

## 토끼 피부창상 치유에 있어서 Polyphosphate의 효과

이광인 · 한정희 · 채수경\* · 김흥렬\*\* · 이창훈\*\*\* · 정성목\*\*\*\* · 서강문\*\*\*\*<sup>1</sup>

강원대학교 수의학과, \*경원메디칼 (주)

\*\*경희대학교 한의학연구소 분자생물학교실

\*\*\*원자력병원 세포생물학교실, \*\*\*\*서울대학교 수의과대학

## Effects of Polyphosphate on Skin Wound Healing in Rabbits

Kwang-In Lee, Jeong-Hee Han, Soo-Kyung Chae\*, Hong-Yeoul Kim\*\*, Chang-Hun Rhee\*\*\*, Seong-Mok Jeong\*\*\*\* and Kang-Moon Seo\*\*\*\*<sup>1</sup>

Department of Veterinary Medicine, Kangwon National University, Chunchon, Korea

\*Kyung-Won Medical Co, LTD, Seoul, Korea

\*\*Department of Molecular Biology, Institute of Oriental Medicine, Kyung-Hee University, Seoul, Korea

\*\*\*Laboratory of Cell Biology, Korea Cancer Hospital, Seoul, Korea

\*\*\*\*College of Veterinary Medicine, Seoul, Korea

**Abstract :** The purpose of the present study was to investigate the effect of polyphosphate on healing of skin wound in rabbits. Four skin wounds of 8mm in diameter were induced bilaterally(4 wounds/rabbit) on the dorsolateral aspect of the trunk of 15 male New Zealand white rabbits. Ten percent polyphosphate(poly P) type 25, 10% poly P type 35, 10% poly P type 25 + 10% poly P type 35 and 0.85% sterile saline solution were applied on the wound area and examined grossly and histopathologically. The rate of wound contraction and histopathological changes after poly P application on the skin wound were investigated. In gross findings, the wound contraction rates of 10% poly P 25 group were significantly decreased from day 2 to day 7 after operation than those of 0.85% sterile saline solution treated group ( $p < 0.01$ ). Although the hemorrhage and inflammation were observed on days 3, 6 and 9 after operation in all groups, but in 10% poly P 25 was gradually decreased. Revascularization and reepithelialization were seen 3, 6 and 9 days after operation in all groups, especially in 10% poly P 25 was formed completely on 9 days. Fibroplasia were seen 3, 6 and 9 days after operation in all groups, especially in 10% poly P 25 was compact than other groups on 9 days. The results suggested that polyphosphate, especially 10% poly P 25 would be effective on healing of skin wound in rabbits through decrease of wound contraction rate, increase of revascularization, reepithelialization and fibroplasia.

**Key words :** polyphosphate, skin wound, healing, rabbits

## 서 론

창상은 물리적인 신체손상으로 정상적인 피부 구조물의 연속성이 붕괴된 것이며, 이런 불연속성을 복구하는 것을 창상 치유라 한다. 이와 같은 복구과정에는 세포재생, 세포증식, 교원섬유의 생산 등이 일어난다<sup>28</sup>.

Leibovich와 Ross<sup>22</sup>에 의하면 큰포식세포는 탐식, 섬유화 및 섬유모세포 증식에 직·간접적으로 작용하므로 창상에서 큰포식세포를 제거하면 창상의 괴사조직 제거가 극히 저조하고 섬유화가 현저히 지연된다고 하였다. Browder 등<sup>3</sup>은 큰포식세포는 창상의 신장강도를 증가시키며, 이는 큰포식세포가 분비하는 interleukin-1이 섬유모세포의 증생 및 아교섬유의 cross-linking을 증가시키기 때문이라고 하였다.

Clark<sup>5</sup>은 피부의 손상과 동시에 일어나는 혈관 파열은 혈액 성분의 누출을 초래하여 혈소판의 집합과 응혈이 일어나게 하여 초기의 염증반응과 치유과정을 위한 단계를 정하게

된다고 하였다. 큰포식세포는 염증과 치유(육아조직 형성)의 변화에서 중요한 역할을 하는데, 큰포식세포가 괴사조직을 제거하고 성장인자와 같이 생물학적으로 활성화되는 물질을 과잉으로 방출하기 때문이다. 구체적인 증거는 부족하지만 적어도 성장인자가 손상된 공간을 채우는 섬유모세포의 증생(육아조직)과 혈관신생에 대해 부분적으로 반응한다. 손상 시에 표피의 장벽이 파괴되면 24시간 이내에 상피재생이 일어나고 이어서 육아조직이 형성된다. 창상치유에서 혈관신생, 섬유모세포의 증생, 새로운 기질의 형성, 상피재생에 대한 신호는 알려져 있지 않지만 많은 가능성들이 검토되고 있다. 기질 수복은 창상치유의 마지막 단계이며 정상 피부의 70-80%까지 scar의 장력이 점차 증가하게 된다.

토끼를 이용한 창상치유를 촉진하는 물질로 다양한 연구가 시도되어 왔는데 홍<sup>41</sup>은 토끼 피부창상에 yeast glucan을 적용한 결과 큰포식세포의 이주, 혈관신생, 상피재생, 섬유증식이 증가되었다고 하였고, 양 등<sup>37</sup>과 Hegggers 등<sup>14</sup>은 aloe를 적용한 결과 가피경도와 교원섬유의 활성을 증가시켜 창상치유에 효과적이라고 하였다. 최 등<sup>39</sup>은 피부창상에 epidermal

<sup>1</sup>Corresponding author.  
E-mail : kmseo@snu.ac.kr

growth factor를 적용한 결과 섬유증식과 상피재생이 증가된다고 하였고, Bowes 등<sup>2</sup>과 Demling<sup>7</sup> 및 Rodgers 등<sup>29</sup>은 피부창상에 각각 growth factor  $\beta 2$ , oxandrolone, angiotensin 1-7을 적용한 결과 상피재생과 교원섬유의 형성을 증가시킨다고 하였다. 정 등<sup>38</sup>은 피부창상에 propolis를, Cho 등<sup>4</sup>은 수용성 chitin을 적용하여 상피재생이 증가하였다고 하였으며 Mukherjee 등<sup>25</sup>은 고추과 식물인 *Hypericum hookerianum*의 잎과 줄기 추출물을 피부창상에 적용하여 창상연축, 창상 유합시기, 장력, 창상부위의 조직재생에 있어서 유의성 있는 효과를 보였다고 하였다. Demoyer 등<sup>8</sup>도 피부창상에 있어서 lysophosphatidic acid가 상피재생을 증가시키는 효과가 있다고 하였고, 한 등<sup>40</sup>도 저에너지 레이저 조사가 창상치유에 효과적이었다고 하였다.

본 연구에서 사용한 물질은 polyphosphate(이하 poly P라 함)로, 이는 20세기 초에는 미생물에서 basic blue dye에 분홍색으로 염색되는 metachromatic 과립으로 "volutin"이라고 불리었고 한때 poly P 과립이 핵산으로 오인되기도 하였으나 광학현미경의 보급으로 이 과립이 높은 굴절력과 휘발성을 가진다는 것이 밝혀져 poly P라고 구분하게 되었다.

