

NFI-C 결손 생쥐의 유지와 특성

¹조선대학교 구강생물학 연구소 및 2단계 BK21

²남서울대학교 치위생학과

조광희¹ · 이동설¹ · 최용석¹ · 윤성호¹ · 배현숙² · 김홍중¹ · 김지웅¹ · 박주철^{1*}

I. 서 론

Nuclear factor I (NFI) family는 시험관에서 adenovirus의 DNA 복제에 필요한 단백질로 처음 발견되었다. NFI은 포유류에서 NFI-A, -B, -C와 -X의 4종류가 존재하며 많은 세포의 유전자 발현에 있어서 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다^{12,13,14}. 대표적으로 NFI-A 유전자가 없으면 뇌의 발생에 이상이 생기며, NFI-B가 상실되면 뇌와 폐의 발생에 이상이 초래된다^{15,16}. NFI-C에 관하여 최근에 Steele-Perkins 등¹⁷은 NFI-C를 knock out (K/O)하여 발육부전을 보이는 치근을 가진 전치와 정상치관을 가지나 치근이 형성되지 않은 구치를 관찰하여, NFI-C가 치아발생 과정 중에 말기, 즉 치근형성시기에 중요한 역할을 할 것이라 하였다. 최근에 배 등¹⁸은 상아모세포주인 MDPC-23 세포가 상아모세포로 분화하는 과정에서 NFI-C의 과발현과 발현억제가 상아모세포 분화에 미치는 영향을 연구하여, NFI-C가 없으면 상아모세포가 골세포의 특징 유전자인 bonesiolooprotein (BSP)의 발현을 유도한다고 하였다. 이는 NFI-C에 의하여 상아모세포의 표현형이 골세포로 전환 될 수 있음을 시사하는 연구 결과이다.

상아모세포는 세포체와 세포질 돌기를 갖고

있는 키가 크고 극성을 띄는 세포로 상아전질과 상아질을 형성하고 유지한다. 상아모세포는 그 원위 끝단으로 기질 단백질을 분비하는 고도의 극성을 띄는 결합조직-합성 세포이다. 골세포나 연골세포와는 달리 상아모세포는 석회화된 기질에 함입되어 있지 않고 항상 상아질의 치수 측에 자리한다. 인접한 상아모세포들 사이에는 세포간 결합들이 관찰되는데 틈새연접(gap junction), 폐쇄연접(zonula occludens, tight junction), 부착 띠(adhesion belts), 부착반점(desmosomes) 등이 있다. 세포체가 돌기가 되는 면 쪽에서는 대부분 부착 띠와 폐쇄연접이 섞여서 나타나는 연접복합체의 형태로 나타난다. 액틴 미세사들이 부착 띠 내로 들어가는 것이 현저하며 종말그물을 형성한다^{23,24,25}. 이 연접복합체는 상피세포에서처럼 세포를 완전히 둘러싸는 띠 모양으로 나타나는 것이 아니라 국소적인 형태로 나타난다. 이 결합장치들이 상아모세포가 상아질 내면을 따라서 한 층으로 배열 할 수 있게 하며, 상아전질에 세포들이 함입되지 못하도록 세포들끼리 붙잡아주는 역할을 한다^{26,27}. 고 등은 NFI-C K/O 생쥐의 상아모세포의 투과전자현미경 관찰에서 NFI-C K/O 생쥐의 상아모세포는 정상 상아모세포와는 다르게 종말그물이나 연접복합체와 같은 세포사이 결합장치들을 관찰할 수 없었다고 하였다. 이 결과는 NFI-C 유전자가 결손 되면 세포사이 결합장치의 형성에 이상이 초래됨을 나타낸다. 치근의 형성과정은 Hertwig 상피근초의 형성과 치근 상아모세포의

* 교신저자.

** 이 논문은 2005년도 학술진흥재단의 지원에 의하여 연구되었음 (KRF-2005-202-E00148).

분화가 중요하다. Hertwig 상피근초가 정상적인 위치에 형성되고 치유두 세포로부터 상아모세포의 분화를 정상적으로 유도해야 치근이 정상적으로 형성된다⁴⁰⁾. 신 등은 NFI-C K/O 생쥐의 치근의 상아모세포의 분화가 정상적으로 진행되지 못한 점은 확인되었으나, 치근 상아모세포의 분화에 중요한 역할을 하는 Hertwig 상피근초의 형태학적 이상 유무는 확인하지 못하였다. 또한, NFI-C K/O 생쥐의 Hertwig 상피근초에서 cytokeratin이 발현되어 상피근초가 기능적으로도 정상적임을 보고하였다.

