

# 덱사메타손이 골아유사세포의 성장과 분화에 미치는 영향

이재목

경북대학교 치과대학 치주과학교실

## I. 서론

치주조직의 재생은 치주질환으로 인해 상실된 부 착기구들이 신생골, 신생백악질과 함께 새로운 치주 인대 섬유가 기능적으로 삽입, 배열되어 재형성된 상 태를 말하며 이들 조직의 재생이 치주치료의 목적이 라 할 수 있다<sup>1,2)</sup>. 이 중 치주질환으로 상실된 골조직 을 재생시키기 위한 방법으로 골조직이식술<sup>3)</sup>, 골유 도재생술<sup>4)</sup>과 여러 가지 성장인자의 적용<sup>5,6)</sup>과 같은 방법들이 제시되어왔다. 골조직은 골흡수과정과 신 생골 합성과정의 반복되어 지속적인 재형성이 일어 나게 되는데 여기에 관여하는 조골세포, 파골세포 및 그 전구세포의 증식, 분화 및 활성화에 영향을 미치는 전신적 조절물질과 국소적 조절물질에 의해 조절되 고 있다<sup>2)</sup>. 치주질환의 치료접근 방법으로 염증의 진행과정을 억제 방지하거나, 염증의 결과로서 나타 난 파괴상을 재생시킬 목적으로 시도되어 왔으며 이 에 다수의 항염증약물이 치주질환의 치료에 이용되 고 있는데, 이러한 약물들은 스테로이드성 약물과 비 스테로이드성 약물로 분류할 수 있다. 비스테로이드 성 약물로는 propionic acid 유도체인 ibuprofen과 flurbiprofen 등이 이용되고 있는데, 이 약물들은 치 주염 환자에서 치조골의 상실을 늦출 수 있고, 또한

arachidonic acid metabolism의 cyclooxygenase pathway를 억제함으로써 프로스타글라딘 형성을 감 소시켜 항 염증 작용을 하는 것으로 알려져 있다<sup>7-13)</sup>. 스테로이드성 약물인 cortisol과 덱사메타손(dexam ethasone, 이하 Dex로 표기)등은 작용이 아주 광범 위하여 함수탄소, 단백질, 지질 및 핵산대사에 영향 을 주며, 체내수분 및 전해질 평형 유지에 관여할 뿐 만 아니라 순환계, 신장, 임파계, 신경계 및 골격근에 작용한다<sup>4,15)</sup>. 또한 여러가지의 유해한 자극과 주위 환경 변화에 대응하는 등 생체의 항상성 유지에 중 요한 역할을 하며 다른 호르몬, 즉 글루카곤 및 성장 호르몬의 작용에 영향을 미치고 항 염증작용이 있는 것으로 알려져 있다<sup>16)</sup>. 글루코코티코이드는 다양한 실험을 통하여 생체내에서는 골형성을 감소시키고 골 흡수를 야기시키지만 골세포 배양시 첨가하면 골 세포의 분화를 촉진시켜 골결절 형성수 및 크기를 증진시키는 것으로 알려져 있다<sup>17-21)</sup>. 또한 다수의 생 체실험들에서 스테로이드성 항 염증약물이 골상처 치유를 억제하고<sup>22-24)</sup> 육아조직의 성장을 방해하여 상처의 치유를 지연시키는 것으로 나타났다<sup>25-29)</sup>. Sisson 등<sup>24)</sup>이 토끼의 골절을 이용한 실험에서 골회 복이 지연되어 골막 형성이 결여되고 연골성 가골이 비정상적 양상을 나타내었다. 또한 Chyun 등<sup>30)</sup>의 연

구에 의하면 골막조직의 선택적 감소가 나타났고 골 형성에서 글루코코티코이드의 억제 효과가 나타났으나, Taylor 등<sup>31)</sup>은 백서의 실험적 골절에서 충분한 양의 코티존이 투여되었음에도 조직학적 변화와 치유의 지연이 나타나지 않은 상반된 결과를 보고하였다.

시험관적 연구에서는 태생 백서 두개골의 조직 배양 연구에서 코티졸로써 96 시간 처치한 결과 교원질 합성, 알칼린 인산화 효소 활성도 및 DNA 양 등이 감소하는 것으로 나타났으나<sup>32,33)</sup>, 24시간 동안의 짧은 코티졸 처치에는 교원질 생성, 알칼린 인산화 효소 활성도 및 DNA 합성능이 증가하는 것으로 나타났다<sup>34-35)</sup>. 이러한 글루코코티코이드중 합성된 long-acting 글루코코티코이드인 Dex은 시험관적 실험에서 골전구 세포의 증식을 촉진하고<sup>26)</sup>, 성인 골수 세포를 조골세포로 분화시키는 것으로 나타났으며<sup>27)</sup>, 생체내의 실험으로 쥐 두정골에 실험적 천공을 형성하고 Dex을 투여한 실험에서 골 재생 지연과 연조직 치유지연이 함께 나타났다고 보고하였다<sup>36)</sup>. 또한 글루코코티코이드는 성장인자와 병용시 세포기능을 조절하는 효과를 나타내어, 섬유아세포 성장인자의 세포증식능을 증가시키나<sup>37)</sup>, 상피 성장인자의 활성은 억제시키는 것으로 보고<sup>38)</sup> 되었다. 그러나 아직 Dex와 같은 항염증약물 사용시 골재생에 대한 견해가 다르며 골재생 효과와 초기치유과정에서, 골기질생산과 성장 그리고 석회화에 관여하는 것으로 알려진 골기질 단백질에 대한 연구도 미흡한 실정이다.

