

임플란트 주위 연조직세포의 세포-기질 접착

¹가톨릭대학교 의과대학 치과학교실, 성빈센트병원 치과, ²서울대학교 치과대학 치주과학교실
³연세대학교 치과대학 보철학교실, 영동세브란스병원 보철과, ⁴서울대학교 치과대학 보철학교실

이석원¹ · 류인철² · 한종현³ · 이재봉⁴

I. 서 론

임플란트 주위의 연조직을 구성하는 세포들은 외배엽성의 치은상피세포와 중배엽성의 치은섬유아세포로 대표된다. 임플란트 주위 연조직이 많은 양과 높은 질로 형성되기 위해서는 필수적으로 연조직을 구성하는 세포들이 임플란트-지대주 연결 후 지대주 표면에 초기에 강력하게 접착되어 단기간에 증식, 분화 및 이동할 수 있어야 한다. 이에 따라 치은상피세포와 치은섬유아세포 등 연조직 구성 세포들과 특정한 기질(matrix), 즉 임플란트 지대주간의 접착 기전에 대한 이해는 성공적인 임플란트 치료를 위한 필수 요소라 할 수 있다. 나아가 임플란트 지대주 표면의 변형을 통한 연조직 부착력 강화 등 임상적인 응용에도 매우 유용할 수 있다. 임플란트 주위 결합 조직을 형성하는 섬유아세포가 임플란트의 지대주 즉, 기질(matrix) 혹은 substratum에 접착되는 기전은 focal adhesion으로 설명되며¹⁾ 임플란트 주위 상피 조직을 구성하는 상피세포는 hemidesmosome을 통하여 세포-기질 접착(cell-matrix adhesion)을 형성한다.^{2,3)} 섬유아세포와 상피세포를 비롯한 다양한 세포들은 세포막이 기질 혹은 substratum에 직접 접착되지 않고 반드시 세포외기질(extracellular matrix, ECM)을 통하여 세포막투과단백질(transmembrane protein, i.e. integrins), 세포질단백질(cytoplas-

mic protein, i.e. vinculin), 그리고 세포골격구조(cytoskeletal structure, i.e. actin filament) 등의 연속적인 protein cascade로서 접착 복합체(adhesion complex)를 형성한다.⁴⁾

II. 본 론

본 연구에서는 focal adhesion을 구성하는 세포외기질, 세포막투과단백질, 세포질단백질, 세포골격구조 등의 분자생물학과 기능을 통해 섬유아세포의 세포-기질 접착 기전의 이해를 돕고자한다. 아울러 최근 관심이 집중되고 있는 3-D matrix adhesion과 2-D matrix adhesion의 비교를 통해 미래의 세포-기질 접착 연구의 방향을 예측해 보며 마지막으로 상피세포의 세포-기질 접착에 대해 간략히 알아보하고자 한다.

세포외기질(extracellular matrix, ECM)

ECM은 다양한 단백질과 polysaccharide로 이루어져 있으며 혈청에서 흡착(adsorption)되거나 세포로부터 분비된다. 흡착 후에는 ECM의 다양한 구성물들이 합쳐져 세포 표면과의 상호작용을 위하여 거대 분자의 meshwork를 형성한다.⁵⁾ ECM은 기질 골격(scaffold)으로 작용하여 구조적인 골격을 이루거나 기질 혹은 substratum과 세포간의 'molecular glue'

1. 본 연구는 보건복지부 보건의료기술진흥사업(01-PJ5-PG1-01CH12-0002)의 지원에 의하여 이루어진 것임.
2. 본 연구는 두뇌한국21 의과학사업단에 의하여 지원되었음.

의 역할을 수행한다. 섬유아세포 주위 기질의 구조적인 골격을 담당하는 대표적인 ECM은 collagen으로서 collagen scaffold의 형태로 역할을 담당한다. 기질과 세포간의 부착에 관계되는 대표적인 단백질은 laminin^{6,7)}(상피세포에 부착), fibronectin과 vitronectin^{8,9)}(섬유아세포에 부착), bone sialoprotein과 osteopontin^{10,11)}(골아세포에 부착)등이 있다. ECM은 이외에도 proteoglycan의 형태로 세포의 증식(proliferation), 분화(differentiation) 및 이동(migration)에서 역할을 수행한다. 이러한 proteoglycan은 glycosaminoglycan으로 둘러싸인 protein core의 형태로서 lectican, SLRPs, heparan sulfate proteoglycans 등이 있다.¹²⁾ ECM은 매우 역동적이고(dynamic) 끊임없이 개조되는(remodeling) 구조로서 이러한 ECM의 개조(remodeling)를 담당하는 효소로는 matrix metalloproteinase(MMPs)가 대표적이다.¹³⁾ 섬유아세포의 세포-기질 접착에서 가장 중요하게 작용하는 ECM 단백질은 fibronectin이며¹⁴⁾ 최근 다수의 조직공학 연구에서 세포-기질 접착에서 가장 중요하게 작용하는 ECM 단백질은 fibronectin이며¹⁴⁾ 최근 다수의 조직공학 연구에서 세포결합영역(cell-binding domain)인 fibronectin의 RGD peptide를 synthetic RGD-modified polymer로 합

