

## 난치성 치주염의 질환진행 예견 인자에 관한 분석

서울대학교 치과대학 치주과학교실

이해준 · 최상묵 · 정종평

### I. 서 론

주기적인 치주치료를 받으면서 환자의 구강 위생상태도 좋은 데도 불구하고, 골흡수와 치주낭 형성이 진행되는 임상증례를 Hirschfeld (1978)<sup>1)</sup>등과 Mcfall(1982)<sup>2)</sup>등이 보고한 이후, 이러한 치주질환을 Page(1985) 등이 난치성 치주염으로 명명한 이래로 난치성 치주염이 통상적인 치주염과 어떻게 다른 지에 대한 연구가 계속되어 왔다.

동일한 치주전문의에게 적어도 5년이상 주기적인 관리를 받는 데도, 계속적인 치주조직의 파괴가 치근단 방향으로 일어나고, 방사선 사진상으로도 처음 내원시와 비교했을 때 계속적인 골흡수의 증거가 있으며, 모든 방법의 치주치료를 시행하였는 데도 치주조직의 파괴가 계속되며, 치은 지수는 낮은 편이고, 약간의 치석의 침착이 있는 경우를 난치성 치주염이라고 하였다<sup>20)</sup>. 그러나, 이러한 정의는 명확히 구별할 수 있는 지표가 없는 고로, 난치성 치주염은 용어의 의미상 논쟁의 소지가 많았다.

김(1990)<sup>7)</sup>등은 난치성 치주염과 급속 진행성 치주염을 미생물학적 및 면역학적으로 비교 연구한 결과, 난치성 치주염의 실체는 급속 진행성 치주염과 같은 심한 치주질환의 치료 후 이행된 형태의 치주염이라 하였다.

난치성 치주염의 미생물학적 및 면역학적 연구를 보면 Slots(1988)<sup>3)</sup>등은 *P.gingivalis*, *P.intermedia*, *A.actinomycetemcomitans*가 난치성 치주염의 원인균이라고 주장하였고, Oshrain(1986)<sup>4)</sup>등은 난치성 치주염 환자의 치주낭내 백혈구의 화학주성에 이상이 있다고 보고하였으며, Haffajee(1988)<sup>5)</sup>등은 난치성 치주염의 미생물학적 및 면역학적인 연구를 시행하여 난치성 치주염의 주요 세균 조합으로 ① *B.forsythus*, *F.nucleatum*, *C.rectus* ② *S.intermedius*, *E.corrodens*, *P.gingivalis*, *P.micros* ③ *S.intermedius*, *F.nucleatum* 등을 보고하였으며, *P.intermedia*, *F.nucleatum* 등에 대한 항체역가가 높게 나타났다고 하였다.

Van Dyke(1988)<sup>6)</sup>등은 난치성 치주염 환자의 호중구의 화학주성이 증가하였으나, 다른 기능은 정상이었으며, *P.gingivalis*와 *B.zoog- leoformans*가 80%이고, 나머지 균주들은 *F.nucleatum*과 *Haemophilus arophillus*라고 보고하였다.

난치성 치주염의 재발요인으로는 부적절한 환자의 선정, 해부학적 제한성 및 외과적 기술 부족등에 의한 불완전한 치주치료나 치료후의 관리소홀, 원인균의 불완전 제거등에 기인한 환경요인, 숙주방어기전의 부족에 기인한 숙주요인, 강한 세균독성에 기인한 병원체요인등을

이 연구는 1992년도 서울대학교 병원 지정연구비의 지원에 의한 결과임.

들 수 있다<sup>5)</sup>. 이들 중에서 숙주요인으로는 Cytokine을 분석함으로써, 병원체요인으로는 미생물검사를 함으로써 난치성 치주염의 예견인자로서의 가치를 평가하였다.

치주염의 예견인자로는 부착상실도, 치조골 파괴도, 치은연하세균의 형태학적 분석, 미생물학적 검사, Cytokine과 Immunoglobulin의 검사, 치은열구액내의 Hyaluronic acid, Chondroitin sulfate, Dermatan sulfate, Heparan sulfate같은 Glycosaminoglycans의 검사등을 들 수 있다. 특히 Cytokine은 염증이 있는 치은에서 IgG와 IgA를 합성하기 때문에 예견인자로 최근 각광을 받고 있다<sup>21)</sup>.

Zinsser(1926)등이 Lymphokine activity를 처음 발견한 이래로<sup>8)</sup>, 치은열구액<sup>9,10)</sup>, 치은 생검 표본<sup>11)</sup>, 치주염 환자의 말초혈액내 단핵구 배양상청액<sup>12,13)</sup>등을 연구함으로써 치주염의 병인론에 관한 Cytokine의 역할이 알려지기 시작하였다<sup>14)</sup>.

Interleukin(IL)은 처음에는 임파구 활성화인자(Lymphocyte activating factor : LAF)로 알려졌으며<sup>15)</sup>, 단핵세포, 대식세포에서 주로 형성되며<sup>16)</sup>, IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6<sup>17)</sup> 이외에도 최근 IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11과 IL-12가 발견되어, Interleukin network 또는 Cytokine network를 이루어 서로 정보를 교환하고 상호 작용하여 생체 반응 조절에 중요한 영향을 미친다고 보고되었다<sup>9)</sup>.

IL-1은 처음에는 내인성 발열물질로 알려졌으며, 1989년 Dinarello<sup>18)</sup>에 의해 명명되었다. IL-1은 내피세포에 작용하여 호중구와 단핵구의 부착을 증진시키고 호중구와 단핵구가 염증 부위로 보충되게 한다. 그리고, 골 탈광화작용의 매개체인 PGE<sub>2</sub>를 유도하여 염증부위의 혈관 투과성을 증진시키며 catabolic effect를 가지고 있어서 칼슘 소모를 유도한다. IL-1은 Parathyroid hormone, TNF- $\alpha$ , Leukotoxin과 상승효과가 있다. 그리고 Proteinase를 유도하기 때문에 IL-1과 관계된 기전은 치주염이 있을 때 골과 연조직에 염증을 일으켜서 파

괴시킨다. 이런 이유로 치주염에서 IL-1의 정량분석이 중요하다.

IL-1에는 IL-1 $\alpha$ 와 IL-1 $\beta$ 가 있는데 이들은 같은 수용체에 결합하며, 대부분의 IL- $\alpha$ 는 세포에 연관되어 있고, IL- $\beta$ 는 세포에서 유리되어 작용한다. 파골세포 활성화인자(Osteoclast-activating factor : OAF)는 처음에 골 흡수를 일으키는 Cytokine으로 소개되었지만 최근에 말초혈액내 단핵구세포의 배양상청액에서 OAF 활성도를 가지고 있는 주요 단백질을 추출하여 이것을 IL-1 $\beta$ <sup>10,13,21,35,36,37,38,39)</sup>로 확인하였다.

IL-2<sup>40)</sup>는 원래 T세포 성장인자로 알려졌으며 1975년 Morgan등에 의해 기술되었다. 사람의 IL-2 유전자는 1983년 E.coli에서 처음 clone화 되어 비로소 임상 실험에서 필요한 대량 생산의 길이 열렸다. IL-2와 치주염과의 연관성은 아직 알려지지 않고 있으나, McFarlane<sup>19)</sup>등은 치주염에서 혈청내 IL-2와 IL-4의 역할을 보고한 바 있고, Rie<sup>20)</sup>등은 IL-2가 파골세포 활성을 증가시켜 산을 형성하고, 칼슘을 유리시킨다고 하였다. Kono<sup>21)</sup>등은 IL-2가 B세포의 성장과 분화에 보조적인 자극을 한다고 보고하였고, Rowland<sup>44)</sup>등은 ANUG와 IL-2의 형성과의 관계를 보고하였다.

IL-4는 1970년대 초 Dutton, Schimpl, Wecker등에 의해 T세포에서 분비되는 인자가 B세포 증식과 항체 생산을 증진시킨다는 것이 밝혀진 후 많은 연구가 있었고, Kishimoto등은 B세포 성장인자(B cell growth factor : BCGF)라 하였고, 1982년 Howard등은 이것을 BCGF-1(B cell growth factor-1)이라 명명하였다. 1984년 Paul등은 이를 B-cell stimulatory factor-1(BSF-1)으로 다시 명명하였고, 1986년 cDNA cloning이 된 후 Interleukin-4(IL-4)로 다시 명명되었다.

