

덱사메타손 투여 흰쥐에서 저용량 RhTGF- β 1의 창상치유장애 개선효과

강기영, 김 현¹

서남대학교 의과대학 해부학교실, ¹고신대학교 의과대학 해부학교실
(2010년 9월 14일 접수, 2010년 10월 14일 수정접수, 2010년 11월 11일 게재승인)

간추림 : 전환성장인자- β 1 (transforming growth factor- β 1, TGF- β 1)은 단핵구, 대식세포, 섬유모세포에 대한 화학주성효과와 성장인자 분비 촉진, 교원섬유합성 촉진 등의 작용을 나타냄으로써 창상치유과정에서 매우 중요한 조절인자로 작용한다. 본 실험에서는 지속적으로 덱사메타손(dexamethasone)을 투여한 흰쥐를 이용하여 재조합인형 TGF- β 1 (recombinant human TGF- β 1, rhTGF- β 1)의 국소 투여에 의한 창상치유장애의 개선과 이에 따른 TGF- β s의 발현 변화를 관찰하고자 하였다.

실험을 위해 8주령의 흰쥐에 덱사메타손 0.1 mg/kg을 매일 피하주사하였다. 3일째에 전층창상을 만든 직후 실험군에는 rhTGF- β 1 50 ng을, 정상대조군과 음성대조군에는 동량의 완충용액을 각각의 창상 인접부위에 진피내 주사하였다. 수술 후 1, 3, 5, 7, 15일째에 창상면적을 계측하고 창상조직을 채취하여 분석하였다.

창상의 평균 크기는 rhTGF- β 1 투여군에서 음성대조군보다 유의한 수준으로 빠르게 감소되었다. 또한 rhTGF- β 1의 투여군에서는 세포침윤, 재상피화, 육아조직형성 등의 전반적인 조직학적 소견과 TGF- β 1, 2, 3의 발현 양상도 정상대조군과 유사한 수준으로 개선되었다. 이를 통해 rhTGF- β 1은 덱사메타손의 투여에 의한 창상치유장애를 개선시킬 수 있으며, 성장인자들의 발현에 직간접적인 효과를 나타냄을 확인하였다.

찾아보기 낱말 : rhTGF- β 1, TGF- β , 창상치유, 덱사메타손

서론

창상치유과정은 매우 역동적인 현상이며, 다양한 세포 및 성장인자들이 관여한다(Aston 등 1997; Sabiston과 Lyster, 1997). 창상 발생 초기에는 혈소판으로부터 혈소판유래성장인자(platelet derived growth factor, PDGF), 인슐린유사성장인자-1 (insulin-like growth factor-1, IGF-1), TGFs 등의 성장인자들이 유리되고 중성구에 의한 탐식작용과 염증반응이 진행된다(Park과 Barbul 2004). 단핵구는 창상조직에서 대식세포로 분화하여 탐식작용과 함께 인터루킨-1과 6(interleukin-1, 6), 종양괴사인자- α (tumor necrosis factor- α), TGF- β , TGF- α , PDGF, IGF-1 등과 같은 다양한 시토카인(cytokine)들과 성장인자들을 분비하여 염증세포들의 침윤을 촉진시키고 혈관내피세포의 증식과 혈관형성을 촉진시킬 뿐만 아니라 섬유

모세포의 침윤과 증식, 교원섬유 합성을 촉진시키는 등 창상치유과정 전반에 걸쳐 핵심적인 역할을 수행한다(Roesel과 Nanney 1995; Park과 Barbul 2004).

TGF- β 1은 혈소판, 대식세포, 섬유모세포 등에서 분비되며 단핵구, 대식세포, 섬유모세포에 대한 화학주성(chemotaxis)을 유발한다. 또한 섬유모세포를 자극하여 교원섬유와 기타 기질성분의 합성과 분비를 증가시키고 교원섬유분해효소의 분비를 억제시키며, 혈관내피세포를 자극하여 혈관의 형성을 촉진시키는 등의 다양한 작용을 나타낸다(Sporn과 Roberts 1992; O'Kane와 Ferguson 1997). TGF- β 2는 창상기질에서 섬유모세포에 의한 창상수축(wound contracture)과정에서 중요한 작용을 나타내며(Smith 등 1999), β 3은 육아조직의 증식을 억제하여 반흔형성(scar formation)을 감소시키는 것으로 알려져 있다(Shah 등 1994).

글루코코르티코이드(glucocorticoid)는 급만성의 염증성질환, 자가면역질환, 장기이식 등 다양한 임상 분야에서 널리 사용되고 있다. 순환혈액 속의 단핵구, 림프구

등을 감소시키고 세포들의 화학주성인자 분비기능을 억제시킴으로써 창상치유과정 초기에 필수적인 염증세포들의 역할을 억제시킨다(Katzung 2001). 또한 글루코코르티코이드는 TGF- β 1의 세포내 신호전달과정을 방해하며(Song 등 1999), 섬유모세포의 증식과 프롤린수산화효소(prolyl hydroxylase)의 활성을 억제시키고(Aston 등 1997) 제I형 전교원섬유 mRNA의 반감기를 감소시켜(Raghow 등 1986) 제I형 교원섬유의 합성을 감소시킨다. 이와 같이 글루코코르티코이드는 다양한 기전들을 통해 창상치유과정을 지연시키는 것으로 알려져 있다. 따라서 임상적으로 글루코코르티코이드를 다량 또는 장기적으로 투여해야 할 경우 창상의 관리는 중요한 문제가 된다.

본 연구에서는 저용량의 텍사메타손을 매일 투여하여 지속적으로 창상치유장애를 나타내는 실험동물의 창상 모델에 rhTGF- β 1을 투여하여 창상치유 촉진효과를 확인하고 동반되는 세포조직학적 변화 및 TGF- β s의 발현 양상의 변화를 구명하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물

실험을 위해 생후 8주령, 평균체중 185 g 정도의 Sprague Dawley 계 수컷 흰쥐를 실험동물 공급업체(대한바이오링크, 한국)에서 구입하여 사용하였다. 사육장의 실내온도와 일광주기를 각각 $23 \pm 1^\circ\text{C}$ 와 12시간으로 유지하였으며, 고형사료(삼양유지사료, 한국)와 수돗물을 제한 없이 공급하였다.

