대치교정지 24(1) : 105-114, 1994

Mechanical stress가 골조직세포군에 미치는 영향

김상태[1] · 차경석[2]

I. 서 론

여러종류의 세포들로 구성된 골조직은 기계적인 자극에 대해 가장 활동성있게 반응하는 생화학적 구조물이다.[44] 교정치료시 치아이동을 위하여 치조골의 골개조 과정이 필요하며, 이러한 골형성과 골흡수 과정은 골조직의 대표적인 대사활동으로 각각 조골세포 및 파골세포에 의해 정교하게 조절되어진다고 하였다.[63] 그러나 골조직을 구성하는 세포가 다양하여 골조직의 어떠한 특정대사과정이 어느 세포에서 기인하는지를 규명하는데 어려움이 있었다. 이렇게 다양한 각 세포들의 기능을 연구하기 위하여 여러 세포분리 방법이 사용되고 있다.[13,38,46,55,62] 이중 Peck 등[45]이 Collagenase를 이용한 효소처리방법으로 처음 골세포를 분리한 이래, 아직 순수한 골세포들을 분리, 배양하는 방법은 개발되어 있지 않은 상태이나, 현재는 collagenase와 trypsin-EDTA를 이용한 연속효소처리 방법이 골조직대사 연구에 가장 널리 사용되고 있다.[38,62]

골조직 대사활동을 수행하는 세포들을 분리하여 mechanical stress를 준 후 시간의 흐름에 따른 골조직세포군의 변화를 관찰한 여러 연구에서 Berger와 Harell 등[28]은 골조직세포에 mechanical stress를 부여했을때, 세포내 PGE_2와 cAMP level이 증가됨을 관찰하였으며, 기계적 자극에 대한 세포막의 stimulus receptor mechanism은 호르몬에 대한 반응과 유사하며, PGE_2에 의해 매개되어 cAMP농도와 DNA합성 증가에 영향을 미친다고 하였다.

Atsumasa 등[59]은 연골세포에 mechanical stress(tensile force)를 적용했을 때, 세포내 cAMP level은 유의하게 증가하였으나, PGE_2 level의 증가는 관찰하지 못하였고, glycosaminoglycan(GAG)합성이 기계적 자극에 의해 증가한다고 보고하였다. 한편, Rodan등[47]은 hydrostatic pressure를 이용한 compressive force적용시 Ca^{++}과 modulator-dependent phosphodiesterase에 의해 cAMP 및 cGMP level이 감소한다고 하였다.

교정력을 이용한 *in vivo* 실험에서 Davidovitch와 Shanfeld 등[24]은 치아에 힘을 가하였을 때 치조골내의 PGE_2 level이 증가함을 관찰하여 골개조 시에 PGE_2가 개입한다고 보고하였으며, Yamasaki 등[57]은 견치부위에 PGE_2를 주입시켜 후방이동시킨 경우 부작용 없이 치아이동이 2배 정도 용이하게 일어남을 관

접수일 : 1994년 1월 1일

1) : 단국대학교 치과대학 교정학교실, 전공의
2) : 단국대학교 치과대학 교정학교실, 부교수

찰하여, PGE_2가 골흡수에 영향을 미친다고 보고하였다. 그러나, 과거의 연구들은 주로 연골세포에 대한 cAMP와 PGE_2의 변화를 관찰하였고,[8,25,42] 분리되지 않고 다양하게 혼합된 골조직세포에 대한 변화를 관찰함으로서[28,34,36,50] 골조직 대사활동이 어느 세포에서 기인하며, 결과적으로 일어나는 세포기능에 대하여 기계적자극이 세포내에서 생화학적 신호로 변환되어지는 기전에 대한 보고가 미비한 실정이다.

이에 본 연구에서는 백서태자 두개관을 연속효소처리하여 5군의 세포군을 분리하고, 수종의 호르몬에 대한 반응으로 생화학적 특성이 규명된 파골 및 조골세포유사세포군을 이용하여 OC group과 OB group으로 분류한 다음, 골조직세포군에 직접 mechanical stress를 부여했을 때 세포내에 미치는 영향을 특정골조직세포의 표지효소(marker enzyme)인 acid 및 alkaline phosphatase의 변화 및 시간의 흐름에 따른 각 세포군의 cAMP와 PGE_2농도의 변화를 관찰함으로써 골조직대사에 미치는 영향을 알아보고자 시행하였다.

II. 실험재료 및 방법

1. 골조직세포의 분리와 배양

태생 19일째의 백서태자 두개관을 무균적으로 적출하여 0.1% collagenase, 0.05% trypsin, 0.5mM EDTA가 혼합된 1.5ml의 효소용액과 함께 reactivial (Pierce, Rockford)에 넣은 후 37℃에서 서서히 교반하면서 10분간 처리하였다.

