

Original Article

Passage-dependent expression of inward rectifying potassium current in human umbilical cord vein-derived mesenchymal stem cells

Kyung Sun Park¹, Young Gyu Chai¹, Yangmi Kim^{2*}

¹Division of Molecular and Life Sciences, Hanyang University, Ansan, 15588, Korea

²Department of Physiology, College of Medicine, Chungbuk National University, Cheongju, 28644, Korea

Although stem cells are used as important cell therapies in regenerative medicine, the electrophysiological problems that arise in the expansion of cells have not been known much. This study was conducted to investigate the functional expression of inward rectifying K⁺ current (IK_{ir}) using a patch-clamp technique, and the change in the resting membrane potential and the membrane capacitance were investigated in mesenchymal stem cells derived from human umbilical vein (hUC-MSC). The IK_{ir} plays an important role in regulating the resting membrane potential in many cells and is known to contribute to the maintenance of intracellular K⁺ concentration. In this study, electrophysiologically recorded current exhibited typical IK_{ir} characteristics. The current shifted along the K⁺ equilibrium potential (E_k) with the extracellular K⁺ concentration change. In addition, IK_{ir} was blocked by the divalent Ba²⁺ in a dose-dependent manner. The frequency of functional expression of IK_{ir} changed with number of passages (P2: 5.3% vs P8: 77.8% vs P12: 34.5%). There was no significant change in the resting membrane potential of hUC-MSC (P2: -21.0 mV, P8: -20.1 mV and P12: -21.9 mV). However, the capacitance of the cell membrane was significantly changed after P9 (P2: 8.9 pF vs P9: 16.9 pF) compared to P2. All the results suggest that changes in electrophysiological distribution of IK_{ir} as the passages increase may cause changes in K⁺ permeability even in cell proliferation and differentiation, suggesting a possible physiological role in maintaining cell homeostasis and resting membrane potential (RMP).

Key words: mesenchymal stem cells, inward rectifying K current (IK_{ir}), umbilical cord vein, passage, capacitance

Introduction

세포의 포타슘 이온(K⁺)은 세포에 존재하는 Na⁺, Ca²⁺과 같은 다른 이온들 비해 세포막에 대한 투과성이 훨씬 커서 세포막전위변화에 제일 큰 영향을 준다[1]. 세포막 단백질인 포타슘 채널(K channel)이 열리면 농도 경사에 의해 K⁺ 이온은 세포밖으로 나가며 세포막전위(membrane potential)를 K⁺ 평형 전위(K⁺ equilibrium potential)쪽으로 이동시킨다[1]. K 채널의 종류는 매우 다양하나 막전위에 조절되는 K 채널(voltage dependent K channel, IK_v) [2], 세포내 칼슘에 의해 활성화 되는 K 채널(Ca²⁺-activated K channel, IK_{ca}) [3], 내향 정류성 K 채널(inward rectifier K channel, IK_{ir}) 등이 있다[4]. 이들 중 IK_{ir} 패밀리에는 13 종류가 있고 IK_{ir1.1}~IK_{ir7.1}까지 다양하다. 세포내 ATP가 없으면 활성화 되는 K 채널(ATP dependent K channel, IK_{ATP})은 IK_{ir6.x}에 속하며 세포밖 아세틸콜린이 무스카리닉 수용체에 붙으면 G-단백질 활성화에 의해 조절되는 K 채널(Acetylcholin activated K channel, IK_{ACh})은 IK_{ir3.x}에 속한다[4]. 본 연구에서 보고하는 내향 정류성 K 채널은 우리의 보고에 의하면 IK_{ir2.x}이다[5].

IK_{ir}은 2개의 transmembrane과 하나의 ion pore로 구성된 채널 단백질로서 Ba²⁺과 같은 2가 이온에 의해 억제되며 tetraethylammonium (TEA)나 4-aminopyridine (4-AP)과 같은 고전적 K 채널 차단제에 의해 거의 억제되지 않는다[4]. IK_{ir}은 세포내 K⁺ 농도 유지와 안정막전위에 크게 기여하는 것으로 알려져 있다[4]. 그 예로 IK_{ir} 발현이 거의 없는 심장의 동방결절은 IK_{ir}이 많이 존재하는 심실보다 안정막전위가 저분극 되어있다. 세포내 K⁺ 농도 유지를 위해 심장세포에서는 IK_{ir}가 없다면 ATP를 사용하는 Na-K 펌프를 더 많이 사용하여야 하므로 더 많은 에너지가 필요하다. 이러한 결과는 IK_{ir}이 세포내 에너지 보존 측면뿐만 아니라 안정막전위 유지에도 매우 유용한 채널이라는 것을 제시한다[4, 6].

