원 저

근위축성측삭경화증 환자에서 자가 골수유래 중간엽줄기세포치료의 유효성 및 안전성

한양대학교 의과대학 신경과학교실, 코아스템[a], 한양대학교 과학기술대학 분자생물과학부[b], 한양대학교 의과대학 해부세포생물학교실[c]

김현영 백진영[a] 박희경 최미란[b] 윤현수[c] 김경숙[a] 김승현

Efficacy and Safety of Autologous Bone Marrow-derived Mesenchymal Stem Cell Treatment in Patients With Amyotrophic Lateral Sclerosis

Hyun Young Kim, MD, Jin-Young Paek[a], Hee Kyung Park, MD, Mi Ran Choi, PhD[b], Hyun Soo Yoon, PhD[c], Kyung Suk Kim, MD[a], Seung Hyun Kim, MD

Department of Neurology, College of Medicine, Hanyang University Hospital, Seoul, Korea; Bioengineering Institute, CoreStem Inc., Seoul, Korea[a]; Division of Molecular and Life Sciences, Hanyang University, Ansan, Korea[b]; Department of Anatomy and Cell Biology, College of Medicine, Hanyang University, Seoul, Korea[c]

Background: This study was performed to investigate the efficacy and safety of intrathecal autologous bone marrow-derived mesenchymal stem cells (MSCs) treatment for patients with ALS.
Methods: After a lead-in period for 3 months, 22 patients were treated with MSCs twice at an interval of 1 month. After initial MSCs injection, all patients were followed up for 3 months and their disease course, clinical characteristics were assessed. Disease status of patients were analyzed with ALS functional rating scale-revised (ALSFRS-R) for primary outcome measure, and additional clinical findings after treatment were all collected for secondary outcome measure and safety. Age and disease-duration matched patients with ALS were selected as a control group.
Results: During the follow-up period, MSCs treatment yielded a significant lesser change of ALSFRS-R score, compared to control group (1.54 vs 3.56, $p<0.01$). Moreover, the slop of decline of ALSFRS-R was significantly lower during the follow-up period, compared to the lead-in period in MSCs treatment group (2.68 vs 1.54, $p=0.04$), whereas the slopes during the two periods were not different in the control group (3.15 vs 3.56, $p=0.37$). MSCs treatment was well tolerated except for occurrences of transient headache, low back pain, and myalgia.
Conclusions: Our results show that intrathecal MSCs injection can slow disease progression and might be used as a disease modifying modality as an alternative treatment choice in patients with ALS.
J Korean Neurol Assoc 27(2):163-169, 2009

Key Words: Autologous bone marrow-derived mesenchymal stem cell, Amyotrophic lateral sclerosis, Efficacy, Safety

서 론

근위축성측삭경화증(Amyotrophic Lateral Sclerosis, ALS)은 대뇌와 척수의 상위 운동신경세포(upper motor neuron)와 하위 운동신경세포(lower motor neuron)의 사멸에 의한 난치성, 비가역 신경퇴행성 변화를 특징으로 하는 대표적 운동신경원 질환이다.[1] 아직까지 정확한 원인 기전은 밝혀지지 않았으나, 최근에는 신경성장인자(neuronal growth factor)의 부족과 신경염증(neuroinflammation)이 중요한 발병 원인으로 주목받고 있다.[2] 특히, 근위축성측삭경화증 쥐모델이나 실제 환자의

Received April 10, 2009 Revised April 16, 2009
Accepted April 16, 2009
* **Seung Hyun Kim, MD**
Department of Neurology, College of Medicine, Hanyang University
17 Haengdang-dong, Seongdong-gu, Seoul, 133-792, Korea
Tel: +82-2-2290-8371 Fax: +82-2-2296-8370
E-mail: kimsh1@hanyang.ac.kr
* 본 연구는 과학기술부KOSEF 2008-04304 과제 지원과 바이오기술사업화 지원사업 BT-BSP-CBPG-2006-03 지원에 의하여 이루어진 것임.

운동신경세포 주변에서 활성화된 미소교질세포(microglia), 성상교질세포증(astrocytosis), 림프구의 침윤이 관찰되었으며,[3,4] 줄기세포치료는 이러한 병리학적 이상을 변화시키려는 치료법이다.[5]

질병의 경과를 변화시킬 수 있는 뚜렷한 약제가 없어 근위축성측삭경화증은 줄기세포치료의 주요 대상질환이 되고 있다.[6,7] 특히, 최근 근위축성측삭경화증 환자에서 중간엽줄기세포(Mesenchymal stem cells, MSCs)를 이용한 연구에 의하면 중대한 이상 반응 없이 줄기세포 치료는 신경염증을 완화시키고 성장인자를 분비함으로써 운동신경세포의 생존을 연장시킨다는 결과들이 있어 줄기세포의 효과를 기대할 수 있게 되었다.[8-10]

