

반복자기자극이 지방유래 중간엽 줄기세포 증식과 활성화에 미치는 영향



The Journal Korean Society of Physical Therapy

- 김수정, 박해운¹, 조윤우², 이준하³, 서정민⁴, 신현진⁴, 강재훈², 안상호²
- 영남대학교 의과대학연구소, ¹대구가톨릭대학교 의과대학 재활의학교실, ²영남대학교 의과대학 재활의학교실, ³영남대학교 생화학분자생물학교실, ⁴영남대학교 의료공학연구소

Effect of Repetitive Magnetic Stimulation on Proliferation and Viability of Adipose Tissue-Derived Stromal Cells

Su-Jeong Kim, PhD; Hea-Woon Park, MD, PhD¹; Yun-Woo Cho, MD, PhD²; Joon-Ha Lee, PhD³; Jeong-Min Seo⁴; Hyoun-Jin Shin, PhD⁴; Jae-Hoon Kang²; Sang-Ho Ahn, MD, PhD²

Institute of Medical Science, Yeungnam University; ¹Department of Rehabilitation Medicine, School of Medicine, Catholic University of Deagu; ²Department of Rehabilitation Medicine, College of Medicine, Yeungnam University; ³Department of Biochemistry and Molecular Biology, Yeungnam University; ⁴Institute of Biomedical Engineering, Yeungnam University

Purpose: This study examined the effect of repetitive magnetic stimulation (RMS) on the viability and proliferative response of human adipose tissue-derived stromal cells (hATSCs) in vitro.

Methods: The hATSCs were cultured primarily from human adipose tissue harvested by liposuction and incubated in a 37°C plastic chamber. The cells were exposed to a repetitive magnetic field using a customized magnetic stimulator (Biocon-5000, Mcube Technology). The RMS parameters were set as follows: repetition rate=10Hz, 25Hz (stimulus intensity 100%= 0.1 Tesla, at 4cm from the coil), stimulated time= 1, 5, and 20 minutes. Twenty four hours after one application of RMS, the hATSCs were compared with the sham stimulation, which were kept under the same conditions without the application of RMS. The cells were observed by optical microscopy to determine the morphology and assessed by trypan blue staining for cell proliferation. The apoptosis and viability of the hATSCs were also analyzed by fluorescence-activated cell sorting (FACS) analysis of Annexin V and MTT assay.

Results: After RMS, the morphology of the hATSCs was not changed and the apoptosis of hATSCs were not increased compared to the sham stimulation. The viability of the cells was similar to the cells given the sham stimulation. Interestingly, the level of hATSC proliferation was significantly higher in all RMS groups.

Conclusion: The application of RMS may not cause a change in morphology and viability of hATSCs but can increase the level of cell proliferation in vitro. RMS might be useful as an adjuvant tool in combination with stem cell therapy without adverse effects.

Keywords: Repetitive magnetic stimulation, Human adipose tissue-derived stromal cells, Viability, Apoptosis, Proliferation

논문접수일: 2009년 8월 10일

게재승인일: 2009년 9년 11일

교신저자: 안상호, spineahn@ynu.ac.kr

1. 서론

뇌손상 및 척수손상 후 장애를 최소화하고 신경기능의 회복을 촉진시키기 위하여 여러 가지 치료방법을 시도하고 있다. 최근

에는 신경 재생을 유도하기 위한 치료적 접근으로서 배아 줄기 세포, 간엽 줄기세포, 조혈모세포, 신경줄기세포, 후각신경의 신경아교세포 및 인체지방조직에서 분리된 기질세포 등을 이식하는 줄기세포 이식치료가 많이 시도되고 있다.¹ 그 중에서 기질

줄기세포인 지방줄기세포를 이용한 세포이식 치료는 다른 줄기세포와 비교하여 세포를 구하기가 용이하며, 윤리적인 문제로 인한 제약이 적은 장점이 있다. 또한 지방줄기세포를 뇌경색과 척수손상 모델에 이식하여 기능향상을 유도한 실험들이 계속 보고되고 있다.^{2,3} 하지만 임상적으로 괄목할 만한 호전을 보인 경우는 아직 없는 상태이다. 따라서 보다 효과적인 치료성과를 얻기 위하여 줄기세포 이식치료 단독적인 방법에 보조적인 치료방법을 병행한 복합적인 치료적 접근이 필요하다.

