

2007년 2월

석사학위논문

흰쥐 척수손상 부위에 텃줄혈액세포
이식 후 사이클로스포린 투여가
콩팥소체에 미치는 영향

조 선 대 학 교 대 학 원

의 학 과

설 경 수

흰쥐 척수손상 부위에 태줄혈액세포
이식 후 사이클로스포린 투여가
콩팥소체에 미치는 영향

*Effects of renal corpuscle on cyclosporine
administration after
transplantation human umbilical cord blood
cells(hUCBs) into the experimental spinal cord
injury of rats*

조 선 대 학 교 대 학 원

의 학 과

설 경 수

흰쥐 척수손상 부위에 텃줄혈액세포
이식 후 사이클로스포린 투여가
콩팥소체에 미치는 영향

지도교수 김 종 중

이 논문을 의학석사학위신청 논문으로 제출함.

2006년 11월 일

조선대학교 대학원

의 학 과

설 경 수

설경수의 석사학위논문을 인준함

위원장 조선대학교 교수 문정석 인

위원 조선대학교 교수 정윤영 인

위원 조선대학교 교수 김종중 인

2006년 11 월 일

조선대학교 대학원

목 차

ABSTRACT

1. 서 론	-----	1
2. 실험재료 및 방법	-----	4
3. 결 과	-----	7
4. 고 찰	-----	8
5. 결 론	-----	11
참고문헌	-----	12
Legends for Figures	-----	15

Abstract

Effects of renal corpuscle on cyclosporine administration after transplantation human umbilical cord blood cells(hUCBs) into the experimental spinal cord injury of rats

Seol, Kyeong-Soo

Advisor : Prof. Kim, Jong-Joong, Ph.D.

Department of Medicine

Graduate School of Chosun University

Stem cells are a valuable resource for treatment of the disease. but limited access to stem cells from tissues such as brain restricts their utility. This study was examined the *effects of renal corpuscle on cyclosporine administration after transplantation human umbilical cord blood cells(hUCBs) into the experimental spinal cord injury of rats.*

Thirty rats were divided into 3 groups: (1) SCI 2+hUCB (infused 2 day post injury); (2) SCI 4+hUCB (infused 4 days post injury); (3) SCI 6+hUCB (infused 6 days post injury). SCI was produced by compressing the spinal cord for one minute with an aneurysm clip calibrated to a closing pressure of 50 g.

We report here that immunohistochemical identification of hUCB positive cells in the *renal corpuscle* after compressed spinal cord using mouse anti-human mitochondria monoclonal antibody (MAB1273).

All SCI + hUCB(1~3) groups contained hUCB positive cells in the *renal*

corpuscle of the kidney. Especially, a large number of hUCB positive cells also were observed in the *renal corpuscle* experimental 3(SCI 3+hUCB)

These results suggest that hUCB are potentially useful as a vector for treating a variety of the organ disorders, and we are sure that continuous stem cell study will give an best opportunity to treat the all uncurable organs disorders in the future.

서 론

콩팥(신장, Kidney)은 생명유지에 필수적인 기관으로서 음식물 섭취 또는 대사에 의해 생성된 노폐물을 제거하며 체액의 양과 조성을 조절하며 체내의 물과 전해질의 평형을 유지하고 체액의 삼투 농도와 전해질의 농도 및 산-염기 균형과 혈압을 조절하며 호르몬 분비 대사 및 배설과 당 합성 등 매우 다양한 기능을 제공하며 내분비와 외분비 기능에 관여 하는 매우 중요한 장기이다.

현대 생활에 있어서 각종 사고나 충격, 식생활, 노화, 또는 알 수 없는 원인으로 인하여 콩팥의 일정 부위가 손상을 받게 되어 그 부위가 고유한 기능을 수행하지 못함에 따라 콩팥염, 콩팥결석, 콩팥결핵, 콩팥충혈, 요독증, 콩팥암종 등 매우 다양한 콩팥질환이 발병하게 된다(Sanchez-Ramos 등, 2001; Shin 등, 2004; Yong 등, 2005;).

콩팥소체(renal corpuscle)는 콩팥단위(nephron)의 주요 구성요소이며 토리주머니(glomerular capsule)와 토리(glomerulus)를 합쳐서 이루어지며 콩팥겉질에 분포하고 둥근 모양이며 소변을 생산하고 노폐물을 배설하는 콩팥의 중요 구성단위이다. 따라서 의과학자들은 콩팥소체의 구조 및 기능의 비밀을 밝혀내기 위하여 활발한 연구를 수행하고 있으며 콩팥질환으로부터 고통 받고 있는 환자들을 치료하기 위하여 콩팥발생과정을 비롯한, 콩팥이식, 콩팥세포배양방법을 포함한 줄기세포를 이용하기에 이르기까지 여러 측면에서 연구가 활발히 진행되고 있다(Chopp 등, 2000; Shin 등, 2004; Yong 등, 2005; Zeman 등, 2001). 또한 콩팥세포로 분화, 증식하고 새로운 콩팥조직을 형성할 수 있는 무한한 가능성과 잠재력을 가지고 있는 줄기세포(stem cell)에 대한 관심이 매우 높아지고 있다(Cario와 Wagner, 1997; Kuhar 등, 1973; Miya 등, 1997; Sanchez-Ramos 등 2001).

