-106 (2002).
- [23] McBeath, R., Pirone, D.M., Nelson, C.M., Bhadriraju, K. & Chen, C.S. Cell shape, cytoskeletal tension, and RhoA regulate stem cell lineage commitment. *Dev Cell* 6, 483-495 (2004).
- [24] Dalby, M.J., Hart, A. & Yarwood, S.J. The effect of the RACK1 signalling protein on the regulation of cell adhesion and cell contact guidance on nanometric grooves. *Biomaterials* 29, 282-289 (2008).
- [25] Mironov, V., Kasyanov, V. & Markwald, R.R. Nanotechnology in vascular tissue engineering: from nanoscaffolding towards rapid vessel biofabrication. *Trends Biotechnol* 26, 338-344 (2008).
- [26] Xia, Y., et al. Electrical stimulation of neonatal cardiac myocytes activates the NFAT3 and GATA4 pathways and up-regulates the adenylosuccinate synthetase 1 gene. *J Biol Chem* 275, 1855-1863 (2000).

- [27] Supronowicz, P.R., et al. Novel current-conducting composite substrates for exposing osteoblasts to alternating current stimulation. *J Biomed Mater Res* 59, 499-506 (2002).
- [28] Hoffman, A.S. Hydrogels for biomedical applications. *Adv Drug Deliv Rev* 54, 3-12 (2002).
- [29] Miyata, T., Uragami, T. & Nakamae, K. Biomolecule-sensitive hydrogels. *Adv Drug Deliv Rev* 54, 79-98 (2002).
- [30] Fedorovich, N.E., et al. Hydrogels as extracellular matrices for skeletal tissue engineering: state-of-the-art and novel application in organ printing. *Tissue Eng* 13, 1905-1925 (2007).
- [31] Schnabel, M., et al. Dedifferentiation-associated changes in morphology and gene expression in primary human articular chondrocytes in cell culture. *Osteoarthritis Cartilage* 10, 62-70. (2002).
- [32] Marga, F., Neagu, A., Kosztin, I. & Forgacs, G. Developmental biology and tissue engineering. *Birth Defects Res C Embryo Today* 81, 320-328 (2007).
- [33] Beebe, D.J., et al. Functional hydrogel structures for autonomous flow control inside microfluidic channels. *Nature* 404, 588-590 (2000).
- [34] Chung, B.G., et al. Human neural stem cell growth and differentiation in a gradient-generating microfluidic device. *Lab Chip* 5, 401-406 (2005).
- [35] Takayama, S., et al. Selective chemical treatment of cellular microdomains using multiple laminar streams. *Chem Biol* 10, 123-130 (2003).
- [36] Li Jeon, N., et al. Neutrophil chemotaxis in linear and complex gradients of interleukin-8 formed in a microfabricated device. *Nat Biotechnol* 20, 826-830 (2002).
- [37] Lee, S.H., Moon, J.J. & West, J.L. Three-dimensional micropatterning of bioactive hydrogels via two-photon laser scanning photolithography for guided 3D cell migration. *Biomaterials* 29, 2962-2968 (2008).
- [38] Kim, M.S., et al. Hyaluronic acid induces osteopontin via the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway to enhance the motility of human glioma cells. *Cancer Res* 65, 686-691 (2005).
- [39] Kim, J., et al. Bone regeneration using hyaluronic acid-based hydrogel with bone morphogenic protein-2 and human mesenchymal stem cells. *Biomaterials* (2007).