

## 치주인대세포 배양에서 estrogen이 growth hormone receptor의 발현유도에 미치는 영향

홍성규<sup>1)</sup> · 전영미<sup>2)</sup> · 김정기<sup>3)</sup>

본 실험은 사람의 치주인대세포에서 에스트로겐과 growth hormone(GH)이 상호 어떠한 작용을 하는지를 규명하는 것이 목적이다. 교정치료를 받고자 내원한 환자중에서 건강한 20대 여자환자들의 상하악 제1소구치를 발거하여, 치근의 중간1/3 부위에서 끊어모은 치주인대 조직을 배양하여 치주인대세포를 얻었다. 사람의 치주인대세포의 분열증식에 대한  $17\beta$ -estradiol과 hGH의 효과를 평가하고, 치주인대세포에  $17\beta$ -estradiol을 전처리한 후 치주인대세포의 분열증식에 미치는 hGH의 효과 변화를 평가하였으며, 치주인대세포에  $17\beta$ -estradiol을 전처리 하였을 경우 치주인대세포에서 hGH receptor의 발현 양상의 변화를 평가하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1.  $17\beta$ -estradiol이나 human growth hormone의 단독처리는 사람의 치주인대세포의 분열증식에 큰 영향을 주지 않는다.
2.  $17\beta$ -estradiol  $10^{-12}$ M로 전처리한 후 hGH를 투여한 경우 hGH의 농도에 관계없이 사람의 치주인대세포의 분열증식을 증가시킨다.
3. 사람의 치주인대세포에는 hGH receptor가 없으나,  $17\beta$ -estradiol  $10^{-12}$ M로 6시간 이상 처리하면 hGH receptor가 발현된다.
4. hGH이 사람의 치주인대세포의 분열증식에 미치는 효과는 hGH receptor의 발현과 관련이 있으며,  $17\beta$ -estradiol의 전처리가 치주인대세포에서의 hGH receptor의 발현에 기여함으로써 hGH이 치주인대세포에 작용할 수 있도록 해준다.

주요단어 : 치주인대세포, Growth hormone,  $17\beta$ -estradiol

### 서 론

치과교정학의 발달로 성인교정환자의 수요가 급격히 증가하고 있는 추세이며, 미국의 경우 전체 교정환자의 25%이상이 성인이라고 보고되고 있고,<sup>1)</sup> 한국에서도 과거 10년 사이에 성인교정치료 수요가 증가되어 20%가 성인환자이고 이중 70% 정도가 여성환자

라는 보고가 있다.<sup>2,3)</sup> 성인 여성은 에스트로겐이라는 성호르몬에 의해 영향을 받으며, 에스트로겐은 골대사에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있으나,<sup>4-6)</sup> 치의학 영역에서는 주로 치주질환<sup>7,8)</sup>이나 악관절질환<sup>9,10)</sup>과 연관되어 연구되어 왔고 교정학분야에서는<sup>1,11,12)</sup> 연구가 미진한 상태이다. 여성에서 임신과 관련된 치아의 동요도가 증가되는 치주조직의 변화를 볼 수 있으며,<sup>13,14)</sup> 피임약의 사용으로 치주인대의 부착이 감소하고 치아의 동요도가 증가된다는 보고들이 있어<sup>15)</sup> 에스트로겐이 치주조직에 영향을 미친다고 볼 수 있다. 에스트로겐의 수용체가 조골세포에 존재한다는 보고<sup>16,17)</sup>와, 치주인대세포에서도 발현된다는 보

<sup>1)</sup> 전북대학교 치과대학 교정학교실, 대학원생

<sup>2)</sup> 전북대학교 치과대학 교정학교실 및 구강생체파괴연구소, 전임강사

<sup>3)</sup> 전북대학교 치과대학 교정학교실 및 구강생체파괴연구소, 부교수

고<sup>18-20)</sup>들이 있으며, 에스트로겐이 치주인대세포의 분화와 성장에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다.<sup>19,21)</sup> Growth Hormone(GH) 또한 골개조에 중요한 역할을 하며, GH가 부족하면 골밀도가 감소하는 것으로 알려져 있고, 골량증가에 관련이 있는 것으로 보고되었다.<sup>22-24)</sup> 조골세포에 GH의 수용체가 존재하며,<sup>22,25)</sup> GH가 조골세포의 분열증식을 증진시킨다고 보고되었다.<sup>26-30)</sup> 연령이 증가하면서 GH의 혈중 농도가 떨어지며, GH와 성호르몬 사이에 관련이 있는 것으로 알려져 있다.<sup>31)</sup>

치주인대세포(periodontal ligament cell)는 치아의 발육과 맹출, 그리고 치아의 위치에 관여하며,<sup>32)</sup> 발육이 완성된 치아에서도 교정적 치아이동시 인접 치조골과 백악질의 개조에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다.<sup>33)</sup> 치주인대세포는 치주인대 조섬유세포(periodontal ligament fibroblast)라고도 하지만, osteogenic cell로 분화할 수 있는 능력이 있고<sup>34-36)</sup> 형태적으로 골모세포양세포 양상을 가지고 있으며<sup>37-39)</sup> 기능적으로도 in-vitro에서 골기질을 생성할 수 있고,<sup>40)</sup> 높은 alkaline phosphatase activity를 보이는<sup>37-39,41-43)</sup> 등 단순한 조섬유세포와는 다른 특성이 있기 때문에 많은 연구자들이 치주인대세포라는 명칭을 사용한다.

본 실험은 치주인대세포에서 에스트로겐과 GH이 상호 어떠한 작용을 하는지를 규명하기 위하여, 사람의 치주인대세포의 분열증식에 대한  $17\beta$ -estradiol과 human Growth Hormone(hGH)의 효과를 평가하고, 치주인대세포에  $17\beta$ -estradiol로 전처리한 후 치주인대세포의 분열증식에 미치는 hGH의 효과 변화를 평가하였으며, 치주인대세포에  $17\beta$ -estradiol을 전처리 하였을 경우 치주인대세포에서 hGH receptor의 발현 양상 변화를 평가하여 다소의 지견을 얻었기에 보고하는 바이다.

## 실험재료 및 방법

### 1. 치주인대세포의 배양

치주인대세포는 교정치료를 받고자 내원한 환자중에서 전신질환이 없고 치근과 치주조직에 병소가 없는 20대 여자환자들의 상하악 제1소구치를 발거하여, 치근의 중간1/3 부위에서 끊어모은 치주인대 조직을 배양하여 얻었다. 치주인대 조직을 40% fetal bovine serum(Sigma Chemical Co. USA)과 20% antibiotic

(penicillin G, streptomycin, amphotericin B 포함)을 가한 DMEM/F12(Dulbecco's modified Eagle's medium/Han's nutrient mixture F-12) 배지로 3회 세척한 다음, 조직을 60mm 세포배양용 배양접시(Sigma Chemical Co. USA)에 옮겨 약 1mm<sup>2</sup>로 세절하였다. 세절한 조직을 37°C, 5% CO<sub>2</sub>, 100% 습도의 incubator에서 40% fetal bovine serum을 함유하고 있는 1:1 DMEM/F12 배지에서 24시간 배양하여 조직이 바닥에 붙게 하였다. 다음날 배양액을 버리고 10% fetal bovine serum을 함유하고 있는 1:1 DMEM/F12 배지로 바꾼 후 단일 세포 층이 형성될 때까지 배양액을 3일 간격으로 교환하면서 배양한다. 배양접시에 부착된 부착세포를 분리시키기 위해 0.25% trypsin/EDTA(Sigma Chemical Co. USA) 2ml를 각 배양접시에 넣고 3분간 방치한 후, 분리된 배양세포를 5ml 원심분리용 시험관에 옮겨 1,200rpm으로 10분간 원심시켰다. 원심 후 상층액을 제거하고 HBSS(H B S S)를 가하여 세척한 후, vortex mixer로 혼합하고 세포부유액을 만들어 60mm 배양접시에 분주하여 세포증식이 충분히 나타날 때까지 3일 간격으로 배양액을 교환하였다. 이 실험에서는 5-8세대 계대배양된 치주인대세포를 사용하였다.