IL-4는 IL-2와 병합하여 암 치료시 좋은 효과가 있다고 보고되었으며, 인간의 단핵구에 의한 IL-1, TNF- $\alpha$ , PGE<sub>2</sub> 형성이 억제된다는 보고가 있다. Rabin등은 휴지상태의 B세포

가 G1으로 들어가도록 유도하며 다른 Cytokine의 수용체와 MHC class II 항원을 표현한다고 하였다<sup>21)</sup>. 그래서 IL-4를 새로운 소염제로 개발할 수도 있으므로 난치성 치주염과의 상관관계를 알아내고자 하였다.

IL-6<sup>22,48,49)</sup>는 과거 T세포 대체인자(T cell replacement factor : TRF), B세포 분화인자(B cell differentiation factor : BCDF), B세포 자극인자 2(B cell stimulatory factor 2 : BSF-2), Interferon  $\beta_2$ (IFN  $\beta_2$ )<sup>23)</sup>, Hybridoma/plasmacytoma growth factor, Hepatocyte stimulating factor(HSF)등으로 불리워지는 26KDa.의 단백질이다.

IL-6는 류마치성 관절염에서 높게 관찰되며 관절내 염증성 변화에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. Kono<sup>21)</sup>등은 IL-6가 B세포의 최종분화를 유도하며, IgA합성을 증진시킨다고 하였다. 그러나 난치성 치주염과의 관계는 알려지지 않고 있다.

Carswell(1975)<sup>24)</sup>등에 의해 처음 알려진 Tumor necrosis factors(TNF)<sup>5,14,46)</sup>는 단핵세포 유도 TNF- $\alpha$ (Cachectin)와 임파구 유도 TNF- $\beta$ (lymphotoxin)로 나누어지고<sup>25,26)</sup>, 이는 치은 섬유아세포를 자극하여 교원효소를 생산하게 한 후 골흡수<sup>27)</sup>와 치주 조직 파괴에 깊이 관여하는 것으로 알려져 있다.

현재 국내 치과계에서는 이 분야에 대한 연구와 진행이 잘 이루어지지 않고 있으며, 국외에서는 최근 3-4년 사이에 연구가 서서히 진행되고 있으나, 결과에 대한 분석이 다양하고 종합적인 분석이 이루어지지 않아 진단 목적으로 사용할 수 있는 연구결과를 가지지 못하고 있다.

본 연구의 목적은 난치성 치주염 환자에서 임상검사 및 미생물학적 검사를 시행하여 질환 상태를 분석한 후, 혈청 및 치은열구액내의 IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6 그리고 TNF- $\alpha$ 를 정량 분석함으로써 이들 물질의 정량 변화 및

치은연하세균의 변화와 치주 조직의 파괴 정도와의 상관 관계를 규명하여 예견인자로서의 가능성을 찾음으로써, 난치성 치주염 진단에 도움을 주고자 하는 데 있다.

## II. 연구재료 및 방법

### 1) 연구대상

서울대학교병원 치주과에 내원하여 1년이상 치주치료를 받은 환자중 최종 3개월 간의 종합 임상 검사를 통하여 난치성 치주염으로 진단된 10명(남자 7명, 여자 3명)을 선정하였다. 선정된 환자는 전신적으로 건강하였으며 최근 6개월 이내에 치주 치료를 받지 않았고, 항생제도 복용하지 않았다. 그리고, 임신중인 여성은 제외하였다.

6 mm이상의 치주낭을 가진 치아를 실험대상 치아로 선정하였으며, 선정된 환자를 실험 시작부터 3개월 후까지 검사하였다.

### 2) 연구방법

#### a) 임상검사

치은 지수(Löe & Silness 1963), 치주낭 깊이, 부착상실도를 분석하였다. 임상 검사전에 개개인의 수지상을 만들고 6개의 기준점을 각 실험대상 치아부위에 형성하여 치은지수, 치주낭 깊이, 부착 상실도를 측정하고 측정부위 기준으로 사용하였다. 치주낭 깊이와 부착 상실도는 치주낭의 기저부에서부터 각각 치은 연상 및 백악법랑질 경계부까지 개개인의 수지상을 이용하여 Florida probe<sup>\*29)</sup>로 측정하였다.

치은 지수는 각 실험대상 치아의 4 부위에서 측정하였다. 질병활성도는 계속적인 탐침과 tolerance method에 의해 3개월 동안에 2.1 mm이상 부착상실이 일어난 경우를 활성도로

\* Florida probe : Florida Probe Corporation, 1820 N.E. 23rd Avenue, Gainesville, Florida, U.S.A.

정의하였다. 그리고 혈청검사는 치은열구액 검사에서 한군데라도 활성부위가 있으면 활성환자로 정의하였다.

b) 치조골 파괴도 측정

Ruttiman<sup>30)</sup>에 의한 정량감쇄영상 촬영법 (quantitative digital subtraction image processing radiography\*\*)으로 관찰하였다. 방사선 촬영시 기하학적으로 표준화된 촬영을 할 수 있도록 bite block<sup>31)</sup>, 인상재, 필름 고정장치등을 이용하였다. 환자가 처음 내원했을 때와 3개월 후 내원했을 때 방사선 촬영을 하여 교정용 철사에 의해 나타나는 둥근 점 사이의 거리를 이용하여 angular error를 측정시 2% 이내의 오차를 나타내는 방사선 사진만을 사용하였다. Ruttiman<sup>30)</sup>등이 기술한 방법으로 파괴된 치조골에 대한 정량 분석을 실시하였다.

c) 치은연하세균의 형태학적 분석

치은 연상치태 및 음식물 잔사를 제거한 후, 치은연하부위에서 살균된 Gracey 11/12 curette(American Dental Mfg., Co.)으로 치주낭의 가장 깊은 곳까지 집어넣어 치태 세균을 채취하였다. 채취된 치태세균은 1% 젤라틴이 섞인 살균처리된 100  $\mu$ l의 생리식염수에 넣고, Vortex mixer로 10초간 분산시켰다. 세균이 군생하거나 운동성을 상실하지 않도록 채취한 지 1시간 이내에 위상차현미경\*\*\*을 이용하여 400배율로 관찰하고 무작위로 5부분을 추출하여 100-150마리의 세균을 세워서 4군(구균, 운동성 간균, 비운동성 간균, spirochetes)으로 분류하고 퍼센트 분포로 세균 집단을 평가하였다.

d) 미생물학적 검사

세균배양을 위한 치태세균은 거즈로 채취부위를 방습하여, 치은연상의 균태, 음식물 잔사와 습기를 완전히 제거하고, 무균처리된 35번 paper point(Johnson Fine absorbent point, Johnson & Johnson East Windsor, N.J., U.S.A.)를 치은연하에 끝이 휘어질 때까지 삽입하여 30초동안 치은연하균태를 채취한 후, 2ml의 pre-reduce된 Ringer용액이 들어있는 시험관에 5% 이산화탄소, 10% 수소 및 85% 질소가 혼합된 기체를 주입하면서 채취된 paper point를 옮긴 후 봉하였다. 이 시험관을 약 60초간 Voltex mixer로 진탕한 후, 혐기성 세균배양기 내에서 9ml의 각각 다른 pre-reduce된 Ringer 용액에 10배씩 단계희석하였다.

전체 호기성균락은 37°C 호기성 세균배양기 내에서 7일간 배양한 후 호기성 세균의 총수를 계수하였으며, 전체 혐기성 균락은 100 $\mu$ l의 희석용액을 5% 가토혈액이 함유된 혈액천배지(5.0 $\mu$ g/ml hemin과 0.5 $\mu$ g/ml menadione 첨가)에 각각 접종하여 37°C의 혐기성 세균배양기에서 7일간 배양한 후 혐기성 세균의 총수를 계수하였다.

species-specific polyclonal serodiagnostic reagent를 이용한 간접 면역 형광 현미경으로 치은 연하 치태 세균에서 *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Campylobacter rectus*, *Eikenella corrodens*, *Fusobacterium nucleatum*, *Bacteroides forsythus*를 검사하였다. 10 $\mu$ l의 희석된 치태용액을 유리 슬라이드에서 살짝 열로 고정하고, 각각 10 $\mu$ l의 specific antibody와 반응시켰다.

---

\*\* 1. CCD-based video camera : SONY, Japan  
Image frame grabbing board-DT 2851-6HZ-DT 2851-602  
2. Image processing board  
Subroutine library-DT-IRIS : Data Translation, Inc., 100 Locke Drive, Marlboro, MA 01752-1192 U.S.A.

\*\*\* Phase-contrast microscope : Olympus BH-2, Dental Scientific System, Inc., Virginia

polyclonal rabbit antisera와 반응한 슬라이드를 fluorescein isothiocyanate와 conjugate된 affinity-purified goat anti-rabbit IgG를 첨가하여 배양하였다.

