

## A-5 염증성 치은조직과 치주인대세포 및 조골세포주에서 Cytokine에 의해 유도되는 Nitric Oxide역할에 관한 연구 (Cytokine Stimulated Expression of Nitric Oxide in PDL, Osteoblast-like Cells and Inflammed Gingival Tissue)

윤형진\*, 유형근, 신형식  
원광대학교 치과대학 치주과학교실

### I. 연구목적

1. 치주질환의 활성화기 동안 정상적인 숙주방어기전을 이해하기 위해 임상적으로 건강한 치은조직과 염증성 치은조직을 외과적으로 절제하여 NOS<sub>1</sub>, NOS<sub>2</sub>, NOS<sub>3</sub> 단백질의 발현분포와 정도에 관해 알아본다.
2. 치주인대세포 및 조골유사세포를 이용하여 cytokine을 처리 했을 때 변화된 유전자의 발현정도를 알아보기 위해 NOS 항체를 이용하여 Western blot을 함으로써 translation과정에서 NO의 발현정도를 알아본다.
3. Inducible NOS<sub>2</sub>의 변화를 transcription level에서 알아보고 치주인대세포 및 조골유사세포에서의 DNA합성과 단백질 합성 및 alkaline phosphatase에 미치는 영향을 비교분석한다.
4. NO의 stimulator와 depressor물질을 투여하여 제1형 교원질 및 osteonectin의 translation level에서의 변화를 밝혀낸다.

### II. 연구방법

1. 조골유사세포 및 치주인대세포의 배양
2. cytokine의 투여
3. 세포활성에 미치는 영향 평가
4. 반응질소 중간물질의 측정
5. alkaline phosphatase의 측정
6. RNA 추출
7. Northern blot analysis
8. Western blot analysis
9. 통계분석

### III. 연구결과

1. 면역염색에 따른 건강한 치은상피에서의 NOS<sub>1</sub>, NOS<sub>2</sub>, NOS<sub>3</sub> 발현은 거의 일어나지 않았으나, 염증치은에서는 NOS<sub>1</sub>와 NOS<sub>3</sub>의 기저층과 상기저층에서 상대적으로 많은 발현을 보였다.
2. 염증성 치은의 혈관내피세포와 염증세포에서 NOS<sub>1</sub>, NOS<sub>2</sub>, NOS<sub>3</sub>의 발현은 모두 건강 치은보다 증가된 발현양상을 보였다.
3. 치주인대세포 및 HOS osteoblast-like cell line에서 NOS<sub>1</sub>은 170KDa, NOS<sub>3</sub>은 140KDa의 분자량을 Western blotting을 통해 확인할 수 있었으나 cytokine 투여군과 대조군과 차이를 translation level에서 보이지는 않았다.
4. 치주인대세포와 HOS세포에서 NOS<sub>2</sub>의 단백발현은 117KDa의 분자량을 보였는데 TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , LPS 단독 투여보다 3가지 혼합투여가 synergistic effect를 보였다.
5. cytokine 자극에 따른 NOS<sub>1</sub>, NOS<sub>3</sub> 단백발현은 시간증가에 따라 큰 차이가 없었으나 NOS<sub>2</sub>의 단백발현은 시간의존적인 증가를 보여 24시간에서 가장 많은 발현을 보였다.
6. 치주인대세포에 NOS의 자극원인 IFN- $\gamma$  처리한 후 제1형 교원질, osteonectin 단백질에 대한 Western blot analysis 결과 대조군과 농도증가에 따른 큰 차이는 보이지 않아 교원질 및 osteonectin의 translation level에는 영향을 주지 않았다.
7. 치주인대세포에 NOS의 prototypic inhibitor activity를 보이는 NMA를 투여한 후 제1형 교원질 단백발현은 NMA 농도 증가에 따른 차이가 없이 유사한 정도의 발현을 보였으나 osteonectin의 경우는 NMA 농도에 비례하여 발현감소가 관찰되었다.
8. NMA와 arginine을 동시에 투여한 경우 arginine 농도증가에 따른 제1형 교원단백 발현은 차이가 없었으나 NMA의 osteonectin 발현억제효과가 L-arginine에 의해 dose-dependant 하게 역전되었다.