반복자기자극은 비침습적인 방법으로서 통증과 부작용이 적으면서 조직에 깊숙이 침투할 수 있어 신경, 근골격계 물리치료 분야에서 이용이 많아지고 있으며, 피부재생, 신경손상에 의한 근위축 감소, 골절치료 등에 응용되고 있다.^{4,6} 반복자기자극은 기능적 자기자극으로서 편마비 환자의 견관절 아탈구의 호전과 척수손상 후 호흡기능, 소화기능, 방광기능의 회복을 위하여 사용되어 지고 있으며,^{7,8} 복압성 요실금 등 비뇨기계 질환에서도 많이 사용되어지고 있다.⁹ 또한 경두개 반복자기자극은 우울증, 파킨슨병에 효과적일 뿐 아니라^{10,11} 대뇌피질의 흥분도를 변화시키고, 운동 및 인지기능, 실어증, 난치성 신경병증성 통증 등에도 긍정적 효과를 보고하고 있다.¹²⁻¹⁶ 그 외에도 실험적 연구에서 반복자기자극이 신경 손상 후 신경세포의 돌기(dendrite)의 성장, 축삭의 길이 증가 등에도 효과가 있다고 보고 되면서 신경재생을 위한 치료의 한 방법으로서 관심이 증가하고 있다.¹⁷⁻¹⁹ 반복자기자극의 치료효과에 대한 많은 연구와 함께 세포 독성 및 안정성에 대한 연구로서 반복자기자극이 여러 종류의 세포에서 세포막변화, 세포증식, 세포활성 등에 영향을 미친다고 보고되고 있지만^{20,22} 반복자기자극이 줄기세포에 어떠한 영향을 미치는지에 대해서는 아직 연구된 바가 없다. 이에 저자들은 줄기세포 이식치료와 병행한 반복자기자극의 치료효과를 알아보기에 앞서, 반복자기자극이 사람의 지방줄기세포의 유래가 되는 지방유래 중간엽 줄기세포의 모양, 증식, 세포사멸(apoptosis), 활성(viability) 등에 어떠한 영향을 미치는지 관찰함으로써 반복자기자극의 지방유래 중간엽 줄기세포에 대한 생리학적 영향과 안전성에 대하여 알아보려고 하였다.

II. 연구방법

1. 지방유래 중간엽 줄기세포 초대배양

수술실에서 공여자로부터 얻은 지방조직을 PBS가 담긴 50ml 튜브에 담아 무균대로 옮겨와서 70% 에탄올이 담긴 새 접시로 옮겨 5-10초 정도 빨리 소독하고 새 접시로 두 차례 더 옮겨가며 PBS로 헹구었다. 지방조직에서 세포 분리를 위해 digestion buffer (collagenase type I, 1 mg/ml, GibcoBRL)를 넣어

가위로 충분히 세절하여 50ml 튜브에 넣어 37°C 교반항온수조에서 250 rpm으로 20분간 반응시킨 후 동량의 10% 우태아 혈청(FBS)을 포함한 Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM, low glucose)을 넣어 효소의 작용을 막았다. 혼합액을 구멍의 직경이 각각 300 μ m, 100 μ m 인 스테인레스 스틸 그물에 차례대로 통과시켜 불필요한 지방조직을 걸러냈다. 50ml 튜브에 걸러진 용액을 넣고 2000rpm에서 3분 동안 원심분리하여 상층액을 버린후, 새 배지를 넣어 한 번 더 원심분리한 후에 직경 35mm의 배양용 접시에 세포를 넣고 10% FBS, 1% antibiotics가 포함된 DMEM 배지를 첨가하여 37°C, 5% CO₂ 조건으로 배양기에서 배양하였다.

2. 반복자기자극

지방유래 중간엽 줄기세포에 대한 자기장 자극을 위하여 BioCon-5000 (M-cube technology, 한국) 기종의 주문제작한 반복자기자극 기기를 이용하였다. 자기장 자극시 세포를 37°C가 유지되는 환경을 만들기 위하여 가로, 세로, 높이가 12×15×6cm인 플라스틱 상자에 항온수조를 연결하여 상자안의 온도가 37°C가 되도록 자체 제작하였다. 상자안에 배양접시를 넣고 코일에서 4 cm 떨어진 위치에 두어 진동이 전달되지 않은 상태로 자기장 자극이 가능하도록 하였다(Figure 1). 지방유래 중간엽 줄기세포에 적용되는 자기장 자극의 조건은 0.1 tesla (T)의 자극강도로 하였고, 자극빈도와 기간을 각각 10Hz, 25Hz(자극3초 휴식6초)와 1분, 5분, 20분으로 설정하였다. 여섯군의 자기장 자극군(RMS group)을 설정하여 각 군들에 대하여 반복자기자극을 1회 시행하였다. 모든 배양접시는 자기장 자극 1일전에 새 배지로 교체하였으며, 대조군은 각각 자기장 자극군과 동일한 시간동안 같은 조건으로 37°C 상자에 두면서 자기장 자극만 적용하지 않은 sham 자극군(sham stimulation group)과 37°C, 5% CO₂ 환경의 배양기에 그대로 둔 상태로 배양한 대조군(control group)으로 하였다.