이 슬라이드를 세척하고, glycerol in PBS로 mount한 후, 염색된 bacterial smear를 phase contrast illumination과 incident light fluorescence를 장비한 Olympus BH-2 현미경\*\*\*으로 2시간내에 검사하였다. fluorescence는 1+부터 4+까지 분류하였으며, 3+와 4+는 혈청학적 양성반응으로 분류하였다.

#### e) Cytokine의 분석

Ebersole<sup>32)</sup>등, Bickel<sup>33)</sup>등의 방법에 따라 치아를 협점막, 혀 등으로부터 분리시킨 후 거즈, 탈지면 및 air spray를 이용하여 타액을 제거하고 치은열구에 filter paper strip (Precut filter paper strip; Periopaper: Harco Med. Elect. Inc. 14 Morgan, California 92714 U.S.A.)을 넣어 5초동안 채취하고, Periotron\*\*\*\*으로 양을 측정하였다. 이 때 하나의 Periopaper는 Periotron\*\*\*\*의 수치가 약 100이 되게 채취하였으며 한사람에게서 채취한 치은열구액은 모아서 antibody dilution buffer (PBS+0.05% Tween 20+0.5% B.S.A.+0.02% NaN<sub>3</sub>)용액 100 $\mu$ l 넣어 섞고 치은열구액을 빼낸 후 10분간 원심분리하여 Periopaper를 제거하고 희석한 순수 치은열구액을 모아서 -70°C에서 사용할 때까지 보관하였다.

난치성 치주염 환자에게서 Venipuncture를 하여 10cc의 혈액을 채취한 후, 소독된 시험관에 넣고 실온에서 응고되게 하였다. 혈청을 분리하여 원심분리하고 소독된 작은 시험관에 넣어서 -70°C에서 사용할 때까지 보관하였다.

채취된 치은열구액과 혈청의 Interleukin

(IL)과 Tumor necrosis factor(TNF)를 정량 분석하기 위하여 IL-1 $\beta$ \*\*\*\*\*, 2, 4, 6\*\*\*\*\* 및 TNF- $\alpha$ \*\*\*\*\* ELISA test kit를 사용하였다. 이것은 multiple sandwich principle을 이용한 solid-phase enzyme-immunoassay로서 solid phase에 넣어진 Interleukin에 multiple epitopes와 결합한 anti-human polyclonal antibody를 첨가하였다. 이어 각각의 Interleukin과 결합한 polyclonal antibody에 결합하는 3번째 항체인 Streptavidin-conjugated peroxidase를 첨가하여 검정하였다.

#### f) 통계학적 분석

질병활성도가 있는 부위와 없는 부위의 임상적 지수, 치조골 흡수의 양, 미생물학적인 검사 및 Cytokine 수치의 차이등을 Mann Whitney test를 이용하여 분석하였다.

### III. 연구결과

#### a) 임상적 자료

조사 대상 환자의 임상상태를 검사한 결과(표 1), 치은지수는 비활성부위에서는 1.68 $\pm$ 0.11에서 1.57 $\pm$ 0.11로, 활성부위에서는 1.68 $\pm$ 0.11에서 1.57 $\pm$ 0.12로 두 군 사이에 유의한 차이를 나타내고 있지 않았으며, 치주낭 깊이는 비활성부위에서는 4.60 $\pm$ 0.57 mm에서 4.83 $\pm$ 0.69 mm로, 활성부위에서는 5.19 $\pm$ 0.60 mm에서 5.79 $\pm$ 0.72 mm로 실험 3개월 후 (P<0.05) 비활성부위에 비해 활성부위에서 유의한 차이를 나타내고 있었다.

부착 상실도는 비활성부위에서는 1.41 $\pm$ 0.14 mm, 활성부위에서는 2.66 $\pm$ 0.22 mm로 실험 3개월 후 (P<0.01) 비활성부위에 비해 활성부위에서 유의한 차이를 나타내고 있었으며, 치조골 파괴도는 비활성부위에서는 3.11 $\pm$ 0.49

\*\*\*\*Periotron; Periotron model 6000; Harco Med. Electr. Inc. 14 Morgan, California 92714 U.S.A.

\*\*\*\*\*TNF- $\alpha$  ELISA Kit/IL-1 $\beta$  ELISA kit; Cistron kit(BOX 2004 Pine Brook, NJ 07058 New Jersey, U.S.A.)

\*\*\*\*\*Human IL-2, 4, 6 ELISA kit:

Genzyme Corporation 1-Kendall square Cambridge, MA, U.S.A.

**Table 1.** Comparison of clinical data

Clinical data		Baseline	After 3 months
Gingival Index	Inactive (N=7)	1.68 ± 0.11	1.57 ± 0.11
	Active (N=7)	1.68 ± 0.11	1.57 ± 0.12
Pocket depth	Inactive (N=7)	4.60 ± 0.57mm	4.83 ± 0.69mm
	Active (N=7)	5.19 ± 0.60mm	5.79 ± 0.72mm <sup>†</sup>
Loss of Attachment	Inactive (N=7)	—	1.41 ± 0.14mm
	Active (N=7)	—	2.66 ± 0.22mm <sup>‡</sup>
Bone loss	Inactive (N=7)	—	3.11 ± 0.49mg
	Active (N=7)	—	4.46 ± 0.97mg <sup>†</sup>

‡ P<0.01, † P<0.05 significance between active and inactive

**Table 2.** Comparison of subgingival microbial morphotype(%)

Morphotype		Baseline	After 3 months
Motile rods	Inactive (N=7)	15.52 ± 5.89	36.21 ± 6.06*
	Active (N=7)	15.93 ± 4.56	40.83 ± 10.69*
Nonmotile rods	Inactive (N=7)	20.91 ± 4.53	30.37 ± 2.17
	Active (N=7)	17.14 ± 3.11	33.64 ± 8.43
Spirochetes	Inactive (N=7)	10.82 ± 2.93	3.97 ± 1.09*
	Active (N=7)	6.36 ± 1.82	5.13 ± 2.74
Cocci	Inactive (N=7)	24.99 ± 7.12	24.24 ± 4.30
	Active (N=7)	40.05 ± 4.55 <sup>†</sup>	14.96 ± 5.84**

‡ P<0.01, † P<0.05 significance between active and inactive

\*\* P<0.01, \* P<0.05 significance between baseline and after 3 months

mg, 활성 부위에서는  $4.46 \pm 0.97$  mg으로 실험 3개월 후 ( $P < 0.05$ ) 비활성부위에 비해 활성 부위에서 유의한 차이를 나타내고 있었다.

비활성 부위와 활성 부위의 치은연하 세균의 형태학적 비율을 비교한 결과(표 2), 운동성간균은 비활성부위에서는  $15.52 \pm 5.89$ 에서  $36.21 \pm 6.06$ 으로, 활성부위에서는  $15.93 \pm 4.56$ 에서  $40.83 \pm 10.69$ 로 두 군 사이에 유의한 차이를 나타내지 않았으며, 비운동성간균은 비활성부위에서는  $20.91 \pm 4.53$ 에서  $30.37 \pm 2.17$ 로, 활성부위에서는  $17.14 \pm 3.11$ 에서  $33.64 \pm 8.43$ 으로 두 군 사이에 유의한 차이를 나타내지 않았다.

Spirochetes는 비활성부위에서는  $10.82 \pm 2.93$ 에서  $3.97 \pm 1.09$ 로, 활성부위에서는  $6.36 \pm 1.82$ 에서  $5.13 \pm 2.74$ 로 두 군 사이에 유의한 차이를 나타내지 않았으며, 구균은 비활성부위에서는  $24.99 \pm 7.12$ 에서  $24.24 \pm 4.30$ 으로, 활성부위에서는  $40.05 \pm 4.55$ 에서  $14.96 \pm 5.84$ 로 실험시작시에는 활성부위가 비활성부위에 비해 ( $P < 0.05$ ), 3개월 후에는 비활성부위가 활성부위에 비해 ( $P < 0.05$ ) 유의한 차이를 나타내었다.

세균 배양법에 의한 균주 분포도를 비교한 결과(표 3), 전체 혐기성세균의 수는 비활성부위에서는  $76.43 \pm 40.16$ 에서  $162.86 \pm 69.48$ 로, 활성부위에서는  $60.00 \pm 17.38$ 에서  $108.00 \pm 39.03$ 으로 두 군 사이에 유의한 차이를 나타내지 않았으며, 전체 호기성세균의 수는 비활성부위에서는  $69.14 \pm 35.35$ 에서  $75.71 \pm 23.26$ 으로, 활성부위에서는  $33.14 \pm 11.81$ 에서  $39.00 \pm 9.45$ 로 두 군 사이에 유의한 차이를 나타내지

않았다.

