

인장력이 골조직 세포군의 DNA 및 단백질합성에 미치는 영향

권오선¹⁾ · 김상철²⁾

I. 서 론

여러 종류의 세포로 구성된 골조직이 물리적 환경변화에 대해 골의 양(bone mass)과 구조를 변경하여 대응하는 동적인 조직임은 오래전부터 알려져 있다¹⁾. 이와 관련하여 Glucksman이 물리적 외력을 가함으로써 야기되는 골조직의 구조변화²⁾와 골형성 촉진³⁾을 관찰한 이래 많은 연구가 진행되어 왔으며 근래에는 계속적인 압박력과 인장력을 이용하는 static loading system⁴⁻¹⁶⁾이나 intermittent force를 이용한 dynamic loading system¹⁷⁻²⁶⁾, simulated weightlessness 및 운동량의 차이²⁷⁻³¹⁾를 이용한 방법 등 다양한 물리적 환경변화에 대한 골조직 반응이 보고되고 있다.

일반적으로 물리적 환경변화에 대한 반응은 부하(loading)가 커질경우 골량이 증가하고 부하 감소시 골량도 감소되며³²⁾ 이러한 골조직반응은 골개조현상을 통하여 이루어진다. 골개조는 골조직세포의 대표적인 대사활동으로서, osteo-progenitor cell들의 증식과 분화를 포함한 활성화에 이어 파골세포의 골흡수가 먼저 진행된 후 반전되어 골형성이 나타나는 순서로 진행되는 것으로 알려져 있으나³³⁻³⁵⁾ 물리적 자극이 세포 내 생화학적 신호로 전환되는 기전은 아직 확실히 규명되지 않고 있다. 현재까지의 연구결과

prostaglandin, cyclic nucleotide 및 Ca⁺⁺ion이 신호 전달체계의 중요한 중개물질로 작용하는 것으로 여겨지며^{13,15,33,36-44)} 최근에는 phosphatidyl inositol도 관여될 수 있음을 시사하는 연구결과도⁴⁵⁾ 발표되고 있다. 물리적 자극은 이들 중개물질들에 의해 골조직세포의 교원 합성^{7,9,25)}, 비교원성 기질합성²⁰⁾, 특정효소의 합성과 활성화^{12,16,24,47)}, DNA합성^{11,13,14,48,49)} 및 RNA합성^{24,26,46)}과 세포증식^{6,48-50)} 등 골조직개조와 관련된 많은 세포활동에 영향을 미치게 된다.

그러나 골조직을 구성하고 있는 여러가지 세포 중 물리적 자극에 반응하는 세포의 종류와 그 반응에 관해서는 상이한 연구결과들이 보고되고 있다. Pead등⁵¹⁾은 5분간의 짧은 일회성 물리적 부하를 가했을 때 거의 모든 골개조시 나타나는 파골세포의 형성과 골흡수³⁵⁾를 수반하지 않고 여러 종류의 세포로 구성된 골막세포 (periosteal cells)가 활성화 되고 골형성이 증가됨을 생체실험 결과 관찰하였으며 Chiba¹⁰⁾는 압박력에 의해 조직배양된 장골의 파골세포수가 증가한다고 보고한 반면 Klein-Nulend²¹⁾는 오히려 압박력이 파골세포수를 감소시킨다고 하였다. 한편 Pead와 Lanyon⁵²⁾은 물리적 부하의 증가에 의한 골형성 촉진이 prostaglandin 합성억제 약물인 indomethacin처리로 억제된다고 하였으며 Somjen등¹¹⁾과 Binderman등¹³⁾도 인장력의 적용으로 증가된 조골세포의 DNA합성이 indomethacin에 의해 억제됨을 관찰하였다. Hakeda등⁵³⁾도 이들과 유사하게 prostaglandin이 조골세포의 증식과 분화를

접수일자 : 10월 1일

¹⁾원광대학교 치과대학 치과교정학교실, 박사과정

²⁾원광대학교 치과대학 치과교정학교실, 부교수

촉진시킴을 관찰한 반면 Fujimori 등⁴²⁾은 여러가지 prostaglandin 합성억제 약물들이 조골세포의 증식을 촉진시킨다는 상반된 보고를 한 바 있다. 연골세포의 경우에도 마찬가지로 학자에 따라 물리적 자극이 연골세포의 DNA 합성을 억제⁵⁴⁾ 또는 촉진시킨다고^{13,55)} 하였으며 연골세포의 DNA 합성촉진에는 prostaglandin이 관여하지 않음¹³⁾ 보고되는 등 물리적 자극에 대해 어떠한 골조직 세포가 어떻게 반응하는지는 분명히 밝혀지지 않고 있다.

본 실험은 백서태자 두개관을 연속효소처리하여 얻은 섬유아세포 및 조골세포의 특성을 갖고 있는 골조직세포군⁵⁶⁻⁵⁸⁾을 이용하여 인장력이 각 세포군의 DNA 합성과 단백질 합성에 미치는 영향을 관찰하고 이를 지표로 물리적 외력의 표적세포를 알아보려고 시행하였다.

