

백서의 골 결손부 치유시 Transforming Growth Factor- β 의 발현에 대한 면역 조직 화학 연구

방승준 · 김경욱 · 이재훈

단국대학교 치과대학 구강악안면외과학교실

Abstract

IMMUNOHISTOCHEMICAL STUDY OF TGF- β ON THE HEALING PROCESS IN THE RAT FEMUR BONE DEFECT

Sung -Jun Bang, Kyung-Wook Kim, Jae-Hoon Lee

Dept. of Oral & Maxillofacial Surgery, College of Dentistry, Dankook University

TGF- β is one of growth factors that may be involved in the formation of bone and cartilage. Multiple studies demonstrate that TGF- β is involved in regulating cell proliferation, differentiation and matrix synthesis, events observed in fracture healing. The appearance of TGF- β in the fracture during healing was evaluated by immunohistologic localization of TGF- β using antibody.

Twenty Sprague-Dawley strain white male rats, each weighing about 150 grams were used and divided into two groups. The one group, the 2x2mm bony defect was formed in the right femur. The other group, 4x2mm bony defect was formed in the right femur. Both groups were sacrificed at 3 days, 1, 2, 3, 4 weeks and femurs were harvested, paraffin sections were stained with H & E, MT stain, immunohistochemical staining with TGF- β antibody and observed under light microscope.

The results were as follows:

1. New bone formation and cartilaginous tissue was seen at 3 days. And in the 2x2mm bony defect group, TGF- β stained the cells surrounding new bone.
2. The osteoclast and trabeculae were seen at 1 week. TGF- β stained the osteoblast and in the 2x2mm bony defect group was stained more than 4x2mm bony defect group.
3. The lamellar bone and trabeculae were seen from 3, 4 weeks, and TGF- β stained almost negative.

From the above findings, we could conclude that TGF- β stained the osteoblast at an early stage and 1 week, the peak stain was seen from 1 week, and then decreased, almost negative stain was seen at 3, 4 weeks.

I 서 론

골절 및 골 결손부의 치유과정은 몇가지 종류의 세포형태의 증식, 이주, 분화를 포함하는 복잡한 과정이다. 골절의 임상적 중요성과 치료의 어려움으로 조직학적, 생화학적 그리고 역학적 연구를 포함하는 골절의 치유에 대하여 수많은 연구가 이루어졌고 이러한 연구들은 세포의 증식, 연골형성, 골형성등과 같은 치유시의 중요한 국면에 대하여 중요한 정보를 제공해주고 있다. 그러나 골절치유의 조절과정에 대하여서는 완전히 해명되어져 있지 않다¹⁻⁴⁾.

본자 생물학적인 연구는 골절치유시 발견되는 세포의 성장과 분화 그리고 기질의 합성을 조절하는 성장인자라 불리는 새로운 조절 단백질의 발견을 이끌었다. Transforming Growth Factor-

β (TGF- β)는 골과 연골의 형성을 조절하는 성장인자로서 TGF- β 는 또한 간엽세포에 의해 cartilage-specific proteoglycan과 2형 교원질의 합성을 유도하고 골아세포에 의해 교원질의 합성과 증식을 자극한다. 최근의 연구에서 TGF- β 는 연골세포와 골아세포에 의해서 합성되고 in vivo의 막내연골화 모델에서 TGF- β 의 축적을 보여주고 있다. 골절 치유시 일차적으로 혈소판에 의하여 분비가 시작되고 이어서 골아세포와 연골세포에 의해서 합성된다고 알려져 있다⁵⁾.

본 연구는 골 결손부 치료시 시간경과에 따른 조직학적 특징에 따라 골형성에 관여하는 대표적 조절물질인 TGF- β 의 발현을 살펴보기 위하여 실험군을 2군으로 나눈 뒤 대퇴골에 한 군은 2x2mm, 다른 한군은 4x2mm의 골결손부를 형성한 뒤 양군 공히 3일, 1주, 2주, 3주, 4주 쯤 희생하여 대퇴골을 채취하였

다.조직병리학적 연구로는 통법에 의한 H&E 중염색 및 MT염색과 TGF-β에 대한 면역 조직화학적 염색을 시행 하여 다소의 지견을 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 연구재료 및 방법

A. 연구재료

체중 150 g 내외의 자성 백서 20 마리를 사용하여 2×2mm 결손부에 10마리, 4×2mm 결손부에 나머지 10마리를 사용하였다.

B. 연구방법

1. 골 결손부 형성

양군 공히 10mg/Kg ketamin hydrochloride(케타라)와 0.15ml/Kg의 2% xylazine hydrochloride(덱폰)으로 근주하여 전신마취시킨 후 우측 대퇴부의 털을 제거하고 통법에 의한 수술부의 세척후, No. 15 수술도를 사용하여 대퇴골과 평행하게 절개한 후 피부, 근육, 근막을 각각 박리하고 대퇴골을 노출시킨 뒤 저속 round bur로 2×2mm와 4×2mm의 골결손부를 형성하였다. 봉합은 3호 실크를 사용하여 층별로 시행하였다.

2. 투약

골결손부 형성 후 감염을 방지하기 위해 양군 공히 수술 직후 30 mg/Kg의 clindamycin을 근주하였고, 이후 7일간 50 mg/Kg의 ampicillin을 경구 투여하였다.

3. 희생

양군 공히 골결손 형성 후 3일, 1주, 2주, 3주, 4주 간격으로 희생한 후 우측 대퇴골을 채취하여 10% 중성 포르말린에 고정시켰다(Table 1).

4. 광학현미경 관찰

1) H&E, MT 염색

고정된 조직을 8% 개미산에 탈회를 시행한 후 통법대로 처리하여 poly-L-lysine으로 처리된 슬라이드에 4-8μm 파라핀 절편으로 제작하고 H&E 중염색과 MT 중염색을 시행하였다.

