



# MG63 세포주에서 타이타늄 표면 거칠기의 세포내 신호 전달에 대한 연구

김명주\*, 김창희 | 서울대학교 치과대학 치과보철학교실

본 연구는 다양한 거칠기를 갖는 타이타늄 원판(disc)를 이용하여 MG 63 골모세포양 세포주에서 전체 지질을 분석하고, 그 결과를 기초로 하여 타이타늄 표면 거칠기가 MG63 세포주의 분화를 유도하는 신호 전달 과정을 이해하고자 고안되었다.

기계적으로 절삭한 타이타늄 시편을 알루미늄 입자 분사(sandblasting)와 전기 방전 가공(electrodischarging, EDM)하여 표면 처리를 시행하고, 물리화학적, 미세 구조적 특징을 분석하였다. MG63 세포를 준비된 타이타늄 원판 위에서 배양하고, 각 시편의 표면 거칠기에 대한 영향을 조사하였다. 세포부착모양을 관찰하고, 전체 세포 수를 통해 세포 증식을 조사하고, 염기성 인산분해 효소의 활성과 RT-PCR을 이용한 Runx-2 유전자 발현 및 제 1형 콜라겐 생성을 비교하여 세포 분화를 평가하였다. 타이타늄 표면 거칠기에 따른 MG 63 세포의 전체 지질을 HPLC를 통해 분석하고 정량 하였다. phosphatidic acid의 현저한 증가를 확인하고, 이와 관련된 phospholipase D 활성을 측정하였다. 다양한 억제제를 이용해서 PLD 활성화 경로를 조사하고, 타이타늄 표면 거칠기의 세포내 신호 전달 과정을 확인하였다.

타이타늄 원판의 표면미세구조는 각 군마다 특징적인 모습을 보였다. 표면 거칠기는 기계절삭 군, 알루미늄분사 군, 전기방전 군의 순으로 유의성 있게 증가하였다. 모든 군에서 얇은 산화막을 보였으며, 전기방전 군에서 불완전한 TiO 결정화를 보였다. 전기방전 군에서는 다른 군들과 표면 구성성분에서 약간의 차이를 보였다. 각 군에서 세포부착은 특징적인 모양을 보였다. 표면이 거칠수록 다각형의 불규칙적인 모양을 보였다. 각 타이타늄 표면의 전체 세포 수는 표면

이 거칠수록 유의성 있게 감소한 반면, 염기성 인산분해 효소의 활성은 표면이 거칠수록 유의성 있게 증가하였다. Runx 2 유전자 발현은 표면이 거칠수록 증가하였으며, 거친 표면에서 좀 더 빨리 발현되는 양상을 보였다. 제 1형 콜라겐의 생성량은 표면이 거칠수록 증가하였다. 전체 지질 분석에서 타이타늄 표면 거칠기에 따라 현저한 지질 조성 변화가 관찰되었으며, 특히 alkyldiacylglycerol과 phosphatidic acid의 증가가 뚜렷했다. 세포내 주요 인지질에서 아라키도닉 지방산의 증가가 현저했다. 타이타늄 표면이 거칠수록 MG63 세포주에서 PLD 활성은 현저하게 증가하였다. PLD1과 PLD2의 mRNA 양 역시 증가하였다. 이러한 PLD의 활성증가가 세포 내 칼슘 킬레이터인 BAPTA/AM 에 의해서 유의하게 저해되는 것으로부터 세포내 칼슘 농도 증가가 중요함을 알 수 있었다. 또한 G단백질 억제제인 백일해 독소와 포스포리파제 C억제제인 U73122는 타이타늄 표면거칠기에 의해 유도된 PLD 활성의 증가를 저해하였다. 단백질 카이네이스 C(PKC)와 단백질 타이로신 카이네이스(PTK)의 억제제 역시 PLD 활성 증가를 방해하였으며, 타이타늄 표면 거칠기에 의해 활성화된 PLD는 PKC와 PTK 활성과도 관련됨을 알 수 있었다. 또한 인산분해효소에 의한 phosphatidic acid로부터의 diacylglycerol(DAG) 생성 과정도 진행됨을 확인하였다. MG 63 세포에 PLD1 과 PLD2를 발현시킨 결과 타이타늄 표면 거칠기에 의해 활성화되는 PLD는 PLD1 isoform 임을 알 수 있었다. 또한 비활성 PLD1 돌연변이에 의해서 표면 거칠기에 의한 PLD 활성 증가가 저해되는 결과에서 PLD1이 표면 거칠기에 민감하게 변화됨을 재확인 할 수 있었다.