II. 실험재료 및 방법

1. 골조직세포군의 분리 및 배양

섬유아세포유사세포군과 조골세포유사세포군을 우등⁵⁶⁾의 연속효소처리 방법으로 분리하였다. 무균적으로 적출한 태생 19일째의 백서태자두개관을 Reactival(Pierce Co., Rockford, U.S.A.)에 옮긴 후 0.1% collagenase(Gibco Co., U.S.A.), 0.05% trypsin(Gibco Co., U.S.A.), 0.5mM EDTA가 혼합된 효소 용액으로 일정시간 교반 처리하여 분리된 세포는 200×G로 5분간 원침하여 수집하고 두개관은 다시 새로운 효소용액으로 반복 처리하였다. 이같은 방법으로 백서태자두개관을 10분간 3회, 20분간 2회 연속 처리하여 수집한 5군의 골조직세포를 분리한 순서에 따라 각각 I군 부터 V군으로 표지하고 10% fetal bovine serum(Gibco Co., U.S.A.)이 첨가된 minimum essential medium(MEM, Gibco Co., U.S.A.)으로 6-7일간 배양하였다. 세포배양시 습도는 95%, 온도는 37°C를 유지하면서 95%의 공기와 5%의 CO₂를 계속 공급하였다. 1차 배양 후 표지효소의 활성도, 여러종류의 osteotropic hormone에 대한 cAMP반응, 교원합성능과 시험

관내 골결절 형성능에 따라 섬유아세포의 특성을 갖고 있는 I군과 II군, 조골세포의 특성을 보이는 IV군과 V군의 세포를 모은 후 35mm culture dish에 6~8×10⁴ cell/cm²가 되도록 분주하여 실험에 사용하였다.

2. 인장력의 적용

교정용 expansion screw(Forestadent Co., GMBH)로 연결된 두개의 plate를 culture dish 외형에 맞게 acrylic resin으로 제작한 후 dish의 바닥외면에 접착시켰다. 골조직세포군에 물리적 외력을 적용시킬 때에는 교정용 screw를 3회 회전시켜 dish에 접착된 두개의 acrylic resin plate가 이개되면서 발생하는 인장력을 이용하였다(Fig. 1).

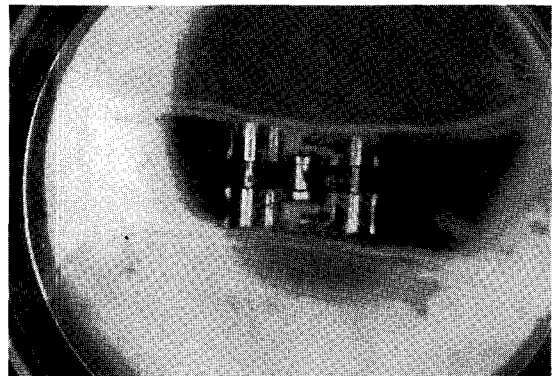


Fig. 1. Application of Tensile Force

3. 골조직세포군의 DNA합성 측정

Tensile force가 골조직세포군의 DNA합성에 미치는 영향은 [³H]-thymidine이 DNA내로 편입되는 양으로 측정하였다. Serum-free MEM으로 24시간 배양한 골조직세포군을 인장력을 적용시키고 10 μCi/ml methyl-[³H]-thymidine(Amersham, specific activity 25 μCi/mM)이 첨가된 신선한 배양액으로 교환한 후 2시간, 4시간

및 24시간 배양하였으며 24시간 인장력을 적용할 경우 마지막 4시간 동안만 [^3H]-thymidine을 첨가하였다. 배양 후 5% trichloroacetic acid (TCA, Sigma Co., U.S.A.)로 세포를 고정시킨 다음 4회 세척하고 침전 분획을 0.5M NaOH로 용해 시켜서 편입된 방사성 동위원소량을 liquid scintillation counter(LS 5000TA, Beckman Co., U.S.A.)로 측정하였다.

4. 골조직세포군의 교원 및 비교원성 단백질성 측정

교원 및 비교원성 단백질성은 Peterkofsky와 Diegelman의 방법⁵⁹⁻⁶⁰으로 측정하였다. 골조직 세포군을 serum-free MEM으로 24시간 전배양하고 인장력을 가한 후 50 $\mu\text{g/ml}$ ascorbic acid (Sigma Co., U.S.A.)와 10 $\mu\text{Ci/ml}$ [^3H]-proline (NEN, specific activity, 52Ci/mM)이 첨가된 신선한 serum-free MEM으로 교환하여 2시간 동안 배양, 단백질을 표지시켰다. 배양 후 0.05% trypsin과 0.5mM EDTA를 이용하여 세포를 수집한 다음 200 \times G로 5분간 원침하여 상청액을 제거하고 0.5ml의 탈이온 증류수를 첨가하여 sonic dismembrator(Fisher Co., U.S.A.)로 30% 출력에서 60초간 초음파처리한 다음 20% ice-cold TCA를 첨가하고 1,000 \times G로 5분간 원침하여 단백질을 침전시켰다. 침전단백을 0.2N NaOH로 재용해하고 37.5U/ml collagenase(Type VII, Sigma Co., U.S.A.)를 가하여 37 $^{\circ}\text{C}$ 에서 90분간 반응시켜 collagenase-digestible protein(CDP)을 처리시켰으며 protease활성을 억제시키기 위해 0.1M aminocaproic acid(Sigma Co., U.S.A.), 1mM phenylmethylsulfonyl fluoride(Sigma Co., U.S.A.), 10mM N-ethylmaleimide(Sigma Co., U.S.A.) 및 0.01% pepstatin(Sigma Co., U.S.A.)을 가하였다. Collagenase 처리후 0.5% tannic acid(Sigma Co., U.S.A.)가 함유된 10% ice-cold TCA를 첨가하고 1,000 \times G로 5분간 원침하여 CDP와 noncollagenous protein(NCP) 분획을 분리한 후 각 분획으로 편입된 동위원소량을 liquid scintillation counter로 측정하여 교원 및 단백질

량을 관찰하였다.

