태아 피부와 성인 피부에 있어 bone morphogenetic protein 수용체의 발현 비교

연세대학교 대학원
의과학사업단
황 은 아

태아 피부와 성인 피부에 있어 bone morphogenetic proteins 수용체의 발현 비교

지도 탁 관 철 교수

이 논문을 석사 학위논문으로 제출함

2001년 12월

연세대학교 대학원
의과학사업단
황 은 아

황은아의 석사 학위논문을 인준함.

심사위원_______________________ 인

심사위원_______________________ 인

심사위원_______________________ 인

연세대학교 대학원

2001년 12월

감사의 글

새로운 학문의 세계를 접할 기회를 주시고 따뜻한 배려와
지도를 하여주신 탁관철 교수님께 깊은 감사를 드립니다.

이 논문이 완성되기까지 지도와 배려를 하여주신
박윤기 교수님과 이훈범 교수님께 깊이 감사드립니다.

실험에 도움을 주신 안보영 선생님께 감사드립니다.

끝으로 일산병원에서 논문을 쓸 수 있게 도와주신
나동균 교수님과 고락을 같이 한 남편, 그리고 주위에서
이끌어주신 모든 분과 기쁨을 나누고 싶습니다.

2001년 11월

저자 씀

차 례

표 차 례

그 림 차 례

국문 요약

태아 피부와 성인 피부에 있어 Bone Morphogenetic Protein 수용체의 발현 비교

태아의 피부 창상치유는 임신 제2기까지는 반흔을 남기지 않는 창상 치유가 가능하고 이 시기를 지나게 되면 성숙개체와 같은 반흔을 초래하는 창상 치유 양상을 보이게 된다. 최근 태아의 창상치유 과정에 관한 많은 연구가 이루어져 왔으며 이 중에서도 transforming growth factor β(TGF-β), basic fibroblast growth factor와 같은 성장 인자들이 태아와 성숙개체 창상치유에 있어서 차이가 있음이 밝혀져 왔다. 이러한 태아 창상치유의 특성을 초래하는 인자로써 가장 유력시되는 보고는 성숙 개체에서 섬유화를 초래하는 TGF-β등의 성장 인자들이 태아의 창상 치유 기간동안에는 매우 낮은 농도로 존재한다는 점이다. 낮은 농도의 성장인자들로 인해 최소의 염증반응이 일어나고 태아의 섬유모세포의 증식이 최소화되어 이로 인해 반흔을 초래하는 콜라겐의 합성이 제한되며 결국 반흔이 없는 창상치유를 초래하게 된다고 보고하고 있다.

최근 태아의 성장 발달에 중요한 물질로 알려져 있는 bone morphogenetic proteins(BMPs)도 창상 치유와 관련이 있는지에 관한 연구가 이루어지고 있다. 여러 보고들에 의하면 BMPs가 상피의 재생 및 창상치유에 있어 역할을 하고 있음을 알 수는 있으나 정확히 어떠한 작용을 하고 있는지 아직 밝혀지지 않은 상태이다. 본 연구에서는 창상 치유에 차이

가 있는 임신 제2기 태아의 피부와 성인의 피부에 있어 BMP 수용체의 발현에 차이가 있는지를 면역 조직 염색과 RT-PCR을 통해 알아보고자 하였다.

연구 결과 임신 제2기의 태아 피부에서 BMP 수용체는 진피에 존재하는 모낭에서만 발현을 보이고 표피층이나 모낭 이외의 진피층에서는 발현을 보이지 않았으며 성숙개체의 피부에서는 BMPR-I과 BMPR-II 모두 모낭 뿐 아니라 표피의 기저층 상피세포에서도 발현되어 있었다. 이로 미루어 성숙개체의 창상 치유에 있어 BMPs 와 BMP 수용체들이 관여할 것으로 여겨지며 임신 제2기의 태아의 창상 치유에 있어 BMPs도 TGF-β와 같은 성장인자들에서처럼 낮은 농도로 존재함으로써 반흔 없는 창상 치유를 유도하는데 기여하리라 생각되어 진다.

핵심되는 말: 태아 창상 치유, BMP, BMP 수용체, 면역 조직 염색

태아 피부와 성인 피부에 있어 Bone Morphogenetic Protein 수용체의 발현 비교

<지도 탁 관 철 교수>

연세대학교 대학원 의과학사업단

황 은 아

I. 서 론

태아의 피부 창상치유는 임신 제2기까지는 반흔을 남기지 않는 창상 치유가 가능하고 이 시기를 지나게 되면 성숙개체와 같이 반흔을 초래하는 창상 치유 양상을 보이게 된다.[1] 최근 태아의 창상치유 과정에 관한 많은 연구가 이루어져 왔으며 이 중에서도 transforming growth factor β(TGF-β), basic fibroblast growth factor와 같은 성장 인자들의 분포가 태아 창상치유와 성숙개체 창상치유 과정에 있어 차이가 있음이 밝혀져 왔다.[2] 이러한 태아 창상치유의 특성을 초래하는 인자로써 가장 유력시되는 보고는 성숙 개체에서 섬유화를 초래하는 TGF-β등의 성장 인자들이 태아의 창상치유 기간동안에는 매우 낮은 농도로 존재한다는 점이다. 낮은 농도의 성장인자들로 인해 최소의 염증반응이 일어나고 태아의 섬유모세포의 증식이 최소화되

어 이로 인해 반흔을 초래하는 콜라겐의 합성이 제한되며 결국 반흔이 없는 창상치유를 초래하게 된다고 보고하고 있다.[3]

또한 태아의 성장 발달에 중요한 물질로 알려져 있는 bone morphogenetic proteins(BMPs)이 창상 치유와 관련이 있는지에 관한 연구도 이루어지고 있다.