Poly P는 고에너지 무수인산결합에 의해 연결된 다수의 인산염 잔기를 포함하는 선모양 중합체로 말단에 AMP, ADP, glucose, H<sub>2</sub>O가 부착되면 여러 효소에 의해 분해되며(Text-Fig 1), 자연의 모든 세균, 곰팡이, 원생동물, 식물 및 동물 세포에서 발견되어 필요로 하는 시기와 세포내 위치에 따라 다양한 생물학적 기능을 수행한다고 하였다<sup>19,20</sup>. Kornberg<sup>16-19</sup>의 연구에서 *E. coli*는 poly P를 구성하는 성분이 결핍되어 있지만 poly P를 합성하는 효소인 poly P kinase가 풍부하고, nATP를 polyPn과 nADP으로 변환시켜 ATP를 poly P로 전환시키는 촉매역할을 하였다는 점에서 poly P가 poly P kinase에 의해 AMP와 ADP를 ATP로 치환하여 에너지의 저장소 역할을 한다는 것이 알려졌다. Poly P는 세균 capsule의 구성성분이 되며, 그람 양성균의 세포벽 구조에 필수적인 금속이온(Mg<sup>2+</sup>, Ca<sup>2+</sup>)을 chelate하여 항균작용을 나타내며<sup>21</sup>, alkali에 대한 완충작용을 한다<sup>27</sup>. Crooke 등<sup>6</sup>의 연구에서 긴 사슬 poly P를 결핍시킨 변종 *E. coli*가 생존률이 낮고 열, 산화제, 삼투압 변화 등의 외부 스트레스에 저항력이 없었다는 점에서 poly P가 세균의 스트레스와 생존의 조

절 기능이 있다는 것이 알려졌다.

이러한 poly P의 기능에 근거하여 합성세제, 살충제, 비료 등에 의해 오수에 축적된 인산을 분해하여 제거하는데 이용되었고<sup>13</sup>, 육류에 첨가제로 사용되어 수분결합력을 증가시키고 산패를 방지하여 색깔 보존력을 높이고 향균제로 이용되었다<sup>21</sup>. 또한 Griffith<sup>12</sup>에 의하면 인산 섬유는 골과 치아를 형성하므로 치즈, 육류, 치약, 음수 등에 첨가되며 길쭉한 poly P 섬유는 석면의 모든 성분을 대체할 수 있는 절연체로 유아복, 매트리스 커버, 항공기 내부 직물로 이용되었다고 하였다.

Maier 등<sup>24</sup>의 연구에서 *Bacillus cereus*에 long-chain poly P를 적용한 결과 고농도에서는 세포의 용해, 살균, 정균 효과가 있었으며 치사량에 가까운 농도에서는 세포의 septum 형성을 저해한다고 하였다. 현재까지 poly P의 항균 효과에 대한 연구는 진행되어 왔으나 창상치유 효과에 대한 연구는 없었으므로 본 연구에서 poly P가 토끼 피부창상에 있어서 미치는 효과를 육안적 및 형태학적 관찰을 통하여 검토하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 실험동물

임상적으로 건강하다고 인정되는 같은 일령의 체중 2 kg 내외의 수컷 New Zealand male white rabbit 15마리를 실험동물로 사용하였다. 실험동물은 모두 실험 10일 전에 입식시켜 항원충제를 접종하고, 환경에 적응이 되었다고 인정될 때 실험을 실시하였다. 실험동물은 토끼용 사료(삼양사료 Co.)와 깨끗한 물을 자유롭게 섭취하도록 하였다.

### 실험물질

실험물질로는 Sodium phosphate glass type 25와 35 (Sigma Co., USA)를 증류수에 녹여 10%로 만들어 사용하였다.

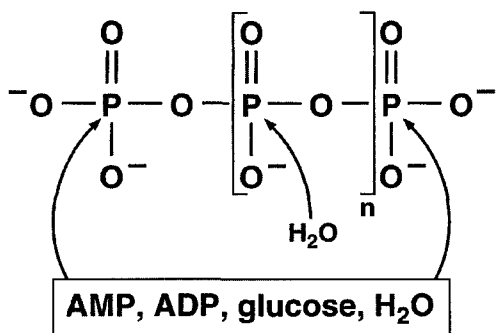
### 실험군의 분류

실험군은 대조군(평균 생리식염수만 접종), 10% poly P 25 및 10% poly P 35 및 10% poly P 25와 poly P 35를 동량 합제하여 처치한 군으로 나누어 Table 1과 같이 구분하여 본 실험을 실시하였다.

### 실험군의 처치

실험동물의 창상유발을 위한 수술적 준비는 일반 술야준비 요령에 준해 실시하였다. 토끼에 ketamine 44 mg/kg과 xylazine 3 mg/kg을 근육주사하여 전신마취를 유도하였다. 실험동물의 등쪽 피부의 피모를 광범위하게 삭모한 다음 alcohol과 povidone-iodine으로 완전히 소독한 후 흉추 10번 좌우측 및 요추 2번 좌우측 부위에 biopsy puncher(Spiefel Co.)로 지름 8 mm의 원형 완전 피부 결손을 유발하였다.

피부 결손을 유발한 후 해부학적 위치에 따른 긴장력의 차



Text-Fig 1. Inorganic polyphosphate chain structure

**Table 1.** Experimental design

| Group   | Treatment                | Site of wound                  |
|---------|--------------------------|--------------------------------|
| Control | Saline, b.i.d.           | Proximal & distal dorsal skin* |
| GI      | 10% poly P 25, b.i.d.    | Proximal & distal dorsal skin  |
| GII     | 10% poly P 35, b.i.d.    | Proximal & distal dorsal skin  |
| GIII    | 10% poly P 25+35, b.i.d. | Proximal & distal dorsal skin  |

\*Proximal dorsal skin : bilateral 10th thoracic vertebra  
Distal dorsal skin : bilateral 2nd lumbar vertebra

이가 있으므로 우측 상단으로부터 시계방향으로 하루에 두 번씩 창상부위에 각 군의 처치방법에 따라 poly P를 도포하여 흡수되도록 한 후, 개체가 바뀌면 그 도포 순서를 바꾸어 처치하였다.

#### 창상의 연속률 검사

창상의 연속률 검사를 위해 창상유발 후 1일부터 9일까지 오전 9시부터 11시 사이에 셀로판 용지를 창상 위에 놓고 창연을 그려 기록하고 image analyser(UTHSCSA Image tool, Version 2.0)로 그 면적을 측정하였다. 창상 연속률은 다음과 같은 공식을 사용하여 계산하였다.

$$\text{창상 연속률(\%)} = 100 \times W_i * / W_0$$

\* $W_i$ : wound area from day 1 to day 9 after operation

$W_0$ : wound area on day 1

#### 병리조직학적 검사

병리조직학적 검사는 창상유발 후 3일, 6일, 9일에 5마리를 안락사시켜 군별로 조직을 채취한 다음 10% buffered formalin에 고정한 후 파라핀으로 포매하고 4 mm 두께로 절편하여 조직표본을 제작하였다. 모든 조직은 Hematoxylin-eosin (H&E)으로 염색하여 창상부의 출혈 및 염증반응의 정도(염증세포의 출현정도), 혈관신생 시기 및 정도, 상피재생 시기 및 정도, 섬유화 시기 및 정도를 광학현미경으로 관찰하였다. 출혈, 염증반응, 혈관신생, 상피재생 및 섬유화가 관찰되지 않으면 -, 약간 있으면 +, 중등도는 ++, 완전하거나 심하면 +++로 분류하였다. 교원섬유 형성에 따른 섬유화의 관찰을 위해 Masson's trichrome으로 3중 염색하여 광학현미경으로 관찰하여 교원섬유가 없으면 -, 약간 있으면 +, 중등도는 ++, 많으면 +++로 분류하였다.

