대한대장항문학회지 제 17권 제 3호
JKSCP Vol. 17, No. 3, 2001

□ 원 저 □

섬유아세포 배양에서의 TGF-β항체에 의한 α-SMActin 표현의 변화
-창상구축반응 억제를 위한 기초실험-

한림대학교 의과대학 외과학교실

이봉화 · 강형길 · 김정진 · 김동건 · 윤대원

Change of α-SMActin Expression Induced by the Antibody for TGF-β in Fibroblast NIH3T3 Culture

-The basic research for the inhibition of wound contracture-

Bong Hwa Lee, M.D., **Hyung Kil Kang,** M.D., **Jeong J Kim,** M.D., **Dong Kun Kim,** M.D., **Dae Won Yoon,** M.D.

Department of Surgery, Hallym University College of Med Seoul, Korea

Purpose: The purpose of this experiment is to mea the expression of TGF-beta and alpha-SMactin (sm muscle actin) from fibroblast culture by the dura culture days and to analyze the inhibition of alpha- expression in fibroblast by the antibodies for TGF
Methods: The levels of alpha-SMactin from the p NIH3T3 cell cultures with TGF-beta 1 containing med (10 ng/ml) and with the antibody (for TGF-beta) me (1 or 2 ug/ml) were determined by SDS PAGE for ce lysate protein, Western blot with ECL autoradiograph immuno - slot blot.
Results: In NIH3T3 culture, the expression of alp actin increased at culture days 4, 5, 6. TGF-beta w pressed from 2nd day of culture and increased by da The addition of TGF beta (10 ng/ml) did not increase expression of alpha-SMactin. But alpha-SMactin exp decreased in the presence of anti-TGF beta antibody decrease of expression was proportional to the conc tion of antibody and duration of exposure to the ant
Conclusions: Endogenous TGF-beta produced by fibrob cultures is sufficient to express the alpha-SMactin myofiboblast. There was no additive expression of alp actin with exogenous TGF-beta 1. The antibody for T beta inhibits the production of the alpha-SMactin wound healing and may prevent the wound contractur

책임저자: 이봉화, 안양시 평촌동 896
한림대학교 성심병원 외과(우편번호: 431-070)
Tel: 031-380-3772, Fax: 031-380-4118
E-mail: bshlee@hallym.or.kr

본 논문은 1998년도 한림대의료원 연구비(01-1998-01)에 의하여 이루어졌음.
본 논문의 요지는 대한외과학회 51차 추계학술대회에서 구연 발표하였음.

JKSCP 2001;17:113-118

Key Words: Wound healing, Wound contracture, Myo fibroblast, TGF-beta, Smooth muscle ac
창상치유, 창상구축, 근섬유아세포

서 론

인체의 조직은 외상이나 염증 등에 의하여 손상으로 인한 조직결손이 발생되면 파괴된 상피나 조직을 복구하기 위하여 여러 단계의 반응과 창상 치유과정을 진행한다. 창상치유의 초기단계에는 혈액응고에 관계되는 혈소판, 비만세포 등이 혈괴를 형성하고 손상 24시간 내에 염증세포와 대식세포가 출현하고 염증세포와 혈소판에서 각종의 사이토카인, 혈관작용물질들이 손상부위에 배출된다. 손상 후 10시간이 경과되면 섬유아세포들이 출현하여 섬유단백인 콜라겐이 분비하기 시작한다. 손상 후 5 7일에 콜라겐 합성이 최고조에 있다가 점차 소실되는 섬유증식기를 지나면서 이미 형성된 콜라겐의 흡수와 새로운 콜라겐의 합성이 교차되면서 창상의 개형(remodeling)이 진행된다. 초기의 섬유아세포가 소실되면서 출현된 근섬유아세포(myofibroblast)에서 alpha-SM (smooth mucle) actin이 표현된다. alpha-SM actin은 근섬유아세포의 전형적인 표지자이다. 근섬유아세포는 섬유아세포와 평활근의 중간형태로서 창상구축(wound contracture) 반응의 중추적인 역할을 수행한다.[1] 그러나 창상치유 개형과정의 과잉반응의 결과로서 형성된 창상구축으로 인하여 인체는 많은 고통과 부작용을 겪게 된다. 외상이나 수술 후의 항문직장 협착, 크론씨 병에서의 협착, 관절의 구축, 기형 등으로 인한 운동장애 등 인체의 거의 모든 장기에 걸쳐서 손상에 의한 창상구축이 생성될 수 있다.[2]

