

Bone Morphogenetic Protein-4가 사람 뼈모세포와 치주인대세포의 증식과 분화에 미치는 영향

경희대학교 치의학전문대학원 구강해부조직학교실

방희준, 김지연, 주성숙*

서 론

치주조직재생을 위해서는 손상된 치주조직 부위로의 세포의 이동과 증식, 그리고 이들 세포에 의한 새로운 조직, 즉 시멘트질과 뼈 그리고 치주인대 조직의 형성이 이루어져야 한다. 또한 새로 형성된 치주인대 섬유모세포가 치근면 위에 재생된 뼈와 시멘트질에 기능적으로 작용할 수 있어야 이상적인 치주조직 재생이 이루어진다¹⁾. 치주조직뿐만 아니라 치조골에서 유래된 세포도 증식하고 분화하여서 손실된 치주조직의 재생에 중요한 역할을 하게 된다²⁾. 치주인대세포는 섬유모세포뿐만 아니라, 시멘트질모세포, 뼈모세포로 분화되어서 뼈와 시멘트질을 형성할 수 있게 된다²⁻⁶⁾. 조직발생이나 재생과정은 세포를 둘러싸고 있는 세포외바탕질과 여러 세포들에서 분

비되는 성장인자에 의해 이루어지는 세포의 유도, 증식, 분화의 복잡한 과정의 연속으로 이루어진다. 따라서, 손상된 조직의 치유과정을 촉진시키기 위해 여러 성장인자들이 세포의 증식이나 분화 과정에 미치는 영향에 대한 많은 연구가 이루어지고 있다. 따라서 성장인자를 첨가함에 따라 치주조직을 구성하는 세포의 활성을 촉진시킬 수 있을 것으로 예상된다⁷⁻⁹⁾.

Bone morphogenetic protein (BMP)은 수종의 산으로 탈회한 뼈바탕질을 근육 또는 피하에 이식하여 뼈가 유도됨을 확인함으로써 그 존재가 알려진 이래¹⁰⁾, 뼈의 치유과정을 돕기 위한 인자로 사용하기 위한 여러 연구가 시행되었다. BMP는 TGF- β family와 밀접하게 관련된 일군의 성장인자이다¹¹⁾. 처음으로 분리 정제된 이후¹²⁾, 척추동물의 BMP는 현재까지 BMP-2 ~ BMP-8까지 7가지 BMP가 분리되었으며^{13,14)},

* 교신저자

지금까지 BMP-1부터 BMP-13까지 13종류의 BMP가 밝혀져 있다^{15,16}.

BMP-4는 중간엽에 존재하는 줄기세포를 뼈모세포로 분화시킴으로써 뼈의 생성을 촉진시킨다고 보고되었다¹⁷. 또한 BMP-4가 뼈의 생성뿐 아니라, 발생과정중 골격의 형성 및 치아의 발생을 조절한다고 알려졌다¹⁸. 이러한 BMP가 정상적인 뼈의 발생과정에 연관되어 있다는 사실은 골절의 치유과정을 촉진시키기 위해 임상적으로 이를 사용하는 기초적 배경이 된다¹⁹. 하지만, 대부분의 연구가 실험동물을 이용한 in vivo 및 in vitro 연구로 진행되었고, 사람 세포를 이용한 실험은 부족한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 사람 치주인대 세포와 뼈모세포를 이용하여, BMP-4가 이들 세포의 증식과 분화에 미치는 영향을 비교하고자 한다.

재료 및 방법

1. 실험재료

본 실험에 사용된 사람 세포는 2006년 이전 확립되어 냉동보관해 두었던 치주인대세포와 뼈모세포를 사용하였다. 이 세포의 확립 과정은 다음과 같다.