2. 텍사메타손의 투여

텍사메타손(dexamethasone disodium phosphate, 제일 제약, 한국) 투여군은 텍사메타손을 생리식염수로 0.1 mg/mL의 농도로 희석하여 0.1 mg/kg을 매일 오전 10시에 피하주사하였다. 정상대조군에게는 동량의 생리식염수를 주사하였다.

3. 창상수술 및 rhTGF- β 1의 투여

실험 3일째에 ketamine(유한양행, 한국) 50 mg/kg을 근육주사하여 실험동물을 마취시킨 후 등의 피부에 정중면으로부터 일정한 간격을 두고 좌·우에 각각 두 곳을 선택하여 직경 4 mm의 피부생검핀치(KASCO Instruments Ltd., UK)로 피부근층을 포함한 전층창상(full thick-

ness wound)을 만들었다. 수술 직후 실험군에서는 구연산인산염완충용액(sodium citrate-phosphate buffer, pH 4.0)으로 1 ng/ μL 의 농도로 희석한 rhTGF- β 1(Santacruz, USA) 50 ng을 각각의 창상 인접부위에 진피내주사(intra-dermal injection)하였다. 정상대조군과 텍사메타손을 투여한 음성대조군에서는 50 μL 의 완충용액을 창상 인접부위에 진피내주사하였다. 창상은 이차유합기전(secondary intention healing process)에 의해 치유되도록 하였다.

4. 창상면적의 측정

수술 후 1일, 3일, 5일, 7일째에 각각의 실험동물의 창상부위의 최대, 최소직경을 Dial Caliper(Mitutoyo, Japan)로 측정하였다. 창상면적은 다음 공식 [$1/4 \times \text{최대직경} \times \text{최소직경} \times \pi$]을 이용하여 계산하였다. 평균 창상면적의 통계학적 분석을 위해 SPSS(SPSS Inc., USA) 프로그램을 이용하였다.

5. 창상조직의 채취 및 처리

수술 후 1일, 3일, 5일, 7일, 15일째에 각 군에서 2마리의 실험동물을 선택하여 에틸에테르를 과다 흡입시켜 희생시킨 후 창상조직을 채취하였다. 채취한 조직은 즉시 4°C , 4% 포르말린 인산염완충용액(pH 7.4)으로 12시간 동안 고정하였다. 고정된 조직은 수세, 탈수, 투명, 침투과정을 거친 다음 모두 동일한 방향성을 갖도록 포매하였다. 포매된 조직을 박절기로 절삭하여 5 μm 두께의 연속절편을 얻은 다음 3-aminopropyl triethoxysilane(Sigma, USA)으로 코팅된 슬라이드글라스에 부착하여 실온에서 건조시켰다.

6. 창상조직의 염색

창상조직의 일반적인 구조를 관찰하기 위해 통상적인 방법으로 헤마톡실린-에오신 염색을 실시하였고 TGF- β s 등의 발현 양상을 관찰하기 위해 면역조직화학염색을 실시하였다. 면역조직화학염색을 위해 탈파라핀과정과 합수과정을 거친 조직절편에 3% 과산화수소를 가하여 내재성 과산화효소의 활성을 제거하고 인산염완충식염수(phosphate-buffered saline, PBS, pH 7.4)로 세척한 다음 정상혈청용액(10% normal goat serum, 1% bovine serum albumin, 0.1% Triton X-100 in PBS)을 1시간 동안 처리하여 비특이성 항원의 반응을 차단하였다. 각각의 일차 항체(anti-TGF- β 1, β 2, β 3 rabbit IgG, Santacruz, USA; anti-rat collagen type I rabbit IgG, Chemicon, USA)를 정상혈청용액에 적정 농도로 희석하여 조직절편에 점적

하고 4°C에서 12시간 동안 반응시킨 다음 PBS로 세척하였다. 비오틴부착이차항체 (biotinylated anti-rabbit IgG, Vector, USA)를 조직절편에 가하여 실온에서 60분간 반응시킨 후 PBS로 세척한 다음 ABC Reagent (PK-7100, Vector, USA)를 가하여 실온에서 30분간 반응시켰다. 조직절편을 PBS로 세척한 다음 과산화효소에 대한 기질로 디아미노벤지딘 (diaminobenzidine, SK-4100, Vector, USA)을 가하여 발색하였다. 발색을 마친 조직절편을 Mayer hematoxylin 용액으로 1분간 대조염색한 후 탈수, 투명화 과정을 거친 다음 Synthetic mountant (Shandon, USA)로 봉입하였다.

7. 창상조직의 단백질 분리 및 western blot

각 군의 실험동물에서 창상부위를 적출하여 지방층과 피부근층을 제거한 후 직경 5.5 mm의 펀치로 동일한 크기의 창상조직을 채취하여 4°C의 modified RIPA buffer [50 mM Tris-HCl (pH 7.4), 1% NP-40, 0.25% Na-deoxycholate, 150 mM NaCl, 1 mM EDTA, 1 mM phenylmethylsulfonyl fluoride, 1 µg/mL aprotinin, 1 µg/mL leupeptin, 1 mM Na₃VO₄, 1 mM NaF, protease inhibitor cocktail]를 이용하여 1시간 동안 단백질을 추출한 후 4°C, 12,000 rpm에서 30분간 원심분리하여 상청액을 분리하였다. 상청액의 단백질 농도는 Protein Assay Reagent (Bio-Rad, USA)를 이용하여 Bradford법으로 측정하였으며 표준