3. 세포의 형태, 세포사멸과 활성도 및 세포증식의 확인

자기장 자극을 시행하기 전에 추출한 지방유래 중간엽 줄기세포를 배양접시에 담고 배양 4일째 자기장 자극군과 대조군 모두에서 세포들이 제대로 부착(adhesion)되어 초대배양이 정상적으로 이루어졌는지를 먼저 광학현미경으로 확인하였다. 여섯군의 자기장 자극군을 각각의 조건으로 자기장 자극을 시행한 후 1일간 배양기에서 배양한 뒤 광학현미경으로 지방유래 중간엽 줄기세포들의 형태변화를 다시 관찰하였다.

반복자기자극 후 지방유래 중간엽 줄기세포의 세포사멸 정도를 확인하기 위하여 Annexin V detection kit (BD Biosciences, 미국)을 이용하여 분석하였다. 이 방법은 세포사멸

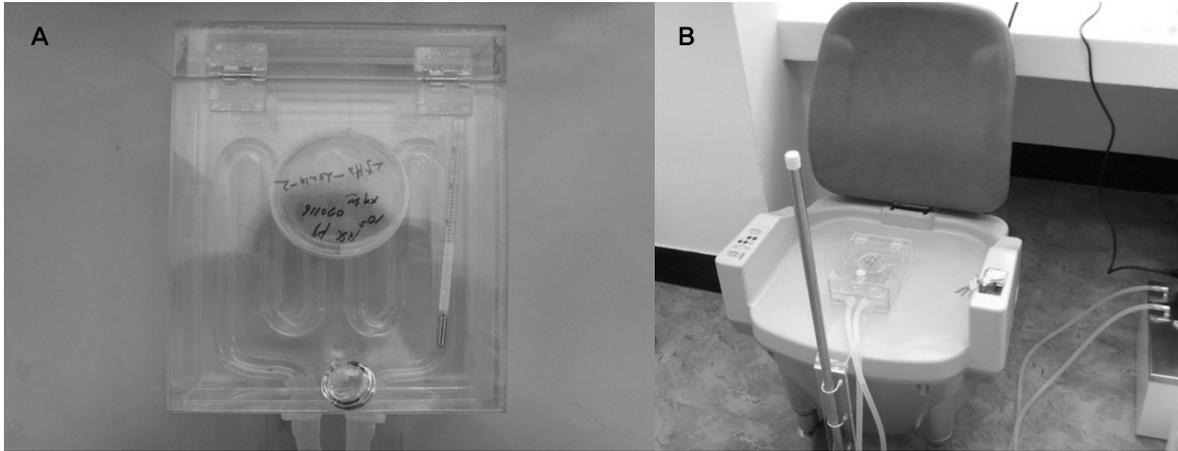


Figure 1. Human ATSCs plated on petridish (35mm diameter) were incubated in plastic chamber (A) in which the temperature of 37 ± 0.5 °C was maintained by circulating warmed water, and placed at the center of the top surface with 4 cm distance from the coil of the customized repetitive magnetic stimulator (B). ATSCs: adipose tissue-derived stromal cells.

이 시작되면 세포막 안쪽에 위치하는 phosphatidylserine (PS) 이 세포 밖으로 노출되어 칼슘의존성 인지질 결합 단백질인 Annexin V와 결합하게 되는데, 이 결합한 세포를 검출하는 방식이다. 간단히 요약하면, 반복자기자극 1일 후 지방유래 중간엽 줄기세포를 모아서 phosphate buffered saline (PBS)를 첨가하여 원심분리한 후 binding buffer 100 μ L를 첨가하고 Annexin V-fluorescein isothiocyanate (FITC)를 5 μ L 첨가하여 암실에서 15분간 반응시킨 뒤 binding buffer 400 μ L를 더 첨가하여 FACS (Fluorescence activated cell sorter, BD, 미국)를 이용하여 분석하였다.

또한 지방유래 중간엽 줄기세포의 세포 활성도를 측정하기 위해 MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide) colormetric reduction assay를 이용하였으며, 이는 탈수소 효소작용에 의하여 노란색의 수용성 기질인 MTT tetrazolium을 청자색을 띄는 비수용성의 MTT formazan으로 환원시키는 미토콘드리아의 능력을 이용하는 검사 방법으로, 세포가 살아있으며 대사가 왕성한 세포의 정도를 반영한다. 자기장 자극이 끝난 지방유래 중간엽 줄기세포를 96-공 플레이트 (96-well plate)에 옮겨 2일 더 배양하고 난 뒤 배지를 제거하고 200 μ L 새배지를 첨가하고 50 μ L/well(2mg/ml) MTT 시약을 처리하여 암상태로 4시간 두었다. MTT 시약이 들어있는 배지를 제거하고 DMSO(Dimethyl sulfoxide, Sigma, 미국)를 처리하여 천천히 흔들어진 후 formazan 결정체가 용해된 후 microplate reader(EL800, 미국)로 570nm에서 흡광도를 측정했다.