줄기세포는 배아줄기세포와 성체줄기세포로 나눌 수 있는데 배아줄기세포는 매우 다양한 새로운 세포로 분화할 수 있는 만능세포(pluripotential stem cell)로서 다양한 질병을 치료하는데 가장 적합하지만 소중한 생명의 시작인 배아조직을

이용해야 한다는 윤리적인 문제점을 가지고 있다(Chrisof 등, 2006; Cravon 등, 1999; Dagmar 등, 2005; Euler 등, 1997; Hiroko 등, 2004; Satako 등, 2005; Zeman 등, 2001). 이와 같은 이유 때문에 의과학자들은 배아줄기세포의 대안으로 비록 성체줄기세포가 배아줄기세포에 비해서 증식 능력이 떨어지고 잠재력이 미약하지만 윤리적인 측면에서 사회적인 논란의 대상이 되지 않기 때문에 최근 신경아교세포를 포함한 피부, 지방조직, 골수세포, 태줄혈액세포, 동물 및 사람의 성인 뇌 조직을 포함한 여러 가지 조직에서 성체줄기세포를 분리해 다양한 세포로 분화, 증식하는 것에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다((Akesson 등, 1998; Cario 와 Wagner 등, 1997 ; Hitoshi 등, 2004; Katrina 등, 2004; Miya 등, 1997; Nadia 등, 2006; Sanchez-Ramos 등, 2001; Willis 등, 2005; Zigoba 등, 2002; Zong 등, 2004).

사람태줄혈액(human umbilical cord blood, hUCB)세포는 태아를 출산할 때 탯줄이나 태반에서 쉽게 얻을 수 있는 혈액세포로써 혈우병, 팽코니증후군, 각종 암, 면역계통과 신경계통의 질병을 치료할 수 있는 자원이 풍부한 성체 줄기세포이며 사람뿐만 아니라 동물에도 충분히 이용할 수 있다는 보고가 있어서 태줄혈액을 이식하여 간세포, 췌장세포, 비장세포, 심장세포와 신경세포나 신경아교세포로 분화, 증식하여 손상부위의 기능을 회복시키는 연구가 활발히 진행하고 있다(Cario 와 Wagner, 1997; Chopp 등, 2000 ; Craven과 Ward, 1999 ; Miya 등, 1997; Zerman 등, 2001; Zigoba 등, 2002).

한편 사이클로스포린은 스테로이드와 함께 장기 이식, 안구건조증과 심한 재생 불량성 빈혈 치료에 특효가 있다고 알려지고 있으며 특히 신장 이식의 생존율을 높이는데 가장 많이 사용되고 있는 면역 억제제로 알려 지고 있다. 간이나 콩팥 등을 이식 받으면 T-임파구가 새로 들어온 장기를 외부에서 침입한 이물질로 판단해 공격하는 것이다. 그래서 이식수술 후에는 이식된 장기가 거부반응 없이 안착할 때 까지 보호하기 위해 면역억제제를 사용해야 하는데 바로 이 억제제가 T-임파구를 죽이는 사이클로스포린이다. 그러나 사이클로스포린과 스테로이드를 사용

함으로써 문제가 있는 것은 독성이 있어서 사용하는데 매우 중요한 제한 요인이 되고 있으며 사이클로스포린의 신독성이 혈청 크레아티닌치의 상승, 사구체 여과율의 감소 및 고혈압을 유발한다는 임상적 소견이 나타나고 있으며 단백뇨가 먼저 발생된다는 것이 임상에서 흔히 관찰된다고 알려지고 있다(Katrina 등, 2004; Nadia 등, 2006; Robert 등, 2004; Satako 등, 2005; Yung 등, 2005).

따라서 본 연구의 목적은 척수의 흥수분절을 완전히 압박 손상시킨 후 꼬리정맥을 통하여 사람땃줄혈액을 주입한 후 이들 세포가 사이클로스포린의 장기투여와 자율신경의 마비로 인하여 콩팥소체에 미치는 영향을 파악하고자 면역세포화학염색을 시행하여 광학현미경으로 관찰하였다.

실험재료 및 방법

1) 실험동물

실험동물은 흰쥐 수컷 Sprague Dawley 30마리(Zivic-Miller, Zenienople PA. 220~250g)를 이용하였으며 사육장에 도착 즉시 동물 길들이기를 한 마리 당 3~5분씩 1일 1~2회, 10일 동안 실시하였다.

