



상, 하악골 유래 조골세포의 골형성 능: 일차 연구

양훈주¹ · 송윤미² · 김리연³ · 오지혜² · 조태형² · 김인숙² · 황순정^{1,2,3}

¹서울대학교 치의학전문대학원 구강악안면외과학교실, 치의학생명과학사업단 2단계 BK 21사업,
²서울대학교 치학연구소, ³서울대학교 치의학전문대학원 세포 및 발생생물학교실, 치의학생명과학사업단 2단계 BK 21사업

Abstract

Osteogenic Response of Human Osteoblasts Derived from Mandible and Maxilla: A Preliminary Study

Hoon Joo Yang¹, Yoon Mi Song², Ri Youn Kim³, Ji Hye Oh², Tae Hyung Cho², In Sook Kim², Soon Jung Hwang^{1,2,3}

¹Department of Oral and Maxillofacial Surgery, School of Dentistry, Seoul National University, Brain Korea 21 2nd Program for Craniomaxillofacial Life Science, ²Dental Research Institute, Seoul National University, ³Department of Maxillofacial Cell and Developmental Biology, School of Dentistry, Seoul National University, Brain Korea 21 2nd Program for Craniomaxillofacial Life Science

Purpose: Maxilla and mandible have different patterns of cortical and trabecular bone and different bone mineral densities, even though both are components of the jaw bone. However, cellular differences between maxilla- and mandible derived osteoblasts (OBs) have rarely been studied. We hypothesize that maxilla- and mandible-derived OBs show different responses to 17 β -estradiol (E2), which is one of the critical factors for bone formation. This study compares skeletal site-specific cell responses between maxilla- and mandible-derived human OBs to E2.

Methods: Maxilla- and mandible-derived OBs derived from an identical donor were separately isolated from a total of five normal healthy subjects aged 18~44 years old, cultured with a treatment of 100 nM estrogen. The responses between maxilla- and mandible-derived OBs to E2 were evaluated and compared using cell proliferation, alkaline phosphatase (ALP) activity and gene expression of osteoprotegerin (OPG), ALP, insulin-like growth factor-1 (IGF-1), and estrogen receptor α (ER α).

Results: E2 did not have any distinct effects on the proliferation of both types of OBs. Mandible-derived OBs exhibited higher ALP activity than maxilla-derived OBs in the non-treated condition, which was common in all tested individuals. ALP activities of both types of OBs showed a minor increasing tendency with the treatment of E2, even though there was no statistical significance in some specimens. The gene expression of OB by E2 was diverse, depending on the individuals. There was increased expression of OPG, IGF-1, or ER α gene in the part of subjects, which was more repeated in maxilla-derived OBs. In particular, OPG or ALP induction by E appeared less frequently in mandible-derived OBs.

Conclusion: Current results revealed that E2 affects maxilla- and mandible-derived OBs into facilitating the osteogenic process despite individual differences. Mandible-derived OBs are less sensitive to bone-forming gene expression by E2.

Key words: Osteoblasts, 17 beta-estradiol, Maxilla, Mandible

원고 접수일 2012년 8월 5일, 원고 수정일 2012년 8월 27일,
게재 확정일 2013년 1월 15일

책임저자 황순정
(110-768) 서울시 종로구 대학로 101, 서울대학교치과병원 구강악안면외과
Tel: 02-2072-3061, Fax: 02-766-4948, E-mail: sjhwang@snu.ac.kr

RECEIVED August 5, 2012, REVISED August 27, 2012,
ACCEPTED January 15, 2013

Correspondence to Soon Jung Hwang
Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Seoul National University
Dental Hospital
101 Daehak-ro, Jongno-gu, Seoul 110-768, Korea
Tel: 82-2-2072-3061, Fax: 82-2-766-4948, E-mail: sjhwang@snu.ac.kr

© This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

서론

안면내 골결손 부위의 신생골 형성을 위한 자가골 이식재는 여러 공여부에서 얻어질 수 있다. 하지만 대개 악안면부에서 얻어진 자가골 이식재가 그 이외의 부위에서 얻어진 자가골 이식재에 비해 골이식 성공률이 높다고 알려져 있으며 이는 골격의 부위 특이적인 차이가 골이식을 완성하는 데 영향을 미칠 수 있음을 시사한다[1]. 마찬가지로 골다공증, 부갑상선기능항진증, 파제트 병(Paget's disease) 등의 전신질환은 악골을 포함한 모든 골에 이환될 수 있다. 하지만 쥐를 이용한 연구에서 난소절제술 및 영양실조 이후 경골보다 하악골에서 해면골과 골밀도의 소실이 더뷔다는 것은 두 골조직에서 다른 항상성 유지 기전이 존재함을 암시한다[2]. 마찬가지로 골다공증 치료제인 비스포스포네이트에 의한 부작용으로 나타나는 비스포스포네이트 관련 악골괴사(bisphosphonate-related osteonecrosis of jaw)가 체내 다른 부위보다도 악골, 특히 하악골에 집중되어 발생한다는 사실과, 무치악 환자에서 상악골에 비해 하악골의 골흡수가 빠르게 나타나는 사실 또한 부위 특이적인 차이를 나타내는 예라 할 수 있다[3,4].

