

# 실험적 백서 치근단 병소에서의 면역글로불린 분포에 관한 면역조직화학적 연구

서울대학교 치과대학 치과보존학 교실

부정선 · 임성삼

목 차

- I. 서 론
- II. 실험재료 및 방법
- III. 실험경과
- IV. 총괄 및 고안
- V. 결 론
- 참고문헌
- 사진부도
- 영문초록

## I. 서 론

치근단 병소는 대부분 치근단 육아종이나 치근단 낭종<sup>1,2)</sup>이며, 이는 감염된 근관으로부터 세균이나 세균으로부터의 독소 및 부산물, 변성된 치수조직 등에 의해 발병된다<sup>3-6)</sup>.

이런 치근단 병소의 발생에는 다수의 기전이 복합적으로 작용하며 최근에 치근단 병소의 병발에 면역기구가 관여한다는 것을 규명하기 위해 Skaug 등<sup>7)</sup>은 치근단 병소에서 T 림프구의 존재를 밝혔고 그 외에도 T 림프구의 아군집(subpopulation)<sup>8,9)</sup>과 B 림프구<sup>10-16)</sup>, 그리고 Ig G(Immunoglobulin G), Ig A(Immunoglobulin A), Ig M(Immunoglobulin M), Ig E(Immunoglobulin E) 및 보체<sup>1,17-27)</sup> 등의 존재를 확인하였다. 또한 Jones 등<sup>28)</sup>은 치근단 병소에서 자가방사법을 사용하여 Ig G와 Ig A와 같은 면역글로불린의 생합성을 밝혀내었다.

Toller 및 Holborow<sup>29)</sup>는 면역형광법(immunofluorescent technique)을 사용하여 치근단 병소 내에

다수의 Ig A, Ig G 및 Ig M 함유세포가 있으며 19개 치성 낭종의 낭종액을 조사한 결과 면역글로불린의 수준이 혈청에서보다 상당히 높음을 보고하였고, Honjo 등<sup>20)</sup>은 형광항체법(fluorescent antibody technique)을 이용하여 정상치수와 염증치수에서 Ig A, Ig G, Ig M의 존재를 밝혀내었다. Morse 등<sup>23)</sup>은 methyl green pyronin 증염색을 이용하여 치근단 병소에 다수의 형질구가 존재한다는 것을 보고하였으며, Naidorf 등<sup>26)</sup>은 면역전기 영동법(immunoelectrophoresis) 및 단일방사성면역확산(single radial immunodiffusion)을 사용하여 치근단 병소에서 Ig G, Ig A 및 Ig M을 정량분석하였으며, Pulver 등<sup>20)</sup>은 면역형광법을 사용하여 정상치수와 염증치수에서 면역글로불린 함유세포를 발견하였다.

Kuntz 등<sup>22)</sup>은 치근단 병소에서 Ig G, Ig A, Ig M을 함유하는 세포와 보체의 존재를 확인하였으며, Stern 등<sup>30)</sup>은 20개의 치근단 육아종에서 직접면역과산화효소법(direct immunoperoxidase method)으로 Ig M, Ig A, Ig E의 존재를 밝혔고 Torabinejad 등<sup>31)</sup>은 면역과산화효소법(immunoperoxidase method)으로 치근단 병소에서 Ig G, Ig E, Kappa chain 및 Rhamda chain의 존재를 밝혀냈고, 조<sup>19)</sup>는 PAP(Peroxidase - Antiperoxidase)방법을 이용하여 치근단 낭종 및 치근단 육아종에서 Ig G, Ig A 및 Ig M의 분포를 관찰하였다.

감염근관 내에 존재하여 치근단 병소의 원인이 되는 항원에 대해서도 많은 연구가 있었다. Kakehashi 등<sup>32)</sup>은 무균백서와 일반백서에서 치수노출을 시켰을 경우 후자에서는 치근단 병소가 발생하나 전자에서는 이런 소견이 전혀 관찰되지 않아 세균이

치근단 병소의 병발에 밀접한 관계가 있음을 시사하였고 Rosengren 등<sup>33)</sup>은 백서의 치수에 *Streptococcus mutans*를 접종시켜 치근단 낭종과 균혈증이 발생되었음을 보고하였으며 Sundqvist<sup>34)</sup>는 치근단 병소가 있는 근관의 거의 전부에서 세균을 검출하였다.

세균에서 유래된 물질이 아니더라도 생체에 유해한 물질도 치근단 병소를 일으킬 수 있다. Okada 등<sup>35)</sup>은 말의 혈청을 토끼의 치수강에 주입하여 혈중항체가 증가하는 동시에 치근단 질환이 발생되는 것을 관찰하였다. 그리고 Torabinejad 등<sup>36)</sup>은 KLH(keyhole limpet hemocyanin)로 미리 감작한 고양이에 동항원을 치수강에 투여 시 치근단 병소가 유발되었다고 보고하였고 Block 등<sup>33,37-42)</sup>은 근관치료약이나 근관충전용 시멘트 등이 합텐으로 작용하여 치근단 병소의 발생에 항원으로 작용하는지를 연구하였다.

Torabinejad 등<sup>43-45)</sup>은 치근단 병소 내에서 파골세포 활성화자의 존재를 확인하였고, 치근단 골 흡수에서 prostaglandin이 중요한 역할을 함을 보고하였으며 Harvey 등<sup>46)</sup>은 치근단 낭종에서 prostaglandin 합성에 섬유아세포가 관여한다고 보고하였다.

또한 최근 endodontic flare-up의 원인에 대해 많은 연구가 있는데<sup>47-49)</sup>이 중 Ig E가 관여하는 즉시형 과민증(immediate hypersensitivity)이 주요한 원인 중 하나로 밝혀지고 있다. Svetcov 등<sup>50)</sup>은 endodontic flare-up이 발생한 환자의 혈청 면역글로불린의 수준을 조사하여 Ig E만이 증가되었음을 보고한 바 있다.

Farnoush<sup>51)</sup>는 치근단 병소에서 많은 수의 비만세포(mast cell)가 있으며 정상치수보다 염증치수에서 비만세포의 수가 증가하였음을 보고하였다. 염증치수의 비만세포는 세포막 밖에 과립이 나타나므로써 탈과립(degranulation)이 되었다는 증거를 나타낸다<sup>52,53)</sup>. 비만세포에는 Ig E 항체에 대한 특수한 친화성을 갖는 50,000 내지 300,000개의 수용기를 가지며<sup>54)</sup>, 이는 즉시형 과민증을 매개하는데 중요한 역할을 한다. 세균이나 세균의 부산물과 같은 항원에 의해 서로 인접한 Ig E 분자의 교차결합이 일어나면 이는 비만세포의 탈과립을 일으키며 치근단 조직 내로 혈관활성아민을 방출하여 즉시형 과민증을 일으킨다.

최근에는 면역형광법보다 면역과산화효소법이

많이 쓰이는데 그중 Avidin-biotin-horseradish peroxidase 방법을 사용하는 연구가 활발하다. Warnke 등<sup>11)</sup>은 Avidin-biotin-horseradish peroxidase 방법을 사용하여 림프결절, 췌장, B 세포성 림프종 및 T 세포성 림프종의 동결조직표본을 연구하여 monoclonal antibody가 효과적으로 T 세포와 B 세포를 확인할 수 있음을 보고하였으며, Hsu 와 Raine<sup>12)</sup>은 Avidin-biotin-peroxidase complex와 PAP 염색을 비교하여 전자가 적용할 수 있는 영역이 더욱 넓고 민감하며 주변염색이 적게 됨을 밝혔고 Cymerman<sup>9)</sup>은 사람의 만성 치근단 병소에서 Avidin-biotin-horseradish peroxidase을 써서 T 림프구의 아군집을 연구하였다.

이상에서 살펴본 바와 같이 치근단 병소 내의 면역세포의 존재, 항원성, 골 파괴, 임상증상과의 연관성 등에 대한 많은 연구가 있었으나 아직도 치근단 병소의 발생, 지속 및 확대나 항원의 성상 등 면역학적 기전에 대한 불확실한 점이 많다.

이에 저자는 치근단 병소의 발생과 발생기간에 따른 면역글로불린과 비만세포의 면역학적 역할을 관찰하기 위해 백서 구치의 치수를 노출시켜 실험적으로 치근단 병소를 발생시킨 후 치수노출 기간에 따라 발생한 치근단 병소의 종류와 병소의 크기 변화를 방사선 및 현미경 상에서 관찰하였으며 또 병소 종류와 발생기간에 따른 면역글로불린 함유세포들과 비만세포의 단위면적당 수를 통계학적으로 비교 분석하여 유의할 만한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## II. 실험재료 및 방법

본 실험에서는 생후 60일 된 백서 40마리의 80개 치아를 대상으로 하였고 정상대조군으로는 백서의 하악 제 2, 3대구치를 사용하였다. 실험동물은 체중 100g 당 sodium pentobarbital 2mg을 복강내 주사한 후 하악 좌우 제 1대구치에 low-speed straight handpiece로 #1/2 round bur를 사용하여 와동형성하여 치수노출하였다. 그 후 15일, 30일, 60일, 90일의 간격을 두고 각 기간마다 10마리씩 희생시킨 다음 치아를 포함한 악골을 절단하고 10% 중성 포르말린에 고정시킨 후에 방사선 사진을 촬영하여 병소 발생유무를 관찰하였고, 필요한 부위를 절단하여 면역조직화학적 염색을 위해 중성

E.D.T.A.(Ethylenediaminetetracetic acid)에 2주 이상 탈회시켰다.

### 1. 방사선 검사

실험군은 치수노출 후 기간에 따라 15일 후를 1군, 30일 후를 2군, 60일 후를 3군, 그리고 90일 후를 4군으로 나누었고 방사선 검사는 80개 표본을 방사선 촬영하여 7배로 확대되는 KODAK EKTA GRAPHIC Audio Viewer Projector로 병소의 근심치근과 원심치근에 생긴 병소의 크기를 3회 측정하여 평균을 내었다.