### 2. 치주인대세포의 증식 및 DNA합성 측정

5세대 계대배양된 치주인대세포를 광학현미경으로 관찰하였고, 0.25% trypsin-EDTA 용액을 이용하여 바닥에서 떼어낸 다음 trypan-blue로 염색하고 hemacytometer에 옮겨 도립현미경(IMT2-21)상에서 세포 수를 세어 well당 10<sup>4</sup>개씩 24-well plat에 분주하여 24시간동안 배양하였다. HBSS 용액으로 3번 세척한 후 0.1% fetal bovine serum 1:1 DMEM/F12 배지로 바꾸어 주고 다시 24시간 배양하였다. 그후 여러 가지 농도의  $17\beta$ -estradiol(10<sup>-16</sup>, 10<sup>-14</sup>, 10<sup>-12</sup>, 10<sup>-10</sup>, 10<sup>-8</sup>, 10<sup>-6</sup>M)(Sigma Chemical Co. USA)과 hGH(0.1, 1, 10, 50, 100ng/ml)(Sigma Chemical Co. USA)을 각각 가하여 농도별로 24시간, 48시간, 72시간 처리하여 배양하였다. 그리고  $17\beta$ -estradiol을 농도별로 6시간 전처리한 후 hGH을 농도별로 가하여 48시간 배양하여 치주인대세포의 분열증식 정도를 측정하였다. 이를 위해 <sup>3</sup>H-thymidine(Amersham Life Science)을 1  $\mu$  Ci/well로 첨가하여 마지막 14시간 동안 배양한 후 .5% ice-cold TCA(Sigma Chemical Co.)로 10분 간격으로 4회 세척하고 바닥에

붙어있는 세포를 0.5N NaOH/0.1% SDS solution으로 용해한 다음 radioactivity를 liquid scintillation counter(Beckman Co. LS 5000TA)로 측정, DNA 합성율을 계산하였고 이것으로 세포 분열증식 정도를 추정하였다. 모든 실험에서 17β-estradiol과 hGH를 가하지 않은 치주인대세포를 동시에 배양하여 각 실험의 대조군으로 사용하였고 대조군에서의 <sup>3</sup>H-thymidine 함입량을 기준으로(negative control =1) 실험군의 함입량을 상대적으로 환산한 값인 S.I. (Stimulation Index)를 사용하여 비교하였다.

### 3. RNA 분리

5세대 계대배양된 치주인대세포를 0.25% trypsin-EDTA 용액을 이용하여 바닥에서 떼어낸 다음 24-well plat에 10<sup>5</sup>개씩 분주하여 24시간 배양하였다. HBSS 용액으로 3번 씻어준 후, 0.1% fetal bovine serum 1:1 DMEM/F12 배지로 바꾸어 주고 다시 24시간 배양하였다. 24시간 배양 후 10<sup>-12</sup>M 17β-estradiol로 시간별(1시간, 2시간, 4시간, 6시간, 9시간, 12시간, 24시간) 처리한 다음, 0.25% trypsin-EDTA 용액을 이용하여 세포를 바닥에서 떼어내고 PBS(phosphate buffered saline)를 사용하여 2번 세척한 후, total RNA Extraction Kit(Amersham pharmacia biotech Co. USA)를 이용하여 RNA를 얻었다.

세포에 350μl의 LiCl 용액을 더하여 세포를 잘 풀어준 후, β-ME 3μl 그리고 Extraction Buffer 150μl를 각각 가한 다음 Homogenizer를 사용하여 세포를 파쇄하였다. 여기에 CsTFA 500μl을 가하여 잘 섞어 얼음 속에 10분간 방치한 후 12,000rpm으로 15분간 원심 분리하였다. 원심분리 후 상층액을 버리고 pellet을 얻었다.

pellet을 Extraction buffer 75μl, LiCl 용액 175μl, CsTFA 250μl을 사용하여 잘 세척한 후, 마지막으로 70% ethanol 1ml로 세척하였다. RNA pellet을 공기 중에서 10-15 분간 건조시켰다. 추출한 RNA를 DEPC-treated water로 조심스럽게 녹였다.

### 4. 역전사 중합효소 연쇄반응(Reverse transcription-polymerase chain reaction : RT-PCR)

추출한 total mRNA 3μg을 RNase inhibitor의 존재 하에 oligo(dT)<sub>18</sub>을 primer로하여 M-MuLV(Moloney

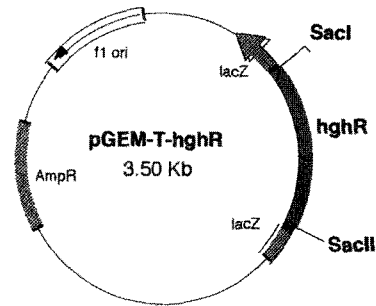


Fig. 1. pGEM-T-hGHR : hGH receptor gene ligated with pGEM-T for DNA sequencing.

Murine Leukemia Virus) reverse transcriptase를 이용하여 cDNA를 합성하였다. 이때 반응 조건은 65°C에서 10분간 변성시킨 다음 37°C에서 1시간 동안 반응시킨 후, 95°C에서 5분간 가열하여 RTase의 활성을 제거하였다. 이렇게 합성한 cDNA를 template로, 그리고 합성한 hGH receptor primer를 이용하여 다음과 같은 조건으로 PCR을 수행하였다. PCR mixture를 PCR 2400 machine(Perkin Elmer CA. USA)에 넣어 95°C에서 3분간 예열한 후 denaturation(95°C, 3분), annealing(52°C, 1분), extension(72°C, 1분)을 32회 반복한 다음, 마지막 extension을 72°C에서 10분간 실시하였다.

각각의 RT-PCR 산물을 1% agarose gel에서 전기영동 하여 비교함으로써 hGH receptor의 발현정도를 알아보았다. 또한 internal control로는 house-keeping gene인 β-actin을 사용하였다.