5. 실험성적 처리

인장력이 골조직세포군의 DNA합성과 교원 및 총단백 합성에 미치는 영향을 대조군에 대한 실험군의 비율로 관찰하였으며 t검정으로 통계적 유의성을 평가하였다.

III. 실험성적

1. 인장력이 골조직세포군의 DNA합성에 미치는 영향

백서태자두개관으로부터 분리한 골조직세포군중 섬유아세포유사세포군의 DNA합성은 인장력 적용시에도 24시간까지 변화되지 않았다(Table 1). 반면, 조골세포유사세포군에 인장력을 가한 경우 처음에는 섬유아세포유사세포군과 마찬가지로 DNA합성에 영향이 없었으나 24시간 적용시 [^3H]-thymidine의 편입율이 대조군에 비해 19% 증가되는 유의한 촉진효과가 나타나 인장력이 DNA합성에 미치는 영향은 골조직세포군에 따라 상이함을 관찰할 수 있었다(Table 2, Fig. 2).

Table 1. The effect of tensile force on the [^3H]-thymidine incorporation into DNA in fibroblast-like bone cell population (I and II) isolated from fetal rat calvaria under serum-free condition

Duration of force application	[^3H]-thymidine incorporation	
	Control	Experimental
2 hr	1.00 \pm 0.01	0.92 \pm 0.03
24 hr	1.00 \pm 0.06	0.98 \pm 0.03

Data represent mean \pm S.E.(n=4) of the ratio compared to average value of corresponding control.

Table 2. The effect of tensile force on the [³H]-thymidine incorporation into DNA in fibroblast-like bone cell population (IV and V) isolated from fetal rat calvaria under serum-free condition.

Duration of force application	[³ H]-thymidine incorporation	
	Control	Experimental
2 hr	1.00 ± 0.10	0.90 ± 0.07
4 hr	1.00 ± 0.06	0.98 ± 0.03
24 hr	1.00 ± 0.04	1.19 ± 0.04*

Data represent mean ± S.E.(n=4-9) of the ratio compared to average value of corresponding control.

* Significantly different from control, p < 0.05.

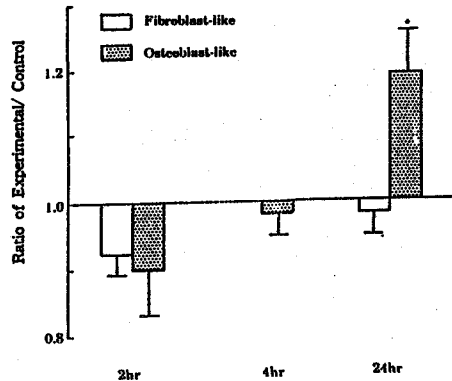


Fig. 2. The effect of tensile force on the [³H]-thymidine incorporation into DNA in fibroblast-like and osteoblast-like calvaria cell populations under serum-free condition.

* Significantly different from control, p<0.05

Table 3. The effect of tensile force on the [³H]-proline incorporation into proteins in fibroblast-like bone cell population (I and II) isolated from fetal rat calvaria under serum-free condition

Duration of force application		CDP ^a	NCP ^a
2 hr	Control	1.00 ± 0.10	1.00 ± 0.06
	Experimental	1.06 ± 0.06	1.03 ± 0.04
24 hr	Control	1.00 ± 0.06	1.00 ± 0.06
	Experimental	1.02 ± 0.19	0.96 ± 0.11

Data represent mean ± S.E.(n=4-7) of the ratio compared to average value of corresponding control.

^a : CDP and NCP denote incorporated amounts of [³H]-proline into collagenase-digestible protein and non-collagenous protein, respectively.

Table 4. The effect of tensile force on the [³H]-proline incorporation into proteins in osteoblast-like bone cell population(IV and V) isolated from fetal rat calvaria under serum-free condition

Duration of force application		CDP ^a	NCP ^a
2 hr	Control	1.00 ± 0.04	1.00 ± 0.03
	Experimental	1.10 ± 0.03*	1.08 ± 0.04
24 hr	Control	1.00 ± 0.17	1.00 ± 0.27
	Experimental	1.17 ± 0.19	1.07 ± 0.13

Data represent mean ± S.E.(n=4-12) of the ratio compared to average value of corresponding control.

^a : CDP and NCP denote incorporated amounts of [³H]-proline into collagenase-digestible protein and non-collagenous protein, respectively.

* : Significantly different from control, p < 0.05.

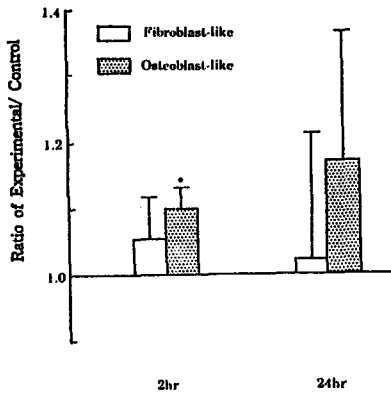


Fig. 3. The effect of tensile force on the [³H]-proline incorporation into collagenase-digestible protein(CDP) in fibroblast-like and osteoblast-like calvarial cell populations under serum-free condition. *Significantly different from control, p<0.05.

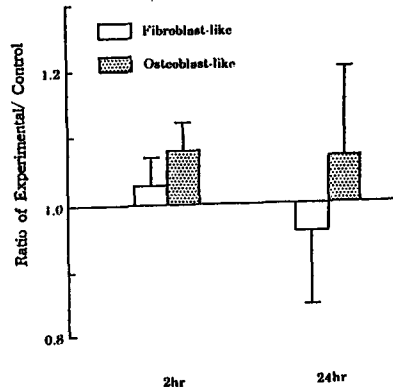


Fig. 4. The effect of tensile force on the [³H]-proline incorporation into noncollagenous protein(NCP) in fibroblast-like and osteoblast-like calvarial cell populations under serum-free condition.

