

# 형질변형성장인자가 손상골 재생능에 미치는 영향에 관한 실험적 연구

경희대학교 치과대학 구강악안면방사선학 교실 · 구강내과학 교실\*

이 병 도 · 황 의 환 · 이 상 래 · 홍 정 표\*

## 목 차

- I. 서 론
- II. 실험재료 및 방법
- III. 실험성적
- IV. 총괄 및 고안
- V. 결 론
  - 참고문헌
  - 영문초록
  - 사진부도 설명

## I. 서 론

골조직은 28%의 제1형 교원질과 5%정도의 비교원질성 단백질인 osteonectin, osteocalcin, bone morphogenic protein(BMP), bone proteoglycan, bone sialoprote 등, 총 33%정도의 유기질을 함유하고 있는 무기질화된 특수결합조직으로서<sup>1)</sup>, 성장과 기능적인 작용에 대응하여 일생동안 국소적 또는 전신적인 작용으로 지속적인 내부개조를 반복한다<sup>2)</sup>. 이러한 골조직이 손상을 받으면 내분비(endocrine)와 부분비(paracrine)의 조절작용에 의해 상흔을 남기지 않고 치유된다<sup>3)</sup>. 그러나 손상골은 손상의 양상, 손상부위의 크기 등 골치유에 영향을 미치는 여러가지 여건에 따라 골조직으로 치유되지 못하고 섬유성 결합조직으로 대체되어 골유합을 이루지 못하게 되는 경우도 있다<sup>4)</sup>.

구강악안면영역에서 악골은 다른 부위의 골에 비하여 충분한 양의 주위 골조직이 없으며, 치근단염증이나 진행성 치주염등의 감염에 노출될 기회가 많을 뿐만 아니라, 형태적인 원인으로 인하여 외부에 많이 노출되므로 타부위의 골보다 외력에 의한 손상을 쉽게 받아 기능 및 심미적인 문제를 야기시킨다. 따라서 치아가 식립되어 있으므로 그 기능조건의 변화에 적응될 수 있도록 항상 민감하게 반응하는 악골<sup>5)</sup>이 손상을 받을 경우 손상악골을 성공적으로 치유시키기 위하여서는 이들을 보호하고 손상부위의 신생골 유도를 촉진시킬 수 있는 방법들이 요구되고 있다<sup>6)</sup>.

이 중의 한 방법으로서, Hurley 등<sup>7)</sup>은 1959년에 처음으로 barrier membrane을 이용하여 실험적으로 골절된 척추의 유합을 시도하였고, 1960년대에는 Bassett 등<sup>8)</sup>과 Boyne<sup>9)</sup> 등이 각각 장골의 치밀골 손상치유나 안면골의 재수복에 mil-lipore filter를 이용하여 이의 치유를 유도한 바 있다. 또한 Mulliken 등<sup>4)</sup>은 골손상부에 탈회골분이나 골편을 삽입함으로써, Noda와 Camilliere<sup>10)</sup>는 형질변형성장인자  $\beta$  (transforming growth factor- $\beta$ ; TGF- $\beta$ )를 사용하여 골재생의 유도를 시도하였다.

TGF- $\beta$ 는 조직의 치유에 국소적으로 관여하는 매개물질인 성장인자의 하나로서, 이것은 다양한 종류의 세포의 성장과 분화에 영향을 주고 세포외 기질을 생산하는 25 kDa의 동형이량체로 구성된 단백질 성분이며<sup>11, 14)</sup>, 이의 구조나 기능

에 따라 TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2, TGF- $\beta$ 3, TGF- $\beta$ 4, TGF- $\beta$ 5의 5가지 유형으로 나뉜다<sup>14)</sup>. TGF- $\beta$ 는 platelet derived growth factor(PDGF), epithelial growth factor(EGF), insulin-like growth factor-1(IGF-1), fibroblast growth factor(FGF), transforming growth factor- $\alpha$  (TGF- $\alpha$ )와 더불어 혈소판과 염증성 백혈구로부터 유리되어, 염증병소내에서 육아조직의 형성을 조절하는등 조직세포에 대하여 많은 효과를 나타내는데<sup>15)</sup>, 특히 TGF- $\beta$ 1은 생체에서 골화와 연골화를 유도하고<sup>16)</sup>, 골막에서의 교직골(woven bone)의 형성을 촉진함으로써<sup>10)</sup> 골형성에도 크게 관여한다.

최근 치과임상에서는 발치나 외상에 의한 골손상 이외에도 악안면성형이나 인공치아매식을 시행하기 위한 인위적인 골손상이 점차 증가되고 있으므로, 손상골을 성숙된 구조로 빠르게 재생시키는 것이 치과의사들의 많은 관심사가 되고 있으며, 조직내에 고유하게 존재하는 매개물질에 인위적으로 성장인자를 투입함으로써, 매개물질의 기능을 촉진하여 조직의 재생능을 높여주고자 하는 연구들이 최근 활발하게 진행되고 있다.

따라서 저자는 guinea pig의 하악골에 인위적으로 골손상을 야기시킨 후에, 골조직에 가장 많이 저장되어 있고 골모세포의 분화와 증식을 촉진시켜서 골형성에 중요한 역할을 하는 것<sup>11)</sup>으로 알려진 TGF- $\beta$ 1을 사용하여, 형성되는 골소주의 재생과정을 관찰하고자 본실험을 시행하였다.

## II. 실험재료 및 방법

### 1. 실험재료

동일한 조건하에서 사육된 6주령의 음성 guinea pig 20마리를 실험대상으로 하였으며 개체간의 차이로 인한 영향을 최소화 하기 위하여 좌측 하악골을 대조군으로, 우측 하악골을 실험군으로 각각 정하였다.

