

## 재생중인 치주조직내 Fibronectin, Laminin 및 Tensacin의 분포에 관한 면역조직화학적연구

정갑환 · 김병옥 · 한경윤  
조선대학교 치과대학 치주과학교실

### I. 서 론

치주질환에 이환된 치아주위의 파괴양상은 치은조직의 염증, 치은결합조직의 부착소실 그리고 치조골 파괴가 특징적이며, 치주치료의 최종목표는 치주낭의 제거와 파괴된 치주조직의 재생에 의한 적절한 기능 회복이라 할 수 있다.

치주질환으로 인하여 상실된 치주조직을 재생 시키려는 치주치료의 궁극적인 목표를 달성시키기 위하여 수많은 학자들이 1세기이상 연구를 거듭해 오면서 통상적인 외과적 또는 비외과적 치주치료후에 치은판막의 상피가 치근면을 따라 치근단방향으로 증식하여 긴접합상피(long junctional epithelium)를 이루며 치유됨을 확인하고, 그후 치은상피의 치근단 전위를 차단하고 치은결합조직에 의한 기능적 신부착(new attachment)을 얻는데 Citric acid, tetracycline HCl 및 fibronectin 등에 의한 치근면 처치가 크게 도움이 됨을 규명하였다<sup>1,2,3,4,5</sup>.

치주질환이 진행되면서 흔히 수직성 치조골 파괴가 수반되는데, 이에 대한 처치술식은 골벽을 제거함으로써 골내낭을 해소시키는 삭제형 술식으로부터 골조직이나 합성된 골대체 물질을 이식하는 재생형 술식으로 점차 전환되어졌으며, 1970년대 말에 치주조직의 신부착을 얻는데 근원이 되는 세포를 규명하는 일련의 연구

들이 진행되었고, 1980년에 Nyman등<sup>6</sup>이 최초로 특정 세포만이 조직재생에 관여하도록 선택적으로 허용하는 차폐막을 이용하기 시작하면서 치주조직재생에 근원이 되는 세포를 규명하는 연구가 활발하게 진행되어 치주조직내 네가지 세포들중 치주인대로 부터 유래된 세포가 치근면에 재분포될때 가장 바람직한 치유결과인 치주조직의 신부착과 재생을 얻을 수 있음을 많은 학자들이 지지하였다<sup>7,8,9,10,11</sup>.

따라서 재생형 치주치료에서는 치은상피세포와 치은결합조직세포의 유입을 차단하고 치주인대세포의 유입을 허용하는 수단으로 차폐막(barrier membrane)을 이용하게 되었는데, 이렇게 선택적으로 특정 세포만의 유입을 허용함으로써 조직재생을 도모하는 술식을 조직재생유도술(Guided Tissue Regeneration:GTR)이라 일컫게 되었으며, 치주인대세포와는 무관한 부위에서 상층의 치은결합조직과 상피세포의 유입을 차단하고 공간을 확보해 줌으로써 치조골로 부터 유래된 세포들에 의하여 치조골이 증대될 수 있도록 하는 수단으로 차폐막을 이용하는 골재생유도술(Guided Bone Regeneration:GBR)이 임상술식의 하나로 발전하게 되었다<sup>12,9,10,2,11,13</sup>.

외과적 치주치료후 보다 양호한 치유결과를 얻을 수 있는 치료술식이나 치유를 촉진시킬 수 있는 약제의 개발을 도모하기 위해서는 치주조직의

치유기전을 충분히 이해하여야 하기 때문에 그동안 많은 연구가들에 의하여 조직의 치유기전을 규명하는 많은 연구가 이루어 졌다.

조직창상의 치유경과는 미세조직학적으로 염증반응기, 육아조직형성기, 기질형성기, 재조형기 (remodeling phase)로 구분되는데, 염증반응기에서는 중성구, 대식세포 및 림파구와 같은 방어적 혈구세포들이 창상치유에 중요한 역할을 담당함을 관찰한 연구들이 보고되었으며<sup>14,15,16,17)</sup>, Clark (1985)<sup>18)</sup>는 염증반응기 직후에 육아조직이 형성되는데 혈관의 혈병이 창상의 치유에 중요한 초기 요소임을 보고하였고, Mosher(1975)<sup>19)</sup>는 fibronectin이 섬유소 결합에 의하여 혈액 응고에 기여함을 확인 하였으며, Ruoslahti등(1981)<sup>20)</sup>은 fibronectin이 초기 육아조직내에서 교원성 단백질 형성에 관여한다고 보고하였다. 기질형성기에서는 교원 거대분자가 치유중인 조직에 형태를 유지하게 하고 장력을 부여함을 Piela등(1990)<sup>21)</sup>이 보고하였다.

재조형기는 교원질의 합성과 분해에 의해 이루어 지는데, Clark(1985)<sup>18)</sup>는 이 시기에 교원질이 섬유아세포에 대한 chemoattractant로 작용한다고 하였으며, Mooney등(1990)<sup>22)</sup>은 interleukin-1이나 tumor necrosis factor와 같은 cytokine들이 섬유아세포를 자극하여 교원질 합성과 교원질 분해효소의 분비를 증대시킴으로써 이루어 진다고 보고하였다.

한편 fibronectin과 laminin이 밀접한 상호관계가 있다고 한 Yamada(1983)<sup>23)</sup>의 보고를 비롯하여 tenascin이 fibronectin과 laminin의 세포접착능력을 국소적으로 제한시키는것을 포함하는 기전에 의하여 태생 세포이주의 전구물질로서 작용하며 상피세포의 증식을 가속화시킬 수 있음을 시사한 Thesleff등(1987)<sup>24,25)</sup>의 보고, 그리고 tenascin이 fibronectin에 대한 세포부착을 억제하나 laminin에 대한 세포부착은 억제하지않는다고 한

Chiquet-Ehrismann등(1986)<sup>26)</sup>의 보고 등을 고려할때 상호간에 밀접한 관계가 있다고 판단된다. 또한 선학들의 연구결과를 비교하면 세포이동과 세포부착에 관여하는 당단백인 fibronectin, laminin 및 tenascin이 조직재생유도술에 의한 치주조직의 재생과정중에서 영향을 미칠 수 있으리라 예견되어 그 역할을 규명하는데 본 연구의 목적을 두고 여러 선학들의 연구결과들을 토대로 조직재생유도술이나 골재생유도술후 이차수술과정에서 제거되어진 차폐막을 연구재료로 하여 차폐막에 부착된 재생조직내 fibronectin, laminin 및 tenascin의 분포를 면역조직화학적 방법으로 관찰하여 다소의 지견을 얻었기에 보고하는 바이다.