이에 골세포 배양실험에서 Dex의 사용시, 골세포의 분화와 성장과정에 대한 영향을 규명하고 골조직 재생에의 임상적용의 가능성에 대해 알아보하고자 한다.

## II. 연구방법

### 1. 재료(시약)

배양액은 alpha-modified eagle medium(Gibco사, 미국, 이하  $\alpha$ -MEM으로 표기)을 사용하였고, fetal bovine serum(Gibco사, 미국, 이하 FBS로 표기)을 성

장 촉진제로 첨가하였으며, 그의  $\beta$ -glycerophosphate, ascorbic acid(Sigma, 미국), Dexamethasone(Sigma, 미국)을 사용하였다.

### 2. 골아세포의 배양

MC3T3-E1세포를 취득하여 12 well plate에  $1 \times 10^5$  cells/well, 24 well plate에  $1 \times 10^4$  cells/well로 10% fetal bovine serum, 10mM  $\beta$ -glycerophosphate, 50 $\mu$ g/ml의 아스코빅 산, 100U/ml penicilline, 100 $\mu$ g/ml streptomycin을 함유한  $\alpha$ -MEM배양액에서 초기 배양하여 37 $^{\circ}$ C, 5% CO<sub>2</sub> 함유 배양기에서 유지하였다. 10% fetal bovine serum에서 계속 배양한 균을 대조군-1로 하였고, Dex를 주입하기 48시간전에 성장인자의 최대의 효과를 위해 serum free media로 교체한 균을 대조군-2로 하였으며, serum free media로 교체하고 24시간 경과후 10<sup>-7</sup>M Dex를 주입한 균을 Dex로 하여 3일 간격으로 배양액을 교체하였다.

### 3. 세포성장을 측정

세포접종후 각 대조군과 실험군의 5, 10, 15, 20, 25일의 해당일에 각 well의 배지를 제거한후 인산생리 식염수로 세척하고 0.05% Trypsin/0.02% EDTA로 처리후 수분간 배양시킨다음 세포가 well로 부터 완전히 분리된 뒤 hemocytometer를 이용하여 광학현미경하에서 세포수를 측정하고 대조군과 실험군간의 통계학적 처리는 SAS program 의 ANOVA test를 이용하였다.

### 4. ALP 활성도 측정

세포를 24 well plate에 접종하고 앞서 설명한 대로 배양하여 10<sup>-7</sup>M Dex를 첨가하여 3일 간격으로 배양액을 교체해 주면서 5일, 10일, 15일, 20일, 25일에 ALP 활성을 p-nitrophenyl phosphate(Sigma, USA)를 기질로 이용한 방법으로 아래와 같이 측정하였다. 부착된 세포를 인산완충식염수(phosphate buffered saline, 이하 PBS)로 2회 씻어내고 0.02%의 Nonidet

P-40(Sigma) 1ml에 녹인 후 ultrasonicator에서 15초간 sonication시켜(Fischer, Rockville, MD) 12,000g에서 15분간 원심분리하였다. 효소활성을 측정하기 전에 상층액을 -20℃에 두고 37℃에서 30분간 cell digestion buffer(1.5M Tris-HCL, 1mM ZnCl<sub>2</sub>, 1mM MgCl<sub>2</sub> · 6H<sub>2</sub>O, pH 9.2, containing 1% Triton X-100)로 처리하며 7mM p-nitrophenyl phosphate (Sigma, USA)를 기질로써 이용하여 410nm에서 흡수도를 측정하였다. 단백질 농도는 BCA protein assay reagent(Pierce, USA)를 사용하여 측정하며, bovine serum albumin을 standard로 하였고, ALP활성도는 nmole/min/mg of protein으로 나타내었다. 대조군과 실험군의 통계학적 처리는 SAS program의

ANOVA test 로 처리하였다.

## 5. Histochemical analysis

골결절 형성을 관찰하기 위해서 세포를 30일동안 100mm dish에서 배양하였으며, 칼슘 침착을 식별하기 위해서 세포를 ice-cold PBS로 2번 씻은 후 실온에서 1시간동안 0.1% Alizarin Red S 용액에서 배양하였고 세포를 30분동안 0.1% light green SF solution 으로 염색하여 세포를 순차적으로 0.1% acetic acid 와 absolute ethanol로 씻은 후 5, 10, 15, 20, 25일째에 광학현미경으로 관찰하였다.

