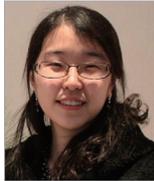


# 반려동물 임상에 있어서 줄기세포 치료제 활용

**고 예 린**

서울대학교 수의과대학  
수의내과 수의사  
blueinn1@snu.ac.kr



**윤 화 영**

서울대학교 수의과대학  
동물병원 내과교수  
hyyour@snu.ac.kr



**채 준 석**

서울대학교 수의과대학  
동물병원 내과교수  
jschae@snu.ac.kr



## 서론

최근 줄기세포에 대한 연구가 활발하게 이루어지고 있으며, 임상적인 적용의 폭이 넓어지고 있다. 그 일환으로 줄기세포를 이용한 임상적 치료에 대한 이해는 메스미디어의 역할에 의하여 홍보가 되고 있으며, 사람과 동물에서 줄기세포를 이용한 수많은 연구들이 진행되고 임상적인 적용이 활발하게 이루어지고 있다. 국내의 경우 몇 가지 줄기세포 치료제가 식약청의 허가를 받은 바 있다.

현재 알려져 있는 줄기세포의 경우 그 유래에 따라 크게 3가지로 분류할 수 있는데 첫째, 배아에서 유래한 배아줄기세포와 둘째, 성체에서 유래한 성체줄기세포, 그리고 셋째, 일반 성체세포에서 Yamanaka factor라고 하는 4가지 유전자를 삽입하여 다능성(pluripotent)의 성질을 유도한 induced pluripotent stem cells(IPS cell)이 있다.

줄기세포의 분화가능성에 따라서도 분류할 수 있는데 모든 세포로 분화할 수 있어 자궁에 착상시키면 개체로 성장하기에 충분한 능력을 가지는 분화능을 가진 줄기세포를 전능성(totipotent) 줄기세포라고 표현한다. 또한 다능성(pluripotent) 줄기세포는 수정란보다 발생이 더 진행된 상태로 3개의 염으로 분화가 가능하며 여기에는 배아의 inner cell mass에서 유래한 배아줄기세포와 IPS cell이 속한다. 중복성(multipotent) 줄기세포의 경우 발생이 더 진행된 후의 줄기세포로 특정한 계통의 세포로 분화하도록 결정된 세포로 중간엽줄기세포가 여기에 속하게 된다.

배아줄기세포의 경우 분화능이 좋으며 3개의 염 유래의 대부분의 기관으로 분화가 가능하다는 장점이 있지만 윤리적인 문제와 기형종(teratoma) 발생의 문제가 있다. IPS cell의 경우 배아를 사용한 것이 아니기 때문에 윤리적인 문제에 있어서는 자유로우나 이 역시 기형종(teratoma) 발생의 가능성이

있을 수 있다.

이번에 소개하고자 하는 성체줄기세포인 중간엽줄기세포의 경우 배아줄기세포의 문제점인 윤리적인 문제가 없으며, 기형종 형성의 위험성도 거의 없고, 배아줄기세포에 비해 분화 가능한 조직종류에는 한계가 있으나 일정 환경 하에서 특정한 세포 계열로 분화가 가능하며 최근에는 지방유래 줄기세포가 내배엽 계열의 간세포, 외배엽 계열의 신경세포로 전환분화(transdifferentiation)될 수 있다는 연구 결과가 나온 바 있다[1, 2]

사람에서는 현재 여러 줄기세포 치료제가 식약청 또는 FDA 허가가 난 지금 수의분야, 특히 반려동물중의 국내에서 많은 부분을 차지하고 있는 개의 경우는 어떠한지, 줄기세포 치료가 수의학 분야에서 실제로 적용되고 있으며, 앞으로 계속 발전해 나갈 것으로 기대하고 있다.

## 1. 개 중간엽 줄기세포의 확립

개의 중간엽줄기세포의 확립에 관련하여 출판된 SCI급 논문들을 살펴보면 1997년도에 처음으로 개의 골수를 채취하여 얻은 중간엽줄기세포가 osteochondrogenic potential을 가지고 있다는 것을 증명하였다[3]. 개에서의 배아줄기세포는 이 보다 늦었으며, 2006년도에 개의 blastocyst에서 embryonic stem-like cell을 얻어 동정되었다[4]. 2009년도에는 배아의 여러 부분에서 개 배아줄기세포(canine embryonic stem cell)을 분리하여 특성화하였으며[5,6] 지방유래 중간엽줄기세포는 개에서 2008년에 분리, 동정되었다[7]. 또한 2006년도 Yamanaka 팀이 마우스의 섬유아세포에서 IPS cell을 만들어낸 것처럼[8] 최근에 개에서도 IPS cell을 만들어 확립하기 시작하였다[9].