각 조직을 멸균상태에서 취하였다. 이렇게 얻은 조직은 penicillin (100 U/ml) - streptomycin (100 μ g/ml) (Gibco, USA)이 포함된 멸균 Dulbecco's modi-

fied eagle media (DMEM; Gibco, USA)로 세정한 후 면도날로 잘게 잘랐다. 조직 조각을 배양접시에 위치시키고 10% fetal bovine serum (FBS; Gibco, USA)과 항생제가 포함된 DMEM을 최소량 첨가한 후 37°C, 5% CO₂ 하에서 배양하여 배양접시에 조직 조각이 부착되도록 하였다.

조직의 부착이 확인되면 동일한 배양액을 첨가하여 동일조건에서 배양하였다. 세포가 조직으로부터 충분히 자라나오면 배양접시에서 조직을 제거하였다. 세포가 배양접시에 어느 정도 차게 되면 배양접시에서 배양액을 제거하고, 칼슘과 마그네슘이 포함되지 않은 Hank's balanced salt solution (HBSS; Gibco, USA)으로 세정하고 0.05% trypsin-0.53 mM tetrasodium ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA; Gibco, USA)를 넣어 세포가 배양접시 바닥에서 떨어지도록 하였다. 이렇게 얻은 세포는 1:3의 비율로 계대배양하였다. 세포는 일주일에 3회 배양액을 교환하면서 동일한 조건에서 배양하면서 계대배양 4~6대의 세포를 실험에 사용하였다. BMP는 R&D Co. (USA)의 recombinant human BMP-4를 사용하였다.

2. 세포 증식능 평가

세포들의 세포증식을 평가하기 위해 Cell Counting Kit-8 (CCK-8; Sigma, USA) assay를 시행하였다. 먼저 세포를

24-well 배양판에 well당 2×10^4 개가 되도록 분주하고, 10% FBS가 포함된 DMEM에서 24시간 배양하여 배양판 바닥에 세포가 부착하도록 한 후 24시간 동안 무혈청배양액에 배양하여 혈청의 영향력을 배제하였다. 이후 각 농도의 BMP-4 (0, 50, 100 ng/ml)를 투여하고 24시간 및 48시간 동안 배양하였다.

각 군별로 배양 중 마지막 4시간 동안 CCK-8 용액을 well 당 $50 \mu\text{l}$ 씩 첨가하여 배양하였다. 그 후 각 배양판은 Microplate Reader (Model 550, Bio-Rad, USA)로 450 nm의 파장에서 OD (optical density)를 측정하였다.

3. 알칼리성인산분해효소 활성의 평가

각 세포는 24-well 배양판에 well당 2×10^4 개가 되도록 분주하고, 10% FBS가 포함된 DMEM에서 24시간 배양하여 배양판 바닥에 세포가 부착하도록 한 후 24시간 동안 무혈청배양액에 배양하여 혈청의 영향력을 배제하였다. 이후 각 농도의 BMP-4 (0, 50, 100 ng/ml)를 투여하고 24시간 및 48시간 동안 배양하였다.

이와 같이 배양된 세포들을 Sensolyte™ Alkaline Phosphatase Assay Kit (Anaspec, USA and Canada)를 사용하여 알칼리성인산분해효소 활성을 평가하였다. 각 시기별로 배양액을 제거하고 세포층을 1X lysis buffer로 2회 수세

하였다. 각 well에 0.2%의 농도로 희석한 Triton X-100을 $150 \mu\text{l}$ 씩 첨가한 후 4°C 에서 10분간 방치하였다. 원심분리하여 얻은 상층액에 희석한 pNPP를 $50 \mu\text{l}$ 씩 처리하여 30분간 반응시킨 후 stop solution으로 반응을 정지시켰다. Well당 $100 \mu\text{l}$ 씩 취하여 96-well 배양판으로 옮긴 후 Microplate Reader (Model 550, Bio-Rad, USA)로 405 nm의 파장에서 측정하였다.

