

가토의 측두하악관절원판 결손에서 간세포 성장인자가 치유에 미치는 영향

김복주*** · 성화식* · 김철훈*** · 김규천** · 황희성*** · 신상훈*

부산대학교 치의학전문대학원 구강악안면외과학교실*, 부산대학교 치의학전문대학원 해부학교실**,
동아대학교의료원 치과학교실 구강악안면외과***

Abstract

EFFECT OF HEPATOCYTE GROWTH FACTOR ON THE REPAIR OF DEFECT IN THE ARTICULAR DISC IN RABBIT TEMPOROMANDIBULAR JOINT

Bok Joo Kim***, Hwa Sik Seong*, Chul Hoon Kim***, Hee sung Hwang***
Gyoo Cheon Kim**, Sang Hun Shin*

*Department of Oral & Maxillofacial surgery, College of Dentistry, Busan National University**

*Department of , Oral Anatomy, College of Dentistry, Busan National University***

*Department of Oral & Maxillofacial surgery, Department of Dentistry, Dong-A University Medical Center****

Purpose: The purpose of this study is to investigate the therapeutic use of Hepatocyte growth factor(Adv.CMV.HGF) in temporomandibular joint disc defect.

Materials and methods: Twelve New Zealand white rabbits, weighing 2.5 - 3.0 kg, were used in this experiment. Defects(2 mm in diameter) were created in their TMJ discs. Recombinant Adv.CMV.HGF with gelatin sponge(Gelfoam®) as carrier was implanted in the defects. We divided the rabbits into four batches according to the duration of the implantation - of 1, 4, 8, 12 weeks - and both left and right TMJ of each rabbit in all groups were used in the research : left joints were used as experiment group and right were control group. Each batch of rabbits was killed one, four, eight and twelve weeks after the experimentation respectively, and called Group A, B, C, and D. (Group A = 1 wk, B = 4 wks, C = 8 wks, and D = 12 wks)

Results: The experimental group showed a significant increase in the number of chondroblasts and active cell differentiation at the margin of the defects. Compared to the control group, in the experiment group chondroblasts increased and chondrocytes showed a columnar arrangement, which is witnessed at the time of cell differentiation.

Conclusion: This study supports the case that Adv.CMV.HGF may be useful in the repair of articular disc of the rabbit TMJ.

Key words: Hepatocyte growth factor, Articular disc, Repair of defect

I. 서 론

섬유성 연골로 구성된 관절원판은 압박시 수분이 활액으로 유출되어 관절원판의 윤활작용을 도와줄 수 있다. 그러나 이상기능이 오랜 기간 계속될 경우에는 관절원판의 형태 이상을 야기 할 수 있으며, 다양한 원인에 의해서 변성의 과정을 거쳐 결국 원판조직의 천공까지 야기 될 수 있다. 일단

퇴행성의 변화를 겪게 된 관절 원판은 일반적으로 다시 재생되지 않는 것으로 알려져 있는데¹⁾ 이것은 무혈관성의 특징을 가지는 원판자체의 구조적인 한계와 무관하지 않다.

측두하악관절의 기능적 및 구조적인 중요성 때문에 과거 부터 최근에 이르기까지 여러 임상가들에 의해서 관절장애에 수반된 관절원판의 결손부를 치료하는 수많은 방법들이 시도되었으며, 아직까지도 활발히 연구가 이루어지고 있다.

관절 원판의 결손부를 치료하는데 있어서 원판조직 재생의 한계로 인해 보존적인 물리치료와 기능적 장치 치료뿐만 아니라 더욱 침습적인 외과적 수술치료법 등이 다양하게 언급되어 왔으나, 최근에 이르러서는 생체내 세포수준에서 조직의 재생을 유도하는 여러 가지 성장인자들에 대한 연구도 계속되고 있다.

여러가지 성장인자 중의 하나인 간세포 성장인자(hepatocyte growth factor)는 골수간엽세포가 골 조상세포로 분화하고 성숙하는데 중요하게 작용 할 수 있다고 보고되었다.^{6,7)} 또한, Amano 등은 간세포 성장인자가 생체 외 실험에서 골과 연골의 형성을 촉진시킨다고 보고하였으며,⁸⁾ 1995년 Myokai 와 동료들은 간세포성장인자가 생체 외 및 생체 내 연구에서 연골대사에 중요한 역할을 한다고 밝혔다.¹⁰⁾ 이와 같이, 간세포성장인자는 골 및 연골의 형성과 재형성에 있어 중요한 역할을 수행할 수도 있으며, 인체에 존재하는 여러 관절에서 연골성 조직의 치유에 의미 있는 효과를 가지고 있을 것으로 사료되고 있다.

