[UCI]I804:24011-200000237393

2009년 2월
석사학위논문

MDPC-23 세포분화에서 MTA의 효과

조선대학교 대학원

치의공학과

이 백 희

MDPC-23 세포분화에서 *MTA*의 효과

Effects of MTA on MDPC-23 cell differentiation

*2009*년 *2*월 일

조선대학교 대학원

치의공학과

이 백 희

MDPC-23 세포분화에서 *MTA*의 효과

지도교수 김 흥 중

이 논문을 치의학 석사학위신청 논문으로 제출함.

*2008*년 *10*월 일

조선대학교 대학원

치의공학과

이 백 희

이백희의 석사학위 논문을 인준함

위원장 조선대학교 교 수 김 도 경 인

위 원 조선대학교 교 수 김 진 수 인

위 원 조선대학교 교 수 김 홍 중 인

*2008*년 *11*월 일

조선대학교 대학원

목 차

표 목 차 iii

도 목 차 iv

ABSTRACT v

Ⅰ. 서 론 1

Ⅱ. 재료 및 방법 3

1. MTA 여과용액의 제작 3

2. 세포배양 및 분화 3

3. Alizarin-Red S 염색 4

4. 총 RNA 추출 및 RT-PCR 분석 4

5. Densitometry 분석 5

Ⅲ. 실험결과 6

1. 석회화 결절 형성 확인 6

2. OC 유전자 발현 6

3. ALP 유전자 발현 6

4. BSP 유전자 발현 7

5. Type I collagen 유전자 발현 7

6. SPARC 유전자 발현 7

Ⅳ. 총괄 및 고안 8

Ⅴ. 결 론 11

Ⅵ. 참고문헌 12

사진부도 설명 15

사진부도 16

표 목 차

Table 1. Nucleotide sequences of the primers used for RT-PCR 5

도 목 차

Fig. 1. Photomicrographs of Alizarin Red-S stained NIH3T3 control (A) and MTA treated cells (B), MDPC-23 control (C) and MTA treated cells (D) 16

Fig. 2. OC expression in MDPC-23 cells 17

Fig. 3. ALP expression in MDPC-23 cells 18

Fig. 4. BSP expression in MDPC-23 cells 19

Fig. 5. Type I collagen expression in MDPC-23 cells 20

Fig. 6. SPARC expression in MDPC-23 cells 21

ABSTRACT

Effects of MTA on MDPC-23 cell differentiation

Lee, Baek-Hee

Advisor: Kim, Heung-Joong, D.D.S., M.S.D., Ph.D.

Department of Dental Engineering,

Graduate School of Chosun University

Mineral Trioxide Aggregate(MTA) shows strong alkalinity and has similar function with calcium hydroxide. It was developed as root end filling material, and used as pulpotomy and pulp-capping material. However, the effect of MTA on odontoblasts differentiation has not yet been known. The purpose of this study is to determine whether MTA promotes differentiation and nodules formation in MDPC-23 pre-odontoblast cell line.

MDPC-23 cells were cultured for up to 15 days in growth media containing differentiation medium with MTA or without MTA. Cultures were stained with Alizarin-S. The expression of OC, ALP, BSP, Type I collagen and SPARC mRNAs were analyzed by RT-PCR.

After Alizarin Red-S staining, MDPC-23 cells including MTA at day 5 showed obvious mineralization as compared with control cultures. MTA

significantly increased the expression of OC, ALP and BSP mRNAs in MDPC-23 cells as compared with control groups. However, the expression of Type I collagen and SPARC mRNAs in MTA groups decreased slower than control groups.

These results indicated that MTA was capable of promoting MDPC-23 cells differentiation and also suggested that MTA might play an important role in dentin mineralization.

I. 서 론

Mineral trioxide aggregate(MTA)는 pH가 12.5인 강알칼리성으로(Torabinejad 등 1995) 생체친화적인 측면과 조직학적 평가에서 수산화칼슘과 유사한 작용을 하며 치근이개부 천공(Pitt Ford 등 1995), 치근단부 절제시에 치근단 역충전재료(Torabinejad 등 1993)로 개발되었다. 최근에는 근관치료 과정에서 좋은 결과를 가져오는 치유재료로서 유치와 영구치의 치수캐핑법이나 치수절단법(Caicedo 등 2006), 치근단유도형성술(Gaitonde와 Bishop 2007)에도 이용되고 있다.

MTA는 tricalcium silicate, dicalcium silicate, tricalcium aluminate, tetracalcium aluminoferrite, calcium sulfate와 bismuth oxide로 구성된 시멘트로 전자탐측미량분석결과 칼슘이온과 인이온이 주성분을 이루는데(Torabinejad 등 1995) 이들은 치아 경조직의 주요성분과 같으며(Xia 등 2007), 칼슘이온은 치수세포의 증식을 유도한다(Takita 등 2006). 체외 동물실험과 임상실험 결과 MTA는 항 미생물학적 효과가 있고 양호한 생물친화성과 밀폐성, 낮은 세포독성 등과 같은 성질이 있으며 조직 재생을 촉진시키고 치주조직을 정상으로 회복시키는 기능이 있다(Maroto 등 2003, Xia 등 2007). MTA는 치주인대와 잇몸섬유모세포에서 ALP의 발현과 활성을 유도하며(Bonson 등 2004), 치수세포의 석회화에서 BMP-2의 발현과, 상아질다리 형성에서 상아질모세포와 치수섬유모세포의 DSP와 HO-1의 발현을 증가시킨다(Min 등 2008, Yasuda 등 2008).

치아발생이 진행됨에 따라 교두 경사면을 따라 내려가면서 점차 아래쪽에 있는 내치아상피세포들이 성숙되며, 이에 상응하여 치아유두에서 변화가 일어나 미분화된 외배엽성중간엽세포들이 빠른 속도로 커지면서 상아질 형성 세포인 상아질모세포가 점진적으로 분화된다(Nanci 2003). 상아질모세포는 분화되면서 상아질의 type I collagen과 같은 유기 바탕질과 osteocalcin(OC), bone sialoprotein(BSP), osteonectin (ON)/SPARC, dentin sialophosphoprotein(DSPP) 등과 같은 비아교성 단백질을 생산, 분비한다(Begue-Kirn 등 1994, Papagerakis 등 2002).