성하여 생체재료의 표면에 적용하는 방법으로 세포-생체재료 접착을 증진하려는 시도들의 근거가 되고 있다.¹⁵⁾

Integrin 수용체

섬유아세포의 세포-기질 접착(cell-matrix adhesions)의 기전을 설명하는 focal adhesion은 매우 복잡한 protein cascade로 구성되어 있고 이에 관여하는 것으로 현재까지 알려진 단백질만 해도 50가지가 넘는다.¹⁶⁾ 섬유아세포의 세포-기질 접착은 integrin receptor family와 연계된 형태로서 그 성숙도에 따라 focal complex, focal adhesions, fibrillar adhesions로 분류되며 각각의 특징을 간략히 표로 정리하였다.(Table I) 세포 내 외를 넘나드는 형태의 세포막 투과단백질인 integrin receptor family는 α 와 β 의 subunit으로 이루어진 이량체(heterodimers)로서 리간드(ligand) 결합을 담당하는 세포외영역(extracellular domain), 세포투과영역(transmembrane domain), 세포질영역(cytoplasmic domain)으로 구성된다.^{17,18)} Integrin은 세포의 접착(adhesion), 이동(migration) 및 신호전달(signaling)에 결정적인 역할을 담당하는 것으로 알려져 있다.¹⁹⁻²⁴⁾ 세포-기질

Table I. Integrin-mediated matrix adhesions of fibroblasts

	Focal complex	Focal adhesions	Fibrillar adhesions
structure	small, dot-like structure	oval, peripheral structure	elongated, dot-like structure
integrins mediated	$\alpha_v\beta_3$	$\alpha_v\beta_3$ & $\alpha_5\beta_1$	$\alpha_5\beta_1$
cytoplasmic proteins	unknown	paxillin, vinculin, FAK and more	tensin, parvin and more
induction of formation	Rac	Rho activation and external force	Rho kinase and Diaphanous
main function	maturation into focal adhesions	maturation into focal adhesions via clustering & translocation of $\alpha_5\beta_1$	fibrillogenesis

FAK : focal adhesion kinase

Rho : D-antigen of the rhesus system, GTPase of Ras superfamily

Rac : GTPase of Rho family

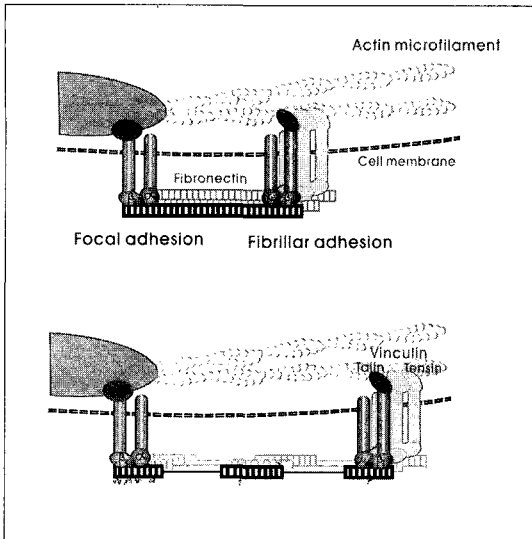


Fig. 1. Clustering & translocation of $\alpha_5\beta_1$ integrins.

접착 초기에 형성된 focal adhesion 복합체에서 동시에 존재하던 (co-localized) integrin 수용체인 $\alpha_v\beta_3$ 와 $\alpha_5\beta_1$ 은 Rho의 활성화와 세포 외부로부터의 전달된 힘에 의하여 clustering된다. Multi-ligand receptor인 $\alpha_v\beta_3$ integrin은 focal adhesion 부위에 남아있게 되고 fibronectin에 결합하는 $\alpha_5\beta_1$ integrin은 focal adhesion으로부터 자유롭게 분리되어 세포막을 따라 세포내 actin microfilament bundle에 평행하게 이동(translocation)하며 fibrillar adhesion을 형성한다.²⁵⁻²⁹⁾ (Fig. 1) 이때 $\alpha_5\beta_1$ integrin 복합체의 이동 때문에 세포 내에서 actomyosin에 의한 수축력 (actomyosin-driven contractility)이 발생하고 이미 존재하고 있던 세포외단백질인 fibronectin에도 힘이 전달되어 긴장력(tension)이 형성된다. 이렇게 촉발된 fibronectin의 긴장력은 fibronectin의 수용체 중 synergy site와 RGD loop 사이의 cryptic site를 노출시키게 된다.¹⁶⁾ (Fig. 2) 노출된 cryptic site를 중심으로 fibronectin fiber들이 polymerization을 일으켜 fibronectin fibrillogenesis가 유발되면 결과적으로 fibronectin이 추가 되는 ECM이 세포 표면 또는 기질 상에 광범위하게 형성된다.³⁰⁾ 따라서 최근 fibronectin을 구성하는 여러 수용체 중 $\alpha_5\beta_1$ integrin의 유일한 부착수용체로 알려져 있는 synergy site의 중요성이

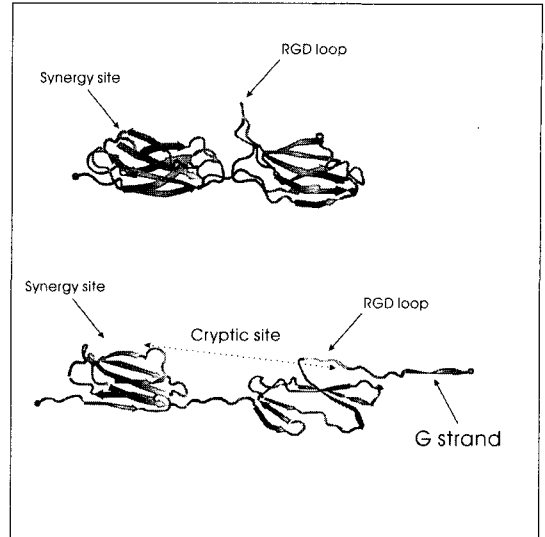


Fig. 2. Fibronectin exposure of cryptic site.

부각되고 있다.³⁰⁾ 2차원 기질에서의 세포배양 시 focal contact 또는 초기의 focal adhesion에서 paxillin, vinculin, 인산화 FAK 등이 다량 발견되는 반면, $\alpha_5\beta_1$ integrin과 연관된 fibrillar adhesion에서는 tensin이 특징적으로 발견된다.²⁷⁾ 통상의 in vitro 세포 배양에서 섬유아세포와 mesenchymal cell들은 focal adhesion을 고정 도구로 사용하여 앞서 설명한 integrin의 역동적인 이동을 통해 특정한 기질에 정착될 수 있는 매개체인 세포외기질을 지속적으로 만들어 나간다.