유리된 골조직세포는 효소용액과 같은 양의 fetal bovine serum(Gibco)을 첨가하여 200×g로 5분간 원심분리 시킨 후 상청액을 제거하였으며, 수집된 골조직세포는 Hank's balanced salt solution(Gibco)으로 2회 세척하고, 10% fetal bovine serum(Gibco)이 첨가된 minimum essential medium(Gibco)에 부유시켰다.(Ⅰ군) 효소용액으로 처리된 두개관은 다시 새로운 효소용액을 첨가하여 10분(Ⅱ군), 10분(Ⅲ군), 20분(Ⅳ군), 20분(Ⅴ군)간 연속처리하여 동일한 방법으로 총 5군의 골조직세포군을 분리하였다.

분리된 세포군을 60mm 조직배양용 dish에 plating하여 처음 24시간 뒤, 그후 매 48시간마다 배양액을 교환하면서 6~7일간 배양하였다. 세포 배양시 습도는 95%, 온도 37℃를 유지하면서 95%의 공기와 5% CO_2를 계속 공급하였다.

2. 골조직세포에 대한 mechanical stress 적용

Culture dish 바닥 외면에 Orthodontic expansion screw(Dentarum)로 연결된 두 부분의 acrylic resin을 접합시켰다. 골조직세포에 mechanical stress를 적용시키기 위하여 orthodontic screw를 2~3회 회전시켜 culture dish 바닥 외면에 접합되어있는 각각의 acrylicresin부위가 벌어짐으로 인해 plastic dish가 변형되어 깨지지 직전까지 maximum activation시켰다.

3. Acid phosphatase와 alkaline phosphatase 측정

연속효소처리방법으로 분리, 배양된 5군의 골조직세포 중 Ⅰ군과 Ⅱ군 및 Ⅳ군과 Ⅴ군을 합하여 각 세포군의 기초효소활성도를 측정하여 OC(Ⅰ, Ⅱ군)와 OB(Ⅳ, Ⅴ군) group으로 분류하였다.

OC와 OB group으로 분리된 각 세포군에 대한 기초농도와 24시간 동안 mechanical stress를 적용시킨 후 효소활성도의 변화를 측정하기 위해 0.05% trypsin과 0.5mM EDTA로 세포를 수집하고, 200×g로 5분간 원심분리하여 얻은 각 세포군에 0.5ml의 증류수를 첨가하여 ultrasonic disruptor(Tomy)를 이용, 10초간 sonication하여 일부는 효소활성측정에, 일부는 단백질정량에 사용하였다.

효소활성도에 대한 측정방법으로 15mM p-nitrophenyl phosphate(Sigma)를 기질로 이용하였으며, acid phosphatase는 sodium citrate buffer(pH 4.8), alkaline phosphatase는 glycine-NaOH buffer(pH 10.3)를 사용하여 각각 0.1% Tritan X-100/saline과 cell lysate를 첨가하여 30분간 incubation시킨 후 기질로부터 분해, 유리된 p-nitrophenol의 농도를 비색정량 하였고, 단백질농도는 bovine serum albumin(fraction V, Sigma)을 표준용액으로 사용하여 Lowry등[37]의 방법에 의해 정량하였다.

4. cAMP의 정량

각 세포군에 mechanical stress를 15분, 30분 및 60분간 적용시킨 후 배양액을 제거하고 1ml의 6% ice-cold trichloroacetic acid(Sigma)를 첨가하여 rubber policeman으로 수집한 세포를 sonication하고, 1.800×g으로 25분간 원심분리하여 얻은 상청액을 5ml water-saturated diethyl ether(Merck)로 4회 추출한 후 냉동건조 시켰으며, 침전물은 단백질 정량에 사용하였다.

CAMP는 냉동건조시킨 시료를 sodium acetate buffer(pH 6.2)에 용해시킨 다음 [^{125}I] cAMP RIA Kit(New England Nuclear)를 사용하여 radioimmunoassay 방법으로 정량분석하였다.

5. PGE_2 정량

각 세포군에 20분 및 40분간 mechanical stress를 적용시킨 후 배양액을 제거하고 1ml의 6% trichloroacetic acid를 첨가하여, rubber policeman으로 수집한 세포를 sonication하고, 1.800×g로 25분간 원심분리하여 얻은 상처액은 냉동건조 시켰으며, 침전물은 단백질정량에 사용하였다. PGE_2는 냉동건조시킨 시료를 sodium azide buffer (pH 6.8)에 용해시킨 다음, [^{125}I]PGE_2 RIA Kit(New England Nuclear)를 사용하여 radioimmunoassay방법으로 정량분석하였다.