간접 면역형광현미경으로 균주의 분포를 비교한 결과(표 4), *P. gingivalis*는 비활성부위에서는  $0.45 \pm 0.16$ 에서  $0.56 \pm 0.18$ 로, 활성부위에서는  $0.86 \pm 0.16$ 에서  $1.01 \pm 0.34$ 로 두 군 사이에 유의한 차이를 나타내지 않았으며, *P. intermedia*는 비활성부위에서는  $1.79 \pm 0.84$ 에서  $1.01 \pm 0.28$ 로, 활성 부위에서는  $1.98 \pm 0.50$ 에서  $2.05 \pm 0.72$ 로 실험 3개월 후 ( $P < 0.05$ ) 활성부위에서 비활성부위에 비해 유의한 차이를 나타내었다. *A. actinomycetemcomitans*는 비활성부위에서는  $0.40 \pm 0.30$ 에서  $0.35 \pm 0.13$ 으로, 활성부위에서는  $0.56 \pm 0.14$ 에서  $0.38 \pm 0.15$ 로 두 군 사이에 유의한 차이를 나타내지 않았으며, *C. rectus*는 비활성부위에서는  $0.50 \pm 0.24$ 에서  $0.66 \pm 0.20$ 으로, 활성부위에서는  $0.68 \pm 0.12$ 에서  $0.94 \pm 0.39$ 로 두 군 사이에 유의한 차이를 나타내지 않았다. *E. corrodens*는 비활성 부위에서는  $1.71 \pm 0.94$ 에서  $0.88 \pm 0.24$ 로, 활성부위에서는  $1.45 \pm 0.29$ 에서  $1.43 \pm 0.63$ 으로 두 군 사이에 유의한 차이를 나타내지 않았으며, *F. nucleatum*은 비활성 부위에서는  $0.74 \pm 0.35$ 에서  $0.82 \pm 0.26$ 으로, 활성부위에서는  $0.55 \pm 0.21$ 에서  $0.64 \pm 0.22$ 로 두 군 사이에 유의한 차이를 나타내지 않았다. *B. forsythus*는 비활성부위에서는  $0.22 \pm 0.05$ 에서  $0.43 \pm 0.16$ 으로, 활성부위에서는  $0.80 \pm 0.23$ 에서  $0.56 \pm 0.16$ 으로 두 군 사이에 유의한 차이를 나타내지 않았다.

혈청내의 Cytokine 수치의 조사 결과(표 5), 혈청 IL-1 $\beta$  수치는 비활성환자에서는

**Table 3.** Comparison of Total Microbial Count(CFU/10<sup>9</sup> dilution)

Total microbial count		Baseline	After 3 months
Total Anaerobic Count	Inactive (N=7)	$76.43 \pm 40.16$	$162.86 \pm 69.48$
	Active (N=7)	$60.00 \pm 17.38$	$108.00 \pm 39.03$
Total Aerobic Count	Inactive (N=7)	$69.14 \pm 35.35$	$75.71 \pm 23.26$
	Active (N=7)	$33.14 \pm 11.81$	$39.00 \pm 9.45$

**Table 4.** Comparison of Oral microflora by IIF (%)

Oral microflora		Baseline	After 3 months
<i>P. gingivalis</i>	Inactive (N = 7)	0.45 ± 0.16	0.56 ± 0.18
	Active (N = 7)	0.86 ± 0.16	1.01 ± 0.34
<i>P. intermedia</i>	Inactive (N = 7)	1.79 ± 0.84*	1.01 ± 0.28
	Active (N = 7)	1.98 ± 0.50	2.05 ± 0.72†
<i>A. actinomycetem-comitans</i>	Inactive (N = 7)	0.40 ± 0.30	0.35 ± 0.13
	Active (N = 7)	0.56 ± 0.14	0.38 ± 0.15
<i>C. rectus</i>	Inactive (N = 7)	0.50 ± 0.24	0.66 ± 0.20
	Active (N = 7)	0.68 ± 0.12	0.94 ± 0.39
<i>E. corrodens</i>	Inactive (N = 7)	1.71 ± 0.94*	0.88 ± 0.24
	Active (N = 7)	1.45 ± 0.29	1.43 ± 0.63
<i>F. nucleatum</i>	Inactive (N = 7)	0.74 ± 0.35	0.82 ± 0.26
	Active (N = 7)	0.55 ± 0.21	0.64 ± 0.22
<i>B. forsythus</i>	Inactive (N = 7)	0.22 ± 0.05	0.43 ± 0.16
	Active (N = 7)	0.80 ± 0.23	0.56 ± 0.16

‡ P<0.01, † P<0.05 significance between active and inactive

\*\* P<0.01, \* P<0.05 significance between baseline and after 3 months

1969.29 ± 32.95에서 2008.22 ± 29.88로, 활성환자에서는 2031.86 ± 17.78에서 1992.65 ± 17.67로 두 군 사이에 유의한 차이를 나타내지 않았다. 혈청 IL-2 수치는 비활성환자에서는 47.45 ± 11.98에서 34.24 ± 7.80으로, 활성환자에서는 118.58 ± 30.84에서 104.58 ± 40.07로 실험 시작시(P<0.05)와 실험 3개월 후(P<0.01)에서 활성환자가 비활성환자에 비해 유의한 차이를 나타내고 있었다. 혈청 IL-4 수치는 비활성환자에서는 2.93 ± 0.45에서 2.32 ± 0.45로, 활성

환자에서는 4.24 ± 1.06에서 3.02 ± 0.57로 두 군 사이에 유의한 차이를 나타내지 않았다. 혈청 IL-6 수치는 비활성환자에서는 41.99 ± 1.93에서 40.31 ± 2.56으로 활성환자에서는 42.60 ± 2.15에서 45.15 ± 1.65로 두 군 사이에 유의한 차이를 나타내지 않았다. 혈청 TNF-α 수치는 비활성환자에서는 9.40 ± 1.65에서 13.75 ± 3.13으로, 활성환자에서는 12.25 ± 1.14에서 14.14 ± 1.67로 두 군 사이에 유의한 차이를 나타내지 않았다.



**Table 5.** Comparison of Cytokine level in serum(pg/ml)

Cytokine level		Baseline	After 3 months
serum IL-1 $\beta$	Inactive (N=7)	1969.29 $\pm$ 32.95	2008.22 $\pm$ 29.88
	Active (N=7)	2031.86 $\pm$ 17.78	1992.65 $\pm$ 17.67
serum IL-2	Inactive (N=7)	47.45 $\pm$ 11.98	34.24 $\pm$ 7.80
	Active (N=7)	118.58 $\pm$ 30.84 <sup>†</sup>	104.58 $\pm$ 40.07 <sup>†</sup>
serum IL-4	Inactive (N=7)	2.93 $\pm$ 0.45	2.32 $\pm$ 0.45
	Active (N=7)	4.24 $\pm$ 1.06	3.02 $\pm$ 0.57
serum IL-6	Inactive (N=7)	41.99 $\pm$ 1.93	40.31 $\pm$ 2.56
	Active (N=7)	42.60 $\pm$ 2.15	45.15 $\pm$ 1.65
serum TNF- $\alpha$	Inactive (N=7)	9.40 $\pm$ 1.65	13.75 $\pm$ 3.13
	Active (N=7)	12.25 $\pm$ 1.14	14.14 $\pm$ 1.67

‡ P<0.01, † P<0.05 significance between active and inactive

**Table 6.** Comparison of Cytokine level in GCF(pg/ml)

Cytokine level		Baseline	After 3 months
GCF IL-1 $\beta$	Inactive (N=7)	633.12 $\pm$ 55.09*	388.56 $\pm$ 74.26
	Active (N=7)	433.33 $\pm$ 179.05	517.57 $\pm$ 109.77 <sup>†</sup>
GCF IL-2	Inactive (N=7)	246.33 $\pm$ 41.28	212.18 $\pm$ 43.84
	Active (N=7)	492.48 $\pm$ 126.60 <sup>†</sup>	559.19 $\pm$ 133.72 <sup>†</sup>
GCF IL-4	Inactive (N=7)	2.62 $\pm$ 0.32	2.24 $\pm$ 0.49
	Active (N=7)	2.69 $\pm$ 0.41	2.29 $\pm$ 0.49
GCF IL-6	Inactive (N=7)	230.36 $\pm$ 34.77	255.41 $\pm$ 41.87
	Active (N=7)	334.91 $\pm$ 43.21 <sup>†</sup>	342.50 $\pm$ 44.58 <sup>†</sup>
GCF TNF- $\alpha$	Inactive (N=7)	28.20 $\pm$ 4.95*	46.36 $\pm$ 8.55
	Active (N=7)	44.66 $\pm$ 5.68 <sup>†</sup>	42.67 $\pm$ 7.04

‡ P<0.01, † P<0.05 significance between active and inactive

\*\* P<0.01, \* P<0.05 significance between baseline and after 3 months.