#### 통계처리

창상유발 후 시간 경과에 따른 창상 연속률 및 대조군 대비 실험군의 창상 연속률에 대한 평균과 표준편차를 구한 후 통계프로그램(GraphPad software incor. Ver. 3.0)을 이용하여 one-way ANOVA test로 유의성을 검증하였다.

## 결 과

토끼 피부 창상에 poly P를 적용한 후 창상 연속률과 병

리조직학적 변화에 미치는 영향을 조사한 결과는 다음과 같다.

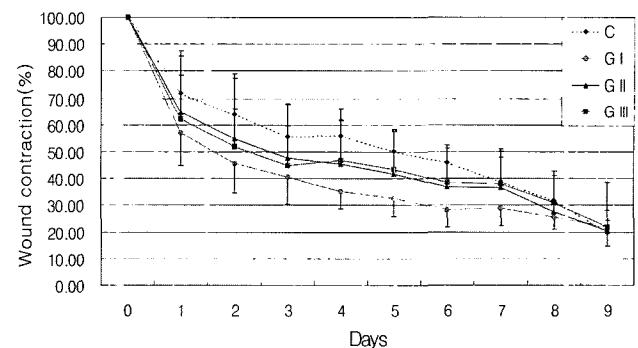
#### 창상의 연속률

창상의 연속률은 창상유발 후 1, 2, 3, 4, 5, 6일 및 7일에 각각 대조군에 비하여 poly P 처치군에서 감소하는 경향을 나타내었고, 10% poly P 25에서 창상 연속률이 가장 감소되었다. 창상유발 후 8일에는 10% poly P 25가, 9일에는 대조군이 가장 낮은 창상 연속률을 보였다. 대조군, 10% poly P 25, 10% poly P 35 및 10% poly P 25와 35를 동량합제하여 처치한 군 모두에서 창상유발 후 1일부터 창상면적이 현저하게 감소하는 경향을 나타내었다(Text-Fig 2).

대조군과의 비교에서 창상 연속률은 10% poly P 25에서만 창상유발 후 2일부터 6일까지 유의성 있게 감소하였다( $p < 0.01$ ).

군별 유의성 검사 결과 창상 연속률은 대조군과 10% poly P 25에서는 창상유발 후 2일부터, 10% poly P 35 및 10% poly P 25와 35를 동량합제하여 처치한 군에서는 창상유발 후 3일부터 유의성 있게 감소하였다( $p < 0.01$ ).

일별 유의성 검사 결과 창상 연속률은 대조군, 10% poly P 25, 10% poly P 35 및 10% poly P 25와 35를 동량합제하여 처치한 군 모두에서 창상유발 후 1일부터 유의성 있게 감소하였다( $p < 0.001$ ).



**Text-Fig. 2.** Changes of wound contraction values after poly-phosphate P application on the skin wound in rabbits

\*a: Different superscripts in the same row differ significantly at  $\alpha = 0.01$  level by nonparametric ANOVA test.

b: Different superscripts in the same row differ significantly at  $\alpha = 0.001$  level by nonparametric ANOVA test.

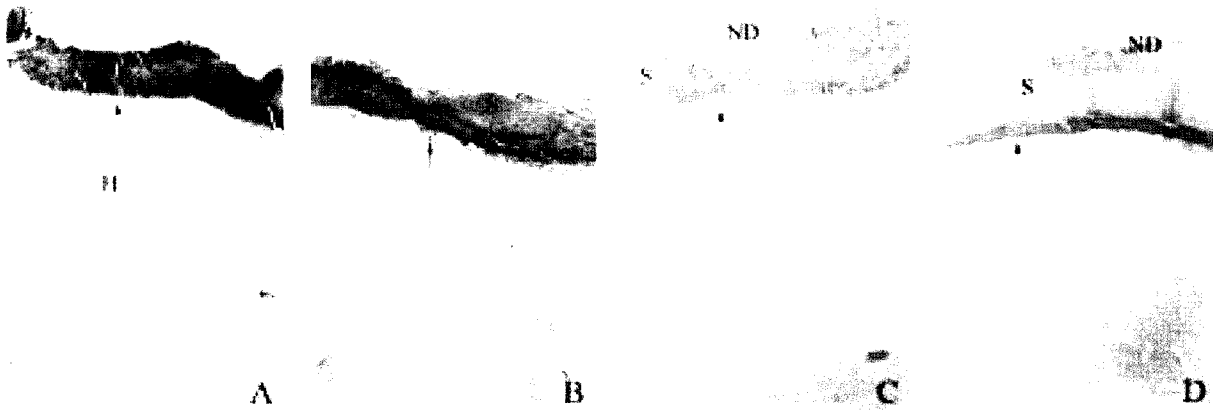
**병리조직학적 검사**

창상유발 후 3일에는 대조군, 10% poly P 25, 10% poly P 35 및 10% poly P 25와 35를 동량으로 합제하여 처치한 군 모두에서 호중구와 호산구가 침윤된 염증 소견과 가피의 형성이 관찰되었다. 대조군과 10% poly P 35에서는 출혈이 심했고, 대조군과 10% poly P 25 및 10% poly P 25와 35를 동량합제하여 처치한 군에서는 염증반응이 심했다. 모든 군에서 혈관재생과 상피재생이 관찰되었으나 10% poly P 35 및 10% poly P 25와 35를 동량합제하여 처치한 군에서는 각각 1마리에서 상피재생이 경미하거나 관찰되지 않았으며 가피 위쪽으로 괴사조직이 관찰되었다. 10% poly P 25에서는 모든 개체의 섬유증식이 보였으나 다른 군들에서는 섬유증식을 나타내지 않은 개체가 각각 1마리씩 관찰되었다(Fig 1).

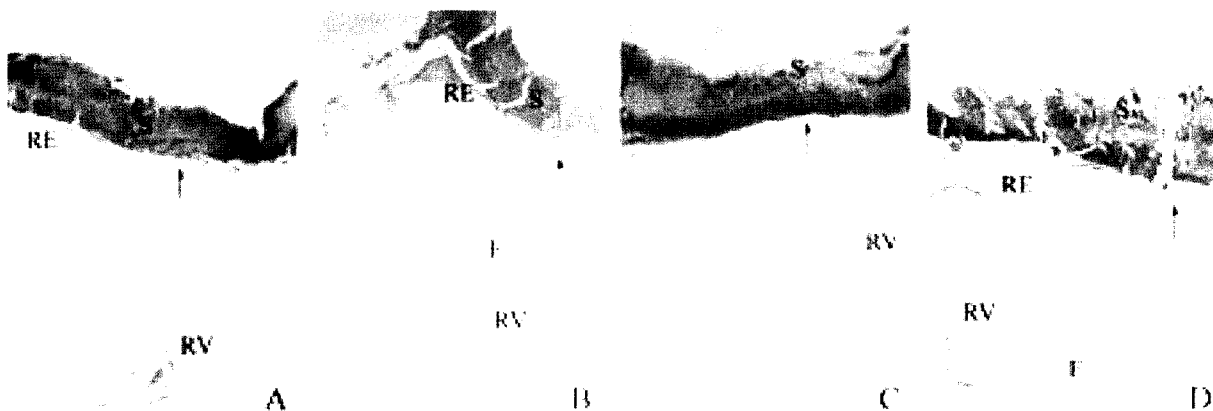
창상유발 후 6일에는 모든 군에서 창상유발 후 3일보다

출혈과 염증이 감소하는 양상을 보였으며 호중구와 호산구가 감소되고 큰포식세포가 침윤되는 염증소견이 관찰되었다. 모든 군에서 혈관신생과 상피재생, 섬유증식이 창상유발 후 3일보다 증가하는 양상을 보였고, 모낭의 재생도 관찰되었다. 10% poly P 25에서는 간질내 교원섬유가 다른 군들에 비해 풍부하게 관찰되었고 일부는 가피에서도 섬유증식이 진행되는 것을 관찰할 수 있었다(Fig 2).