상기와 같이 MTA는 치수캐핑법이나 치수절단법에 이용되고 있는 재료이다 (Caicedo 등 2006). 동물실험과 임상실험에서 MTA의 많은 양호한 특성을 평가했음에도 불구하고 상아질모세포의 분화과정에 끼치는 MTA의 영향에 대해서는 아직까지 잘 알려지지 않았다.

본 논문에서는 Hanks 등(1998)이 CD1 생쥐 대구치의 치아유두에서 분리한 상아질모세포 전구세포인 MDPC-23 세포를 이용하여 상아질모세포에서 MTA가 석회화 결절의 형성을 촉진하는지를 확인하였고 석회화 표지인자인 OC, ALP, BSP와 비아교성 바탕질인 SPARC 및 아교질의 한 가지 유형인 type I collagen의 발현에 미치는 영향에 대하여 분석하였다.

II. 재료 및 방법

1. MTA 여과용액의 제작

MTA(ProRoot®, Densply, Tulsa Dental, USA) 분말과 액체를 혼합 한 후 실온에서 24시간 경화시켰다. 분쇄해서 가루로 만들어 200mg/ml을 멸균된 3차 증류수에 녹여 37°C 배양기에 24시간 놓아둔 다음 0.20㎛ syringe filter로 2번 여과하였다(Xia 등 2007).

2. 세포배양 및 분화

생쥐 대구치의 치아유두(dental papilla)에서 분리한 상아질모세포 전구세포인 MDPC-23 세포(Hanks 등 1998)와 NIH3T3 섬유모세포(5 x 10^5 cells/60 mm dish)를 10% fetal bovine serum(FBS, Gibco BRL, Rockville, USA)과 항생제(Penicillin 100U/ml, Streptomycin 100μg/ml, fungizone 2.5μg/ml), 및 non-essential amino acid(NEAA, Gibco BRL, Rockville, USA)가 함유된 Dulbecco's modified Eagle's 배양액(DMEM, Gibco BRL, Rockville, USA)에서 70-80% confluency가 될 때까지 5% CO_2, 37°C 배양기에서 배양하였다. MDPC-23 세포와 NIH3T3 세포의 분화를 위해 5% FBS, ascorbic acid(AA; 50 μg/ml) 및 β-glycerophosphate(GP; 10 mM)가 포함된 DMEM 배양액에서 15일간 배양하였다. MDPC-23 세포와 NIH3T3 두 세포의 실험군에는 200mg/ml의 MTA와 분화배양액의 비례가 1:9 되게 넣었고(Xia 등 2007) 대조군에는 분화배양액만 넣었다.

3. Alizarin-Red S 염색

MDPC-23 세포와 NIH3T3 세포(2.7 x 10^5 cells/35 mm dish)에 MTA를 첨가한 실험군과 첨가하지 않은 대조군을 0일, 5일, 10일, 15일 후에 1xPBS로 3회 세척하고 70% ethanol로 20분간 고정한 다음, 0.1% NH_4OH가 함유된 1% Alizarin Red-S(Sigma-Aldrich, St, Louis, Mo, USA) 용액으로 염색하여 위상차 현미경으로 관찰하였다.

4. 총 *RNA* 추출 및 *RT-PCR* 분석

총 RNA는 0, 5, 10, 15일 후에 Trizol reagent(Gibco BRL, Gaithersberg, MD, USA)를 이용하여 추출하였다. Superscript one-step reverse transcriptase polymerase chain reaction(RT-PCR)(Invitrogen, MD, USA)을 이용하여 cDNA를 합성하였고, osteocalcin(OC), alkaline phosphatase(ALP), bone sialoprotein(BSP), type I collagen, secreted protein acidic and rich in cysteine(SPARC) 및 GAPDH 특이적 primer를 이용하여 PCR을 수행하였다(Table 1). PCR 생성물을 1.2% agarose gel에 전기영동 하여 확인하였다.

Table 1. Nucleotide sequences of the primers used for RT-PCR

Names		Primer sequence (5' - 3')	size (bp)	Tm (°C)
OC	S	CCACAGCCTTCATGTCCAAG	489	63.5
	AS	GGCAGAGAGAGAGGACAGGG		
ALP	S	CTCTCCGAGATGGTGGAGGT	450	62
	AS	GTCTTCTCCACCGTGGGTCT		
BSP	S	AAGAAAATGGAGACGGCGAT	453	49.1
	AS	CACCTGCTTCAGTGACGCTT		
Type I collagen	S	TAAGTTGCCAAGAACGTGCC	494	55
	AS	AATTGAAAGCCAGGAGGCAT		
SPARC	S	TAAGCTCACCGTCCACAAGC	461	59.9
	AS	CTTTCCTGAAACAGCCTCCC		
GAPDH	S	ACCACAGTCCATGCCATCAC	452	60
	AS	TCCACCACCCTGTTGCTGT		

OC: octeocalcin, ALP: alkaline phosphatase, BSP: bone sialoprotein, SPARC: osteonectin/secreted protein acidic and rich in cysteine

5. Densitometry 분석

RT-PCR을 수행한 각 유전자의 densitometry분석은 Gel-Doc system(Bio-RAD laboratories, Inc. CA, USA)의 differential analysis프로그램을 이용하여 GAPDH로 표준화하여 분석하였다.

Ⅲ. 실험 결과

1. 석회화 결절 형성 확인

NIH3T3 세포는 MTA를 첨가한 군과 첨가하지 않은 군에서 모두 석회화 결절 형성이 나타나지 않았다. MDPC-23 세포는 GP/AA가 첨가된 DMEM 배양액(분화 배양액)에서 상아질모세포로 분화하였다. 배양 5일째부터 석회화 결절이 관찰되었는데 MTA를 첨가한 군이 첨가하지 않은 군보다 더 현저하였으며 분화 10일, 15일째 모두 실험군이 대조군보다 더 많은 결절이 관찰되었다(Fig. 1).

2. OC 유전자 발현

OC의 발현은 대조군과 비교하여 실험군에서 5일째부터 발현이 증가하기 시작하였다. 10일째에 크게 증가하여 대조군보다 2배 정도 높은 발현을 보였으며 15일째까지 높은 발현을 유지하였다(Fig. 2).

