

비후성 반흔 각질세포와 정상 각질세포의 유전자 비교분석

최성원¹ · 정호윤² · 임영국¹ · 김훈남¹ · 오지원³ · 김문규³ · 전세화⁴ · 홍용택¹

대구파티마병원 성형외과¹, 경북대학교 의학전문대학원 성형외과학교실², 면역학교실³, 테고 사이언스(주)⁴

Difference of Gene Expression between Hypertrophic Scar Keratinocytes and Normal Keratinocytes

Sung Won Choi, M.D.¹, Ho Yun Chung, M.D.²,
Young Kook Lim, M.D.¹, Hoon Nam Kim, M.D. Ph.D.¹,
Ji Won Oh, M.D.³, Moon Kyu Kim, M.D.³,
Sae Hwa Jeon, Ph.D.⁴, Yong Taek Hong, M.D.¹

¹Department of Plastic and Reconstructive Surgery, Fatima Hospital, Daegu; ²Department of Plastic and Reconstructive Surgery, ³Immunology, School of Medicine, Kyngpook National University, Daegu; ⁴Tego Science Inc, Daegu, Korea

Purpose: There is no clear evidence of the original cause of hypertrophic scar, and the effective method of treatment is not yet established. Recently the steps of searching in gene and molecular level are proceeding. we are trying to recognize the difference between keratinocytes of hypertrophic scar and normal skin. Then we do support the comprehension of the scar formation mechanism and scar management.

Methods: Total RNAs were extracted from cultured keratinocytes from 4 hypertrophic scars and normal skins. The cDNA chips were prepared. A total of 3063 cDNAs from human cDNA library were arrayed. And the scanning data were analyzed.

Results: On microarray, heat shock protein, pyruvate kinase, tumor rejection antigen were more than 2 fold intensity genes. Among them, heat shock 70 kd protein showed the strongest intensity difference.

Conclusion: In this study, it can be concluded that heat shock proteins play an important role in the process of wound healing and scar formation. This study provides basic biologic information for scar research. The new way of the prevention and treatment of scar formation would be

introduced with further investigations.

Key Words: Hypertrophic scar, Keratinocyte, Heat shock protein

I. 서론

피부의 기본적인 기능은 주변 환경에 대하여 방어막으로 작용하는 것이다. 이러한 피부가 손상을 받았을 때 창상치유 과정이 일어나게 된다. 이러한 창상의 치유는 여러 가지 활동이 잘 조절된 복잡한 일련의 단계로서 손상된 조직의 구조와 작용을 정상으로 회복시킨다. 그러나 손상되었던 피부가 치유되는 과정에서 피부의 긴장도를 유지하는 진피층의 콜라겐이 과도하게 증식되면 치유된 후에도 얇아진 피부를 밀고 나와 흉터로 남게 된다.¹

비후성 반흔은 일반적 흉터와 달리 더 단단하고, 피부면 위로 튀어 올라와 있고, 붉고, 표면이 불규칙하다. 교원질의 생성과 분해의 불균형으로 과도한 세포외 기질을 나타내는 섬유증식성 질환으로 비정상적인 창상치유의 형태로 볼 수 있으나, 그 정확한 원인은 아직까지 잘 밝혀져 있지 않기 때문에 보전적인 몇 가지 치료만이 이루어지고 있다.² 지금까지의 많은 연구들은 증가된 흉터 조직의 이유라고 생각되는 과도한 세포외 기질을 생산하는 진피 섬유모세포에 대해 중점적으로 이루어져 왔다.^{3,4}

하지만 최근에는 표피와 진피와의 상호작용은 물론이고 표피 자체 역시 창상의 치유와 흉터 형성에 많은 역할을 미친다는 것이 알려져 있으며, 이러한 표피조직이 흉터형성에 미치는 영향을 이해하는 것이 반흔의 치료와 예방에 많은 도움을 줄 수 있을 것이다.^{5,6} 이에 저자는 표피조직을 형성하는 각질세포를 분자레벨에서 분석하여 반흔각질세포와 정상각질세포의 유전자 차등발현을 비교하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

