부착단백질이 사람 치수세포의 부착 및 증식에 미치는 영향에 관한 연구

경희대학교 치과대학 보존학교실

신영주 · 최호영

Abstract

THE EFFECT OF ADHESIVE GLYCOPROTEINS ON THE ATTACHMENT AND PROLIFERATION OF HUMAN PULPAL CELLS

Young-Joo Shin, D. M. D., M. S. D., Ho-Young Choi, D. D. S., M. S. D., Ph. D.

Department of Conservative Dentistry, Divison of Dentistry, Graduate School, Kyung Hee University

The purpose of this vitro study was to evaluate attachment and proliferation of human pulpal cells to the attachment glycoprotein-coated and non-coated culture dishes.

Well known adhesive glycoproteins were used, such as type I collagen, type IV collagen, fibronectin, laminin, and vitronection. Each adhesive glycoproteins applied onto the culture dishes. In this study, the protein coated and non-coated dishes were classified as each groups. Human pulpal cells onto each culture dishes. After 90 minute, 4 hour and 24 hour incubation attached cells in each group were counted with hematocytometer for evaluation of the attachemnt of human pulpal cells.

The configurations of attached human pulpal cells were done by SEM observation.

The results as follows :

1. After 90 minute incubation the score of attachment of human pulpal cells was best in laminin-coated group among groups. Then fibronectin, type IV collagen group were better, and all proteins were higher than control.
2. After 4 hour incubation the numbers of attachment of human pulpal cells were most in fibronectin coated group.
3. After 24 hour incubation all of adhesive glycoproteins showed high and similar attachemtn effect to human pulpal cells.
4. In SEM observation, fibronectin and type IV collagen groups showed well spreaded human pulpal cells, then laminin group was moderately spreaded, and vitronectin group was mildly spreaded as well as control group.

I. 서 론

치수는 치배의 치유두에서 유래하여 치수강을 채우는 소성결합조직으로 상아질의 형성, 영양, 지각 및 치수를 방어하는 기능을 가지고 있다.

치수의 구성성분은 일반 소성결합조직과 더불어 세포와 세포외기질로 구성되어 있으며 세포성분에는 상아모세포, 섬유모세포 및 미분화간엽세포 등이 있고, 세포외기질에는 주로 교원질과 단백당 및 당단백 등이 함유되어 있다. 이러한 성분들은 세포의 생명을 유지하고 영양의 수송과 대사물질의 수송매체로서의 기능을 가지며, 특히 당단백은 치수조직의 발육 및 치유과정시 치수세포를 분화, 증식, 이동 및 부착시키는 물질로 알려져 있다.

Thesleff 등[1,2]은 치아형성시 상아기질이라 불리는 독특한 석회화기질을 합성 및 분비하는 상아모세포는 외배엽성 중배엽으로 구성된 치유두세포에서 분화, 이동하여 상피근초에 부착되어 상아질을 형성하는데, 이러한 과정은 여러 가지 세포외기질의 성분을 가지고 있는 상피외간엽의 상호작용에 의해 이루어진다고 하였다.

손상받은 치수의 치유과정에서 손상받은 상아모세포를 대체시키는 전구세포의 기원에 대해 Torneck과 Wagner[3], Ruch[4] 및 Veis 등[5] 은 치수의 가장자리에 위치한 세포치밀층에서부터 미성숙 상아모세포가 증식, 이동하여 부착한다고 하였고, Fitzgerald[6,7] 와 Yamamura 등[8] 은 치수의 중심에서 손상부위로 치수섬유모세포, 혈관벽세포 혹은 미분화간엽세포들이 분화되어 기질형성세포의 특징을 가지는 상아모세포로 발육, 이동된다고 하였다.

Klebe[9]는 어떤 손상의 치유시 가장 먼저 분비합성되어 변화를 일으키는 것은 교원질이라 하였고, Butler[10]는 분화된 상아모세포의 경우 상아기질 속으로 교원질을 합성, 분비하고 또한 부착성 비교원단백질도 합성, 분비한다고 하였다.

최근의 연구는 치아조직의 재생기전 과정을 이해하기 위해서 세포외기질 성분을 연구하는 것에 관심을 가지고 있다. 세포부착성 단백질과 인테그린은 세포부착, 세포 상호간에 물질이동과 세포이동 같은 세포활동을 조절하는 과정에서 매우 중요한 역할을 한다고 잘 알려져 있다[11,12].

그러나 세포부착단백질에 관한 선학들의 연구는 많으나 구강조직에 있어서 그들의 역할에 관한 연구는 미흡하며 더우기 치수세포와 연관된 연구는 드문 실정이다.

따라서 치수조직의 발육, 손상시 치유과정은 치수세포의 분화, 부착과 증식에 의해 이루어지므로 세포외기질 성분 중 부착성이 강한 부착단백질이 치수세포의 부착 및 증식에 미치는 영향을 평가하는 것은 의미있는 일이라 할 수 있다.

생체내에서 생성되는 부착단백질로는 fibronectin, 교원질, laminin, 그리고 serum spreading factor로 알려진 vitronectin등이 있다.

이들 부착단백질들은 각각의 세포표면 수용체에 결합하여 세포가 세포외기질에 결합하는 것을 매개하는 역할을 한다[13]. 따라서 이러한 부착단백질들은 세포의 부착 및 증식을 항진시키는데, 시험관내에서 배양되는 치주세포의 경우에도 배양접시 내면에 부착단백질을 도포하면 그 표면에 더 잘 부착하는 것으로 알려져 있다[14-17].

Fibronectin과 제1형 교원질은 치주세포에 대하여 여러 작용으로 그 효과를 보임으로써 일찌기 섬유모세포의 부착실험에 사용된 바 있으며[18-20], 특히 치아조직의 재생 및, 치료과정에 관한 연구에서는 fibronectin이 많이 사용되어 왔다[21,22]. Fibronectin은 배양시 배양되는 세포의 부착을 증진시키는 것으로 알려져 있으며[9], 최근 많은 연구에서 전사과정 중 일차 RNA합성에서 변화가 발생되면서 그 결과 생성된 fibronectin은 그 생물학적 성질이 다양해졌다고 보고된 바 있다[23,24].

Fibronectin은 교원질과 인테그린 같은 세포표면 성분에 대해 부착부위를 가지며, 이 부착부위는 세포외기질의 구성물질과 세포간의 부착에 관여하고[25], 손상된 조직의 제거에도 관여하며[26,27], fibronectin은 개의 치은조직[28]과 흰쥐의 치주조직[29]에서 관찰된 바 있으며 최근 연구에 의하면 발치된 치아에도 분포하였다[30]. 이들 연구의 결과로 미루어 보아 fibronectin은 치아조직에 광범위하게 분포되어 치아조직의 발생 및 치유과정에서 세포외기질단백질로서의 역할을 담

당한다.

최근에 상품화된 vitronectin은 혈장성분의 하나이며 섬유소의 제거와 혈액응고에 관여한다[31] 고 하였으나, 구강조직에서의 역할에 관해서는 거의 알려진 바 없으며, 다만 치수세포의 부착에 영향을 미칠 것으로 예견하는 보고가 있을 뿐이다[13]. 또한 과거에 serum spreading factor로 불려진 이 vitronectin은 사람의 혈청에서 분리하여 배양시 첨가하면 배양에서 자라는 세포의 부착과 이동을 증진시키는 것으로 보고되었고[32], 소성 결합조직의 탄력섬유와 연관되어 나타나며[33,34], fibronectin과는 달리 기저막에 분포하지 않고, 연령에 따라 그 분포가 함께 변화한다고 하였다[35]. 또한 vitronectin은 myelofibrotic bone과 sclerotic glomeruli를 포함하는 섬유성 조직에서 연구된 바 있으며, 염증과 치유과정에서 vitronectin이 중요한 역할을 하며, 특별한 부착부를 가지고 세포의 부착 뿐만 아니라 세균의 부착도 증진시킨다고 하였다[36,37]. 세포의 부착외에도 vitronectin은 다른 여러 가지 중요한 생물학적 기능을 가지는 것으로 연구, 보고되었다. 세포파괴의 원인이 되는 membrane attack complex (MAC)의 형성을 억제하는 작용으로 개체를 보호하며[38,39], 혈액응고[40,41], 섬유소 생산[42] 및 세포막이 손상된 후 치유되는 과정[31]에 참여하고, 이러한 vitronectin의 생물학적 기능은 구강조직내에 계속 존재하면서 치유과정에 중요한 역할을 하여 조직의 기능을 유지시키는 것이다.

