

#### 저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

#### 이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

• 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

#### 다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건 을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 이용허락규약(Legal Code)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

Disclaimer 🖃





2010년 2월

석사학위 논문

# 줄기세포의 분화능의 기원에 따른 비교

- 견봉하 점액낭, 골수, 탯줄 혈액 -

조선대학교 대학원

의 학 과

강 정 훈

# 줄기세포의 분화능의 기원에 따른 비교

- 견봉하 점액낭, 골수, 탯줄 혈액 -

Differential Potential of Stem Cells Following Their Origin

- Subacromial Bursa, Bone Marrow, Umbilical Cord Blood -

2010년 2월 25일

조선대학교 대학원

의 학 과

강 정 훈

# 줄기세포의 분화능의 기원에 따른 비교

- 견봉하 점액낭, 골수, 탯줄 혈액 -

지도교수 문 영 래

이 논문을 의학 석사학위신청 논문으로 제출함

2009년 10월

조선대학교 대학원

의 학 과

강 정 훈

### 강정훈의 석사학위 논문을 인준함

위원장 조선 대학교 교수 <u>하 상 호</u>

위 원 조선 대학교 교수 <u>이 상 홍</u>

위 원 조선 대학교 교수 <u>문 영 래</u>

2009년 11월

조선대학교 대학원

## 목 차

ABSTRACT	· 1
서론	3
대상 및 방법	5
결과	9
고찰	10
결론	13
참고문헌	14

## 표 목 차

Table 1. Various source-derived stem cells multi-lineage	
differentiations in vitro	17
Table 2. Expression of marker ratio from various sources	18
Table 3. List of Figures	19

## 도 목 차

Fig. 1. The illustration reveals collection of subacromial bursa
during shoulder surgery 20
Fig. 2. The bone marrow aspirates are collected in a syringe
containing heparin 21
Fig. 3. Culturing the UCB with the neurogenesis induction media,
subcultured colonies revealed astrocyte, large nuclei, axon and
dentrite cells. ———————————————————————————————————
Fig. 4. Two to three weeks after osteogenic medial culture for the
UCB, and we can identified osteogenic potential by von Kossa
staining (X100) 23
Fig. 5. Adipogenesis was detected by the formation of neutral fat
vacuoles stainable with Oil Red O, as demonstrated for UCB-derived
cells (X320) 24

#### **ABSTRACT**

Differential Potential of Stem Cells Following Their
Origin

- Subacromial Bursa, Bone Marrow, Umbilical Cord Blood -

Jeong Hoon Kang

Advisor : Prof. Moon Young-Lae M.D.

Department of Medicine,

Graduate School of Chosun University

Introduction: Evaluation of differential potential of stem cells is mandatory for the better understanding of their character and function. We compared the differential potential of stem cells from three different sources for detecting their functional capacities

Meterials and Methods: Our study involved three stem cell sources-subacromial bursal tissue, bone marrow, and umbilical cord-derived stem cells. Under consent we obtain subacromial bursa tissue and bone marrow from the patient having operation. After procuring, we applied specific induction media for neurogenic, adipogenic and osteogenic differentiation and flow-cytometry analysis was done to reveal the cell surface antigen.

**Results:** We obtained all 8 neural and 8 adipogenic, but 5 of 8 osseous differentiation among the subacromial bursal tissue origin group. Bone marrow derived cells showed differential potential in all 6 neural, 5 adipogenic, but 4 of 5 osseous. Umbilical cord blood derived cells revealed 65 of 67 neural, 29 of 54 adipogenic, 39 of 57 osseous differentiations.