### 2. 조직병리학적 검색

모든 표본을 통법의 탈수과정을 거쳐 paraffin에 포매하여 4-6 $\mu$ 의 박절표본을 제작한 후, Hematoxylin-Eosin 염색을 시행하여 조직병리학적 검색에 사용하였고 일부는 10% toluidine blue 용액으로 염색하여 비만세포를 광학현미경으로 관찰하고 또 일부는 면역조직화학적 염색에 사용하였다.

병소의 면적은 현미경에서 40배로 확대하여 사진을 찍고 이를 Polar Planimeter 620005(KEUFFEL & ESSER CO.)로 병소의 면적을 5회 측정하고 평균을 내었다.

### 3. 면역조직화학적 검색

염색방법은 Avidin-Biotin-horseradish peroxidase 방법을 사용하였고 시약은 VECTASTAIN ABC kit(VECTOR사 제품)을 사용하여 백서에 대한 단일 클론 항체로 Ig A, Ig E, Ig M, 및 Ig G를 염색하였으며 방법은 다음과 같다.

1) 60°C에서 1시간 정도 배양(incubation)하여 paraffin을 제거한 조직절편을 xylene과 alcohol로 함수시킨 후 증류수로 수세하였다.

2) 내인성 과산화효소의 활성(endogenous peroxidase activity)을 억제하기 위해서 0.3% 과산화수소(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)로 30분간 배양시킨 후 PBS(phosphate buffered saline)로 20분간 수세하였다.

3) 면역글로불린의 비특이성 결합을 차단하기 위하여 2차 항체를 만든 말의 정상혈청으로 20분간 배양하고 과잉의 혈청은 닦아내었다.

4) PBS 용액으로 알맞은 농도인 1:100으로 희석한 1차 항체인 mouse anti-rat antibody로 30분간

배양한 후 PBS 용액으로 수세하여 결합되지 않은 채 남아있는 1차 항체를 씻어내었다.

5) 2차 항체인 biotinylated horse anti-mouse antibody를 PBS로 1:20으로 희석하여 30분간 배양한 후 PBS로 수세하였다.

6) VECTASTAIN ABC 시약으로 30-60분간 배양한 후 10분간 PBS로 수세하였다.

7) peroxidase substrate solution에 2-7분간 배양하고 흐르는 물에 5분간 수세한 후 Mayer's Hematoxylin 시약을 사용하여 3분간 대조염색을 시행하였다.

8) glycerol gelatin을 사용하여 mounting하고 광학현미경으로 관찰하여 치근단 병소내 각각의 면역글로불린 함유세포의 수를 세었다.

면역글로불린 함유세포의 기준은 Pulver 등<sup>20)</sup>의 실험에서와 같이 형질구나 림프구를 닮은 세포의 세포질이 적갈색으로 염색되어 있는 것을 면역글로불린 함유세포로 정하였고 field당 세포의 수를 합산하여 평균을 내었던 Pulver의 실험과는 달리 본 실험에서는 병소의 크기가 작아서 병소에 존재하는 면역글로불린 함유세포 전체를 합산하여 병소의 면적으로 나누어 단위면적 당 세포수로 계산하였다.

그리고 통계처리는 ANOVA(Analysis of Variance) 방법으로 유의성 검정을 하였다.

## III. 실험 결과

### 1. 방사선적 소견

80개의 치아 모두에서 방사선 상에서 병소를 확인할 수 있었고(Fig.1 참조), 방사선 상에서 병소의 크기를 쟀 결과 1군에서는 지름이 0.5mm 이하가 7개, 0.5mm-1.0mm가 13개이고 2군에서는 0.5mm 이하가 3개, 0.5mm-1.0mm가 12개, 1.0mm-1.5mm가 5개이며, 3군에서는 0.5mm-1.0mm가 3개, 1.0mm-1.5mm가 15개, 1.5mm 이상이 2개이고 4군에서는 0.5mm-1.0mm가 4개, 1.0mm-1.5mm가 14개, 1.5mm 이상이 2개이었다(Table 1 참조).

이와같이 병소의 크기는 시간이 경과함에 따라 증가하였고 초기에는 크기의 변화가 컸으나 3군과 4군은 별 차이가 없었다.

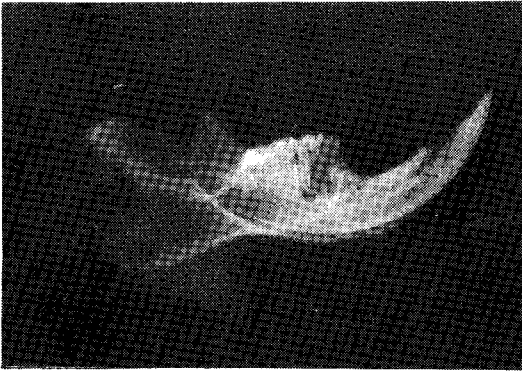


Fig.1. Radiograph of the excised mandible from an experimental animal 30 days after.

Table 1. Radiographic evidence and size of periapical lesions.

Group		1(15 days)	2(30 days)	3(60 days)	4(90 days)	
No. of animal		10	10	10	10	40
No. of sample		20	20	20	20	80
Lesion dia. (mm)	a*	7	3			
	b*	13	12	3	4	
	c*		5	15	14	
	d*			2	2	

\*a:0.0-0.5 mm      b:0.5-1.0 mm  
 c:1.0-1.5 mm      d:1.5-2.0 mm

## 2. 조직병리학적 소견

80개 치아 중 56개 치아만이 조직표본 제작이 가능하였고 이 중 5개 표본은 관독이 불가능하였으며 1개에서는 dentin bridge가 발생되었고 병소는 관찰되지 않았으며 나머지 50개에서는 모두 치근단 병소가 발생되었다(98%). 50개 표본을 현미경 상에서 사진을 찍어 Polar Planimeter로 병소의 크기를 잰 결과도 Table 2에서 보는 바와 같이 시간이 경과함에 따라 증가하였으며 1군과 4군 사이에서는 통계학적으로 유의한 차이가 있었다( $p < 0.05$ ).

50개의 치근단 병소의 분포를 보면 치근단 육아종이 18개로 36%, 치근단 농양이 19개로 38%, 치근단 낭종이 3개로 6%, 섬유성 반흔조직이 10

개로 20%였다(Table 3 참조).

### 가. 1군

15개 표본 중에서 93.3%인 14개가 치근단 육아종, 6.7%인 1개가 치근단 농양의 조직병리학적 소견을 보였으며 대체로 미약한 염증반응을 보였고 혈관의 확장상, 충혈상, 그리고 섬유소원(fibrin) 등의 침착을 보이는 초기의 치근단 육아종의 형성을 보였으며 괴사는 치근단공 근처에만 국한되어 있었고 괴사되는 부위에 다형핵 백혈구와 대식세포가 침윤되는 상이 보였다. 그리고 침윤 염증세포는 다형핵 백혈구와 대식세포 등 급성염증세포들이 주로 나타나 치근단 염증의 초기단계임을 나타내었다. 일부에서는 호산구들이 관찰되었다. 치근단 육아종과 치근단 농양 발생 사이에는 통계학적으로 유의한 차이가 있었다( $p < 0.05$ ).

### 나. 2군

9개 표본 중에서 55.6%인 5개가 치근단 농양, 22%인 2개가 치근단 육아종, 2개가 각각 치근단 낭종과 섬유성 반흔조직의 조직병리학적 소견을 보였고 1군에 비하여 치근단 농양형성이 현저하며 농양 중앙부위의 괴사부위에는 주로 다형핵 백혈구와 대식세포 등이 관찰되었다. 한 치아에서는 병소가 관찰되지 않았으며 치근단 부위의 치수에서 dentin bridge가 형성되었다. 어떤 치아에서는 이미 섬유성 반흔조직의 형성을 보였다.

### 다. 3군

11개 표본 중에서 45.5%인 5개가 치근단 농양, 36.4%인 4개가 섬유성 반흔조직, 2개가 각각 치근단 육아종과 치근단 낭종의 조직병리학적 소견을 보였으며 치근단 농양과 함께 염증세포의 침윤이 줄어들고 혈관도 줄어들며 섬유증식증이 생긴 섬유성 반흔조직이 많이 나타났다. 그리고 와동이 있는 상태에서 음식물을 저작하므로 파절이 많이 일어났으며 치수의 노출이 장기화 됨에 따라 치수가 괴저되는 상이 현저하였고 치근단 흡수가 진행되면서 치근이 짧아지고 주위의 치은상피가 짧아진 치근을 둘러싸면서 자연탈락시키려는 양상을 보였다.

### 라. 4군

15개 표본 중에서 53.3%인 8개가 치근단 농양,

33.3%인 5개가 섬유성 반흔조직, 2개가 각각 치근단 육아종과 치근단 낭종의 조직병리학적 소견을 보였고 대체로 3군과 유사한 소견을 보였다.

모든 군에서 음식을 잔사가 와동의 교합면 쪽에 채워져 있었고 치수 내에 미생물 집락이 보였다. 또한 치근단 낭종은 1군에서는 없었으며 2, 3, 4군에서 각각 1개씩 나와 6%의 발생비를 보였고 4군 중에서는 치근단 농양이면서 치근단 낭종의

초기형태를 보이는 표본이 1개 더 있었다. 시간이 경과됨에 따라 치근단 육아종은 줄어들고 치근단 농양과 섬유성 반흔조직이 증가하였다.