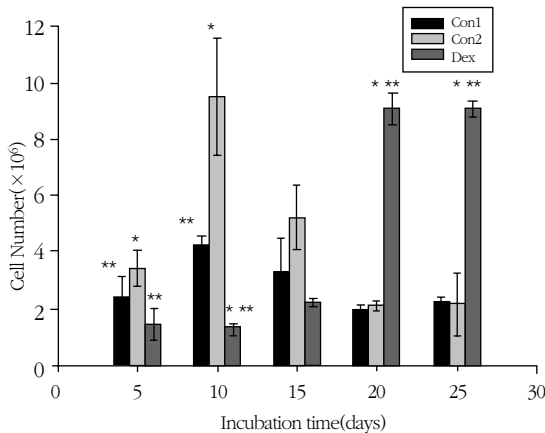


Figure 1. Time-response effect of Dex on Cell growth activity of MC3T3-E1 cells cultured for 5, 10, 15, 20, 25 days.

MC3T3-E1 cells were seeded at  $1 \times 10^4$  cells/ml in alpha-minimum essential medium containing 10 % fetal bovine serum, 10 mM  $\beta$ -glycerophosphate and 50 $\mu$ g/ml of ascorbic acid. Before 48 hours of indicated time, medium were changed with serum free medium containing 10 mM  $\beta$ -glycerophosphate,  $10^{-7}$ M dexamethasone and 50 $\mu$ g/ml of ascorbic acid. Cell growth activity were measured as described in materials and methods. Each value represents the mean and S.D. ( $\times 10^4$  cells)/200 $\mu$ l/well of five determinants.

\* : significantly different from control-1 value in dose response effect (P < 0,05)

\*\* : significantly different from control-2 value in dose response effect (P < 0,05)

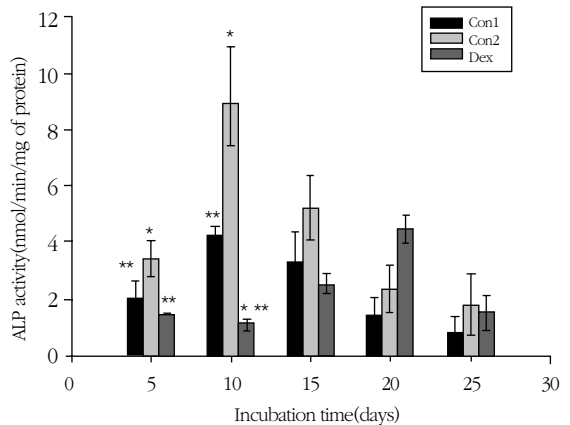


Figure 2. Time-response effect of Dex on ALP activity of MC3T3-E1 cells cultured for 5, 10, 15, 20, 25 days.

MC3T3-E1 cells were seeded at  $1 \times 10^4$  cells/ml in alpha-minimum essential medium containing 10% fetal bovine serum, 10 mM  $\beta$ -glycerophosphate and 50 $\mu$ g/ml of ascorbic acid. Before 48 hours of indicated time, medium were changed with serum free medium containing 10 mM  $\beta$ -glycerophosphate,  $10^{-7}$ M dexamethasone and 50 $\mu$ g/ml of ascorbic acid. Cell growth activity were measured as described in materials and methods. Each value represents the mean and S.D. ( $\times 10^4$  cells)/200 $\mu$ l/well of five determinants.

\* : significantly different from control-1 value in dose response effect (P < 0,05)

\*\* : significantly different from control-2 value in dose response effect (P < 0,05)

### III. 연구결과

#### 1. 세포성장을

Dex군은 세포증식능에서, 대조군에 비해 15일까지 낮은 양상을 보였으나 20일 이후 증가양상을 보여, 통계학적으로 유의성 있는 차이를 보였다. ( $P < 0.05$ ) (Figure 1 참조)

#### 2. ALP 활성도

시간경과에 따른 MC3T3-E1 세포의 ALP 활성은 대조군-1, 대조군-2에서는 10일군까지 증가하다가 이후 감소하는 것으로 나타났고, Dex군에서는 5일째 보다 10일째에 감소하는 양상을 보였으나, 이후 증가하다가 25일째 다시 감소하는 양상을 보여 대조군과는 다소 차이를 보였으며, 특히 10일째는 통계학적으로 유의성 있는 차이를 보였다. ( $P < 0.05$ )

MC3T3-E1 세포의 ALP 활성도를 nmole/min/mg of protein으로 나타내었을 때, 대조군-1에서 5일군의  $2.04 \pm 0.57$ 에 비해 10일군에서  $4.25 \pm 0.31$ 로 증가하다가, 15일군에서  $3.35 \pm 1.17$ , 20일군에서  $2.01 \pm 0.16$ , 25일군에서  $0.86 \pm 0.54$ 로 점차 감소하는 양상을 보였다.

대조군-2의 경우 5일군의  $3.44 \pm 0.60$ 에 비해, 10일군에서  $9.00 \pm 2.00$ 으로 증가하였고 15일군 이후  $5.33 \pm 1.03$ 로, 20일군에서  $2.33 \pm 0.87$ , 25일군에서  $1.84 \pm 1.12$ 로 점차 감소하였으나, 대조군-1보다는 높은 ALP 활성도를 보였다( $P < 0.05$ ).