4. 세포외바탕질 합성 평가

단백질 합성을 평가하기 위하여 Bio-Rad 사의 Protein assay kit를 이용하여 총단백질합성량을 측정하였다. 각 세포는 24-well 배양판에 well당 2×10^4 개가 되도록 분주하고, 10% FBS가 포함된 DMEM에서 24시간 배양하여 배양판 바닥에 세포가 부착하도록 한 후 24시간 동안 무혈청배양액에 배양하여 혈청의 영향력을 배제하였다. 이후 각 농도의 BMP-4 (0, 50, 100 ng/ml)를 투여하고 24시간 및 48시간 동안 배양하였다.

그 후 각 well에서 $10 \mu\text{l}$ 씩을 취하여 96well plate에 넣은 후 protein assay dye를 $200 \mu\text{l}$ 씩 첨가한 후 실온에서 20분간 방치하였다. 그 후 Microplate Reader (Model 550, Bio-Rad, USA)로 595 nm의 파장에서 측정하였다.

결 과

1. 세포 증식능 평가

세포증식능을 평가한 결과, 치주인대 세포와 뼈모세포 모두, 24시간과 48시간 배양군 모두에서 BMP-4 첨가에 의해 세포증식능이 증가하는 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 1). 24시간 배양군에서, 치주인대세포와 뼈모세포는 BMP-4 첨가에 의해 세포증식이 증가하였는데, 뼈모세포보다는 치주인대세포에서 세포증식이 더 많이 증가하는 것을 볼 수 있었다. 또한, 첨가된 BMP-4의 농도에 따른 차이로는, 100 ng/ml 보다는 50 ng/ml 농도로 첨가하였을 때 세포증식이 더 많이 증가하는 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 1A). 48시간 배양군에서도 치주인대세포와 뼈모세포 모두 BMP-4

첨가에 의해 세포증식이 증가하였는데, 24시간 배양군에 비해 세포증식능이 더욱 증가하는 것을 관찰할 수 있었다. 치주인대세포와 뼈모세포를 비교하여 보면, 24시간 배양군과 마찬가지로 치주인대세포에서 뼈모세포보다 더 많은 증식을 관찰할 수 있었다. BMP-4 농도에 따른 비교에서도 24시간 배양군과 마찬가지로 50 ng/ml 농도로 첨가하였을 때 세포증식이 더 많이 증가하는 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 1B).

2. 알칼리성인산분해효소(ALP) 활성의 평가

알칼리성인산분해효소 활성을 평가한 결과에서도 치주인대세포와 뼈모세포 모두, 24시간과 48시간 배양군 모두에서 BMP-4 첨가에 의해 알칼리성인산분해

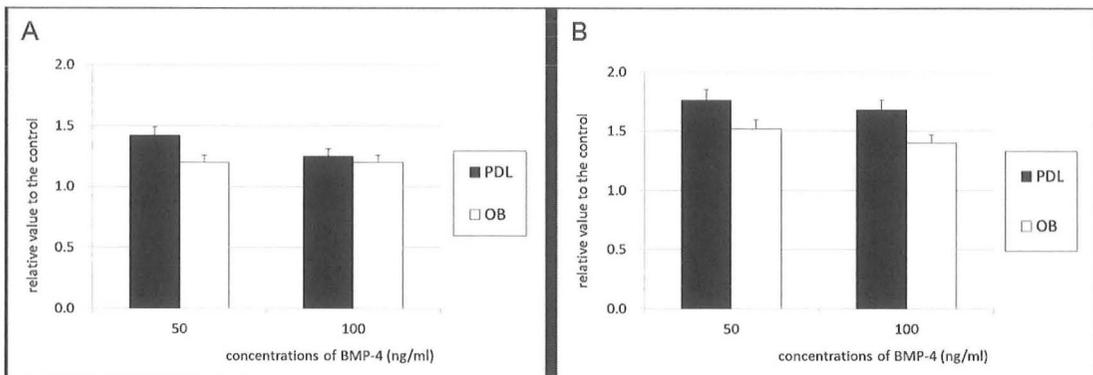


Fig. 1. Relative value of cell proliferation of PDL cells and osteoblasts after incubation with BMP-4. (A) 24 hours. (B) 48 hours. Cell proliferation activity was increased by BMP-4 application both in periodontal ligament cells and osteoblasts. The cell proliferation activity of the periodontal ligament cells was greater than that of the osteoblasts.

