신생치주조직의 성장인자 수용체 분포에 대한 면역조직화학적 연구

김근석 · 김성조 · 최점일

부산대학교 치과대학 치주과학교실

제 I 장 서 론

치주치료의 최종 목적의 하나는 상실된 치주조직의 재생이며 최근 이에 대한 관심이 고조되고 있다. 소실된 치주조직의 재생은 소실된 결체조직의 재생과 치조골 및 백악질의 신생을 통해서 가능하며, 이것은 치주인대 세포가 상실된 부위로의 이주와 부착, 증식 및 분화작용이 일어나야 한다[1,2]. 그러나 전통적인 치주 치료방법인 치석 제거술과 치근면 활택술, 치은연하 소파술과 치주판막술등의 치료에 의해서는 질환에 이환된 치근면을 따라 상피 세포가 치주인대 세포보다 먼저 이주하여 치주주직의 실질적인 재생(regeneration)보다는 긴 접합상피(long junctional epithelium)형태로 치유(repair)되어진다[3,4]. 이런 긴 접합상피에 의한 치유형태는 치주재생을 획득하는데 가장 큰 방해요소이므로 상피세포의 이주를 막아 치주재생을 도모하는 치주재생 술식들이 고안되어졌는데, 이들 술식들로는 조직재생 유도술[4], 치근표면의 화학적 처치법[5,6], 치관측 변위 판막술[7], 치간골 노출술[8]과 골 이식술[9,10]등이 있다. 이중에서 치주 창상의 치유초기에 신속히 이주하는 상피 세포와 결체조직 세포의 이주를 물리적인 인공 차폐막을 이용하여 이들 세포들의 이주를 차단하여 치주인대 세포의 선택적인 군집을 유도함으로서 조직재생을 획득하는 조직재생 유도술이 다른 치주재생술식과 비교했을때 치주재생 효과가 탁월하다고 알려져 있다[1,4]. 최근 이러한 조직재생 유도술의 치주 창상치유 초기에 치주인대 세포의 신속한 이주와 분화 및 증식을 돕는다고 알려진 성장인자들과 부착단백질의 병용에 대한 시도들이 발표되고 있다. 성장인자와 부착단백질로는 platelet derived growth factor(PDGF)[11,12,13,14], Insulin-like growth factor(IGF)[13], fibroblast growth factor(FGF)[15], transforming growth factor(TGF)[16], fibronectin(FN)[6,17]등을 들수 있다. 성장인자들과 부착단백질의 특징을 살펴보면 1)세포분화가 필요할때 유리되거나 분비되는 자연세포의 생성물로서 대부분 창상치유나 조직재생시 유리되거나 분비된다. 2)몇가지 경우를 제외하고 국소적으로 작용을 한다. 3)성장인자는 세포막을 통과하여 확산하지 못하므로 높은 세포막 수용체의 친화력에 따라 결합됨으로서 활성화 된다. 주어진 성장인자에 대해 반응하는 세포의 능력은 세포가 가지고 있는 수용체 존재 유무에 달려 있다. 4)성장인자들의 산물은 정상 세포들에서 밀접하게 조절되며, 성장인자의 비조절성 산물은 섬유성 질환나 악성종양과 같은 proliferative disorders의 중요한 부분을 차지한다. 5)성장인자들은 다기능 즉, 성장, 이주, 분화와 세포외 기질 단백질을 생산하는 등의 다양한 세포활

동을 자극한다. 6)어떤 경우 분자를 합성하는 동일 세포를 자극(autocrine stimulation)하거나 또는 인접세포에 영향(paracrine stimulation)을 줄 수 있다[18].

PDGF는 결체조직 세포의 빠른 이주와 DNA합성과 교원질 침착을 증가시키는 역할을 하며 fibroblast migration과 모세혈관 형성을 촉진시키며, 창상봉합을 신속하게 한다[19].

IGF는 골형성 능력이 있으며, IGF-1은 조골세포내의 DNA합성을 증가시키며, 골기질 형성을 자극한다[14,20,21,22].

FGF는 세포분열 과정중 G_0에서 G_1 cell cycle로의 전환에 촉진인자(stimulator)로 DNA 합성과 세포성장의 극대화를 위해 progression growth factor와 상승작용을 한다. 이들은 내피세포들과 간엽세포들에 대한 mitogen과 chemoattractant로 작용하며 in vivo에서 새로운 혈관형성을 자극한다[11,15].

TGF는 혈소판과 골에서 최대농도를 나타내며 cell replication과 differentiation regulator로 작용한다. 면역억제와 상피세포의 증식을 방해한다고 알려져 있으며 PDGF, TGF, FGF 등의 성장인자들을 조절한다[11,23].