역학적인 힘(mechanical force)또한 세포와 조직의 형태와 기능에 매우 중요한 역할을 한다고 알려져 있다.³¹⁾ 실제로 세포 수준에서의 역학적인 힘은 세포 골격의 구성, 유전자 발현, 분화 및 증식, 생존에 영향을 준다.³²⁾ Integrin에 의한 세포접착복합체(integrin-mediated adhesion complex)는 역학적 감각(mechanosensitivity)을 가지며³³⁾ integrin 자체도 역학적 힘을 감지한다는 가설이 제시되었다.³⁴⁾ 이러한 결과들은 이미 의학 분야에서 혈압과 혈류를 감지하는 혈관의 기능, 골의 재생, 근육의 유지, 피부감각 등에 매우 빈번하게 인용되고 있다.³⁵⁻³⁷⁾ Integrin에 의한 세포부착과 역학적인 힘이 서로 간에 영향을 미친다는 사실은 최근의 연구들에서 이미 입증되었

다.^{33,34)} 즉 세포는 focal adhesion이나 focal complex와 같은 접착구조를 통하여 부착된 substratum에 견인력(tractional force)을 가하는 반면, actomyosin에 의하여 생성되는 긴장력과 이에 저항하는 substratum의 적절한 견고성이 부착구조형성을 촉발한다는 것이다.^{38,39)} 이러한 쌍방의 영향력에 의하여 세포의 이동, 기질 형성, 조직 형성 등의 조절이 가능하게 된다. 이동성이 활발한(motile) 세포들에서는 filopodia나 lamellipodia내에 존재하는 접착복합체가 focal adhesion에 비하여 상대적으로 작은 크기로 일시적으로 존재한다.⁴⁰⁾ 이러한 접착복합체를 focal adhesion과 대비하여 focal complex라 부르며 focal complex의 경우 방향성이 요구되는 그 특징적인 기능 때문에 역학적 감각의 중요성이 더해진다.⁴¹⁾ 따라서 기질 혹은 substratum상에서 단시간에 넓은 범위로 세포의 증식 및 이동을 유도하고자 focal adhesion과 focal complex를 통한 역학적 힘의 감지 능력을 최대화하기 위한 노력의 일환으로 substratum 자체의 표면의 변화 또는 형태의 변화를 모색하여야 하는 시점에 이르렀다고 사료된다.

세포기질단백질(cytoplasmic protein)

Focal adhesion에 관여하는 세포기질단백질에는 tensin, vinculin, paxillin, α -actinin, talin 등이 있다. Tyrosine kinase에는 SVC, FAK, PYK2, Csk, Abl 등이 있고 serine/threonine kinase에는 ILK, PKC, PAK 등이 있다. 또한 GTPase modulator에는 ASAP1, Graf, PSGAP 등이, tyrosine phosphatase에는 SHP-2, LARPTP 등이 있으며 기타 효소로 PI 3-kinase, protease calpain II 등이 조절자의 역할을 수행하는 것으로 알려져 있다. 이들 중 세포내 actin filament에 부착될 수 있는 단백질로 vinculin, tensin, α -actinin, VASP, parvin/actopaxin, ERM-proteins 등이 있고 integrin의 cytoplasmic tail에 부착되는 단백질에는 talin, tensin, FAK, ILK, α -actinin 등이 있다.⁴²⁾ Focal adhesion에서 세포기질단백질의 역할의 기전을 설명하는 도구로 vinculin이 가장 빈번히 인용된다. Vinculin은 세포의 핵 쪽으로는 α -actinin에 결합되고⁴³⁾ 세포막 쪽으로는 talin에 결합된다.⁴⁴⁾ 또한 또 다른 vinculin과의 결합

을 위한 부위가 존재하여 기타 단백질들과의 결합을 조절할 수 있는 기능을 가지고 있다. 즉 vinculin 간의 결합부위가 α -actinin, talin, F-actin, VASP 등의 결합부위를 숨길 수 있어 이러한 단백질들과의 결합을 막거나 조절하는 것으로 추정된다.⁴²⁾ Vinculin의 conformation 형태인 PtdIns(4,5)P₂가 vinculin에 결합되면 conformation의 활성화가 시작된다.^{45,46)} PtdIns(4,5)P₂에 의한 활성화에 의하여 focal adhesion을 구성하는 단백질과의 교차결합(crosslinking)과 분리(recruitment)를 반복함으로써 focal adhesion 복합체가 형성되는 것이다. 섬유아세포의 세포-기질 접착에 주요하게 관여하는 세포기질단백질인 vinculin에 관한 연구들이 계속 진행 중이며 특정 단백질에 특징적으로 부착되는 antibody를 이용하여 vinculin과 integrin의 존재를 확인함으로써 섬유아세포가 기질 혹은 substratum에 접착되었다는 신호인 focal adhesion의 생성을 확정짓는 도구로 빈번히 사용되고 있다. Focal adhesion의 보다 성숙된 단계인 fibrillar adhesion 단계에서의 일차 세포 골격구조 구성물인 tensin은 α 5 β 1 integrin과 같은 방법으로 이동(translocation)한다.²⁹⁾ 이는 몇몇 실험에서 배지에 tensin의 negative inhibitor를 투입하였을 때 integrin의 이동, fibrillar adhesion의 형성, fibronectin의 fibrillogenesis 등이 일어나지 않는 현상을 통해 입증되었다.²⁷⁾ 따라서 tensin은 자신과 focal adhesion의 이동(translocation)을 활성화하여 fibrillar adhesion의 형성에 결정적인 역할을 하는 것으로 추정되고 있다. Paxillin의 경우 FAK(focal adhesion kinase)와의 특징적인 상호작용을 통하여 focal adhesion의 형성에 관여하며 특히 복잡한 protein cascade내에서 focal adhesion 복합체의 이동(translocation)에 깊숙이 관여하는 것으로 알려져 있다.⁴⁷⁾ 이러한 단백질들과 focal adhesion 복합체의 이동(translocation) 현상은 이동(migration)이 활발한 섬유아세포에서 특징적으로 발견되며 이동(migration)중인 섬유아세포의 filopodia나 leading edge부위에서 focal adhesion의 생성, 성숙, 파괴가 활발히 관찰되는 것과 무관하지 않다.

