



2022학년도 4단계 BK21

제2회 치의생명과학교육연구팀

학술대회

Program

일시: 2022.11.30(수) 09:30~17:30

장소: 치의학전문대학원 201호



1부. 학생학술대회

09:30~12:00



2부. 초청강연 I

15:00 ~ 17:00

김형식 교수 (부산대학교 치의학전문대학원)

강연주제 : 오가노이드 기반 상피성 장기 손상의 재생기술개발



초청강연 II

김경년 교수 (강릉원주대학교 치과대학)

강연주제 : 미각의 새로운 기능

주관/주최

4단계BK 21 치의생명과학교육연구팀



BrainKorea^{FOUR}21

2022학년도 4단계 BK21

제2회 치의생명과학교육연구팀

학술대회

Program

일시: 2022.11.30(수) 09:30~17:30

장소: 치의학전문대학원 201호



1부. 학생학술대회

09:30 ~ 12:00



2부. 초청강연 I

15:00 ~ 17:00

김형식 교수 (부산대학교 치의학전문대학원)

강연주제 : 오가노이드 기반 상피성 장기 손상의 재생기술개발



초청강연 II

김경년 교수 (강릉원주대학교 치과대학)

강연주제 : 미각의 새로운 기능

주관/주최

4단계BK 21 치의생명과학교육연구팀

프로그램

1부 학생학술대회

개회사 09:30 ~ 09:40

석사발표 09:40 ~ 11:00

박사발표 11:00 ~ 12:00

2부 초청강연 I

김형식 교수 (부산대학교 치의학전문대학원) 15:00 ~ 16:00

Organoid-based Study of Epithelial Plasticity and Damage to Discover Novel Regenerative Strategy

초청강연 II

김경년 교수 (강릉원주대학교 치과대학) 16:00 ~ 17:00

미각의 새로운 기능

시상 및 폐회

우수발표 시상 및 폐회 17:00 ~ 17:30

차례

01

인사말

치의생명과학교육연구팀 학술대회 인사말	1
박봉수 교수(치의생명과학교육연구팀장)	

02

발표초록

001. SDF1 δ peptide Suppresses Inflammation and ER stress and Activates Osteoblast against Porphyromonas gingivalis Infection	3
김시영 (치의학과 수료후 박사 5학기)	
002. 기능고도화 줄기세포 기반 폐섬유화증 치료기술 개발	4
박소영 (치의생명과학과 석사2학기)	
003. Parvimonas micra promotes M2 polarization of macrophages.	5
응웬 당 콰 (치의생명과학과 석사2학기)	
004. Heterospheroid induces the generation of partially dedifferentiated stem-like cells in murine intestinal organoids	6
응웬 프엉 타오 (치의생명과학과 석사2학기)	
005. 6개 제조사의 치간칫솔 크기와 표기 사항 비교	7
조유진 (치의학과 석사2학기)	
006. Perioperative condylar displacement after mandibular setback surgery with intended manual condylar positioning in asymmetric class III patients	8
자이스왈 엠 샤리아 (치의학과 석사3학기)	

차례

007. 치수줄기세포의 상아질 모세포로의 분화촉진 및 치아재생에 효과적인 천연약물 후보군 탐색	9
주지민 (치의생명과학과 석사3학기)	
008. Effect of periodontal pathogens on stemness expression in colorectal cancer cells	10
이가연 (치의생명과학과 석사4학기)	
009. 다양한 열처리 방법에 의한 니켈티타늄 파일의 물리적 성질 비교	11
준두이젼츠 오제렐 (치의학과 석사4학기)	
010. Comparison of Porcine- and Bovine-Derived Xenografts with Hydroxypropyl Methylcellulose on Bone Formation in Rabbit Calvaria Defects	12
황수현 (치의학과 석사4학기)	
011. Periodontal Pathogens Promote Foam Cell Formation by Blocking Lipid Efflux	13
노지현 (치의생명과학과 박사1학기)	
012. Establishing the therapeutic strategies for menopausal xerostomia using ovariectomized mice and salivary gland organoids	14
오수정 (치의생명과학과 박사4학기)	
013. 치주염과 위암: 국민건강보험공단 자료를 이용한 후향성 코호트 연구	15
변민지 (치의학과 수료후 박사4학기)	
014. Evaluation of the regenerative potential of cell therapeutics using repair-associated cell-containing intestinal organoid	16
안지수 (치의생명과학과 수료후 박사6학기)	
015. Involvement of the visfatin/TLR4 signaling axis in human dental pulp cell senescence: protection via TLR4 blockade	17
옥창엽 (치의생명과학과 수료후 박사6학기)	
016 . Identification of novel therapeutic targets and mechanisms for cancer stem cells in head and neck cancer	18
신예영 (치의생명과학과 수료후 박사8학기)	

차례

03

초청강연

오가노이드 기반 상피성 장기 손상의 재생기술개발

Organoid-based Study of Epithelial Plasticity and Damage to Discover Novel
Regenerative Strategy

..... 21

|김형식 교수(부산대학교 치의학전문대학원)

미각의 새로운 기능

..... 22

|김경년 교수(강릉원주대학교 치과대학)

인사말



박봉수 교수

치의생명과학교육연구팀장

부산대학교 치의학전문대학원은 2020년 3월 1일자로 4단계 두뇌한국(BK)21사업 부산대학교 “치의생명과학교육연구팀”을 한국연구재단으로부터 최종 사업 수주를 받아, 본 사업의 목적에 도달하기 위해서 열과 성을 다해서 노력해 오고 있습니다.