RT-PCR에 이용된 hGH receptor primer의 염기서열은 다음과 같다:

sense 5'-TGC AAC CAG ATC CAC CCA TT-3'  
antisense 5'-CTT GAG GAG ATC TGG ATC GA-3'

### 5. RT-PCR로 증폭된 human growth hormone receptor gene의 염기서열 확인

RT-PCR의 결과로 증폭된 gene이 hGH receptor의 gene인지를 확인하기 위하여 agarose gel에서 hGH receptor gene이라고 추정되는 부위를 잘라내어 Geneclean II kit(BIO101 Co. USA)를 이용하여 DNA를 정제하였다. 이 DNA 단편을 pGEM-T vector (Promega Co. USA)에 ligation 하였다. 이 ligation

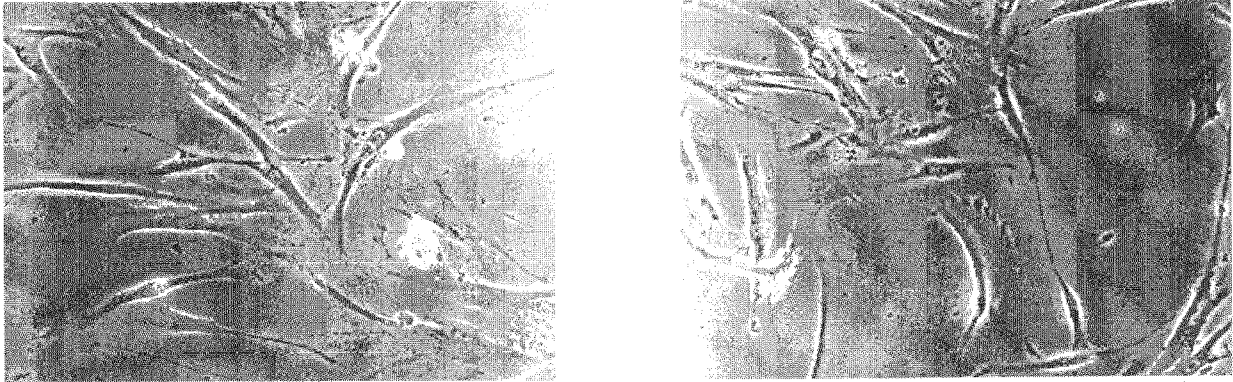


Fig. 2. Light microscopic features of periodontal ligament cell (×200).

mixture를 *E. coli* TOP10F'를 이용하여 transformation 하였다. 즉 이 competent cell을 얼음속에서 녹인 후 ligation mixture를 넣어 조심스럽게 섞어주고 얼음에서 30-40분 정도 보관한 다음, 42°C에서 90초 동안 heat shock을 가한 후 다시 얼음에 3분간 보관하였다. 800µl 정도의 LB medium을 더하여 37°C incubator에 1시간 배양한 다음 항생제가 들어있는 LB plate에서 18시간 배양했다. 이 *E. coli* 안에서 plasmid DNA만을 얻기 위하여 Plasmid Mini Prep kit(Promega Co. USA)를 이용하였다. 이렇게 얻어진 pGEM-T-hGHR DNA(Fig. 1)를 automatic DNA sequencing machine(Perkin-Elmer CA. USA)을 이용하여 sequencing하였다.

결 과

1. 치주인대세포의 광학현미경적 소견

광학현미경으로 관찰한 치주인대세포의 형태는 세포돌기가 별모양으로 뾰족한 형태를 보였고 (Fig. 2) 17β-estradiol과 hGH로 처리한 후에도 형태의 변화는 없었으나, 계대배양이 진행되면서 9세대 이상에서 세포내에 공포가 증가하는 양상을 보였다.

2. 17β-estradiol과 hGH가 치주인대세포의 분열 증식에 미치는 영향

- ① 17β-estradiol(10<sup>-16</sup>~10<sup>-6</sup>M)과 hGH(0.1, 1, 10, 50, 100ng/ml)을 각각 단독으로 처리한 효과(Fig. 3,4). 17β-estradiol 단독 처리시 24시간과 48시간까지

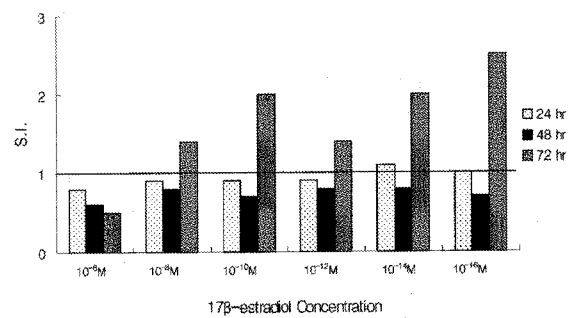


Fig. 3. 3H-thymidine incorporation according to 17β-estradiol concentration & treatment duration. S.I. : Stimulation Index, 1=control value

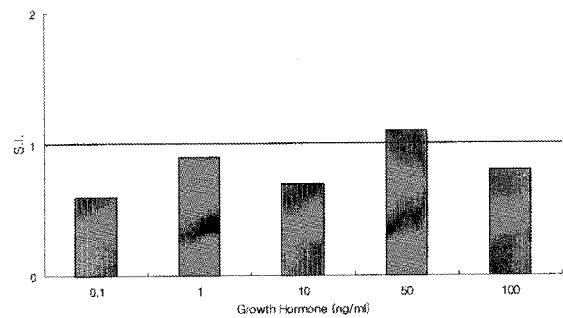


Fig. 4. 3H-thymidine incorporation according to hGH concentration after 48 hours incubation. S.I. : Stimulation Index 1=control value

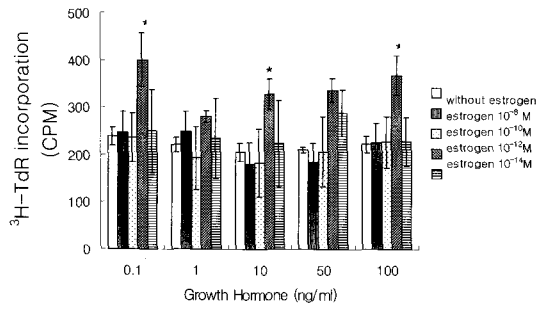


Fig. 5. <sup>3</sup>H-thymidine incorporation according to hGH concentration after pretreatment with various concentrations of 17β-estradiol during 6 hours. CPM : counts per minute.

는 <sup>3</sup>H-thymidine 함입량이 통계적으로 유의하지 않았지만 대조군(17β-estradiol로 처리하지 않고 각 시간 만큼 배양한 군)에 비해 적은 경향을 보여, 세포의 분열증식이 약간 감소되었다. 72시간 동안 처리한 경우에는 10<sup>-6</sup>M을 제외하고 모든 농도에서 대조군에 비해 많은 <sup>3</sup>H-thymidine 함입량을 보였지만, 72시간이 경과한 후의 세포의 광학현미경적 소견은 세포 내에 많은 공포가 보였다.

hGH 단독 처리로 48시간 배양시 농도에 따른 치주인대세포의 <sup>3</sup>H-thymidine 함입량은 대조군(hGH으로 처리하지 않고 48시간 배양한 군)에 비해 비교적 적었으나 통계적으로 유의한 차이는 없었다.

② 17β-estradiol 농도별로 6시간 전처리 후 hGH를 처리한 효과(Fig. 5).

17β-estradiol을 10<sup>-12</sup>M을 사용하여 6시간 전처리하고 난 후 hGH으로 처리한 군이 17β-estradiol의 다른 농도로 전처리하고 hGH으로 처리한 군보다, 그리고 17β-estradiol로 전처리하지 않고 hGH으로 처리한 군보다 <sup>3</sup>H-thymidine 함입량이 많았으며 (p<0.05), 이러한 현상은 hGH의 농도에 관계없이 나타났다.

