

유체에 의해 유발된 전단력이 치은 섬유아세포 유전자 발현 변화에 미치는 영향에 관한 연구

정미향 · 최제용* · 채창훈** · 김성곤** · 남동석

서울대학교 치과대학 치과교정학교실, *경북대학교 의과대학 생화학교실,

**한림대학교 의과대학 구강악안면외과

Abstract

GENE EXPRESSION AFTER THE APPLICATION OF THE FLUID-INDUCED SHEAR STRESS ON THE GINGIVAL FIBROBLAST

Mi-Hyang Jeong, Je-Yong Choi*, Chang-Hoon Chae**,
Seong-Gon Kim**, Dong-Seok Nahm

Dept. of Orthodontics, College of Dentistry, Seoul National University,

**Dept. of Biochemistry, School of Medicine, Kyungpook National University,*

***Dept. of Oral and Maxillofacial Surgery, School of Medicine, Hallym University*

The oral cavity is humid environment mainly due to the continuous salivary flow. The reaction of oral mucosa to fluid flow is important for homeostasis and pathogenesis. The objective of this study is the screening the change of gene expression after the application of fluid induced shear stress (FISS) on the gingival fibroblast using cDNA microarray assay. The immortalized human gingival fibroblasts were grown and FISS was applied using a cone viscometer at a rotational velocity of 40 rpm, respectively for periods of 2 and 4 hours. The synthesis of cDNA was done from the extracted total RNA and cDNA microarray assay was done subsequently. The genes that showed over 1.6 in the Cy3/Cy5 or the Cy5/Cy3 value were regarded as genes influenced significantly by the FISS application ($P < 0.05$). The "RUNX-1" was increased its expression in 2 hours group and "RUN and SH3 domain containing 1" was increased its expression in 4 hours group. The "CC020415", "cyclin L1", "interferon regulatory factor1", "early growth response 1", "immediate early response 2", and "immediate early response 3" genes were increased their expression in 2 and 4 hours after FISS application. In conclusion, we could find many genes that were probably related to the FISS application. Interestingly, most of them were placed in similar molecular pathways and these findings improve the reliability of chip data and usefulness in overall screening. From this experiment, we could find many items for further study and it will make improvement in the understanding of intracellular events in response to FISS.

Key words : Gingival fibroblast, cDNA microarray, Fluid induced shear stress

I. 서 론

구강 내는 다습한 환경으로 이는 주로 지속적인 타액의 생성과 음식물 섭취 시에 공급되는 수분에 의한 것이다. 저작 기능 중에 구강은 유체 수송의 주된 경로이며 유체는 저작 효율을 증가시키고 음식물과 구강 점막 사이의 저항을 줄여

주는 효과를 발휘한다¹⁾. 이러한 액체 성분은 구강 내를 이 장하고 있는 상피세포와 그 하방에 놓여있는 섬유아세포에 기계적인 자극을 가하게 되며, 이러한 자극에 대한 조직 내 세포의 부적절한 반응은 여러 가지 형태의 구강점막 질환으로 나타날 수 있다. 구강은 일년에 1000파운드 이상의 음식물과 처음 접촉하는 부위로 알려져 있다²⁾.

유체와 치은 및 점막 간의 기계적 자극은 구강 내에 다양한 형태의 보철물이 있는 경우 더욱 복잡한 형태로 나타날 수 있는데, 가령 교정 장치가 위치하는 경우 유체는 장치에 의하여 유발된 저항에 의하여 와류형태로 나타날 수 있다. 이러한 형태의 저항은 특정 부위에 스트레스를 집중시킬 수 있고 이는 외부 균주에 대한 저항력 약화나 염증반응의 형태로 나타날 수 있다. 구강외과 의사나 교정과 의사의 경우 악교정 수술 후에 환자의 면역기능이 떨어진 상태에서 이러한 형태의 조직반응을 이해하는 것은 환자에 대한 성공적인 처치를 위하여 반드시 요구되는 사항이라 하겠다.

대개 점막이 외부의 자극을 받게 되면 상피세포는 이러한 자극들에 대하여 Toll-like receptors를 발현하고 또한 다양한 형태의 사이토카인을 생성하여 스트레스에 저항하게 된다²⁾. 이러한 방어기전에 중요한 부분은 상피세포와 섬유아 세포 간의 상호작용이며 그 한 예로는 치은 섬유아세포에서 상피세포의 성장인자인 keratinocyte growth factor를 생산한다는 것³⁾과 치은 상피세포가 섬유아세포의 성장인자인 transforming growth factor-alpha를 생산한다는 것이다⁴⁾.