본 교육연구팀은 ‘국민건강증진, 구강보건교육, 치의학 및 의료인문학의 발전을 선도하고견인하는 창의적이며, 전문적인 인재 양성을 위한 교육’과 ‘구강암, 치주질환, 악안면줄기세포, 악안면조직재생, 치과

재료, 경조직, 디지털치의학 등의 최신 치의학 학문 영역에서 미래의 치의생명과학을 선도할 수 있는 탁월한 연구자의 양성’을 위해서 대학원 치의학과와 치의생명과학과 소속의 전일제 대학원생들과 참여 교수님들이 혼연일체가 되어서 최선의 노력을 다하고 있습니다. 더 나아가서 현재 몽골, 인도 그리고 베트남에서 온 4명의 ‘외국인 전일제 대학원생들’이 최신의 선진 치의학 학문 연마를 위해 본 교육연구팀의 참여 학생으로 수학하고 있습니다. 점진적인 외국인 전일제 대학원생들의 증가는 본 교육연구팀의 ‘국제화’에 큰 기여를 하고 있습니다.

겨울의 길목에 진입하는 오늘, 다양한 연구주제를 발표하는 본 교육연구팀의 참여 대학원생들에게 무한한 격려와 박수를 보냅니다. 작년에 이어 열리는 “2022년 치의생명과학교육연구팀 학술대회”를 통해 참여 대학원생 여러분들에게 치의학의 세부 학문 간의 벽이 열리고 융합된 창의적인 연구를 진행할 수 있는 발판이 되고, 교육과 연구 관련 그리고 최신 정보와 의견을 공유하는 중요한 자리가 되기를 소망합니다. 오늘 참여 대학원생들의 발표를 위해 노력해주신 지도교수님에게도 깊은 감사의 말씀을 드립니다.

현재 대한민국의 치의학 연구계를 선도하고 견인하고 계시는 부산대학교 치의학전문대학원 구강생화학교실의 김형식 교수님과 강릉원주대학교 치과대학 구강생리학교실의 김경년 교수님께서 ‘organoid와 맛에 대한 최신 연구에 대해서 특강을 해주시는 것에 대해서 이 글을 통해 감사하다는 말씀을 드립니다. 두 분 교수님의 특강이 본 사업의 참여 대학원생들의 향후 연구에 큰 도움이 되리라고 확신합니다.

끝으로 본 학술대회를 위해 기획하고 준비하신 김인령 교수님, 강해미 박사님 그리고 김은미 사무원 선생님에게 깊은 감사를 드리고, 본 학술대회에 참여하신 모든 분들의 건승을 소망합니다. 감사합니다.

2022년 11월 30일
4단계 두뇌한국(BK)21사업 부산대학교 치의생명과학교육연구팀장 박 봉 수

학 생 학 술 대 회

SDF1 δ peptide Suppresses Inflammation and ER stress and Activates Osteoblast against *Porphyromonas gingivalis* Infection

김시영 (치의학과 수료 박사 5학기)

Inflammation is the most basic and important response that body protects itself from external challenges infection. In periodontitis, teeth loss and bone loss are occur due to an immune response induced by infiltrated bacteria such as *Porphyromonas gingivalis*. Stromal cell-derived factor 1 (SDF1), known as CXC motif chemokine 12 (CXCL12) is a ligand of CXC chemokine receptor type 4 (CXCR4), SDF1 has a strong chemotactic activity for lymphocytes and plays a role in inflammation. Therefore, we synthesized the peptides derived from SDF1 and screened for their anti-inflammatory property in THP-1-derived macrophages infected with *P. gingivalis*. The cytokine levels and the expression of various proteins in *P. gingivalis* infected THP-1-derived macrophages were measured using an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and Western blot analysis. An apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase recruitment domain (ASC) pyroptosome formation and reactive oxygen species (ROS) were measured by confocal laser scanning microscopy. Effect on osteoblast was examined by Alizarin Red S staining and real-time PCR.

Among the peptides, SDF1 δ peptide decreased IL-1 β production by inhibiting pro-IL-1 β expression via the downregulation of nuclear factor- κ B, p38 mitogen-activated protein kinase, and Toll-like receptor signaling. Also, SDF1 δ peptide inhibited the activation of inflammasome components induced by *P. gingivalis* but did not affect the growth of *P. gingivalis*. Furthermore, SDF1 δ peptide inhibited endoplasmic reticulum (ER) stress by attenuating protein kinase R like endoplasmic reticulum kinase (PERK), activating transcription factor 6 (ATF6), and inositol requiring enzyme 1 (IRE1). Moreover, SDF1 δ peptide induced osteoblastic differentiation mediated by PERK-ATF4 signal pathway.

In conclusion, SDF1 δ peptide has inhibitory effects for inflammatory activity and ER stress induced by *P. gingivalis* infection. Moreover, it induced osteoblast differentiation. Therefore, our study suggest that SDF1 δ peptide may serve as the agents for the prevention and treatment of periodontal inflammation caused by *P. gingivalis*.

박소영 (치의생명과학과 석사2학기)

특발성 폐섬유화증(IPF)은 진행성 폐섬유증을 특징으로 하는 만성적이고 비가역적인 간질성 폐질환이다. 이 질병은 질병 예후가 좋지 않으며 호흡부전과 심장질환으로 인해 사망하게 된다. 이미 섬유화가 진행된 이후에는 치료법이 없으며 현재 폐섬유화증 치료제는 섬유화 진행을 약간 지연시키는 정도의 효과가 있을 뿐 섬유화 과정을 되돌릴 수는 없다. 따라서, 진행 중인 섬유화를 획기적으로 억제하거나 이미 진행된 섬유화를 되돌릴 수 있는 기전에 기반한 폐섬유화증 치료기술의 개발이 필요하다. 우리는 이러한 치료기술 개발을 위한 기능 고도화 전략으로 세포 직접 이식 방법, 중간엽 줄기세포(MSC) 유래 exosome, TGF- β 1 발현 억제 MSC, 항섬유화 약물 부착 줄기세포를 처리하는 방법을 계획하였으며 특히, 세포 표면에 항섬유화 약물 전달체를 부착하여 시너지 효과를 내도록 하는 연구에 집중하고 있다. 선행연구에서 제대혈 유래 중간엽 줄기세포를 섬유아세포와 공배양하여 줄기세포가 섬유아세포의 섬유화를 억제하는 효과가 있다는 것을 확인하였고, 이를 통해 중간엽 줄기세포의 섬유화 억제 기능과 함께 효능을 향상시킬 수 있는 약물을 찾고자 하였다. 약물 후보로는 세포의 생존능력을 향상시키는 Rapamycin, 기존 섬유화증 치료제인 Pirfenidone, 섬유아세포 특이적 섬유화 억제물질인 Dihydropyridine 등이 있으며 줄기세포와 이 약물들의 항섬유화 시너지 효과를 검증하기 위한 연구를 수행 중이다.