구강악안면외과 영역에서 측두하악관절에 간세포성장인자가 나타내는 효과에 대한 연구는 거의 드물지만, 최근 Quan Dai 등은 Virus와 Gelatin sponge를 이용한 Adv.CMV.HGF를 악관절 내에 국소적으로 적용시켜 Adv.CMV.HGF의 증가를 확인하였다고 보고하였다.¹³⁾

따라서 본 연구의 목적은 가토의 측두하악관절원판에 인위적으로 연골결손부를 형성하고 간세포 성장인자를 적용하여 그 결손부의 치유에 어떤 영향을 미치는지 조직학적, 면역화학법적으로 평가함으로써, 향후 측두하악관절부의 치료, 연구에 기초를 제공하고자 한다.

II. 연구재료 및 방법

1. 연구재료

1) 실험동물

체중 2.5~3.0 kg 내외의 6개월 된 암컷 NewZealand white rabbit 계 가토 12마리를 사용하였다. 실험기간 중 가토는 각각 분리되고 제한된 우리 내에서 자유로이 활동하게 하였으며, 실온에서 실험동물용 고품사료와 수돗물을 자유 습식 하였다. 사육실에서 최소 1주 이상 적응하는 기간을 둔 후에 실험을 시작하였다.

2) 실험재료

간세포성장인자(Hepatocyte growth factor)는 자가증식 능이 없는 adenovirus에 재조합 시킨 형태의 Adv.CMV.HGF를 사용하였다. 바이러스 벡터는 사람 태아 신장 세포주인 293 세포주 (ATCC, Rockville, MD, USA)에서 증폭시켜 cesium chloride 원심분리에 의하여 정제하고 투

석하여 -80 ° C에서 보관하였다.

Adv.CMV.HGF를 gelatin sponge carrier(Gelfoam®, Upjohn, Inc., USA)에 묻혀서 사용하였으며 2 mm 직경과 2 mm의 두께를 가지도록 제작하였다.

2. 연구방법

1) 예비실험

실험에 사용한 Adv.CMV.HGF는 자가복제가 불가능한 재조합 adenovirus이다. 관절내에 간세포 성장인자를 국소적으로 주입하였을때 성장인자가 어느 정도 유지되는지를 실험적으로 확인하는 것이 필요하였으므로 예비실험으로 실험군과 동일한 종의 가토 측두하악관절(temporomandibular joint)낭에 간세포 성장인자인 Adv.CMV.HGF를 10⁸ particles/ml의 용량을 미리 주입한 뒤 일주일 이 경과한 후 관절낭의 관절액을 채취하여, 성장인자의 잔여 여부를 ELISA(Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)를 통해 확인하였다.

실험 결과의 분석은 ELISA reader(spectrophotometer)를 이용하여 흡광도 차이에 의해 HGF의 양을 측정 할 수 있었는데, 간세포성장인자를 주입한 첫날에는 0.839의 수치가 확인되었으나, 14일이 경과한 뒤 흡광도 수치가 포화(saturation)상태로 측정되었다. Quan Dai등이 보고한 것과 유사한 결과를 보이는 것으로,¹⁴⁾ 관절내에 주입된 간세포성장인자가 어떤 기전에 의해서 자가 복제를 일으켰다는 사실을 증명해준다.

이것으로 가토의 측두하악관절에 adenovirus를 매개체로 하는 간세포성장인자를 gelatin sponge(Gelfoam®, Upjohn, Inc., USA)에 묻혀 국소적으로 적용하였을 때, 관절내에서 2주이상 동안 지속된다는 것을 알 수 있다.

2) 실험방법

Xylazine Hydrochloride(Rumpun®, Bayer, Korea) 20 mg/kg 과 Ketamine HCl (Ketalar®, Yuhan, Korea) 50 mg/kg을 5:18로 혼합하여 70 mg/kg의 용량으로 가토의 대퇴부에 근육 주사하여 마취를 시행하였으며 마취 후 실험대에 고정하였다. 양측 측두하악관절이 있는 눈 후방의 수술부위를 제모하고 베타딘 용액을 도포하여 소독한 후, 지혈 목적으로 1:100,000 epinephrine을 함유한 2% lidocain HCl (Octacaine® 100, Novocol pharmaceutical of Canada, Inc., Canada)을 피하주사하였다. 눈 후방부에서 약 10 mm의 수평절개를 시행하였다. 피부와 근육층을 박리하고 가토 관골체부의 골막을 노출시킨 다음, 다시 골막절개를 시행하였다. 골막을 박리하여 관절낭을 노출시켰다. 골막의 박리를 상전방으로 시행하면서 관절낭을 확인하였으며,(Fig. 1) 출혈에 주의하면서 관절낭에 절개를

주고 관절원판을 노출시켰다. 노출시킨 관절원판을 날카로운 조직검자를 이용해 후상방으로 견인하였으며, 직경 2 mm 크기의 골결손부를 round bur를 이용하여 형성하였다.(Fig. 2) 연골결손부 변연의 과열손상을 방지하기 위해 멸균된 식염수로 지속적으로 세척하였다. 모든 외과적 과정들은 조심스럽게 진행되었으며, 특히 골막과 관절낭주위의 혈관들이 손상 받지 않도록 주의하였다. 좌측 연골 결손부를 실험군으로 사용하였으며, 우측 연골 결손부를 대조군으로 하였다.