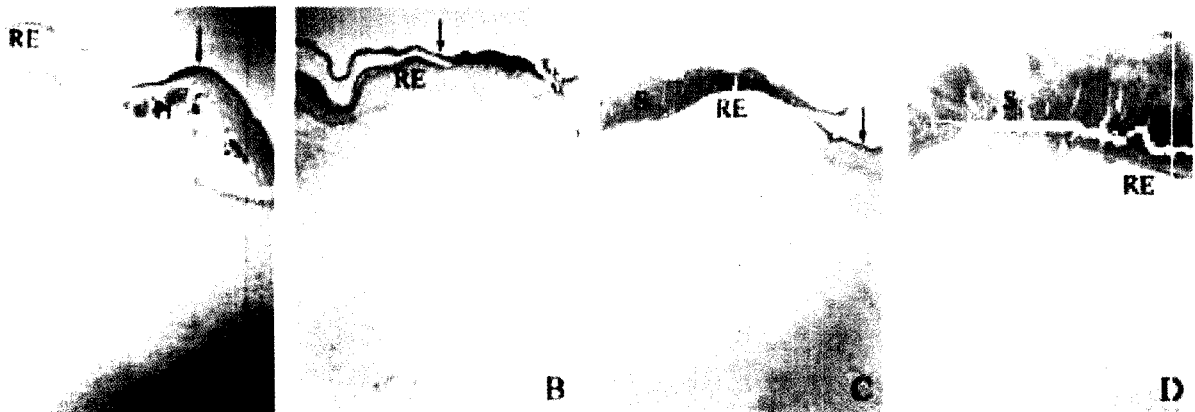
창상유발 후 9일에는 모든 군에서 상피재생이 심화되는 것을 볼 수 있었으며, 10% poly P 25를 제외한 모든 군에서 출혈이 지속되었고, 대조군 및 10% poly P 25와 35를 동량합제하여 처치한 군에서는 염증이 지속되는 것이 관찰되었다. 창상유발 후 3일과 6일에 비해 혈관신생과 상피재생이 증가된 양상을 보였으며, 10% poly P 25는 1마리를 제외한 모든 개체에서 상피가 완전하게 재생되었고 가피가 탈락되고 각질층이 형성되는 것이 관찰되었다. 10% poly P 25에



**Fig 1.** Histopathological findings of skin on day 3 after polyphosphate application in rabbits. H&E stain, ×40. A : saline, B : 10% poly P 25, C : 10% poly P 35, D : 10% poly P 25+35. Infiltration of many numbers of neutrophils and eosinophils were seen in the mucosa and the muscular layer. Hemorrhage was seen in the submucosa of A and necrotic debris was seen in the scar tissue of C and D. ↑ : inflammatory cells, S : scar tissue, H : hemorrhage, ND : necrotic debris.



**Fig 2.** Histopathological findings of skin on day 6 after polyphosphate application in rabbits. H&E stain, ×40. A : saline, B : 10% poly P 25, C : 10% poly P 35, D : 10% poly P 25+35. Infiltration of many numbers of macrophages were seen in the mucosa layer of all groups. Regeneration of vessels, epithelium, and hair follicles were seen in all groups. Also, fibrosis were seen in B and D. ↑ : inflammatory cells, S : scar tissue, RV : revascularization, RE : reepithelialization, F : fibrosis.



**Fig 3.** Histopathological findings of skin on day 9 after polyphosphate application in rabbits. H&E stain, ×40. A : saline, B : 10% poly P 25, C : 10% poly P 35, D : 10% poly P 25+35. Regeneration of epithelium were seen in all groups. Also, hemorrhage was seen in A and scar tissue were seen in C and D. But in B were seen loss of scar tissue and keratinization. RE : reepithelialization, ↑ : keratinization, H : hemorrhage, S : scar tissue



**Fig 4.** Histopathological findings of skin on day 9 after polyphosphate application in rabbits. Masson's trichrome stain, ×40. A : saline, B : 10% poly P 25, C : 10% poly P 35, D : 10% poly P 25+35. Fibrosis were seen in all groups, especially fibrosis of B was compact than other groups. F : fibrosis

서는 다른 군에 비해 간질내 교원섬유가 풍부하게 관찰되었으며 창상 부위쪽으로 치밀하게 형성되는 것이 관찰되었다 (Fig. 4). 일부 대조군에서는 가피가 탈락되어 각질층이 형성된 것을 관찰할 수 있었으나, 10% poly P 35에서는 각질층의 형성이 관찰되기는 하지만 가피의 완전 탈락은 보이지 않았고, 10% poly P 25와 35를 동량함제하여 처치한 군에서는 가피의 탈락과 각질층의 형성이 관찰되지 않았다(Fig. 3).

창상유발 후 3일, 6일 및 9일의 각 처리군별 출혈, 염증, 혈관신생, 상피재생 및 섬유증 등의 병리조직학적 변화를 Table 2에 나타내었다.

출혈은 창상유발 후 3일에 대조군, 10% poly P 25, 10% poly P 35 및 10% poly P 25와 P35를 동량함제하여 처치한 군에서 각각 100%, 40%, 60%, 20%로 나타났고, 창상유발 후 6일에는 각각 80%, 20%, 40%, 20%였으며, 창상유발 후 9일에는 각각 60%, 0%, 20%, 20%로 poly P 25

를 제외한 모든 군에서 출혈이 지속되는 것을 관찰할 수 있었다. 또한 출혈의 정도는 10% poly P 25, 10% poly P 25와 35를 동량함제하여 처치한 군, 10% poly P 35, 대조군 순으로 대조군이 가장 심한 출혈을 보였다.

염증은 대조군, 10% poly P 25, 10% poly P 35 및 10% poly P 25와 P35를 동량함제하여 처치한 군 모두 창상유발 후 3일과 6일에 100%를 나타냈고, 창상유발 후 9일에는 대조군 및 10% poly P 25와 P35를 동량함제하여 처치한 군에서 100%를 나타내 염증이 지속되어 만성경과를 나타내는 것이 관찰되었으나, 10% poly P 25 및 10% poly P 35에서는 각각 40%, 60%로 염증이 감소되는 것이 관찰되었다. 또한 염증의 정도는 10% poly P 25, 10% poly P 35, 10% poly P 25와 35를 동량함제하여 처치한 군, 대조군 순으로 대조군이 가장 심한 염증을 보였다.