Fibronectin는 창상치유를 촉진시키며 다른 세포와 세포외 기질에 대한 세포부착을 유도하며 collagen-coated tissue media의 cellular spreading을 증가시킨다[11].

이들 성장인자들은 성장인자 수용체와의 친화력에 따라 결합되어 활성화되므로, 임상적으로 성장인자의 적용에 있어 재생에 관여하는 세포의 세포막 수용체와 높은 친화력이 있는 성장인자를 적용한다면 효과적인 치주재생을 획득할 수 있을 것이다. 따라서 본 연구는 최근 치주재생 치료중 가장 효과적이라고 알려진 조직재생 유도술에 의해 생성된 신생 육아조직을 인간에서 채취하여, 실험실에서 수종의 성장인자를 신생 육아조직에 면역조직화학적인 반응을 시켜 주어진 성장인자와 치주인대 세포의 세포막에 존재하는 성장인자 수용체간의 반응과 친화력을 관찰하였다.

제II장 연구대상 및 방법

1. 조직재생 유도술과 신생 육아조직의 채취

부산대학교 병원 치주과에 내원하는 환자중 조직재생 유도술을 시행키로 계획된 2명을 선택하여 조직재생 유도술을 실시한 2주 후에 신생 육아조직을 채취하였다. 한 사람의 경우에는 27세 여성환자로서 하악 좌측 제1대구치의 협측 2급 치근이개부 병변의 치료를 목적으로 차폐막의 일종인 expanded polytetrafluoroethylene (Gore-Tex, Tucson, Az, USA)막을 이용하여 조직재생 유도술을 실시하였다. 수술부위의 술전 소독을 실행한 후 국소마취하에서 대상치아와 인접치아의 치은열구를 따라 열구절개를 시행하고 인접치아의 협측에서 대상치아와 인접치아의 우각부에서 점막-치은 경계부까지 충분히 수직절개를 실시하였다. 이개부 병소의 골능에서 최소 3mm이상 노출될때까지 치주판막을 거상한 후 치석제거술과 치근면 활택술을 완전히 실시한 후 생리식염수로 깨끗이 세척하였다. 이개부 병소가 충분히 피개되도록 expanded-polytetrafluoroethylene(single-wide, Gore-Tex, Az, USA)막을 알맞게 재형성한 다음 봉합사로 병소부위에 위치시키고, 협측과 설측판막을 봉합하였다. 수술 2주 후에 발사를 위해 내원했을때 국소마취하에서 대상치아의 협측 치주판막과 차단막을 거상한 후, 큐렛과 15번 수술도로 신생된 육아조직을 절제(약 1 mm×5mm)하여 피검 표본으로 채취하였고, 차폐막을 재위치시키고 치주판막을 봉합하였다. 다른 한사람의 경우는 상악 좌측 제2 대구치와 제3 대구치의 구개측 치간면에 형성되어진 3벽성 골내낭을 가진 42세의 남성환자로 rubber dam을 이용한 조직재생 유도술을 실시하였다. e-PTFE막을 이용한 환자와 동일한 방법으로 실시하되 상악 좌측 제2 소구치에서 제3 대구치까지 골결손이 있는 위치에서 치간간격만큼 차단막상에 rubber dam puncher로 천공한 후, 각각의 치아를 지대로 하고 골 결손부위가 충분히 되도록 끼워서 고정한 후 협측과 설측의 판막을 봉합하였다. 수술 2주후에

치주판막과 차폐막을 거상한 후 상악 좌측 제2대구치와 제3대구치의 구개측 치간면에 신생된 육아조직을 절제(약 3mm×4mm)하여 채취하였으며 차폐막을 재위치시키고 치주판막을 봉합하였다.