에스트로젠(17 β -estradiol)이 다양한 조직의 성장, 분화 및 기능에 여러 영향을 끼칠 수 있음은 이미 잘 알려진 사실이다[5]. 특히 폐경기 이후에 발생하는 에스트로젠 결핍은 골다공증의 발병 기전에 매우 밀접한 관련을 갖고 있으며[6], 그 효과는 대개 폐경 이후 초기 5년 동안에 지속되는 것으로 생각된다[7]. 골다공증은 골형성 및 골흡수 지표의 증가를 동반한 골 재형성 과정의 촉진으로 특징지어지며, 에스트로젠이 투약되면 골 재형성률이 감소되고 각각의 재형성주기에서 골손실량이 줄어든다고 알려져 있다[8,9]. 골격계에 대한 에스트로젠의 작용기전에 대해서 완전히 밝혀지지 않고 있으나 주된 작용은 골흡수를 감소시키는 것으로 생각되고 있다[10]. 하지만 에스트로젠이 골형성에도 긍정적인 작용을 할 수 있고, 조골세포의 세포사멸을 막아 기능적인 능력의 증가를 가져온다고 밝힌 연구도 있다[11].

에스트로젠은 세포 안팎에 모두 퍼져 있으며 에스트로젠 수용체 단백질(estrogen receptor, ER)에 의해서 표적세포의 핵으로 들어갈 수 있다. ER은 핵 호르몬 수용체(nuclear hormone receptor)이자 유전자의 전사를 개시하거나 향상시킬 수 있는 활성화된 전사인자군의 구성원이다. 현재까지 ER α 와 ER β , 두 종류의 ER 아형이 밝혀졌으며, 이 두 수용체는 다른 염색체에 위치한 분리된 유전자에 의해 만들어진다[5]. ER α 와 ER β 에 의해 매개되는 골에 대한 에스트로젠의 작용이 이전 연구에서 많이 밝혀졌으며, 주된 효과는 ER α 에 의해서 나타나는 것으로 보이는 반면 ER β 에 의해서는 기질 단백질의 합성이 증가하는 것으로 알려져 있다[5].

비록 상악골과 하악골이 몸의 다른 골에 비해서는 서로 유사하

게 보이긴 하지만 조직학적으로 서로 다른 골소주 형태를 보이며 이는 각각의 생역학적 기능에 차이가 있음을 보여준다. 하악골은 독립적인 구조로서 응력을 흡수하는 단위로 설계되어 외측의 피질골은 더 치밀하고 두꺼우며 해면골은 더욱 거칠고 조밀한 형태를 보이는 반면 상악골은 응력을 분배하는 단위로써 상악에 가해진 어떤 응력도 관골궁과 구개골에 의해 뇌와 인와에서 멀리 떨어진 곳으로 전달되는 구조로 상악골은 얇은 피질골판과 가는 해면골 구조를 보인다[12]. 또한 상악골과 하악골은 성장 자극, 기계적 자극, 항상성 자극에 대해 별개의 반응을 보이는 것으로 알려져 있다[13]. 하지만 아직까지 상악골과 하악골에서 채취한 조골세포의 골형성 반응에 대한 차이는 제대로 밝혀져 있지 않다. 또한 상악골, 하악골 조골세포의 에스트로젠에 대한 반응도 알려진 바가 없어서 이에 본 논문에서는 상악골, 하악골 유래 조골세포의 에스트로젠에 대한 증식, 분화능 및 유전자 발현의 차이를 비교 분석하고 임상적 유용성에 대해 고찰해 보고자 한다.

연구방법

1. 세포 배양

서울대학교 치과병원의 연구윤리심의위원회의 승인(No. CRI05008)을 받은 연구로서 동의서 작성 후에 5명의 환자(18~44세, 여성 4명, 남성 1명)에서 상악골과 하악골의 해면골을 채취하였다. 환자들은 모두 상, 하악골의 악교정 수술을 받는 골대사 관련 질환을 보이지 않았고, 관련 투약 경험도 없는 환자들이었다. 수술 중에 채취된 상, 하악골은 조골세포를 분리해내기 위하여 같은 방법으로 처리되었다. 해면골을 phosphate buffered saline으로 두 번 세척한 후 0.1% collagenase (Sigma-Aldrich Co., Saint Louis, MO, USA)/0.2% dispase (Roche, Penzberg, Germany)를 넣은 상태에서 30분간 교반시켰다. 반응이 끝난 후 용액을 수거해서 여과기를 이용하여 불순물을 제거한 후 $3 \sim 4 \times 10^4$ cells/cm²의 밀도로 10% fetal bovine serum (FBS)을 함유한 Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM/F-12, WelGene, Daegu, Korea) 배지에서 배양하였다. 37°C, 5% 이산화탄소 인큐베이터에서 3~4일에 한 번씩 배지를 갈아주면서 군집(colony)이 형성되어 플레이트에 60~70% 정도 찰 때까지 기른 다음 계대배양을 시작하였으며, 충분한 세포수를 확보하기 위해 계대배양 횟수를 늘리고 2번째 계대배양에서 실험을 시행하였다.

2. 조골세포 증식 측정: MTT 측정법

분리 배양한 조골세포를 96 well 플레이트에 well당 2,000개의 세포 농도로 이식한 후 10% FBS가 포함된 DMEM/F-12 배지를 첨가 후 37°C, 5% 이산화탄소 인큐베이터에서 배양하였다.