Conclusion: Mesenchymal stem cells are prospective object for the using cell therapy. These cells are characterized primarily by expression of surface markers and their differential potential. Our study with stem cell from subacromial bursal tissue, bone marrow and umbilical cord revealed that each stem cell has differential potential and unique function based on its origin. Varius stem cells show multi-lineage differentiations in vitro which can be correlated to in vivo conditions

**Key Words:** subacromial bursa, Bone marrow, Cord blood, Stem cell, Differential potential

#### 서 론

줄기 세포에 대한 연구는 21세기로 들어와 활발히 진행 되고 있다. 임상적으로 제대혈이나 골수, 골격근 등에서 채취한 간엽 줄기세포를 이용하여 골, 연골, 지방등의 조직으로 분화시켜 임상적 치료에 도입, 시도하고 있는 단계이며 여러 실험및 연구를 통하여 다양한 기질(골수, 제대혈, 골막, 지방조직, 활막, 골격근)을 통해 조혈 모세포 외에 각종 간엽 조직으로 분화 기능이 있는 간엽 줄기세포를 얻을수 있다. 1-3) 간엽 줄기 세포는 성숙한 간질 세포와는 달리 미분화세포 상태로 증식함과 동시에 뼈나 연골, 지방, 건, 근육 및 골수 간질 등 간엽계에서 유래하는 여러 조직으로 분화할 수 있는 능력을 가진 세포이다. 2.4-7)

최근에는 간엽줄기세포(mesenchymal stem cell)가 섬유세포와 형태적으로 유사할뿐만아니라 조혈모 세포의 중요한 미세환경 역할을 한다는 연구가 보고 되었다.<sup>8)</sup> 다분화능을 가진 간엽줄기세포가 최근 많은 관심을 모으는 배경은 조직재생의학의세포치료제로서 가능성을 가지고 있기 때문이다. 간엽줄기세포는 각 장기의 손상을치료하는 세포치료제로서 활발히 연구되고 있다.<sup>9-10)</sup> 따라서, 연구자들은 인체의 여러 장기 및 조직들로부터 간엽줄기세포를 분리하기 시작하였으며, 분리한 간엽줄기세포를 이용한 질병치료 연구에 많은 관심과 노력을 기울이고 있다. 그러나, 간엽줄기세포의 분리방법과 명칭, 특성 등이 다를 뿐만 아니라, 기원조직의 종류에 따라 다양성이 존재한다.<sup>11)</sup> 이처럼, 간엽줄기세포에 대한 연구자들의 견해가 다양하여 ISCT(International Society for Cellular Therapy)에서는 다분화능 간엽 기질세포(multipotent mesenchymal stromal cells)로 명명할 것을 결정하였으며 다음과

같은 간엽줄기세포의 최소정의(minimal criteria)를 제시하였다. 첫째는 배양접시에 부착된 세포이며, 둘째는 간엽줄기세포 특이 표면항원을 가지고 있어야 하며, 셋째는 다분화능을 가지고 있어야 할 것 등이었다. 12) 본 연구의 목적은 세가지 기원의 세포의 분화능을 평가 및 비교하고자 하였다.

#### 대상 및 방법

#### 1. 견봉하 점액낭 군에서의 세포 채취

환자의 동의를 얻은 후, 조직학적 샘플의 채취는 회전근개 질환으로 관절경 수술하에서 후방 삽입구에 위치시킨 후, 견봉 상완 관절을 관찰한 다음 방향을 상향 조정하여 견봉하 관절로 이동하여 병변을 확인한뒤 겸자를 이용하였으며 관절경을 이용하여 점액당 조직에 확실하게 위치함을 확인하고 채취 한다(Fig. 1).

#### 2. 골수 군에서의 세포 채취

관절경하에 견관절과 주관절에 대하여 수술적 치료를 시행할 예정인 환자들로부터 수술 전에 장골능으로부터 골수 채취 및 연구에 관한 동의를 받은 후 시행하였다. 전신 마취 후 수술 전에 장골 전상극부에 대하여 무균상태로 술전 처치를 시행한 뒤 12G 크기의 골수천자용 주사 바늘을 이용하여 골수를 채취하였다(Fig. 2).