심장이나 신경과 같은 흥분성 세포의 이온채널은 흥분성 신호 전달에 매우 중요하다[1]. 비흥분성 세포에서의 이온 채널은 세포 증식, 이주, 세포 사멸에 결정적인 역할을 한다

*Corresponding author: Yangmi Kim,

Department of Physiology, College of Medicine, Chungbuk National University, Cheongju, 28644, Korea

Tel: +82-43-261-2855, Fax: +82-43-272-1603 E-mail: yangmik@chungbuk.ac.kr

[7]. 줄기세포에서는 종(species)이나 줄기세포의 기원(골수, 제대혈 등)에 따라 약간의 차이는 있으나 다양한 이온 채널 즉 IK_V , IK_{Ca} , IK_{ir} , I_{Cl} , I_{Na} , I_{Ca} , I_{TRP} 등이 보고되었다[8]. 줄기세포의 이온채널 또한 다른 세포에서처럼 세포 증식 조절 및 분화에 관여할 가능성이 제기되어 왔다. [5, 9, 10]

사람의 중간엽 줄기 세포(mesenchymal stem cells, MSC)는 다양한 조직으로 분화할 수 있기 때문에 재생의학의 세포 치료분야에서 유망한 재료로 간주되고 있다[8]. 하지만 임상시험을 하기에는 추출 가능한 줄기세포는 세포수가 적어 세포밖 즉 시험관(*in vitro*)에서 세포수를 늘려야 하는 장애물을 넘어야 한다[11]. 세포증식 과정은 계대배양(sub-culture)이 필수적이며 계대배양 횟수 (passage)의 증가에 따라 줄기세포의 고유성질 즉 증식속도나 분화과정에 영향 주어 분화능이 저하될 수 있고[11, 12], 계대 배양시 텔로미어(telomere) 길이가 짧아져 노화현상이 유발 되기도 한다 [13].

우리는 이전 논문에서 사람의 제대정맥유래 줄기세포(hUC-MSCs)에서 일과성 외향 K 전류인 I_{to} 는 52%, 막전압 의존성 Na 전류인 I_{Na} 는 28%, 내향 정류성 K 전류인 IK_{ir} 은 4.8% 정도 존재함을 확인하였다[5]. 그리고 막전압 의존성 지연성 K 전류인 IK_{DR} 과 칼슘에 의해 활성화되는 MaxiK를 항상 기록할 수 있음을 보고 하였다[5]. 또한 hUC-MSCs에서 관찰되는 MaxiK 전류는 플라보노이드(flavonoid)인 케르세틴(querceetin) 및 riluzole에 의해 활성화 됨도 확인하였고 I_{Na} 는 riluzole에 의해 억제됨을 보고하였다 [14, 15].

본 연구에서는 미분화 hUC-MSCs의 이온채널발현에 대한 후속 연구로 passage 증가에 따라 IK_{ir} 의 전기생리학적 발현 빈도, 안정막전위의 양상, 세포막의 축전능력(capacitance, C_m)의 변화 등에 대해 보고한다.

Materials and Methods

hUC-MSCs의 분리 및 배양

제대정맥을 모아 6-12 시간 이내에 phosphate buffered saline (PBS)로 세척하여 세포를 분리하였다[5]. 세척된 혈관에 0.5% collagenase를 넣어 37°C에서 5 시간 동안 처리 후 부드럽게 마사지하여 떨어져 나온 세포를 수집하였다. 수집된 세포를 10 분 동안 1000 rpm에서 원심 분리 후 약 5×10^5 개의 세포를 75 cm² 배양 플라스크에 넣어 37°C, 5% CO₂ 인큐베이터에서 배양하였다. 배지는 100 U/mL penicillin, 100 µg/mL streptomycin, 10% FBS (fetal bovine serum)가 포함된 Dulbecco's modified Eagle's medium-low glucose (DMEM-LG) 배지를 사용하였다. 배양액은 2 일 마다 한 번씩 갈아주었다.