Periodontitis has been associated with human colorectal cancer (CRC), one of the most prevalent malignant tumors, and an increased risk of mortality. Periodontal pathogens *Fusobacterium nucleatum* (Fn) and *Parvimonas micra* (Pm) have been reported to be abundant in fecal samples and colon biopsy tissues of CRC patients. Moreover, they play a major role in the development of CRC by inhibiting host anti-tumor immunity. Tumor-associated macrophages (TAM) are most prevalent in the CRC tumor microenvironment (TME). Immune responses in CRC are significantly regulated by macrophage-polarized activation. The phenotypic subsets of tumor-inhibiting M1-like and tumor-promoting M2-like macrophages are linked to the functional heterogeneities of TAM. M2-like TAMs play crucial roles in tumor progression, invasion, and metastasis. Additionally, TAMs suppress the antitumor immune response of T cells and disrupt immune cell interactions, leading to an immune-suppressive TME in CRC. Recently, several studies have investigated the impact of Fn on M2 polarization and tumor growth in CRC. However, the immunosuppressive impact of Pm through inducing M2 polarization has not been investigated. The purpose of this study is to determine whether gut microbe Pm is involved in M2 polarization of macrophage. We infected human monocyte cell line THP-1 by Pm (100 MOI) and analyzed IL-10 secretion in conditioned media. Pm infection significantly increased IL-10 secretion by THP-1, suggesting that Pm induces M2-like TME and could contribute to promoting CRC.

004

Heterospheroid induces the generation of partially dedifferentiated stem-like cells in murine intestinal organoids

응웬 프엉 타오 (치의생명과학과 석사2학기))

Recently, a specific population so-called 'Revival stem cell (RSC)' has been founded during intestinal regeneration. Following the epithelial injury, RSCs seem to be activated to replace the homeostatic LGR5+ stem cell compartment and repair the intestinal epithelium, and mesenchyme-derived prostaglandin E2 (PGE2) plays an essential role in this phenomenon. Mesenchymal stem cells (MSC) are multipotent stem cells with tissue regenerative potential and immunomodulatory impact owing to their paracrine capacity for PGE2. Interestingly, we showed that MSCs can induce RSC population in mouse intestinal organoids (IOs) in a PGE2-dependent manner. To enhance the PGE2 secretion capacity of MSCs, I made 3D-MSC spheres (MSC3D) and further generated heterospheroid (MSCHS) containing melatonin (MT), which seems to potentiate RSC generation, then compared their RSC induction efficiency to 2D-cultured MSCs (MSC2D) in mouse IOs. Using Aggrewell plate, 3D and HS were successfully generated in vitro. Also, MT in HS provided some protection against oxidative stress injury. Notably, the level of PGE2 in cultured media (CM) of MSCHS was higher than that of MSC2D and MSC3D. In addition, co-culture with cultured media (CM) of MSCHS for 24h increased the number of spheroid forms of mouse IOs instead of typical morphology with multiple budding, implying the increased stemness. Indeed, the number of cells expressing Ly6a, a marker for RSC population, increased following treatment with the CM from MSCHS. Taken together, I suggest that the MSCHS containing MT might possess superior RSC-inducing potential compared to MSC2D and MSC3D, and MSCHS can provide therapeutic benefits for treating intestinal injury.

배경 및 목적: 치간칫솔은 치아우식과 치주질환 예방을 위한 필수적인 구강관리용품이다. 치간칫솔은 다양한 크기와 모양으로 제공되며, 사용자는 자신의 치간 크기에 맞는 적절한 치간칫솔의 크기를 선택할 필요가 있다. ISO 국제표준 및 KS 국내표준에서는 치간칫솔의 크기를 최소통과구멍의 크기에 따라 0~8단계(0: $\leq 0.6\text{mm}$, 1: $0.7\sim 0.8$, 2: $0.9\sim 1.0$, 3: $1.1\sim 1.2$, 4: $1.3\sim 1.5$, 5: $1.6\sim 1.8$, 6: $1.9\sim 2.3$, 7: $2.4\sim 2.8$, 8: $\geq 2.9\text{mm}$)로 구분하고 있다. 이러한 규격정보는 사용자의 치간칫솔 선택의 고려사항이 될 수 있다. 본 연구의 목적은 치간칫솔의 최소통과구멍의 크기와 치간칫솔의 스템직경, 솔직경, 스템길이의 관련성을 평가하는 것이다.

연구재료 및 방법: 국내에서 유통되는 6개 제조사(A,B,C,D,E,F)의 치간칫솔을 사이즈 별로 3개씩 수집하였으며, 42종 126개를 평가하였다. 각 제품의 사이즈 표기 사항, 솔직경, 스템(중심와이어) 직경, 최소통과구멍, 스템길이를 비교하였다. 이 중 솔직경과 와이어길이는 디지털현미경(AM4113 DINO-LITE PRO, ANMO Elec.co, Taiwan)을 사용하여 측정하였고, 와이어직경은 마이크로버니어캘리퍼스(CD-15B, MITUTOYO, Japan)로 측정하였다. 최소통과구멍 크기는 [KS P ISO 16409:2016] 7.4.1.1에 제시된 측정판을 이용하였다. 최소통과구멍은 칫솔 머리가 와이어의 변형이 없이 측정판 구멍을 통과한 가장 작은 구멍 크기를 기록하였다.