10% toluidin blue 로 염색하여 비만세포를 관찰한 결과(Table 4 참조) 시간이 경과됨에 따라 비만세포의 수가 대체로 감소하였고 1군과 2군 사이에는 통계적으로 유의한 차이가 없었으며 1군과 3군, 1군과 4군 사이에 통계적으로 유의한 차이가 있었다( $p < 0.05$ ). 병소의 종류에 따른 비만세포의 분

Table 2. Size of periapical lesions in microscopic findings

Group	1(15days)	2(30days)	3(60days)	4(90days)	
No. of sample	15	9	11	15	50
Lesion size (mm <sup>2</sup> )	0.66±0.23*	1.28±0.78	1.31±0.39	1.55±0.75	

\* Mean± S.D.

Table 3. Diagnosis of periapical lesions in experimental groups.

Dx \ Group	1(15days)	2(30days)	3(60days)	4(90days)	
Gr	14	2	1	1	18(36%)
Ab	1	5	5	8	19(38%)
Cy		1	1	1	3(6%)
F.S.T.		1	4	5	10(20%)
	15	9	11	15	50(100%)

Dx=Histopathological diagnosis

Gr=Periapical granuloma

Ab=Periapical abscess

Cy=Periapical cyst

F.S.T.=Fibrous scar tissue

Table 4. Distribution of Mast cells in experimental groups.

Group	1(15days)	2(30days)	3(60days)	4(90days)	
No. of sample	15	9	11	14	49
Number/mm <sup>2</sup>	5.64±3.59*	3.65±2.08	0.84±0.74	1.27±0.99	

\*Mean± S.D.

Table 5. Distribution of Mast cells in 4 types of periapical lesions

Dx.	Gr	Ab	Cy	F.S.T.	
No. of sample	18	19	3	9	49
Number/mm <sup>2</sup>	4.63±3.03*	2.59±1.09	0.76±0.47	1.07±0.91	

\*Mean± S.D.

포는 (Table 5 참조) 치근단 육아종에서 가장 많았으며 치근단 낭종에서 가장 적었다. 이는 통계학적으로 유의성이 있었다( $p < 0.05$ ).

### 3. 면역조직화학적 소견

면역글로불린 함유세포는 주로 병소의 주변부와 혈관주위에서 많이 나타났으며 50개의 표본에서 관찰한 면역글로불린 함유세포의 분포를 살펴보면 Ig G가 57.2%로 가장 많았고 Ig A가 16.4%, Ig E가 14.7%, Ig M이 11.8%이었다(Table 6 참조).

가. 기간에 따른 각종 면역글로불린 함유세포의 분포(Table 7 참조)

Ig E를 제외한 모든 면역글로불린 함유세포는 시간이 경과됨에 따라 수가 점점 감소하였으며 Ig A에서는 1군과 4군 사이에 통계학적으로 유의한 차이가 있었고( $p < 0.05$ ) Ig E는 1군보다 2군에서 수가 더 많았으나 1군과 2군 사이에는 통계적으로 유의한 차이는 없었으며 1군과 3군, 1군과 4군, 2군과 3군, 2군과 4군 사이에 통계학적으로 유의한 차이가 있었고( $P < 0.05$ ) Ig M은 1군과 2군,

1군과 3군, 1군과 4군 사이에 통계학적으로 유의한 차이가 있었으며 ( $P < 0.05$ ) Ig G는 1군과 3군, 1군과 4군 사이에 통계학적으로 유의한 차이가 있었다( $p < 0.05$ ).

나. 병소의 종류에 따른 면역글로불린 함유세포의 분포(Table 8 참조)

모든 면역글로불린 함유세포가 치근단 육아종에서 가장 수가 많았으며 치근단 낭종에서 가장 적었고 특히 치근단 육아종과 치근단 낭종 사이의 차이는 Ig M과 Ig G에서는 통계학적으로 유의성이 있었으며 Ig M은 치근단 낭종에서는 전혀 나타나지 않았다( $p < 0.05$ ).

Pearson 상관계수를 구해 비만세포, Ig A, Ig E, Ig M 및 Ig G 함유세포들 간의 각각의 상관계수가 모두 0.6 이상으로 서로 매우 높은 상관관계를 보였다(Table 9 참조).

즉 한 요소가 증가하면 다른 모든 요소도 증가하는 양상을 띠었다. 대조군에서는 비만세포와 모든 종류의 면역글로불린 함유세포가 없었다.

Table 6. Distribution of the immunoglobulin containing cells in the total periapical lesions.

Ig	Ig A	Ig E	Ig M	Ig G
No. of sample	49	50	48	50
Number/mm <sup>2</sup>	2.63 ± 1.06* (16.4%)	2.35 ± 1.26 (14.7%)	1.89 ± 1.34 (11.8%)	9.17 ± 7.12 (57.2%)

\*Mean ± S.D.

Table 7. Distribution of the immunoglobulin containing cells in experimental groups.

Group \ Ig	Ig A	Ig E	Ig M	Ig G
1	4.93 ± 3.57	4.09 ± 2.39	4.25 ± 2.31	15.75 ± 6.96
2	3.06 ± 2.06	4.15 ± 3.02	1.92 ± 1.09	10.92 ± 5.54
3	1.54 ± 0.93	1.11 ± 0.64	0.77 ± 0.11	5.12 ± 4.46
4	1.04 ± 0.22	0.45 ± 0.30	0.23 ± 0.11	4.51 ± 3.35

\*Mean ± S.D.

Table 8. Distribution of the immunoglobulin containing cells in 4 types of periapical lesions.

Dx. \ Ig	Ig A	Ig E	Ig M	Ig G
Gr	4.54 ± 3.02*	3.58 ± 2.46	3.89 ± 2.46	14.22 ± 7.33
Ab	1.42 ± 0.62	2.00 ± 1.86	0.89 ± 0.34	6.54 ± 5.46
Cy	0.45 ± 0.39	0.22 ± 0.18	0.00 ± 0.0	1.87 ± 1.27
F.S.T.	2.04 ± 1.07	1.46 ± 0.77	0.53 ± 0.31	7.26 ± 5.17

\*Mean ± S.D.

Table 9. Correlation of Ig A, Ig E, Ig M and Ig G containing cells and mast cells.

	M.C	Ig A	Ig E	Ig M	Ig G
M.C		0.80*	0.73	0.72	0.75
Ig A			0.65	0.64	0.76
Ig E				0.62	0.71
Ig M					0.71
Ig G					

\* correlation coefficient

#### IV. 총괄 및 고안

치근단 병소의 병인은 완전히 규명되지는 않았으나 치근단 병소에서 형질구, 림프구, 대식세포, 다형핵 백혈구, 비만세포, 다핵거대세포 및 포말 세포등이 침윤되며 이러한 염증세포의 침윤은 치아우식증이나 치주염을 통한 세균감염에 의해서 뿐만 아니라 항원성 이종단백이 작용할 때도 침윤되는 것으로서 치근단 병소의 발생에 단순한 염증반응 뿐 아니라 면역학적 기전이 관여한다는 것을 시사해준다<sup>1,50</sup>.

Stern 등<sup>56</sup>은 33 개의 치근단 육아종을 정량분석한 결과 관찰된 구성세포 중 염증세포가 49%였고 이 염증세포 중 대식세포가 47%, 림프구가 32%, 형질구가 13%, 중성구가 8%였다고 보고하였고 Stern 등은 다른 실험에서<sup>57</sup> 12 개의 치근단 육아종의 세포부유액으로 염증세포를 조사하여 림프구가 44%, 대식세포가 30%, 형질구가 15%, 중성구가 12%라고 보고하였다. 또한 Yu 등<sup>58</sup>은 백서의 치근단 병소에서 염증세포가 50%정도라고 보고하였고 모든 기간에 걸쳐 림프구가 가장 많았고(50-60%), 다형핵 백혈구가 다수이었으며(25-40%) 대식세포, 형질구, 아세포, 호산구는 소수였고 기간에 따른 염증세포의 수나 분포의 변화는 없었다고 보고하였다.

Block 등<sup>37-40</sup>은 근관충전재의 항원성에 관한 연구를 통하여 N<sub>2</sub>-paste, Procosol, Eugenol, Grossman sealer 및 Kerr sealer 등이 치수조직을 변성시켜 이 변성된 치수조직의 항원성이 치근단 병소를 야기시킬 수 있다고 보고했으며, Stuart 등<sup>59</sup>과 Campbell 등<sup>60</sup>은 Calcium hydroxide, Z.O.E., RC2B 및 Procosol 등을 사용하여 세포성 및 체액성 면역반응을

연구한 결과 경화상태의 근관치료용 시멘트들이 생체에 합텐으로 작용하여 특이성 자극을 유발한다고 보고하였다.

Torabinejad 등<sup>55</sup>은 사람의 치근단 병소에서 나타나는 여러 종류의 면역글로블린과 면역감응세포 (immunocompetent cell)의 존재로서 치근단 병소가 잠재성 항원의 해로운 작용을 막아내기 위한 방어기전으로 생긴다는 것을 시사하였다.

Genco 등<sup>61</sup>, Barns 등<sup>62</sup>과 Torabinejad 등<sup>55</sup>은 사람이나 동물의 실험에서 근관계(root canal system)가 잠재성 항원이 치근단 조직 내로 유입되는 통로가 된다는 것을 밝혔다. 이런 잠재성 항원의 유입은 치근단 조직에 비특이성 염증 반응은 물론 특이성 면역반응을 일으킬 수 있다.

본 실험에서는 Kakehashi 등<sup>32</sup>과 Yu 등<sup>58</sup>이 한 실험에서처럼 백서에서 치근단 병소를 유발시키는 연구방법을 사용하였으며 백서에서 치근단 병소는 치수노출과 구강환경으로부터의 감염에 의해 매우 효과적으로 유발되었다. Yu 등<sup>58</sup>에 의하면 치수노출을 시행한 후 15일 이전에는 염증세포의 수가 너무 적어 15일 이후의 표본만을 실험에 포함시켰고 방사선 상에서 크기를 측정 한 결과 15-30일 사이에는 별 변화가 없었으며 30-90일 사이에서는 60-70% 가량 급격히 증가하였다고 보고하였다. 본 실험에서도 기간이 경과할수록 병소의 크기가 증가하였고 Yu 등<sup>58</sup>의 실험과는 대조적으로 60일 이후에는 별 변화가 없었다.