전기생리학적 기록

전기생리학적 실험을 위해 용액은 다음과 같이 구성하였다. 세포밖 용액(bath 용액)으로 normal tyrode 용액을 사용하였다. 그 용액은 143 mM NaCl, 5.4 mM KCl, 0.5 mM MgCl₂, 1.8 mM CaCl₂, 0.5 mM NaH₂PO₄, 10 mM glucose, 5 mM HEPES로 구성하였고 pH는 NaOH를 이용하여 7.4로 적정하였다. 세포내 용액인 유리미세전극 용액(pipette 용액)은 150 mM KCl, 1 mM MgCl₂, 10 mM HEPES, 5.0 mM EGTA, 2.0 mM Mg-ATP로 구성하였고

pH는 KOH를 이용하여 7.2로 적정하였다.

전기생리학적 실험은 patch clamp 증폭기(Axopatch 200B, Axon Instruments, Foster City, CA)를 사용하여 막전위 고정(voltage clamp) 및 막전류 고정(current clamp)법으로 기록하였다. 외경이 1.2 mm 되는 유리미세전극(Warner Instrument, Hamden, CT)은 유리미세전극 제조기(PP-830, Narishige, Japan)로 제조하였고 유리미세전극 저항(resistance)은 2~3MΩ이 되게 만들었다. 미세조작기로 유리미세전극을 세포 근처에 접근 후 세포막에 붙혀 gigaohm (GΩ) seal이 되게 하고 세포막 파열 후 전체 세포의 전류(whole cell current)를 기록하였다. 기록된 전류는 2kHz에서 필터링하고 digidata 1322A (Axon Instruments, Foster City, CA)를 사용하여 컴퓨터에 저장하였다. 세포막의 커패시턴스 또한 GΩ seal을 만든후 음압으로 세포막을 조심스럽게 파열하여 pCLAMP 프로그램의 막테스트(membrane test) 상태에서 측정하였다. 커패시턴스는 세포 표면적을 반영하므로 커패시턴스가 크다는 것은 세포의 표면적이 커짐을 의미한다. 전기생리학적 기록과 분석은 pCLAMP 프로그램(version 9.02, Axon Instruments, CA)을 사용하였다. GΩ seal이 되지 않았을 때 전류를 기록하면 새어나가는 전류(leak current)가 많아 IK_{ir} 전류 분석에 오류가 발생할 수 있기 때문에 GΩ seal이 되지 않았을 때 기록한 전류는 데이터 분석에서 제외하였다.

데이터 분석

평균 데이터는 Origin software (OriginLab, Corp, Northampton, MA, USA)를 사용하여 분석하고 그렸다. 데이터는 평균 ± SE (standard error)으로 나타내었다. 계대별 안정막전위(resting membrane potential, RMP)와 세포막 커패시턴스(capacitance, C_m)는 unpaired (independent) Student's t-test를 사용하였고, P값은 0.05 이하로 통계학적으로 유의하였다.

Results

미분화 hUC-MSCs에서 계대배양 횟수에 따른 안정막전위 및 세포막 커패시턴스 변화

미분화 hUC-MSCs에서 patch clamp 기법으로 안정막전위를 측정하였다. 안정막전위는 전위 고정(current clamp, I=0)법으로 측정하였다. 2 번째 계대(P2)에서부터 12 번째 계대(P12)까지의 안정막전위는 Table 1에 나타내었다. P2의 안정막전위는 -21.0 ± 2.5 mV(평균 ± S.E, n=18), P9의 안정막전위는 -22.2 ± 3.8 mV(n=14), P12의 안정막전위는 -21.9 ± 1.8 mV(n=29)로 passage에 따라 안정막전위의 유의있는 변화는 관찰되지 않았다 (Fig. 1A와 Table 1).

세포막은 인지질 이중층(lipid bilayer)이고 세포내외의 전해질, 세포밖 공간 및 세포질을 분리하는 얇은 절연체로 축전능력(capacitance)을 가지고 있는 커패시터(capacitor)로 작용한다. 세포막 커패시턴스(membrane capacitance, C_m)는 1µF/cm² 정도되며 세포 표면적에 비례한다. 본 연구에서 P2~P12까지 계대배양하면서 커패시턴스를 측정하였다. P9~P12의 커패시턴스가 P2의 커패시턴스보다 2배

이상 증가하였다 (P2:8.9 ± 1.0 pF vs P9:16.9 ± 2.3 pF) 이와 같은 실험 결과는 P9 이상에서는 세포의 크기가 증가되고 있음을 보여준다(Fig. 1B와 Table 2).