혈관신생은 창상유발 후 3일, 6일 및 9일에 모든 군에서

**Table 2.** Histopathological changes after polyphosphate application on the skin wound in rabbits

| Group Degree | Hemorrhage |     |     | Inflammation |     |     | Revascularization |     |     | Reepithelialization |     |     | Fibroplasia |     |     |     |
|--------------|------------|-----|-----|--------------|-----|-----|-------------------|-----|-----|---------------------|-----|-----|-------------|-----|-----|-----|
|              | 3"         | 6   | 9   | 3            | 6   | 9   | 3                 | 6   | 9   | 3                   | 6   | 9   | 3           | 6   | 9   |     |
| C            | -          | 0/5 | 1/5 | 2/5          | 0/5 | 0/5 | 0/5               | 0/5 | 0/5 | 0/5                 | 0/5 | 0/5 | 0/5         | 1/5 | 0/5 | 0/5 |
|              | +          | 3/5 | 3/5 | 3/5          | 0/5 | 0/5 | 1/5               | 3/5 | 2/5 | 2/5                 | 5/5 | 3/5 | 1/5         | 3/5 | 4/5 | 1/5 |
|              | ++         | 2/5 | 1/5 | 0/5          | 3/5 | 3/5 | 4/5               | 2/5 | 3/5 | 2/5                 | 0/5 | 2/5 | 1/5         | 1/5 | 1/5 | 4/5 |
|              | +++        | 0/5 | 0/5 | 0/5          | 2/5 | 2/5 | 0/5               | 0/5 | 0/5 | 1/5                 | 0/5 | 0/5 | 3/5         | 0/5 | 0/5 | 0/5 |
| GI           | -          | 3/5 | 4/5 | 5/5          | 0/5 | 0/5 | 3/5               | 0/5 | 0/5 | 0/5                 | 0/5 | 0/5 | 0/5         | 0/5 | 0/5 | 0/5 |
|              | +          | 2/5 | 1/5 | 0/5          | 0/5 | 2/5 | 1/5               | 2/5 | 1/5 | 1/5                 | 5/5 | 2/5 | 0/5         | 4/5 | 2/5 | 0/5 |
|              | ++         | 0/5 | 0/5 | 0/5          | 4/5 | 2/5 | 1/5               | 3/5 | 4/5 | 3/5                 | 0/5 | 3/5 | 1/5         | 1/5 | 2/5 | 3/5 |
|              | +++        | 0/5 | 0/5 | 0/5          | 1/5 | 1/5 | 0/5               | 0/5 | 0/5 | 1/5                 | 0/5 | 0/5 | 4/5         | 0/5 | 1/5 | 2/5 |
| GII          | -          | 2/5 | 3/5 | 4/5          | 0/5 | 0/5 | 2/5               | 0/5 | 0/5 | 0/5                 | 0/5 | 0/5 | 0/5         | 1/5 | 0/5 | 0/5 |
|              | +          | 1/5 | 1/5 | 1/5          | 0/5 | 0/5 | 2/5               | 4/5 | 3/5 | 1/5                 | 5/5 | 4/5 | 2/5         | 3/5 | 4/5 | 2/5 |
|              | ++         | 2/5 | 1/5 | 0/5          | 1/5 | 4/5 | 1/5               | 1/5 | 2/5 | 4/5                 | 0/5 | 1/5 | 1/5         | 1/5 | 1/5 | 3/5 |
|              | +++        | 0/5 | 0/5 | 0/5          | 4/5 | 1/5 | 0/5               | 0/5 | 0/5 | 0/5                 | 0/5 | 0/5 | 2/5         | 0/5 | 0/5 | 0/5 |
| GIII         | -          | 4/5 | 4/5 | 4/5          | 0/5 | 0/5 | 0/5               | 0/5 | 0/5 | 0/5                 | 1/5 | 0/5 | 0/5         | 1/5 | 0/5 | 0/5 |
|              | +          | 1/5 | 1/5 | 1/5          | 0/5 | 0/5 | 3/5               | 5/5 | 3/5 | 2/5                 | 4/5 | 1/5 | 0/5         | 4/5 | 3/5 | 2/5 |
|              | ++         | 0/5 | 0/5 | 0/5          | 3/5 | 4/5 | 2/5               | 0/5 | 2/5 | 2/5                 | 0/5 | 4/5 | 3/5         | 0/5 | 2/5 | 2/5 |
|              | +++        | 0/5 | 0/5 | 0/5          | 2/5 | 1/5 | 0/5               | 0/5 | 0/5 | 1/5                 | 0/5 | 0/5 | 2/5         | 0/5 | 0/5 | 1/5 |

C : saline, GI : 10% poly P 25, GII : 10% poly P 35, GIII : 10% poly P 25+35

\* Days after poly P application

\*\* - : none, + : mild, ++ : moderate, +++ : complete or severe

\*\*\* No. of cases showing histopathological changes / No. of tested

100%로 증가하는 양상을 나타냈고, 특히 10% poly P25에서 혈관신생이 가장 많이 나타나는 것을 관찰할 수 있었다.

상피재생은 창상유발 후 3일, 6일 및 9일에 모든 군에서 100%로 증가하는 양상을 나타냈으며, 창상유발 후 9일에 상피재생이 완전하게 되고 가피가 탈락되어 각질층이 관찰된 것은 대조군, 10% poly P 25, 10% poly P 35 및 10% poly P 25와 P35를 동량함제하여 처치한 군에서 각각 60%, 80%, 40%, 40%로, poly P 25에서 1마리를 제외한 모든 개체에서 상피의 재생이 완전하게 일어난 것을 볼 수 있었다.

섬유증식은 창상유발 후 3일에 모든 군에서 나타났으나 대조군, 10% poly P 35 및 10% poly P 25와 P35를 동량함제하여 처치한 군은 각각 1마리에서 섬유증식을 보이지 않았다. 창상유발 후 6일과 9일에는 섬유화가 진행되는 것이 관찰되었으며, 10% poly P 25 및 10% poly P 25와 35를 동량함제하여 처치한 군에서 완전한 섬유화가 각각 40%, 20%로 특히 10% poly P 25에서 다른 군보다 치밀한 섬유증식을 관찰할 수 있었다.

이상의 결과에서 10% poly P 25에서 출혈과 염증이 다른 군에 비해 조기에 감소되고 혈관신생, 상피재생, 섬유증식이 다른 군에 비해 빠르게 시작되며 창상유발 후 9일에는 혈관과 상피의 재생이 거의 완전하게 되었고 섬유증식이 치밀한 것을 관찰할 수 있었다.

## 고 찰

Lee 등<sup>21</sup>은 poly P가 세균 capsule의 구성성분이 되며, 그람 양성균의 세포벽 구조에 필수적인 금속이온(Mg<sup>2+</sup>, Ca<sup>2+</sup>)을 chelate하여 항균작용을 나타내며, 육류에 첨가제로 사용되어 수분결합력을 증가시키고 산패를 방지하여 색깔 보존력을 높이고 항균제로 작용한다고 하였다. Maier 등<sup>24</sup>이 *Bacillus cereus*에 long-chain poly P를 적용한 결과 세포의 용해, 살균·정균 효과와 세포의 septum 형성을 저해하는 효과가 있었다고 했다. Florin 등<sup>9</sup>은 *Clostridium difficile* B 독소에 감염된 사람의 폐에서 poly P가 매개되어 세포독성을 방어한다고 하였으며, Lorenz 등<sup>23</sup>은 poly P type 15와 34를 적용하여 HIV에 대한 항바이러스 효과가 있음을 밝힌 바 있다.

