[UCI]I804:24011-200000233908

2007년 2월 석사학위논문 간헐적 교정력 적용 후 백서 치주인대에서 UNC-50의 발현 박 미 경

2007년 2월
석사학위논문

간헐적 교정력 적용 후 백서 치주인대에서 UNC-50의 발현

조선대학교 대학원

치의학과

박 미 경

간헐적 교정력 적용 후 백서 치주인대에서 UNC-50의 발현

Expression of UNC-50 in periodontal tissue of the rats after application of intermittent orthodontic force

2007년 2월 일

조선대학교 대학원

치의학과

박 미 경

간헐적 교정력 적용 후 백서 치주인대에서 UNC-50의 발현

지도교수 임 성 훈

이 논문을 치의학 석사학위 신청논문으로 제출함.

2006년 10월 일

조 선 대 학 교 대 학 원

치 의 학 과

박 미 경

박미경의 석사학위 논문을 인준함.

위원장 조선대학교 교 수 김 광 원 인

위 원 조선대학교 교 수 박 주 철 인

위 원 조선대학교 교 수 임 성 훈 인

2006년 11월 일

조 선 대 학 교 대 학 원

목 차

도목차 ····· ii

영문초록 ····· iii

I. 서론 ····· 1

II. 연구재료 및 방법 ····· 3

III. 연구성적 ····· 5

IV. 총괄 및 고안 ····· 6

V. 결론 ····· 9

참고문헌 ····· 11

도 목 차

Fig 1. A morphological finding of the periodontal tissue of the mesio-palatal root of maxillary first molar after application of intermittent orthodontic force. A, Day 1. H-E stain, X40; B, day 3. H-E stain, X100; C, day 5. H-E stain, X100. Cementum deposition on the apical third of root apex on tension side (ts). The thickness of the periodontal ligament appeared to be more increased on tension side compared to that of compression side at day 3. ab, alveolar bone; pdl, periodontal ligament; c, cementum; d, dentin····· **16**

Fig 2. Immunohistochemical findings of UNC-50 after application of intermittent orthodontic force. A, Day 1. H-E stain, X100; B, day 3, H-E stain, X100; C, day 5, H-E stain, X100. UNC-50 immunoreactivity is stronger in differentiating cementoblasts of the tension side compared to that of compression side. UNC-50 immunoreactivity is stronger in differentiating cementoblasts at day 3 compared to that of day 1 and day 3.····· **17**

Fig 3. Immunohistochemical findings of osteoclaicin protein after application of intermittent orthodontic force. A, Day 1. H-E stain, X100; B, day 3, H-E stain, X100; C, day 5, H-E stain, X100. Osteoalcin immunoreactivity is detected in differentiating cementoblasts of the tension side.····· **17**

ABSTRACT

Expression of UNC-50 in periodontal tissue of the rats after application of intermittent orthodontic force

Mi-Kyoung Park, D.D.S
Advisor : Prof. Sung-Hoon Lim, D.D.S., M.S.D.
Department of Dentistry, Graduate School of Chosun University

Objective: Periodontal ligament fibroblasts have an ectomesenchymal origin and are thought to play crucial roles for not only homeostasis of periodontal tissue but also bone remodeling, wound healing and regeneration of tissue. Recently, it has been reported that UNC-50 is not expressed in gingival fibroblast but in PDL fibroblast. The purpose of this study was to examine the expression of UNC-50 and osteoclacin in periodontium of after application of intermittent force. Methods: Twelve rats had 40 grams of mesially directed force applied at the upper molar for 1 hour/day. Four rats were sacrificed at 1, 3, and 5 days. Immunohistochemical localization of UNC-50 and osteocalcin antibody was carried out. The results showed apposition of new cellular cementum and a slight increase in periodontal space at the tension side. Results: Strong UNC-50 expression was observed in the differentiating cementoblasts close to PDL fibroblasts in tension side whereas it was barely expression in compression side. Expression was strong at day 3, and decreased at day 5. Osteoclacin immunoreactivity expression was strong in

differentiating cementoblasts at the tension side. Conclusion: It can be suggested that UNC-50 is related to the differentiation of cementoblasts, and may be responsible for the molecular event in PDL cells under mechanical stress.

I. 서 론

치아에 교정력을 가하면 힘의 방향에 따라 치주인대에 압박측과 인장측이 생기게 되는데 압박측 치주인대에서는 초자화대가 형성되고 파골세포가 나타나 치조골의 흡수가 일어나며, 인장측에서는 골모세포가 나타나 치조골의 형성이 일어난다. 또한 인장측의 치근면에서는 백악모세포가 나타나 치근 표면에 세포성 백악질을 형성하게 된다[33]. 이런 치아 이동과 조직의 재형성 과정에서 치주인대가 중요한 역할을 하게 된다. 치주인대는 두 개의 석회화 조직인 골과 백악질 사이에 위치하는 치밀결합조직으로 치아를 유지시켜주고 경조직의 구조적 특성을 유지시키는 데 중요한 기능을 할 뿐만 아니라 생체 내에서의 인접 치조골 및 백악질의 수복과 재생에도 관여하는 것으로 알려져 있다[21].

치주인대는 결체조직세포, 상피세포, 방어기전에 작용하는 세포와 신경혈관계에 관여하는 세포들로 구성되어 있다. 결체조직 내에 있는 세포로는 섬유아모세포, 조골세포, 백악모세포, 파골세포, Malassez 상피세포, 미분화된 간엽세포들이 존재하며 섬유모세포가 치주인대 전부피의 약 50%를 차지한다고 알려져 있다.