단백질농도는 소혈청알부민 (bovine serum albumin, Sigma, USA)을 사용하여 정하였다. 50 µg의 단백질을 전기영동 (SDS-PAGE)한 다음 Semidry Transfer Cell (Bio-Rad, USA)을 이용하여 polyvinylidene difluoride membrane (Millipore, USA)으로 전이시켰다. 비특이적인 항원-항체 반응을 차단하기 위해 단백질이 전이된 막을 탈지분유용액 (5% nonfat dry milk in Tris buffered saline with 0.1% Tween-20, TBS-T, pH 7.6)으로 실온에서 60분간 처리하였다. 면역조직화학염색법에서 사용하였던 일차항체를 1% 소혈청알부민을 포함한 TBS-T에 희석하여 4°C에서 12시간 동안 반응시키고 TBS-T로 세척하여 HRP부착이차항체 (horseradish peroxidase conjugated anti-rabbit IgG, Bio-Rad, USA)를 TBS-T에 희석하여 실온에서 1시간 동안 부착시켰다. TBS-T로 막을 세척한 다음 Enhanced Luminol (Perkin-Elmer, USA)을 제조사 지침에 따라 적용하여 검출, 현상하였다.

결 과

1. RhTGF-β1은 평균창상면적의 감소를 촉진시킨다.

평균창상면적은 rhTGF-β1의 투여 후 3일째부터 음성 대조군보다 빠르게 감소되어 수술 후 5일째까지 유의한 차이를 나타내었다 (Fig. 1). 농도에 따른 효과의 차이를

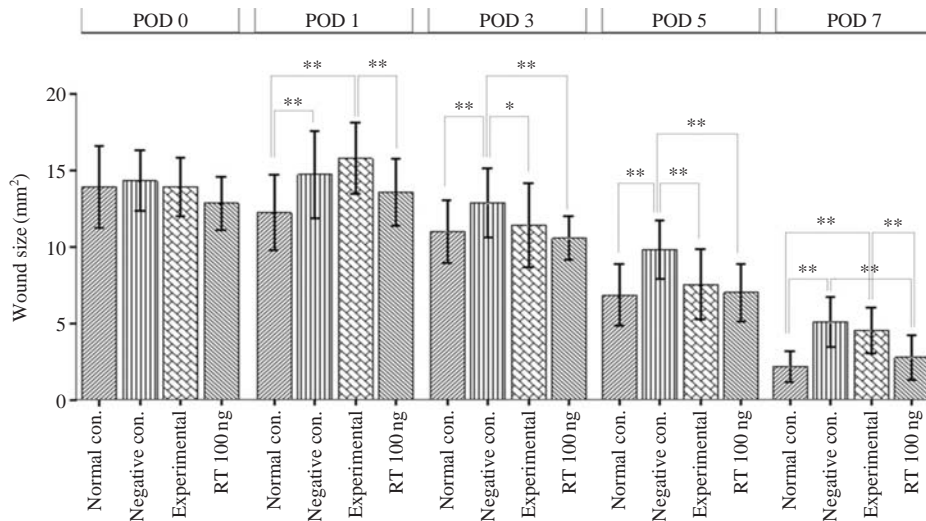


Fig. 1. Analysis of the mean wound size. Statistical significances were tested by oneway analysis of variances (ANOVA) among groups based on Tukey's multiple comparison test. In the experimental groups, mean wound sizes were significantly smaller than those of the negative control groups at 3 and 5 days after the surgery. Numbers of wound samples of each group are 44, 44, 36, 28, and 20 at POD 0, 1, 3, 5, and 7, respectively. Numbers of wound sample of supplementary group (RT 100 ng, wounds were treated with 100 ng of rhTGF-β1) are 20, 20, 20, 16, and 16 at POD 0, 1, 3, 5, and 7, respectively. Symbols: *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$.

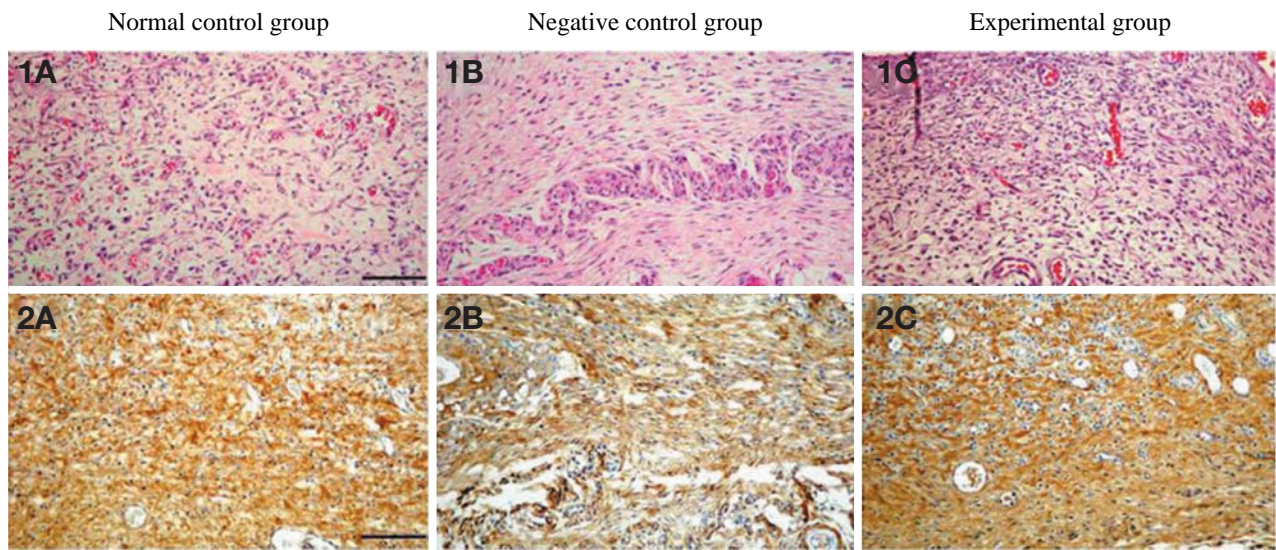


Fig. 2. The wound healing process was accelerated by a single application of rhTGF- β 1. The wound tissues were processed with Hematoxylin-Eosin stain (1A-C) and immunohistochemical stain with anti-rat collagen type I antibody (2A-C). The Fig. 1A-C and 2A-C are wound matrices at the 5th and the 7th day of the experiment, respectively. The cellular infiltration and the collagen deposition in the wound matrices were significantly enhanced in the rhTGF- β 1 treated groups. Scale bar=100 μ m.