2) 실험 군

제1군: 척수압박손상 2일후 사람탯줄혈액세포 주입군(SCI 2+hUCB),

제2군: 척수압박손상 4일후 사람탯줄혈액세포 주입군(SCI 4+hUCB)

제3군: 척수압박손상 6일후 사람탯줄혈액세포 주입군(SCI 6+hUCB)

3) 척수손상 및 관리

각 실험군은 10 마리씩 사용하였으며 흉추 8~9번째 부위를 척추궁절제술을 하여 척수를 노출시켜 1분간 압박하여 손상시켰다(Euler 등, 1997). 그 후 정상적으로 근육과 피부는 봉합하여 동물 사육장에서 먹이와 물을 제한 없이 공급하여 사육하였다. 특히 면역 억제제인 cyclosporin(10mg/kg/day/im)을 30일의 실험기간 동안 주사하였으며 항생제인 baytril(20ml/kg)을 수술 후 5일 동안 피하 주사하였으며 자율신경 차단으로 인하여 하반신이 마비가 되었기 때문에 인위적으로 하루에 2회씩 배변과 배뇨를 시켰다.

4) 사람 탯줄혈액 준비와 주입

단핵 hUCB세포는 CryoCell International Inc.(Tampa, FL)로부터 냉동된 상태로 분양받아 사용하였다. 이식할 hUCB세포 준비는 냉동 보관되어 있는 탯줄혈액을 10% bovine serum(Gibco)과 gentamicin(50 μ l/ml, Sigma)이 들어 있는 Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM, Gibco)에 37 $^{\circ}$ C에서 빠른 속도로 녹인 다음 이들

세포를 조심스럽게 10ml Isolyte 용액(pH 7.4)이 들어 있는 15ml 원심분리기관에 옮겨 20°C에서 10분 동안 1,000rpm으로 원심 분리한 뒤 상청액은 버리고 세포는 glucose-saline에 2~3회 씻어낸 다음 hUCB세포를 FITC(fluorescent isothiocyanate)가 결합되어 있는 cholera toxin subunit B(CTX-FITC)를 실온에서 15분 동안 반응시켰다. hUCB세포를 이식하기에 전에 세포의 생존율과 세포 수를 확인하기 위하여 슬라이드 글라스에 20 μ l 떨어뜨린 다음 0.1%trypan blue 180 μ l로 염색한 후 현미경으로 관찰하여 세포 수에 맞춰 3 x 10⁶/ml가 되게 한 다음 DMEM용액에 10%FBS를 10ml관에 1.5 x 10⁶cell/0.5ml씩 나누어 희석하였다. hUCB세포의 생존율은 주입하기 전에는 81%, 주입 후에는 61%로 매우 좋은 상태였다.

hUCB세포의 주입은 실험 군에 따라 쥐를 원형의 통속(tail access rodent restrainer)에 가둔 다음 꼬리만 원통 밖으로 나오게 하여 꼬리정맥을 쉽게 확인하기 위하여 약 40°C 정도의 뜨거운 물로 꼬리를 적셔 정맥혈관을 노출시킨 다음 준비된 hUCB세포를 1ml주사기에 부착된 27gauge 주사바늘을 이용하여 마리 당 0.5 ml(1.5x10⁶)씩 주입하였다. 그 후 주사기를 제거한 후 주입한 세포가 흘러나오지 않도록 약 3분 동안 손가락으로 꼭 눌러 주었다.

5) 광학현미경적 면역조직화학염색

hUCB세포가 콩팥소체 이동한 것을 확인하기 위하여 면역조직화학염색을 시행하였다. 실험동물은 chloral hydrate와 ketamin으로 마취시킨 후 왼쪽 심실을 통하여 heparin이 함유된 생리식염수로 관류시켜 혈액을 제거한 다음 0.1M phosphate buffer saline(PBS, pH7.4)용액에 녹인 4% paraformaldehyde로 관류 고정시킨 후 콩팥을 적출하여 4°C에서 동일 고정액에 3~5시간 더 고정하였다. 그 후 조직은 0.1M PBS 용액에 10% sucrose(Sigma)를 희석하여 4°C에서 24시간 침적시킨 다음 냉동절편기(Reichert-Jung)을 이용하여 30~45 μ m로 수평과 관상절편을 만들었다. 조직 속의 과산화 효소의 활성을 억제하기 위하여 0.5%과산화수소에 30분간 반응시켰다. 손상된 콩팥조직에서 HUCB세포의 활성화를 확인하기 위하여 제1차 항체인

mouse anti-human mitochondria monoclonal antibody(MAB1273, Chemicon)를 2% NGS와 0.3%triton X로 혼합한 PBS 용액에 1:50으로 희석하여 4℃에서 24~48시간 반응시켰다. 다음날 0.1M PBS 용액으로 3회 씻어낸 후 2차 항체인 biotinylated goat anti-mouse IgG와 ABC complex(Vectastain, Elite. Vector. CA)를 1:1,000으로 희석하여 실온에서 1시간 반응시켰다.