치주조직 내에는 치주인대 섬유모세포, 치은 섬유모세포 두 종류가 존재한다. 두 종류의 섬유모세포는 서로 근접해 있고 동일한 섬유모세포 집단을 이루지만 발생학적 기원은 다르다. 치은 섬유모세포는 간엽조직에서 기원한 반면, 치주인대 섬유모세포는 외배엽성 간엽조직에서 기원하였다[22]. 치주인대 섬유모세포는 높은 알칼리성 인산분해 효소 활성, 부갑상선 호르몬에 대한 반응, 골 유사 기질의 폴리펩타이드의 생산 및 석회화 결절 형성과 같은 골과 백악질을 형성하는 세포의 전구세포가 가지는 특징을 보인다[4,6]. 이것은 치주인대 섬유모세포가 치은 섬유모세포와 달리 치주조직의 재형성시 골모세포나 백악모세포로 분화가 가능하다는 것을 의미한다. Schroeder[35]와 Cho 등[7]은 치주인대 섬유모세포는 백악모세포나 골모세포로 분화할 수 있는 능력을 가지고 있다고 하였다. 치주인대 섬유모세포는 치주조직의 항상성에 있어 아주 중요한 역할을 하고 있다[10,36,15]. 그러나 현재까지 치주인대 섬유모세포의 분화를 조절하는 분자생물학적 기전은 명확히 알려져 있지 않다.

Park 등[27]은 치주조직의 재형성을 유도할 수 있는 분화유도인자에 관한 연구에서 일

반 결합조직의 섬유모세포인 치은 섬유모세포에 비하여 치주인대 섬유모세포에서 선택적으로 발현되는 유전자가 치주인대의 발생과 분화에 중요한 역할을 할 수 있을 것으로 추정하여 배양 치은 섬유모세포와 치주인대 섬유모세포 사이의 유전자들을 subtraction 방법으로 비교하여 치주인대 섬유모세포-특이 유전자들을 검출하였으며 이 중에서 PDLs22가 치주인대 세포의 분화와 재생 과정에 관여할 가능성이 있다고 하였다. 또한 치주인대에서 추출한 PDLs22가 인간의 UNC-50 단백질 homologue(Gene Bank accession no. AF070038)와 동일한 염기서열을 나타낸다고 하였다. UNC 유전자는 C. elegans에서 처음으로 발견되었으며 초파리의 X-염색체에 위치해있다[29,17]. 이 유전자에 돌연변이가 일어나면 기계적인 응력의 전달에 있어서 이상이 발생하여 운동기능 장애와 반응력의 저하를 가져온다. 그래서 초파리의 유충은 촉각에 무감각을 보이고, 성충은 행동 장애가 일어나 소파 반사 유도를 이끌어내는 데 실패한다[28]. 만약 동족과의 경쟁적인 환경이 아니면 반접합 UNC와 UNCL 유전자를 가진 초파리는 유충과 번데기 시기에는 대부분 살 수 있지만, 우화의 과정을 거친 다음은 일어날 수 없거나 걸을 수 없어서 죽게 된다. UNC-50에 대해서는 신경계 니코틴 아세틸콜린 수용기 핵내막에 있는 RNA-binding protein이라는 보고만 있을 뿐 기계적 응력 적용 시 치주인대 내에서 UNC-50의 역할에 관한 연구는 이루어지지 않고 있다[13]. 그러나 초파리의 UNC 유전자에 이상이 발생하면 운동기능 장애와 반응력의 저하를 가져온다는 보고로 보아 인간에서의 UNC 유전자도 기계적인 응력의 수용과 관련될 수 있음을 생각할 수 있다.[17,28,29].

치아에 가하여지는 교정력은 치근막을 통하여 치조골과 악골에 전달되며, 치주인대의 재형성과 골조직의 개조를 통해 치아 이동이 일어난다. 이러한 치아 이동은 일차적으로 기계적 자극을 감지하는 치근막과 세포 반응에 의하여 나타난다. 치아 이동에 관여하는 대표적인 치주조직의 세포로는 골모세포, 파골세포, 치주인대세포, 섬유모세포, 골세포 등을 들 수 있다. 이러한 세포들은 교정력이라는 기계적 응력에 대하여 각각 반응을 하고 이러한 반응들의 복합된 총체적 결과로서 치주 조직의 재형성이 일어난다[1].

교정력은 힘의 적용 방식에 따라 지속적인 힘, 단속적인 힘, 간헐적인 힘 이 세 가지로 나누어진다[25,26,32]. 그 중에서 간헐적인 힘은 세포증식을 자극하는 역할을 하는 것으로 생각되어져 왔다. Oppenheim 등[26]은 원숭이 전치의 최적의 치아 이동을 위해서는 간헐적인 힘이 적당하다고 하였고, Reitan 등[32]은 사람의 소구치에서 간헐적 힘에 의해

형성된 반유리화 및 유리화된 퇴행성 조직이 지속적인 힘에 의해 형성된 것에 비해 더 빨리 흡수될 수 있다고 하였다. 그리고 O'Connor 등[25]은 생리적인 수준의 기계적 신호에 대해서 짧은 노출에도 골의 재형성을 자극할 수 있다고 하였다.

따라서 본 연구에서는 간헐적 교정력 적용 시에 백서의 치아에서 일어나는 치근 및 치주 조직의 조직학적 변화와, UNC-50의 발현 양상을 면역조직학적 염색으로 조사하여 치주인대에서 기계적 응력과 UNC-50 발현의 관련성을 알아보고자 하였다.

II. 연구재료 및 방법

1. 연구재료

체중 250g 전후의 Sprague-Dawely계 수컷 백서 12마리를 사용하였다. 동물들은 사육실에서 격리, 사육되었으며, 실험기간 동안 시판되는 고형사료와 물을 충분히 공급하였다. 4마리씩 세 군으로 나누어 상악 우측 구치부에 간헐적인 교정력을 적용한 후 1, 3, 5일 후 치주인대의 조직학적 변화를 관찰하였다. 견인력을 적용하기 위해 NiTi closed coil spring(Sentalloy, Tomy, Tokyo, Japan)을 사용하였다.