반복자기자극이 지방유래 중간엽 줄기세포의 증식에 미치는

영향을 알아보기 위하여 반복자기자극을 시행한 후 2일간 더 배양하였다. 자기장 자극군과 대조군을 각각 trypan blue 시약으로 염색한 후 혈구계(hemocytometer)를 이용하여 증식된 세포의 수를 계산하여 비교하였다.

4. 통계처리

자기장 자극군과 대조군 간의 차이를 SPSS version 14.0을 이용하여 Student's ttest로 통계처리 하였으며 통계학적인 유의수준은 p 값이 0.05 미만인 경우로 하였으며, 측정변수의 값은 평균±표준편차로 표시하였다.

III. 결과

1. 지방유래 중간엽 줄기세포의 형태 변화

반복자기자극을 시행하기 전 자기장 자극군과 대조군 모두에서 지방유래 중간엽 줄기세포들이 배양접시에 정상적으로 부착하여 자라고 있음을 광학현미경으로 확인하였으며(Figure 2A), 두 군간의 차이는 없었다. 다양한 조건의 반복자기자극 시행 1일 후 세포들의 형태 변화를 다시 관찰하였다. 반복자기자극 후 지방유래 중간엽 줄기세포의 형태적인 변화는 삼 자극군(Figure 2B) 및 대조군(Figure 2C)과 비교하여 차이가 없음을 확인하였다(Figure 2D-2I).

2. 반복자기자극이 세포사멸에 미치는 영향

반복자기자극에 의한 세포사멸이 일어나는 정도를 확인하고 사

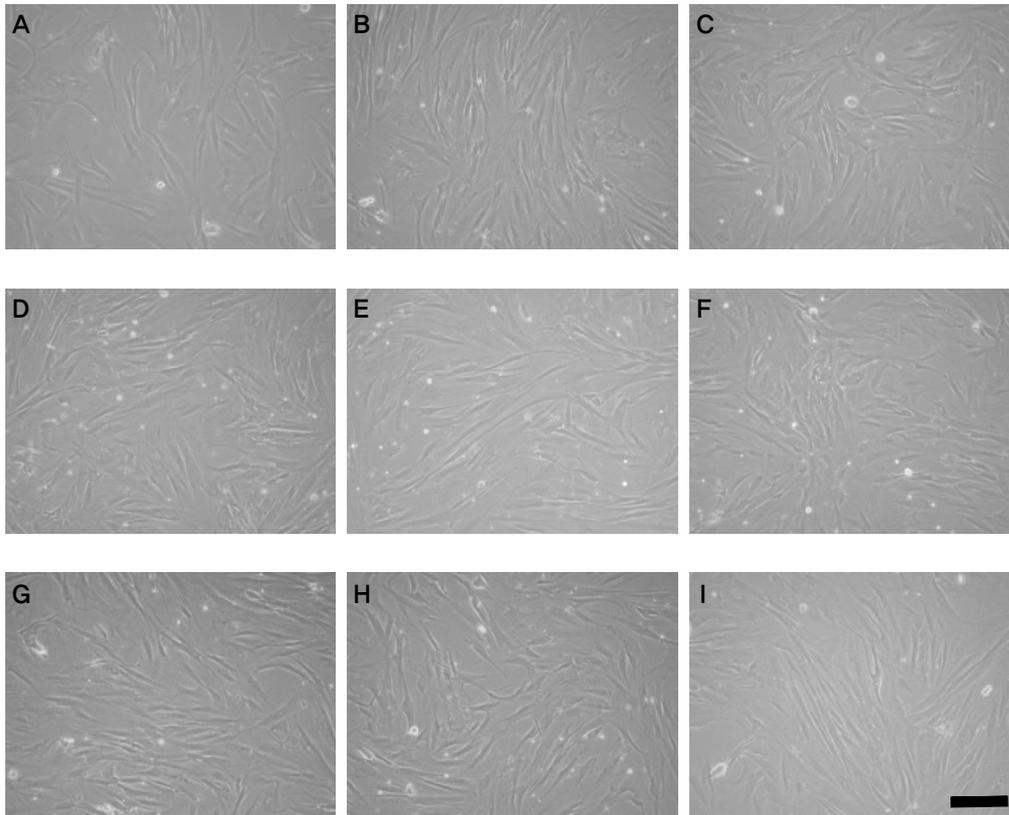


Figure 2. Morphology of hATSCs. The hATSCs were cultured primarily in poly-L-lysine-coated dish (35mm) for 4 days (A). One dish was placed in a chamber without RMS for sham stimulation (B) and another dish in an incubator for control (C). The others were placed in a chamber with RMS (D:10Hz 1min, E:10Hz 2min, F:10Hz 5min, G:25Hz 1min, H:25Hz 5min, I:25Hz 20min). Photographs were taken on 5th days. There was no difference in morphology of hATSCs among all groups. hATSCs: human adipose tissue-derived stromal cells, RMS: repetitive magnetic stimulation, Scale bar = 50 μ m.