## II. 연구 재료 및 방법

### 1. 연구 재료

치주치료를 목적으로 내원한 환자들중 재생형 치주치료가 요구되는 치주염환자에서 조직재생유도술을 목적으로 이용된 치간부용 e-PTFE membrane(Gore-Tex Periodontal Material(GTPM) , Gore Associates, USA), 그리고 치주용선 증대술이나 dental implant 시술과정중에 골유도재생술 목적으로 차폐막으로 이용된후 이차수술시에 제거된 e-PTFE membrane (Gore-Tex Augmentation Material (GTAM):Gore Associates, USA)을 연구재료로 이용하였다.

면역조직화학적 염색의 양성 대조군(positive control)으로는 치주질환 환자로부터 절취된 치주조직을 이용하였다.

### 2. 연구 방법

제거된 차폐막을 10% 중성 formalin에 6-24시간동안 고정한 후 일련의 탈수과정을 거쳐 par-

affin에 포매하고 4-6 $\mu$ m 두께로 박절한 다음 3-aminopropyltriethoxysilane(Sigma Chemical Co, St. Louis, MO, USA.)으로 피막된 slide glass에 올려서 조직병리학적 관찰을 위한 hematoxylin-eosin염색을 시행하였고, fibronectin, laminin 및 tenascin에 대한 면역조직화학적 염색은 Avidin-Biotin peroxidase Complex를 이용하는 Hsu등(1981)<sup>27)</sup>의 방법에 따라 시행하였다.

#### (1) fibronectin의 면역조직화학적 검출

fibronectin의 면역조직화학적 검출을 위하여 박절된 조직표본을 phosphate buffered saline (PBS)으로 세척한 다음, blocking serum으로 normal rabbit serum을 30분간 적용시키고, PBS로 다시 수회 세척하였다.

1% Bovine Serum Albumin(BSA)을 포함하고 있는 PBS로 1차항체인 단클론성 mouse anti-human fibronectin antibody(Oncogene Science, USA)을 1:100으로 희석시켜 사용하였는데, 조직 절편에 희석된 1차항체들을 가하고면역조직화학적 염색의 음성 대조군(negative control)에는 1차항체 대신 normal mouse serum을 가한후 4 $^{\circ}$  C에서 24시간 반응시켰다.

2차항체인 Biotinylated anti-human mouse IgG(Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA)를 1% BSA가 함유된 PBS로희석(1:200)하여 실온에서 30분간 반응시키고, 3차항체인 Avidin-Biotinylated peroxidase Conjugated antibody (Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA)에 실온에서 45분간 처리하였으며, PBS로 수회 세척한후 0.05M Tris-HCl이 포함된 0.01% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 와 0.05% diaminobenzidine tetrahydrochloride (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA.)의 혼합액(pH 7.6)으로 발색시키고, hematoxylin으로 대조염색하였다.

#### (2) laminin의 면역조직화학적 검출

면역조직화학적 검출을 위하여 박절된 조직표본을 PBS로 세척한 다음 trypsin을 37 $^{\circ}$  C에서 30분간 적용시켰으며, blocking serum으로 normal rabbit serum을 30분간 적용시키고, PBS로 다시 수회 세척하였다.

laminin의 면역조직화학적 검출에는 1% BSA를 포함하고 있는 PBS로 1:50으로 희석된 단클론성 mouse anti-human laminin antibody(Oncogene Science, USA)를 1차항체로 이용하였으며, 대조군에는 1차항체 대신 normal mouse serum을 가한후 4 $^{\circ}$  C에서 24시간 반응시켰으며, 그 이후의 과정은 fibronectin에 대한 면역조직화학적 검출과정과 동일하게 처리하였다.

#### (3) tenascin의 면역조직화학적 검출

tenascin의 면역조직화학적 검출에는 1% BSA를 포함하고 있는 PBS로 1:10으로 희석된 단클론성 mouse anti-human tenascin antibody (Oncogene Science, USA)를 1차항체로 이용하였으며, 대조군에는 1차항체 대신 normal mouse serum을 가한후 4 $^{\circ}$  C에서 24시간 반응시켰으며, 그 이후의 과정은 fibronectin에 대한 면역조직화학적 검출과정과 동일하게 처리하였다.

### III. 연구 성적

#### 1. fibronectin의 분포에 관한 면역조직화학적 소견

양성 대조군에서 fibronectin은 Fig. 1 과 같이 치은결합조직섬유의 주행을 따라 뚜렷한 면역염색반응을 나타냈으며, 제거된 차폐막에 부착된 조직내 fibronectin의 분포를 면역조직화학적으로 분석한 결과 골재생유도술에 사용되었던 차폐막

의 경우 Fig. 2 와 Fig. 3 에서와 같이 치은조직으로 덮혀졌던 차폐막의 표면인 차폐막의 외면을 따라 fibronectin이 전반적으로 광범위하게 분포하였으나, 치조골에 접했던 차폐막의 내면과 차폐막 내강에서는 희소한 분포를 보였다(table 1).

조직재생유도술에 사용되었던 차폐막의 경우는 Fig. 4, Fig. 5 및 Fig. 6 에서와 같이 차폐막의 외면과 차폐막 내강내 조직에서는 fibronectin이 광범위하게 강한 양성반응을 보이며 관찰되었으나 차폐막 내면에 부착된 조직에서는 희소하게 관찰되었다(table 1).

## 2. laminin의 분포에 관한 면역조직화학적 소견

양성 대조군에서 laminin은 Fig. 7 과 같이 치은 상피조직의 기저막과 혈관벽을 따라 뚜렷한 면역염색반응을 나타냈으며, 제거된 차폐막에 부착된 조직내 laminin의 분포를 면역조직화학적으로 분석한 결과 골재생유도술에 사용되었던 차폐

막의 경우 Fig. 8 과 Fig. 9 에서와 같이 차폐막의 외면, 내면 및 차폐막 내강에서 모두 laminin의 분포가 희소하였다(table 2).

조직재생유도술에 사용되었던 차폐막의 경우에서도 역시 Fig. 10, Fig. 11 및 Fig. 12 에서와 같이 차폐막의 외면과 내면 및 차폐막 내강내 조직 모두 laminin이 희소한 분포를 나타냈다(table 2).

## 3. tenascin의 분포에 관한 면역조직화학적 소견

양성 대조군에서 tenascin은 Fig. 13 과 같이 치은 상피돌기 주위의 결합조직에서 뚜렷한 면역염색반응을 나타냈으며, 제거된 차폐막에 부착된 조직내 tenascin의 분포를 면역조직화학적으로 분석한 결과 골재생유도술에 사용되었던 차폐막의 경우 Fig. 14 와 Fig. 15 에서와 같이 오직 차폐막의 외면에서만 국소적으로 희소하게 관찰되었을뿐 내면과 내강내 조직에서는 tenascin의 분포가 관찰되지 않았다(table 1).