### 2. 실험방법

대조군과 실험군 모두에 trephine bur를 사용하여 제1대구치 하방부의 하악골체에 직경 3 mm의 손상부위를 형성하였다. 대조군의 골손상부위에는 치조골손상의 치유목적으로 이용되는 생화학적 접합물질인 Biogran(Orthovita Co., U.S.A.)을 생리식염수에 혼합하여 매식하였고, 실험군에는 생리식염수에 혼합한 Biogran이외에도 4  $\mu$ g/ml로 희석한 TGF- $\beta$ 1(R&D system Co., U.S.A.)을 추가로 주입하였다.

매식체를 대조군과 실험군에 매식한 후, 항생제를 투여하여 염증발현을 최소화 하고 충분히 영양공급을 해주어 정상적으로 골재생이 원활하게 이루어지도록 하였으며, 골의 결합조직이 골손상부위로 유입되는 것을 차단시키기 위하여, Tutoplast allograft인 Dura mater(Pfrimmer-viggo GmbH Co., Germany)를 골손상부에 피개시킨 후 골막과 근조직을 봉합하였다.

실험동물을 실험후 3일, 1주, 2주, 3주, 4주에 각각 4마리씩 희생시킨 다음 하악골을 적출하였다. 조직의 변화상을 관찰하기 위하여, 통법에 의한 paraffin 포매 후 Hematoxylin-Eosin 중염색을 시행하여 광학현미경으로 관찰하였고, 신생 골소주의 골기질 배열양상을 관찰하기 위하여서는 편광현미경을 이용하였다. 또한 재생골소주의 형태와 Biogran의 흡수양상을 관찰하기 위하여 미세방사선사진을 촬영하였다. 이때 사용된 연X선발생장치는 Hitex HA-80(Hitex Co., Japan)이었으며, 사용된 X선필름은 연X선사진용 Fuji X-ray film FR(Fuji Photo Film Co., Ltd., Japan)이었고, X선촬영조건은 관구와 필름간의 거리가 60 cm, 관전압이 40 kVp, 관전류가 2.5 mA, 조사시간이 20초이었다. 촬영된 X선필름은 20°C에서 Rendol(Fuji Photo Film Co., Ltd., Japan)로 4분간 현상하였으며, Ren-Fix(Fuji Photo Film Co., Ltd., Japan)로 5분간 정착하고, 수세 건조한 후 광학현미경으로 관찰하였다.

## III. 실험성적

### 1. 대조군

#### 1) 실험 후 3일군

손상골 변연에서 많은 수의 파골세포가 관찰되었으며, 골매식재의 입자 사이와 기존골 사이에서는 부종상의 육아조직이 관찰되었고, 많은 출혈상이 관찰되었다. 또한 골매식재 변연에서는 골모세포의 분화나 골형성상은 관찰되지 않았다(Fig. 1).

## 2) 실험 후 1주군

손상골 변연에서는 여전히 많은 수의 파골세포가 관찰되었고, 골매식재의 입자사이와 기존골 사이의 육아조직내에서 출혈상이 소실되었으며, 육아조직은 소성결합조직으로 형성되었다. 또한 골매식재 변연과 골매식재간 결합조직내에서는 골모세포가 관찰되었고, 미약한 골형성소견도 관찰되었다(Fig. 2-4).

한편 미세방사선사진에서는 골손상부위의 중심부에 골매식재가 치밀하게 관찰되었으나 다소의 흡수상이 관찰되었다(Fig. 21-a).

## 3) 실험 후 2주군

손상골 변연에서는 여전히 파골세포가 관찰되었고, 골매식재의 입자 사이나 기존골 사이의 육아조직은 더욱 성숙되었다. 골매식재와 손상골 변연에서는 골모세포의 분화가 뚜렷하게 관찰되었으며, 골매식재간에서는 발육과 성숙도가 낮은 신생골의 형성도 관찰되었다(Fig. 5, 6).

또한 미세방사선사진에서는 대조 1주군에 비하여 다소 뚜렷한 골매식재의 흡수상이 관찰되었다(Fig. 21-b).

## 4) 실험 후 3주군

손상골 변연 인접부의 파골세포는 현저히 감소되었으며, 골매식재 변연과 손상골 변연에서는 골모세포의 분화와 골형성이 더욱 뚜렷하였고, 치밀하게 형성된 골기질도 관찰되었다(Fig. 7, 8).

미세방사선사진에서는 골손상부위의 골매식재의 전반적인 흡수상이 관찰되었으며, 매식재 입자사이에서 신생골이 관찰되기 시작하였다(Fig. 21-c).

## 5) 실험 후 4주군

손상골 변연과의 인접부에서는 파골세포가 거의 관찰되지 않았으며, 골매식재와 손상골 변연에서는 골모세포의 분화와 골형성이 왕성하였고, 형성된 골기질도 더욱 치밀하였다(Fig. 9, 10).

미세방사선사진에서는 신생골이 기존골변연으로부터 손상부위를 향하여 형성되는 것이 뚜렷이 관찰되었으나, 그 구조는 다소 불규칙하였다(Fig. 21-d).

## 2. 실험군

### 1) 실험 후 3일군

손상골 변연에서는 많은 수의 파골세포가 관찰되었고, 골매식재의 입자 사이와 기존골 사이에서는 육아조직이 관찰되었으며, 이 조직내에서는 역시 출혈상이 관찰되었으나, 골매식재 변연에서는 골모세포의 분화나 골형성상은 관찰할 수 없었다(Fig. 11).