표 1. 개 줄기세포의 분리 및 확립 현황

연도	세포 형태	세포 기원	참고문헌
1997	Mesenchymal stem cell	Bone marrow	[3]
2005	Mesenchymal stem cell	Bone marrow	[10]
2006	Embryonic stem-like cell	Blastocysts	[4]
2008	Mesenchymal stem cell	Adipose tissue	[7]
	Mesenchymal stem cell	Fetal blood (umbilical cord blood)	[11]
2009	Embryonic stem cell	Embryo	[5]
	Embryonic stem cell	Embryo	[6]
2010	Mesenchymal stem cell	Adipose tissue	[12]
2011	Induced pluripotent stem cells	Fibroblast	[9]
	Mesenchymal stem cell	Fetal adnexa	[13]
2012	LIF-dependent induced pluripotent stem cells	Dermal fibroblast	[14]

## 2. 줄기세포의 현 수의 임상에서의 해외 적용사례

실제로 개 줄기세포는 미국, 호주 등에서 치료에 적용되고 있다. 미국의 경우 Vet-Stem® Regenerative Veterinary Medicine®에서 개와 고양이에서 줄기세포를 적용하고 있는데, 이곳은 2002년도에 건립되었고 미국에서 첫 번째로 지방유래 줄기세포를 동물 환자를 위해 제공하였다. 2004년도에 말의 힘줄 재생치료에 첫 적용을 하였으며, 2007년도까지 2,000마리의 말의 치료에 줄기세포를 적용하였다. 개에 줄기세포를 적용한 것은 2005년도부터이며, 말의 치료 case의 성공을 바탕으로 개의 osteoarthritis와 orthopedic soft tissue injury의 치료를 위해 줄기세포를 제공하였다. 2011년도 1월까지 3,000마리 정도의 개와 고양이에 적용하였다고 한다. 적용결과 osteoarthritis 환자에서의 삶의 질이 개선되었으며, 통증을 관리하기 위한 진통제의 사용이 감소되었다는 결과를 보여주고 있다(<http://vet-stem.com>). 또 다른 회사인 MediVet America의 경우에도 줄기세포를 관절염 환자에게 적용하고 있으며 적용결과들을 MediVet America 웹사이트 ([www.medivet-america.com](http://www.medivet-america.com))에 공개하고 있다. 호주에서 줄기세포를 반려동물에게 적용하고 있는 곳은 Australian Veterinary Stem cells Pty Ltd(AVSC)라고 하는 곳이다 ([www.australianstemcells.com.au](http://www.australianstemcells.com.au)). 이곳 역시 개, 고양이, 말에서의 정형 족 질병에 대한 줄기세포 적용이 주를 이루고 있다.

## 3. 줄기세포의 적용 예

출판된 논문의 년도를 분석하여보면 역시 개에서의 줄기세포의 적용은 전임상 실험으로서의 경우가 대부분이어서 초기 줄기세포 연구 시에는 많이 이루어지지 않기 때문인지 2000년대 초반에는 거의 출판되지 않았으며, 2010년부터 급격하게 증가한 추세이다(그림 1).

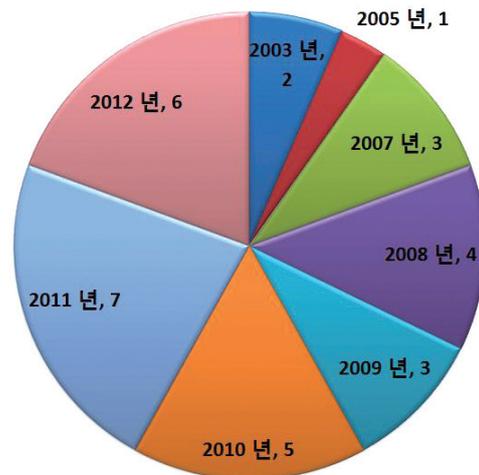


그림 1. 개에 있어서 줄기세포 적용 연도별 논문발표수

개에 적용된 중간엽줄기세포의 유래에는 대부분이 골수유래이며, 지방유래 그리고 제대혈유래줄기세포 순으로 개에 적용되었다. 또한 줄기세포의 적용 예를 SCI급의 출판된 논문을 기준으로 질병 모델 동물 및 질병 별로 분석해 보면 정형외과관련 질병이 가장 많음을 알 수 있다(그림 2).