3. 17β-estradiol(10<sup>-12</sup>M)의 전 처리 시간에 따른 hGH receptor gene의 발현(Fig. 6).

본 실험에서 RT-PCR에 사용한 hGH receptor gene의 specific primer는 hGH receptor gene의 exon 6 에서 exon 9까지를 포함하도록 하였는데 그 길이는

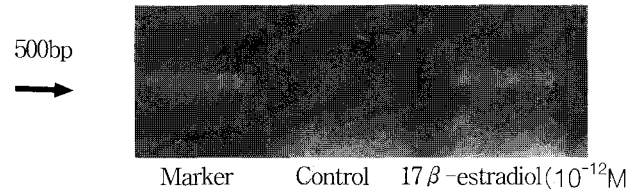


Fig. 6. Expression of hGH receptor gene after pretreatment with 17β-estradiol(10<sup>-12</sup>M) during 6 hours.

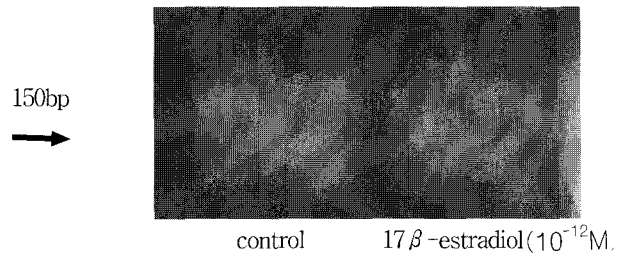


Fig. 7. Internal control test using to β-actin.

500bp정도이다. 이 primer를 사용하여 RT-PCR을 수행한 결과 500bp정도의 길이를 가지는 PCR 산물을 치주인대세포로부터 얻을 수 있었다. 이 hGH receptor gene의 발현에 17β-estradiol(10<sup>-12</sup>M)이 어떠한 영향을 주는 가를 알아본 결과, 17β-estradiol(10<sup>-12</sup>M) 전처리 하지 않은 경우와 전 처리를 5시간 이하로 하였을 경우에는 hGH receptor gene이 발현되지 않았으며, 17β-estradiol(10<sup>-12</sup>M) 전처리 시간을 6시간으로 하면 hGH receptor gene이 발현되기 시작하였다(Fig. 6). 전처리 시간을 6시간 이상으로 하였을 때에도 hGH receptor gene의 발현 정도는 크게 달라지지 않았다. β-actin을 이용한 internal control test에서 17β-estradiol로 전처리하지 않은 대조군과 17β-estradiol(10<sup>-12</sup>M)로 전처리한 군간의 cDNA 양에서 차이가 없었고, 실험상의 오차가 없음을 확인하였다(Fig. 7).

4. RT-PCR로 증폭된 human growth hormone receptor gene의 염기서열 확인

RT-PCR의 결과로 증폭된 gene(Fig. 8)이 hGH receptor gene인지를 확인하기 위하여 PCR 산물을 정제하여 pGEM-T vector에 cloning한 후(Fig. 1)

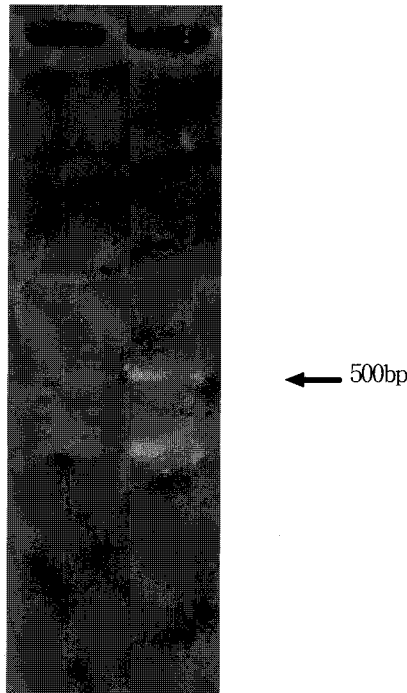


Fig 8. Excision agarose gel of 500bp area for DNA correction.

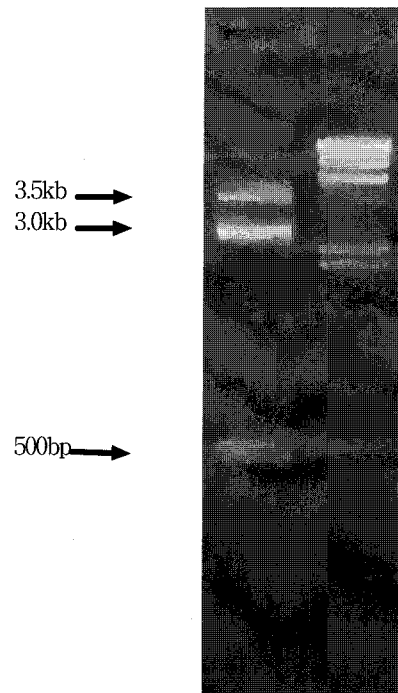


Fig 9. Separation of DNA from pGEM-T vector and electrical .

DNA sequencing을 통하여 유전자의 염기서열을 얻어 Genebank program을 이용하여 hGH receptor gene의 염기서열과 일치함을 확인하였다.

pGEM-T-hGHR을 Sac I과 Sac II로 잘라내 전기영동으로 관찰한 결과 cloning되었던 유전자가 hGH receptor gene의 insertion 크기와 동일함을 확인할 수 있었다(Fig. 9).

**총괄 및 고안**

교정력에 의한 치아이동시 골개조 과정이 필수적이며, 이는 골흡수와 골침착을 일으키는 세포에 의해 중재된다고 알려져 있다. 그러나 교정력과 같은 기계적 자극이 골개조가 일어나기 위한 세포학적 활성을 어떤 기전으로 일으키는지 명확하지 않지만 다양한 연구들이 시도되고 있다. 이러한 연구들은 골개조과정에서 조골세포와 파골세포의 역할에 맞추어져 왔으나, 골개조 현상은 전적으로 치조골 자체에만 국한하여 일어나기보다는 치주인대세포가 어떤 역할을 할 것으로 생각된다.

1972년 Arnold<sup>44)</sup>가 치주인대세포를 배양하기 시작한 이래로 치주인대세포에 관한 많은 연구들이 진행되고 있다. Burnette 등<sup>45)</sup>은 치주인대에서 분리 계대 배양한 치주인대세포는 조섬유세포가 주종을 이루며 조섬유세포와 상피세포의 성상이 모두 있다고 하였으나, Maedar 등<sup>37)</sup>과 Piche 등<sup>38)</sup>은 치주인대세포가 조골능력이 있다고 보고하였고, Roberts 등<sup>34-36)</sup>은 치주인대세포에 교정력을 가할 경우 조골세포로 분화 증식됨을 보고하였다. Basdra 등<sup>40)</sup>은 치주인대세포가 골기질을 생성할 수 있다고 하였으며, Yamashita 등<sup>42,43)</sup>은 alkaline phosphatase activity가 높은 특징이 있다고 하여 치주인대세포는 단순한 조섬유세포와는 다른 것으로 알려져 있다.