Dex군의 영향은 5일군의  $1.44 \pm 0.06$ 에 비해 10일군에서  $1.16 \pm 0.12$ 로 감소하는 양상을 보여, 대조군보다 통계학적으로 유의성있는 감소양상을 보였고 15일째  $2.52 \pm 0.42$ 로, 20일째는  $4.56 \pm 0.51$ 로 증가양상을 나타내었으나, 25일째  $1.58 \pm 0.60$ 로 다시 감소하는 양상을 보였으며 대조군과 비교시 통계학적 유의성은 없었다( $P < 0.05$ ).

#### 3. 골결절 형성

골결절 형성은 대조군은 20일째 처음 관찰되었으며, 25일째에는 크기는 작았지만 다수의 골결절이 관찰되었고 Dex군에서는 10일째 처음 관찰되어, 이후 시간이 경과함에 따라 크기가 큰 다수의 골결절 형성이 관찰되었다(Figure 3-7 참조).

### IV. 총괄 및 고안

치주조직재생에 관여하는 치주조직은 치은, 치주인대, 치근 백악질과 치조골로 되어 있으며<sup>1)</sup>, 이 골결절의 재형성은 골흡수와 신생골 합성과정이 동시에 일어나는 과정이다.

글루코코르티코이드는 다양한 실험을 통하여 생체 내에서는 골형성을 감소시키고 골 흡수를 야기시키지만, 골세포 배양시 첨가하면 골세포의 분화를 촉진시켜 골결절 형성수 및 크기를 증진시키는 것으로 알려져 있다<sup>24-26)</sup>. 또한 다수의 생체실험들에서 스테로이드성 항염증약물이 골상처 치유를 억제하고<sup>27-34)</sup> 육아조직의 성장을 방해하여, 상처의 치유를 지연시키는 것으로 나타났다<sup>27-34)</sup>.

그러나 아직 dex와 같은 항염증약물 사용시, 골재생에 대한 견해가 다르며 초기치유과정에서 골기질 생산과 성장과 석회화에 관여하는 것으로 알려진 골기질 단백질에 대한 연구도 미흡한 실정이다. 이에 골배양 실험에서 dex의 골세포의 분화와 성장과정에 대한 영향을 규명하고, 골조직재생에의 임상적용의 가능성에 대해 알아보고자 적용시간에 따른 MC3T3-E1 세포의 세포성장율, ALP활성도, 그리고 골결절 형성을 관찰해 보고자 하였다. 본 연구에 사용된 Dex의 농도는 다양한 실험<sup>26-31)</sup>에 의해 골세포 배양시 골세포의 분화를 촉진시켜 골결절 형성수 및 크기를 증진시키는 것으로 알려져 있는  $10^{-7}M$ 의 농도를 본 실험에 사용하였다.

MC3T3-E1 세포는 골아세포 분화의 정상적인 성장과정을 거치게 되는데, 쥐의 두개골기원의 골아세포에서와 유사한 골과 같은 광화된 세포외기질의 형성을 관찰할 수 있고<sup>39-41)</sup> 골아세포유사세포인 MC3T3-E1 세포는 골기질침착, 광화, 성장인자의 영향, 형태의 변화와 대사에 관해서 사용되어 왔으며<sup>40,41)</sup> 교원

질, osteocalcin과 다른 골아세포 분화의 표지인자에 대한 보고<sup>42,43)</sup>도 있어 온 한편, 최 등<sup>41)</sup>의 연구에서 MC3T3-E1세포의 골아세포적 분화중 골기질단백질의 발현 양상에 대해 밝힌 바 있다.

본 연구에서 MC3T3-E1 세포에 대한 Dex의 영향을 알아보기 위해, 시간경과에 따른 골결절 형성을 측정해 본 결과 골결절 형성은, 대조군은 초기에 전혀 관찰할 수 없었고, 20일째에야 관찰되었으며 Dex군에서는 10일째 처음 관찰되어 이후 시간이 경과함에 따라 많은 양과 크기가 큰 골 결절 형성이 관찰되었다. 이러한 실험결과는 신생쥐의 두개골에서 추출한 MC3T3-E1세포에서 21일경에 골결절 형성이 관찰되었다는 Hiroko Sudo 등의 보고<sup>39)</sup>와 유사하였으나, 동일한 세포의 배양시 16일경부터 골결절이 관찰되어 그 후 30일경까지 시간의 경과에 따라 골결절 수와 크기가 차츰 증가했다는 최 등<sup>40)</sup>의 보고와는 다른 양상을 보였는데, 이 차이는 배양기간동안의 배양조건에 기인된 것으로 사료된다. 이러한 결과는 골세포의 석회화 과정에 Dex가 중요한 영향인자로 관여함을 시사하고 있으며, 정확한 기전을 밝히기 위한 부가적인 실험이 필요할 것으로 생각된다.