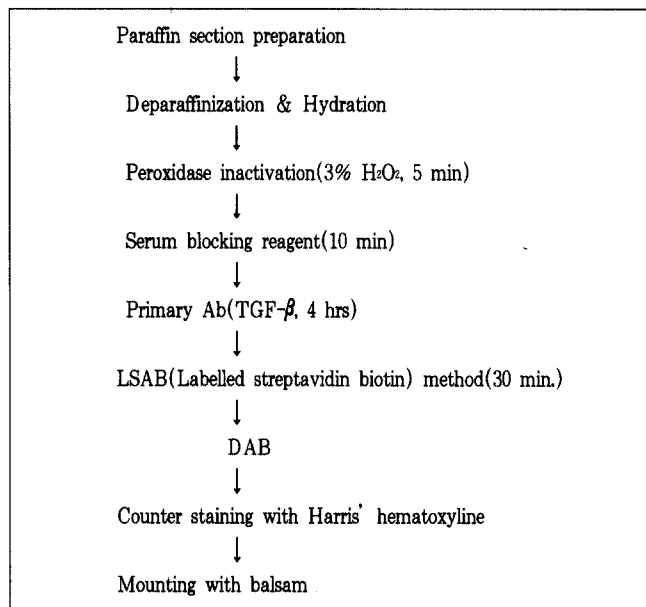
2) 면역조직화학적 염색

통법에 의해 제작된 절편을 0.3% H₂O₂에 5분간 부란시켜 peroxidase를 불활성화 시켰고, PBS(phosphate buffer solution)로 세척한 후 제 1차 항체로 세포의 증식성을 관찰하기 위하여 항 TGF-β1 항체(Santa Cruz Biotechnology, Inc)를 사용하였다. PBS

Table 1. Sacrification Schedule

Duration Group	3day	1wks	2wks	3wks	4wks
2×2mm	2	2	2	2	2
4×2mm	2	2	2	2	2

Table 2. Schedule of Immunohistochemical Staining



로 세척한 다음 LSAB (Labelled streptavidin biotin)법으로 처리하고 PBS로 세척한 후 발색제는 DAB (Diaminobenzidine)를 사용하였다. 발삼으로 봉입한 다음 해리스 헤마톡실린으로 대조염색을 실시하였다(Table 2).

III. 연구결과

1. 3일째 소견

빈 공간과 혈종이 보이며 신생골의 형성이 보였으며 연골이 관찰되었다. TGF-β는 골을 둘러 싸면서 양성반응을 보이고 2×2mm 결손부에서는 신생골에 싸인 세포와 골세포로 변하는 세포에서도 양성반응을 보이고 있었다.

2. 1주째 소견

골 결손부 주위로 조골세포들이 관찰되며 골주가 약하게 보이기 시작하였다. TGF-β는 피질골에 싸여 있는 골세포에서 양성반응이 줄어들었고 이장하고 있는 조골세포에서 양성반응을 보이고 있었다. 2×2mm 결손부에서 뚜렷한 양성반응을 보이고 있었다.

3. 2주째 소견

골주가 형성된 모습을 보이고 있고 신생골이 관찰되었으며 2×2mm에서 보다 많은 골주의 배열을 보이고 있으며 불규칙한 양상을 보이고 있었다. TGF-β는 전체적으로 양성 반응이 미약하게 보였다.

4. 3주째 소견

층판상과 기저골이 연관된 모습을 보이고 있으며 2×2mm에서 골주가 작은 양상을 보이고 있었다. TGF- β 는 거의 음성반응을 보이고 있었다.

5. 4주째 소견

층판상의 골주가 보이며 2×2mm에서 활발히 형성된 모습을 보여주고 있었다. TGF- β 는 거의 음성 반응을 보였다.

IV. 총괄 및 고찰

골절의 치유는 과정이 복잡함에도 불구하고 질서있게 그리고 재현가능하게 진행되며 조직학적 연구에 의해 치유패턴이 잘 연구되고 정리되어 있다. 일반적인 골절의 치유는 조직학적으로 4단계로 나뉘어 진다¹⁴⁾. 1단계는 손상후 즉각적인 조직의 반응으로 골절부위에 혈종이 형성되고 혈중에 인접한 미분화 세포들이 증식을 시작한다. 대식세포와 염증세포들이 침투를 시작하며 피 덩어리(blood clot)는 육아조직으로 변화한다. 이러한 과정은 골절부위에 반응성 육아종을 형성하는데 외부 가골(external callus)이라 한다. 2단계는 막내골 형성(Intramembranous bone formation)으로 새로운 골기질이 피질골과 증식하는 골막 사이의 세포들과 골절부에 인접한 골아세포에 의해서 합성된다. 골막에서의 골형성은 연골의 개입없이 전구세포로부터 골아세포가 분화되면서 일어나는데 외부 가골에서의 골형성 부위를 경가골이라고 한다. 3단계는 연골 형성으로 골절 부위를 덮고있는 육아조직에서 간엽세포 혹은 미분화 세포들이 또한 관찰된다. 치유가 진행되면서 막내골은 성숙되고 주위의 미분화 세포들은 커지고 무혈관성 호염기성의 기질을 합성한다. 연골부위는 간엽세포가 연골세포로의 조직학적 특성을 보일 때까지 성장한다. 계속해서 이같은 연가골내의 모든 섬유성 조직은 연골로 대체된다. 외부 가골내의 이같은 섬유성 조직과 연골 부위를 연가골이라고 한다. 4단계는 연골 내골화 골화로써 골이 성장관에서의 골형성과 유사한 과정을 통하여 연가골 내에서 연골에서 골로 대체된다. 골막 밑 골에 인접한 연골세포는 비후되고 연골의 세포와 기질은 석회화되며 인접골로부터 모세혈관이 석회화된 연골내로 침투한다. 모세혈관의 증식후 골아세포는 석회화된 연골위에 골양조직을 합성한다. 이러한 과정은 연가골의 모든 연골이 골절 사이를 잇고 골로 대체될때까지 계속된다. 골의 골절부위가 연결되면 역학적 안정이 회복되고 새로운 골개조가 일어나며 새로운 골격이 형성된다.

골절치유 과정의 4단계는 조직학적 특징이 명확하게 나타난다. 이같은 골의 형성과 흡수에 관계되는 기전은 calcium과 phosphate-relating hormone(parathyroid hormone, vitamine D, calcitonine 등)에 의한 전신적 조절과 국소적 조절로 크게 나뉜다. 국소적 기전은 골아세포와 파골세포의 증식과 분화에 영향을 미치는 autocrine 혹은 paracrine으로 역할을 하는 성장인자들의 작용이

포함된 것이라고 믿어져 왔다. 최근 분자 생물학적 연구가 발전하면서 이러한 국소적 역할을 하는 성장요소들에 대하여 활발히 연구되었다. 골절 치유시 관계되는 성장 요소중 중요한 세가지는 TGF- β , platelet-derived growth factor(PDGF), fibroblast growth factor(FGF)등이다. 대식세포들은 산성, 염기성 FGF, TGF 등의 성장요소를 합성하는 것으로 알려져 있으며 혈소판은 혈종형성시 TGF- β 와 PDGF의 주된 합성 방출하는 곳으로 알려져 있다. 또다른 성장요소를 방출하는 요소로는 골아세포(PDGF, FGF, TGF- β)와 골 기질 그 자체로 알려져 있다. 이같은 성장인자들은 손상의 치유 조절에 중요한 역할을 한다고 알려져 있으며 골형성과 연골형성을 증가 시킨다⁵⁻⁹⁾.