기질액은 3.3'-diaminobenzidine-HCL(DAB,Sigma)을 0.1MPBS 용액에 용해하여 여과한 다음 과산화수소가 0.003%되도록 첨가하였다. 발색반응을 확인한 후 탈수, 투명과정을 거쳐 봉합하여 HUCB 양성반은세포를 광학현미경을 이용하여 관찰하였다.

결 과

척수의 흉수분절을 완전히 압박 손상시킨 후 꼬리정맥을 통하여 사람땃줄혈액을 주입하였다. 콩팥은 내장신경과 가슴허리교감신경(T10~L1)의 조절을 받는다. 가슴허리교감신경(T10~L1)의 신경절이전섬유는 대동맥신장신경절로 모여 이곳에서 신경연접을 이루고 신경절이후섬유를 경유하여 콩팥과 부신에 신경 공급을 한다. 콩팥소체는 이와 같은 신경 공급을 받으며 이 신경들이 단백 분해효소인 레닌(renin)분비의 조절에 관여 한다. Renin은 angiotensinogen을 angiotensin으로 전환하는 것을 촉매 함으로써, 혈압조절에 중요한 역할을 한다. Renin의 분비는 콩팥동맥압의 저하에 의하여 유발되며 콩팥장애 때 많이 분비되면 혈청 속의 다른 물질에 작용하여 동맥벽을 수축하여 혈압을 높이는 물질을 만든다. 뿐만 아니라 Renin 분비는 Na⁺상실, 이뇨제, 저혈압, 출혈, 탈수, 신동맥 및 대동맥협착, 심부전, 간경화 등에 의하여 촉진된다. 따라서 척수의 8~9흉수분절을 압박하였기 때문에 압박부위의 아래 부위인 가슴허리교감신경(T10~L1)은 신경전달이 차단되기 때문에 콩팥도 신경공급을 받지 못하게 된다. 이에 따라 콩팥소체는 형태학적으로 변화가 있을 것으로 판단된다. 본 연구에서 사이클로스포린을 각 실험 군에 30일간의 실험기간 동안 투여하였다. 각 실험 군의 면역세포화학염색 결과 콩팥소체에서 hUCB 양성반응세포로 판단된 MAB1273양성반응세포들이 매우 뚜렷하게 염색되어 있었다. 각 실험군에서 관찰된 hUCB양성반응세포들의 분포상과 크기는 대체적으로 비슷하였으며(Fig.A~F) 콩팥소체모세혈관 주위와 토리주머니에서도 hUCB양성반응세포들을 관찰할 수 있었으며 콩팥소체로 들어오고 나가는 혈관 벽을 따라 hUCB 양성반응세포들이 분포하고 있는 것을 관찰할 수 있었다(Fig.F). 관찰 결과 실험3군이 가장 양호하였으며 실험2군, 실험1군 순 이었다(Fig.A~F).

고찰

콩팥소체(renal corpuscle)는 콩팥단위(nephron)의 주요 구성요소이며 토리주머니(glomerular capsule)와 토리(glomerulus)를 합쳐서 이루어지며 콩팥겉질에 분포하고 둥근 모양이며 소변을 생산하고 노폐물을 배설하는 콩팥의 중요 구성단위이다. 따라서 의과학자들은 콩팥소체의 구조 및 기능의 비밀을 밝혀내기 위하여 활발한 연구를 수행하고 있으며 콩팥질병으로부터 고통 받고 있는 환자들을 치료하기 위하여(Chopp 등, 2000) 콩팥발생과정을 비롯한, 콩팥이식, 콩팥세포배양방법을 포함한 줄기세포를 이용하기에 이르기까지 여러 측면에서 연구가 활발히 진행되고 있다((Chopp 등, 2000; Shin 등, 2004; Yong 등, 2005; Zeman 등, 2001).

또한 콩팥세포로 분화, 증식하고 새로운 콩팥조직을 형성할 수 있는 무한한 가능성과 잠재력을 가지고 있는 줄기세포(stem cell)에 대한 관심이 매우 높아지고 있다(Cario와 Wagner, 1997; Kuhar 등, 1973; Miya 등, 1997; Sanchez-Ramos 등 2001).

줄기세포는 배아줄기세포와 성체줄기세포로 나눌 수 있는데 배아줄기세포는 매우 다양한 새로운 세포로 분화할 수 있는 만능세포(pluripotential stem cell)로서 다양한 질병을 치료하는데 가장 적합하지만 소중한 생명의 시작인 배아조직을 이용해야 한다는 윤리적인 문제점을 가지고 있다(Euler 등, 1997; Gene 등, 1996; Zeman 등, 2001). 이와 같은 이유 때문에 의과학자들은 배아줄기세포의 대안으로 성체줄기세포인 피부, 지방조직, 골수세포, 탯줄혈액세포, 동물 및 사람의 성인 뇌 조직을 포함한 여러 가지 조직에서 성체줄기세포를 분리해 이용할 수 있는 연구가 활발히 진행하고 있다(Akesson 등, 1998; Cario와 Wagner 등, 1997 ; Miya 등, 1997). 배아 줄기세포에 비해서 증식능력이 떨어지고 잠재력이 약하지만 윤리적인 측면에서 사회적인 논란의 대상이 되지 않은 성체줄기세포에 대해서 최근 신경아교세포로 분화, 증식하는 것에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다(Chrisof 등, 2006; Cravon 등, 1999; Dagmar 등, 2005; Euler 등, 1997; Hiroko 등, 2004; Satako 등, 2005; Zeman 등, 2001).