연구결과: 1) 6개 제조사의 치간칫솔은 모두 최소통과구멍의 크기를 0.1mm 단위로 표시하고 있었지만, ISO 표시 기준(0~8)에 따라 정보를 제공한 제조사는 A,B,C였으며, 나머지 제조사들은 자체 표시 기준을 사용하고 있었다. 솔직경 정보를 표시한 제조사는 A,B,E이었으며, 스템직경을 표시한 제조사는 B,C,D,E,F, 스템길이를 표시한 제조사는 D, 솔수량을 표시한 제조사는 E였다. 2) 각 제조사별 ISO 표기와 측정값으로 비교한 일치 비율(%)은 A사 48.1%, B사 100%, C사 58.3%, D사 52.4%, E사 72.2%, F사 77.7% 이었다. 3) 전체 제조사의 ISO 표기 분류별 측정값에서 ISO 1($0.7\sim 0.8$)에 해당하는 개수가 36개로 가장 많았다. 그다음은 ISO 2($0.9\sim 1.0$)에 해당하는 개수가 24개였다. 4) 치간칫솔의 스템직경과 솔직경은 치간칫솔의 최소통과구멍의 크기에 영향을 미쳤다.

결론: 결론적으로, 사용자의 치간칫솔 선택을 보조하기 위해 제조사는 ISO 표시 기준에 따라 크기 정보를 제공하고, 추가적으로 스템직경과 솔직경 크기 정보도 제공할 필요가 있다.

추가연구: [KS P ISO 16409:2016]에서 제시된 시험방법에 따라 수집된 치간칫솔의 표본 수를 5개씩 추가하였고, 실험 항목에 솔수량도 추가하여 표기 항목별 서로의 관계성에 따라 최소통과구멍 크기에 영향을 미치는 지에 대해 연구를 진행해볼 예정이다.

TOPIC- Perioperative condylar displacement after mandibular setback surgery with intended manual condylar positioning in asymmetric class III patients

자이스왈 엠 샤리야 (치의학과 석사3학기)

Background: The purpose of this study was to evaluate the perioperative condylar displacement after mandibular setback surgery with intended manual condylar positioning in asymmetric class III patients.

Methods: For this study, we selected 20 patients of asymmetric class III (skeletal) with Menton Deviation over 4mm, who underwent Le Fort I osteotomy and BSSO surgery at Oral & Maxillofacial Surgery Department of Pusan National University Dental Hospital between 20015 and 2022 by one surgeon. Demographic, radiologic, and intraoperative and postoperative data were compiled. With the help of 3D CBCT analysis, we categorized the experimental groups into two: Group A (Asymmetric side) and Group B (Non- asymmetric side) and they were examined preoperatively (T0), postoperatively (T1) and 6 months postoperatively (T2).

Results: In axial view, both group showed inward rotation of condylar head at T1 but at T2, the change was gradually reduced and returned to its original position. On sagittal view, group B showed forward movement at T1, but at T2, the condyle returned to its original position. Group A showed no AP forward movement. On coronal view, both group showed lateral movement of the condyle.

Conclusion: It can be concluded that the intended manual condylar positioning doesn't affect the position of the condyle and establishes skeletal and occlusal stability.

Keywords: Condyle position, asymmetry, orthognathic surgery, intended manual condylar positioning, CBCT.

치수줄기세포의 상아질 모세포로의 분화 촉진 및 치아재생에 효과적인 천연약물 후보군 탐색

주지민 (치의생명과학과 석사3학기)

연구배경: 치수줄기세포의 상아질 모세포로의 분화촉진 및 치아재생에 효과적인 천연약물을 찾기 위해 문헌조사를 하여 10여종의 약물을 선정하여 효과를 측정하여 그중 효능이 우수한 약물인 보골지와 두충을 선택하여 연구를 진행 중입니다.

연구내용: 보골지(*Psoralea corylifolia*)는 콩과에 속하는 한해살이풀 개암풀의 열매를 말린 것으로 척수손상 환자의 수족냉증을 치료하는 데 사용합니다. 두충(*Eucommia ulmoides* Oliver)은 두충나무의 나무껍질을 말린 약재로, 골절을 회복하는 데 효과가 있다고 알려져 있습니다.

두충과 보골지, 그리고 보골지의 성분 중 하나인 bakuchiol이 치수줄기세포(human dental pulp stem cell, hDPSC)의 상아질모세포(odontoblast)로의 분화에 미치는 영향과 그 작용기전을 규명하고자 하였습니다.

보골지와 두충은 유기용매를 사용해 추출하였고, 이후 감압농축과 동결건조를 거쳐 가루 형태로 제조한 후 필요한 농도로 DMSO(dimethyl sulfoxide)에 희석해 사용하고 있습니다.

추출물의 세포독성을 측정하기 위해 cck-8 assay를 진행하였으며 분화능을 확인하기 위해 alizarin red s 염색을 시행하였습니다. Odontogenic differentiation marker의 발현 수준은 (실시간 중합 효소 연쇄반응)real time polymerase chain reaction과 western blotting을 통해 분석하였으며, SMAD 1/5/8의 인산화를 관찰해 cell signaling pathway에 추출물의 영향을 확인하였습니다.

실험결과에 따르면 odontogenic differentiation marker gene인 ALP, RUNX-2, OC, DMP-1의 발현이 관찰되었으며, DMP-1과 DSPP의 단백질 발현을 확인하였습니다. 또한 SMAD 1/5/8의 증가를 확인함으로써 SMAD signaling pathway가 촉진된 odontogenic differentiation에 관여한다는 것을 알 수 있었습니다.