본 연구에서는 에스트로겐에 의해 정상적으로 영향받고 있을 것으로 추정되는 20세와 24세 사이의 전신적으로 건강한 성인여자의 제1소구치로부터 치주인대세포를 얻었다. 치은조직의 세포가 포함되지 않도록 치근 중앙 1/3부분의 치주인대 조직으로부터 분리 계대배양하여 치주인대세포를 얻었다. 이 세포들의 광학현미경 소견은 세포돌기가 별모양으로 뻗은 길쭉한 형태를 보였고(Fig. 2) 계대배양이 진행되면

서 9세대 이상에서 세포내에 공포가 증가하는 양상을 보였다. 그래서 본 연구에서는 5세대에서 8세대 사이 세대배양된 치주인대세포를 이용하였다.

일반적으로 유년기 및 청소년기 교정치료와 성인기의 교정치료 간에는 일정한 기계적인 힘에 대해서도 조직반응이 다르다는 점에 의견이 일치한다.<sup>1,46,47)</sup> 이는 성인과 아동 사이에 성장호르몬과 성호르몬을 포함하여 각종 호르몬의 변화 등, 생리적인 차이가 발생되기 때문일 것이다. 그러므로 교정의는 이들 성인 환자의 교정치료에 관련된 치료목표와 치료기법은 물론 교정력에 대한 골조직의 반응에 대하여 더욱 세심하게 알아야 할 필요가 있고, 호르몬의 변화에 대한 골조직의 반응에 대해 연구를 해야한다. 특히 성호르몬은 골내 칼슘을 보존하는데 아주 중요한데, 이중에 안드로젠은 근골격을 강화 유지시켜주는 기능이 있어 골대사에 간접적인 효과를 나타내며, 에스트로젠은 골개조 활성을 감소시킴으로써 골내 칼슘을 유지시키는 직접적인 효과를 나타내는 것으로 알려져 있다.<sup>4-6)</sup> 그중 에스트로젠은 폐경기 여성에서 골다공증의 예방과 골내 칼슘 유지를 위하여 널리 사용되고 있다.<sup>48-50)</sup> 에스트로젠이 골소실을 예방하는 기전은 아직도 논란의 대상이지만 현재까지 밝혀진 문헌을 고찰해 볼 때 다음과 같은 가설로 요약해 볼 수 있다. 첫째는 골에 대한 에스트로젠의 효과는 칼시토닌을 매개로 하여 일어난다는 것이다. 이는 에스트로젠이 혈중내 칼시토닌 농도를 증가시키고 칼시토닌은 파골세포의 활성을 직접적으로 억제하는 생리적 기능을 발휘함으로써 골흡수를 감소시킨다는 것이다.<sup>6,49,51)</sup> 둘째로 에스트로젠이 골에 직접적인 영향을 주어 골흡수를 직접 감소시킨다는 가설이다. 조골세포나 이와 유사한 세포에 에스트로젠의 수용기가 있다는 보고는 이러한 사실을 뒷받침한다.<sup>16-20)</sup>

에스트로젠이 치주조직에 영향을 미친다는 것은 임신한 여성에서와 폐경기 여성, 그리고 피임약을 복용하는 여성에서 치아 동요도의 증가나 치주인대 부착의 감소 등에 대한 보고<sup>13-15)</sup>로부터 추정할 수 있으며, Morishita 등<sup>18)</sup>과 Lewko 등<sup>19)</sup>은 치주인대세포에서 에스트로젠 수용체가 존재한다고 하여, 치주조직의 세포단위에서 에스트로젠의 영향에 대해 보고한 바 있다. 특히 Kakai 등<sup>21)</sup>은  $17\beta$ -estradiol  $10^{-11}$ 과  $10^{-9}$ M의 농도에서 치주인대세포의 성장속도가 증가되었다고 하였으나, Lewko 등<sup>19)</sup>은  $17\beta$ -estradiol  $10^{-9}$ 과  $10^{-8}$ M의 농도에서 치주인대세포의 성장이 감소하였다고 보고한 바 있다. 에스트로젠이 조골세포

의 분열증식에 미치는 영향에 관한 연구 결과들도 매우 다양하다. Keeting 등<sup>52)</sup>은 에스트로젠이 조골세포의 성장과 분화에 영향을 미치지 않는다 하였고, Masuyama 등<sup>53)</sup>은 에스트로젠이 조골세포의 분열증식을 촉진한다고 하였지만, Shamay 등<sup>54)</sup>과 Robinson 등<sup>55)</sup>은 에스트로젠이 조골세포의 분열증식을 억제한다고 보고한 바 있다. 이러한 상반된 결과들은 실험에 사용된 세포의 종류, 분화 정도, 에스트로젠의 농도, 세포의 출처 등 실험조건에 다양성 때문에 발생한 것이라고 추측된다.

본 연구에서는 치주인대세포에  $17\beta$ -estradiol을  $10^{-16}$ ~ $10^{-6}$ M 농도로 처리하여도 48시간까지는  $^3$ H-thymidine 함입양이 대체로 감소하는 경향이었으나 통계적으로 유의한 차이는 보이지 않아 세포 분열증식에 큰 영향을 미치지 않았다고 볼 수 있지만, 72시간 동안 처리한 경우에는 대체로  $^3$ H-thymidine 함입양이 증가하는 양상을 보였으나(Fig. 3), 72시간이 경과한 후의 세포의 광학현미경적 소견은 세포 내에 공포화가 현저해졌고, 세포수가 증가된 양상은 아니었는데, 이는 경과시간이 길어져 많은 세포들이 죽었으며, 이 세포들의 잔재들이 남아있어  $^3$ H-thymidine 양이 누적되어 검출된 것으로 생각된다.

GH(Growth Hormone)은 골량조절에 중요한 요소로 알려져 있다. Rossen 등<sup>56,57)</sup>은 GH 결핍 환자는 골량이 감소됨을 보이며, 이는 GH 투여로 치료될 수 있다고 하였다. Slootweg<sup>31)</sup>는 연령이 증가하면서 GH 농도가 감소되며, GH은 성호르몬에 의해 영향을 받고있다고 하였다. Kaseem 등<sup>27-31)</sup>은 GH가 조골세포의 분열증식을 증가시킨다고 하였으며, Langdahl 등<sup>26)</sup>은 GH이 IGF-I과 IGF-II와 상호 작용하여 조골세포의 분열증식을 증가시키는 효과가 있다고 하였다. Nilsson 등<sup>22)</sup>은 조골세포에 GH receptor가 존재함으로써 이 세포의 기능에도 깊은 관련이 있다고 하였고, Slootweg 등<sup>27)</sup>은 조골세포의 GH receptor의 친화도에서는 차이가 없었으나, 분화가 덜된 세포보다는 분화가 잘된 조골세포에서 수용체의 capacity가 높았다고 하였다. Bouillon<sup>58)</sup>은 GH이 직접 조골세포에 작용하거나 IGF-I과 IGF-II 생성을 조절하여 간접적으로 작용하여, 조골세포의 수와 기능을 증가시킨다고 하였다.