떨되는 세포수를 정량하기 위해 Annexin V 로 염색하였다. sham 자극군과 대조군 사이의 Annexin V와의 결합 정도는 차이가 없었으며 온도만 37°C로 유지시킨 sham 자극군이 이산화탄소 (CO₂) 농도 5%, 온도 37°C로 유지시킨 대조군과 마찬가지로 세포사멸이 거의 일어나지 않는 것으로 확인하였다. 다양한 반복자기자극 시행 1일 후 자기장 자극군에서도 세포사멸이 거의 일어나지 않았고, 세포사멸 정도는 sham 자극군과 비교하여 유의한 차이가 없었다(Figure 3).

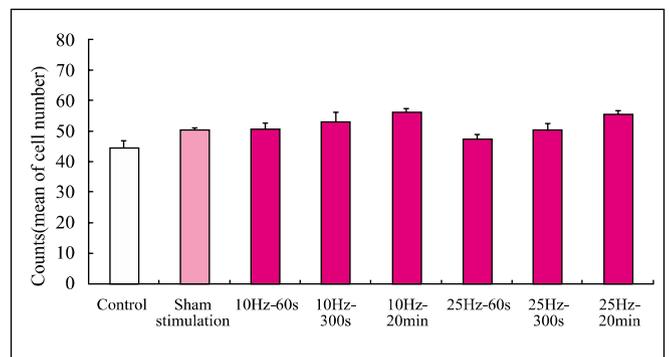


Figure 3. Effect of RMS on apoptosis of hATSCs measured by Annexin V. Apoptosis of hATSCs was not increased after RMS in all groups of RMS. hATSCs: human adipose tissue-derived stromal cells, RMS: repetitive magnetic stimulation.

3. 반복자기자극이 세포활성에 미치는 영향

반복자기자극이 세포사멸을 거의 일으키지 않는 것을 확인한 후 살아있는 세포의 활성화에 미치는 영향을 알아보기 위해 자기장 자극 후 96-공 플레이트에 지방유래 중간엽 줄기세포를 옮겨 2일간 배양한 뒤에 MTT 분석을 시행하였다. 10Hz와 20Hz로 20분간 반복자기자극을 시행한 자극군에서의 세포활성도는 각각 $94.80 \pm 1.03\%$, $90.88 \pm 0.92\%$ 였으며, sham 자극군에 비해 약간 감소하는 경향이 있었으나 통계적으로 유의하진 않았다 (Figure 4). 반복자기자극이 지방유래 중간엽 줄기세포에 대하여 유의한 세포활성도의 감소와 세포독성을 보이지 않았다.

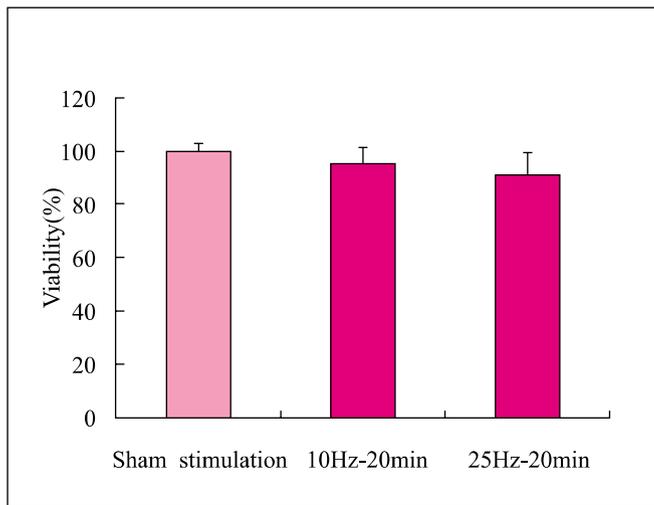


Figure 4. Cytotoxicity of RMS on hATSCs measured by MTT assay. MTT assay showed that the viability of hATSCs was about the same value, compared with sham stimulation and RMS groups. hATSCs: human adipose tissue-derived stromal cells, RMS: repetitive magnetic stimulation.