1일 후 에스트로겐(17β-estradiol, Sigma-Aldrich Co.) 100 nM 을 포함한 배지와 포함하지 않은 배지로 나누어 교체되었으며, 3일 째에 tetrazolium salt [2-(2-methoxy-4-nitrophenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-(2,4-disulphophenyl)-2H-tetrazoliummonosodium salt, WST-8의 일종인 Cell Counting Kit-8 (Dojindo Laboratories, Tokyo, Japan) 용액 20 μL씩을 세포가 들어 있는 well에 각각 넣어준 후 2시간 동안 37°C에서 반응시키고 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

3. 조골세포 분화 측정: alkaline phosphatase (ALP) 활성도 측정

분리 배양한 조골세포를 24 well 플레이트에 well당 1.7×10⁴ cells/cm²의 세포 농도로 이식한 후 MTT 측정 시와 같은 조건으로 배양하였다. 3일 후에 한 번 더 배지 교체를 시행하였다. ALP 활성도 측정은 7일째에 ALP assay kit (Sigma Aldrich Co.)에 따른 방법으로 시행되었다. 수치는 방출된 인산기(Pi)의 농도 (nm)/30분 반응시간(min)/단백질량(mg)의 비율로 표시하였다.

4. 조골세포 분화 관련 유전자 발현 분석: 역전사효소중합효소연쇄반응(reverse transcription polymerase chain reaction [PCR])과 실시간 중합효소연쇄반응(real time PCR)

분리 배양한 조골세포를 6 well 플레이트에 well당 1.7×10⁴ cells/cm²의 세포 농도로 이식한 후 ALP 활성도 측정 시와 같은 조건으로 배양하였다. 7일째에 자극이 끝난 세포에 Trizol Reagent (Invitrogen life technologies, Carlsbad, CA, USA)를 사용하여 RNA를 분리하였다. cDNA는 분리한 RNA를 이용하여, SuperScript™ Reverse Transcriptase II (Invitrogen)와 oligo

(dT) 12~18 primer (Invitrogen)를 이용하여 합성하였다. 사람 특이적인 시발물질(human-specific primer) (actin, osteopontin [OPG], ALP, insulin-like growth factor-1 [IGF-1], ERα)을 이용하여 중합효소연쇄반응을 진행한 후 유전자 발현 변화를 확인하였다. 중합효소연쇄반응 조건은 94°C에서 2분 및 40초간 변성(denaturation) 후 60°C에서 40초간 부합화(hybridization), 72°C에서 1분간 합성(extension) 과정을 30회 진행 후, 72°C에서 10분간 마지막으로 합성시켰다. 실시간 중합효소연쇄반응은 SYBR green PCR Master Mix를 이용하여 통계적인 수치를 얻고 분석을 시행하였다.

5. 통계처리

IBM SPSS ver. 19 프로그램(IBM Co., Armonk, NY, USA)을 이용하여 상, 하악골 간의 반응성의 차이와 에스트로겐 처리 여부에 따른 반응성의 차이에 대해 통계처리를 시행하였다. 대응표본 T검정을 이용하였으며 유의확률이 0.05보다 작은 경우에 통계적으로 유의하다고 판정하였다.

결 과

1. 상, 하악골 유래 조골세포 증식에 대한 에스트로겐의 효과

MTT 측정법에 따른 결과에 따르면 상, 하악골 유래 조골세포에 100 nM 농도의 에스트로겐을 처리했을 때 동일한 개체 내에서 상악골 유래 조골세포와 하악골 유래 조골세포의 반응은 3명은 두 조골세포에서 모두 증가(상악골 유래 조골세포 10~19%, 하악골 유래 조골세포 5~14%)하고, 1명은 모두 감소(상, 하악골 유래 조골세포 모두 7%)하는 동일한 경향을, 나머지 1명은 세포에

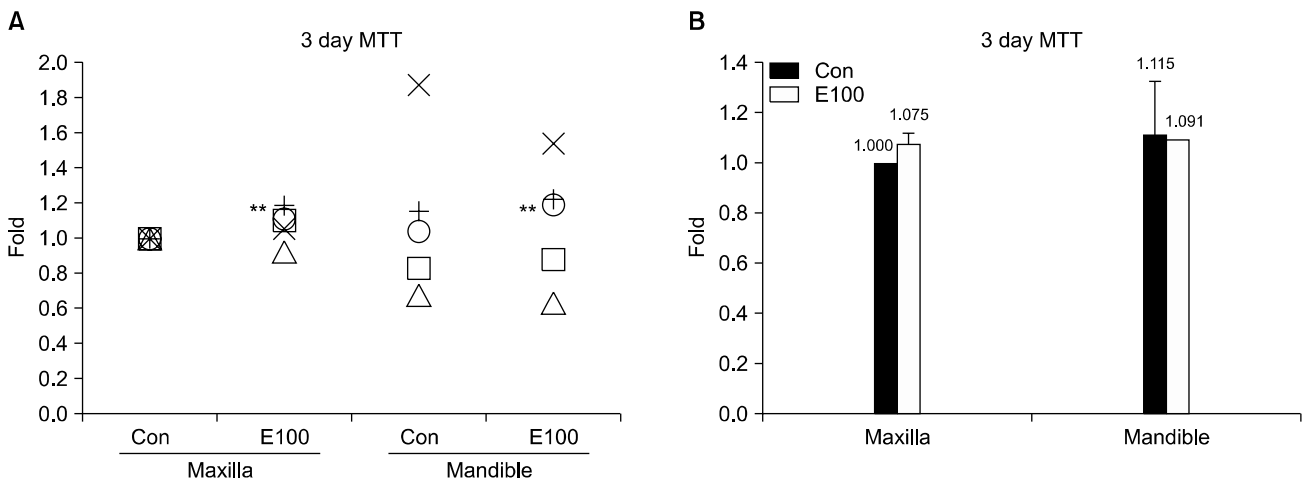


Fig. 1. Effect of 17β-estradiol on the proliferation of maxilla-, mandible-derived osteoblasts. Cells were exposed to 100 nM 17β-estradiol for 3 days. Cell proliferation was determined by MTT assay. Results are expressed as fold values of control of maxilla-derived osteoblast. (A) Individual data, **P<0.01 (patient 1: +, patient 2: □, patient 3: ○, patient 4: △, patient 5: ×). (B) Mean values and standard errors. Con, control group; E100, group with 100 nM 17β-estradiol treatment.