연구결과: 두충 추출물과 보골지 추출물이 hDPSC의 odontogenic differentiation을 증가시키며, 보골지 추출물 중에서도 bakuchiol이 odontogenic differentiation에 영향을 주는 성분이라는 것을 시사합니다.



008

Effect of periodontal pathogens on stemness expression in colorectal cancer cells

이가연 (치의생명과학과 석사4학기)

Colorectal cancer (CRC) is one of the cancers with the highest incidence and mortality worldwide. Many recent studies have reported that *F. nucleatum*, a major pathogen involved in chronic periodontitis, promotes the progression of CRC. It is important to identify the role of oral pathogens in the stemness and epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) associated with CRC progression. We aimed to understand the effect of periodontal pathogens on stemness and EMT mechanism in CRC.

다양한 열처리 방법에 의한 니켈티타늄 파일의 물리적 성질 비교

준두이젼츠 오제렐 (치의학과 석사4학기)

목적: 이 연구에서는 열처리 방법이 다르게 적용된 동일한 형태의 니켈티타늄 파일의 피로파절 저항성 및 비틀림 파절 저항성을 비교하는 것이다.

연구방법: 동일한 제조사에서 동일한 형태로 만들어진 Reciproc 파일을 이용하여 연구를 진행하였다. M-wire로 제작된 Reciproc (Group-O), Blue-wire로 제작된 Reciproc Blue (Group-B), 그리고 Reciproc을 추가 열처리한 파일 (Group-T)의 각 R25 (#25/.08v)의 크기를 사용하였다(n=15). 피로파절저항성을 비교하기 위해 45도 각도의 금속 인공근관이 장착된 전용 실험기구 AEndoC를 이용하였다. AEndoC에 연결된 endodontic handpiece을 이용하여 제조사 추천 방식에 맞추어 파일을 작동하고 8mm/sec속도로 4mm의 dynamic pecking motion에 의해 파절이 일어날 때까지의 시간을 측정하였다. 비틀림 저항을 측정하기 위해 전용 실험장비인 AendoS를 사용하였다. 모든 실험 과정은 구강 내 온도로 조절이 가능한 jig를 사용하여 37°C에서 진행하였다. 각 파일의 3mm 팁을 구리판 사이에 고정하고 파절이 일어나기까지 반시계 방향으로 2 rpm으로 회전하였다. 최대 비틀림 하중((Ncm)과 비틀림 각도를 20Hz의 샘플링 주파수로 측정하였다. 두 수치를 이용하여 toughness를 계산하였다. 95%신뢰도로 파일간의 차이를 검증하였다.

결과: Group-O와 Group-B는 피로파절 저항성의 차이가 없었지만, Group-T는 유의하게 높은 피로파절 저항성을 보였다($P<0.05$). 최대비틀림 강도는 세 군 모두 유사하였지만 최대 비틀림 각도와 Toughness는Group-B가 가장 높고 Group-T가 Group-O보다 높았다($P<0.05$).

고찰: 본 연구에서 시도한 Group-T의 열처리 방법은 Blue-wire보다 더 우수한 피로파절 저항성을 갖도록 하는 열처리 방법으로 확인되었다.

Comparison of Porcine- and Bovine-Derived Xenografts with Hydroxypropyl Methylcellulose on Bone Formation in Rabbit Calvaria Defects

황수현 (치의학과 석사4학기)

In this study, hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) was mixed with particle-type xenografts, derived from two different species (bovine and porcine), to increase the manipulability of bone grafts and compared the bone regeneration ability. Four circular defects in a diameter of 6 mm were formed on each rabbit calvaria, and the defects were randomly divided into 3 groups: No treatment (Control group), HPMC-mixed bovine xenograft (Bo-Hy group), and HPMC-mixed porcine xenograft (Po-Hy group). At 8 weeks, micro-Computed Tomography (μ CT) scanning and histomorphometric analyses were performed to evaluate new bone formation within the defects. The results revealed that the defects treated with the Bo-Hy and the Po-Hy showed higher bone regeneration than the Control ($p < 0.05$), while there was no significant difference between the two xenograft groups ($p > 0.05$). Within the limitation of the present study, there was no difference in new bone formation between porcine and bovine xenografts with HPMC, and bone graft material was easily moldable with the desired shape during surgery. Therefore, moldable porcine-derived xenograft with HPMC used in this study could be a promising substitute for the currently available bone grafts and has good bone regeneration ability for bony defects.

Periodontal Pathogens Promote Foam Cell Formation by Blocking Lipid Efflux

노지현 (치의생명과학과 박사1학기)

A strong correlation between chronic periodontitis and systemic diseases (e.g., cardiovascular disease, metabolic disorders) has been suggested for several decades. However, the evidence supporting this correlation is restricted primarily to epidemiologic studies, with only a few experimental outcomes confirming such a correlation and providing information about the underlying molecular mechanisms. we investigated the effect of *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) and *Fusobacterium nucleatum* (*F. nucleatum*), which in chronic periodontitis progression, on Raw264.7 and THP-1 macrophages. Infection with *P. gingivalis* or *F. nucleatum* significantly induced the expression of fatty acid binding protein 4 (FABP4), one of the most important adipokines that play a role in the progression of systemic diseases such as atherosclerosis and type 2 diabetes. In addition, *P. gingivalis* and *F. nucleatum* increased lipid droplets in Raw264.7 and THP-1 macrophages through modulating lipid metabolism enzymes and cholesterol-Efflux enzymes.

Our findings provide further insight into the molecular mechanisms that mediate the deteriorative effects of periodontitis upon systemic diseases and suggest that the control of chronic inflammation, including that associated with periodontitis, is one of the most visual for the prevention of various systemic diseases.

