

반려견 치료를 위한 지방 조직 유래 중간엽 줄기세포 확립

박미령*, 이민국, 이보람, 옥선아, 변승준
농촌진흥청 국립축산과학원 동물바이오통과

Establishment of canine adipose-derived mesenchymal stem cells for clinical application

Mi-Ryung Park*, Min gook Lee, Bo Ram Lee, Sun A Ock, Sung June Byun
Animal Biotechnology Division, National Institute of Animal Science, Rural Development Administration

요약 중간엽 줄기세포는 반려동물의 질병이나 고통으로부터 도움을 줄 수 있을 뿐만 아니라, 삶의 질을 향상시키기 위한 치료로 각광 받고 있다. 최근, 체외배양을 통하여 구축된 중간엽 줄기세포의 안전성과 효율성에 관한 조사가 이루어지고 있는 실정이다. 따라서, 본 연구에서는 반려견의 지방조직으로부터 중간엽 줄기세포를 확립하였다. 비글견 두 마리로부터 지방 조직을(5g) 채취하여 collagenase type I 처리 후 $2-6 \times 10^6$ 세포를 획득하였으며, 젤라틴이 코팅된 75T flask에서 배양하였다. 배양 48시간 후 대부분이 flask에 부착되었으며 섬유아세포와 같은 형태를 가지고 있는 것을 관찰하였다. 배양 5일 후 90% 이상 자란 것을 확인하였고, 계대배양을 실시하였다. 중간엽 줄기세포 마커인 CD44와 CD90을 이용하여 Flow cytometry로 분석한 결과 높게 발현되는 것을 확인하였다. 중간엽 줄기세포의 지방, 연골, 골로 분화능을 확인하기 위하여 Oil red O, alizarin red 그리고 alcian blue로 염색을 진행하였다. 그 결과 분화 유도 4주째에 지방 분화의 경우 Oil red O 염색시 강하게 발현되는 것을 확인하였다. 또한 연골 분화의 경우 calcium nodules과 염색으로 분화가 진행되었음을 확인하였다. 골 분화의 경우 alizarin red로 염색되는 것을 관찰하였다. 또한, 체외 배양한 개 지방 유래 중간엽 줄기세포의 핵형을 확인해 본 결과 78개로 정상적인 것을 확인하였다. 따라서, 본 연구에서는 개 지방 조직으로부터 중간엽 줄기를 성공적으로 확립하였으며, 이는 질병으로부터 고통 받는 반려견에게 유익한 치료 수단으로 이용될 수 있을 것으로 사료된다.

Abstract Mesenchymal stem cells (MSCs) have generated a great deal of interest in recent years as a novel therapeutic application for improving the quality of life of pets and helping to free them from painful conditions and diseases. It has now become critical to address the challenges related to the safety and efficacy of MSCs expanded in vitro. In this study, we establish a standardized process for the manufacture of canine adipose-derived MSCs (cAD_MSCs). Approximately $2-6 \times 10^6$ cells were obtained from adipose tissue (n=2, 5g) after collagenase type I digestion, and 2 were seeded into 75T gelatin coating flasks. After 48 h of growth, a vast majority of cAD_MSCs were attached to the culture plate and exhibited fibroblast-like morphology. The cells grew to 90% confluence after 5 days and were passaged for the first time. MSC surface markers, CD44 and CD90 were highly expressed in the cells of passage 3. The ability to undergo adipogenic, osteogenic, and chondrogenic differentiation in vitro was detected by Oil red O (ORO), alizarin red, and alcian blue staining, respectively. The cAD_MSCs which differentiated to the adipocyte lineage were visualized by staining with ORO on 4 weeks. Calcium nodules were observed and stained red by alizarin red in the cells which differentiated into the osteogenic lineage on 4 weeks. The cells which differentiated to the chondrogenic lineage were detected by alcian blue staining at 4 weeks. The cAD_MSCs were diploid, containing 78 chromosomes, and no abnormalities were detected. In summary, we successfully established a standardized process for manufacturing cAD_MSCs. Clinical research on cAD_MSCs and their application would benefit a large number of sick pet dogs.

Keywords : Mesenchymal Stem Cells, Adipose, Culture, Differentiation, Canine

본 논문은 농촌진흥청 연구사업(RS-2022-RD010357)의 지원에 의해 이루어진 것임.