2. 인장력이 골조직세포군의 단백질합성에 미치는 영향

CDP 및 NCP분획으로 편입된 [³H]-proline의 양으로 측정된 인장력에 의한 각 골조직세포군의 단백질합성변화는 Table 3 및 4와 같다. 인장력을 2시간동안 적용시킨 경우 섬유아세포 유사세포군의 교원합성은 영향을 받지 않았으나 조골세포 유사세포군의 교원합성은 [³H]-proline 편입량이 대조군보다 10% 증가되어 유의한 합성촉진효과를 보였다. 비교원성단백합성은 두 골조직세포군에서 모두 유의한 변화는 관찰되지 않았으나 조골세포 유사세포군에서 8% 증가하여 섬유아세포 유사세포군보다 높은 경향을 볼 수 있었다. 24시간동안 인장력을 가한 경우에서도 조골세포 유사세포군의 교원합성이 대조군보다 17%, 비교원성단백합성은 7% 증가되는 경향을 보였으나 섬유아세포군에서는 변화가 없었다 (Fig. 3,4).

IV. 총괄 및 고찰

본 실험에서는 골조직에 물리적인 외력을 가

한 경우 골조직 세포중 어떠한 종류의 세포가 어떻게 반응하는지 알아보려고 하였다. 물리적 외력에 대한 골조직반응은 생체실험^{4-6,17-19,32,40-44,47-49,61} 조직배양과^{10,21,24,25} 세포배양등^{11,13-15,36} 다양한 실험방법으로 연구되어 왔다. 골조직은 i) 섬유아세포, 조골세포, 파골세포, 골세포(osteocyte) 및 osteoprogenitor cell등 여러 종류의 세포로 구성되어 있으며 ii)인접한 조골세포사이, 조골세포와 골세포간에는 gap junction이 존재하여 세포간의 정보교환이 가능한 형태학적 특성⁶²을 갖고 있을 뿐 아니라 iii)조골세포가 파골세포형성에 관여하며⁶³ 섬유아세포와 조골세포는 골조직대사에서 중요한 국소조절물질로 작용하는 여러종류의 성장인자와 prostaglandin을 생성, 유리하여 다른 종류의 세포활성에도 영향을 미치는 등^{58,64-68} 특정 골조직세포의 대사활동이 독립적으로 진행되는 것이 아니라 다른 종류의 세포활성과 관련되어 나타난다는 특성을 갖고 있다. 따라서 생체실험과 조직배양을 이용한 실험 방법 또는 여러 종류의 골조직세포가 혼재하는 세포배양방법^{11,13-15,36}으로는 물리적외력 적용시 초기에 반응하는 골조직세포를 규명하는데 어려움이 있다. 본 실험에 이용된 세포는 구성세

포가 증상으로 존재하여 다른 종류의 세포와 용이하게 구별되는 두개관에서 생화학적 및 기능적 특성을 근거로 분리된 특정 골조직세포군⁵⁶⁻⁵⁸⁾이므로 동일한 골조직에서 유래된, 상이한 종류의 세포군들이라는 점에서 본 연구와 같이 세포 종류에 따른 반응의 상대적 비교분석이 요구되는 실험에 유용한 model system으로 판단된다.

본 실험에서 각 골조직세포군에 인장력을 가했을 때 조골세포유사세포군의 DNA합성은 19% 증가된 반면 섬유아세포유사세포군에서는 아무런 변화가 나타나지 않았다(Fig.2). 물리적 외력이 골조직세포의 DNA합성과 증식에 미치는 영향에 관해 Roberts 등⁴⁶⁾, 유 등⁴⁹⁾은 치아교정력에 의한 치주인대세포의 세포분열촉진을 관찰하였고 Hasegawa 등¹⁴⁾도 골조직세포를 배양하면서 2시간동안 mechanical stretching force를 준 경우 [³H]-thymidine에 의해 표지되는 세포수가 64% 증가된다고 하였다. Somjen 등¹¹⁾과 Binderman 등¹³⁾도 각각 혼합 골조직세포 또는 조골세포 배양시 인장력의 적용으로 DNA합성이 45%증가 한다고 하였으며 Veldhuijzen 등⁵⁴⁾은 간헐적인 압박력을 가한 경우 연골세포의 DNA합성은 억제되나 섬유아세포의 DNA합성은 영향을 받지 않음을 보고하였다. 최근 Dallas 등²⁶⁾과 Dodds 등⁴⁶⁾은 조직화학적 실험방법으로 핵산합성시 필요한 오탄당 생성과정의 rate-limiting enzyme인 glucose 6-phosphate dehydrogenase의 활성이 물리적 외력에 의해 골세포와 조골세포에 증가됨을 관찰한 바 있다. 본 실험결과는 이들의 보고와 일치하는 것으로 판단되며 Binderman 등¹³⁾이 관찰한 조골세포의 DNA합성 증가율과 본 실험의 차이는 골조직반응이 부하량과 비례하여 나타난다는 점^{18,26,65)}으로 미루어 볼 때 적용한 인장력의 크기가 다르기 때문으로 보여진다. 한편 interpremaxillary sutural model을 이용한 실험에서 비교적 큰 외력을 가했을 때 2일 후 [³H]-proline의 단백질입량이 유의하게 증가되며⁹⁾ 생체 또는 배양골조직에 압박력을 가하면 골막세포와 골세포의 RNA합성이 촉진된다는 보고^{24,32,61)}에서와 같이 물리적 외력은 골조