그러나, 기존 연구들은 소수의 환자에게 적용한 예에 불과하며, 객관적인 유효성을 검증할 수 있는 결과를 보여주지 못하였다. 그러므로, 본 연구자들은 검증된 임상척도를 이용하여 동일한 상태의 환자들을 대조군으로 선정하고 치료 전,후의 임상경과를 비교함으로서 통계학적인 유효성을 확인하고자 하였으며, 줄기세포에 대한 효과에 근거해 치료에 대한 반응군을 분류하여 특성을 분석하고자 하였다. 또한, 줄기세포치료 후 환자에게 나타나는 모든 임상 양상들을 확인하여 유효성과 함께 이상반응의 유무와 정도를 확인하고자 하였다.

대상과 방법

1. 대상

1) 줄기세포치료군

줄기세포치료를 위한 대상군은 루게릭병 클리닉에 내원한 환자 중 El Escorial revised criteria[11]에 합당한 근위축성측삭경화증 환자를 대상으로 하였으며 질병경과가 비슷한 환자군을 유지하기 위하여 다음의 기준을 적용하였다. 포함기준으로 (1) El Escorial revised criteria, probable 이상, (2) 25~80세, (3) ALS functional rating scale-revised (ALSFRS-R) 20점 이상, (4) 자가 도보나 보호자 도움 하에 외래에 방문할 수 있는 경우, (5) 본인 및 보호자가 동의서에 서명한 환자를 선정하였으며, (1) El Escorial revised criteria, suspicious 이하, (2) 기관절개술이나 위루술을 받은 환자, (3) Forced vital capacity (FVC) 20% 이하, (4) 심한 내과적 질병이 합병된 환자, (5) 지난 3개월 이전에 다른 임상연구 약물을 투여 받은 경력이 있는 경우, (6) 악성 종양이 의심되거나 심인성 쇼크의 위험이 있는 경우에는 치료대상군에서 제외하였다.

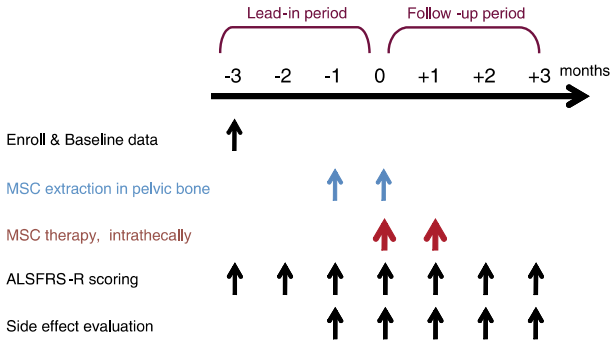

Figure 1. Study flow.

2007년 1월 이후로 연구가 진행되었고 총 35명의 치료대상 환자가 등록되었다. 등록된 환자 중 3명은 골수채취 시작 전에 동의서를 철회하였으며, 1명은 2차 입원 당시 질병의 자연경과에 의한 호흡근력 약화와 폐렴이 악화되어 호흡정지로 사망하였다. 현재까지 총 22명의 환자가 유효성 평가를 위한 3개월 추적관찰이 완료되었다.

2) 대조군

본원 루게릭병 클리닉에서는 환자의 질병 경과에 따라 1개월 내지 2개월 간격으로 환자의 정기 검진을 실시하며 임상경과 관찰을 위해 ALSFRS-R 척도를 측정한다. 환자들 중에 줄기세포치료에 동의하지 않으나 치료군과 동일한 포함기준과 제외기준에 합당한 경우 대조군으로 선정하였다. 나이와 증상 발생 시점이 비슷한 환자들을 선정한 결과 총 32명의 대조군이 성립되었다.

2. 줄기세포치료

1) 전체 임상연구 과정

도입기(lead-in period) 3개월과 추적관찰기(follow-up period) 3개월을 포함하여 총 6개월간 환자의 경과를 관찰하였다(Fig. 1). 줄기세포치료를 위해 개개인 환자별로 2개월의 준비과정이 소요되었으므로 1차 골수채취 2개월 전, 즉 1차 줄기세포치료 3개월 전(-3 months)이 대상군 등록 및 연구시작 시점이 되었다. 채취된 골수에서 충분한 양의 중간엽줄기세포 획득에 1개월이 소요되었으므로 1차 골수채취 이후 1개월이 지난 시점이 1차 줄기세포 투여시점이 되었으며, 이 시점(0 month)을 기준으로 하여 도입기와 추적관찰기로 나누어 연구를 진행하였다. 한 달 간격으로 2차례 줄기세포치료를 하였으며 1차 줄기세포치료 시점(0 month) 이후 3개월간 환자의 임상경과를 관찰하였다.