3. ALP 유전자 발현

ALP의 발현은 실험군에서 분화 5일째부터 발현이 현저하게 증가하여 분화 10일째에는 발현이 제일 높았으며 분화 15일째까지 높은 발현을 유지하였다. 대조군에서 분화 초기에 발현되지 않다가 분화 15일째 크게 증가하여 실험군과 비슷하게 높은 발현을 보였다(Fig. 3).

4. BSP 유전자 발현

BSP의 발현은 대조군에서 분화 10일째에 아주 미약한 발현을 보였고 분화 15일째 발현이 조금 증가하였다. 실험군에서도 대조군과 마찬가지로 분화 10일째부터 발현을 보였는데 대조군보다 높았고, 분화 15일째는 현저하게 증가하여 대조군보다 3배 정도 높은 발현을 보였다(Fig. 4).

5. Type I collagen 유전자 발현

Type I collagen의 발현은 실험군과 대조군 모두 분화가 시작되기 전에 높은 발현을 보이다가 분화가 시작되어서부터 감소하였는데, 대조군은 분화 초기부터 빠른 감소를 보였고 실험군은 서서히 감소하였다(Fig. 5).

6. SPARC 유전자 발현

SPARC의 발현은 실험군과 대조군 모두에서 분화가 시작되기 전 높은 발현을 보이다가 분화가 시작되어서부터 점차 감소하였는데 실험군과 대조군이 큰 차이를 보이지 않았다(Fig. 6).

Ⅳ. 총괄 및 고안

MTA는 칼슘이온과 인이온으로 구성된 시멘트로 수산화칼슘과 유사한 작용을 한다(Torabinejad 등 1995). 또한 MTA는 근관치료 과정에서 좋은 결과를 가져오는 치유재료로서 치근이개부 천공, 치근단 역충전재료로 개발되었으며, 유치와 영구치의 치수캐핑법이나 치수절단법, 치근단유도형성술에도 이용되고 있다(Torabinejad 등 1993, Pitt Ford 등 1995, Caicedo 등 2006, Gaitonde와 Bishop 2007). MTA는 양호한 생물친화성과 밀폐성, 낮은 세포독성 등과 같은 성질이 있으며 조직 재생을 촉진시키고 치주조직을 정상으로 회복시키는 기능이 있다고 보고하였다(Maroto 등 2003, Xia 등 2007). Yasuda 등(2008)은 치수세포의 석회화에서 MTA가 BMP-2의 발현을 증가시켰다고 하였으며, Min 등(2008)은 MTA가 상아질다리 형성에서 상아질모세포와 치수 섬유모세포의 DSP와 HO-1의 발현을 증가시켰다고 보고하였다.

본 연구에서는 상아질모세포 전구세포인 MDPC-23 세포를 이용하여 상아질모세포의 분화와 석회화 결절의 형성에 있어서 MTA가 어떠한 영향을 미치는지를 확인하였다. MDPC-23 세포는 Hanks 등(1998b)이 CD1 생쥐 대구치의 치아유두에서 분리하여 만든 세포로 상아질모세포의 계통이라는 것을 시사하였다(Hanks 등 1998a). Park 등(2007)의 실험에서 MDPC-23세포를 melatonin이 첨가된 배양액에서 분화시켜 DSPP mRNA의 발현이 증가한 것을 관찰하였는데 이는 상아질모세포의 분화과정을 연구하는데 MDPC-23 세포가 유용하게 사용될 수 있음을 의미한다.

본 실험에서 MDPC-23 세포의 석회화 결절의 형성에 관하여 보면 분화 5일째부터 MTA를 첨가한 군이 첨가하지 않은 군보다 현저하게 관찰되었으며 분화 10일, 15일째 모두 대조군에 비해 실험군이 더 잘 관찰되었다. Park 등(2007)은 melatonin을 첨가하여 MDPC-23세포의 석회화 결절을 관찰하였는데 배양 5일째에 모든 군에서 석회화 결절이 관찰되지 않았고 분화 15일이 되어서야 melatonin을

첨가하지 않은 군에 비해 첨가한 군에서 석회화 결절 형성이 촉진되었다고 하였다. 이것은 MTA가 melatonin보다 MDPC-23 세포의 석회화를 더 빨리 촉진시킨다는 것을 시사한다.

섬유모세포는 중간엽세포로부터 기원하며 결합조직에 가장 많이 존재하는 세포로서 결합조직의 섬유성 구성요소와 무형질(ground substance)을 형성하고 유지한다(Nanci 2003). 본 실험에서 NIH3T3 섬유모세포를 MDPC-23 세포와 똑 같은 조건으로 MTA를 첨가한 군과 첨가하지 않은 군으로 15일간 배양해서 Alizarin-Red S 용액으로 염색하여 위상차 현미경으로 관찰하였는데 실험군과 대조군 모두 석회화 결절 형성이 나타나지 않았다. Bonson 등(2004)은 MTA가 치주인대와 잇몸섬유모세포에서 ALP의 발현과 활성을 유도한다고 보고하였는데 앞으로 MTA를 첨가한 NIH3T3 세포의 분화에서 OC, ALP, BSP, SPARC, type I collagen과 같은 유전자들이 어떻게 발현하는지 연구가 필요하다고 생각된다.

OC는 성숙한 뼈모세포에서 합성되고 주로 골조직의 세포외 기질에 위치하며 뼈와 상아질의 비아교성 단백질로 특히 치아에서는 세포분화 후기에 발현된다(Papagerakis 등 2002, Wada와 Kamiya 2006). Alkaline phosphatase(ALP)는 뼈모세포에서 많이 발현되는데 실험적으로 전구뼈모세포와 섬유모세포의 구분 표식자로 사용된다(Nanci 2003). BSP는 고도로 당화되고 황산화된 인단백질로 오로지 석회화된 결합조직 에서만 발견되며 그의 시간-공간적 발현은 뼈와 시멘트질에서 재석회화와 일치하다(Ganss 등 1999). SPARC은 다공능성 당단백질로 아교질처럼 구조상 기질 단백질의 결합을 통하여 세포와 세포외기질의 상호작용을 조절하는 기능이 있으며 세포분화 초기단계에 발현된다(Brekken와 Sage 2001, Papagerakis 등 2002). Type I collagen은 섬유모세포의 분비 산물인 아교질의 한가지 유형으로서 주로 상아질, 시멘트질, 인대, 뼈 등에 분포하며 결합조직에 인장력을 제공한다(Nanci 2003).

