

치은 Arachidonic acid 대사산물의 억제약물에 관한 실험적 연구

전북대학교 치과대학 치주과학교실 및 약리학교실*
한세희 · 오귀옥* · 김형섭

I. 서론

치주질환은 인간에 있어서 주요한 치과질환으로써 35세 이상 환자의 치아상실의 대부분의 원인을 차지하고 있으며, 또한 65세 이상 노인의 90% 이상에서 치주질환유래의 부착상실이 보고되고 있다. 그런데 이러한 치주질환은 치은연하치태내의 특정세균들에 의해 발생하므로, 치주질환치료에 있어서 치태조절이 중요함은 말할 나위 없다. 그러나 치주질환을 설명에 있어서 특정 세균자체에만 비중을 두어서는 충분하지 못하다. 오히려 세균에 대한 숙주의 반응이 치주질환의 발생, 진행에 있어서 깊숙히 관여하고 있는 것으로 사료된다. 즉 일반적으로는 숙주의 면역체계가 숙주에 보호적으로 작용하여 염증부위를 극소화 시키거나 세균을 죽이기도 하지만, 치주질환에 있어서 세균이 계속 활동하면 숙주의 반응이 보호적이기보다는 파괴적으로 나타날수 있다¹⁾.

이러한 파괴적 숙주반응이 치주질환의 진행에 있어서 세포성 면역이나 체액성 면역에 어떠한 영향을 미치는 지를 알아보는 것은 흥미로운 일이다. 이러한 면역반응에 관여하는 매개체로서 치주조직내의 arachidonic acid(AA) 대사산물이 치주질환의 진행 및 치조골흡수에 관여하고 있다는 여러 학자들의 보고가 있었다²⁻⁴⁾ AA는 포유류 세포막의 phospholipids에 있는 지방산으로서 calcium-dependent phospholipase A₂나 phosphatidyl inositol-specific phospholipase C에 의해서 생성된다^{5,6)}. C 대사 산물로서는 안정성이 있는 prostaglandins(PGs), thromboxane A₂(TXA₂), prostacyclin(PGI₂)등이 있고, lipoxyge-

nase(L)대사산물로서는 hydroxyeicosatetraenoic acids(HETEs)와 leukotrienes(LTs)이 있다.

다형핵백혈구, 단핵구 및 기타 염증세포들이 5-lipoxygenation 과정을 거쳐 다양한 생물학적 활성을 갖는 HETEs나 LTs를 생성한다^{7,8)}. 이러한 대사산물중 주로 PGs, TXs, LTs는 염증의 강력한 생화학적 매개체이며 치주질환병인에 중요한 역할을 하고 있다.

AA대사산물은 치주질환에 있어서 혈관투과성증가, 혈관확장, 염증세포공급, 부종, 동통, 골흡수, collagen 파괴등에 관여하고 있다⁹⁾. 그외에 다형핵백혈구, 대식세포, 호염구, 호산구, 파골세포, 임파구, 평활근을 포함하는 표적세포의 기능을 조절하고 국소적 염증반응을 증진시킨다¹⁰⁾. Rifkin등¹¹⁾이 정상조직보다 염증치은에 있어서 AA대사산물인 PGE₂, TXA₂, PGI₂의 농도가 증가되는 것을 관찰보고함으로써, 이들 대사산물이 치주질환의 병인요소로서 중심적인 역할을 하는 것으로 추측되어 왔다. 특히 PGE₂는 널리 연구되어 왔는 바, in vitro 및 in vivo 연구를 통해 골흡수를 촉진하고, 골 collagen합성을 억제하며, 면역체계에 있어서 수많은 조절기능을 가지고 있는 것으로 알려져 있다¹²⁻¹⁷⁾. 한편 PGI₂는 혈관벽의 혈소판 응집 및 부착을 방해하고, 혈관투과성 및 혈관확장을 증가시키며, 통각과민을 일으키고, 골흡수를 촉진하는 것으로, 합성속도는 정상치은에서보다 염증치은에서 더 높은 것으로 알려져 있다¹⁸⁾.

한편 TXA₂는 혈소판이나 대식세포에 의해서 생성되며 혈소판 응집 및 부착을 촉진시킴으로써, PGI₂

와 반대역할을 하며, 실험적으로 야기된 염증성 삼출액에서 검출된다^{19, 20}, Sidhageri²¹ 등은 염증치은에 있어서 C¹⁴-AA의 L 주요 대사산물인 12-HETE가 가장 많이 전환된다고 보고하였는데, 12-HETE는 인간 혈소판, psoriasis를 갖는 epidermis, rat granulomatous inflammation, arthritic rats의 serum의 주요한 대사산물이다^{22, 23}. HPETEs, HETEs, LTs는 호중구의 chemokinetic, chemotactic, degranulating 효과가 있다²⁴. Meghji등²⁵은 12-HETE, 5-HETE, LTE₄ 등에 의해 골흡수가 촉진된다고 보고하였다. LTs는 염증과정에 있어서 급성 혈관변화의 매개체로 알려져 있으며, SRS-A(LTC₄ & LTD₄)는 terminal arterioles에 있어서 혈관수축 및 postcapillary로 부터 plasma leakage를 야기하며²⁶, LTB₄는 다형핵백혈구의 강력한 chemokinetic 및 chemotactic agent 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 이처럼 HETEs와 LTs 같은 L 산물의 생화학적 활성 역할에 대한 연구가 활발히 진행되고 있는 바²⁷, 치주질환에 따른 염증 및 골흡수의 광범위한 병리생리학적 과정에 깊이 관여하는 매개체로서의 AA대사산물의 중요성이 한층 증대되고 있다.

그런데 비스테로이드성 소염제(nonsteroidal antiinflammatory drugs : NSAIDs)가 AA대사에 영향을 미쳐서 PGs, TXs, PGL₂의 생성을 조절하는 것으로 알려져 있다. 본래 이 제제는 관절염 및 강직성 척추염과 같은 골격질환에 널리 사용되어왔으며, 또한 치주질환에서 치조골흡수를 감소시켜 주었다는 여러 학자들의 보고가 있다²⁸⁻³⁰.

이에 저자는 NSAIDs(aspirin, indomethacin, ibuprofen, flurbiprofen, naproxen)의 대부분이 C 대사산물의 생성을 억제하는 점에 착안하여, 최근 관심이 대두되고 있는 L 대사산물도 이 약제에 의해 억제되는지를 규명하고, 또한 AA-861같은 L 대사산물 생성 억제약물이 C 대사산물의 생성에도 영향을 미치는지를 알아보기위하여 본 연구를 시행하였다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험재료

[1-¹⁴C]-arachidonic acid(51.3mCi/mmol)은 New England Nuclear 제품을 사용하였고, 표준시약으로는 unlabeled arachidonic acid, leukotriene B₄ (LTB

₄), 5-hydroxyeicosatetraenoic acid (15-HETE), 12-hydroxyeicosatetraenoic acid(12-HETE), 15-hydroxyeicosatetraenoic acid (15-HETE), prostaglandin E₂ (PGE₂), thromboxane B₂ (TXB₂), 6-keto-PGF_{1α} 등은 Sigma Chemical Co. 제품을 사용하였으며, 반응억제물질인 indomethacin, aspirin, flurbiprofen, (s)-6-methoxy-α-methyl-2-naphthalene acetic acid (naproxen), α-methyl-4-[methylpropyl]-benzene acetic acid (ibuprofen)등은 Sigma Chemical Co. 제품을 사용하였으며, 2-(12-hydroxydodeca-5, 10-diyanyl)-3, 5, 6-trimethyl-1, 4-benzoquinone(AA-861)은 Wako Chemical Industries, LTD.의 제품을 사용하였다. 이외의 모든 시약은 특급시약을 사용하였다.