미분화 hUC-MSC에서 내향 정류성 포타슘 채널(inward rectifying K channel, $I_{K_{ir}}$)의 기능적 발현

우리는 2007년 미분화 hUC-MSC에서 이온채널의 기능적 발현을 보고하였고, $I_{K_{DR}}$ 이나 $MaxiK$ 와 달리 $I_{K_{ir}}$ 은 4.8% 정도 기록되었다[5]. 본 연구에서는 $I_{K_{ir}}$ 에만 집중하여 $I_{K_{ir}}$ 특성을 비교하였다. 계대배양시 나타나는 $I_{K_{ir}}$ 의 전기적 특징 성상은 강한 내향 정류성 경향을 보였다.

hUC-MSC에서 $I_{K_{ir}}$ 을 기록하기 위해 유지전압(holding potential)을 0 mV로 하고 -150 mV에서 +60 mV의 램프 자극을 400 ms 동안 주어 전류-전압 곡선(current-voltage curve, I-V curve)을 기록하였다(Fig. 2 inset). 기록된 전류가 $I_{K_{ir}}$ 인지 확인하기 위한 방법으로 hUC-MSC에서 whole cell patch mode 에서 전체전류(whole cell current)를 기록하였다. $I_{K_{ir}}$ 전류의 세포밖 K^+ 농도($[K^+]_o$)의 존재를 조사하기 위해 K^+ 농도를 5, 15, 30, 75 및 150 mM 증가시켜주며 기록하였다. Figure 2에서 보여지는 것처럼 $[K^+]_o$ 가 증가함에 따라 $I_{K_{ir}}$ 의 특성인 내향전류가 증가되는 특징적인 양상을 보였고 역전전위(reversal potential)는 네른스트식(Nernst equation)에 일치하게 양전위로 이동하였다(Fig. 2). Figure 2B는 $[K^+]_o$ 변화에 따른 역전 전압

의 변화를 이론치와 실험치를 나타낸 것이다. 점선은 실험값을 linear regression 한 것이다. 가로축은 $[K^+]_o$ 의 10 배 변화를 나타낸 것이며 세로축은 막전압을 나타낸 것이다. 실험값은 이론값(58 mV/decade)에 비해 49 mV의 경사(slope)를 보여주고 있다. 미분화 hUC-MSC에서 기록한 내향 전류는 K 전류임을 확인하였다.

미분화 hUC-MSC에서 K_{ir} 전류에 대한 2가 양이온의 효과

$I_{K_{ir}}$ 전류는 K 채널 차단제에 의해 거의 영향을 받지 않고 2가 양이온이나 polyamine에 억제되는 것으로 알려져 있다[4]. Figure 3A는 $I_{K_{ir}}$ 에 대한 세포밖 Ba^{2+} 의 효과를 보여 준다. Ba^{2+} 농도가 1, 10, 100, 1000 μ M으로 증가되었을 때 전류는 농도 의존적으로 억제되었다. 전류가 50% 억

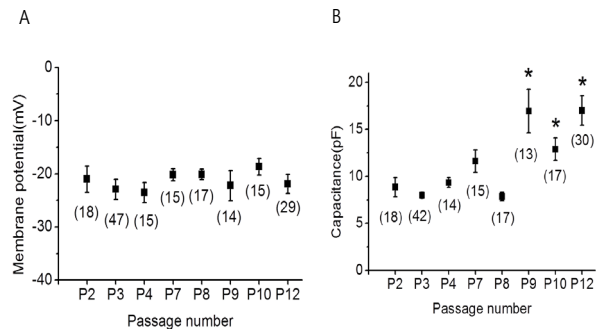


Fig. 1. Changes in resting membrane potential and capacitance with passage in undifferentiated hUC-MSC. (A) The resting membrane potential was measured using the current clamping method ($I = 0$). There was no significant difference with increasing passage. (B) The change in capacitance was observed to increase significantly from P9 with respect to P2. Data represent the mean ± SE. *, $P < 0.05$ (P2 vs P9, P2 vs P10, P2 vs P12)

Table 1. Relation between number of passage and resting membrane potential in UC-MSC

Passage	Mean (mV)	SE	N
P2	-21.0	2.5	18
P3	-22.9	1.9	47
P4	-23.5	1.9	15
P7	-20.2	1.1	15
P8	-20.1	1.0	17
P9	-22.2	2.8	14
P10	-18.7	1.5	15
P12	-21.9	1.8	29