섬유아세포, 혈소판, 평활근 세포, 내피세포, 각질

세포, 림프구에서 TGF-beta가 분비된다. 특히 섬유아세포는 자가분비(autocrine), 방분비(paracrine)된 TGF-beta의 영향에 의하여 콜라겐을 합성하고 간질조직에 침착시킨다. TGF-beta와 TGF-beta 수용체가 과량이면 킬로이드나 과잉의 증식성 반흔으로 진행된다. 한편 근섬유아세포의 세포질의 actin-myosin 수축성에 의하여 반흔이 구축되고 촉진된다고 보고되었다.[3] 그러나 증식성 반흔과 반흔의 구축과의 관계를 밝히는 기초적인 연구는 많이 진행되지 못하였다.[4] 반흔의 구축을 억제하려는 여러 가지 약물을 이용한 실험에 대한 보고가 있었으나 TGF-beta와 alpha-SM actin의 분비 순서와 양자간의 작용 기전에 대한 연구 역시 구체적으로 진행된 바가 없다.[5]

저자들은 비후성 반흔에서 반흔의 구축으로의 진행을 억제하기 위한 시도의 이론적 배경을 밝히기 위한 기초 연구로서 다음과 같은 세 가지 과정의 실험을 하였다. 섬유아세포에서 비후성 반흔의 매개인자로 작용하는 TGF-beta의 생성을 관찰하고 동시에 alpha-SM actin의 표현을 측정함으로써 섬유아세포 혹은 근섬유아세포에서 각각의 인자의 분비 순서를 파악하고자 하였다. 내재적 혹은 자가분비의 TGF-beta와 더불어 외부에서 투여된 TGF-beta가 alpha-SM actin의 형성을 더 강화할 수 있는지를 실험하였다. 섬유아세포에서 분비되는 TGF-beta를 중화시킬 목적으로 TGF-beta 항체를 투여함으로써 alpha-SM actin의 표현이 억제될 수 있는지를 실험하였다. 이상의 실험적 결과를 바탕으로 창상반흔 구축의 억제를 위한 기초자료를 제공하고자 한다.

방 법

1) 연구재료

(1) 섬유아세포주 배양: 실험에 이용한 세포는 섬유아세포 NIH3T3 (ATCC) 세포주로서 Dulbecco's modified Eagle's 배지에 10% 우태아 혈청, 비필수성 아미노산, L-글루타민, 소디움 파이루베이트, 페니실린 100 unit/ml, 스트렙토마이신 100 μg/ml 등을 첨가하여 배지로 사용하였다. 모든 배양은 37°C, 7% CO_2, 93% 대기압에서 시행하였으며 25 cm^2 T 플라스크에 5 × 100,000개의 세포를 분양하여 confluent 하기 직전까지 배양하였다.

(2) 항체와 시약: TGF-beta에 대한 항체는 Monoclonal anti-TGF-beta 1, 2, 3 (mouse IgG1; Genzyme, MA)를 이용하였다. alpha-SM actin에 대한 항체는 Monoclonal anti-alpha SM Actin (mouse IgG2a isotype; Sigma, MO)를 사용하였다. 배지에 첨가하는 TGF-beta 1 (recombinants)은 Sigma 회사에서 구입하였다.