Table 1. Immunohistochemical localization of fibronectin in the tissue attached to barrier membranes

Area	Distribution of fibronectin
Membranes used in G.B.R	
outer surface	+
intervening space	±
inner surface	±
Membranes used in G.T.R	
outer surface	+
intervening space	+
inner surface	±

-: negative    ±: rare distribution    +: extensive distribution

조직재생유도술에 사용되었던 차폐막의 경우는 Fig. 16, Fig. 17 및 Fig. 18 에서와 같이 차폐막의 외면에서는 광범위하게 tenascin의 양성반

응이 관찰되었고, 차폐막 내면과 내강내 조직에서는 tenascin이 희소하게 관찰되었다(table 3).

Table 2. Immunohistochemical localization of laminin in the tissue attached to barrier membranes

Area	Distribution of laminin
Membranes used in G.B.R	
outer surface	±
intervening space	±
inner surface	±
Membranes used in G.T.R	
outer surface	±
intervening space	±
inner surface	±

-: negative ±: rare distribution +: extensive distribution

Table 3. Immunohistochemical localization of tenascin in the tissue attached to barrier membranes

Area	Distribution of tenascin
Membranes used in G.B.R	
outer surface	±
intervening space	-
inner surface	-
Membranes used in G.T.R	
outer surface	+
intervening space	±
inner surface	±

-: negative ±: rare distribution +: extensive distribution

#### IV. 총괄 및 고안

치은판막술치료후 치주조직의 치유에 관하여 1976년 Melcher<sup>28)</sup>가 치주조직내 네가지 세포 즉 치은상피세포, 치은결합조직세포, 치조골세포, 그리고 치주인대세포 중 어느 세포가 치근면에 재분포되는가에 따라 장차 형성될 치주조직 부착관계의 본질이 좌우될 수 있음을 제시한 이래 그후 많은 학자들이 연구를 거듭하여 치은상피세포는 접합상피(long junctional epithelium)에 의한 치유를 초래하고, 치은 결합조직세포는 치근흡수를 야기하며, 치조골로부터 유래된 세포들은 치근과 골을 유합시키는데 비하여 치주인대세포가 치주조직 치유를 주도할때 치주조직의 신부착과 재생을 얻을 수 있음을 확인하고 가장 바람직한 치유결과를 얻는 데는 치주인대세포가 치근면에 재분포되어야 한다는 이론을 정립하였다<sup>7,8,9,10,11)</sup>..

치은상피세포와 치은결합조직세포의 유입을 차단하고 치주인대로부터 유래되는 세포만을 치주조직의 치유에 관여하도록 도모하는 조직재생유도술에 이용되는 차폐막은 조직의 치유기간동안 최소한 4-6주동안 유지되어야 하는바 조직내에서의 흡수여부에 따라 흡수성 차폐막과 비흡수성 차폐막으로 구분되는데, Millipore filter<sup>R</sup>나 expanded-polytetrafluoroethylene (e-PTFE : Gore Associates, USA)막은 제거를 위한 이차수술이 필요한 비흡수성 차폐막에 속하며<sup>29,9)</sup>, 반면 collagen, dura mater, cartilage, polyglactin, polylactic acid 막 등은 흡수성 차폐막에 속하여 이차수술이 필요없다<sup>8,12,10,11)</sup>.

본 연구에서는 비흡수성 차폐막에 속하는 e-PTFE membrane을 사용하여 조직재생유도술이나 골재생유도술을 시행하였던 환자들로부터 이차수술시에 제거된 차폐막을 연구재료로 하여 재생과정중에 차폐막에 부착된 조직내의 fibronectin, lamin 및 tenascin의 분포를 검출하고 조

직재생유도술에 이용되었던 차폐막과 골유도재생술에 이용되었던 차폐막에서의 각각의 분포차이를 분석하였는데, 이는 조직재생유도술에서는 차폐막 하부에 치주인대와 골조직으로 부터 유래된 세포들이 치유에 관여하는데 비하여 골재생유도술에서는 골조직으로 부터 유래된 세포들만이 재생에 관여하는 차이가 있음에 착안하였다. 또한 조직재생유도술의 경우 치간부용 차폐막만을 연구재료로 이용하였는데, 이는 판독시 치은조직에 의해 덮혀지는 외면과 치주조직 결손부를 향하는 내면을 보다 용이하게 구별할 수 있도록 하기 위함이었다.

fibronectin 이란 섬유라는 의미의 *fibre*(= fiber)와 결합한다는 의미의 *nectin*(= bind, connect)이 복합되어 이루어진 합성어인데<sup>30)</sup>, 1948년에 Morrison등<sup>31)</sup>이 인체의 혈장분리에 관한 연구에서 혈장 fibronectin을 부분적으로 추출하여 "cold-insoluble globulin"이라고 소개된 이래 1970년 Mosesson등<sup>32)</sup>이 혈장 fibronectin을 순수분리하고 그 특징을 기술하면서 본격적인 연구가 계속되었는데, cell surface protein<sup>29)</sup>, cell attachment factor<sup>33)</sup>, cell adhesion protein<sup>34)</sup>, molecular glue<sup>35)</sup>, large external transformation-sensitive (LETS) protein<sup>36)</sup>, opsonic- $\alpha_2$ -protein<sup>37,38)</sup> 등 다양한 명칭으로 불리워지는 fibronectin은 두개의 disulfide bond로 결합되어진 분자량 220-250 Kd의 polypeptide subunit로 구성된 당단백으로서<sup>39,40,41,20,42,43,44)</sup> collagen, fibrin, artificial tissue culture substrates에 대한 세포부착과 확산을 매개하고 세포의 운동을 촉진하며<sup>33,35)</sup>, 중성구<sup>45,46)</sup>와 대식세포<sup>47,38,48)</sup>의 탐식작용에도 관여하여 조직방어기전에서도 중요한 역할을 할뿐만 아니라 조직 손상부에서 섬유소 혈병위에 피막을 형성하여 지혈작용과 함께 교원질 침착을 촉진함으로써 창상치유에도 주된 역할을 하는 세포외기질의 하나이다<sup>49,50,51,52,53,54,55)</sup>.

본 연구에서 fibronectin의 분포는 골재생유도술에 사용되었던 차폐막의 경우 치은조직으로 덮혀졌던 차폐막의 표면인 차폐막의 외면을 따라 fibronectin이 전반적으로 광범위하였으나, 치조골에 접했던 차폐막의 내면과 차폐막 내강에서는 희소하였으며(Fig. 2, Fig. 3), 조직재생유도술에 사용되었던 차폐막의 경우는 차폐막의 외면과 내강내 조직에서는 fibronectin이 광범위하게 강한 양성반응을 보이며 관찰되었으나 차폐막 내면에 부착된 조직에서는 희소하게 관찰되었는데(Fig. 4, Fig. 5, Fig. 6), 이러한 분포차이는 골재생유도술의 경우 차폐막의 외면에 접해있던 치은결합조직으로부터 유래된 fibronectin만이 차폐막을 통과하여 유입되고, 조직재생유도술의 경우는 상층의 치은결합조직과 하부의 치주인대 섬유아세포로부터 유래된 fibronectin이 차폐막으로 유입될 수 있기 때문에 나타난 차이로 사료된다.