본 연구에서는 MDPC-23 세포에 MTA를 첨가하지 않은 군과 첨가한 군을 15일 동안 배양하여 상아질의 분화와 석회화를 판단할 수 있는 지표가 되는 인자인

OC, ALP, BSP의 발현 정도를 RT-PCR을 수행하여 분석하였다. OC의 발현은 대조군과 비교하여 실험군에서 5일째부터 발현이 증가하기 시작하였고 10일째에 크게 증가하여 대조군보다 2배 넘게 높은 발현을 보였으며 15일째까지 높은 발현을 유지하였다. ALP의 발현은 실험군에서 분화 5일째부터 발현이 현저하게 증가하여 분화 10일째에는 발현이 제일 높았으며 분화 15일째까지 높은 발현을 보였다. BSP의 발현은 실험군과 대조군 모두 분화 10일째부터 발현을 보였는데 실험군이 대조군보다 높았고 분화 15일째는 현저하게 증가하여 대조군보다 3배 정도 높은 발현을 보였다.

Tani-Ishii 등(2007)은 MC3T3-E1 세포에 MTA를 첨가한 군과 첨가하지 않은 군으로 나누어 OC, BSP 의 발현을 분석하였는데 OC는 MTA를 첨가한 군이 첨가하지 않은 군보다 발현이 증가하였다고 하였으며 BSP는 실험군과 대조군 모두 발현이 현저하였다고 보고하였다. Nakayama 등(2005)도 rat bone marrow(RBM) 세포에 MTA를 첨가한 군과 첨가하지 않은 군으로 나누어 ALP, type I collagen의 발현을 분석하였는데 ALP는 배양 3일동안 실험군과 대조군 모두 발현이 증가하였다고 하였고 Type I collagen은 감소하였는데 대조군보다 발현이 낮았다고 보고하였다. 위의 두 연구에 의하면 MTA는 뼈모세포에서와 비슷하게 상아질모세포의 분화와 석회화를 촉진함을 알 수 있다.

이상의 실험결과들로 보아, MTA는 상아질모세포 전구세포인 MDPC-23 세포의 분화와 석회화를 촉진시키며, 상아질의 석회화 과정에 중요한 역할을 하는 것으로 생각된다.

Ⅴ. 결 론

Mineral trioxide aggregate(MTA)는 수산화칼슘과 유사한 작용을 하는데 치근단 역충전재료로 개발되어 유치와 영구치의 치수캐핑법과 치수절단법에도 이용되고 있다. 본 연구에서는 상아질모세포 전구세포인 MDPC-23 세포를 이용하여 MTA가 상아질모세포 분화를 촉진시키는지를 확인하였다.

MDPC-23 세포에 MTA를 첨가하여 분화를 유도시킨 후, Alizarin Red-S 염색을 하였고 RT-PCR을 이용하여 OC, ALP, BSP, Type I collagen과 SPARC의 발현 변화를 분석하였다.

1. Alizarin Red-S 염색 결과, 배양 5일째부터 석회화 결절이 나타났는데 MTA를 첨가한 군이 첨가하지 않은 군보다 더 현저하였으며 분화 10일, 15일째에 모두 대조군에 비해 실험군에서 석회화 결절 형성이 강하게 관찰되었다.

2. OC, ALP, BSP의 발현은 실험군이 대조군에 비해 현저하게 증가하였고 Type I collagen의 발현은 두군 모두 감소하였지만 실험군이 대조군보다 늦게 감소하였으며 SPARC의 발현은 실험군과 대조군이 큰 차이를 보이지 않았다.

이상의 실험결과들로 보아 MTA는 상아질모세포 전구세포인 MDPC-23 세포의 분화와 석회화를 촉진시키며, 상아질의 석회화 과정에 중요한 작용을 하는 것으로 생각된다.

Ⅵ. 참고문헌

Begue-Kirn C, Smith AJ, Loriot M, Kupferle C, Ruch JV, Lesot H. Comparative analysis of TGF-βs, BMPs, IGF1, msxs, fibronectin, onteonectin and bone sialoprotein gene expression during normal and in vitro-induced odontoblast differentiation. Int J Dev Biol 38:405-420, 1994.

Bonson S, Jeansonne BG, Lallier TE. Root-end filling materials alter Fibroblast Differentiation. J Dent Res 83:408-413, 2004.

Brekken RA, Sage EH. SPARC, a matricellular protein: at the crossroads of cell-matrix communication. Matrix Biol 19:816-827, 2001.

Caicedo R, Abbott PV, Alongi DJ, Alarcon MY. Clinical, radiographic and histological analysis of the effects of mineral trioxide aggregate used in direct pulp capping and pulpotomies of primary teeth. Aust Dent J 51:297-305, 2006.

Ganss B, Kim RH, Sodek J. Bone sialoprotein. Crit Rev Oral Biol Med 10:79-98, 1999.

Gaitonde P, Bishop K. Apexification with mineral trioxide aggregate: an overview of the material and technique. Eur J Prosthodont Restor Dent 15:41-45, 2007.

Hanks CT, Fang D, Sun Z, Edwards CA, Butler WT. Dentin-specific proteins in MDPC-23 cell line. Eur J Oral Sci 106:260-266, 1998a.

Hanks CT, Sun ZL, Fang DN, Edwards CA, Wataha JC, Ritchie HH, Butler WT. Cloned 3T6 cell line from CD-1 mouse fetal molar dental papillae. Connect Tissue Res 37:233-249, 1998b.

Maroto M, Barberia E, Planells P, Vera V. Treatment of a non-vital immature incisor with mineral trioxide aggregate (MTA). Dent Traumatol

19:165-169, 2003.

Min KS, Park HJ, Lee SK, Park SH, Hong CU, Kim HW, Lee HH, Kim EC. Effect of mineral trioxide aggregate on dentin bridge formation and expression of dentin sialoprotein and heme oxygenase-1 in human dental pulp. J Endod 34:666-670, 2008.

Nakayama A, Ogiso B, Tanabe N, Takeichi O, Matsuzaka K, Inoue T. Behaviour of bone marrow osteoblast-like cells on mineral trioxide aggregate: morphology and expression of type I collagen and bone-related protein mRNAs. Int Endod J 38: 203-210, 2005.