2) 연구방법

(1) TGF-beta 1의 첨가와 TGF-beta 항체의 첨가(Table 1): 제 1군은 대조군으로서 섬유아세포를 1 7일간 배지를 교환하면서 계속 배양하였다. 제 2군은 섬유아세포를 배양용 플라스크에 분양하여 24시간이 경과하여 섬유아세포가 플라스틱에 고착된 후 배지를 제거하고 TGF-beta 1이 포함된 새로운 배지로 교환하여 계속 배양하였다. 새로운 배지의 TGF-beta 1의 농도는 10 ng/ml of medium이 되도록 하였다. 제 3군과

Table 1. The groups of the samples of NIH3T3 cell lines by treatment in culture media

Groups	Sample number	Culture days	Treatment on the media
1	13	4th day	Complete medium only
	17	5th day	Complete medium only
	21	6th day	Complete medium only
2	14	4th day	+ TGF-β1 10 ng/ml of medium
	18	5th day	+ TGF-β1 10 ng/ml of medium
	22	6th day	+ TGF-β1 10 ng/ml of medium
3	15	4th day	+ anti TGF-β Ab 1μg/ml of medium
	19	5th day	+ anti TGF-β Ab 1μg/ml of medium
	23	6th day	+ anti TGF-β Ab 1μg/ml of medium
4	16	4th day	+ anti TGF-β Ab 2μg/ml of medium
	20	5th day	+ anti TGF-β Ab 2μg/ml of medium
	24	6th day	+ anti TGF-β Ab 2μg/ml of medium

제 4 군은 섬유아세포 분양 24시간 경과 후 항TGF-beta 항체가 포함된 새로운 배지로 교환하여 계속 배양하였다. 섬유아세포에서 자가분비되는 TGF-beta 1에 대한 항체를 투여할 목적이었다. 항TGF-beta의 농도는 각각 1 혹은 2 μg/ml of medium으로 하였다(제 3 군, 제 4 군).

(2) 섬유아세포주에서의 단백의 분리와 정량: 각각의 플라스크에 배양된 세포를 ice-cold PBS로 2번 충분하게 씻고 cell scraper로 50 ml 원심분리기 튜브에 모은 후 3,000 rpm의 속도로 5분간 원심분리를 시행하여 세포 pellet을 얻었다. 100 μg/ml PMSF, 1 μg/ml aprotinin, 20 μg/ml leupeptin, 1 mM EDTA, 1% SDS, 1% DTT, 1% NP-40, 1% sodium deoxycholate가 포함된 10 mM Tris HCl, pH 7.5용액에 pellet을 풀어서 cell lysate를 얻었다. Cell lysate를 3,000 rpm에서 냉장 원심분리 후 상층액을 얻고 Bradford 방법으로 단백 함량을 측정하였다.

(3) SDS PAGE: 시료단백에 Laemmli sample buffer (62.5 mM Tris-HCl, pH 6.8, 25% glycerol, 2% SDS, 0.01% bromophenol, 5% β-mercaptoethanol)를 동량 섞어 섭씨 70도의 heat block에 5분간 잠복시킨 후 SDS PAGE를 시행하였다. Readygel, 7.5% Tris-HCL Gel (Bio-Rad catalog no. 161 1100, 0.75 mm 두께)를 Mini-gel vertical gel unit (Biored Mini-Protean II)에 걸어서 125 volts에서 100분간 전기영동을 시행하였다.

(4) Western 블롯 및 Enhanced Chemiluminescence: SDS PAGE가 완성된 gel을 실온에서 transfer buffer (18.2 g Tris base＋86.5 g glycine / 4 liter dH2O)에 30분간 담갔다. Transfer membrane (positively charged nylon; Bio-Rda Zetabind)을 준비하여 증류수에 공기가 잡히지 않도록 순서대로 넣은 다음에 transfer buffer에 15분간 담갔다. 양식에 따라서 transfer unit를 조립하고 30 volts의 전류로 두 시간 transfer시켰다. transfer된 membrane을 blocking buffer (6% w/v casein in TTBS)에 넣고 한 시간 흔들었다. 일차항체로서 TGF-beta 1, 2, 3에 대한 항체인 항TGF-beta 항체를, 그리고 항alpha-SM actin 항체를 각각 이용하였다. Transfer membrane을 한 시간 동안 일차항체가 포함된 blocking buffer (1 : 500)에 잠복시킨 후 TBS 용액으로 15분씩 여섯 번 씻었다. 이차항체(rabbit anti-mouse IgG conjugated HRPO, Nordic IL)가 포함된(1 : 1000) blocking buffer에 한 시간 잠복시키고 TBS 용액으로 15분씩 여섯 번 씻었다.