또한 Meffert[43,44]는 상피에서 생성되고 기저막에 분포하는 laminin이 섬유모세포의 부착에 관여한다고 역설한 바 있으나 아직 실험적인 근거는 제시되지 않고 있으며[45,46], 그 외에 치유과정[47], 그리고 세균부착[48,49] 등에도 관여한다는 보고가 있다. 그리고 laminin은 상피의 기저막에서 제4형 교원질과 세포 상호간의 부착을 중개한다고 보고[50]된 바 있고, laminin과 기저막의 구성성분인 제4형 교원질의 상호작용에 관해서도 언급된 바 있다 .

한편 Brunette[51]은 견해에 따라 섬유모세포와 선택적인 친화성을 갖는 단백질을 찾기 위해서는 일정하게 조율된 조건하에서 여러 가지 단백질의 효과를 비교, 분석해야 할 필요성이 있다고 보고하였다.

그러므로 본 연구는 사람의 치수세포와 선택적인 부착기능을 갖는 단백질을 알아보기 위하여 생체내에서 합성되며 그 특성이 알려져 있는 부착단백질인 제1형 및 제4형 교원질과 fibronectin, laminin및 vitronectin을 일정하게 조율된 조건하에서 사용하여, 이들 부착단백질의 역할과 그 효과를 알아봄으로써 기존학설을 정리, 체계화하며 나아가 부착단백질의 임상적인 응용을 위해 사람 치수세포를 분리, 배양하고 부착단백질을 도포하여 세포부착도 검사와 부착세포의 형태를 주사전자현미경으로 관찰하여 다소의 지견을 얻어 보고하는 바이다.

Ⅱ. 실험재료 및 방법

1. 실험재료

1) 사람 치수세포의 배양

교정목적으로 발거한 건강한 치아를 파절시켜 치수를 얻은 후 항생제가 포함된 Dulbecco's Modified Eagle Media(DMEM)에 3회 세척하고 치수를 약 1㎜의 크기로 절단하였다.

자른 조각을 다시 DMEM으로 세척하고 배양용기에 넣은 후 최소한의 배양액을 넣어 배양용기 바닥에 부착되도록 하였다. 조직이 배양용기 바닥에 부착되면 배양액을 첨가하여 explant culture를 시행하였다.

1주일 후 세포가 어느 정도 자라나오면 조직을 떼어내고 세포가 배양용기에 가득 찰 때까지 2-3일에 한번씩 배양액을 갈아주면서 치수세포를 배양하였다.

세포가 배양용기에 가득 차면 Ca^{2+} 와 Mg^{2+} 이온이 들어있지 않은 Hanks' Balanced Salt Solution(HBSS)에 희석한 Trypsin-EDTA 로 세포를 떼어내어 분주하였다. 이렇게 얻은 세포를 계대배양하여 4-8대의 세포군을 실험에 사용하였다.

2) 부착단백질의 도포

(1) 제1형 및 제4형 교원질 (Type I collagen

and Type Ⅳ collagen)

10 ㎍/㎠의 농도로 배양용기 바닥에 도포한 후 4℃에서 하룻밤 방치하여 단백질이 부착되도록 하였다. 그 후 나머지 액체를 제거하고 다시 4℃에서 하룻밤 방치하여 건조시킨 후 사용하였다.

(2) Fibronectin과 Laminin

1 ㎍/㎠의 농도로 배양용기 바닥에 도포한 후 45분간 실온에 방치하여 단백질이 부착되도록 하였다. 그 후 나머지 액체를 제거하고 즉시 사용하였다.

(3) Vitronectin

0.1 ㎍/㎠의 농도로 배양용기 바닥에 도포한 후 37℃에서 2시간 방치하여 단백질이 부착되도록 하였다. 그 후 나머지 액체를 제거하고 즉시 사용하였다.

2. 실험방법

1) 부착세포의 계수

각 단백질을 직경 60 ㎜ 배양용기 3개씩에 도포한 후 각 배양용기당 5 × 10^5개가 되도록 세포를 분주하고 혈청이 포함되지 않은 DMEM으로 배양하였다. 분주 후 90분, 4시간, 24시간째에 각 배양용기를 HBSS로 2회 수세하여 바닥에 부착되지 않은 세포를 모두 제거한 후, Trypsin-EDTA 용액으로 바닥에 부착된 세포를 떼어내어 centrifuge tube에 모았다. 모든 세포들은 1500 rpm에서 7분간 원침시켜 세포를 침전시킨 후, 액체는 제거하고, 다시 각 tube에 HBSS 1㎖씩을 넣어 세포를 부유시킨 후 90㎕씩 취하고, trypan blue 10㎕로 염색하여 광학현미경상에서 hematocytometer로 세포의 수를 계수하였다.

2) 부착세포의 전자현미경적 관찰

각 단백질을 직경 35 ㎜ 배양용기에 도포한 후 각 배양용기당 2 × 10^5개가 되도록 세포를 분주하여 혈청이 포함되지 않은 DMEM으로 배양하면서, 분주 후 90분, 4시간, 24시간째에 전자현미경 관찰을 위한 표본을 제작하였다.

각 배양용기를 HBSS로 2회 수세하고 10% 중성 완충 formalin으로 1시간 고정하고, 0.1M phosphate buffered saline(PBS)으로 2회 수세 후 1% osmium tetroxide로 1시간 후고정하였다. 그 후 50%, 70%, 90%, 95% absolute ethanol (Ⅰ), absolute ethanol(Ⅱ)를 거쳐 탈수하였고, CO_2, 임계점 건조기(HCl-2, Hitachi)로 건조시키고 ion coater(IB-3,Eiko)로 관찰할 면에 금을 증착하여 주사전자현미경(S-2300, Hitachi)으로 관찰하였다.

Ⅲ. 실험성적

1. 세포부착도

배양시간에 따른 치수섬유모세포의 부착도는 Table 1과 같다.

90분에서는 laminin 도포군에서 부착된 세포

Table 1. Numbers of attached cells (Mean±S.D.)×10^4cell/dish

group \ time	90min	4hrs	24hrs
Control	1.1±0.2	1.6±0.2	3.3±1.6
Type I collagen (Col-Ⅰ)	4.6±0.6	6.6±1.6	9.6±1.3
Type IV collagen (Col-Ⅳ)	6.7±0.5	7.6±0.6	8.4±1.1
Fibronectin (Fn)	6.9±0.3	9.1±1.2	10.3±0.4
Laminin (Lm)	7.4±1.8	6.6±2.4	9.4±1.8
Vitronectin (Vn)	2.0±0.1	3.3±0.9	9.1±1.2

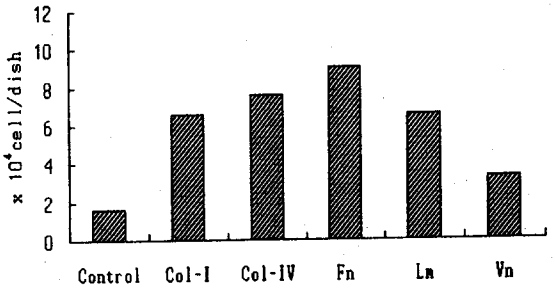


Fig b. Cells attached and proliferated after 4 hour culturing

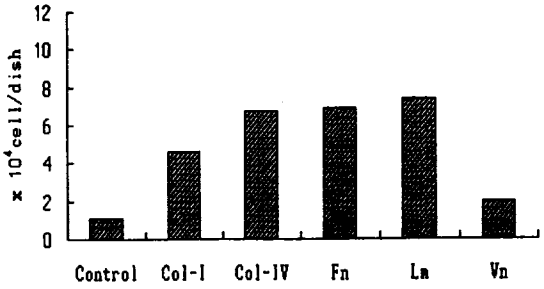


Fig a. Cells attached and proliferated after 90 minute culturing

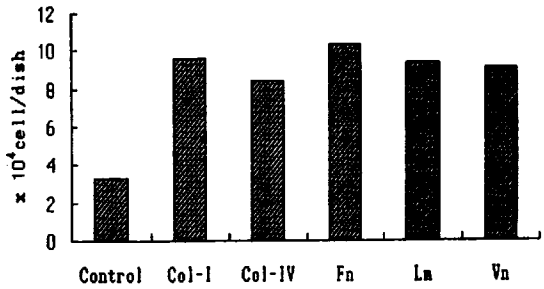


Fig c. Cells attached and proliferated after 24 hour culturing

수가 가장 많았고, 4시간에서는 fibronectin 도포군이 가장 많았으며, 24시간에서는 대조군을 제외한 모든 실험군의 세포수가 많았다.