세포성장율에서 Dex군은 대조군에 비해 15일까지 낮은 양상을 보였으나, 20일 이후 높은 양상을 보여 Dex가 골아유사세포의 성장초기에, 세포증식을 억제 시킨 것으로 사료된다.

ALP는 칼슘과 인 대사에 관여하는 효소로서, 정확한 기능은 알려져있지 않지만 Robinson 등<sup>44)</sup>은 유기인산 기질에서 무기인산을 분리해 낼 수 있는 효소라고 보고하였으며, Siffert<sup>45)</sup>는 골형성 이전의 세포 대사와 칼슘과 인 이온이 결정화되기 이전의 골기질 형성에 주로 관여한다고 보고하였다.

Stein 등<sup>46)</sup>은 골세포의 표지인자로서 ALP활성도를 측정해 보아야 하며 높은 ALP활성도는 골세포 분화의 표지인자라고 보고한 것을 기초로 본 실험에서 시간경과에 따른 MC3T3-E1 세포의 ALP 활성을 측정해 보았다.

대조군-1, 대조군-2에서는 10일군까지 증가하다가 이후 감소하는 것으로 나타났고, Dex군에서는 대조군보다 전반적으로 감소양상을 보였으며 10일째 가

장 감소하는 양상을 보였으나, 이후 증가하는 양상을 보여 대조군과는 다소 차이를 보였다. 이는 세포종류의 차이는 있지만 오 등<sup>47)</sup>의 연구에서 10일째보다 15일째에 높은 ALP활성도를 나타낸 것과 서 등<sup>48)</sup>과 Nojima 등<sup>49)</sup>의 연구에서 치주인대세포의 ALP활성도가 시간이 경과함에 따라 증가했다는 결과와는 다르게 나타났고, MC3T3-E1 세포의 ALP활성도는 처음 며칠동안 증가하여, 10일경에 최고치에 도달하였으며 그 후에는 차츰 감소하였다는 최 등<sup>41)</sup>의 연구와는 일치하는 것으로, ALP활성도가 최고에 다다른 이후 골결절이 관찰된 대조군에 비해 Dex군은, 대조군보다 낮은 ALP 활성을 보였음에도 가장 빨리 골결절이 관찰되어 Dex가 골세포의 성장과정에서 다른 요소에도 많은 영향을 끼치는 것으로 사료된다. 향후 이에 대한 골세포의 분화와 증식에 대한 효과와, 다양한 골기질 단백질 발현에 대한 연구가 더 필요하리라 보고 사료된다.

## V. 결론

치주조직의 재생을 위해서는 골조직의 재생이 필수적이라 할 수 있으며, 본 연구에서는 골세포의 성장과 분화에 대한 Dex의 영향을 관찰하였다. 생체내에서는 골형성을 감소시키고 골 흡수를 야기시키지만 골세포 배양시 Dex가 골아유사세포의 분화와 성장에 어떠한 영향을 미치는 지 규명하고자 본 실험을 시행하였다.

Dex를 주입하지 않은 군을 대조군으로 하고, Dex를 주입한 군을 실험군으로 하여 5, 10, 15, 20, 25일째에 세포증식능, 알칼린인산효소활성도, 골결절 형성을 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. Dex군은 세포증식능에 있어서 대조군에 비해, 15일까지 낮은 양상을 보였으나 골결절 형성은 Dex군에서는 10일째, 대조군에서는 20일째 처음 관찰되어 이후 시간이 경과함에 따라, 크기가 큰 다수의 골 결절 형성이 관찰되었다( $p < 0.05$ ).
2. 시간 경과에 따른 MC3T3-E1 세포의 ALP 활성

은, 대조군-1, 대조군-2에서는 10일군까지 증가하다가 이후 감소하며, Dex군에서는 성장초기에 대조군보다 낮은양상을 보였으며 10일째 가장 낮은 양상을 보였으나, 이후 높은 양상을 보여 대조군과는 다소 차이를보였다( $p < 0.05$ ).

이상의 결과로 미루어볼 때, Dex가 골결절형성은 촉진시키나 세포증식율과 ALP 활성도는 감소시키는 것으로 나타나, Dex가 골아유사세포의 성장과 분화과정의 초기에는 세포의 성장을 억제시켰으나, 석회화과정은 촉진시키는 것으로 나타났다.