이러한 연구 결과에 기초하여 기존에 창상치유 물질로 사용된 바가 없는 poly P가 피부창상 치유에 미치는 영향을 창상 연축률과 병리조직학적 검사를 통하여 조사하였다.

White 등<sup>35</sup>은 창상치유는 살아 있는 모든 생물이 지니고 있는 기본 필수적인 현상으로 손상 후부터 시작하여 염증의 급성기에 삼출되어 나온 조직액과 세포를 이용하여 진행되고 섬유소성 조직의 복구 작업과 증식성 재생 현상을 말한다고 하였다. 동물들의 수복 과정은 재생 능력 손상 부위의 청결도 및 오염 여부 그리고 조직의 종류에 따라 다르다고 하였다.

Schilling<sup>31</sup>은 포유동물에서는 상피조직과 결합조직은 광범위하게 재생되나 대부분의 조직은 그 재생능력이 한정되어 있어서 척추 동물에서의 창상치유는 주로 염증반응 말기에 새로운 모세혈관 형성, 섬유증식, 상피조직재생을 동반한다고 하였다. 본 실험에서도 창상치유 과정에서 혈관재생과 섬유증식증, 상피재생이 창상유발 후 3일, 6일 및 9일에 활발하게 일어나는 것을 관찰할 수 있었다.

Van Hattum 등<sup>32</sup>은 치유되는 창상에서의 새로운 상피세포의 증식은 피부와 표면 조직의 완전한 수복을 위해 필요한 것으로 피부 표피에 있어서 상처 주변부의 살아 있는 상피조직의 기저세포가 손상 직후 섬유소로 덮힌 창면으로 퍼지기 시작하며 유주 상피세포가 다형성이고 두툼한 위축을 내어 아메바 운동을 하여 fibrin strands 내로 침투한다고 하였다. 또한 모낭과 같은 피부 부소기관들의 손상 받지 않은 상피세포들은 여기에서 증식되어 손상된 표피의 결손부위를 채우게 된다고 하였는데 본 실험에서도 창상을 유발한 부위의 양쪽 가장자리부터 상피세포가 재생되는 것을 관찰할 수 있었다.

Page 등<sup>26</sup>은 봉합이 안된 조직의 창상은 육아조직이 창상 기저부에 형성되어 치유되어야 하는데 이곳에는 괴사조직, 적혈구 및 사멸된 세균이 들어 있어 세균이 없어졌다 하더라도 재오염으로 인해 만성 경과가 지속될 수 있으며 그 내부에 모세혈관 분아가 일정하게 배열되어 있고 삼출물이 없으며, 과립상을 띠고 있다고 하였다. 본 실험에서도 대조군, 10% poly P 25, 10% poly P 35 및 10% poly P 25와 P35를 동량함제하여 처치한 모든 군에서 창상 기저부에 형성되었던 육아조직이 탈락되어 각질세포층을 형성하였으나 poly P 25를 제외한 다른 군은 몇몇 개체에서 육아조직이 탈락되지 않고 남아있어 창상 치유에 있어서 만성 경과를 보였다.

Ross 등<sup>30</sup>은 교원질이 불활성의 결합물질 상태로 있는 것이 아니라 합성과 제거가 서서히 진행되는 동적 상태의 물질로 시간이 지나면서 교원섬유는 점차 교원섬유 간의 결합력 증진으로 강해진다고 하였다. 창상이 용해되고 삼출물이 흡수되면 모세혈관 재생과 섬유조직 형성이 뚜렷해진다. 이어서 기질화로 scar 또는 cicatrix를 형성하기 시작하며 교원질이 많아짐에 따라 섬유아세포는 덜 활성화된다. 그리고 scar는 교원질이 많기 때문에 하얗게 되면서 광택이 난다. 가피는 외계 공기에 노출된 창상 부위에서 형성된다. 비록 건조한 삼출물은 피부에 있어서 병원성 세균에 대한 방어벽이 될 수 있으나 창상의 치유를 방해하기도 한다. 신생 상피세포는 가피가 있는 곳에서는 부착되지 않으므로 그 가피 아래에서 발육해야 하거나 괴사물질을 피해야 한다. 이 가피는 창상부위가 습윤하거나 세균이 없으면 더욱 신속히 진행된다. 본 실험에서는 대조군, 10% poly P 25, 10% poly P 35 및 10% poly P 25와 P35를 동량함제하여 처치한 군 모두에서 창상유발 후 3일부터 가피를 형성하는 것을 관찰할 수 있었으나 창상유발 후 9일에 10% poly P 25에서만 가피가 탈락되어 상피의 완전한 재생과 각질세포층의 재생

이 관찰되었고 다른 군에서는 가피가 탈락되지 않고 남아있어 상피세포와 각질세포층의 재생이 느려 창상치유가 지연되는 것을 볼 수 있었다.

창상부의 병리조직학적 소견을 보면 창상유발 후 1일에 대조군에서는 염증세포인 호중구가 창상부 조직 심부까지 미만성으로 침윤되어 있는 것을 관찰할 수 있었지만, poly P 처치군에서는 창상부 표층쪽으로 염증세포인 호중구가 집중되어 침윤된 것을 확인할 수 있었다. 손상부위로 가장 먼저 이동하는 백혈구는 호중구이며 화학적 유인에 의하여 새로운 세포의 간질을 형성하여 다른 백혈구의 이동을 유발한다. 호중구의 기능은 손상부위의 세균을 탐식하여 사멸시키는 것으로 치유과정에서 손상 후 2-5일 사이에 손상부위로 큰포식세포를 유입시켜 축적되게 한다. 또한 큰포식세포는 호중구의 탐식작용을 돕고, 괴사조직, 쇠퇴한 호중구를 탐식하며 다수의 성장인자와 cytokine을 유리하여 염증반응의 유지와 창상치유 과정의 조절을 한다. 특히 10% poly P 25에서 호중구와 더불어 큰포식세포가 일부 침윤된 것을 관찰할 수 있었으며 이와 같은 소견은 poly P가 창상부쪽으로 호중구 뿐만 아니라 큰포식세포의 이주도 촉진하는 것으로 사료된다. 이러한 호중구의 창상부쪽으로의 이동은 염증반응을 국소화시키는 역할을 하며, 창상치유의 단계 중 염증을 단축시켜 치유를 촉진시켜 준다<sup>36</sup>. 홍<sup>31</sup>은 피부창상 치유에 있어서 yeast glucan이 창상 초기에 창상부로 호중구 및 큰포식세포를 유도하는 기능이 우수하여 혈관신생과 상피재생 및 섬유모세포 이주를 활발하게 한다고 하였다.

Hunt 등<sup>15</sup>은 염증세포가 손상의 감소 후에 수복 과정이 연속되도록 조절하는데 큰포식세포가 주 조절자로 섬유증의 증식, 교원섬유 합성, 혈관신생을 자극하는 물질을 유리한다고 하였고, Leibovich와 Ross<sup>22</sup>는 hydrocortisone과 ant macrophage serum을 병용투여하여 창상에서 큰포식세포의 역할을 관찰한 연구에서 큰포식세포가 제거된 창상은 괴사조직제거와 아교섬유 합성이 현저히 지연되는 것으로 보아 큰포식세포는 초기 창상치유에 중요한 역할을 담당한다고 하였다. Takashima와 Grinnell<sup>33</sup>은 활성화된 큰포식세포는 fibronectin을 생산하는데, 이 fibronectin은 상피의 이주를 촉진시키며 창상 신장강도를 증가시킨다고 하였다. 본 실험에서는 창상유발 후 6일에 대조군, 10% poly P 25, 10% poly P 35 및 10% poly P 25와 P35를 동량함제하여 처치한 군 모두에서 큰포식세포가 침윤된 염증 소견을 볼 수 있었으며 큰포식세포에 의해 모세혈관의 신생, 교원섬유의 생성 및 상피재생이 자극되어 초기 창상치유가 활발히 이루어지고 있음을 알 수 있었다.