GH의 치주인대세포에 대한 효과에 관한 연구는 매우 부족한데, Hasse 등<sup>59)</sup>은 GH가 치주인대 섬유세포의 분열증식에 영향을 주지 않는다고 보고하였고, Blom 등<sup>60)</sup>은 치주인대세포에서 GH receptor가 발현

되지만 GH이 치주인대세포의 성장과 형태에 영향을 주지 않는다고 보고하였다. 본 연구에서 hGH의 단독 처리는 농도에 관계없이  $^3\text{H}$ -thymidine 함입량이 대조군(비처리군)에 비해 대체로 적었지만 치주인대세포의 분열증식에 큰 변화를 보이지 않은 것으로 생각하며, 이러한 결과는 선행들의 연구결과와 일치하였다(Fig. 4).

에스트로겐과 GH과의 연관성에 관한 많은 연구가 있었다. Zachmann<sup>61)</sup>은 성호르몬이 GH의 대사와 성장유발 효과에 영향을 미친다고 하였으며, Moe 등<sup>62)</sup>은 에스트로겐의 장기투여가 혈중 GH를 증가시키고, IGF-I은 감소시킨다고 하였는데, Malarkey 등<sup>63)</sup>과 Domene 등<sup>64)</sup>은 에스트로겐이 간에서 GH의 receptor 발현을 감소시키고 IGF-I의 분비를 억제시켜 결과적으로 뇌하수체에서의 GH 분비를 억제하는 feedback inhibition을 감소시켜 이차적으로 GH 분비를 증가시킨다고 하였다(Fig. 10). Sloopweg 등<sup>65)</sup>은 에스트로겐과 GH를 각각 조골세포에 투여한 경우 세포의 분열증식에 영향을 미치지 못하였지만, 함께 투여한 경우 조골세포의 분열증식에 대한 상승효과가 있었다고 하였으며, 에스트로겐의 투여가 조골세포에서 GH receptor의 발현과 GH의 결합이 증진되었다고 보고하였다.

본 연구에서는  $10^{-12}\text{M}$ 의  $17\beta$ -estradiol로 전처리한 경우에만 hGH이  $^3\text{H}$ -thymidine 함입량을 증가시켜( $p < 0.05$ ) 치주인대세포의 분열증식을 증가시키는 효과가 있다고 할 수 있으며, 다른 농도의 에스트로겐 전처리로는 hGH의 이러한 효과가 나타나지 않았고 이러한 현상은 hGH의 농도에 관계없이 나타났다(Fig. 5). 또한 계대배양된 치주인대세포에서 hGH receptor의 발현이 보이지 않았으나,  $17\beta$ -estradiol  $10^{-12}\text{M}$ 로 6시간 이상 처리한 경우에 hGH receptor가 발현되기 시작하였고, 24시간까지 시간에 관계없이 그 발생 정도가 비슷하였다(Fig. 6). 이러한 결과는 Sloopweg 등<sup>65)</sup>의 조골세포에서의 연구와 비슷한 결과였지만, 치주인대세포에서는 hGH receptor가 발현되기까지는 적어도 6시간 이상이 필요하다는 것을 알 수 있었다.

$17\beta$ -estradiol  $10^{-12}\text{M}$ 로 6시간 처리한 군과 처리하지 않은 군의 hGH receptor의 발현정도를 알아보기 위해, 치주인대세포로부터 얻은 total RNA를 RT-PCR로 hGH receptor mRNA만 증폭시킨 후 agarose gel에서 전기영동시켜 확인하였는데, 이때 양군의 조건을 동일화하기 위하여 염기의 발현량을 정량화할

필요가 있고, 이 과정을 internal control이라 한다. 이를 위해 house-keeping gene인 human  $\beta$ -actin을 사용하였고, 이 염기는 모든 조직에서 항상 발현하는 것으로 알려져 있다. 양군에서 human  $\beta$ -actin의 primer를 사용하여 PCR을 하였고 증폭된 염기의 양을 전기영동으로 확인하였으나 비슷한 양을 보여(Fig. 7) 두 군간에 cDNA의 양적 차이가 없음을 확인하였고, 실험상에서 이용된 양 표본간에 큰 차이가 없음을 확인하였다.

hGH receptor gene의 primer를 이용하여 RT-PCR한 결과로 증폭된 gene을 전기영동시켜 hGH receptor gene이라고 추정되는 500bp 부위의 agarose gel을 잘라 정제하여 pGEM-T vector에 cloning한 후 DNA sequencing을 통하여 유전자의 염기 서열을 확인한 결과 hGH receptor gene의 염기서열과 일치하였다. pGEM-T vector에 cloning된 DNA를 pGEM-T vector의 Sac I과 Sac II 부위에서 잘라내 전기영동으로 관찰한 결과 hGH receptor gene이 cloning되었음을 확인할 수 있었다(Fig. 9).

이상의 종합하여 보면, 에스트로겐과 GH은 인간의 치주인대세포의 분열증식에 일차적인 영향을 미치지 못하지만, 에스트로겐에 의해 치주인대세포에서 GH에 대한 수용체가 발현된 후에는 GH이 이 세포와 작용하여 분열증식을 증진시킨다 것을 알 수 있었다. 그러나 GH이 이렇게 발현된 receptor에 binding하는 효율은 어떠한가, 이 효율에 에스트로겐이 어떤 영향을 미치는가, 치주인대세포의 기능에는 어떤 영향을 미치는가 등, 인간의 치주인대세포에 GH과 에스트로겐간의 상호 작용에 관한 더 많은 연구가 되어야 할 것으로 생각한다.

## 결 론

본 실험은 사람의 치주인대세포에서 에스트로겐과 growth hormone(GH)이 상호 어떠한 작용을 하는지를 규명하기 위하여, 사람의 치주인대세포의 분열증식에 대한  $17\beta$ -estradiol과 hGH의 효과를 평가하고, 치주인대세포에  $17\beta$ -estradiol을 전처리한 후 치주인대세포의 분열증식에 미치는 hGH의 효과 변화를 평가하였으며, 치주인대세포에  $17\beta$ -estradiol을 전처리 하였을 경우 치주인대세포에서 hGH receptor의 발현 양상의 변화를 평가하여 다음과 같은 결론을 얻었다.



1.  $17\beta$ -estradiol이나 human growth hormone의 단독 처리는 사람의 치주인대세포의 분열증식에 큰 영향을 주지 않는다.
2.  $17\beta$ -estradiol  $10^{-12}$ M로 전처리한 후 hGH를 투여한 경우 hGH의 농도에 관계없이 사람의 치주인대세포의 분열증식을 증가시킨다.
3. 사람의 치주인대배양세포에는 hGH receptor가 없었으나,  $17\beta$ -estradiol  $10^{-12}$ M로 6시간 이상 처리하였을 경우 hGH receptor가 발현되는 것으로 추정된다.
4. hGH이 사람의 치주인대세포의 분열증식에 미치는 효과는 hGH receptor의 발현과 관련이 있으며,  $17\beta$ -estradiol의 전처리가 치주인대세포에서의 hGH receptor의 발현에 기여함으로써 hGH가 치주인대세포에 효과적으로 작용할 수 있도록 해 줄 것으로 추정된다.