사람탯줄혈액(human umbilical cord blood, hUCB)세포는 태아를 출산할 때 탯줄이나 태반에서 쉽게 얻을 수 있는 혈액세포로서 혈우병, 판코니증후군, 각종 암, 면역계통과 신경계통의 질병을 치료할 수 있는 자원이 풍부한 성체줄기세포이며 사람뿐만 아니라 동물에도 충분히 이용할 수 있다는 보고가 있어서 탯줄혈액을 이식하여 간세포, 췌장세포, 비장세포, 심장세포와 신경세포나 신경아교세포로 분화, 증식하여 손상부위의 기능을 회복시키는 연구가 활발히 진행하고 있다((Cario와 Wagner, 1997; Chopp 등, 2000 ; Craven과 Ward, 1999 ; Miya 등, 1997; Zerman 등, 2001; Zigoba 등, 2002).

한편 사이클로스포린은 스테로이드와 함께 장기 이식, 안구건조증과 심한 재생불량성 빈혈 치료에 특효가 있다고 알려지고 있으며 특히 신장 이식의 생존율을 높이는데 가장 많이 사용되고 있는 면역억제제로 알려지고 있다. 간이나 콩팥 등을 이식받으면 T-림파구가 새로 들어온 장기를 외부에서 침입한 이물질로 판단해 공격하는 것이다. 그래서 이식수술 후에는 이식된 장기가 거부반응 없이 안착할 때 까지 보호하기 위해 면역억제제를 사용해야 하는데 바로 이 억제제가 T-림파구를 죽이는 사이클로스포린이다. 그러나 사이클로스포린과 스테로이드를 사용함으로써 문제가 있는 것은 독성이 있어서 사용하는데 매우 중요한 제한 요인이 되고 있으며 사이클로스포린의 신독성이 혈청 크레아티닌치의 상승, 사구체 여과율의 감소 및 고혈압을 유발한다는 임상적 소견이 나타나고 있으며 단백뇨가 먼저 발생된다는 것이 임상에서 흔히 관찰된다고 알려지고 있다(Katrina 등, 2004; Nadia 등, 2006; Robert 등, 2004; Satako 등, 2005; Yung 등, 2005).

콩팥은 내장신경과 가슴허리교감신경(T10~L1)의 조절을 받는다. 가슴허리교감신경(T10~L1)의 신경절이전성유는 대동맥신장신경절로 모여 이곳에서 신경연접을 이루고 신경절이후성유를 경유하여 콩팥과 부신에 신경 공급을 하는 것으로 알려지고 있다. 콩팥소체는 이와 같은 신경 공급을 받으며 이 신경들이 단백 분해효소인 레닌(renin)분비의 조절에 관여 한다. Renin은 angiotensinogen을 angiotensin으로 전환하는 것을 촉매 함으로써, 혈압조절에 중요한 역할을 한다. Renin의 분비

는 콩팥동맥압의 저하에 의하여 유발되며 콩팥장애 때 많이 분비되면 혈청 속의 다른 물질에 작용하여 동맥벽을 수축하여 혈압을 높이는 물질을 만든다. 뿐만 아니라 Renin 분비는 Na⁺상실, 이뇨제, 저혈압, 출혈, 탈수, 신동맥 및 대동맥협착, 심부전, 간경화 등에 의하여 촉진된다. 따라서 척수의 8~9흉수분절을 압박하였기 때문에 압박부위의 아래 부위인 가슴허리교감신경(T10~L1)은 신경전달이 차단되기 때문에 콩팥도 신경공급을 받지 못하게 된다. 이에 따라 콩팥소체는 형태학적으로 변화가 있을 것으로 판단된다. 따라서 본 연구의 목적은 척수의 흉수분절을 완전히 압박 손상시킨 후 꼬리정맥을 통하여 사람땃줄혈액을 주입한 후 이들 세포가 사이클로스포린의 장기투여와 자율신경의 마비로 인하여 콩팥소체에 미치는 영향을 형태학적으로 분석하기 위하여 면역세포화학염색을 시행하여 광학현미경으로 관찰하고자 본 연구를 시도하였다. 각 실험 군의 면역세포화학염색 결과 콩팥소체에서 hUCB 양성반응세포로 판단된 MAB 1273양성반응세포들이 매우 뚜렷하게 염색되어 있었다. 각 실험군에서 관찰된 hUCB양성반응세포들의 분포상과 크기는 대체적으로 비슷하였으며 콩팥소체모세혈관 주위와 토리주머니에서도 hUCB양성반응세포들을 관찰할 수 있었으며 콩팥소체로 들어오고 나가는 혈관 벽을 따라 hUCB양성반응세포들이 분포하고 있는 것을 관찰할 수 있었다. 관찰 결과 실험3군이 가장 양호하였으며 실험2군, 실험1군 순 이었다.

