

세포 내 칼슘 농도의 변화에 따른 간헐적 정수압이 세포 부착력에 미치는 영향

김동화[†] · 김영직^{*} · 신지원^{*} · 신정욱^{**}

Contribution of intermittent hydrostatic pressure to the cell adhesive forces through the changes in intracellular Ca^{2+} concentration

Dong Hwa Kim, Young Jick Kim, Ji Won Shin, Jung-Woog Shin

Key Words : Intracellular Ca^{2+} (세포내 칼슘), Cell adhesion force(부착력), Intermittent hydrostatic pressure(간헐적 정수압)

Abstract

We investigated the effects of intermittent hydrostatic pressure with various duration of resting period on changes in calcium (Ca^{2+}) concentration and adhesive forces of cells on substrates. The quantitative adhesive forces of cells were measured under various resting periods. When the pressure applied to the cells, the concentration of Ca^{2+} increased. Under intermittent hydrostatic pressure, the concentration of Ca^{2+} was maintained under a resting period of 15 min, while it was not decreased with other resting periods of less than 15 min. With a resting period of 15 min, the magnitudes of adhesive forces were significantly increase. In addition, the adhesive forces were measured with and without Ca^{2+} chelating agents to evaluate the effect of Ca^{2+} on cell adhesiveness. When Ca^{2+} ions were chelated, the adhesive forces dramatically decreased, even under intermittent hydrostatic pressure. We conclude that Ca^{2+} plays an crucial role in modulating the adhesive forces of cells, and that the concentration of Ca^{2+} can be increased by intermittent hydrostatic stimuli.

1. 서론

기질에 대한 세포의 부착은 morphology, migration, growth, 그리고 differentiation 같은 세포들의 행동을 결정짓는 중요한 요인 중의 하나이며, 이에 대한 생화학적 그리고 조직학적인 연구가 많이 진행되어 왔다. 예비 연구에서는 PLLA, PLGA, PCL 등과 같은 생체 고분자에서의 세포 부착력을 detachment system 을 통하여 정량적으로 측정 가능함을 확인하였고, (1) 또한 간헐적 정수압(IHP)을 인가하여 압축 자극 중의

휴지기가 세포 부착력과 focal adhesion area, 세포 형태 등의 추이에 어떠한 영향을 주는지 공초점 현미경과 이미지 프로세싱 프로그램을 통해 정량적으로 살펴보았다. 예비 연구에 근거하여 세포의 부착력이 역학적 자극과 깊은 관계가 있음을 확인하였고, 몇몇 신호 분자와 세포 부착력의 증가 등이 역학적 자극과 휴지기의 길이에 연관이 있을 것임을 확신하였다. (2)

세포 내 칼슘은 생체 신호 전달과 관련되어 있는 인자 중의 하나이며, 칼슘의 농도는 세포 외부의 물리적 자극에 따라 변화될 수 있다. 본 연구에서는 간헐적 정수압에서의 칼슘이온과 내피세포의 세포 부착력의 관계를 칼슘 chelate reagent 와 정량적인 측정 technique 를 이용하여 알아보고자 하였다.

[†] 인제대학교 의용공학과
E-mail : sjw@bme.inje.ac.kr
TEL : (055)320-3317 FAX : (055)327-3292

^{*} 인제대학교 의용공학과

^{**} 인제대학교 의용공학과 BK21 사업단

2. 재료 및 방법

2.1 세포 준비

한국 세포주 은행에서 분양 받은 Bovine pulmonary arterial endothelial cells (CPAEs)를 사용하였다. 2% (w/v) gelatin (G1393 Sigma, USA)으로 코팅된 cover glass 는 세포 seeding 하기 전까지 4°C 에 유지해두었으며, 10% (v/v) FBS (Hyclone, USA)와 항생제가 포함된 RPMI1640 (Hyclone)을 기본배지로 사용하였다.

2.2 자극 및 세포 부착력 측정

Table 1 과 같이 4 그룹의 실험군으로 나누었다. 칼슘 chelating agent 는 10 μM BAPTA/AM (Molecular Probes)을 사용하였으며 공초점 현미경을 이용하여 관찰하였다. 세포에 간헐적 정수압을 가하기 위해 범용 bioreactor (TS-MBI 100 Taesan Solutions, Korea)를 이용하여 크기 0.2 MPa, 2 min/15 min (가압/휴식)의 패턴을 2 시간 동안 가하였다. 세포의 부착력을 정량적으로 측정하기 위해 micropipette 은 micropipette puller 를 이용하여 제작하였고 manipulator 에 장착한 후 부착된 세포를 하나씩 떼어 내었다. 전 과정은 현미경에 장착된 CCD 카메라를 통해 녹화하였으며 캡처된 이미지를 통해 micropipette 의 deflection 값을 측정하였다. 이를 유한요소법을 이용하여 세포의 부착력을 역으로 계산하였다. 사용한 유한요소 프로그램은 ANSYS (ver. 10.0)이며, 기하학적 비선형을 고려하였다. Micropipette 의 물성치는 E (Young's modulus)= 50 GPa, Poisson's ratio=0.3 으로 하였다.

3. 결과 및 결론

먼저 칼슘 chelate 사용 여부에 따라 간헐적 정수압이 세포 부착력에 미치는 영향은 유의한 차이를 보였다. 또한 부착력과 칼슘 사이에도 유의한 관계를 가짐을 확인하였다. Chelating agent 에 의해 칼슘이 제거되었을 때 부착력은 극적으로 유의하게 감소하였다. 따라서 간헐적 정수압은 칼슘이 존재할 때 CPAE 의 부착력을 증가시킨다고 결론 내렸으나 부착력 에서 칼슘이 세포 내에서 제거되었을 때 간헐적 정수압에 의한 부착력의 변화는 보이지 않았다.(Fig. 1)

Table 1. Experimental groups

Groups	Description
NT-NP	Non-treated without IHP
T-NP	Treated without IHP
NT-P	Non-treated with IHP
T-P	Treated with IHP

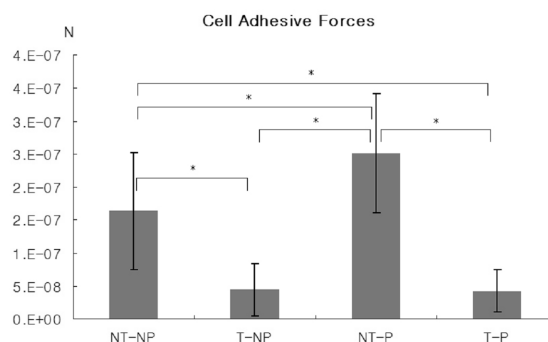


Fig. 1 Adhesive forces in CPAE cells

후 기

이 논문은 2008 년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국과학재단의 국가지정연구실사업의 지원을 받아 수행된 연구임 (No. R0A-2008-000-20042-0)

참고문헌

- (1) Kim, Y. J., Shin, J. W., Park, K. D., Lee, J. W., Yui, N., Park, S. A., Jee, K. S., and Kim, J. K., 2003, "A study of compatibility between cells and biopolymeric surfaces through quantitative measurements of adhesive forces." *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, Vol. 14, pp. 1311-1321.
- (2) Kim, Y. J., Park, S. A., Lee, Y. J., Shin, J. W., Kim, D. H., Heo, S. J., Park, K. D., and Shin, J. W., 2008, "Effects of intermittent hydrostatic pressure on cell adhesive forces and other related parameters under various resting periods," *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.*, Vol. 85, pp. 353-360.