#### 3. 줄기 세포 배양

각각의 군에서 채취한 조직은 100 mm 배양접시(Becton Dickinson)를 이용하여 처리한 뒤 MSC-GM(Cambrex)에서 배양한다. 배양액은 주 1회 시행하고, 배양접시 밑바닥에 부착된 세포가 일정한 양으로 증식하면 수확하여 계대배양(Subculture)을 반복한다(이를 P1 이라 칭한다). 점액낭 조직으로부터 얻은 간엽줄기세포의 계대 배양을 위해서 접종하는 세포의 밀도는 대개 3,000-10,000cells/cm2를 유지한다. 또한 배양접시의 면적에 알맞도록 앞서 설명한 바와 같이 세포수를 적절히 유지하되,

배지 교환은 2~3일 간격으로 하고, 필요에 따라 106/vial의 세포수를 만들어 액체 질소에 저장한다.

#### 4. 분화 유도

#### 1) 골 분화

각 군의 줄기세포가 간엽조직 세포로 분화하는 특성을 지니는지 확인하기 위해, 세포의 분화를 유도하였다. 골세포 분화에 사용된 배양액은 베타 글리세롤 포스페이트(β-glycerol phosphate), 이인산 아스코르빅산(ascorbic acid 2-phospate), 덱사메타손(dexamethasone)과 같은 조성을 지니며, 단층배양을 수행하여 분화를 유도하였다. 배양액은 일주일에 2회 교체해 주었으며, 분화유도배양 후 2주일된 세포를 샘플링하여 조직화학적 분석을 수행하였다. 골세포 분화용 전용배지(OM)에서 2주 내지 4주간 분화유도 시킨 간엽 줄기세포를 ALP염색법(ALP 발현정도)이나 Von Kossa염색법(calcium mineralization)을 이용하여 골 분화 정도를 확인한다.

#### 2) 지방분화

각 군의 줄기세포가 간엽조직 세포로 분화하는 특성을 지니는지 확인하기 위해 지방세포의 분화를 유도하였다. 분화에 사용된 배양액은 덱사메타손 (dexamethasone), 메틸-이소부틸잔틴(3-isobutyl-1-methylxanthine), 인도메타신 (indomethacin), 인슐린(insulin) 같은 조성을 지니며, 단층배양을 수행하여 분화 를 유도하였다. 간엽줄기세포를 간엽줄기세포배지에서 배양한 후, 지방세포 분화유 도배지에서 36시간, 지방세포 유지배지에서 24시간 배양한 다음 3회 반복 실시하고, 지방세포유지배양액은 일주일에 2회 교체해 주었으며 오일레드 0(oil red 0) 염색을 실시하였다. 분화유도배양 후 1주 간격으로 세포를 샘플링 하여 조직화학적 분석을 수행하였다.

#### 3) 신경분화

각 군의 줄기세포를 12웰 플레이트에 cm2 면적당 2,500개의 농도로 파종한 후 하루 동안 배양하였다. 신경세포로의 분화유도를 위해 상기 세포를 염기성-섬유아세포 인자(10ng/ml)와 우태 혈청(20% FBS)을 함유한 DMEM 배양액으로 24시간 동안 전처리를 하였다. 이를 다시 2% DMSO와 200 μ M BHA가 함유된 DMEM 배양액에서 30분에서 6일 동안 반응시켜, 우선적으로 현미경하에서 형태학적으로 신경세포로의 분화를 확인하였다. 대개는 1시간에서 6시간 이내에 반응이 최대로 이루어짐을 확인할수 있었다. 신경세포 분화는 4단계로 나누어 연속해서 분화유도를 진행한다. 각 단계마다 3일간 배양하고 그 다음 단계의 분화배지로 교환한다.

1단계: 5ng/ml bFG, 0.5uM retinoic acid, 1mM 2-mercaptoethanol in IMDM (Iscove's modified Dulbecco's medium)

2단계: 1uM cAMP(cyclic adenosine monophosphate) in IMDM

3단계: 10uM hydrocortisone 1mM cAMP in IMDM

4단계: 20ng/ml aFGF(acidic fibroblast growth factor), 10ng/ml SHH(sonic hedgehhog), 10ng/ml NGF(nerve growth factor), 25ng/ml vitronectin, 0.1mM IBMX, 10uM forskolin, 20nM PMA(phorbol myristate acetate) in IMDM의 순으로 한다.