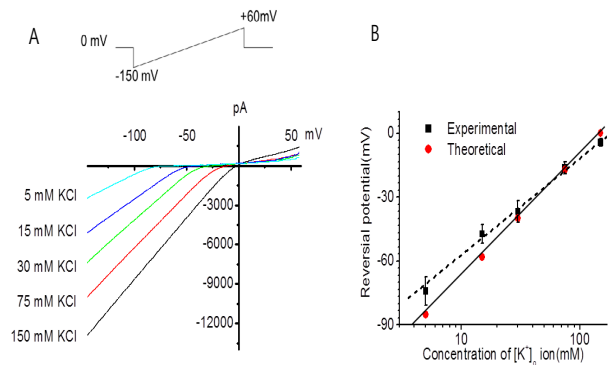


Fig. 2. Typical $I_{K_{ir}}$ current-voltage (I-V) relationship curve and dependence of extracellular K^+ concentration $[K^+]_o$ of $I_{K_{ir}}$ in undifferentiated hUC-MSC. (A) It shows the typical characteristics of $I_{K_{ir}}$ current recorded in hUC-MSC. The $I_{K_{ir}}$ I-V curve shows a larger inward current than outward at negative voltage. The abscissa represents the voltage, and axis represents the current. The current recording was carried out with a holding potential of 0 mV and ramp pulse for 400 ms from -150 mV to +60 mV. The inset shows voltage protocol. When the $[K^+]_o$ was increased to 5, 15, 30, 75, and 150 mM, the inward current increased as the $[K^+]_o$ increased at negative voltage and the reversal potential shifted toward the positive potential according to the Nernst equation. (B) Abscissa is on logarithmic scale. The logarithmic graph shows the reversal potential change with increasing $[K^+]_o$. The solid line (theoretical value) shows the slope from Nernst equation (slope, 58 mV/decade). The dotted line (experiment value) were fitted by linear regression (slope, 49 mV/decade).

Table 2. Relation between number of passage and capacitance in undifferentiated hUC-MSC

Passage	Mean (pF)	SE	N
P2	8.9	1.0	18
P3	8.0	0.3	42
P4	9.4	0.5	14
P7	11.6	1.2	15
P8	7.8	0.4	17
P9	16.9	2.3	13
P10	12.9	1.2	17
P12	17.0	1.6	30

제되는 농도인 IC_{50} 은 $35.2 \pm 2.2 \mu\text{M}$ ($n=4$) 이었다(Fig. 3B). 이 때 세포막 전류는 400 ms 동안 -150 mV 에서 $+50 \text{ mV}$ 까지의 램프 자극을 주어 기록하였다. K 채널 억제제인 tetraethylammonium (TEA) 10 mM, 4-aminopyridine (4-AP) 500 μM 를 처리하였으나 IK_{ir} 에 영향을 주지 않았다(data not shown).

미분화 hUC-MSC에서 계대배양 횟수에 따른 IK_{ir} 전류의 기능적 발현 빈도변화.

Passage에 따른 IK_{ir} 전류의 기록 빈도를 측정하였다. 기록은 whole cell patch 모드로 기록되었고 유지전압은 0 mV로 400 ms 동안 -150 mV 에서 $+60 \text{ mV}$ 까지의 램프 자극을 주어 기록하였다. IK_{ir} 전류는 $G\Omega$ seal과 떨어져 leak current가 많을 경우 잘 구분할 수 없기 때문에 전류 기록시 세포막저항이 800 $M\Omega$ 이상 되는 것만 기록하고 데이터 분석에 반영하였다. Passage가 증가될수록 IK_{ir} 이 기록되는 빈도가 증가하다가 P8을 정점으로 그 빈도가 감소하였다(Fig. 4와 Table 3). 즉 IK_{ir} 전류는 hUC-MSC의 초기 계대시(P2: 5.3%, 19번 중에 1번 기록)에서는 IK_{ir} 의 기능적 발현 빈도가 매우 낮았으나 계대 중간(P8: 77.8%, 18번 중에 14번 기록)에서 다수 관찰 되었다. 그러나 계대 후기(P12: 34.5%, 29번 중에 10번 기록)로 갈수록 IK_{ir} 의 기능적 발현 빈도는 감소되었으나 계대 초기만큼 IK_{ir} 의 기능적 발현 빈도가 감소하지는 않았다.