Serota<sup>63</sup>에 의하면 백서에서 치수노출 후 15일까지는 78%가 방사선 상에서 치근단 투과성을 나타내며 조직학적으로 치수 노출 7일 후에는 치수의 괴사가 일어나고 염증반응이 치근단 조직으로 파급된다고 보고하였다. 본 실험에서는 광학현미경으로 판독이 가능한 51개 표본 중 50개에서 치근단병소가 발생하여 약 98%의 발생율을 보였으며 2군 중 1개의 표본에서는 dentin bridge가 형성되었고 치근단 병소가 발생되지 않은 것으로 보아 dentin bridge가 항원이 치근단으로 유입되는 것을 차단한 것으로 사료된다.

광학현미경 상에서 Planimeter로 병소의 면적을 측정한 결과 역시 기간이 경과됨에 따라 증가하였고 2군은 1군보다 94%가 증가하였으며 2, 3, 4군에서는 별 변화가 없이 안정적이었다. 위의 결과로 병소의 크기가 초기에 급격히 증가하고 30-60일

부터는 안정적이라는 것을 알 수 있었다.

Torabinejad 등<sup>55)</sup>은 13개의 치근단 병소 중 9개가 치근단 육아종이고 주로 림프구와 형질구가 침윤된 결체조직으로 구성되어 있으며 치근단 낭종은 상피조직으로 이장된 외동이 있고 림프구, 형질구와 같은 만성염증세포를 함유하는 결체조직으로 둘러싸여있다고 보고하였고 Lalonde 등<sup>56)</sup>은 사람의 800개 치근단 병소 중 43.8%인 350개가 치근단 낭종이었다고 보고하였고 Morse 등<sup>57)</sup>은 사람의 33개 치근단 병소 중에서 23개가 치근단 육아종, 8개가 치근단 낭종, 2개가 섬유성 반흔조직이라고 보고하였으며 Linenberg 등<sup>58)</sup>은 110개의 치근단 병소 중 28%가 치근단 낭종이었다고 보고하였다. 치근단 낭종의 상피층은 주로 말라세츠 상피잔사에서 기인되는데 먼저 존재했던 치근단 육아종이 염증성 자극을 받은 결과 증식된다. 본 실험에서는 치근단 육아종과 치근단 농양에서 모두 다형핵 백혈구나 대식세포등 급성 염증세포가 많았는데 이는 본 실험에서의 표본이 성숙된 치근단 병소가 아니고 초기 병소이기 때문이라고 사료되며 치수노출 상태가 지속됨에 따라 근관을 통한 치근단으로의 미생물의 지속적인 유입이 가능하고 이에 따른 화학주성에 의하여 다형핵 백혈구 및 대식세포가 지속적으로 침윤되는 것으로 사료된다.

본 실험에서 1군에서는 낭종이 발생되지 않았으나 2군부터 낭종이 발생하여 치근단 낭종의 발생에는 경과시간이 필요하다는 것을 알 수 있었으며 본 실험에서 상기의 여러 연구보고의 결과보다도 치근단 낭종의 비율이 더욱 낮은 이유는 본 실험의 실험 기간이 짧아 치근단 육아종에서 치근단 낭종으로 많이 전환되지 못한 것으로 사료된다. Table 3에서 1군에서는 15개의 치근단 병소 중 14개가 치근단 육아종이었고, 그 이후에는 치근단 육아종은 점점 감소하고 치근단 농양과 섬유성 반흔조직이 증가하였으며 이 중 섬유성 반흔조직은 염증세포가 감소하면서 섬유증식증이 일어나는 양상으로 보아 병소가 치유되어가는 과정으로 사료된다.

Pulver 등<sup>59)</sup>은 사람의 치근단 병소에서 Ig E 함유형질구의 존재를 밝혔으며 Farnoush 등<sup>60)</sup>은 많은 수의 비만세포가 치근단 낭종과 감염된 치수조직 내에 존재한다고 보고하였고, Perrini<sup>61)</sup>는 비만세포가 Ig E 분자에 대한 특별한 면역학적 수용기를 가지며 이는 즉시형 과민증을 매개하는데 중요하

다고 보고하였다.

Torabinejad 등<sup>31)</sup>은 28개의 치근단 병소를 PAP 염색한 후 20개 표본에서 Ig E를 확인하였으며 이는 곧 74%에서 Ig E가 존재하는 것으로서 사람의 치근단 병소에서 Ig E가 관여하는 반응이 존재한다는 것을 의미하고 항원-항체 복합체와 Ig E가 관여하는 즉시형 과민증 반응이 치근단 조직에 일차적 변화를 야기하고, 지연형 과민증이 치근단 병소의 진행과 지속에 관여한다고 주장하였다. 또한 즉시형 과민증을 유발시키는데 있어서 Ig E의 역할은 Karl 등<sup>62)</sup>과 Ishizaka 등<sup>63)</sup>에 의해 관찰되었다. 항원이 치근단조직으로 들어가면 대식세포가 T-helper 림프구에 항원정보를 전달하고<sup>13, 31, 64)</sup>, 이는 차례로 Ig E 특이 B-림프구 전구체를 Ig E 분비형질구로 분화하게 하며<sup>65)</sup>, 이 세포에서 생성된 Ig E는 비만세포의 표면에 있는 수용기에 대해 높은 친화성을 갖고 있기 때문에 Ig E의 반응은 전적으로 비만세포와 같은 작동세포의 작용이다. 또한 Pulver 등<sup>1)</sup>은 온전한 비만세포와 탈과립이 일어난 비만세포가 Ig E 함유세포 가까이에서 발견된다고 보고했다.

비만세포가 탈과립되었다는 것은 세포의 형태학적인 변화와 표면으로부터 무정형의 과립이 방출되는 것으로 알 수 있는데 비만세포의 표면에 있는 인접한 Ig E 분자를 항원이 연결했을 때 신호가 세포막을 가로질러 보내지고 저장되었던 중개화학물이 갑자기 방출되어 이루어진다<sup>66, 67)</sup>. 비만세포에서 분비되는 중개화학물은 histamine, prostaglandin, 호산구 화학주성 인자, 고분자량의 호중구 화학주성 인자, 하계만 인자를 활성화할 수 있는 혈소판활성화 인자등이다<sup>59, 66, 67)</sup>. 본 실험에서는 기간이 경과함에 따라 비만세포의 수가 대체로 줄어들었으며 치근단 육아종에서 가장 수가 많았고 치근단 낭종에서 가장 적었다. 이로써 비만세포가 병소의 발생 초기에 활발히 작용한다고 사료된다.

임상적인 증세와 혈청 면역글로불린 수준을 연관시키려는 시도가 있었는데 몇몇 항균면역글로불린 수준과 치주질환 사이에 통계학적으로 유의성이 있음이 밝혀졌다<sup>57, 70, 71)</sup>. 또한 Kettering<sup>72)</sup>은 1개 이상의 치근단 병소를 갖는 30명의 환자에서 10ml의 혈액을 채취하여 방사면역 측정법에 의해 순환 Ig E의 농도를 측정하여 정상 대조군과 유의성있는 차이가 없다고 보고하였고 Torabinejad 등<sup>73)</sup>도 치근



단 병소가 있는 30명의 환자의 혈청 내에서의 순환면역복합체와 C<sub>3</sub> 보체의 농도를 측정한 결과 정상인과 통계학적으로 유의성이 없었다고 보고하였으나 Nevins 등<sup>76)</sup>은 방사선 상에서 치근단 투과성을 갖는 무증상의 무수치를 갖는 20명의 환자를 방사면역 측정법을 시행하여 혈청 Ig E를 측정하여 정상 대조군과 차이를 보고하였다. 또한 Svetcov 등<sup>80)</sup>은 endodontic flare-up 환자 9명의 혈청 Ig G, Ig M, Ig A, Ig E 수준을 조사한 결과 다른 면역글로불린은 정상범위 내에 있고 Ig E 수준만 높아졌다고 보고하였고 Kettering 등<sup>78)</sup>은 급성 치근단 농양을 갖는 환자의 혈청 내의 면역복합체, Ig G, Ig M, Ig E, C<sub>3</sub>의 농도를 측정하여 정상대조군과 유의성 있는 차이가 있다고 보고하였다. 이상 여러 실험의 결과를 종합하면 Ig E가 endodontic flare-up의 발생에 관여하는 것이 아닌가 사료된다.

면역조직화학적 방법의 한 종류인 면역과산화효소법은 면역형광법보다 장점이 많아, 값이 저렴한 광학 현미경을 사용할 수 있으며, 시약의 저장 수명이 길고 전자현미경 관찰에도 적용되어 정밀한 미세구조적 면역조직화학연구 분야에 새 장을 열었다<sup>76,77)</sup>. 이 방법의 한 변형방법이 Avidin-biotin horseradish peroxidase의 사용이다. glycoprotein의 한 종류인 avidine은 vitamin의 한 종류인 biotin에 친화성이 매우 높아 항원에 대한 항체의 친화성보다도 백만배 이상이어서 일단 avidin-biotin 복합체가 형성되면 비가역적이 된다. 이런 높은 친화성 외에도, avidin이 4개의 결합부위를 갖고 있어 여러 분자의 biotin과 결합될 수 있는 장점이 있다. 이런 점들 때문에 avidin과 biotin 표지효소 사이에 대분자 복합체가 형성될 가능성이 매우 높은 특성을 이용한 방법이 Avidin-Biotin Complex 방법이다<sup>12,78)</sup>. 이는 three-stage technique으로 비표지 1차항체, biotin 표지 2차항체와 미리 형성시킨 Avidin-Biotinylated horseradish peroxidase macromolecular complex로 구성되어 있고 biotin 표지 2차항체는 비표지 1차항체와 Avidin-Biotin Complex를 연결시켜 주는 시약이며 직접적으로 결합된 효소표지 2차항체와 달리 면역글로불린 분자와 같은 크기이기 때문에 조직을 더욱 용이하게 침투하며 3차 시약인 ABC에 대한 결합 부위가 많아 결과적으로 과산화 효소반응이 매우 증폭된다. 이런 장점 때문에 Avidin-Biotin 복합체를 사용하여 염색하면

정확한 결과를 얻을 수 있을 것으로 사료되어 본 실험에서는 이 방법을 사용하였다.