III. 실험결과

1. 골조직세포군의 phosphatase 기초농도

백서태자 두개관에서 분리된 5군의 세포군중에 I, II군 및 IV, V군을 각각 합쳐 phosphatase 기초농도(Basal activity)를 측정한 결과, 초기 분리군(I, II군)의 경우는 acid phosphatase농노가, 나중에 분리된 세포군(IV, V군)은 alkaline phosphatase농도가 높은 경향을 보여, I군과 II군은 OC group, IV군과 V OB group으로 분류하였다(Table 1).

Table 1. Basal activity of acid & alkaline phosphatase in bone cell populations isolated from rat calvaria

Population	(I II)	III	(IV V)
	OC		OB
Enzyme			
Acid	907.15± 195.15		453.11± 96.24
Alkaline	69.42± 63.27		105.79± 61.19

Values are Mean± S. E.(n=4-5) and expressed as nmol substrate cleaved/h/mg protein.

2. Mechanical stress를 적용한 골조직세포군의 효소활성도 변화

24시간동안 mechanical stress를 적용하였을때, acid phosphatase활성도는 OC와 OB group에서 모두 감소하였으며, alkaline phosphatase활성도는 OB group에서 증가하는 경향을 보였다(Teble 2 및 3). 대조군에 대한 실험군의 효소활성도에 대한 비율은 Fig. 1과 같았다.

Table 2. Effect of mechanical stress on acid phosphatase activity

	Acid phosphatase activity (n mol substrate cleaved/h/mg protein)	
Population	Control	Experimental
OC group	907.15± 195.15	150.07± 22.71**
OB group	453.11± 96.24	158.55± 21.28*

*P<0.05 compared to control
**P<0.01

Table 3. Effect of mechanical stress on alkaline phosphatase activity

	alkaline phosphatase activity (n mol substrate cleaved/h/mg protein)	
Population	Control	Experimental
OC group	69.42± 53.72	45.52± 40.55
OB group	105.79± 61.19	150.08± 79.10

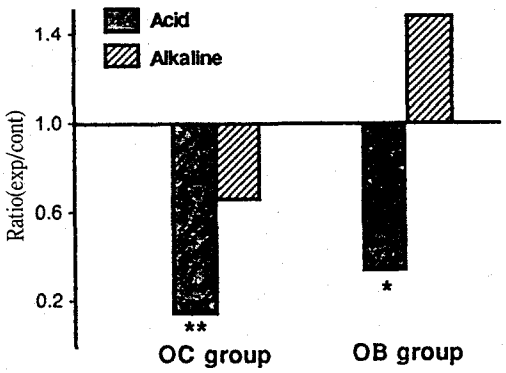

Fig 1. Effect of mechanical stress on acid & alkaline phosphatase activities in bone cell populations.

3. Mechanical stress에 대한 cAMP의 변화

15분, 30분 및 60분 동안 mechanical stress를 적용한 경우, cAMP 농도는 OC와 OB group 모두 초기(15분)에는 대조군에 비해 약간 감소하는 경향을 보였으나, OC group에서는 60분 후, OB group에서는 30분 및 60분 후 각각 유의성 있는 증가를 보여 시간이 흐름에 따라 실험군의 cAMP농도가 2~4배로 현저하게 증가함을 관찰할 수 있었다(Table 4) (Fig. 2).

Table 4. Effect of mechanical stress on cyclic AMP production in bone cell populations

	cAMP(p mol/mg protein)	
Time	OC group	OB group
Control	24.13± 5.33	62.46± 6.37
15 min.	22.65± 4.01	43.79± 7.47
30 min.	51.68± 36.59	104.91± 19.38*
60 min.	85.83± 11.88	120.68± 10.65**

*P<0.05 compared to control
**P<0.01

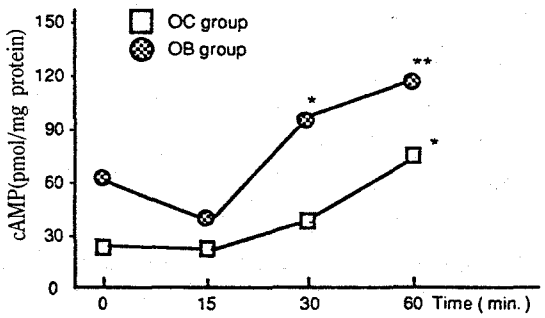

Fig. 2. Effect of mechanical stress on cAMP production in bone cell populations.