### 참 고 문 헌

1. Roberts WE. Bone biology, metabolism and biomechanics in orthodontic practice. In : Graber TM, Vanarsdall RL. Orthodontics : current principles and techniques. 2nd ed. Mosby, 1994 : 193-234, 750-834.
2. 백형선, 김경훈, 박열. 연세대학교 영동세브란스병원 교정과에 내원한 부정교합자의 분포 및 경향에 관한 연구. 대치교정지 1995 : 25 : 87-100.
3. 양원식. 서울대학교병원 교정과에 내원한 부정교합환자의 분류 및 분포에 관한 연구. 대치협회지 1990 : 811-21.
4. Mckenna MJ, Frame B. Hormonal influences on osteoporosis. Am J Med 1987 : 82 : 61-7.
5. Quigley MET, Martin PL, Burnier AM, Brooks P. Estrogen therapy arrests bone loss in elderly women. Am J Obstet Gynecol 1987 : 156 : 1516-23.
6. Diddlw AW, Smith IQ. Postmenopausal oetoporosis : The role of estrogens. Southern Med J 1984 : 77 : 868-74.
7. Deasy MJ, Grota LJ, Kennedy JE. The effect of estrogen, progesterone and cortisol on gingival inflammation. J Periodont Res 1972 : 7 : 111-24.
8. Brunsvold MA, Chaves ES, Kornman KS, Aufdemorte TB. Effect of a bisphosphonate on experimental periodontitis in monkeys. J Periodont 1992 : 63 : 825-30.
9. Aufdemore TB, Van Sickels JE, Fanklin Dolwick M, Richard Holt G, Gates GA. Estrogen receptors in the temporomandibular joint of the baboon(Papio cynocephalus): An autoradiographic study. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1986 : 61 : 307-14.
10. Abubaker AO, Raslan WF, Sotereanos GC. Estrogen & progesteron receptors in TMJ discs of symptomatic and asymptomatic persons. J Oral Maxillofac Surg 1993 : 51 : 1096-100.
11. Robert WE, Simmons KE. Bone physiology and metabolism in dental implantology : Risk factors for osteoporosis and other metabolic bone diseases. Implant Dent 1992 : 1 : 11-21.
12. Karsten J, Hellsing E, Hammarstrom L. The effect of oestrogen on orthodontic tooth movement in rats. Europ J Orthod 1992 : 14 : 323.
13. Rateitschak KH. Tooth mobility changes in pregnancy. J Periodontal Res. 1967 : 2 : 199-206.
14. Cohen DW, Friedman L, Shapiro J, Kyle CG. A longitudinal investigation of the periodontal changes during pregnancy. J Periodontol. 1969 : 40 : 563-70.
15. Knight GM, Wade AB. The effects of hormonal contraceptives on the human periodontium. J Periodontal Res. 1974 : 9 : 18-22.
16. Ankrom MA, Patterson JA, d'Avis PY, Vetter UK, Blackman MR, Sponseller PD, Tayback M, Robey PG, Shapiro JR, Fedarko NS. Age-related changes in human oestrogen receptor alpha function and levels in osteoblasts. Biochem J. 1998 : 333 : 787-94.
17. Arts J, Kuiper GG, Janssen JM, Gustafsson JA, Lowik CW, Pols HA, van Leeuwen JP. Differential expression of estrogen receptors alpha and beta mRNA during differentiation of human osteoblast SV-HFO cells. Endocrinology 1997 : 138 : 5067-70.
18. Morishita M, Shimazu A, Iwamoto Y. Analysis of oestrogen receptor mRNA by reverse transcriptase-polymerase chain reaction in human periodontal ligament cells. Arch Oral Biol 1999 : 44 : 781-3.
19. Lewko WM, Anderson A. Estrogen receptors and growth response in cultured human periodontal ligament cells. Life Sci 1986 : 39 : 1201-6.
20. Aufdemorte TB, Sheridan PJ. Nuclear uptake of sex steroids in gingiva of the baboon. J Periodontol 1981 : 52 : 430-4.
21. Kakai Y, Kawase T, Nakano T, Mikuni-Takegaki Y, Saito S. Effects of ipriflavone and estrogen on the differentiation and proliferation of osteogenic cells. Calcif Tissue Int 1992 : 51 : S11-S15.
22. Nilsson A, Swolin D, Enerback S, Ohlsson C. Expression of functional growth hormone receptors in cultured human osteoblast-like cells. J Clin Endocrinol Metab 1995 : 80 : 3483-8.

23. Saggese G, Baroncelli GI, Federico G, Bertelloni S. Effects of growth hormone on phosphocalcium homeostasis and bone metabolism. *Horm Res* 1995 : 44 Suppl 3 : 55-63.
24. Johannsson G, Bengtsson B-A. Growth hormone and the acquisition of bone mass. *Horm Res* 1997 : 48 : 72-7.
25. Moral G, Chavassieux P, Barenton B, Dubois PM, Meunier PJ, Boivin G. Evidence for a direct effect of growth hormone on osteoblasts. *Cell Tissue Res* 1993 : 273 : 279-86.
26. Langdahl BL, Kassem M, Moller MK, Eriksen EF. The effects of IGF-I and IGF-II on proliferation and differentiation of human osteoblasts and interactions with growth hormone. *Eur J Clin Invest* 1998 : 28 : 176-83.
27. Sloomweg MC, Salles JP, Ohlsson C, de Vries CP, Engelbregt MJ, Netelenbos JC. Growth hormone binds to a single high affinity receptor site on mouse osteoblasts: modulation by retinoic acid and cell differentiation. *J Endocrinol* 1996 : 150 : 465-72.
28. Kassem M, Mosekilde L, Eriksen EF. Growth hormone stimulates proliferation of normal human bone marrow stromal osteoblast precursor cells in vitro. *Growth Regul* 1994 : 4 : 131-135.
29. Kassem M, Brixen K, Mosekilde L, Eriksen EF. Human marrow stromal osteoblast-like cells do not show reduced responsiveness to in vitro stimulation with growth hormone in patients with postmenopausal osteoporosis. *Calcif Tissue Int* 1994 : 54 : 1-6.
30. Kassem M, Blum W, Ristelli J, Mosekilde L, Eriksen EF. Growth hormones stimulates proliferation and differentiation of normal human osteoblast-like cells in vitro. *Calcif Tissue Int* 1993 : 52 : 222-6.
31. Sloomweg MC. Growth hormone and bone. *Horm Metab Res* 1993 : 25 : 335-43.
32. Bellows CG, Melcher AH, Aubin JE. An in-vitro model for tooth eruption utilizing periodontal ligament fibroblasts and collagen lattices. *Arch Oral Biol*. 1983 : 28 : 715-22.
33. Limeback H, Sodek J, Aubin JE. Variation in collagen expression by cloned periodontal ligament cells. *J Periodontal Res*. 1983 : 18 : 242-8.
34. Yee JA, Kimmel DB, Jee WS. Periodontal ligament cell kinetics following orthodontic tooth movement. *Cell Tissue Cinet* 1976 : 9 : 293-302.
35. Roberts WE, Goodwin Jr WC, Heiner SR. Cellular response to orthodontic force *Dent. Clin. North Am*. 1981 : 25 : 3-17.
36. Roberts WE, Chase D. Kinetics of cell proliferation and migration associated with orthodontically induced osteogenesis. *J Dent Res* 1981 : 60 : 174-81.
37. Maeder CL, Carnes DL, Graves DT. Alkaline phosphatase and osteocalcin levels in cells from periodontal explants. *J Dent Res* 1988 : 67 : 232.
38. Piche JE, Carnes DL, Graves DT. Characterization of non-fibroblast cell population derived from human periodontal ligament. *J. Dent. Res* 1987 : 66 : 356.
39. Nanba H, Nomura Y, Kinoshita M, Shimizu H, Ono K, Goto H, Arai H, Takigawa M, Murayama Y. Periodontal tissues and sex hormones : Effects of sex hormones on metabolism of fibroblasts derived from periodontal ligament. *Nippon Shishubyo Gakkai Kaishi* 1989 : 31 : 166-75.
40. Basdra EK, Komposch G. Transmission and scanning electron microscopic analysis of mineralized loci formed by human periodontal ligament cells in vitro. *J Orofac Orthop* 1999 : 60 : 77-86.
41. Nojima N, Kobayashi M, Shionome M. Fibroblastic cells derived from bovine periodontal ligaments have the phenotypes of osteoblasts. *J. Periodont. Res*. 1990 : 25 : 179-85.
42. Yamashita Y, Sato M, Noguchi T. Alkaline phosphatase in the periodontal ligament of the rabbit and macaque monkey. *Arch Oral Biol*, 1987 : 32 : 677-8.
43. Goseki M, Oida S, Takeda K, Sasaki S et al. Identification of bone-type alkaline phosphate mRNA from human periodontal ligament cells. *J Dent Res* 1995 : 74 : 319-22.
44. Arnold LF, Baram P. In vitro culture of periodontal ligament cells. *J Dent Res* 1972 : 51 : 953-9.
45. Brunette DM, Melcher AH, Moe HK. Culture and origin of epithelium-like and fibroblast-like cells from porcine periodontal ligament explants and cell suspensions. *Arch Oral Biol* 1976 : 21 : 393-400.
46. Rippin JW. Collagen turnover in the periodontal ligament under normal and altered functional forces I : Young rat molars. *J Periodont Res* 1976 : 11 : 101-7.
47. Rippin JW. Collagen turnover in the periodontal ligament under normal and altered functional forces II : Adult rat molars. *J Periodont Res* 1978 : 13 : 149-54.
48. Thorneycroft IH. The role of estrogen replacement therapy in the prevention of osteoporosis. *Am J Obstet Gynecol* 1989 : 160 : 1306-10.
49. Lindsay R. Estrogen in prevention and treatment of osteoporosis. *Schweiz Med Wschr* 1989 : 119 : 1806-10.
50. Lufkin EG, Ory SJ. Estrogen replacement therapy for