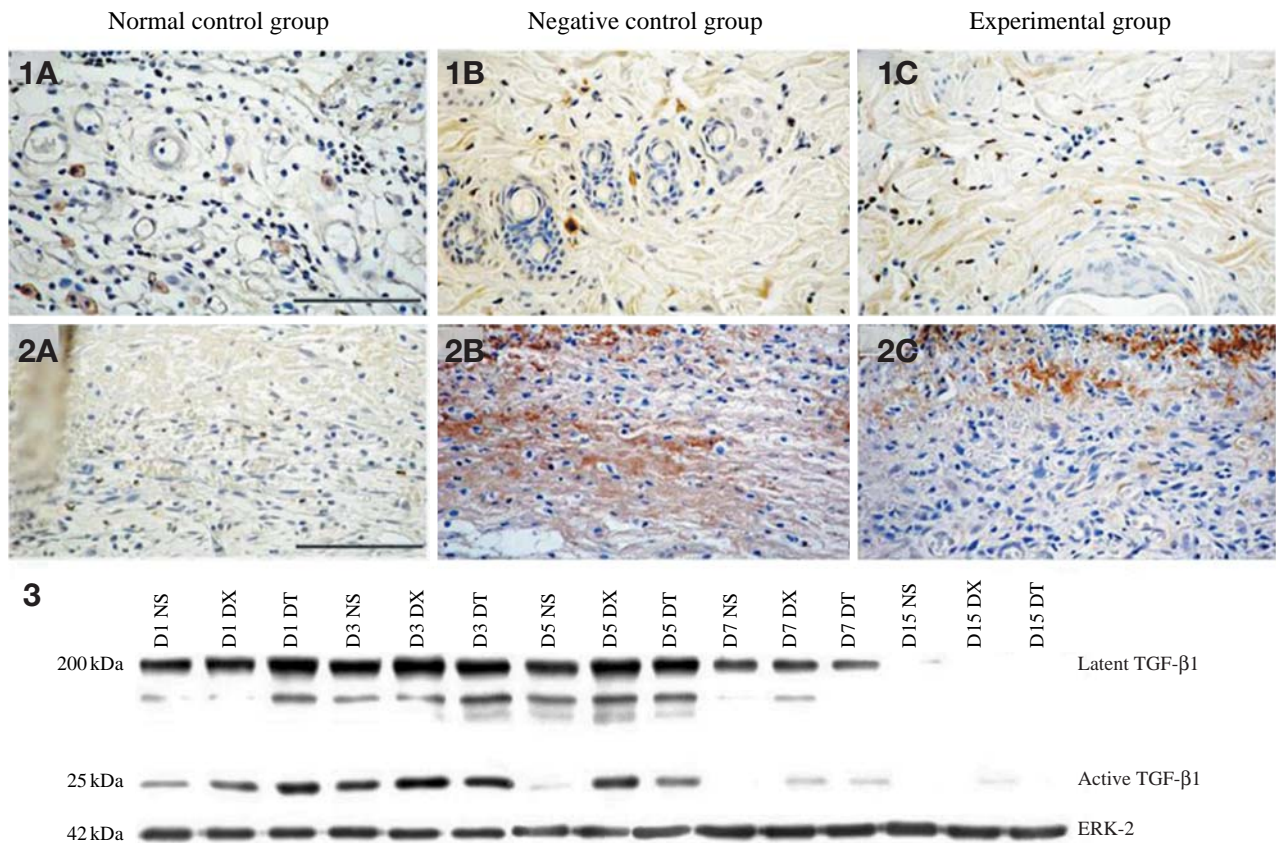


Fig. 3. Expression of TGF- β 1 was accelerated by a single application of rhTGF- β 1. The Fig. 1A-C and 2A-C show the wound matrices at the 1st and the 5th day of the experiment, respectively. In the Fig. 1A and 1C many TGF- β 1 positive cells are infiltrated, but in the Fig. 1B immunoreactive cells are rare. The Fig. 3 shows the result of the western blot analysis. ERK-2 was used as the internal standard. *Abbreviations:* NS, normal control group; DX, negative control group; DT, experimental group. Scale bar=100 μ m.

확인하기 위해 추가적으로 같은 방법으로 창상을 만든 후 rhTGF-β1을 100ng 투여한 결과 수술 후 3일째부터 7일째까지 평균창상면적이 유의한 수준으로 빠르게 감소되었다. 이 결과는 rhTGF-β1가 창상 치유를 촉진시키며 농도에 따라 유의한 차이가 있음을 나타낸다.

2. RhTGF-β1은 창상부위에서 육아조직의 증식을 촉진시킨다.

조직학적 관찰 결과 rhTGF-β1의 투여에 의해 창상조직내 세포밀도가 현저하게 증가되었으며, 신생혈관과 섬유모세포의 증식도 촉진되어 수술 후 7일째에는 창상기질 전체가 육아조직으로 채워져 정상대조군의 조직조건

과 거의 대등한 양상을 보였다. 제I형 교원섬유의 합성과 재배열도 rhTGF-β1 투여군에서 더 빠르게 진행되어 수술 후 3일째부터 창상기질 심층부에서 다량의 제I형 교원섬유가 합성되었으며, 7일째에는 전체 창상기질에 교원섬유다발의 밀도가 크게 증가되어 육아조직 구조가 정상대조군과 유사하게 관찰되었다(Fig. 2). 이 결과는 rhTGF-β1의 투여에 의해 창상조직내의 교원섬유의 합성과 침착이 촉진되는 것을 나타낸다.