Enhanced Chemiluminescence (Amershan, UK)를 이용하여 필름을 감광하였다. Transfer된 membrane을 wrap으로 싸서 암실에서 엑스선 필름에 자가방사기록을 시행하고 분석하였다.

(5) 면역 슬롯블롯(Immunoslot blot): 9 × 12 cm 크기의 Zeta-Probe membrane (Biorad, SF)과 여과지를 증류수에 잠복시킨 후 양식에 따라서 Bio-Dot-Apparatus를 조립하였다. 각각의 well을 증류수로 500 μl를 통과시켜 각각의 well이 균일하게 통과되는 것을 확인하였다. 각각의 cell lysate 시료를 7 μg씩 TBS 용액에 녹여 각 well에 부하하였다. 블롯팅된 Zeta-Probe membrane을 blocking buffer로서 하룻밤 잠복하였다. 일차항체로서 항alpha-SM actin 항체를 blocking buffer에 1 : 500으로 희석하여 한 시간 잠복시킨 후 TBS 용액으로 15분씩 여섯 번 씻었다. 이차항체 이후의 처리는 Western 블롯에서와 같은 방법으로 진행하였다. 각각의 실험을 3번 이상 반복하여 일정한 결과를 얻었다.

결 과

1) 섬유아세포 NIH3T3 세포주에서의 alpha-SM actin 단백 표현

배양플라스크에 세포를 분주하여 분주일로부터 2일부터 7일까지 배양하여 각각의 세포를 모아서 단백을 분리하고 SDS-PAGE로 alpha-SM actin 단백표현을 관찰하였다. 110 kDa 크기의 alpha-SM actin은 배양일수가 경과함에 따라서 증가되었다. Western blot으로 배양 4, 5, 6일에 증가됨을 확인하였다(Fig. 1).

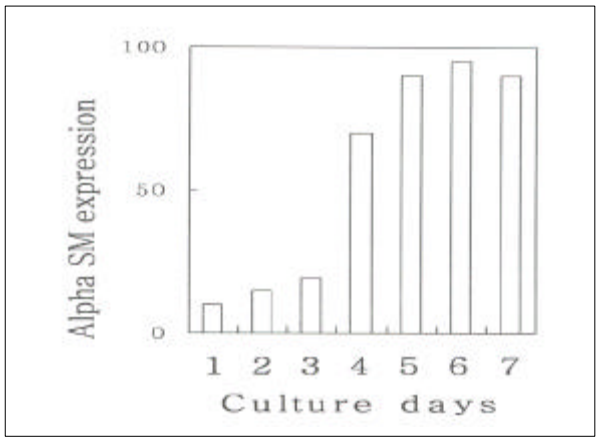

Fig. 1. The expression of alpha-smooth muscle actin in the NIH3T3 firoblast cell lines by culture days was measured by SDS PAGE and Western blot. The 110 kd protein (alpha SM actin) increased at the culture days of 4, 5, 6 and 7.

2) 섬유아세포 NIH3T3 세포주에서의 TGF-beta 단백 표현

항TGF-beta 1, 2, 3 항체로서 섬유아세포주에서의 생성되는 TGF-beta 단백표현을 세포단백에서 측정한 결과 제 2 일부터 발현하여 제 6 일까지 증가하며 제 7 일에 TGF-beta 발현이 최고조임을 관찰하였다(Fig. 2).