*Corresponding Authors : Mi-Ryung Park(National Institute of Animal Science)

email: mrpark45@korea.kr

Received September 21, 2023

Revised October 18, 2023

Accepted November 3, 2023

Published November 30, 2023

1. 서론

최근 반려동물의 생존 기간이 길어짐에 따라 노령화된 반려견 및 반려묘에 대한 치료가 증가되고 있는 추세이다. 특히, 질병에 따른 조직이나 장기의 기능을 회복시키기 위한 방법으로 재생치료가 주목받고 있으며, 그 중 하나가 줄기세포를 이용한 치료이다. 줄기세포는 배아줄기세포와 성체줄기세포로 나뉘며, 배아줄기세포는 전능성을 가지고 있어 모든 조직으로 분화 될 수 있을 뿐만 아니라, 모든 장기나 조직의 질병에 치료 효과를 가질 수 있다. 하지만, 수정란을 사용하기 때문에 윤리적인 문제가 있다. 반면, 성체줄기세포는 배아줄기세포보다는 분화능력에 제한적인 부분이 있으나 윤리적인 문제에서는 벗어날 수 있다는 점에서 가장 주목받고 있는 연구 분야이다. 성체 줄기세포 중 중간엽 줄기세포는 Fredenstein 등(1970)[1]에 의해 처음으로 분리 구축되었으며, 지방, 간, 신장, 폐, 비장, 뇌, 근육, 흉선, 췌장 등 다양한 조직으로부터 채취가 가능하다[2,3]. 1999년 Thomas 등[4]은 개 골수 유래 줄기세포를 분리하여, 이식한 성공적인 사례로 알려져 있다. 성체 중간엽줄기세포는 심장질환, 연골계 질환, 신경계 질환 치료제로서 사용 되고 있다 [5,6]. 특히, 골수 유래 중간엽 줄기세포의 경우 채취 할 때 통증이나 적은 세포수가 단점으로 꼽히고 있는 반면, 지방 유래 중간엽줄기세포의 경우 채취시 골수와 달리 통증이나 적은 세포수와 같은 단점을 보완 할 수 있는 장점을 가지고 있다.

따라서, 본 연구에서는 지방 조직으로부터 중간엽 줄기세포를 확립하고 세포치료제로서 활용하기 위하여 세포 수준에서 세포의 특성 및 분화능력을 확인하고자 실험을 진행하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 지방 조직 채취

본 연구에 공시된 동물은 24개월령 수컷 비글견 2두로부터 복부 검사 인대 조직 유래 지방을 채취하였으며, 전북대학교 동물실험 윤리기준에 따라 이루어졌다 (CBNU 2020-084). 지방 조직은 4~10℃로 유지된 1% penicillin/streptomycin (Gibco, USA)이 함유된 DMEM (Hyclone, USA)에 침지하여 실험실로 운반하였다.

2.2 세포 분리 및 배양

비글견의 복부 지방 조직을 동일한 양의 Dulbecco's phosphate-buffered saline(DPBS)로 세척 한 후 collagenase type I(STEMCELL Tech, 0.25%)로 1시간 동안 37℃에서 incubation 하였다. PBS로 300xg에서 5분간 2회 원심분리 후 상층액을 제거하여 세포 펠렛을 회수하였다. 100 μm의 나일론 메쉬를 이용하여 큰 입자의 불순물을 제거하고, 기본 배양액인 ADMEM (advanced Dulbecco's modified Eagle medium, Gibco-BRL, Grand Island, USA)에 10% FBS(Fetal bovine serum, Gibco BRL, Grand Island, NY, USA)와 50 ng/ml Gentamycin (Gibco BRL, Grand Island, NY, USA), 1x Pen-Strep (Gibco BRL, Grand Island, NY, USA), 1x GlutaMax(Gibco BRL, Grand Island, NY, USA), 5 ng/ml bFGF (Gibco BRL, Grand Island, NY, USA, 5ng/ml)를 첨가하여 5% CO₂, 37℃에서 배양하였다. 2시간 후 배지를 교환하여 부착되지 않은 세포들을 제거하였으며, 3일 동안 세포 배양을 실시하였다. 계대배양은 3일에 한번씩 실시하였으며, 일부 세포는 실험에 공시하기 위하여 동결보존을 실시하였다.