임상연구 기간 내에 Rilutek 용량의 변경이나 시작, 중단은 허용되지 않았으며, 근력이나 침분비의 양을 변화시킬 수 있는 약제들 또한 용량의 변경이 허용되지 않았다. 그러나, 일반적인

비타민제나 coenzyme Q, 크레아틴과 같은 건강보조약제의 사용 및 용량 변경은 허락되었다.

이상의 모든 연구과정은 본원 임상시험심사위원회(교육 제2006-339호)와 식품의약품안전청(생물의약품팀-47호, 생물의약품안전팀-16002)의 승인을 득한 후에 시작되었으며, 환자들이 충분히 임상연구과정에 대해 설명을 듣고 동의서와 설명문에 승락한 경우에 줄기세포치료군으로 등록되었다.

2) 줄기세포의 획득

본 연구에 사용된 성체 중간엽줄기세포의 획득과정은 다음과 같다. 환자 본인의 엉덩뼈 능선부위에서 두 차례(-1 month, 0 month)에 걸쳐 골수채취를 하였다. 밀도기울기(density gradient)를 이용하여 단핵구를 분리하였으며 Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) 용액으로 두 차례 세척하였다. 이후 20만/cm^2 농도로 seeding하여 5% 이산화탄소, 37℃ 환경을 유지하였다. 3일 후 플라스크에 부착되지 않은 세포를 제거하였으며 일주일에 두 번씩 배양액을 교체해 주었다. 10~12일 후 부착된 세포의 증식을 위해 0.25% trypsin/EDTA를 이용하여 세포를 플라스크 표면에서 탈락시켜서 4만/cm^2 농도로 seeding하고 증식하는 과정을 반복하였다. 최종적으로 2차 계대배양을 마친 중간엽줄기세포를 치료에 이용하였으며, 치료 직전 외부 독소, 세균 및 바이러스검사, 핵형 분석, 염색체 변이검사, 세포표면항원검사를 통해 줄기세포의 안전성을 확인한 후에 환자에게 적용되었다.

3) 줄기세포치료 방법

줄기세포의 투여는 L2-3 수준에서 경질막내주사(intrathecal injection)를 사용하였으며, 한 달 간격으로 두 차례에 걸쳐 1 kg당 1×10^6개의 세포를 5 mL의 자가 척수액에 희석하여 약 2분간 주입하였다. Mannitol을 정맥내 투여하여 혈액뇌장벽 투과성을 높이고자 하였으며,[12] 줄기세포 투여 후 Trendelenburg 자세를 하여 줄기세포가 흉추 및 경추 부위까지 도달하게 하였다.

3. 유효성 및 안전성 평가

1) 일차 유효성 평가

줄기세포치료군 환자들에서는 1개월 간격으로 도입기 3개월과 추적관찰기 3개월 동안의 ALSFRS-R 변화를 관찰하였다. ALSFRS-R 척도는 기존 연구에 의해 신뢰도와 타당성이 확립된 한글판 ALSFRS-R을 사용하였다.[13] 대조군에서도 3개월 단위로 나누어 ALSFRS-R 점수를 확인하였으며, 줄기세포치료군과 대조군 사이의 점수 변화량 차이를 분석하였다. 또한, 각각 3개월 동안의 점수 차이를 대조군에서의 점수 변화 차이와 비교하였다. 또한, 치료군 내에서의 변화량 차이를 확인하기 위해 1차 줄기세포치료시점(0 month)을 기준으로 하여 치료 전후 3개월 사이의 점수 변화량 차이를 분석하였다.

2) 이차 유효성 평가

줄기세포치료군 환자 중에서 치료에 대한 반응 유무를 파악하고, 치료반응군의 인구통계학적 특징을 확인하고자 하였다. 치료 전 3개월, 도입기 동안의 ALSFRS-R 점수 변화량에 비해 치료 시작 후 3개월, 추적관찰기 동안의 점수 변화량이 상대적으로 낮아서 질병경과의 완화가 있다고 판단되는 경우 치료반응군으로 분류하였으며, 전체 줄기세포치료군 중에 치료반응환자의 비율을 확인하고 인구통계학적 특징을 분석하였다. 또한, 줄기세포 투입 후 환자가 나타내는 객관적, 주관적 임상양상을 정리하여 유익한 반응들을 기술 분석하였다.

3) 이상반응 확인

1차 골수채취 시점을 포함하여 1,2차에 걸친 줄기세포치료와 추적관찰기 동안 환자가 호소하거나 나타내는 이상반응들을 모두 확인하였으며, 증상들의 지속시간과 정도를 파악하였다.