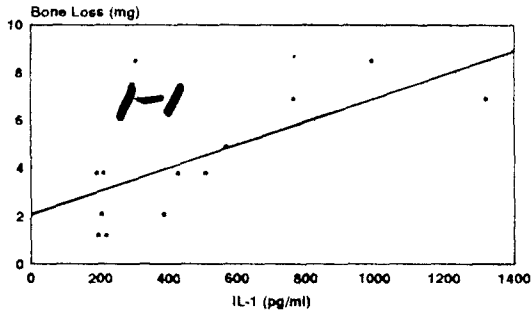


Fig. 1-1. Relationship between GCF IL-1 $\beta$  and bone loss in active sites

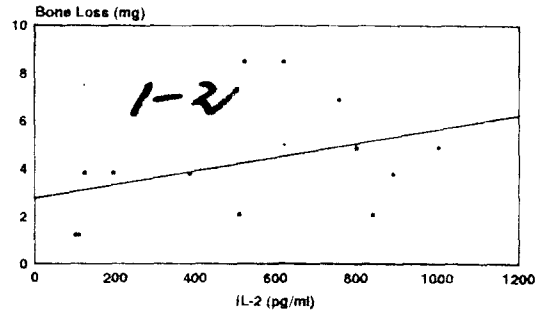


Fig. 1-2. Relationship between GCF IL-2 and bone loss in active sites

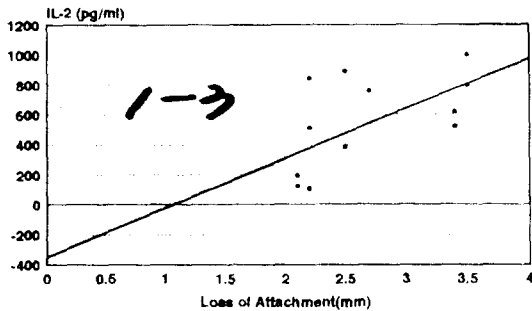


Fig. 1-3. Relationship between GCF IL-2 and loss of attachment in active sites

치은열구액내 Cytokine 수치의 조사 결과 (표 6), 치은열구액내 IL-1 $\beta$ 수치는 비활성부위에서는  $633.12 \pm 55.09$ 에서  $388.56 \pm 74.26$ 으로 활성부위에서는  $433.33 \pm 179.05$ 에서  $517.57 \pm 109.77$ 로 실험 3개월 후 ( $P < 0.05$ ) 활성부위가 비활성부위에 비해 유의한 차이를 나타내고 있었다. 치은열구액내 IL-2 수치는 비활성부위에서는  $246.33 \pm 41.28$ 에서  $212.18 \pm 43.84$ 로, 활성부위에서는  $492.48 \pm 126.60$ 에서  $559.19 \pm 133.72$ 로 실험 시작시 ( $P < 0.05$ )와 실험 3개월 후 ( $P < 0.01$ )에서 활성부위가 비활성부위에 비해 유의한 차이를 나타내고 있었다. 치은열구액내 IL-4 수치는 비활성 부위에서는  $2.62 \pm 0.32$ 에서  $2.24 \pm 0.49$ 로, 활성부위에서는  $2.69 \pm 0.41$ 에서  $2.29 \pm 0.49$ 로 두 군 사이에 유의한 차이를 나타내지 않았다. 치은 열구액내 IL-6 수치는 비활성부위에서는  $230.36 \pm 34.77$ 에서  $255.41 \pm 41.87$ 로, 활성부위에서는  $334.91 \pm 43.21$ 에서  $342.50 \pm 44.58$ 로 실험 시작시

Table 7. Multiple regress stepwise analysis

	Bone loss	Loss of Attachment
GCF IL-1 $\beta$	C=0.665 r=0.442	---
GCF IL-2	C=0.381 r=0.145	C=0.594 r=0.353

( $P < 0.05$ )와 실험 3개월 후 ( $P < 0.05$ )에서 활성부위가 비활성부위에 비해 유의한 차이를 나타내고 있었다. 치은열구액내 TNF- $\alpha$  수치는 비활성부위에서는  $28.20 \pm 4.95$ 에서  $46.36 \pm 8.55$ 로, 활성부위에서는  $44.66 \pm 5.68$ 에서  $42.67 \pm 7.04$ 로 실험시작시 ( $P < 0.05$ ) 활성부위가 비활성부위에 비해 유의한 차이를 나타내고 있었다.

통계처리에 의해 상관관계를 비교한 결과(표 7), 치조골과피도는 치은열구액 IL-1 $\beta$ 와는 C=0.665, r=0.442의 순상관관계를 나타내고 있었고(그림 1-1), 치은열구액 IL-2와는 C=0.381, r=0.145의 순상관관계를 나타내고 있었다(그림 1-2). 치은열구액 IL-2와 부착상실도와는 C=0.594, r=0.353의 순상관관계를 나타내고 있었다(그림 1-3).

#### IV. 총괄 및 고안

난치성 치주염의 진단시 환자의 병력, 임상 검사, 미생물학적 검사, 면역학적 검사 등 여러 방면으로 조사할 수 있으나, 각 검사 간의 정확도를 가늠하기는 어렵다고 하겠다. 난치성 치주염시 작용하는 미생물과 이에 대응하는 숙주 세포의 면역 기전과 이의 산물로 분비되는

Cytokine등이 복합되어 질환의 진단에 어려움을 주고 있다. 본 연구는 임상적 질환의 활성도와 관여 세균 및 Cytokine 등의 질환 예견인자로서의 가능성을 파악하고, 이들 간의 상호 관련성을 규명하고자 시행되었다. 먼저 질환 활성도에 있어서 임상지수를 검사한 결과, 비활성 부위와 활성 부위에서 치은 지수는 유의한 차이를 나타내지 않았다. 치주낭 깊이는 실험시작시 비활성부위와 활성부위는 유의한 차이가 없는 반면, 실험 3개월 후 활성부위가 비활성부위보다 유의한 차이( $P<0.05$ )를 나타내어 Masada (1990)<sup>10)</sup>에 의하면 치주낭 깊이는 과거의 치주염이 누적된 상태를 반영하는 것이기 때문에 필연적으로 현재의 질환 활성도를 반영하지 않는다고 하였던 바 본 실험의 결과는 Masada (1990)<sup>10)</sup>의 주장과 합치되고 있다. 이것은 같은 치주낭 깊이이라도 질환 활성도는 시간마다 다르고 또 치주낭 깊이와는 무관하게 활성일 수도 있고 비활성일 수도 있기 때문이다.

실험 3개월 후 부착 상실도( $P<0.01$ )와 치조골 파괴도( $P<0.05$ )는 활성 부위가 비활성부위에 비해 유의한 차이를 나타내고 있었다. 이것은 부착상실도와 정량감쇄영상 촬영법이 난치성 치주염의 질환 활성도에 있어서 중요한 예견인자가 될 수 있다는 것을 보여주고 있다.

치조골파괴도는 치은열구액내 IL-1 $\beta$ , 치은열구액내 IL-2와 순상관관계가 있었는데 치은열구액내 IL-1 $\beta$ 와 IL-2가 치조골파괴와 연관성이 있다고 보여진다.

치은연하세균의 형태학적 분석에서는 운동성 간균, 비운동성간균, Spirochetes에서 비활성 부위와 활성 부위에서 유의한 차이를 발견할 수 없었다. 그러나 구균은 실험시작시에는 활성부위가 비활성부위에 비해 유의한 차이를 나타내었고( $P<0.05$ ), 실험 3개월 후에는 비활성 부위가 활성부위에 비해 유의한 차이를 나타내었다( $P<0.05$ ). 치은연하 세균의 형태학적 분석이 난치성 치주염의 질환 활성도에 있어서 예견인자로 사용될 수 있다고는 말할 수 없다. 이것은 Lekovic<sup>34)</sup>등이 세균의 운동성을 질병의 활성도와 연관지을 수 없다고 주장한 것과

합치되고 있다.

세균배양에 의한 전체 혐기성세균의 수와 전체 호기성세균의 수는 유의성이 없게 나타났다( $P<0.05$ ). 그러므로 전체 혐기성 및 호기성 세균의 수는 질병활성도와 무관할 것으로 사료된다.

간접 면역형광현미경 법에서는 실험 3개월 후 활성 부위에서 *P. intermedia* ( $p<0.05$ )가 유의한 차이를 나타내므로 이 균주가 질환활성도와 연관이 있는 것으로 추정된다.