Table 5. Effect of mechanical stress on PGE_2 production in bone cell populations

Time	PGE_2(p g/mg protein)	
	OC group	OB group
Control	179.08	357.72
20 min.	286.08	503.03
40 min.	575.64	570.02

4. Mechanical stress에 대한 PGE_2의 변화

시간별로 20분 및 40분 동안 mechanical stress를 적용한 경우 PGE_2의 농도는 시간이 흐름에 따라 OC 및 OB group 모두에서 증가하는 경향을 관찰할 수 있었다(Table 5) (Fig. 3).

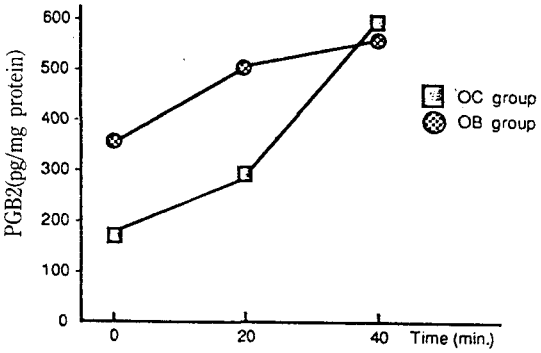

Fig 3. Effect of mechanical stress on PGE_2 in bone cell populations.

Ⅳ. 총괄 및 고안

Arkin 등[5]이 생리적인 자극은 계속적으로 growth plate의 발육에 필수적으로 작용한다고 보고한 이래 기계적인 자극이 골형성 및 골흡수에 미치는 영향에 대한 많은 연구가 보고되고 있다. 그러나, 기계적인 힘이 세포기능과 연관된 생화학적 신호로의 변환과 세포활성화에 대한 기전은 아직 알려져 있지 않으며, 골조직세포에 mechanical stress를 적용시켜 변화를 관찰한 과거의 실험에서는 주로 연골세포와 혼합골세포의 cAMP와 prostaglandin농도의 변화에 촛점을 두었으며, 가장 중요한 세포기능이라 할수 있는 세포내 변화에 따른 matrix합성의 연관성에 대한 정보가 미비한 실정이다.

골조직 대사활동을 수행하는 세포군을 연구하기 위해 Peck등[45]이 collagenase를 이용하여 처음 골조직세포를 분리한 이래, 아직은 순수한 골조직세포를 분리, 배양하는 방법은 개발되어 있지 않으나, Wong과 Cohn등[54]이 mouse의 두개관을 연속효소처리(sequential enzyme diagestion)하여 얻은 골세포군을 생화학적 특성을 근거로하여 조골세포유사군과 파골세포유사군으로 분류한 방법이 가장 널리 쓰이고 있다.

본 실험에서는 태생 19일째의 백서태자 두개관을 연속효소처리하여 5군의 골조직세포군을 분리하고, 초기에 분리된 Ⅰ, Ⅱ군은 OC group으로 나중에 분리된 Ⅳ, Ⅴ군은 OB group으로 분류하여 각 세포군에 mechanical stress를 적용시켜 세포내 변화양상을 관찰하였다.

Davidovitch와 Montgomery[22], Davidovitch와 Shanfeld[23,24]에 의하면, 골개조는 cyclic AMP에 의해 매개된다고 보고하였고, Binderman 등[10,50]은 골세포에 가해진 물리적인 힘은 PGE_2에 의해 매개되어 cAMP의 변화가 2차적으로 일어나며, 새로이 합성되는 PGE_2에 의해 cAMP농도가 좌우된다고 보고하였다. Harell등[28]은 분리, 배양된 골조직세포에 직접 기계적인 힘을 적용함으로서 초기의 세포내 생화학적인 반응으로 prostaglandin의 합성이 일어남을 관찰하였는데 분리, 배양된 골세포에 지속적인 힘(continuous force)을 적용하여 20분 후에 PGE_2농도가 최대로 증가하는 것을 관찰하였고, 뒤이어 cAMP유리의 증가가 일어났으며, 시간이 지나면서 감소한다고 보고하였다. Hasegawa 등[29]은 백서 두개관에서 분리된 조골세포에 continuous force와 10분 간격으로 2시간 동안 intermittent force를 적용시킨 경우, 세포의 DNA합성의 증가로 인

하여 세포의 수가 64%증가하였고, 교원성 단백질합성은 33% 증가하였다고 보고하여 골조직세포에 mechanical stress를 적용한 경우, 호르몬의 세포막에 대한 stimulus receptor system과 유사하게 작용하여 세포내 PGE_2와 secondary messenger인 cAMP의 농도를 급속히 증가시키며, 새롭게 생성되는 PGE_2는 cAMP생성을 필수적으로 매개한다고 하였다.