상피세포나 섬유아세포가 외부 자극에 대하여 생산하는 신호전달 물질에 대하여는 기존에 많은 논문에서 보고하고 있다^{5,6)}. 그러나 이러한 논문들은 대개 화학적인 자극에 국한되어있었다. 구강 내는 상당히 습한 환경이고 유체에 의한 기계적인 자극이 구강 내 다양한 질환과 연관이 있음에도 불구하고 이에 대한 연구는 거의 없었다. 따라서 본 연구의 목적은 치은 섬유아세포에 유체에 의하여 유발된 전단력 (fluid induced shear stress: FISS)를 가하여 유발된 유전자의 발현 변화를 cDNA microarray assay를 통하여 밝히고자 한다.

II. 재료 및 방법

세포 배양 및 유체역학 유도 전단력의 적용

Immortalized human gingival fibroblasts을 이용하여 실험을 수행하였다. 상기 세포주를 Ham's F12/Dulbecco's modified Eagle's medium (Gibco, BRL, Gaithersburg, MD)에서 키워졌고 배양액에는 1% penicillin/streptomycin, bFGF (100 $\mu\text{g}/\text{ml}$), 그리고 10% fetal bovine serum (FBS)를 함유하고 있었다. 배양된 세포는 전단력을 가하기 24시간 전에 PBS로 세 차례 세척을 시행하였고 10 ml의 혈장이 포함되어 있지않는 배양액을 넣었다. 전단력은 cone viscometer를 이용하여 가하였으며 회전 속도는 40 rpm이었으며 힘을 가한 시간은 2시간 및 4시간이었다(Fig. 1). 대조군은 같은 조건에서 전단력을 가하지 않은 상태에서 배양하였다. 시편은 24시간 후에 얻었으며 영하 70도에서 다음 실험 전까지 보관하였다.

Total RNA의 추출, cDNA 합성 및 RT-PCR

배양액을 제거한 후 세포들을 PBS로 수세를 시행하였다. trypsin-EDTA buffer로 처리한 후에 37 $^{\circ}\text{C}$ 에서 5분간 두었다. 전체 RNA는 Tri-Reagent를 이용하여 추출하였고 방법은 제조사(Molecular Research Center, Inc.

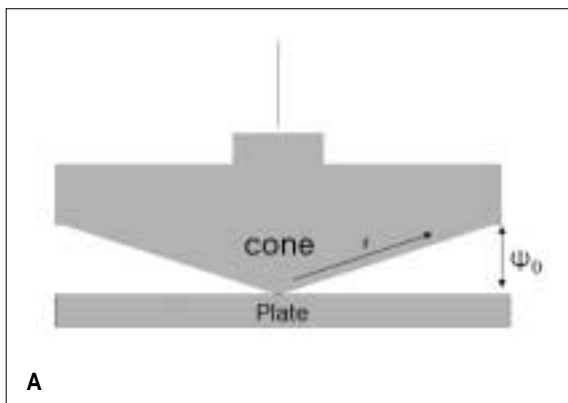


Fig. 1. A. Diagram of the apparatus (r : radius, ψ_0 : angle) B. The apparatus of shear stress generator.

Cincinnati, OH)의 지침서에 따라서 통법에 따라 시행하였다. 전체 RNA의 농도는 spectrophotometer (Ultrospec 2000 UV/Visible Spectrophotometer, Pharmacia Biotech[®], Piscataway, NJ)로 측정하였다.

cDNA의 합성은 추출된 전체 RNA에서 Reverse transcriptase kit (Invitrogen, Inc., Carlsbad, CA)를 이용하여 시행되었다. 3 μ l의 oligo(dT)와 1 μ l의 10mM dNTP 혼합물을 mixture을 첨가하여 반응을 준비하였고, DEPC 처리한 3차 증류수를 첨가하여 전체 부피가 40 μ l가 되도록 하였다. 반응은 65 $^{\circ}$ C에서 5분간 수행되었고 반응이 끝나고 온도를 서서히 떨어뜨려 실온에 도달하도록 하였다. 그리고 2 μ l의 10x first-strand buffer, 4 μ l의 25mM MgCl₂, 2 μ l의 0.1M DTT, 1 μ l의 RNased block Ribonucleotide inhibitor (40 u/ μ l), 그리고 1 μ l의 Rtase를 첨가하였다. 전체 부피는 50 μ l였으며 반응은 42 $^{\circ}$ C에서 1시간 동안 진행되었다.