Focal adhesion의 형성과 개조는 매우 역동적인 과정으로서 protein tyrosine kinase와 Rho family의 작은 GTPase들의 조절을 받는다.^{41,48)} Focal adhesion

과 관계된 protein tyrosine kinase를 대표하는 것이 세포질에 존재하는 focal adhesion kinase(FAK)이며 FAK는 '세포밖의 ECM에서 세포내의 actin cytoskeleton까지의 신호 전달의 조절에 매우 중요한 역할을 수행한다.^{49,50)} FAK는 특히 세포의 이동(migration)의 조절에 있어 독점적인 역할을 가진다.⁵¹⁾ 실제로 FAK가 전무한 세포들은 ECM상에서 보다 느리게 퍼지며 전형적인 focal adhesion의 수가 증가함에 따라 이동이 매우 제한되고 역학적인 힘에 대한 감지능력이 저하되어 이동(migration)의 방향성을 상실하게 된다.^{52,53)} 또한 paxillin, Cas, Src family 등 FAK에 특징적으로 부착되는 단백질들이 결여된 세포들의 경우 접착복합체의 전환(turnover)이 심각하게 저해된다.⁵⁴⁾ 이상의 내용들을 종합해 볼 때 FAK는 이동하는 세포의 leading edge에서 세포-기질 부착의 생성과 소멸의 신호 전달을 조절하는 중요한 단백질이라 사료된다.^{55,56)}

세포골격(cytoskeleton)

세포골격(cytoskeleton)은 스스로 결합되는 단백질 분자들에 의해 형성된 filament들의 접착성 골격(cohesive framework)들로 구성된다.⁵⁷⁾ 세포골격은 세포의 형태를 유지하는 기능 이외에 세포의 이동에 주도적인 역할을 수행하는 것으로 알려져 있다.^{40,58-60)} 형태학적으로 세포골격은 microfilament, intermediate filament, microtubule 등으로 분류된다. Microfilament는 stress fiber라고도 불리우며 5-7 nm 지름의 filament 다발(bundle)로 구성된다. Microfilament는 세포와 substratum간의 부착에서 세포질 단백질들과 결합하여 일정한 역할을 담당한다. 즉, 세포막투과단백질인 integrin, 세포질단백질인 vinculin과 talin 등과 결합하고 세포질을 주행하여 세포핵의 외막에 부착됨으로서 세포내부로부터의 특징적인 신호(수축력, actomyosin contractility)를 substratum에 전달하고 반대로 ECM으로부터의 신호(긴장력, tension)를 세포내부로 전달한다. Microfilament는 생화학적으로 actin, myosin 등의 단백질로 구성되어 있으며 특히 이동성이 활발한 세포에서 다량 발견되는 actin의 경우 구형의 G-actin과 filament형태의 F-actin으로 세포질 내에 존

재하다가 필요시 microfilament로 변환된다. Intermediate filament는 10nm 직경의 filament인 경우로서 그 subunit의 구성에 의한 분류에 따르면 상피세포에는 Keratin filament가 존재하고 섬유아세포에는 Vimentin filament가 존재하여 역할을 담당하는 것으로 알려져 있다. 즉, 상피세포내의 keratin filament의 경우 세포막 상의 desmosome이나 hemidesmosome 등 특정한 세포접착부위와 세포핵을 연결하고 강력한 인장력으로부터 저항하여 세포의 골격을 유지한다. Microtubule은 단면이 링의 형태로 존재하며 그 외경은 25nm에 이른다. 그 역할은 아직까지 규명되지 않고 있으나 최근의 연구에 따르면 microtubule 역시 microfilament인 actin과 마찬가지로 Rho GTPase의 조절 하에 있으며 따라서 어떠한 방식으로든 focal adhesion과 관계된 신호전달에 관여할 것으로 추정되어지고 있다.⁶¹⁾ 이상과 같이 세포내의 세포골격 구조물들은 세포-기질 접착 및 그 와 연관된 세포내외의 신호전달에 주요한 역할을 수행한다고 알려져 있다.⁴⁾

2-D vs 3-D matrix adhesion

최근 2차원적인 in vitro 연구의 한계를 뛰어넘어 3차원, 즉 in vivo의 환경과 유사한 상태에서의 세포-기질 접착(cell-matrix adhesion)의 연구가 진행되고 있다.^{25,62)} 전통적인 2차원 matrix에서의 in vitro 연구들의 결과에 의하여 정립된 focal adhesion과 fibrillar adhesion 등의 가설의 결과와는 판이한 3차원 기질에서의 연구결과들이 보고 되고 있으며⁶³⁾ 이때 가장 중요한 차이점은 2차원 기질에서 초기의 focal adhesion이나 focal complex에서 주요한 역할을 수행하는 $\alpha_v\beta_3$ integrin 대신 3차원 기질에서는 focal adhesion에서 $\alpha_5\beta_1$ integrin이 주요한 작용을 한다는 것이다.^{25,62)} Cukierman 등²⁵⁾은 embryo를 이용하여 in vivo의 환경을 재현한 3차원 matrix model 과 전통적인 2차원 matrix model에서 각각 섬유아세포를 배양한 결과 그 형상과 관계되는 여러 단백질의 구성에 있어서 상이한 차이를 발견하고 3차원 기질 모델에서의 세포-기질 접착을 '3-D matrix adhesion'이라 명명하였다. 3-D matrix adhesion은 $\alpha_v\beta_3$ integrin과 fibronectin간의 상호작용에 의하여 특이한 형