일부 연구자들은 사람땃줄혈액을 이식하여 간세포, 췌장세포, 혈구세포, 콩팥세포, 비장세포, 뼈세포, 연골세포, 섬유세포, 신경세포로 분화하여 가 장기의 퇴행성질병을 포함한 손상된 세포를 치유하는데 중요한 역할을 한다고 보고하였다(Sanches-Ramos 등, 2001 ; Zigoba 등, 2002). 그러나 척수를 손상시킨 후 사람땃줄혈액을 이식하였을 때 콩팥에 어떠한 영향을 미치는가에 대한 형태학적 연구는 아직까지 보고된바 없어서 직접 비교 분석할 수는 없었으나 척수의 손상으로 인하여 신경공급이 차단된 콩팥도 사람땃줄혈액을 이식하였을 때 콩팥으로 이동하여 그의 고유기능을 회복시키는데 매우 좋은 효과가 있을 것으로 판단된다.

결 론

본 연구의 목적은 척수의 흥수분절을 완전히 압박 손상시킨 후 꼬리정맥을 통하여 사람탯줄혈액을 주입한 후 이들 세포가 사이클로스포린의 장기투여와 자율신경의 마비로 인하여 공팔소체에 미치는 영향을 형태학적으로 분석하기 위하여 면역세포화학염색을 시행하여 광학현미경으로 관찰하고자 본 연구를 시도하였다. 척수의 흥수분절을 완전히 압박 손상시킨 후 꼬리정맥을 통하여 사람탯줄혈액을 주입하였다. 사이클로스포린을 각 실험 군에 30일간의 실험기간 동안 투여하였다. 각 실험 군의 면역세포화학염색 결과 공팔소체에서 hUCB 양성반응세포로 판단된 MAB 1273양성반응세포들이 매우 뚜렷하게 염색되어 있었다. 각 실험군에서 관찰된 hUCB양성반응세포들의 분포상과 크기는 대체적으로 비슷하였으며 공팔소체모세혈관 주위와 토리주머니에서도 hUCB양성반응세포들을 관찰할 수 있었으며 공팔소체로 들어오고 나가는 혈관 벽을 따라 hUCB양성반응세포들이 분포하고 있는 것을 관찰할 수 있었다. 관찰 결과 실험3군이 가장 양호하였으며 실험2군, 실험1군 순이었다. 본 연구 결과 일부 연구자들이 보고한 것처럼 사람탯줄혈액을 이식하여 간세포, 췌장세포, 혈구세포, 공팔세포, 비장세포, 뼈세포, 연골세포, 섬유세포, 신경세포로 분화하여 각 장기의 퇴행성질환을 포함한 손상된 세포를 치유하는데 중요한 역할을 할 수 있다고 판단된다.

참 고 문 헌

- Akesson E, Kajaeldgaard A, Seiger A : Human embryonic spinal cord grafts in adult rat spinal cord cavities: Survival, Growth, and Interactions with the Host, *Exp Neurol* 149:262-276, 1998.
- Cairo MS, Wagner JE : Placental and umbilical cord blood : an alternative source of hematopoietic stem cells for transplantation, *Blood* 90:4665-4678, 1997.
- Chrisof S, Andreas L, Gustav S Dirk S : Stem cell therapy for ischemic heart disease : beginning or end of the road?, *Cell transplant* 15:47-56,2006.
- Chopp M, Zhang Xu, Li Y, Wang L, Chen J, Lu D, Lu M, Roseblum M :spinal cord injury in rat: treatment with bone marrow stromal cell transplantation, *Neruro Report* 11:3001-3005, 2000.
- Craven CM, Ward K : Transfusion of fetal cord blood cells: an improved method of hematopoietic stem cell transplantation, *J Reproductive Immunology* 42:59-77, 1999.
- Dagmar K, Valeska M, Antonello P, Molano RD, Florencia MBT, Luca I, Camillo R, Ricardo LP : Delivery of TAT/PTD-fused proteins/peptides to islet via pancreatic duct, *Cell transplant* 14:241-248,2005.
- Euler MV, Seiger A, Sundstrom E : Clip compression injury in the spinal cord: a correlative study of neurological and morphological alterations, *Exp Neurol* 145:502-510, 1997.
- Hiroko S, Kazuo K, Takara T, Yoshiaki K, Tatsuo N, Yoshkiyo A, Toshiharu I : Transplantation mesenchymal stem cells effective for skin regeneration in acute cutaneous wounds, *cell transplant* 13:405-412,2004.