4. 통계적 처리

줄기세포치료군과 대조군 간의 인구통계학적 차이 유무를 확인하고자 Student T-test와 Chi-square 검정을 사용하였으며, 줄기세포의 유용성을 분석하기 위하여 줄기세포치료군과 대조군 간의 비교에는 Mann-Whitney u test를 줄기세포치료군 내에서 치료 전후 비교에는 Wilcoxon singed rank test를 사용하였다.

통계 분석에는 SPSS version 12.0을 사용하였고, p value가 0.05 미만일 경우 통계적으로 유의하다고 판정하였다.

결 과

1. 줄기세포치료군과 대조군의 인구통계학적 분석(Table 1)

줄기세포치료군 22명과 대조군 32명을 대상으로 인구통계학적 차이 유무를 확인한 결과, 나이, 성별, 증상시작 부위를 포함한 증상의 경과기간, Rilutek의 복용유무, 환자등록시점의 ALSFRS-R 점수에서 통계학적 차이가 없어, 양 군이 동일한 조건의 근위축성측삭경화증 환자가 선정되었음을 확인하였다.

Table 1. Baseline characteristics of the stem cell and control groups

	Stem cells group (No=22)	Control group (No=32)	*p* value
Age at baseline (years)	54.1±10.4	54.3±7.1	0.92
Sex (M/F)	14/8	19/13	0.78
Onset region (No)	Bulbar (2) Upper limb (15) Lower limb (5)	Bulbar (5) Upper limb (18) Lower limb (9)	0.64
Symptom duration (months)	21.3±13.8	21.1±12.2	0.95
Number on rilutek treatment	13	25	0.13
Diabetes Mellitus (No)	4	6	0.96
Hypertension (No)	7	8	0.58
Height (cm)	163.6±7.7	163.3±7.3	0.89
Weight (kg)	63.5±10.6	62.2±10.1	0.64
ALSFRS-R score at baseline	40.7±3.7	40.6±2.4	0.94

M; male, F; female, No; number, ALSFRS-R; Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale-revised

Table 2. Comparison of ALSFRS-R scores between the lead-in and follow-up periods after stem cell treatment

Serial No.	ALSFRS-R score at the time of			Changes of ALSFRS-R		Response
	- 3 mo.	0 mo.	+ 3 mo.	-3 ~ 0 (lead-in period)	0 ~ +3 (follow-up period)	
Pt 1	36	25	25	11	0	Yes
Pt 2	33	31	28	2	3	no
Pt 3	43	41	38	2	3	no
Pt 4	36	32	28	4	4	no
Pt 5	45	44	44	1	0	Yes
Pt 6	44	39	35	5	4	Yes
Pt 7	41	39	39	2	0	Yes
Pt 9	45	40	35	5	5	no
Pt 11	38	34	28	4	6	no
Pt 12	43	43	45	0	-2	Yes
Pt 13	42	41	39	1	2	no
Pt 14	40	39	39	1	0	Yes
Pt 15	43	39	39	4	0	Yes
Pt 16	44	44	44	0	0	no
Pt 17	41	39	35	2	4	no
Pt 18	46	42	41	4	1	Yes
Pt 19	40	37	35	3	2	Yes
Pt 20	35	33	33	2	0	Yes
Pt 23	45	45	44	0	1	no
Pt 24	41	40	41	1	-1	Yes
Pt 25	37	35	35	2	0	Yes
Pt 26	37	34	32	3	2	Yes

Pt; Patient, ALSFRS-R; Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale-revised

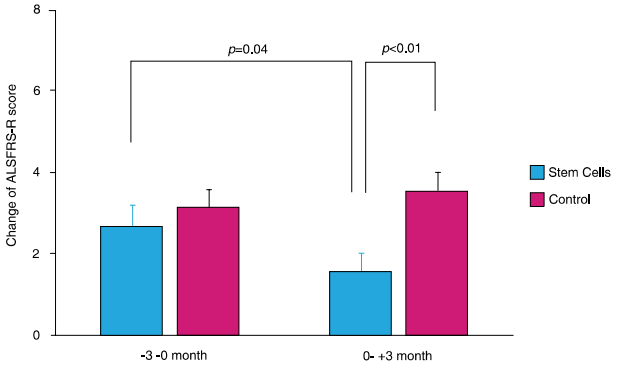

Figure 2. The difference in the changes of ALSFRS-R between stem cell and control groups (Bar indicates standard error).