PTH, calcitonin과 같은 호르몬을 이용하여 골개조 유도시 cAMP의 역할에 대한 많은 연구들이 보고 되었으며[18,32,34,36,39], Davidovitch와 Shanfeld 등[24]은 교정력을 이용한 in vivo 실험에서 1시간~28일 동안 시간간격을 두어 치아에 힘을 가하여 경사이동된 상하악 견치의 compression 및 tension site에 대한 cAMP level을 측정한 결과, 초기의 cAMP농도는 감소하였으나, 시간이 지남에 따라 cAMP 농도가 증가함을 관찰하였고, 이와같이 cAMP농도가 초기에 감소하는 이유로 compression site에서는 치주인대세포가 괴사(necrosis)되었고, tension site에서는 세포군의 과다한 증식에 인한 것이라고 보고 하였으며, force적용 2주 후에 나타난 cAMP농도의 증가는 상대적으로 적은 수의 세포군에 의한 골개조 활성도의 증가에 의한 것이라고 하였다.

본 실험에서 분리, 배양된 골조직세포에 대한 mechanical stress에 의한 영향으로 OB group과 OC group의 PGE_2의 농도가 증가되었고, cAMP농도는 초기에 감소하는 경향을 보였으나, force적용 30분 후부터 증가됨을 관찰하여 기계적인 자극이 세포막에 반응하여 화학적인 신호로 변환되는 과정에 PGE_2와 cAMP의 역할로 인하여 골조직세포의 기능을 위한 세포활성화에 영향을 끼칠것으로 사료되었다. 또한 기계적 자극에 대한 PGE_2의 합성은 cAMP에 대한 작용뿐 만아니라 DNA합성과 교원성 단백질합성의 작용과 유사한 점을 관찰할 수 있어 세포재생능력에 영향이 있다고 사료되었다.

반면에 Bourret과 Rodan 등[12]은 골단의 연골세포(epiphyseal chondrocyte)에 대해 mechanical stress를 적용했을 때 calcium섭취와 adenyl cyclase의 억제로 인하여 cAMP농도가 감소한다고 하였고, 기계적인 힘이 화학적인 energy로 변환됨에 있어 nucleotide(cAMP & cGMP)조절에 의해 수행되어진다고 보고하였으며, Yutaka등[59]은 연골세포(growth cartilage cell)에 tensile force를 부여했을때, cAMP농도가 3분 후에 최대 3배까지 증가하였으나, PGE_2 level은 증가하지 않음을 관찰하여 오히려 mechanical stress가 PGE_2합성을 억제한다고 보고하였다. 이와같이 본 실험과 비교하여 볼때 cAMP와 PGE_2에 대한 상반되는 견해는 서로 다른 형태의 세포에 대한 반응과 mechanical stress적용시 activation방법과 정도에 대한 차이로 설명되어질 수 있다. 또한 PGE_2와 cAMP증가에 의한 세포활성화의 결과로 세포의 acid 및 alkaline phosphatase 활성도 변화에 대해 Buckley등[15]은 조골세포 유사세포군(osteoblast-like cell)에 mechanical tension을 적용했을 경우 cAMP증가에 의한 PTH에 대한 반응과 1,25$(OH)_2$ Vitamin D_3로 24시간 동안 유도시 osteocalcin의 생성으로 인해 alkaline phosphatase가 양성으로 반응한다고 보고하여, 본 실험에서 호르몬은 사용하지 않고 OC 및 OB group으로 분류된 세포군에 mechanical stress만을 적용시켜 세포막에 전달된 기계적자극이 PGE_2와 cAMP 생성의 변화에 의해 세포활성화를 자극함으로서 골조직세포의 골흡수활성도 (osteoclastic activity)와 골형성활성도(osteoblastic activity)의 변화로 인하여 골조직 대사활동에 영향을 미친다고 사료된다.

V. 결 론

골개조 과정을 수행하는 골조직세포에 직접 mechanical stress를 부여하여 세포내 일어나는 효소활성도의 변화, cAMP 및 PGE_2 농도의 변화를 측정하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 특정골조직세포군의 표지효소(marker enzyme)인 acid 및 alkaline phosphatas를 측정한 경우, acid phosphatase활성도는 OC group에서 높게 나타났고, alkaline phosphatase활성도는 OB group에서 높게 관찰되었다.

2. Mechanical stress를 적용한 경우, acid phosphatase활성도는 OC와 OB group에서 모두 감소하였으며, alkaline phosphatase 활성도는 OB group에서 증가하는 경향을 보였다.

3. 시간별로(15, 30, 60분) mechanical force를 적용한 경우, cAMP의 양은 OC 및 OB group에서 시간이 흐름에 따라 증가하였다.