Fibronectin과 laminin, 제4형 교원질은 배양 후 90분에서 비슷하게 높은 세포 부착도를 나타내었으나 4시간에서는 fibronectin이 가장 높은 부착도를 보였다.

제1형 교원질과 vitronectin은 배양 후 90분에서 부착세포의 수가 대조군보다 많지만 큰 차이를 보이지는 않았으며 배양 후 24시간에서는 대조군에 비해 훨씬 높은 부착도를 나타내면서 다른 단백질군과 비슷한 부착도를 보였다.

배양 후 4시간에서 fibronectin이 가장 높은 부착도를 보였으며, 그 다음 제4형 교원질, laminin과 제1형 교원질 및 vitronectin 순으로 부착도가 나타났고, 배양 후 24시간에서는 실험군이 모두 대조군에 비해 훨씬 높으면서도 서로 차이가 크지 않은 세포부착도를 보였다.

2. 부착세포의 주사전자현미경적 소견

1) 배양 후 90분의 소견

대조군에서 치수세포는 핵을 포함하는 球 형태의 구조로 나타났다 (Fig. 1). 제1형 교원질 도포군에서는 구형의 세포가 일부 관찰되었으나 대조군에서보다 구형의 수가 적었으며, 세포질 표면에 돌기들이 다수 뻗어나 있었다 (Fig. 2). 제4형 교원질 도포군에서는 구형의 세포를 거의 찾아볼 수 없었고, 넓게 퍼진 세포질 표면에는 돌기가 없거나, 있는 경우에도 다른 군에서 보다 적게 나타났다 (Fig. 3). Fibronectin 도포군은 제4형 교원질 도포군과 비슷한 양상을 보였으나, 제4형 교원질 도포군보다 세포질 표면에 돌기를 가진 세포의 수가 많았다 (Fig. 4). Laminin 도포군은 제1형 교원질 도포군과 비슷한 양상을 보였지만 세포질 표면에 돌기가 많았다 (Fig. 5). Vitronectin 도포군은 대조군에서처럼 구형의 구조를 보였지만, 시편을 향해 스커트 형태의 가는 기둥형태로 연결된 세포돌기를 내면서 부착하기 시작하였다 (Fig. 6).

2) 배양 후 4시간의 소견

대조군에서 치수세포는 구형의 형태가 점차 뭉툭하게 변했으며, 주변으로 스커트 형태로 변하면서 부착면적이 넓어지는 양상으로 나타났다 (Fig. 7). 제1형 교원질 도포군에서 세포질 표면의 돌기가 더 길게 뻗어나고 세포체도 배양 후 90분의 소견에 비해 면적이 넓어졌다 (Fig. 8). 제4형 교원질 도포군에서 치수세포들의 세포질 경계가 뚜렷하고 핵의 돌출부위가 잘 구분되고 있는 반면, 돌기가 뻗어 있고 세포면적이 넓게 확장되었다 (Fig. 9). Fibronectin은 제4형 교원질 도포군에 비해 핵의 돌출부는 거의 구별할 수 없었으며, 세포가 넓게 퍼져 있어 부착이 가장 진행된 세포형태를 보였다 (Fig. 10). Laminin 도포군에서는 세포질이 퍼져 부착이 진행되고 있는 세포형태가 관찰되었다 (Fig. 11). Vitronectin 도포군에서는 핵이 분명하게 관찰되고 세포질이 퍼져나가는 부착초기의 형태가 관찰되었다 (Fig. 12).

3) 배양 후 24시간의 소견

대조군에서 부착이 진행되면서 구형을 이루던 세포가 납작하고 넓게 부착되어 다수의 돌기를 가지고 있었다 (Fig. 13). 제1형 교원질 도포군에서 세포의 돌출정도가 여전히 뚜렷하였고, 세포질의 가장자리에 돌기가 뻗어 있었다 (Fig. 14). 제4형 교원질 도포군에서 세포의 돌출부위가 거의 편평해졌고, 세포질에서는 주위로 얇은 돌기를 내어 외형이 불규칙해졌다 (Fig. 15).

Fibronectin 도포군에서는 핵의 돌출부를 거의 구별할 수 없었으며, 세포질 주위로 얇고 길게 뻗어 있는 돌기로 외형이 상당히 불규칙하게 관찰되었다 (Fig. 16). Laminin 도포군에서는 세포의 돌출정도가 적으며 세포외형의 구별이 잘 되고 세포질 가장자리에 돌기가 뻗어 있지만 그 경계가 제4형 교원질이나 fibronectin 도포군보다 쉽게 확인되는 세포들이 관찰되었다 (Fig. 17). Vitronectin 도포군에서는 부착이 덜 진행된 다양한 상태의 세포들이 산재되어 관찰되었다 (Fig. 18).

Ⅳ. 총괄 및 고안

최근 많은 연구들이 조직의 발생 및 치유과정을 이해하기 위해서 세포외기질 성분을 분석하는 것에 관심을 두고 시행되고 있다. 세포외기질 성분 중 부착단백질은 세포부착, 세포 상호간의 물질이동 및 세포이동과 같은 세포활동 과정에서 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다[52-54]. 그러나 구강조직에서, 특히 치수세포에서 이들 부착성 단백질의 역할에 관한 연구는 미흡하여, 이들 단백질이 치수세포의 부착 및 증식에 미치는 효과를 비교, 연구하는 것은 의미있는 일이라고 하겠다. 그러므로 본 실험에서 제1형 교원질을 비롯해서 다섯 종류의 부착단백질이 치수세포의 부착 및 증식에 미치는 효과를 비교, 연구하였다.

제1형 교원질은 인체에서 세포외기질 성분중 가장 많은 비중을 차지하고 있는데 이는 섬유모세포와 상아모세포에 의해 합성, 분비되어 치아결합조직에 널리 존재한다고 보고된 바 있으며[55,56], 제4형 교원질은 주로 기저막의 성분으로 알려져 있고, 상피세포, 내피세포 및 근육세포 등에 의해서 합성, 분비된다. 이들 제1형, 제4형 교원질은 세포부착성을 가지고 세포의 이동, 부착에 영향을 미친다고 보고된 바 있다[57].

α_2 subunit는 세포표면의 교원질에 대한 주 수용체로, 이 수용체는 제1형, 제2형, 제3형, 제4형 및 제6형 교원질을 수용할 수 있는 receptor subunit로 알려져 있다. 치아주위 조직내 세포의 많은 수가 $\alpha_2\beta_1$ integrin을 가지고 있다. 즉 치은 섬유모세포 뿐만 아니라 치주인대 섬유모세포, 골내막세포, 점막 결합조직세포, 골외막 이장세포 및 시멘트질모세포 등이 α_2 receptor를 가지고 있다고 보고된 바 있으며[49,58], 구강상피와 치은열구상피의 기저세포층에서도 α_2 integrin subunit와 관련하여 반응을 보였고, 부착상피와 혈관의 내피세포에서도 그 수용체가 존재한다고 보고된 바 있다[59].

Peltonen 등[60]은 염증치은과 피부의 조직에서 α_2 integrin subunit의 존재를 보고하였는데, 본 연구에서도 제1형과 제4형 교원질이 그 상응하는 integrin에 작용하여 치수세포의 부착에 영향을 미치는 것으로 관찰되었으므로 치수세포가 교원질에 대한 수용체를 가지고 있는 것으로 사료된다.