Salivary gland (SG) dysfunction leads to xerostomia (dry mouth). Importantly, the senior population is susceptible to xerostomia and the prevalence of the disease is much higher in elderly women than in men, implying the correlation between salivary function and sex hormone, such as estrogen. To understand the etiology of post menopause-associated xerostomia, we investigated the functional alteration of the salivary gland (SG) of ovariectomized (OVX) mouse model. Notably, OVX leads to SG dysfunction with reduced salivary flow. In histological assessment, aquaporin 5 (AQP5)-expressing acinar compartment was significantly reduced in SG of OVX mice (OVX-SG), while ductal cells were profoundly increased instead. In the gene set enrichment analysis (GSEA), we found that GO terms associated with structural alterations such as extracellular matrix (ECM) and cell junctions were significantly enriched in OVX-SG compared with controls. Interestingly, TGF- β expression in the SG was significantly upregulated after OVX. Next, we utilized salivary gland organoids (SGOs) as a modeling system for the investigation of salivary epithelial stem/progenitor cell homeostasis and differentiation. Established mouse and human SGOs were able to maintain stably and differentiate into mature cells, including acinar and duct cells, that are capable of recapitulating functions of SG. It was noted that treatment of TGF- β significantly reduced the formation of SGO, which was recovered by co-treatment of TGF- β inhibitor SB431542 or Estradiol. We found that TGF- β could increase the susceptibility of SG cells against oxidative stress, partially via induction of ferroptosis. To downregulate the oxidative stress in OVX-SG, we administrated extracellular vesicles (EV) isolated from mesenchymal stem cells overexpressing SOD3, one of antioxidant enzymes. Interestingly, treatment of EV-SOD3 could restore the salivary flow rate in OVX mice with reduction in damage-associated markers. These findings suggest a novel insight regarding the pathogenesis and effective treatment strategy of menopausal xerostomia.

변민지 (치 의학과 수료후 박사4학기)

연구배경 및 목적 : 암(악성 신생물)은 세계인의 주요 사망원인 중 하나이며, 위암은 지난 수십 년간 발생률이 감소하고 있는 암종이지만 여전히 발병률이 가장 높은 암이다. 치주질환은 구강 박테리아를 증가시킬 뿐만 아니라 암 발생을 촉진하는 위액과 구강의 니트로사민(nitrosamine)을 증가시킨다. 구강 박테리아에 의한 치주질환은 만성염증을 유발하고, 이는 흡연과 알콜로 인한 발암원과 유사한 작용을 활성화시킴으로써 다양한 암의 발병 위험 요소를 증가시킬 수 있다는 역학조사 결과들이 있다. 치주질환과 위암의 관련성에 관한 연구는 그동안 일관된 결과를 보여주지 못하였지만, 최근 치주질환 경험자에서 위암 발병 위험이 50% 높다는 연구 결과가 보고되었다. 위암은 다양한 원인과 기전에 의해 발생하며 이에 관한 다각도의 연구가 필요하지만 치주질환과 관련된 연구는 부족하다. 이에 우리나라 국민건강보험공단에서 공개한 대규모 자료를 이용하여 치주질환과 위암의 관련성을 확인하고자 한다.

연구방법 : 이 연구는 후향성 코호트 연구로 국민건강보험공단에서 제공하는 표본코호트2.0 자료를 이용하였다. 표본코호트2.0 데이터베이스에는 전국민을 모집단으로 하여 표본층화추출한 1,000,000명에 대한 진료내역 정보가 2002년부터 2015년까지 포함되어있다. 2002년에 치주염과 위암으로 진단받은 환자는 연구에서 제외하였고(wash-out), 의료급여수급권자와 건강검진 결과가 없는 대상자도 연구에서 제외하였다. 2003년 처음으로 치주염을 진단받은 20세 이상 성인은 22,253명이었으며, Propensity score matching을 이용하여 성별, 연령그룹, 건강보험자격, 소득분위, 고혈압 유병여부, 당뇨병 유병여부, 음주여부에 유의한 차이가 없으면서 치주염으로 진단받지 않은 성인 22,253명을 추출하였다. 1:1로 매칭된 총 44,506명의 진료자료를 분석하여 2015년까지 위암이 발생하는지 확인하였다. 치주염 유병여부에 따른 위암 발생위험을 알아보기 위해 콕스비례위험모형분석을 이용하였고, Kaplan-Meier 곡선으로 생존율을 비교하였다. 통계분석은 SAS Enterprise Guide 7.1 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)와 R studio version 3.3.3 (R studio Inc., Boston, MA, USA)을 이용하였으며, 유의수준은 95% 신뢰구간으로 설정하였다.

연구결과 : 성별, 연령그룹, 건강보험자격, 소득분위, 고혈압 유병여부, 당뇨병 유병여부, 음주여부, 흡연여부, BMI, 치주염 유병여부를 보정한 다변량 콕스비례위험모형분석 결과, 치주염이 있는 사람이 치주염이 없는 사람보다 위암 발생위험이 높았다(aHR: 1.20, 95% CI: 1.04–1.38). Kaplan-Meier 곡선으로 위암이 발생하지 않을 것을 의미하는 누적 생존율을 추정하여 비교한 결과, 치주염이 없는 건강한 사람에서 치주염이 있는 사람보다 생존율이 더 높았다(p=0.017).

결론 : 치주염이 있는 사람에서 치주염이 없는 사람보다 위암이 발생할 위험이 더 높았다. 코호트 연구를 통해 치주염이 위암 발생의 위험요소 중 하나임을 확인하였다.