TGF- β 는 분자량이 25,000 dalton의 polypeptide로써 골의 발생, 유도, 복원의 중요한 조절인자의 역할을 하며 인간의 혈소판¹⁰⁾, 태반, 소의 신장 등에서 추출되었다. TGF- β Supergene Family는 TGF- β 1, 2, 3, 4, 5 까지 명칭지워진 서로 밀접하게 연관된 단백질들로 구성된다. TGF- β 1, 2의 경우 골에서 4:1의 비율로 추출할수 있다¹¹⁻¹⁴⁾.

TGF- β 와 골과의 관계가 알려진후 골에 대한 이 성장요소의 작용에 대하여 규명하기 위한 작업이 계속되어져 왔다. Thompson¹⁵⁾등은 성숙한 쥐와 신생 쥐의 세포내와 세포내 염색을 통하여 TGF- β 1의 발현을 연구 하였는데 강한 세포내 염색은 부신 피질, 거대세포들과 골수내의 다른 세포들, 연골세포, 신장의 원위관, 난소의 선세포 그리고 태반의 chorionic cell등에서 세포내 염색이 강하게 관찰되었고 세포외 기질의 염색 상태는 연골, 심장, 췌장, 태반, 피부 등에서 관찰되었다고 보고하였다. Sporn¹⁶⁾등은 생쥐의 배발생 대한 연구에서 TGF- β 1은 구개, 인두, 안면의 간엽, 비강, 뇌막, 치아등과 같은 신경능 간엽에서 유래된 조직에서 뚜렷이 나타남을 보고하였다. Stenier¹⁷⁾등은 정상 전립선과 비교시 백서의 선암종에서 TGF- β 1의 mRNA 양이 증가 되어 있는 것을 보여주며 이 결과는 전립선 암세포 자체가 내분비적으로 생산된 TGF- β 를 활성화 시킬 수 있는 것을 보여주고 있다. Joyce등과 Bolander등은¹⁸⁾ TGF- β 발현이 연골형성과 연골내골화에 높게 나타나고 막내골 형성시 낮게 나타난다고 보고하였다. Noda와 Camilliere¹⁹⁾등은 in vivo연구에서 신생 쥐의 두정골의 골막에 매일 주사시 골형성의 효과가 있다고 보고하였고 Marcell²⁰⁾등은 2-5일 동안 정상 mice의 두개를 덮고 있는 피하조직 내에 2.5-5 μ 의 TGF- β 를 주입시 골막의 두께가 최고 5배까지 증가와 광화된 골 형성과 골아세포의 형태변화를 보고하였다. Beaudreau²¹⁾등은 난소 절제한 쥐에서 짧은 기간 동안에 골수강에 TGF- β 를 주입시에 파골세포에 자극이 줄어든다고 보고하였다. Beck²²⁾등과 Mustoe²³⁾등은 다양한 동물실험에서 TGF- β 를 외부주입시 치유가 촉진됨을 보고하였다. Joyce¹⁸⁾등은 골절시 혈소판에서 TGF- β 가 분비됨을 보고하였고 Bolander²³⁾등은 골절치유 과정중에 파골세포, 골아세포, 연골세포에서 합성된다고 보고하였다. Joyce와 Bolander¹⁸⁾의 연구에서 골절이 안된 쥐의 대퇴골의 골막하에 주입시 간엽세포의 증식과 막내골화의 형성이 시작된다고 보고하였다. 연골의 대체와 피질골로의 골개조는 TGF- β 의 치료를 중단후 시작되었다. McCarthy⁶⁾등은 TGF- β 와

골과의 관계에 대한 연구에서 골세포에서 TGF- β 가 분비되며 TGF- β 는 골형성과 연관된 골아세포의 활성을 조절하는데 골아세포의 복제에 대한 TGF- β 의 효과는 다양한 세포주기의 각각의 국면의 진행을 조절하는 cyclin 등 혹은 cyclin-dependent protein kinase의 변화와 관련이 있다고 보고하였다^{24,25}). 또한 TGF- β 는 대부분의 조직에서 기질의 합성을 유도하지만 이같은 관계는 특히 골에서 더 적절하다. 1형 교원질은 골의 유기기질의 약 90%를 이루며 석회와 구조적 통합성의 중요한 요소이다. TGF- β 는 1형 교원질의 합성과 기질의 축적을 증가시킨다²⁶). Baylink는 골에서 유래된 성장인자의 국소적인 작용에 대한 모델을 3가지 제시하였는데 첫 번째는 골세포가 성장인자를 분비한 후 골기질 혹은 세포의 체액에 퍼져나가 autocrine 혹은 paracrine으로 작용하거나 골내에 저장된다. 두 번째 모델은 골내에 저장된 성장인자의 paracrine의 작용으로 파골세포의 작용으로 인하여 성장인자가 방출되어 골아세포를 자극하는 작용을 한다. 세 번째 모델은 치아에서 우식 등으로 인한 탈회가 일어나면 성장인자가 유리되고 상아관을 통하여 조상아세포를 자극 반응성 상아질을 형성하는 것이다²⁷⁻³⁵).

본 연구의 결과 초기 TGF- β 의 양성 반응은 3일째에 보였으며 골에 쌓인 세포와 골세포로 변하는 세포에서 보이기 시작하며 1주째 조골세포에서 양성반응이 보이고 최고조에 이르는 것을 보여주고 있었다. 2주째부터 TGF- β 의 양성반응이 줄기 시작하여 3, 4주째에 이르면 거의 음성 반응을 보였다.

TGF- β 의 역할은 손상 초기에서부터 영향을 미치는 것으로 알려져 있으며 골절 부위의 혈종으로 혈소판에서 분비되는 것으로 알려져 있다. TGF- β 는 골절후 10일 동안 혈종이 형성된 부위에 지속적으로 나타난다. 혈소판과 단핵구는 골절 첫날에 발견되는데 Wahl 등의 연구에서 TGF- β 는 단핵 세포에서 다른 성장인자와 그 자신의 합성을 자극한다고 보고 하였다. 막내골화가 TGF- β 에 의해서 시작된다는 가설은 두가지 실험에 의해서 지지 받고 있다. 첫 번째로 TGF- β 를 외부 주입시 막내골화가 시작되는 조직학적 소견을 보여주며 두 번째로 내재성의 TGF- β 가 염색되는 골막에서 막내골화 형성이 수행되는 것이다. 막내골화가 시작된 후 TGF- β 는 골형성의 진행을 조절하는 중요한 역할을 계속하는 것으로 보인다. 노던 분석에서 골절후 5일째 경골에서 TGF- β 의 발현이 최고조에 이르는 것을 보여준다. 동시에 골아세포에서의 염색은 이 세포가 TGF- β 를 합성한다는 것을 보여준다. TGF- β 는 막내골화중 골기질의 합성을 자극하는 것으로 알려져 있다. 연골형성 동안 TGF- β 유전자 발현은 같은 시기 연골에서 최고조에 이른다. 최고조의 TGF- β 의 염색은 간엽조직에 둘러싸인 육아조직에서 보이며 연골로 대체되면서 감소를 보인다³⁶⁻⁴³).