Nanci A. Ten Cate's oral histology: development, structure, and function. 6th ed, St. Louis, Mosby, pp. 64-70, 101-120, 2003.

Papagerakis P, Berdal A, Mesbah M, Peuchmaur M, Malaval L, Nydegger J, Simmer J, Macdougall M. Investigation of osteocalcin, osteonectin, and dentin sialophosphoprotein in developing human teeth. Bone 30:377-385, 2002.

Park JC, Shin IC, Lee DS, Yoon SH, Yang JH, Kim SB, Kim HJ. Effects of melatonin on MDPC-23 cells differentiation. Korean J Phys Anthropol 20:105-113, 2007.

Pitt Ford TR, Torabinejad M, McKendry DJ, Hong CU, Kariyawasam SP. Use of mineral trioxide aggregate for repair of furcal perforations. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 79:756-763, 1995.

Tani-Ishii N, Hamada N, Watanabe K, Tujimoto Y, Teranaka T, Umemoto T. Expression of bone extracellular matrix proteins on osteoblast cells in the presence of mineral trioxide. J Endod 33:836-839, 2007.

Takita T, Hayashi M, Takeichi O, Ogiso B, Suzuki N, Otsuka K, Ito K. Effect of mineral trioxide aggregate on proliferation of cultured human dental pulp cells. Int Endod J 39:415-422, 2006.

Torabinejad M, Hong CU, McDonald F, Pitt Ford TR. Physical and chemical properties of a new root end filling material. J Endod 21:349-353, 1995.

Torabinejad M, Watson TF, Pitt Ford TR. Sealing ability of a mineral trioxide aggregate when used as a root end filling materials. J Endod 19:591-595, 1993.

Wada S, Kamiya S. Bone and bone related biochemical examinations. Bone and collagen related metabolites. Osteocalcin (OC). Clin Calcium 16:1017-1021, 2006.

Xia L, Jiang L, Zhu YQ. Cytotoxity of MTA, Dycal, and GIC on human periodontal ligament cells *in vitro*. Shanghai J Stomatol 16:647-651, 2007.

Yasuda Y, Ogawa M, Arakawa T, Kadowaki T, Saito T. The effect of mineral trioxide aggregate on the mineralization ability of rat dental pulp cells: an in vitro study. J Endod 34:1057-1060, 2008.

사진부도 설명

Fig. 1. Photomicrographs of Alizarin Red-S stained NIH3T3 control (A) and MTA treated cells (B), MDPC-23 control (C) and MTA treated cells (D). NIH3T3 and MDPC-23 cells were plated on 35-mm dishes at a density of $2.7x10^5$ cells/dish. Cultures were stained at 0, 5, 10, 15 days after treatment without MTA (A, C) and with MTA (B, D).

Fig. 2. OC expression in MDPC-23 cells. Confluent MDPC-23 cells were grown for 0, 5, 10 and 15 days in differentiation media with or without MTA.

Fig. 3. ALP expression in MDPC-23 cells. Confluent MDPC-23 cells were grown for 0, 5, 10 and 15 days in differentiation media with or without MTA.

Fig. 4. BSP expression in MDPC-23 cells. Confluent MDPC-23 cells were grown for 0, 5, 10 and 15 days in differentiation media with or without MTA.

Fig. 5. Type I collagen expression in MDPC-23 cells. Confluent MDPC-23 cells were grown for 0, 5, 10 and 15 days in differentiation media with or without MTA.

Fig. 6. SPARC expression in MDPC-23 cells. Confluent MDPC-23 cells were grown for 0, 5, 10 and 15 days in differentiation media with or without MTA.

사 진 부 도

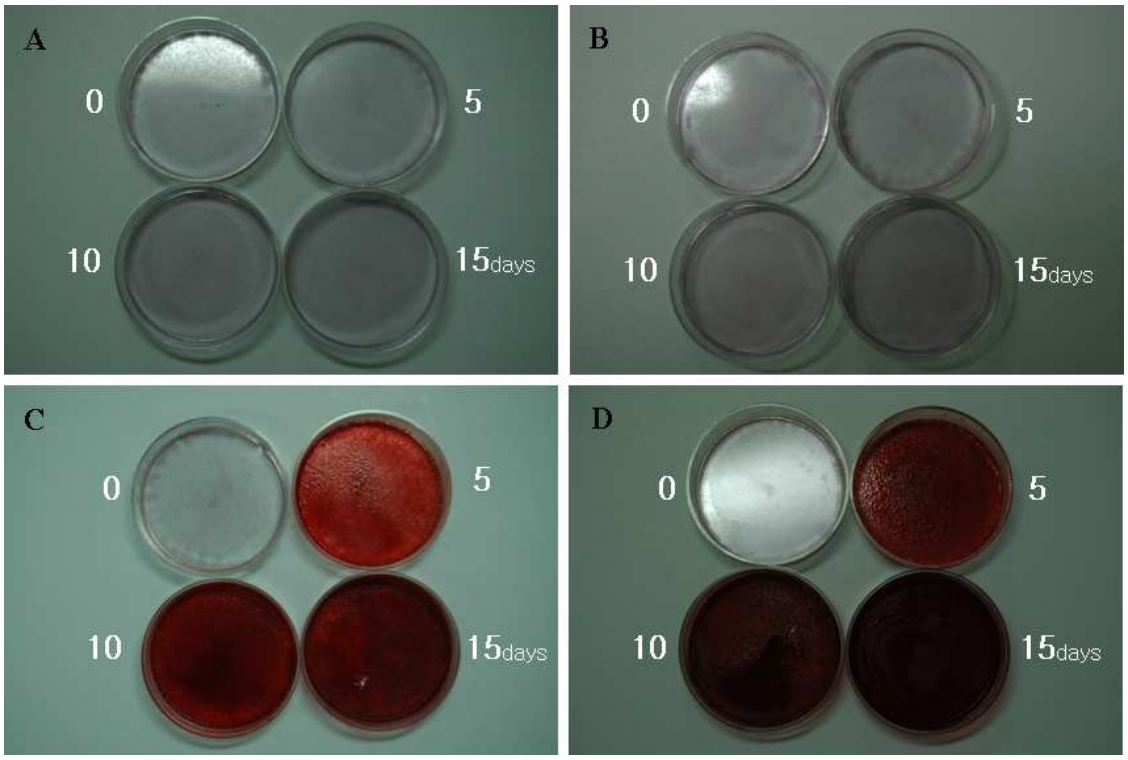

Fig.1.