BMPs는 생체 내에서 연골 및 골의 형성을 유도하는 물질로 골에서 처음 추출되었다.[4-6] 이 물질은 TGF-β, activin/inhibins, Mullerian inhibiting substance와 같이 TGF-β superfamily에 속하며 30-38 kDa의 dimeric protein을 가지고 있어 아미노산 염기순서에 따라 현재 10종류의 BMPs subfamily가 발견되었다.[7]

BMPs의 작용은 그 후 많은 연구에 의하여 alkaline phosphatase activity, collagen 합성, proteoglycan 합성뿐만 아니라 척추동물의 기관발생에도 중요한 역할을 하고 있음이 밝혀졌다.[8] 또한 BMPs는 단핵구의 chemotaxis, osteoblast의 이동, 신경세포들의 분화[9,10] 및 상피세포를 포함한 여러 세포들의 apoptosis[11]에 관여하는 것으로 보고되고 있어 이 물질이 표적세포의 종류에 따라 여러 가지 기능을 하는 성장 및 분화에 관련된 인자임이 밝혀지고 있다.[12,13]

BMPs는 분자구성의 동질성에 따라 3 종류의 subgroup: (a) BMP-2 와 BMP-4; (b) BMP-5, BMP-6 및 BMP-7; (c) BMP-3 등으로 나뉜다.[7] BMP 유전자 결손 생쥐 연구에 의하면 각 종류의 BMPs는 서로 독립적인 기능을 하는 것처럼 보이나 실제로 각 BMPs의 기능은 아직 정확히 밝혀지지 않은 상태이다.

TGF-β와 같이 BMPs의 세포내 신호전달은 세포막에 위치하는 1형 및

2형 BMP 수용체들(BMP receptors; BMPRs)의 상호 작용으로 시작된다. 이 수용체들은 TGF-β transmembrane serine-threonine kinase receptor family로 1형 수용체와 2형 수용체가 heterodimeric receptor complex를 만들면서 2형 수용체로부터 1형 수용체로 cross-phosphorylation이 일어나게 되면서 효율적인 ligand 결합과 이에 의한 세포내 신호전달이 일어나게 된다. BMP ligand가 수용체에 결합되면 2형 수용체로부터 1형 수용체로 인산기의 전달이 이루어지고 다시 1형 수용체로부터 smad cascade로 인산기의 전달이 이루어지면서 target gene expression이 일어난다.[14] 최근 연구에 의하면 1형 BMP 수용체와 2형 BMP 수용체에는 각각 세 종류의 subtype이 있는 것으로 알려져 있는데 1형 수용체에는 ActR-I, BMPR-IA 및 BMPR-IB 등이, 2형 수용체에는 ActR-II, ActR-IIB 및 BMPR-II 등이 밝혀져 있다. In vitro 실험에서 TGF-β superfamily에 속하는 모든 BMP들은 BMPR-IA 또는 BMPR-IB와 결합된 BMPR-II에 결합하는 것으로 나타났으나 ActR-II, ActR-IIB 및 ActR-I은 BMP-4와는 결합하지 않아 BMPR-II 및 BMPR-IA, BMPR-IB가 BMP 특이 수용체로 생각되고 있다.

창상 치유에 있어서의 BMPs 기능에 관한 연구들을 살펴보면 BMP-2를 임신 제 2기 양의 태아 피부에 전처치하여 태아의 피부에 반흔있는 창상치유를 유도할 수 있었고[15] 쥐의 피부에서 BMP-6가 태아기와 출생 후 6일까지 고농도로 존재하고 이 후 성숙 개체의 피부에는 저농도로 존재함이 밝혀졌다.[16] 또한 BMP-6를 과다발현하고 있는 transgenic mouse에서의 창상치유는 오히려 정상 개체에서 보다 지연되는 결과를 보였으며 만성 창상에서는 BMP-6가 증가되어 있는 점으로 보아 이는 BMP-6가 epidermal cell의 증식을 억제함을 의미한다는 보고도 있다.[17] 백서 피부에 창상을 유발시

켜 BMPs와 수용체의 변화를 관찰한 연구에서는 창상 후 8일째에 BMP-7과 BMPR-II가 고농도로 증가함이 밝혀지기도 하였다.[18]

이러한 여러 보고들을 종합하여 볼 때 BMPs가 상피의 재생 및 창상 치유에 있어 역할을 하고 있음을 알 수는 있으나 정확히 어떠한 작용을 하고 있는지 자세히는 밝혀지지 않은 상태이다.