대조군으로 사용된 연골 결손부에는 상온에서 멸균된 생리식염수만 흡수된 Gelatin sponge carrier(Gelfoam®, Upjohn, Inc., USA)를 적용하였다. 실험군으로 사용된 연골결손부에는 Gelfoam에 간세포성장인자를 지니고 있는 바이러스(adv.CMV.HGF)를 흡수시켜 적용하였다.(Fig. 3)

흡수성 봉합사로 관절낭과 골막의 봉합을 시행하였으며, 다음으로 같은 흡수성 봉합사를 이용하여 근육층과 표피하층을 봉합하였다. 표피부위는 비흡수성 봉합사로 연속봉합법을 시행하였다. 봉합부위의 치유를 촉진하고 감염을 방지하기 위해 항생제 연고를 적용하였으며, 예방적으로 항생제(Ceftzole®, CJ inc., Korea)를 대퇴부에 근육주사하였다.

외과적 실험을 시행한 후, 각 군당 3마리씩 1주군, 4주군, 8주군, 12주군으로 나누었는데 1주군은 또다시 각각 1마리씩 1일, 3일, 7일의 개체로 나누어 희생하였다.

3) 표본제작

가토에 전신마취를 유도하여 측두하악관절부위로 다시 접근하여 관절원판을 채취하였다. 이후에 조직의 고정을 위해서 4% 중성포르말린 용액에 담았다.

일반적으로 골조직 표본을 제작하기 위해서는 관류고정이 후에 탈회과정을 거쳐야 하지만 연골성의 관절원판은 무혈관성 구조로 관류가 필요하지 않았으며, 조직을 조직캡슐에 넣어 흐르는 물에 12시간 동안 수세한 다음, 통상적인 방법에 따라 알콜과 크실렌으로 탈수와 투명화를 시킨 후 파라핀에 포매하고 4 μm 두께로 횡단연속절편을 제작하였다.

4) 육안적 검사

실험기간동안 가토의 체중과 활동성 등의 생활력 및 수술부위의 감염소견을 관찰하였으나 유의한 변화는 발견되지 않았으며, 관절 수술로 인한 가토의 feeding 문제도 또한 수술 후 2일이 경과한 후부터는 술 전과 동일한 상태를 유지하고 있는 것으로 관찰되었다. 가토를 희생 후 채취된 관절원판에서 연골의 치유상태나 연골생성정도, 연골질을 육안적으로 관찰하였다.

5) 조직학적 검사

제작된 표본을 관찰하기 위해 Hematozylin-Eosin(H-E)으로 염색하여 현미경을 통해 관찰하였다.

6) ELISA(Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)

실험군과 동일한 종의 가토 측두하악관절(temporomandibular joint)낭에 간세포 성장인자인 Adv.CMV.HGF를 108 particles/ml의 용량을 미리 주입한 뒤 일주일이 경과한 후 관절낭의 관절액을 채취하여, 성장인자의 잔여 여부를 ELISA(Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)를 통해 확인하였다.

Ⅲ. 연구결과

1. 육안적 소견

실험을 시행한 모든 가토들은 건강한 상태를 유지하였고 체중이 증가하였다. 성장장애나 수술부위의 감염, 음식물 섭취 문제에 관한 임상증상은 관찰되지 않았으며, 수술부위는 잘 치유되었다.

연골결손부를 형성하고 간세포 성장인자를 적용한지 1일, 3일, 1주, 4주, 8주, 12주가 지난 백서를 차례로 희생시켜 결손부를 노출시켜 조직을 채취한 뒤 육안적으로 관찰하였다. 1일, 3일, 1주, 4주가 경과한 가토의 결손부에서는 실험군과 대조군, 양측 모두 육안적으로 확인할 정도의 연골의 형성은 보이지 않았으며, 결손부와 정상연골과의 경계는 뚜렷이 구별할 수 있었다. 8주가 경과한 가토의 실험군 결손부는 새로이 형성된 섬유성 조직으로 연골결손 경계부가 채워져 있었으나, 명확한 연골의 형성을 확인하기 어려웠고 대조군 결손부는 별다른 변화를 보이지 않았다. 12주째 실험군의 결손부 역시 섬유성의 변화가 경계부 주위로 관찰되었으나 연골 형성은 육안적으로 관찰이 되지 않았다. 대조군은 다른 실험군과 마찬가지로 유의한 차이가 없었다.