따라 반대의 경향(상악골 유래 조골세포 5% 증가, 하악골 유래 조골세포 18% 감소)을 나타냈다(Fig. 1A). 전체적으로 보면 에스트로겐을 처리했을 때 상악골 유래 조골세포는 증가, 하악골 유래 조골세포는 감소하는 경향을 나타내었지만 증감량이 각각 7.5%, 2.4%로 크지 않았으며 통계적으로 유의한 차이를 나타내지 않았고 개체 간의 차이가 크게 나타났다(Fig. 1B).

2. 상, 하악골 유래 조골세포의 분화에 대한 에스트로겐의 효과

ALP 활성도는 초기 골세포 분화를 측정하는 표지마커이다. 세포 분리 후 성장배지에서 상악골 유래 조골세포에 비해 하악골 유래 조골세포의 ALP 활성도가 통계적으로 유의하게 큰 것으로 나타났으며($P < 0.05$), 상, 하악골 유래 조골세포 모두 에스트로겐에 의해 ALP 활성도가 증가하는 경향성을 나타내었으나 통계적으로 유의한 결과를 보이지 않았다(Fig. 2B). 에스트로겐을 처리했을 때 개체간의 ALP 활성도는 차이가 있어서 동일한 개체 내에서 2명은 상, 하악골 유래 조골세포 모두 ALP 활성도가 증가(상악

골 유래 조골세포 9~19%, 하악골 유래 조골세포 13~14%)한 반면 나머지 3명은 세포에 따라 반대의 경향을 나타냈으며, 통계 처리하였을 때 상악골 유래 조골세포는 총 다섯 명 중 한 명은 유의하게 감소, 한 명은 유의하게 증가한 반면, 하악골 유래 조골세포는 다섯 명 중 세 명에서 유의한 증가 양상을 보였다(Table 1, Fig. 2A). 각 환자의 상, 하악골 유래 조골세포의 에스트로겐 처리에 의한 ALP 활성도의 변화는 ALP 유전자의 발현 양상과 동일하게 나타났다(Fig. 2A, 3).

3. 상, 하악골 유래 조골세포 분화 관련 유전자 발현에 대한 에스트로겐의 효과

OPG, ALP, IGF-1 유전자는 골형성 관련 유전자이며, ER α 는 에스트로겐 수용체이다. 이들 유전자들은 에스트로겐에 의해 발현이 증가한다고 보고되고 있다. 본 실험에서 OPG, ALP, IGF-1, ER α 유전자의 발현에 대한 에스트로겐의 효과는 어떤 경향성을 보이기 보다는 다양한 개체의 반응을 나타내었다. 동일한 개체

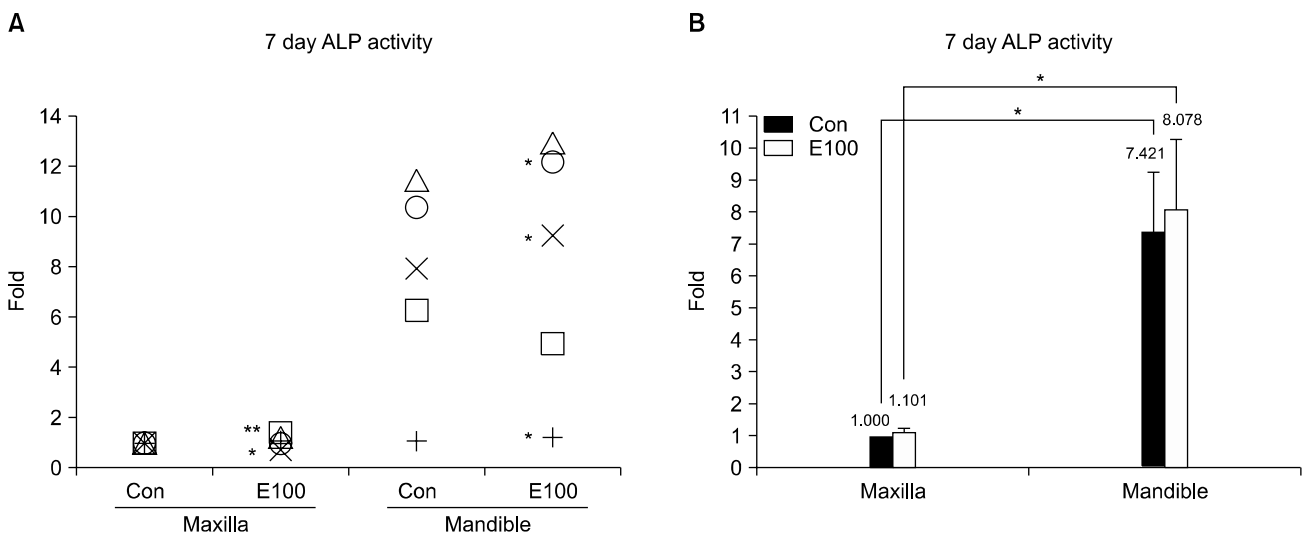


Fig. 2. Effect of 17 β -estradiol on the alkaline phosphatase (ALP) activity of maxilla-, mandible-derived osteoblasts. Cells were exposed to 100 nM 17 β -estradiol for 7 days. Results are expressed as fold values of control of maxilla-derived osteoblast. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$. (A) Individual data (patient 1: +, patient 2: □, patient 3: ○, patient 4: △, patient 5: ×). (B) Mean values and standard errors. Con, control group; E100, group with 100 nM 17 β -estradiol treatment.