이 연구에서는 장기적으로 국내에서 상아모세포의 분화과정에서 NFI-C의 역할에 관한 기전을 명확히 안정적으로 연구하기 위하여, Steele-Perkins 등¹⁷⁾에 의하여 제작된 NFI-C (+/-) 생쥐를 미국 (Dept. Biochemistry, State University New York at Buffalo)으로부터 받아 이를 교배하여 NFI-C(-/-) 생쥐를 만들어 이를 유지하고 새로 수립된 NFI-C(-/-) 생쥐의 치아의 특성을 조직학적으로 관찰하였다.

II. 실험재료 및 방법

1. NFI-C founder의 제작

1) 실험동물의 준비

미국 (Dept. Biochemistry, State University New York at Buffalo)에서 제공받은 NFI-C (+/-) 생쥐 2쌍을 각각의 성별에 따라 2개의 cage에 분리하였다. 각각 분리 수용된 cage는 온도와 습도가 조절되는 배양기에 수용하였다. 수용된 쥐들은 새로운 환경에 적응하기 위해 일주일간의 안정화 기간을 거치는 동안 어떤 실험적인 처치도 하지 않았다. 일주일간의 안정화 기간이 거친 후, 두 마리의 정상 암컷 C5BL/6 (Damul, Daejon, Korea)는 1마리의 *Nfi-c*^{+/-} 쥐와 교배하였으며, 2마리의 *Nfi-c*^{+/-} 쥐는 각각 두 마리씩의 정상 C5BL/6 암컷 쥐와 교배를 하여 약 21일 후 *Nfi-c*^{+/-} 첫 세대를 얻었다. 이렇게 얻어진 세대는 일련의 표기방법에 따라 각각의 고유 번호를 부여하고, 약 0.5mm의 꼬리를 절단하여 유전자형 분석에 사용되었다. 또한, 정

상 *Nfi-c*종과 *Nfi-c*변이 종 사이에서 태어난 *Nfi-c*^{+/-} 중은 다음 세대와 교배시 변이의 발생을 야기 할 수 있으므로 회색하였다.

2) Genotyping과 PCR

Nfi-c^{+/-}와 정상 B6 생쥐를 교배하여 얻어진 1세대 (G1)의 꼬리를 약 0.5cm정도 절단을 하여 유전자 분석에 사용하였다. 절단된 꼬리는 1.5ml e.p. tube에 tail lysis buffer(0.05 M tris; 0.1 M EDTA; 0.5% sodium dodecyl sulfate 및 0.5ug/ul의 proteinase K)에 넣어 58°C에서 하루 동안 용해시킨 후, 8M potassium acetate를 첨가하여 DNA를 얻을 수 있었다. 얻어진 DNA는 Goronostajaski (2003)의 방법에 따라 동일한 조건에서 PCR (Polymerase Chain Reaction)을 수행하여 유전자 분석을 완료하였다. 분석의 편의를 위하여 C5BL/6에서 나타난 개체에서는 neo-cassette를 포함하는 영역을 분석하였으며, *Nfi-c*^{+/-}와 *Nfi-c*^{+/-}사이에서 태어난 개체에서는 neo-cassette를 포함하는 영역과 포함하지 않는 영역 모두를 PCR을 통하여 확인하였다. PCR은 94°C 8분후 95°C에서 30초, 55°C에서 30초, 72°C에서 30초의 조건으로 33사이클을 시행하였다. PCR 생성물은 1.5% agarose gel에서 전기 영동하여 유전자 발현을 확인하였다. PCR에 사용된 primer 는 *Nfi-c* (A) : 5'-CATCTGTGTGAAA CAGTCTGG-3'와 *Nfi-c* (B) : 5'-CCGCTTCC TCGTGCTTTACGG-3' 그리고 *Nfi-c* (C) : 5'-AGCAGCTCATCCTTCACCGCG-3'을 사용하였는데, C5BL/6와 *Nfi-c*^{+/-} 교배한 경우에는 A와B primer로 check하였으며, *Nfi-c*^{+/-}와 *Nfi-c*^{+/-}를 교배한 경우에는 A와B 그리고 A와C primer를 모두 check하였다.

2. 조직표본 제작 및 형태학적 관찰

다양한 발생시기의 정상 생쥐 (wild type)들과 교배를 통하여 얻어진 NFI-C knock out (K/O) 생쥐를 4% paraformaldehyde 용액을 이용하여 관류 고정시킨 후 상, 하악골을 포함한 머리뼈를 적출하여 동일 고정액에서 하룻밤 동안 재 고정하였다. 10% ethylene diamine tetra- acetic acid

(EDTA)-1% paraformaldehyde (pH 7.4) 용액에서 2 주간 탈회하고 수세, 탈수 등의 과정을 거친 다음 파라핀 포매 하여 5 μm 두께로 전치부를 중심으로 시상절단하고 또한 전치부에서부터 구치부까지 전방에서 후방으로 관상으로 절단하였다. 박질한 절편은 면역조직화학적염색을 위해 4°C에 보관하였고 일부는 통법에 따라 hematoxylin-eosin으로 염색한 후 광학현미경으로 관찰하였다.