2. 연구방법

쥐의 체중을 측정한 후 체중 100g당 4mg의 용량으로 염산 케타민(Yuhan, Seoul, Korea)을 복강 내에 주사하여 마취시켰다. Pincette을 변형하여 개구기로 사용하였으며, 술자가 쥐의 혀를 견인하여 시야를 확보하였다.

37% 인산(MonoLok etching agent, RMO, Denver, USA)을 상악 우측 제1대구치에 도포하여 산부식한 후, 면구에 증류수를 적셔 세척하였다. 산부식 및 세척 과정 중에 일어날 수 있는 물이나 부식액 흡입으로 인한 기도손상을 막기 위해 면구로 물과 타액을 흡입하여 제거하였다. 산 부식된 치아표면을 압축공기로 건조시키고, 광중합형 접착제(Transbond XT, 3M Unitek, Monrovia, CA, USA)를 얇게 바르고 5초간 광중합하

였다. 0.3mm 두께의 결찰선을 꼬아서 만든 철사의 한쪽 끝에 고리를 만들어, 고리가 달린 부분을 지혈겸자로 잡고, 반대쪽에는 유동성 복합레진(Filtek Flow, 3M ESPE, Monrovia, CA, USA)을 바른 뒤, 치아의 교합면에 접촉시킨 다음, 20초간 광중합하였다. 상악 중절치에는 구치부에 시행한 것과 동일한 방법으로 산부식하여 접착제를 바르고 광중합을 실시한 다음, 유동성 복합레진을 공모양으로 만들어 광중합하였다.

그 후 NiTi closed coil spring의 한쪽 끝은 구치부에 붙여둔 철사의 고리에 걸고 spring의 반대쪽 끝은 고무실을 이용하여 40g 정도의 견인력이 발생하도록 하여 중절치의 공모양의 복합레진에 결찰하였다. 1시간의 교정력 적용 후 NiTi coil spring을 제거하였다. 이러한 방법을 사용하여 하루에 1시간씩 견인력을 적용시켰으며, 1일 적용군, 3일 적용군, 5일 적용군의 세 군으로 나누어 적용하였다.

3. 실험동물의 희생 및 조직절편 제작

실험이 종료된 후, 실험동물은 체중 100g당 8mg의 염산케타민을 복강 내에 주사하여 깊은 심도로 전신 마취시켰다. 그리고 4% paraformaldehyde(0.1M phosphate buffer, pH 7.4)를 300ml씩 사용하여 관류 고정하는 방법으로 희생시켰다. 희생된 동물의 두부를 절제한 후, 상악을 분리하였다. 분리된 상악은 4% paraformaldehyde(0.1M phosphate buffer, pH 7.4)에 담가 3일간 고정한 후, 10% EDTA - 1% paraformaldehyde에서 3주간 탈회하였다. 탈회를 확인한 다음 수세, 탈수 등 통법의 조직처리 과정을 거친 후 파라핀에 포매하였다. 포매된 조직을 6㎛ 두께로 박절하였으며 이를 syran 코팅된 슬라이드에 붙이고, H-E 염색을 시행하였다.

3-1. 면역조직화학적 염색

절편을 xylene으로 탈파라핀 처리하고 100%, 90%, 80%, 70% ethanol의 순서로 함수 후, 0.1M PBS로 두 차례 세척하고, 0.3% 과산화수소가 포함된 완충액(methanol 40ml + 30% H_2O_2 0.4ml)에서 20~30분 동안 endogenous peroxide block 처리한 후 다시 PBS로 세 차례 더 세척하였다. 이 절편을 1.0% BSA(bovine serum albumin)가 함유된 PBS 용액에 희석된 정상 혈청으로 30분 동안 예비 항온 처리한 뒤, PBS로 세척하였다. 일차 항체로 1:100의 비율로 희석한 rabbit anti-UNC-50과 1:200의 비율로 희석한 anti-osteoclacin (Biotech, Santacruz, CA, USA) 을 이용하여 4℃에서

1시간 동안 처리하였다[2,3]. 일차항체 처리된 절편을 PBS로 40분 동안 세척한 후, 2차 항체로서 IgG(1:200)를 이용하여 실온에서 1시간 동안 처리하였다. PBS로 20분 동안 세척한 후, ABC 시약(Vector Lab, Burlingame, USA)으로 45분 동안 반응시켰다. PBS로 20분 동안 세척한 후, 0.05% DAB(Deamniobenzidine Tetrahydrochloride)를 이용하여 비색반응으로 발색시키고, 절편을 세척하여 헤마톡실린으로 대조염색한 후 광학 현미경으로 관찰하였다.

III. 연구성적

치관에서 견인력을 가한 결과 치아의 경사 이동이 일어나게 되어 상악 우측 제1대구치의 근심 구개측의 치근에서 치근단 근심측은 인장력을 받는 곳이 되었고, 치근단 원심측은 압박력을 받는 곳이 되었다.

형태학적 소견

a. 인장측

1시간의 교정력 적용 후 하루(24시간) 경과 후에는 치주 인대의 고유한 배열은 큰 변화를 보이지 않으며, 인접한 치조골과 치근에서 흡수 양상이나 파골세포는 관찰되지 않았다. 치아의 근단부 치근면을 따라 신생 백악모세포의 분포가 확인되었다. 3일째에는 1일과 비교하여 백악모세포분화와 더불어 신생 백악질의 침착이 관찰되었다. 그리고 치주인대공간이 약간 증가된 양상을 보였다. 5일째에는 3일째와 비교하여 큰 변화는 보이지 않았으며 치조골과 치근 흡수도 관찰되지 않았다(Fig 1).

b. 압박측

치주 인대의 고유한 배열은 큰 변화는 보이지 않았으며, 인접한 치조골과 치근에서 흡수 양상이나 파골세포도 관찰되지 않았다. 또한 치아의 근단부에서 활발한 백악모세포의 분화나 새로운 백악질의 침착도 관찰되지 않았다(Fig 1).