Fibronectin은 섬유모세포와 결합조직세포에서 생성, 분비되어 섬유모세포와 세포외기질 접촉부에 분포되어 있으며, 그 형태는 짧은 마개모양이다. Singer[61]에 의해 fibronexus라 명명되었는데, 이 fibronexus가 섬유모세포와 기질을 부착시킨다고 하였다. 또한 이 단백질은 주위 교원섬유에도 존재하면서 세포와 교원질의 결합에 관여하여 창상치유에 도움을 준다는 보고가 있다[62,63].

Fibronectin과 상응하는 수용체는 α_5와 β_1 subunit를 포함하는 dimer이며 $\alpha_5\beta_1$은 fibronectin과 결합하는 $\alpha_3\beta_1$, $\alpha_4\beta_1$, $\alpha_v\beta_1$ 등의 integrin과 달리 fibronectin만을 위한 특별한 수용체이다[12]. 세포의 $\alpha_5\beta_1$ integrin은 fibronectin의 domain과 결합하는 과정에서 fibronectin의 RGD (Arg- Gly- Asp) site에 결합한다. Hormina 등[59]은 α_5 subunit의 연구에서 monoclonal antibody를 사용하였는데, α_5는 일반적으로 결합조

직세포의 세포막과 골막에서 발견되며, 치주인대에서도 높게 분포한다고 보고하였다.

Dedhar 등[64]은 치아 경조직의 세포에서도 α_5 subunit이 존재한다고 하였으며, 토끼의 polyclonal antibody로 $\alpha_5\beta_1$ 수용체를 관찰한 결과 이들 세포들은 양성 염색반응을 보였고 특히 치조골의 흡수와에서 발견된 파골세포에서와 마찬가지로 치주조직 혈관 내피세포와 치은상피의 기저세포에서도 확실한 반응이 있었다고 보고하였다.

이들의 관찰에서 fibronectin과 fibronectin을 위한 $\alpha_5\beta_1$ integrin receptor의 존재를 확인하였으며, 치아조직의 생물학적 연구에서 $\alpha_5\beta_1$ receptor의 역할이 fibronectin의 것임을 구명하였고, 세포의 부착이나 세포외기질을 재배열하는 구조적 기능과 더불어 $\alpha_5\beta_1$ integrin은 여러 세포에서 각각 다른 기능도 있음을 구명하였다[64-66]. 따라서 본 연구의 치수세포에서도 이들 fibronectin 수용체가 존재하여 유사한 역할을 수행하였을 것으로 사료된다. 또한 laminin은 기저막에서 발견되는 부착단백질로, 기저막에서 제4형 교원질에 상피세포의 부착을 증개하는 것으로 알려져 있으며[44], 이 단백질은 세포부착[55,67], 창상치유[68] 및 세균부착[69,70]의 능력이 있는 것으로 알려져 있다. Laminin은 치주조직에서 혈관과 상피의 기저막, 접합상피, 열구상피 및 변연치은의 상피 아래에 존재하며, 치주낭이 발견되는 치은 염증시에 더욱 높게 나타난다고 하였고[71], 또한 특별한 세균에서 laminin receptor가 발견되어 치주질환의 세균집락에 관련된 laminin의 역할이 구명된 바 있다[72].

Vitronectin은 최근에 사람의 혈청에서 분리된 부착단백질로서 이전에는 serum spreading factor로 알려져 있었고 배양시 자라는 세포의 부착과 spreading을 향상시키고[73], 소성 결합조직의 탄력섬유와 연루된 기능을 가졌으며[74,75], fibronectin과는 달리 기저막에서는 발견되지 않았다. 또한 vitronectin은 연령과 관련하여 6세 이전 어린이의 피부에서는 발견되지 않았지만 13세 이후에서는 섬유성 조직에서 나타났다는 보고[76]가 있고 염증의 치유과정에서도 발견되었으며[17], streptococci와 staphylococci와도 특별한 세균부착부를 가지는 것으로 알려져 있다[77]. $\alpha_v\beta_3$ integrin은 vitronectin의 주 수용체이며 RGD (arginin-glycine-aspartic acid) 배열을 통해 역시 결합하고 특히 흥미로운 것은 치주조직에서 $\alpha_v\beta_3$ integrin이 뼈와 백악질[78,79]에 존재하여 치주조직을 치아와 치조골에 부착시킨다는 것이다[80]. 치주조직에서 이 수용체는 $\alpha_v\beta_3$ integrin에 대한 polyclonal antibody의 사용에서 얻어진 관찰과 마찬가지로 α_v integrin subunit에 대한 monoclonal antibody의 사용으로 관찰되었는데, 치조골 외막과 내막을 따라서 다형핵세포막에 뚜렷이 나타났다. 즉, 흡수가 일어나는 부위에서 일반적으로 관찰되었으므로 그 기능은 이들의 위치와 다형핵의 존재 등으로 미루어 짐작할 수 있으며, tartrate-resistant acid phosphatase에 대한 양성반응으로 입증이 되었다[81]. 비록 파골세포보다는 약하지만 섬유모세포에서도 역시 α integrin이 관찰되었다.

또한 치조골의 골세포에서도 비록 많지 않으나 이 수용체가 확인되었다[82]. 이 외에도 vitronectin의 α_v subunit 수용체를 찾아내는 것으로 알려진 I_3C_2와 $_{23}C_6$의 antibody를 통하여 사람 세포의 전구세포에서 이 수용체를 관찰하였다[83,84].

이상의 연구결과는 vitronectin이 조직의 발생과 재생시 세포의 부착과 이동에 중요한 단백질이라는 것을 의미한다.

한편 섬유모세포는 이러한 부착단백질에 대한 수용체를 모두 가지고 있는 것으로 알려져 있다[85]. 이러한 수용체 부위에 상응하는 부착단백질의 부위는 세 가지 아미노산이 배열된 RGD 배열구조를 가지고 있다고 보고된 바 있다[13,85]. 이러한 RGD 배열은 세포막의 integrin 수용체에 결합하고 이는 다시 세포내 골격구조인 actin filament에 연결되어 있으므로 부착단백질의 결합은 간접적으로 세포에 영향을 미쳐 세포의 분화, 이동 및 부착에 관여하게 된다고 보고한 바 있다[86].

본 실험은 사람의 치수세포에서 부착단백질의 부착능력을 알아보기 위해 배양접시에 부착단백질을 도포한 후 90분, 4시간 및 24시간에 각각의 단백질에 부착된 세포수를 계수하였으며, 부착된 세포의 상태를 주사전자현미경으로 관찰한

결과, 초기에 laminin, fibronectin, 제4형 교원질이 높은 부착능력을 나타내었고, 다음으로 제1형 교원질 및 vitronectin 순으로 나타났으며, 모든 단백질에서 대조군에 비해서는 부착능력이 증가되어 있었다. 그 후 laminin은 부착능력이 다소 감소되었지만 fibronectin과 제4형 교원질은 여전히 증가된 부착능력을 보였다.

Fibronectin은 부착능력 ($10.3\pm0.4\times10^4$cell/dish)뿐만 아니라 주사전자현미경으로 관찰한 세포부착 상태에 있어서도 다른 부착단백질에 비해 가장 우수한 부착효과를 나타내었으며, 다음으로 제4형 교원질과 제1형 교원질이 부착능력과 세포부착 상태가 양호하였고, vitronectin은 다른 단백질에 비해 부착능력이 떨어진 양상으로 관찰되었지만, 24시간 후에는 대조군을 제외한 모든 부착단백질에 많은 수의 세포가 부착되고 주사전자현미경상에서 세포부착 상태도 양호한 결과를 보였다. 이러한 결과를 토대로 fibronectin이 다른 부착단백질에 비해 치수세포의 부착에 대한 촉진효과가 상대적으로 우수한 것으로 평가할 수 있다.