2.3 줄기세포 전사 인자 및 분화 인자 발현 분석

줄기세포 전사인자 발현은 Oct-4, Sox-2, Nanog의 발현을 Realtime RT-PCR(Reverse transcription polymerase chain reaction)로 확인하였다. 유전자 primer는 표1에 설명한 것과 같으며, GAPDH를 housekeeping gene으로 사용하였다. Total RNA는 RNeasy plus mini kit(Qiagen, Hilden, Germany)로 추출하였으며, cDNA 합성은 SuperScript IV First-Strand Synthesis System (Invitrogen, Vilnius, Lithuania)를 이용하여 37℃에서 60분간 실시하였다. Realtime RT-PCR은 predenaturation은 95℃에서 10분, 95℃에서 10초, 60℃에서 30초, 72℃에서 30초 조건에서 40 cycle로 진행하였으며, Table 1과 같은 primer를 이용하여 Realtime RT-PCR을 실시하였다.

Table 1. The primer sequence for Realtime RT-PCR amplification

Primers	Sequences
OCT4	F: CGAATCAGCCACATTGC
	R: CACACTCGGACCACATCCTTCT

SOX2	F: CCCCTTTATTTCCGTAGTTGTATT
	R: GATTCTCGGCAGACTGATTCAA
NANOG	F: TCAGGACAGCCCGGATTCT
	R: CCAGAGGTGGGTGGGAGTTCA
PPARG	F: GAAAGCTGTTGGCGGAGAT
	R: CCGGAGATCAGCCGACTCT
LPL	F: GCCGTGGAGTGGGAACAG
	R: GCCCGAAGTGGCTGGTT
LEP	F: ACCGTATGGGTGTCCTTTATCCT
	R: GAAGAGTGGCTCTGTGGTGTGA
SOX9	F: GCGTGCAGCACAGAAGAC
	R: GGCCGTTCTTCACCGACTT
ACAN	F: CCGAGGCAACGTGATCCT
	R: CATCGGTGGCGAAAGTGAA
COL2A1	F: CATCGGGCTGTCTGCTT
	R: ATTGCAATGGATTGTGTTT
ALP	F: GGCGTCCACGAGCAGAAC
	R: CGATGCAGGCCGATAA
SSP1	F: ACGAGTCTGATGAATCCGATGAA
	R: AATTGGGTTGCTGGAATGTCA
RUNX2	F: AAGCCCTCCTGTAGGATGCA
	R: ACGCTTGAGAATTTGCCATGT
GAPDH	F: CAAGGCTGTGGCAAGGT
	R: GGAAGGCCATGCCAGTGA

2.4 Flow cytometry 분석

지방 유래 중간엽줄기세포의 특성을 확인하기 위하여 특정 CD 마커를 이용하여 Flow cytometry 분석을 진행하였다. 본 실험은 기존 실험에서 진행한 방법을 준수하여 진행하였다[7]. 계대배양 중인 3 passage 세포를 0.25% trypsin-ethylenediamine teraacetic acid(EDTA) 처리 후 DPBS로 2회 washing 처리하였다. 1×10^6 cells/ml 농도로 확인 후 anit-CD90-APC(Invitrogen, USA)과 anti-CD44-FITC (Santa Cruz Biotechnology, USA) antibodies를 1:100으로 조절하여 1시간 동안 처리하였다. Isotype control로는 immunoglobulin(Ig) G2b-FITC(Santa Cruz Biotechnology) for CD44와 IgG2b APC(Invitrogen, USA) for CD90을 이용하였다. Flow cytometric(FACSCanto; Becton-Dickinson, USA) analysis를 이용하여 10,000 cells/sample 리딩하여 분석을 진행하였다. 데이터는 FlowJo software (Tree Star, USA)를 이용하여 분석하였다.

2.5 체외 분화능 분석

지방 조직 유래 중간엽 줄기세포는 3-passage까지

동일한 배양조건에서 계대배양하여 약 70% confluence에 도달하였을 때 골, 연골 그리고 지방 세포로 4주 동안 분화를 유도하였다. 각 세포의 분화는 MSCs Adipogenic Differentiation Kit(Gibco StemPro, USA), Osteogenic Differentiation Kit(Gibco StemPro, USA) 그리고 Chondrogenic Differentiation Kit(Gibco StemPro, USA)를 이용하였다.