본 연구에서는 임신 제2기에 유산된 인간 태아의 피부조직과 성형 수술을 시행받은 환자에서 절제되어진 정상 성인 피부조직을 이용하여 창상 치유과정에 차이가 있음이 보고되어진 태아 피부와 성인 피부사이에 BMP 수용체의 발현 차이를 알아보고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 조직의 채취 및 보관

임신 제 2기에 유산된 5명의 태아(19주-25주)의 등부위에서 피부조직을 얻어 mRNA가 파괴되지 않도록 액화질소로 급동결 시킨 후 mRNA 추출 때까지 -70℃의 액화질소 탱크에 보관하였다.

성형술이나 재건술을 받는 5명의 성인에서 절제되어지는 정상 피부 절편을 mRNA가 파괴되지 않도록 액화질소로 급동결 시킨 후 mRNA 추출 때까지 -70℃의 액화질소 탱크에 보관하였다.

2. 면역조직 염색

임신 제2기에 해당하는 태아의 피부와 성인의 정상 피부 절편의 파라핀 포매 조직을 4㎛ 두께로 깎아 만든 조직절편 슬라이드를 60℃에서 12시간 동안 항온기 속에 두었다가 Xyless에서 10분간 3회에 걸쳐 탈파라핀화 시켰다. 100%, 95%, 70% 에칠알콜과 phosphate buffered saline(PBS)에 순차적으로 10분간 hydration 시킨다. 이후 3% H_2O_2에서 20분간 peroxidase 활성도를 제거한 후 90℃ 2mM citric acid에서 5분간 항원회복(antigen retrieval)을 시행하였다. 조직절편을 2% normal goat serum으로 실온에서 1시간 동안 반응시켜 비특이성 부위를 차단시켰다. 혈장을 제거한 후 슬라

이드 위의 조직절편에 일차항체 (anti BMP receptor-IA, IB/ anti BMP receptor-II rabbit serum, R&D Systems, Minneapolis, MN, USA)을 투여하고 4℃에서 18시간동안 incubation하였다. 이 때 각 항체의 농도는 2㎍/㎖로 하였다. PBS로 5분간 2회 씻어 일차항체를 제거한 후 일차항체 결합부위를 보기 위하여 이차항체(anti-rabbit goat IgG, Vector laboratory, Burlingganme, CA, USA)를 투여하고 실온에서 30분간 반응시킨 뒤 PBS로 5분간 2회 씻었다. 이차항체로 처리한 조직절편들을 avidin-biotin-horseradish peroxidase complex(Vector laboratory, Burlingganme, CA, USA)에 1시간 정도 반응시켰다. 이후 PBS로 5분씩 2회 씻은 후 diaminobenzidine tetrahydrochloride(Research genetics, Elmundo, AL, USA)으로 2분간 counterstain하였고 음성대조군으로는 일차항체 대신 정상 토끼혈청으로 대치한 것을 사용하였다.

이와 같은 BMP 수용체의 면역조직 염색은 정량적 분석이 어려워 조직표본들을 BMP 수용체에 대한 양성 또는 음성으로 분류하였다. 음성은 음성대조군과 비교하여 표피층내에 발색반응이 전혀 관찰되지 않았을 때로 판정하였으며 양성은 표피층내에 발색반응을 보이는 것으로 판정하였다.

3. RT-PCR(Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction)

적출한 조직 1g을 바로 액체질소로 얼린 후 homogenizer로 곱게 간 후 RNA purification kit(RNeasy Mini kit, QIAGEN)을 이용하여 RNA를 분리

하였다. 이로부터 추출된 mRNA를 random hexamer와 Moloney murine leukemia virus reverse transcriptase (BRL, Gaithersburg, MD, USA)를 이용, single strand cDNA를 만들었다. 1㎕의 cDNA를 각 PCR에 이용하였고 PCR에 이용되는 각 primer의 sequence는 아래 표와 같다. 30 cycle의 denaturation (95℃, 45초), annealing (각 최적 온도, 30초), 그리고 extension (72℃, 1분 30초)로 thermal processor에서 PCR을 진행하였다(표). 각 실험을 같은 조건하에서 2회 반복하여 결과의 reproducibility를 얻는다. 이때 internal reference로 β-actin을 사용하였다.

표 1. RT-PCR을 위한 primers

구분	Primer	Size(bp)
β-actin	GACTACCTCATGAAGATCCT GCGGATGTCCACGRCACACT	313
BMPR-IA	GCATAACTAATGGACATTGCT TAGAGTTTCTCCTCCGATGG	1401
BMPR-IB	GCAGCACAGACGGATATTGT TTTCATGCCTCATCAACACT	634
BMPR-II	ACGGGAGAGAAGACGAGCCT CTAGATCAAGAGAGGGTTCG	694

III. 결 과

1. BMP수용체에 대한 면역조직 염색

5명의 태아와 5명의 성인의 피부조직으로 9개씩 파라핀포매 조직 슬라이드를 만들어 면역조직 염색하였으며 태아와 성인 피부 조직에서 BMP 수용체의 발현을 비교 하였다.