#### 5. 표면 항원 분석

계대배양이 진행된 점액당 유래 간엽줄기세포 중에서, 증식 및 배양상태가 양호한 P4 에서 P8 사이의 세포를 선별하여 간엽줄기세포의 특성을 표면항원 분석으로 설명하였다. 배양된 간엽줄기세포의 성질을 확인하기 위하여 세포들은 다양한 표면 단백질 항원에 대하여 표지되었고, 유세포 분석기를 이용해 분석하였다. 간단히 설명하면, 유세포 분석을 위한 세포를 수확하고 PBS로 세척한 후 FITC(fluorescinisothiocyanate) 또는 PE(phycoerythrin)와 결합된 다음의 항체들로 표지되었다: HLA-ABC, HLA-DR, CD14, CD29(b1 integrin), CD34, CD44(HCAM-1), CD45, CD73(SH3, SH4), CD74(HLA-DR associated protein), CD90(Thy-1), CD105(SH2, endoglin) 및 CD106(VCAM-1). CD105 항체(DAKCO)를 제외한 모든 항체들은 Beckton Dickinsion에서 구입하였다. FITC-결합된 마우스 항-인간 IgG1, IgG2a 및 PE-결합된 마우스 항-인간 IgG1(Becton Dickinson, San Jose, CA)가 아이소타입 대조군으로 사용되었다. 표지된 세포들은 Cytomics FC450(Beckman Coulter, Krefeld, Germany)으로 분석하였다.

#### 결 과

건봉하 점액당 유래 세포에서는 신경분화와 지방 분화는 8예 모두에서, 골분화는 8예 중 5예에서 성공할 수 있었으며 골수 유래 세포의 경우 신경 및 지방 분화 유도한 6예 및 5예 모두 분화에 성공하였으나 골분화 유도는 5예 중 4예에서 얻을 수 있었다. 반면 탯줄 유래 세포 분화 연구의 경우 신경 분화 유도 67예 중 65예에서 지방 분화 연구 54예 중 29예에서 골 분화 연구 57예 중 39예에서 성공할 수 있었다.(Fig. 3, Fig. 4, Fig. 5, Table 1).

표면 항원 검사에서는 골수와 견봉하 점액낭에서 유래된 다기능성세포를 유세포 분석한 결과, 일반적으로 간엽줄기세포의 표면 단백질 항원으로 잘 알려진 CD29, CD44, CD90/Thy-1, CD105/SH-2를 강하게 발현하였다. 탯줄 혈액 유래 간엽 줄기 세 포는 CD29 95.63%, CD 44 94.70%, CD90 84.65%, CD 105 가 96.10%, 골수 유래 간 엽 줄기세포는 CD29 71.3%, CD 44 70%, CD90 99.5%, CD 105 가 80.3% 로 강한 양성 소견 보였으며, 견봉하 점액낭 유래 간엽 줄기세포는 CD 29 38.53%, CD 44 91.13%, CD 90 87.01%, CD 105 1.87% 소견 보이며 높은 양성률을 보였다.