3. RhTGF-β1은 창상조직에서 TGF-βs의 발현을 유도한다.

TGF-β1은 과증식성장피세포층과 발달중인 육아조직

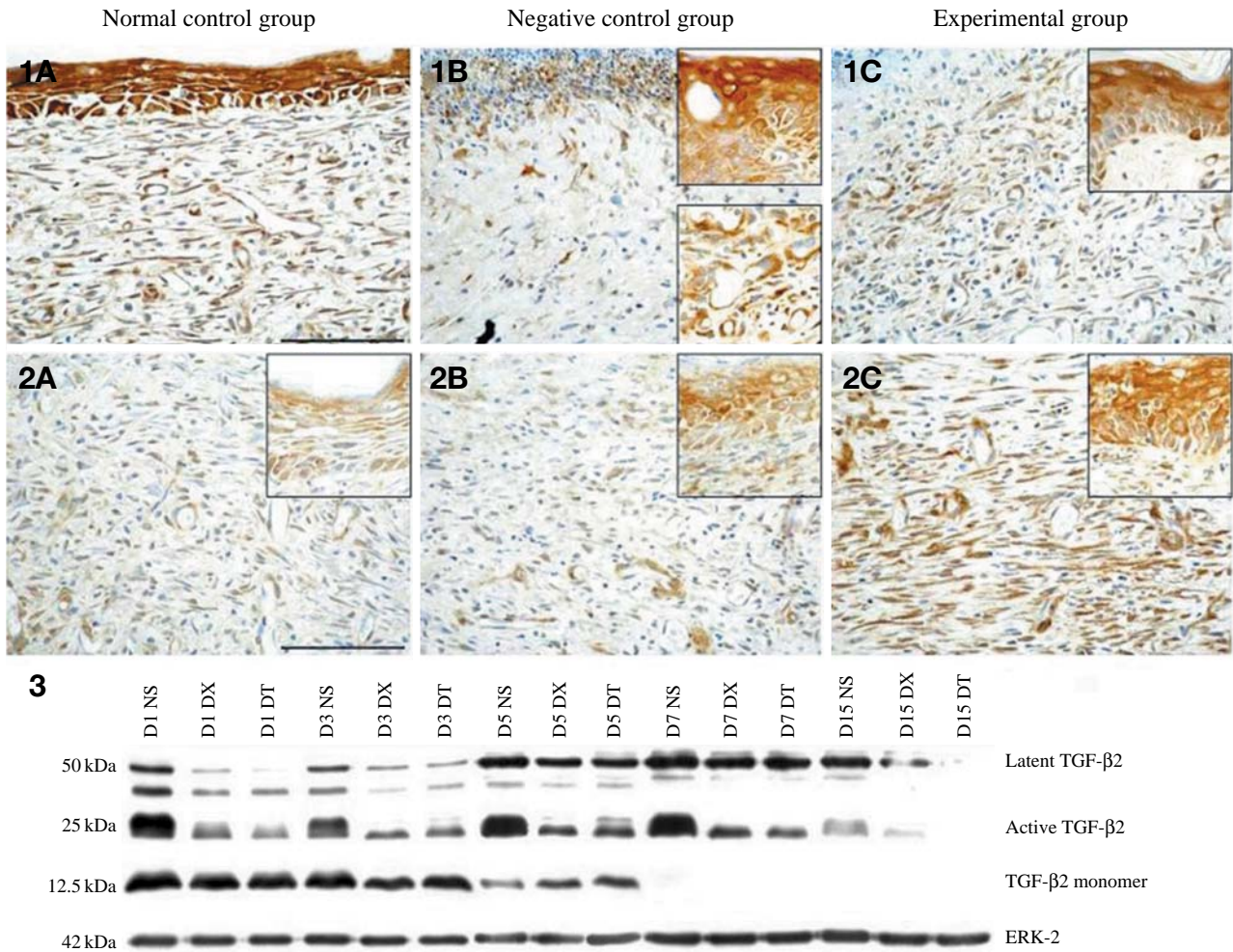


Fig. 4. Expression of TGF-β2 increased by a single application of rhTGF-β1. The Fig. 1A-C and 2A-C show the superficial wound matrices at the 5th day and the 7th day of the experiment, respectively. Each rectangle in the right upper corner of the Fig. shows the hyperproliferating epithelium. The rectangle in the right lower corner of the Fig. 1B shows the deep wound matrix. The Fig. 3 shows the result of the western blot analysis. ERK-2 was used as the internal standard. *Abbreviations:* NS, normal control group; DX, negative control group; DT, experimental group. Scale bar=100 μm.