III. 실험결과

1. Nfi-C K/O 생쥐의 Genotyping 결과

C5BL/6와 *Nfi-c*^{-/-} 교배한 경우에는 A와B primer로 check하였을 때, 정상 생쥐와 *Nfi-c*^{+/-} 생쥐가 태어났는데, 정상 생쥐는 *Nfic* 유전자의 정상영역의 358 bp PCR 밴드가 관찰되었으며 *Nfi-c*^{+/-} 생쥐는 *Nfic* 유전자의 정상영역의 358 bp PCR 밴드가 관찰되지 않았다. *Nfi-c*^{+/-}와 *Nfi-c*^{-/-}를 교배한 경우에는 A와B primer와 A와C primer를 사용하여 PCR을 시행하였을 때 정상 생쥐는 358 bp PCR 밴드만 관찰되었으며, *Nfi-c*^{+/-} 생쥐는 358 bp와 545 bp의 밴드가 모두 관찰되었으며, *Nfi-c*^{-/-} 생쥐는 358 bp 밴드는 관찰되지 않았으나 545 bp의 neo-cassette 밴드만 관찰되었다 (Fig. 1).

2. Nfi-C K/O 생쥐의 육안적 관찰

정상 생쥐, *Nfi-c*^{+/-} 생쥐, *Nfi-c*^{-/-} 생쥐를 육안으로 관찰하였을 때 정상 생쥐와 *Nfi-c*^{+/-}는 치아와 다른 조직의 이상을 발견 할 수 없었으나, *Nfi-c*^{-/-} 생쥐는 상악악 전치의 길이와 직경이 감소한 소견을 보였다 (Fig. 2A, B, C). 정상 생쥐, *Nfi-c*^{+/-} 생쥐, *Nfi-c*^{-/-} 생쥐들은 일정기간 유동식으로 사육하였을 때 체중의 변화는 관찰되지 않았다 (Fig. 3A, B). *Nfi-c*^{+/-} 생쥐와 *Nfi-c*^{-/-} 생쥐를 교배하였을 때 정상 생쥐는 134마리, *Nfi-c*^{+/-} 생쥐는 78마리, *Nfi-c*^{-/-} 생쥐는 4마리의 비율로 출생하였다 (Fig. 4).

3. Nfi-C K/O 생쥐의 형태학적 변화

정상 생쥐의 절치 횡단 표본에서 극성을 띄는 법랑모세포 하방에 형성된 질에 인접하여 타원형으로 형성된 상아질과 상아질의 내면에 규칙적으로 배열된 상아모세포가 관찰되었다. 잘 형성된 치근 상아질 주위로 시멘트질 모세포와 치주인대섬유모세포를 포함하는 치주조직이 발생되고 있었다. *Nfic*^{+/-} 생쥐의 절치 횡단 표본에서는 정상적으로 형성된 법랑질 아래 일부의 정상적인 상아질을 제외하고는 치수 주위에 비정상적인 상아질이 많이 형성되어 있었다 (Fig. 5A). 비정상적인 상아질에는 많은 세포들이 함입되어 있었으며, 극성을 띄지 않는 비정상적인 상아모세포가 비정상적인 상아질 내면을 따라 불규칙하게 배열되어 있었다. 또한 치근부위의 상아질이 형성되지 않은 결과로 설측면이 상아질에 의해 둘러싸이지 않고 노출되어 있었으며, 치주조직의 정상적인 발생 양상도 관찰 할 수 없었다 (Fig. 5B).

IV. 총괄 및 고안

치아의 형성은 치성상피 (dental epithelium)와 외배엽성 간엽세포 (ectomesenchymal cell) 사이의 상피-간엽간의 상호작용을 통해 조절되어지는 복잡한 발생과정이다²⁵⁾. 치성상피는 치아기 (dental organ)를 형성하여 법랑모세포가 분화하는 반면에, 외배엽성 간엽세포는 치유두 (dental papillae)를 형성하여 상아모세포와 치수세포가 분화하고 이들이 치관 상아질과 치수를 형성한다. 외배엽성 간엽세포는 또한 치낭을 형성하며 이 세포들이 시멘트질, 치주인대 그리고 치조골을 형성한다^{9,11)}. 치관이 완성된 후에 내치상피 (internal dental epithelium)와 외치상피 (external dental epithelium)가 치관 아래쪽으로 증식하여 Hertwig 상피 근초 (Hertwig's root sheath)를 형성한다. Hertwig 상피 근초가 치근의 형태를 결정하고 치근 상아질을 형성하는 상아모세포의 분화를 유도한다⁵⁾.