Evaluation of the regenerative potential of cell therapeutics using repair-associated cell-containing intestinal organoid

안지수 (치의생명과학과 수료후 박사6학기)

Mesenchymal stem cell (MSC)-based cell therapeutics possess the abilities of immunomodulation and wound healing. Since it is difficult to specifically evaluate the regenerative potential of a treatment in animal model, apart from its effect on inflammation, we sought to utilize intestinal epithelial organoid (IEO) as a platform for the evaluation of regenerative potential. We focused on the detection of recently reported population of stem cell in IEOs, repair/regeneration-associated cells (RACs). Notably, IEOs cultured with 3D-cultured MSCs (MSC3D) exhibited spheroid-like morphology and enrichment with RACs. We found that the elevated prostaglandin E2 production from MSC3D accelerated the epithelial regeneration process via EP4 receptor, compared to 2D-cultured MSCs (MSC2D). Moreover, MSC3D exerted more potent therapeutic efficacy against colitic symptoms on murine model of inflammatory bowel disease. To further augment in vivo engraftment efficiency of MSCs, microparticles carrying anti-oxidative agent were incorporated in MSC3D (heterospheroid, MSCHS). In a murine model of colitis, MSC3D and MSCHS exhibited enhanced anti-inflammatory impact than MSC2D via attenuating neutrophil infiltration and regulating helper T cell (Th) polarization into Th1 and Th17 cells. MSCHS exhibited the most prominent therapeutic outcomes owing to their enhanced anti-inflammatory and regenerative effects with prolonged survival capacity. Taken together, we established an organoid-based platform for the evaluation of regenerative potency of cell therapy and suggested a convergent strategy of MSCHS formation to maximize the therapeutic potential of conventional MSC application.

Involvement of the visfatin/TLR4 signaling axis in human dental pulp cell senescence: protection via TLR4 blockade

옥창엽 (치의생명과학과 수료후 박사6학기)

Background/purpose: Dental pulp plays an important role in the maintenance of tooth homeostasis and repair. The aging of dental pulp affects the functional life of the tooth owing to the senescence of dental pulp cells. Toll-like receptor 4 (TLR4) is involved in regulating cellular senescence in dental pulp. We have recently demonstrated that visfatin induces the senescence of human dental pulp cells (hDPCs). Here, we explored the association of TLR4 with visfatin signaling in cellular senescence in hDPCs.

Materials and methods: mRNA levels were determined using reverse transcription polymerase chain reaction (PCR) and quantitative real time-PCR. Protein levels were determined using immunofluorescence staining and Western blot analysis. Gene silencing was performed using small interfering RNA. The degree of cellular senescence was measured by senescence-associated- β -galactosidase (SA- β -gal) staining. Oxidative stress was determined by measurement of NADP/NADPH levels and intracellular reactive oxygen species (ROS) levels.

Results: Neutralizing anti-TLR4 antibodies or TLR4 inhibitor markedly blocked visfatin-induced hDPCs senescence, as revealed by an increase in the number of SA- β -gal-positive hDPCs and upregulation of p21 and p53 proteins. Moreover, visfatin-induced senescence was associated with excessive ROS production; NADPH consumption; telomere DNA damage induction; interleukin (IL)-1 β , IL-6, IL-8, cyclooxygenase-2, and tumor necrosis factor- α upregulation; and nuclear factor- κ B and mitogen-activated protein kinase activation. All of these alterations were attenuated by TLR4 blockade.

Conclusion: Our findings indicate that TLR4 plays an important role in visfatin-induced senescence of hDPCs and suggest that the visfatin/TLR4 signaling axis can be a novel therapeutic target for the treatment of inflammaging-related diseases, including pulpitis.

Identification of novel therapeutic targets and mechanisms for cancer stem cells in head and neck cancer

신예영 (치의생명과학과 수료후 박사 8학기)

Head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) ranks as the sixth most prevalent cancer worldwide and the incidence of HNSCC has continued to rise for decades. However, resistance to chemotherapeutic drugs and relapse remain major obstacles of clinical oncology to overcome successful treatment. Therefore, it is crucial to elucidate the underlying mechanisms of HNSCC related to tumorigenesis and metastasis. First, we focused on analyzing cancer stem cells (CSCs) and investigated the role of melatonin (Mel) and verteporfin (VP) on HNSCC. HNSCC CSCs were isolated and enriched in a suspension state or ROS-low condition. Co-treatment of Mel and VP decreased cell proliferation and CSC-properties of HNSCC, while increasing mitochondrial ROS level. In addition, mitophagy markers were down-regulated by co-treatment with Mel and VP. Mel and VP inactivated mitochondrial function by reducing mitochondrial membrane potential. Parkin/TOM20 was presented near the nucleus and formed clusters of mitochondria in the cells after treatment. Moreover, Mel and VP reduced the expression of epithelial mesenchymal-transition (EMT) and metastasis markers. Taken together, these results suggest that the combination of Mel and VP triggers mitochondrial damage, resulting in the apoptosis of CSCs in HNSCC. We next investigated potential therapeutic targets in HNSCC regarding the HPV status. HPV- HNSCC represented relatively higher characteristics of CSCs compared to HPV+ HNSCC. Functional genomic analysis by RNA-seq demonstrated that ROS-low cells of HPV- HNSCC up-regulated endoplasmic reticulum (ER) stress and unfolded protein response (UPR) process. Accordingly, RNA expression of Bip, which is the major ER chaperone protein, was increased in HPV- HNSCC. Inhibition of Bip decreased tumor growth and CSC population, exclusively in HPV- HNSCC. Furthermore, G protein subunit alpha o1 (GNAO1) was greatly increased in HPV- HNSCC compared to HPV+ HNSCC. GNAO1 up-regulated proliferation of HPV- HNSCC through the activation of YAP signaling pathway. Altogether my findings provide new insight into anticancer therapies in HNSCC.