### 2) 실험 후 1주군

손상골 변연에서 여전히 많은 수의 파골세포가 관찰되었고, 골매식재의 입자 사이와 기존골 사이의 육아조직내에는 출혈상이 소실되었으며, 육아조직은 매우 성숙되었다. 골매식재 변연과 손상골 변연에서는 골모세포의 분화가 현저하였고, 골매식재간과 기존골과의 사이에서 골기질은 비교적 치밀하지 않았으나 부분적으로 미약한 골형성소견이 관찰되었다(Fig. 12-14).

미세방사선사진에서는 골손상부위의 골매식재가 치밀하였고, 다소 흡수된 양상이 관찰되었다(Fig. 22-a).

### 3) 실험 후 2주군

손상골 변연에서는 여전히 파골세포가 관찰되었으며, 골매식재의 입자 사이와 기존골 사이의 육아조직은 더욱 성숙되었고, 골매식재 변연과 손상골 변연에서는 골모세포의 분화상이 뚜렷하게 관찰되었다(Fig. 15, 16).

미세방사선사진에서는 기존골연으로부터 구조가 불규칙한 신생골의 형성이 관찰되기 시작하였다(Fig. 22-b).

#### 4) 실험 후 3주군

손상골 변연의 인접부에서는 파골세포가 현저히 감소되었고, 골매식재 변연과 손상골 변연에서는 골모세포의 분화와 골형성이 왕성하였으며, 매우 치밀하게 형성된 골기질도 관찰되었다 (Fig.17, 18).

미세방사선사진에서는 골매식재 입자 사이에 구조가 불규칙한 신생골의 형성이 뚜렷이 관찰되었으며, 신생골의 양도 더욱 증가되었다 (Fig. 22-c).

#### 5) 실험 후 4주군

손상골 변연의 인접부에서는 파골세포가 거의 관찰되지 않았으며, 골매식재 변연과 손상골 변연에서는 골모세포의 분화와 골형성이 더욱 왕성하였고, 형성된 골기질도 매우 치밀하였다 (Fig. 19, 20).

미세방사선사진에서는 골매식재 입자 사이와 기존골의 골변연에 보다 치밀한 신생골이 관찰되었으며, 손상부위도 현저하게 감소된 상이 관찰되었다 (Fig. 22-d).

### IV. 총괄 및 고안

악골이 인공치아매식이나 성형, 외상, 감염, 각종 종양등에 의하여 손상이나 결손이 야기될 때에 골조직의 재생을 위하여 methylcellulose, 탈회골, BMP, hydroxyapatite, ceramic, titanium, acrylic resin mesh등과 이들의 혼합체등의 다양한 골매식재가 이용되고 있다<sup>17-20)</sup>.

주로 제1형 교원질과 다양한 세포기질성분으로 구성되어 있으며, 적은 양의 단백질도 존재하는 탈회골기질<sup>17)</sup>은 골결손을 치료할 목적으로 임상에서 사용되고 있으나, 탈회골기질 자체가 신생골합성을 유도하는 능력은 거의 없고, 골유도물질의 동종이식에 있어서도 골형성은 되지 않은 채 골기질만 흡수되는 경우가 흔히 있다<sup>21)</sup>고 보고되고 있으며, 탈회골분과 섞어 연조직이나 골손상부에 매식한 골형성단백질은 연골형성 과정을 거쳐 골을 형성한다<sup>18,22,23)</sup>고 알려져 있으므로, 본실험에서는 실험의 변수를 피하기 위하여 Si, Ca, Na, P의 성분을 가지고 있고 생물학적

반응을 하는 300-355  $\mu\text{m}$  크기의 흡수성 합성매식재인 Biogran을 사용하여 실험하였다.

Kibblewhite<sup>24)</sup>은 골형성 촉진을 위하여 이의 재생에 많은 작용을 하는 성장인자의 하나인 TGF- $\beta$ 를 사용하여 골형성량이 많았음을 보고한 바 있다. 골조직이 감염이나 손상을 받게 되면 염증병소내에서 만들어진 colony stimulating factor(CSF)의 반응으로 순환혈액내에 다형핵 백혈구와 단핵구가 증가하게 되는데, 다형핵 백혈구와 단핵구 및 대식세포는 모두 염증과 면역 반응을 조절한다. 다형핵 백혈구와 단핵세포는 병소내에서 식작용을 함으로써 감염병소의 잔재를 제거하여 주며, 특히 단핵구로 부터 유래된 대식세포는 interleukin-1  $\alpha$ 와  $\beta$ , TGF- $\beta$ 등의 cytokine을 유리시켜 섬유모세포의 주화성과 활동성, 증식을 유도해 줌으로써 조직의 치유와 재형성을 돕게 된다<sup>25)</sup>.

TGF는  $\alpha$ 와  $\beta$ 의 두 군으로 나누어지며, IGF-1, PDGF, FGF와 함께 cytokine중의 성장 및 분화인자로서 다양한 기능을 가지고 있지만, 특히 TGF- $\beta$ 가 골재생에 깊이 관여되고 있는 것으로 보고<sup>25)</sup>되고 있다.