그림 1, 2는 각각 태아와 성인 피부 조직을 면역조직 염색한 사진으로 태아의 피부 조직에서는 BMPR-I과 BMPR-II 모두 진피내에 존재하는 모낭에서는 진하게 발현되어 있었으나 모낭을 제외한 진피나 표피층에는 수용체의 발현을 보이지 않았다.

반면에 성인의 피부 조직에서의 BMPR-IB와 BMPR-II가 모낭과 표피의 기저층 세포에 잘 발현되어 있었고 BMPR-IA도 발현정도는 약간 떨어지나 역시 같은 부위에 발현되어져 있었다(그림 1, 그림 2).

각 5명씩의 개체로부터 나온 15개의 조직 표본의 염색 유무를 분석한 결과 태아 조직에서는 BMPR-IA가 13%(2/15)에서, BMPR-IB는 20%(3/15)에서, BMPR-II는 13%(2/15)에서 염색 양성을 보여 주었고 성인 조직에서는 각각 87%(13/15), 80%(12/15), 93%(14/15)에서 염색 양성을 보여주었다(표 2, 표3).

태아와 성인의 피부조직에서의 BMP 수용체의 발현의 차이를 비교하기 위해 각 염색 결과를 t-test를 이용하여 통계처리 시행한 결과 태아 조직보다 성인 피부조직에서 BMP 수용체의 발현이 의의있게 많이 되어 있음을 알 수 있었다(표 3).

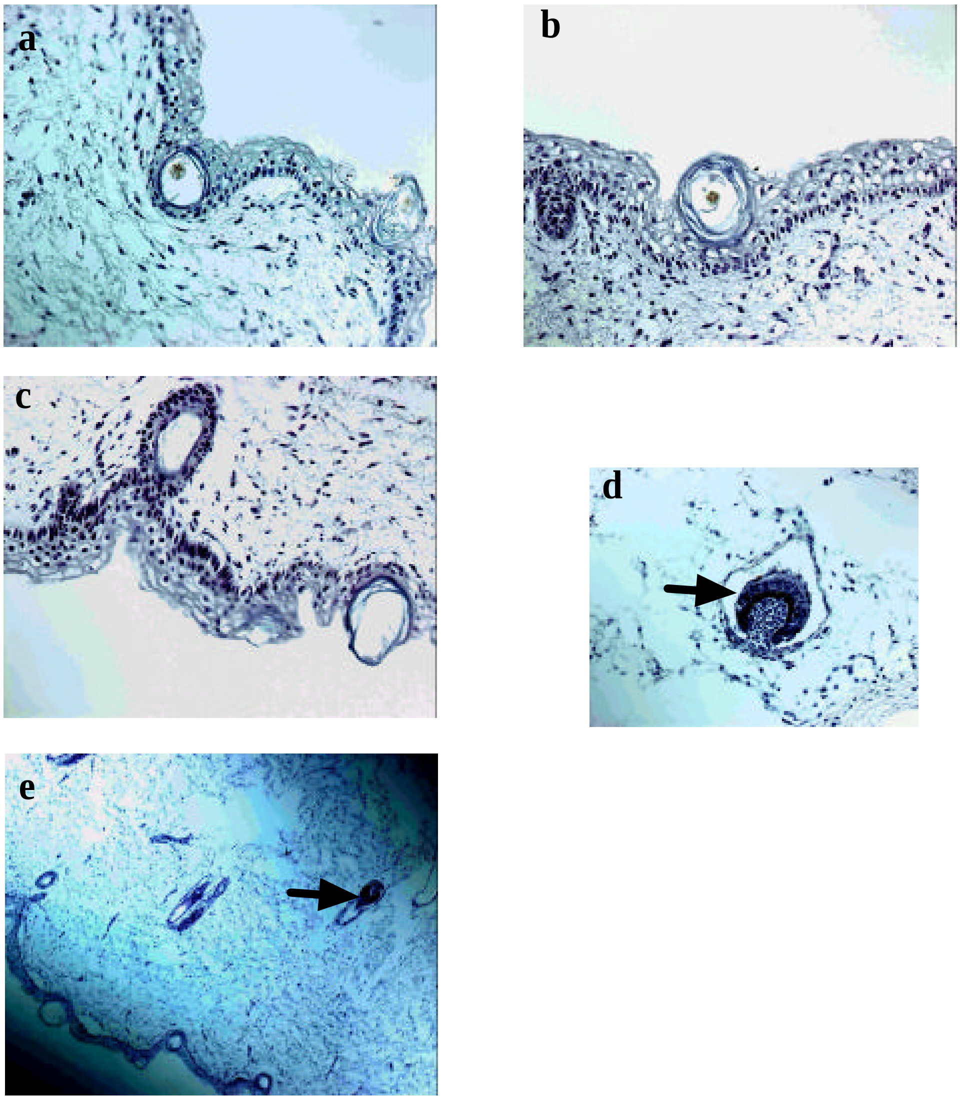

그림 1. **태아 피부의 면역조직 염색**

a, BMPR-IA; b, BMPR-IB; c, BMPR-II (x400) d, BMPR-IA**의 발현을 보이고 있는 모낭** e, BMPR-II**의 발현을 보이고 있는 모낭**(x100). **화살표가 면역 염색 부위를 표시함**.