본 실험에서 말초혈액내 단핵구에서 IL-1 $\beta$ 가 유의성있게 나타나지 않은 것으로 보아 McFarlane (1990)<sup>13)</sup>등의 연구와 상반된 결과를 보이는데 이것은 선정된 환자의 치주염의 양태가 다르기 때문이라고 생각된다.

치은열구액내 IL-1 $\beta$ 의 측정이 혈청 IL-1 $\beta$ 보다도 특이한 것이 본 실험에서 나타났는데 치은열구액 IL-1 $\beta$ 는 부위별 특이성에 대한 정보를 제공하고 있다. 본 실험에서는 치조골파괴도와 치은열구액내 IL-1 $\beta$ 가 순상관관계를 나타내고 있으며, 실험시작시 치은열구액내 IL-1 $\beta$ 의 양은 비활성부위가 활성부위보다 높았으나( $P<0.05$ ), 3개월 후에는 활성부위가 비활성부위에 비해 유의성있게 높았다( $P<0.05$ ). 이것은 활성부위에서 IL-1 $\beta$ 가 계속적으로 방출된다는 것을 말해주고 있으며 실험시작시 IL-1 $\beta$ 가 비활성부위에서 높고 3개월 후 낮아진 것은 아마도 비활성부위의 질병활성도가 점차 낮아지는 경향을 나타내는 것이 아닌가 보여진다.

Kitas (1988) 등<sup>41)</sup>은 류마치성 관절염에서 IL-2 수치가 감소하는 것을 관찰하였으며 Seymour (1985)<sup>42)</sup>등은 IL-2 형성과 골흡수 사이에는 상관관계가 없다고 보고하였는데 본 실험에서는 치조골파괴도와 부착상실도는 치은열구액 IL-2와 순상관관계를 보여주고 있다. Gowen과 Mundy (1986) 등은 IL-1은 골 흡수를 현저히 일으켰으나, IL-2는 골 흡수를 자극하지 않았다고 하였으며 그 원인으로 종의 차이, 기술상의 차이, media와 media supplement와의 차이, mice strain의 차이등을 들 수 있다고 하였다<sup>20)</sup>.

Shanfeld (1992)<sup>43)</sup> 등은 기계적으로 자극받은 치주조직에서 치아이동시 골흡수부위에서 IL-2가 증가하였으며 이것은 파골세포의 기능을 증폭시키는 역할을 하였다고 주장하였고, IL-2를 함유하는 세포는 치조골 골수강에서 유래되었다고 주장하였다.

본 실험에서 혈청 및 치은열구액의 IL-2가 실험 시작시(P<0.05)와 실험 3개월 후(P<0.01) 모두에서 유의성있는 차이를 나타낸 것으로 보아 IL-2는 전신적 및 국소적인 기전이 작용하는 듯이 보이며, 난치성 치주염 진단시 질환 예견인자로 사용할 수 있겠다.

Gibbons 등<sup>45)</sup>에 의하면 IL-4는 생체의 실험에서 파골세포 형성과 흡수를 감소시키며, 파골세포가 될 전구세포를 제한함으로써 골의 항상성에 중요한 역할을 하며 골분해를 억제한다고 보고하였는데 이에 대하여는 많은 연구가 있어야 하겠다.

McFarlane<sup>19)</sup>의 실험은 혈청내 IL-4가 치주염 환자에서 높게 나타났다고 하였는데, 본 실험에서 혈청과 치은열구액에서 유의한 차이가 없게 나타난 것으로 보아 난치성 치주염 질환 진행 예견인자로 사용하기에는 부적절한 듯하며, 이에 대한 더 많은 연구가 있어야 하겠다.

Mantovani(1989)<sup>8)</sup>에 의하면 IL-6는 IL-1에 의해 나타난 내피세포의 기능적 변화를 유도하지도 않고, IL-1과 상승작용을 나타내지도 않는다고 하였다. 그러나 Hirano(1990) 등은 IL-1과 IL-6는 상승작용을 나타낸다고 하였다<sup>46)</sup>.

Takada(1991) 등<sup>47)</sup>은 *P. gingivalis*와 *P. intermedia*의 lipopolysaccharide가 흉선세포 활성화인자를 강하게 유도하는 작용을 나타낸다고 하였다. 이러한 lipopolysaccharide는 IL-6 형성을 유도하는데 이때 IL-6의 수치는 다른 세균의 lipopolysaccharide의 수치보다 높다고 하였다. 본 실험에서 IL-6와 세균과의 상관관계를 조사하였으나, 특이한 상관관계는 나타나지 않았다.

Kurihara(1990) 등은 IL-6가 다핵세포의 형성을 증진시키며, IL-6의 활성화는 IL-1 $\beta$ 의 유도에 의해 중개되며, 골흡수에 관여하는 듯하다고 하였다<sup>46)</sup>.

Kono(1990) 등<sup>21)</sup>은 성인성 치주염 환자의 치은열구액내 단핵구세포는 생물학적 활성도가 큰 IL-6가 높은 수치로 존재하도록 한다고 주장하였고, Fujihashi(1991) 등은 IL-6에 특이한 cDNA probe로 말초혈액내 단핵구세포가 아닌 치은열구액내 단핵구세포에서 IL-6에 특이한 message가 높은 수치로 존재한다고 보고하였으며<sup>21)</sup>, Hasse(1992) 등<sup>50)</sup>은 IL-6가 염증반응과 B림파구 발달에 참여하여 국소적으로 생산된 IL-6가 치주염과 연관된다고 하였고, 본 실험에서도 혈청보다는 치은열구액(P<0.05)에서 유의성있는 차이를 나타낸 것으로 보아 이러한 주장을 뒷받침한다고 하겠다.

TNF- $\alpha$ 는 tumor cytotoxicity 이외의 질환, 즉 기생충 감염, 자가면역질환<sup>51)</sup>, sero-positive rheumatoid arthritis<sup>52)</sup> 등의 질환에서 많이 나타나며, 최근 TNF- $\alpha$ 가 그램 음성 세균 감염에 특징적인 반응을 나타낸다고 보고되었다<sup>53,54)</sup>. 이러한 사실은 TNF- $\alpha$ 가 치주염 진행에 관련된다는 것을 보여주고 있다. Leung<sup>14)</sup>은 TNF- $\alpha$ 가 치주염에서의 역할은 모호하지만, 생체의 연구에서 TNF- $\alpha$ 가 염증상태의 시작과 유지에 공헌하는 기능을 가지고 있다고 보고하였다.

McFarlane(1990)<sup>13)</sup> 등은 TNF- $\alpha$ 가 치주염 환자에서 탐지되었으나, 평균값은 대조군과 유의한 차이를 보이지 않았고, LPS에 자극된 TNF- $\alpha$ 의 방출은 대조군보다 높은 수치를 보였다고 하였다. Rossomando(1990)<sup>55)</sup> 등은 치은열구액내의 TNF(Rossomando 1990)는 혈장내의 TNF(Oppenheim 1982)<sup>56)</sup>보다 10배나 높기 때문에 치은열구액내의 TNF는 혈장에서 유래된 것이 아니라 치은 조직액에서 유래되었다고 하였으며, TNF는 7mm 이상의 치주낭 뿐 아니라 4-7mm 치주낭에서도 추출되며 얇은 치주낭에서도 발견될 수 있고 3mm 이상의 치주낭에서 없을 수도 있다고 하였으며, TNF와 치은지수의 역상관관계를 주장하였다.

TNF- $\alpha$ 는 Periopaper에도 잘 묻지도 않고 잘 떨어지지도 않기 때문에 탐지하기 어렵다고 한다. TNF- $\alpha$ 의 양이 적게 나타나는 이유로는 Michie<sup>54)</sup> 등은 TNF- $\alpha$ 가 혈장보다는 치은

열구액내에서 검출되는 양이 훨씬 높지만 기존의 filter paper strip을 이용하는 방법으로 TNF- $\alpha$ 를 추출하는 데는 부족하다고 하였고, Rossomando<sup>55)</sup>등은 초기 치주질환에서는 TNF- $\alpha$ 가 많이 나타나지만 질환이 진행된 부위에서는 감소하기 때문에 추출양이 적다고 하였다. 이에 대한 새로운 방법이 연구되었으면 한다. Stashenko<sup>56)</sup>등은 TNF- $\alpha$ 와 Interleukin이 상승작용을 나타낸다고 보고하였다. 본 실험에서는 TNF- $\alpha$ 가 실험시작시 비활성부위에 비해 활성부위에서 유의성있게 나타난 것으로 보아(P<0.05), IL-1 $\beta$ 와는 다르게 작용하는 듯하며 치은열구액내 IL-1 $\beta$ 와 치은열구액내 TNF- $\alpha$ 와의 관계는 본 실험에서는 설명하기가 어려우며 더 많은 연구를 필요로 하고 있다.