초청강연

연자소개

김형식 교수

- 부산대학교 치의학전문대학원 부교수
- 구강생화학교실



김경년 교수

- 강릉원주대학교 치과대학 교수
- 생리학 및 신경과학 교실
- 구강과학연구소



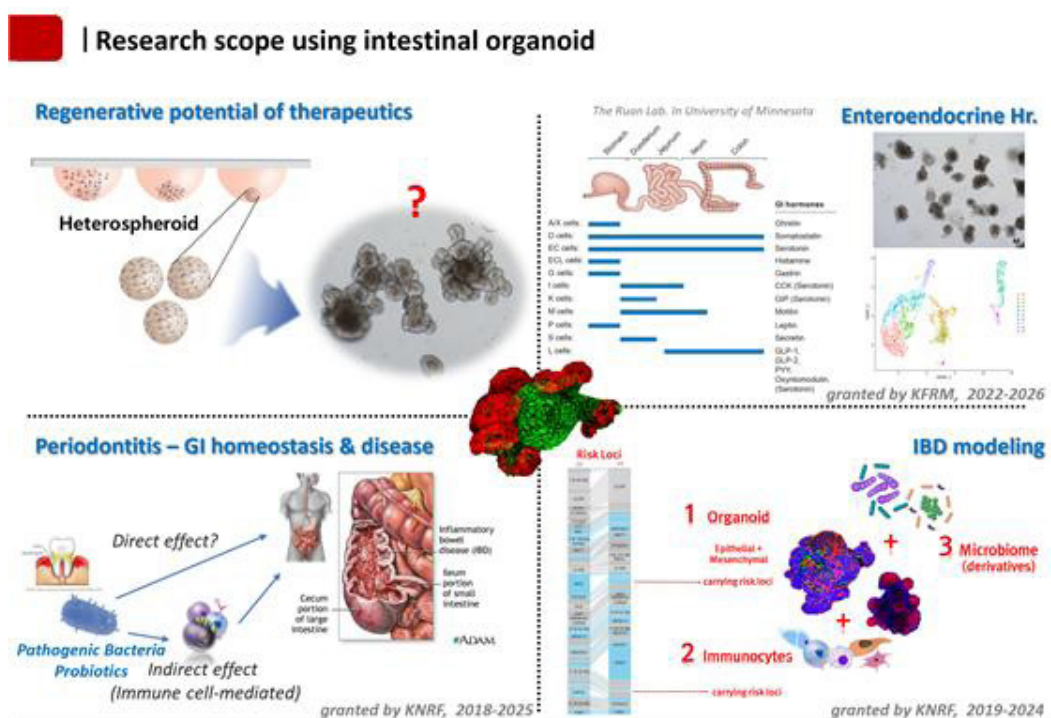
초청강연 I

오가노이드 기반 상피성 장기 손상의 재생기술개발

Organoid-based Study of Epithelial Plasticity and Damage to Discover Novel Regenerative Strategy

김형식 교수 (부산대학교 치의학전문대학원 구강생화학교실)

오가노이드는 줄기세포를 이용하여 만들어 낸 체외에서 배양가능한 장기유사체를 의미한다. 최근에는 이러한 오가노이드를 활용한 기술이 연구에서 실용화로 빠르게 발전하고 있으며 다양한 질환의 모사와 치료법 개발에 오가노이드가 광범위하게 활용되고 있다. 오가노이드 생산을 위한 줄기세포는 크게 만능줄기세포와 성체줄기세포의 두 종류로 나눌 수 있는데 성체줄기세포의 경우 특정 장기 내에 존재하는 장기 특이적 줄기세포의 재생기전을 모사한 분화조건을 활용하여 오가노이드를 생산할 수 있다. 현재까지 매우 빠른 속도로 다양한 장기에 대한 오가노이드 제작과 방법이 보고 되고 있다. 장, 간, 폐, 뇌, 신장, 췌장 등을 비롯하여 다양한 오가노이드 제작과 이를 활용한 연구가 전세계적으로 활발하게 진행되고 있다. 이러한 오가노이드는 장기의 발생, 항상성 및 재생기전 연구, 환자유래 오가노이드 बैं킹, 질환모델링, 약물개발 및 맞춤형 치료, 조직재생 등의 다양한 목적으로 활용될 수 있다. 본 강연에서는 오가노이드가 무엇인지 알아보고 장 및 타액선 오가노이드를 활용하여 재생치료 기술을 비롯한 다양한 질환치료를 위한 융복합 치료기술 개발에 대한 연구내용을 소개하고자 한다.



미각의 새로운 기능

초청강연 II

김경년 교수 (강릉원주대학교 치과대학)

미각은 전통적으로 음식물의 취사선택과 관련 깊은 감각으로 생각하고 있다. 미각인식에 의하여 섭취하는 음식물을 결정하고, 영양상태와 질병에 따라 미각 감수성이 달라지는 것이 알려져있다. 쓴맛은 잠재적인 독성 물질의 섭취를 제한하여 개체의 생존에 중요한 역할을 하고 있다. 척추동물은 2형 미각감수기를 이용하여 쓴맛을 감지하며 버섯유두, 입새유두, 성곽유두를 포함한 혀의 유두 등 구강 및 후두 점막에 주로 발현하고 있다.

다양한 쓴맛 감수기 유전자가 위장관, 기관지, 비뇨관, 뇌 및 면역세포에서 발현하는 것이 알려져 있으며, 침샘에서도 적지 않은 정도로 발현하고 있다. 또한 맛봉오리에서 생쥐의 35가지 쓴맛감수기 유전자의 발현은 균일하지 않으며, 특정 유전자가 100만배 이상 많이 발현하고 있는 것을 확인할 수 있다. 가장 많이 발현하는 유전자를 제거한 생쥐에서 미각 선호도와 대사의 변화를 발견할 수 있다.

종합하면, 미각은 단순히 음식물의 취사선택을 넘어서서 인체의 대사 전반에 관여하고 있다는 증거들이 누적되고 있고, 결과적으로 개체의 성장, 발육, 노화 및 수명 등에도 관여할 가능성을 시사하고 있다.