중합쇄 연쇄반응은 2.5 μ l의 cDNA를 가지고 수행되었다. 선택된 유전자의 단백질 전사 영역 중에서 20-mer의 시발체를 선택하였다(Table 2). 혼합물은 시발체, 10x reaction buffer, 25 mM MgCl₂, 1 mM dNTP, 그리고 Taq DNA polymerase (Promega, Madison, WI)로 구성되어 있었다. 전체 부피는 50 μ l였다. 반응조건은 다음과 같았다. 95 $^{\circ}$ C에서 10분간 변성을 시킨 후에 95 $^{\circ}$ C에서 30초, 58 $^{\circ}$ C에서 30초, 60 $^{\circ}$ C에서 30초를 모두 33회 반복하였다. 반응산물은 1.5% agarose gel에서 전기영동한 후에 ethidium bromide solution으로 염색하여 확인하였다.

Analysis of cDNA expression using microarray technology

전체 24,200 cDNA fragments를 이용하여 각각의 클론을 만들었으며 이는 22(row) \times 23(col) \times 48(pins) =

24,288 spot으로 배열하였다. 각각의 위치는 특정 cDNA 클론과 일치하게 하였다. 각각의 유전자가 정확하게 주어진 농도에 비례하여 발현이 나타나는지를 확인하기 위하여 내부 대조군을 microchip에 실었는데, 이는 Beta-actin, GAPDH, Tubulin - alpha - 4, Hexokinase 1, LDHA, Ribosomal protein L3, Ribosomal protein L29, Transcription factor(E2A)로서 이들의 비율은 각각 0.5 ng/ μ l, 2 ng/ μ l, 8 ng/ μ l, 32 ng/ μ l, 128 ng/ μ l, 512 ng/ μ l로 하였다. 이들은 양성 대조군으로 활용되었다. 이들이 임의 조제하여 샘플에 첨가한 인공유전자와 반응하였을 때, 이미 실험자가 알고 있는 농도와 동일한 농도가 나오는 경우에 한하여 전체 실험결과가 의미 있는 것으로 판단하였다.

금번 실험을 위하여 24k twin chips (24200 genes)을 사용하였고 scatter plot 상에서 실험조건에서 과다 발현되거나 과소 발현된 유전자를 검색하였다. 기존에 microarray 논문에서 보고된대로 유의수준은 Cy3/Cy5 혹은 Cy5/Cy3의 비율이 1.6 이상인 경우로 하였으며($M/\Delta > 0.7$), 이를 실험조건에서 유의하게 변화된 유전자로 간주하였다. 실험의 재현가능성을 증대시키기 위하여 3회 반복하고 염색약을 바꾸어 사용하는 방법을 사용하였다⁷⁾. 임의로 선택된 유전자 3개에 한하여 RT-PCR를 시행하여 결과를 다시 한번 확인하였다.

III. 결 과

대조군의 섬유아세포의 경우 배양기 내에 임의로 분포되어 있는 전형적인 형태를 보였다(Fig. 2A). FISS를 가한 섬유아세포의 경우 유체가 흐르는 방향에 따라 일정하게 배열되는 양상을 보였다(Fig. 2B, C). DNA chip assay를 시행한 결과 scatter plots은 Fig. 3에 보여주고 있다. 통계적인 유의수준은 기존의 DNA chip 논문과 동일하게