TGF- $\beta$ 는 잠재성 고분자 복합체로서 합성되는데<sup>26)</sup>, 정상적으로 어떻게 활성화되는지, 또는 부속된 단백질과 어떠한 상호작용을 하는지는 명확하게 구명되지 못하고 있다<sup>27,28)</sup>. Wakefield 등<sup>29)</sup>은 TGF- $\beta$ 가 잠재성으로 분비되고 세포막의 수용기와 결합하기 전에 특수한 조직에서 활성화된다고 보고한 바 있고, Thomson<sup>25)</sup>은 TGF- $\beta$ 가 단백질분해효소의 영향을 받아 활성화되어 종양세포나 활성화된 대식세포, 파골세포, 골모세포, 섬유모세포등으로 부터 유리되는데, 이는 인체 대부분의 세포에 대해 생물학적으로 매우 다양한 기능을 나타낸다고 하였다.

조혈작용을 하지 못하는 기관의 대부분의 세포들에서 여러가지 방법에 의하여 주위의 세포와 기질이나 세포의 기저막과 상호작용<sup>11,25)</sup>하는 TGF- $\beta$ 는 세포의 기질을 구성하는 다양한 교원질, fibronectin, thrombospondin, tenascin, osteopontin, osteonectin, proteoglycan등의 많은 단백질의 분비와 합성을 유도한다<sup>25)</sup>.

TGF- $\beta$ 의 작용에 대하여, Massague<sup>12)</sup>는

TGF- $\beta$ 가 염증과 면역반응을 억제하거나 자극하는 등의 이중효과를 나타낸다고 하였으며, Roberts와 Sporn<sup>11)</sup>도 TGF- $\beta$ 가 성장을 조절하는 효과를 가지고 있기는 하지만, 세포의 유형과 세포계열에 따라 이를 증식시키기도 하고 억제시키기도 한다고 보고한 바 있다. 이들의 연구보고로 미루어 TGF- $\beta$ 는 상황에 따라 다양한 효과를 나타내는 성장인자인 것을 알 수 있다.

또한 TGF- $\beta$ 의 영향하에서 섬유모세포는 단백질분해효소의 활동을 조절하는 단백질분해효소억제제를 합성하는데<sup>30)</sup>, Border등<sup>31)</sup>과 Castilla등<sup>32)</sup>, Shah등<sup>33)</sup>은 TGF- $\beta$ 의 과다한 생산이 사구체신염, 간섬유증, 켈로이드형성과 같은 몇몇 섬유성 질환과 관련있다고 보고하였다. 이들 선행학들의 연구는 TGF- $\beta$ 가 섬유질 형성의 촉진작용을 가지는 것을 시사하여 준다.

한편 Centrella등<sup>34)</sup>은 골모세포가 골조직에서 관찰되는 TGF- $\beta$ 의 근원으로 생각된다고 보고한 바 있어, 골조직과 TGF- $\beta$ 는 매우 밀접한 관계가 있다고 사료되는데, Bonewald와 Mundy<sup>35)</sup>는 파골세포의 주름진 변연에서 발생하는 높은 효소작용과 낮은 수소이온농도지수의 조건이 TGF- $\beta$ 가 활성화되기 위한 이상적인 미세환경이 될 것이라고 하였으며, Oreffo등<sup>36)</sup>은 고립된 파골세포가 골조직에서의 잠재성 TGF- $\beta$ 를 활성화시킨다는 것을 시험관내 실험을 통해 입증한 바 있다. 더우기 Joyce등<sup>37)</sup>도 골절에 의해 미세혈관이 차단되면 산소농도가 희박해지고 산성환경이 조성되므로 많은 양의 TGF- $\beta$ 가 골절가골, 골모세포, 골절혈중에 분포된다고 보고하였는데, 결국 TGF- $\beta$ 가 손상골조직의 치유에 중요한 요소로서 작용한다고 생각된다.

따라서 본실험에서는 골손상 부위의 치유를 촉진시키기 위한 목적으로 TGF- $\beta$ 1을 사용하여 실험하였다. TGF- $\beta$ 의 5가지 유형중에서<sup>38,39)</sup> 390개의 아미노산을 가지고 있는<sup>14)</sup> TGF- $\beta$ 1은 염증반응 과정 중에 초기에는 염증유발인자로 작용하고, 후기에는 면역억제인자로서의 역할을 한다<sup>15)</sup>. TGF- $\beta$ 1은 섬유모세포와 염증성 백혈구에 주화성을 부여하여 방어세포들을 끌어 모으는 역할을 하며<sup>25)</sup>, 중배엽세포에 의한 기질합성 뿐만 아니라 중배엽세포의 이주와 증식을 촉

진시키기도 한다<sup>11)</sup>.

본 실험에서 실험3일군에 육아조직의 형성이 관찰되기 시작하여 이 육아조직은 실험1주 후에는 잘 성숙되었으며, 골기질의 형성소건도 관찰되었는데, 이는 TGF- $\beta$ 1이 손상골의 치유에 영향을 미쳤던 결과로서 생각된다.

또한 TGF- $\beta$ 1은 타세포와의 세포간 전달이나 골조직의 성장발육을 조절하고 유도하는 용해성 세포산물로서, 골의 재형성을 조절하는 인자로서도 알려져 있다<sup>40)</sup>. 특히 Falanga등<sup>41)</sup>은 저산소상태가 유발될 수 있는 골절의 경우에 섬유모세포로부터 골의 합성이 증가되며, 간질콜라겐과 엘라스틴, 당단백질, proteoglycans, glycosaminoglycans와 같은 기질분자의 형성을 강하게 자극하기도 한다고 하였으며<sup>25)</sup>, Beck등<sup>3)</sup>은 TGF를 두개골 손상부에 단회만 적용하여도 골형성이 충분히 이루어진다고 보고하면서, 이는 TGF- $\beta$ 1이 생체내에서 잠재적인 골형성 유도인자로 작용한다는 설<sup>10,16)</sup>을 뒷받침하는 것이라고 하였다. 실험적으로 Joyce등<sup>42)</sup>은 백서의 대퇴골 골막하에 TGF- $\beta$ 1의 반복주사로, Beck등<sup>3)</sup>은 토끼의 두개 손상부위에 매식체와 함께 적용시켜 각각 골형성을 유도한 바 있고, Noda와 Camilliere<sup>10)</sup>, Marcelli등<sup>43)</sup>, Mackie와 Trechsel<sup>44)</sup> 등은 TGF- $\beta$ 1을 정상 신생백서의 두개 골막하에 반복주사한 결과 TGF- $\beta$ 1에 노출된 부위의 전구세포들이 반응하여 골형성이 유도되었다고 보고하였다.