외배엽성 간엽세포로부터 상아모세포 전구세포 (preodontoblast)를 거쳐 상아모세포가 분화

하는 데에는 법랑모세포 전구세포 (preameloblast)의 존재가 필수적이다²⁾. 외배엽성 간엽세포가 상아모세포 전구세포로 분화하면 세포가 길어지고, 세포가 기저부에 위치하며, 극성을 띄게 되고, 골지체 (Golgi complex)가 핵 위에 위치하며, 조면내형질세망 (rER)이 세포의 가장자리에 위치하게 된다. 상아모세포 전구세포가 상아모세포로 분화하면 상아모세포의 원심측에 부착 결합 (adherent junction)이나 치밀 결합 (tight junction)과 같은 세포간 결합장치 (intercellular junctional complex)가 발달하게 된다¹⁴⁾. 상아모세포는 제I형과 II형 교원질과 같은 유기기질과 당단백 그리고 상아모세포와 상아질의 마커 단백질인 dentin sialophosphoprotein (DSPP)을 합성 분비한다⁴⁾. 상아질의 기질이 침착됨에 따라 상아모세포가 세포질 돌기들을 원심 쪽으로 내어 상아세관에 묻히게 되고, 결과적으로 상아모세포는 치수 가장자리 상아질의 내면에 위치해서 상아질을 유지하게 된다²⁰⁾. 그러나 이러한 상아모세포의 분화과정에 대한 기전은 아직까지 잘 알려져 있지 않다.

Nuclear factor I (NFI) family는 전사-복제 인자들로 닭, 생쥐, 햄스터, 돼지 및 사람에서는 NFI-A, NFI-B, NFI-C 그리고 NFI-X의 네 가지 유전자들로 이루어져 있으나, *Drosophila melanoster*와 *Caenorhabditis elegans*에서는 하나의 유전자로 구성되어 있다^{6,8,26)}. NFI은 시험관에서 adenovirus의 DNA 복제에 필요한 단백질로 처음 발견되었으나, 최근에는 많은 세포성 유전자들의 발현에 중요한 역할을 하는 단백질로 알려지고 있다^{7,12,16,17)}. 예를 들어, NFI-A 유전자가 없으면 뇌의 발생에 이상이 생기며²³⁾, NFI-B가 상실되면 뇌와 폐의 발생 이상이 초래된다³⁶⁾. NFI-C에 관하여는 최근에 Steele-Perkins 등³⁸⁾이 NFI-C를 knock out하면 악약전치는 부러지기 쉽게 변형되고, 상악전치에도 약간의 이상이 발생한다고 하였다. 특히 구치는 치관부는 정상이지만 치근이 짧거나 비정상적으로 형성된다고 하여, NFI-C가 치근 상아질 형성과정 즉 상아모세포의 분화과정에서 중요한 역할을 함을 시사하였다.

이 연구에서 정상 상아모세포와는 다르게

NFI-C K/O 생쥐의 상아모세포는 세포의 키가 작고 타원형 모양이었다. 이 세포들은 또한 세포 극성과 방향성이 상실되고 세포 덩어리가 관찰되는 등 매우 불규칙한 양상을 보였다. 더구나 비정상적인 상아모세포들은 자신들이 형성한 비정상적인 상아질에 함입되어 있었다. 이 결과는 NFI-C 유전자가 결손 되면 세포사이 결합장치의 형성이 방해되어 결과적으로 비정상적인 상아모세포가 분화하고, 이에 따라 비정상적인 상아질이 형성되는 것으로 생각할 수 있다. 또한 이 결과는 NFI-C에 의하여 상아모세포의 표현형이 달라질 수 있음을 시사하는 연구 결과로 향후 NFI-C에 의하여 조절되는 유전인자에 대한 보완 연구가 필요할 것이다.

Steele-Parkins¹⁷⁾등의 연구에 의하면 NFI-C 유전자는 치아 발생과정에서 외배엽성 간엽세포에는 발현되지 않으나, 상아모세포 전구세포에서 발현되기 시작하여 상아모세포의 분화가 진행되어 감에 따라 발현이 증가한다고 하였다. NFI-C는 골모세포에서도 발현되나 골세포에서는 발현되지 않는다고 하였다. 그러나 NFI-C K/O 생쥐에서 골조직은 이상이 없이 상아모세포의 분화와 상아질 형성에만 이상이 초래된 것은 NFI-C가 상아모세포에만 선택적으로 작용함을 의미한다. 또한 NFI-C K/O 생쥐 전치와 구치에서 치관은 정상적으로 형성되나 치근은 잘 형성되지 않는다고 하였다. 본 연구에서도 생후 10일의 NFI-C K/O 생쥐의 절치 횡단 표본에서는 치관부의 일부의 정상적인 상아질을 제외하고는 치수 주위에 비정상적인 상아질이 많이 형성되어 있었으며 비정상적인 상아질에는 많은 세포들이 함입되어 있었고, 치근부위의 상아질이 형성되지 않은 결과로 설측면이 상아질에 의해 둘러싸이지 않고 노출되어 있었으며, 치주조직의 정상적인 발생 양상도 관찰 할 수 없었다. 생후 17일의 NFI-C K/O 생쥐의 구치 중단 표본에서는 치관의 상아질은 정상적으로 형성되었으나 치근 발생 부위는 상아질의 형성을 거의 관찰 할 수 없었다. 구치부에 비하여 전치부의 NFI-C K/O 생쥐의 이상이 뚜렷하게 나타난 것은 전치부에 비하여 구치부의 치근발생이 시기적으로 늦게 이루어지기 때문인 것으로 판단된다. 이 결

과는 NFI-C 유전자가 치아의 발생과정에서 후기 치아의 발생 과정 특히 치근 형성에 중요한 역할을 한다는 것을 의미한다.