2.6 Karyotype 분석

염색체 핵형 분석은 37°C, 5% CO₂ 조건에서 계대배양 후 70% 수준으로 배양되었을 때 실시하였다. 세포 배양액을 제거한 후 Hypotonic solution(0.075M KCl + 1% Sodium citrate, Merck)를 37°C에서 25분간 처리한 후 1,500rpm에서 10분간 원심분리하였다. 상층액을 제거한 후 고정액(Methanol:Acetic acid=3:1, Merck)을 추가하여 20분간 실온에서 처리한 후 원심분리를 실시하고 세포를 이용하여 슬라이드 표본을 제작하였다. GTG-banding chromosomes를 확인하기 위해 Giemsa(Muto Pure Chemicals Ltd., Tokyo)로 염색하였으며, 현미경 하(Olympus BX60, 1000배)에서 40 개 세포분열 중기 상태에 있는 세포를 관찰하여 판독하였다.

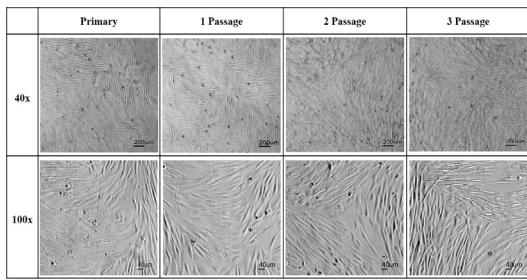
2.7 통계처리

통계처리는 SAS Enterprise Guide 7.1 프로그램을 이용하였으며, t-test로 처리구간 유의성 검정을 실시하였고, *p* 값은 0.05 이상인 것을 통계적 유의성이 있는 것으로 판단하였다(*p*<0.05, Mean±SE).

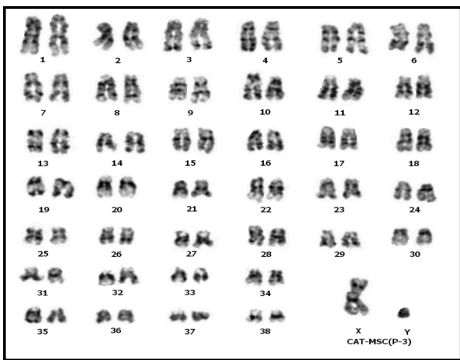
3. 결과 및 고찰

3.1 개 지방조직 유래 중간엽 줄기세포 구축

비글견의 복부 지방으로부터 세포를 분리한 후 배양한 결과 섬유아세포 유사 형태의 세포로 자라는 것을 확인하였으며, 1~3 passage까지 계대배양한 후 동결 보존하였다(Fig. 1a). 본 연구에서 배양한 세포의 karyotype 분석을 진행한 결과 78개의 XY로 이상이 없음을 확인하였다(Fig. 1b).



(a)



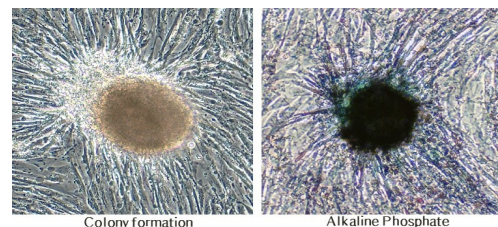
(b)

Fig. 1. Representative photographs showing the culture morphology of canine adipose-derived cells (a) and karyotype analysis (b). Morphological characteristics of canine adipose-derived cells from primary, passage 1, passage 2 and passage 3(a).

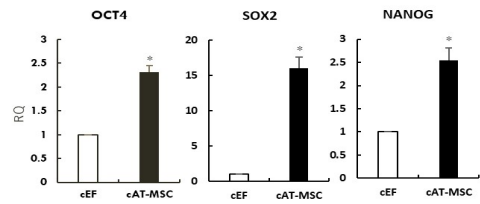
이러한 중간엽줄기세포는 개체의 발생과정 중 다양한 조직에서 발견되며, 성체에서는 골수에 존재하는 것으로 알려져 왔으나, 제대혈과 지방 등 여러 조직에서 분포하고 있음이 밝혀졌다[8]. 특히, 지방세포의 경우 체내에 굉장히 많이 분포하고 있어 자가줄기세포를 이용한 임상 연구 및 치료에 그 활용 가치가 높을 것으로 여겨진다. 중간엽 줄기세포를 치료용으로 활용 되기 위해서는 형태학적 특성, 분화능력에 일관성이 있어야 할 뿐만 아니라, 유전학적으로 안정적이어야 한다[9]. 본 연구에서 확립한 중간엽 줄기세포의 경우 계대배양을 진행하면서 형태학적 변화를 확인한 결과 방추상의 섬유아세포 모양으로 바닥에 부착되어 자라는 정상적인 특징을 가지고 있는 것을 확인하였다. 체외에서 지속적으로 배양 할 경우 유전학적 이상이 발생하기도 하며 이로 인하여 핵형에도 변화가 있다고 보고된 바 있다[10,11]. 따라서 3 passage까지 계대 배양하여 분석한 결과 정상적인 핵형을 가지고 있음을 확인하였다.