## VI. 참고문헌

- Lindhe, J. : Textbook of clinical periodontology, 2nd ed., Munksguard, Copenhagen, pp. 50, 1989.
- 권영혁 외 : 치주과학, 지영문화사, 서울 pp. 473-476, 1992.
- Cobi, J. L., Ayala, G., Miron, W. : Clinical and biologic observation of demineralized freeze-dried bone allografts in augmentation procedures around dental implants, Int. J. Oral Maxillofac. Implants, 9: 586-592, 1994.
- Michael, E. F., Jay, M., David, K., Marjorie, J., Ross, H., Laura, D. B., Jack L. : The use of guided bone regeneration to fill large mandibular defects in monkeys ; A pilot study, Int. J., Oral Maxillofac. Implants, 9: 644-652, 1994.
- Lynch, S. E., Buser, D., Hernandez, R. A., Weber, H. P., Stich, H., Fox, C. H., Williams, R. C. : Effects of the platelet derived growth factor/insulin like growth factor -I combination on bone regeneration around titanium dental implants. Results of a pilot study in beagle dogs, J. Periodontol., 62: 710-716, 1991.
- Cochran, D. L., Rouse, C. A., Lynch, S. E., Graves, D. T. : Effects of platelet derived growth factor isoforms on calcium release from neonatal mouse calvariae, Bone, 14:53-58, 1993.
- Offenbacher, S., Braswell, L.D., Loos, A.S., et al. : Effects of flurbiprofen on the prgression of periodontitis in *Macaca mulatta*, J. Periodont. Res., 24:473, 1987.
- Offenbacher, S., Odle, B.M., Braswell, L.D., et al. : Changes in cyclooxygenase metabolites in experimental periodontitis in *Macaca mulatta*, J. Periodont. Res., 24:63, 1989.
- Williams, R.C., Jeffcoat, M.K., Howell, T.H., et al : Ibuprofen: An inhibitor of alveolar bone resorption in beagles. J. Periodont. Res., 23:225, 1988.
- Williams, R.C., Jeffcoat, M.K., Kaplan, M.L., Goldhabor, P., Johnson, G. H., and Wechter, W.J.: Flurbiprofen: A potent inhibitor of alveolar bone resorption in beagles. Science, 227:640, 1985.
- Williams, R.C., Jeffcoat, M.K., Howell, T.H., et al.: Topical flurbiprofen treatment of periodontitis in beagles. J. Periodont. Res., 23:166, 1988.
- Jeffcoat, M.K., Williams, R.C., Reddy, M.S. et al. : Flurbiprofen treatment of human periodontitis: effect in alveolar bone height and metabolism. J. Periodont Res., 23:381, 1988.
- Jeffcoat, M.K., Williams, R.C., Wechter, R.J., et al. : Flurbiprofin treatment of periodontal disease in beagles. J. Periodont. Res., 21:624, 1986.
- 이만섭 : 치의학도를 위한 영양학 개요. 홍릉과학출판사, 서울, pp. 125-127, 163, 1985.
- Carranza, F.A. : Glickman's clinical periodontology 6th ed. Saunders Co. : pp. 72-474, 1984.
- Cupta, O.P., Blechman, H. and Stahl, S.S. :

- The effect of stress in the periodontal tissue of young adult male rats and hamsters. *J. Periodontol* 31 : 413-417, 1960.
17. Sissons, H.A. and Hadfield, G.J. : The influence of cortisone in the rabbit. *Br. J. Surg* 39 : 172-178, 1951.
  18. Bellows, C.G., Heersche, J.N. & Aubin, J.E. : Determination of the capacity for proliferation and differentiation of osteoprogenitor cells in the presence and absence of dexamethasone. *Dev. Biol.* 140 : 132-138, 1990.
  19. Kasugai, S., Todescan, R., Nagata, T., Yao, K-L, Butler, W.T. & Sodek, J. : Expression of bone matrix proteins associate with mineralized tissue formation by adult marrow cells in vitro; inductive effects of dexamethasone on osteoblast phenotype. *J. cell physiol.* 147 : 11-120, 1991.
  20. Baylink, D.J. : Glucocorticoid-induced osteoporosis. *N. Engl. J. Med* : 309-308, 1983.
  21. Burckhardt, P. : Corticosteroids and bone. A review, *Hormone Res.* 20 ; 59-64, 1984.
  22. Meunier, P.J., Dempster, D.W., Edouard, C., Chapuy, M.C., Arlot M., Charon, S. : Bone histomorphometry in syndrome. *Adv. Exp. Med. Biol.* 171 : 191, 1984.
  23. Jowsey, J., Riggs, B.L. : Bone formation in hypercorticism. *Acta. Endocrinol.* 63 : 21, 1970.
  24. Jee Wss, Park HY, Roberto WE, Kanner GH : Corticosteroid and bone. *Am. J. Anat.* 129 : 477, 1970.
  25. Blunt, J.W., Plotz, C.M., Latters, R., Howes, E.L., Meyer, K., and Ragan, C. : Effect of cortisone on experimental fractures in the rabbit. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 73 : 678-681, 1950.
  26. Kostenszky, K.S. and Olah, E.H. : Effect of prednisolone on Callus formation *Acta. Biol. Acad. Sci. Hung* 25 : 49-60, 1974.
  27. Murakami, H. and Kowalewski, K. : Effect of cortisone and on anabolic androgen on the fractured humerus in guinea pigs. *Clinical and histological study over a six-week period of fracture healing can. J. Surg.* 9 : 425-434, 1966.
  28. Ragan, C., Grokoest, A.W. and Boots, R.H. : Effect of Adrenocorticotrophic hormone (ACTH) on Rheumatoid Arthritis. *Am. J. Med.* 7 : 741, 1949.
  29. Creditor, M.C., Bevans, M., Mundy, W.L. and Ragan, C. : Effect of ACTH on Wound Healing in Humans. *Pedc. SOC. Exper. Biol. Med.* 74 : 245, 1950.
  30. Ragan, C., Howes, E.L., Plotz, C.M., Meyer, K. and Blunt, J.W. : Effect of cortisone on Production Proc. *Soc. Exper. Biol. Med.* 72 : 718, 1949.
  31. Howes, E.L., Plotz, C.M., Blunt, J.W., and Ragan, C. : Retardtion of Wound Healing by cortisone : *Surgery* 28 : 177, 1950.
  32. Alrich, E.M., Carter, J.P. and Lehman, E.P. : Effect of ACTH and Cortisone on Wound Healing: *Ann. Surg.* 133 : 783, 1951.
  33. Chyun, Y.S., Kream B.E. and Raisz L.G. : Cortisol decreases bone formation by inhibiting periosteal cell proliferation. *Endocrinology* 114 : 477-480, 1984.
  34. Key, J.A., Odell, R.T. and Taylor, L.W. : Failure of cortisone to delay or to prevent the healing of fractures in Rats. *J. Bone & Joint surg.* 34 : 665, 1952.
  35. Dietrich, J.W., Canalis, E.M., Maina, D.M. and Raisz, L.G. : Effect of glucocorticoids on fetal rat bone collagen synthesis in vitro *Endocrinology* 104 : 715-721, 1979.
  36. Seiichi Sato, Takashi Kim, Shichiro Maruyama, Masamishi Tajima and Nobuo Utsumi : Comparison between the Effects of