본 실험에서 fibronectin과 마찬가지로 제1형 교원질도 높은 부착능력($9.6\pm1.3\times10^4$cell/dish)과 양호한 세포부착 상태를 나타내었는데, 제1형 교원질은 fibronectin과 함께 섬유모세포에서 합성, 분비되어 서로 친화성을 가지고 있으며 fibronectin은 교원질 및 세포표면과 부착하고, in vitro에서 생체 적합성 물질에 대한 세포의 부착과 확산을 증진시킨다고 보고된 바 있다[15].

광화조직에서 fibronectin의 역할 중 하나는 교원성 유기기질 성분에 세포부착을 중개하는 것으로 여러 형태의 세포에 fibronectin이 부착되는데, 이는 비특이성 단백질 부착부에 흡착되는 것을 의미한다. Fibronectin은 교원질에 대해 특별한 친화력을 가지며 섬유소와 상호 연결된다.

Fibronectin에 대한 세포성 수용체는 di- 혹은 tri-sialoganglioside와 ricin-binding glycoprotein과 관련되며, 모든 세포가 부착을 위해 fibronectin을 필요로 하는 것은 아니지만 세포와 fibronectin의 부착은 많은 세포에서 중요한 역할을 하고, 세포배양에서 세포와 fibronectin의 부착은 세포의 cytokinesis와 성장 및 이동에 관여한다고 보고된 바 있다[62,87].

상피세포에서 합성, 분비되고 상피세포에 대하여 주로 부착효과를 가질 것으로 생각된 제4형 교원질과 laminin도 치수세포의 부착에 높은 촉진효과를 나타낸 것으로 관찰되었으며, laminin은 부착초기에 높은 부착능력을 보였고 제4형 교원질도 fibronectin과 함께 주사전자현미경상에서 양호한 세포부착 현상을 보였다.

Scott 등[88]은 제1형 교원질이 상피세포의 부착을 촉진시킨다고 보고하였고, Couchman 등[89]은 laminin이 섬유모세포에서 분비되어 부착을 촉진한다는 보고를 하였는데, 치아발육시, 상아모세포가 분화될 때 상피세포 기원인 상피근초가 치유두의 간엽세포를 분화, 이동시켜 부착시키는 기전으로 미루어 보아 그 기원이 서로 다른 상피세포와 치수세포가 생성하는 단백질과 각 세포들 간에는 상호유도반응이 일어남을 알 수 있으며, 본 실험의 결과도 이에 부합되는 것으로 보여진다.

이상의 결과로 부착단백질의 종류에 따른 치수세포 부착촉진 효과의 차이 때문에, 치수세포가 다양한 종류의 단백질에 대해 수용체를 가지고 있다 하더라도 그 수용체의 수, 혹은 친화성에 있어서 차이가 있으며, 이러한 차이가 각 부착단백질과 치수세포간의 부착효과에 영향을 줄 것으로 생각된다. 본 연구에 사용한 부착단백질들은 그 특성이 규정되어 있고, 상품화되어 있어서 이들 단백질이 치수세포에 미치는 효과가 확립된다면 쉽게 임상에서 응용할 수 있으리라 기대되므로 앞으로 좀 더 깊은 분자생물학적 연구가 진행되어야 한다고 사료된다.

V. 결 론

부착단백질이 치수세포의 부착 및 증식에 미치는 영향을 알아보기 위하여 생체내에서 합성되는 부착단백질인 제1형 교원질, 제4형 교원질, fibronectin, laminin 및 vitronectin을 각각 배양접시에 도포하고 그 위에서 사람 치수세포를 배양하였다. 단백질을 도포하지 않은 군을 대조군으로 하였고, 배양 후 90분, 4시간 및 24시간에 부착된 세포수를 계수하여 부착단백질의 도포에

따른 치수세포의 부착능력을 평가하였으며, 부착세포의 부착형태를 주사전자현미경으로 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 치수세포의 부착능력은 90분에서 대조군에 비하여 모든 부착단백질 도포군에서 증가하였는데, 제4형 교원질, fibronectin 및 laminin의 경우는 현저히 증가하였고, 다음으로 제1형 교원질, vitronectin 순이었다.
2. 4시간의 경우 fibronectin에서 가장 높은 치수세포부착능력을 보였으며, 다음으로 제4형 교원질, 제1형 교원질, laminin 순이었고, vitronectin에서 가장 낮은 부착능력을 나타내었다.
3. 24시간의 경우 모든 부착단백질이 큰 차이없이 높은 부착능력을 보였다.
4. 전자현미경적 관찰에서 부착형태는 fibronectin과 제4형 교원질이 도포된 배양용기에서 표면이 가장 넓고 납작하게 부착된 치수세포들이 관찰되었고, laminin은 중등도, vitronectin은 대조군과 함께 미약한 부착형태를 나타내었다.

REFERENCES

1. Thesleff, I., Partanen, A.-M., and Vainio, S. : Epithelial-mesenchymal interactions in tooth morphogenesis : the roles of extracellular matrix, growth factors and cell surface receptors. J. Craniofac. Genet. Dev. Biol., 11:229-237, 1991.
2. Thesleff, I., Vaahtokari, A., Kettunen, P., and Aberg, T. : Epithelial-mesenchymal signalling during tooth development. Proceedings of the Vth international conference on tooth morphogenesis and differentiation, May 4-8, 1994, Kerkrade, The Netherlands. Woltgens, J.H.M., Bronckers, A.L.J.J., Lyaruu, D.M., editors. Connect. Tissue Res., 32(1), 1995.
3. Torneck, C.D. and Wagner, D. : The effect of a calcium hydroxide liner on early cell division in the pulp subsequent to cavity preparation and restoration. J. Endocrinol., 6:719-723, 1980.
4. Ruch, J.V. : Tooth morphogenesis and differentiation: in dentin and dentinogenesis. Linde, A., editor. Boca Raton, FL: CRC Press, pp 447-479.
5. Veis, A., Tsay, T.-G., and Kanwar, Y. : An immunological study of the localization of dentin phosphophoryns in the tooth. INSERM, 125:223-232, 1984.
6. Fitzgerald, M. : Cellular mechanics of dentinal bridge repair using 3H-thymidine. J. Dent. Res., 58:2198-2206, 1979.
7. Fitzgerald, M., Chiego, D.J., and Heys, D.R. : Autoradiographic analysis of odontoblast replacement following pulp exposure in primate teeth. Arch. Oral Biol., 35:707-715, 1990.
8. Yamamura, T., Shimono, M., Koike, H., Terao, M., Tanaka, Y., and Sakai, Y. : Differentiation and induction of undifferentiated mesenchymal cells in tooth and periodontal tissue during wound healing and regeneration. Bull. Tokyo Dent. Coll., 21:181- 222, 1980.
9. Klebe, R.J. : Isolation of a collagen-dependent cell attachment factor. Nature., 250:248-251, 1974.
10. Butler, W.T. : Dentin matrix proteins and dentinogenesis. Proceedings of the Vth international conference on tooth morphogenesis and differentiation. May 4-8, 1994, Kerkrade, The Netherlands. Woltgens, J.H.M., Bronckers, A.L.J.J., Lyaruu, D.M., editors. Connect. Tissue Res., 32(1), 1995.
11. Ruoslahti, E. and Giancotti, F.G. : Integrins and tumor cell dissemination. Cancer Cells, 1:119-126, 1989.
12. Milam, S.B., Steffensen, B., and Haskin, C., : Cell adhesion proteins in oral biology. CRC Critical Rev. Oral Biol., 2:451-491, 1991.
13. Ruoslahti, E. and Pierschbacher, M.D. : New perspectives in cell adhesion : RGD and integrins. Science, 238:491-497, 1987.
14. Cooper, L.F., Handelman, B., McCormack, S.M., and Guckes, A.D. : Binding of murine osteoblastic cells to titanium disks and collagen I gels : implications for alternative interpretations of osseointegration. Int. J. Oral Maxillofac. Impl., 8:264-272, 1993.
15. Hakkinen, L., Yli-Urpo, A., Heino, J., and Larjava, H. : Attachment and spreading of human gingival fibroblasts on potentially