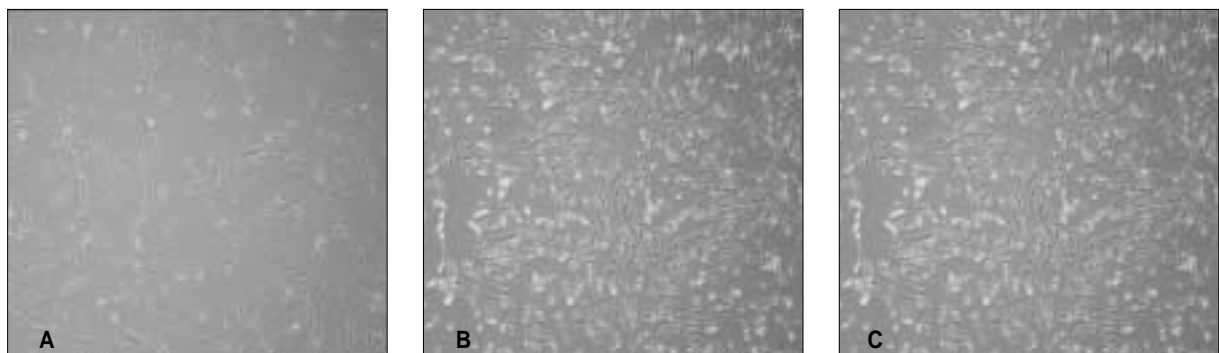


Fig. 2. Cultured gingival fibroblast. (A) control (B) 2 hours after (C) 4 hours after (original magnification \times 100).

/M/ > 0.7로 정하였다. 발현량이 유의하게 변하는 유전자들은 Table 1, 2, 3 및 4에 표시하였다. "CC020415" 유전자는 FISS를 가한 후 2시간 및 4시간 후에 각각 발현이 감소된 것으로 나타났다 (Table 1, 3). "RUNX-1"의 경우 2시간 후에 발현이 증가되고 (Table 2), "RUN and SH3 domain containing 1"는 4시간 후에 발현이 증가되었다 (Table 4). "cyclin L1", "interferon regulatory fac-

tor1", "early growth response 1", "immediate early response 2", 및 "immediate early response 3" 유전자들도 FISS를 가하고 2시간 및 4시간 후에 발현이 증가되는 유전자들이다 (Table 2, 4). 흥미롭게도 "Cytokine 04, 10, and 16"는 2시간 후에 발현이 증가되었으나, "Cytokine 03"은 4시간 후에 발현이 감소된 것으로 나타났다 (Table 3).

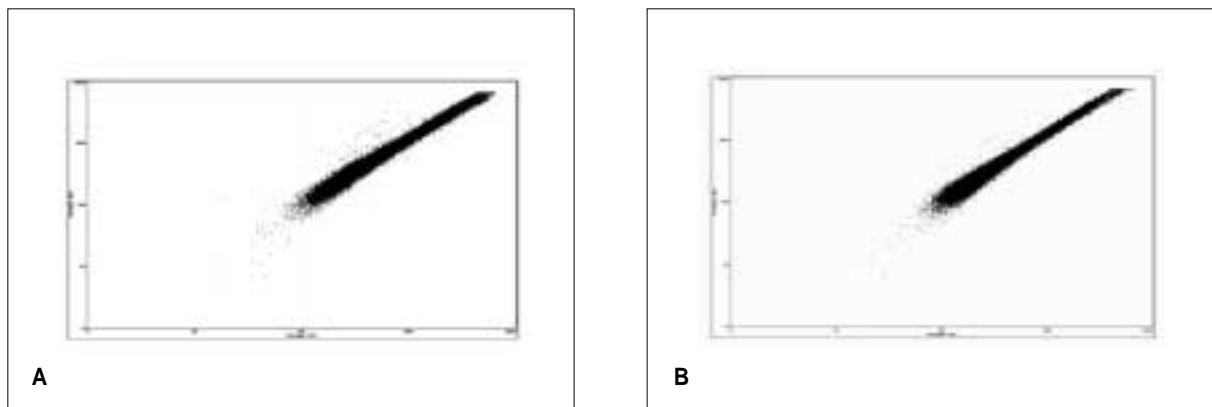


Fig. 3. Sigma plot (A) 2 hours after (B) 4 hours after.