4. 시간별로(20, 40분) mechanical stress를 적용하여 PGE_2의 양을 측정한 결과, OC 및 OB group에서 시간이 흐름에 따라 증가하는 경향을 관찰할 수 있었다.

REFERENCES

1. 김상균, 김관식, 정동균 : Ascorbic acid가 골조직세포군의 phosphatase에 미치는 영향, 대한구강생물학회지 11(2) : 129~136, 1987.
2. 안중진, 김관식, 정동균 : 백서 두개관 세포군의 골형성능에 관한 연구, 대한구강생물학회지 13(2) : 105~114, 1987.
3. 우진오, 김관식, 정동균 : 골조직세포군의 분리 및 생화학적 특성에 관한 연구, 치대논문집 11(2) : 1~14, 1987.
4. 이종원, 김관식, 정동균 : 백서태아두개관 배양시 PGE_2가 용해소체 유리에 미치는 영향, 대한구강생물학회지 7(1) : 25~31, 1983.
5. 정동균, 고재승, 김관식, 김각균, 민병무, 김세원 : 공흡수기전에 관한 연구 : 파골세포의 활성화 기전, 대한구강생물학회지 13(1) : 5~23, 1989.
6. Arkin A. M. and Karz J. F. : The effects of pressure on epiphyseal grwth, J. Bone Joint Surg. 38A : 1056, 1956.
7. Aubin J. e., Heersche J. N. M., Merrilees M. J. and Sodek J. : Isolation of bone cell clones with differences in growth, hormone responses, and extracellular matrix production, J. Cell Biol. 92 : 452~461, 1982.
8. Audo J., Nomunal H., Kamiya a. : The effect of shear stress on the migration and proliferation of cultured endothelia cells. Microvasc. Res. 33 : 62~70, 1987.
9. Banes A. J., Gibert J., Taylor D., Monbureau O. A. : New vacuum-operated stress-providing instrument that applies static or variable dureation cyclic tension or compression to cells in vitro. J. Cell Sci. 75 : 35~42, 1985.
10. Binderman I., Cox J. c% : Effect of mechanical stress on cultured periosteum cells : Stimulation of DNA synthesis. J. Dent. Res.(Suppl) 56B : 73, 1977.
11. Binderman I., Duskin D., Harell A., Katzir E. and Sachs L. : Formation of bone tissue in culture from isolated bone cell. J. Cell Biol. 61 : 427~439, 1974.
12. Bourret L. A., Rodan G. A. : Inhibition of cAMP accumulation in epiphyseal cartilage cells exposed to physiologic pressure. Calcif. tissue Res. 21[Suppl] : 431, 1976.
13. Braidman I. P., Anderson D. C., Jones C. J. P. and Weiss J. B. : Separation of two bone cell populations from fetal rat calvaria and a study of their responses to parathyroid hormone and calcitonin. J. Endocrinol. 99 : 387, 1983.
14. Brunette D. M. : Mechanial stretching increases the number of epithelial cells synthesizing DNA in culture. J. Cell SCI. 69 : 35~45, 1984.
15. Buckley M. J., Banes A. J., Sumpio B. E. : Osteoblasts insrease thier rate of division and align in response to cyclic, mechanical tension in vitro. Bone and Mineral Res. 4 : 225~236, 1988.
16. Burger E. H., Boonekamp P. M. and Nijeweide P. J. : Osteoblast and osteoclast precursors in primary cultures of calvarial bone cells. Anat. Rec. 214 : 32~40, 1986.
17. Chambers J. J., McSheecy P. M. J., Thomson B. M. and Fuller K. : The effect of calcium-regulating hormones and prostaglandins on bone resorption by osteoclasts disaggregated form neonatal rabbit bones. Endocrinology 116 : 234~239, 1985.
18. Chase L. R., Fedak S. A. and Aurbach G. D. : Activation of skeletal adenylate cyclase by parathyroid hormone in vitro. Endocrinology 84 : 761~768, 1969.
19. Chumbley A. B., Tuncal O. C. : The effects of indomethacin on the rate of tooth movement in cats. J. Dent. Res. 60A : 596, 1981.
20. Chyun Y. S. and Raisz L. GL. : Stimulation of bone formation by prostaglandin E_2. Prostaglandins 27 : 97~103, 1984.
21. Curtis A. S., Seehar G. M. : The control of cell division by tension or diffusion. Nature 274 : 52~53, 1987.
22. Davidovitch Z., Montgomery P. C. : Cellular localization of cyclic AMP in periodontal tissues during experimental tooth movement in cats. Calcif. Tissue Res. 19 : 317~329, 1976.
23. Davidovitch A., Shanfeld J. L. : Cyclic AMP levels in alveolar bone of orthodontically treated cats. Arch. Oral Biol. 20 : 567~574, 1975.