Table 1. Effect of 17 β -estradiol on the alkaline phosphatase activity of maxilla-, mandible-derived osteoblasts

	Maxilla			Mandible		
	Con	E100	P-value	Con	E100	P-value
Patient 1 (F/18)	1.000	1.087	NS	1.097	1.248	*
Patient 2 (F/36)	1.000	1.501	**	6.274	4.896	NS
Patient 3 (M/44)	1.000	0.989	NS	10.353	12.119	*
Patient 4 (F/28)	1.000	1.194	NS	11.418	12.875	NS
Patient 5 (F/30)	1.000	0.734	*	7.964	9.255	*
Mean \pm S.E	1	1.101 \pm 0.126	NS	7.421 \pm 1.819	8.078 \pm 2.208	NS

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ compared with control.

Cells were exposed to 100 nM 17 β -estradiol for 7 days. Results are expressed as fold values of control of maxilla-derived osteoblast. Con, control group; E100, group with 100 nM 17 β -estradiol treatment; F, female; M, male; S.E, standard errors; NS, not significant.

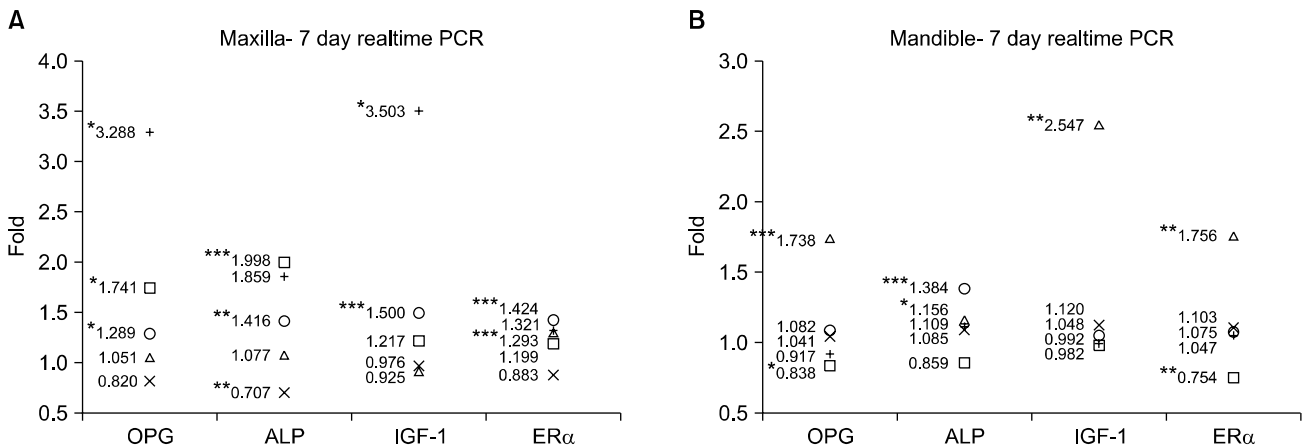


Fig. 3. (A) Effect of 17β-estradiol on gene expression of maxilla-, (B) mandible-derived osteoblasts. Cells were exposed to 100 nM 17β-estradiol for 7 days. The expressions of OPG, ALP, IGF-1, ERα were analyzed by real-time PCR. Every value is expressed as fold values of control. *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001 compared with control (patient 1: +, patient 2: □, patient 3: ○, patient 4: △, patient 5: ×). PCR, polymerase chain reaction; OPG, osteoprotegerin; ALP, alkaline phosphatase; IGF-1, insulin-like growth factor-1; ER, estrogen receptor.

내에서 상, 하악골 유래 조골세포의 반응이 서로 다르거나 두 세포 모두에서 반응이 나타나지 않는 경향을 보였다. 특히 환자 1 (여/18)과 3 (남/44)은 상악골에서는 OPG (환자 1: 229%, 환자3: 29%), ALP (환자 3: 42%), IGF-1 (환자 1: 250%, 환자 3: 50%), ERα (환자 3: 42%) 유전자의 발현이 통계적으로 유의하게 증가했으나, 하악골 유래 조골세포에서는 ERα만 환자 3이 38% 증가 경향을 보였을 뿐 나머지는 유의한 발현 차이를 나타내지 않았다. 반대로 환자 4 (여/28)는 하악골 유래 조골세포에서 에스트로겐 처리 시 OPG (74%), ALP (16%), IGF-1 (155%), ERα (76%) 유전자의 발현이 증가했으나, 상악골에서는 ERα의 29% 증가된 것 외에는 발현 차이가 나타나지 않았다. 환자 2 (여/36)는 상악골 유래 조골세포에서는 OPG와 ALP의 유전자 발현이 증가(각각 74%, 100%)한 반면, 하악골 유래 조골세포는 OPG와 ERα가 감소하는 경향을 나타냈었다(각각 16%, 25%). 환자 5 (여/30)는 에스트로겐 처리에 의해 상악골 유래 조골세포에서 ALP가 29% 발현 감소를 보인 것 외에는 상, 하악골 유래 조골세포 모두에서 유전자 발현의 차이가 나타나지 않았다. 에스트로겐의 처리에 의해서 OPG, ALP, IGF-1, ERα의 발현 증가는 상악골 유래 조골세포는 각각 60%, 40%, 20%, 40%에서 나타난 반면, 하악골 유래 조골세포는 각각 20%, 40%, 20%, 20%로 특히 OPG에서 증가 양상의 차이를 보였다. 특히 ERα 발현 패턴과 다른 나머지 유전자들 간의 발현 패턴 간에 상호 연관성이 관찰되었다(Fig. 3).