2. 조직 준비

치은박리판막수술 직전의 치주염환자 200명의 치주낭 기저부위로부터 치은조직을 취하여 즉시 -80℃이하에 보관하였다.

3. 효소반응액 및 arachidonic acid(AA) 대사산물의 추출

-80℃에서 보관중인 치은조직들을 0.2M Tris-HCl(pH 8.0) 완충용액으로 세척한후 세절하여 동일완충용액 10ml과 함께 glass homogenizer(Con-Torque Eberbach)로 homogenization한 다음에 1200xg, 4℃에서 10분간 원심분리하여 상층액을 얻어 이를 효소반응액으로 사용하였다. 반응은 이 효소반응액에 반응억제물질들을 각각 30분간 37℃의 5% CO₂ incubator에서 전부 위치시킨후 ¹⁴C-AA(0.2μCi)를 처리하여 37℃에서 시간동안 각기 반응시킨다음 acetone을 처리하여 반응을 종료시킨후 질소가스하에서 acetone은 증발시켰다.

대사산물의 추출은 6N HCl을 처리하여 pH 4.0 정도로 낮추어 산성조건에서 diethyl ether를 처리하여 유기용매층을 얻어 diethyl ether를 질소가스하에서 증발시키는 ether extraction과정을 3회 반복한후 chloroform-methanol (2 : 1)용액을 처리함으로써 fatty acid를 추출하여 thin layer chromatography(TLC)분리에 이용하였다. 표준시표들은 chloroform-methanol(2 : 1)용액에 녹여 TLC분리에 사용하였다. 반응억제물질들중 naproxen은 증류수로 녹여 사용

하였으며, aspirin, indomethacin, AA-861, ibuprofen, flurbiprofen 등은 ethanol에 녹여 반응액에서의 최종 ethanol 농도가 1%가 되게 하였다.

4. Thin layer chromatography(TLC)

TLC plate는 110°C에서 30분간 baking한 후 상온에서 식혀서 사용하였으며 전개 chamber는 미리 solvent로 포화시킨 후 사용하였다. Ether-chloroform 추출물을 silica gel plate (Silica Gel G, 0.25mm thickness, 20×20cm precoated glass plates)에 점적하여 두가지 용매조건으로 TLC 분리과정을 시행하였다. L산물(LTs, HETEs)은 solvent system I (petroleum ether-diethyl ether-acetic acid, 50 : 50 : 1)으로 분리하였으며, C산물(PGs, TXs)은 solvent system II (chloroform-methanol-acetic acid, 90 : 5 : 2)에서 약 2시간 동안 상승식 전개법으로 전개하였으며 분리가 끝난 후 전개말단부위를 표시 후 cool air drying 하였다. TLC로 분리한 후 plate내에 분리된 산물들은 TLC-analyzer (Berthold LB 2820-1)로 분석하였다 (sensitivity=0.7, peak reject=0, number of channel=9). 분석이 끝난 TLC plate는 deep freezer (-80°C)에서 7일간 autoradiography (Kodak X-omat AR film)하여 얻은 radioactive band와 TLC analyzer로 얻은 결과와 비교하였다. 표준시료인 HETEs, PGE₂, LTB₄, TXB₂ 등의 대사산물의 분리 위치는 iodine vapor나 50% H₂SO₄ spray로 확인하여 그 R_f 값을 측정하였다.

5. 단백질 정량

효소반응액의 단백질 정량은 Lowry⁶⁴⁾의 방법을 이용하였으며 표준시료는 bovine serum albumin을 사용하였다. 정량과정은 sample 1ml에 용액A(10% Na₂CO₃ in 0.5N NaOH) 15ml과 용액B(1% CuSO₄ · 5 H₂O) 0.75ml과 용액C(2% potassium tartrate) 0.75ml의 혼합물 1ml과 섞어 15분간 상온에서 반응시킨 후 0.2N Folin-phenol 용액 3ml과 잘 섞어 45분간 상온에서 반응시킨 후 660nm에서 흡광도를 측정하여 표준시료로 계산된 standard curve에 적용시켜 정량하였다.

III. 실험 결과

1. 치은 arachidonic acid 대사 양상

Fig. 1A와 Fig. 1B는 ¹⁴C-AA 대사산물을 TLC analyzer로 분석한 TLC chromatogram이며 동일 시료를 autoradiography로 나타낸 것이 Fig. 1C와 Fig. 1D이다. Solvent system I에서는 LTB₄, 5-HETE, 12-HETE, 15-HETE가 측정되었으나 12-HETE와 15-HETE는 chromatography peak 및 autoradiography band가 서로 분리되지 못하였으며 L 산물이지만 미확인 band가 최소한 4개가 관찰되었다 (Fig. 1A, Fig. 1C). Solvent system II에서는 TXB₂, PGE₂, 6-keto-PGE_{1α}와 같은 C산물과 L산물들이 동시에 측정되었으며 autoradiogram 상에서 6-keto-PGE_{1α}와 PGE₂가 각각 분리되어 나타났고 HETEs도 각기 다른 band로 뚜렷이 구분되었으나 동일 plate에 대한 chromatogram은 분리되지 않은 하나의 peak로 기록되었다 (Fig. 1B, Fig. 1D).

2. 염증 치은조직의 arachidonic acid 대사에 미치는 aspirin의 영향

aspirin은 염증치은조직의 AA대사양상에 큰 변화를 나타내어, L대사산물을 solvent system II으로 분리하여 본 결과에 의하면 (Table 1), LTB₄를 제외한 모든 산물이 aspirin 용량에 비례하여 현저히 억제되었으며, 특히 TXB₂와 PGs와 같은 C산물은 대조군에 비하여 aspirin 0.15, 1.5와 15mg/ml 투여시 각각 74.4, 52.7, 22.4%와 69.3, 39.9, 28.9%로 더욱 뚜렷한 감소현상을 보였다 (Fig. 2A). 한편 L산물이면서 LTB₄와는 달리 고농도 aspirin 투여시 통계적으로 유의한 억제효과를 나타내었던 HETEs 생산량에 대한 aspirin 효과를 따로 나타낸 것이 Table 2와 Fig. 2B이다. 전체 생산량은 12-HETE와 15-HETE를 합친 것이 5-HETE 보다 15배 가까이 많았으나 aspirin에 의하여 더욱 강력한 억제효과를 나타낸 것은 호중구에 다량 존재하는 것으로 알려진 5-HETE 생산이었다.