이 연구에서 C5BL/6와 Nfic^{+/-} 교배한 경우에 genotyping의 결과 정상 생쥐와 Nfic^{+/-} 생쥐가 태어났으며, Nfic^{+/-}와 Nfic^{+/-}를 교배한 경우에는 genotyping의 결과 정상 생쥐와 Nfic^{+/-} 생쥐 그리고 Nfic^{-/-} 생쥐가 관찰되었다. 그러나 그 출생 비율은 134 : 78 : 4의 비율로 Nfic^{-/-} 생쥐에서 현저히 낮았다. 이와 관련하여 Steele-Parkins¹⁷⁾ 등은 17상의 heterozygote를 교배하였을 때 정상 생쥐와 Nfic^{+/-} 생쥐 그리고 Nfic^{-/-} 생쥐가 33 : 87 : 34의 비율로 멘델의 유전법칙을 따른다고 하였다. 이 결과는 이 연구의 출생율의 감소에 대하여 향후 다양한 분석이 필요함을 시사한다. 또한, 이 연구에서 Nfic^{-/-} 생쥐를 일정기간 유동식으로 사육하였을 때에는 체중의 차이나 생존율의 관찰되지 않았다. 이 결과는 Nfic 유전자의 결손이 생쥐의 성장과 생존율에 직접 영향을 미치지 않으나 치아의 이상으로 인하여 간접적으로 체중의 변화가 초래될 수 있음을 의미한다.

결론적으로 이 연구를 통하여 제작 유지된 Nfic^{-/-} 생쥐를 이용하여 향후 상아모세포의 분화와 상아질의 형성 과정을 조절하는 요소에 관한 연구, NFI-C와 치근형성 유전자와의 상호관계, NFI-C 전사인자 연구 및 NFI-C를 조절하는 인자 등에 관한 추가 연구 등이 이루어진다면 이 결과를 상아질의 형성과정의 이해와 상아질의 재생 유도에 응용 할 수 있을 것이다.

V. 결 론

NFI-C는 상아모세포에 정상적으로 발현되는 전사인자로 NFI-C가 없으면 치근 상아질 형성 과정과 상아모세포의 분화과정에 이상이 초래되는 것으로 알려져 있으나 이에 대한 명확한 기전은 잘 알려져 있지 않다.

이 연구에서는 장기적으로 국내에서 상아모세포의 분화과정에서 NFI-C의 역할에 관한 기전을 안정적으로 연구하기 위하여, NFI-C (+/-) 생쥐를 미국으로부터 받아 이를 교배하여 NFI-C(-/-) 생쥐를 만들어 이를 유지하고, 새로 수립

된 NFI-C(-/-) 생쥐를 genotyping하고 육안적으로 관찰한 다음 치아의 특성을 조직학적으로 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. C5BL/6와 Nfic^{+/-} 교배한 경우에 genotyping의 결과 정상 생쥐와 Nfic^{+/-} 생쥐가 태어났다. Nfic^{+/-}와 Nfic^{+/-}를 교배한 경우에는 genotyping의 결과 정상 생쥐와 Nfic^{+/-} 생쥐 그리고 Nfic^{-/-} 생쥐가 관찰되었다. 그러나 그 출생 비율은 134:78:4로 Nfic^{-/-} 생쥐에서 현저히 낮았다.
2. 정상 생쥐, Nfic^{+/-} 생쥐, Nfic^{-/-} 생쥐를 육안으로 관찰하였을 때 정상 생쥐와 Nfic^{+/-}는 치아와 다른 조직의 이상을 발견 할 수 없었으나, Nfic^{-/-} 생쥐는 상악 전치의 길이와 직경이 감소한 소견을 보였다.
3. 정상 생쥐, Nfic^{+/-} 생쥐, Nfic^{-/-} 생쥐들은 일정기간 유동식으로 사육하였을 때 체중의 차이나 생존율의 관찰되지 않았다.
5. 정상 생쥐에서는 정상적인 상아질이 발생한 반면에 Nfic^{+/-} 생쥐는 치근이 짧아지고 치주 주위에 비정상적인 상아질이 많이 형성되었다.