면역조직화학적 소견

a. 인장측

1일째에는 신생 백악질에 존재하는 분화 중인 백악모세포를 따라 UNC-50의 발현이 관찰되었다. 치주인대세포에서도 발현되었으며, 특히 신생 백악질과 인접한 치주인대세포에서 더 강하게 나타났다. 3일째에는 1일째에 비해 신생 백악질에 존재하는 분화 중인 백악모세포를 따라 더 강한 발현을 보였으며, 치주인대세포에서의 발현 역시 비슷한 양상을 보인다. 5일째에도 발현을 보이나 3일째에 비해 감소한 양상을 보였으며, 이미 형성되어 있는 백악질이나 치조골에 존재하는 백악세포나 골세포에서는 발현을 보이지 않았다(Fig 2).

b. 압박측

1, 3, 5일째 치주인대세포와 백악모세포에 UNC-50의 발현은 미약하게 보였고 특이한 소견은 관찰되지 않았다(Fig 2).

Osteocalcin의 면역조직화학적 소견

a. 인장측

1, 3, 5일째 모두 압박측에 비해 신생 백악질에 존재하는 분화 중인 백악모세포를 따라 강한 발현을 보였다. 이미 형성되어 있는 백악질이나 치조골에 존재하는 백악세포나 골세포에서는 osteocalcin의 발현은 관찰되지 않았다(Fig 3).

b. 압박측

Osteocalcin 단백질은 1, 3, 5일째 모두 그 발현이 특이하게 증가되는 소견은 관찰되지 않았다(Fig 3).

Ⅴ. 총괄 및 고안

본 연구에서 하루에 1시간씩 40g의 간헐적 교정력을 1, 3, 5일 적용한 결과 백악모세포의 분화와 백악질의 침착을 유도할 수 있었지만 치조골의 변화나 치아의 근심 이동은 관찰되지 않았다. 교정력의 크기에 있어서 Kirino 등[19]은 쥐의 구치를 이동하는데 있어서 10g이 가장 적정한 힘이라 하였고, King 등[18]은 쥐의 구치의 효과적 이동을 위해서는 20~40g의 힘이 필요하다고 하였고, 40g이 넘으면 힘의 크기가 증가하더라도

속도는 증가하지 않는다고 하였다. 본 연구 결과 조직학적으로 치수의 괴사나 광범위한 치근의 흡수 소견은 보이지 않아 40g의 힘은 생리적으로 적절하였으리라 생각된다. 교정력 적용 시 기간과 빈도에 있어서 Gibson 등[14]은 하루에 1시간씩 힘을 적용하였을 때 쥐의 구치의 근심 이동에 효과적이라고 보고하였다. 반대로 Konoo 등[20]은 하루에 1시간씩 14일 동안 힘을 적용하였을 때 파골세포의 수는 증가하였지만 쥐의 구치 이동에 비효과적이라고 보고하였다. Davidovitch 등[11]은 사이클릭 뉴클레오타이드 수준을 높이기 위해서지는 최소 4시간의 지속적인 힘이 필요하다고 하였다. 본 연구 결과 치아의 이동은 관찰되지 않아 하루에 힘을 적용하는 시간이 부족했으리라 생각된다. 지금까지 힘의 크기, 적용 기간, 방법에 대한 많은 연구들이 있었지만 아직 치아의 이동과 힘의 적용 기간에 관한 정확한 관계는 아직 풀리지 않은 상태로 남아 있다.

치조골과 백악질의 형성에 있어 치주인대 세포의 분화와 관련된 인자들로 BMP (bone morphogenetic proteins)[31], PDGF (platelet-derived growth factor)[16], TGF-β1 (transforming growth factor)[12], FGF (fibroblast growth factor)[5], EGF (epidermal growth factor)[8], PTH-RP (parathyroid hormone-related protein)[24]들에 관한 연구들이 이루어져 왔다. 그러나 이들 인자들은 경조직의 형성에 전반적으로 관여하는 인자들로 알려져 있으며 치주인대 섬유모세포의 분화에 선택적으로 관여한다고는 볼 수 없다. 최근에 Park 등[27]은 치은 섬유모세포와 치주인대 섬유모세포 사이의 유전자들을 subtraction 방법으로 비교하여 치주인대 섬유모세포에서 특이하게 발현되는 치주인대-특이 유전자 UNC-50 cDNA를 얻었다. 교정 치료에 의한 치아 이동은 기계적 응력의 작용하에 치주조직이 재형성되는 과정을 통해 이루어지므로 본 연구에서는 간헐적 교정력 적용 시에 기계적 응력의 세포내 전달과정에 관여하는 것으로 알려진 UNC-50의 발현을 관찰하여 기계적 응력에서 UNC-50의 역할을 알아보고자 하였다.

Nilda 등[23]와 Cho 등[9] 그리고 Ramakrishman 등[30]은 치주인대 세포를 dexamethasone 등이 함유된 배지에서 배양하였을 때 석회화 조직 형성세포로 분화하게 된다고 하였다. 지 등[3]의 연구에서 2주 동안 치주인대 섬유모세포를 배양하였을 때 치주인대 섬유모세포는 증식, 분화하여 석회화 결절을 형성하였다. 이 때 UNC-50 cDNA의 발현은 치주인대 섬유모세포의 분화와 더불어 증가하여 배양 후 7일까지는 발현이 유지되다가 석회화 결절이 형성되는 2주째에 약간 감소하는 양상을 보였다. 이

에 따라 UNC-50이 치주인대 섬유모세포의 증식과 분화, 치조골과 백악질의 초기 분화나 석회화 전단계에서 어떤 역활을 하는 것으로 추정하였다. 본 연구에서 UNC-50은 인장측의 백악모세포와 인접한 치주인대세포에 강한 발현을 보임으로서 UNC-50이 치주인대 섬유모세포로부터 백악모세포로 분화할 때 그 발현이 증가함을 알 수 있었다. UNC-50의 발현 양상은 1일째부터 발현되어 3일째에 가장 강한 발현을 보이다가 5일째에 이르러 감소하는 양상을 보이고 있어 백악질의 초기분화에 관여한다는 것을 추측할 수 있었다. 백악모세포의 분화가 특별히 없는 압박측에서는 발현이 미약한 것으로 미루어 안정된 상태의 치주조직에서는 UNC-50의 작용이 미약하다는 것을 알 수 있었다.

