R-23. Isolation of periodontal ligament(PDL) cell-specific cDNAs by subtraction between cultured human gingival fibroblasts and PDL cells

김현섭*[1], 김흥중[2], 박주철[3], 김병옥[1], 한경윤[1]
조선대학교 치과대학 치주과학교실[1], 구강해부학교실[2], 구강조직학교실[3]

배경 및 목적

치주인대세포는 치아지지조직의 발생, 유지 및 기능에 중요한 역할을 하고, 그 구성을 보면 단일세포가 아닌 서로 다른 표현형을 나타내는 여러 세포들로 이루어져 있다. 기능적으로, 치은섬유모세포는 단순히 치은 결합조직을 합성하고 유지하는 역할을 하는 반면에, 치주인대세포는 치주인대의 형성과 유지 뿐 아니라 인접 치조골과 백악질의 치유와 개조에도 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 그러나 이러한 치주인대세포의 특성을 표현하는 특이 유전자나 분자 및 치주인대세포의 기능을 조절하는 분자생물학적 기전에 관하여는 거의 알려져 있지 않다. 이에 본 연구에서는 치주조직을 구성하는 주요한 세포성분인 치은섬유모세포와 치주인대세포가 발현하는 유전자를 subtraction 법을 이용하여 상호 비교하여 치주인대세포-특이 유전자를 동정하고자 하였다.

재료 및 방법

교정 목적으로 발치한 사람 치아와 치은조직을 이용하여 사람 치은섬유모세포와 치주인대세포를 일차배양하고, 이들 세포로부터 Poly(A)$^+$ RNA를 추출하여 suppression subtractive hybridization를 시행하였다. Subtraction 결과 얻은 cDNA 단편들을 subcloning하여 sequence tag를 만들고, homology search와 각 유전자 단편들의 노던 분석을 통하여 치주인대세포의 특성과 분화에 관련이 있을 것으로 생각되는 유전자들을 선택하였다. 선택된 유전자들의 발현을 생쥐의 치주 조직에서 mRNA in-situ hybridization 방법을 시행하여 그 발현을 확인하였다.

결과

Subtraction으로 얻은 16개의 유전자 단편들의 homology search 결과, 2개의 유전자 단편들은 미지의 유전자로 14개의 유전자 단편들은 EST 및 다양한 사람 유전자들과 homolgy가 있는 유전자로 확인되었다. 16개의 유전자들을 사람 치은섬유모세포와 치주인대세포에서 추출한 RNA를 이용하여 노던 분석한 결과 5개의 유전자 단편들이 치주인대세포에 선택적으로 발현되었다. 5개의 치주인대세포-특이 유전자(PS5, PS17, PS22, PS25, PS31)들을 cRNA probe로 이용하여 mRNA in-situ hybridization 방법을 시행한 결과, 이 유전자들은 치은 결합조직에서는 발현되지 않았으나 치주인대의 세포에서 선택적으로 발현되었으며 일부는 골세포와 골수세포 등에서도 그 발현이 관찰 되었다.

결론

동정된 5개의 치주인대세포-특이 유전자들은 치주인대세포를 식별할 수 있는 표식자로 이용될 수 있으며, 향후 면역조직화학 염색, 재조합 단백질 생산 및 치주인대 분화 과정에의 적용 등의 보완 연구를 통하여 치주인대세포의 분화과정을 이해하며 더 나아가 치주인대세포의 기능 조절을 통하여 치주질환의 치료 등에 응용될 수 있을 것으로 사료된다.