이 연구 결과는 안정적인 Nfic^{-/-} 생쥐의 확립을 통하여 안정적인 상아질 형성의 기전 연구가 가능하게 하였으나, 보다 효율적인 연구를 위하여는 향후 Nfic^{-/-} 생쥐의 출생율을 증진하는 방법이 모색되어야 할 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. Chaudhry A., Lyons G.E, Gronostajski RM : Expression patterns of the four nuclear factor I genes during mouse embryogenesis indicate a potential role in development. Dev. Dyn. 208(3):313-325, 1998.
2. Chaudhry AZ, Vitullo AD, Gronostajski RM : Nuclear factor I-mediated repression of the mouse mammary tumor virus promoter is abrogated by the coactivators p300/CBP and SRC-1 : J. Biol. Chem. 274(11):7072-70,81, 1998.
3. Chaudhry AZ, Vitullo AD, Gronostajski RM : Nuclear factor I (NFI) isoforms differentially activate simple versus complex NFI-responsive promoters. J. Biol. Chem. 273(29): 18538-18546, 1999.
4. Gronostajski RM, Knox J, Berry D, Miyamoto NG :

- Stimulation of transcription in vitro by binding sites for nuclear factor I. *Nucleic Acids Res.* 16(5): 2087-2098, 1988.
5. Ling G, Hauer CR, Gronostajski RM, Pentecost BT, Ding X : Transcriptional regulation of rat CYP2A3 by nuclear factor I: identification of a novel NFI-A isoform, and evidence for tissue-selective interaction of NFI with the CYP2A3 promoter in vivo. *J. Biol. Chem.* 279(27): 27888-27895, 2004.
 6. Steele-Perkins G, Butz KG, Lyons GE, Zeichner-David M, Kim H-J, Cho M-I, Gronostajski RM : Essential Role for NFI-C/CTF transcription-replication factor in tooth root development. *Mol. Cell. Biol.* 23:1075-1084, 2003.
 7. 배현숙, 김홍중, 정문진, 박민주, 안성민, Gronostajski RM, 박주철 : 상아모세포 분화과정에서 nuclear factor I-C의 역할. *대한구강병리학회지* 29(2):83-82, 2005.
 8. Nanci A : Tencate's oral histology development, structure, and function. 6th ed, Mosby : 145-239. 2003.
 9. Garant PR, Cho MI : Recent studies of odontoblast structure and function: The secretory processes examined with a proline analog and the polyene antibiotic filipin. *INSERM Symposia* 125:143-158, 1984.
 10. Holland GR : The extent of the odontoblast process in the cat. *J. Anat.* 121:133-149, 1976.
 11. Sasaki T, Garant PR : Structure and organization of odontoblasts. *Anat Rec.* 245:235-249, 1996.
 12. Linde A, Goldberg M : Dentinogenesis. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* 4:679-728, 1993.
 13. Talic NF, Evans CA, Daniel JC : Proliferation of epithelial rests of Malassez during experimental tooth movement. *Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.* 123:527-533, 2003.
 14. Mina M, Kollar EJ : The induction of odontogenesis in non-dental mesenchyme combined with early murine mandibular arch epithelium. *Arch. Oral. Biol.* 32(2):123-127, 1987.
 15. Chien H-H, Lin W-L, Cho MI : Expression of TGF- β isoforms and their receptors during mineralized nodule formation by rat periodontal ligament cells in vitro. *J. Periodont. Res.* 34:301-309, 1999.
 16. D'Souza RN, Cavender A, Sunavala G, Alvarez J, Ohshima T, Kulkarni A B, Macdou : Gene expression patterns of murine dentin matrix protein (DMP1) and dentin sialophosphoprotein (DSPP) suggest distinct development function in vivo. *J. Bone Miner. Res.* 12:2040-2047, 1997.
 17. Bosshardt DD, Nanci A : Hertwig's epithelial root sheath matrix proteins and initiation of cementogenesis in porcine teeth. *J Clin Periodontol* 31:184-192, 2004.
 18. Avery JK : Oral development and histology. : 3rd ed, New York, 2001, Thieme.
 19. Garant PR : The organization of microtubules within rat odontoblast processes revealed by perfusion fixation with glutaraldehyde. *Arch. Oral Biol.* 17:1047-1058, 1972.
 20. Begue-Kirn C, Smith AJ, Lorient M, Kupferle C, Ruch JV, Lesot H : Comparative analysis of TGF- β s, BMPs, IGF1, msxs, fibronectin, osteonectin and bone sialoprotein gene expression during normal and in vitro-induced odontoblast differentiation. *Int. J. Dev. Biol.* 38:405-420, 1994.
 21. 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.
 22. Mukhopadhyay SS, Wyszomierski SL, Gronostajski RM, Rosen JM : Differential interactions of specific nuclear factor I isoforms with the glucocorticoid receptor and STAT5 in the cooperative regulation of WAP gene transcription. *Mol. Cell Biol.* 21:6859-6869, 2001.
 23. Elateri I, Muller-Weeks S, Caradonna S : The transcription factor, NFI/CTF plays a positive regulatory role in expression of the hSMUG1 gene. *DNA Repair* 2:1371-1385, 2003.
 24. Gronostajski RM : Roles of the NFI/CTF gene family in transcription and development. *Gene* 249:31-45, 2000.