3.2 중간엽 줄기세포의 전능성 및 분화능 분석

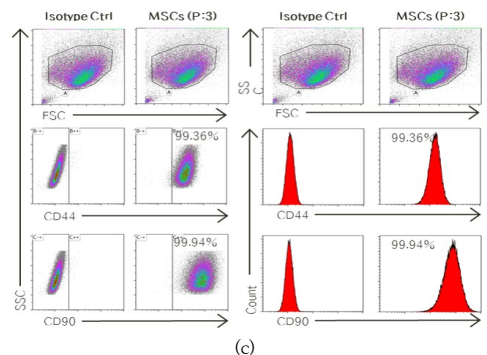
Fig. 2에서 보는 바와 같이, 지방조직 유래 중간엽 줄기세포의 전능성 여부를 확인하기 위하여 colony 형성과 alkaline phosphatase(AP) activity를 확인하기 위하여 염색을 실시한 결과, 모든 세포에서 자주색으로 나타남으로써 positive 한 결과를 확인하였다(Fig. 2a). 줄기세포의 초기 전사인자 발현을 확인하기 위하여 OCT4, SOX2, NANOG 발현을 Realtime RT-PCR로 분석한 결과 대조구 그룹인 개 귀조직 유래 섬유아세포(cEF, canine ear fibroblast cells) 보다 유의적으로 높게 나타남을 확인할 수 있었다(Fig. 2b). 또한, 유세포 분석기(Flow cytometry)를 이용하여 분석한 결과 중간엽 줄기세포 표지 인자인 CD44와 CD90에서 99% 이상 높게 나타남을 확인하였다(Fig. 2c). 따라서, 본 연구에서 분리한 중간엽 줄기세포는 전능성을 지니고 있음을 확인할 수 있었다.



(a)



(b)



(c)

Fig. 2. Primary colony formed MSCs derived from lipid tissues. Detected AP activity(a), expression of the early transcription factors (b) and surface molecule markers CD44, CD90(c).

지방 조직 유래 중간엽 줄기세포의 분화능력을 확인하기 위하여 Fig. 3에서 보는 바와 같이, 중간엽 줄기세포를 이용하여 각각 지방, 연골, 골로 분화를 유도하였다. 분화배양액에서 4주간 배양 후 세포의 형태 변화를 관찰하고 유전자 발현 여부도 분석하였다. 지방 유래 중간엽 줄기세포를 지방세포 분화 유도 배양액에서 배양 후 Oil Red O로 염색한 결과, 붉은색으로 나타나는 지방 방울들이 형성되는 것을 확인할 수 있었으며, Adipocyte 관련 유전자인 PPARG(peroxisome proliferator-activated receptor gamma), LPL(lipoprotein lipase) 그리고 LEP(leptin) 유전자도 미분화 세포 보다 유의적으로 높게 발현됨을 확인하였다(Fig. 3a).