Table 1. The Genes that Showed Decreased Expression in 2 hours After FISS Application

Gene	M	A	GenBank
CC011018 VC	-1.2535	8.893237	CC011018 VC
zinc finger protein 313	-0.9920	10.03277	CD629445
latent transforming growth factor beta binding protein 4	-0.9797	12.84952	BM785936
hypothetical protein FLJ20399	-0.9129	12.87017	BM793760
CC020415 C2	-0.9052	12.38707	CC020415 C2
dCMP deaminase	-0.8364	11.3451	BM759471
sclerostin domain containing 1	-0.8357	9.712237	BM754590
SO3	-0.7739	8.824284	SO3
mitochondrial ribosomal protein L2	-0.7714	11.05174	BM773040
solute carrier family 12 (sodium/potassium/chloride transporters), member 2	-0.7679	10.37956	BM663073
antigen identified by monoclonal antibody MRC OX-2	-0.7553	9.828746	AW294653
dynactin 4 (p62)	-0.7544	10.68533	BM750652
DNA-damage-inducible transcript 4	-0.7373	10.83966	CD629640
peroxiredoxin 6	-0.7368	11.37945	BG925292
creatine kinase, mitochondrial 1 (ubiquitous)	-0.7282	10.48046	BM792559
hypothetical protein FLJ10315	-0.7184	9.850326	BM788300
apolipoprotein D	-0.7036	10.05873	BG897605

Table 2. The Genes that Showed Increased Expression in 2 hours After FISS Application

Gene	M	A	GenBank
RUNX - 1	0.7070	9.903331	RUNX - 1
DNA-damage-inducible transcript 4	0.7106	10.209013	CD629640
TGFB inducible early growth response	0.7234	12.234754	BM787811
alpha-2-macroglobulin	0.7247	10.570923	BF689594
inositol polyphosphate phosphatase-like 1	0.7402	12.845377	BM769439
Matrix metalloproteinase 15 (membrane-inserted)	0.7512	10.960668	BC055428
Mitogen-inducible gene 6	0.7564	12.152299	BM786946
osteopontin	0.7677	10.531432	AW973731
jun B proto-oncogene	0.8258	13.831197	BM745671
esophageal cancer related gene 4 protein	0.8964	11.255629	BG928558
superoxide dismutase 2, mitochondrial	0.9107	12.099712	BM768463
synaptogyrin 4	0.9368	10.246255	BM792897
cyclin L1	0.9379	12.023317	BM794591
Dual specificity phosphatase 5	0.9579	12.116165	CB957652
Interleukin 6 (interferon, beta 2)	0.9762	13.175648	BC027978
Interferon regulatory factor 1	0.9961	11.97074	BM767147
Cytokine 10	1.0988	11.85074	Cytokine 10
immediate early response 2	1.1018	13.01949	BM765640
Cytokine 16	1.3237	11.370139	Cytokine 16
growth arrest and DNA-damage-inducible, alpha	1.3577	12.92309	AI582485
Heat shock 70kDa protein 1A	1.4549	13.500999	BM790717
interleukin 8	1.5967	11.719607	BF218599
Cytokine 04	1.6054	9.221792	Cytokine 04
early growth response 1	1.6057	13.450838	BM782937
immediate early response 3	1.9784	13.729403	BM785996
v-fos FBJ murine osteosarcoma viral oncogene homolog	2.0065	13.089236	AV747778

Table 3. The Genes that Showed Decreased Expression in 4 hours After FISS Application

Gene	M	A	GenBank
ubiquitin specific protease 16	-1.1537	9.4566	BM752783
PRMT5	-1.1097	9.2821	PRMT5
junction plakoglobin	-1.0250	9.9884	BM790354
desmocollin 2	-0.9727	9.7201	BE747528
CC020415 SP	-0.9489	15.7030	CC020415 SP
cyclin K	-0.9468	10.1881	BM741158
pleckstrin 2	-0.9219	9.7595	BM753276
Cytokine 03	-0.8913	7.9875	Cytokine 03
phospholipase C, gamma 2 (phosphatidylinositol-specific)	-0.8335	10.0528	BM773235
kallikrein 1, renal/pancreas/salivary	-0.8258	10.8770	BM745368
MAP-kinase activating death domain	-0.8026	10.1679	BM772763
rhopilin, Rho GTPase binding protein 2	-0.7947	10.1038	BM791482
BRIX	-0.7649	10.7793	BG925423
coproporphyrinogen oxidase	-0.7636	10.6228	BG505658
adenylate cyclase 3	-0.7524	9.4474	BM751929
arginyltransferase 1	-0.7321	10.3498	BM757417
tropomyosin 4	-0.7097	10.6718	BM754276
2-aminoadipic 6-semialdehyde dehydrogenase	-0.7081	9.8839	BQ082005
albumin	-0.7009	9.7612	BM794319