- Hitoshi S, Jian W, Naoki Y, Andrea C, Henning W Brook W, Kiwamu O, Mark AZ : Differentiation of human and mouse embryonic stem cells along a hepatocyte lineage, *Cell transplant* 13:197-211,2004.
- katrina JA, Daphne MY, Xiao LL, Nicole EPB, Jim V, Julian FBM, Panayiotis AI, Robert W : The potential bone marrow stem cells to correct liver dysfunction in a mouse model of wilson' s disease, *cell transplant* 13:765-773,2004.
- Kuhar MJ, Pert CB, Snyder SH : Regional distribution of opiate receptor binding in monkey and human brain, *Nature* 245:447-450, 1973.
- Miya D, Giszter S, Mori F, Adipudi V, Tessler A, Murray M : Fetal transplants alter the development of function after spinal cord transection in newborn rats, *J Neurosci* 17:4856-4872, 1997.
- Nadia R, Maria PS, Antonio M : Growth factor enhancement of cardiac regeneration, *Cell Transplant* 15:41-45,2006.
- Robert JH, Ham AA, John UB, Michael BM, Alison EW, Paul RS : Human umbilical cord blood mononuclear cells for the treatment of acute myocardial infarction, *Cell transplant* 13:729-739,2004.
- Sanchez-Ramos JR, Song S, Kamath SG, Zigoba T, Willing A, Cardozo-Pelaez, Stedeford T, Chopp M, Sanberg PR : Expression of neural markers in human cord blood, *Exp Neurol* 171:109-115, 2001.
- Satako T, Kunihiro t, Yasuharu U, Toshihiro S, Masaharu S, Itaru K : Differentiation of adult hepatic stem-like cells into pancreatic endocrine cells, *cell transplant* 14:647-653,2005.
- Shin E, Nanae T, Hiroshi A, Yashihiro m : Transplantation of nonvascularized kidney tissue fragments into the liver with the aim of preserving renal function, *cell transplant* 13:413-419,2004.

Willis L, Quintero EM, Nelson M, Granholm A : Regulation of tropic factor expression by innervating target regions in intraocular double transplants, *Cell transplant* 14:21-29,2005.

Yung HC, Cesario VB, Feng CZ, Barry JH, Yun W : transplantation of fetal kidney : neuroprotection and neuroregeneration, *Cell transplant* 14:1-9,2005.

Zeman RJ, Feng Y, Peng H, Visintainer PF, Moorthy CR, Couldwell WT, Etlinger JD : X-irradiation of the contusion site improves locomotor and histological outcomes in spinal cord-injured rats, *Exp Neurol* 172:228-234, 2001.

Zigoba T, Song S, Willing AE, Hudson JE, Newman MB, Saporta S, Sanchez-Ramos J, Sanberg PR : Human umbilical cord blood cells express neural antigen after transplantation into the developing rat brain, *Cell Transplant* 11:265-274,2002.

Zong MZ, Hong JL, Hai YL, Shi HL, Ren CY, Qing JZ, Zhong CH : Intraspinal transplantation of CD34+ human umbilical cord cells after spinal cord hemisection injury improves functional recovery in adult rats, *cell transplant* 13:113-122,2004.

Legends for Figures

Figures : Immunocytochemical identification of hUCB positive cells(arrows) in renal corpuscle after compressed spinal cord injury using mouse anti-human mitochondria monoclonal antibody(MAB1273).

Fig. A: hUCB immuno-positive cells(arrows) in the renal corpuscle (SCI 2+hUCB) 10X.