골결손부와 골절의 치유를 위한 연구는 치유를 시작하고 촉진 시키는 물질인 성장인자의 발견을 이끌었다. 골절 치유과정중의 조직학적인 단계에 연관된 성장인자의 연구가 계속되고 있으며 실제적 임상적 적용에 대한 추가적인 실험 및 실제 임상적 적용이 필요할 것으로 사료된다.

V. 결 론

본 연구는 골 결손부의 치유과정중 조직학적 소견과 함께 성장인자로 알려진 TGF- β 의 발현을 면역 조직화학적 소견을 살펴봄으로써 치유과정과 TGF- β 와의 관계를 비교 관찰하기 위하여 150g내외의 자성 백서 20 마리를 각각 10마리씩을 대퇴부에 한군은 2×2mm의 골 결손부를 다른 한군은 2×4mm의 골 결손부를 형성하였다. 3일, 1주, 2주, 3주, 4주 간격으로 희생하여 조직 절편을 얻은 후 통법에 의하여 표본 제작을 하였다. 표본은 H&E 중염색과 MT 염색 그리고 TGF- β 의 발현을 보기 위한 면역조직화학염색을 한 후에 광학 현미경으로 조직 반응을 비교 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 3일째 소견에서부터 신생골의 형성과 연골이 보이며 TGF- β 는 2×2mm 골 결손부에서 신생골에 싸인 세포와 골세포로 변하는 세포에서 양성 반응을 보였다.
2. 1주째 소견에서 조골세포가 관찰되며 골주가 약하게 보이기 시작한다. TGF- β 는 조골세포에서 양성 반응을 보이고 있으며 2×2mm 골 결손부에서 뚜렷한 양성 반응을 보였다.
3. 2주째 소견에서 골주와 신생골이 보이며 2×2mm에서 보다 많은 골주가 보이며 TGF- β 는 전체적으로 미약한 양성 반응을 보였다.
4. 3주째 소견에서 층판상과 기저골이 연관된 모습을 보이며 TGF- β 는 거의 음성 반응을 보이고 있다.
5. 4주째 소견에서 층판상의 골주를 보이며 2×2mm 골 결손부에서 더 형성된 모습을 보이며 TGF- β 는 거의 음성 반응을 보였다.

이상의 결과로 TGF- β 는 초기 신생골의 형성에 관여하는 조골세포에서 발현되는 것으로 관찰되었고 3일째 양성반응이 나타나기 시작하고 1주째 양성 반응이 최고로 관찰되었으며 이후 감소하여 3주, 4주째에는 거의 음성 반응이 관찰되었다.

참 고 문 헌

1. Ham AW : A histological study of the early phase of bone repair., J Bone Joint Surg 1930;30:827-844.
2. Simmons DJ : Fracture healing perspectives., Clin Orthop Rel Res, 1985;200:100-113.
3. Urist MR, Wallace TH, and Adams T : The function of fibrocartilaginous fracture callus, observations on transplants labeled with tritiated thymidine, J Bone Joint
4. Cruess RL, Dumont J : Fracture healing., Can J Surg, 1975;18:403-413.
5. Bolander MK : Regulation of fracture repair by growth factors., Proc Soc Exp Biol Med, 1992;200:165-170.
6. Canalis E, McCarthy T, and Centrella M : Growth factor and the regulation of bone remodeling., J Clin Invest, 1988;81, 277-281.
7. Baylink DJ, Finkelman RD, and Mohan S : Growth factors to stimulate bone formation. Journal of Bone and Mineral Research 1993; 8(2), 565-572.
8. Urist MR, DeLange RJ, and Finerman AM : Bone cell differentiation and growth factors, Science, 220, 680-689.
9. Centrella M, Horowitz MC, and Wozney JM : Transforming growth gene family members and bone, Endocrine Review 1994;27-39.
10. Assoian RK, Komoriya CA, Meyers DM, and Sporn MB :