직세포의 증식에 단백질합성에도 영향을 미치는 것으로 밝혀지고 있다. 더우기 이같은 변화는 양적인 면 뿐 아니라 질적인 면에서 역시 관찰되어 Meikle 등^{7,12)}은 제1형 교원을 생성하는 섬유아세포에 tension을 주었을 때 제3형 교원의 합성비율이 현저하게 증가하여 특정효소의 합성이 촉진됨을 보고하고 있다. 또한 Hasegawa 등¹⁴⁾은 mechanical stretching에 의해 단백질합성이 촉진되며 합성증가율은 단백질에 따라 차이가 있다고 하였으며 Zaman 등²⁵⁾은 최근 in situ hybridization방법으로 실험한 결과 조골세포의 제1형 교원 전사체 발현이 압박력에 의해 증가된다고 보고한 바 있다. 본 실험에서도 이들의 연구결과와 유사하게 조골세포유사세포군에 인장력을 적용한 경우 교원 합성의 유의한 증가와 비교원 단백질합성의 증가 경향이 관찰되어 단백질합성이 촉진됨을 알 수 있었다. 그러나 DNA 합성과 마찬가지로 섬유아세포유사세포군의 단백질합성은 차이가 없어 인장력에 대한 반응은 조골세포유사세포군에 국한되어 나타남을 확인할 수 있었으며 이는 물리적 외력에 의한 골개조시 골조직구성세포의 반응도가 세포에 따라 상이해서 특정 종류의 세포만이 초기반응에 관여함을 시사하는 결과로 생각된다. 골조직세포의 물리적 외력에 대한 반응도와 관련하여 최근 Lanyon과 동료학자들^{26,46,52,61)}은 조직화학적 및 자기방사법을 이용한 생체실험결과와 골조직의 형태적 특성을 근거로 골세포와 골막내 조골세포가 초기단계에 민감하게 반응하는 골조직세포라고 주장하고 있으며 Binderman 등¹³⁾은 조골세포에는 다른 골조직세포와 달리 세포막에 물리적 자극을 인지할 수 있는 "mechanoreceptor system"이 존재할 가능성이 있다고 하였으며 이러한 주장들은 모두 조골세포계통의 세포가 주된 반응세포임을 의미하는 것이라고 할 수 있다.

조골세포는 골을 형성하는 세포로서 중요한 기능을 갖고 있을 뿐 아니라 골기질내에 존재하는 transforming growth factor- β (TGF- β), insulin-like growth factor-I, cytokines, prostaglandin 등 골조직대사의 국소조절물질을 생성하여 유리하는 것으로 알려지고 있다^{58,64-66)}. 조

골세포로부터 생성된 이러한 물질들은 autocrine 또는 paracrine action을 통해 파골세포의 형성과 활성화, 조골세포의 증식 및 활성화 등 여러 종류의 골조직세포대사활동을 조절하며 이중 TGF-β는 골개조시 선행되어 나타나는 골흡수 과정과 뒤이어 나타나는 골형성과정을 연결시켜 주는 소위 "coupling factor"로 작용할 수 있음도 시사되고 있어^{58,67,68)} 조골세포는 여러 골조직세포활동이 관여하는 골개조반응에 조절기능을 보이는 세포로 여겨지고 있다. 이같은 관점에서 골조직세포중 조골세포만이 인장력에 주로 반응함을 보여주는 본 실험결과는 중요한 의의를 갖는 것으로 생각된다.

V. 결 론

여러 종류의 세포로 구성되어 있는 골조직에 인장력 적용시 골조직세포의 DNA 및 단백질성에 미치는 영향을 관찰하고 세포종류에 따른 반응도의 차이를 연구하기 위해 태령 19일의 백서 태자두개관에서 연속효소처리법으로 섬유아세포유사세포군과 조골세포유사세포군을 분리하였다. 배양골조직세포군에 acrylic resin plate와 고정용 expansion screw를 이용하여 일정시간 인장력을 가한 후 각세포의 DNA합성에 미치는 영향은 [³H]-thymidine편입율로, 교원과 비교원성 단백질합성에 대한 영향은 collagenase-digestible protein과 noncollagenous protein분획으로 편입된 [³H]-proline양을 각각 측정하여 관찰하였다.

조골세포유사세포군의 DNA합성은 인장력에 의해 24시간후 유의하게 증가되는 반면 섬유아세포유사세포군은 대조군과 차이가 없었다. 인장력 적용으로 조골세포유사세포군의 총단백합성은 증가되어 교원의 유의한 합성증가와 비교원성단백의 합성증가 경향을 관찰할 수 있었으나 섬유아세포유사세포군의 단백질합성에는 영향을 미치지 못하였다.

이같은 결과는 인장력 적용시 골조직세포는 종류에 따라 상이하게 반응하여 섬유아세포보다는 조골세포가 주된 반응 세포임을 보여주고 있어 골조직대사의 주요 국소조절물질들을 생성하

는 조골세포가 물리적 외력에 대한 골조직반응시 먼저 활성화 되고 이들에 의해 계속하여 진행되는 골개조과정의 골흡수와 골형성이 조절될 수 있음을 시사하는 것으로 생각된다.