고찰

골수간질세포(bone marrow stromal cell)가 기원에 따라 부위 특이적인 차이를 보인다는 사실에 대한 연구는 많이 이루어져

왔다[14-19]. 연구에 사용된 부위는 하악골, 상악골, 장골, 경골 등이었으며 보통 안면골 중에 한 부위, 비안면골 중에 한 부위가 비교되었지만[14,15,19], 상악골과 하악골 및 장골 유래 골수간질 세포의 차이가 보고된 바도 있다[16,18]. 조골세포의 부위 특이적인 차이에 대한 연구는 아직 활발히 이루어지지 못했으며, 하악골과 장골에서 채취하여 배양한 조골세포의 반응 차이가 보고된 적이 있다[20]. 상악골과 하악골은 악골의 구성요소이고 둘 다 안면골에 포함되기 때문에 그 차이에 대한 연구는 아직 미미한 상태이며 기존 연구에서는 상악골과 하악골을 구분하지 않고 치조골에서 조직을 채취하여 연구를 진행하기도 하였다[17]. 본 연구는 상악골과 하악골 유래 조골세포가 에스트로겐 처리에 대해서 서로 다른 반응을 나타낼 수 있다는 가정하에 진행되었으며 연구 결과 동일한 개체 내에서 상악골과 하악골 유래 조골세포가 서로 동일하지 않은 세포 반응을 보임을 알 수 있었으며, 하악골이 상악골에 비해 에스트로겐에 의한 골형성 반응이 덜 효율적임을 알 수 있었다.

조골세포는 신생골을 형성하기 때문에 골발생 반응은 대개 조골세포의 증식과 분화에 의해 조절된다[21]. 상, 하악골 유래 조골세포는 모두 100 nM 농도의 에스트로겐을 처리했을 때 세포 증식에 있어서 경향성의 차이는 있었지만 통계적으로 유의한 반응성의 차이를 보이지 않았다. 이 결과는 DiSilvio 등[22]이 장골 유래 조골세포를 이용하여 에스트로겐의 세포증식에 대한 영향에 대해 보고한 결과와 일치한다. 마찬가지로 Keeting 등[23]은 에스트로겐이 사람의 조골세포에서 세포증식이나 분화를 증가시키지 못한다고 보고하였고 에스트로겐의 골흡수 억제 효과에 중점을 두어 설명한 바 있다. 하지만 기존 연구의 결과도 다양하여 Luo와 Liao[24]는 사람 조골세포주(MG-63)에서 에스트로겐이 세포증식을 효과적으로 증가시켰다고 보고하였고, 반면에 다른 연구에

서는 태아의 조골세포주(hFOB/ER9)에 에스트로겐을 처리했을 때 에스트로겐의 농도가 증가함에 따라 세포증식이 유의하게 감소하는 경향이 있음이 밝혀진 바 있다[25]. 이런 다양한 결과는 연구에 사용된 세포, 에스트로겐의 종류, 세포배양조건, 측정법의 민감성 또는 특이성에 기인하는 것으로 보인다[21].

ALP 활성도로 평가한 결과 하악골 유래 조골세포의 분화능이 상악골 유래 조골세포에 비해서 훨씬 크다는 사실이 밝혀졌다. 현재까지 조골세포의 분화능에 대해 상, 하악골을 비교한 연구는 없다. 다만 상, 하악골 유래 골수간질세포의 분화능을 분석한 기존 연구에서는 상, 하악골의 차이를 명확하게 기술하고 있지는 않으나 상악골 유래 골수간질세포의 분화능이 하악골 유래 골수간질세포보다 큰 경향성이 있음을 보인 바 있다[16]. 에스트로겐에 의해서는 조골세포의 분화능이 증가하는 경향을 보였지만 통계적으로 유의한 수준은 아니었으며, Luo와 Liao[24]도 사람 조골세포주(MG-63)를 사용하여 유사한 연구결과를 보고한 바 있다.

상, 하악골 유래 조골세포의 유전자 발현은 개체 간의 차이가 매우 커서 공통의 경향성을 찾기가 힘들었다. 하지만 에스트로겐이 세포 분화에 작용함에 있어서 ER의 기능은 비교적 분명히 나타났다. 상악골 유래 조골세포에서 ER α 의 발현이 감소 경향을 보인 환자 5는 나머지 유전자도 에스트로겐에 의해 발현이 감소하는 경향을 보였으며, 하악골 유래 조골세포의 경우 환자 2에서 유사한 경향을 관찰할 수 있었다. 반대로 ER α 의 발현이 증가한 경우 상악골 유래 조골세포에서 환자 4는 다른 유전자의 특별한 반응성을 보이진 않았지만 환자 3의 경우 다른 유전자의 발현이 모두 증가하였으며, 환자 4의 하악골 유래 조골세포도 같은 경향을 보였다(Fig. 3).