- Transforming growth factor- β in human platelets. *J Biol Chem*. 1983;258:7155-7160.
11. Seyedin SM, Thomas AY, Thompson DM, Rosenand KA Piez : Purification and characterization of two cartilage-inducing factors from bovine demineralized bone. *Proc Natl Acad Sci. USA*. 1985;82:2267-2271.
 12. Seyedin SM, Thomas AY, Thompson DM, Rosen and KA Piez : Cartilage-inducing factor-A. *J Biol Chem*. 1986;261:5693-5695.
 13. Seyedin SM, Thomas AY, Thompson DM, Rosen and KA Piez : Cartilage-inducing factor- β is a unique protein structurally and functionally related to transforming growth factor- β . *J Biol Chem*. 1987;262:1946-1949.
 14. Sporn MB, Robert AB : Peptide growth factors are multifunctional. *Nature(Lond.)*. 1988;332:217-219.
 15. Thompson NL, Flanders KC, Smith JM, Ellingsworth LR, Roberts AB, and Sporn MB : Expression of transforming growth factor- β 1 in specific cells and tissues of adult and neonatal mice. *The Journal of Cell Biology*. 1989;108:661-669.
 16. Heine UI, Munoz EF, Flanders KC, Ellingsworth LR, Thompson NL, Roberts AB, and Sporn MB : Role of transforming growth factor- β in the development of the mouse embryo. *The Journal of Cell Biology*. 1987;105:2861-2876.
 17. Steiner MS, Zhou AA, Tonb DC, and Barrack ER : Expression of transforming growth factor- β 1 in prostate cancer. *Endocrinology*. 1994;135, No5:2240-2247.
 18. Joyce ME, Robert AB, Sporn MB, and Bolander ME : Transforming growth factor- β and the initiation of chondrogenesis and osteogenesis in the rat femur. *J. Cell. Biol*. 1990;110, 2195-2207.
 19. Noda M, and Camilliere JJ : In vivo stimulation of bone formation by transforming growth factor- β . *Endocrinology*. 1989;124, 2991-2994.
 20. Marcelli C, Yates AJ, and Mundy GY : In vivo effects of human recombinant transforming growth factor- β on bone turnover in normal mice. *J Bone Miner Res*. 1990;5:087-1096.
 21. Beaudreuil J, Mbalaviele G, Cohen-Solal M, Moreieux C, DeVernejoul MC, and Oracel P : Short-term local injections of transforming growth factor- β 1 decrease ovariectomy-stimulated osteoclastic resorption in vivo in rats. *J Bone Miner Res* 1995;10:971-977.
 22. Beck LS, Amento EP, Xu Y, Deguzman L, Lee WP, and Chen TL : In vivo induction of bone by recombinant human transforming growth factor- β 1. *J Bone Miner Res*. 1991;6:961-968.
 23. Mustoe GF, Pierce GF, Thomason A, Gramates P, Sporn MB, and Deuel TF : Accelerated healing of incisional wounds in rats induced by transforming growth factor- β . *Science*. 1987;237:1333-1336.
 24. Hunter T, and Pines J : Cyclins and cancer. *Cell*. 1991;66:1071-1074.
 25. Shibanuma M, Kuroki T, and Nose K : Cell cycle dependent phosphorylation of HSP28 by TGF- β 1 and H₂O₂ in normal mouse osteoblastic cells(MC3T3-E1), but not in their ras-transformants. *Biochem Biophys Res Commun*. 1992;187:1418-1425.
 26. Centrella M, Casinghino S, Ignatz R, and McCarthy TL : Multiple regulatory effects by transforming growth factor- β on Type I collagen levels in osteoblast-enriched cultures from fetal rat bone. *Endocrinology*. 1992;131:2863-2872.
 27. Bautisa C, Baylink DJ, and Mohan S : Isolation of a novel insulin-like growth factor binding protein from human bone : A potential candidate for fixing IGF-II in human bone. *Biochem Biophys Res Commun*. 1991;176:756-763.
 28. LopezCasillas F, Cheifetz S, Doody J, Andres JL, Lane WS, and Massague J : Structure and expression of the membrane proteoglycan betaglycan, a component of the TGF-beta receptor system. *Cell*. 1991;67:785-795.
 29. Farley JR, and Baylink DJ : Purification of a skeletal growth factor from human bone. *Biochemistry*. 1982;21:3502-3507.
 30. Finkelman RD, Linkhart TA, Mohan S, Law K-HW, Baylink DJ, and Bell NH : Vitamin D deficiency cause a selective reduction in deposition of transforming growth factor-beta in rat bone : Possible mechanism for impaired osteoinduction. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1991;88:3657-3660.
 31. Mohan S, and Baylink DJ : Bone growth factors. *Clin Orthop*. 1991; 263:30-48.
 32. Nicolas V, Prewttica P, Eason A, Baylink DJ, and Finkelman RD : Evidence for a progressive decline of IGF-I in human bone in both males and females as a function of age. *J Bone Min Res*. 1992;7:S255.
 33. Cesnja M, Stavljenic A, and Vukicevic S : Decreased osteoinductive potential of bone matrix from ovariectomized rats. *Acta Orthop Scand*. 1991;62:471-475.
 34. Finkelman RD, Linkhart TA, Mohan S, Law K-HW, Baylink DJ, and Bell NH : Ovariectomy selectively reduces the concentration of transformation growth factor- β in rat bone : Implications for estrogen deficiency-associated bone loss. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1991;88:3657-3660.
 35. Rutherford B, and Tucker M : Osteogenic protein-1 induces formation of reparative dentin. *Connect Tissue Res*. 1992;27:160.
 36. Whal SM, Hunt DA, Wakefield IM, et al : Transforming growth factor- β induces monocyte chemotaxis and growth factor production. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1987;84:5788-5792.
 37. Centrella M, Massague J, and Canalis E : Human platelet-derived transforming growth factor- β stimulates parameters of bone growth in fetal rat calvariae. *Endocrinology* 1986;119:2306-2312.
 38. Centrella M., McCarthy TL, and Canalis E : Transforming growth factor- β is a bifunctional regulator of replication and collagen synthesis osteoblast-enriched cell cultures from fetal rat bone. *J Biol Chem* 1987;262:2869-2874.
 39. Hock JM, Centrella M, and Canalis E : Transforming growth factor- β stimulates bone matrix apposition and bone cell replication in cultured rat calvaria[abstract]. *Calcif Tissue Int* 1988;32:385.
 40. Noda M, and Rodan GA : Type- β transforming growth regulation of alkaline phosphatase expression and other phenotype related messenger-RNA in osteoblastic rat osteosarcoma cells. *J Cell Physio* 1987;133:426-437.
 41. Noda M, Yoon K, Rodan SB, et al : Transforming growth factor β 1 stimulates and parathyroid inhibits osteopontin gene expression in rat osteosarcoma(ROS 17/2.8)cells[abstract]. *J Bone Miner Res* 1988;3:S218.
 42. Robey PG, Young MF, Flanders KC, et al : Osteoblasts synthesize and respond to transforming growth factor- β in vitro. *J Cell Biol* 1987;105:457-463.
 43. Rosen DM, Stempien SA, Thompson AY, et al : Differentiation of rat mesenchymal cells by cartilage-inducing factor. *Exper Cell Res* 1986;165:127-138.

저자연락처

우편번호 330-715
 충남 천안시 신부동 산 7-1
 단국대학교 치과대학 구강악안면외과학
 방 승 준

Reprint requests

Sung-Jun Bang
 Dept. of OMFS, School of Dentistry, Dankook Univ.
 7-1, Sinbu-Dong, Cheonan-City, Choongnam, 330-715, Korea
 Tel. (0417)550-1993 Fax. (0417)551-8998