REFERENCES

1. Wolf, J. : Das Gesetz der Transformation der Knochen. A.Hirschwald, Berlin. cited from Veldhuijzen, J.P., Bourret, L.A. and Rodan, G.A. : In vitro studies of the effect of intermittent compressive forces on cartilage cell proliferation, J. Cell. Physiol. 98 : 299-306, 1979.
2. Glucksman, A. : Studies on bone mechanism in vitro. I. influence of pressure on orientation of structure, Anat. Rec. 72 : 97-113, 1938.
3. Glucksman, A. : The role of mechanical stress in bone formation in vitro, J. Anat. 76 : 231-239, 1942.
4. Roberts, W.E., Chase, D.C. and Jee, W.S.S. : Counts of labelled mitoses in the orthodontically-stimulated periodontal ligament in the rat, Archs oral Biol. 19 : 665-670, 1974.
5. Davidovitch, Z. and Shanfeld, J.L. : Cyclic AMP level in alveolar bone of orthodontically-treated cats, Archs oral Biol. 20 : 567-574, 1975.
6. Roberts, W.E. and Chase, D.C. : Kinetics of cell proliferation and migration associated with orthodontically-induced osteogenesis, J. Dent. Res. 60 : 174-181, 1981.
7. Meikle, M.C., Heath, J.K., Hembry, R.M. and Reynolds, J.J. : Rabbit cranial suture fibroblasts under tension express a differential collagen phenotype, Archs oral Biol. 27 : 609-613, 1982.
8. Yamasaki, K., Shibata, Y. and Fukuhara, T. : The effect of prostaglandins on experimental tooth movement in monkeys (Macaca fuscata), J.Dent. Res. 61 : 1444-1446, 1982.
9. Southard, K.A. and Forbes, D.P. : The effects of force magnitude on a sutural model : A quantitative approach, Am. J. Orthod. Dentofac. Orthop. 93 : 460-466, 1988.
10. Chiba, M. : A study of bone remodelling mechanism induced by mechanical stress, Jap. J. Orthod. 48 : 585-600, 1989.
11. Somjen, D., Binderman, I., Berger, E. and Harell, A.

- : Bone remodelling induced by physical stress is prostaglandin E₂ mediated, *Biochim. Biophys. Acta* 627 : 91-100, 1980.
12. Meikle, M.C., Sellers, A. and Reynolds, J.J. : Effect of tensile mechanical stress on the synthesis of metalloproteinases by rabbit coronal sutures in vitro, *Calcif. Tissue Int.* 30 : 77-82, 1980.
 13. Binderman, I., Shimshoni, Z. and Somjen, D. : Biochemical pathways involved in the translation of physical stimulus into biological message, *Calcif. Tissue Int.* 36 : S82-S85, 1984.
 14. Hasegawa, S., Sato, S., Saito, S., Suzuki, Y. and Brunette, D.M. : Mechanical stretching increases the number of cultured bone cells synthesizing DNA and alters their pattern of protein synthesis, *Calcif. Tissue Int.* 37 : 431-436, 1985.
 15. Binderman, I., Zor, U., Kaye, A.M., Shimshoni, Z., Harell, A. and Somjen, D. : The transduction of mechanical force into biochemical events in bone cells may involve activation of phospholipase A₂, *Calcif. Tissue Int.* 42 : 261-266, 1988.
 16. 김상태, 차경석, 김세원 : Mechanical stress가 골조직 세포군에 미치는 영향, 단국대치의학연구소논문집. 4 : 245-254, 1992.
 17. Rubin, C.T. and Lanyon, L.E. : Regulation of bone formation by applied dynamic loads, *J. Bone and Joint Surg.* 66-A : 397-402, 1984.
 18. Rubin, C.T. and Lanyon, L.E. : Regulation of bone mass by mechanical strain magnitude, *Calcif. Tissue Int.* 37 : 411-417, 1985.
 19. Lanyon, L.E., Rubin C.T. and Baust, G. : Modulation of bone loss during calcium insufficiency by controlled dynamic loading, *Calcif. Tissue Int.* 38 : 209-216, 1986.
 20. Van Kampen, G.P.J., Veldhuijzen, J.P. Kuijjer, R., Van de Stadt, R.J. and Schipper, C.A. : Cartilage response to mechanical force in high-density chondrocyte cultures, *Arthritis Rheum.* 28 : 419-424, 1985.
 21. Klein-Nulend, J., Veldhuijzen, J.P., Van Strien, M.E., De Jong, M. and Burger, E.H. : Inhibition of osteoclastic bone resorption by mechanical stimulation in vitro, *Arthritis Rheum.* 33 : 66-72, 1990.
 22. Zadeh, Y., Ngan, P., Firouzian, F., Shanfeld, J. and Davidovitch, Z. : A dynamic system for applying pressure to cell cultures, *J. Dent. Res.* 69 : 205, Abst. 775, 1990.
 23. Saito, S., Ngan, P., Saito, M., Shimizu, H., Shanfeld, J. and Davidovitch, Z. : Involvement of PGE synthesis in the effect of intermittent pressure and interleukin- β on bone resorption, *J. Dent. Res.* 70 : 27-33, 1991.
 24. El Haj, A.J., minter, S.L., Rawlinson, S.C.F., Suwillo, R. and Lanyon, L.E. : Cellular response to mechanical loading in vitro, *J. Bone Min. Res.* 5(9) : 923-932, 1990.
 25. Zaman, G., Dallas, S.L. and Lanyon, L.E. : Cultured embryonic bone shafts show osteogenic responses to mechanical loading, *Calcif. Tissue int.* 51 : 132-136, 1992.
 26. Dallas, S.L., Zaman, G., Pead, M.J. and Lanyon, L.E. : Early strain-related changes in cultured embryonic chick tibiotarsi parallel those associated with adaptive modeling in vitro, *J. Bone Min. Res.* 8(3) : 251-259, 1993.
 27. Globus R.K., Brikle, D.D. and Morey-Holton, E. : Effects of stimulated weightlessness on bone mineral metabolism, *Endocrinology* 114 : 2264-2270, 1984.
 28. Beverly, M.C., Rider T.A., Evans, M.T. and Smith, R.J. : Local bone mineral response to brief exercise that stresses the skeleton, *Br. Med. J.* 299 : 233-235, 1989.
 29. Kirk, S., Sharp, C.F., Elbaum, N., Endres, D.B., Simmons, S.M., Mohler, J.G. and Rund, R.K. : Effect of long distance running on bone mass in women, *J. Bone Min. Res.* 4 : 515-522, 1989.
 30. Davee, A.M., Rosen, C.T. and Adler, R.A. : Exercise patterns and trabecular bone density in college women, *J. Bone Min. Res.* 5 : 245-250, 1990.
 31. Krolner, B. and Toft, B. : Vertebral bone has an unheeded side effect of therapeutic bedrest, *Clin. Sci.* 64 : 537-540, 1983.
 32. Skerry, T.M., Bitensky, L., Chayen, J. and Lanyon, L.E. : Early strain-related changes in enzyme activity in osteocytes following bone loading in vivo, *J. Bone Min. Res.* 4(5) : 783-788, 1989.
 33. Roberts, W.E., Goodwin Jr, W.C. and Heiner, S.R. : Cellular response to orthodontic force, *Dent. Clin. North Am.* 25 : 3-17, 1981.
 34. Yoshikawa, D.K. : Biomechanical principles of tooth movement, *Dent. Clin. North Am.* 25 : 19-49, 1981.