가. 각질세포의 배양

각각 4개의 비후성 반흔과 정상 피부조직으로부터 Rheinward/Green 방법과 일부 변형된 방법을 통해 각질세포를 분리 배양하였다. 먼저 피부조직을 CMF-HBSS

Received April 8, 2010

Revised May 4, 2010

Accepted June 9, 2010

Address Correspondence: Yong Taek Hong, M.D., Department of Plastic and Reconstructive Surgery, Fatima Hospital, 183 Ayangro, Dong-gu, Daegu 701-600, Korea. Tel: 053) 940-7340/ Fax: 053) 954-7417/ E-mail: plastika@hanmail.net

* 본 논문은 2010년 교육과학기술부로부터 지원받아 수행된 연구임. (지역거점연구 육성사업/노화극복. 웰빙을 위한 융합의료기술개발사업단)

(calcium & magnesium-free Hank's balanced salt solution, Gibco/BRL, USA)에 담그고 3번 바꿔주었다. 상피조직만을 분리하기 위해 진피조직을 제거한 후 type II collagenase, (1.0 mg/mL : Sigma, USA)와 dispase grade II (2.4 mg/mL, Boehringer-Mannheim, USA)를 함유한 CMF-HBSS에 37°C에서 90분간 처리하였다. 분리한 상피를 잘게 잘라서 0.05% trypsin/0.53 mm EDTA (ethylene diamine-tetra-acetic acid, Gibco/BRL, USA)로 처리하여 각질세포를 분리하였다. 얻어진 세포는 미리 준비한 3T3 섬유아세포 (fibroblast) 영양세포층 (feeder layer) 위에서 성장인자를 보충한 KGM (keratinocyte growth medium, Gibco/BRL, USA)으로 37°C, 5% CO₂ 환경에서 단층배양(monolayer culture)하였다. 약 4회까지 계대 배양하여 노화 (senescence)가 되기 전에 충분한 양의 배양표피를 얻었다.

나. 미세배열 혼성 (Microarray Hybridization)

전체 RNA는 Trizol (Invitrogen, Carlsbad, CA)을 사용한 일부 변형된 acid phenol 방법을 통해 배양된 각질세포로부터 추출하였다. mRNA는 RNA로부터 Dynabead mRNA purification kit (DynaL AS, Oslo, Norway)를 사용하여 분리하였다. 충분한 RNA를 얻기 위해, mRNA로부터 합성한 cDNA를 Ampliscribe T7 Tranx-X-scription Kits (Epicentre Technologies, Madison, WI)를 이용하여 증폭하였다. 다시 역전사에 의해 RNA를 얻고, DHT 처리한 RNA들은 Cy5-dUTP (Amersham, Buckinghamshire, UK)를 사용하여 붉은 형광으로 표지하였고, ethanol 처리된 세포들은 Cy3-vdUTP (Amersham, Buckinghamshire, UK)를 사용하여 녹색 형광으로 표지하였다. cDNA chip의 제작은 chung 등의 방법대로 시행하였다.⁷ 3,031개의 인간 클론과 32개의 대조군을 나타내는 전체 3,063개의 cDNA를 1.8 × 1.8 cm 영역에 배열하였다. 혼성자료 (Hybridization data)는 같은 대조 유전자의 강도가 5배 이상 차이가 나타났다면 유효한 것으로 간주하였다.

다. 자료분석 (Data analysis)

형광 강도 (Fluorescence intensities)는 Scanarray 4000 동초점의 laser confocal scanner (GSI Lumonics, USA)를 사용하여 측정하였다. 두 형광 영상은 각각 스캔하였고 색채 영상은 녹색 계통으로 대조군의 세포 강도 (cell intensity)와 적색 계통으로 비교하고자하는 군의 세포 강도 (intensity)를 처리하였다. 자료는 GenePix software (version 3.0, Axon Instruments, Inc)를 사용하여 분석하였다. 각 정렬 결과는 LOWESS algorithm (Yang et al, 2002)에 의해 within-print-tip group에 따라 표준화하였다. 그리고 잡음 신호를 줄이기 위해 1.4보다 적은 신호 강도/배경의 비를 나타내는

점들은 표준화 과정을 거쳐 제거하였다. 또한 각 유전자의 *p*값을 계산하고 정의하기 위해 Matlab R2007a software를 사용하였다.