2. 조직의 처리

채취한 조직편을 고정시키기 위해 4% paraformaldehyde(PFA)가 포함된 0.1M phosphate buffer saline(PBS)에 담근 후 10%, 20%, 30% sucrose가 함유된 0.1M PBS에 차례로 post-fixation시켰다. 통법에 의해 cryosection(chamber −22℃ objective −19℃)을 실시하였는데, 10μm 두께로 조직 절편을 잘라서 부착법으로 젤라틴이 입혀져 있는 slide glasses 위에다 부착시킨 후, PAP pen으로 circling한 다음, 실리카겔을 이용하여 건조시켰다. 0.02M PBS로 고정액을 제거하기 위해 10~15분동안 세척한 다음, 0.5% sodium bromohydride가 함유된 PBS로 1시간동안 다시 세척하였다. 거품이 없어질 때까지 0.02M PBS로 세척한 다음, 다시 0.02M PBS로 세척한 후 1% Triton X-100이 함유된 0.02M PBS로 20분동안 shaking했다. background staining의 감소를 위해 anti-TGF-β receptor를 검출하기 위한 조직 절편에는 10% normal goat serum과 0.3% Triton X-100이 혼합된 0.02M PBS로 1시간동안 incubation하였으며, 그외의 receptor를 위한 절편에는 10% normal horse serum를 사용하여 같은 방법으로 incubation하였다. blocking이 완료된 후 1차 항체반응을 위해 1% normal horse serum, 0.1% bovine serum albumin(BSA)과 0.3% Triton X-100이 혼합된 0.02M PBS로 각각의 항체를 50 : 1의 비율로 희석하였는데, anti-TGF-β-receptor의 경우에는 1% noraml horse serum대신 1% normal goat serum을 사용하였다. 사용된 1차 항체들로는 anti-PDGF receptor-α(Genzyme, USA), anti-PDGF receptor-β(Genzyme, USA), anti-IGF-1 receptor(Genzyme, USA), anti-bovine basic FGF Type II receptor(Oncogene, USA), anti-human TGF-β receptor(Oncogene, USA), anti-fibronectin receptor(Oncogene, USA)였다. 각 성장인자 수용체 항체가 함유된 희석액을 조직절편 위에 200μl씩 떨어뜨리고 고루 분산시킨 다음, 4℃에서 48시간동안 incubation시켰다. 다음에 0.02M PBS, 1% Triton X-100이 함유된 0.02M PBS와 0.02M PBS로 차례차례 세척하였다. 세척후 PBS로 1 : 500으로 희석시킨 Fluorescein isothiocyanate(FITC)로 상온에서 2시간 이상 충분히 incubation을 실시하였는데, 이때 anti-human TGF-β receptor를 위한 절편에는 goat antirabbit IgG-FITC conjugated를 사용하였으며, 나머지 절편들에는 horse anti-mouse IgG-FITC conjugated를 사용하였다. 다시 PBS로 30분간 세척하고 PBS-glycerol mixture(1 : 1)로 mounting하였다. 각 표본을 형광현미경으로 400배에서 관찰하고 각 성장인자별로 2~4개의 상이한 절편을 선택하여 촬영(필름 : Kodak T-max)하였다.

3. 결과 분석

현미경에서 촬영한 필름을 인화 현상한 사진을 측정단위시야로 정하였으며, 반응을 보인 세포수를 측정단위시야별로 각각 3회씩 계수하여 그 평균값을 계산하였고, 이들중 세포질의 중심까지 강하게 염색된 세포를 선별하여 진성양성세포라 규정하고 반응세포 중에서 구별하여 계수하였다. 반응 세포수(RC)에 대한 진성양성세포수(TPC)의 백분율을 염색강도률이라 규정하고 그 값을 산출하였다(표 1).

제III장 연구 성적

양성반응을 보인 세포의 수(RC)는 anti-PDGF receptor-α, anti-PDGF receptor-β, anti-IGF-1 receptor, anti-bFGF receptor, anti-TGF-β receptor, anti-FN receptor의 경우 각각 평균 196.3개, 283.5개, 368.3, 220.0개, 281.7개, 256.7(그림 1-6)개로 나타났다. 이로써 신생 치주조직내 세포들이 anti-IGF-1 receptor에서 가장 많은 세포가 양성반응을 보인 한편, anti-PDGF receptor-α에 반응하는 세포수가 가장 적게 나타났다(표 1).

Table 1. Number of reactive cells(RC) and true positive cells(TPC) in individual specimen and mean number of RC and TPC and staining intensity rate(%).

specimen number	1		2		3		4		mean		TPC/RC
growth factor receptors	RC	TPC	RC	TPC	RC	TPC	RC	TPC	RC	TPC	(%)
PDGF receptor-α	127	0	156	0	306	0			196.3	0	0
PDGF receptor-β	95	1	472	0					283.5	0.5	0.2
IGF-1 receptor	547	4	112	5	625	4	189	8	368.3	4.3	1.2
bFGF receptor	136	3	304	8					220.0	5.5	25.
TGF-β receptor	236	84	324	94	285	36			281.7	71.3	25.3
FN receptor	94	5	338	4	338	39			256.7	15	5.8

진성 양성세포의 수는 anti-PDGF receptor-α의 경우 관찰되지 않았으며, anti-PDGF receptor-β는 평균 0.5개, anti-IGF-1 receptor는 평균 5.3개, anti-bFGF receptor는 평균 5.5개, anti-TGF-β receptor는 71.3개, anti-FN receptor는 평균 15개로 나타나 anti-TGF-β receptor가 가장 많이 관찰되었으며 따라서 가장 높은 염색강도율을 보였다(표 1).