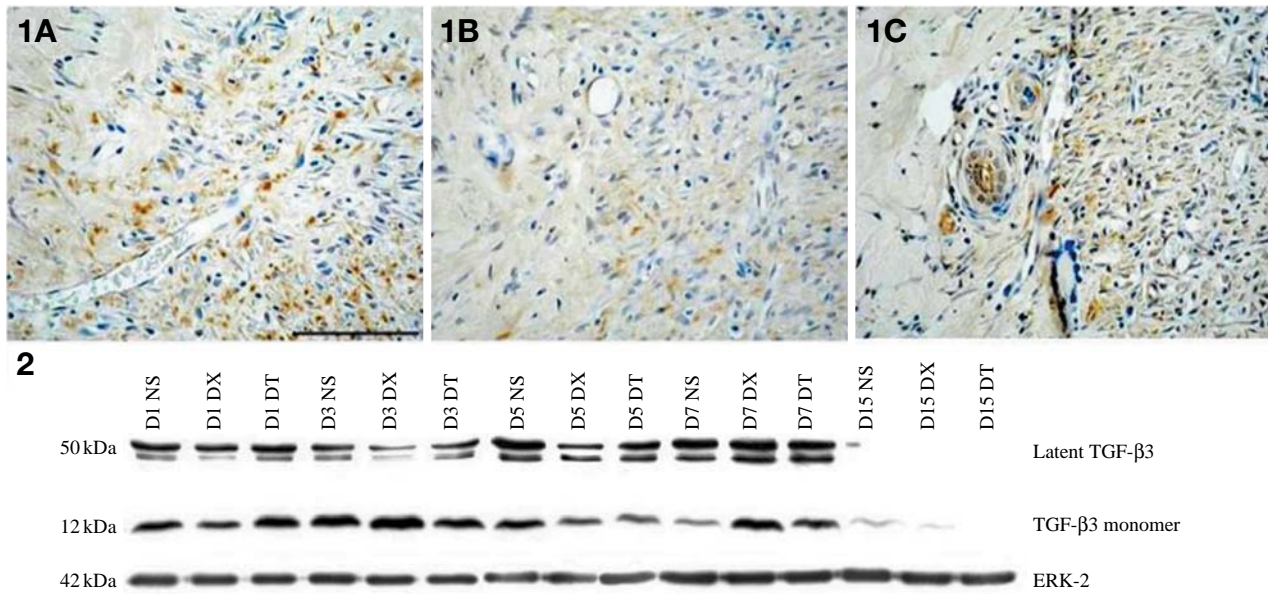


Fig. 5. Expression of TGF- β 3 was accelerated by a single application of rhTGF- β 1. The Fig. 1A-C show the deep wound matrices and granulation tissue at the 7th day of the experiment. The Fig. 2 shows the result of the western blot analysis. Expression of TGF- β 3 increased until granulation tissue was fully deposited, and then it rapidly decreased. ERK-2 was used as the internal standard. *Abbreviations:* NS, normal control group; DX, negative control group; DT, experimental group. Scale bar=100 μ m.

의 표층부와 주변부에서 주로 발현되다가 재상피화와 육아조직형성이 완료된 후에는 발현이 현저하게 감소되었으며, western blot을 시행한 결과 rhTGF- β 1 투여군에서는 정상대조군과 같이 수술 후 신속하게 TGF- β 1이 증가되어 1일째와 3일째에 가장 풍부하게 발현된 다음 점차 감소되었다(Fig. 3). TGF- β 2는 과증식성상피세포층과 섬유모세포, 혈관내피세포, 대식세포 등 창상조직내 대부분의 세포들에서 발현되며, 덱사메타손 투여에 의해 가장 두드러지게 발현이 감소되었으나 rhTGF- β 1 투여에 의해 발현이 현저하게 증가되었다(Fig. 4). TGF- β 3은 과증식성상피세포층에서 소량 발현되었고 육아조직의 심층부 및 변연부에서 점차 발현이 증가되다가 육아조직이 충분히 형성된 후에는 발현이 크게 감소되었으며, rhTGF- β 1 투여에 의해 정상대조군과 유사한 발현 경과를 나타냈다(Fig. 5).

고 찰

저자들의 연구에서 덱사메타손을 지속적으로 투여하여 장기간 창상치유장애를 유발한 실험동물 모델에서 저용량의 rhTGF- β 1 투여에 따른 창상치유 촉진효과를 확인하고 TGF- β 1의 투여에 따른 세포조직학적 변화와 TGF- β family의 발현 변화를 함께 관찰하였다.

창상모델에 rhTGF- β 1의 국소적인 투여는 창상치유를 촉진할 수 있다는 결과는 이미 많은 보고가 있다(Sporn 등 1983; McGee 등 1989; Pierce 등 1989; Quaglino 등 1990; Mustoe 등 1991; Shah 등 1994; Puolakkainen 등 1995). 또한 글루코코르티코이드를 일회 투여한 실험동물의 창상모델에서도 고용량의 rhTGF- β 1을 국소(Pierce 등 1989; Beck 등 1991) 또는 전신적으로(Beck 등 1993) 투여함으로써 창상치유과정을 촉진시킬 수 있었다고 보고하였다. 저자들의 실험에서도 저용량의 rhTGF- β 1의 투여가 창상의 평균 면적을 빠르게 감소시키는 효과를 나타내었으며, 특히 저용량의 투여에 있어서도 농도에 따른 유의한 차이가 있다는 것을 관찰하였다.

외인성 TGF- β 1은 생물학적 반감기는 매우 짧지만(Beck 등 1993) 유의하게 대식세포와 섬유모세포의 TGF- β 1 발현을 증가시키는 것으로 알려져 있다(Pierce 등 1989; Song 등 2002). 글루코코르티코이드의 투여는 섬유모세포의 활성화와 분화를 억제시키는 반면 TGF- β 1은 섬유모세포의 활성을 증가시키고 근육섬유모세포(myofibroblast)로의 분화를 유도하여 창상수축반응을 촉진시키는 것으로 알려져 있다(Masur 등 1996).

이번 연구에서는 rhTGF- β 1의 국소 투여에 의해 창상조직내 TGF- β 1 뿐만 아니라 β 2, β 3의 발현도 전반적으로 증가되었으며, 시간경과에 따른 발현의 변화도 정상대조군과 대등한 양상을 나타냈다. 외인성 TGF- β 1의 투

여는 창상기질내 다양한 세포들의 침윤과 활성을 직간접적으로 증가시킬 수 있기 때문에 (Brandes 등 1991a, b) 저자들의 연구에서도 rhTGF- β 1이 섬유모세포의 활성을 증가시키기를 물론 성장인자들의 자가분비 및 인접분비 기전을 촉진시킴으로써 지속적인 효과를 유도하고 창상치유장애 개선에 긍정적인 영향을 미치는 것으로 생각되었다.