bioactive glasses in vitro. J. Biomed. Mater. Res., 22:1043-1059, 1988.
16. Seitz, T.L., Nooman, K.D., Hennch, L.L., and Nooman, N.E. : Effect of fibronectin on the adhesion of an established cell line to a surface reactive biomaterial. J. Biomed. Mater. Res., 16: 195-207, 1982.
17. Steele, J.G., Johnson, G., and Underwood, P.A. : Role of serum vitronectin and fibronectin in adhesion of fibroblasts following seeding onto tissue culture polystyrene. J. Biomed. Mater. Res., 26:861-884, 1992.
18. Guy, S.C., McQuade, M.J., Scheidt, M.J., McPherson, III, J.C., Rossmann, J.A., and Van Dyke, T.E. : In vitro attachment of human gingival fibroblasts to endosseous implant materials. J. Periodontol., 64:542-546, 1993.
19. Lowenberg, B.F., Aubin, J.E., Deporter, D.A., Sodek, J., and Melcher, A.H. : Attachment, migration, and orientation of human gingival fibroblasts to collagen-coated, surface-demineralized, and untreated root slices. J. Dent. Res., 64:1106-1110, 1985.
20. Von Recum, A.F., Schreuders, P.D., and Powers, D.L. : Basic healing phenomena around permanent percutaneous implants. Proc. Int. Cong. Tissue integration, Brussels, Current Practice Series #29, Excerpta Medica, 159-169, 1985.
21. Caffesse, R.G., Smith, B.A., Nasjleti, C.E., and Lopatin, D.E. : Cell proliferation after flap surgery, root conditioning and fibronectin application. J. Periodontol., 58:661-666, 1987.
22. Pearson, B.S., Klebe, R.J., Boyan, B.D., and Moskowicz, D. : Comments on the clinical application of fibronectin in dentistry. J. Dent. Res., 67:515-517, 1988.
23. Hynes, R. : Molecular biology of fibronectin. Ann. Rev. Cell Biol., 1:67-90, 1985.
24. Schwarzbauer, J.E., Spencer, C.S., and Wilson, C.L. : Selective secretion of alternatively spliced fibronectin variants. J. Cell Biol., 109:3445-3453, 1989.
25. Yamada, K.M. : Cell surface interactions with extracellular materials. Ann. Rev. Biochem., 52: 761-799, 1983.
26. Grossman, J.E. : Clinical use of fibronectin in critically ill patients. Prog. Clin. Biol. Res., 299: 157-167, 1989.
27. Yang, K.D., Bohnsack, J.F., and Hawley, M.M. : Effect of fibronectin on IgA-mediated uptake of typeIII group B streptococci by phagocytes. J. Infect Dis., 161:236-241, 1990.
28. Cho, M.I., Garant, P.R., and Lee, Y.L. : Immunohistological localization of collagen (I and III) and fibronectin in inflamed and non-inflamed gingival connective tissue and sulcular fluid of beagle dogs. J. Periodont. Res., 19:638-641, 1984.
29. Conner, N.S., Aubin, J.E., and Melcher, A.H. : The distribution of fibronectin in rat tooth and periodontal tissues : an immunofluorescence study using a monoclonal antibody. J. Histochem. Cytochem., 32:565-572, 1984.
30. 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., 70:19-26, 1991.
31. Preissner, K.T. : The role of vitronectin as multifunctional regulator in the hemostatic and immune systems. Blut., 59:419-431, 1989.
32. Holmes, R. : Preparation from human serum of an alpha-one protein which induces the immediate growth of unadapted cells in vitro. J. Cell Biol., 32:297-308, 1961.
33. 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., 33:383-390, 1988.
34. Dahlback, K., Lofberg, H., and Dahlback, B. : Localization of vitronectin (S-protein of complement) in normal human skin. Acta Derm. Venereol., 66:461-467, 1986.
35. Dahlback, K., Lofberg, H., Alumets, J., and Dahlback, B. : Immunohistochemical demonstration of age-related deposition of vitronectin (S-protein of complement) and terminal complement complex on dermal elastic fibers. J. Invest. Derm., 92:727- 733, 1989.

36. Chatwal, F.S., Preissner, K.T., Muller-Berghaus, G., and Blobel, H. : Specific binding of the human S protein (vitronectin) to streptococci, *Staphylococcus aureus*, and *Escherichia coli*. Infect Immun., 55:1878-1883, 1987.
37. Valentin-Weigand, P., Grulich-Henn, J., Chhatwal, G.S., Muller-Berghaus, P., Blobel, H., and Preissner, K.T. : Mediation of adherence of streptococci to human endothelial cells by complement S protein (vitronectin). Infect Immun., 56:2851-2855, 1988.
38. Podack, E.R. : Membrane attack by complement. Molecular Immunol., 21:589-603, 1984.
39. Muller-Eberhard, H.J. : The membrane attack complex of complement. Ann. Rev. Immunol., 4:503-528, 1986.
40. Preissner, K.T. and Muller-Berghaus, G. : S protein modulates the heparin-catalyzed inhibition of thrombin by antithrombin III. Eur J. Biochem., 156:645-650, 1986.
41. Preissner, K.T. and Muller-Berghaus, G. : Neutralization and binding of heparin by S protein/vitronectin in the inhibition of factor Xa by antithrombin III. J. Biol. Chem., 262:12247-12253, 1987.
42. Salonen, E.M., Vaheri, A., and Pollanen, J. : Interaction of plasminogen activator inhibitor (PAI-1) with vitronectin. J. Biol. Chem., 264:6339- 6343, 1989.
43. Meffert, R.M. : The soft tissue interface in dental implantology. J. Dent. Educ., 52:810-811, 1988.
44. Meffert, R.M. : Periodontal implications of endosseous implants. Periodontal diseases, 2nd ed. Philadelphia : Lea & Febiger, pp707-731, 1990.
45. Kuhl, U., Ocalan, M., Timpl, R., and von der Mark, K. : Role of laminin and fibronectin in selecting myogenic versus fibrogenic cells from skeletal muscle cells in vitro. Dev. Biol., 117:628-635, 1986.
46. Aumailley, M., Nurcombe, V., Edgar, D., Paulsson, M., and Timple, R. : The cellular interactions of laminin fragments. J. Biol. Chem., 262:11532-11538, 1987.
47. Campbell, J.H. and Terranova, V.P. : Laminin : Molecular organization and biological function. J. Oral Path., 17:309-323, 1988.
48. Switalski, L.M., Murchison, H., Timpl, R., Curtiss III, R., and Hook, M. : Binding of laminin to oral and endocarditis strains of *viridans streptococci*. J. Bacteriol., 169:1095-1101, 1987.
49. Vercellotti, 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. Am. J. Path., 120:13-21, 1985.
50. Terranova, V.P., Rohrbach, D.H., and Martin, G.R. : Role of laminin in the attachment of PAM 212 (epithelial) cells to basement membrane collagen. Cell, 22:719-726, 1980.
51. Brunette, D.M. : The effects of implant surface topography on the behavior of cells. Int. J. Oral Maxillofac. Implants., 3:231-246, 1988.
52. Adell, R., Lekholm, U., Rockler, B., and Branemark, P.-I. : A 15-year study of osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. Int. J. Oral Surg., 10:387-416, 1981.
53. Albrektsson, T. : Direct bone anchorage of dental implants. J. Prosthet. Dent., 50:255-261, 1983.
54. Ingber, D., and Folkman, J. : How does extracelluar matrix control capillary morphogenesis? Cell, 58:803-805, 1989.
55. Narayanan, A.S., Clagett, J.A., and Page, R.C. : Effect of inflammation on the distribution of collagen type I, III, IV, and V and Type I trimer and fibronectin in human gingivae. J. Dent. Res., 64:1111-1116, 1985.
56. Von Recum, A.F., Optiz, H., and Wo, E. : Collagen type I and III at the implant/tissue interface. J. Biomed. Mater. Res., 27:757-761, 1993.
57. Burgeson, R.E. and Nimni, M.E. : Collagen types : molecular structure and tissue distribution. Clin. Orthop. Rel. Res., 282:250-272, 1991.
58. Staatz, W.D., Walsh, J.J., Pexton, T., and Santoro, S.A. : The alpha2-beta1 integrin cell surface collagen receptor binds to the alpha (I)-CB3 peptide of collagen. J. Biol. Chem., 265:4778-4781, 1990.
59. Hormina, M., Ylanne, J., and Virtanen, I. : Ex-