- Dexamethasone and Indomethacin on Bone Wound Healing. *Japan J. Pharmacol.*, 42: 71-78, 1986.
37. Kumegawa, M., Hiramatsu, M., Hatakeyama, K., Yajima, T., Kodama, H., Osaki, T., Kurisu, K. : Effects of epidermal growth factor on osteoblastic cells in vitro, *Calcif. Tissue. Int.*, 35: 542-548, 1983.
  38. Hurley, M. M., Abreu, C., Harrison, J. R., Lichtler, A. C., Raiaz, L. G., Kream, B. E. : Basic fibroblast growth factor inhibits type I collagen gene expression in osteoblastic MC3T3-E1 cells, *J. Biol. Chem.*, 268: 5588-5593, 1993.
  39. Sudo, H., Kodama, H., Amagai, Y., Yamamoto, S., Kasai, S. : In vitro differentiation and calcification in a new clonal osteogenic cell line derived from newborn mouse calvaria, *J. cell Biol.*, 96: 191-198, 1983.
  40. Quarles, L. D., Yohay, D. A., Lever, L. W., Caton, R., Wenstrup, R. J. : Distinct proliferative and differentiated stages of murine MC3T3-E1 cells in culture an in vitro model of osteoblast development, *J. Bone Min. Res.*, 7: 683-692, 1992.
  41. Choe J-Y, Lee B-H, Song K-B, Park R-W, Kim J-S, Sohn K-Y, Jo J-S, Ryoo H-M : Expression patterns of bone related proteins during osteoblastic differentiation in MC3T3-E1 cells, *J. Cell Biochem.*, 61: 609-618, 1996.
  42. Chomczynski, P. : A reagent for the single step simultaneous isolation of RNA, DNA and proteins from cell and tissue samples, *BioTechniques* 15: 532-537, 1993.
  43. Aronow, M.A., Gerstenfeld, L.C., Owen, T.A., Tassinari, M.S., Stein, G.S., and Lian, J.B. : Factors that promote progressive development of the osteoblast phenotype in cultured fetal rat calvaria cells, *J. Cell Physiol.*, 143 : 213-221, 1990.
  44. Robinson, R. : XXXIII. The possible significance of hexosephosphoric esters in ossification, *Biochem. J.*, 111 : 286-293, 1923.
  45. Siffert, R. S. : The role of ALPase in osteogenesis, *J. Exp. Med.*, 93: 415-425, 1951.
  46. Stein, G. S., Lian, J. B. and Owen, T. A. : Relationship of cell growth to the regulation of tissue-specific gene expression during osteoblast differentiation, *FASEB. J.*, 4 : 82-94, 1990.
  47. 오상덕, 이재목, 서조영 : Platelet-derived growth factor-AA, BB가 치주인 대세포의 세포활성에 미치는 영향에 대한 연구, *대한치주과학회지*, 24 : 303-320, 1994.
  48. 서조영, 최재용, 유현모, 박준봉, 조준승 : 치주인대세포와 치은섬유아세포의 성장에 관한 비교, *대한구강생물학회지*, 15 :14-27, 1991.
  49. Nojima, N., Kobayachi, M., Shionomo, H., Takanashi, N., Sudo, T. and Hasegawa, K. : Fibroblastic cells derived from bovine periodontal ligaments have the phenotypes of osteoblast, *J. Periodont. Res.*, 25 : 179-185, 1990.



## 사진부도 설명

Figure 3. Histochemical change of control group at 10 days

Photomicrograph shows no bone nodules( $\times 40$ ).