Table II. Traditional 2-D cell-matrix adhesions and 3-D matrix adhesions of fibroblasts in vitro

	2-D cell-matrix adhesions	3-D matrix adhesions
cell shape	triangular, flat, rigid 2-D structure	elongated, slender, spindle shaped 3-D structure
cell proliferation	control	moderately increased (1.5X)
cell migration	control	increased
cell adhesion	control	extremely increased (2X - 6X)
integrins	$\alpha_v\beta_3$ & $\alpha_5\beta_1$, clustering & translocation of $\alpha_5\beta_1$ to generate fibrillogenesis	$\alpha_5\beta_1$ only, to increase fibronectin fibrillogenesis, cross-linking, and intracellular tension
intracellular proteins	tensin coupled with $\alpha_5\beta_1$ integrin	paxillin, vinculin and FAK coupled with $\alpha_5\beta_1$
kinase	tyrosine-phosphorylation of FAK	increased activity of mitogen activated protein kinase such as ERK

FAK : focal adhesion kinase

ERK : extracellular signal regulated kinase

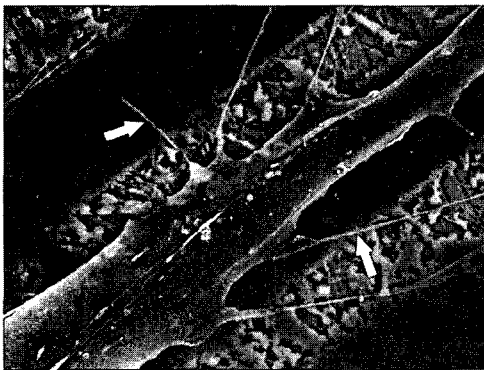


Fig. 3. Fibroblasts' filopodia on the microgrooved titanium substrata.

태와 분자 구성을 보이며 세포의 행동(behavior)도 전통적인 2차원 matrix adhesion과 매우 다르다. 3-D matrix adhesion에서는 2차원 기질에서보다 섬유아세포의 정착, 형태 변화, 이동, 증식 등이 더 빠르고 강력하다.⁶³⁾ 특히 기존의 연구에서 관찰된 활발한 filopodia의 형성은 기질의 3차원성을 인지하는데

filopodia가 감각기관(sensory organ)의 역할을 수행한 것으로 추정할 수 있다.^{64,65)} (Fig. 3) 3-D matrix adhesion에서는 $\alpha_5\beta_1$ integrin과 함께 paxillin, vinculin, FAK 등이 높은 농도로 발견되는데 이러한 단백질 들은 흥미롭게도 2차원 기질에서 $\alpha_v\beta_3$ integrin에 주로 부착되어 이후의 fibrillogenesis를 통한 fibrillar adhesion의 형성에 결정적인 단백질들이다. 2-D focal adhesion에서는 FAK가 인산화 되면서 세포의 신호전달을 조절하지만 3-D focal adhesion에서는 FAK의 인산화를 찾아볼 수 없으며 ERK(extracellular signal regulated kinase)등과 같은 mitogen 활성화 kinase에 의하여 세포의 신호전달이 조절된다. 따라서 2차원과 3차원에서의 focal adhesion형성은 근본적으로 다른 신호전달체계에 의하여 조절되는 것을 알 수 있다. 전통적인 2차원 기질에서의 세포-기질 부착과 3-D matrix adhesion의 차이점을 표로 정리하였다. (Table II)

상피세포의 세포-기질 정착

상피세포의 세포-기질 정착 역시 섬유아세포와 마

찬가지로 integrin이 매개된 기전으로 설명된다. 또한 접착의 조절도 섬유아세포와 마찬가지로 tyrosine kinase와 Rho family GTPase에 의한다. 상피세포의 integrin-mediated adhesion 복합체는 vinculin, α -actinin, actin 등과 결합하며 특히 vinculin과 α -actinin은 경쟁관계로서 상호조절(co-regulation)의 역할을 가진다.⁶⁶⁾ 상피세포의 세포-기질 부착에서 특징적으로 발견되는 $\alpha_6\beta_4$ integrin은 hemidesmosome이라는 구조 내에서 ECM과 actin을 연결한다.⁶⁷⁻⁶⁹⁾ 분화된 조직에서 주로 발견되는 hemidesmosome의 전구체로는 focal adhesion이 추정되고 있다.⁷⁰⁾ $\alpha_6\beta_4$ integrin에 의하여 매개되는 hemidesmosome에 의한 상피세포의 세포-기질 접착에는 세포 외기질(ECM)로 Laminin-5, 세포막투과단백질(transmembrane protein)로 $\alpha_6\beta_4$ integrin과 BP180(bullous pemphigoid antigen 180), 그리고 세포질단백질(intracellular cytoplasmic protein)로 plectin과 BP230(bullous pemphigoid antigen 230)등이 대표적으로 작용한다.⁷¹⁻⁷⁴⁾ 상피세포는 2차원과 3차원 기질에서의 비교 배양 시 세포-기질 접착양상에는 차이가 없으나²⁵⁾ apoptosis 등과 같은 특정한 자극에 대한 반응은 매우 다른 것으로 알려져 있다.⁷⁵⁾