성체 간엽 줄기 세포(Mesenchymal stem cell, MSCs)는 중배엽성 조직인 근골격계 의 치료에 있어서 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있으며. 다분화능에 대한 임 상적인 관심이 증가하고 있다. 세포치료 영역에서 다양한 조직 유래의 다 분화능 간엽줄기세포가 분리되었으며 이들 간엽 줄기세포는 기원 조직에 따라서 다양한 양 상을 보이고 있다. 현재 간엽 줄기세포를 얻기 위해 연구에 사용되고 있는 조직으 로서 탯줄 혈액, 골수, 견봉하점액낭<sup>13)</sup> 및 태반 조직 등 이 있으며 이들중 탯줄 혈 액의 증식율 및 분화능이 높다고 보고되고 있다.<sup>11)</sup> 하지만 탯줄 혈액의 경우 조직 의 채취 및 수요 충족에 있어서는 어느 정도 제한점이 있는 상태로 임상적 도입시 한계가 있을 수 있다. 반면 골수나 견봉하 점액낭 조직의 경우 환자의 동의하에서 라면 조직의 채취 및 수량 확보에 있어서 제한은 문제가 되지 않을 것으로 보인다. 이런 점들을 고려하여 간엽 줄기세포의 분화능에 대한 연구에 있어서 골수 및 견봉 하 점액낭은 우수한 견본이 될 수 있다. 골수나 견봉하 점액낭 조직이 간엽 줄기세 포 연구에 있어서 의의성을 갔기 위해서는 그 분화능에 대한 검증이 필요하며 이에 본 연구는 골수와 견봉하 점액낭의 분화능에 대하여 탯줄 혈액과 비교하여 평가하 였다.

탯줄 혈액과 골수의 분화능에 대한 연구는 예전부터 많이 진행 되어 왔으며 골수의 경우 간엽 줄기세포를 포함하고 있어서 골연골, 지방, 근육 힘줄, 그리고 신경으로 재생되는데 기여하고 있다는 내용은 이미 잘 알려진 사실이다. 14) 탯줄 혈액과골수의 분화능에 대한 비교는 면역표현형의 분석, 형태, cytokine m-RNA

expression 등으로 행해졌었다. Mareschi 등<sup>15)</sup>은 골수의 경우 hematopoietic antigen인 CD45, CD14, CD34에서 음성 소견을 보이며 형태학적으로 osteoblasts. adipocytes, chondrocytes로 분화되는 소견을 보였고 탯줄 혈액과 비교하여 쉽게 확장가능하며 치료영역에 사용할수 있도록 분화유도 할 수 있다고 하였다. 제대혈 유래 간엽 줄기세포나 골수 유래 간엽 줄기 세포. 견봉한 점액낭 유래 줄기세포는 세포의 형태학적 특징상 섬유 세포와 유사한 형태를 보이며 이러한 간엽줄기세포의 형태학적 특성으로 인하여, 흔히 섬유세포와 명확한 구별이 어려운 점이 임상적인 활용에서 문제로 제기되기도 하였다. 섬유세포와 간엽줄기세포는 형태학적인 유사 점과 함께 표면 항원의 발현 양상도 매우 유사한 것으로 보고되었다. 따라서. 섬유 세포와 간엽줄기세포를 구별해 내는 표면 항원에 대한 연구가 진행되기도 하였으나 동시에 섬유세포가 중간엽 유래의 세포들로 분화된다는 보고도 있다. 즉. 간엽줄기 세포는 골수<sup>2)</sup>. 지방조직<sup>16)</sup>. 제대혈<sup>17)</sup>. 피부<sup>18)</sup>. 태반조직<sup>19)</sup> 등으로부터 얻을 수 있 는데, 이들 조직들로부터 얻어진 세포는 배양접시에 부착되어 계대배양이 가능하며, 동시에 중간엽 유래 세포들로 분화가 이루어진다. 반면에, 분화가 일어나지 않는 부착 세포들은 섬유세포라고 추정하였다. 그래서, 각 장기 조직으로부터 배양된 부 착 세포들은 분화실험에 의해 입증되지 않은 경우 섬유세포 양(fibroblastic) 세포 로 간주되었다. 그러나 Sudo 등<sup>20)</sup>은 섬유세포 역시 다양한 세포들로 분화가 이루어 지는 것으로 보아 여기에는 간엽줄기세포와 간엽전구세포들이 포함되어 있음을 제 시하였다. 본 연구 결과 각각 탯줄 혈액, 골수, 견봉하 점액낭 조직으로부터 분리 한 배양접시에 부착되어 계대배양이 이루어진 섬유세포 양 세포들의 다 분화능에 대한 실험은 ISCT 에서 제시한 기준에 의해서 골분화, 지방분화, 신경 분화를 확인