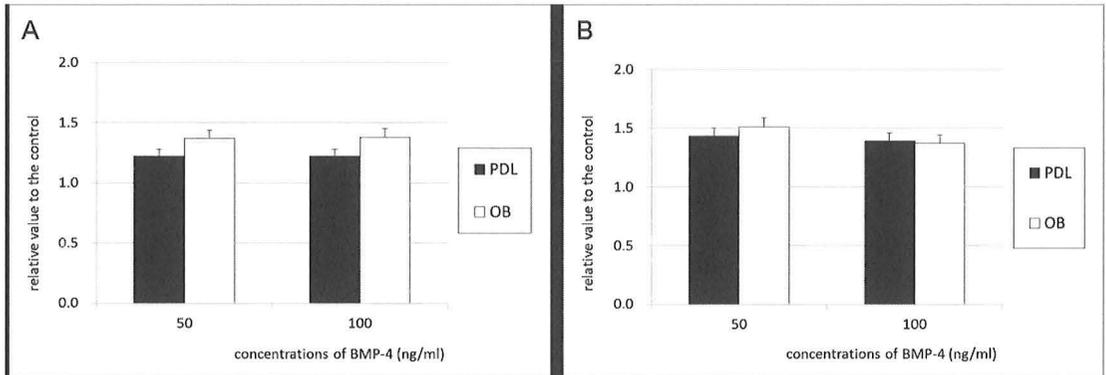


Fig. 2. Relative value of alkaline phosphatase activity of PDL cells and osteoblasts after incubation with BMP-4. (A) 24 hours. (B) 48 hours. Alkaline phosphatase activity was increased by BMP-4 application both in periodontal ligament cells and osteoblasts. The Alkaline phosphatase activity of the osteoblasts was greater than that of the periodontal ligament cells.

효소 활성이 증가하는 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 2). 24시간 배양군에서, 치주인대세포와 뼈모세포는 BMP-4 첨가에 의해 알칼리성인산분해효소 활성이 증가하였는데, 치주인대세포보다는 뼈모세포에서 알칼리성인산분해효소 활성이 더 많이 증가하는 것을 볼 수 있었다. 첨가된 BMP-4의 농도에 따라서는 알칼리성인산분해효소 활성에 거의 차이가 없는 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 2A). 48시간 배양군에서도 치주인대세포와 뼈모세포 모두 BMP-4 첨가에 의해 알칼리성인산분해효소 활성이 증가하였는데, 24시간 배양군에 비해 알칼리성인산분해효소 활성이 더욱 증가하는 것을 관찰할 수 있었다. 치주인대세포와 뼈모세포 사이에서 알칼리성인산분해효소 활성의 차이는 거의 없는 것으로 보였으며, 특히 100 ng/ml 농도의 BMP-4를 첨

가한 경우에는 더욱 차이가 없었다. BMP-4 농도에 따른 비교에서는 50 ng/ml 농도보다 100 ng/ml 농도로 첨가하였을 때 알칼리성인산분해효소 활성이 오히려 감소하는 것을 관찰할 수 있었다 (Fig. 2B).