III. 결 언

임플란트 주위 연조직을 구성하는 섬유아세포와 상피세포는 integrin의 매개 하에 각각 매우 특징적인 focal adhesion과 hemidesmosome을 통하여 기질 혹은 substratum에 접착된다. 세포-기질 접착에 관여한다고 현재까지 알려진 단백질 이외에 지속적인 연구를 통하여 새로운 생체 물질이 발견되거나 기존의 생체물질의 기능에 새로운 기증이 부가 또는 수정되고 있다. 따라서 세포-기질 접착에 관한 분자생물학을 치과 임플란트학, 특히 임플란트 지대주와 그 주위 연조직 세포간의 접착 현상을 규명하는데 응용할 때에 보다 과학적인 치료를 환자에게 제공할 수 있으리라 사료된다. 세포의 외형과 내부구조 및 행동양상(behavior)까지 관찰할 수 있는 다양한 방법들, 즉 면역형광법, confocal laser scanning, 주사 및 투과 전자현미경 등 첨단 기술들이 개발되고 있음

에도 불구하고 특정한 기질(matrix)이나 substratum에 대한 세포의 접착력을 측정할 수 있는 방법은 개발되지 않고 있다. 따라서 세포-기질 접착에 관한 기전의 이해를 토대로 기질 혹은 substratum(임플란트 지대주)의 표면과 형태의 다양한 변형을 통하여 세포접착력의 강도의 차이를 측정할 수 있다면 임플란트 지대주 표면에서의 강력한 연조직 부착을 통해서 임플란트 치료의 예후를 증진시키는데 기여할 수 있을 것이라 사료된다.

참고문헌

1. Jockush BM, Bubeck P, Giehl K, Kroemker M, Moschner J, Rothkegel M. The molecular architecture of focal adhesions. *Ann Rev Cell Dev Biol* 1995;11:379-369.
2. Jones J, Asmuth J, Baker SE, Langhofer M, Roth SI, Hopkinson SB. Hemidesmosomes: extracellular matrix/intermediate filament connectors. *Exp Cell Res* 1994; 213:1-11.
3. Borradori L, Sonnenberg A. Hemidesmosomes: role in adhesion, signaling and human diseases. *Curr Opin Cell Biol* 1996; 8:647-656.
4. Jansen JA, den Braber ET, Walboomers XF, de Ruijter JE. Soft tissue and epithelial models. *Adv Dent Res*. 1999;13:57-66.
5. Aumailley M, Gayraud B. Structure and biological activity of the extracellular matrix. *J Mol Med* 1998;76:253-265.
6. Aumailley M, Smyth N. The role of laminins in basement membrane function. *J Anat* 1998;193:1-21.
7. Colognato H, Yurchenco PD. Form and function: the laminin family of heterotrimers. *Dev Dyn* 2000;218:213-234.
8. Singer II, Scott S, Kawaka DW, Kazakis DM, Gailit J, Ruoslahti E. Cell surface distribution of fibronectin and vitronectin receptors depends on substrate composi-

- tion and extra cellular matrix accumulation. *J Cell Biol* 1988;106:2171-2182.
9. Steel JG, Johnson G, Underwood PA. Role of serum vitronectin and fibronectin in adhesion of fibroblasts following seeding onto tissue culture polystyrene. *J Biomed Mat Res* 1992;26:861-884.
 10. Nanci A, McKee MD, Ialzal S, Sakkal S. Ultrastructural and immunocytochemical analysis of the tissue response to metal implants in the rat tibiae. In: Davidovitch I, Mah J(eds.). *Biological Mechanisms of Tooth eruption, Resorption and Replacement by Implants*. Boston: Harvard Society for the Advancement of Orthodontics, 1998:487-500.
 11. Ayukama Y, Takeshita T. An immunoelectron microscopic localization of non-collagenous bone proteins(osteocalcin and osteopontin) at the bone-titanium interface of root tibiae. *J Biomed Mat Res* 1998;41:111-119.
 12. Bosman FT, Stamenkovic I. Functional structure and composition of the extracellular matrix. *J Pathol* 2003;200:423-428.
 13. Stamenkovic I. Extracellular matrix remodeling: the role of matrix metalloproteinase. *J Pathol* 2003;200:448-464.
 14. Pankov R, Yamada KM. Fibronectin at a glance. *J Cell Science* 2002;115:3861-3863.
 15. Hersel U, Dahmen C, Kessler H. RGD modified polymers: biomaterials for stimulated cell adhesion and beyond. *Biomaterials* 2003;24:4385-44159.
 16. Zamir E, Geiger B. Molecular complexity and dynamics of cell-matrix adhesions. *J Cell Science* 2001;114:3583-3590.
 17. Hynes RO. Integrin: versability, modulation, and signaling in cell adhesions. *Cell* 1992;69:11-25.
 18. Schwartz MA, Schaller MD, Ginsberg MH. Integrins: emerging paradigms of signal transduction. *Ann Rev Cell Dev Biol* 1995;11:549-599.
 19. Damsky CH, Werb Z. Signal transduction by integrin receptors for extracellular matrix: cooperative processing of extracellular information *Curr Opin Cell Biol* 1992;4:772-781.
 20. Damen EH Yamada KM. Fibronectin, integrins, and growth control. *J Cell Physiol* 2001;189:1-13.
 21. Giancotti FG, Ruoslahti E. Integrin signaling. *Science* 1999;285:1028-1032.
 22. Ingber DE, Folkman J. Mechanochemical switching between growth and differentiation during fibroblast growth factor-stimulated angiogenesis in vitro: role of extracellular matrix. *J cell Biol* 1989;109:317-330.
 23. Schwartz MA, Assosian RK. Integrins and cell proliferation: regulation of cyclin-dependent kinase via cytoplasmic signaling pathways. *J cell Sci* 2001;114:2553-2560.
 24. Myamoto S, Teramoto H, Coso OA, Gutkind JS, Bubelo PD. Integrin functions: molecular hierarchies of cytoskeletal and signaling molecules. *J cell Biol* 1995;131:791-805.
 25. Cukierman E, Pankov R, Steven DR, Yamada KM. Taking cell-matrix adhesions to the third dimension. *Science* 2001;294:1708-1712.
 26. Geiger B, Bershadsky A, Pankov R, Yamada KM. Transmembrane crosstalk between the extracellular matrix-cytoskeleton crosstalk. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2001;2:793-805.
 27. Pankov R, Cukierman E, Katz BI, Matsumoto K, Lin DC. Integrin dynamics