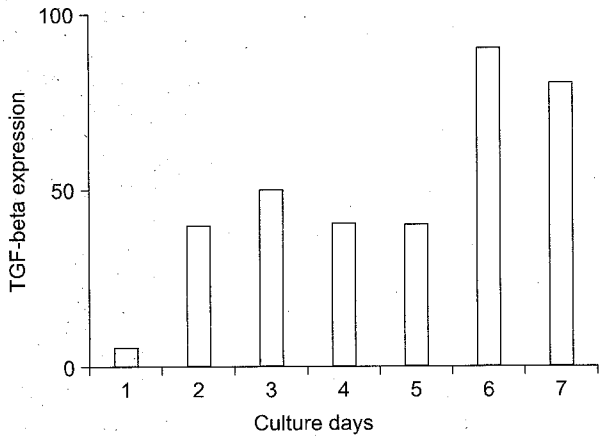

Fig. 2. The expression of transforming growth factor-beta in the NIH3T3 firoblast cell lines by culture days was measured by SDS PAGE and Western blot. The 220 kd protein (TGF-beta) increased at the culture 2nd day and peaked at the 6th day.

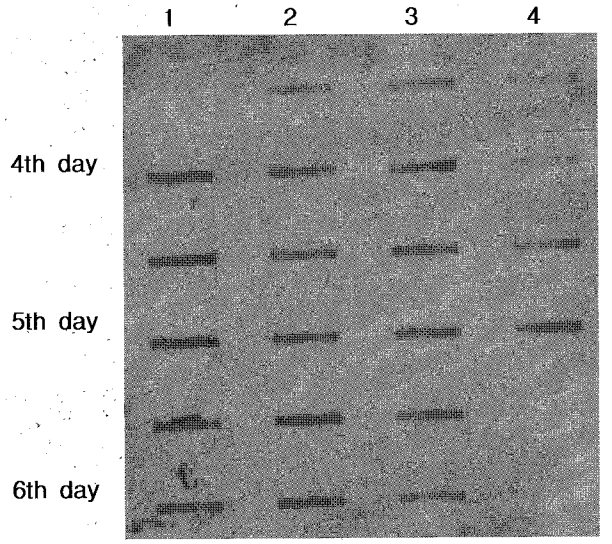

Fig. 3. The expression of alpha-SM actin in NIH3T3 cell lysate, which was derived by cell cultures, was analyzed by immuno slot blot. Lane 1 control (group 1), Lane 2 TGF-beta1 treated (group 2), Lanes 3 and 4 anti-TGF-beta antibody treated (group 3 and 4).

3) TGF-beta 1의 배지첨가에 의한 섬유아세포에서의 alpha-SM actin의 표현의 변화

섬유아세포 배양 도중 배양배지에 외부에서의 TGF-beta 1을 첨가하여 계속 배양하여 섬유아세포에서의 alpha-SM actin의 표현이 증가할 것을 기대하였지만 대조군에 비하여 유의한 증가가 없었다(Fig. 3과 Fig. 4, 제 1 군 vs. 제 2 군). 면역블롯의 결과로 보아 외부에서 투여하는 TGF-beta 1의 10 ng/ml of medium의 농도로는 alpha-SM actin의 표현을 증가시키지 못하거나 자가분비하는 TGF-beta만으로도 충분한 자극이 되었음을 의미한다고 할 수 있다.

4) TGF-beta 1, 2, 3에 대한 항TGF-beta 항체의 배지첨가에 의한 섬유아세포에서의 alpha-SM actin의 표현의 억제 효과

섬유아세포 배양 도중에 항TGF-beta 항체를 첨가한 배양배지로서 계속 배양한 결과 대조군에 비하여 섬유아세포에서의 alpha-SM actin의 표현이 감소됨을 면역블롯에서 확인하였다(제 1 군 vs. 제 3 군). 특히 제 6 일에서는 대조군에 비하여 의미있게 감소하였다 (sample 21 vs. sample 24=90±5 vs. 50±7, $p<0.05$). 이