4. 자기장 자극이 세포증식에 미치는 영향

반복자기자극을 시행하고 2일간 더 배양한 후에 자기장 자극군과 대조군을 trypan blue 염색을 이용하여 증식된 세포의 수를 계산하였다. 전반적으로 지방유래 중간엽 줄기세포의 수가 증가되었으며, sham 자극군은 대조군과 비교할 때 동일한 증식률 ($100 \pm 0\%$)을 보였다. sham 자극군을 기준으로 하여 10Hz의 빈도로 1분, 5분, 20분간 자극한 자극군의 증식률은 각각 $109.38 \pm 4.2\%$, $125 \pm 5.3\%$, $117.19 \pm 4.5\%$ 로 증가하였다. 또한 25Hz로 1분, 5분, 20분간 자극한 자극군의 증식률도 $125 \pm 4.5\%$, $102.23 \pm 3.8\%$, $125 \pm 5.2\%$ 로 증가하였다 (Figure 5). 모든 자기장 자극군의 증식률은 sham 대조군과 비교하여 유의한 증가를 보였다 ($p < 0.05$).

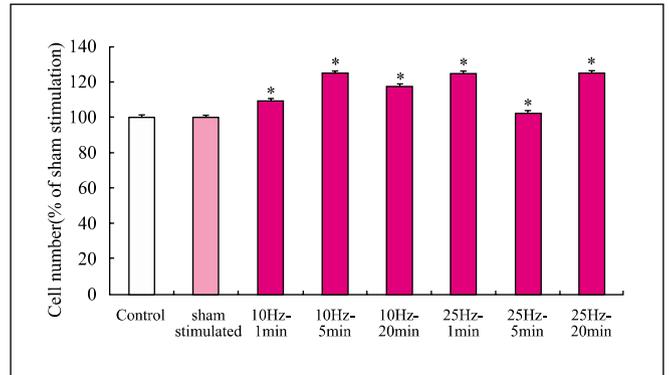


Figure 5. Effect of RMS on proliferation of hATSCs. In all groups of RMS, the cell number of hATSCs was increased significantly compared with sham stimulation and control on 2 days after RMS ($*p < 0.05$). hATSCs: human adipose tissue-derived stromal cells, RMS: repetitive magnetic stimulation.

IV. 고찰

본 연구에서는 다양한 조건의 반복자기자극이 대조군과 비교하여 지방유래 중간엽 줄기세포의 형태변화, 세포사멸, 세포활성도 변화 및 세포독성에 유의한 차이를 보이지 않은 반면, 반복자기자극 후 지방유래 중간엽 줄기세포의 수가 유의하게 증가되는 것을 관찰하였다.

반복자기자극은 여러 종류의 세포에서 세포막변화, 세포증식, 세포활성 등에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다.²⁰⁻²² Post 등은 HT 22 세포에 4T, 20Hz의 조건으로 8시간 동안 자기장을 자극하고 광학현미경하에서 세포 형태를 관찰한 결과 형태적 변화가 없었다고 보고하였다.¹⁹ Tenuzzo 등은 초대배양세포(흉선세포, 림프구), 형질전환세포, 확립된 세포주 등에 6mT의 정자기장(static magnetic field)을 처리하여 형태를 비교 관찰하여 세포주에 따라 세포의 형태변화가 없을 수도 혹은 있을 수도 있음을 보고하였으며, 이는 자기장 자극시간과 세포주의 종류에 따라 달라질 수 있다고 보고하였다.²² 본 연구에서는 반복자기자극을 이전 연구와는 달리 지방유래 중간엽 줄기세포에 적용하였으며, 자극빈도와 자극 시간을 다르게 하여 다양한 자극을 준 후 줄기세포의 형태변화를 관찰하였지만 비정상적인 형태변화는 없었다. 한편, Battocletti 등은 box coil을 이용하여 15Hz로 18시간 자기장 자극 후 18시간 뒤에 흰쥐의 후근신경절의 신경돌기(neurite)가 일정한 방향으로 뻗어 자란 것을 보고하였고, Macias 등도 15Hz~25Hz의 자극 빈도로 자기장 자극을 주었을 때 흰쥐의 후근신경절의 신경돌기가 자기장의 직류 방향으로 자란 것을 보고하였다.^{18,23} 하지만 이러한 형태의

변화는 반복자기자극에 의한 세포의 비정상적인 형태변화라기 보다는 오히려 반복자기자극이 신경보호 및 신경재생에 효과가 있음을 의미하는 연구라고 볼 수 있다.