3. 세포외비탄질 합성능의 평가

24시간 배양군에서, 치주인대세포와 뼈모세포는 BMP-4 첨가가 단백질합성능에 영향을 미치지 못하는 것으로 관찰되었다. 치주인대세포와 뼈모세포 모두 대조군에 비해 약간 단백질합성이 증가하였으나, 유의성은 관찰되지 않았다. 또한 첨가된 BMP-4의 농도에 따라서는 단백질합성능에 거의 차이가 없는 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 3A). 48시간 배양군에서 치주인대세포와 뼈모세포 모

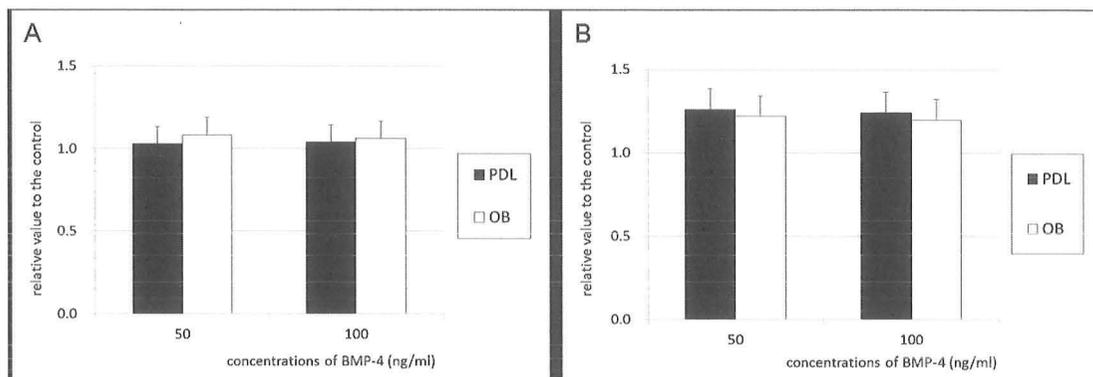


Fig. 3. Relative value of protein synthesis of PDL cells and osteoblasts after incubation with BMP-4. (A) 24 hours. (B) 48 hours. Protein synthesis was increased by BMP-4 application both in periodontal ligament cells and osteoblasts. The protein synthesis of the periodontal ligament cells was as much as that of the osteoblasts.

두 BMP-4 첨가에 의해 단백질합성능이 증가하는 것을 관찰할 수 있었다. 치주인대세포와 뼈모세포 사이에서 단백질합성능의 차이는 거의 없는 것으로 보였으며, 첨가된 BMP-4 농도에 따른 차이도 관찰할 수 없었다(Fig. 3B).

총괄 및 고안

손상된 치주조직의 치료 과정에서 상실된 치주조직의 재생을 위해서는 상실된 뼈조직을 재생시키는 과정이 필수적이라 할 수 있다. 이러한 조직의 재생과정은 세포와 세포외바탕질 사이의 상호작용에 의해 조절되며, 특히 여러 세포들에서 분비되는 성장인자가 중요한 역할을 하는 것은 이미 알려진 사실이다. 이에 여러 성장인자들이 뼈조직 재생에 미치는 영향에 관해 많은 연구가 이루어져

왔으며, 최근에는 이소성 골유도능을 지닌 것으로 알려진 bone morphogenetic protein의 임상적 응용에 관심이 집중되고 있다²⁰⁾.

BMP는 크게 3가지의 subgroup으로 분류되지만, 각 subgroup 내에서의 각각의 BMP는 서로간에 동질성을 보이는 구조로 되어 있으며, TGF-β와 30~40% 동질성을 보여 TGF-β superfamily의 일원으로 분류되고 있다¹⁶⁾. TGF-β와 BMP-2는 세포표면에서 서로 다른 수용기에 부착하지만, 수용기 작용의 메커니즘이나 수용기와 결합 후 활성화되는 요소 등은 유사하다²¹⁾.