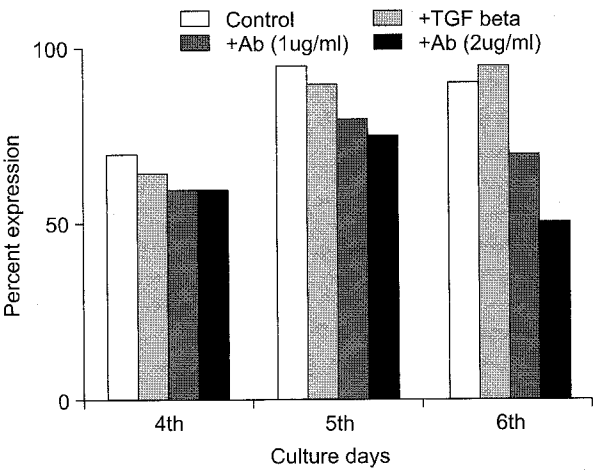

Fig. 4. The representation of alpha-smooth muscle actin expression in the NIH3T3 fibroblast cell lines was plotted by the treatment of transforming growth factor-beta 1 and the antibodies for the transforming growth factor-beta. Each expression is represented by a single bar and all expression from the same days are grouped together. The addition of TGF-beta 1(10 ng/ml of culture medium) did not increased the alpha-SM expression. Anti-TGF-beta antibody significantly decreased alpha-SM actin expression ($p<0.05$ at the 6th day), which was proportional to the concentration of the antibody and to the duration of exposure to the antibody.

러한 경향은 항TGF-beta 항체의 농도를 1μg/ml of medium에서 2μg/ml of medium으로 증가시키면서 더욱 더 감소하였다(Fig. 3과 Fig. 4, 제 3 군 vs. 제 4 군). 항TFG-beta 항체가 포함된 배지에 노출된 기간이 장시간일수록 alpha-SM actin의 표현이 더욱 더 감소하였다.

고 찰

본 실험은 다음과 같은 목적으로 전개하였다. ① 실험실에서 섬유아세포를 배양하면서 섬유아세포에서 자가 분비되기 위하여 생성되는 TGF-beta의 발현을 배양날짜에 따라서 검토하고, ② 섬유아세포가 시간이 경과하면서 근섬유아세포로 된다는 것을 확인하기 위하여 근섬유아세포의 특징적 소견인 alpha-SM actin의 표현을 관찰하고자 하였다. ③ 자가분비된 TGF-beta에 의하여 생성된 alpha-SM actin과 더불어 배지에 추가로 첨가한 TGF-beta에 의하여 alpha-SM actin의 단백 표현이 증가 여부를 알고자 하였다. ④ 창상구축의 원인이라고 생각되는 alpha-SM actin의 표현을 억제하기 위하여 항TGF-beta 항체를 배양중인 섬유아세포에 투여하여 TGF-beta 중화 혹은 억제제가 창상구축의 예방에 적용될 수 있는지에 대한 기초적인 정보를 제공하고자 하였다.

본 실험에서는 섬유아세포에서 TGF-beta가 자가분비되며 섬유아세포의 배양을 7일까지 계속하였을 경우에 계속 발현되는 것을 확인할 수 있었다. 창상치유의 치유방향을 결정하는 가장 중요한 인자인 TGF-beta는 섬유아세포의 자가분비 이외에도 혈소판, 평활근세포, 내피세포, 각질세포, 대식세포 등에서 생성되나 자가분비되는 TGF-beta의 양만으로도 alpha-SM actin을 형성하기에 충분한 것으로 판단된다. 실험 결과에서 TGF-beta 1을 배지에 추가한 결과를 기술하였으나 TGF-beta 2를 같이 투여한 저자들의 pilot 실험에서도 같은 경향을 보였다(미발표). TGF-beta 1과 TGF-beta 2의 효과는 상호변환이 가능하나 TGF-beta 3는 섬유화과정을 감소시킨다고 한다. TGF-beta 3는 제대혈(human umbilical cord)에서 발견되며 절개창의 반흔을 감소시킨다. TGF-beta 1는 창상치유의 염증단계 및 콜라겐 등의 간질 침착 등의 과정에 관여하며 fibronectin의 유전자 전사를 촉진한다. 콜라겐 분해효소(serine, thiol, metaloproteinase)의 생성과 활동을 억제하고 효소분해억제제(PAI, TIMP)의 분비를 억제함으로써 콜라겐의 침착에 결정적 역할을 수행한다. 그러므로 TGF-beta는 창상치유에 필수적이다.[6] TGF-beta는 창상치유 초기에 양면성을 보인다. 즉 저농도에서는 대식세포 등을 창상으로 유인하여(chemotactic) 세균이나 세포잔재를 청소함으로써 창상치유를 돕는다. 그러나 고농도에서는 IL-1 같은 사이토카인을 활성화시킨다. 비후성 반흔, 킬로이드, 간섬유증 등에서 과량의 TGF-beta와 그 수용체가 발견된다.[7] 태아의 상처가 반흔을 남기지 않는 기전은 태아의 창상치유에서 TGF-beta가 매우 적은 것으로 설명되고 있다.