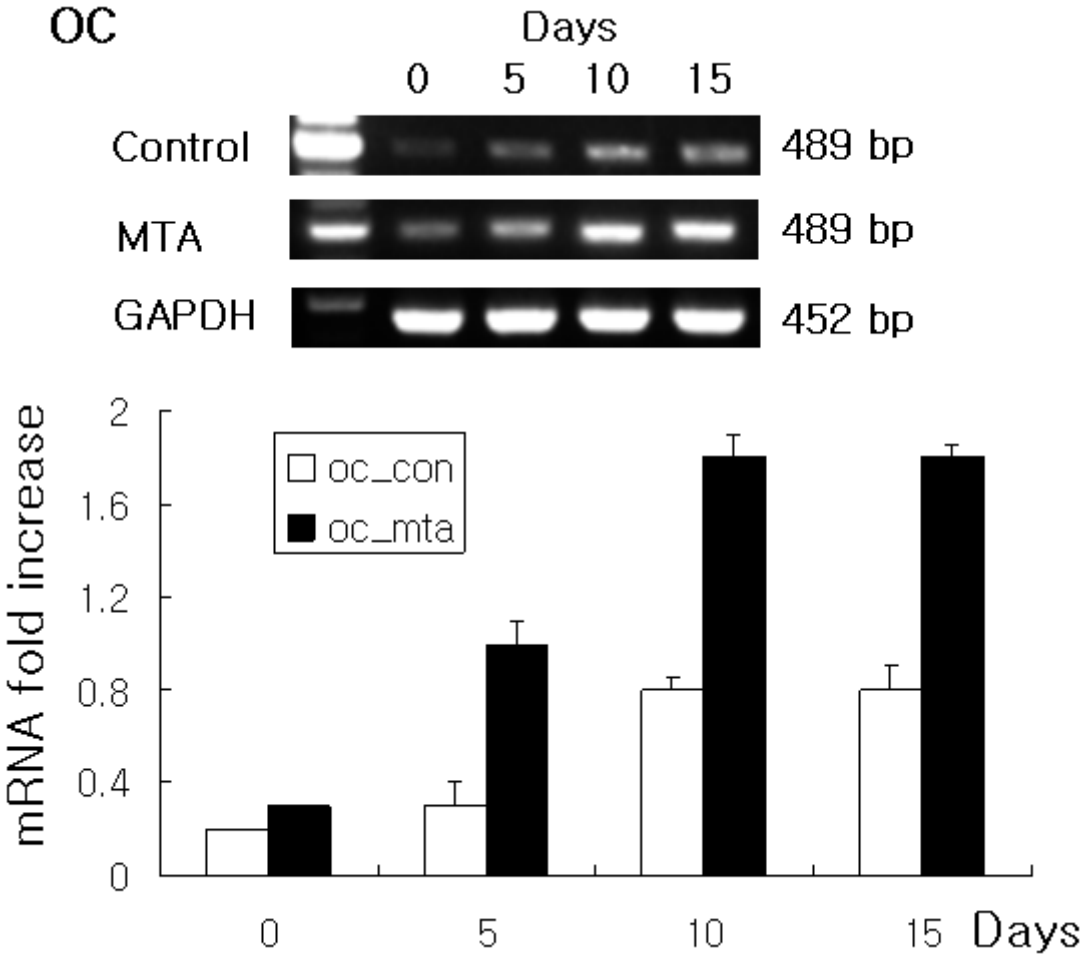
OC
Days
0
5
10
15
Control
489 bp
MTA
489 bp
GAPDH
452 bp
mRNA fold increase
2
1.6
1.2
0.8
0.4
0
oc_con
oc_mta
0
5
10
15
Days

Fig.2.

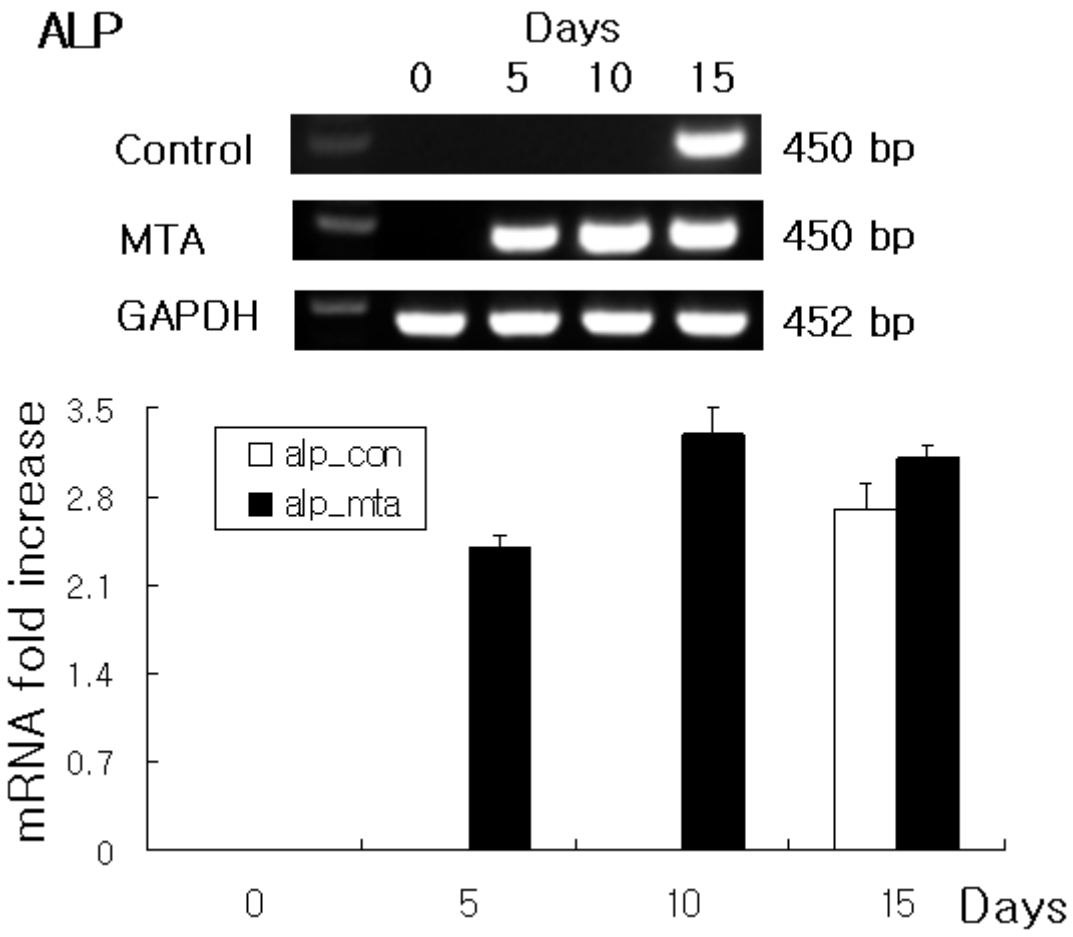
ALP
Days
0
5
10
15
Control
450 bp
MTA
450 bp
GAPDH
452 bp
mRNA fold increase
3.5
2.8
2.1
1.4
0.7
0
alp_con
alp_mta
0
5
10
15
Days