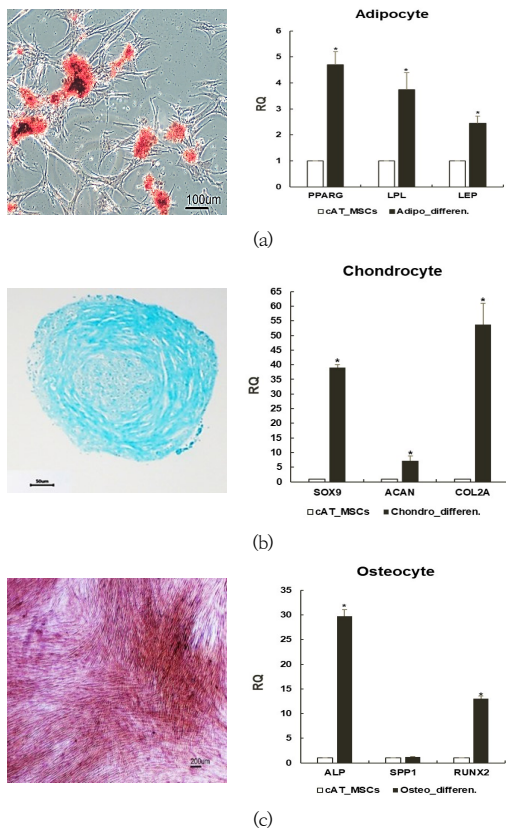


Fig. 3. cA_MSCs are differentiated into adipogenic, osteogenic and chondrogenic lineages. Adipogenic induction was assessed by oil red o staining for accumulation of the lipid droplets (a), osteogenic induction was assessed by von Kossa staining for identification of the mineralized matrix (b), and Alcian blue solution staining for synthesis of glycosaminolglycans in chondrocytes (b). Markers for differentiation were detected by Realtime RT-PCR.

연골세포로 분화 유도 배양액에서 4주간 배양한 결과 Fig. 3b와 같이 세포가 동그랗게 한곳으로 뭉쳐지는 것을 확인하였으며, Alcian blue로 염색한 결과, 푸른색으로 염색된 연골 기질을 확인 할 수 있었다(Fig. 3b). 또한, Chondrocyte 관련 유전자인 SOX9(sry-box transcription factor9), ACAN(aggrecan) 그리고 COL2A(collagen type II alpha 1 chain) 유전자의 발현이 분화를 유도한 세포에서 유의적으로 높게 나타남을 확인하였다(Fig. 3b). 골세포로 분화 유도한 그룹의 세포를 이용하여 von Kossa 염색을 실시 한 결과 짙은 흑갈색으로 염색된 골기질의 구조를 관찰할 수 있었으며, Osteocyte 관련 유전자인 ALP(alkaline phosphatase)와 RUNX2(runt-related transcription factor 2) 유전자는 분화 유도한 그룹에서 유의적으로 높게 나타나는 것을 확인하였으나, SPP1(secreted phosphoprotein 1) 유전자의 경우 두 그룹 간 유의적 차이는 인정되지 않았다(Fig. 3c).

성체 조직 유래 중간엽 줄기세포의 경우 이식시 손상된 조직을 회복시키거나 부분적으로 정상 기능을 되찾게 할 수 있는 치료제로써 활용되고 있다. 이러한, 중간엽 줄기세포는 중간엽 유래의 조직인 뼈, 심근, 연골뿐만 아니라 신경, 피부, 폐, 간, 신장, 비장 등으로도 분화 할 수 있다고 보고된 바 있다[12-19]. 본 연구에서도 지방, 연골 그리고 뼈 조직으로 분화가 되었음을 확인함으로써 추후 줄기세포를 이용한 조직 재생 연구뿐만 아니라 치료제 연구에도 도움이 될 수 있을 것으로 사료된다.

4. 결론

본 연구 결과를 바탕으로 개 지방 조직으로부터 중간엽 줄기세포를 분리, 배양하였으며 구축한 세포주를 통하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

- (1) 비글견 복부 지방으로부터 세포를 분리 및 배양하였으며, 3 passage 까지 계대배양을 실시하였고, 핵형 분석 결과 78개의 정상적인 염색체를 지니고 있음을 확인하였다.
- (2) 지방 조직 유래 중간엽 줄기세포의 전능성을 확인한 결과 콜로니 형성 및 AP 염색이 확인되었다. 또한, 전능성 관련 전사인자의 발현도 유의적으로 높게 나타남을 확인하였다.
- (3) 중간엽 줄기세포의 분화 능력을 확인하기 위하여 지방, 연골, 골로 각각 분화 유도한 결과 세 조직

으로 분화가 일어남을 확인하였다.

따라서, 본 연구에서는 반려견 개체에 많이 존재하는 지방을 이용하여 줄기세포를 구축함으로써 골수 채취 유래 중간줄기세포 보다는 용이하게 활용할 수 있을 것으로 사료된다. 이러한 연구를 토대로 향후 반려견의 노령화에 따른 질병을 치료 할 수 있는 세포치료제로써 기여할 수 있을 것으로 사료된다.