또한 김 등[2]은 쥐의 치주조직 발생과정에서 UNC-50의 발현에 대해 보고한 바 있는데, 치근이 형성되기 시작하는 시기인 생후 14일에 UNC-50은 외치아상피와 하방의 별그물에서 약하게 발현되었고 이러한 발현은 발생중인 치근 상아질에 인접한 Hertwig's 상피근초의 외치아상피층까지 이어졌다. Hertwig's 상피근초는 내, 외치아상피에서 유래된 두 층으로 구성되고 내치아상피는 치근의 상아질을 형성하도록 유도한다[34]. Hertwig's 상피근초는 치아 형성 기간 동안 백악질을 형성하고 최종적으로 Malassez 상피잔사로 치주인대 내에 존재한다. 이 연구결과는 Hertwig's 상피근초가 백악모세포의 초기분화에 중요한 역할을 한다는 사실에 비추어 UNC-50의 백악모세포 분화과정에서의 역할을 시사하였다. 또한 UNC-50은 발육중인 치아의 치조골과 치근면을 따라서 백악모세포 전구세포, 치주인대 섬유모세포와 골모세포 전구세포에서 강한 발현을 보였다[2,3]. 이것은 UNC-50이 치주인대의 항상성 유지와 재생과정에서 치조골 또는 백악질의 형성을 촉진하는 기능과 관련 있다는 것을 암시하는 것이다. 본 연구에서도 간헐적 교정력에 대한 반응의 결과로 인장측의 백악질 침착 부위에서 UNC-50이 강한 발현을 보이는 것으로 보아 백악모세포를 분화하여 백악질 형성과 관련되어 있다는 것을 알 수 있었다. 본 연구에서 osteoclacin은 1일부터 5일째까지 계속된 발현을 보이고 있다. Osteoclacin은 분화된 골모세포나 백악모세포의 marker 단백질로 사용될 수 있기 때문에 이 결과는 새로운 백악모세포가 분화하고 있다는 것을 암시한다. 또한 인장측에서 강한 발현을 보이는 것은 백악모세포의 분화가 인장측에서 활발하다는 것을 보여준다.

Fitzgerald 등[13]은 hydrophobicity plot 분석을 통하여 UNC-50은 여러 개의 막투과

영역을 가질 것으로 예상하였고, SOSUI WWW Server(http//sosui.proteome.bio.tuat.ac.jp)로부터 분석한 자료에 의하면 UNC-50은 핵막에 주로 발현된다고 하였다. 따라서 UNC-50은 막투과 단백질로서 세포의 신호 전달체계에 관여할 것으로 추측된다.

이 연구를 요약해보면 UNC-50은 교정력과 같은 외부의 기계적인 응력을 가하였을 때 발현되고 백악모세포의 분화와 백악질 형성에 중요한 역활을 할 것으로 생각된다. 그러나 본 연구 결과에서 치아 이동은 일어나지 않아 치조골 개조 시에 UNC-50의 발현과 역할에 관한 부분은 미흡하였다. 이것은 치아의 이동을 유발하기에는 힘의 적용 기간이 적었으리라 유추되기 때문에 교정력의 적용 시간이나 기간을 증가시키는 방향으로 더 연구가 필요할 것으로 생각된다. 그리고 UNC-50이 세포의 신호 전달체계에 관여할 것이라고 생각되지만 어떤 기전에 의해 백악모세포를 분화하는지와 실제 UNC-50의 치주조직 재생에 이용 가능성을 이해하기 위해서는 RNA interference와 overexpression, knock/out 쥐의 제작과 같은 연구를 통해 세포 내 신호 전달 과정에 관한 연구가 계속 이루어져야 할 것으로 생각된다.

Ⅴ. 결 론

각각 1, 3, 5일간 하루에 1시간씩 간헐적 교정력을 적용한 백서들에서 UNC-50의 발현을 알아보고자 면역조직화학적 방법을 이용한 연구를 시행하여 아래와 같은 결과를 얻었다.

1. 조직학적 소견에서 상악 제1대구치 근심구개치근의 치근부 1/3에서 압박측은 인장측보다 더 좁은 치주인대공간을 보였다.
2. 교정력을 적용시킨 후 3일 후부터 인장측에서 백악모세포 활성으로 인한 백악질 침착이 관찰되었다.
3. UNC-50의 발현은 인장측의 치주조직의 분화 중인 백악모세포에서 강한 발현을 보였다. Osteocalcin의 발현은 인장측에서 압박측에 비해 신생 백악질에 존재하는 분화

중인 백악모세포를 따라 강한 발현을 보였다.

이상의 결과를 종합해보면, UNC-50은 간헐적 교정력을 적용했을 때 인장측의 백악모세포에서 주로 발현되며, 백악모세포의 분화 초기단계에 관여하는 것을 알 수 있다. 그러나 UNC-50이 교정적 치아 이동시 발현되는 양상을 연구하기 위해서는 힘의 적용기간을 증가시킨 연구가 더 필요하고 치주조직의 재생의 조절에 관여하는 기전을 이해하기 위해서는 UNC-50의 세포 내 신호전달과정에 대한 연구가 계속 이루어져야 할 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

1. 권숙이, 배성민, 경희문, 성재현. “지속적 및 간헐적 가압력이 치주인대 배양세포의 Alkaline Phosphatase 활성도에 미치는 영향.” 『대치교정지』 27:599-605, 1997.