사진부도설명

- Fig. 1. 2×2mm 3일 짜 소견 (H & E,×200) ; 혈종과 신생골이 관찰되었다.
- Fig. 2. 2×4mm 3일 짜 소견(H & E,×200) ; 혈종과 염증세포가 보였다.
- Fig. 3. 2×2mm 1주 짜 소견(H & E,×200) ; 조골세포와 미약한 골주가 관찰되었다.
- Fig. 4. 2×4mm 1주 짜 소견(H & E×200) ; 조골세포가 관찰되었다.
- Fig. 5. 2×2mm 2주 짜 소견(H & E×200) ; 골주와 신생골이 관찰되었다.
- Fig. 6. 2×4mm 2주 짜 소견(H & E×200) ; 골주와 신생골이 관찰되었다.
- Fig. 7. 2×2mm 3주 짜 소견(H & E×200) ; 층판상과 기저골이 연관된 모습을 보였다.
- Fig. 8. 2×4mm 3주 짜 소견(H & E×200) ; 층판상과 기저골이 연관된 모습을 보였다.
- Fig. 9. 2×2mm 4주 짜 소견(H & E×200) ; 층판상의 골주가 보였다.
- Fig. 10. 2×4mm 4주 짜 소견(H & E×200) ; 층판상의 골주가 보였다.
- Fig. 11. 2×2mm 1주 짜 소견(MT×200) ; 혈종과 신생골이 보였다.
- Fig. 12. 2×4mm 1주 짜 소견(MT×200) ; 혈종과 염증세포가 보였다.
- Fig. 13. 2×2mm 2주 짜 소견(MT×200) ; 미약한 골주가 관찰되었다.
- Fig. 14. 2×4mm 2주 짜 소견(MT×200) ; 미약한 골주가 관찰되었다.
- Fig. 15. 2×2mm 3주 짜 소견(MT×200) ; 층판상과 기저골이 관찰되었다.
- Fig. 16. 2×2mm 4주 짜 소견(MT×200) ; 층판상의 골주가 보였다
- Fig. 17. 2×4mm 4주 짜 소견(MT×200) ; 층판상의 골주가 보였다.
- Fig. 18. 2×2mm 3일 짜 소견 (TGF- β ×200) ; 골세포로 변하는 세포에서 양성 반응을 보였다.
- Fig. 19. 2×2mm 1주 짜 소견(TGF- β ×200) ; 신생골에 쌓인 세포에서 양성 반응을 보였다.
- Fig. 20. 2×4mm 1주 짜 소견(TGF- β ×200) ; 조골세포에서 양성 반응이 관찰되었다.
- Fig. 21. 2×2mm 2주 짜 소견(TGF- β ×200) ; 조골세포에서 양성 반응이 관찰되었다.
- Fig. 22. 2×4mm 2주 짜 소견(TGF- β ×200) ; 조골세포에서 양성 반응이 관찰되었다.
- Fig. 23. 2×2mm 3주 짜 소견(TGF- β ×200) ; 전체적으로 양성 반응이 감소하였다.
- Fig. 24. 2×4mm 3주 짜 소견(TGF- β ×200) ; 전체적으로 양성 반응이 감소 하였다.
- Fig. 25. 2×2mm 4주 짜 소견(TGF- β ×200) ; 거의 음성 반응을 보였다.
- Fig. 26. 2×4mm 4주 짜 소견(TGF- β ×200) ; 거의 음성 반응을 보였다.

Abbreviation:

NB: new bone D: day W: week C:2×2mm군 E4×2mm군 R:reverse line

Arrow: TGF- β positive cell

사진부도①

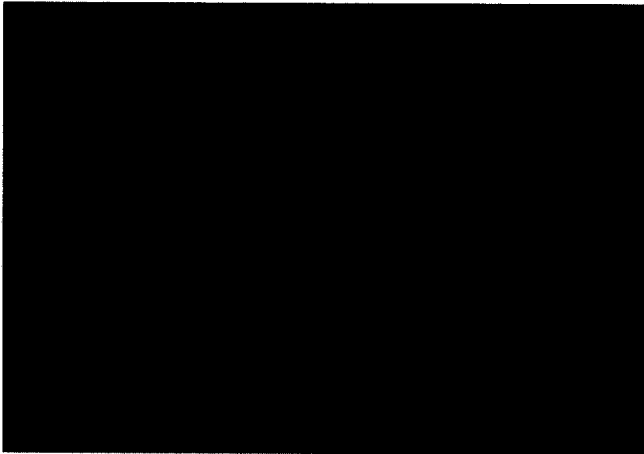


Fig. 1.



Fig. 2.



Fig. 3.

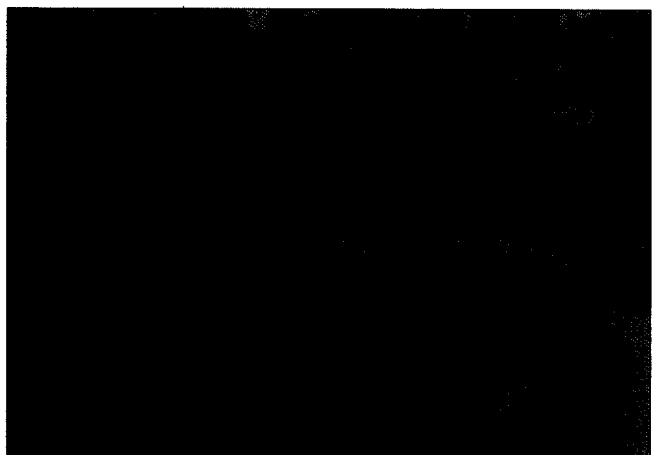


Fig. 4.



Fig. 5.



Fig. 6.

사진부도②

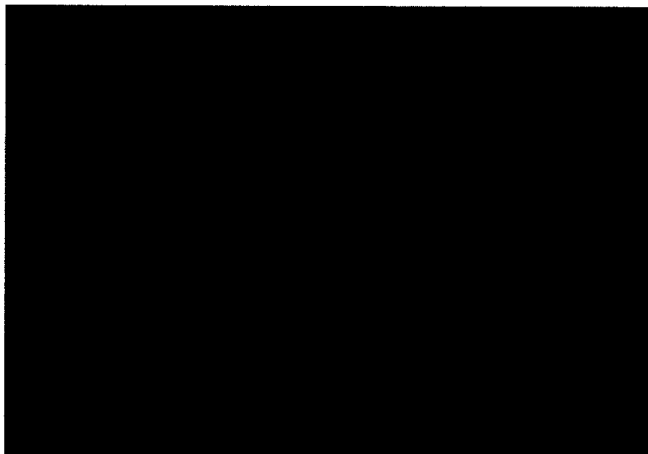


Fig. 7.



Fig. 8.



Fig. 9.



Fig. 10.

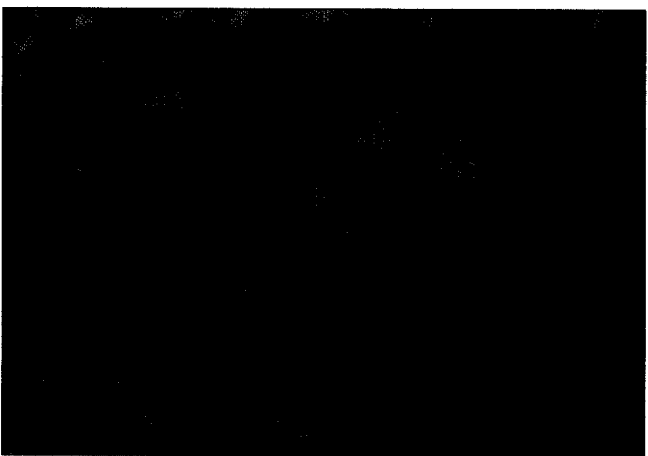


Fig. 11.