제Ⅳ장 총괄 및 고안

치주조직의 재생을 위한 방법 중 비흡수성 인공 차단막을 이용한 조직재생 유도술이 최근 가장 많이 사용되어지고 있으며[4], 부가적으로 치근면의 처리와 치주인대 세포의 빠른 이주와 분화 및 증식을 촉진시키기 위한 성장인자의 적용에 대한 많은 연구들이 발표되고 있다[12, 13, 14, 15]. 본 연구는 신생 육아조직내에 존재하는 치주인대 세포의 성장인자 수용체를 면역조직화학적으로 평가한 것이었다. 조직재생 유도수술 2주 후에 발사를 위해 환자들이 내원하였을때, 여성환자의 하악 좌측 제1대구치 협측 이개부 골결손 부위와 남성환자의 상악 좌측 제 2대구치와 제 3대구치의 구개측 치간부 골결손 부위는 신생 육아조직으로 채워져 있었다. Matsuura[24]등과 허등[25]은 동물실험에서 비흡수성 인공 차폐막을 이용한 조직재생 유도수술 2주 후에 골결손 부위가 신생 육아조직으로 가득 채워져 있었으며, 다량의 염증세포와 혈관들이 포함되어져 있는 것을 관찰하였으며, 육아조직과 치근면사이에 섬유성 결체조직이 새로이 형성되어지고 있었지만, 새로운 골이나 백악질의 형성은 관찰하지 못했다.

본 연구에서 주어진 성장인자와 반응하는 신생 치주조직내의 세포수의 측정에 있어서 크게 2가지 방법으로 성장인자와 수용체간의 반응을 관찰하였는데, 첫째는 일단 주어진 성장인자와 반응하는 세포들의 총수이다. 이것은 신생 치주 조직내의 세포들이 어떤 성장인자와 반응을 하는지 그 양상을 보기 위해서 시행한 관찰이었다. 둘째는 반응을 보이는 세포들 중에서 세포질까지 진하게 염색되는 세포를 선별하여 측정한 것이었다. 이것은 주어진 성장인자에 대한 세포의 반응 능력은 성장인자와 수용체간의 친화력에 의존하므로, 반응세포의 반응정도가 강하다면 주어진 성장인자와 친화력이 높다는 것을 간접적으로 나타내는 것이며, 그 작용의 발현도 뚜렷하리라는 것을 예측케 하는 관찰이었다.

치주인대 세포의 성장속도는 세포군의 표현형에 영향을 받는 것으로서 조골세포의 표현형과 섬유아세포의 표현형은 PDGF에 의해 증가 되었다[26]. 쥐의 치유중인 발치와의 혈병에서 유래한 치주인대 세포에 PDGF를 첨가했을때 교원질 생성에 있어 치주인대 세포의 분화와 이주에 관여 하였다[11]. 본 연구에서는 신생 치주조직내에 존재하는 세포들이 함유하고 있는 PDGF 수용체 중에서 PDGF-β 수용체가

PDGF-α 수용체보다 많은 경향이 나타났다. 최근 PDGF-BB에 대한 좋은 치주재생 효과에 대해 보고되고 있는데[26], 이는 PDGF-BB가 두 가지 수용체와 반응하며 이들 수용체가 신생 치주조직내 세포의 세포막에 다량 존재하기 때문인것으로 사료되었다. 본 연구에서는 PDGF-β 수용체의 수가 가장 많이 관찰되었는데, 이는 PDGF-BB에 대한 수용체 자체가 많은 것으로 추정되기도 하나, PDGF-β 수용체는 PDGF-AA에 대한 수용체도 포함하고 있기 때문에 해석상 주의를 요한다. PDGF-AA 자체에 대한 수용체의 수가 중등도로 나타났었기 때문이다.

Blom등[15]은 동물실험에서 치주인대 세포들은 특이한 IGF-1 수용체를 가지며 IGF-1은 치주인대세포의 DNA합성을 유도한다고 하였다. 본 연구에서는 IGF-1 수용체를 가진 세포가 신생 치주조직 내에서 가장 많이 발견되었는데, 이것은 IGF-1이 progression growth factor이며, 특히 PDGF와 혼합투여 하였을 때 상승효과가 뛰어나다는 보고[11,12,13,20,26]가 많이 있는 것으로 미루어, PDGF와 상승작용을 하는 IGF-1 수용체를 가진 세포들이 신생치주조직내에 많은 수가 존재할 것이라는 것을 입증하는 것이었지만, 성장인자와 수용체간의 친화력은 약하게 나타나므로 향후, 이 부분에 대한 관찰이 더 필요할 것으로 사료된다.