2. 유효성 평가

1) 일차 유효성 평가 결과(Fig. 2)

줄기세포치료군의 도입기 3개월과 추적관찰기 3개월의 ALSFRS-R점수 변화량은 각각 평균 2.68점, 1.54점이었으며, 대조군의 초기 3개월과 후기 3개월의 변화량은 각각 3.15점, 3.56점이었다. 줄기세포치료군과 대조군 사이의 점수 변화량이 치료 전 3개월간에는 유의한 차이가 없었으나(p=0.37) 치료 후 3개월간에는 통계학적 유의한 차이를 보였으며(p<0.01), 줄기세포치료군 내에서의 치료 전후 비교에서도 점수 변화량이 통계학적으로 유의하게 감소되어 줄기세포치료에 의해 질병의

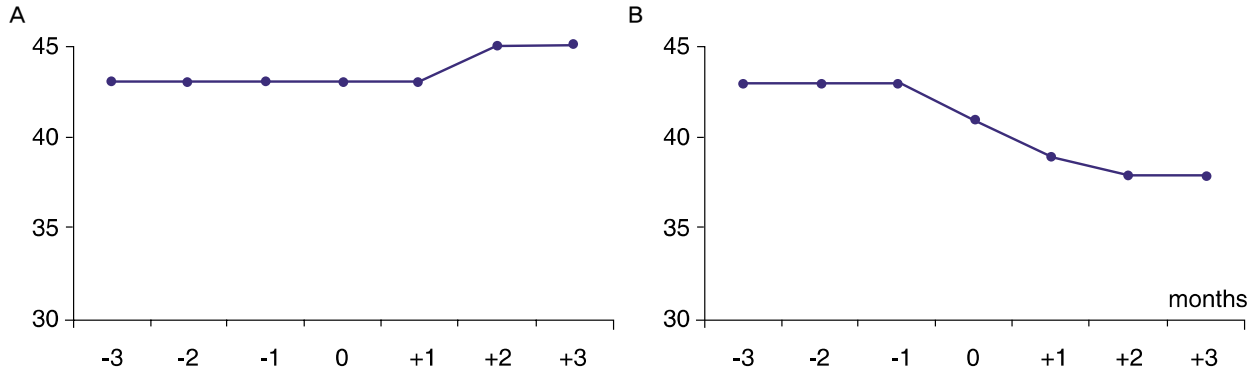

Figure 3. The changing patterns of ALSFRS-R scores in two patients. A; responder (patient 12), B; non-responder (patient 3).

진행이 완화되었음이 확인되었다(p=0.04).

2) 이차 유효성 평가 결과

도입기 3개월과 추적관찰기 3개월 사이의 ALSFRS-R 점수 변화를 비교하여 치료반응군을 정의하였을 때 총 22명의 줄기세포치료군 환자들 중 13명(59.1%)의 환자가 질병경과의 완화를 경험하였다(Table 2). Figure 3은 치료반응군(Fig. 3-A)과 치료미반응군(Fig. 3-B)의 대표적인 예에 대한 ALSFRS-R 점수변화양상을 그래프화한 그림이다.

Table 3은 줄기세포치료 이후 환자에게 나타나는 객관적, 주관적 호전양상을 나열한 것이다. 표에서 열거한 봐와 같이 근력의 향상뿐만 아니라 강직, 근육다발수축, 침흘림의 감소를 나타냈으며, 호흡이 보다 편안해졌다고 보고한 경우도 있었다. 특히, 2명의 환자(Serial No. 12, 24)들에서는 상하지근력의 향상이 뚜렷하여 ALSFRS-R 점수의 향상을 보였다. 이 중 1명(Serial No.12)은 위축된 손근육량이 오히려 증가되어 있었으며 글쓰기와 수저, 젓가락의 사용 능력이 향상되었다.

치료반응군 13명의 나이, 성별, 증상시작 부위, Rilutek의 복용유무를 확인한 결과 미반응군과의 인구학적 특징에서 차이는 없었다(Table 4).

3. 이상반응

줄기세포 치료 후 환자가 호소하는 이상반응은 모두 4가지 종류로 38℃ 이하의 미열, 근육통, 요통과 두통이었다. 전체 22명의 줄기세포치료군 중에서 미열은 11명, 근육통 9명, 요통 3명,

Table 3. Additional clinical findings after stem cell treatment

Serial No.	1	2	3	4	6	7	12	14	15	16	17	18	19	20	23	24	25	26
Improvement of upper limb power	+		+	+		+	+		+	+			+	+				
Improvement of lower limb power			+	+	+		+									+		
Improvement of axial muscle power							+											
Improvement of bulbar funciton					+	+					+		+					
Improvement of spasticity																		+
Decreased fasciculation	+	+		+	+		+	+				+			+			+
Decreased drooling						+												
More comfortable breath		+	+			+												
Increased muscle bulk					+		+	+										