면역반응은 어떤 경우에는 보호보다는 오히려 조직에 손상을 일으키고 때로는 치명적인 결과를 가져오는데 이런 면역반응은 여러가지 방법으로 분류될 수 있는 바 주로 Gell과 Coombs<sup>79)</sup>의 분류 방법이 사용되며 Type I은 즉시형 과민증, Type II는 세포독성 반응, Type III는 항원-항체 복합체 반응, Type IV는 지연형 과민증이고 많은 연구의 결과로 치근단 병소의 발생에 4종류의 면역반응이 모두 관여하는 것으로 추측되고 있다.

Type I 반응은 Ig E가 비만세포의 표면에 부착되었을 때 발생하는 즉시형 과민증이며 본 실험에서도 Ig E와 비만세포의 존재가 확인되어 치근단 병소의 발생에 Type I 반응이 관여한다고 추측되며 Type II는 세포독성 반응으로서 Ig G나 Ig M이 세포막에 있는 항원결정기에 결합할 때 발생하고<sup>80)</sup> 치근단 조직에 손상을 일으키며 치근단 병소에서 다핵핵 백혈구와 대식세포같은 살해세포<sup>81)</sup>와 Ig G, Ig M 및 보체<sup>22,23)</sup>의 존재로 Type II 반응이 일어나는 것을 알 수 있으며 본 실험에서도 Ig G와 Ig M의 존재로 이 반응이 일어난 것으로 추측된다.

Type III는 항원-항체 복합체 반응으로서 Ig G가 주로 관여하며 항원과 항체 사이에 복합체가 형성되며 치근단 병소에서 심한 염증을 일으키고 다핵핵 백혈구를 치수 내로 화학주성 견인(chemotactic attraction)하며 혈전증(thrombosis)과 노장(engorgement)을 일으켜 농양형성을 야기하고 이는 Ig G와 항원-항체 복합체가 발견되는 것으로 알 수 있으며<sup>71,73,75)</sup>, 본 실험에서도 역시 Ig G의 존재로 이 반응이 치근단 병소에 관여함을 추측할 수 있었고, Type IV인 지연형 과민증 반응은 직접적인 세포독성과 lymphokine의 방출이 각각 혹은 함께 작용하여 일어나는 것으로서 치근단 병소에서 T 세포<sup>8,15)</sup>와 대식세포가 많이 발견되는 것으로부터 이러한 반응이 치근단 병소 발생에서 일어나는 것을 추측할 수 있다.

Pulver 등<sup>11)</sup>은 치근단 육아종에서 면역글로불린 함유세포 중 Ig G가 70%로 가장 많이 나타나고 Ig A가 14%, Ig E가 10%, Ig M이 4%로 가장 적게 나타난다고 보고하였으며 Yanakisawa<sup>21)</sup>는 치근단 육아종의 육아조직 층에서 면역글로불린이

많이 존재하며 Ig G, Ig A, Ig M, Ig E 순이었다고 보고하여 Ig M과 Ig E 분포에 대해 서로 상반된 결과를 발표하였다. 본 실험에서는 치근단 육아종의 면역글로불린의 분포는 Yanakisawa<sup>21)</sup>의 결과와 일치하였다. 또 Stern 등<sup>30)</sup>은 치근단 낭종과 육아종 등 전체 치근단 병소에서 면역글로불린 함유세포를 정량분석하여 전체 염증세포의 19%를 포함하는 림프계 세포(lymphoid cell)의 42%가 면역글로불린을 함유하고 림프구의 대부분(81%)은 면역글로불린 생산과는 관계가 없으며 Ig G가 74%, Ig A가 20%, Ig E가 4%, Ig M이 2%라고 보고하여 본 실험과는 면역글로불린 함유세포의 분포순서가 유사하였다.

본 실험에서는 치근단 육아종에서 모든 종류의 면역글로불린 함유세포의 수가 가장 높았으며 이는 치근단 병소에서 Ig G의 수준을 검사하여 다른 종류의 치근단 병소에서보다 치근단 육아종에서 Ig G의 수준이 높았다고 발표한 Greening 등<sup>32)</sup>의 실험과 일치하였다. Pulver 등<sup>1)</sup>과 Toller 등<sup>24)</sup>은 Ig A 함유세포가 치근단 육아종보다 치근단 낭종에서 높았다고 보고하였고 Stern 등<sup>30)</sup>은 치근단 낭종과 치근단 육아종에서 면역글로불린 함유세포의 분포가 동일하게 Ig G, Ig A, Ig E, Ig M 순이었으며 치근단 육아종과 치근단 낭종에서 면역글로불린 함유세포의 수에 통계적으로 유의성있는 차이가 없었다고 보고하였고 본 실험에서는 치근단 육아종에 비해 치근단 낭종에서 모든 면역글로불린 함유세포의 수가 매우 적었다. 이 이유는 본 실험에서는 백서의 낭종을 관찰하였고 치근단 낭종의 수가 너무 적어 정확한 분석을 하기 어려웠으며 모두 초기 형태를 나타내어 성숙된 치근단 낭종과는 다른 양상을 띄는 것이 아닌가 사료된다. 또한 기간에 따른 면역글로불린 함유세포의 분포에 관한 관찰에서는 Ig G, Ig A, Ig M 함유세포는 모두 기간이 경과할수록 수가 줄었고 Ig E 함유세포만은 2군에서 1군보다 수가 많았으나 통계학적으로 유의할 만한 차이는 없었다.

또한 본 실험에서는 Ig E 함유세포가 다른 병소에서와는 달리 급성 염증세포가 많이 침윤되어 있었던 치근단 농양에서 Ig A 함유세포보다 수가 더욱 많았으나 통계학적으로 유의할 만한 차이는 없었고 본 실험에서 실험동물의 혈액을 채취하여 혈청 내의 면역글로불린의 농도도 함께 관찰하였

다면 더욱 유의할 만한 결과가 나왔으리라 사료된다.

비만세포, Ig A, Ig E, Ig M, Ig A, Ig G 함유세포 간의 각각의 상관관계를 조사하여 상관계수(correlation coefficient)가 모두 0.6 이상으로 나타났다. 상관계수가 0.4면 서로 상관관계가 있으며 0.6이면 매우 밀접한 관계가 있다고 보므로 이처럼 각각의 세포들이 매우 높은 상관관계를 나타내는 것으로 미루어 보아 항원이 치근관계를 통해 유입되었을 때 항원에 대한 면역반응이 총체적으로 활성화되어 이 반응에 관계하는 모든 요소가 함께 증가하는 것으로 사료된다. 또한 비만세포와 Ig E 함유세포 사이에서만 상관관계가 높은 것이 아니라 비만세포와 다른 면역글로불린 함유세포 사이에서도 상관관계가 높게 나타났다. 즉 치수노출 후 초기에는 면역반응과 염증반응이 활발히 일어나 비만세포와 모든 종류의 면역글로불린 함유세포를 포함하는 염증세포의 수가 많고 병소의 크기도 급격히 증가하며 시간이 경과할수록 섬유증식증 등 치유과정이 일어나는 예가 증가하면서 전체적으로 비만세포와 면역글로불린 함유세포를 포함하는 염증세포 수가 줄어들며 병소의 크기도 안정적으로 되는 것으로 사료된다. 또한 본 실험에서 3일간 7일만에 희생시킨 표본을 포함시켰다면 초기 병소의 발생과 진행과정에 있어서의 비만세포와 면역글로불린 함유세포의 작용을 더욱 명확히 알 수 있었으리라 생각되며 앞으로 비만세포와 Ig E 외의 다른 면역글로불린과의 관계에 대한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

이상의 연구로써 면역학적 기전이 치근단 병소의 발생 및 지속에 관여하는 것으로 생각되므로 앞으로 치근단 병소에 대한 면역학적 기전에 관하여 더 많은 연구가 필요할 것으로 사료된다.

## V. 결 론

백서에서 치근단 병소를 실험적으로 유발시켰을 때 발생하는 각종 치근단 병소와 치근단 병소의 발생기간에 따른 면역글로불린 함유세포와 비만세포의 분포를 관찰하기 위하여 백서 40마리의 하악 좌우 제1대구치 80개에 치수 노출을 시켜 치근단 병소를 유발시킨 후 광학현미경으로 조직병리학적 소견을 관찰하였고 Avidin - Biotin horseradish pero-

roxidase 방법을 사용하여 면역조직화학적 소견을 관찰하였으며 toluidin blue 로 염색하여 비만세포의 동정을 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 실험군에서 방사선 상으로 80 개 치아에서 모두 치근단 병소를 확인할 수 있었고(100%), 광학 현미경 상에서는 51 개 표본 중 50 개 표본에서 치근단 병소가 발생하였다(98%). 그리고 이들 병소의 크기는 방사선 상으로나 현미경 상에서 모두 기간이 경과할수록 증가하였다( $p < 0.05$ ).
2. 50 개의 치근단 병소 중에서 치근단 농양이 19 개 (38%)로 가장 많았으며, 치근단 육아종이 18 개 (36%), 섬유성 반흔조직이 10개(20%), 치근단 낭종이 3개(6%)의 순이었다.
3. 치수 노출 초기에는 치근단 육아종이 많이 생성되었고 기간이 경과할수록 치근단 농양과 섬유성 반흔조직이 증가하였다.
4. 50 개의 치근단 병소에서 면역글로불린 함유세포의 수는 Ig G(57.2%)가 가장 많았으며 Ig A (16.4%), Ig E(14.7%), Ig M(11.8%) 순이었고, 치근단 육아종에서 비만세포와 모든 종류의 면역글로불린 함유세포의 수가 가장 많았으며, 치근단 낭종에서 가장 수가 적었다( $p < 0.05$ ).
5. 비만세포와 면역글로불린 함유세포는 치수 노출 후 기간이 경과함에 따라 대체로 수가 감소하였고, 비만세포, Ig A, Ig E, Ig M 및 Ig G 함유세포의 수는 서로 매우 높은 상관관계가 있었다( $> 0.6$ ).