치아의 발생은 상피-중간엽 상호유도 작용, 분화, 형태발생, 광화 등의 복잡한 생물학적 과정을 수반한다. 발생 중인 배아에서 상피와 상피를 지지하는 중간엽 사이에는 기능적인 상관관계가 있으며, 이 두 조직들 간의 상호작용은 조직

을 일정하게 발생시키는데 필요하다. 치아의 형태는 치아상피가 접힘으로써 일어나고, 이 접힘은 치유두의 중간엽에서 지시되는 정보에 따라 형성된다. 후기 종상기의 치배에서 상피-중간엽 상호 유도작용의 예를 볼 수 있는데, 치아기의 내치상피는 상아모세포가 분화하는데 필요하고, 상아모세포가 합성 분비한 상아질은 내치상피를 법랑모세포로 분화되도록 한다²²⁾. 이 때 치유두 세포가 상아모세포로 분화하는 것은 치유두세포와 바닥막을 사이에 두고 인접해 있는 내치상피 내의 다양한 성장인자의 발현과 fibronectin 등의 당단백질의 영향인 것으로 알려져 있다. 본 연구에서는 뼈 발생을 유도하는 것으로 알려져 있는 BMP-4가 치아의 발생과정에서도 중요한 역할을 하는 것에 기반하여, 치주조직 재생과정에서 BMP-4가 치주인대세포와 뼈모세포의 증식과 분화 및 바탕질 형성에 미치는 영향에 관해 알아보려고 하였다.

본 연구에서 치주인대세포와 뼈모세포는 BMP-4 첨가에 의해 세포증식이 증가하였으며, 24시간 배양 보다는 48시간 배양군에서, 뼈모세포보다는 치주인대세포에서 더 큰 증가를 관찰할 수 있었다. 세포증식은 조직의 재생과정에서 초기에 관찰되는 단계로, 치주인대세포는 뼈모세포에 비해 다양한 phenotype을 가지는 세포로 구성되어 있기 때문에, 치주인대세포에 포함되어 있는 중간

엽세포의 증식에 의해 BMP-4에 의한 세포증식이 더욱 크게 나타난 것으로 생각된다. 또한, 48시간 배양한 경우 치주인대세포와 뼈모세포 모두에서 100 ng/ml 농도로 BMP-4를 첨가한 경우 세포증식능이 감소하는 것을 관찰할 수 있었다. 이러한 결과로 보아 치주인대세포와 뼈모세포의 증식에 영향을 미치는 BMP-4의 optimal 농도는 100 ng/ml 이하일 것으로 예상되며, 이를 위한 더 많은 연구가 필요할 것으로 생각된다.

광화조직의 재생과정에서, 세포가 증식하고 이동한 후 각 광화조직을 형성하는 세포로 분화하는 과정이 필요하다. 광화조직을 형성하는 세포로의 분화를 판단하는 척도로 알칼리성인산분해효소 활성을 평가하였다. 본 연구에서 알칼리성인산분해효소 활성도 세포증식 실험에서와 마찬가지로 BMP-4 첨가에 의해 증가하였다. 24시간 배양의 경우에는 세포증식 실험의 경우와 달리 뼈모세포에서 알칼리성인산분해효소 활성이 더 높았지만, 48시간 배양군에서는 그 차이가 사라지는 것을 관찰할 수 있었는데, 이는 치주인대세포 내에 있는 세포들이 뼈모세포에 비해 시작은 느리지만 빠르게 뼈모세포 혹은 시멘트질모세포로 분화하기 때문인 것으로 생각된다.

분화된 광화조직 세포들은 광화조직 합성의 첫단계로 바탕질을 합성 분비하게 되는데, 이를 측정하기 위하여 단백질합성능을 평가하였다. 본 연구에서 단

백질 합성능은 24시간 배양군에서는 대조군에 비해 거의 차이가 없었으나, 48시간 배양군에서 증가하는 것을 관찰할 수 있었다. 이는 조직재생과정에서 바탕질합성이 후기에 나타나는 과정이므로 이를 반영한 것으로 생각된다. 치주인대세포와 뼈모세포에서의 단백질합성의 차이는 관찰할 수 없었으며, 첨가된 BMP-4의 농도에 따른 차이도 관찰할 수 없었다.