Table 4. Comparison between responders and non-responsers

	Responders (No=13)	Non-responders (No=9)	p value
Age at baseline (years)	57.8±9.7	48.5±9.1	0.60
Sex (M/F)	8/5	6/3	0.81
Onset region (No)	Bulbar (1) Upper limb (9) Lower limb (3)	Bulbar (1) Upper limb (6) Lower limb (2)	0.96
Symptom duration (months)	21.8±14.0	20.6±14.2	0.65
Number on rilutek treatment	9	4	0.25
ALSFRS-R score at baseline	40.6±3.5	40.7±4.2	0.79

M; male, F; female, No; number, ALSFRS-R; Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale-revised

두통 3명에서 나타났다. 이상의 이상반응들은 줄기세포 투여 약 6시간 정도가 지난 시점에 발생되었으며, 모든 환자들에서 약 2일 후에 자연소실되었다. 이외의 중대한 이상반응이 나타난 예는 없었다.

고 찰

비가역적인 질병의 진행을 보이는 근위축성측상경화증의 특징을 고려해 볼 때 본 연구의 결과는 새로운 치료법으로서 줄기세포의 유용성을 보여준다. 이번 연구는 치료군의 대상자수가 적고 이중맹검법을 이용한 대조군 연구가 아니라는 제한점을 가지고 있으나, 줄기세포치료가 질병의 경과를 완화할 수 있는 가능성을 보여준다는 점에서 큰 의미를 갖는다. 또한, 59%의 환자가 치료반응군으로 분류되었으며 줄기세포치료 이후 환자가 여러 기능의 호전을 나타내고 있어, 연속적인 줄기세포 반복투여에 의해 임상경과의 호전이 더욱 지속될 가능성이 있다.

줄기세포는 크게 배아 혹은 태아줄기세포(embryonic or fetal stem cell)와 성체줄기세포(adult stem cell)로 분류된다. 배아 혹은 태아로부터 추출된 줄기세포는 특히 뛰어난 증식과 분화능력, transdifferentiation 능력으로 여러 질환에 걸친 대체 치료법으로 대두되고 있으나,[14] 윤리적인 문제와 종양 발생 가능성으로 인해 실제 환자 연구에 큰 제한점이 되고 있다.[15] 이러한 문제점들로 최근에는 종양의 발생가능성이 없고 윤리적인 문제를 벗어날 수 있는 성체줄기세포를 이용한 연구가 활발히 이루어지고 있으며 본 연구에서도 줄기세포의 장점을 극대화시키고 면역거부반응을 최소화시키기 위하여 환자 본인의 자가 중간엽줄기세포를 사용하였다.

중간엽줄기세포는 다양한 종류의 시토카인과 성장인자들을 분비한다.[16] 이러한 능력은 골수의 미세환경과 조혈작용을 조율하는 능력을 발휘하기도 하고,[17,18] 또한 다발성경화증, 알쯔하이머병 등의 다양한 신경계질환에 적용 가능성을 높이고 있다.[21-23] 중간엽줄기세포에 의해 발현되는 시토카인으로는 IL-1, IL-6, IL-8, MIF, MCP-1 등이 있으며 성장인자들로는 VEGF, GM-CSF 등이 있다.[18,24] 이러한 시토카인들과 성장인자들은 신경염증을 완화시키고 신경재생을 위한 환경을 조성하는 등의 신경보호효과에 의해 신경계의 손상과 회복에 관여하게 된다.[25-28]

Rilutek 이외에 공인된 치료법이 없는 현실로 인해 근위축성측삭경화증은 줄기세포치료의 주요 표적질환이 되고 있다.[7] Janson 등은 2001년에 3명의 환자에게 말초혈액기원의 CD34+ 줄기세포를 시도한 임상 예를 보고하였으며,[29] Mazzini 등은 9명의 환자에서 중간엽줄기세포를 이용한 세포치료 연구를 진행하였다. T7-9 수준에서 수술적으로 척수를 개방하여 줄기세포를 직접 주입하는 방법을 사용하였으며 환자의 임상경과를 관찰한 결과, 4명의 환자에서 효과가 있었으며 일시적인 신경뿌리병증 증상 이외의 이상반응은 없었다고 보고하였다.[8-10] 이러한 연구들은 줄기세포치료법을 근위축성측삭경화증 환자에게 최초로 적용시켜 유용성과 안전성을 확인한 결과들로서 큰 의의를 가지나 본 연구에서는 다음과 같은 차이점이 있다. 첫째로 20명 이상의 환자를 대상으로 객관적인 통계분석을 시도하였다. 둘째, 두 차례의 줄기세포치료를 통하여 치료효과의 지속성을 높이고자 하였다. 셋째, mannitol을 이용하여 혈액뇌장벽 투과성을 높임으로써 시토카인과 성장인자들의 중추신경계 도달을 극대화하고자 하였다. 마지막으로, 통계적 의의는 없었으나 효과가 있는 치료반응군을 조사함으로써 줄기세포에 유용성을 보이는 환자군을 구별하고자 하였다.