염증으로 수반되는 치주조직의 파괴는 fibronectin에 의해 매개되는 정상적인 세포기질간의 상호작용이 결핍되는 것과 깊은 관계가 있음을 확인하고 조직구조를 유지하는데 있어서 fibronectin의 중요성을 강조한 Baum등(1980)<sup>10)</sup>, Cho등(1985)<sup>57)</sup>과 한(1989)<sup>58)</sup> 등의 연구결과와 함께 수술과 같은 외상이나 악성전이와 관련되어 fibronectin이 결핍되고<sup>37,38,59)</sup>, elastase, 단백분해효소, 비만세포 chymase, Cathepsin G 등의 단백용해효소에 민감하게 파괴되며<sup>60)</sup>, 상피세포의 치근단 증식과 부착성을 억제하는 fibronectin의 생물학적 활성<sup>1,61,62)</sup>을 고려할때 재생중인 조직내에서 fibronectin의 많고 적음은 최종 치유결과에 지대한 영향을 미칠 것으로 사료된다.

흔히 기저막 당단백으로 일컬어 지고 있는 laminin이란 층판이라는 의미를 가진 lamina (=layer)에서 유래된 용어인데<sup>30)</sup>, 이는 분자량 200 Kd인 3개의 A chain과 분자량 400 Kd인 하나의 B chain이 disulfide bond에 의해 결합되어

분자량이 약 1,000 Kd에 이르는 당단백으로서 기저막의 collagen type IV에 대한 상피세포의 부착을 매개하고, heparin과 heparan sulfate에 결합하는 주된 역할을 한다<sup>63,64,66,67,68)</sup>.

본 연구에서 laminin의 분포는 골재생유도술(Fig. 8, Fig. 9)과 조직재생유도술(Fig. 10, Fig. 11, Fig. 12)에 무관하게 차폐막의 외면, 내면 및 내강에서 모두 희소하게 관찰되었는데, 본 연구 결과는 laminin이 치은상피의 기저막과 결합조직내 혈관기저막에서 유래되는 것과 관련된 결과로 사료되고, fibronectin과 laminin이 밀접한 상호관계가 있으며 비록 fibronectin에 비해 약하지만 laminin 역시 섬유아세포의 부착을 매개하기도 한다고 한 Yamada(1983)<sup>23)</sup>의 보고를 지지하였으며, fibronectin, laminin 및 type IV collagen과 같은 세포외기질은 세균들과 결합하고 응집시키는 역할을 규명한 Versellotti등(1985)<sup>69)</sup>의 연구결과를 고려하면 차폐막주위의 세균침범과의 관련성도 규명할 의문점을 제기하였다.

세포부착을 매개하고 조직의 발생과 성장 및 창상치유에 중요한 역할을 하는 세포외기질 당단백이며 hexameric glycoprotein인 tenascin은 210Kd-285Kd의 다양한 분자량을 갖는 6 disulphide-linked subunit로 구성되어 있는데<sup>70,11)</sup>, cytactin<sup>71)</sup>, J1 glycoprotein<sup>72)</sup>, glioma-associated extracellular matrix glycoprotein(GMEM)<sup>73)</sup> brachionectin 또는 hexabrachion protein<sup>74)</sup>이라는 명칭으로 보고되기도 한다.

tenascin의 역할에 관하여 Inaguama등(1980)<sup>75)</sup>은 tenascin이 상피 유도능력을 지니고 있다고 하였으며, Mackie등(1988, 1988)<sup>76,77)</sup>은 tenascin이 신경세포의 이주에 중요한 역할을 하며 세포외기질로부터 세포를 탈락시킴으로써 세포분화에 영향을 미치고, 표피세포의 이주와 증식에 관여하여 창상치유에 영향을 미친다고 하였으며, Lukinmaa등(1991)<sup>78)</sup>은 tenascin이 조직의 발생

과 성장에 중요한 역할을 하고 석회화 조직과 비석회화 조직 사이에 축적되어 기계적 응력을 전달하는 두가지 중요한 기능을 한다고 보고하였고, Thesleff등(1987, 1988)<sup>24,25)</sup>은 골, 연골 및 치아와 같은 경조직을 형성할 수 있는 미분화세포의 분화에 관여하고, 특히 치아의 발생과정중에 중요한 역할을 한다고 보고하였다.

본 연구에서는 tenascin의 분포가 골유도재생술에 사용되었던 차폐막의 경우 오직 차폐막의 외면에서만 국소적으로 희소하게 관찰되었을뿐 내면과 내강내 조직에서는 관찰되지 않았으며 (Fig. 14, Fig. 15), 조직재생유도술에 사용되었던 차폐막의 경우는 차폐막의 외면에서는 광범위하게 tenascin의 양성반응이 관찰되었고, 차폐막 내면과 내강내 조직에서는 tenascin이 희소하게 관찰되었는데(Fig. 16, Fig. 17, Fig. 18), 이러한 결과는 tenascin이 골조직이 아니고 결합조직에서 기원됨을 제시하였고, 또한 진피가 tenascin의 생성을 유도한다는 Mackie등(1988)<sup>76)</sup>을 지지하였다.

본 연구의 양성 대조군에서 치은조직내 심부 결합조직보다는 치은상피 기저막 직하부 결합조직에서 양성반응을 보이며 집중된 양상은 생쥐의 구강점막중 저작점막에서는 tenascin이 결합조직 유두돌기 첨단부에 국소화되어 발현되고 이장점막에서는 기저막에 균등분포하고 있음을 관찰한 Sloan등(1990)<sup>79)</sup>, 최등(1993)<sup>80)</sup>과 한등(1994)<sup>81)</sup>의 보고와 일치하였다. 또한 tenascin이 상피조직과 간엽조직과의 상호작용에 관여하고 있다고 한 Aufderheide등(1987, 1988)<sup>82,83)</sup>의 보고, 창상치유 과정중에 tenascin이 육아조직내에서와 창상의 심부 및 증식중인 상피내에서 축적됨을 확인한 Erickson등(1988)<sup>74)</sup>과 Mackie등(1988)<sup>76)</sup>의 보고, 그리고 tenascin이 결합조직유두돌기의 분화에 영향을 미치며 기계적 자극과 상피의 증식성 조직화 그리고 상피와 결합조직간의 상호작용에 관

계하고 있다는 Sloan등(1990)<sup>79)</sup>의 보고 등을 고려할때 본 연구결과는 조직재생과정에서 tenascin이 치은결합조직의 증식에 지대한 영향을 미치고 있음을 시사하는것으로 사료된다.

본 연구에서는 골재생유도술과 조직재생유도술에서 이용된후 제거된 차폐막만을 연구재료로 하여 차폐막에 부착된 조직내에서 상호 밀접한 관계가 있는 fibronectin, laminin 및 tenascin의 분포양상을 분석하였는데, 향후 재생 치주조직의 치유기간별에 따른 세포외기질의 변화를 분석하는 계속적인 연구가 요구된다.