Discussion

우리는 미분화 hUC-MSC에서 passage 증가에 따라 IK_{ir} 의 전기생리학적 발현 빈도의 증감을 확인하였고, 안정막전위 변화는 거의 없었으며 세포막 표면적과 비례하는 커패시턴스는 P9 이상에서는 증가함을 확인하였다.

줄기세포는 재생의학에서 세포치료에 중요한 재료이나 passage가 증가되거나 장기배양을 하면 증식율이나 분화능이 변하며 노화가 발생한다[16, 17]. 중간엽 기질세포(mesenchymal stromal cell)에서 passage 증가 즉 P5에서 P12까지 분화능의 감소를 보이고 [18], 골수나 지방에서 유래된 줄기세포에서 P9에서 P12까지 노화 마커인 senescence-associated beta galactosidase (SA- β -Gal)가 현저히 증가한다[19, 20]. 본 연구에서는 passage 증가시 커패시턴의 변화가 나타나고 이것은 미분화 hUC-MSC의 세포표면적이 증가하고 있음을 의미하는 것이기 때문에 이전 연구를 참고할 때 미분화 hUC-MSC도 passage가 증

Table 3. Relation between number of passage and frequency of functional expression of IK_{ir} in undifferentiated hUC-MSC

Passage	N (A)	IK_{ir} expression (B)	B / A (%)
P2	19	1	5.3
P3	41	12	29.3
P4	11	5	45.5
P7	15	5	33.3
P8	18	14	77.8
P9	14	9	64.3
P10	14	6	42.9
P12	29	10	34.5

가되면 분화능 감소나 노화가 발생할 것으로 예측된다. 세포 표면적의 증가 즉 세포크기의 증가는 분화능 감소나 노화되어 질 수 있기 때문이다[20]. 그러므로 hUC-MSC에서는 P9 이전의 세포만을 세포치료에 사용하는 것이 좋을 것으로 생각된다.

우리 연구에서 IK_{ir} 이 세포내 K^+ 농도 ($[K^+]_i$) 조절과 안정막전위 조절에 기여하기 때문에 IK_{ir} 의 발현빈도 증감에 따라 막전위 변화가 나타날 것이라고 예상하였지만 안정막전위는 P2~P12까지 유의한 변화는 보이지 않았다(Fig. 1). 이것은 passage 증가에 따른 세포내 이온농도 변화에 따른 막전위의 변동이 생길 경우 IK_{ir} 이 K^+ 농도를 조절하여 막전위가 일정하게 유지 되도록 항상성을 유지해 주기 때문일 것이라고 사료된다. 즉 passage 증가에 따른 Na 채널과 같은 이온채널의 활성화[21]으로 인한 막전위의 탈분극 발생을 상쇄하거나, 또는 passage 증가에 따른 K^+ / Na^+ 비율 변화에 의한 세포가 손상방지 기전으로 IK_{ir} 발현을 증가시켜 K^+ 농도유지를 위한 항상성 유지에 기여 할 것으로 생각된다[22, 23]. 즉 P8 이후 세포내 K^+ 농도 ($[K^+]_i$)의 감소 및 Na^+ 등의 증가로 인한 탈분극이 일어날 수 있으므로 IK_{ir} 의 기능적 발현빈

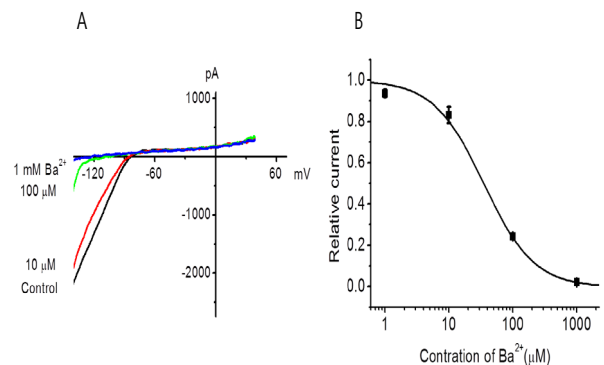


Fig. 3. Effect of Ba^{2+} on IK_{ir} . (A) Voltage ramp from -150 to $+50 \text{ mV}$ lasting for 400 ms elicited membrane currents from an undifferentiated hUC-MSC that displayed inward rectification. (B) The current traces were obtained in the absence and presence of external Ba^{2+} (1, 10, 100, 1000 μM). Ba^{2+} inhibited the IK_{ir} in a concentration-dependent manner ($n=4$).