하였으며, 골분화는 von Kossa염색법으로 골아세포를 확인하였고 지방세포 분화는 0il Red염색법으로 확인하였다. 탯줄 혈액에 비하여 골수 및 견봉하 점액낭 유래 간엽 줄기세포의 분화도가 더 좋았으며 골수 유래 간엽 줄기 세포와 제대혈 유래 간엽 줄기세포 및 견봉하 점액낭 유래 간엽 줄기세포의 표면 항원의 발현상의 차이를 비교한 결과 골수의 경우 CD 73, CD 29, CD 44, CD 90, 105, HLA-ABC 에서 높은 양성률 소견 보였으며 견봉하 점액낭 조직유래 간엽 줄기 세포의 경우 CD 73, CD44, CD90, HLA-ABC 에서 높은 양성률 소견 보였으며 견봉하 점액낭 조직유래 간엽 줄기 세포의 경우 CD 73, CD44, CD90, HLA-ABC 에서 높은 양성율 보였다(Table 3). 허나 아직 충분한 양의 실험 결과가 더 필요하며 계대배양시 얻을 수 있는 섬유양 세포가 다 분화능을 가지고 있는 간엽 줄기세포인가 아니면 섬유세포인가를 확인 할 수 있는 방법으로 분화유도를 시도하는 방법으로 하였으나 최근 섬유세포가 많은 간엽 줄기세포를 함유하고 있다는 연구 보고가 있어 이에 대한 추가 연구가 필요한 실정이다.

#### 결 론

이 연구를 통하여 탯줄 유래 줄기세포의 분화능과 비교하였을 때 견봉하 점액낭 및 골수 유래 줄기세포의 분화능이 우수함을 알 수 있었으며 이는 향후 세포 치료 및 조직 공학에 있어서 안정성 있는 치료 제공자가 될 수 있을 것으로 보이며 향후 생체 실험 연구의 참고 자료로서도 가치가 있을 것으로 보인다.

#### 참고문헌

- 1. Barry FP, Murphy JM. Mesenchymal stem cells: clinical applications and biological characterization. Int J Biochem Cell Biol. 2004;36(4):568-84.
- 2. Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. Science. 1999;284(5411):143-7.
- 3. Yang SE, Ha CW, Jung M, et al. Mesenchymal stem/progenitor cells developed in cultures from UC blood. Cytotherapy. 2004;6(5):476-86.
- 4. Deans RJ, Moseley AB. Mesenchymal stem cells: biology and potential clinical uses. Exp Hematol. 2000;28(8):875-84.
- 5. Deasy BM, Li Y, Huard J. Tissue engineering with muscle-derived stem cells.

  Curr Opin Biotechnol. 2004;15(5):419-23.
- 6. Huard J, Cao B, Qu-Petersen Z. Muscle-derived stem cells: potential for muscle regeneration. Birth Defects Res C Embryo Today. 2003;69(3):230-7.
- 7. Satomura K, Krebsbach P, Bianco P, Gehron Robey P. Osteogenic imprinting upstream of marrow stromal cell differentiation. J Cell Biochem. 2000;78(3):391-403.
- 8. Ratajczak MZ, Zuba-Surma EK, Machalinski B, Kucia M. Bone-marrow-derived stem cells—our key to longevity? J Appl Genet. 2007;48(4):307-19.