OPG는 파골세포 형성에 중요한 작용을 하는 receptor activator of NF- κ B ligand (RANKL)와 결합하여 RANKL이 기능 수용체인 RANK와 결합하는 것을 억제함으로써 파골세포 형성을 억제한다. 여러 연구에서 에스트로겐에 의해서 OPG의 생성이 증가된다고 보고했지만[5,26,27], Cheung 등[28]은 반대로 OPG 발현이 감소한다고 밝히기도 하였다. OPG의 발현 양상은 ER α 의 수에 의존적이며 ER α 가 과발현된 세포에서 OPG의 생성이 최대한으로 자극받는 것으로 알려져 있으며[27], 본 연구에서도 OPG는 ER α 와 개체 내 발현 양상이 유사하였다(Fig. 3). Bord 등[5]은 에스트로겐에 의해 ER α 의 발현이 증가한다고 보고하였지만, ER α 의 발현은 피실험자의 나이, 에스트로겐의 용량이나 사용 기간 등에 영향을 받으며 다양하게 나타날 수 있다. IGF-1은 골격 보존의 생리적 조절인자로 잘 알려져 있으며, Méndez-Dávila 등[29]은 에스트로겐에 의해서 조골세포의 IGF-1 발현이 증가하는 것으로 보고하였다. 본 연구에서도 몇몇 개체에서는 에스트로겐에 특별한 반응을 하지 않기도 하였으나 전반적으로는 에스트로겐에 의해 조골세포의 IGF-1의 발현이 증가하는 경향을 보였다. 또한 상악골에서 에스트로겐에 의한 골형성 관련 유전자 발현

증가 빈도수가 하악골에 비해 높았다. 이는 하악골이 에스트로겐에 의한 골형성 기능이 약화되어 있으며, 또한 에스트로겐 결핍에도 덜 민감할 수 있음을 시사한다.

상악골과 하악골이 동일한 반응을 보이지 않은 원인에 대해 명확한 해답을 제시하기는 힘들며 앞으로 지속적인 연구가 요구되는 부분이다. 기존 연구에서 부위 특이성과 관련된 세포의 반응 차이는 골의 국소적인 혈관 분포의 차이[30], 치밀골과 해면골의 비율 등의 국소적인 골 구성의 차이[31], 국소적인 생역학적 긴장도의 차이 혹은 각기 다른 부위마다 세포의 유전적 차이 등에 기인한다고 설명되고 있다[16,20]. 상악골과 하악골도 치밀골과 해면골의 비율에서 분명한 구조적 차이를 보이며[12] 골밀도계를 이용하여 상, 하악골의 골밀도를 측정된 연구에서 하악골은 평균 1.1 g/cm²로서 이는 상악 전방부 골(0.55 g/cm²)의 두 배에 달하였고, 상악 후방부와 경구개는 각각 0.31 g/cm²와 0.45 g/cm²로서 하악골에 비해 매우 낮은 골밀도를 보이는 등[32] 생역학적인 긴장도가 동일할 수 없는 각각의 해부학적인 특징을 가지고 있다. 또한 신경능선세포가 이주된 이후에 상악골은 막내골화뿐만 발생이 진행되는 반면에 하악골은 하악과두, 근돌기, 하악각 부위에는 연골내골화가 그 이외의 부위는 막내골화가 진행되는 차이가 있는 것도 상악골과 하악골 유래 조골세포의 반응에 대한 근거로서 유추될 수 있다.

결론

5명 피험자의 상, 하악골 유래 조골세포의 에스트로겐에 대한 반응성을 다양하게 살펴보았으며, 상, 하악골 유래 조골세포는 동일한 경향성을 보이지 않았다. 에스트로겐은 조골세포의 증식에는 뚜렷한 영향을 끼치지 않았다. 상, 하악골 유래 조골세포의 ALP 활성도는 유의한 차이를 보였으며, 에스트로겐에 의해서는 ALP 활성도가 증가하는 경향을 보였으나 통계적으로 유의하지는 않았다. 에스트로겐에 의한 조골세포의 유전자 발현은 개체 간에 다양성이 매우 크게 나타났으나, 상악골에서 에스트로겐에 의한 골형성 관련 유전자 발현 증가 빈도수가 하악골에 비해 높았다. 더 정확한 경향성을 확인하기 위해 비슷한 연령과 동일한 성별을 가진 피험자끼리 구분할 수 있도록 많은 수의 피험자를 대상으로 한 연구가 필요하다.

Acknowledgements

본 연구는 한국보건산업진흥원 보건의료연구개발사업(A110613)에 의해 지원되었다.