## V. 결 론

치주조직의 재생과정에서 fibronectin, laminin 및 tenascin의 역할을 규명하고자 골재생유도술(GBR) 및 조직재생유도술(GTR)을 시술한 환자들로부터 제거된 expanded PTFE 차폐막을 연구재료로 이용하여 차폐막에 부착된 조직내 fibronectin, laminin 및 tenascin의 분포를 면역조직화학적 방법으로 관찰하였는데, 제거된 차폐막을 10% 중성 formalin에 6-24시간동안 고정후 일련의 탈수과정을 거쳐 paraffin에 포매하고 4-6  $\mu\text{m}$  두께로 박절한 다음 fibronectin, Laminin 및 tenascin의 면역조직화학적 검출을 위한 1차항체는 각각 단클론성 mouse anti-human fibronectin antibody(1:100, Oncogene Science, USA), 단클론성 mouse anti-human laminin antibody(1:50, Oncogene Science, USA) 그리고 단클론성 mouse anti-human tenascin antibody (1:10, Oncogene Science, USA)를 희석하여 사용하였고, 2차항체인 Biotinylated anti-human mouse IgG(Vector Laboratories, USA)와 3차항체인 Avidin-Biotinylated peroxidase Conjugated antibody (Vector Laboratories, USA)에



반응시킨 다음, diaminobenzidine tetrahydrochloride(Sigma Chemical Co., USA)로 발색시키고, hematoxylin으로 대조염색한 후 광학현미경하에서 검정한 결과 (1) fibronectin, laminin 및 tenascin의 분포양상이 차폐막의 부위에 따라 다양하였다. (2) fibronectin의 분포는 골재생유도술에 사용되었던 차폐막의 경우 치은조직으로 덮혀졌던 차폐막의 표면인 차폐막의 외면을 따라 전반적으로 광범위하였으나, 치조골에 접했던 차폐막의 내면과 차폐막 내강에서는 회소하였고, 조직재생유도술에 사용되었던 차폐막의 경우는 차폐막의 외면과 내강내 조직에서는 fibronectin이 광범위하게 관찰되었으나 차폐막 내면에서는 회소하였다. (3) laminin의 분포는 골재생유도술 및 조직재생유도술에 사용되었던 차폐막에 무관하게 차폐막의 외면, 내면 및 내강에서 모두 회소하였다. (4) tenascin은 골유도재생술에 사용되었던 차폐막의 경우 오직 차폐막의 외면에서만 국소적으로 회소하게 관찰되었으며, 조직재생유도술에 사용되었던 차폐막의 경우는 차폐막의 외면에서는 광범위한 분포를, 차폐막 내면과 내강내 조직에서는 회소한 분포를 보였다.

이상의 연구결과는 fibronectin, laminin 및 tenascin이 조직재생과정에 관여하여 치유결과에 영향을 미치고 있음을 시사하였다.

## 참 고 문 헌

1. Caffesse, R.G., and Smith, B.A.: "Cell proliferation after flap surgery, root conditioning and fibronectin application", *J. Periodontol.*, 58:661, 1987.
2. Garrett, S., Loos, B., Chamberlain, D., and Egelberg, J.: "Treatment of intraosseous periodontal defects with a combined adjunctive therapy of citric acid conditioning, bone grafting, and placement of collagenous membranes", *J. Clin. Periodontol.*, 15:383, 1988.
3. Pitaru, S, Gray, A., Aubin, J.E., and Melcher, A.H.: "The influence of the morphological and chemical nature of dental surfaces on the migration, attachment, and orientation of human gingival fibroblasts in vitro", *J. Periodontol.*, 58:770, 1987.
4. Smith, B.A., Caffesse, R.G., Nasjleti, C.E., Kon, S., and Castelli, W.A.: "Effect of citric acid and fibronectin and laminin application in treating periodontitis", *J. Clin. Periodontol.*, 14:396, 1987.
5. Wikesjö, U.M.E., and Terranova, V.P.: "Repair of periodontal furcation defects in beagle dogs following reconstructive surgery including root surface demineralization with tetracycline hydrochloride and topical fibronectin application", *J. Clin. Periodontol.*, 15:73, 1988.
6. Nyman, S., Karring, T., Lindhe, J., and Planten, S.: "Healing following implantation of periodontitis affected roots into gingival connective tissue", *J. Clin. Periodontol.*, 7:394, 1980.
7. Aukhil, I., and Iglhaut, J.: "Periodontal ligament cell kinetics following experimental regenerative procedures", *J. Clin. Periodontol.*, 15:374, 1988.
8. Batich, M.C., and Collins, B.R.: "New attachment formation following controlled tissue regeneration using biodegradable membranes", *J. Periodontol.*, 59:1, 1988.
9. Claffey, N., Hahn, R., and Egelberg, J.:

- "Effect of placement of occlusive membranes on root resorption and bone regeneration during healing of circumferential periodontal defects in dogs", J. Clin. Periodontol., 16:371, 1989.
10. Collins, B.R., and Magnusson, I.: "New attachment formation following controlled tissue regeneration using biodegradable membrane", J. Periodontol., 59:1, 1988.
  11. Pitaru, S., Tal, H., Soldinger, H., Grosskopf, A., and Noff, M.: "Partial regeneration of periodontal tissues using collagen barriers. Initial observations in the canine", J. Periodontol., 59:380, 1988.
  12. Blumenthal, N., and Steinberg, J.: "The use of collagen membrane barriers in conjunction with combined demineralized bone collagen gel implants in human infrabony defects", J. Periodontol., 61:319, 1990.
  13. Seibert, J., and Nyman, S.: "Localized ridge augmentation in dog: A pilot study using membranes and hydroxyapatite", J. Periodontol., 61:157, 1990.
  14. Goslen, J.B.: "Wound healing for the dermatologic surgeon", Dermatol. Surg. Oncol., 14:959, 1988.
  15. Korn, J.H.: "Interaction of immune and connective tissue cells", Int. J. Dermatol., 49:487, 1980.
  16. Newman, S.L., Henson, J.E., and Henson, P.M.: "Phagocytosis of senescent neutrophils by human monocyte derived macrophages and rabbit inflammatory macrophages", J. Exp. Med., 156:430, 1982.
  17. Peacock, E.E.Jr.: "Inflammation and the cellular response to injury", In Wound Repair, Ed. 3, Philadelphia, W.B. Saunders, 1984.
  18. Clark, R.A.F.: "Cutaneous tissue repair: Basic biologic considerations", J. Am. Acad. Dermatol., 13:701, 1985.
  19. Mosher, D.F.: "Cross-linking of cold-insoluble globulin by fibrin stabilizing factor", J. Biol. Chem., 250:6614, 1975.
  20. Ruoslahti, E.: "Fibronectin", J. Oral Pathol., 10:3, 1981.
  21. Piela, T.H. and Korn, J.H.: "Lymphokines and cytokines in the reparative process", In Cohen S(ed): Lymphokines and the Immune Response Boca Raton, CRC Press, 1990.
  22. Mooney, D.P., O'Reilly, M., and Gamelli, R.L.: "Tumor necrosis factor and wound healing", Ann. Surg., 211:6614, 1975.
  23. Yamada, K.M. and Olden, K.: "Fibronectins: adhesive glycoproteins of cell surface and blood", Nature, 275:179, 1978.
  24. Thesleff, I., Mackie, E., Vainio, S., and Chiquet-Ehrismann, R.: "Changes in the distribution of tenascin during tooth development", Development, 101:289, 1987.
  25. Thesleff, I., Kantomaa, T., Mackie, E., and Chiquet-Ehrismann, R.: "Immunohistochemical localization of the matrix glycoprotein tenascin in the skull of the growing rat", Arch. Oral Biol., 33:383, 1988.
  26. Chiquet-Ehrismann, R., Mackie, E., Pearson, C., and Sakakura, T.: "Tenascin: an extracellular matrix protein involved in tissue interactions during fetal development and oncogenesis", Cell, 47:131, 1986.
  27. Hsu, S.M. and Fanger, H.: "Use of Avidin-Biotin-Peroxidase Complex(ABC) in imm-