#### 참고문헌

1. Pulver, W.H., Taubman, M.A. & Smith, D.J. : Immune components in human dental periapical lesions. Arch. Oral Biol. 23 : 435 - 443, 1978.
2. Lalonde, E.R. & Luebke, R.G. : The frequency and distribution of periapical cysts and granulomas. Oral Surg. 25 : 861 - 868, 1968.
3. Torabinejad, M. & Bakland, L.K. : Immunopathogenesis of chronic periapical lesions. Oral Surg. 46 : 685 - 699, 1978.
4. Nishida, O., Okada, H., Kawagoe, K., Tolunage, A., Tanihata, H., Aono, M. & Yokomizo, I. : Investigation of homologous antibodies to an extract of rabbit dental pulp. Arch. Oral Biol. 16 : 739 - 749, 1971.
5. Longwill, D.G., Marshall, F.J. & Creamer, H.R. : Reactivity of human lymphocytes to pulp antigens. J. Endod. 8 : 27 - 32, 1982.
6. Stabholz, A. & McArthur, W.P. : Cellular immune response of patients with periapical pathosis to necrotic dental pulp antigens determined by release of LIF. J. Endod. 4 : 282 - 287, 1978.
7. Skaug, N., Johannessen, A.C., Nilsen, R. & Matre, R. : In situ characterization of cell infiltrates in human dental periapical granulomas 3. Demonstration of T lymphocytes. J. Oral Path. 13 : 120 - 127, 1984.
8. Cymerman, J.J., Cymerman, D.H., Walters, J. & Nevins, A.J. : Human T lymphocyte subpopulations in chronic periapical lesions. J. Endod. 10 : 9 - 11, 1984.
9. Moretta, L., Webb, S.R., Grossi, C.E., Lydyard, P.M. & Cooper, M.D. : Functional analysis of two human T cell subpopulations; Help and suppression of B cell responses by T cells bearing receptors for Ig M or Ig G. J. Exp. Med. 146 : 184 - 200, 1977.
10. Köhler, G. & Milstein, C. : Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. Nature 256 : 495 - 497, 1975.
11. Warnke, R. & Levy, R. : Detection of T and B cell antigens with hybridoma monoclonal antibodies : a avidin - biotin - horseradish peroxidase method. J. Histochem. Cytochem. 28 : 771 - 776, 1980.
12. Hsu, S.M., Raine, L. & Fanger, H. : Use of avidin - biotin peroxidase complex(ABC) in immunoperoxidase techniques ; a comparison between ABC and unlabeled antibody(PAP) procedures. J. Histochem. Cytochem. 29 : 1349 - 1353, 1981.
13. Block, R.M., Lewis, R.D., Sheats, J.B. & Burke, S.H. : Antibody formation to dog pulp tissue altered by N2-type paste within the root canal. J. Endod. 3 : 309 - 315, 1977.
14. Skaug, N., Nilsen, R., Matre, R., Bernhoft, C. & Johannessen, A.C. : In situ characterization of

- cell infiltrates in human dental periapical granulomas. I. Demonstration of receptors for the Fc region of Ig G. *J. Oral Path.* 11 : 47 - 57, 1982.
15. Torabinejad, M. & Kettering, J.D. : Identification and relative concentration of B and T lymphocytes in human chronic periapical lesions. *J. Endod.* 11 : 122 - 125, 1985.
  16. 오태석 : 근관치료전과 후의 치근단병소에서 림프구의 분포에 관한 면역조직화학적 연구. *J. KAOD*, 11 : 63 - 75, 1985.
  17. Morse, D.R. : Immunologic aspects of pulpal - periapical disease. *Oral Surg.* 43 : 436 - 451, 1977.
  18. Jasin, H.E. & Ziff, M. : Immunoglobulin and specific antibody synthesis in a chronic inflammatory focus : antigen - induced synovitis. *J. Immunol.* 102 : 355 - 369, 1969.
  19. 조효선 : 치근단 병소의 면역병리조직학적 연구. *J. KAOD*. 8 : 19 - 30, 1982.
  20. Pulver, W.H., Taubman, M.A & Smith, D.J. : Immune components in normal and inflamed dental pulp. *Arch. Oral Biol.* 22 : 103 - 111, 1977.
  21. Yanagisawa, S. : Pathologic study of periapical lesions I. Periapical granuloma ; clinical, histopathologic and immunohistopathologic studies. *J. Oral Path.* 9 : 283 - 300, 1980.
  22. Kuntz, D.D., Genco, R.J., Guttuso, J. & Natiella, J.R. : Localization of immunoglobulins and the third component of complement in dental periapical lesions. *J. Endod.* 3 : 68 - 73, 1977.
  23. Morse, D.R., Lasater, D.R., & White, D. : Presence of immunoglobulin - producing cells in periapical lesions. *J. Endod.* 1 : 338 - 343, 1975.
  24. Toller, P.A. & Holborow, E.J. : Immunoglobulins and Immunoglobulin - containing cells in cysts of the jaws. *Lancet.* 2 : 178 - 181, 1969.
  25. Naidorf, I.J. : Immunoglobulins in the periapical granuloma ; a preliminary report. *J. Endod.* 1 : 15 - 18, 1975.
  26. Morton, T.H., Clagett, J.A. Yavorsky, D.J. : Role of immune complexes in human periapical periodontitis. *J. Endod.* 3 : 261 - 8, 1977.
  27. Skaug, N., Johannessen, A.C., Møtø, R. & Nilssen, R. : In situ characterization of cell infiltrates in human dental periapical granulomas 2. Demonstration of receptors for the complement components C3b and C3d. *J. Oral Path.* 13 : 111 - 119, 1984.
  28. Jones, O.J. & Lally, E.T. : Biosynthesis of immunoglobulin isotypes in human periapical lesion. *J. Endod.* 6 : 672 - 677, 1980.
  29. Honjo, H., Tsubakimoto, K., Utsumi, N. & Tsutsui, M. : Localization of plasma proteins in the human dental pulp. *J. Dent. Res.* 49 : 888, 1970.
  30. Stern, M.H., Driezen, S., Mackler, B.F. & Levy, B.M. : Antibody - producing cells in human periapical granulomas and cysts. *J. Endod.* 7 : 447 - 452, 1981.
  31. Torabinejad, M., Kettering, J.D. & Bakland, L.K. : Localization of Ig E immunoglobulin in human dental periapical lesions by the peroxidase - antiperoxidase method. *Arch. Oral Biol.* 26 : 677 - 681, 1981.
  32. Kakehashi, S., Stanley, H.R. & Fitzgerald, R.J. : The effect of surgical exposure of dental pulps in germ - free and conventional laboratory rats. *Oral Surg.* 20 : 340 - 9, 1965.
  33. Rosengren, L. & Winblad, B. : Periapical destruction caused by experimental pulpal inoculation of *Streptococcus mutans* in rats. *Oral Surg.* 39 : 479 - 487, 1975.
  34. Sundqvist, G. : Bacterial Studies of necrotic pulp. Umea University Odontological Kisseration No 7. Umea, Sweden University of Umea, 1976.
  35. Okada, H., Aono, M., Yoshida, M., Munemoto, K., Nishida, O., & Yokomizo, I. : Experimental study on focal infection in rabbits by prolonged sensitization through dental pulp canals. *Arch. Oral Biol.* 12 : 1017 - 1034, 1967.
  36. Tarabinejad, M. & Kiger, R.D. : Experimentally induced alterations in periapical tissues of the cat. *J. Dent. Res.* 59 : 87 - 96, 1980.
  37. Block, R.M., Lewis, R.D., Sheats, J.B., Burke, S.H. & Fawley, J. : Antibody formation and cell - mediated immunity to dog pulp tissue altered by eight endodontic sealers via the root canal. *Inter. Endod. J.* 15 : 105 - 113, 1982.