창상치유 동안 연속 현상이 일어나는데 myofibroblast가 결합조직의 연속에 중요한 역할을 한다. 상피재생 기간에 표피 세포는 과도한 세포질 연속 기관으로 발달하며 myofibroblast와 형태학적, 면역학적으로 유사한 특징을 보인다. 결론적으로 연속 단백질의 현저한 증가는 창상치유 동안에 섬유아세포와 상피세포에 의해 합성되며 이 과정에서 중요한 역할을 한다는 것을 의미한다<sup>30</sup>. 정 등<sup>38</sup>의 연구에서도

propolis를 창상에 도포하였을 때 propolis의 아미노산 중 50% 가량을 차지하는 arginine과 proline이 결합조직내 단백질 합성을 증가시켜 교원섬유와 탄력섬유의 합성을 증진시켜 창상치유를 촉진하였다고 하였다. 황 등<sup>42</sup>은 피부창상에 건조양막을 적용하여 창상연축과 재상피화를 통한 창상치유 촉진 효과가 있음을 밝힌 바 있고 양 등<sup>37</sup>과 Hegggers 등<sup>14</sup>은 aloe, Mukherjee 등<sup>25</sup>은 *Hypericum hookerianum* 추출물이 창상의 연축과 창상 유합시기를 촉진시켜 창상치유에 효과적이었다고 하였는데, 본 실험에 사용된 poly P도 교원섬유의 증식을 증가시켜 창상의 연축률이 감소됨에 따라 창상치유에 있어서 효과적이라는 것을 알 수 있었다.

창상의 연축은 myofibroblast 세포의 집합에 의한 매개에 의한다고 생각되며, 손상 후 2-3일에 창상내로 섬유모세포와 myofibroblast가 이주하여 창상의 주변에 방추형의 표피세포가 band 형태로 둘러싸며 따라 생긴 연축력에 의한 것으로 보인다<sup>1</sup>.

Swain<sup>32</sup>은 창상치유 기간에는 섬유아세포에 의해 교원섬유가 생성되어 창상 초기에 창상의 신장강도를 크게 증가시키고 오랜 시간에 걸쳐 서서히 줄어든다고 하였다. 본 연구에서도 10% poly P 25에서 큰포식세포, 섬유아세포가 초기에 출현하고 육아조직 및 교원섬유가 빠른 증식을 보여 다른 군에 비하여 창상치유 속도가 빠르다는 것을 알 수 있었다.

피부창상에 수용성 chitin<sup>4</sup>, lysophosphatidic acid<sup>8</sup> 등의 물질을 적용하였을 때 나타나는 전형적인 창상치유 소견인 육아조직 형성, 혈관신생, 교원섬유 형성, 상피재생이 본 실험의 모든 군, 특히 10% poly P 25에서 잘 나타나는 것을 볼 수 있었다.

Gabel과 Thomas<sup>11</sup>는 동물세포와 세포내 분획에서 poly P의 대사적, 기능적 역할은 poly P의 수치가 매우 낮고, 정확하고 민감한 방법의 결여로 인해 분명하지 않다고 하였다. 효소적 분석방법을 통한 연구에서 poly P가 세포배양과 동물 조직에 다양하게 존재하는 것이 확인되었으며 농도는 일반적으로 10-100 mM이고 크기는 100-1000 residue로 세포내 소기관 중에서 라이소좀, 미토콘드리아 등 상대적으로 핵이 풍부한 곳에서 동정되었다고 하였다.

본 실험의 결과, 10% poly 25가 창상유발 후 유의성 있는 창상 연축률의 감소와 병리조직학적 관찰에서 혈관신생, 상피재생, 섬유증식을 증가시키는 것을 알았다. 따라서 피부창상에 있어서 10% poly P 25가 창상치유에 효과적인 약제로 활용될 가능성이 있다고 사료된다. 앞으로도 poly P의 농도와 chain length에 따른 창상치유 효과도 연구되어야 할 것이라고 사료된다.

## 결 론

토끼의 등쪽 피부에 창상을 유발한 후 창상부에 saline, 10% poly P 25, 10% poly P 35 및 10% poly P 25와 35를 동량함제하여 각각 적용하여 poly P가 창상의 연축률 및 병리조직학적 변화에 미친 영향을 관찰하여 다음과 같은

결과를 얻었다.

1. 10% poly P 25, 10% poly P 35 및 10% poly P 25와 35를 동량함제하여 처치한 군 모두에서 대조군에 비하여 창상유발 후 1일부터 7일까지 창상 연축률이 감소하였고, 특히 10% poly P 25에서 창상유발 후 2일부터 6일까지 창상 연축률이 유의성 있게 감소하였고( $p < 0.01$ ), 창상유발 후 8일부터는 유의한 차이를 보이지 않았다.

2. 실험군간 비교에서 창상 연축률은 대조군, 10% poly P 25에서 창상유발 후 2일부터 9일까지 유의성 있게 감소하였고( $p < 0.01$ ), 10% poly P 35 및 10% poly P 25와 35를 동량함제하여 처치한 군에서는 창상유발 후 3일부터 9일까지 유의성 있게 감소하였다( $p < 0.01$ ).

3. 병리조직학적 검사에서는 창상유발 후 3일, 6일 및 9일에 모든 군에서 출혈과 염증이 보였으나 10% poly P 25를 제외한 모든 군에서는 창상유발 후 9일까지 출혈과 염증이 지속되었고, 10% poly P 25에서는 점차적으로 감소하는 양상을 보였다. 혈관신생과 상피재생은 창상유발 후 3일, 6일 및 9일에 모든 군에서 증가하는 양상을 보였으며, 특히 10% poly P 25에서는 창상유발 후 9일에 혈관과 상피의 재생이 거의 완전한 것을 관찰할 수 있었다. 섬유증식은 창상유발 후 3일, 6일 및 9일에 모든 군에서 증가하는 양상을 보였으며, 특히 10% poly P 25에서는 창상유발 후 9일에 다른 군에 비하여 치밀한 섬유증식을 보였다.