FGF는 가장 잘 밝혀진 형태로 basic FGF (bFGF) 와 acidic FGF(aFGF)가 있으며[11,15], 세포 분열능과 세포의 화학주성을 자극하지만[29], 쥐의 치유중인 발치와의 혈병에서 유래한 세포를 분화시키지 못하고 오히려 방해효과를 가지며 세포를 이주시키는 능력도 없었다는 보고도 있다[11]. 본 연구에서는 신생 치주조직내에 bFGF 수용체를 가진 세포의 수가 다른 성장인자와 반응하는 수용체보다 적고 친화력도 약한 경향을 나타냈다. 이는 다른 성장인자보다 세포의 이주, 분화 및 증식에 상대적으로 적은 영향을 미칠 가능성이 있다.

TGF는 골과 혈장이 가장 풍부한 제공처이며 섬유아 세포와 조골 세포등에서 생성되고, 섬유아 세포의 부착과 증식 증가, 내피세포의 부착을 감소시키며[32] 치주인대에서 유래한 fibroblast에 대해 TGF-β가 PDGF에 비해 약한 세포분열능을 보였다[28]. 본 연구에서는 TGF-β 수용체가 다른 수용체보다 비교적 많이 반응하는 경향을 보였으며 성장인자에 대한 친화력도 TGF-β에서 가장 강하게 나타나는 것으로 미루어 치주조직 재생에 TGF-β의 작용이 클 것으로 예측되어진다.

FN은 plasma로부터 동정되는 고분자량의 glycoprotein이며 섬유아 세포, 상피세포, 내피세포등에서 생성되며 결합조직 기질과 세포표면에 존재하며[14] 동물실험에서 치주판막술과 구연산으로 치근면 처리와 FN첨가등의 복합적인 처치를 했을때 결체조직이 현저하게 부착되는 것을 관찰하였다[17]. 본 연구에서는 FN수용체를 가진 치주인대 세포도 상당량 관찰되어졌으며, 진성 양성세포들이 다른 수용체와 반응하는 세포들보다 비교적 많이 존재하는 것으로 보아 치주조직재생에 FN의 역할도 중요할 것으로 생각되며 향후 FN등에 대한 연구가 더 필요할 것으로 사료된다.

본 연구는 형광현미경으로 세포의 2차원적인 양성반응만을 관찰하였는데 향후 주사 전자현미경으로 세포표면에서 성장인자와 성장인자 수용체간의 반응에 대한 관찰도 유용할 것이라 사료된다. 재생치료 2주 후에 채취한 신생 치주조직으로만 관찰하였는데, 향후 치주재생 치료후 다양한 시기와 부위별 관찰도 유용하리라고 사료된다.

제V장 결 론

본 연구는 인간에 있어서 조직재생 유도술 2주후에 나타나는 신생 육아조직의 성장인자의 수용체 분포양상에 대한 면역조직화학적 반응을 시도해본 것으로, 수용체 수에 있어 PDGF-β와 IGF-1에 대한 수용체의 수가 다른 성장인자의 경우에서 보다 많이 나타났지만, 반응 세포들의 염색정도가 대부분 세포표면에만 국한되게 나타났다. 이는 주어진 성장인자와 이들 수용체간의 친화력이 강하지 않음을 보여주는 결과였다. 한편 TGF-β에 대한 수용체의 경우 비

교적 많은 수용체 분포를 보였고, 반응 세포들중에 세포질까지 진하게 염색되는 세포들이 다른 성장인자 수용체들에 반응하는 세포들과 비교하여 훨씬 많았다. 이로써 인간에 있어 조직재생 유도술후 2주때 채취한 신생 육아조직내 치주인대 세포의 면역조직화학적 관찰에서 TGF-β에 대한 성장인자 수용체의 반응이 강하게 발현됨을 알 수 있었다. 이러한 결과는 향후 인간의 치주 골내낭 처치를 목적으로 하는 차폐막을 이용한 치주조직 재생유도술을 시행함에 있어 본 성장인자의 투여를 고려해 볼 가능성을 시사하였다.