3. 염증치은조직의 arachidonic acid 대사에 미치는 indomethacin의 영향

Indomethacin은 염증치은조직의 모든 AA대사산물의 형성을 용량 비례하게 억제하였으며, 그 억제

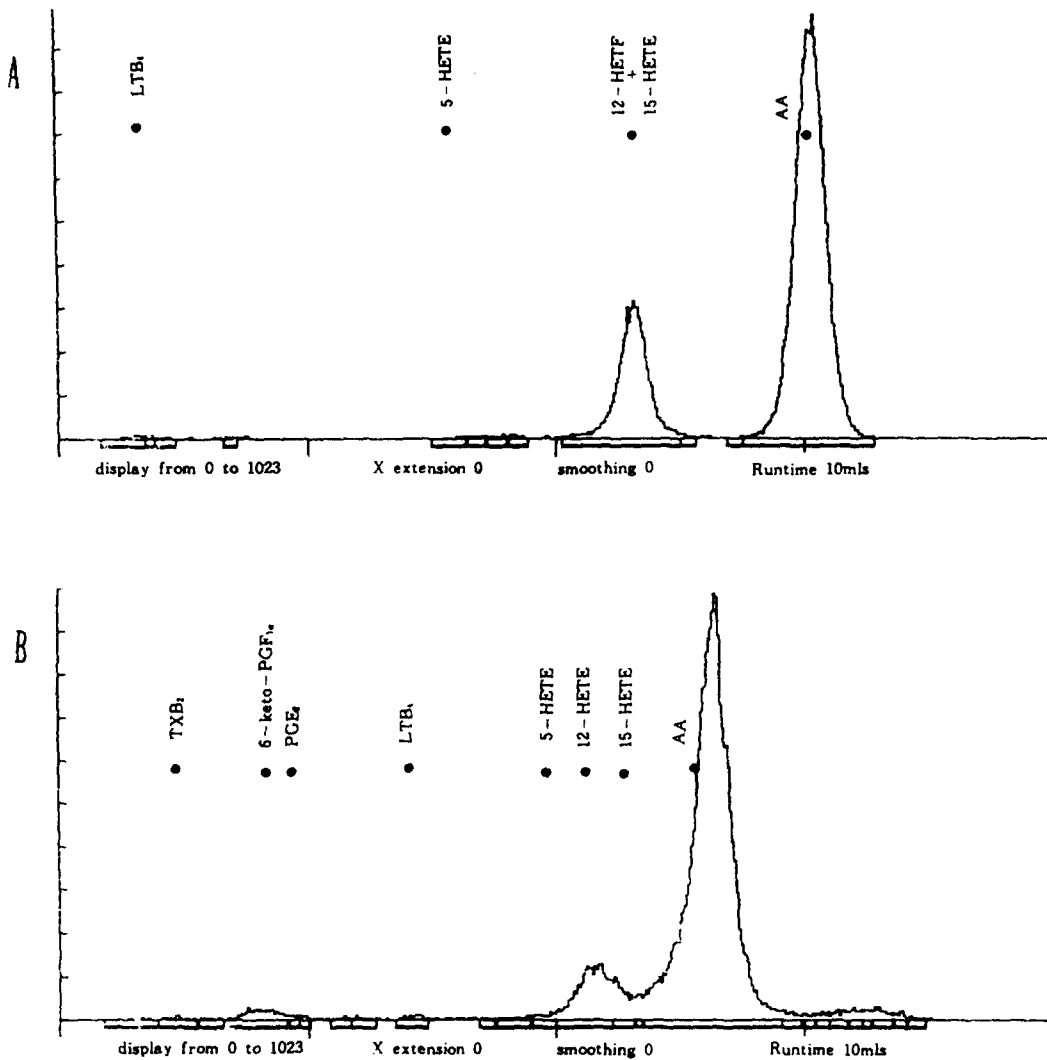


Fig. 1A & 1B. Thin layer radiochromatogram of products obtained after incubation of homogenates of periodontal tissue with ^{14}C -arachidonic acid. A. solvent system I : petroleum ether-diethyl ether-acetic acid(50 : 50 : 1, v/v/v). B. solvent system II : chloroform-methanol-acetic acid(90 : 5 : 2, v/v/v).

Fig. 1C & 1D. Autoradiograms of TLC separation of the ¹⁴C-arachidonic acid metabolites in periodontal tissue. C : solvent system I. D : solvent system II.

Table 1. Effects of aspirin on the arachidonic acid metabolism of periodontal tissue.

Treatment	Arachidonic acid metabolites ^a				
	TXB ₂	PGs ^b	LTB ₄	HETE _s ^c	
Control ^d	173±29 ^e	347±29	20±12	830±25	
Aspirin ^f	0.15mg/ml	120±25	263±23	17±11	663±97
	15mg/ml	67±7*	183±16*	23±13	737±74
	15mg/ml	50±4*	77±0*	20±0	573±40*
ANOVA	P<0.05	P<0.05	NS ^g	P<0.05	

Data are Mean±S. E.(n=3)

* : Statistically significant when compared to control by ANOVA and Scheffe Test (P<0.05)

^a : Arachidonic acid metabolites were separated by solvent system II (See materials and methods).

^b : PGE₂+6-keto PGE_{2α}

^c : 5+12+15-HETE

^d : 1% ethanol

^e : pmol/mg of protein/hr

^f : Aspirin was dissolved in 1% ethanol.

^g : Statistically not significant

Table 2. Effects of aspirin on the HETE-producing activity of periodontal tissue.

Treatment	Arachidonic acid metabolites ^a	
	5-HETE	12+15-HETE
Control ^b	120±19 ^c	1713±156
Aspirin 0.15mg/ml	67±15	1503±143
1.5mg/ml	43±4*	1553±101
15mg/ml	60±24	1090±32*
ANOVA	P<0.05	P<0.05

Data are Mean±S. E.(n=3)

* : Statistically significant when compared to control by ANOVA and Scheffe Test (P<0.05)

^a : Arachidonic acid metabolites were separated by solvent system I (See materials and Methods).

^b : 1% ethanol

^c : pmol/mg of protein/hr

효과는 특히 PGs에서 더욱 뚜렷하게 나타나 0.96 mM에서는 대조군의 39.3% 값을 보임으로써 aspirin과 유사한 양상을 보였으나, aspirin과의 차이점은 indomethacin의 경우 통계적 유의성은 없었으나 LTB₄의 형성을 용량비례하게 억제하는 결과를 나타낸다는 것이었다(Table 3, Fig 3A). Solvent system I으로 분리한 L 대사산물들을 상세히 비교하여보면 Table 4와 Fig 3B에서와 같이 모든 확인된 L 산물과 미확인 L 산물 2개 물질이 현저한 용량비례적 감소를 보임으로써 AA대사에 있어 indomethacin의 L pathway 억제효과를 증명할 수 있었다.