이상의 결과로 보아 토끼의 피부창상에 10% poly P 25가 유의성 있는 창상 연축률 감소를 나타내었고 병리조직학적 관찰에서 혈관신생, 상피재생, 섬유증식이 다른 군보다 현저하여 poly P가 피부 창상치유에 효과적인 약제로 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

## 참 고 문 헌

- Baur PS, Jr Parks DH, Hudson JD. Epithelial mediated wound contraction in experimental wounds-the purse-string effect. *J Trauma* 1984; 24(8): 713-720.
- Bowes LE, Jimenez MC, Hiester ED, Sacks MS, Brahmawari J, Mertz P, Eaglstein WH. Collagen fiber orientation as quantified by small angle light scattering in wounds treated with transforming growth factor beta-2 and its neutralizing antibody. *Wound Repair Regen* 1999; 7(3): 179.
- Browder W, Williams D, Lucore P, Pretus H, Jones E, McNamee R. Effect of enhanced macrophage function on early wound healing. *Surgery* 1988; 104(2): 224-230.
- Cho YW, Cho YN, Chung SH, Yoo G, Ko SW. Water-soluble chitin as a wound healing accelerator. *Biomaterials* 1999; 20(22): 2139.
- Clark RAF. Cutaneous tissue repair : basic biologic considerations. *I J Am Acad Dermatol* 1985; 13: 701-725.
- Crooke E, Akiyama N, Rao N, Kornberg A. Genetically altered levels of inorganic polyphosphates in *Escherichia coli*. *J Biol Chem* 1994; 269: 6290-6295.
- Demling RH. Oxandrolone, an anabolic steroid, enhanced the healing of a cutaneous wound in the rat. *Wound Repair Regen*



- 2000; 8(2): 97.
8. Demoyer JS, Skalak TC, Durieux ME. Lysophosphatidic acid enhances healing of acute cutaneous wounds in the mouse. *Wound Repair Regen* 2000; 8(6): 530.
  9. Florin I, Thelestam M. Polyphosphate-mediated protection from cellular intoxication with *Clostridium difficile* toxin B. *Biochim Biophys Acta* 1984; 805(2): 131.
  10. Gabbiani G, Badonnel MS. Contractile events during inflammation. *Agents Actions* 1976; 6(1-3): 277-280.
  11. Gabel NW, Thomas V. Evidence for the occurrence and distribution of inorganic polyphosphate in vertebrate tissues. *J Neurochem* 1971; 18: 1229-1242.
  12. Griffith EJ. In search of a safe mineral fiber. *Chemtech* 1992; 22: 220-226.
  13. Hardoyo K, Yamada H, Shinjo J, Kato, Ohtake H. Production and release of polyphosphate by a genetically engineered strain *Escherichia coli*. *Appl Environ Microbiol* 1994; 60: 3485-3490.
  14. Heggors JP, Kucukcelebi A, Listengarten D, Stabenau J, Ko F, Broemeling LD, Robson MC, Winters WD. Beneficial effect of Aloe on wound healing in an excisional wound model. *J Altern Complement Med* 1996; 2(2): 271.
  15. Hunt TK, Knighton DR, Thakral KK, Goodson WH 3rd, Andrew WS. Studies on inflammation and wound healing : angiogenesis and collagen synthesis stimulated in vivo by resident and activated wound macrophages *Surgery* 1984; 96(1): 48-54.
  16. Kornberg A. Minireview ; Inorganic polyphosphate : toward making a forgotten polymer unforgettable. *J Bacteriol* 1995; 177(3): 491-496.
  17. Kornberg A. Phosphate in microorganisms : cellular and molecular biology(Torriani-Gorini A, Yagil E and Silver S, eds.). *A Society Microbiol* 1994; 204-208.
  18. Kornberg A. Tribute to professor Igor S Kulaev. *BioProt Network*, 1999.
  19. Kornberg A, Rao NN, Ault-Riche D. Inorganic polyphosphate : a molecule of many functions. *Annu Rev Biochem* 1999; 68: 89-125.
  20. Kulaev IS. The biochemistry of inorganic polyphosphates. Wiley, New York. 1979.
  21. Lee RM, Hartman PA, Stahr HM, Olson DG, Williams FD. Antibacterial mechanism of long-chain polyphosphate in *Staphylococcus aureus*. *J Food Prot* 1994; 57: 289-294.
  22. Leibovich SM, Ross R. The role of the macrophage in wound repair. A study with hydrocortisone and antimacrophage serum. *Am J Pathol* 1975; 78(1): 71-99.
  23. Lorenz B, Leuck J, Kohl D, Muller WE, Schroder HC. Anti-HIV-1 activity of inorganic polyphosphates. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1997; 14(2): 110.
  24. Maier SK, Scherer S, Loessner MJ. Long-chain polyphosphate causes cell lysis and inhibits *Bacillus cereus* septum formation, which is dependent on divalent cations. *Applied and environmental microbiology* 1999; 65(9): 3942-3949.
  25. Mukherjee PK, Suresh B. The evaluation of wound-healing potential of *Hypericum hookerianum* leaf and stem extracts. : *J Altern Complement Med* 2000; 6(1): 61.
  26. Page RC, Davies P, Allison AC. Pathogenesis of the chronic inflammatory lesion induced by group A *Streptococcal* cell walls. *Lab Invest* 1974; 30: 568.
  27. Pick U, Weiss M. Polyphosphate hydrolysis within acidic vacuoles in response to amine-induced alkaline stress in the halotolerant alga *Dunaliella salina*. *Plant Physiol* 1991; 97: 1234-1240.
  28. Probst CW. Wound healing and specific tissue regeneration. In: *Textbook of small animal surgery*, 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders, 1993: 53-63.
  29. Rodgers K, Xiong S, Felix J, Roda N, Espinoza T, Maldonado S, Dizerega G. Development of angiotensin(1-7) as an agent to accelerate dermal repair. *Wound Repair Regen* 2001; 9(3): 238.
  30. Ross R, Everett NB, Tyler R. Wound healing and collagen formation. VI. The origin of the wound fibroblast studied in parabiosis. *J Cell Biol* 1970; 44: 645.
  31. Schilling JA. Wound healing. *Physiol Rev* 1968; 48: 374.
  32. Swain T. Secondary compounds as protective agents. *Ann Rev Plant Physiol* 1977; 28: 479-501.
  33. Takashima A, Grinnell F. Fibronectin-mediated keratinocyte migration and initiation of fibronectin receptor function in Vitro. *J Invest Dermatol* 1985; 85(4): 304-308.
  34. Van Hattum AH, James J, Klopper PJ, Muller JH. A model for the study of epithelial migration in wound healing. *Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol* 1979; 30: 221.
  35. White BN, et al. : Wound healing. *Proc Soc Exp Biol Med* 1959; 101: 353.
  36. Williams JD, Topley N., Alobaidi HM, Harber MJ. Activation of human polymorphonuclear leucocytes by particulate zymosan id related to both its major carbohydrate components ; glucagon and mannan. *Immunology* 1986; 58: 117-124.
  37. 양현국, 권오경, 남치주. Aloe가 토끼 창상치유에 미치는 영향. *한국임상수의학회지* 1995; 12(2): 215-220.
  38. 정성일, 강성수, 조성구, 최석화. Propolis가 토끼의 전층 피부 창상치유에 미치는 영향. *한국임상수의학회지* 2000; 17(1): 62-69.
  39. 최순철, 권오경, 남치주. Epidermal growth factor가 가토 창상치유에 미치는 효과. *한국임상수의학회지* 1995. 12(2): 221-226.
  40. 한창수, 김명철. 저에너지 레이저 조사가 창상치유에 미치는 영향. *대한수의학회지* 1997; 37(3): 629-637.
  41. 홍성혁. Yeast glucan이 가토 감염창의 치유에 미치는 효과. *서울대학교 수의학석사논문*, 1994.
  42. 황경택, 권오경, 우홍명, 김대용, 남치주. 소양막이식편이 개의 전층 피부 창상치유에 미치는 효과. *대한수의학회지* 1999; 39(3): 645-652.