이상의 결과를 종합해볼 때, BMP-4 첨가에 의해 사람 치주인대세포와 뼈모세포는 세포증식이 증가하고, 광화세포로의 분화가 촉진되어 알칼리성분해효소 활성이 증가되며, 바탕질합성이 증가되어 손상된 치주조직 재생을 촉진할 것으로 생각된다. 앞으로는 BMP-4의 최적 사용농도와, 다른 성장인자들과의 연계성에 초점을 맞춘 연구가 이루어져야 할 것으로 생각되며, 또한 최대의 효과를 얻기 위한 최적의 적용방법을 찾는 것도 중요한 과제가 될 것이다.

결 론

Bone morphogenetic protein (BMP)-4가 사람 치주인대세포와 뼈모세포의 증식과 알칼리성인산분해효소 활성, 그리고 단백질합성에 미치는 영향을 알아보기 위해, 각 농도 (0, 50, 100 ng/ml)의 BMP-4 첨가하에서 24시간 및 48

시간 배양한 후 CCK-8 assay, alkaline phosphatase assay, total protein assay를 시행하여 평가한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 세포증식은 BMP-4 첨가에 의해 치주인대세포와 뼈모세포 모두에서 증가하였으며, 특히 치주인대세포에서 더욱 증가하였다.
2. 알칼리성인산분해효소 활성은 BMP-4 첨가에 의해 치주인대세포와 뼈모세포 모두에서 증가하였으며, 특히 뼈모세포에서 더욱 증가하였다.
3. 단백질합성능은 BMP-4 첨가에 의해 치주인대세포와 뼈모세포 모두에서 증가하였으며, 두 세포군 사이에 차이는 관찰되지 않았다.

이상의 결과로 보아 BMP-4는 치주인대세포와 뼈모세포의 세포증식, 알칼리성인산분해효소의 활성, 단백질합성을 촉진시킴으로써 손상된 치주조직의 재생 과정을 촉진시키는 역할을 할 것으로 생각된다.

참고문헌

1. Gottlow J : Guide tissue regeneration using bioresorbable and non-resorbable devices: initial healing and long-term results. J Periodontol 64 : 1157-1165,

- 1993.
2. Cho MI, Matsuda N, Lin WL, Moshier A, Ramakrishnan PR : In vitro formation of mineralized nodules by periodontal ligament cells from the rat. *Calcif Tissue Int* 50 : 459-467, 1992.
 3. Somerman MJ, Archer SY, Imm GR, Foster RA : A comparative study of human periodontal ligament cells and gingival fibroblasts in vitro. *J Dent Res* 67 : 66-70, 1988.
 4. Piche JE, Carnes DL Jr, Graves DT : Initial characterization of cells derived from human periodontia. *J Dent Res* 68 : 761-767, 1989.
 5. Nojima N, Kobayashi M, Shionome M, Takahashi N, Suda T, Hasegawa K : Fibroblastic cells derived from bovine periodontal ligaments have the phenotypes of osteoblasts. *J Periodontal Res* 25 : 179-185, 1990.
 6. Arceo N, Sauk JJ, Moehring J, Foster RA, Somerman MJ : Human periodontal cells initiate mineral-like nodules in vitro. *J Periodontol* 62 : 499-503, 1991.
 7. Matsuda N, Lin WL, Kumar NM, Cho MI, Genco RJ : Mitogenic, chemotactic, and synthetic responses of rat periodontal ligament fibroblastic cells to polypeptide growth factors in vitro. *J Periodontol* 63 : 515-525, 1992.
 8. Oats TW, Rouse CA, Cochran DL : Mitogenic effects of growth factors on human periodontal ligament cells in vitro. *Periodontol* 64 : 142-148, 1993.
 9. Lynch SE, Williams RC, Polson AM, Howell TH, Reddy MS, Zappa UE, Antoniades HN : A combination of platelet-derived and insulin-like growth factors enhances periodontal regeneration. *J Clin Periodontol* 16 : 545-548, 1989.
 10. Urist MR : Bone formation by autoinduction. *Science* 150 : 893-899, 1965.
 11. Massague J : The transforming growth factor-beta family. *Annu Rev Cell Biol* 6 : 597-641, 1990.
 12. Wang EA, Rosen V, Cordes P, Hewick RM, Kritz MJ, Luxenberg DP, Sibley BS, Wozney