Explanation of Figures

- Fig. 1.** Confirmation of *Nfi-c^{-/-}* mice. (A) PCR primer set. (B) PCR genotyping of littermates from *Nfi-c^{+/-}* two heterozygous cross. (C) Combination of PCR primers.
- Fig. 2.** Gross observation of normal (A), *Nfic^{+/-}* (B), and *Nfic^{-/-}* (C) mice. (C) Showing abnormal maxillary and mandibular incisors
- Fig. 3.** Growth features of normal (A) and *Nfic^{-/-}* (B) mice. There was no growth retardation in *Nfic^{-/-}* mouse.
- Fig. 4.** Birth rate of *Nfic^{-/-}* mice from *Nfic^{+/-}* two heterozygous cross.
- Fig. 5.** Photomicrograph of cross-sections from normal (A) and abnormal (B) maxillary incisors. (A) Showing a circular dentin and odontoblasts that line the inner surface of the dentin. (B) Showing an open area as a result of lack of dentin formation. Am, ameloblast; E, enamel; D, dentin; P, pulp; aD, abnormal dentin.

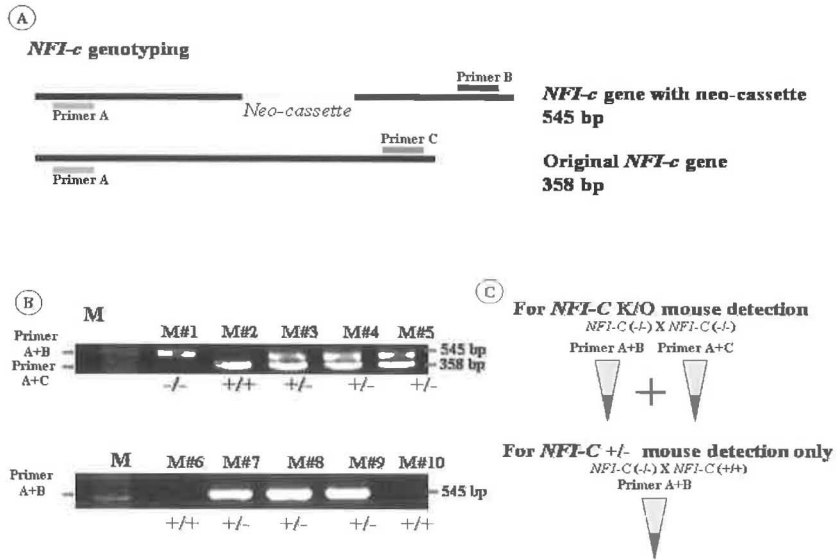


Fig. 1

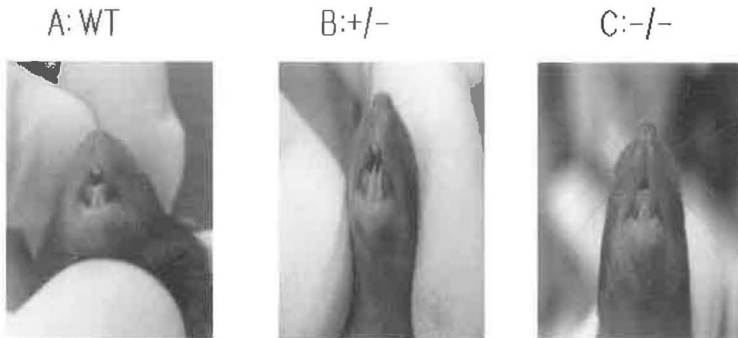


Fig. 2

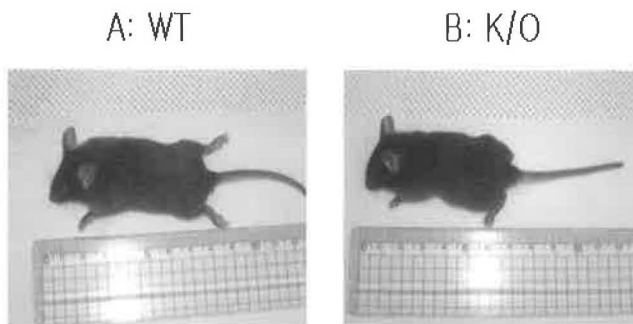


Fig. 3

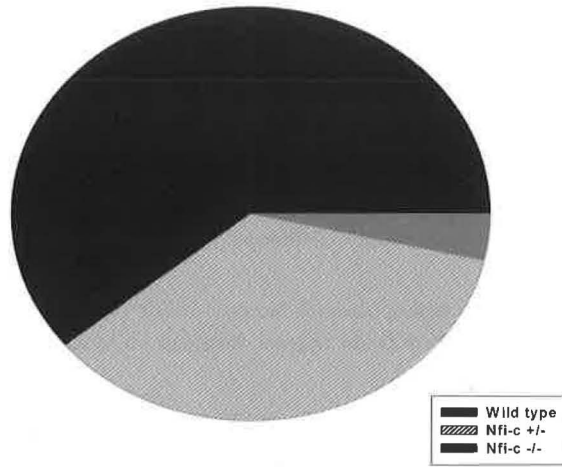


Fig. 4

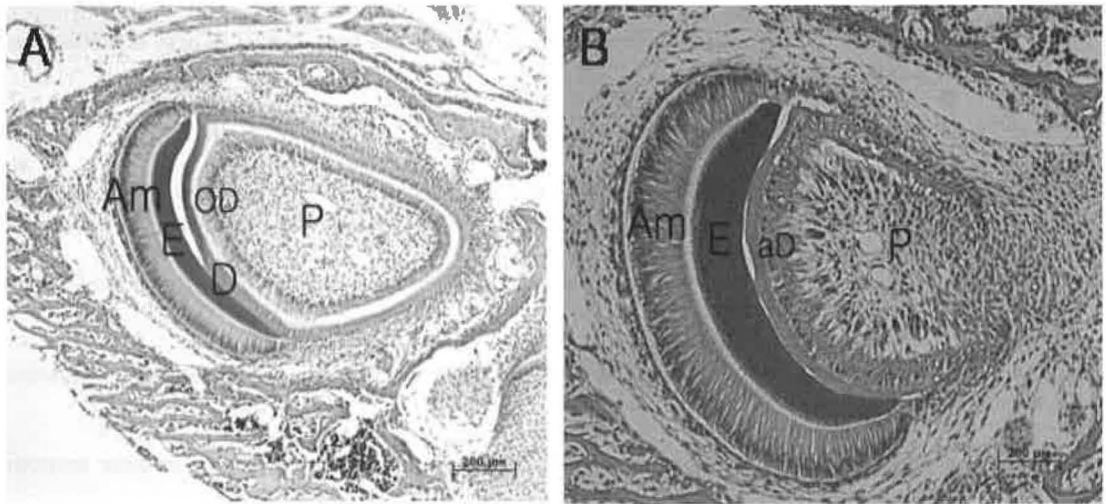


Fig. 5

- ABSTRACT -

Maintenance and characteristics of the *Nfic*-deficient mouse

¹Kawng Hee Cho, ¹Dong-Seol Lee, ¹Seong-Ho Yoon, ²Hyun Sook Bae,
¹Heung-Joong Kim, ¹Ji-Woong Kim, ¹Joo-Cheol Park

¹Oral Biology Research Institute, Chosun University

²Dept. of Dental Hygiene, Narseoul University