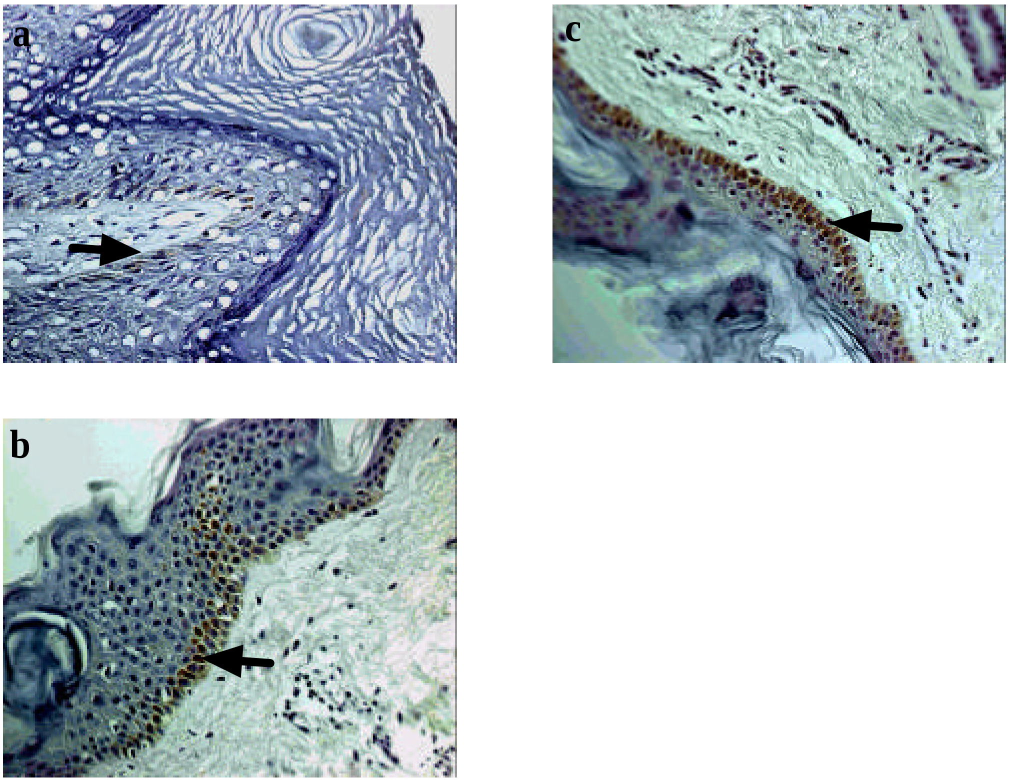

그림 2. **성인 피부의 면역 조직 염색**

a, BMPR-IA; b, BMPR-IB; c, BMPR-II (x400)

화살표가 면역 염색 부위를 표시함.

표 2. 정상 성인 피부조직 및 태아 피부조직에서의 BMP 수용체의 발현

Fetal skin[1]				Adult skin			
No.	BMPR-IA	BMPR-IB	BMPR-II	No.	BMPR-IA	BMPR-IB	BMPR-II
F1-1	-	-	-	A1-1	+	+	+
F1-2	-	-	-	A1-2	+	+	+
F1-3	-	-	-	A1-3	+	+	+
F2-1	-	-	-	A2-1	+	+	+
F2-2	-	-	+	A2-2	+	+	+
F2-3	+	+	-	A2-3	+	+	+
F3-1	-	-	-	A3-1	-	+	+
F3-2	-	-	-	A3-2	+	-	+
F3-3	-	-	-	A3-3	+	+	+
F4-1	+	-	-	A4-1	+	+	+
F4-2	-	+	+	A4-2	+	-	+
F4-3	-	+	-	A4-3	-	-	-
F5-1	-	-	-	A5-1	+	+	+
F5-2	-	-	-	A5-2	+	+	+
F5-3	-	-	-	A5-3	+	+	+

[1] F1; 19주 태아, F2: 20주 태아, F3,F4; 24주 태아, F5; 25주 태아

표 3. BMP 수용체 발현과 정상 성인피부조직 및 태아 피부조직의 상관관계

		태아	정상성인	통계적 의의
BMPR-IA	양성(%)	13	87	$p<0.01$
	음성(%)	87	13	
BMPR-IB	양성(%)	20	80	$p<0.01$
	음성(%)	80	20	
BMPR-II	양성(%)	13	93	$p<0.01$
	음성(%)	87	7	

2. RT-PCR(Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction)

BMP 수용체의 mRNA의 발현을 보기 위해 시행한 RT-PCR에서는 태아 피부 조직과 성인 피부조직 모두에서 BMPR-IA(1401bp), BMPR-IB(634bp), BMPR-II(694bp)의 mRNA의 발현을 확인할 수 있었다.