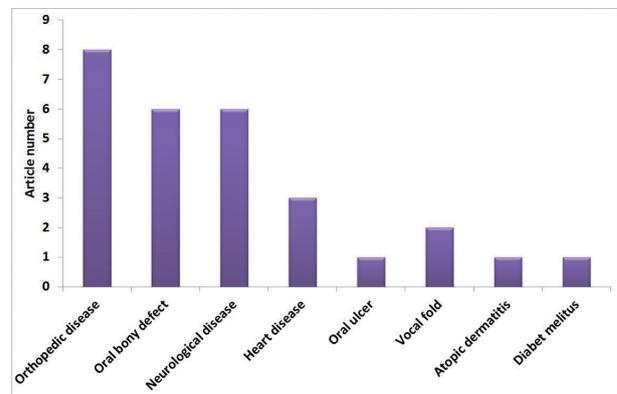


그림 2. 줄기세포의 적용 예를 SCI급 논문 기준으로 모델 동물 및 질병 별로 분석

### 1) 정형외과 질환

뼈조직 결손부위에 줄기세포를 적용하는 것은 실제로도 임상에서 중요한 역할을 차지할 수 있다. 그 이유는 골절의 치유 촉진도 중요하며, 골절 시 골절 치유가 지연되는 경우도 존재하기 때문이다. 이에 관련하여 실험견의 뼈 결손부에 줄기세포를 적용한 논문에서 모두 줄기세포가 대조군에 비하여 효과가 있었다는 결과를 도출한 연구결과가 보고되었다[15, 16].

인공적으로 연골손상을 일으킨 경우에 있어서도 효과가 있다는 결과가 있으며[17], 실제로 만성 골관절염(chronic osteoarthritis) 환자 개에게 줄기세포를 적용한 결과 임상증상과 삶의 질이 개선되었으며, 진통제의 사용이 감소하였다는 연구 결과도 있다[18, 19]. 또한 만성 골관절염을 앓고 있는 환자 개에게 자가지방줄기세포를 투여한 또 다른 논문도 최근 출판되었으며, 이 논문에서는 손상이 심해지기 전에 줄기세포를 투여하는 것이 파행의 치료에 특히 중요할 것이라고 주장하고 있다[20].

실험견의 골연골 결손(osteochondral defect) 부위에 골수유래줄기세포를 포함시킨 지지체(scaffold)를 적용 시 좋은 재생 반응을 보였으며[21], VEGF(vascular endothelial growth factor) 유전자를 삽입한 골수유래 줄기세포를 대퇴골두 괴사를 유도한 실험견에 적용 시 유전자를 조작하지 않은 줄기세포보다 좋은 효과를 보였음을 증명한 연구 결과도 보고되었다[22].

### 2) 신경계 질병

동물에서도 사람과 마찬가지로 디스크질환이 존재하며 갑자기 주저앉아 병원에 방문한 환견들에서 척추디스크탈출증이 진단되는 경우가 있다. 이에 줄기세포를 적용하여 disc degeneration의 변화가 어떻게 되는지를 실험 견에서 확인해 보았을 때 부분적으로 degeneration을 감소시키는 결과가 확인되었고[23], 적용하는 세포에 따라서 효과에 차이가 있다는 결과[24]가 보고되었다.

신경재생에 있어서 실험견의 좌골신경(sciatic nerve)에 gap을 만들어낸 뒤 신경 재생을 위해 자가 골수유래 줄기세포를 함유한 지지체를 제작하여 이식 시에 줄기세포가 포함된 지지체가 줄기세포가 없는 지지체 보다 신경재생에 있어 더 효과적이라는 결과도 보고되었다[25].

척수 손상에 있어서 제대혈유래줄기세포가 효과가 있고 [26], 또한 골수 유래 중간엽 줄기세포에서 자가, 타가 줄기

세포 모두 재생에 효과가 있음이 실험적으로 입증되어 있다 [27]. 이는 개의 척수손상에 있어서 줄기세포 치료제가 나올 수 있는 가능성을 보여주는 한 예라 할 수 있을 것이다. 또한 최근에 발표된 논문으로 개에서 척수손상을 치료하기 위해 matrigel과 신경유도 지방유래줄기세포(neural induced adipose-derived mesenchymal stem cell)를 병용 시 효과가 있음을 입증한 결과도 보고되었다[28].

