

A-5. 고삼추출물이 치은섬유아세포의 세포주기 조절에 미치는 영향

김홍식*, 유용옥¹, 유형근, 신형식

원광대학교 치과대학 치주과학교실

원광대학교 치과대학 구강생리학교실¹

연구목적

고삼추출물이 치주조직의 창상 치유에 중요한 역할을 수행하는 치은섬유아세포의 세포주기 조절에 미치는 영향을 알아보기 위하여 시행하였다.

연구방법

고삼추출물을 치은섬유아세포 배양액에 10 μ g/ml, 50 μ g/ml, 100 μ g/ml, 500 μ g/ml의 농도로 첨가하고 대조군에는 증류수를 넣었다. 2 및 4일 동안 배양한 후 혈구계수기를 이용하여 살아있는 세포의 수와 MTT를 측정하였다. 세포주기분석은 100 μ g/ml의 고삼추출물이 첨가된 배양액에서 치은섬유아세포를 배양시켜, Propidium iodide 용액(50 μ g/ml)으로 30분간 염색한 후 flow cytometer(Becton, Dickinson, Mountain View, CA)로 488 nM에서 propidium iodide-DNA complex에서 발생하는 형광을 측정을 통해 시행하였다. western blotting 분석은 다음의 1차 항체를 이용하여 시행하였다. 1) a mouse anti-human monoclonal antibody for p21, 2) a rabbit anti-human polyclonal antibody for cdk 2, 3) a rabbit anti-human polyclonal antibody for cdk 4, 4) a rabbit anti-human polyclonal antibody for cdk 6, 5) a mouse anti-human monoclonal antibody for cyclin D1, 6) a mouse anti-human monoclonal antibody for cyclin E, 7) a rabbit anti-human polyclonal antibody for p16, 8) a mouse anti-human monoclonal antibody for pRB, 9) a mouse anti-human monoclonal antibody for p53

연구결과

1. 치은섬유아세포의 증식은 고삼추출물을 100 μ g/ml의 농도로 투여시 가장 증가되었다.
2. 치은섬유아세포의 세포활성은 고삼추출물을 100 μ g/ml의 농도로 투여시 가장 증가하였다.
3. 치은섬유아세포에 고삼추출물을 100 μ g/ml의 농도로 투여시 세포주기분석을 시행한 결과 대조군에 비하여 G1주기가 감소하고, S주기가 증가하였다.
4. 치은섬유아세포에 고삼추출물을 100 μ g/ml의 농도로 투여시 cyclin E 및 cdk 2의 발현은 대조군에 비해 증가하였다.
5. 치은섬유아세포에 고삼추출물을 100 μ g/ml의 농도로 투여시 cyclin D, cdk4 및 cdk6의 발현은 대조군에 비하여 큰 변화가 없었다.
6. 치은섬유아세포에 고삼추출물을 100 μ g/ml의 농도로 투여시 p53의 발현은 감소하였으나, p21의 발현은 큰 변화가 없었다.
7. 치은섬유아세포에 고삼추출물을 100 μ g/ml의 농도로 투여시 pRB의 발현은 증가하였으나, p16의 발현은 감소하였다.

이러한 실험결과는 고삼추출물이 치은섬유아세포의 세포주기 진행을 촉진시키며, 그 기전은 cyclinE와 cdk2의 발현증가와 p53과 p16의 발현 감소를 유발함으로써 이루어지는 것으로 사료된다.