2. 조직학적 소견

Adv.CMV.HGF를 적용한 지 3일이 지난 대조군의 조직소견을 보면, 결손부의 경계부에 약간의 적혈구가 관찰되며, 연골세포들이 관찰된다.(Fig. 4) 실험군에서는 대조군에 비해 아직까지 큰 차이를 보이고 있지 않는다.(Fig. 5) 1주가 지난 조직에서는 연골모세포의 수가 실험군과 대조군에서 약간 차이가 나는 것을 확인할 수 있고 특이할 만한 것은 실험군의 연골모세포들은 선상의 배열을 보이고 있는 것을 관찰할 수 있다. 그러나 새로운 연골조직의 형성은 실험군과 대조군 모두에서 관찰되지 않는다.(Fig. 6, 7) 4주에서도 유사한 경향을 보이는데 특히 실험군에서는 연골세

포의 분열양상을 확실히 확인할 수 있다.(Fig. 8, 9) 8주군에서는 4주에 비해 확연한 차이가 관찰되지 않지만, 대조군에 비해 실험군이 길게 염색되는 양상을 보인다.(Fig. 10, 11) 12주군의 실험군 조직에서는 더욱 명확한 연골모세포

의 활성 양상을 확인할 수 있으며, 새로운 연골세포로 분화되는 과정에서 나타나는 선상의 배열이 뚜렷하게 관찰된다.(Fig. 12, 13)



Fig. 1 Before surgery, shaved rabbit temporal area. Skin and Muscles were dissected and zygoma expose was done. After capsular incision, disc was exposed.



Fig. 2 Disc defect was performed by round bur(No.6)

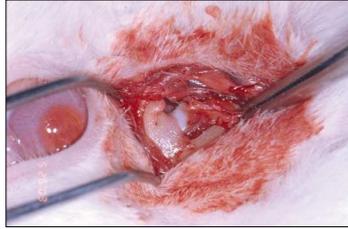


Fig. 3 Gelform with HGF was placed in prepared defect disc.

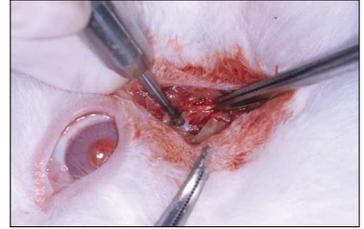


Fig. 4 Histologic findings at 3 days after disc defect formation, control group. we can find some erythrocytes and chondrocytes on margin of defected site. (H-E stain, $\times 100$)



Fig. 5 Histologic findings at 3 days after disc defect formation, experimental group. No significant defferencies are detected from control group. (H-E stain, $\times 100$)



Fig. 6 Histologic findings at 7 days after disc defect formation, control group (H-E stain, $\times 100$)



Fig. 7 Histologic findings at 7 days after disc defect formation, experimental group. Compared to the control group, in the experiment group chondroblasts increased and chondrocytes showed a columnar arrangement. (H-E stain, $\times 100$)

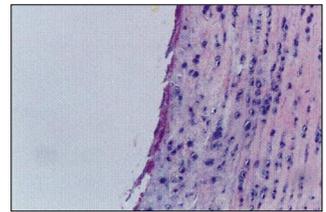


Fig. 8 Histologic findings at 4 weeks after disc defect formation, control group (H-E stain, $\times 100$)

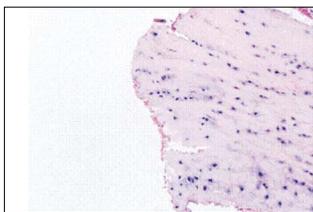


Fig. 9 Histologic findings at 4 weeks after disc defect formation, experimental group (H-E stain, $\times 100$)

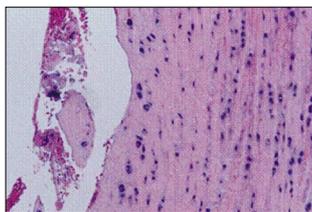


Fig. 10 Histologic findings at 8 weeks after disc defect formation, control group (H-E stain, $\times 100$)

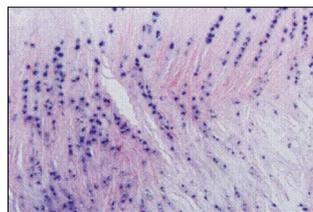


Fig. 11 Histologic findings at 8 weeks after disc defect formation, experimental group (H-E stain, $\times 100$)