## V. 결 론

서울대학교병원 치주과에 내원한 난치성 치주염 환자 10명을 선정하고, 실험시작부터 3개월 후까지 검사하였다. 치은지수, 치주낭 깊이, 부착상실도, 치조골 파괴도등 임상지수를 검사하여 활성 및 비활성을 구분하였다. 미생물 및 면역학적 분석을 하기 위하여 치은연하세균의 형태학적 분석, 세균배양법과 간접 면역형광법 및 혈청과 치은 열구액 내의 Cytokine 수치를 비교 검사하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

- 1) 미생물학적 연구결과, *P. intermedia*가 활성부위에서 비활성부위보다 유의성있게 증가하였다.
- 2) 혈청 및 치은 열구액내의 Cytokine 연구결과, 혈청내의 IL-2가 활성환자에서 증가하였고, 치은열구액내의 IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6, TNF- $\alpha$ 가 활성부위에서 유의성있게 증가하였다.
- 3) 치조골파괴도와 Cytokine과의 상관관계 연구결과, 활성부위에서의 치조골 파괴도와 치은열구액내의 IL-1 $\beta$ , IL-2와는 순상관관계가 있었으며, 부착상실도와 Cytokine과

의 상관관계 연구결과, 활성부위에서의 부착상실도는 치은열구액내의 IL-2와 순상관관계가 있었다.

상기와 같은 결과를 토대로 난치성 치주염의 질환 진행에서 혈청 IL-2, 치은열구액 IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6, TNF- $\alpha$  및 *P. intermedia*가 예견인자로 중요한 역할을 하므로 난치성 치주염의 진단에 이용될 수 있으리라 생각된다.

## REFERENCES

1. Hirschfeld, L. and Wasserman, B.: A long-term survey of tooth loss in 600 treated periodontal patients. J. Periodontol. 49: 225, 1978.
2. McFall, W.T.: Tooth loss in 100 treated patients with periodontal disease. A long-term study. J. Periodontol. 53:539, 1982.
3. Slots, J. and Dahlen, G.: Subgingival microorganisms and bacterial virulence factor in periodontitis. Scand. J. Dent. Res. 93:119, 1985.
4. Oshrain, H.I., Telsey, B. and Mandel, I.D.: Neutrophil chemotaxis in refractory cases of periodontitis. J. Clin. Periodontol. 14:52, 1986.
5. Haffajee, A.D., Socransky, S.S., Dzink, J.L., Taubman, M.A. and Ebersole, J.L.: Clinical, microbiological and immunological features of subject with refractory periodontal disease. J. Clin. Periodontol. 15: 390, 1988.
6. Van Dyke, T.E., Offenbacher, S., Place, D., Dowell, V.R. and Jones, J.: Refractory periodontitis: Mixed infection with *Bacteroides gingivalis* and other unusual *Bacteroides* species. A case report. J. Periodontol. 59:184, 1988.
7. Kim, J.M., Chung, C.P. and Son, S.H.: Microbiological and immunological compara-

- tive studies on the refractory peridontitis and rapidly progressive periodontitis. *J. Dent. College. Seoul National University* 14(2): 143, 1990.
8. Mantovani, A. and Dejana, E.: Cytokines as communication signals between leukocytes and endothelial cells. *Immunol. Today* 10(11):370, 1989.
  9. Charon, J.A., Luger, T.A., Mergenhagen, S.E. and Openheim, J.J.: Increased thymocyte activating factor in human gingival fluid during gingival inflammation. *Infect. Immun.* 38:1190, 1982.
  10. Masada, M.P., Persson, R., Kenney, J.S., Lee, S.W., Page, R.C. and Allison, A.C.: Measurement of interleukin-1 $\alpha$  and -1 $\beta$  in gingival crevicular fluid: Implications for the pathogenesis of periodontal disease. *J. Periodont. Res.* 25:156, 1990.
  11. Hönig, J., Rordorf-Adam, C., Siegmund, C., Wiedermann, W. and Erard, F.: Increased interleukin-1 beta concentration in gingival tissue from peridontitis patients. *J. Periodont. Res.* 24:362, 1989.
  12. Meikle, M.C., McFarlane, C.G., Heath, J.K., Newman, H.N. and Reynolds, J.J.: Interleukin-1 production by peripheral blood mononuclear cells from patients with severe periodontitis. In: Lehner T., Cima-soni, C. eds. *Borderland between caries and periodontal disease III*. Geneva: Editions Medicine et Hygiene. 283, 1986.
  13. McFarlane, C.G., Reynolds, J.J. and Meikle, M.C.: The release of interleukin-1 $\beta$ , tumor necrosis factor- $\alpha$  and interferon- $\gamma$  by cultured peripheral blood mononuclear cells from patients with periodontitis. *J. Periodont. Res.*, 25:207, 1990.
  14. Le, J. and Vilcek, J.: Tumor necrosis factor and interleukin 1. *Lab. Invest.* 56(3): 234, 1987.
  15. Mizel, S.B. and Farrar, J.J.: Revised nomenclature for antigen nonspecific T-cell proliferation and helper factors. *Cell Immunol.* 48:433, 1979.
  16. Gery, I., Gershon, R.K. and Waksman, B.H.: Potentiation of the T-lymphocyte response to mitogens. I. The responding cell. *J. Exp. Med.* 136:128, 1972.
  17. Malkovsky, M., Sondel, P.M., Strober, W. and Dalgleish, G.: The interleukins in acquired disease. *Clin. Exp. Immunol.* 74: 151, 1988.
  18. Dinarello, C.A.: Interleukin-1 and its biologically related cytokines. *Adv. Immunol.* 44:153, 1989.
  19. McFarlane, C.G. and Meikle, M.C.: Interleukins-2, interleukin-2 receptor and interleukin-4 levels are elevated in the sera of patients with periodontal disease. *J. Periodont. Res.* 26:402, 1991.
  20. Ries, W.L., Seeds, M.C. and Key, L.L.: Interleukin-2 stimulates osteoclastic activity: Increased acid production and radioactive calcium release. *J. Periodont. Res.* 24: 242, 1989.
  21. Kono, Y., Ogawa, T., Beagley, K.W., Fujihashi, K., McGhee, M.L., McGhee, J.R., Hamada, S. and Kiyono, H.: Immunopathology of periodontal disease: Studies with interleukins which mediate both immunoglobulin synthesis and inflammation in diseased gingiva. In: Hamada, S., Holt, S.C. and McGhee, J.R. eds. *Periodontal disease: Pathogens and host immune responses*. Quintessence Publishing Co., Ltd. (Tokyo) 209, 1991.
  22. Helfgott, D.C., May, L.T., Sthoeger, Z., Tamm, I. and Sehgal, P.B.: Bacterial lipopolysaccharide (endotoxin) enhances expres-

