B-4. Identification of Matrix Mineralization-Related Genes in Human Periodontal Ligament Cells Using cDNA Microarray

신재희*, 서조영
경북대학교 치과대학 치주과학교실

서론 및 목적

치주치료는 조직에 확산된 염증 및 치주낭의 제거와 손상된 지지조직의 재생을 유도하기 위한 것이며, 치주조직의 재생을 위해서는 치유부에 적절한 세포가 이주하여 부착되고 분화하여 신생 결체조직과 백악질, 골 조직을 형성하고, 신생 치주조직의 형성을 통한 신부착이 야기되어야 할 것이다.

이러한 재생을 위해서는 결체조직, 백악질, 골의 생성을 담당할 세포의 분화가 필요한데, 이는 섬유성분, 세포성분, 신경. 혈관. 림프계로 구성된 치주인대에서 섬유아세포성, 골아세포성, 백악아세포성 세포로 분화하는 것으로 보인다.

치주인대세포는 시험관적 실험에서 광물화 결절형성을 유도할 수 있으므로 광물화 결절형성에 관여하는 유전자들을 특이하게 발현할 것으로 여겨진다. 이에 본 실험은 cDNA microarray를 이용한 동시 유전자분석을 시행하여 치주인대세포의 분화에 의한 광물화 결절형성시 나타나는 유전자의 특징적 발현 양상을 알아보고자 하였다.

방법

교정치료를 목적으로 경북대학교병원에 내원한 환자의 제일소구치를 발치하여 통상적 방법으로 치주인대세포를 분리, 배양하였고, 3세대의 치주인대세포를 사용하여 실험을 시행하였다. 치주인대 세포를 100mm에 넣고 배양하여 매 2일 마다 배지를 교환해 주고, 10% FBS 만을 투여한 군을 대조군으로, ascorbic acid (50$\mu g/ ml$), β-glycerophosphate (10 mM) 및 100nM dexamethasone을 투여한 군을 실험군으로 하였다.

상기 조건으로 30일간 배양후 Alizarin Red Stain으로 광물화 결정 형성 유무를 관찰한 다음 각 군에서 RNA를 추출하여 두 군 간의 유전자 발현양상을 비교, 분석하기 위하여 경북대학교 의과대학 면역학교실에서 제작한 Human 3K chip을 이요하여 croarray를 시행하였다.

결과

배양된 치주인대세포에 ascorbic acid, β-glycerophosphate, 그리고 dexamethasone을 투여한 실험군에서 21일째 광물화된 결정을 관찰할 수 있었으나 대조군에서는 관찰할 수 없었다.

3063개의 유전자를 분석한 결과 35개 유전자가 대조군에 비해 2배이상 발현이 증가하였고, 38개 유전자는 2배이상 발현이 감소하였다. 형태학적 검사에서 보여준 바와 같이 광물화형성과정시 관여하는 IGF-II과 IGFBP2와 같은 유전자가 실험군에서 증가하였으며, 세포골격과 세포외기질 형성에 관여하는

proteogycan 1, fibulin-5, keratin 5, β-actin, smooth muscle actin-α, capping protein 등도 발현이 실험군에서 증가하였다. 한편 periosin and S100 calcium-binding protein A4는 대조군에서 오히려 높게 나타나므로 이는 배양된 치주인대세포가 그 자체의 표현형을 유지하고 있음을 보여 주고 있다.

그 외 apoptosis를 유발시키는데 관여하는 Dkk-1와 Nip3는 실험군에서 높게 발현되었고, apoptosis를 억제시키는데 관여하는 Btf와 TAX1BP1는 오히려 낮게 발현됨을 알 수 있으므로 이는 실험군에서 치주인대세포가 골아세포로의 분화되었음을 나타낸다.