2. 김흥중, 정문진, 김병옥, 국중기, 김종관, 박주철. “치주조직의 발생과 분화과정에 치주인대-특이 유전자 PDLs22의 발현.” 『대한구강악안면병리학회지』 29(1):17-23, 2005.

3. 지숙, 김병옥, 김흥중, 김성미, 박주철. “치주인대, 이틀뼈 및 시멘트질의 발생과정에서 치주인대-특이 유전자 PDLs22의 발현.”『대한해부학회지』 36:123-132, 2003.

4. Beertsen W, McCulloch CA, Sodek J. “The periodontal ligament : a unique, multifunctional connective tissue.” *Periodontology 2000* 13:20-40, 1997.

5. Canalis E, McCarthy T, Centrella M. “Effects of basic fibroblast growth factor on bone formation in vitro.” *J Clin Invest* 1:1572-1577, 1988.

6. Chien HH, Lin WL, Cho MI. “Expression of TGF-beta isoforms and their receptors during mineralized nodule formation by rat periodontal ligament cells in vitro.” *J Periodontal Res* 34:301-309, 1999.

7. Cho MI, Garant PR. “Expression and role of epidermal growth factor receptor during differentiation of cementoblasts, osteoblast, and periodontal ligament fibroblasts in the rat.” *Anat Rec* 245:342-36, 1996.

8. Cho MI, Lin WL, Garant PR. “Occurrence of epidermal growth factor-binding sites during differentiation of cementoblasts and periodontal ligament fibroblasts of the young rat: A light and electron microscopic radiographic

study." *Anat Rec* 231:14-24, 1991.

9. Cho MI, Matsuda N, Lin WL, Moshier A, Ramakrishman PR. "In vitro formation of mineralized nodules by periodontal ligament cells from the rat." *Calicif Tissue Int* 50:459-467, 1992.

10. Cochram DL, Wozney JM. "Biological mediators for periodontal regeneration." *Periodontology 2000* 19:40-58, 2000.

11. Davidovitch Z, Shanfeld JL. "Cyclic AMP levels in alveolar bone of orthodontically-treated cats." *Arch Oral Biol* 20:567-74, 1975.

12. Dennison DK, Vallone DR, Pinero GJ, Rittman B, Caffesse RG. "Differential effect of TGF-β1 and PDGF on proliferation of periodontal ligament cells and gingival fibroblast." *J Periodontol* 65:641-48, 1994.

13. Fitzgerald J, Kennedy D, Viseshakul N, Cohen BN, Mattick J, Bateman JF, Forsayeth JR. "UNCL, the mammalian homologue of UNC-50, is an inner nuclear membrane RNA-binding protein." *Brain Res* 877:100-123, 2000.

14. Gibson JM, King GJ, Keeling SD. "Long-term orthodontic tooth movement response to short-term force in the rat." *Angle Orthod* 62:211-15, 1992.

15. Hammarstrom L, Heiji L, Gestrelius S. "Periodontal regeneration in a buccal dehiscence model in monkeys after application of enamel matrix proteins." *J. Clin. Periodontol* 24:669-77, 1997.

16. Howes R, Bowness JM, Grotendorst GM, Marting GR, Reddi AH. "Platelet-derived growth factor enhances demineralized bone

matrix-induced cartilage and bone formation." *Calcif Tissue Int* 42:34-38, 1998.

17. Kernan M, Cowan D, Zuker C. "Genetic dissection of mechanosensory transduction : mechanoreception-defective mutation of Drosophila." *Neuron* 12:1195-1206, 1999.

18. King GJ, Keeling SD, McCoy EA, Ward TH. "Measuring dental drift and orthodontic tooth movement in response to various initial forces in adult rats." *Am J Orthod* 99:456-65, 1991.

19. Kirino Y, Tsuchiya T, Kurihara S, Chiba M, Miura F. "A study of tooth movement with super-elastic force." *J Jpn Orthod Soc* 99:315-24, 1991.

20. Konoo T, Kim YJ, Gu GM, King GJ. "Intermittent force in orthodontic tooth movement." *J Dent Res* 80:457-60, 2001.

21. McCulloch CA. "Basic consideration in periodontal wound healing to achieve regeneration." *Periodontology 2000* 16-25, 1993.

22. Nancy A, Ten Cate's "Oral Histology:Development, structure, and function." sixth ed. Mosby, Missouri. 240-274, 2003.

23. Nilda A, John JS, Jennifer M, Ruth AF, Martha J. "Human periodontal cells nitiate mineral-like nodule in vitro." *J periodontal* 62:499-503. 1991.

24. Nohutch RM, Somerman MJ, McCauley LK. "Dexamethasone enhances the effects of parathyroid hormone(PTH) on human periodontal ligament cells in vitro." *Calcif Tissue Int* 56:571-77, 1995.

25. O'Connor JA, Lanyon LE, MacFie H. “The influence of strain rate on adaptive bone remodeling.” *J Biomech* 15:767-781, 1982.

26. Oppenheim A. “A possibility for physiologic orthodontic movement.” *Am J Orthod* 30:277-328, 1944.

27. Park JC, Kim YB, Kim HJ, Jang HS, Kim HS, Kim BO, Han KY. “Isolation and charaterization of cultured human periodontal ligament fibroblast-specific cDNAs.” *Biochemical and Biophys Res Communi* 282:1145-1153, 2001.

28. Perrimon N, Engstrom L, Maojwald AP. “Zygotic lethals with specific maternal effect phenotypes in Drosophila melanogaster. I. Loci on the X chromosome.” *Genetics* 121:333-352, 1989.