24. Davidovitch A., Shanfeld J. L. : Prostaglandin E_2)PGE_2) level in alveolar bone of orthodontically trated cats. J. DENT. RES. 59B : 977, 1980.
25. Dewitt M. T., Handley C. J., Oakes B. W., Llowther D. A. : Ivitro response of chondrocyte to mechanical loading. The effect of short term mechanical tension. Connective Tissue Res. 12 : 97~109, 1984.
26. Ecarot-Charrier B., Glorieux F. H., van der Rest M. and Pereia G. : steoblasts isolated from mous calvaria initiate martrix mineralization in culture. J. Cell Biol. 96 : 639~643, 1983.
27. Eilon g. and Raisz L. G. : Comparison of the effects of stimulators and inhibitors of resorption on the release of lysosomal enzymes and radioactive calcium from fetal bone in organ culture. Endocrinology 103 : 1969, 1978.
28. Harell A., dekel S., Binderman I.YBiochemical effect of mechanical stress on cultured bone cell. Calcif. Tissue Res. (Suppl) 22 : 202~209, 1977.
29. Hasegawa S., Sato S., Suzuki Y., Brunettd D. : Mechanical stretchin increases the number of cultured bone cells synthesizing DNA and alters their pattern of protein synthesis. Calcif. Tissue Intl. 37 : 431~436, 1986.
30. Heersch J. N. M., HEYBOER M. P. M. and NG B. : Hormone-specific suppression of adenosine 3', 5'-monophosphate responses in bone in vitro during prolonged incubation with parathyroid hormone, prostaglandin E_1 and calcitonin. Endocrinology 103 : 333~340, 1978.
31. Hefley T. J., Stern P. H. and Brand J. S. : Enzymatic isolation of cells from neonatal calvaria using two purified enzymes from Clostridium histolyticum. Exp. Cell Res. 149 : 227~236, 1983.
32. Holtrop M. E., raisz L. G. and Simmons H. A. : The effects of parathyroid hormone, colchicine, and calcitonin on the ultrastructure and the activity of ostecoclasts in organ culture. J. Cell biol. 60 : 346~355, 1974.
33. King G. J., Thiems S. : Chemical mediation of bone resorption induced by tooth movement in rat. Arch. Oral Biol. 24 : 811~815, 1979.
34. Klein D. C. and Raisz L. G. : The Role of adenosine-3', 5'-monophosphate in the hormonal regulation of boe resorption : Studies with cultured fetal bone. Endocrinology 89 : 818, 1971.
35. Klein-Nulend J., Veldhurizen J. P., Bruge E. H. : Increased calcification of growth plate cartilage as a result of compressive force in vitro. arth. Rhum. 29 : 1002~1009, 1980.
36. Lerner U. and Gustafson G. T. : Inhibitory effect of dibutyryl cyclic AMP on the release of calcium, inorganic phosphate and lysosomal enzymes from calvarial bones cultured for 24hours. Acta. Endocrinol. 91 : 730, 1979.
37. Lowry O. H., Rosebrough A. L., Farr and Randall R. J. : Protein measurement with folin-phenol reagent. J. biol. Chem. 193 : 265~275, 1951.
38. Luben R. A., Wong G. L., Cohn D. V. : Biochemical characterization with parathyroid hormone and calcitonin of isolated bone cells : provisional identification of osteoblasts. Endocrinology 99 : 526~534, 1976.
39. Marcus R. and Orner F. B. : Cyclic AMP production in rat calvaria in vitro : Interaction of prostaglandins with parathyroid hormone. Endocrinology 101 : 1570, 1977.
40. McSheehy P. M. J. and Chambers T. J. : Osteoblast-like cells in the presence of parathyroid hormone release soluble factor that stimulates osteoclastic bone resorption. Endocrinology 119 : 1654~1659, 1986.
41. Meicale M. C., Sellers A., Reynold J. J. : Effect of tensile mechanical stress on the synthesis of metalloproteinase by rabbit coronal sutures in vitro. Calcif. Tissue Res. 30 : 77~82, 1980.
42. Meikle M. C., Reynolds J. J., Sellers A., dingle J. T. : Rabbit cranial suture in vitro. a new experimental model for study in the response of fibrous joints to mechanical stress. Calcif. Tissue Intl. 28 : 137~144, 1979.
43. MinKin C. : Bone acid phosphatase-Tartarate resistant acid phosphatase as a marker of osteoclast function. Calcif. Tissue Intl. 34 : 285~290, 1982.
44. Norton L. A. : The effect of aging cellular mechanism on tooth movement. Dental Clinics of North Americal Vol 32, No 3, 1988.
45. Peck W. A., Birge Jr. S. J. and Fedak S. A. : Biochemical and bilological studies after enzymatic isolation. Science 146 : 1476~1477, 1964.
46. Puzas J. E., Vignery . and Rasmussen H. : Isolation of sptecific bone cell types by free-flow electrophoresis. Calcif. Tissue Intl. 27 : 236, 1979.
47. Rodan G. A., Mensi T., Harvey A. : A quantitative method for the application of compressive forces to bone in tissue culture. Calcif. Tissue Res. 18 : 125~131, 1975.
48. Rubin C. T., lANYON L. E. : Regulation of bone mass vy mechanical strain magnitude. Calcif. Tissue Intl. 37 : 411~417, 1985.
49. smith D. M., Johonso C. C. and Stevenson A. R. : Studies of the metabolism of separated bone cells, Calcif. Tissue Intl. 34 : 67~75, 1982.
50. Somjen D., Binderman I., Berger E., Harrell A. : Bone remodeling induced by physical stress prostaglandin E_2 mediated. Biochem. Biophys. Acta. 627 : 91~100, 1980.