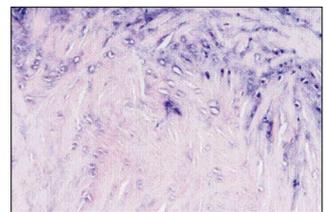


Fig. 12 Histologic findings at 12 weeks after disc defect formation, control group (H-E stain, $\times 100$)

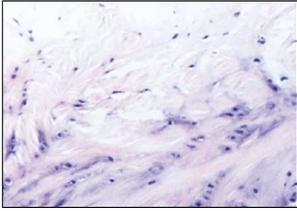


Fig. 13 Histologic findings at 12 weeks after disc defect formation, experimental group. the number of chondroblasts and cell differentiation increased at the margin of the defects. Compared to the control group, in the experiment group chondroblasts increased and chondrocytes showed a columnar arrangement, which is witnessed at the time of cell differentiation. (H-E stain, $\times 100$)

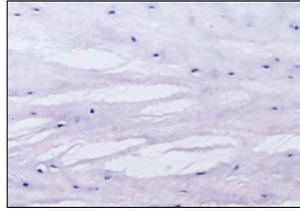


Fig. 14 Saturation of Adv.CMV.HGF after topical application on rabbit temporomandibular joint.

IV. 총괄 및 고찰

간세포성장인자는 광범위한 세포 종류에서 다양한 생물학적 활성을 가지는데, 주요 기능으로는 세포분열 촉진, 세포의 운동성 증가, 형태형성 촉진과 세포자멸사(apoptosis)의 억제 작용이다.^{18,19,20,21,22)} 이러한 생물학적 활성은 개체 발생과 세포 재생에서 조직 구조의 형성에 중요하다. 다양한 연구에서 간, 태반, 폐, 치아, 유방과 신장을 포함하는 상피성 기관의 발생과 형태형성에서 간세포성장인자의 중요성을 보여주었다.^{18,21)} 이후 모두 동일 간세포성장인자는 조직손상이 있을 때 세포 재생을 촉진시키며 손상으로부터 여러 장기의 보호기능도 가지고 있다.^{20,21)} 여러 가지 급성 손상이나 질환에서 혈중과 조직내 간세포성장인자가 증가하는 것은 이를 반증한다. 또한 간세포성장인자는 혈관형성을 촉진시켜 조직에 투여되면 과도한 혈관형성을 야기한다.^{23,24)} 그리고, 실험적으로 야기된 동물의 간, 신장, 위의 급성 손상에서 합성 간세포성장인자의 투여나 간세포성장인자 유전자치료는 급성 손상으로 부터 조직을 보호하고 재생을 촉진시켜 급성 손상에 의한 질환의 치료제로서 가능성을 보여주었다.^{17,25 - 32)}

골 및 연골조직의 치유와 재형성에 있어 간세포성장인자의 역할에 대한 기전이 정확히 알려진 것은 많지 않다. 몇몇의 연구를 살펴보면 간세포 성장인자(hepatocyte growth factor)는 정상간세포를 강력하게 활성화시키고 골모세포와 파골세포에 의해 생성된다고 보고되었으며,^{2,3,4,5)} G. D'ippolito 등은 간세포 성장인자가 비타민 D₃ 와 함께 작용하여 연골 조상세포와 골모세포의 분화를 촉진시킨다고 하였다.⁹⁾ Takebayashi 등은 간세포 성장인자가 연골세포의 분화를 촉진 시킨다고 하였으며,¹⁰⁾ Wakitani 등은 연골 조직

의 치유를 촉진 시킨다고 보고하였다.¹¹⁾ Giovanni 등은 생체 외 실험에서 간세포 성장인자가 함유된 수산화인회석(Hydroxyapatite)이 골모세포의 분화를 현저하게 증가시켰다고 보고하였다.¹²⁾ 간세포성장인자는 많은 발육성 조직에서 다양한 효과를 나타내는, 분열(mitogenic), 운동(motogenic), 형태발생(morphogenic)의 특성을 가지고 있으며, 조직의 치유와 재형성에 중요한 요소임이 알려져 왔다.^{10,14,15,16)} 또한 이것은 이형이분자(heterodimeric)로서 69 kDa의 α -chain과 34 kDa의 β -chain으로 구성되고 간세포성장인자 수용체는 heterodimeric tyrosine kinase인 원종양유전자 c - met로서 간세포성장인자가 특이적으로 결합하면 세포내 신호전달 cascade가 활성화된다.¹⁷⁾ 앞서 언급했듯이, 간세포성장인자와 그의 수용체인 MET는 둘 다 골모세포와 파골세포에서 발현된다고 알려졌다.²⁾ 이러한 발견은 줄기세포(stem-cell)의 증식과 분화에 있어서의 역할에 더불어 간세포성장인자가 골격의 성장과 항상성의 유지에 있어 중요한 역할을 할 수도 있음을 제시한다. 그러나, 간세포성장인자가 단독으로 활성을 가지는지 다른 골 및 연골형성 관련인자들과 함께 작용하는지는 명확하지 않다.