35. 고재승 : 골의 형성과 흡수, 대한치과의사협회지 25 : 615-621, 1987.
36. Yeh, C.K. and Rodan, G.A. : Tensile forces enhance prostaglandin E synthesis in osteoblastic cells grown on collagen ribbons, *Calcif. Tissue Int.* 36 : S67-S71, 1984.
37. Rodan, G.A. Bourret, L.A., Harvey, A and mensi, T. : Cyclic AMP and cyclic GMP : mediators of mechanical effects on bone remodelling, *Science* 189 : 467-468, 1975.
38. Bourret, L.A. and Rodan, G.A. : The role of calcium in the inhibition of cAMP accumulation in epiphyseal cartilage cells exposed to physiological pressure, *J. Cell Physiol.* 88 : 353-362, 1976.
39. Rawilinson, S.C.F., El Haj, A.J., Minter, S.L., Tavares, I.A., Bennett, A. and Lanyon, L.E. : Loading-related increases in prostaglandin production in cores of adult canine cancellous bone in vitro : A role for prostacyclin in adaptive bone remodeling? *J. Bone Min. Res.* 6 : 1345-1351, 1991.
40. 안대식, 이종훈, 양원식 : 교정력에 의한 치조골의 cyclic AMP에 관한 연구, *대치교정지* 11 : 7-15, 1981.
41. 김혜경, 이종훈, 양원식 : 교정력에 의한 교양이 치조골의 칼슘 및 인의 분포에 관한 연구, *대치교정지* 11 : 17-24, 1981.
42. 김영복, 이종훈, 양원식 : 외인성전류가 교양이 치조골의 cyclic nucleotides에 미치는 영향에 관한 연구, *대치교정지* 14 : 187-202, 1984.
43. 김종태, 김종수, 양원식 : 교정력 및 외인성전류가 교양이 치조골의 prostaglandin E₂에 미치는 영향에 관한 연구, *대치교정지* 14 : 203-216, 1984.
44. 이강희, 서정훈 : Prostaglandin E₂가 치아이동과 치근흡수에 미치는 영향에 관한 연구, *대치교정지* 19 : 25-36, 1989.
45. Sandy, J.A., Meghji, S., Farndale, R.W. and Meikel, M.C. : Dual elevation of cyclic AMP and inositol phosphates in response to mechanical deformation of murine osteoblasts, *Biochim. biophys. Acta* 1010 : 265-269, 1989.
46. Dodds, R.A., Ali, N., Pead, M.J. and Lanyon L.E. : Early loading-related changes in the activity of glucose 6-phosphate dehydrogenase and alkaline phosphatase in osteocytes and periosteal osteoblasts in rat fibulae in vivo, *J. Bone min. Res.* 8(3) : 261-267, 1993.
47. 김형수, 남동석 : 교정력이 치조골의 효소활성에 미치는 영향, *대치교정지* 22 : 297-308, 1992.
48. 강정희, 국윤아, 김상철 : 백서의 구개확대시 조직변화에 관한 조직학적 및 자기방사법적 연구, *대치교정지* 22 : 373-388, 1992.
49. 유기환, 김상철, 국윤아 : 백서의 전치 이동시 초기 변화에 관한 조직학적 및 자기방사법적 연구, *대치교정지* 23 : 199-216, 1993.
50. Fusimori, A. Tsutsumi, M., Fukase, M and Fujita, T. : Cyclooxygenase inhibitors enhance cell growth in an osteoblastic cell line, MC3T3-E1, *J. Bone Min. Res.* 5 : 697-704, 1989.
51. Pead, M.J., Skerry, T.M. and Lanyon, L.E. : Direct transformation from quiescence to bone formation in the adult periosteum following a single brief period of bone loading, *J. Bone Min. Res.* 3 : 647-656, 1988.
52. Pead, M.J. and Lanyon, L.E. : Indomethacin modulation of load-related stimulation of new bone formation in vivo, *Calcif. Tissue Int.* 45 : 34-40, 1989.
53. Hakeda, Y., Hotta, T., Kurihara, N., Ikeda, E., Maeda, N., Yagyu, Y. and Kumegawa, M. : Prostaglandin E₁ and F₂α stimulated differentiation and proliferation, respectively, of clonal osteoblastic MC3T3-E1 cells by different second messengers in vitro, *Endocrinology* 121 : 1966-1974, 1987.
54. Veldhijzen, J.P., Bourret, L.A. and Rodan, G.A. : In vitro studies of the effect of intermittent compressive forces on cartilage cell proliferation, *J. Cell. Physiol.* 98 : 299-306, 1979.
55. Rodan G.A. : Mechanical and electrical effects on bone and cartilage cells : translocation of the physical signal into biological message. In Barrer, H.G.(ed). *Orthodontics, the state of the art*, The University of Pennsylvania Press, Philadelphia, pp 315-322, 1981.
56. 우진오, 김관식, 정동균 : 골조직세포군의 분리 및 생화학적 특성에 관한 연구, *서울대학교 치대논문집* 11 : 1-14, 1987.
57. 안중진, 김관식, 정동균 : 백서 두개관 세포군의 골형성능에 관한 연구, *대한구강생물학회지* 13 : 105-114, 1989.
58. Han, N.S., Cheong, D.K. and Mori, M : Pharmacological and biochemical characterization of cells isolated from fetal rat calvaria, *Kor. J. Pharmacol.*