Fig.3.

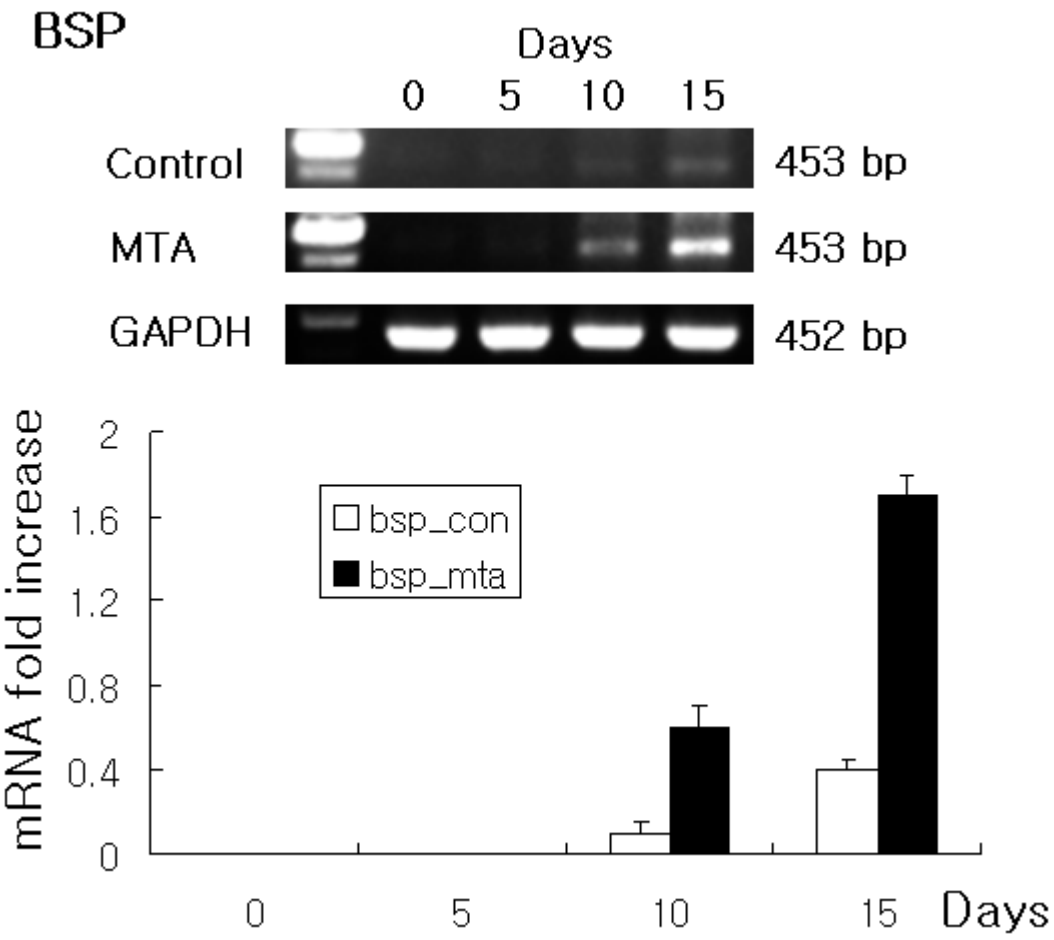
BSP
Days
0
5
10
15
Control
453 bp
MTA
453 bp
GAPDH
452 bp
mRNA fold increase
2
1.6
1.2
0.8
0.4
0
bsp_con
bsp_mta
0
5
10
15
Days

Fig.4.