이에 본 연구에서는 간세포 성장인자가 단독으로 연골모세포 및 연골 결손부의 치유에 어떠한 영향을 미치는지 알아보기 위하여 가토의 관절원판에 직경 2 mm의 연골결손부를 형성한 다음 한쪽에 간세포성장인자를 적용하고 반대측 결손부에는 멸균생리식염수를 적용하여 대조군으로 이용하였다. 동일한 가토의 반대측을 대조군으로 사용한 이유는 동일한 개체내에 실험군과 대조군을 두어서 실험동물간의 상태 차이로 인한 실험 오차를 줄여 좀 더 정확한 비교를 하기 위해서였다. 적용한 간세포성장인자를 생체내로 적용하기 위하여 바이러스를 벡터로 이용한 Adv.CMV.HGF를 사용하였으며, 바이러스를 골 결손부에 적용하기 위한 저장체로 Gelfoam sponge를 이용하였다. 이 스폰지는 3주에서 5주 사이에 흡수가 일어나며 효과적으로 사이토카인 용액(Cytokine solution)³⁴⁾과 골수간엽세포들³⁵⁾을 저장한다고 보고되었다.

바이러스 벡터를 이용한 간세포 성장인자는 생체내에 국소적으로 적용했을때 일주일 이내로 자가 복제가 일어나지 않으면서 흡수 되는 것으로 알려져 있다. 그러나 가토의 측두하악관절에 적용했을때의 기전이 명확하게 알려진 것이 없기 때문에 예비실험으로 가토의 악관절에 국소적으로 주입 후 Adv.CMV.HGF의 시간에 따른 잔여량을 ELISA를 이용해 확인한 결과 Adv.CMV.HGF가 2주이상의 기간동안 관절내에서 국소적으로 유지되고 있는 것을 확인할 수 있었다.

본 실험의 조직학적 소견 결과에서 간세포성장인자를 적

용한 실험군의 결손부가 대조군의 결손부에 비하여 시간이 경과할수록 상대적으로 더 많은 연골모세포 및 연골세포가 형성되어 것을 볼 수 있었다. 실험군의 조직학적 소견을 보면 1주째부터 뚜렷한 차이를 보이고 4주가 경과한 실험군에서 대조군에 비해 더 활발한 연골모세포의 이주 및 세포 외 기질의 증가를 볼 수 있었다. 8주, 12주가 경과한 실험군에서는 현저히 증가된 연골모세포와 연골세포가 활성화되며 분열할 때 관찰되는 선상의 배열들을 명확히 관찰할 수 있었다.

상기 결과에서 볼 때, 간세포성장인자가 연골 결손부의 치유에 있어 연골모세포의 생성과 분화활성, 신생연골의 형성에 긍정적인 영향을 주고 있음을 알 수 있으며, 향후 결손부 재건에 있어서 간세포성장인자의 이용 가능성을 제시하고 있다. 하지만, 본 연구에서는 각 군당 실험동물 수를 3마리로 하였기에 통계학적 비교 연구를 하기에 힘든 점이 있었으며, 바이러스의 저장체로 사용된 Gelfoam sponge의 효과를 배제하지 못하였다. 또한 실험용으로 사용한 가토가 3개월이란 짧은 성장기간이 경과한 덜 성숙한 동물이란 점도 실험에 간접적인 영향을 미쳤으리라 사료된다. 이러한 문제점들과 함께 결손부 형성시의 외상의 정도, 골막 봉합의 일관성, 간세포성장인자의 적용방법과 시기 등에 대해 더 연구하고, 추가적인 임상실험을 통해 간세포성장인자의 효용력에 대하여 저자는 점진적으로 보완할 예정이다.

본 실험의 결과들은 간세포성장인자를 다른 관절과 마찬가지로 측두하악관절의 관절원판 결손부 재건에 도움을 줄 수 있는 가능성을 제시하고 있다고 생각되어지며, 향후 지속적인 생체 내, 생체 외 실험, 연구들이 필요하리라 사료되어진다.