각각의 TGF- β s는 개체의 종에 따라 정상 피부조직에서 특징적인 발현 양상을 보이는 것으로 알려져 있다 (O'Kane와 Ferguson 1997). 정상 피부조직에서 TGF- β 1은 진피층의 일부 세포들에서만 발현이 관찰된 반면 TGF- β 2와 β 3은 표피층과 피부부속기관, 혈관내피세포, 대식세포, 섬유모세포 등의 다양한 세포들에서 관찰되었고 β 2가 가장 풍부하게 발현되었다. 따라서 정상 피부조직의 구조와 기능 유지에는 TGF- β 2가 가장 중요한 역할을 수행할 것으로 생각되었다. 창상조직내에서 TGF- β 1은 증식 중인 육아조직의 표층부와 과증식성상피세포층에서 다량 발현되다가 육아조직형성과 재상피화가 완료된 후에는 발현이 현저하게 감소되었다. TGF- β 2는 창상치유과정 전반에 걸쳐 비교적 높은 수준의 발현을 유지하였으며, β 3은 초기 과증식성상피세포층과 후기 육아조직의 심층부와 변연부에서 발현이 증가되었다. 따라서 창상부위에서 육아조직의 형성과 재상피화 과정에서는 TGF- β 1이 가장 중요한 역할을 수행하고 β 2는 전반적인 세포들의 활성을 지속적으로 조절하며, β 3은 일정 수준에서 육아조직의 증식을 억제시키면서 재구성단계의 진행에 관여하는 것으로 생각되었다.

창상치유과정에서 발현되는 전체 TGF- β s 중에서 TGF- β 1의 비율이 가장 높고 시간 경과에 따라 잠재형 (latent TGF- β s)의 비율이 점차 증가되는 것으로 알려져 있다 (Yang 등 1999). 저자들의 연구에서는 정상대조군의 창상치유과정에서 TGF- β 1과 β 2 모두 다량 발현되었고 β 2는 β 1보다 활성형의 비율이 더 높았다. 그리고 Frank 등(1996)이 보고한 창상치유경과에 따른 TGF- β s mRNA의 발현 양상은 본 연구에서 잠재형 TGF- β s의 발현 양상과 대체로 비슷하였다.

TGF- β 1은 재상피화과정에 대해서는 촉진효과를 나타내지 않는 것으로 알려져 있다. TGF- β s는 시험관내 실험에서 각질세포의 이동과 증식을 억제시키며 (Andresen 등 1997; Coffey 등 1988), 실제 창상치유과정에서도 재상피화과정에 대한 촉진효과는 없으며 고용량에서는 오히려 억제효과를 나타내는 것으로 보고되었다 (Mustoe 등 1991). 그러나 본 실험에서는 rhTGF- β 1의 투여에 의해 재상피화과정도 음성대조군보다 빠르게 진행되었고

재상피화 완료 시점이 정상대조군과 큰 차이가 없었다. 또한 면역조직화학염색 소견에서도 과증식성상피세포층에서 TGF- β s가 창상치유과정 초기부터 발현되었고 재상피화가 완료된 이후부터는 발현이 현저히 감소되었으며, 특히 rhTGF- β 1을 투여한 실험군의 과증식성상피세포층에서는 TGF- β 1이 음성대조군에 비하여 크게 증가됨을 관찰하였다. 따라서 재상피화과정에도 TGF- β s가 중요한 역할을 수행하며, rhTGF- β 1의 촉진효과는 상피세포에 대한 직접적인 작용 또는 섬유모세포의 활성 증가에 따른 다른 성장인자의 분비 증가, 육아조직 형성 촉진에 의한 상피세포의 이동 속도 증가 등 여러 요인들이 복합적으로 관여할 것으로 생각되었다.

TGF- β 1은 창상치유과정에 매우 중요한 역할을 수행하며 여러 연구자들에 의해 외인성 TGF- β 1의 창상치유 촉진효과가 제시되었다. 본 연구에서도 소량의 rhTGF- β 1을 국소 투여함으로써 창상치유속도뿐만 아니라 세포조직학적 양상을 포함한 전반적인 창상치유장애를 개선시킬 수 있음을 알 수 있었다. 또한 덱사메타손 투여에 의해 저하되었던 TGF- β s의 발현도 회복, 증가됨으로써 rhTGF- β 1이 다양한 세포생리학적 효과를 나타낼 수 있음을 확인하였다. 향후 더욱 다양한 측면에서 rhTGF- β 1의 창상치유장애 개선효과의 유용성과 안전성이 평가되고, 보다 효율적인 투여방법과 효과적인 투여용량 등에 관한 연구들이 보완된다면 rhTGF- β 1을 다양한 환자군에서 유용하게 사용할 수 있을 것이다.

참 고 문 헌

- Andresen JL, Ledet T, Ehlers N : Keratocyte migration and peptide growth factors: the effect of PDGF, bFGF, EGF, IGF-1, aFGF and TGF-beta on human keratocyte migration in a collagen gel. *Curr Eye Res* 16: 605-613, 1997.
- Aston SJ, Beasley RW, Thorne HM : *Grabb and Smith's Plastic surgery*, 5th Edi., Philadelphia, Lippincott-Raven publishers, pp 3-12, 1997.
- Beck LS, DeGuzman L, Lee WP, Xu Y, McFatrige LL, Amento EP : TGF- β 1 accelerates wound healing: reversal of steroid-impaired healing. *Growth Factors* 5: 295-304, 1991.
- Beck LS, DeGuzman L, Lee WP, Xu Y, Siegel MW, Amento EP : One systemic administration of transforming growth factor- β 1 reverses age- or glucocorticoid-impaired wound healing. *J Clin Invest* 92: 2841-2849, 1993.