본 연구결과에서는 줄기세포의 유용성에 대한 통계적 분석뿐만 아니라 환자에서 나타나거나 호소하는 반응들을 확인해 보았다. 특히, 근력의 향상과 함께 근육다발수축이 감소하여 일상생활 수행이 용이해진 예들이 있으며, 이러한 호전 양상들은 여러 시토카인과 성장인자 분비능력이 있는 줄기세포가 열악한 운동신경세포의 미세환경을 개선시킴으로서[25-28] 세포의 기능을 활성화한 결과로 추정해 볼 수 있다. 또한, 줄기세포가 투여된 환자군에서 일시적인 이상반응이 나타났으며, 이는 세포의 경질막내 주입에 따른 일시적 뇌막자극증상으로 생각된다. 그러나, 결과에서 열거한 바와 같이 이러한 반응들은 약 2일 후 자연소실되는 것이 확인되어 줄기세포 주입에 따른 중대한 이상반응 가능성은 희박하다고 판단된다. 또한, 본 연구에 사용된 줄기세포는 성체에서 얻어진 자가 골수세포에서 추출된 것으로 종양의 발생가능성이나 이식거부반응은 없다고 추정한다.

본 연구는 추가 진행될 줄기세포치료 임상시험을 위한 연구자주도 임상연구로서 줄기세포치료의 유효성과 안전성을 확인한 연구결과이다. 연구자주도 임상연구의 특성상 충분한 대상환자수를 확보하지는 않았으며, 치료반응군의 정의가 연구자의 주도에 의해 정했다는 점에서 제한점이 있다. 그러나, 줄기세포를 이용한 근위축성측삭경화증 환자의 적용 연구로서는 최초로 통계적 분석을 시도하였으며 향후 진행될 임상시험을 위한 치료 가능성을 확인했다는 점에서 큰 의의가 있다. 향후 연구에서는 다음과 같은 사항을 고려하고자 한다. 첫째, 줄기세포치료에 대한 유효성이 개별 환자별로 차이가 났던 점을 염두하여 개별 줄기세포의 특성들, 특히 시토카인, 성장인자들의 분비능력과 임상적 경과와의 관련성을 확인하고자 하며, 둘째, 추적관찰기를 6개월 이상으로 확대하여 장기간에 걸친 줄기세포치료의 효과유무를 판단할 것이고, 마지막으로 줄기세포치료의 효율성을 높이기 위해 투여 횟수, 용량에 따른 유효성과 안전성에 대한

평가가 이루어져야 할 것이다.