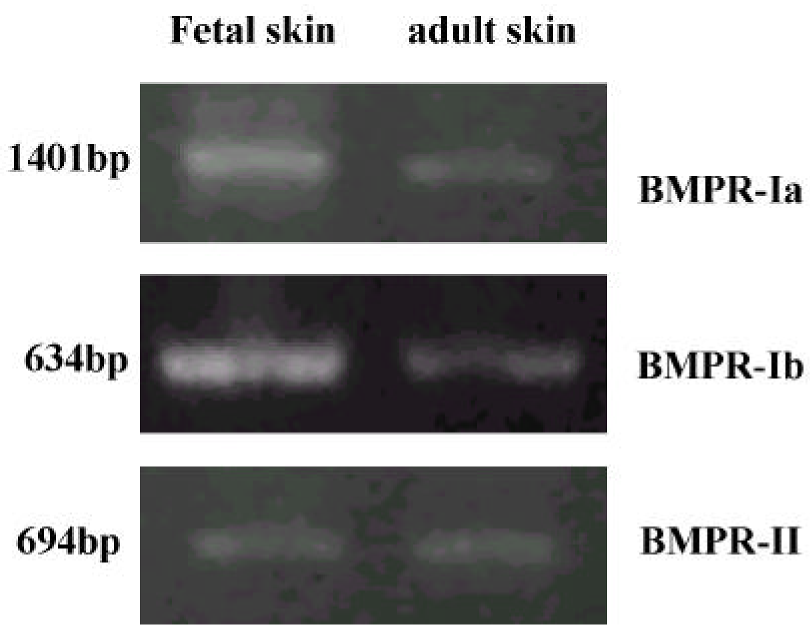

그림 3. 각 BMP 수용체에 대한 RT-PCR

IV. 고 찰

척추동물에서 임신 제2기까지의 태아에서는 반흔을 초래하지 않는 창상 치유가 가능하다고[1] 밝혀진 이래로 태아의 창상치유 과정에 대한 많은 연구가 진행되어 왔다. 가장 두드러지는 연구 결과로써는 bFGF나 TGF-β와 같은 성장 인자들이 성숙개체에서 보다 낮은 농도로 존재함으로써 최소의 염증반응을 유도함으로써 반흔을 초래하지 않고 창상 치유가 가능하며[2,19] 특히 조직의 섬유화와 관련된 성장 인자로 알려진 TGF-β1이 태아 조직에는 낮은 농도로 존재하고 섬유화를 억제하는 기능을 갖고 있는 TGF-β3가 고농도로 존재한다는 점이 가장 유력시 되고 있는 연구 결과이다.[19]

BMPs는 골 및 연골의 발생 및 증식뿐만 아니라 척추 동물에서 신장,[20] 눈,[12] 치아[21]등의 발생에 중요한 역할을 하며 특히 상피세포의 분화 및 증식과 깊은 연관성을 가지고 있음이 밝혀진 이후로 최근 피부 창상과의 관계에 대한 연구가 진행되고 있다.

임신 제2기의 인간 태아 피부에는 BMP-2가 모낭이나 기저세포막부위의 상피세포에만 낮은 농도로 발현되어 있고 진피 부위에는 존재하지 않으며 양의 태아 피부에 BMP-2를 처치한 경우 정상적인 반흔 없는 창상치유가 아닌 진피와 표피가 비정상적으로 증식되는 반흔이 초래되는 창상 치유를 초래함이 관찰되었다.[15]

쥐를 이용한 창상 치유 과정에서의 BMPs와 수용체의 변화를 보고자 하는 연구에서는 창상 치유 과정 동안 BMP-2와 BMP-4의 농도 변화는 없고 창상 8일째 BMP-7과 BMPR-II가 고농도로 발현하다가 창상 15일째는 저농도로 떨어짐을 보고한 연구도 있다.[18]

BMP-6를 과발현하고 있는 transgenic mouse에서의 창상 치유는 오히려 지연되고 만성 창상에서는 BMP-6가 증가해 있는 결과를 보임으로써 적절한 창상 치유를 유도하기 위해서는 BMPs의 발현정도가 조절되어야 함을 미루어 짐작할 수 있다.[17]

BMPs 수용체가 BMPs의 작용을 조절할 수 있는 하나의 인자로 작용할 수 있는데 본 연구에서는 태아와 성인의 피부에서 BMP 수용체 분포의 차이를 면역 조직 염색 기법을 통해 알아보고자 하였다.

그 결과 성인 피부에서는 BMPR-IB와 BMPR-II가 표피층의 기저층 상피세포에 주로 발현되어 있음을 보여주었고 BMPR-IA는 같은 부위에 비교적 약하게 발현되었다.

반면에 태아 피부에서는 BMPR-IA,-IB,-II 모두에 있어서 진피내에 존재하는 모낭에서는 높은 농도로 수용체들이 발현되어 있으나 표피층에는 발현되어 있지 않은 것으로 나타났다.

이는 BMPs가 성장 인자의 하나로써 태아 피부조직에 낮은 농도로 존재할 뿐만 아니라 그 수용체의 발현도 낮아 창상치유 과정에 있어 상피세포의 과증식이나 collagen이나 proteoglycan과 같은 반흔 형성에 필요한 기질의 합성을 억제함으로써 태아의 반흔 없은 창상 치유의 결과를 보이는데 역할을 하고 있음을 미루어 짐작할 수 있다.