TGF- $\beta$ 가 인체의 필요한 부위에 영향을 미치는 것은, 신체의 대부분 세포들이 TGF- $\beta$ 를 생산해 내고, 이에 대한 수용기를 대부분의 세포들이 가지고 있다는 점으로 미루어 볼 때, 이의 작용이 중심성으로 조절되고 있다<sup>11)</sup>고 생각되고 있으나, 실험적으로 TGF- $\beta$ 1을 국소 도포할 때에 골형성이나 치유반응등이 나타나는 것은 TGF- $\beta$ 1이 손상부의 표현형 세포와 직접적으로 작용하여 나타나는 현상<sup>11)</sup>이라고 생각된다. 따라서 본실험에서도 손상부위에 적용한 TGF- $\beta$ 1이 골조직내의 노출된 전구세포를 자극함으로써, 실험군에서 골매식체와 손상골 변연의 골모세포의 분화가 보다 왕성한 소건이 관찰되었고, 편광현미경상에서도 형성된 골기질이 더욱

치밀하여졌으며, 대조군에 비하여 실험군에서 신생골의 형성소견이 실험 2주후의 미세방사선 사진에서 관찰되었던 원인으로 사료된다.

또한 Beck 등<sup>3)</sup>은 토끼의 두개골에 형성한 손상 부가 완전히 수복될 때까지 연골이 형성되지 않고 골소주의 형태로 골형성이 계속 지속되었다고 보고한 반면, Joyce 등<sup>42)</sup>은 백서의 대퇴골 골막하에 TGF- $\beta$ 1을 반복주사한 실험에서 연골형성과 함께 골형성이 유도되었다고 보고하였다. 그러나 본실험의 결과, 실험 전군에 걸쳐 연골조직은 관찰되지 않았고 골소주 형태의 골형성이 진행되는 소견만이 있었다. 따라서 향후 연골형성의 기구나 조건에 대한 구명이 필요하리라고 생각된다.

## V. 결 론

최근 치과임상에서는 발치나 외상에 의한 골손상 이외에도 악안면성형이나 인공치아매식을 시행하기 위한 인위적인 골손상이 점차 증가됨에 따라, 손상골을 성숙된 구조로 빠르게 재생시키는 것이 치과의사들의 커다란 관심사가 되고 있다.

이에 저자는 골모세포의 분화와 증식을 촉진시켜 골형성에 중요한 역할을 하는 형질변형성장인자를 사용하여 형성되는 골소주의 재생과정을 관찰하고자, guinea pig의 하악골체에 직경 3 mm의 손상을 가한 후, Biogran을 매식재로 사용하여 실험하였던 바, 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 육아조직내의 출혈상은 양군 공히 실험 1주후에 소실되었으며, 육아조직의 성숙은 실험군에서 더욱 활발하게 이루어졌고, 많은 세포성분을 함유하고 있었다.
2. 골매식재와 손상골 변연의 골모세포의 분화는 양군 공히 실험 1주후에 시작되었으며, 형성된 골도 실험 1주후에 발육과 성숙도가 낮은 형태로 관찰되기 시작하였으나 실험군에서 보다 풍부하게 관찰되었다. 또한 파골세포는 양군 공히 실험 3주까지 관찰되었으나, 이의 수는 실험기간의 경과에 따라 점차 감소되었다.
3. 편광현미경상에서, 형성된 골기질은 실험 1주

후에 미약하였으나 실험기일이 경과됨에 따라 치밀하여졌고, 이의 정도는 실험군에서 더욱 현저하였다.

4. 미세방사선사진에서, 골소주형태의 신생골의 형성은 실험 2주후에 관찰되기 시작하였으며, 대조군에 비하여 초기에 관찰되었고, 실험기일이 경과됨에 따라 점차 증가되어 실험 4주 후에는 손상부위가 현저하게 감소되었다.

## REFERENCES

1. Ten Cate, A.R.: Oral histology; development, structure, and function. 4th ed., The C.V. Mosby Co., 1994. pp. 120-146.
2. Bhaskar, S.N.: Maxilla and mandible(alveolar process). In: Orban's Oral Histology and Embryology (edited by Bhaskar, S.N.), 9th ed., The C.V. Mosby Co., 1980, pp. 240-260.
3. Beck, L.S., Leo Deguzman, Lee, W.P., Yvette Xu, McFatrige, L.A., Gillett, N.A., and Amento, E.P.: TGF- $\beta$ 1 induces bone closure of skull defects. J. Bone and Mineral Research, 6:1257-1265, 1991.
4. Mulliken, J.B., Glowacki, J., Kaban, L.B., Folkman, J., and Murray, J.E.: Use of demineralized allogenic bone implants for the correction of maxillocraniofacial deformities. Ann. Surg., 194:366-372, 1981.
5. 須賀昭一: 齒槽骨-その構造, 機能と反應. 齒界展望 61:840-852, 1983.
6. Schenk, R.K., Buser, D., Hardwick, W.R., and Dahlin, C.: Healing pattern of bone regeneration in membrane-protected defects; a histologic study in the canine mandible. Int. J. Oral Maxillofacial Implants, 9:13-29, 1994.
7. Hurley, L.A., Stinchfield, F.E., Bassett, C.A.L., and Lyon, W.H.: The role of soft tissues in osteogenesis. J. Bone Joint Surg., 41:1243-1254, 1959.
8. Bassett, C.A.L., Creighton, D.K., and Stinchfield, F.E.: Contributions of endosteum, cortex and soft tissues to osteogenesis. Surg. Gynecol. Obstet., 112: 145-152, 1961.
9. Boyne, P.J.: Restoration of osseous defects in maxillofacial casualties. J. Am. Dent. Assoc., 78:767-776, 1969.
10. Noda, M. and Camilliere, J.J.: In vivo stimulation of bone formation by transforming growth factor-beta. Endocrinology, 124:2991-2994, 1989.