- 26 : 193-207, 1990.
59. Peterkofsky, B. and Diegelmann, R. : Use of a mixture of proteinase-free collagenase for the specific assay of radioactive collagen in the presence of other proteins, *Biochemistry* 10 : 988-994, 1971.
60. Peterkofsky, B. : The effect of ascorbic acid on collagen polypeptide synthesis and proline hydroxylation during the growth of cultured fibroblasts, *Arch. Biochem. Biophys.* 152 : 318-328, 1972.
61. Pead, M.J., Suswillo, R., Skery, T.M., Vedi, S. and Lanyon L.E. : Increased ^3H -uridine levels in osteocytes following a single short period of dynamic bone loading in vivo, *Calcif. Tissue Int.* 43 : 92-96, 1988.
62. Doty, S.B. : Morphological evidence of gap junctions between bone cells, *Calcif. Tissue Int.* 33 : 509-512, 1981.
63. Rodan, G.A. and Martin, T.J. : Role of osteoblasts in hormonal control of bone resorption - A hypothesis. *Calcif. Tissue Int.* 33 : 349-351. 1981.
64. Canalis, E., McCarty, T. and Centrella, M. : The regulation of bone formation by local growth factors. In *Bone and mineral research*, Vol. 6, ed. by Peck, W.A., pp. 27-56, Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, 1989.
65. Murray, D.W. and Rushton, N. : The effect of strain on bone cell prostaglandin E_2 release : A new experimental method, *Calcif. Tissue Int.* 47 : 35-39, 1990.
66. 백정화, 김관식, 정동균 : Soft agar assay를 이용한 배양골조직과 골세포의 transforming growth factor- β 유리에 관한 연구, *대한구강생물학회지* 15 : 124-132, 1991.
67. 이재신, 고성희, 김관식, 정동균 : Insulin-like growth factor-I이 조골세포의 증식 및 세포활성에 미치는 영향, *서울대학교 치대논문집* 15 : 69-79, 1991.
68. 이종오, 고성희, 백정화, 민병무, 김관식, 정동균 : Transforming growth factor- β 가 파골세포형성에 미치는 영향, *치대논문집* 16 : 273-286, 1992.

-ABSTRACT-

THE EFFECT OF TENSILE FORCE ON DNA AND PROTEIN SYNTHESIS IN BONE CELLS

Oh-Sun Kwon · Sang-Cheol Kim

Dept. of Orthodontics, College of Dentistry, Wonkwang University

The present study was undertaken to determine the effect of tensile force on DNA and protein biosynthesis in bone cells, and to identify the cell type(s) which primarily respond to external physical force among the heterogenous bone cell populations.

As a prerequisite for this study, two bone cell populations which retain fibroblastic and osteoblastic feature were isolated from fetal rat calvaria with sequential enzyme digestion scheme. Tensile force was delivered to each bone cell population by two acrylic resin plates connected with a orthodontic expansion screw during culture period. Rate of DNA and protein synthesis in each bone cell population were assessed by the incorporated radioactivity of [³H]-thymidine into DNA and [³H]-proline into fraction of collagenase-digestible protein and noncollagenous protein, respectively.

DNA synthesis of osteoblast-like calvarial cell populations was increased significantly by the application of tensile force for 24 hours. In contrast, no alteration in DNA synthesis of fibroblast-like populations could be observed in response to applied force. Tensile force induced the change in protein synthesis of bone cell populations with the same pattern. Total protein and collagen synthesis were increased within 24 hours in osteoblast-like populations, but not in fibroblast-like populations by tensile force application.

These findings indicate that physical force can affect cellular activity of the particular cell population, not all cell populations residing in bone and osteoblasts respond more sensitively than fibroblasts. So osteoblasts can modulate the behavior of other bone cells including osteoclasts by producing several local regulating factors of bone metabolism. In this context, preferential responsiveness of osteoblasts to applied tensile force observed in this study suggests that osteoblasts may play an important role in regulation of physical force-induced remodelling process.

KOREA J. ORTHOD. 1994 ; 24(4) : 933-943

Key words : DNA and protein synthesis, Bone metabolism.