

R-21. DNA microarray법을 이용하여 건강한 치은섬유모세포, 복제노화된 치은섬유모세포, 건강한 치주인대섬유모세포와 염증성치주인대섬유모세포에서 유전자 발현

승연종^{1*}, 김소영^{1,2}, 최성미¹

¹조선대학교 치과대학 치주과학교실,

²2단계 BK21 (The Second stage of BK21)

서론 및 목적

DNA microarray 분석법을 이용하여 건강한 사람치주인대섬유모세포, 건강한 사람치은섬유모세포, 복제노화된 사람치은섬유모세포, 염증성 사람치주인대 섬유모 세포의 유전자 발현 형태를 상호비교하고자 하였다.

재료 및 방법

환자의 동의하에 충치, 치주염이 없이 교정발치된 치아의 치주인대세포를 배양하여 건강한 치주인대섬유모세포로, 만성치주염으로 발거된 치아에서 채취하여 배양한 세포를 염증성 치주인대섬유모세포로 선정하였다. 구강에서 채취한 치은결체조직에서 배양한 사람치은섬유모세포를 일차 배양한 후 계대배양을 통해 복제 노화를 유도하였다. -198°C의 액화질소에 저장되어 있던 2, 4, 8, 15, 16세대 세포를 실험에 이용하였다. 위의 모든 세포들은 60 mm 배양접시에서 세포들이 80–90%의 밀생이 될 때까지 5% CO₂, 37°C, 100% 습도의 배양기에 서 2일 간격으로 10% FBS가 함유된 DMEM 세포 배양액을 교체하면서 세포를 배양하였다. Trizol Reagent (Invitrogen, USA)를 이용하여 제조회사의 지시에 따라 total RNA를 추출하였다. 18S RNA와 28S RNA를 확인한 후 DNA microarray 분석을 실시하였다.

결과

4배수 이상의 변화양상을 비교시 상호 유전자 발현의 차이를 나타내었다. 건강한 사람치은섬유모세포(2세대)와 노화된 사람치은섬유모세포를 비교시(16세대), Actin은 노화된 치은섬유모세포에서 가장 높은 발현변화를 나타낸 반면, DMC1 dosage suppressor of mck1 homolog, meiosis-specific homologous recombination,은 건강한 치은섬유모세포에서 가장 높게 나타났다. 염증성 치주인대섬유모세포와 건강한 치주인대 섬유모세포를 비교시, Regucalcin은 염증성 치주인대섬유모세포에서 가장 높게 나타났고, Vascular cell adhesion molecule 1도 두 번째로 높게 나타났다. 건강한 치주인대섬유모 세포와 건강한 치은섬유모세포를 비교시, IL-11과 periostin이 치주인대섬유모세포에서 높은 발현을 나타낸 반면, Prostaglandin D2 synthase 21kDa과 Thioredoxin interacting protein은 치은섬유모세포

에서 높은 발현을 나타내었다. 염증성 치주인대섬유모세포와 노화된 치은섬유모세포(15세대 이상)를 비교시 149개의 유전자가 유사한 발현 수준을 나타내었다.

고찰

이 연구는 노화, 염증, 세포 형태에 따라서 유전자 수준에서 가장 높거나 높은 수준 변화를 보이는 유전자가 다를 수 있음을 나타낸다. 향후, 치주염 환자들에서, 노화, 염증, 세포 특이 성에 관한 유전자 표시자를 이용하여 진단하거나 치료에 응용하기 위해서는 더 많은 연구가 필요하리라 사료된다.

이 연구에 참여한 연구자의 일부는 『2단계 BK21사업』의 지원비를 받았음.