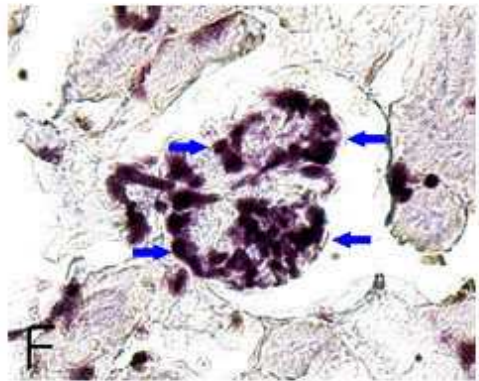
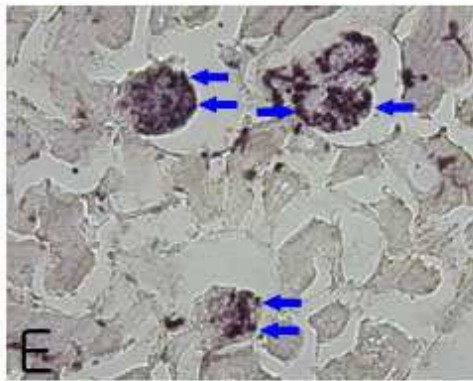
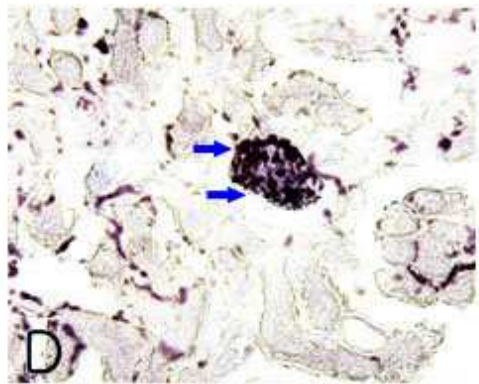
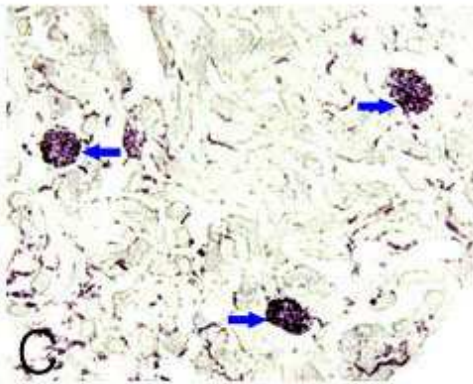
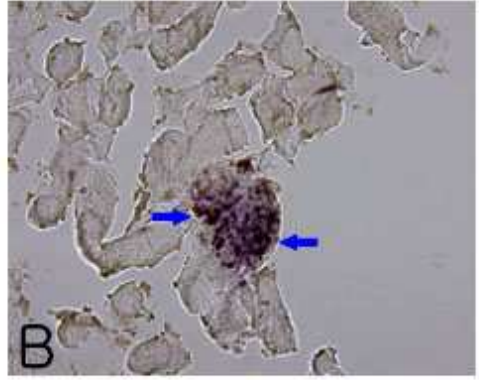
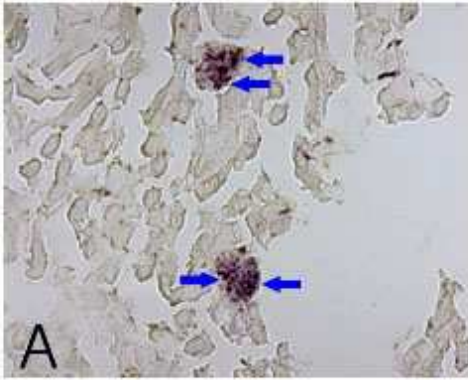
Fig. B: Higher magnification of the Fig.A. 20X

Fig. C: hUCB immuno-positive cells(arrows) in the renal corpuscle (SCI 4+hUCB) 10X.

Fig. D: Higher magnification of the Fig.C. 20X

Fig. E: hUCB immuno-positive cells(arrows) in the renal corpuscle (SCI 6+hUCB) 20X.

Fig. F: Higher magnification of the Fig.E. 40X



(별 지)

저작물 이용 허락서

학 과	의 학 과	학 번	20047188	과 정	석사
성 명	한글: 설 경 수 한문 : 薛京秀 영문 : Seol Kyeong Soo				
주 소	전남 완도군 고금면 덕암리 623-5 고금의원				
연락처	E-MAIL : gkun5881@yahoo.co.kr				
논 문 제 목	한글 : 흰쥐 척수손상 부위에 태줄혈액세포 이식 후 사이클로스포린 투여가 콩팥소체에 미치는 영향 영문 : <i>Effects of renal corpuscle on cyclosporine administration after transplantation human umbilical cord blood cells(hUCBs) into the experimental spinal cord injury of rats</i>				

본인이 저작한 위의 저작물에 대하여 다음과 같은 조건아래 조선대학교가 저작물을 이용할 수 있도록 허락하고 동의합니다.

- 다 음 -

1. 저작물의 DB구축 및 인터넷을 포함한 정보통신망에의 공개를 위한 저작물의 복제, 기억장치에의 저장, 전송 등을 허락함
2. 위의 목적을 위하여 필요한 범위 내에서의 편집·형식상의 변경을 허락함. 다만, 저작물의 내용변경은 금지함.
3. 배포·전송된 저작물의 영리적 목적을 위한 복제, 저장, 전송 등은 금지함.
4. 저작물에 대한 이용기간은 5년으로 하고, 기간종료 3개월 이내에 별도의 의사표시가 없을 경우에는 저작물의 이용기간을 계속 연장함.
5. 해당 저작물의 저작권을 타인에게 양도하거나 또는 출판을 허락을 하였을 경우에는 1개월 이내에 대학에 이를 통보함.
6. 조선대학교는 저작물의 이용허락 이후 해당 저작물로 인하여 발생하는 타인에 의한 권리 침해에 대하여 일체의 법적 책임을 지지 않음
7. 소속대학의 협정기관에 저작물의 제공 및 인터넷 등 정보통신망을 이용한 저작물의 전송·출력을 허락함.

2006 년 11 월 30 일

저작자: 설 경수 (서명 또는 인)

조선대학교 총장