III. 결 과

반흔세포와 정상 피부세포로부터 각질세포를 배양한 후 미세배열 혼성을 시행하여 A, B, C, D 4개의 DNA 대조군 chip을 얻었다. 이를 데이터 분석 비교하여 각각의 군에서 반흔세포의 각질세포와 정상피부의 각질세포에서의 유전자 강도 차이를 얻어 도식화하였다. A, B, C, D DNA chip 모두에서 각각 반흔세포에서 up regulated된 유전자들을 확인할 수 있었으며 이들 각각의 유전자에 대한 정보는 cytoscapecs, DAVID, NCBI and UCSC genome browser를 이용하여 각 유전자의 기능적 의미를 얻었다. 그리하여 이들 중 혼터형성에 크게 관련 있지 아니한 것으로 보이는 유전자를 제외하여 신호강도를 비교하였다 (Tables I~IV).

A군은 heat shock 70kD protein 8, pyruvate kinase, muscle (PKM2), transcript variant 3, mRNA, tumor rejection antigen, plasticity related gene 등이 증가되어 있었으며 B군은 heat shock 70 kD protein 8, heat shock 60 kDa protein 1, tumor rejection antigen, nucleoporin 등이 증가되어 있었다. C군에서는 cysteine-rich, angiogenic inducer, 61, AHA1, activator of heat shock 90 kDa protein ATPase homolog 1, tumor rejection antigen, heat shock 60 kDa protein 1 등이 증가되어 있었고, D군에서는 pyruvate kinase, tumor rejection antigen, heat shock 70 kD protein 8 등이 증가되어 있었다.

공통적으로 heat shock 70 kD protein 8이 A군에서 fold change : 2.38631 그리고 B군에서 fold change : 1.77609로 정상 각질세포에 비해 비후성 반흔 각질세포에서 가장 유의하게 강도가 증가하였음을 확인할 수 있었으며 이외에도 heat shock 60 kDa protein1 또한 유의하게 강도가 증가하였다. Heat shock protein (HSP)가 A군, B군, C군 모두에서 공통적으로 유전자들 중에서 가장 큰 강도의 차이를 보였고, D군에서도 유의한 강도의 차이를 보였다.

IV. 고 찰

피부는 주변 환경에 대해 방어막으로 작용하며 손상을 받았을 때 치유과정이 진행된다. 창상의 치유는 염증세포의 침윤, 세포의 증식, 세포의 이주, 혈관의 증식과 세포의 기질의 형성 등을 포함하는 여러 가지 활동이 잘 조절된 복잡한 일련의 단계로 손상된 조직을 회복시킨다.

비후성 반흔은 교원질의 생성과 분해의 불균형으로 발생

Table I. Result of DNA Chip A up Regulated in Scar

Gene name	Fluorescence intensities value		Fold change
	Normal keratinocytes	Scar keratinocytes	
heat shock 70 kD protein 8	17.32794	19.71425	-2.38631
tumor rejection antigen (gp96) 1 (TRA1), mRNA	14.15301	15.45009	-1.29708
plasticity related gene 1 (PRG1), mRNA	12.86585	14.02289	-1.15704
SMT3 suppressor of mif two 3 homolog 2 (yeast) (SMT3H2), mRNA	16.53555	17.63391	-1.09836
collagen, type III, alpha 1 (Ehlers-Danlos syndrome type IV, autosomal dominant) (COL3A1), mRNA	13.89941	14.938582	-1.03917
heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1 (HNRPA1), transcript variant 2, mRNA	17.72305	18.74519	-1.02213
clone IMAGE : 5278517, mRNA	13.90698	14.87981	-0.97283