섬유아세포가 시간이 경과하면서 근섬유아세포로 변환하는 과정에 대한 확실한 기전은 제시되지 아니하였지만 본 실험에서 배양된 섬유아세포에서 alpha-SM actin이 발현되었다. 타보고에서도 AKR-2B 마우스 섬유아세포를 TGF-beta 1으로 계속 자극한 결과 근섬유아세포로 일관되게 변형되고 smooth muscle alpha-actin mRNA와 단백이 생성됨을 확인하였다.[8] 이러한 현상은 TGF-beta 1 투여량이 많아질수록 alpha-SM actin이 증가하고 수축력도 증가한다고 하였으나 저자들의 실험에서는 외부에서 추가로 투여된 TGF-beta 1에 의하여 증가되지 않았다.[9] 저자들의 판단으로는 정상적인 섬유아세포에서의 내재적으로 생성된 TGF-beta가 충분하였으며 TGF-beta를 생성하지 않는 섬유아세포로 실험하였을 경우와는 상이할 것으로 생각된다.

근섬유아세포의 alpha-SM actin은 섬유화된 창상이 수축되는 원인인자로 생각되고 있다. 현재까지의 보고에 의하면 반흔구축의 원인이라고 생각되는 근섬유아세포는 섬유아세포와 평활근세포의 기능적으로, 구조적으로 공통적인 면이 있다. 근섬유아세포의 alpha-SM actin은 혈관평활근세포의 actin과 동위형으로서 섬유아세포의 세포질내에 actin microfilament로 존재하며 주위 세포외간질의 dense body와 연결된다. 이렇게 세포내 actin과 세포바깥과 연결된 형태를 fibronexus라고 한다. 섬유화조직 수축 혹은 반흔구축의 힘은 아마도 이상 기술한 근섬유세포의 actin bundle에 의하여 이루어지며 세포-세포, 세포-간질 연결에 의하여 창상부위에서 주위조직으로 전달된다고 추론된다. 근섬유아세포에서는 섬유아세포에서 발견되지 않는 Gap-junction이 존재한다. 보고에 의하면 섬유아세포가 창상치유과정 2주에 모양이 근섬유아세포 모양으로 바뀌며 앞서 기술한 바와 같이 actin을 포함하고 있는 microfilament가 세포막의 내면에 위치하여 integrin 수용체를 통하여 콜라겐 matrix에 섬유아세포

가 유착됨으로써 창상수축이 이루어진다고 한다.[6] 저자들의 실험에서도 alpha-SM actin이 배양 7일까지 꾸준하게 증가함을 확인하였다.