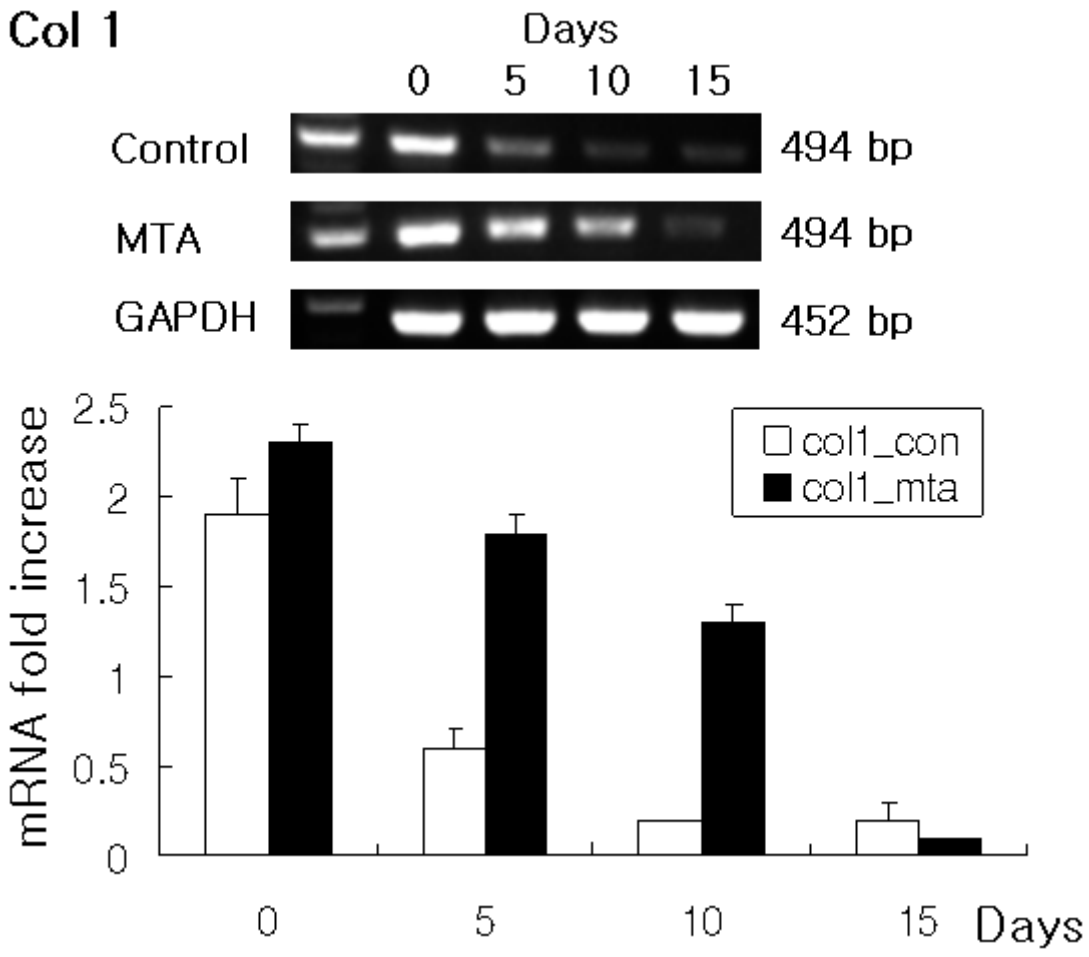
Col 1
Days
0
5
10
15
Control
494 bp
MTA
494 bp
GAPDH
452 bp
mRNA fold increase
2.5
2
1.5
1
0.5
0
col1_con
col1_mta
0
5
10
15
Days

Fig.5.

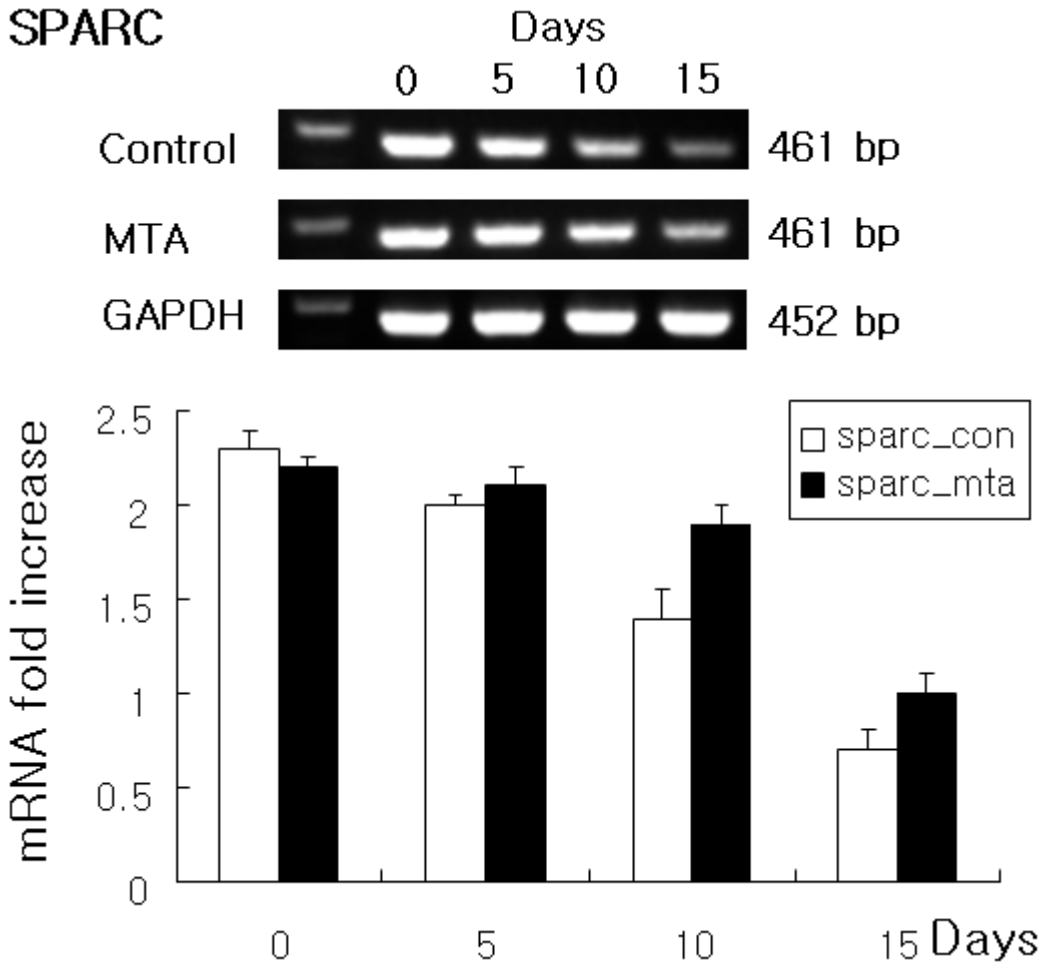
SPARC
Days
0
5
10
15
Control
461 bp
MTA
461 bp
GAPDH
452 bp
mRNA fold increase
2.5
2
1.5
1
0.5
0
sparc_con
sparc_mta
0
5
10
15
Days

Fig.6.

저작물 이용 허락서

학 과	치의공	학 번	20077226	과 정	석사, 박사
성 명	한글: 이 백 희 한문 : 영문 : Lee, Baek Hee				
주 소	540-791 전남 순천시 풍덕동 금호아파트 4-1205				
연락처	E-MAIL :				
논문제목	한글 : MDPC-23 세포분화에서 MTA의 효과 영어 : Effects of MTA on MDPC-23 cell differentiation				

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 의사 표시가 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.

동의여부 : 동의(○) 반대( )

2008 년 11 월 일

저작자: 이 백 희 (서명 또는 인)

조선대학교 총장 귀하