- unoperoxidase techniques: A comparison between ABC and unlabeled antibody(PAP) procedures", J. Histochem. Cytochem., 29:577, 1981.
28. Melcher, A.H.: "On the repair potential of periodontal tissue", J. Periodontol., 47:256, 1976.
  29. Caffesse, R.G., Smith, B.A., Castelli, W.A., and Nasjleti, C.E.: "New attachment achieved by guided tissue regeneration in beagle dog", J. Periodontol., 59:589, 1988..
  30. Yamada, K.M.: "Cell surface interactions with extracellular materials", Ann. Rev. Biochem., 52:761, 1983..
  31. Morrison, P.R., Edsall, J., and Miller, S. G.: "Preparation and properties of serum and plasma proteins: XVIII. The separation of purified fibronectin from fraction I of human plasma", J. Am. Chem. Soc., 75:3103, 1948.
  32. Mosesson, M.W. and Umfleet, R.A.: "The cold-insoluble glycoprotein of human plasma: I. Purification, primary characterization, and relationship to fibrinogen and other cold-insoluble fraction components", J. Biol. Chem., 245:5728, 1970.
  33. Gauss-muller, V., Kleinman, H.K., Martin, G.R., and Schiffmann, E.: "Role of attachment factors and attractants in fibroblast chemotaxis", J. Lab. Clin. Med., 96:1071, 1980.
  34. Milam, S.B., Steffensen, B., and Haskin, C.: "Cell adhesion proteins in oral biology", CRC Critical Rev. Oral Biol., 2:451, 1991.
  35. McDonagh, J.: "Fibronectin: a molecular glue". Arch. Pathol. Lab. Med., 105:393, 1981..
  36. Zetter, B.R., Daniel, T.E., Quadra-White, C., and Greenspan, J.S.: "LETS protein in normal and pathological human oral epithelium", J. Dent. Res., 58:484, 1979.
  37. Blumenstock, F.A., Saba, T.M., Weber, P., and Laffin, R.: "Biochemical and immunological characterization of human opsonic  $\alpha$  2SB glycoprotein: Its identity with cold-insoluble globulin", J. Biol. Chem., 253:4287, 1978.
  38. Lanser, M.E., Saba, T.M., and Scovill, W.A.: "Opsonic glycoprotein(plasma fibronectin) levels after burn injury: Relationship to extent of burn and development of sepsis", Ann. Surg., 192:776, 1984.
  39. Balian, G., Click, E.M., Crouch, E., Davidson, J.M., and Bornstein, P.: "Isolation of a collagen-binding fragments from fibronectin and cold-insoluble globulin", J. Biol. Chem., 253:1429, 1979.
  40. Crouch, E., Balian, G., Holbrook, K., Duksin, D., and Bornstein, P.: "Amniotic fluid fibronectin: characterization and synthesis by cells in culture", J. Cell Biol., 78:701, 1978.
  41. Erickson, H.P., Carell, N., and McDonagh, J.: "Fibronectin molecule visualized in electron microscopy: A long, thin, flexible strand", J. Cell Biol., 91:673, 1981.
  42. Ruoslahti, E., Engvall, E., and Hayman, E.G. : "Fibronectin: Current concepts of its structure and functions", Coll. Rel. Res., 1:95, 1981.
  43. Ruoslahti, E., Hayman, E.G., Kuusela, P., Shively, J.E., and Engvall, E.: "Isolation of tryptic fragment containing the collagen-

- binding site of plasma fibronectin", *J. Biol. Chem.*, 254:6054, 1979.
44. Wagner, D.D., and Hynes, R.O.: "Domain structure of fibronectin and its relation to function: disulfides and sulfhydryl groups", *J. Biol. Chem.*, 255:4304, 1980.
  45. Doran, J.E., Raynor, R.H., Reese, A.C., and Edmondson, H.T.: "Fibronectin promotion of phagocytosis and killing of *S. aureus* by human PMNs", *Fed. Proc.*, 40(abst):769, 1981.
  46. Versellotti, G.M., McCarthy, J.B., Furcht, L.T., Jacob, H.S., and Moldow, C.F.: "Inflamed fibronectin: An altered fibronectin enhances neutrophil adhesion", *Blood*, 62:1063, 1983.
  47. Alitalo, K., Hovi, T., and Vaheri, A.: "Fibronectin is produced by human macrophages", *J. Exp. Med.*, 151:1980.
  48. Tsukamoto, Y., Hesel, W.E., and Wahl, S.M.: "Macrophage production of fibronectin, A chemoattractant for fibroblasts", *J. Immunol.*, 127:673, 1981.
  49. Donaldson, D.J., and Mahan, J.T.: "Fibrinogen and fibronectin as substrates for epidermal cell migration during wound closure", *J. Cell Sci.*, 62:117, 1983.
  50. Engvall, E., Ruoslahti, E., and Miller, E.J.: "Affinity of fibronectin to collagen of different genetic types and to fibronectin", *J. Exp. Med.*, 147:1584, 1978.
  51. Ginsberg, M.H., Painter, R.G., Forsyth, J., Birdwell, C., and Plow, E.F.: "Thrombin increases expression of fibronectin on the platelet surface", *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 77:1049, 1980.
  52. Hynes, R.O., and Yamada, K.M.: "Fibronectins: Multifunctional modular glycoproteins", *J. Cell Biol.*, 195:369, 1982.
  53. Mosher, D.F., and Furcht, L.T.: "Fibronectin: Review of its structure and possible functions", *J. Invest. Dermatol.*, 77:175, 1981.
  54. Terranova, V.P., and Martin, G.R.: "A possible role for attachment proteins in periodontal reattachment", *J. Dent. Res.*, 60:9 (Abs. #320), 1981.
  55. Terranova, V.P., and Martin, G.R.: "Molecular factors determining gingival tissue interaction with tooth structure", *J. Periodont. Res.*, 17:530, 1982.
  56. Baum, B.J. and Wright, W.E.: "Demonstration of fibronectin as a major extracellular protein of human gingival fibroblasts", *J. Dent. Res.*, 59:631, 1980.
  57. Cho, M.I., Lee, Y.L., and Garant, P.R.: "Localization of fibronectin in gingival connective tissue of beagle dog: Immunofluorescent light microscopic findings", *J. Periodontol.*, 56:677, 1985.
  58. 한경윤: "이환치은조직내 cytokeratin과 fibronectin에 관한 면역조직화학적연구", 「대한치주과학회지」, 19:159, 1989.
  59. Mosher, D.F., and Williams, E.M.: "Fibronectin concentration is decreased in plasma of severely ill patients with disseminated intravascular coagulation", *J. Lab. Clin. Med.*, 91:729, 1978.
  60. Vartio, T., Seppa, H., and Vaheri, A.: "Susceptibility of soluble and matrix fibronectins to degradation by tissue proteinase, mast cell chymase and cathepsin G", *J. Biol. Chem.*, 256:1981.