pression of integrins in human gingiva. J. Dent. Res., 69:1817-1823, 1990.
60. Peltonen, J., Larjava, H., and Jaakkota, S. : Localization of integrin receptors for fibronectin, collagen, and laminin in human skin. J. Clin. Invest., 84:1916-1923, 1989.
61. Singer, I.I. : The fibronexus : a transmembrane association of fibronectin-containing fibers and bundles of 5nm microfilaments in hamster and human fibroblasts. Cell, 16:675-685, 1979.
62. Hakomori, S., Fukuda, M., Sekiguchi, K., and Carter, W.G. : Fibronectin, laminin, and other extracellular glycoproteins. In "Extracellular matrix biochemistry" ed. by Piez, K.A., and Reddi, A.H. Elsevier. New York. pp229-264, 1984.
63. Pitaru, S., Aubin, J.E., Bhargava, V., and Melcher, A.H. : Immunoelectron microscopic studies on the distributions of fibronectin and actin in a cellular dense connective tissue : the periodontal ligament of the rat. J. Periodont. Res., 22:64-74, 1987.
64. Dedhar, S., Mitchell, M.D., and Pierschbacher, M.D. : The osteoblast-like differentiated phenotype of a variant of MG-63 osteosarcoma cell line correlated with altered adhesive properties. Connect. Tissue Res., 20:49-61, 1989.
65. Menko, A.S. and Boettiger, D. : Occupation of the extracellular matrix receptor, integrin, is a control point of myogenic differntiation. Cell, 51:51-57, 1987.
66. Bronner-Fraser, M. : An antibody to a receptor for fibronectin and laminin perturbs cranial neural crest development in vivo. Dev. Biol., 117:528-536, 1986.
67. Natiella, J.R., Armitage, J.E., Greene, G.W., and Meenaghan, M.A. : Current evaluation of dental implants. J.A.D.A., 84:1358-1372, 1972.
68. Newman, M.G., and Flemming, T.F. : Periodontal considerations of implants and implant associated microbiota. J. Dent. Educ., 52:737-743, 1988.
69. Peterson, L.J., Pennel, B.M., Mckinney, R.V., Klawitter, J.J., and Weinstein, A.M. : Clinical, radiographic, and histological evaluation of porous rooted polymethylmethacrylate dental implants. J. Dent. Res., 58:489-495, 1979.
70. Piliero, S.J., Schnitman, P., Pentel, L., Franin, A.N., and Dennison, T.A. : Histopathology of oral endosteal metallic implants in dogs. J. Dent. Res., 52:1117-1127, 1973.
71. Page, R.C. and Schroeder, H.E. : Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. Lab Invest., 33:235-249, 1976.
72. Lopes, J.D., Dos Reis, M., and Brentani, R.R. : Presence of laminin receptors in *Staphylococcus aureus*. Science., 229:275-277, 1985.
73. Buser, D., Warrer, K.,Karring, T., and Stich, H. : Titanium implants with a true periodontal ligament : an alternative to osseointegrated implants. Int. J. Oral Maxillofac. Implants, 5:113-116, 1990.
74. Chehroudi, B., Gould, T.R.L., and Brunette, D.M. : Effects of a grooved epoxy substratum on epithelial cell behavior in vitro and in vivo. J. Biomed. Mater. Res., 22:459-473, 1988.
75. Chehroudi, B., Gould, T.R.L., and Brunette, D.M. : Effects of a grooved titanium-coated implant surface on epithelial cell behavior in vitro and in vivo. J. Biomed. Mater. Res., 23:1067-1085, 1989.
76. Chehroudi, B., Gould, T.R.L., and Brunette, D.M. : Titanium-coated micromachined grooves of different dimensions affect epithelial and connective-tissue cells differently in vivo. J. Biomed. Mater. Res., 24:1203-1219, 1990.
77. Chehroudi, B., Gould, T.R.L., and Brunette, D.M. : A light and electron microscopic study of the effects of surface topography on the behavior of cells attached to titanium-coated percutaneous implants. J. Biomed. Mater. Res., 25:387-405, 1991.
78. Somerman, M.J., Sauk, J.J., Foster, R.A., Dickerson, K., Norris, K., and Argraves, W.S. : Cell attachment activity of cementum : bone sialoprotein II identified in cementum. J. Periodont. Res., 26:10-16, 1991.
79. Somerman, M.J., Fisher, L.W., Foster, R.A., and Sauk, J.J. : Human bone sialoprotein I and II enhance fibroblast attachment in vitro. Calcif. Tissue Int., 43:50-53, 1990.
80. Miyauchi, A., Alvarez, J., and Greenfield, E.M. : Recognition of osteopontin and related peptides by an alpha-v-beta-3 integrin stimulates im-

mediate cell signals in osteoclasts. J. Biol. Chem., 266: 20369-20374, 1991.

81. Minkin, C. : Bone acid phosphatase : tartrate-resistant acid phosphatase as a marker of osteoclast funcion. Calcif. Tissue Int., 34:285-290, 1982.
82. Davies, J., Warwick, J., Totty, N., Philp, R., Helfrich, M., and Horton, M. : The osteoclast functional antigen, implicated in the regulation of bone resorption, is biochemically related to the vitronectin receptor. J. Cell Biol., 109:1817-1826, 1989.
83. Simpson, A. and Horton, M.A. : Expression of the vitronectin receptor during embryonic development ; an immunohistological study of the ontogeny of the osteoclast in the rabbit. Br. J. Exp. Path., 70:257-265, 1989.
84. Athanasou, N.A., Quinn, J., Horton, M.A., and McGee, J.O.D. : New sites of cellular vitronectin receptor immunoreactivity detected with osteoclast-reacting monoclonal antibodies 13C2 and 23C6. Bone Mineral., 8:7-22, 1990.
85. Yamada, K.M., Akiyama, S.K., Hasegawa, T., Hasegawa, E., Humphries, M.J., Kennedy, D.W., Nagata, K., Urushihara, H., Olden, K., and Chen, W-T. : Recent advances in research on fibronectin and other cell attachment proteins. J. Cell Biochem., 28:79-97, 1985.
86. Hay, E.D. : Cell-matrix interaction in the embryo : cell shape, cell surface, cell skeletons, and their role in differentiation. The Role of Extracellular Matrix in Development, Trelstad, R.L., New York, Alan R. Liss Inc., 1984.
87. Hansson, H.-A., Albrektsson, T., and Branemark, P.-I. : Structural aspects of the interface between tissue and titanium implants. J. Prosthet. Dent., 50:108-113, 1983.
88. Scott, D.M., Murray, J.C., and Barnes, M.J. : Investigation of the attachment of bovine corneal endosteal cells to collagens and other components of the subendothelium. Exp. Cell Res., 144:472-478, 1983.
89. Couchman, J.R., Hook, M., Rees, D.A., and Timpl, R. : Adhesion, growth, and matrix production by fibroblasts on laminin substrates. J. Cell Biol., 96:177-187, 1983.