- 9. Reyes M, Verfaillie CM. Characterization of multipotent adult progenitor cells, a subpopulation of mesenchymal stem cells. Ann N Y Acad Sci. 2001:938:231-3; discussion 3-5.
- 10. Yoon SH, Shim YS, Park YH, et al. Complete spinal cord injury treatment using autologous bone marrow cell transplantation and bone marrow stimulation with granulocyte macrophage-colony stimulating factor: Phase I/II clinical trial. Stem Cells. 2007;25(8):2066-73.
- 11. Kern S, Eichler H, Stoeve J, Kluter H, Bieback K. Comparative analysis of mesenchymal stem cells from bone marrow, umbilical cord blood, or adipose tissue. Stem Cells. 2006;24(5):1294-301.
- 12. **Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, et al.** *Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. Cytotherapy. 2006;8(4):315-7.*
- 13. Moon YL, Song CH, Noh KH, Lee SJ, Lee HJ, Kim SH. Isolation and Phenotypic Characterization of Multipotent Mesenchymal-like Stem Cells from Human Subacromial Bursa. Tissue Engineering and Regenerative Medicine. 2009;5:527-32.
- 14. Minguell JJ, Erices A, Conget P. Mesenchymal stem cells. Exp Biol Med (Maywood). 2001;226(6):507-20.

- 15. Mareschi K, Biasin E, Piacibello W, Aglietta M, Madon E, Fagioli F. Isolation of human mesenchymal stem cells: bone marrow versus umbilical cord blood. Haematologica. 2001;86(10):1099-100.
- 16. Zuk PA, Zhu M, Ashjian P, et al. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. Mol Biol Cell. 2002;13(12):4279-95.
- 17. Lee MW, Yang MS, Park JS, Kim HC, Kim YJ, Choi J. Isolation of mesenchymal stem cells from cryopreserved human umbilical cord blood. Int J Hematol. 2005;81(2):126-30.
- 18. Toma JG, McKenzie IA, Bagli D, Miller FD. Isolation and characterization of multipotent skin-derived precursors from human skin. Stem Cells. 2005;23(6):727-37.
- 19. Fukuchi Y, Nakajima H, Sugiyama D, Hirose I, Kitamura T, Tsuji K. Human placenta-derived cells have mesenchymal stem/progenitor cell potential. Stem Cells. 2004;22(5):649-58.
- 20. Sudo K, Kanno M, Miharada K, et al. Mesenchymal progenitors able to differentiate into osteogenic, chondrogenic, and/or adipogenic cells in vitro are present in most primary fibroblast-like cell populations. Stem Cells. 2007;25(7):1610-7.

**Table 1.** Various source-derived stem cells multi-lineage differentiations in vitro

	Neurogenesis	Adipogenesis	Oteogenesis
UCB	67(65)	54(29)	57(39)
BM	6(6)	5(5)	5(4)
BST	8(8)	8(8)	8(5)

( ) : positive results

Table 2. Expression of marker ratio from various sources

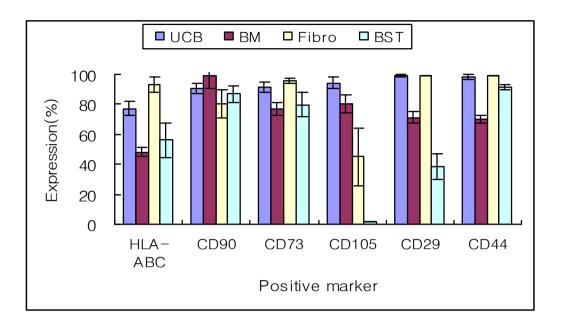


Table 3. List of Figures

	hBM-MSCs*	hBST-MSCs †	hUCB-MSCs‡
CD73	76.8 (+)	79.85 (+)	83.91(+)
CD29	<b>CD29</b> 71.30 (+)	38.53 (+/ <sup>low</sup> )	95.63 (+)
CD44	70.00 (+)	91.13 (+)	94.70(+)
CD90	<b>CD90</b> 99.50 (+)	87.01 (+)	84.65(+)
CD105 80.30 (+)	1.87 (-)	96.10(+)	
HLA-ABC	48.20 (+/ <sup>low</sup> )	56.09 (+)	67.85(+)

<sup>\*</sup> hBM-MSCs : human bone marrow originated mesenchymal stem cells

<sup>†</sup> hBST-MSCs : human bursal tissue originated mesenchymal stem cells

<sup>\*</sup> hUCB-MSCs : human umbilical cord blood originated mesenchymal stem cells

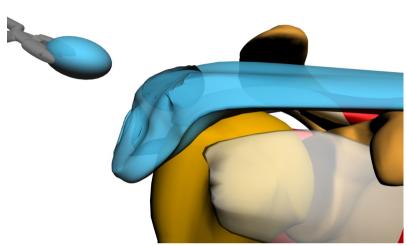


Fig. 1. The illustration reveals collection of subacromial bursa during shoulder surgery.