자기장 자극의 세포에 대한 안전성은 세포독성과 세포활성도의 변화를 통하여 확인할 수 있으며, 여러 세포들을 대상으로 한 이전 연구에 의하면 비교적 자극세기가 높은 7T로 3시간 혹은 24시간 동안 P388 세포(mouse leukemia cell)와 V79 세포(Chinese hamster fibroblast cell)를 자극하여도 세포활성 정도가 자기장 자극군이 대조군과 전혀 차이가 없었고, 부유하여 자라는 세포와 부착하여 자라는 세포 모두에서 자기장 자극에 의한 세포사멸이 일어나지 않았다.²⁴ 또한 B16-BL6 흑색종 쥐의 암조직을 0.25T로 자극하였을 때도 암조직의 무게가 감소되는 항암작용과 함께 B16-BL6 세포에 대한 MTT assay 결과는 대조군과 비교하여 세포활성에는 차이를 보이지 않았다.²⁵ 그러나 세포의 종류에 따라 세포사멸이 발생하기도 하며, 자기장 자극을 하는 동안 세포내로의 칼슘 유입의 정도에 따라 세포사멸이 유도 될 수도 있다.²² 지방유래 중간엽 줄기세포를 대상으로 한 본 연구에서도 이전 연구와 마찬가지로 삼 자극군에 비하여 자기장 자극군에서 유의한 세포 활성도의 감소를 보이지 않아 반복자기자극이 지방유래 중간엽 줄기세포의 활성 저하에 영향을 미치지 않고 세포독성도 없음을 확인하였다.

자기장 자극은 세포의 증식을 증가시키거나 혹은 억제할 수도 있는 것으로 알려져 있다. Grassi 등은 IMR32와 GH3 신경세포주에 1일에서 4일 동안 1mT, 50Hz로 자기자극 한 후에 trypan blue 염색법을 이용하여 세포수를 확인한 결과 대조군에 비해 40% 가까이 세포수가 증가되었다고 보고하였다.²⁶ 또한 Pezzetti 등도 인간유래 연골세포를 2.3mT, 75Hz로 자극하여 세포증식이 증가되었음을 보고하였다.⁴ 하지만 림프구에 0.3-1.2T, 30Hz, 60-330초로 조건을 달리하여 자기장 자극한 결과 mitogen에 의한 세포증식이 억제된 보고도 있었다.²¹ 이는 각 세포의 종류, 세포의 주기, 세포내의 이온변화, 세포 성장에 관여하는 물질의 변화와 자기장 자극의 조건에 따라 증식과 억제로 결과가 다르게 나타날 것으로 생각된다. 본 연구에서도 이전 연구와 마찬가지로 반복자기자극 후 지방유래 중간엽 줄기세포의 수가 삼자극군에 비해 최대 25% 증가된 것으로 나타났다. 반복자기자극은 지방유래 중간엽 줄기세포에 대하여 다른 세포에서와 같이 세포의 증식을 증가시키는 것에 도움이 될 것으로 생각된다.

본 연구의 제한점으로는 반복자기자극의 지방유래 중간엽 줄기세포의 형태, 세포사멸과 세포 활성도, 세포증식에 영향을 미치는 기전에 대하여 확인하지 못한 점이라고 생각되며, 향후 자기장 자극에 의한 세포내의 마이크로 단위 이하의 소기관의 변화유무를 확인하거나 세포분비물질의 변화와 유전자 수준에

서의 변화를 확인하는 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각된다. 또한 본 연구결과를 토대로 반복자기자극의 세기와 자극부위에 따른 추가적인 동물 실험연구가 필요할 것이다.

V. 결론

본 연구에서 저자들은 반복자기자극이 지방유래 중간엽 줄기세포에 대하여 세포의 형태변화, 세포사멸, 세포의 활성도의 감소 등 안정성에는 크게 영향을 주지 않으며, 오히려 지방유래 중간엽 줄기세포의 증식을 유도하는 긍정적인 효과가 있음을 확인하였다. 향후 반복자기자극을 이용한 치료는 척수손상 및 뇌손상 후 임상적 호전을 위하여 줄기세포 치료와 함께 병행가능한 안전하면서도 효과적인 보조적 치료법중의 하나로 기대된다.

Author Contributions

Research design: Kim SJ, Cho YW

Acquisition of data: Kim SJ, Seo JM, Kang JH

Analysis and interpretation of data: Kim SJ, Park HW, Ahn SH

Drafting of the manuscript: Kim SJ

Administrative, technical, and material support: Shin HJ

Research supervision: Ahn SH

Acknowledgements

본 연구는 보건복지가족부 보건의료연구개발사업의 지원에 의하여 수행된 연구임(A084177).

참고문헌

1. Lim PA, Tow AM. Recovery and regeneration after spinal cord injury: a review and summary of recent literature. *Ann Acad Med Singapore*. 2007;36(1):49-57.
2. Kang SK, Lee DH, Bae YC et al. Improvement of neurological deficits by intracerebral transplantation of human adipose tissue-derived stromal cells after cerebral ischemia in rats. *Exp Neurol*. 2003;183(2):355-66.
3. Kang SK, Shin MJ, Jung JS et al. Autologous adipose tissue-derived stromal cells for treatment of spinal cord injury. *Stem Cells Dev*. 2006;15(4):583-94.
4. Pezzetti F, De Mattei M, Caruso A et al. Effects of pulsed electromagnetic fields on human chondrocytes: an in vitro study. *Calcif Tissue Int*. 1999;65(5):396-401.
5. Shimada Y, Sakuraba T, Matsunaga T et al. Effects of