EXPLANATION OF FIGURES

Fig. 1. Control group after 90 minutes. The pulpal cells show spherical structure which is not spreading. × 1000, SEM

Fig. 2. Type I collagen group after 90 minutes. The pulpal cells are polygonal. × 1000, SEM

Fig. 3. Type IV collagen group after 90 minutes. The pulpal cells are showing spreading. × 1000, SEM

Fig. 4. Fibronectin group after 90 minutes. The pulpal cells are well spreaded. × 1000, SEM

Fig. 5. Laminin group after 90 minutes. The cellular processes are well developed. × 1000, SEM

Fig. 6. Vitronectin group after 90 minutes. The pulpal cells are spreaded a little. × 1000, SEM

Fig. 7. Control group after 4 hours. The pulpal cells are showing skirt-like spreading. × 1000, SEM

Fig. 8. Type I collagen group after 4 hours. The pulpal cells have lots of short processes. × 1000, SEM

Fig. 9. Type IV collagen group after 4 hours. The pulpal cells have well-developed cellular processes. × 1000, SEM

Fig. 10. Fibronectin group after 4 hours. The pulpal cells are showing wide and flat spreading. × 1000, SEM

Fig. 11. Laminin group after 4 hours. The pulpal cells have multi-cellular processes. × 1000, SEM

Fig. 12. Vitronectin group after 4 hours. The pulpal cells begin spreading. × 1000, SEM

Fig. 13. Control group after 24 hours. The pulpal cells form multi-cellular processes. × 1000, SEM

Fig. 14. Type I collagen group after 24 hours. The pulpal cells have well-spreaded cellular processes. × 1000, SEM

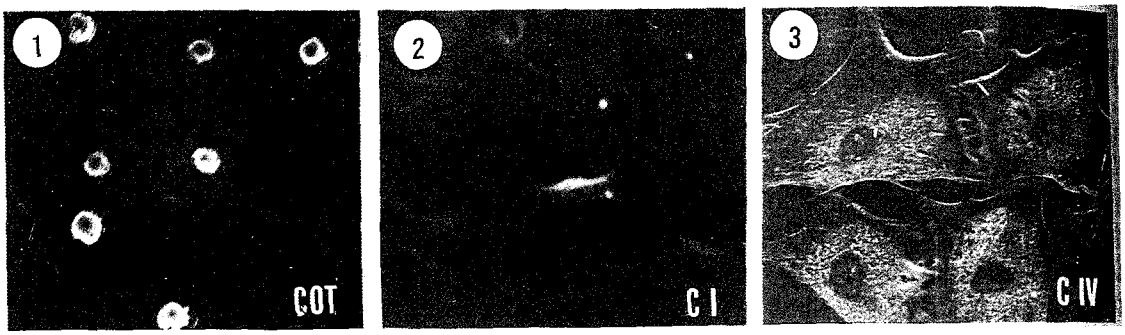
Fig. 15. Type IV collagen group after 24 hours. The pulpal cells are showing flat-spreading with long projections. × 1000, SEM

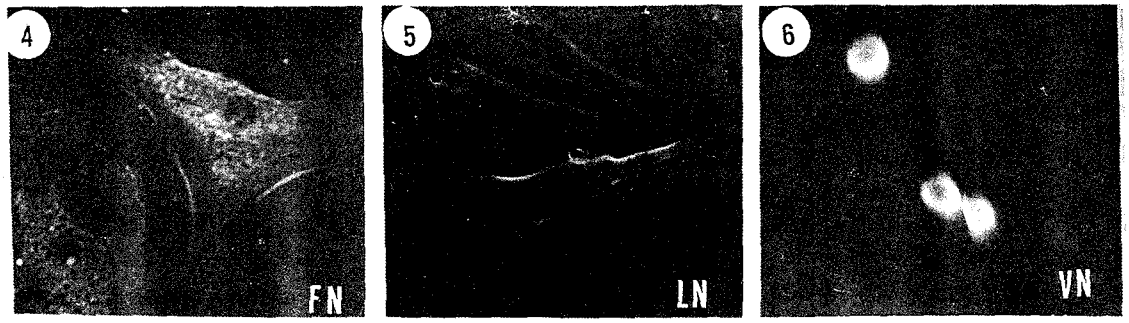
Fig. 16. Fibronectin group after 24 hours. The pulpal cells are showing thinly wide spreading with multi-cellular processes. × 1000, SEM

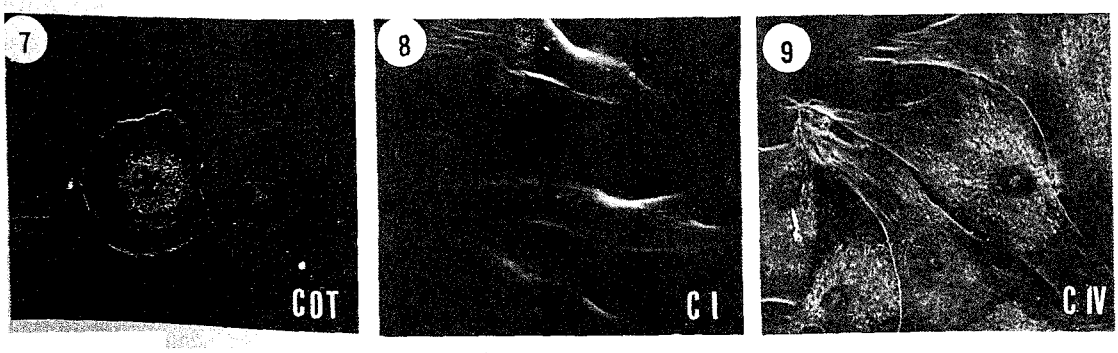
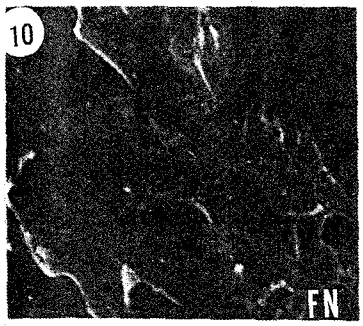
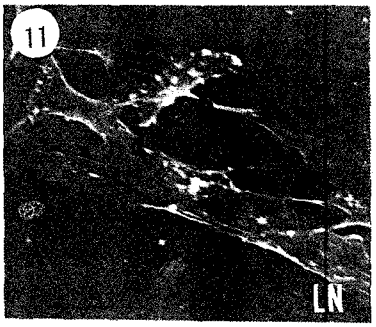
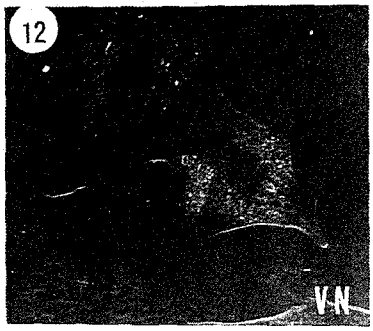
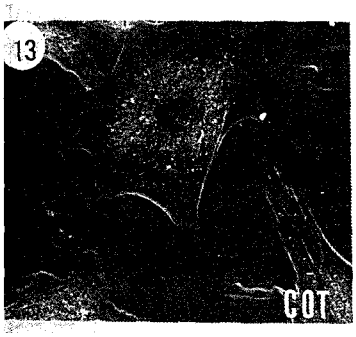
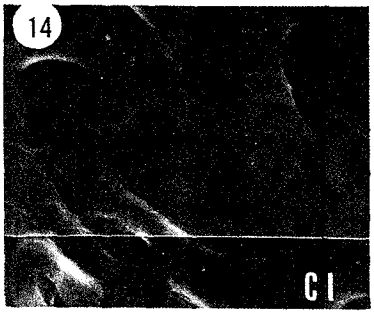
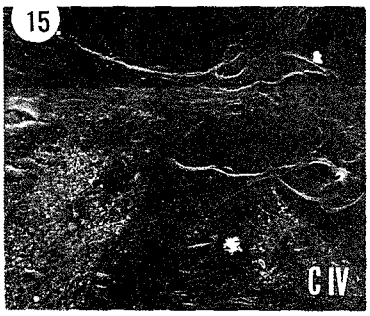
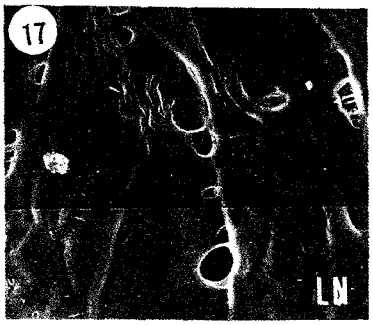
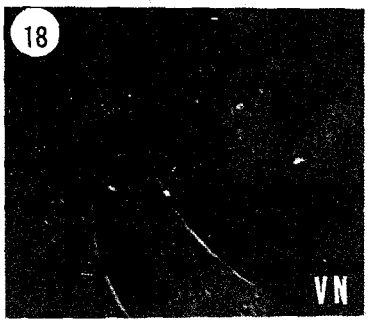
Fig. 17. Laminin group after 24 hours. The pulpal cells are also showing flat spreading but well identified. × 1000, SEM

Fig. 18. Vitronectin group after 24 hours. The pulpal cells have lots of short and thin cellular processes. × 1000, SEM

논문사진부도①







논문사진부도②