L 산물중 aspirin 투여에 의하여 별로 큰 감소를 보이지 못했던 LTB₄ 생산이 indomethacin에 의하여서는 가장 유의하게 억제되는 현상을 나타내었고 0.64mM indomethacin에서 억제효과가 거의 포화되는 양상을 나타냄으로써 다른 산물에 비하여 LTB₄가 비교적 저농도의 indomethacin에 의해 예민하게 반응한 것으로 보였다. 5-HETE 형성은 통계적 유의

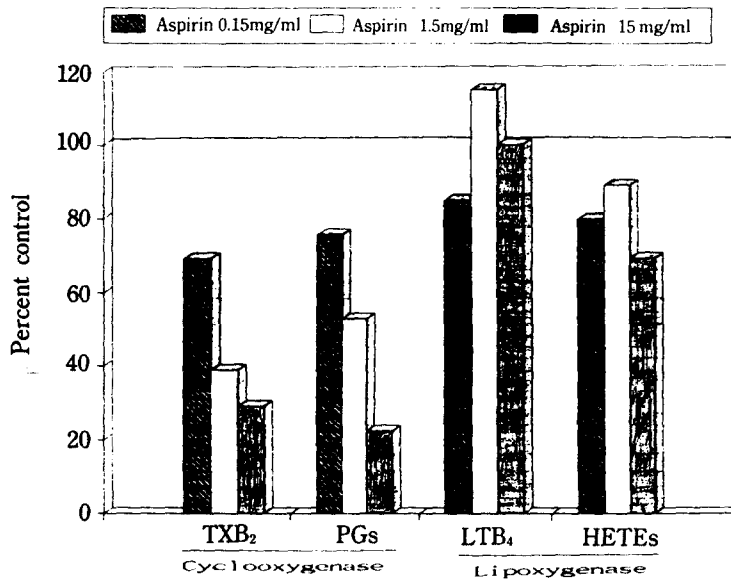


Fig. 2A. Dose-dependent of inhibition of aspirin on the production of arachidonic acid pathway metabolites

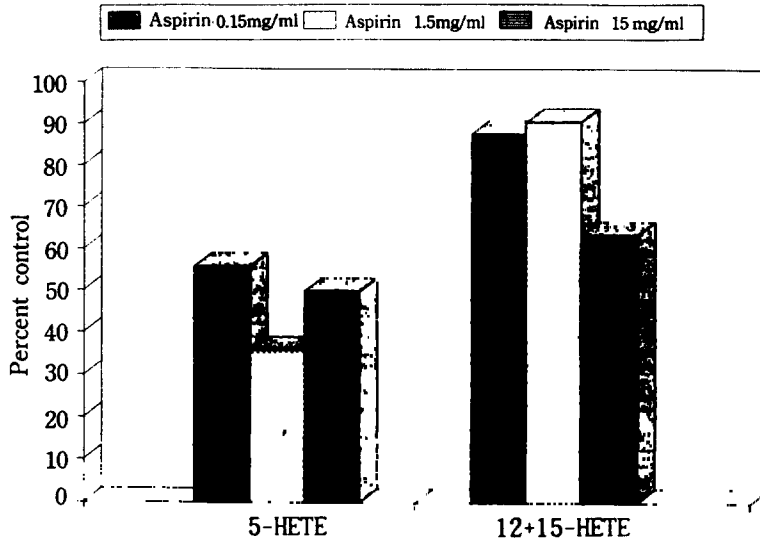


Fig. 2B. Effects of aspirin on the production of HETE of periodontal Tissue

Table 3. Effects of indomethacin on the arachidonic acid metabolism of periodontal tissue.

Treatment	Arachidonic acid metabolites ^a			
	TXB ₂	PGs ^b	LTB ₄	HETEs ^c
Control ^d	568±139 ^e	418±73	73±11	1503±282
Indomethacin	0.32mM	373±57	313±61	63±17
	0.64mM	242±36*	195±24*	55±10
	0.96mM	223±9*	64±6*	45±19
ANOVA	P<0.05	P<0.05	NS ^g	P<0.05

Data are Mean±S. E.(n=4-5)

* : Statistically significant compared to control by ANOVA and Scheffe Test (P<0.05)

^a : Arachidonic acid metabolites were separated by solvent system II (See materials and methods).

^b : PGE₂+6-keto PGE_{2α}

^c : 5+12+15-HETE

^d : 1% ethanol

^e : pmol/mg of protein/hr

성은 없었으나 역시 최고 31.2%로 감소되었고 12-HETE와 15-HETE의 총량은 통계적으로 유의한 용량비례적 감소를 보였으며 (P<0.05), 미확인 L 산물중 X₁은 indomethacin 0.32mM에서부터 대조군에 비하여 통계적으로 유의한 감소를 보임으로써 indo-

methacin에 대한 예민도가 가장 강한 것으로 나타났다(Table 1).

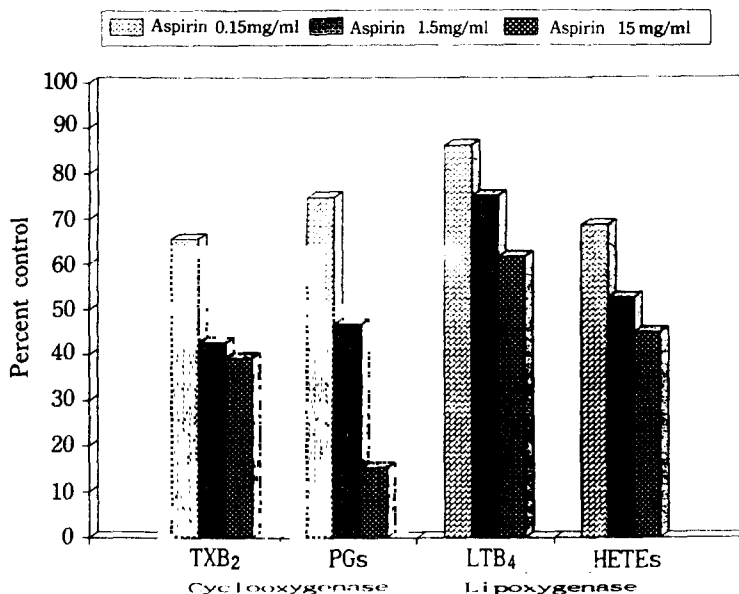


Fig. 3A. Dose-dependent inhibition of indomethacin on the production of various arachidonic acid metabolites of periodontal tissue(system II)

Table 4. Effects of indomethacin on the profile of lipoxygenase metabolites of periodontal tissue.

Treatment	Lipoxygenase metabolites ^a					
	LTB ₄	5-HETE	X ₁ ^b	12+15-HETE	X ₂ ^c	
Control ^d	96±16 ^e	240±82	382±54	417±40	230±30	
Indomethacin ^f	0.32mM	70±16	108±57	220±36*	354±34	168±18
	0.64mM	27±10*	88±24	152±26*	232±36*	130±23
	0.96mM	21±10*	75±38	84±34*	140±32*	63±25*
ANOVA	P<0.05	NS ^g	P<0.05	P<0.05	P<0.05	

Data are Mean±S. E.(n=5-7)

* : Statistically significant when compared to control by ANOVA and Scheffe Test (P<0.05)

^a : Arachidonic acid metabolites were separated by solvent system I (See materials and methods).

^{b,c} : Unidentified lipoxygenase metabolites.

^d : 1% ethanol

^e : pmol/mg of protein/hr

^f : Indomethacin was dissolved in 1% ethanol.

