

R-27. 인간 치은섬유모세포에 구강 양치용액 적용후 MMP(1,2,8), TIMP(1,2), TypeI collagen과 Fibronectin의 발현 유무에 관한 연구

한근아, 장현선, 김병욱

조선대학교 치과대학 치주과학교실

연구 배경

3대 구강병 중 성인에서 대표적으로 발생하는 치주염은 적절한 치료뿐만 아니라 치주염의 재발을 방지하기 위해서 치료 후 주기적인 유지 관리가 중요하다. 이러한 유지 관리기에 널리 사용되고 있는 구강 양치 용액은 세균을 억제한다고 이미 여러 연구들에서 보고되고 있으나, 사람 치은섬유모세포에 미치는 영향에 관한 연구는 아직 미비한 실정이다.

연구 목적

본 연구의 목적은 치주염 환자의 유지관리에 상용하고 있는 구강 양치 용액을 사람 치은섬유모세포에 적용한 후 MMP-1, MMP-2, MMP-8, TIMP-1, TIMP-2, TypeI Collagen, Fibronectin의 발현 유무를 연구하여 치은섬유모세포의 유전자와 표현형에서의 변화를 예측함으로써 구강 양치용액이 사람 치은섬유모세포에 미치는 영향을 연구하고자 하였다.

연구재료 및 방법

1) 사람 치은섬유모세포의 배양

조선대학교 치과대학 부속 치과병원에 내원한 치주조직이 건강한 사람의 치은에서 일차 배양하여 -198℃에 저장해두었던 세포를 이차 배양하여 실험에 적용하였다. 세포가 증식함에 따라 계대 배양하여 5-6세대의 세포들을 각각 실험에 이용하였다.

2) 배양 세포로부터 total RNA의 추출

배양된 세포로부터 total RNA의 추출은 SV total RNA Isolation System(Promega, Medison, USA)를 이용하여 제조회사의 지시에 따라 추출한 후 실험에 사용하였다.

3) Reverse transcription(RT)-PCR

배양 치은섬유모세포의 total RNA 1 μ g 당 25U의 AMV reverse transcriptase(Promega, Medison, USA)와 oligo-d(T) primer를 이용하여 first-strand cDNA를 합성하였고, MMP-1, MMP-2, MMP-8, TIMP-1, TIMP-2, TypeI Collagen, Fibronectin 및 GAPDH의 유전자의 염기 서열을 주문 제작한 후 Reverse transcription(RT) 과정을 통하여 합성한 cDNA를 template로 각각의 primer를 이용하여 94℃:4min, 36cycle(94℃:1min, 55℃:30sec, 72℃:2min), 72℃:5min의 조건으로 PCR 증폭(PCR cyler, MJ research)

을 시행한 후 1.5% agarose gel에 전기영동하여 유전자의 발현을 확인하였다.

연구 결과

구강 양치 용액을 적용한 실험군과 적용하지 않은 대조군 모두에서 MMP-1이 발현되었으며 실험군에서 MMP-2, MMP-8, Type I Collagen, TIMP-1, TIMP-2, Fibronectin은 발현되지 않았으나, 대조군에서는 TIMP-1, TIMP-2, Type I Collagen, Fibronectin는 발현되었고, MMP-2, MMP-8은 발현되지 않았다.

결론

본 연구는 치주염 환자의 유지관리에 상용하고 있는 구강 양치 용액을 사람 치은섬유모세포에 적용한 후 MMP-1, MMP-2, MMP-8, TIMP-1, TIMP-2, Type I Collagen, Fibronectin의 발현 유무를 연구하여 치은섬유모세포의 유전자와 표현형에서의 변화를 예측하게 함으로서 구강 양치용액의 사용 기준을 재 확립하는데 도움이 되리라 사료된다.