- and matrix assembly: tensin-dependent translocation of $\alpha 5 \beta 1$ integrins promotes early fibronectin fibrillogenesis. *J cell Biol* 2000;148:1075-1090.
28. Zamir E, Katz BI, Aota S, Yamada KM, Geiger B, Kam I. Molecular diversity of cell-matrix adhesions. *J cell Sci* 1999;112:1655-1669.
 29. Zamir E, Katz M, Posen Y, Erez N, Yamada KM. Dynamic and segregation of cell-matrix adhesions in cultured fibroblasts. *Nat Cell Biol* 2000;2:191-196.
 30. Vogel V, Baneyx G. The tissue engineering puzzle: A molecular perspective. *Annu Rev Biomed Eng.* 2003;5:441-463.
 31. Gillespie PG, Walker RG. Molecular basis of mechanosensory transduction. *Nature* 2001;413:194-196.
 32. Hamill OP, Martinac B. Molecular basis of mechanotransduction in living cells. *Physiol Rev* 2001;81:685-740.
 33. Geiger B, Bershadsky A. Assembly and mechanosensory function of focal contacts. *Curr Opin Mol Cell Biol* 2001;13:584-592.
 34. Katsumi A, Orr AW, Tzimas E, Schwartz MA. Integrins in mechanotransduction. *J Biol Chem* 2004;279:12001-12004.
 35. Davies PF. Flow-mediated endothelial mechanotransduction. *Physiol Rev* 1995;75:519-560.
 36. Epstein ND, Davis JS. Sensing stretch is fundamental. *Cell* 2003;112:147-150.
 37. Ingber DE. Mechanical signaling and the cellular response to extracellular matrix in angiogenesis and cardiovascular physiology. *Circ Res* 2002;91:877-887.
 38. Pelham RJ, Wang YL. Cell locomotion and focal adhesions are regulated by substrate flexibility. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:13661-13665.
 39. Harris AK, Wild P, Stopak D. Silicone rubber substrata: a new wrinkle in the study of cell locomotion. *Science* 1980;208:177-179.
 40. Hall A. Rho GTPases and the actin cytoskeleton. 1998;279:509-514.
 41. Horwitz AR, Parsons JT. Cell migration-movin' on. *Science* 1999;286:1102-1103
 42. Zamir E, Geiger B. Molecular complexity and dynamics of cell-matrix adhesions. *J Cell Sci* 2001;114:3583-3590.
 43. Kroemker M, Rudiger AH, Jockusch BM, Rudiger M. Intramolecular interactions in vinculin control α -actinin binding to the vinculin head. *FEBS lett.* 1994;355:259-262.
 44. Johnson RP, Craig SW. An intramolecular association between the head and tail domains of vinculin modulates talin binding. *K Biol Chem* 1994;269:12611-12619.
 45. Gilmore AP, Burridge K. Regulation of vinculin binding to talin and actin by phosphatidylinositol-4-5-bisphosphate. *Nature* 1996;381:531-535.
 46. Weeks J, Barry ST, Critchley DR. Acidic phospholipids inhibit the intramolecular association between the N- and C- terminal regions of vinculin, exposing actin-binding and protein kinase C phosphorylation sites. *Biochem* 1996;314:827-832.
 47. Turner CE. Paxillin interactions. *J Cell Sci* 2000;113:4139-4140.
 48. Burridge K, Chrzanowka-Wodnicka M. Focal adhesions, contractility, and signaling. *Ann Rev Cell Dev Biol* 1996;12:463-518.
 49. Burridge K, Fath K, Kelly T, Nuckolls G, Turner C. Focal Adhesions: Transmembrane Junctions Between the Extracellular Matrix and the Cytoskeleton. *Ann Rev Cell Dev Biol* 1988;4:487-525.
 50. Craig SW, Johnson RP. Assembly of focal