51. Sumpio B. E., Banes A. J., Buckley M. J., Johnson G. : Alterations in aortic endothelial cell morphology and cytoskeletal protein synthesis during cyclic tensional deformation. J. Vasc. Surg. 7 : 130~138, 1988.
52. Sumpio B. E., Banes A. J., Levin L. G., Johnson G. : Mechanical stress-stimulates aortic endothelial eells to proliferate. J. Vasc. Surg. 6 : 252~256, 1987.
53. Veldhuijzen J. P., bourret L. A., Rodan G. A. : In vitro studies of the effect of intermittent compressiv forces on cartilage cell proliferation. J. Cell Physiol. 98 : 299~306, 1979.
54. wong G. L., Chon D. V. : Separation of parathyroid hormone and calcitonin-sensitive cells from non-responsive bone cells, Nature 252 : 713~715, 1974.
55. Wong G. L. : Charaterization of subpopulations of OC and OB bone cells obtained by sedimentation at unit gravity. Calcif. Tissue Intl. 34 : 67, 1982.
56. Woo SL-Y, Kuei S. C., Amiel D., Gomez M. A., Hayes W. C., White F. C., Akeson W. H. : The effect of prolonged physical straining on the properties of long bone. a study of Wolff's law. J. Bone Joint Surg. 63A : 780~787, 1981.
57. Yamasaki K., Miura F., Suda T. : Prostaglandin as a mediator of bone resorption induced by experimental tooth movment in rats. J. Dent. Res. 59 : 1635~1642, 1980.
58. Yeh C. K., Rodan G. A. : Tensile forcess enhance prostaglandin E synthesis in osteoblastic cells grown on collagen ribbons. Calcif. Tissue Intl. 927 : 315~323, 1984.
59. Yutaka S. M., Atsumasa U. D., Kazuo Y. S., Kasuhiko H. M. : The effect of mechanincal stress on cultured growth cartilage cells, Connective Tissue Res. 17 : 305~311, 1988.

-ABSTRACT-

THE EFFECTS OF MECHANICAL STRESS ON CULTURED BONE CELL POPULATIONS

Sang-Tae Kim, D.D.S., Kyung-Suk Cha, D.D.S., M.S.D., Ph.D.

Department of Orthodontics, College of Dentistry, Dan Kook University

The movement of teeth during orthodontic treatment requires bone remodeling process of bone formation and bone resorption. To find out the changes occuring in the cell itself, mechanical stress was applied to the cell populations involved in the bone metabolism.

Bone tissue cell populations were isolated from fetal rat calvaria and divided into OC and OB groups. Following results were obtained from measuring the changes in acid & alkaline phosphatease activity, cyclic AMP and PGE_2 production in time lapse after the application of mechanical stress.

1. In case of the marker enzyme of specific bone tissue cell, acid phosphatase activity was high in OC group and alkaline phosphatase activity was high in OB group.
2. After the mechanical stress was applied, acid phosphatase activity was decreased in both OC and OB groups and alkaline phosphatase activity was increase in OB group.
3. When the mechanical stress was applied for 15, 30 and 60 minutes, the production of PGE_2 increased in both OC and OB groups, as the time span increased.
4. When the mechanical stress was applied for 20 and 40 minutes, the production of PGE_2 increased in both OC and OB groups, as the time span increased.

KOREA J. ORTHOD 1994 ; 24(1) : 105-114.

Key words : Mechanical Stress Bone Cell