- Brandes ME, Mai UEH, Ohura K, Wahl SM : Type I transforming growth factor- β receptors on neutrophils mediate chemotaxis to transforming growth factor- β . *J Immunol* 147: 1600-1606, 1991a.
- Brandes ME, Wakefield LM, Wahl SM : Modulation of monocyte type I transforming growth factor- β receptors by inflammatory stimuli. *J Bio Chem* 266: 19697-19703, 1991b.
- Coffey RJ Jr, Sipes NJ, Bascom CC, Graves-Deal R, Pennington CY, Weissman BE, Moses HL : Growth modulation of mouse keratinocytes by transforming growth factors. *Cancer Res* 48: 1596-1602, 1988.
- Frank S, Madlener M, Werner S : Transforming growth factors β 1, β 2, and β 3 and their receptors are differentially regulated during normal and impaired wound healing. *J Biol Chem* 271: 10188-10193, 1996.
- Katzung BG : *Basic & Clinical Pharmacology*, 8th Edi., New York, McGraw-Hill Companies, pp 660-678, 2001.
- Masur SK, Dewal HS, Dinh TT, Erenburg I, Petridou S : Myofibroblasts differentiate from fibroblasts when plated at low density. *Proc Natl Acad Sci USA* 93: 4219-4223, 1996.
- McGee GS, Broadley KN, Buckley A, Aquino A, Woodward SC, Demetriou AA, Davidson JM : Recombinant transforming growth factor beta accelerates incisional wound healing. *Curr Surg* 46: 103-106, 1989.
- Mustoe TA, Pierce GF, Morishima C, Deuel TF : Growth factor-induced acceleration of tissue repair through direct and inductive activities in a rabbit dermal ulcer model. *J Clin Invest* 87: 694-703, 1991.
- O'Kane S, Ferguson MWJ : Transforming growth factor β s and wound healing. *Int J Biochem Cell Biol* 29: 63-78, 1997.
- Park JE, Barbul A : Understanding the role of immune regulation in wound healing. *Am J Surg* 187: 11S-16S, 2004.
- Pierce GF, Mustoe TA, Lingelbach J, Masakowski VR, Gramates P, Deuel TF : Transforming growth factor β reverses the glucocorticoid-induced wound-healing deficit in rats: Possible regulation in macrophages by platelet-derived growth factor. *Proc Natl Acad Sci* 86: 2229-2233, 1989.
- Puolakkainen PA, Twardzik DR, Ranchalis JE, Pankey SC, Reed MJ, Gombotz WR : The enhancement in wound healing by transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) depends on the topical delivery system. *J Surg Res* 58: 321-329, 1995.
- Quaglino D, Nanney LB, Kennedy R, Davidson JM : Transforming growth factor-beta stimulates wound healing and modulates extracellular matrix gene expression in pig skin: excisional wound model. *Lab Invest* 63: 307-319, 1990.
- Raghow R, Gossage D, Kang AH : Pretranslational regulation of type I collagen, fibronectin, and a 50-kilodalton noncollagenous extracellular protein by DM in rat fibroblasts. *J Biol Chem* 261: 4677-4684, 1986.
- Roesel JF, Nanney LB : Assessment of differential cytokine effects on angiogenesis using an in vivo model of cutaneous wound repair. *J Surg Res* 58: 449-459, 1995.
- Sabiston DC, Lyerly HK : *Textbook of surgery*, 15th Edi., Philadelphia, W.B. Saunder Company, pp 207-220, 1997.
- Shah M, Foreman DM, Ferguson MW : Neutralising antibody to TGF- β 1, 2 reduces cutaneous scarring in adult rodents. *J Cell Sci* 107: 1137-1157, 1994.
- Smith P, Mosiello G, Deluca L, Ko F, Maggi S, Robson MC : TGF- β 2 activates proliferative scar fibroblasts. *J Surg Res* 82: 319-323, 1999.
- Song CZ, Tian X, Gelehrter TD : Glucocorticoid receptor inhibits transforming growth factor- β signaling by directly targeting the transcription activation function of Smad3. *Proc Natl Acad Sci* 96: 11776-11781, 1999.
- Song QH, Klepeis VE, Nugent MA, Trinkaus-Randall V : TGF- β 1 regulates TGF- β 1 and FGF-2 mRNA expression during fibroblast wound healing. *J Clin Pathol: Mol Pathol* 55: 164-176, 2002.
- Sporn MB, Roberts AB, Shull JH, Smith JM, Ward JM : Polypeptide transforming growth factors isolated from bovine sources and used for wound healing in vivo. *Science* 219: 1329-1330, 1983.
- Sporn MB, Roberts AB : Transforming growth factor- β : Recent progress and new challenges. *J Cell Biol* 119: 1017-1021, 1992.
- Yang L, Qiu CX, Ludlow A, Ferguson MWJ, Brunner G : Active transforming growth factor- β in wound repair: Determination using a new assay. *Am J Pathol* 154: 105-111, 1999.

Low Dose Treatment of RhTGF- β 1 Restore the Wound Healing Defect in Dexamethasone-treated Rats

Ki Young Kang, Hyun Kim¹

Department of Anatomy, College of Medicine, Seonam University

¹*Department of Anatomy, College of Medicine, Kosin University*

Abstract : Transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) has chemotactic effect to monocytes, macrophages and fibroblasts, and it stimulates those cells to produce growth factors and collagen fibers. Therefore, TGF- β 1 plays important roles in the wound healing process. The aim of this study is to evaluate the effects of recombinant human TGF- β 1 (rhTGF- β 1) on the wound healing defect in dexamethasone-treated rats.

Dexamethasone (0.1 mg/kg/day) was subcutaneously injected into the eight-week-old Sprague-Dawley rats. At the third day of dexamethasone administration, full thickness wounds were made on the back of the rat. And then, rhTGF- β 1 (50 ng/wound) was intradermally injected in the vicinity of the wounds. The wounds of the normal and the negative control groups were provided with vehicle only. At 1, 3, 5, 7 and 15 days after the surgery, the wound sizes were measured and the wound tissues were obtained and analyzed.

The mean wound sizes of the rhTGF- β 1 injected groups were significantly smaller than those of the negative control groups. Moreover, the histologic findings such as cellular infiltration, re-epithelialization and granulation formation and expression patterns of TGF- β s during the wound healing process were improved by administration of rhTGF- β 1. These results support that rhTGF- β 1 can restore wound healing defect due to dexamethasone administration.

Keywords : rhTGF- β 1, TGF- β , Wound healing, Dexamethasone