

R-4. 치주인대세포의 광물화 형성과정 시 발현되는 다양한 유전자 양상의 검토

칙미애*, 박진우, 이재목, 서조영

경북대학교 치의학전문대학원 치주과학교실

연구배경

골형성에 있어 치주인대세포의 골아세포로의 분화는 중요한 의미를 갖는다. 골형성은 복잡한 생물학적 과정이며, 엄격히 조절되는 골관련 단백질의 여러 가지 유전자 발현 양상과 연관된다. 시험관적 실험에서 골관련 단백질 유전자의 발현은 일시적 방식을 보인다. Stein 등(1993)은 골아세포에 의한 골형성에서, 초기에는 세포주기 혹은 세포성장과 관련된 유전자 (histone, c-fos, c-myc) 그리고 세포외기질 유전자 (type 1 collagen, fibronectin, transforming growth factor- β 1)의 발현이 관찰되며, 그 뒤를 이어 osteocalcin, osteopontin, bone sialoprotein과 같은 골 석회화 관련 유전자 등의 발현이 증가한다고 보고하였다. 따라서 골아세포분화에 따른 골관련 단백질의 일반적인 발현양상을 추측할 수 있다. 그러나, 치주인대세포의 분화에 따른 다양한 유전자 발현양상에 대한 많은 연구들은 석회화 과정과 관련된 골관련 단백질 유전자에 제한된 보고가 대부분이다. 따라서 치주인대세포의 증식에서부터 골기질의 생성과 성숙, 석회화에 이르기까지 발현되는 유전자의 전반적인 일련의 변화양상에 대한 연구가 요구된다. 따라서 본 연구에서는 인간의 치주인대세포의 광물화 형성 과정에서 나타나는 유전자 발현 양상의 변화 추이를 관찰하고자 하였다.

연구방법 및 재료

교정치료를 목적으로 내원한 환자의 제일소구치를 발거하여 치주인대세포를 배양하여 6세대에서 8세대 사이의 세포를 사용하였다. 치주인대 세포를 100mm dish에 1×10^6 밀도로 접종한 3일 후 밀생상태에 이르렀을 때를 0일로 하여, 매 2일마다 배지를 교환하며 21일간 배양하였다. 배지로는 10% FBS, $50 \mu\text{g/ml}$ ascorbic acid, 10mM β -glycerophosphate, 100nM dexamethasone이 첨가된 DMEM을 사용하였다. 세포 배양 후, 1, 7, 14, 21일 켜마다 찬 PBS로 2번 씻은 후 실온에서 1시간 동안 0.1% Alizarin-Red S 용액에서 배양, 염색하여 광물화 결절 양상을 광학현미경으로 관찰하였다. 배양 0, 1, 7, 14, 21 일째 RNA를 추출하여 Chomczynski와 Sacchi의 방법에 따라 분리하였다. C-myc, C-fos, BMP-2, BMP-4, ALP, Osteocalcin에 대한 sense primer, antisense primer를 사용하여 real-time PCR을 시행하였다. housekeeping gene인 GAPDH gene을 기준으로 하여 유전자 발현 정도를 정량화 하였다.

연구결과

배양 1일과 7일째에는 광물화 결절이 관찰되지 않았으나, 배양 14일째에 몇 개의 작은 광물화 결절이 형성되기 시작하였다. 배양 21일째에는 광물화 결절 형성이 명확해져서, 많은 수의 광물화 결절이 형성되었으며, 크기도 증가하여 나타났다. 활발한 세포 증식기인 배양 0일째에 c-myc의 유전자 발현이 증가되어 나타났으며, 복합층이 형성된 7일째에는 ALP, BMP-2, BMP-4의 발현이 증가되어 나타났다. 그 뒤를 이어 광물화 형성이 개시되는 14일째에는 OC의 유전자 발현이 증가되어 관찰되었으며, 21일째에는 다시 발현양상이 감소하였다. 또한, 광물화 형성이 발달된 21일에는 C-fos 유전자 발현이 최대를 보였다.

결론

인간의 치주인대세포가 광물화 결정을 형성할 때까지 치주인대의 증식과 세포외기질의 성숙, 광물화 과정에서 나타나는 다양한 유전자들의 발현 양상은 일시적인 방식으로 조절되었다. 이러한 결과를 기초로 하여 치주인대세포의 증식, 세포외기질의 성숙과 광물화에 관여하는 다양한 인자들의 영향을 유전자발현 양상에 기초하여 이해할 수 있기를 기대해 본다.