V. 결 론

본 연구는 연골 결손부에 미치는 간세포성장인자의 효과를 알아보기 위하여 체중 2.5 - 3.0 kg 내외의 6개월된 암컷 NewZealand white rabbit 계 가토 12마리를 이용하여 측두하악관절의 관절원판에 결손부를 형성한 다음, 좌측 결손부에 간세포성장인자를 적용하여 1일, 3일, 1주, 4주, 8주, 12주간 사육한 뒤 희생하여 조직학적 분석을 통해 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 예비실험을 통해 가토의 측두하악관절에 adenovirus를 매개체로 하는 간세포성장인자(Adv.CMV.HGF)를 저용량(10^8 particles/ml)으로 Gelatin sponge에 묻혀 국소적으로 적용하였을 때 악관절내에서 2주 이상 동안 지속된다는 것을 알 수 있다.
2. 조직학적 소견에서, Adv.CMV.HGF를 적용한 가토의 연골 결손부에서 대조군에 비해 연골세포의 활성화 증가는 것을 확인할 수 있었다.

상기 결과에서 볼 때, 측두하악관절의 관절원판 연골 결손부의 치유에 있어 간세포성장인자가 다른 관절 부위 연골결손부와 마찬가지로 긍정적 효과를 가지는 것으로 사료되며, 추가적인 연구가 필요할 것이다.

References

1. Wakitani S, Imoto K : Hepatocyte growth factor facilitates cartilage repair. *Acta Orthop Scand* 68 : 474-480, 1997.
2. Grano M, Galimi F, Zamboni G *et al* : Hepatocyte growth factor is a coupling factor for osteoclasts and osteoblasts in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA* 93 : 7644-7648, 1996.
3. Blanquaert F, Delany AM, Canalis E : Fibroblast growth factor-2 induces hepatocyte growth factor/scatter factor expression in osteoblasts. *Endocrinology* 140 : 1069-1074, 1999.
4. Fuller K, Ewens J, Chambers TJ : The effect of hepatocyte growth factor on the behavior of osteoclasts. *Biochem Biophys Res Commun* 212 : 334-340, 1995.
5. Skrtic S, Ohlsson C : Cortisol decreases hepatocyte growth factor levels in human osteoblast-like cells. *Calcif Tissue Int* 66 : 108-112, 2000.
6. Takai K, Hara J, Matsumoto K *et al* : Hepatocyte growth factor is constitutively produced by human bone marrow stromal cells and indirectly promotes hematopoiesis. *Blood* 89 : 1560-1565, 1997.
7. Weimar IS, Miranda N, Muller EJ *et al* : Hepatocyte growth factor/scatter factor(HGF/SF) is produced by human bone marrow stromal cells and promotes proliferation, adhesion and survival of human hematopoietic progenitor cells(CD34⁺). *Exp Hematol* 26 : 885-894, 1998.
8. Amano O, Koshimizu U, Nakamura T *et al* : Enhancement by hepatocyte growth factor of bone and cartilage formation during embryonic mouse mandibular development in vitro. *Arch Oral Biol* 44 : 935-946, 1999.
9. G. D'ippolito, PC Schiller, C Perez-Stable *et al* : Cooperative Actions of Hepatocyte Growth Factor and 1,25-Dihydroxy vitamin D₃ in Osteoblastic Differentiation of Human Vertebral Bone Marrow Stromal Cells. *Bone* 31 : 269-275, 2002.
10. Takebayashi T, Myoukai F, Koyama E, *et al* : Hepatocyte growth factor/scatter factor modulates cell motility, proliferation, and proteoglycan synthesis of chondrocytes. *J Cell Biol* 129 : 1411-1419, 1995.
11. Wakitani S, Imoto K, Kimura T *et al* : Hepatocyte growth factor facilitates cartilage repair. Full thickness articular cartilage defect studied in rabbit knees. *Acta Orthop Scand* 68 : 474-480, 1997.
12. Giovanni Z, Claudia C, Giobanni G *et al* : Hydroxyapatite coated with hepatocyte growth factor(HGF) stimulates human osteoblasts in vitro. *J bone Joint surg[Br]* 82-B : 457, 2000.
13. Quan Dai, Laura Manfield, Tao Wang *et al* : Adenovirus-mediated gene transfer to healing tendon-enhanced efficiency using a gelatin sponge. *J Orthopaedic Research* 21 : 604-609, 2003.
14. Busolino F, Di Renzo MF, Ziche M *et al* : Hepatocyte growth factor is a potent angiogenic factor which stimulates endothelial cell motility and growth. *J Cell Biol* 119 : 629-641, 1992.
15. Roos F, Ryan AM, Chamow SM *et al* : Induction of liver