References

- [1] A. J. Friedenstein, R. K. Chailakhian, K. S. Lalykina, "The development of fibroblast colonies in monolayer cultures of guinea-pig bone marrow and spleen cells." *Cell Tissue Kinet*, Vol.3, No.4, pp.393-403, 1970. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2184.1970.tb00347.x>
- [2] P. A. Zuk, M. Zhu, H. Mizuno, J. Huang, J. W. Futrell, A. J. Katz, P. Benhaim, H. P. Lorenz, M. H. Hedrick, "Multilineage Cells from Human Adipose Tissue: Implications for Cell-Based Therapies." *Tissue Eng*, Vol.7, No.2, pp.211-228, 2001. DOI: <https://doi.org/10.1089/107632701300062859>
- [3] L. da Silva Meirelles, P. C. Chagastelles, N. B. Nardi, "Mesenchymal stem cells reside in virtually allpost-natal organs and tissues." *Journal of Cell Science*, Vol.119, No.11, pp.2204-2213, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1242/jcs.02932>
- [4] S. Crippa, A. Conti, V. Vavassori, S. Ferrari, S. Beretta, S. Ravis, R. Bosotti, S. Scala, S. Pirroni, R. Jofra-Hernandez, L. Santi, L. Basso-Ricci, I. Merelli, P. Genovese, A. Aiuti, L. Naldini, R. Di Micco, M. E. Bernardo, "Mesenchymal stromal cells improve the transplantation outcome of CRISPR-Cas9 gene-edited human HSPCs." *Molecular Therapy*, Vol.31, No.1, pp.230-248, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2022.08.011>
- [5] S. Ohnishi, B. Yanagawa, K. Tanaka, Y. Miyahara, H. Obata, M. Kataoka, M. Kodama, H. Ishibashi-Ueda, K. Kangawa, S. Kitamura, N. Nagaya, "Transplantation of mesenchymal stem cells attenuates myocardial injury and dysfunction in a rat model of acute myocarditis." *J Mol Cell Cardiol.*, Vol.42, No.1, pp.88-97, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2006.10.003>
- [6] J. T. Vilquin, P. Rosset, "Mesenchymal stem cells in bone and cartilage repair: current status." *Regen Med.*, Vol.1, No.4, pp.589-604, 2006. DOI: <https://doi.org/10.2217/17460751.1.4.589>
- [7] H. Wi, S. Lee, Y. Kim, J. G. No, P. Lee, B. R. Lee, K. B. Oh, T. Y. H. S. A. Ock, "Immunosuppression-enhancing effect of the administration of allogeneic canine adipose-derived mesenchymal stem cells (cA-MSCs) compared with autologous cA-MSCs in vitro." *J Vet Sci.*, Vol.22, No.5, pp.e63, 2021. DOI: <https://doi.org/10.4142/jvs.2021.22.e63>
- [8] H. M. Blau, T. R. Brazelton, J. M. Weimann, "The evolving concept of a stem cell: entity or function?" *Cell*, Vol.105, No.7, pp.829-841, 2001. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(01\)00409-3](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(01)00409-3)
- [9] M. Dominici, K. L. Blanc, I. Mueller, I. Slaper-Cortenbach, F. C. Marini, D. S. Krause, R. J. Deans, A. Keating, D. J. Prockop, E. M. Horwitz, "Minimal criteria for defining multipotentmesenchymal stromal cells. The InternationalSociety for Cellular Therapy position statement." *Cytotherapy*, Vol.8, No.4, pp.315-317, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1080/14653240600855905>
- [10] C. Hanson, G. Caisander, "Human embryonic stem cells and chromosome stability." *APMIS* Vol.113, pp.751-755, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0463.2005.apm.305.x>
- [11] M. P. Imreh, K. Gertow, J. Cedervall, C. Unger, K. Holmberg, K. Szöke, L. Csöreg, G. Fried, S. Dilber, E. Blennow, L. Ahrlund-Richter, "In Vitro Culture Conditions Favoring Selection of Chromosomal Abnormalities in Human ES Cells" *Journal of Cellular Biochemistry*, Vol.99, No.2, pp.508-516, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1002/jcb.20897>
- [12] S. Khalid, S. Ekram, A. Salim, G. R. Chaudhry, I. Khan, "Transcription regulators differentiate mesenchymal stem cells into chondroprogenitors, and their in vivo implantation regenerated the intervertebral disc degeneration." *World J Stem Cells*, Vol.26, No.14, pp.163-182, 2022. DOI: <https://doi.org/10.4252/wjsc.v14.i2.163>
- [13] T. L. Arinze, S. J. Peter, M. P. Archambault, B. C. van den, S. Gordon, K. Kraus, A. Smith, S. Kadiyala, "Allogeneic mesenchymal stem cells regenerate bone in a critical-sized canine segmental defect." *J. Bone & Joint Surg*, Vol.85, No.10, pp.1927-1935, 2003. DOI: <https://doi.org/10.2106/00004623-200310000-00010>
- [14] J. R. Chamberlain, U. Schwarze, P. R. Wang, R. K. Hirata, K. D. Hankenson, J. M. Pace, R. A. Underwood, K. M. Song, M. Sussman, P. H. Byers, D. W. Russell, "Gene targeting in stem cells from individuals with osteogenesis imperfecta." *Science*, Vol.20, No.303, pp.1198-1201, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.1088757>
- [15] K. H. Grinnemo, A. Mansson, G. Dellgren, D. Klingberg, E. Wardell, V. Drvota, C. Tammik, J. Holgersson, O. Ringden, C. Sylven, K. Le Blanc, "Xenoreactivity and engraftment of human mesenchymal stem cells transplanted into infarcted rat myocardium." *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, Vol.127, No.5, pp.1293-1300, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jtcvs.2003.07.037>
- [16] F. P. Barry, J. M. Murphy, "Mesenchymal stem cells: clinical applications and biological characterization." *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, Vol.36, No.4, pp.568-584, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2003.11.001>