- sion and secretion of  $\beta_2$  interferon by human fibroblasts. *J. Exp. Med.* 166:1300, 1987.
23. Sehgal, P.B., May, L.T., Tamm, I. and Vilcek, J.: Human  $\beta_2$  interferon and B-cell differentiation factor BSF-2 are identical. *Science (Wash. DC)* 235:731, 1987.
  24. Carswell, E.A., Old, L.J., Kassel, R.L., Green, S., Fiore, N. and Williamson, B.: An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 72:3666, 1975.
  25. Aggarwal, B.B., Henzel, W.J., Moffat, B., Kohr, W.J. and Harkins, R.N.: Primary structure of human lymphotoxin derived from 1788 lymphoblastoid cell line. *J. Biol. Chem.* 260:2334, 1985.
  26. Aggarwal, B.B., Henzel, W.J., Moffat, B., Kohr, W.J. and Harkins, R.N.: Human tumor necrosis factor. *J. Biol. Chem.* 260: 2345, 1985.
  27. Bertolini, D.R., Nedwin, G.E., Bringman, T.S., Smith, D.D. and Mundy, G.R.: Stimulation of bone resorption and inhibition of bone formation in vitro by human tumor necrosis factors. *Nature* 319:516, 1986.
  28. Telsey, B., Oshrain, H.I. and Ellison, S.A.: A simplified laboratory procedure to select an appropriate antibiotic for treatment of refractory periodontitis. *J. Periodontol.* 57: 325, 1986.
  29. Gibbs, C.H., Hirschfeld, J.W., Lee, J.G., Low, S.B., Magnusson, I., Thousand, R.R., Yerneni, P. and Clark, W.B.: Description and clinical evaluation of a new computerized periodontal probe- the Floride Probe. *J. Clin. Periodontol.* 15:137, 1988.
  30. Ruttiman, U.E. and Webber, R.L.: Volumetry of localized bone lesions by subtraction radiography. *J. Periodont. Res.* 22: 215, 1987.
  31. Duckworth, J.E., Judy, P.F., Goodson, J.M. and Socransky, S.S.: A method for the geometric and densitometric standardization of intraoral radiographs. *J. Periodontol.* 54:435, 1983.
  32. Ebersole, J.L., Taubman, M.A., Smith, D.J. and Goodson, M.J.: Gingival crevicular fluid antibody to oral microorganisms; I. Method of collection and analysis of antibody. *J. Periodont. Res.* 19:124, 1984.
  33. Bickel, M. and Cimasoni, G.: Reliability of volume measurements with the new Periotron 6000. *J. Periodont. Res.* 19: 313, 1984.
  34. Lekovic, V., Kenney, E.B., Carranza, F.A. and Enderes, B.: The effect of metronidazole on human periodontal disease: A clinical and bacteriological study. *J. Periodontol.* 54:476, 1980.
  35. Stashenko, P., Dewhirst, F.D., Peros, W.J., Kent, R.L. and Ago, J.M.: Synergistic interactions between interleukin 1, tumor necrosis factor and lymphotoxin in bone resorption. *J. Immunol.* 138:1464, 1987.
  36. Chung, H.T., Choi, S.M. and Chung, C.P.: Quantitative assay of interleukin- $\beta$  and tumor necrosis factor- $\alpha$  in crevicular fluid of periodontal disease progression. *J. Dent. College. Seoul National University* 14(2): 169, 1990.
  37. Chensue, S.N., Davey, M.P., Remick, D.G. and Kunkel, S.L.: Release of interleukin-1 by peripheral blood mononuclear cells in patients with tuberculosis and active inflammation. *Infect. Immun.* 52:341, 1986.
  38. Watson, S., Bullock, W., Nelson, K., Schauf, V., Gelber, R. and Jacobson, R.: interleukin-1 production by peripheral blood mononuclear cells from leprosy patients. *Infect.*

- Immun. 45:787, 1984.
39. Alcocer-Varela, J., Martinez-Cordero, E. and Alarcon-Segovia, D.: Spontaneous production of, and defective response to interleukin-1 by peripheral blood mononuclear cells from patients with scleroderma. *Clin. Exp. Immunol.* 59:666, 1985.
  40. Smith, K.A.: Interleukin-2: inception, impact and implications. *Science* 240:1169, 1988.
  41. Kitas, G.D., Salmon, M., Farr, M., Gaston, J.S.H. and Bacon, P.A.: Deficient interleukin 2 production in rheumatoid arthritis: association with active disease and systemic complications. *Clin. Exp. Immunol.* 73:242, 1988.
  42. Seymour, G.J., Cole, K.L. and Powell, R.N.: Interleukin-2 production and bone-resorption activity in vitro by un-stimulated lymphocytes extracted from chronically inflamed human periodontal tissues. *Arch. Oral Biol.* 30:481, 1985.
  43. Shanfeld, J., Gogen, H., Sedalia, L., Guglielmo, A. and Davidovitch, Z.: IL-2 localization in mechanically stressed paradental tissues. *J. Dent. Res.* 71 (AADR Abstracts): 235, 1992.
  44. Rowland, R.W., Escobar, M.R., Gainey, D.W. and Friedman, R.B.: IL-2 production in Necrotizing Ulcerative Gingivitis (NUG). *J. Dent. Res.* 71 (AADR Abstracts): 318, 1992.
  45. Gibbons, R., Gallagher, R. and Kahn, A.: IL-4 inhibits CSF-1 induced colony formation of osteoclast precursor cells. *J. Dent. Res.* 71 (AADR Abstracts): 234, 1992.
  46. Takada, H., Mihara, J., Morisaki, I. and Hamada, S.: Production of cytokines by human gingival fibroblasts. In: Hamada, S., Holt, S.C. and McGhee, J.R. eds. *Periodontal disease: Pathogens and host immune responses*. Quintessence Publishing Co., Ltd (Tokyo) 265, 1991.
  47. Takada, H., Mihara, J., Morisaki, I. and Hamada, S.: Induction of interleukin-1 and -6 in human gingival fibroblast cultures stimulated by *Bacteroides* lipo-polysaccharides. *Infect. Immun.* 59:295, 1991.
  48. Bonisch, K., Marzec, N., Ren, W. and Dziak, R.: Effect of interleukin-6 on osteoblastic cell proliferation. *J. Dent. Res.* 71 (AADR Abstracts): 116, 1992.
  49. Shevde, N. and Glowacki, J.: Effect of interleukin 6 on proliferation and differentiation of osteoclast progenitors. *J. Dent. Res.* 71 (AADR Abstracts): 235, 1992.
  50. Hasse, C., Zafiroopoulos, G.G. and Tatakis, D.N.: Interleukin-6 in gingival crevicular fluid of periodontal patients. *J. Dent. Res.* 71 (AADR Abstracts): 155, 1992.
  51. Jacob, C.O. and McDevitt, H.O.: Tumor necrosis factor- $\alpha$  in murine autoimmune lupus nephritis. *Nature* 331:356, 1988.
  52. Hopkins, S.J. and Meager, A.: Cytokines in synovial fluid: II. The presence of tumor necrosis factor and interferons. *Clin. Exp. Immunol.* 73:88, 1988.
  53. Hesse, D.G., Tracey, K.J., Fong, Y. et al.: Cytokine appearance in human endotoxemia and primate bacteremia. *Surg. Gynecol. Obstet.* 166:147, 1988.
  54. Michie, H.R., Manogue, K.R., Spriggs, D.R., Revhaug, A., O'Dwyer, S., Dinarello, C.A., Cerami, A., Wolf, S.M. and Wilmore, D.W.: Detection of circulating tumor necrosis factor after endotoxin administration. *New Engl. J. Med.* 318:1481, 1988.
  55. Rossomando, E.F., Kennedy, J.E. and Hadjimichael, J.: Tumor necrosis factor alpha in gingival crevicular fluid as a possible



indicator of periodontal disease in humans.  
Archs. Oral Biol. 35:431, 1990.

56. Oppenheim, J.J., Charon, J.A. and Luger,

T.A.: Evidence for an in vivo inflammatory  
role of interleukin-1 (IL-1). Trans. Proc.  
14:553, 1982.

## ANALYSIS ON THE PREDICTOR OF DISEASE PROGRESSION IN REFRACTORY PERIODONTITIS

Hae - Joon Lee, Sang - Mook Choi, Chong - Pyoung Chung

*Department of Periodontology, College of Dentistry, Seoul National University*

Refractory periodontitis manifest progressive attachment loss in a rapid and unrelenting manner regardless of the type or frequency of therapy applied. The purpose of this study was to evaluate the relation between the level of cytokines in GCF and periodontopathic microflora with disease activity of refractory periodontitis.

Selection of patients with refractory periodontitis (7 males, 3 females) were made by long term clinical observation including conventional clinical history and parameters. Teeth that showed pocket depth greater than 6mm were selected as sample teeth. Subjects were examined at baseline and after 3 months.

Prior to baseline test, individual acrylic stent was fabricated. Reference grooves were made on each sample tooth site. Pocket depth and attachment loss were measured by Florida Probe. Gingival index was measured at 4 sites each sample teeth. Disease activity was defined as attachment loss of  $\geq 2.1$ mm, as determined by sequential probing and tolerance method. The pattern and amount of alveolar bone resorption was observed with quantitative digital subtraction image processing radiography. Morphological analysis of subgingival bacteria was taken by phase contrast microscopy. Predominant cultivable bacterial distribution and frequency were compared between disease-active and disease-inactive site using immunofluorescence microscopy and selective microbial culturing. Levels of interleukin-1 $\beta$ , 2, 4, 6 and TNF- $\alpha$  in GCF and blood serum sample were quantified by ELISA.

In active sites, *P. intermedia* was significantly increased to compare with inactive site.

IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6 and TNF- $\alpha$  in GCF were increased in active sites and IL-2 in serum was increased in active patients significantly.

Alveolar bone loss in active site was correlated with IL-1 $\beta$ , IL-2 in GCF. And loss of attachment in active site was correlated with IL-2 in GCF.

These results demonstrate that IL-2 in serum, IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6 and TNF- $\alpha$  in GCF, *P. intermedia* might be used as possible predictors of disease activity in refractory periodontitis before it is clinically expressed as attachment loss and quantitative alveolar bone change.

Key words: IL-1 $\beta$ , 2, 4, 6, TNF- $\alpha$ , image processing, predictor of disease progression, refractory periodontitis