참고문헌

1. Gottlow, J., Nyman, S., Karring, T., Lindhe, J,. : "New attachment Formation as result of control tissue regeneration" J Clin Periodontol., 11 : 494-503, 1984.
2. Nyman, S., Gottlow, J., Karring, T. & Lindhe, J. : "The regenerative potential of the periodontal ligament. An experimental study in the monkey" J Clin Periodontol., 9 : 257-265, 1982.
3. Caton, J., Nyman, S., Zander, H., : "Histometric evaluation of periodontal therapy, II. connective tissue attachment levels after four regenerative procedures" J Clin Periodontology, 7 : 224-231, 1980.
4. Pontoriero, R., Lindhe, J., Nyman, S., Karring, T., Rosenberg, E., Sanavi, F., : "Guided tissue regeneration in degree II furcation involved mandibular molars; a clinical study" J Clin Periodontology, 15 : 247-254, 1982.
5. Boyko, GA., Brunett, DM., Melcher, AH., : "Cell attachment to demineralized root surface in vitro" J Periodont Res., 15 : 297-303, 1980.
6. Wikesjo, UME., Claffey, N., Chistersson, LA. et al. : "Repair of periodontal furcations defects in beagle dogs following reconstructive surgery including root surface demineralizing with tetracycline hydrochloride and topical fibronectin application" J Clin Periodontol., 15 : 73-80, 1988.
7. Proceedings of the world workshop in clinical periodontics Chicago IL; American Academy of Periodontology, V-5 : 241-249, 1989.
8. John, F. Prichard. : "Present state of the Interdental Denudation Procedure" J Periodontology, 48 : 566-569, 1976.
9. Mellonig, JT., : "Histologic evaluation of freeze-dried bone allografts in periodontal osseous defects" J Dent Res., 60(spec issueA) : 388(abstr 311), 1981.
10. Mellonig, JT., Levey. : "Decalcified freeze-dried bone allograft as an implant material in human periodontal defects" Int J Periodot Restorative Dent., 4 : 41-55, 1984.
11. Mastuda, N., Lin, WL., Kumar, NM., Cho, MI. and Genco, RJ. : "Mitogenic, Chemotatic, and Synthetic Responses of Rat Periodontal Ligament Fibrotic Cells to Polypeptide Growth Factors" In Vitro. J Periodontol., 63 : 515-525. 1992.
12. Lynch, SE., Williams, RC., Polson, AM., et al. : "A combination of platelet-derived and insulin-like growth factors enhances periodontal regeneration" J Clin Periodontol. 16 : 545-548, 1989.
13. Lynch, SE., Castilla, GR., Willams, RC., et al. : "The Effects of Short-Term Application of a Combination of Platelet-derived and Insulin-Like Growth Factors on Periodontal Wound Healing" J Periodontol. 62 : 458-467 1991.
14. Wang, HL., Pappert, TD., Castelli, WA., et al. : "The Effect of Platelet-Derived Growth Factor on the Cellular Response of the Periodontium : An Autoradiographic