The phylogenetically conserved nuclear factorI (NFI) gene family encodes site-specific transcription factors essential for the development of a number of organ systems. There are four *Nfi* genes in mammals (*Nfia*, *Nfib*, *Nfic*, and *Nfix*) and single *Nfi* genes in *Drosophila melanogaster*, *Caenorhabditis elegans*, *Anophelesspp.*, and other simple animals. NFI-C null mice demonstrated aberrant odontoblast differentiation, abnormal dentin formation, and thus molar lacking roots while other tissues/organs in the body, including ameloblasts appear to be unaffected and normal. However, little is known about the mechanism of NFI-C function in odontoblast differentiation and dentin formation.

In this study, growth, fertility and morphological characteristics of *Nfic*-disruption were observed in order to maintain and characterize the NFI-C null mice.

The results were as follows:

1. Fourteen heterozygotes crosses produced 215 F1 progeny distributed: 134 wild type, 78 *Nfi-c*^{-/-}, and 4 *Nfi-c*^{-/-}. The single PCR distinguishes both genotype and sex. Primer A and B amplified 545 bp of the *Nfic* gene with neo-cassette, whereas primers A and C amplified 358 bp of the original *Nfic* gene.
2. Gross observations of the mouth and jaw of *Nfi-c*^{-/-} mice revealed virtually no mandibular incisors overgrown, thin maxillary incisors.
3. There were no growth retardation and increased mortality of *Nfi-c*^{-/-} mice.
4. In morphological observation, abnormal odontoblasts of the NFI-C null mouse were round in shape, lost their polarity, organized as a sheet of cells, and trapped in osteodentin-like mineralized tissue.

These results suggested that this animal model provides invaluable information on understanding the molecular processes responsible for odontoblast differentiation and dentin formation.

Key words: NFI-C, odontoblast differentiation, dentin formation.