REFERENCES

1. Ince PG, Lowe J, Shaw PJ. Amyotrophic lateral sclerosis: current issues in classification, pathogenesis and molecular pathology. Neuropathol Appl Neurobiol 1998;24:104-117.
2. McGeer PL, McGeer EG. Inflammatory processes in amyotrophic lateral sclerosis. Muscle Nerve 2002;26:459-470.
3. Sargsyan SA, Monk PN, Shaw PJ. Microglia as potential contributors to motor neuron injury in amyotrophic lateral sclerosis. Glia 2005; 51:241-253.
4. Henkel JS, Engelhardt JI, Siklos L, Simpson EP, Kim SH, Pan T, et al. Presence of dendritic cells, MCP-1, and activated microglia/macrophages in amyotrophic lateral sclerosis spinal cord tissue. Ann Neurol 2004;55: 221-235.
5. Appel SH, Engelhardt JI, Henkel JS, Siklos L, Beers DR, Yen AA, et al. Hematopoietic stem cell transplantation in patients with sporadic amyotrophic lateral sclerosis. Neurology 2008;71:1326-1334.
6. Deda H, Inci MC, Kurekci AE, Sav A, Kayihan K, Ozgun E, et al. Treatment of amyotrophic lateral sclerosis patients by autologous bone marrow-derived hematopoietic stem cell transplantation: a 1-year follow-up. Cytotherapy 2009;11:18-25.
7. Silani V, Cova L, Corbo M, Ciammola A, Polli E. Stem-cell therapy for amyotrophic lateral sclerosis. Lancet 2004;364:200-202.
8. Mazzini L, Fagioli F, Boccaletti R, Mareschi K, Oliveri G, Olivieri C, et al. Stem cell therapy in amyotrophic lateral sclerosis: a methodological approach in humans. Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord 2003;4:158-161.
9. Mazzini L, Mareschi K, Ferrero I, Vassallo E, Oliveri G, Boccaletti R, et al. Autologous mesenchymal stem cells: clinical applications in amyotrophic lateral sclerosis. Neurol Res 2006;28:523-526.
10. Mazzini L, Mareschi K, Ferrero I, Vassallo E, Oliveri G, Nasuelli N, et al. Stem cell treatment in Amyotrophic Lateral Sclerosis. J Neurol Sci 2008;265:78-83.
11. Brooks BR, Miller RG, Swash M, Munsat TL. El Escorial revisited: revised criteria for the diagnosis of amyotrophic lateral sclerosis. Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord 2000;1:293-299.
12. Stonestreet BS, Sadowska GB, Leeman J, Hanumara RC, Petersson KH, Patlak CS. Effects of acute hyperosmolality on blood-brain barrier function in ovine fetuses and lambs. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2006;291:R1031-1039.
13. Kim HY, Park KH, Koh SH, Lee SH, Nam YH, Kim J, et al. Korean version of Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale-Revised: A Pilot Study on the Reliability and Validity. J Korean Neurol Assoc 2007;25:149-154.
14. Czyz J, Wiese C, Rolletschek A, Blyszczuk P, Cross M, Wobus AM. Potential of embryonic and adult stem cells in vitro. Biol Chem 2003; 384:1391-1409.
15. Amariglio N, Hirshberg A, Scheithauer BW, Cohen Y, Loewenthal R, Trakhtenbrot L, et al. Donor-derived brain tumor following neural stem cell transplantation in an ataxia telangiectasia patient. PLoS Med 2009;6:e1000029.
16. Kim DH, Yoo KH, Choi KS, Choi J, Choi SY, Yang SE, et al. Gene expression profile of cytokine and growth factor during differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cell. Cytokine 2005;31: 119-126.
17. Majumdar MK, Thiede MA, Haynesworth SE, Bruder SP, Gerson SL. Human marrow-derived mesenchymal stem cells (MSCs) express hematopoietic cytokines and support long-term hematopoiesis when differentiated toward stromal and osteogenic lineages. J Hematother Stem Cell Res 2000;9:841-848.
18. Majumdar MK, Thiede MA, Mosca JD, Moorman M, Gerson SL. Phenotypic and functional comparison of cultures of marrow-derived mesenchymal stem cells (MSCs) and stromal cells. J Cell Physiol 1998; 176:57-66.
19. Dormady SP, Bashayan O, Dougherty R, Zhang XM, Basch RS. Immortalized multipotential mesenchymal cells and the hematopoietic microenvironment. J Hematother Stem Cell Res 2001;10:125-140.
20. Devine SM, Peter S, Martin BJ, Barry F, McIntosh KR. Mesenchymal stem cells: stealth and suppression. Cancer J 2001;7 Suppl 2:S76-82.
21. Lee JK, Jin HK, Bae JS. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells reduce brain amyloid-beta deposition and accelerate the activation of microglia in an acutely induced Alzheimer's disease mouse model. Neurosci Lett 2009;450:136-141.
22. Slavin S, Kurkalli BG, Karussis D. The potential use of adult stem cells for the treatment of multiple sclerosis and other neurodegenerative disorders. Clin Neurol Neurosurg 2008;110:943-946.
23. Zietlow R, Lane EL, Dunnett SB, Rosser AE. Human stem cells for CNS repair. Cell Tissue Res 2008;331:301-322.
24. Liu CH, Hwang SM. Cytokine interactions in mesenchymal stem cells from cord blood. Cytokine 2005;32:270-279.
25. GadientRA, Otten UH. Interleukin-6 (IL-6)--a molecule with both beneficial and destructive potentials. Prog Neurobiol 1997;52:379-390.
26. Fattori E, Lazzaro D, Musiani P, Modesti A, Alonzi T, Ciliberto G. IL-6 expression in neurons of transgenic mice causes reactive astrocytosis and increase in ramified microglial cells but no neuronal damage. Eur J Neurosci 1995;7:2441-2449.
27. Kassis I, Grigoriadis N, Gowda-Kurkalli B, Mizrachi-Kol R, Ben-Hur T, Slavin S, et al. Neuroprotection and immunomodulation with mesenchymal stem cells in chronic experimental autoimmune encephalomyelitis. Arch Neurol 2008;65:753-761.
28. Parr AM, Tator CH, Keating A. Bone marrow-derived mesenchymal stromal cells for the repair of central nervous system injury. Bone Marrow Transplant 2007;40:609-619.
29. Janson CG, Ramesh TM, During MJ, Leone P, Heywood J. Human intrathecal transplantation of peripheral blood stem cells in amyotrophic lateral sclerosis. J Hematother Stem Cell Res 2001;10:913-915.