- adhesions: progress, paradigms, and portents. *Curr Opin Cell Biol* 1996;8:74-85.
51. Wang HB, Dembo M, Hanks SK, Wang Y. Focal adhesion kinase is involved in mechanosensing during fibroblast migration. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:11295-11300.
 52. Ilic D, Furnta Y, Kanazawa S, Takeda N, Sobuek, Nakasuji N, Momura S, Fujimoto J, Okada M, Yamamoto T. Reduced cell motility and enhanced focal adhesion contact formation in cells from FAK-deficient mice. *Nature* 1995;377:539-544.
 53. Sieg DJ, Hauck CR, Schlaepfer DD. Required role of focal adhesion kinase (FAK) for integrin-stimulated cell migration. *J Cell Sci* 1999;112:2677-2691.
 54. Klinghoffer RA, Sachsenmayer C, Cooper JA, Soriano P. Src family kinases are required for integrin but not PDGFR signal transduction. *EMBO J* 1999;18:2459-2471.
 55. Webb DJ, Parsons KT, Horwitz AF. Adhesion assembly, disassembly and turnover in migrating cells—over and over and over again. *Nat Cell Biol* 2002;4:E97-E100.
 56. Parsons JT. Focal adhesion kinase: the first ten years. *J Cell Sci* 2003;15:1409-1416.
 57. Peppas NA, Langer R. Challenges in biomaterials. *Science* 1994;263:1715-1720.
 58. Stossel TP. On the crawling animals. *Science* 1993;260:1086-1094.
 59. Lauffenburger DA, Horwitz AF. Cell migration: a physically integrated molecular process. *Cell* 1996;84:359-369.
 60. Mitchinson TJ, Cramer LP. Actin-based cell motility and cell locomotion. *Cell* 1996;84:371-379.
 61. Hollenbeck P. Microtubules get the signal. *Curr Biol* 2001;16:820-823.
 62. Yamada KM, Pankov R, Cukierman E. Dimensions and dynamics in integrin function. *Braz J Med Biol Res* 2003;36:959-966.
 63. Grinnell F. Fibroblast biology in three-dimensional collagen matrices. *Trends Cell Biol* 2003;13:264-269.
 64. Wood W, Martin P. Structures in focus—filopodia. *Int J Biochem & Cell Biol* 2002;34:726-730.
 65. Lee SW, Rhyu IC, Kim KH, Han CH, Heo SJ. Cell-matrix interactions of human gingival epithelial cells and fibroblasts with microgrooved titanium alloy substrata: a scanning electron microscopic study. *J Kor Acad Oral Maxillofac Impl* 2004;8:2-15.
 66. Schmidt JW, Piepenhagen PA, Nelson WJ. Modulation of epithelial morphogenesis and cell fate by cell-to-cell signals and regulated cell adhesion. *Semin Cell Biol* 1993;4:161-173.
 67. Stepp MA, Spurr-Michaud S, Tisdale A, Elwell J, Gibson JK. $\alpha_6\beta_4$ integrin heterodimer is a component of hemidesmosomes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87:8970-8974.
 68. Jones JCR, Kurpakus MA, Cooper HM, Quaranta V. A function for the integrin $\alpha_6\beta_4$ in the hemidesmosome. *Cell Regul* 1991;2:427-438.
 69. Sonnenberg A, Calafat J, Janssen H. Integrin $\alpha_6\beta_4$ is located in hemidesmosomes, suggesting a major role in epidermal-basement membrane adhesion. *J Cell Biol* 1991;113:907-917.
 70. Kano Y, Katoh K, Masuda M, Fujiwarak. Macromolecular composition of stress fiber-plasma membrane attachment sites in endothelial cells in situ. *Circ Res*

- 1996:79:1000-1006.
71. Jones J, Asmuth J, Baker SE, Langhofer M, Roth SI, Hopkinson SB. Hemidesmosomes: extracellular matrix/intermediate filament connectors. *Exp Cell Res.* 1994;213:1-11.
72. Borradori L, Sonnenberg A. Hemidesmosomes: role in adhesion, signaling and human diseases. *Curr Opin Cell Biol.* 1996;8:647-65673.
73. Jones JCR, Hopkinson SB, Goldfiner LE. Structure and assembly of hemidesmosomes. *BioEssays* 1998;20:488-494
74. Nievers MG, Schacpveld RQJ, Sonnenberg A. Biology and function of hemidesmosomes. *Matrix Biology* 1999;18:5-17.
75. Weaver VM, Lelievre S, Lakins JN, Chrenek MA, Jones JC, Giancotti F, Werb Z, Bissell MJ. Beta4 integrin-dependent formation of polarized three-dimensional architecture confers resistance to apoptosis in normal and malignant mammary epithelium. *Cancer Cell* 2002; 2:205-216.

Reprint request to:

Jai-Bong Lee, D.D.S., M.S.D., Ph.D.
Department of Prosthodontics, College of Dentistry, Seoul National University
28-2, Yongon-dong, Chongro-gu, Seoul 110-749, Korea
swallow@snu.ac.kr

ABSTRACT

CELL-MATRIX ADHESIONS OF SOFT TISSUE CELLS AROUND DENTAL IMPLANTS

Suk-Won Lee, D.D.S., M.S.D.¹, In-Chul Rhyu, D.D.S., M.S.D., Ph.D.²,
Chong-Hyun Han, D.D.S., M.S.D., Ph.D.³, Jai-Bong Lee, D.D.S., M.S.D., Ph.D.⁴

¹*Department of Dentistry, College of Medicine, Catholic University, Saint Vincent's Hospital*

²*Department of Prosthodontics, College of Dentistry, Yonsei University, Young-dong Severance Hospital*

³*Department of Periodontology, College of Dentistry, Seoul National University*

⁴*Department of Prosthodontics, College of Dentistry, Seoul National University*

The importance of soft tissue response to implant abutments has become one of the major issues in current implant dentistry. To date, numerous studies have emphasized on maintaining connective tissue barriers in quantity, as well as in quality for the long term success of dental implants.

The cells mainly consisting the soft tissue around dental implants are fibroblasts and epithelial cells. The mechanism of the fibroblasts' adhesions to certain substrata can be explained by the 'focal adhesion' theory. On the other hand, epithelial cells adhere to the substratum via hemidesmosomes. The typical integrin-mediated adhesions of cells to certain matrix are called 'cell-matrix adhesions'. The focal adhesion complex of fibroblasts, in relation to the cell-matrix adhesions, consists of the extracellular matrix (ECM) such as fibronectin, the transmembrane proteins such as integrins, the intracellular cytoplasmic proteins such as vinculin, talin, and more, and the cytoskeletal structures such as filamentous actin and microtubules.

The mechanosensory function of integrins and focal adhesion complexes are considered to play a major role in the cells' adhesion, migration, proliferation, differentiation, division, and even apoptosis. The '3-D matrix adhesions' defined by Cukierman et al. makes a promising future for the verification of the actual process of the cell-matrix adhesions in vivo and can be applied to the field of implant dentistry in relation to obtaining strong soft tissue attachment to the implant abutments.

Key words : Dental implant, Focal adhesion, Cell-matrix adhesion