[17] K. Sugaya, "Potential use of stem cells in neuroreplacement therapies for neurodegenerative diseases." *Int. Rev. Cytol.*, Vol.228, pp.1-30, 2003.
DOI: [https://doi.org/10.1016/s0074-7696\(03\)28001-3](https://doi.org/10.1016/s0074-7696(03)28001-3)

[18] A. Chapel, J. M. Bertho, M. Bensidhoum, L. Fouillard, R. G. Young, J. Frick, C. Demarquay, F. et al., "Mesenchymal stem cells home to injured tissues when co-infused with hematopoietic cells to treat a radiation-induced multi-organ failure syndrome." *J. Gene Med.*, Vol.5, No.12, pp.1028-1038, 2003.
DOI: <https://doi.org/10.1002/jgm.452>

[19] L. A. Ortiz, F. Gambelli, C. McBride, D. Gaupp, M. Baddoo, N. Kaminski, D. G. Phinney, "Mesenchymal stem cell engraftment in lung is enhanced in response to bleomycin exposure and ameliorates its fibrotic effects." *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, Vol.100, No.14, pp.8407-8411, 2003.
DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1432929100>

박 미 령(Mi-Ryung Park)

[정회원]



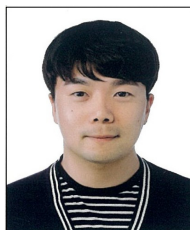
- 2000년 2월 : 경상대학교 낙농학과 (농학석사)
- 2005년 2월 : 경상대학교 응용생명과학부 (이학박사)
- 2010년 1월 ~ 2012년 12월 : 건국대 동물자원 전임연구원
- 20013년 1월 ~ 현재 : 농촌진흥청 국립축산과학원 농업연구사

<관심분야>

동물발생, 생명공학

이 민 국(Min gook Lee)

[정회원]



- 2017년 8월 : 전북대학교 동물생명공학과 (학사)
- 2023년 2월 : 전북대학교 축산학과 (농학석사)
- 2019년 9월 ~ 현재 : 농촌진흥청 국립축산과학원 농업연구사

<관심분야>

동물생명공학, 줄기세포, 오가노이드

이 보 램(Bo Ram Lee)

[정회원]



- 2011년 2월 : 서울대학교 농생명공학부 (농학박사)
- 2016년 3월 ~ 2019년 1월 : 서울대학교 농업생명과학연구원 선임연구원
- 2019년 2월 ~ 현재 : 농촌진흥청 국립축산과학원 농업연구사

<관심분야>

동물생명, 줄기세포

옥 선 아(Sun A Ock)

[정회원]



- 2001년 2월 : 경상대학교 생물학과 (동물학석사)
- 2004년 2월 : 경상대학교 생물학과 (동물학박사)
- 2011년 12월 ~ 현재 : 농촌진흥청 국립축산과학원 농업연구사

<관심분야>

발생학, 줄기세포학, 재생의학

변 승 준(Sung June Byun)

[정회원]



- 1997년 8월 : 경북대학교 유전공학과 (이학석사)
- 2003년 2월 : 가톨릭대학교 의학과 (의학박사)
- 2006년 8월 ~ 현재 : 농촌진흥청 국립축산과학원 농업연구사/관

<관심분야>

동물생명공학