- growth in normal mice by infusion of hepatocyte growth factor/scatter factor. *Am J Physiol* 268 : G380-G386, 1995.
16. Takayama H, LaRochelle WJ, Anver M *et al* : Scatter factor/hepatocyte growth factor as a regulator of skeletal muscle and neural crest development. *Proc Natl Acad Sci USA* 93 : 5866-5871, 1996.
 17. Yaskashiwa M, Nakayama S, Ohnuma K *et al* : Simultaneous or delayed administration of hepatocyte growth factor (HGF) equally repress the fibrotic change in murine lung injury induced by bleomycin a morphogenic study. *Am J Reap Crit Care Med* 158 : 1937-1944, 1997.
 18. Birchmeier C, Gharardi E : Developmental roles of HGF/SF and its receptor, c-Met tyrosine kinase. *Trends Cell Biol* 8 : 404-409, 1998.
 19. Balkovota DF, Lipochutz IH : Hepatocyte growth factor and the kidney: it is just not for the liver. *Int Rev Cytol* 188 : 225-260, 1999.
 20. Zarnegar R, Michalopoulos GK : The many faces of hepatocyte growth factor from hepatopoiesis. *J Cell Biol* 129 : 1177-1180, 1995.
 21. Matsumoto K, Nakamura T : Hepatocyte growth factor (HGF) as a tissue organizer for organogenesis and regeneration. *Biochem Biophys Res Commun* 239 : 639-644, 1997.
 22. Kopp JB : Hepatocyte growth factor. mesenchymal signal for epithelial homeostasis. *Kidney Int* 54 : 1392-1393, 1998.
 23. Van Bolle E, Wizanbichter B, Chon D *et al* : Potential angiogenic effect of scatter factor/hepatocyte growth factor via induction of vascular endothelial growth factor. the case for paracrine amplification of angiogenesis. *Circulation* 97 : 381-390, 1998.
 24. Morishita R, Nakamura S, Hayashi S *et al* : Therapeutic angiogenesis induced by human recombinant hepatocyte growth factor in rabbit hind limb ischemia model as cytokine supplement therapy. *Hypertension* 33 : 1379-1384, 1999.
 25. Misuzono S, Matsumoto K, Kurosawa T *et al* : Reciprocal balance of hepatocyte growth factor and transforming growth factor- β 1 in renal fibrosis in mice. *Kidney Int* 57 : 937-948, 2000.
 26. Matsuda Y, Matsumoto K, Ichida T *et al* : Hepatocyte growth factor suppresses the onset of liver cirrhosis and abrogates lethal hepatic dysfunction in rats. *J Biochem* 118 : 643-649, 1995.
 27. Yasuda H, Imai E, Shiota A *et al* : Anti-fibrogenic effect of a deletion variant of hepatocyte growth factor on liver fibrosis in rats. *Hepatology* 24 : 638-642, 1996.
 28. Minuno S, Kurosawa T, matsumoto K *et al* : Hepatocyte growth factor prevents renal fibrosis and dysfunction in a mouse model of chronic renal disease. *J Clin Invest* 113 : 1827-1834, 1998.
 29. Kosai K, Matsumoto K, Nakamura T : Hepatocyte growth factor prevents endotoxin-induced lethal hepatic failure in mice. *Hepatology* 30 : 151-159, 1999
 30. Tahara M, Matsumoto K, Nukiwa T *et al* : Hepatocyte growth factor leads to recovery from alcohol-induced fatty liver in rats. *J Clin Invest* 103 : 313-320, 1999.
 31. Ueki T, Kanada Y, Tsutiu H *et al* : Hepatocyte growth factor gene therapy of liver chirrrosis in rats. *Nature Med* 5 : 226-230, 1999.
 32. Takada S, Takushuwa S, Nakamura K *et al* : Effect of hepatocyte growth factor on tacrolimus-induced nephrotoxicity in spontaneously hypertensive rats. *Transplant Int* 12 : 27-32, 1999.
 33. Rashid M. A, Akita S, Razzaque M. S *et al* : Coadministration of basic fibroblast growth factor and sucrose octasulfate(sucral-fate) facilitates the rat dorsal flap survival and viability. *Plast Reconstr Surg* 103 : 941-948, 1999.
 34. Krebsbach PH, Mankani MH, Satomura K *et al* : Repair of crainotomy defect using bone marrow stromal cells. *Transplantation* 66 : 1272-1278, 1998.

저자 연락처

우편번호
 부산대학교 치의학전문대학원 구강악안면외과학교실
 부산광역시 서구 아미동 부산대학병원 구강악안면외과학 교실
신상훈

원고 접수일 2008년 11월 4일
 게재 확정일 2009년 01월 6일

Reprint Requests

Sang Hun Shin
 Department of Oral & Maxillofacial surgery, College of Dentistry
 Busan National University Hospital, Ami-dong, Seo-Gu, Busan
 Tel. 051)240-7431 Fax. 051)244-8334
 E-mail : ssh8080@pusan.ac.kr

Paper received 4 November 2008
 Paper accepted 6 January 2009