29. Perrimon N, Smouse D, Miklos GL. “Developmental genetics of loci at the base of the X chromosome of Drosophila melanogaster.” *Genetics* 121:313-331, 1989.

30. Ramakrishman PR, Lin WL, Sodek J, Cho MI. “Synthesis of noncollagenous extracellualar matrix proteins during development of mineralized nodules by rat periodontal cells in vitro.” *Calcif Tissue Int* 57:52-9, 1995.

31. Reddi AH, Cunningham NS. “Initiation and promotion of bone differentiation by bone morphogenetic proteins.” *J Bone Miner Res* 8supple2:S499-502, 1993.

32. Reitan K. “Some factors determining the evaluation of forces in orthodontics.” *Am J Orthod* 43:32-45, 1957.

33. Reitan K. “Tissue behavior during orthodontic movement.” *Am J Orthod* 46:881-900, 1960

34. Ruch JV. “Odontoblast commitment and differentiation.” *Biochem Cell Biol* 76:923-938, 1998.

35. Schroeder HE. “The periodontium, Springer-Verlag.” Berlin 1986

36. Shimono M, Ishikawa T, Ishikawa H, Matsuzaki H, Hashimoto S, Muramatsu T, Shima K, Matsuzaka K, Inoue T. “Regulatory mechanisms of periodontal regeneration.” *Microsc Res Tech* 60:491-502, 2003.

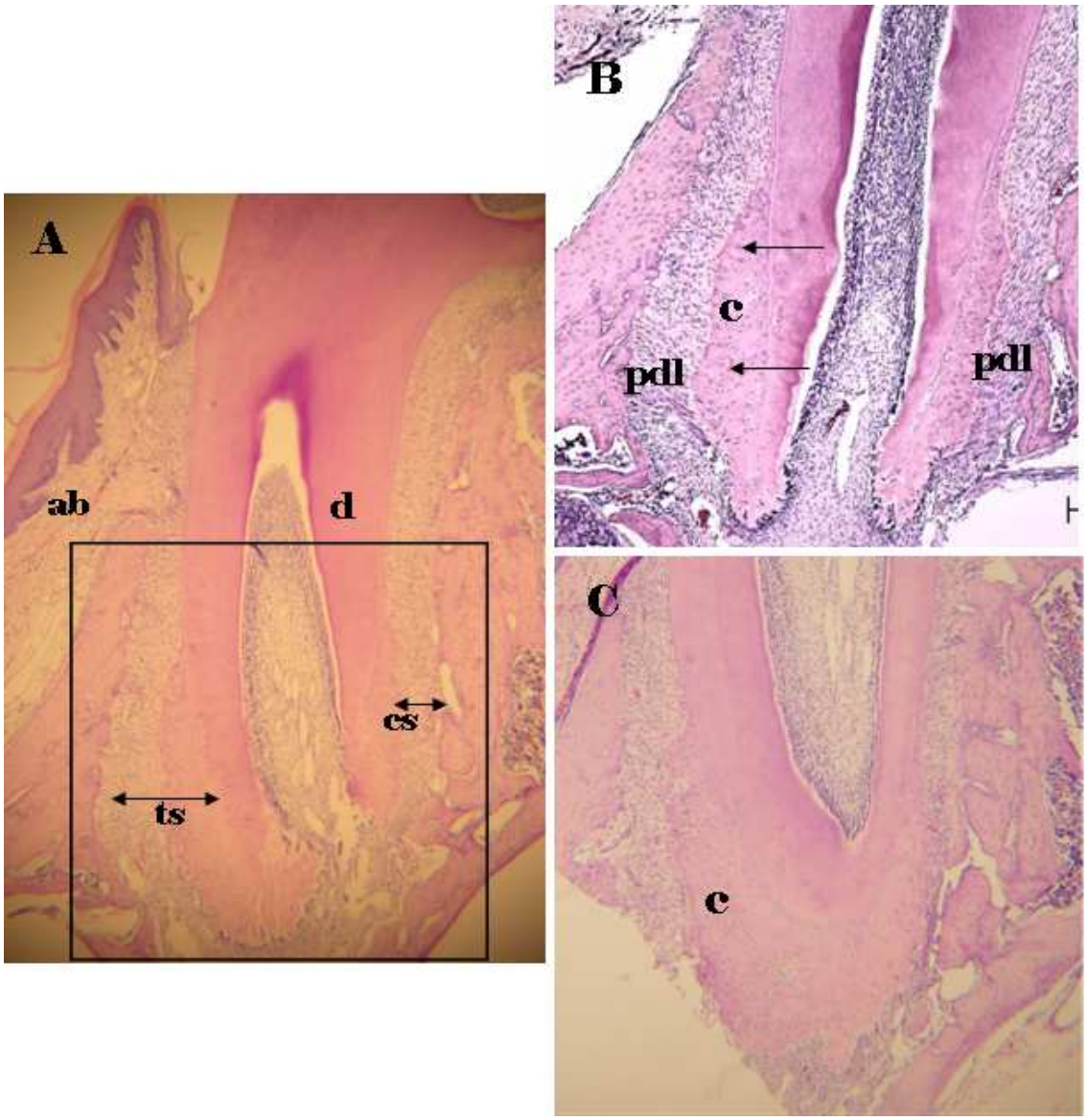

Fig. 1. A morphological finding of the periodontal tissue of the mesio-palatal root of maxillary first molar after application of intermittent orthodontic force. A, Day 1. H-E stain, X40; B, day 3. H-E stain, X100; C, day 5. H-E stain, X100. Cementum deposition on the apical third of root apex on tension side (ts). The thickness of the periodontal ligament appeared to be more increased on tension side compared to that of compression side at day 3. ab, alveolar bone; pdl, periodontal ligament; c, cementum; d, dentin