11. Roberts, A.B. and Sporn, M.B.: The transforming growth factor betas. In peptide growth factors and their receptors, Springer-Verlag, Berlin, 1990, pp. 417-472.
12. Massague, J.: The transforming growth factor-beta family. *Ann. Rev. Cell Biol.*, 6:597-641, 1990.
13. Barnard, J.A., Lyons, R.M., and Moses, H.L.: The cell biology of transforming growth factor beta. *Biochem. Biophys. Acta*, 1032:79-87, 1990.
14. Miyazono, K. and Heldin, C.H.: Role for carbohydrate structures in TGF- $\beta$  1 latency. *Nature*, 338: 158-160, 1990.
15. Wahl, S.M.: Transforming growth factor-beta(TGF- $\beta$ ) in inflammation: a cause and a cure. *J. Clin. Immunol.*, 12:61-74, 1992.
16. Joyce, M.E., Roberts, A.B., Sporn, M.B., and Bolland, M.E.: Transforming growth factor-beta and the initiation of chondrogenesis and osteogenesis in the rat femur. *J. Cell Biol.*, 110:2195-2207, 1990.
17. Boskey, A.L.: Noncollagenous matrix proteins and their role in mineralization. *Bone and Mineral*, 6:111-123, 1989.
18. Wang, E.A., Rosen, V., Dlessandra, J.S., Bauduy, M., Cordes, P., Harada, T., Israel, D.I., Hewick, R.M., Kerns, K.M., LaPan, P., Luxenberg, D.P., McQuaid, D., Moutsatsos, I.K., Nove, J., and Wozney, J.M.: Recombinant human bone morphogenetic protein induces bone formation. *Proc. Nat'l Acad. Sci. U.S.A.*, 87:2220-2224, 1990.
19. Blumenthal, N. and Steinberg, J.: The use of collagen membrane barriers in conjunction with combined demineralized bone-collagen gel implants in human infrabony defects. *J. Periodontol.*, 61:319- 327, 1990.
20. Mails, L.I.: Titanium mesh and acrylic cranioplasty. *Neurosurgery*, 25: 351-355, 1989.
21. Toriumi, D.M., Larrabee, W.F., Walike, J.W., Millay, D.J., and Eisele, D.W.: Demineralized Bone. *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.*, 116:676-680, 1990.
22. Sato, K. and Urist, M.R.: Induced regeneration of calvaria by bone morphogenic protein(BMP) in dogs. *Clin. Orthop.*, 197:301-311, 1985.
23. Takagi, K. and Urist, M.R.: The reaction of the dura to bone morphogenic protein(BMP) in repair of skull defects. *Ann. Surg.*, 196: 100-109, 1982.
24. Kibblewhite, D.J., Bruce, A.G., Strong, D.M., Ott, S.M., Purchio, A.F., and Larrabee, W.F.: Transforming growth factor- $\beta$  accelerates osteoinduction in a craniofacial onlay model. *Growth Factor*, 9: 185-193, 1993.
25. Thomson, A.W.: The cytokine handbook. 2nd ed., Harcourt Brace & Co. 1994, pp. 319-342.
26. Pircher, R., Lawrence, D.A., and Jullien, P.: Latent  $\beta$ -transforming growth factor in nontransformed and Kirsten sarcoma virus-transformed normal rat kidney cells, clone 49F. *Cancer Res.*, 44:5538-5543, 1984.
27. Lyon, R.M., Keski-Oja, J., and Moses, H.L.: Proteolytic activation of latent transforming growth factor- $\beta$  from fibroblast-conditioned medium. *J. Cell Biol.*, 106:1659-1665, 1988.
28. Brown, P.D., Wakefield, L.M., Levinson, A.D., and Sporn, M.B.: Physicochemical activation of recombinant latent transforming growth factor-beta's 1, 2 and 3. *Growth Factors*, 3:35-42, 1990.
29. Wakefield, L.M., Smith, D.M., Flander, K.C., and Sporn, M.B.: Latent transforming growth factor- $\beta$  from human platelets. *J. Biol. Chem.*, 263:7646-7654, 1988.
30. Wakefield, L.M., Smith, D.M., Masui, T., Harris, C. C., and Sporn, M.B.: Distribution and modulation of the cellular receptor for transforming growth factor -beta. *J. Cell Biol.*, 105:965-975, 1987.
31. Border, W.A., Okuda, S., Languino, L.R., Sporn, M. B., and Ruoslahti, E.: Suppression of experimental glomerulonephritis by antiserum against transforming growth factor- $\beta$  1. *Nature*, 345:371-374, 1990.
32. Castilla, A., Prieto, J., and Fausto, N.: Transforming growth factor  $\beta$  1 and  $\alpha$  in chronic liver disease: effects of interferon-alpha therapy. *N. Engl. J. Med.*, 324:933-940, 1991.
33. Shah, M., Foreman, D.M., and Ferguson, M.W.: Control of scarring in adult wounds by neutralising antibody to transforming growth factor- $\beta$ . *Lancet*, 339:213-214, 1992.
34. Centrella, M., McCarthy, T.L., and Canalis, E.: Effects of transforming growth factors on bone cells. *Connect. Tissue Res.*, 20:267-275, 1989.
35. Bonewald, L.F. and Mundy, G.R.: Role of transforming growth factor-beta in bone remodeling. *Clin. Orthoped.*, 250:261-276, 1990.
36. Oreffo, R.O., Mundy, G.R., Seyedin, S.M., and Bon-

