

A-7 Glycyrrhetic acid, Oleanolic acid 및 Ursolic acid가 인체 치은 섬유모세포의 Cyclosporin A 유도 세포활성에 미치는 영향

김영욱* · 신형식

원광대학교 치과대학 치주과학교실

1. 연구목적

본 연구에서는 cyclosporine A 유도 치은증식 환자의 치은 및 정상치은의 배양을 통해 cyclosporine 및 세균의 내독소가 세포활성에 미치는 영향을 평가하고, 세포활성을 억제하는 것으로 보고된 glycyrrhetic acid, oleanolic acid 와 ursolic acid가 이에 미치는 영향을 규명하여 치은증식환자에의 적용가능성을 평가하고자 한다.

2. 연구재료 및 연구방법

(1) Cyclosporine 준비 Cyclosporine A는 불용성이므로 Bartold의 방법에 따라 filter sterilized되고 10-6g/ml의 시작농도를 만들기 위해 배양액으로 희석하였다.

(2) 연구방법

1) 치은 섬유모세포의 배양

10세 전후의 환자로 부터 교정 목적을 위해 발거한 소구치 주변의 치은을 절제하였다. 절제한 치은은 40% 우태아 혈청과 20% 항생제를 첨가한 α -MEM으로 3회 세척하고 세절하여 배양을 실시하였다. 배양액은 3일간격으로 교환하였다. 부착된 세포를 분리하여 세포 부유액을 만들고 60mm Petri dish에 분주하였으며 분주비율은 1:3내지 1:4로 하고 같은 방법으로 5회 계대배양하여 실험에 사용하였다.

2) Cyclosporin, 세균의 내독소 및 Glycyrrhetic acid, Oleanolic acid 와 ursolic acid가 치은섬유모세포의 형태에 미치는 영향 정상치은및 cyclosporin유도 치은증식환자의 증식치은에서 10-6g/ml의 cyclosporin에 세균의 내독소 및 10-7M의 Glycyrrhetic acid, Oleanolic acid 와 ursolic acid를 가하여 배양한후 각각의 경우로 분류하여 도립현미경(inverted microscope)을 이용하여 세포의 형태를 관찰하였다.

3) Cyclosporin, 세균의 내독소 및 Glycyrrhetic acid, Oleanolic acid 와 ursolic acid가 치은 섬유모세포의 활성에 미치는 영향 정상치은및 증식치은에 10-6g/ml cyclosporin, 세균의 내독소 및 Glycyrrhetic acid, Oleanolic acid 와 ursolic acid를 가하여 1일 및 3일 배양후 DNA합성의 측정을 위해 [3H]-thymidine uptake assay를 시행하였다.

4) 통계분석 약물의 존재에 따른 각군의 세포생존능력의 평균치와 표준편차를 구하고 상호간의 차이를 일원분산분석법(ANOVA)을 이용하여 분석하였다.

3. 연구결과

Cyclosporine A, 세균의 내독소, glycyrrhetic acid, ursolic acid 및 oleanolic acid가 치은 섬유모세포의 활성에 미치는 영향을 평가하기 위해 도립 현미경을 이용한 세포형태의 관찰과 [3H]-thymidine uptake assay를 이용한 치은 섬유모세포의 DNA합성을 측정된 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

- 1) Cyclosporine A는 10^{-9} g/ml의 농도에서 치은 섬유모세포의 형태를 둥글고 세포돌기를 소실한 것으로 나타났고, DNA합성을 증가시켰다.
- 2) 세균의 내독소는 단독투여시 치은 섬유모세포의 DNA합성을 억제하였으나, cyclosporine A가 존재시 억제활성이 반전되어 DNA합성의 증가를 보였다.
- 3) Glycyrrhetic acid, ursolic acid 및 oleanolic acid는 cyclosporine A 및 세균의 내독소에 의해 증가된 DNA 합성을 억제하였다.

이상의 연구결과 cyclosporine A은 치은 섬유모세포의 DNA합성에 영향을 미치고, glycyrrhetic acid, ursolic acid 및 oleanolic acid는 cyclosporine A에 의해 증대된 DNA합성에 영향을 미침을 관찰할 수 있었다.