Study on Dogs" J Periodontol., 65 : 429−436 1994.
15. Blom, S., Holmstrup, P., Dabelsteen, EA., : "Comparision of the Effect of Epidermal Growth Factor, Platelet-Derived Growth Factor, and Fibroblast Growth Factor on Rat Periodontal Ligament Fibroblast Like Cells' DNA Synthesis and Morphology" J Periodontol., 65 : 373−378, 1994.
16. Hughes, FJ., Aubin, JE., Heersche, JN., : "Differential Chemotactic Response of Different Populations of fetal Rat calvaria cells to Platelet-Deroved Growth Factor and Transforming growth Factors-beta" Bone Miner., 19 : 63−74 1992.
17. Raul, G., Caffesse, Carlos, R., Quinones. : "Polypeptide Growth Factors and Attachment Proteins in Periodontal Wound Healing and Regeneration" Periodontology 2000, 1 : 69−79, 1993.
18. Dana, T., Graves, David, L., Cochran. : "Periodontal Regeneration with Polypeptide Growth Factors" Current Opinion in Periodontology, 178−186, 1994.
19. Sprugel, KH., McPherson, JM., Clowes, AW., Ross, RR.. : "The Effects of different growth factors in subcutaneous wound chambers. In : Barbul A,ed. Growth Factors and other aspects of wound healing" New York : Alan Liss., 77−91, 1988.
20. Rutherfold, RB., Niekrash, CE., Kennedy, JE., Charette, MF., : "Platelet-derived and insulin-like growth factors stimulate regeneration of periodontal attachment in monkeys" J Periodont Res., 27 : 285−290, 1992.
21. Gilardetli, RS., Chaibi, MS., Stroumza. : "High Affinity binding of Platelet-Deroved Growth Factor-AA and Platelet-Derived Growth Factor -BB to Normal Human osteoblastic cells and Modulation by Interleukin-1" Am J Physiol., 261 : 980−985, 1991.
22. Selvig, KA., Wikesjo, UME., Bogle, GC. and Finkelman, RD. : "Impaired early bone formation in periodontal fenestration defects in dogs following application of insulin-like growthfactor and transforming growth factor beta 1" J Clin periodontol., 21 : 380−385, 1994.
23. Yeh, YL., Kang, YM., Chaibi, MS., : "IL-1 and Transforming growth Factors-beta inhibit Platelet-Deroved Growth Factor-AA binding to osteoblastic cell by reducing Platelet-Deroved Growth Factor receptors expression" J Immunol., 150 : 5625−5632, 1993.
24. Yeek Herr, Masahiro Matsuura, Wen-lang, Lin., Robert, J. Genco and Cho, Moon-Il : "The Origin of Fibroblast and Their Role in the Early Stages of Horizontal Furcation Defect Healing in the Beal Dog" J Periodontol., 66 : 716−730, 1995.
25. Massahiro, Matsuura., Yeek Herr, Kyung-Yun Han, Wen-lang, Robert J.Genco and Moon Il Cho : "Immunohistochemical Expression of Extramatrix Components of Normal and Healing Periodontal Tissue" in Dog J Periodontology, 66 : 579−593, 1995.
26. Piche, JE., Graves, DT., : "Study of the Growth Factor Requirements of Human Bone-Derived Cells : A Compasion With Human Fibroblast" Bone, 10 : 131−138, 1989.
27. Oates, TW., Rouse, CA., Cochram, DL. : "Mitogenic Effects of Growth Factors on Human Periodontal Ligament Cells In Vitro" J Periodontol., 64 : 142−148, 1993.
28. Moon Il Cho, Wen-lang, Lin. and Robert, J. Genco. : "Platelet-Derived Growth Factor-Modulated Guided Tissue Regeneration Therapy" J Periodontol., 66 : 522−530, 1995.

29. Terranova, VP., Odziemiec, C., Tweden, KS., Spadone, DP. : "Repopulation of Dentin Surfaces by Periodontal Ligament Cells and Endothelial Cells. Effects of Basic Fibroblast Growth Factors" J Periodontol., 60 : 293−301, 1989.
30. Terranova, VP., Wikesjo, ME., : "Extracellular Matrices and Polypeptide Growth Factors as Mediators of Functions of Cells of the Periodontium" J Periodontol., 58 : 371−380, 1987.
31. Kurinen, M., Vaheri, A., Roberts, P., Stenman, S., : "Sequential appearance of fibronectin and collagen in experimental granulation tissue" Lab Invest., 43 : 47−51, 1984

Explantaion of figures

Figure 1. Immunofluorescence staining of newly forming granulation tissue with anti-PDGF receptor (×400)

Figure 2. Immunofluorescence staining of newly forming granulation tissue with anti-PDGF receptor (×400)

Figure 3. Immunofluorescence staining of newly forminggranulation tissue with anti-IGF-1 receptor (×400)

Figure 4. Immunofluorescence staining of newly forming granulation tissue with anti-bFGF receptor (×400)

Figure 5. Immunofluorescence staining of newly forminggranulation tissue with anti-TGF-β receptor(×400)

Figure 6. Immunofluorescence staining of newly forming granulation tissue with anti-FN receptor (×400)