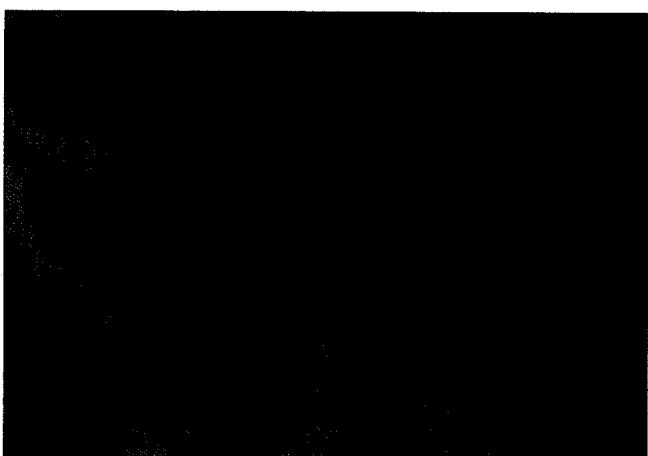


Fig. 12.

사진부도③

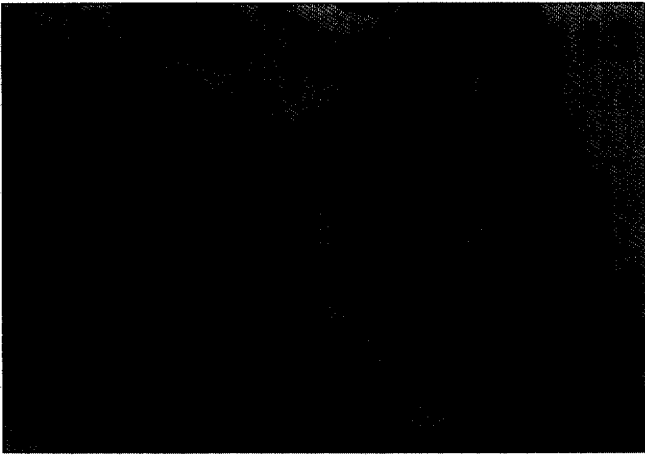


Fig. 13.

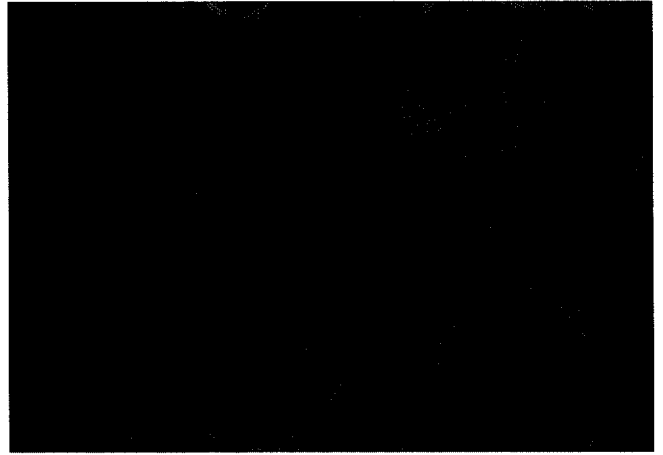


Fig. 14.

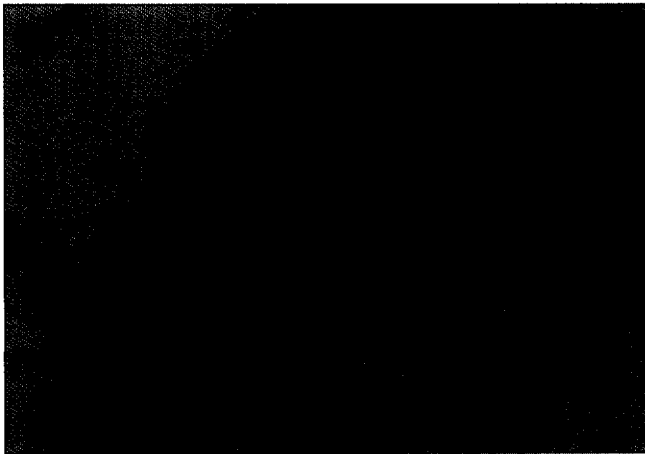


Fig. 15.

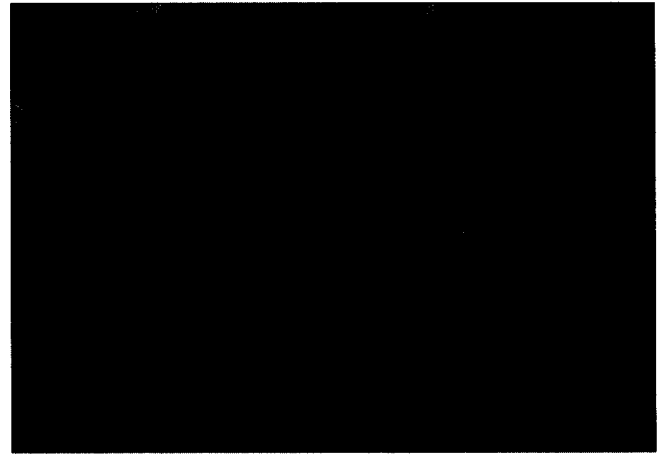


Fig. 16.

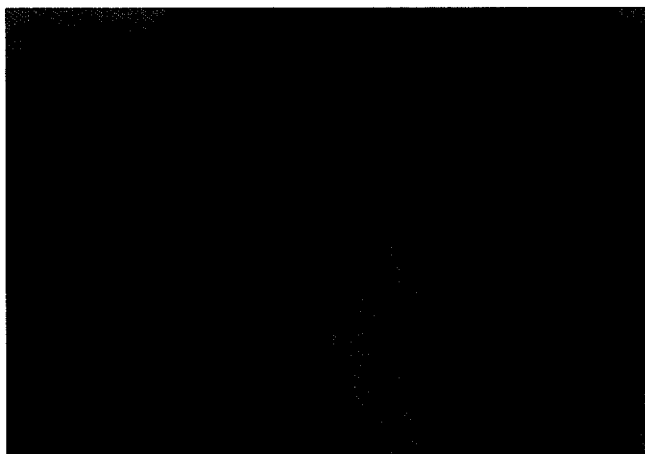


Fig. 17.

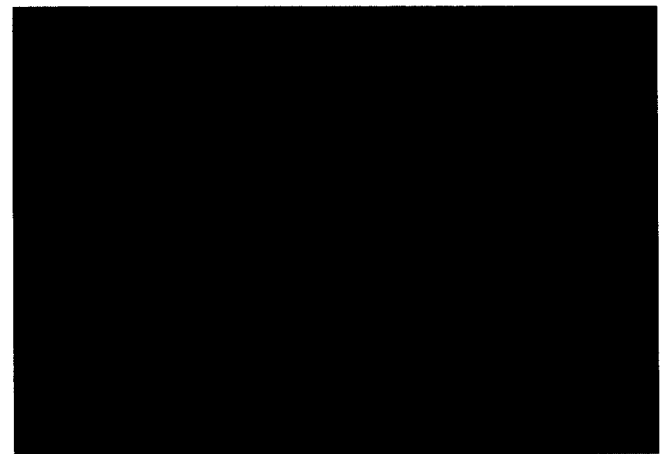


Fig. 18.