References

1. Jackson IT, Helden G, Marx R. Skull bone grafts in maxillofacial and craniofacial surgery. *J Oral Maxillofac Surg* 1986;44:949-55.
2. Mavropoulos A, Rizzoli R, Ammann P. Different responsiveness of alveolar and tibial bone to bone loss stimuli. *J Bone Miner Res* 2007;22:403-10.
3. Tallgren A. The continuing reduction of the residual alveolar ridges in complete denture wearers: a mixed-longitudinal study covering 25 years. 1972. *J Prosthet Dent* 2003;89:427-35.
4. Marx RE. Pamidronate (Aredia) and zoledronate (Zometa) induced avascular necrosis of the jaws: a growing epidemic. *J Oral Maxillofac Surg* 2003;61:1115-7.
5. Bord S, Ireland DC, Beavan SR, Compston JE. The effects of estrogen on osteoprotegerin, RANKL, and estrogen receptor expression in human osteoblasts. *Bone* 2003;32:136-41.
6. Raisz LG. Pathogenesis of osteoporosis: concepts, conflicts, and prospects. *J Clin Invest* 2005;115:3318-25.
7. Balasch J. Sex steroids and bone: current perspectives. *Hum Reprod Update* 2003;9:207-22.
8. Christodoulou C, Cooper C. What is osteoporosis? *Postgrad Med J* 2003;79:133-8.
9. Seeman E, Eisman JA. 7: treatment of osteoporosis: why, whom, when and how to treat. The single most important consideration is the individual's absolute risk of fracture. *Med J Aust* 2004;180:298-303.
10. Qu Q, Perälä-Heape M, Kapanen A, *et al.* Estrogen enhances differentiation of osteoblasts in mouse bone marrow culture. *Bone* 1998;22:201-9.
11. Kousteni S, Han L, Chen JR, *et al.* Kinase-mediated regulation of common transcription factors accounts for the bone-protective effects of sex steroids. *J Clin Invest* 2003;111:1651-64.
12. Misch CE. Bone dentistry: a key determinant for treatment planning. In: Misch CE, editor. *Contemporary implant dentistry*. 3rd ed. St. Louis: Mosby; 2008. p.131-2.
13. Sodek J, McKee MD. Molecular and cellular biology of alveolar bone. *Periodontol* 2000;24:99-126.
14. Aghaloo TL, Chaichanasakul T, Bezouglaia O, *et al.* Osteogenic potential of mandibular vs. long-bone marrow stromal cells. *J Dent Res* 2010;89:1293-8.
15. Akintoye SO, Giavis P, Stefanik D, Levin L, Mante FK. Comparative osteogenesis of maxilla and iliac crest human bone marrow stromal cells attached to oxidized titanium: a pilot study. *Clin Oral Implants Res* 2008;19:1197-201.
16. Akintoye SO, Lam T, Shi S, Brahim J, Collins MT, Robey PG. Skeletal site-specific characterization of orofacial and iliac crest human bone marrow stromal cells in same individuals. *Bone* 2006;38:758-68.
17. Matsubara T, Suardita K, Ishii M, *et al.* Alveolar bone marrow as a cell source for regenerative medicine: differences between alveolar and iliac bone marrow stromal cells. *J Bone Miner Res* 2005;20:399-409.
18. Osyczka AM, Damek-Poprawa M, Wojtowicz A, Akintoye SO. Age and skeletal sites affect BMP-2 responsiveness of human bone marrow stromal cells. *Connect Tissue Res* 2009;50:270-7.
19. Stefanik D, Sarin J, Lam T, Levin L, Leboy PS, Akintoye SO. Disparate osteogenic response of mandible and iliac crest bone marrow stromal cells to pamidronate. *Oral Dis* 2008;14:465-71.
20. Kasperk C, Wergedal J, Strong D, *et al.* Human bone cell phenotypes differ depending on their skeletal site of origin. *J Clin Endocrinol Metab* 1995;80:2511-7.
21. Jeon JY, Im TY, Jeon SH, Hwang KG, Park CJ. Alterations of gene expression by beta-tricalcium phosphate in osteoblast-like MG63 cells. *J Korean Assoc Maxillofac Plast Reconstr Surg* 2011;33:308-13.
22. DiSilvio L, Jameson J, Gamie Z, Giannoudis PV, Tsiroidis E. In vitro evaluation of the direct effect of estradiol on human osteoblasts (HOB) and human mesenchymal stem cells (h-MSCs). *Injury* 2006;37 Suppl 3:S33-42.
23. Keeting PE, Scott RE, Colvard DS, Han IK, Spelsberg TC, Riggs BL. Lack of a direct effect of estrogen on proliferation and differentiation of normal human osteoblast-like cells. *J Bone Miner Res* 1991;6:297-304.
24. Luo XH, Liao EY. Effects of estriol on the proliferation and differentiation of human osteoblastic MG-63 cells. *Endocr Res* 2003;29:343-51.
25. Robinson JA, Harris SA, Riggs BL, Spelsberg TC. Estrogen regulation of human osteoblastic cell proliferation and differentiation. *Endocrinology* 1997;138:2919-27.
26. Hofbauer LC, Khosla S, Dunstan CR, Lacey DL, Spelsberg TC, Riggs BL. Estrogen stimulates gene expression and protein production of osteoprotegerin in human osteoblastic cells. *Endocrinology* 1999;140:4367-70.
27. Saika M, Inoue D, Kido S, Matsumoto T. 17beta-estradiol stimulates expression of osteoprotegerin by a mouse stromal cell line, ST-2, via estrogen receptor-alpha. *Endocrinology* 2001;142:2205-12.
28. Cheung J, Mak YT, Papaioannou S, Evans BA, Fogelman I, Hampson G. Interleukin-6 (IL-6), IL-1, receptor activator of nuclear factor kappaB ligand (RANKL) and osteoprotegerin production by human osteoblastic cells: comparison of the effects of 17-beta oestradiol and raloxifene. *J Endocrinol* 2003;177:423-33.
29. Méndez-Dávila C, García-Moreno C, Turbí C, de la Piedra C. Effects of 17beta-estradiol, tamoxifen and raloxifene on the protein and mRNA expression of interleukin-6, transforming growth factor-beta1 and insulin-like growth factor-1 in primary human osteoblast cultures. *J Endocrinol Invest* 2004;27:904-12.
30. Bradley JC. A radiological investigation into the age changes of the inferior dental artery. *Br J Oral Surg* 1975;13:82-90.
31. Ninomiya JT, Tracy RP, Calore JD, Gendreau MA, Kelm RJ, Mann KG. Heterogeneity of human bone. *J Bone Miner Res* 1990;5:933-8.
32. Devlin H, Horner K, Ledgerton D. A comparison of maxillary and mandibular bone mineral densities. *J Prosthet Dent* 1998;79:323-7.