^g : Statistically not significant

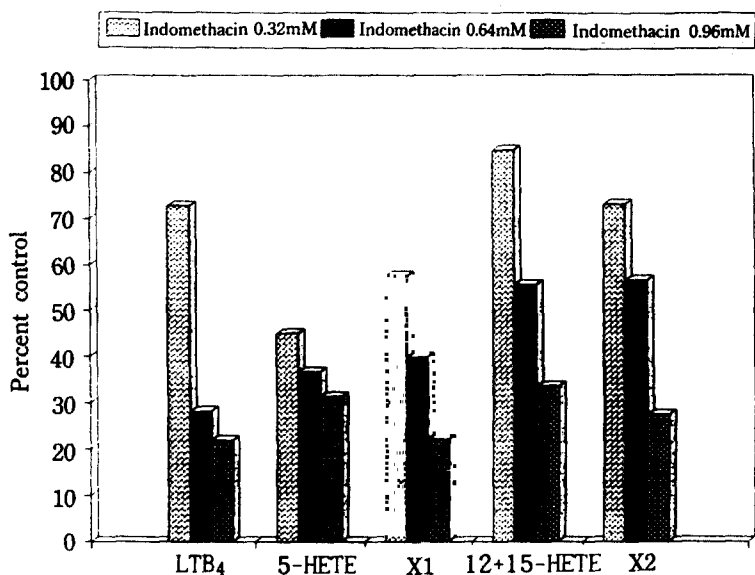


Fig. 3B. Dose-dependent effect of indomethacin on the profile of lipoxygenase metabolites of periodontal tissue (System I)

X1, X2 : Unidentified lipoxygenase metabolites

Table 5. Comparison of effects of various compounds on the arachidonic acid metabolism of periodontal tissue.

DRUG	Concentration	Arachidonic acid metabolites ^a			
		TXB ₂	PGs ^b	LTB ₄	HETEs ^c
AA861	100μM	96.4 ^{b,c}	112.0	167.1	29.9
Ibuprofen	1mM	76.4	43.7	266.6	66.0
Flurbiprofen	1mM	72.8	33.5	167.1	46.9
Naproxen	1mM	65.2	41.8	91.1	35.4

^a : Arachidonic acid metabolites were separated by solvent system II (See materials and methods).

^b : percent control AA861, Ibuprofen, Flurbiprofen : 1% ethanol
Naproxen : distilled water

^c : The results are representative of three independent experiments.

4. 염증치은조직의 arachidonic acid 대사에 미치는 lipoxygenase inhibitor AA-861의 영향

AA-861은 5-HETE 억제약물로 개발되었으나 본 실험에서는 HETEs가 따로 분리되지 않았다. HETEs는 AA-861의 100μM농도에서 29.9%로 현저하게 감소되었으나 오히려 LTB₄는 167.1%로 많이 증가

되어 L대사에서의 억제작용이 비교적 특이적으로 나타나는 양상을 보였지만 PGs, TXB₂에는 별 효과를 나타내지 못하였다 (Table 5, Fig. 4).

그러나 1mM같은 고농도 투여시 C대사산물도 감소되는 것이 관찰되었다 (Fig. 5).

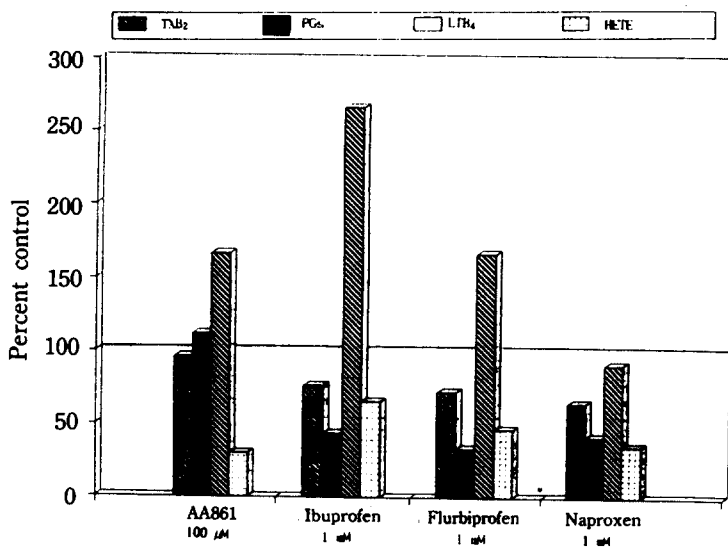


Fig. 4. Comparison of effects of various compounds on the arachidonic acid metabolism of periodontal tissue.

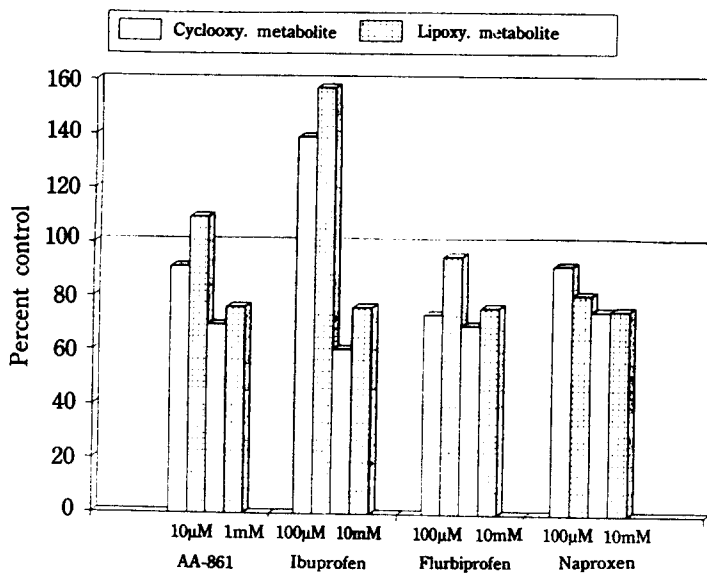


Fig. 5. Comparison of dose-related effects of various compounds on the production of cyclooxygenase and lipoxygenase metabolites of periodontal tissue.

The results are representative of three independent experiments.

5. 염증치은조직의 arachidonic acid대사에 미치는 비스테로이드성 소염제의 영향

이번 실험에 사용되었던 NSAIDs는 ibuprofen, flurbiprofen, naproxen으로 모두 propionic acid 유도체 C inhibitor로써 치주질환 보조 치료제로 널리 사용되고 있다. Table 5와 Fig 4에서보면 C 대사산물중 TXB₂는 1mM농도에서 약물에 따라 76.4%에서부터 65.2% 정도로 감소했고, PGs는 43.7%에서 33.5% 정도로 감소하였다. 그러나 LTB₄는 naproxen투여시만 제외하고 모두 증가하여 NSAIDs가 L산물중 LTB₄의 형성은 억제하지 못한 것으로 나타났다. 그러나 같은 L산물인 HETEs는 약물에 따라 35.4%에서부터 66.0% 정도로 감소되는 양상을 보여 propionic acid 유도체 NSAIDs의 L 억제작용은 전반적인 L 억제작용이 아닌 좀 더 specific한 L에 대한 작용으로 보여진다. 한편 Fig. 5에서 처럼 농도별 NSAIDs의 효과를 보면 저농도에서는 C 억제작용이 더 뚜렷하나 고농도로 가면 L에 대한 억제작용도 같이 나타나는 것으로 보이니 naproxen은 그러한 현상을 보이지 않았다.