61. Fernyhough, W., and Page, R.C.: "Attachment, growth and synthesis by human fibroblasts on demineralized or fibronectin-treated normal and diseased tooth roots", J. Periodontol., 54:133, 1983
62. Fujikawa, L.S., Foster, C.S., Harrist, T.J., Lanigan, J.M., and Colvin, R.B.: "Fibronectin in healing rabbit corneal wounds", Lab. Invest., 45:120, 1981
63. Campbell, J.H., and Terranova, V.P.: "Laminin: molecular organization and biological function", J. Oral Pathol., 17:309, 1988.
64. Rao, C.N., Margulies and I.M., Loitta, L.A.: "Binding domain for laminin on type IV collagen", Biochem. Biophys. Res. Commun., 128:45, 1985.
65. Switalski, L.M., Murchison, H., Timpl, R., Curtiss, R.III, and Hook, M.: "Binding of laminin to oral and endocarditis strains of viridans streptococci", J. Bacteriol., 169: 1095, 1987.
66. Terranova, V.P. and Lyall, R.M.: "Chemotaxis of human gingival epithelial cells to laminin. A mechanism for epithelial cell apical migration", J. Periodontol., 57:311, 1986.
67. Terranova, V.P., Rohrbrach, D.H., and Martin, G.R.: "Role of laminin in the attachment of PAM 212(epithelial) cells to basement membrane collagen", Cell, 22:719, 1980.
68. Timpl, R., Rohde, H., Robey, P.G., Renard, S.I., Tordart, J.-M., Martin, G.R.: "Laminin-a glycoprotein from basement membranes", J. Biol. Chem., 254:9933, 1979.
69. Versellotti, G.M., McCarthy, J.B., Lindholm, P., Peterson, P.K., Jacob, H.S., and Furcht, L.T.: "Extracellular matrix proteins (fibronectin, laminin, and type IV collagen) bind and aggregate bacteria", J. Am. J. Pathol., 120:13, 1985
70. Bourdon, M. and Lansing, L.: "Tenascin mediates cell attachment through an RGD-dependent receptor", J. Cell Biol., 108:1149, 1989.
71. Grumet, M., Hoffman, S., Crossin, K., and Edelman, G.M.: "Cytotactin, an extracellular matrix protein of neural and non-neural tissues that mediates glia-neuron interaction", Proc. Natn. Acad. Sci. U.S.A., 82:8075, 1985
72. Kruse, J., Keilhauer, G., Faissner, A., Timpl, R., and Schachner, M.: "The J1 glycoprotein - a novel nervous system cell adhesion molecule of the L2/HNK-1 family", Nature, 277:146, 1985.
73. Bourdon, M.A., Matthews, T.J., Pizzo, S.V., and Bigner, D.D.: "Immunochemical and biochemical characterization of a glioma-associated extracellular matrix glycoprotein", J. Cell Biochem., 28:183, 1985.
74. Erickson, H.P., and Lightner, V.A.: "Hexabrachion protein(tenascin, cytotactin, brachionectin) in connective tissues, embryonic brain, and tumors", Adv. Cell Biol., 2:55, 1988.
75. Inaguama, Y., Kusakabe, M., Mackie, E., Pearson, C., Chiquet-Ehrismann, R. and Sakakura, T.: "Epithelial induction of stromal tenascin in the mouse mammary gland : from embryogenesis to carcinogenesis",

- Dev. Biol., 76:100, 1980.
76. Mackie, E., Halfter, W., and Liverani, D. : "Induction of tenascin in healing wounds", Cell Biol., 107:2757, 1988.
  77. Mackie, E., Tucker, R.P., Halfter, W., Chiquet-Ehrismann, R., and Epperlein, H.H.: "The distribution of tenascin co-insides with pathways of neural crest cell", Development, 102:237, 1988.
  78. Lukinmaa, P.L., Mackie, E.J., and Thesleff, I.: "Immunohistochemical localization of the matrix glycoproteins-tenascin and the ED-sequence containing form of cellular fibronectin in human permanent teeth and periodontal ligament", J. Dent. Res., 70:19, 1991.
  79. Sloan, P., Schor, S.L., Lopes, V., and Chiquet-Ehrismann, R.: "Immunohistochemical study of the heterogeneity of tenascin distribution within the oral mucosa of the mouse", Arch. Oral Biol., 35:67, 1990.
  80. 최영욱, 한경윤: "비염증성 치은증식증의 상피 및 상피하조직내 세포변화에 관한 면역조직화학적 연구", 「대한치주과학회지」, 23:605, 1993.
  81. 한경윤, 이강진: "치주낭조직내 tenascin의 분포에 관한 면역조직화학적연구", 「대한치주과학회지」, 24:607, 1994
  82. Aufderheide, E., Chiquet-Ehrismann, and R., Ekblom, P.: "Epithelial-mesenchymal interactions in the developing kidney lead to expression of tenascin in the mesenchyme", J. Cell Biol., 105:599, 1987.
  83. Aufderheide, E. and Ekblom, P.: "Tenascin during gut development: appearance in the mesenchyme, shift in molecular forms, and dependence on epithelial-mesenchymal interactions", J. Cell Biol., 107:2341, 1988.