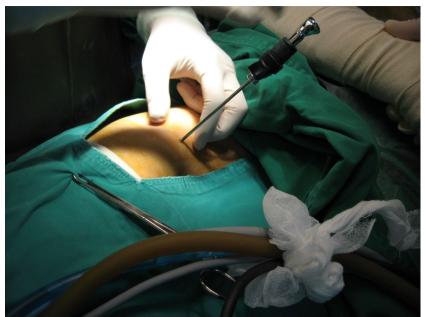


Fig. 2. The bone marrow aspirates are collected in a syringe containing heparin.

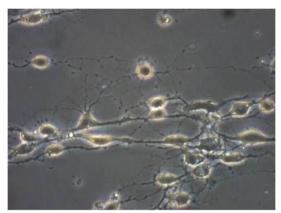


Fig. 3. Culturing the UCB with the neurogenesis induction media, subcultured colonies revealed astrocyte, large nuclei, axon and dentrite cells.

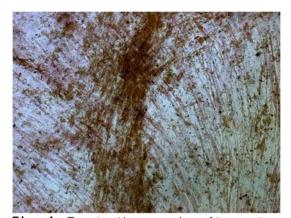


Fig. 4. Two to three weeks after osteogenic medial culture for the UCB, and we can identified osteogenic potential by von Kossa staining (X100).

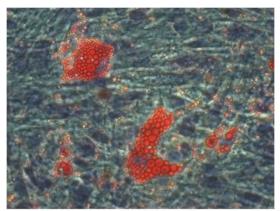


Fig. 5. Adipogenesis was detected by the formation of neutral fat vacuoles stainable with Oil Red O, as demonstrated for UCB-derived cells (X320).

저작물 이용 허락서						
학	과	의학과	학 번	20087198	과 정	석사
성	명	한글: 강정훈 한문 : 姜政勳 영문 : Jeong Hoon Kang				
주	소	광주시 서구 풍암동 금호@ 101동 1303호				
연르	악처	E-MAIL : kangjh0315@hanmail.net				
		한글 : 줄기세포의 분화능의 기원에 따른 비교 - 견봉하 점액낭, 골수, 탯줄 혈액 -				
논문제목		영문 : Differential Potential of Stem Cells Following Their Origin - Subacromial Bursa, Bone Marrow, Umbilical Cord Blood -				

본인이 저작한 위의 저작물에 대하여 다음과 같은 조건 아래 -조선대학교가 저작물을 이용할 수 있도록 허락하고 동의합니다.

- 다음 -

- 1. 저작물의 DB 구축 및 인터넷을 포함한 정보통신망에의 공개를 위한 저작물의 복제, 기억장치에의 저장, 전송 등을 허락함.
- 2. 위의 목적을 위하여 필요한 범위 내에서의 편집과 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 의사 표시가 없을 경우에는 저작물의 이용기간을 계속 연장함.
- 5. 해당 저작물의 저작권을 타인에게 양도하거나 출판을 허락을 하였을 경우에는 1 개월 이내에 대학에 이를 통보함.
- 6. 조선대학교는 저작물 이용의 허락 이후 해당 저작물로 인하여 발생하는 타인에 의한 권리 침해에 대하여 일체의 법적 책임을 지지 않음.
- 7. 소속 대학의 협정기관에 저작물의 제공 및 인터넷 등 정보통신망을 이용한 저작물의 전송·출력을 허락함.

동의여부 : 동의( 0 ) 반대( )

2010년 2월

저작자: 강 정 훈 (인)

### 조선대학교 총장 귀하