Table II. Result of DNA Chip B up Regulated in Scar

Gene name	Fluorescence intensities value		Fold change
	Normal keratinocytes	Scar keratinocytes	
Heat shock 70 kD protein 8 (HSPA8)	16.9018	18.67788	-1.77609
Heat shock 60 kDa protein 1 (chaperonin) (HSPD1), mRNA	18.33733	20.04627	-1.70894
Tumor rejection antigen (gp96) 1 (TRA1), mRNA	14.24303	15.80057	-1.55754
API5-like 1 (API5L1),	13.77695	15.27217	-1.49522
Nucleoporin p54 (NUP54),	14.75314	16.17551	-1.42238
BAC clone RP11-401N16 from 2, complete sequence	13.30943	14.67935	-1.36992
Mortality factor 4 like 2 (MORF4L2), mRNA	13.83379	15.18563	-1.35184

Table III. Result of DNA Chip C up Regulated in Scar

Gene name	Fluorescence intensities value		Fold change
	Normal keratinocytes	Scar keratinocytes	
Tumor rejection antigen (gp96) 1 (TRA1), mRNA	14.05029	15.8613	-1.81102
Heat shock 60kDa protein 1 (chaperonin) (HSPD1), mRNA	17.81698	19.61143	-1.79444
Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein H2 (H') (HNRPH2), mRNA	15.49532	17.21799	-1.72267
Gap junction protein, alpha 1, 43 kDa (connexin 43) (GJA1), mRNA	15.13368	16.80549	-1.67181
Matrin 3 (MATR3), mRNA	14.42564	16.09392	-1.66828
ATP-binding cassette, sub-family D (ALD), member 3 (ABCD3), mRNA	14.96004	16.59235	-1.63231
Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A2/B1(HNRPA2B1), transcript variant A2	14.79484	16.3108	-1.51596

Table IV. Result of DNA Chip D up Regulated in Scar

Gene name	Fluorescence intensities value		Fold change
	Normal keratinocytes	Scar keratinocytes	
Heat shock 70kD protein 8 (HSPA8)	17.19348	19.06035	-4.43803
Tumor rejection antigen (gp96) 1 (TRA1), mRNA	14.17803	17.18418	-2.70954
HSPC135 protein (HSPC135), mRNA	14.47465	17.68594	-2.47152
RC1-HT0939-160800-021-d01 HT0939 cDNA, mRNA sequence	16.96932	17.48111	-3.297
Pyruvate kinase, muscle (PKM2), transcript variant 3, mRNA	16.35605	19.87249	-2.51052
High-mobility group box 2 (HMGB2), mRNA	17.45013	17.99824	-3.60387
Splicing factor, arginine/serine-rich 1 (splicing factor 2, alternate splicing factor) (SFRS1)	14.39437	17.35434	-3.11258

하는 섬유증식성 질환으로 인체에서만 발견되는 비정상적인 창상치유의 형태로 볼 수 있으며 아직 정확한 발병 원인은 알려져 있지 않다. 비후성 반흔은 심각한 미용적, 증상적 문제를 초래하며, 현재까지 병소내 스테로이드 주입법, 수술적 흉터 교정, 방사선요법, 압박피대요법, 레이저 치료법, 냉동요법, 실리콘 겔 판 요법, 약물요법 등의 다양한 치료방법이 제시되어 왔지만, 어떠한 방법을 쓰더라도 재발의 위험이 있고, 만족할만한 예방 및 치료법이 없다.²

반흔의 치료와 예방을 위해 많은 연구와 임상 실험들이 이루어지고 있으며, 반흔치료의 근본적인 해결을 위해 분자학적, 세포학적, 유전자학적 연구가 진행되고 있다. 지금까지의 많은 연구들은 진피 섬유모세포에 대해 중점적으로 이루어져 왔다. 창상의 치유과정 중 섬유모세포는 증식과 이동을 하고 창상을 수축시키며, 교원질 등의 세포외 기질을 합성 하는데, 이러한 일련의 과정들은 각종 성장인자들에 의해 조절된다. 이러한 성장인자인 PDGF, TGF- β , EGF나 TNF- α 등을 이용한 연구가 있어 왔다.^{8,9} 하지만 저자들은 이러한 진피뿐만 아니라 표피조직 또한 반흔의 형성에 중요한 역할을 할 것으로 생각하고 상대적으로 연구가 적은 각질세포조직의 유전자적 분석을 시행하고자 계획하였다.