- JM : Purification and characterization of other distinct bone inducing factors. Proc Natl Acad Sci 85 : 9484-9488, 1988.
13. Reddi AH : Regulation of cartilage and bone differentiation by bone morphogenetic proteins. Curr Opin Cell Biol 4 : 850-855, 1992.
 14. Kingsley DM : What do BMPs do in mammals? Clues from the mouse short-ear mutation. Trends Genet 10 : 16-21, 1994.
 15. Noda M : Signaling in osteoblastic differentiation. Exp Med 14 : 42-49, 1996.
 16. Aldinger G, Herr G, Kusswetter W : Bone morphogenetic protein: a review. Int Orthop 15 : 169-177, 1991.
 17. Wang EA, Israel DI, Kelly S, Luxenberg DP : Bone morphogenetic protein-2 causes commitment and differentiation in C3H10T1/2 and 3T3 cells. Growth Factors 9 : 57-71, 1993.
 18. Thesleff I, Vaahtokari A, Vainio S, Jowett A : Molecular mechanisms of cell and tissue interactions during early tooth development. Anat Rec 245 : 151-161, 1996.
 19. Roush W : Biotech finds a growth industry. Science 273 : 300-301, 1996.
 20. Lindholm TC, Lindholm TS, Marttinene A, Urist MR : Bovine bone morphogenetic protein (bBMP/NCP)-induced repair of skull trephine defects in pigs. Clin Orthop 301 : 263-270, 1994.
 21. Massague J : TGF beta signaling: receptors, transducers, and Mad proteins. Cell 85 : 947-950, 1996.
 22. Ten cate AR : Oral Histology. Mosby. 1998.

ABSTRACT

Effect of Bone Morphogenetic Protein-4 on the Proliferation and Differentiation of Cultured Human Osteoblasts and Periodontal Ligament Fibroblasts

Hee-Joon Bang, Ji-Youn Kim, Seong-Suk Jue*

Department of Oral Anatomy and Developmental Biology, School of Dentistry, Kyung Hee University, Seoul, 130-701, Korea

This experiment was designed to elucidate the effect of bone morphogenetic protein (BMP)-4 on the proliferation, alkaline phosphatase activity, and protein synthesis of human periodontal ligament fibroblasts and osteoblasts. The cells were incubated 24 and 48 hours after application of BMP-4 at concentrations of 50 and 100 ng/ml. After incubation, CCK-8, alkaline phosphatase, and total protein assays were performed. Cell proliferation activity was increased by BMP-4 application both in periodontal ligament cells and osteoblasts. The cell proliferation activity of the periodontal ligament cells was greater than that of the osteoblasts. Alkaline phosphatase activity was increased by BMP-4 application both in periodontal ligament cells and osteoblasts. The Alkaline phosphatase activity of the osteoblasts was greater than that of the periodontal ligament cells. Protein synthesis was increased by BMP-4 application both in periodontal ligament cells and osteoblasts. The protein synthesis of the periodontal ligament cells was as much as that of the osteoblasts. These results suggest that BMP-4 may promote the periodontal tissue regeneration by stimulating the cell proliferation, alkaline phosphatase activity, and protein synthesis of the periodontal ligament cells and osteoblasts.

Key words: BMP-4, osteoblast, PDL cell, differentiation