IV. 총괄 및 고안

치주조직의 염증반응으로 숙주에서 생성되는 생물학적 활성물질에 관한 규명은 감염에 의한 지지 결합조직이나 골의 파괴기전을 이해함에 있어 직접적인 수단이 된다. 그중 AA대사산물은 염증 및 조직파괴에 있어 중요한 역할을 한다^{31, 32}

AA는 free acids로서 대사되거나, 체내에서는 주로 세포막의 phospholipids로서 존재한다. Phospholipids로부터의 AA분비는 phospholipase A₂나 phospholipase C₂와 diglyceride lipase에 의해 조절된다.

Free AA는 대부분 동물세포의 microsomal fraction에 존재하는 fatty acid cyclooxygenase (prostaglandin synthetase)와 lipoxigenase에 의해 대사된다. C에 의하여 1차적으로 매우 불안정한 cyclic endoperoxide가 형성되며 이는 다시 prostaglandin endoperoxidase에 의해서 prostaglandin G₂ (PGG₂)나 prostaglandin H₂(PGH₂)로, 효소적 또는 비효소적 과정을 거쳐 PGI₂나 TXA₂으로, 그리고 안정된 prostaglandin인 PGE₂나 PG_{1α}로 대사된다.

한편 L은 free AA를 hydroxy 유도체들인 hydrope-

roxycosatetraenoic acids (HPETEs)로 전환시킨다. HPETEs는 glutathione peroxidase나 비효소적으로 corresponding hydroxycosatetraenoic acids (HETEs)로 환원된다. 이는 HETEs나 불안정한 HPETEs는 그 자체로서는 강력한 생물학적 활성을 지니며, 한편 조직 특이적 효소계를 통하여 각종 LTs으로 전환되어 이들 LTs가 또 다른 활성을 나타내기도 한다. LTs는 LTA₄, LTB₄, LTC₄, LTD₄, LTE₄로 구분될수있으며 allergy반응의 주요 매개체인 slow-reacting substance in anaphylaxis(SRS-A)는 LTC₄, LTD₄, LTE₄의 혼합물로 구성된다^{33, 34} 본 실험에서는 L과 C의 활성을 치주조직으로부터 assay하기위하여 외인성 AA를 염증치은조직과 같이 반응시켜 최종산물을 측정하였다. 그결과 C대사산물로서 6-keto-PGF_{1α}, PGE₂, TXB₂들이 측정되었고, L 대사산물로서는 LTB₄, 5-HETE, 12-HETE 등이 측정되었으며, 이러한 결과는 Elattar³⁵, 김³⁶의 결과와 거의 일치하였다.

골조직의 흡수는 여러 약물 또는 호르몬의 영향을 받으며, 이 중 다양한 생물학적 작용을 나타내는 AA에 관하여는 대사산물의 일종인 PGs이 장기배양 시 골흡수를 촉진 시킨다는 Klein과 Raisz³⁷의 보고 이래 많은 연구가 진행되어왔다.

PGE₂는 파골세포의 활성화 이외에도 골조직의 흡수가 밀접한 관계가 있는 유산형성 및 용해소체의 유리를 촉진시키며, 교원섬유의 합성도 억제시킨다³⁸⁻⁴⁰. 또한 PGE₂는 생리적 골흡수의 유도체이며, 치아이동시의 골 재구성같은 생리적 과정이외에도 골수염, 류마티성 관절염, 악성종양에서의 골용해 또는 파골세포증같은 병적조건에 있어서도 골흡수에 관여한다.

한편 Meghji등은 조골세포에 의해 HETEs나 LTs등과 같은 L 대사산물이 생성되며, 이들에 의해 골흡수가 촉진된다고 보고함으로써, L 대사산물도 골조직대사의 국소적 조절물질로 중요한 역할을 할 수 있음을 암시하였다. 그러나 김⁴¹은 HETEs나 LTs가 장기배양하는 동안 골흡수에 아무런 영향을 미치지 못했다고 주장하였다.

지금까지 살펴본 바와 같이 AA대사산물중 C 대사산물이나 L 대사산물 모두가 치주질환진행 및 골흡수에 깊이 관여하고 있다고 사료된다. 이에 저자는 강력한 C 대사산물 inhibitor로 알려진 비스테로

이드성 소염제중 많이 사용되는 ibuprofen, flurbiprofen, naproxen, indomethacin, aspirin을 이용하여 C 대사과정 뿐만아니라 L 대사과정도 어느정도 억제되는지를 살펴보는 것이 필요할 것으로 사료되었다. 또한 저자는 강력한 5-L inhibitor로서의 AA 861 5-HETE 뿐만아니라 12-HETE, LTs 및 C 대사산물에 어떠한 영향을 끼치는지도 살펴보고자 하였다. 여러 학자들에 의해 NSAIDs가 치조골 흡수 억제 및 치료후 치유에 효과가 있음이 보고되었으며, C 대사과정 뿐만아니라 5-L 대사과정을 더욱 크게 억제하였으며, 11-L과 15-L 대사과정에도 억제작용이 있음이 보고되었다⁴²⁻⁴⁵⁾ 본 실험결과 aspirin은 농도에 따라 C 과정의 억제를 뚜렷히 보였으나 HETEs에 대해서는 고농도에서만 약간 억제하는 효과를 보였다. Paajanen등⁴⁶⁾은 aspirin이 C, L 과정에 대하여 동시에 억제효과를 보인다고 하였으나, 본 실험에서는 aspirin은 15mg/ml농도에서만 통계적으로 유의하게 HETEs의 억제효과를 나타내었다. Indomethacin은 PGs의 합성을 억제할 수 있고, 장기배양시 골흡수를 거의 완전히 감소시키며^{47,48)}, Nyman등⁴⁹⁾은 개에 있어서 치조골 흡수를 억제한다고 발표하였다. 이에 본 실험에 있어서도 C 과정 및 L 과정 모두 dose-dependent하게 억제되고 있는 것은 김등의 연구와 일치한다. 이러한 실험결과는 indomethacin이 치주질환 및 골흡수에 대해 억제효과를 나타낼 수 있는 약제임을 시사하는 것으로 사료된다.

Propionic acid 유도체 중 3가지 약제 ibuprofen, flurbiprofen, naproxen은 NSAIDs로서 동물 및 인간 실험에서 치주질환 및 골흡수를 억제함이 다수 보고되어왔다. 즉 naproxen은 치태에 의한 염증소견을 억제하지는 못하나, 치태제거후의 조직 치유를 향상시키며⁵⁰⁻⁵²⁾, Howell등⁵³⁾은 개 실험에서 30일 이상 사용할 경우 내성에 의해 억제효과가 약 100배 정도 감소하는 것을 보고하였다. 그리고 naproxen은 AA 대사산물중 C 산물을 억제하나, 활성화된 대식세포나 임파구세포들에 의해 생성되는 interleukin(IL-1), complement proteins, kinins 및 내독소에 의한 내인성 염증매개물에는 효과가 없는 것으로 추정되어진다. 그러므로 naproxen은 일반적으로 연조직염증보다는 골과피에 관여하는 AA대사의 C 과정을 억제하는 것으로 추정할수 있다.