표피조직이 흉터 형성에 중요할 것으로 가설을 세운 이유는 외상이나 화상으로 인해 흉터가 형성되는 경우 조기에 피부이식을 하게 되면 흉터 형성이 억제되는 것을 경험할 수 있으며 그물 피부이식을 한 경우 표피로 덮여지지 않은 육아조직이 좀 더 비후된 흉터를 형성하게 된다.⁵ 이러한 임상적 경험들이 표피의 결손과 진피섬유모세포의 세포외 기질의 합성사이에 관련이 있으며 정상 표피조직에서 흉터 형성을 억제하는 일종의 신호를 생성한다고 생각할 수 있게 하여 준다.^{10,11} 이런 점에서 각질세포를 유전자 분석을 시행하였으며 이를 통해 heat shock protein 70이 가장 유의하게 증가됨을 확인하여 각질세포의 반흔 형성에서 중요한 역할

을 할 것으로 생각하였다.

세포는 연속적으로 다양하게 내부뿐만 아니라 외부의 물리적, 화학적 피해와 생물학적 요소로부터 영향을 받고 있다. 이런 손상을 회복하고, 손상을 입은 요소들을 제거하는 다양한 과정이 필요하다. 반흔의 형성 역시 외부로부터 손상을 회복하는 이러한 과정의 하나로 볼 수 있다. Heat shock 또는 스트레스 반응은 세포들이 스트레스 상황 아래서 자신의 항상성을 유지하는 것을 도와주는 일종의 세포적 적응반응이다.¹² Heat shock protein (HSP)는 분자 무게, 아미노산 서열과 기능을 기본으로 하여 다양하게 분류되어 있다. 그들 중 이러한 세포적 적응반응에 중요한 역할을 하는 것으로는 HSP70, HSP90, HSP60 등이 있다. 과거부터 HSP에 대한 많은 연구가 이루어져 왔는데 초기 연구자들은 HSP가 열이나 독성물질, 염증, 증식과 같은 스트레스적인 요소로부터 세포를 보호하는 데에 관련이 있다고 생각하였다. Crruie와 White는 급성 외상을 받은 후 HSP70 이 증가됨을 보고하였고, Neupert 등은 유전정보의 번역 후 단백질의 정상적인 중대와 다른 세포구조물로의 단백질 이동에 HSP 가 작용한다고 하였으며 Pechan 등은 세포의 증식이나 다른 세포적 작용에 중요한 역할을 하는 단백질 (효소)의 농도를 조절하는 능력이 있다고 보고 하였다.¹³ Sharp 등은 국소적 허혈 상태에서 HSP가 증가됨을 관찰하였는데 창상조직과정에서 섬유아세포 증식에 저산소증이 연관된 많은 보고가 있으며, 이러한 저산소 상태는 신생혈관 (neo-angiogenesis)에 의한 재산소화를 필히 수반하게 되고, 이 과정 중 유리되는 성장인자와 재산소화 과정 중 생기는 산화유리기 (oxygen free radical)가 영향을 주는 것으로 알려져 있다.¹³ 또한 Oberringer 등은 창상에서의 HSP 유전자 분석을 통해 잘 치유된 상처에서는 HSP70이 많이 발현되는데 반해 치유되지 않은 오래된 상처에서는 HSP70이 발현되지 않거나 작은 양만이 발현됨을 보고하였고 이를 통해 HSP70을 비롯한