### 3) 심장 질환

개의 심근경색 동물모델에서 줄기세포의 적용 시 효과가 있다는 연구결과로서 개 만성심근허혈 모델(canine chronic ischemia model)에서 중간엽줄기세포의 적용 시, 대조군에 비해 박출계수(ejection fraction: EF)가 높아진 것이 확인되었다[29].

손상된 심근의 치료를 위해 중간엽줄기세포에 미리 cardiomyogenic growth factors를 처리하여 관상동맥을 묶어 허혈을 유발한 실험견의 심근에 직접 주사 시 개선의 효과가 보였다[30]. 또한 실험견에서의 중간엽줄기세포의 투여경로에 따른 효과를 비교한 논문에서 관상동맥의 주입보다 심내막 주입(transendocardial delivery)의 경우 더 많은 세포가 허혈심근부위에 모였고 더 나은 기능적 개선을 보였다는 결과를 나타내었다 [31].

### 4) 당뇨병

당뇨를 유발시킨 실험견 모델에 사람의 인슐린과 EGFP를 삽입시킨 골수유래 줄기세포를 간에 이식하였을 때 16주까지 인슐린을 발현시켜 어느 정도 효과가 있었다는 연구결과가 보고되었다[32].

### 5) 기타

그 이외에도 구강 쪽의 치조골 결손(alveolar bony defect)이나 치주결손(periodontal defect)에 다양한 조직 유래의 중간엽 줄기세포를 적용하여 효과를 확인하는 논문들이 있으며[33-36], formocrezol을 이용하여 실험견에 구강궤양을 유발한 후 골수유래 줄기세포를 궤양 주변부에 투여하여 구강 궤양 치료를 가속화시킨 연구결과가 보고되었다[37]. 성대손상 개 동물모델에도 중간엽유래줄기세포와 scaffold를 같이 적용하여 재생효과를 증진시킨 논문 결과

도 존재한다[38, 39].

또한 안면, 치아 쪽의 뼈 결손에도 효과가 있음을 보여주는 연구결과도 있었다[40, 41].

하지만 이 모든 적용 결과가 아주 긍정적인 결과를 보인 것이 아니다. 지방유래 줄기세포의 면역 조절 기능을 염두에 두고 아토피성 피부염이 있는 개에 적용한 pilot study를 보면 임상증상의 개선에 큰 영향이 없다는 논문결과도 있다[42]. 치료효과는 적지만 이처럼 줄기세포의 면역 조절에 관련된 능력도 현재 줄기세포를 이용한 치료의 한 부분으로 이용될 수는 있다. 하지만 현재 줄기세포의 치료가 손상된 세포를 재생시킨다는 것이 제1 컨셉이라 생각되어 지고 있으며, 아직은 성체줄기세포가 분화될 수 있는 조직 종류의 한계와 효율성의 문제 등은 임상의 적용에 앞서서 해결되어야 할 과제로 생각된다.

## 결론

줄기세포를 다양한 질병에서 고등동물에 적용한다는 것은 아직은 사람의 전임상실험 격으로 이용되며, 반려동물의 치료목적으로 시행되는 경우는 드물고 아직 동물 환자에 대한 임상시험 및 치료에 대한 지침이 미흡한 것이 현재의 상황이다. 또한 마우스, 랫트에 비해 고등동물인 개의 줄기세포를 이용한 치료를 인의에서 임상적용을 위한 전단계로만 생각하는 경우가 있을 수 있다. 하지만 반려동물역시 하나의 가족으로서 의식이 확대되고 있는 지금 인의를 위한 전임상시험으로서 생각하는 것뿐만 아니라 적극적으로 반려동물들을 치료하기 위한 하나의 대안으로 자리잡기 위해서 의식의 변화와 함께, 더 효율적인 줄기세포 치료를 위한 더 많은 연구와 치료지침의 제정이 필요할 것으로 생각된다.☺

## 참고 문헌

1. Anghileri E, Marconi S et al. (2008). "Neuronal differentiation potential of human adipose-derived mesenchymal stem cells." *Stem Cells Dev* 17:909-916.
2. Banas A, Teratani T et al. (2007). "Adipose tissue-derived mesenchymal stem cells as a source of human hepatocytes." *Hepatology* 46:219-228.
3. Kadiyala, S., R. G. Young, et al. (1997). "Culture expanded canine mesenchymal stem cells possess osteochondrogenic potential in vivo and in vitro." *Cell Transplant* 6(2): 125-134.
4. Hayoya, S., R. Torii, et al. (2006). "Isolation and characterization of embryonic stem-like cells from canine blastocysts." *Mol Reprod Dev* 73(3): 298-305.
5. Wilcox, J. T., E. Semple, et al. (2009). "Characterization of canine embryonic stem cell lines derived from different niche microenvironments." *Stem Cells Dev*