Hsu(2001)등에 의하면 쥐의 태아 섬유모세포에서의 TGF-β수용체의 발현은 TGF-β 1형 수용체와 TGF-β 2형 수용체가 임신 제2기에 해당되는 제태기간 동안에는 낮은 농도로 존재함으로써 TGF-β의 기능이 억제되어 진다는 사실을 뒷받침 할 수 있다고 하였다.[19]

또한 본 연구에서는 RT-PCR을 통해 각 BMP 수용체의 mRNA를 태아

및 성인 피부 조직 모두에서 검출할 수 있었으나 BMP 수용체가 발현된 부위가 다르기 때문에 RT-PCR에서 보여주는 농도의 차이로 각 조직에서의 BMP 수용체의 발현정도의 많고 적음에 관하여서는 정확하게 언급하기가 힘들었다.

BMP 수용체에 관한 다른 연구들을 살펴보면 배양된 성인 각막 상피 세포에는 BMPR-IB의 발현 정도가 낮고 BMPR-II의 발현이 높으며 각막의 기질 세포에서는 발현 양상은 유사하나 각 수용체의 발현정도가 각막 상피 세포보다는 약하게 발현된다는 보고가 있다.[22] 성숙 개체에서 피부 창상 8일째에 BMP-7과 BMPR-II가 증가한다는 보고는 있지만 과연 BMPs와 BMP 수용체들이 창상 치유 과정에 있어서 어떤 역할을 하는지에 관한 보다 자세한 연구가 필요하다.

현재 BMP 수용체의 연구에 있어서 noggin이나 chordin등의 BMPs antagonist를 이용하기도 하며[23] truncated type BMPR(trBMPR)을 retrovirus를 이용하여 세포에 transfection시켜 수용체를 억제, 또는 constitutively active BMPR(caBMPR)을 transfection시켜 BMPs가 없어도 BMP수용체를 지속적으로 자극하여 기능을 나타나도록 하는 방법들이 이용되고 있으며[24] 향후 이런 방법들을 이용하여 BMP 수용체에 대한 체계적인 연구가 필요하리라 본다.

V. 결　론

본 연구에서는 창상치유 과정에 차이가 있는 임신 제2기의 인간 태아 피부와 성인 피부에 있어 BMP 수용체의 발현을 면역 염색과 RT-PCR 기법을 통해 알아보고자 하였으며 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 임신 제2기의 태아 피부에서 BMP 수용체는 진피에 존재하는 모낭에서만 발현을 보이고 표피층이나 모낭 이외의 진피층에서는 발현을 보이지 않았다.

2. 성인 피부에서는 BMPR-I과 BMPR-II 모두 표피의 기저층 세포와 모낭에 발현되어 있었다.

3. 태아와 성인 피부 모두에서 RT-PCR을 통해 BMP 수용체의 mRNA를 검출할 수 있었다.

이상의 결과로 미루어 볼 때 성숙 개체의 창상 치유에 있어 BMPs 와 BMP 수용체들이 관여할 것으로 여겨지며 임신 제2기의 태아의 창상 치유에 있어 BMPs는 TGF-β와 같은 성장인자들에서처럼 낮은 농도로 존재함으로써 이러한 저농도의 BMPs 수준이 반흔 없는 창상 치유를 유도하는 기전에 중요한 요인으로 작용하리라 생각되어 진다.

참 고 문 헌

1. Lorenz HP, Longaker MT, Perkocha LA, et al. : Scarless wound repair: A human fetal skin model. Development 114:253, 1992
2. Whitby DJ, Ferguson MWJ : Immunohistochemical localization of growth factors in fetal wound healing. Dev Biol 147:207-215, 1991
3. Nath R, LaRegina M, Markham H, et al.: The expression of transforming growth factor - beta in fetal and adult rabbit skin wounds. J Pediatr Surg 29(3):416-421, 1994
4. Wozney JM, Rosen V, Celeste AJ, Mitsock LM, Whitters MJ, Kriz RW, Hewick RM, Wang EA: Novel regulators of bone formation molecular clones and activities. Science 242: 1528-1534, 1988
5. Wozney JM. The bone morphogenetic protein family and osteogenesis. Mol Reprod Dev 32: 160-167, 1992
6. Sampath TK, Maliakal JC, Hauschka PV, Jones WK, Sasak H, Tucker RF, White KH, Coughlin JE, Tucker MM, Pang RHL. Recombinant human osteogenic protein-1(hOP-1) induces new bone formation in vivo with a specific activity compatable with natural bovine osteogenic protein and stimulates osteoblast proliferation and differentiation in vitro. J Biol Chem 267: 20352-20362, 1998

7. Massague J, Weis-Garcia F: Serine/threonine kinase receptors: mediators of transforming growth factor β family signals. Cancer Surg 27: 41-64, 1996

8. Hogan BL. Bone morphogenetic proteins: Multifunctional regulators of vertebrate development. Genes Dev 10: 1580-1594, 1994