Heat shock protein family가 창상치유에 관여를 하는 것으로 보고하였다.¹³

이러한 HSP의 정확한 기전에 대해서는 아직 자세히 알려지지 않았지만 HSP가 세포자멸사에서 중요한 중간자 및 조절자로서 작용하는 것이 큰 의미를 가진다. 세포자멸사는 하나의 프로그램화된 세포의 죽음의 과정으로 세포의 정상 성장 과정을 따르기 위해 여분의 세포를 제거하기 위한 자연적이고, 필요한 발달과정이다. 스트레스와 피해를 입은 세포는 만약 정상으로 고쳐질 수 없다면 이런 죽음의 과정을 필요로 한다.¹⁴ 창상치유과정에서도 세포자멸사가 세포수를 줄이는데 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 즉 창상이 치유되는 과정에서 재생될 수 없는 세포를 제거하거나 과도하게 재생되지 않도록 세포수를 조절하는데 세포자멸사가 중요한 역할을 하는 것이다.^{14,15} 비후성 반흔에서도 일반적으로 과도한 세포의 기질을 나타내는 섬유증식성 질환으로 볼 수 있기 때문에 이러한 세포자멸사의 조절이 비후성 반흔의 형성과 치유와 큰 역할을 할 것으로 생각할 수 있다. HSP가 세포자멸사의 일련의 과정을 조절하는 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있는데, 그 중에서 Heat shock protein 70은 대부분 Anti Apoptotic으로 작용한다. 이들은 세포자멸사의 내인적 외인적 경로 (intrinsic & extrinsic pathway)에 상호작용을 하며, 독립적인 기능뿐 아니라 샤페론 (Chaperone)으로 작용하여 세포사 (cell death)를 억제할 수 있다. 또한 HSP70은 TNF, Monocyte, Oxidative stress, Chemotherapeutic agents, Ceramide and radiation 으로부터 유래되는 세포독성 (Cytotoxicity)으로 부터 세포를 보호하는 역할도 한다. 본 실험에서도 비후성 반흔에서 HSP70이 증가하였는데 이는 세포자멸사가 억제되고 이로 인해 세포수의 감소가 적어져 비후성 반흔의 증가된 흉터조직을 형성하는데 영향을 미쳤을 것으로 볼 수 있다. 한편 실험에서 증가를 보인 HSP60 역시 세포자멸사에 영향을 미치는데, HSP60은 Anti-apoptotic role과 Pro-apoptotic role을 가지고 있다. 즉 HSP60가 세포자멸사를 방지하는 역할뿐 아니라 induced apoptosis의 실행에 필수적이라고 알려져 있다.¹⁵ 이처럼 HSP가 세포 죽음을 억제하거나 증진시키는 요소 일부분으로 작용하며, HSP가 다양한 단계에서 세포사를 억제하는 것 뿐 아니라 반대 방향으로도 작용한다는 것도 중요하다. 세포자멸사의 여러 단계에서 다양한 HSP의 조절 역할의 중요성은 연결 매개체로서 세포 생존 또는 세포자멸에 있어 균형을 맞출 수 있다는 사실에 있다.^{12,15}

본 연구에서 HSP70은 정상피부에서와 비교할 때 비후성 반흔에서 가장 유의하게 증가되었으며 이는 HSP70이 창상에 의한 스트레스요인에 세포를 보호하고, 또한 제거되어야 세포의 세포자멸사에 영향을 미쳤음을 유추하여 볼 수 있다. HSP의 세포자멸사의 조절자역할로서의 기능을 이용하여

과도한 세포의 증식을 막아 반흔조직의 축적을 줄이고 세포사를 유도하는 기전을 조절하여 손상되거나 필요 없는 조직을 줄일 수 있다면 창상치유과정 및 반흔의 형성과 치료에 큰 역할을 할 수 있을 것으로 생각된다.