- the prevention of osteoporosis. *AFP* 1989 : 40 : 205-12.
51. Gordan GS. Estrogen and bone. *Clinical Orthopaedics and Related Res* 1985 : 200 : 174-80.
  52. 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.
  53. Masuyama A, Ouchi Y, Sato F, Hosoi T, Nakamura T, Orimo H. Characteristics of steroid hormone receptors in cultured MC3T3-E1 osteoblastic cells and effect of steroid hormones on cell proliferation. *Calcif Tissue Int* 1992 : 51 : 376-81.
  54. Shamay A, Knopov V, Benayahu D. The expression of estrogen receptor and estrogen effect in MBA-15 marrow stromal osteoblasts. *Cell Biol Int* 1996 : 20 : 401-5.
  55. Robison JA, Harris SA, Riggs BL, Spelsberg TC. Estrogen regulation of human osteoblastic cell proliferation and differentiation. *Endocrinology* 1997 : 138 : 2919-27.
  56. Rosen T, Hansson T, Granhed H, Szucs J, Bengtsson BA. Reduced bone mineral content in adult patients with growth hormone deficiency. *Acta Endocrinol* 1993 : 129 : 201-6.
  57. Rosen T, Johannsson G, Bengtsson BA. Consequences of growth hormone deficiency in adults, and effects of growth hormone replacement therapy. *Acta Paediatr Suppl* 1994 : 399 : 21-4.
  58. Bouillon R. Growth hormone and bone. *Horm Res* 1991 : 36 : 49-55.
  59. Haase HR, Clarkson RW, Waters MJ, Bartold PM. Growth factor modulation of mitogenic responses and proteoglycan synthesis by human periodontal fibroblasts. *J Cell Physiol* 1998 : 174 : 353-61.
  60. Blom S, Holmstrup P, Dabelsteen E. The effect of insulin-like growth factor-I and human growth hormone on periodontal ligament fibroblast morphology, growth pattern, DNA synthesis, and receptor binding. *J Periodontol* 1992 : 63 : 960-8.
  61. Zachmann M. Interrelations between growth hormone and sex hormones: physiology and therapeutic consequences. *Horm Res* 1992 : 38 : 1-8.
  62. Moe KE, Prinz PN, Larsen LH, Vitiello MV, Reed SO, Merriam GR. Growth hormone in postmenopausal women after long-term oral estrogen replacement therapy. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 1998 : 53 : 117-24.
  63. Malarkey WB, Burleson M, Cacioppo JT, Poehlmann K, Glaser R, Kiecolt-Glaser JK. Differential effects of estrogen and medroxyprogesterone on basal and stress-induced growth hormone release, IGF-1 levels, and cellular immunity in postmenopausal women. *Endocrine* 1997 : 7 : 227-33.
  64. Domene HM, Marin G, Sztejn J, Yu YM, Baron J, Cassorla FG. Estradiol inhibits growth hormone receptor gene expression in rabbit liver. *Mol Cell Endocrinol* 1994 : 103 : 81-7.
  65. Sloomweg MC, Swolin D, Netelenbos JC, Isaksson OG, Ohlsson C. Estrogen enhances growth hormone receptor expression and growth hormone action in rat osteosarcoma cells and human osteoblast-like cells. *J Endocrinol* 1997 : 155 : 159-64.

-ABSTRACT-

## Effect of estrogen on growth hormone receptor expression of human periodontal ligament cell line

Sung-Gyu Hong, Young-Mi Jeon, Jong-Ghee Kim,

*Department of Orthodontics, School of Dentistry, Institute of Oral Bioscience,  
Chonbuk National University*

The present studies were performed to investigate the interaction of  $17\beta$ -estradiol and human growth hormone(hGH) on the proliferation of human periodontal ligament(hPDL) cell. The independent effects of  $17\beta$ -estradiol and hGH on hPDL cell proliferation were investigated and the effects of hGH on hPDL cell proliferation after  $17\beta$ -estradiol pre-treatment were also investigated. Lastly, the change of hGH receptor expression in hPDL cell after  $17\beta$ -estradiol pre-treatment were investigated.

The obtained results were as follows;

1. The treatment of  $17\beta$ -estradiol or hGH had no significant effects on hPDL cell proliferation.
2. After pre-treatment of  $17\beta$ -estradiol, hGH stimulated the proliferation of the hPDL cell, regardless of hGH concentration.
3. Although there was not hGH receptor in the hPDL cell, hGH receptors were expressed in hPDL cell after more than 6 hours pre-treatment of  $17\beta$ -estradiol.
4. The effect of hGH on hPDL cell proliferation was related to the hGH receptor expression.  $17\beta$ -estradiol pre-treatment contributed to the hGH effects on the hPDL cell by stimulating hGHR expression.

KOREA. J. ORTHOD. 2000 ; 30 : 441-452

※ **Key words** : human periodontal ligament(hPDL) cell,  $17\beta$ -estradiol, human growth hormone