- 18(8): 1167-1178.
6. Vaags, A. K., S. Rosic-Kablar, et al. (2009). "Derivation and characterization of canine embryonic stem cell lines with in vitro and in vivo differentiation potential." *Stem Cells* 27(2): 329-340.
7. Neupane, M., C. C. Chang, et al. (2008). "Isolation and characterization of canine adipose-derived mesenchymal stem cells." *Tissue Eng Part A* 14(6): 1007-1015.
8. Takahashi, K. and S. Yamanaka (2006). "Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors." *Cell* 126(4): 663-676.
9. Piedrahita, J. A., S. Koh, et al. (2011). "Generation and Characterisation of induced pluripotent stem cells (iPSCs) from adult fibroblasts." *Reprod Fertil Dev* 24(1): 285.
10. Volk, S. W., D. L. Diefenderfer, et al. (2005). "Effects of osteogenic inducers on cultures of canine mesenchymal stem cells." *Am J Vet Res* 66(10): 1729-1737.
11. Seo, M. S., Y. H. Jeong, et al. (2009). "Isolation and characterization of canine umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells." *J Vet Sci* 10(3): 181-187.
12. Vieira, N. M., V. Brandalise, et al. (2010). "Isolation, characterization, and differentiation potential of canine adipose-derived stem cells." *Cell Transplant* 19(3): 279-289.
13. Filoli Uranio, M., L. Valentini, et al. (2011). "Isolation, proliferation, cytogenetic, and molecular characterization and in vitro differentiation potency of canine stem cells from foetal adnexa: a comparative study of amniotic fluid, amnion, and umbilical cord matrix." *Mol Reprod Dev* 78(5): 361-373.
14. Whitworth, D. J., D. A. Ovchinnikov, et al. (2012). "Generation and Characterization of LIF-dependent Canine Induced Pluripotent Stem Cells from Adult Dermal Fibroblasts." *Stem Cells Dev*.
15. Arinzech, T. L., S. J. Peter, et al. (2003). "Allogeneic mesenchymal stem cells regenerate bone in a critical-sized canine segmental defect." *J Bone Joint Surg Am* 85-A(10): 1927-1935.
16. Jang, B. J., Y. E. Byeon, et al. (2008). "Implantation of canine umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells mixed with beta-tricalcium phosphate enhances osteogenesis in bone defect model dogs." *J Vet Sci* 9(4): 387-393.
17. Mokbel, A., O. El-Tookhy, et al. (2011). "Homing and efficacy of intra-articular injection of autologous mesenchymal stem cells in experimental chondral defects in dogs." *Clin Exp Rheumatol* 29(2): 275-284.
18. Black, L. L., J. Gaynor, et al. (2008). "Effect of intraarticular injection of autologous adipose-derived mesenchymal stem and regenerative cells on clinical signs of chronic osteoarthritis of the elbow joint in dogs." *Vet Ther* 9(3): 192-200.
19. Black, L. L., J. Gaynor, et al. (2007). "Effect of adipose-derived mesenchymal stem and regenerative cells on lameness in dogs with chronic osteoarthritis of the coxofemoral joints: a randomized, double-blinded, multicenter, controlled trial." *Vet Ther* 8(4): 272-284.
20. Guerio, A., P. Di Marco, et al. (2012). "Production of canine mesenchymal stem cells from adipose tissue and their application in dogs with chronic osteoarthritis of the humeroradial joints." *Cell Biol Int* 36(2): 189-194.
21. Yang, Q., J. Peng, et al. (2011). "Evaluation of an extracellular matrix-derived acellular biphasic scaffold/cell construct in the repair of a large articular high-load-bearing osteochondral defect in a canine model." *Chin Med J (Engl)* 124(23): 3930-3938.
22. Hang, D., Q. Wang, et al. (2012). "Treatment of Osteonecrosis of the Femoral Head with VEGF(165) Transgenic Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells in Mongrel Dogs." *Cells Tissues Organs* 195(6): 495-506.
23. Hiyama, A., J. Mochida, et al. (2008). "Transplantation of mesenchymal stem cells in a canine disc degeneration model." *J Orthop Res* 26(5): 589-600.
24. Serigano, K., D. Sakai, et al. (2010). "Effect of cell number on mesenchymal stem cell transplantation in a canine disc degeneration model." *J Orthop Res* 28(10): 1267-1275.
25. Ding, F., J. Wu, et al. (2010). "Use of tissue-engineered nerve grafts consisting of a chitosan/poly(lactic-co-glycolic acid)-based scaffold included with bone marrow mesenchymal cells for bridging 50-mm dog sciatic nerve gaps." *Tissue Eng Part A* 16(12): 3779-3790.
26. Lim, J. H., Y. E. Byeon, et al. (2007). "Transplantation of canine umbilical cord