Table 4. The Genes that Showed Increased Expression in 4 hours After FISS Application

Gene	M	A	GenBank
RUN and SH3 domain containing 1	0.7004	11.0178	BM793813
protein phosphatase 2, regulatory subunit B (B56), alpha isoform	0.7041	10.3524	L42373
integrin beta 4 binding protein	0.7070	11.0433	CD614238
exportin 6	0.7123	11.0079	BM789804
calponin 2	0.7472	10.5085	BQ218634
CD48 antigen (B-cell membrane protein)	0.7482	10.4600	BG505217
sodium channel, voltage-gated, type IX, alpha	0.7544	10.4291	NM_002977
interferon regulatory factor 1	0.8055	11.1096	BM767147
collagen, type IV, alpha 6	0.8153	10.5830	NM_001847
cyclin L1	0.8491	10.9841	BM794591
immediate early response 3	0.8747	12.2630	BM785996
early growth response 1	0.8897	12.6832	BM782937
FGFR1 oncogene partner 2	1.0461	15.3146	NM_015633
immediate early response 2	1.1430	12.4830	BM765640
v-fos FBJ murine osteosarcoma viral oncogene homolog	1.8285	12.2892	AV747778

Ⅳ. 토 의

FISS는 구강 내에서 다양한 상황에서 유도될 수 있다. 구강 내를 이장하고 있는 상피와 피하 결합조직이 1차적으로 자극을 받게 되고 이러한 자극은 구강 내 보철물이나 장치가 존재하는 경우 더욱 복잡한 형태로 나타나게 된다. 본 연구에서 FISS가 세포의 배열이나 형태를 변화시키는 것으로 보아(Fig. 2), FISS는 치은 섬유아세포에 생리적인 반응을 유도하는 것으로 보이며 여기에 관여하는 유전자들은 주로 세포의 기질의 대사를 조절하거나 세포 증식에 영향을 미치는 것들이었다(Table 1-4).

“CC020415” 유전자가 FISS를 가하고 2시간 및 4시간 후에 그 발현이 증가된 것으로 보였다(Table 1, 3). FISS와 관련되어 그 발현이 지속적으로 증가되는 것으로 보아 치은 섬유아세포의 전단력에 대한 반응과 연관이 있는 것으로 보이나 이 유전자의 기능에 대하여는 거의 알려진 바가 없다. 따라서 이는 추후 연구를 통하여 밝혀야 할 것으로 사료된다. “RUNX-1”의 발현이 2시간 후에 증가되었으며(Table 2), “RUN and SH3 domain containing 1”는 4시간 후에 그 발현이 증가되었다(Table 4). RUNX family의 자극을 가하고 경과된 시간에 따른 발현 양상의 차이는 흥미로운 발견으로 이는 신호 전달 물질의 pathway에서 서로 위치한 순서를 밝히는 데 도움을 줄 것으로 사료된다. RUNX family는 새로운 DNA binding sequence, 5'-XAACCACA-3'와 더불어 중요한 역할을 하고 있다⁸⁾. TGF-β는 RUNX family 보다 경로 상 위에 존재하면서 RUNX의 발현을 조절하며 RUNX는 직접적으로 Smad 단백질과 상호작용을 한다^{9,10)}. RUNX와 TGF-β의 연관관계는 본 연구에서 TGF-β induced early growth response 유전자의 발현 증가를 관찰함으로써 입증될 수 있다(Table

2). RUNX는 섬유아세포에서 콜라겐의 합성에도 중요한 역할을 하고 있다. 간 세포에서 과발현된 RUNX1B isoform은 TIMP1 promoter activity를 억제하는 데, 변이된 RUNX1A isoform과 RUNX2는 TIMP1를 촉진하고 이는 다양한 장기의 섬유화와 연관이 있다¹¹⁾. 본 연구에서는 이와 관련하여 MMP-15 유전자(Table 2) 및 type IV collagen 유전자(Table 4)의 발현 증가를 관찰할 수 있었다. 그러므로 FISS에 의하여 발현된 RUNX family는 치은 섬유아세포에서 스트레스에 대한 반응으로 콜라겐 합성을 조절할 수 있다.