- ewald, L.F.: Activation of the bone-derived latent TGF beta complex by isolated osteoclasts. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 158:817-823, 1989.
37. Joyce, M.E., Jingushi, S., and Bolander, M.E.: Transforming growth factor beta in the regulation of fracture repair. *Orthoped. Clin. North. Am.*, 21: 199-209, 1990.
38. Derynck, R., Rhee, L., Chen, E.Y., and Van Tilburg, A.: Intron-exon structure of the human transforming growth factor- $\beta$  precursor gene. *Nucl. Acids Res.*, 15:3188-3189, 1988.
39. Derynck, R., Lindquist, P.B., Lee, A., Wen, D., Tamm, J., Graycan, J.L., Rhee, L., Mason, A.J., Miller, D.A., Coffey, R.J., Moses, H.L., and Chen, E.Y.: A new type of transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ 3. *EMBO J.*, 12:3737-3743, 1988.
40. Meager, A.: *Cytokines*. Open University Press, Milton Keynes, 1990.
41. Falanga, V., Qian, S.W., Danielpour, D., Katz, M. H., Roberts, A.B., and Sporn, M.B.: Hypoxia upregulates the synthesis of TGF-beta 1 by human dermal fibroblasts. *J. Invest. Dermatol.*, 97:634-637, 1991.
42. Joyce, M.E., Roberts, A.B., Sporn, M.B., and Bolander, M.E.: Transforming growth factor- $\beta$  and the initiation of chondrogenesis and osteogenesis in the rat femur. *J. Cell Biol.*, 110:2195-2207, 1990.
43. Marcelli, C., Yates, A.J., and Mundy, G.R.: In vivo effects of human recombinant transforming growth factor- $\beta$  on bone turnover in normal mice. *J. Bone Miner. Res.*, 5:1087-1096, 1990.
44. Mackie, E.J. and Trechsel, U.: Stimulation of bone formation in vivo by transforming growth factor- $\beta$ ; remodeling of woven bone and lack of inhibition by indomethacin. *Bone*, 11:295-300, 1990.



## THE EFFECTS OF TGF- $\beta$ 1 ON THE BONE REGENERATION IN GUINEA PIG MANDIBLE

Byung-Do Lee, Eui-Hwan Hwang, Sang-Rae Lee, Jung-Pyo Hong\*

*Dept. of Oral and Maxillofacial Radiology, College of Dentistry, Kyung Hee University*

*\*Dept. of Oral Diagnosis & Oral Medicine, College of Dentistry, Kyung Hee University*

The purpose of this study was to observe the effect of TGF- $\beta$ 1, which promotes differentiation and proliferation of osteoblasts, on bone regeneration. Experimental bone defects that measured 3 mm in diameter were created on the mandibles of guinea pig by removal of bone with the use of trephine burs. In one side of mandibular body, the experimental groups, bone defects were grafted with Biogran(Orthovita Co., U.S.A.) and TGF- $\beta$ 1(R&D System Co., U.S.A.). In the remaining side of the mandiblar body, the control groups, bone defects were grafted with only Biogran. Guinea pigs in the control and experimental groups were serially terminated by fours on the 3 days, the 1 week, the 2 weeks, the 3 weeks, and the 4 weeks after experiment, and both sides of the mandibular bodies were removed and fixed with 10% neutral formalin. They were decalcified and embedded in paraffin as using the usual method. The specimen sectioned and stained with hematoxylin and eosin. Also, they were radiographed with a soft X-ray apparatus.

The obtained results were as follows:

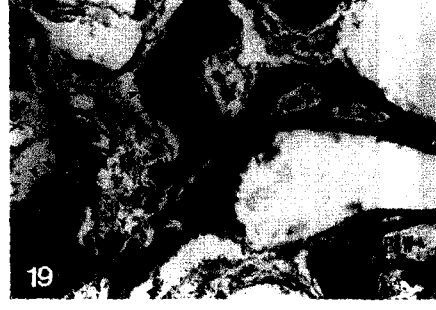
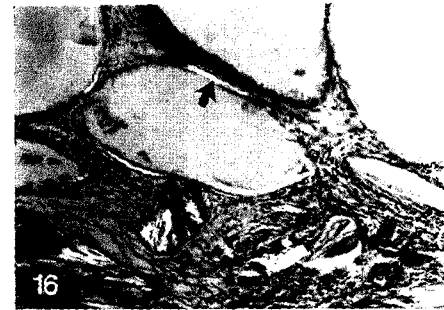
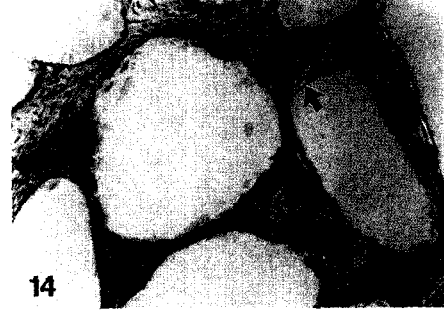
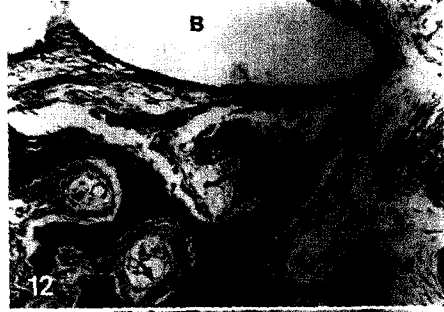
1. Hemorrhagic condition, observed in the granulation tissues, disappeared on the 1 week after experiment in both groups, and more prominent in the experimental group. The granulation tissues of the experimental group had larger number of cells than those of the control group.
2. Osteoblastic differentiation in the margin of grafted material and adjacent bone was observed on the 1 week after experiment in both groups. Also, bone formation was observed in immature form on the 1 week after experiment, and more prominent in the experimental group.
3. In the polarizing microscopic examination, bone matrix was very loose on the 1 week after experiment, but increase in density with time, and more prominent in the experimental group.
4. In the microradiographic examination, newly formed bone was observed in the experimental group on the 2 weeks after experiment, and this was observed earlier than in the control group. Newly formed bone was increased with time and defected area was markedly decreased on the 4 weeks after experiment.

## EXPLANATION OF FIGURES

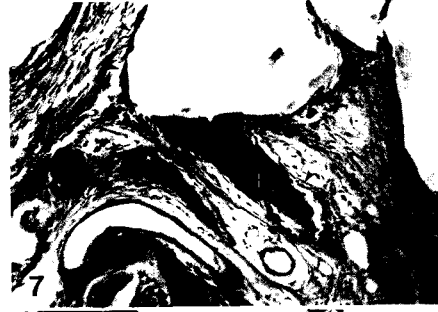
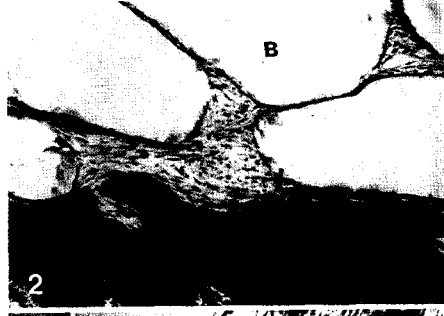
- Fig. 1.** Photomicrograph of mandibular bone defect of control group on the 3 days after experiment stained with H-E(X 100).
- Fig. 2.** Photomicrograph of mandibular bone defect of control group on the 1 week after experiment stained with H-E(X 100).
- Fig. 3.** Photomicrograph of mandibular bone defect of control group on the 1 week after experiment stained with H-E(X 100).
- Fig. 4.** Polarizing micrograph of mandibular bone defect of control group on the 1 week after experiment(X 100).
- Fig. 5.** Photomicrograph of mandibular bone defect of control group on the 2 weeks after experiment stained with H-E(X 100).
- Fig. 6.** Polarizing micrograph of mandibular bone defect of control group on the 2 weeks after experiment(X 100).
- Fig. 7.** Photomicrograph of mandibular bone defect of control group on the 3 weeks after experiment stained with H-E(X 100).
- Fig. 8.** Polarizing micrograph of mandibular bone defect of control group on the 3 weeks after experiment(X 100).
- Fig. 9.** Photomicrograph of mandibular bone defect of control group on the 4 weeks after experiment stained with H-E(X 100).
- Fig. 10.** Polarizing micrograph of mandibular bone defect of control group on the 4 weeks after experiment(X 40).
- Fig. 11.** Photomicrograph of mandibular bone defect of experimental group on the 3 days after experiment stained with H-E(X 100).
- Fig. 12.** Photomicrograph of mandibular bone defect of control group on the 1 week after experiment stained with H-E(X 100).
- Fig. 13.** Photomicrograph of mandibular bone defect of control group on the 1 week after experiment stained with H-E(X 100).
- Fig. 14.** Polarizing micrograph of mandibular bone defect of control group on the 1 week after experiment(X 100).
- Fig. 15.** Photomicrograph of mandibular bone defect of control group on the 2 weeks after experiment stained with H-E(X 100).
- Fig. 16.** Polarizing micrograph of mandibular bone defect of control group on the 2 weeks after experiment(X 100).
- Fig. 17.** Photomicrograph of mandibular bone defect of control group on the 3 weeks after experiment stained with H-E(X 100).
- Fig. 18.** Polarizing micrograph of mandibular bone defect of control group on the 3 weeks after experiment(X 100).
- Fig. 19.** Photomicrograph of mandibular bone defect of control group on the 4 weeks after experiment stained with H-E(X 100).
- Fig. 20.** Polarizing micrograph of mandibular bone defect of control group on the 4 weeks after experiment(X 100).
- Fig. 21.** Microradiograms of mandibular bone defect of control group on the 1 week(a), the 2 weeks(b), 3 weeks(c), and the 4 weeks(d) after experiment(X 10).
- Fig. 22.** Microradiograms of mandibular bone defect of experimental group on the 1 week(a), the 2 weeks(b), the 3 weeks(c), and the 4 weeks(d) after experiment(X 10).

- B : Biogran
- ▶ : osteoblast
- : osteoclast
- ➡ : collagen fiber bundle

논문사진부도②



논문사진부도①



논문사진부도③