사진부도④

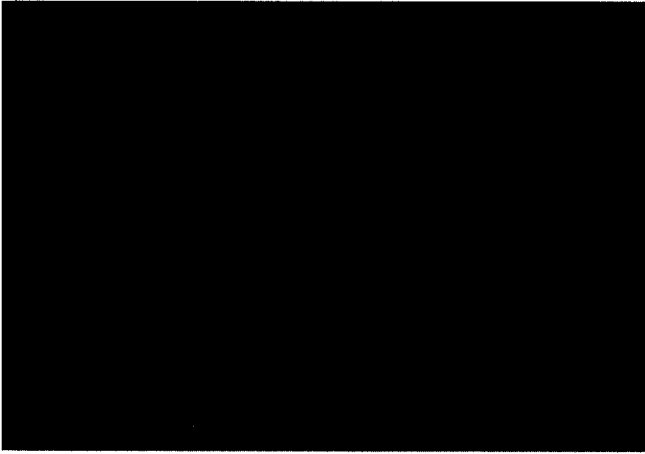


Fig. 19.

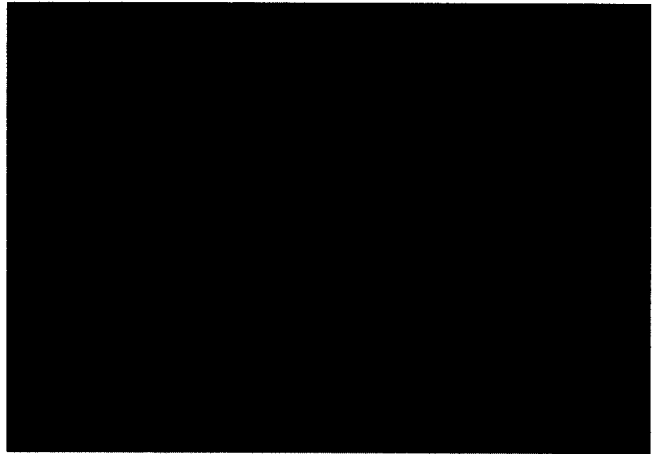


Fig. 20.

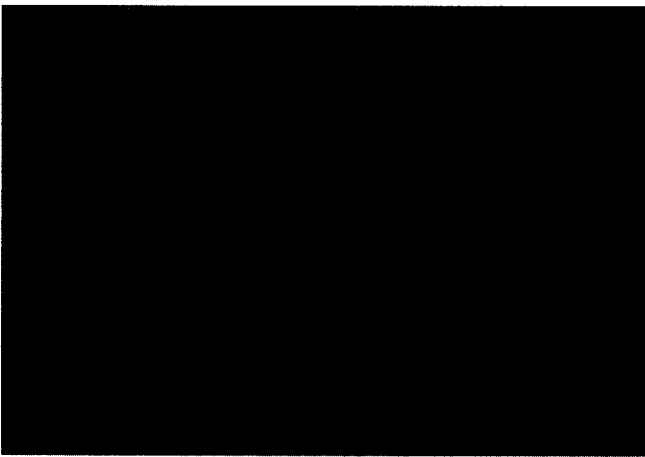


Fig. 21.

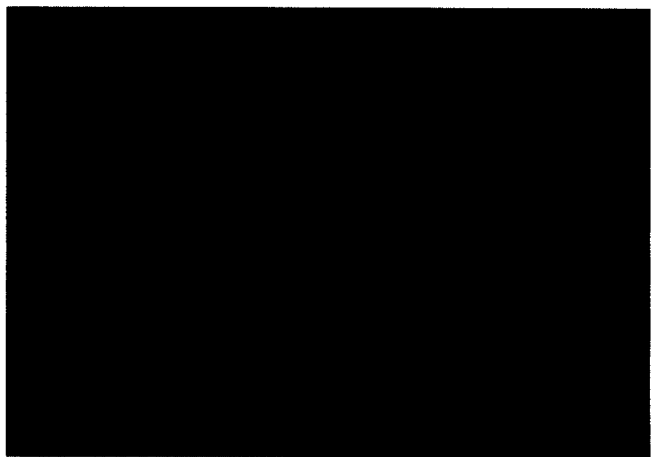


Fig. 22.



Fig. 23.



Fig. 24.

사진부도⑤

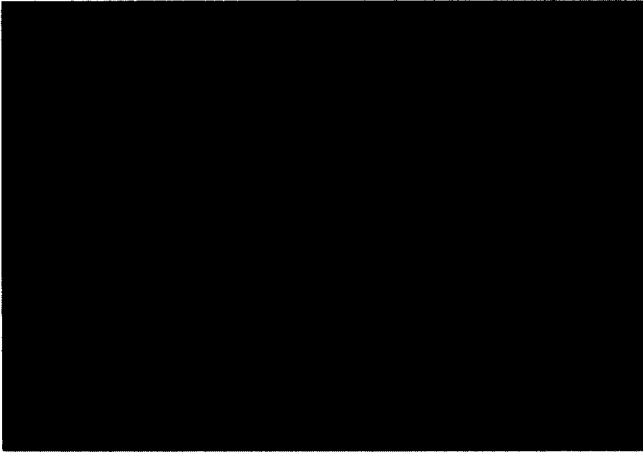


Fig. 25.

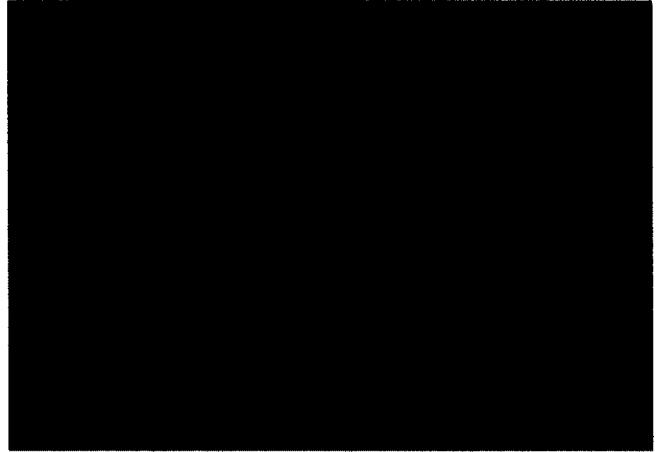


Fig. 26.