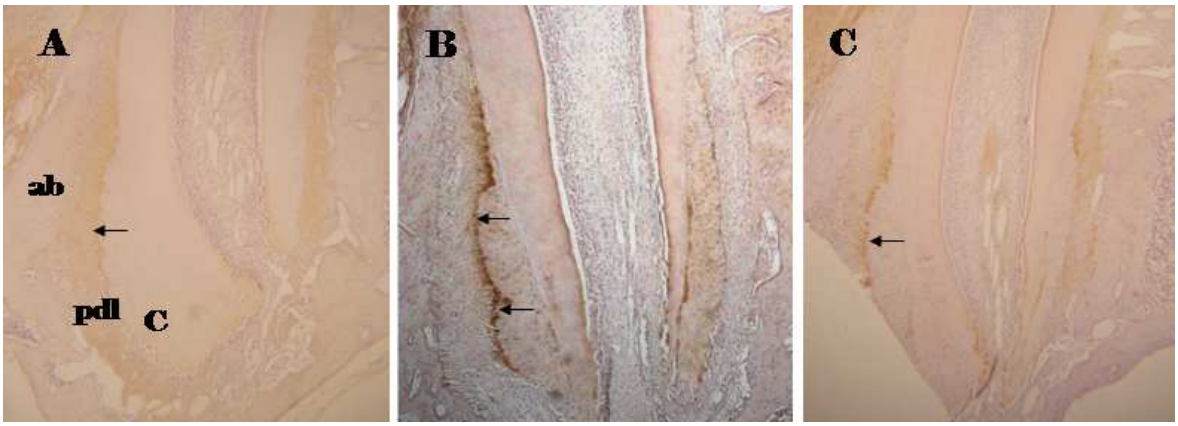

Fig 2. Immunohistochemical findings of UNC-50 after application of intermittent orthodontic force. A, Day 1. H-E stain, X100; B, day 3, H-E stain, X100; C, day 5, H-E stain, X100. UNC-50 immunoreactivity is stronger in differentiating cementoblasts of the tension side compared to that of compression side. UNC-50 immunoreactivity is stronger in differentiating cementoblasts at day 3 compared to that of day 1 and day 3.

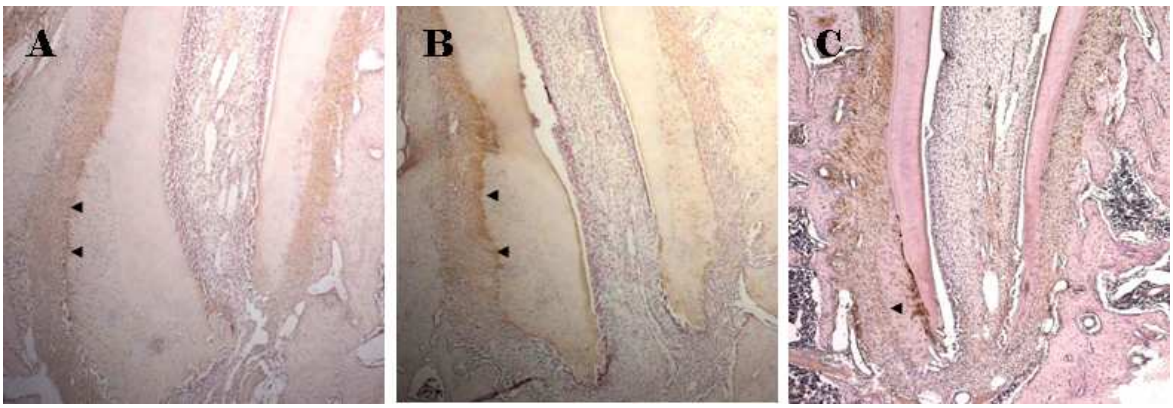

Fig 3. Immunohistochemical findings of osteoclaicin protein after application of intermittent orthodontic force. A, Day 1. H-E stain, X100; B, day 3, H-E stain, X100; C, day 5, H-E stain, X100. Osteoalcin immunoreactivity is detected in differentiating cementoblasts of the tension side.

저작물 이용 허락서

학 과	치의학과	학 번	20047214	과 정	석사
성 명	한글 : 박 미 경 한문 : 朴 美 京 영문 : Park mi kyoung				
주 소	광주광역시 동구 조선대 치과병원 교정과				
연락처	E-MAIL : qpqp-100@hanmail.net				
논문제목	한글 : 간헐적 교정력 적용 후 백서 치주인대에서 UNC-50의 발현 영문 : Expression of UNC-50 in periodontal tissue of rats after application of intermittent orthodontic force				

본인이 저작한 위의 저작물에 대하여 다음과 같은 조건아래 조선대학교가 저작물을 이용할 수 있도록 허락하고 동의합니다.

- 다 음 -

1. 저작물의 DB구축 및 인터넷을 포함한 정보통신망에의 공개를 위한 저작물의 복제, 기억장치에의 저장, 전송 등을 허락함
2. 위의 목적을 위하여 필요한 범위 내에서의 편집·형식상의 변경을 허락함. 다만, 저작물의 내용변경은 금지함.
3. 배포·전송된 저작물의 영리적 목적을 위한 복제, 저장, 전송 등은 금지함.
4. 저작물에 대한 이용기간은 5년으로 하고, 기간종료 3개월 이내에 별도의 의사표시가 없을 경우에는 저작물의 이용기간을 계속 연장함.
5. 해당 저작물의 저작권을 타인에게 양도하거나 또는 출판을 허락을 하였을 경우에는 1개월 이내에 대학에 이를 통보함.
6. 조선대학교는 저작물의 이용허락 이후 해당 저작물로 인하여 발생하는 타인에 의한 권리 침해에 대하여 일체의 법적 책임을 지지 않음
7. 소속대학의 협정기관에 저작물의 제공 및 인터넷 등 정보통신망을 이용한 저작물의 전송·출력을 허락함.

2006년 2월 일

저작자: 박 미 경 (인)

조선대학교 총장 귀하