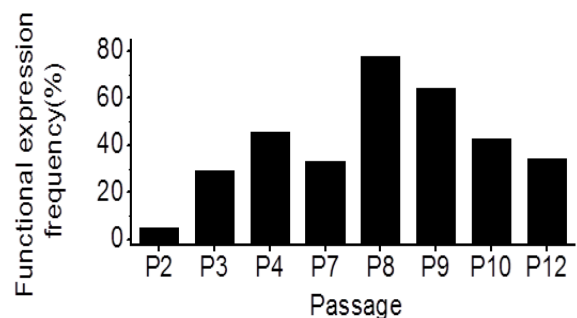


Fig. 4. Electrophysiological expression frequency of IK_{ir} with passage in undifferentiated hUC-MSC. Functional expression of IK_{ir} was confirmed by patch clamp techniques. The current was almost unrecorded at P2, reaching a maximum at P8, and the frequency of IK_{ir} expression decreased as passage proceeded further.

도 증가가 적절히 K^+ 농도를 유지하려고 하는 세포의 방어가 재로서 작동할 수도 있다[22, 23]. 즉 IK_{ir} 의 발현으로 $[K^+]_i$ 를 더 높은 농도로 올려 세포 손상시 나타날 수 K^+/Na^+ 비율을 안정막전위가 변화하지 않는 선에서 조절할 것으로 예측된다. Na^+ 및 K^+ 이온은 세포 생존에 중요한 영향을 미치는 데 K^+/Na^+ 비율이 세포증식 및 세포 손상의 지표로 사용된다는 논문은 우리의 이러한 가정을 지지한다[22, 23]. 그러므로 미분화 hUC-MSC에서 IK_{ir} 가 passage 증가시 나타나는 이온불균형 해결사로 작동할 수 있음을 시사한다. 사람제대 와튼젤리(Wharton's jelly) 줄기세포에서 passage 증가하면 $[K^+]_i$ 변화되며 생존율을 결정한다는 보고는 우리의 가설과 결과를 지지할 수 있다[24].

줄기세포 초기배양부터 배양시간이 늘어가면 증식 능력의 감소, 형태학적 변화, 텔로미어 및 기능 장애의 단축 노화에 대한 변화를 나타낼 수 있기 때문에 [17], passage 증가에 따른 전기생리학적 데이터의 축적은 매우 필요하나 거의 없는 실정이다. 그러므로 미분화 hUC-MSC에서 이러한 IK_{ir} 과 계대배양에 대한 관련 자료는 줄기세포에서 passage 증가에 따른 분화능 감소 및 노화관련 데이터로 매우 중요하다고 생각되며 IK_{ir} 이 안정막 전위 유지 및 K^+ 농도 유지에 필수적인 생리학적인 역할을 할 것이라고 예상하며 앞으로도 줄기세포 연구에서 전기생리학적 데이터가 더욱 축적되어야 할 거라고 생각한다.

Acknowledgements

이 논문은 2014년도 충북대학교 학술연구지원사업의 연구비 지원에 의하여 연구되었으며, 2016년도 정부(교육부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임(NRF-2016R1D1A1B03931790).