- blood-derived mesenchymal stem cells in experimentally induced spinal cord injured dogs." *J Vet Sci* 8(3): 275–282.
27. Jung, D. I., J. Ha, et al. (2009). "A comparison of autologous and allogenic bone marrow-derived mesenchymal stem cell transplantation in canine spinal cord injury." *J Neurol Sci* 285(1–2): 67–77.
28. Park, S. S., Y. J. Lee, et al. (2012). "Functional recovery after spinal cord injury in dogs treated with a combination of Matrigel and neural-induced adipose-derived mesenchymal Stem cells." *Cytotherapy*.
29. Silva, G. V., S. Litovsky, et al. (2005). "Mesenchymal stem cells differentiate into an endothelial phenotype, enhance vascular density, and improve heart function in a canine chronic ischemia model." *Circulation* 111(2): 150–156.
30. Bartunek, J., J. D. Croissant, et al. (2007). "Pretreatment of adult bone marrow mesenchymal stem cells with cardiomyogenic growth factors and repair of the chronically infarcted myocardium." *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 292(2): H1095–1104.
31. Perin, E. C., G. V. Silva, et al. (2008). "Comparison of intracoronary and transendocardial delivery of allogeneic mesenchymal cells in a canine model of acute myocardial infarction." *J Mol Cell Cardiol* 44(3): 486–495.
32. Zhu, S., Y. Lu, et al. (2011). "Effects of intrahepatic bone-derived mesenchymal stem cells autotransplantation on the diabetic Beagle dogs." *J Surg Res* 168(2): 213–223.
33. Chung, V. H., A. Y. Chen, et al. (2011). "Mandibular alveolar bony defect repair using bone morphogenetic protein 2-expressing autologous mesenchymal stem cells." *J Craniofac Surg* 22(2): 450–454.
34. Li, H., F. Yan, et al. (2009). "Application of autologous cryopreserved bone marrow mesenchymal stem cells for periodontal regeneration in dogs." *Cells Tissues Organs* 190(2): 94–101.
35. Simsek, S. B., G. C. Keles, et al. (2012). "Comparison of mesenchymal stem cells and autogenous cortical bone graft in the treatment of class II furcation defects in dogs." *Clin Oral Investig* 16(1): 251–258.
36. Tsumanuma, Y., T. Iwata, et al. (2011). "Comparison of different tissue-derived stem cell sheets for periodontal regeneration in a canine 1-wall defect model." *Biomaterials* 32(25): 5819–5825.
37. El-Menoufy, H., L. A. Aly, et al. (2010). "The role of bone marrow-derived mesenchymal stem cells in treating formocresol induced oral ulcers in dogs." *J Oral Pathol Med* 39(4): 281–289.
38. Kanemaru, S., T. Nakamura, et al. (2003). "Regeneration of the vocal fold using autologous mesenchymal stem cells." *Ann Otol Rhinol Laryngol* 112(11): 915–920.
39. Ohno, S., S. Hirano, et al. (2011). "Implantation of an atelocollagen sponge with autologous bone marrow-derived mesenchymal stromal cells for treatment of vocal fold scarring in a canine model." *Ann Otol Rhinol Laryngol* 120(6): 401–408.
40. Yoshioka, M., K. Tanimoto, et al. (2012). "Bone regeneration in artificial jaw defect by use of carbonated hydroxyapatite particles and mesenchymal stem cells derived from iliac bone." *Int J Dent* 2012: 352510.
41. Vahabi, S., N. Amirzadeh, et al. (2012). "A comparison between the efficacy of Bio-Oss, hydroxyapatite tricalcium phosphate and combination of mesenchymal stem cells in inducing bone regeneration." *Chang Gung Med J* 35(1): 28–37.
42. Hall, M. N., W. S. Rosenkrantz, et al. (2010). "Evaluation of the potential use of adipose-derived mesenchymal stromal cells in the treatment of canine atopic dermatitis: a pilot study." *Vet Ther* 11(2): E1–E14.