

R-11. 치주인대섬유아세포가 파골세포분화에 미치는 영향

이 호*, 장문택, 김형섭

전북대학교 치주과학교실

서론

치주질환은 결체조직과 치조골의 감소를 특징으로 하는 염증성 질환이다. 치조골 감소는 골생성 보다 골흡수가 더 커서 나타나게 되는데 치주인대의 주세포인 섬유아세포가 관여할 가능성이 있다. 치주인대의 주된 세포군인 치주인대섬유아세포는 조골세포에서 중요한 역할을 하는 alkaline phosphatase와 파골세포 분화억제인자인 osteoprotegerin(OPG)이 많이 발현된다고 최근 보고되어 치조골 대사에 중요한 역할을 할 것으로 예견된다. 그러므로 이번 연구에서는 치주인대섬유아세포가 조골세포/기질세포의 역할을 대신하여 골수의 단핵구에서 파골세포로의 분화를 유도할 수 있는지 밝히는 것이 목적이다. 그리고 RAW 264.7 cell(macrophage cell line)이 파골전구세포로서 골수의 단핵구와 같은 역할을 할 수 있는지 밝히는 것이다.

실험 재료 및 방법

1. 세포 배양

PDLF 세포, MDBM 세포를 분리 배양하였으며, RAW264.7 (mouse macrophage cell line) 세포주는 DMEM에 10% FBS 및 항생제를 첨가하여 배양하였다.

2. PDLF 세포의 자극, 고정 및 coculture

3. 파골세포 특성 탐색

파골세포 특이적 유전자의 발현 검사: Reverse transcription-polymerase chain reaction assay (RT-PCR)

① RNA 추출

② Reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR)

Tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP) 조직화학 검사

골흡수와 검사 (resorption pit assay)

실험 결과 및 결론

1. 마우스 대식세포주 RAW264.7는 ODF 처리에 의하여 파골전구세포인 MDBM과 동일하게 파골세포로 분화유도 되었다. 즉, TRAP(+) MNCs의 형성, 파골세포 특이적 유전자 발현양상(cathepsin K, RANK, calcitonin receptor, c-fms), 골흡수기능등, 모든 면에서 MDBM으로부터 유래한 파골세포와 동일한 양상을 나타내어, RAW264.7을 파골전구세포주로서 실험에 이용할 수 있었다.

2. ODF처리에 의하여 RAW264.7로부터 형성된 MNCs의 골흡수능은 OPG를 ODF와 동시에 처리함으로써 완전 차단되었다.

3. 고정된 PDLF (fPDLF)와 RAW264.7을 coculture 하면 sODF을 처리하지 않아도 RAW264.7로부터 TRAP(+) MNCs의 형성이 촉진되었다.
4. IL-1 β LPS로 자극하여 고정된 PDLF를 RAW264.7과 coculture 하면 자극하지 않은 fPDLF의 경우보다 약 2배의 TRAP(+) MNCs이 형성되었다.
5. 고정하지 않은 PDLF는 RAW264.7과 coculture 하여도 전혀 TRAP(+) MNCs이 형성되지 않았다.