ORCID

Yangmi Kim, <http://orcid.org/0000-0003-1536-116X>

References

- Hille B. Ionic channels: molecular pores of excitable membranes. *Harvey Lect* 1986;82:47-69.
- Zhao W, Chen Y. Progress in Research of KV1.1 and KV1.3 Channels as Therapeutic Targets. *Curr Top Med Chem* 2016;16:1877-1885.
- Dong DL, Bai YL, Cai BZ. Calcium-Activated Potassium Channels: Potential Target for Cardiovascular Diseases. *Adv Protein Chem Struct Biol* 2016;104:233-261.
- Hibino H, Inanobe A, Furutani K, Murakami S, Findlay I, Kurachi Y. Inwardly rectifying potassium channels: their structure, function, and physiological roles. *Physiol Rev* 2010;90:291-366.
- Park KS, Jung KH, Kim SH, Kim KS, Choi MR, Kim Y, Chai YG. Functional expression of ion channels in mesenchymal stem cells derived from umbilical cord vein. *Stem Cells* 2007;25:2044-2052.
- Anumonwo JM, Lopatin AN. Cardiac strong inward rectifier potassium channels. *J Mol Cell Cardiol* 2010;48:45-54.
- Litan A, Langhans SA. Cancer as a channelopathy: ion channels and pumps in tumor development and progression. *Front Cell Neurosci* 2015;9:86.
- Li GR, Deng XL. Functional ion channels in stem cells. *World J Stem Cells* 2011;3:19-24.
- Li GR, Deng XL, Sun H, Chung SS, Tse HF, Lau CP. Ion channels in mesenchymal stem cells from rat bone marrow. *Stem Cells* 2006;24:1519-1528.
- Li GR, Sun H, Deng X, Lau CP. Characterization of ionic currents in human mesenchymal stem cells from bone marrow. *Stem Cells* 2005;23:371-382.
- Youn SW, Kim DS, Cho HJ, Jeon SE, Bae IH, Yoon HJ, Park KC. Cellular senescence induced loss of stem cell proportion in the skin in vitro. *J Dermatol Sci* 2004;35:113-123.
- Crowder SW, Horton LW, Lee SH, McClain CM, Hawkins OE, Palmer AM, Bae H, Richmond A, Sung HJ. Passage-dependent cancerous transformation of human mesenchymal stem cells under carcinogenic hypoxia. *FASEB J* 2013;27:2788-2798.
- Suhr ST, Chang EA, Rodriguez RM, Wang K, Ross PJ, Beyhan Z, Murthy S, Cibelli JB. Telomere dynamics in human cells reprogrammed to pluripotency. *PLoS One* 2009;4:e8124.
- Park KS, Kim Y. The Effect of Quercetin on the BK(Ca) in Umbilical Cord Vein-derived Mesenchymal Stem Cells. *Lab Anim Res* 2010;26:203-209.
- Park KS, Jung KH, Chai YG, Kim CH, Shin E-Y, Kim Y. Riluzole-Induced Activation of BKCa Channels and Inhibition of Voltage-Gated Na^+ Channel in Human Umbilical Cord Vein-Derived Mesenchymal Cells. *Lab Anim Res* 2008;24: 287-292.
- Bonab MM, Alimoghaddam K, Talebian F, Ghaffari SH, Ghavamzadeh A, Nikbin B. Aging of mesenchymal stem cell in vitro. *BMC Cell Biol* 2006;7:14.
- Vidal MA, Walker NJ, Napoli E, Borjesson DL. Evaluation of senescence in mesenchymal stem cells isolated from equine bone marrow, adipose tissue, and umbilical cord tissue. *Stem Cells Dev* 2012;21:273-283.
- Wagner W, Bork S, Lepperdinger G, Jousen S, Ma N, Strunk D, Koch C. How to track cellular aging of mesenchymal stromal cells? *Aging (Albany NY)* 2010;2:224-230.
- Jin HJ, Bae YK, Kim M, Kwon SJ, Jeon HB, Choi SJ, Kim SW, Yang YS, Oh W, Chang JW. Comparative analysis of human mesenchymal stem cells from bone marrow, adipose tissue, and umbilical cord blood as sources of cell therapy. *Int J Mol Sci* 2013;14:17986-18001.
- Schellenberg A, Hemedda H, Wagner W. Tracking of replicative senescence in mesenchymal stem cells by

- colony-forming unit frequency. *Methods Mol Biol* 2013;976:143-154.
21. Park KS, Choi MR, Jung KH, Kim S, Kim HY, Kim KS, Cha EJ, Kim Y, Chai YG. Diversity of ion channels in human bone marrow mesenchymal stem cells from amyotrophic lateral sclerosis patients. *Korean J Physiol Pharmacol* 2008;12:337-342.
 22. Lang F, Hoffmann EK. Role of ion transport in control of apoptotic cell death. *Compr Physiol* 2012;2:2037-2061.
 23. Lang F, Shumilina E, Ritter M, Gulbins E, Vereninov A, Huber SM. Ion channels and cell volume in regulation of cell proliferation and apoptotic cell death. *Contrib Nephrol* 2006;152:142-160.
 24. Garzon I, Perez-Kohler B, Garrido-Gomez J, Carriel V, Nieto-Aguilar R, Martin-Piedra MA, Garcia-Honduvilla N, Bujan J, Campos A, Alaminos M. Evaluation of the cell viability of human Wharton's jelly stem cells for use in cell therapy. *Tissue Eng Part C Methods* 2012;18:408-419.