한편 ibuprofen, flurbiprofen등은 치조골흡수가

활발한 치주질환의 악화에 효과가 나타나지만 휴지기에 있어서는 분명한 효과가 없다. Jeffcoat등⁵⁴⁾은 flurbiprofen이 수많은 동물 및 인간 실험에서 치조골흡수를 억제하고, 치조골흡수의 속도를 늦출 수 있다고 발표하여 치주질환환자의 골대사에 영향을 줄수 있다고 보고하였다. Willams등⁵⁵⁻⁵⁹⁾은 indomethacin과 flurbiprofen이 치은열구액의 PGE₂, TXA₂, 6-keto-PGF_{1α}의 생성을 억제하는데는 비슷한 효과를 보이거나 골흡수억제효과는 flurbiprofen이 더 우수하였다고 보고하였다.

Vogel등⁶⁰⁾은 NSAIDs를 전신적으로 투여하여 분명한 효과가 없는데 반하여, 국소적 스테로이드성 약제가 치은염증을 상당히 억제한다고 보고하였으나, 스테로이드성 약제를 치주질환치료시 상용으로 사용하기는 어렵다. 현재까지 NSAIDs의 국소적 사용 방법이 없으나, 앞으로 개발해 나가야 할 소지가 있는 것으로 사료된다.

본 실험에서도 ibuprofen, flurbiprofen, naproxen 모두가 C와 L대사산물에 대해 dose-dependent 억제효과를 나타내 치주질환치료에 있어 보조약제로서 유용할 것으로 사료된다.

Tamai등^{61,62)}은 인간치은이나 혈소판의 12-lipoxygenase activity가 EDTA에 의해서 억제되고, Ca⁺⁺를 첨가하면 다시 회복되며, 치은 12-lipoxygenase는 AA-861에 의해 억제되었다고 보고하였다. 또한 carrajeenan으로 처리된 치은은 EDTA나 Ca⁺⁺에 영향을 받지 않았으나, AA-861의 농도의 정도에 따라서는 억제되었다고 보고하였다.

본 실험에서는 AA-861은 5-lipoxygenase inhibitor로서 HETEs에 대해서는 29.9%로 상당히 억제하였으나, PGs에 대해서는 112%, LTb₄에 대해서는 167.1%로 증가하는 양상을 보여 아직 lipoxygenase inhibitor가 실험적 약제임을 알게 되었다. C와 L 대사산물을 모두 억제시킬 수 있는 BW755C나 ETYA같은 약제가 선택적으로 C 산물을 억제시키는 NSAIDs보다 좀 더 효과적 일 수 있다⁶³⁾. 그러므로 앞으로의 과제는 C 과정 대사산물과 L 과정 대사산물 모두를 확실하게 억제할 수 있는 약제의 개발이 요구된다. 약물전달방법에 있어서도 경구용뿐만아니라 치주낭 및 치은조직에 직접 전달할 수 있는 방법이 개발되어야 적은 농도로서 충분한 효과가 기대될 수 있다고 사료된다. 또한 치주질환진행과정에 관여하

는 AA 대사 뿐만 아니라, IL-1, tumor necrosis factor, complement protein 등 다른 매개체의 성질도 확실히 구명하여 숙주면역반응을 조절할 수 있는 약제의 개발이 치주질환치료후의 보조적 수단으로써 기계적 치료후의 치유를 촉진할 뿐만 아니라, 연조직 염증완화 및 골조직흡수억제를 확실히 할 수 있는 계기가 될 것으로 사료된다.

V. 결 론

치주질환의 병인론과 관련하여 arachidonic acid (AA) 대사산물을 형성하는 두 효소계인 cyclooxygenase(C), lipoxygenase(L)의 대사산물생성 양상을 관찰하기 위하여 염증치은조직과 ¹⁴C-AA를 반응시켜 반응액에 형성된 각종 산물을 thin layer chromatography(TLC)로 분리 정량하고, AA 대사산물 억제 물질인 aspirin, indomethacin, AA-861, ibuprofen, flurbiprofen, naproxen을 사용하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. L 대사산물로서는 LTB₄, 5-HETE, 12-HETE, 15-HETE의 순으로 TLC상에서 분리되었으며, C 대사산물로서는 TXB₂, 6-keto-PGF_{1α} 및 PGE₂가 측정되었고 최소한 1개 이상의 미확인 C 대사산물이 관찰되었다.
2. Aspirin은 C 대사산물인 TXB₂와 PGs에 대해 1.5 mg/ml, 15mg/ml 농도에서 통계적으로 유의하게 감소효과를 나타냈으나(P<0.05), L 대사산물중 LTB₄에 대해서는 효과가 없었고, HETEs에 대해서는 고농도에서 억제효과를 나타냈다.
3. Indomethacin은 C 대사산물중 0.64mM과 0.96 mM에서 농도에 따라 감소효과를 나타냈으며 통계적으로 유의하였다(P<0.05). 그러나 L 대사산물중 LTB₄, HETEs 모두에 대해 감소효과를 나타냈으나 통계적으로 유의하지 않았다.
4. AA-861은 HETEs를 100μM농도에서 29.9%로 현저하게 감소시켰으나 오히려 LTB₄를 167.1%로 증가시켰고, PGs과 TXB₂에는 별효과가 없었다. 그러나 1mM 같은 고농도 투여시 C 대사산물도 감소되는 것이 관찰되었다.
5. Ibuprofen, flurbiprofen 및 naproxen은 AA대사산물에 대한 효과는 C 대사산물생성을 크게 억제하였다. 그러나 L 대사산물중 HETEs에 대해

서는 억제하였으나, LTB₄에 대해서는 증가시켰거나 효과가 없었다. 고농도인 10mM을 투여하였을 경우에는 C 대사산물뿐만 아니라 L 대사산물도 감소하였다.

참 고 문 헌

1. Page, R. C. & Schroeder, H. E. : Periodontitis in Man and other Animals. A Comparative Review, Basel : S. Karger, 1982.
2. Vane, J. R. : Prostaglandins as mediators of inflammation. In : Advances in Prostaglandins and Thromboxane Research. ed. Samuelsson, B. and Paoletti, R., Vol. 2, New York : Raven Press, pp.791-801, 1976.
3. Samuelsson, B. : Prostaglandins, thromboxanes and leukotrienes biochemical pathways, prostaglandins and Related Lipids, 2 : 1-19, 1982.
4. Dewhirst, F. E., Moss, D. E., Offenbacher, S. & Goodson, J. M. : Levels of Prostaglandin E₂, thromboxane, and prostacyclin in periodontal tissues, J. Perio. Res., 18 : 156-163, 1983.
5. Chapman, D. : Lipid dynamics in cell membranes. In : Cell Membranes, ed. Weissman, G. & Clairborne, R., New York : HP Publishing Company, pp.13-23, 1975.
6. Kuehl, F. A. Jr. & Egan, R. W. : Prostaglandins, Arachidonic acid, and inflammation, Science, 210 : 978-984, 1980.
7. Goetzl, E. J., Hill, H. R. & Gorman, R. R. : Unique aspects of the modulation of human neutrophil function by 12 L-hydroperoxy-5, 8, 10, 14-eicasatetraenoic acid, Prostaglandins, 19 : 71-85, 1980.
8. Samuelsson, B. : Leukotrienes : mediators of immediate hypersensitivity reactions and inflammation, Science, 220 : 568-575, 1983.
9. Solomon, L. N., Julhin, L. & Kirschenbaum, M. B. : Prostaglandin on cutaneous vasculature, J. of Invest. Dermatol., 51 : 280-282, 1968.
10. Collier, J. G., Karim, S. M. M., Robinson, B. &