- therapeutic magnetic stimulation on acute muscle atrophy in rats after hindlimb suspension. *Biomed Res.* 2006;27(1):23-7.
6. Strauch B, Patel MK, Navarro JA et al. Pulsed magnetic fields accelerate cutaneous wound healing in rats. *Plast Reconstr Surg.* 2007;120(2):425-30.
 7. Lin VW, Cardenas DD. *Spinal cord medicine: principles and practice.* New York, Demos, 2003:1043.
 8. Sohn MK, Cho KH, Yoon SJ et al. Effects of functional magnetic stimulation on hemiplegic shoulder subluxation. *J Korean Acad Rehabil Med.* 2007;31(1):48-55.
 9. Yamanishi T, Yasuda K, Suda S et al. Effect of functional continuous magnetic stimulation on urethral closure in healthy volunteers. *Urology.* 1999;54(4):652-5.
 10. Fitzgerald PB, Brown TL, Marston NA et al. Motor cortical excitability and clinical response to rTMS in depression. *J Affect Disord.* 2004;82(1):71-6.
 11. Wu AD. Functional neuroimaging and repetitive transcranial magnetic stimulation in Parkinson's disease. *Rev Neurol Dis.* 2007;4(1):1-9.
 12. Takeuchi N, Chuma T, Matsuo Y et al. Repetitive transcranial magnetic stimulation of contralesional primary motor cortex improves hand function after stroke. *Stroke.* 2005;36(12):2681-6.
 13. Kim EJ, Shin JE, Hong CP et al. Effect of repetitive transcranial magnetic stimulation in patients with intractable neuropathic pain: cases report. *J Korean Acad Rehabil Med.* 2006;30(1):89-93.
 14. Ko MH, Jeong YC, Seo JH et al. The Aftereffect of sub-threshold 10 Hz repetitive transcranial magnetic stimulation on motor cortical excitability. *J Korean Acad Rehabil Med.* 2006;30(5):436-40.
 15. Ko MH, Seo JH, Jang SH et al. Central neural networks of verbal working memory and visuospatial attention: an interference approach using low-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation. *J Korean Acad Rehabil Med.* 2004;28(4):301-5.
 16. Lee JH, Yoo WK, Jung KI et al. The therapeutic effect of inhibitory repetitive transcranial magnetic stimulation on right inferior frontal gyrus in subcortical aphasia. *J Korean Acad Rehabil Med.* 2007;31(1):70-7.
 17. Longo FM, Yang T, Hamilton S et al. Electromagnetic fields influence NGF activity and levels following sciatic nerve transection. *J Neurosci Res.* 1999;55(2):230-7.
 18. Macias MY, Battocletti JH, Sutton CH et al. Directed and enhanced neurite growth with pulsed magnetic field stimulation. *Bioelectromagnetics.* 2000;21(4):272-86.
 19. Post A, Muller MB, Engelmann M et al. Repetitive transcranial magnetic stimulation in rats: evidence for a neuroprotective effect in vitro and in vivo. *Eur J Neurosci.* 1999;11(9):3247-54.
 20. Bersani F, Marinelli F, Ognibene A et al. Intramembrane protein distribution in cell cultures is affected by 50 Hz pulsed magnetic fields. *Bioelectromagnetics.* 1997;18(7):463-9.
 21. Roman A, Zyss T, Nalepa I. Magnetic field inhibits isolated lymphocytes' proliferative response to mitogen stimulation. *Bioelectromagnetics.* 2005;26(3):201-6.
 22. Tenuzzo B, Chionna A, Panzarini E et al. Biological effects of 6 mT static magnetic fields: a comparative study in different cell types. *Bioelectromagnetics.* 2006;27(7):560-77.
 23. Battocletti JH, Macias MY, Pintar FA et al. A box coil for the stimulation of biological tissue and cells in vitro and in vivo by pulsed magnetic fields. *IEEE Trans Biomed Eng.* 2000;47(3):402-8.
 24. Sakurai H, Okuno K, Kubo A et al. Effect of a 7-tesla homogeneous magnetic field on mammalian cells. *Bioelectrochem Bioenerg.* 1999;49(1):57-63.
 25. Yamaguchi S, Ogiue-Ikeda M, Sekino M et al. Effects of pulsed magnetic stimulation on tumor development and immune functions in mice. *Bioelectromagnetics.* 2006; 27(1):64-72.
 26. Grassi C, D'Ascenzo M, Torsello A et al. Effects of 50 Hz electromagnetic fields on voltage-gated Ca²⁺ channels and their role in modulation of neuroendocrine cell proliferation and death. *Cell Calcium.* 2004;35(4):307-15.