9. Lind M, Eriksen EF, Bunger C. Bone morphogenetic protein-2 but not bone morphogenetic protein-4 and -6 stimulates chemotactic migration of humanosteoblasts, human marrow osteoblasts, and U2-OS cells. Bone 18: 53-57,1996

10. Paralkar VM, Weeks BS, Yu YM, Kleinman HK, Reddi AH. Recombinant human bone morphogenetic protein 2B stimulates PC 12 cell differentiation,potentiation and binding to type IV collagen.J Cell Biol 119: 1721-1728, 1992

11. Zou H, Niswander L: Requirement for BMP signaling in interdigital apoptosis and scale formation. Science 272: 738 - 741, 1996

12. Luo G, Hofman C, Bronckers ALJJ, Sohocki M, Bradley A, Karsentry G: BMP-7 is an inducer of nephrogenesis and is also required for eye development and skeletal patterning. Genes Dev 9: 2808-2820, 1995

13. Winnier G, Blessing M, Labosky Pa, Hogan BLM: Bone morphogenetic protein-4 is required for mesoderm formation and patterning in the mouse. Genes Dev 9:2105-2116, 1995

14. Yamashita H, Ten-Dijke P, Heldin CH, Miyazono K: Bone morphogenetic protein receptors. Bone 19: 569-574, 1996
15. Stelnicki EJ, Longaker MT, Holmes D, et al.: Bone morphogenetic protein-2 induces scar formation and skin maturation in the second trimester fetus. Plast Reconstr Surg 101:12-19, 1998
16. Blessing M, Schirmacher P, Kaiser S: Overexpression of bone morphogenetic protein-6 in epidermis of transgenic mice: inhibition or stimulation of proliferation depending on the pattern of transgene expression and formation of psoriatic lesions. J Cell Biol 135:227-239, 1996
17. Kaiser S, Schirmacher P, Philipp A: Induction of bone morphogenetic protein-6 in skin wounds. Delayed reepitheliazation and scar formation in BMP-6 overexpressing transgenic mice. J Invest Dermatol 111:1145-1152, 1998
18. Shephard P, Grunewald M, Hafner M, Krieg T, Smola H: Bone morphogenetic proteins in skin wound healing. J Invest Dermatol 115(3):561, 2000
19. Hsu M, Peled ZM, Chin GS, LIu W, Longaker MT: Ontogeny of expression of transforming growth factor-(beta)1, TGF-(beta)3 and TGF-(beta) receptors I and II in fetal rat fibroblast and skin. Plast Reconstr Surg 107:1787-1794, 2001
20. Hogan BL: Bone morphogenetic proteins:multifunctional regulators of vertebral development. Gene Dev 10:1580-1594, 1994

21. Thesleff I, Nieminen P: Tooth morphogenesis and cell differenciation. Curr Opin Cell Biol 8:844-850, 1996

22. Moban RR, Kim WJ, Moban RR, Chen L, Wilson SE: Bone morphogenetic protein 2 and 4 and their receptors in the adult human cornea. Invest Ophthalmol Vis Sci 39:2626-2636, 1998

23. Zimmerman LB, De Jesus-escobar JM, Harland RM: The spemann organizer signal noggin binds and inactivates bone morphogenetic protein 4. Cell 86:599-606, 1996

24. Chen D. Ji X, Harris MA, Feng JQ, Karsenty G, Celeste AJ, Rosen V, Mundy GR, Harris SE: Differentail roles for bone morphogenetic protein receptor type IB and IA in differentiation and specification of mesenchymal precursor cells to osteoblast and adipocyte lineages. J Cell Biol 142:295-305,1998

Abstract

Comparison of bone morphogenetic protein receptors expression in the fetal and adult skin

Eun A Hwang

Brain Korea 21 Project for Medical Sciences

The Graduate School, Yonsei University

(Directed by Professor Kwan Chul Tark)

Wounds on fetal skin can be repaired without scars till the second trimester, but after this period, skin wounds leave scar as in adults. It's known that certain growth factors such as TGF-β, bFGF present at a very low level during wound repair in fetal skin. The low level of growth factors minimizes inflammatory response and fibroblast proliferation in the wound site, which in turn inhibits collagen synthesis and, thus, allows scarless wound healing. Recently, bone morphogenetic proteins(BMPs), one of the TGF- superfamily members, have been studied for wound healing process. According to several studies, BMPs is related to the differentiation and growth of epithelial cells and mesenchymal cells. But the exact function of BMPs and BMP recpetors on skin wound healing was not revealed.

In this study, we investigated the expression pattern of BMP receptors in fetal skin at the second trimester and adult skin using immunohistochemical stain and RT-PCR. The BMP receptors were detected on the suprabasal epithelial cells and hair follicle in adult skin, while they were not defected in the fetal skin except hair follicle. In addition, mRNA levels of BMP recpetors were confirmed by RT-PCR in both adult and fetal skin.

In conclusion, BMPs and BMP receptors seem to be related to the fetal and adult wound healing, and low level of BMPs and BMP receptors during second trimester seems to be contributed to scarless wound healing of fetus, so is TGF-β in the second trimester.

Key Words : fetal wound healing, BMP, BMP receptor,
immunohistochemical stain