구축성반흔이 없는 정상반흔에서는 근섬유아세포가 고사되지만 증식성반흔과 구축성반흔에서는 근섬유아세포가 고사되지 않고 계속 존재하여 세포외간질 등과의 불균형을 이룬다고 한다.[10]

현재까지 창상구축의 예방을 위한 많은 약제들이 시도되었지만 효과가 구체적으로 증명된 바 없다.[11] 상품명이 Trocinate인 thiphenamil HCl는 평활근 억제제로서 개방창의 수축을 예방하기 위하여 시도되고 있다. 본 실험에서 이용한 항TGF-beta 항체는 근본적으로 alpha-SM의 생성을 upstream에서 차단한 것이므로 향후 이와 같은 기전의 약물이 창상구축의 예방을 위하여 시도될 수 있을 것으로 생각된다.[12]

결 론

저자들은 질병 및 외상으로 인한 창상구축반응에 대한 TGF-β의 역할을 구명하고 α-SM actin 유전자 단백표현이 항TGF-β 항체에 의하여 억제될 수 있는지에 대하여 연구하고자 섬유아세포 NIH3T3 세포주에 대하여 실험한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다. TGF-β는 내재적으로 섬유아세포에서 충분히 생성되며 외부에서 투여되는 TGF-β1은 10 ng/ml of medium 농도로서는 α-SM actin 유전자 단백표현을 증가시키지 못하였다. TGF-β의 증가 시기와, α-SM actin 유전자 단백표현의 증가 시기가 유사하므로 TGF-β에 의하여 α-SM actin 단백표현이 유도됨을 알 수 있었다. 더구나 항TGF-β 항체에 의하여 α-SM actin 단백표현이 감소되고 이러한 경향은 항TGF-β 항체에의 농도가 높을수록 항체에 노출된 기간이 장시간일수록 심화되었다. 그러므로 항TGF-β 항체를 비롯하여 내재적 TGF-β를 억제할 수 있는 약물이 창상구축반응의 억제에 기여할 수 있을 것으로 생각되며 이러한 사실들을 RNA 표현을 관찰함으로써 상호관계를 증명함을 물론 더욱 연구할 가치가 있다고 생각된다.

REFERENCES

1. Grinnell F. Fibroblasts, myofibroblasts and wound contraction. J Cell Biol 1994;124:401-5.
2. Cho MW, Park EB. Anoplasty for the treatment of anal stenosis. J Korean Soc ColoProctol 1993;9:1-8.
3. Bettinger DA, Yagher DR. The effect of TGF-beta on keloid fibroblast proliferation and collagen synthesis. Plast Reconstructive Surg 1996;98:827-32.
4. Desmouliere A, Geinoz A, Gabbiani F, Gabbiani G. Transforming growth factor beta induces alpha smooth muscle actin expression in granulation tissue myofibroblasts and in quiescent and growing cultured fibroblasts. J Cell Biol 1993;122:103-11.
5. Duncan MR, Frazier KS, Abramson S, Williams S, Klapper H, Huang X, et al. Connective tissue growth factor mediates transforming growth factor ß-induced collagen synthesis: down-regulation by cAMP. FASEB 1999;13:1774-86.
6. Singer AJ, Clark RAF. Mechanisms of disease: Cutaneous wound healing. New Engl J Med 1999;341:738-40.
7. Lee TY, Chin GS, Kim WJ. Expression of transforming growth factor beta 1, 2, and 3 proteins in keloid. Ann Plastic Surg 1999;43:179-84.
8. Becker NA, Kelm RJ Jr, Vrana JA, Getz MJ, Maher LJ 3rd. Altered sensitivity to single-strand-specific reagents associated with the genomic vascular smooth muscle alpha-actin promoter during myofibroblast differentiation. J Biol Chem 2000;275:15384-91.
9. Vaughan MB, Howard EW, Tomasek JJ. Transforming growth factor-beta 1 promotes the morphological and functional differentiation of the myofibroblast. Exp Cell Res 2000;257:180-9.
10. Nedelec B, Ghahary A, Scott PG, Tredget EE. Control of wound contraction. Basic and clinical features. Hand Clin 2000;16:289-302.
11. Godichaud S, Krisa S, Couronne B, Dubuisson L, Merillon JM, Desmouliere A, et al. Deactivation of cultured human liver myofibroblasts by trans-resveratrol, a grapevine-derived polyphenol. Hepatology 2000;31:922-31.
12. Shah M, Foreman DM, Ferguson MWJ. Controlling of scarring in adult wounds by neutralizing antibody to transforming growth factor-beta. Lancet 1992;339:213-14.