“cyclin L1”, “interferon regulatory factor1”, “early growth response 1”, “immediate early response 2”, 및 “immediate early response 3” 유전자는 2시간 및 4시간 후에 각각 발현이 증가된 것으로 나타났다(Table 2, 4). Interferon regulatory factors(IRFs)는 광범위한 생물학적 기능을 가지고 있다^{12,13)}. 최근의 보고에 의하면 IRFs는 transcriptional activators(IRF-1, IRF-3, 및 IRF-9), repressors(e.g. IRF-8), 혹은 양측 모두(IRF-2, IRF-4 및 IRF-7)로서 기능한다. IRF-1은 type I interferons, the type II interferon 및 IFN-γ에 의하여 발현이 조절된다¹³⁾. IRF-1와 IRF-2는 세포성장, 세포주기 및 세포사멸에 핵심적인 조절인자로 각각 발암유전자 혹은 암억제 유전자로 기능을 하게 된다¹⁴⁻¹⁶⁾. p21WAF1/cip1은 cyclin-dependent kinase (CDK) inhibitors에 속한 유전자로 세포주기 조절이 주된 역할인데 DNA 손상 시 IRF-1 및 p53에 의하여 발현이 조절된다¹⁷⁻¹⁹⁾.

흥미롭게도 “Cytokine 04, 10, and 16”은 2시간 후에 발현이 증가되었는데(Table 2), “Cytokine 03”은 4시간 후에 발현이 감소되었다(Table 3). 이러한 cytokines은 전사인자인 cyclin, IRF-1 및 RUNX와 상호작용하는 것으로 믿어진다.

발현이 증가된 다른 유전자로는 *calponin 2*, *exportin 6* (Table 4) 및 interleukin 6 (Table 2)가 있었다. 근섬유아 세포에 있는 Rho kinase (ROK) inhibitor에 증감되는 섬유유는 SMA, nonmuscle myosin II, tropomyosin, 및 calponin을 함유하고 있다²⁰⁾. "Rho GTPase binding protein 2" 유전자의 발현감소가 본 연구에서 관찰된 것으로 보아 calponin의 발현 변화는 Rho kinase 발현과 연관이 있는 것으로 보인다 (Table 3). Rho GTPases가 cytoskeleton dynamics의 주된 조절자인 것과 calponin의 발현이 ROK에 의하여 조절된다는 것을 감안하면 이들 pathway가 FISS와 연관된 세포반응, 특히 세포운동과 밀접한 연관이 있을 것으로 사료된다 (Fig. 2). IL-6의 발현을 유도하는 DNA상의 유전자는 IRF-1과 결합위치가 중복된다²¹⁾. IL-6은 배양된 활막 섬유아세포양 세포에서 hsp70의 발현을 유도한다²²⁾. 본 연구에서는 hsp70의 발현 증가도 관찰할 수 있었다 (Table 2).

결론적으로 본 연구에서는 치은 섬유아세포에 유체에 의한 전단력이 가해진 경우 발현이 증감되는 유전자들을 다수 확인할 수 있었다. 흥미롭게도 발견된 유전자들의 대부분은 동일한 pathway에 존재하는 것들이었고 이는 본 실험의 신뢰도를 증가시켜주는 요인이자 하겠다. 기존에 확인되지 않은 유전자들 중에서 본 연구를 통하여 새롭게 밝혀진 것들에 대하여는 추가적인 연구를 통하여 그 기능을 밝혀야 할 것으로 사료된다.

참고문헌

1. Mandel ID : The functions of saliva. *J Dent Res* 66 : 623, 1987.
2. Challacombe SJ, Shirlaw PJ : Immunology of diseases of the oral cavity: In Mestecky J, Lamm ME, Strober W et al : *Mucosal immunology*, third ed. Elsevier Burlington MA, USA, 2004, p.1517.
3. Partridge K, Kiguwa S, Luqmani Y et al : Expression of bFGF, KGF and FGF receptors on normal oral mucosa and SCC. *Oral Oncol Eur J Cancer* 32B : 76, 1996.
4. Rotaru H, Choi JY, Hong SP et al : Transforming growth factor- α and oral fibroma: immunohistochemical and in situ hybridization study. *J Oral Maxillofac Surg* 61 : 1449, 2003.
5. Merne M, Heinaro I, Lahteenoja H et al : Proliferation and differentiation markers in snuff-induced oral mucosal lesions. *J Oral Pathol Med* 31 : 259, 2002.
6. Gopaul NK, Manraj MD, Hebe A et al : Oxidative stress could precede endothelial dysfunction and insulin resistance in Indian Mauritians with impaired glucose metabolism. *Diabetologia* 44 : 706, 2001.