논 문 사 진 부 도

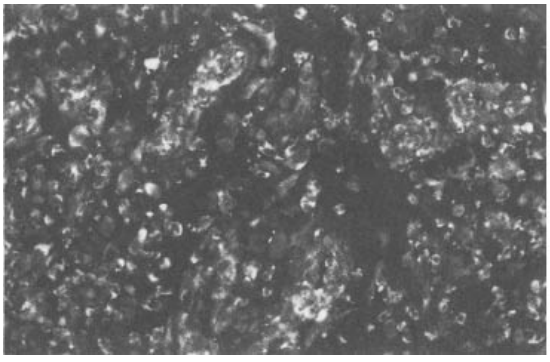

Fig. 1

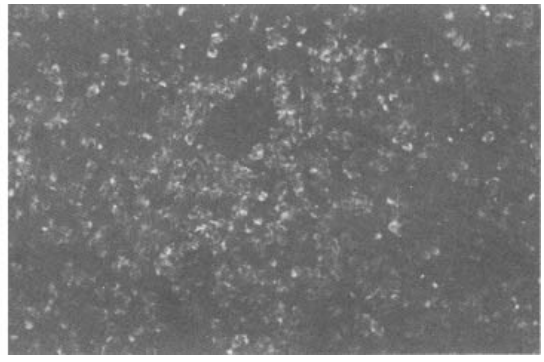

Fig. 2

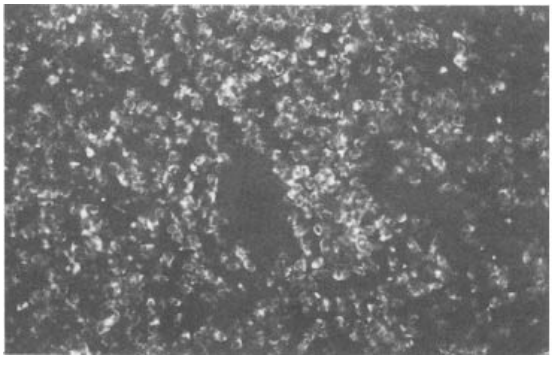

Fig. 3

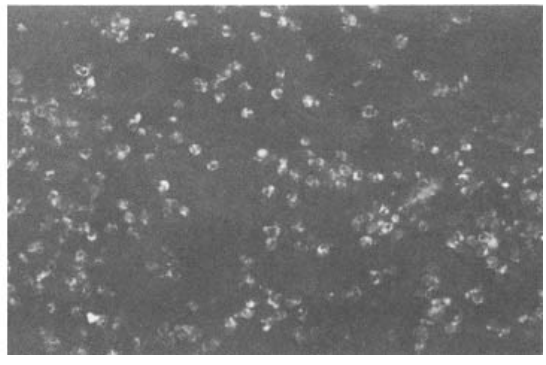

Fig. 4

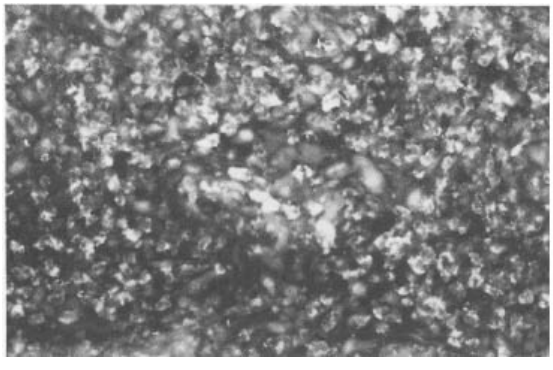

Fig. 5

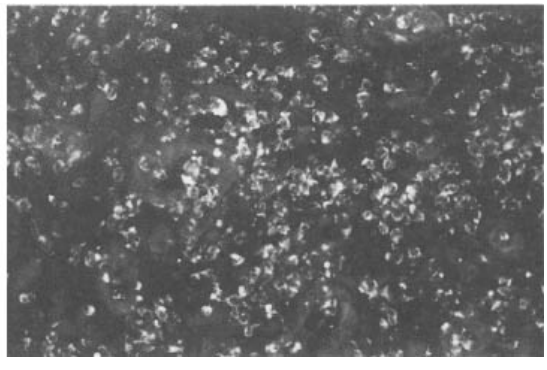

Fig. 6

IMMUNOHISTOCHEMICAL STUDY ON THE DISTRIBUTIONS OF GROWTH FACTORS RECEPTORS IN THE NEWLY FORMING GRANULATION TISSUES

Keun-Seock Kim, Sung-Jo Kim, Jeom-Il Choi
Department of Periodontology, College of Dentistry, Pusan National Univesity

The immunohistochemical study has been performed on the distribution of receptors for various growth factors in the newly forming granulation tissues following the guided tissue regeneration procedures. Two specimens from 2 different patients were collected from the newly forming granulation tissues at 2 weeks following GTR procedures using Gore-tex menbrane and rubber dam, respectively.

For immunohistochemical localization of each recptor, anti-platelet-derived growth factor receptor-α, anti-platelet-derived growth factor receptor-β, anti-insulin-like growth factor-1 receptor, anti-basic fibroblast growth factor receptor, anti-transforming growth factor-β receptor and anti-fibronectin receptor were incubated onto the specimens as primary antibodies. After the reaction, FITC-conjugated second antibodies have been applied.

When the total numbers of immunoreactive cells and the true positive cells were counted, there were high variability among receptors tested in the present study.

The mean number of immunoreactive cells were highest in the case for anti-IFG-1 receptor. However the number of true positive cells were highest in the case for TGF-β receptor. The present investigation indicated that the receptor for TGF-β were stongly expressed in the newly forming granulation tissues following the guided tissue regeneration therapy.

Key words : guided tissue regeneration, immunohistochemical study, growth factor, growth factor receptor