## 사진부도설명

- Fig. 1. Immunohistochemical localization of fibronectin in human gingival tissue as a positive control.(Magnification x100)  
치근 백악질(RC)에 부착된 결합조직섬유(CT)의 주행을 따라 분포하고 있는 fibronectin (arrow head)을 보여주고 있는 양성 대조군 표본.
- Fig. 2. Immunostain of fibronectin in the tissue attached to e-PTFE membrane used in GBR (Magnification x40)  
골재생유도술에 이용되었던 차폐막에서의 fibronectin 분포양상으로 치은결합조직이 덮혀 있었던 차폐막의 외면쪽에 광범위한 분포양상을 보이나 치조골과 접하였던 내면쪽과 차폐막내강에서는 희소한 분포양상을 보여주고 있다.
- Fig. 3. High power view of fibronectin in the rectangle of Fig. 2. (Magnification x400)  
고배율하에서 fibronectin의 면역염색도를 명확히 나타내고있다.
- Fig. 4. Immunostain of fibronectin in the tissue attached to e-PTFE membrane used in GTR (Magnification x40)  
조직재생유도술에 이용되었던 차폐막에서의 fibronectin 분포양상으로 차폐막의 외면과 차폐막의 내강내에 광범위한 분포를 보이고, 내면에서는 희소한 분포를 보인다.
- Fig. 5. High power view of fibronectin in the rectangle A of Fig. 4. (Magnification x400)  
고배율하에서 차폐막내강내 fibronectin의 면역염색도를 나타내고 있다.
- Fig. 6. High power view of fibronectin in the rectangle B of Fig. 4. (Magnification x400)  
차폐막의 외면과 차폐막 내강내에서의 광범위한 분포와 내면쪽의 희소한 분포를 보여주고 있는 고배율 사진.
- Fig. 7. Immunohistochemical localization of laminin in human gingival tissue as a positive control(Magnification x100)  
치은상피(EP)의 기자막(arrow head)과 치은 결합조직(CT)내 혈관벽(arrow)의 주행을 따라 분포하고 있는 laminin을 보여주고 있는 양성 대조군 표본.
- Fig. 8. Immunostain of laminin in the tissue attached to e-PTFE membrane used in GBR (Magnification x40)  
골재생유도술에 이용되었던 차폐막에서의 laminin 분포양상으로 차폐막의 외면, 내면 및 내강내 모두 희소한 분포를 보이고 있다.
- Fig. 9. High power view of laminin in the upper half area of Fig. 8. (Magnification x100)  
차폐막의 외면, 내면 및 내강내 모두 희소한 laminin의 분포양상을 고배율하에서 보여주고 있다.

- Fig. 10. Immunostain of laminin in the tissue attached to e-PTFE membrane used in GTR  
(Magnification x40)  
조직유도재생술에 이용되었던 차폐막에서의 laminin분포양상으로 차폐막의 외면, 내면 및 내강내 모두 희소한 분포를 보이고 있다.
- Fig. 11. High power view of laminin in the collar portion of Fig. 10.  
(Magnification x100)  
치경부에 접했던 차폐막부위 외면의 laminin분포를 보이고 있는 고배율 사진.
- Fig. 12. High power view of laminin in the occlusive membrane of Fig. 10.  
(Magnification x100)  
세포유입을 차단하는 차폐막부위의 외면 내강 및 내면에서 모두 laminin의 희소한 분포를 보이고 있는 고배율 사진.
- Fig. 13. Immunohistochemical localization of tenascin in human gingival tissue as a positive control(Magnification x100)  
치은상피(EP) 주위의 결합조직(CT) 변연부에 분포하고 있는 tenascin을 명확하게 나타내고 있는 양성 대조군 표본.
- Fig. 14. Immunostain of tenascin in the tissue attached to e-PTFE membrane used in GBR  
(Magnification x40)  
골재생유도술에 이용되었던 차폐막에서는 차폐막 외면에서만 국소적으로 희소하게 tenascin이 분포하고 있다.
- Fig. 15. High power view of tenascin in the upper half area of Fig. 14.  
(Magnification x100)  
차폐막의 외면에 국소적으로 분포하고 있는 tenascin을 나타내고 있는 고배율 사진.
- Fig. 16. Immunostain of tenascin in the tissue attached to e-PTFE membrane used in GTR  
(Magnification x40)  
조직재생유도술에 이용되었던 차폐막에서의 tenascin 분포양상으로 차폐막의 외면에서는 광범위한 분포를 보이고, 내면과 내강에서는 희소한 분포를 보이고 있다.
- Fig. 17. High power view of tenascin in the upper half area of Fig. 16.  
(Magnification x100)  
차폐막의 변연부 고배율 사진으로 tenascin이 외면에서는 광범위한 분포를 보이고, 내면과 내강에서는 희소한 분포를 보이고 있다.
- Fig. 18. High power view of tenascin in the lower half area of Fig. 16.  
(Magnification x100)  
차폐막의 중앙부 고배율 사진으로 tenascin이 외면에서는 광범위한 분포를 보이고, 내면과 내강에서는 희소한 분포를 보이고 있다.



## 논문 사진 부도 (I)

## 논문 사진 부도 (II)

## 논문 사진 부도 (Ⅲ)

## AN IMMUNOHISTOCHEMICAL STUDY OF THE DISTRIBUTION OF FIBRONECTIN, LAMININ AND TENASCIN IN THE REGENERATING PERIODONTAL TISSUE

Gap-Hwan Chung, Byung-Ok Kim, Kyung-Yoon Han

*Department of Periodontology, School of Dentistry, Chosun Univeristy*

The regeneration of destructed periodontal tissues is one of the ultimate objectives of periodontal therapy. Guided tissue regeneration technique was developed for the ideal regeneration of periodontal tissues.

In order to investigate the role of fibronectin, laminin and tenascin in the regenerating process of periodontal tissues, the expanded PTFE barrier membranes(Gore Associates, USA) removed from the patients who had been treated by guided tissue regeneration(GTR) and guided bone regeneration(GBR) techniques were fixed in neutral formalin for 6-24 hours, embedded with paraffin, sectioned at 4-6 $\mu$ m in thickness, and immunohistochemically processed by Avidin-Biotin peroxidase complex method for detecting fibronectin, laminin and tenascin.

Monoclonal mouse anti-human fibronectin antibody(Oncogene Science, USA., 1:100), monoclonal mouse anti-human laminin antibody(Oncogene Science, USA., 1:50) and mouse anti-human tenascin antibody(Oncogene Science, USA., 1:10) were used as primary antibodies.

The light microscopic findings were as follows: (1) The distribution of fibronectin, laminin and tenascin was various according to the area of barrier membranes. (2) The distribution of fibronectin in case of GBR was extensive in the tissue on the outer surface of barrier membranes, and rare in the intervening space and on the inner surface. In case of GTR it was extensive on the outer surface and in the intervening space, and rare on the inner surface. (3) The distribution of laminin was rare in the tissue on the outer, the inner surface and intervening space of barrier membranes, regardless of GBR or GTR. (4) In case of GBR rare distribution of tenascin was observed on the outer surface only, except the inner surface and the intervening space of barrier membranes. In case of GTR the distribution of tenascin was extensive in the tissue on the outer surface, rare in intervening space and the inner surface.

The results suggest that fibronectin, laminin and tenascin may play a important role in the regenerating process of periodontal tissue, and they may affect the outcome of healing.