Figure 4. Histochemical change of on Dex group at 10 days

Photomicrograph shows bone nodules( $\times 40$ ).

Figure 5. Histochemical change of control group at 20 days

Photomicrograph shows bone nodules( $\times 40$ ).

Figure 6. Histochemical change of Dex group at 20 days

Photomicrograph shows bone nodules( $\times 40$ ).

Figure 7. Histochemical change of control group at 25 days

Photomicrograph shows bone nodules( $\times 40$ ).

Figure 8. Histochemical change of Dex group at 25 days

Photomicrograph shows very larger bone nodules than control group( $\times 40$ ).

## 사진부도

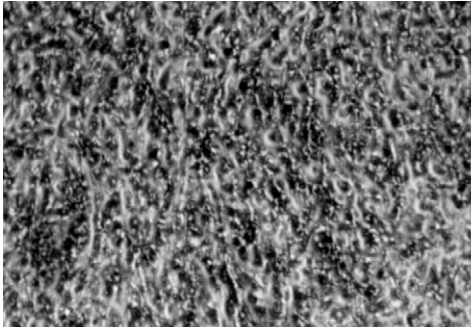


Figure 3

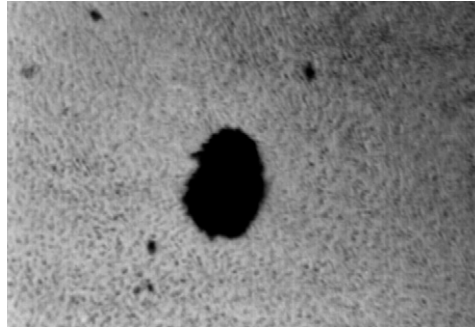


Figure 4

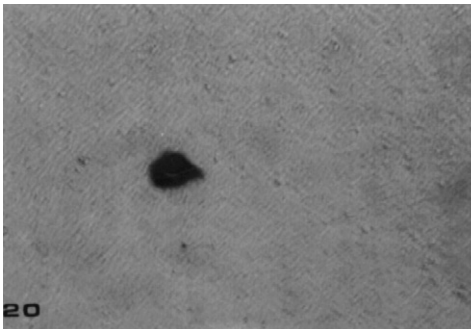


Figure 5

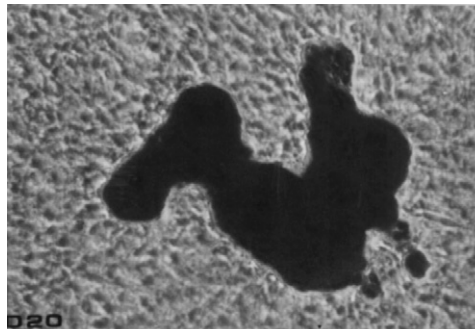


Figure 6

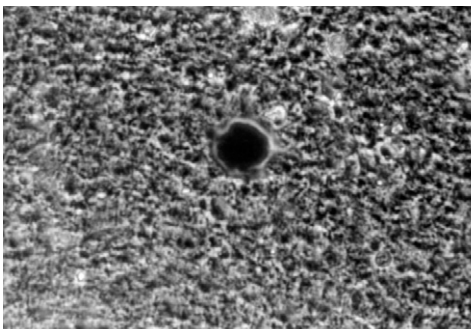


Figure 7

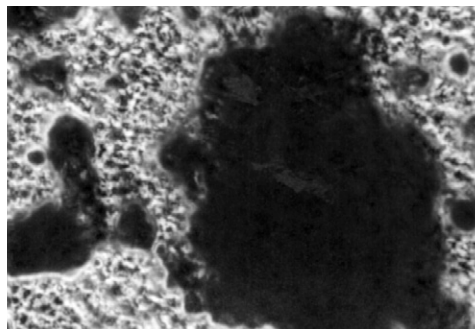


Figure 8

## The Effects of Dexamethasone on Growth and Differentiation of Osteoblast-like Cell

Jae-Mok Lee

Department of Periodontology, School of Dentistry, Kyungpook National University

The ultimate aim of periodontal treatment is periodontal regeneration, which necessitates the regeneration of bone tissues. To evaluate the effects of Dex growth and differentiation of MC3T3-E1 cells, cells were seeded in alpha-modified eagle medium containing 10% fetal bovine serum, 10mM beta-glycerophosphate , 50 $\mu$ g/ml of ascorbic acid, with or without  $10^{-7}$ M Dex and examined cell proliferation activities, alkaline phosphatase activities, and bone nodule formation until 25days.

The results were as follows :

1. In Dex group, cell proliferation activities were lower until 15 days compared to control group. Bone nodules formation were showed at 10 days.
2. In the time-response effect, ALP activities were increased until the 10 days in control groups thereafter decreased and ALP activities of Dex group were lower aspect than control group until the 10 days

In this study, bone nodule formation of osteoblast-like cells were accelerated by Dex and cell proliferation activities, ALP activity of Dex group showed lower than control group. Dex was considered that it did suppress initial growth, but accerelate mineralization of osteoblast-like cells.