38. Block, R.M., Lewis, R.D., Sheats, J.B. & Burke, S.H. : Antibody formation to dog pulp tissue altered by Grossman's formula sealer via root canal. *Oral Surg.* 47 : 179 - 184, 1979.
39. Block, R.M., Lewis, R.D., Sheats, J.B. & Fawley, J. : Cell - mediated immune response to dog pulp tissue altered by Grossman's formula sealer via the root canal. *Oral Surg.* 47 : 372 - 377, 1979.
40. Block, R.M., Lewis, R.D., Sheats, J.B. & Fawley, J. : Cell - mediated immune response to dog pulp tissue altered by Kerr (Rickert's) sealer via the root canal. *J. Endod.* 4 : 110 - 116, 1978.
41. Block, R.M., Lewis, R.D., Sheats, J.B. & Burke, S.H. : Antibody formation to dog pulp tissue altered by Eugenol within the root canal. *J. Endod.* 4 : 53 - 59, 1978.
42. Block, R.M., Lewis, R.D., Sheats, J.B. & Burke, S.H. : Antibody formation to dog pulp tissue altered by Procosol via the root canal. *J. Endod.* 4 : 178 - 183, 1978.
43. Torabinejad, M. & Luben, R.A. : Presence of osteoclast activating factor in human periapical lesions. (Abstract) *J. Endod.* 11 : 145, 1985.
44. Torabinejad, M., Clagett, J. & Engel, D. : A cat model for evaluation of mechanism of bone resorption ; induction of bone loss by simulated immune complexes and inhibition by indomethacin. *Calcif. Tissue Int.* 29 : 207 - 14, 1979.
45. Torabinejad, M. & Bakland, L.K. : Prostaglandins ; their possible role in the pathogenesis of pulpal and periapical disease, Part 1. *J. Endod.* 6 : 733 - 9, 1980.
46. Harvey, W., Chen, F.G., Gordon, D., Meghji, S., Evans, A. & Harris, M. : Evidence for fibroblasts as the major source of prostacyclin and prostaglandin synthesis in dental cyst in man. *Arch. Oral Biol.* 29 : 223 - 229, 1984.
47. Morse, D.R. et al : Endodontic flare - ups ; the tape. *J. Endod.* 14 : 106 - 108, 1988.
48. Naidorf, I.J. : Endodontic flare - ups ; bacteriological and immunological mechanisms. *J. Endod.* 11 : 462 - 464, 1985.
49. Seltzer, S. & Naidorf, I.J. : Flare - ups in endodontics ; 1. Etiological factors. *J. Endod.* 11 : 472 - 478, 1985.
50. Svetcov, S.D., DeAngelo, J.E., McNamara, T. & Nevins, A.J. : Serum immunoglobulin levels and bacterial flora in subjects with acute oro - facial swellings. *J. Endod.* 9 : 233 - 5, 1983.
51. Farnoush, A. : Mast cells in Human Dental pulp. *J. Endod.* 10 : 250 - 252, 1984.
52. Mathiesen, A. : Preservation and demonstration of mast cells in human apical granulomas and radicular cysts. *Scand. J. dent. Res.* 81 : 218 - 229, 1973.
53. Zachrisson, B.U. : Mast cells in human dental pulp. *Arch. Oral Biol.* 16 : 555 - 556, 1971.
54. Sullivan A.L., Grimley, P.M. & Metzger, H. : Electron microscopic localization of immunoglobulin E on the surface membrane of human basophils. *J. Exp. Med.* 134 : 1403 - 1416, 1971.
55. Torabinejad, M., Eby, W.C. & Naidorf, I.J. : Inflammatory and immunological aspects of the pathogenesis of human periapical lesions. *J. Endod.* 11 : 479 - 488, 1985.
56. Stern, M.H., Dreizen, S., Mackler, B.F., Selbst, A.G. & Levy, B.M. : Quantitative analysis of cellular composition of human periapical granuloma. *J. Endod.* 7 : 117 - 122, 1981.
57. Stern, M.H., Dreizen, S., Mackler, B.F. & Levy, B.M. : Isolation and characterization of inflammatory cells from the periapical granuloma. *J. Dent. Res.* 61 : 1408 - 1412, 1982.
58. Yu, S.M. & Stashenko, P. : Identification of inflammatory cells in developing rat periapical lesions. *J. Endod.* 13 : 535 - 540, 1987.
59. Stuart, W.W., Crowley, L.V., Turner, D.W., Pelleu, G.B. & Osetek, E.M. : Humoral response to endodontic cements. *J. Endod.* 5 : 214 - 217, 1979.
60. Campbell, A.D., Gear, R.D., Turner, D.W., Cunningham, C.J. & Bell, W.C. : Cell - mediated response to endodontic cements. *J. Endod.* 4 : 147 - 150, 1978.
61. Genco, R.J. & Slots, J. : Host responses in periodontal disease. *J. Dent. Res.* 63 : 441 - 451, 1984.
62. Barnes, G.W. & Langeland, K. : Antibody forma-

- tion in primates following introduction of antigens into the root canal. *J. Dent. Res.* 45 : 1111-4, 1966.
63. Serota, K.S. : Detection of periapical lesions in rats using radiopharmaceuticals. Boston, MA : Harvard school of Dental Medicine, 1981.
  64. Linenberg, W.B., Waldron, C.A. & De Laune, G.F. : A clinical, roentgenographic and histopathologic evaluation of periapical lesions. *Oral Surg.* 17 : 467 - 472, 1964.
  65. Perrini, N. & Fonzi, L. : Mast cells in human periapical lesions ; ultrastructural aspects & their possible physiopathological implication. *J. Endod.* 11 : 197 - 202, 1985.
  66. Karl, E., Becker, K.E., Metzger, H., Ishizaka, K. & Grimley, P.H. : Surface Ig E on human basophils during histamine release. *J. Exp. Med.* 138 : 394 - 409, 1973.
  67. Ishizaka, T., Ishizaka, K., Gunnar, S., Johansson, O. & Bennich, H. : Histamine release from human leukocytes by anti -  $\gamma$ E antibodies. *J. Immunol.* 102 : 884 - 892, 1969.
  68. Katz D.H. : Control of Ig E antibody production by suppressor substances. *J. Allergy Clin. Immunol.* 62 : 44 - 55, 1978.
  69. Chiorazzi, N., Fox, D.A. & Katz, D.H. : Hapten-specific Ig E antibody responses in mice VII. Conversion of Ig E "non-responder" strains to Ig E "responders" by elimination of suppressor T cell activity. *J. Immunol.* 118 : 48 - 54, 1977.
  70. Douglas, S.D. & Stobo, J.D. : Development and structure of cell in the immune system and cellular interaction in the expression and regulation of immunity. In : Stites, D.R., Stobo, J.D., Fudenberg, H.H., Wells, J.V. *Basic and clinical immunology.* 4th ed. Los Altos, CA : Lange Medical publication, 74 - 96, 1982.
  71. Beverley, P.L. & Callard, R.E. : Distinctive functional characteristics of human T lymphocytes defined by E rosetting or a monoclonal anti - T cell antibody. *Eur. J. Immunol.* 11 : 329 - 334, 1981.
  72. Kettering J.D. & Torabinejad, M. : Concentrations of Ig E in patients with chronic periapical lesions. *J. Endod.* 12 : 306 - 308, 1981.
  73. Torabinejad, M., Theofilopoulos, A.N., Kettering, J.D. & Bakland, L.K. : Quantitation of circulating immune complexes, immunoglobulins G and M, C<sub>3</sub> complement component in patients with large periapical lesions. *Oral Surg.* 55 : 186 - 190, 1983.
  74. Nevins, A.J., Levine, S., Faitlowicz - Gayer, Y. & Svetcov, S. : Sensitization via Ig E - mediated mechanism in patients with chronic periapical lesions. *J. Endod.* 11 : 228 - 230, 1985.
  75. Kettering, J.D. & Torabinejad, M. : Concentrations of immune complexes, Ig G, Ig M, Ig E, and C<sub>3</sub> in patients with acute apical abscesses. *J. Endod.* 10 : 417 - 421, 1984.
  76. Falini, B. & Taylor, C.R. : New developments in immunoperoxidase techniques and their application. *Arch. Path. Lab. Med.* 107 : 105 - 117, 1983.
  77. Taylor, C.R. : Immunoperoxidase techniques. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 102 : 113 - 121, 1978.
  78. Hsu, S.M., Raine, L. & Fanger, H. : A comparative study of the peroxidase - antiperoxidase method and an avidin - biotin complex method for studying polypeptide hormones with radioimmunoassay antibodies. *Am.J.Clin. Pathol.* 75 : 734 - 738, 1981.
  79. Gell, P.G.H. & Coombs, R.R.A. : Classification of allergic reactions responsible for clinical aspects of immunology. Oxford : Blackwell Scientific Publications. 761, 1975.
  80. Hokama, Y. & Nakamura, R.M. : Mechanisms of immunological injury. *Immunology and immunopathology. Basic concepts.* Boston : Little, Brown and Co., 329 - 68, 1982.
  81. Kettering, J.D. & Torabinejad, M. : Presence of natural killer cells in human chronic periapical lesions (Abstract) *J. Dent. Res.* 64 : 281, 1985.
  82. Greening, A.B. & Schonfeld, S.E. : Apical lesions contain elevated immunoglobulin G levels. *J. Endod.* 6 : 867 - 869, 1980.

## Explanation of Figures

- Fig. 2. Rat periapical granuloma stained by Hematoxylin - Eosin ( $\times 40$ )
- Fig. 3. Rat periapical granuloma stained by Hematoxylin - Eosin ( $\times 100$ )
- Fig. 4. Rat periapical abscess stained by Hematoxylin - Eosin ( $\times 40$ )
- Fig. 5. Rat periapical abscess stained by Hematoxylin - Eosin ( $\times 100$ )
- Fig. 6. Rat periapical cyst stained by Hematoxylin - Eosin ( $\times 40$ )
- Fig. 7. Rat periapical cyst stained by Hematoxylin - Eosin ( $\times 100$ )
- Fig. 8. Rat fibrous scar tissue stained by Hematoxylin - Eosin ( $\times 40$ )
- Fig. 9. Rat fibrous scar tissue stained by Hematoxylin - Eosin ( $\times 100$ )
- Fig.10. Toluidin blue staining of the mast cell in the rat periapical lesion ( $\times 40$ )
- Fig.11. Toluidin blue staining of the mast cell in the rat periapical lesion ( $\times 100$ )
- Fig.12. Avidin - Biotin horseradish peroxidase staining of Ig A in the rat periapical lesion ( $\times 100$ )
- Fig.13. Avidin - Biotin horseradish peroxidase staining of Ig A in the rat periapical lesion ( $\times 400$ )
- Fig.14. Avidin - Biotin horseradish peroxidase staining of Ig E in the rat periapical lesion ( $\times 100$ )
- Fig.15. Avidin - Biotin horseradish peroxidase staining of Ig E in the rat periapical lesion ( $\times 400$ )
- Fig.16. Avidin - Biotin horseradish peroxidase staining of Ig M in the rat periapical lesion ( $\times 100$ )
- Fig.17. Avidin - Biotin horseradish peroxidase staining of Ig M in the rat periapical lesion ( $\times 400$ )
- Fig.18. Avidin - Biotin horseradish peroxidase staining of Ig G in the rat periapical lesion ( $\times 100$ )
- Fig.19. Avidin - Biotin horseradish peroxidase staining of Ig G in the rat periapical lesion ( $\times 400$ )



Fig. 2.