V. 결 론

반흔 형성과정에서 진피가 아닌 표피의 각질세포가 어떻게 작용하는지를 알아보려고 하였으며, 이를 위해 각질세포를 배양하여 미세배열 혼성을 통한 유전자 데이터 분석을 시행하였다. Heat shock protein이 가장 강한 강도의 차이를 보였으며, 반흔 형성에 중요한 역할을 함을 유추할 수 있었다. 좀 더 자세한 기전과 다른 전사인자들과의 관계가 밝혀진다면 반흔의 예방과 치료에 새로운 방법을 제시할 수 있을 것이다.

REFERENCES

1. Wolfram D, Tzankov A, Pulzl P, Piza-Katzer H: Hypertrophic scars and keloids-a review of their pathophysiology, risk factor and therapeutic management. *Dermatol surg* 35: 171, 2009
2. Choi SR, yoon MH, Dong ES, Yoon ES: A combined therapy of steroid injection, silicone gel sheeting, and laser for hypertrophic scar and keloid. *J Korean Soc Plast Reconstr Surg* 33: 700, 2006
3. YJ Kim: Modulatory effect of TGF-beta 2 to proliferative kinetics of fibroblast in keloid and hypertrophic scar. *J Korean Soc Plast Reconstr Surg* 30: 194, 2003
4. Colwell As, Phan TT, Kong W, Longaker MT, Lorenz PH: Hypertrophic scar fibroblasts have increased connective tissue growth factor expression after transforming growth factor-beta stimulation. *Plast Reconstr Surg* 116: 1387, 2005
5. Shukla A, Dubery MP, Srivastava R, Srivastava BS: Differential expression of proteins during healing of cutaneous wounds in experimental normal and chronic models. *Biochem Biophys Res Commun* 244: 434, 1998
6. Machesney M, Tidman N, Waseem A, Kirby L, Leigh I: Activated keratinocytes in the epidermis of hypertrophic scars. *Am J Pathol* 152: 1133, 1998
7. Chung EJ, Sung YK, Farooq M, Kim Y, Im S, Tak WY, Hwang YJ, Kim YI, Han HS, Kim JC, Kim MK: Gene expression profile analysis in human hepatocellular carcinoma by cDNA microarray. *Mol Cells* 14: 382, 2002
8. Shin SY, Chang DM, Kim YJ, Lee BK, Wee SS, Ahn ST: The Effect of tumor necrosis factor-alpha on typeI procollagen and collagenase gene expression in hypertrophic scar and keloid fibroblast. *J Korean Soc Plast Reconstr Surg* 28: 145, 2001
9. Park DM, Sohn DG, Han KH, Lee SY, Chae YM, Chang YC, Park KK: The effect of the transcriptional regulation of Sp1 for TGF-beta1 and CTGF expression in scar formation. *J Korean Soc Plast Reconstr Surg* 33: 39, 2006
10. Lim CP, Phan TT, Lim IJ, Cao X: Cytokine profiling and stat3 phosphorylation in epithelial-mesenchymal interac-

- tions between keloid keratinocytes and fibroblasts. *J Invest Dermatol* 129: 851, 2009
11. Tandara AA, Kloeters O, Mogford JE, Mustoe TA: Hydrated keratinocytes reduce collagen synthesis by fibroblasts via paracrine mechanisms. *Wound Repair Regen* 15: 497, 2007
 12. Barrow RE, Dasu MR: Oxidative and heat stress gene change in hypertrophic scar fibroblasts stimulated with interleukin-1beta. *J Surg Res* 126: 59, 2005
 13. Oberringer M, Baum HP, Jung V, Welter C, Frank J, Kuhlmann M, Mutschler W, Hanselmann RG: Differential expression of heat shock protein 70 in well healing and chronic human wound tissue. *Biochem Biophys Res Commun* 214: 1009, 1995
 14. Lu F, Gao J, Ogawa R, Hyakusoku H, Ou C: Fas-mediated apoptotic signal transduction in keloid and hypertrophic scar. *Plast Reconstr Surg* 119: 1714, 2007
 15. Arya R, Mallik M, Lakhotia SC: Heat shock genes-integrating cell survival and death. *J Biosci* 32: 595, 2007