7. Tamura T, Ishihara M, Lamphier MS et al : An IRF-1-dependent pathway of DNA damage-induced apoptosis in mitogen-activated T lymphocytes. *Nature* 376 : 596, 1995.
8. Ito Y : Molecular basis of tissue-specific gene expression mediated by the runt domain transcription factor PEBP2/CBF. *Genes Cells* 4 : 685, 1999.
9. Verschuere K, Huylebroeck D : Remarkable versatility of Smad proteins in the nucleus of transforming growth factor- β activated cells. *Cytokine Growth Factor Rev* 10 : 187, 1999.
10. Wrana JL, Attisano L : The Smad pathway. *Cytokine Growth Factor Rev* 11 : 5, 2000.
11. Bertrand-Philippe M, Ruddell RG, Arthur MJP et al : Regulation of tissue inhibitor of metalloproteinase 1 gene transcription by RUNX1 and RUNX2. *J Biol Chem* 279 : 24530, 2004.
12. Vaughan PS, van Wijnen AJ, Stein JL et al : Interferon regulatory factors: growth control and histone gene regulation—it's not just interferon anymore. *J Mol Med* 75 : 348, 1997.
13. Mamane Y, Heylbroeck C, Genin P et al : Interferon regulatory factors: the next generation. *Gene* 237 : 1, 1999.
14. Harada H, Kitagawa M, Tanaka N et al : Anti-oncogenic and oncogenic potentials of interferon regulatory factors-1 and -2. *Science* 259 : 971, 1993.
15. Tanaka H, Samuel CE : Mechanism of interferon action: structure of the mouse PKR gene encoding the interferon-inducible RNA-dependent protein kinase. *Proc Natl Acad Sci USA* 91 : 7995, 1994.
16. Willman CL, Sever CE, Pallavicini MG et al : Deletion of IRF-1, mapping to chromosome 5q31.1, in human leukemia and preleukemic myelodysplasia. *Science* 259 : 968, 1993.
17. Tanaka N, Ishihara M, Lamphier MS et al : Cooperation of the tumour suppressors IRF-1 and p53 in response to DNA damage. *Nature* 382 : 816, 1996.
18. Sherr CJ, Roberts JM : Inhibitors of mammalian G1 cyclin-dependent kinases. *Genes Dev* 9 : 1149, 1995.
19. Coccia EM, Del Russo N, Stellacci E et al : Activation and repression of the 2-5A synthetase and p21 gene promoters by IRF-1 and IRF-2. *Oncogene* 18 : 2129, 1999.
20. Anderson S, DiCesare L, Tan I et al : Rho-mediated assembly of stress fibers is differentially regulated in corneal fibroblasts and myofibroblasts. *Exp Cell Res* 298 : 574, 2004.
21. Harroch S, Gothelf Y, Revel M et al : 5' upstream sequences of MyD88, an IL-6 primary response gene in M1 cells: detection of functional IRF-1 and Stat factors binding sites. *Nucleic Acids Res* 23 : 3539, 1995.
22. Schett G, Redlich K, Xu O et al : Enhanced expression of heat shock protein 70 (hsp70) and heat shock factor 1 (HSF1) activation in rheumatoid arthritis synovial tissue. Differential regulation of hsp70 expression and HSF1 activation in synovial fibroblasts by proinflammatory cytokines, shear stress, and antiinflammatory drugs. *J Clin Invest* 102 : 302, 1998.

저자 연락처

우편번호 431-070
 경기도 안양시 동안구 평촌동 896번지
 한림대학교 성심병원 구강악안면외과
김성곤

원고 접수일 2005년 2월 24일
 게재 확정일 2005년 5월 30일

Reprint Requests

Seong-Gon Kim
 Dept. of OMFS, Sacred Heart Hospital, Hallym University
 #896, Pyungchon-Dong, Dongan-Gu, Anyang city Kyoungkido, 431-070, Korea
 Tel: +82-31-380-3870 Fax: +82-31-387-2475
 E-mail: epker@chollian.net

Paper received 24 February 2005
 Paper accepted 30 May 2005