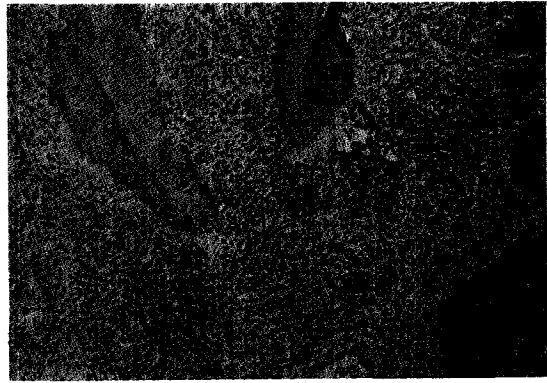


Fig. 3.



Fig. 4.

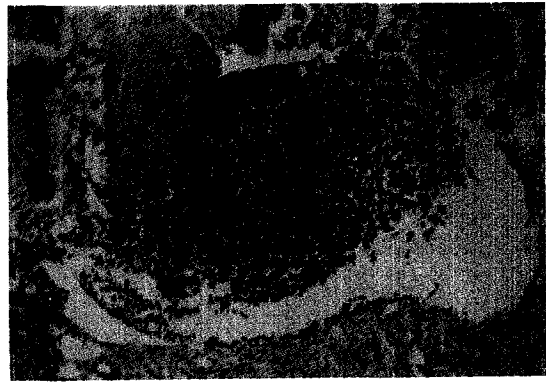


Fig. 5.



Fig. 6.

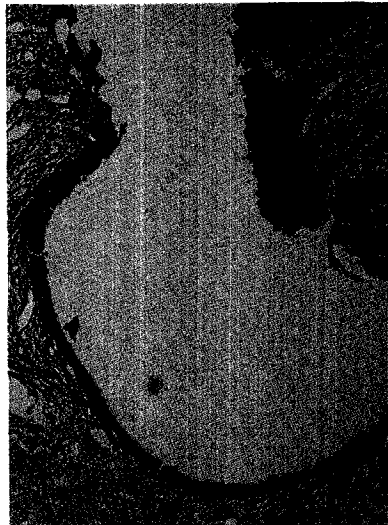


Fig. 7.





Fig. 8.



Fig. 9.

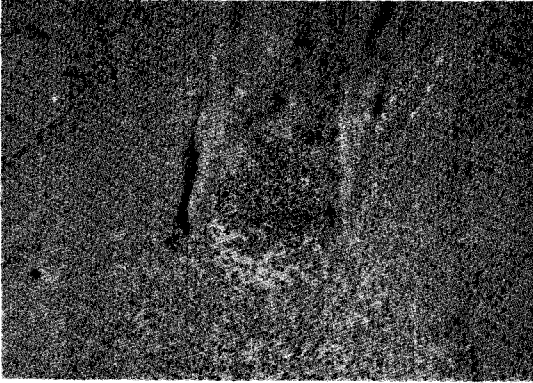


Fig.10.

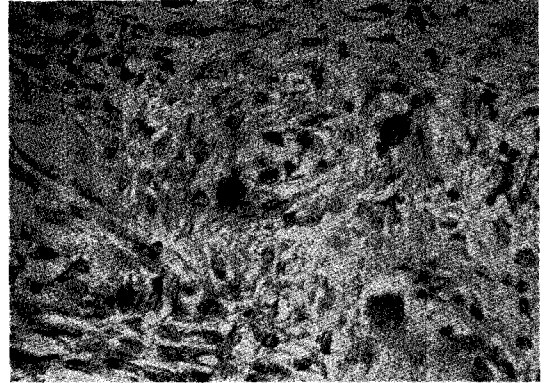


Fig.11.



Fig.12.

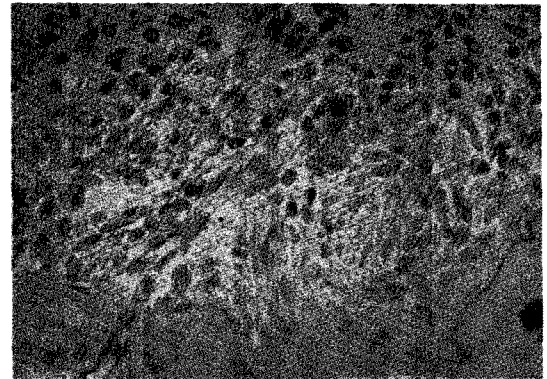


Fig.13.



Fig.14.

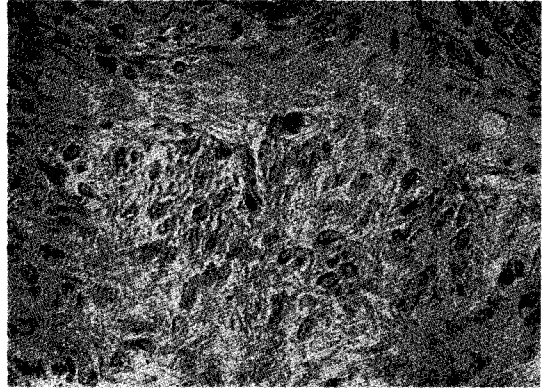


Fig.15.



Fig.16.

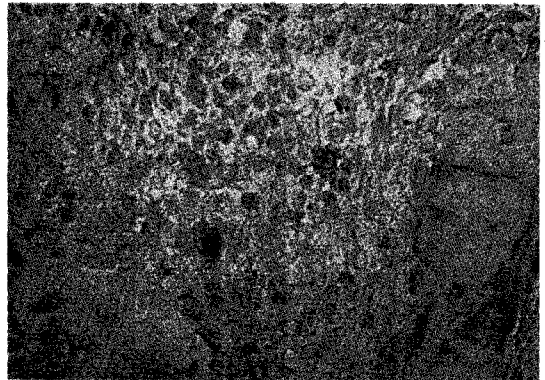


Fig.17.

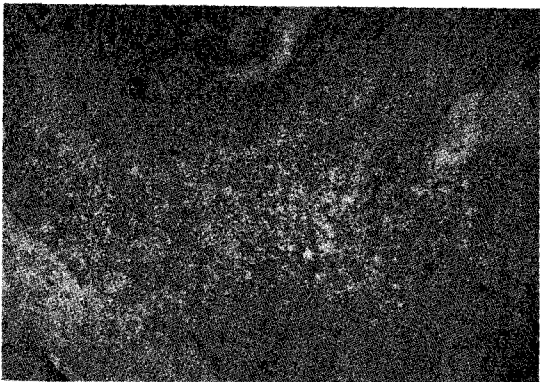


Fig.18.

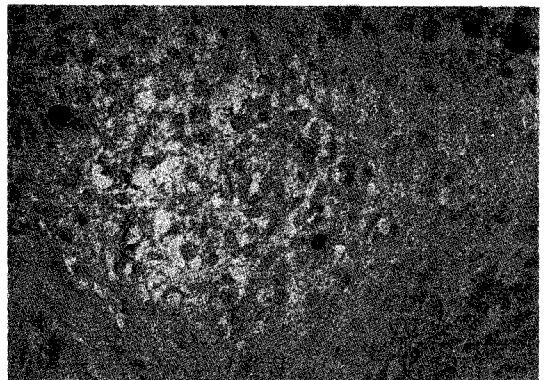


Fig.19.

## AN IMMUNOHISTOCHEMICAL STUDY ON THE IMMUNOGLOBULINS OF EXPERIMENTALLY INDUCED RAT PERIAPICAL LESIONS

Jung Sun Boo, D.D.S., M.S.D., Sung Sam Lim, D.D.S., M.S.D. Ph.D

*Dept. of Conservative Dentistry, College of Dentistry, Seoul National University*

This study was designed to elucidate the distribution of the immunoglobulins in the experimentally induced rat periapical lesions. The pulp exposure was performed in 80 molars from 40 rats and the animals were sacrificed at 15, 30, 60 and 90 days after the operation and examined and radiographed.

Of the 80 samples, 56 samples were routinely sectioned (4 - 6 $\mu$  in thickness) and stained with Hematoxylin - Eosin for the light microscopic examination and 50 samples were stained with toluidin blue for mast cells and 50 samples were stained using the Avidin - Biotin horseradish peroxidase for detecting the presence of Ig A, Ig E, Ig M and Ig G containing cells.

The following results were obtained :

1. The periapical lesions could be observed in all of 80 teeth by radiograph (100%) and the periapical lesions were detected in 50 samples of 51 samples by light microscopy (98%).

The size of lesions increased with time lapse both by radiograph and by light microscopy( $p < 0.05$ ).

2. Of the 50 samples, 19 samples were diagnosed as periapical abscesses, 18 as periapical granulomas, 10 as fibrous scar tissues and 3 cysts.
3. After pulp exposure, periapical granulomas were developed mostly in the 15 day group, with time lapse periapical abscesses and fibrous scar tissues increased.
4. In the 50 periapical lesions, the numbers of Ig G containing cell (57.2%) were prominent and the percentage of Ig A, Ig E and Ig M containing cells were 16.4%, 14.7% and 11.8% respectively. The numbers of all classes of immunoglobulin containing cell were highest in the periapical granulomas and lowest in the cysts( $p < 0.05$ ).
5. The number of the mast cell and immunoglobulin containing cells decreased generally with time lapse after the pulp exposure and Ig A, Ig E, Ig M and Ig G containing cells and mast cells had the high correlation one another( $> 0.6$ ).