- Somers, K. : Action Prostaglandins A₂, E₁, E₂ and F₂ on superficial hand veins of man, *Br. J. of Pharmacol.* 44 : 374–375, 1972.
11. Rifkin, B. R. & Tai, H. H. : Elevated thromboxane B₂ levels in periodontal disease, *J. Perio. Res.*, 16 : 194–198, 1981.
 12. Dietrich, J. W., Goodson, J. M. & Raisz, L. G. : Stimulation of bone resorption by various prostaglandins in organ culture, *Prostaglandins*, 10 : 231–240, 1975.
 13. Elattar, T. M. A. : Prostaglandin E₂ in human gingiva in health and disease and its stimulation by female sex steroids. *Prostaglandins*, 11 : 331–341, 1976.
 14. Elattar, T. M. A. & Lin, H. S. : Prostaglandins in gingiva of patients with periodontal disease, *J. periodontol.*, 52 : 16–19, 1981.
 15. Goldhaber, P. & Rabadjija, L. : Influence of pharmacologic agents on bone resorption. In : *Host-Parasite Interactions in Periodontal disease*, ed. Genco, R. J. and Mergenhagen S. E., Washington : ASM, pp. 363–375, 1982.
 16. Offenbacher S., Odle B. M. & Van Dyke T. E. : The use of crevicular fluid prostaglandin E₂ levels as a measure of the periodontal disease status of adult and juvenile periodontitis patients, *J. Perio. Res.*, 19 : 1, 1984.
 17. Raisz, L. G. & Martin, T. J. : Prostaglandins in bone and mineral metabolism. In : *Bone and Mineral Research*, ed. Peck, W. A., Ann. 2, New York : Elsevier. pp.286–310, 1984.
 18. Dusting, G. J., Moncada, S. & Vane, J. R. : Prostacyclin(PGI₂) is the endogenous metabolite responsible for relaxation of coronary arteries induced by arachidonic acid, *Prostaglandins*, 13 : 3–16, 1977.
 19. Ellis, E. F., Oelz, O., Robert, L. J., Payne, N. A., Sweetman, B. J., Nies, A. S. & Oates, J. A. : Coronary artery smooth muscle contraction by a substance released from platelets : Evidence that it is thromboxane A₂, *Science*, 193 : 1135–1137, 1976.
 20. Ohuchi, K., Levine, L., Sato, H. & Tsurufuji, S. : Prostaglandins E₂, F_{2a}, 6-keto-F_{1a}, and thromboxane B₂ levels in carrageenan induced inflammatory exudates in the rat air-pouch granuloma, *Prostaglandins and Medicine*, 2 : 293–297, 1979.
 21. Sidhagen, B., Hamberg, M. & Fredholm, B. B. : Formation of 12-Hydroxyeicosa-tetraenoic acid(12-HETE) by gingival tissue, *J. Dent. Res.*, 61 : 761–763, 1982.
 22. Belch, J. J. F. : Eicosanoids and rheumatology : inflammatory and vascular aspects. *Prostaglandins Leukotrienes Essential Fatty Acids*, 36 : 219–234, 1989.
 23. Elattar, T. M. A. & Lin, H. S. : Relative conversion of arachidonic acid through lipoxygenase and cyclooxygenase pathways by homogenates of diseased periodontal tissues, *J. of Oral Pathol.*, 12 : 7–10, 1983.
 24. Ford-Hutchinson, A. W., Bray, M. V., Doig, M. V., Shipley, M. E. & Smith, M. J. : Leukotriene B₄, a potent chemokinetic and aggregating substance released from polymorphonuclear leukocytes, *J. Exp. Med.*, 148 : 787–792, 1980.
 25. Meghji, S., Sandy, J. R., Scutt, A. M., Harvey, W. & Harris, M. : Stimulation of bone resorption by lipoxygenase metabolites of arachidonic acid, *Prostaglandins*, 36 : 139–149, 1988.
 26. Murphy, R. C., Hammarström, S. & Samuelsson, B. : Leukotriene C : A slow reacting substance from murine mastocytoma cells, *PNAS USA*, 76 : 4276–4279, 1979.
 27. Yoshimoto, T., Yokoyama, C., Ochi, K., Yamamoto, S., Maki, Y., Ashida, Y., Terao, S., and Shiraishi M. : 2, 3, 5-Trimethyl-6-(12-hydroxy-5, 10-oxo-ecadynyl)-1, 4-benzoquinone(AA 861), a selective inhibitor of the 5-lipoxygenase reaction and the biosynthesis of slow reacting substance of anaphylaxis, *Biochem. Biophys. Acta.*, 713 : 470–473, 1982.
 28. Waite I. M., Saxton C. A. & Young A. : The periodontal status of subjects receiving nonste-

- roidal anti-inflammatory drugs, *J. Perio. Res.*, 16 : 100, 1982.
29. Williams R. C., Jeffcoat M. K. & Howell T. H. : Altering the progression of human alveolar bone loss with the nonsteroidal anti-inflammatory drug flurbiprofen, *J. Periodontol.*, 60 : 485–490, 1989.
 30. Williams R. C., Jeffcoat M. K. & Howell T. H. : Indomethacin or flurbiprofen treatment of periodontitis in beagles : Effect on bone loss, *J. Perio. Res.*, 22 : 403, 1987.
 31. Higgs, G. A., Bunting, S., Moncada, S. & Vane, J. R. : Polymorphonuclear leukocytes produce thromboxane A₂-like activity during phagocytosis, *Prostaglandins*, 12 : 749–757, 1976.
 32. Wong, P. Y. K., Ross, J. R. & Sticht, F. D. : Metabolism of arachidonic acid in inflamed gingiva I. Formation of 6-keto-prostaglandin F_{1α}, *J. Dent. Res.*, 59 : 670–674, 1980.
 33. Salmon J. A., Riggs G. A. : Prostaglandins and leukotrienes as inflammatory mediators, *Br. Med. Bull.*, 43 : 285, 1987.
 34. Ohm, K., Albers, H. K. & Lisboa, B. P. : Measurement of eight prostaglandins in human gingival and periodontal disease using high pressure liquid chromatography and radiimmunoassay, *J. Perio. Res.*, 19 : 501–511, 1984.
 35. Elattar, T. M. A., Lin, H. A., Killoy, W. J., Vanderhoek, J. Y. & Goodson, J. M. : Hydroxy fatty acids and prostaglandin formation in diseased human periodontal pocket tissue, *J. Perio. Res.*, 21 : 169–176, 1986.
 36. Kim, O. H., Kim, H. S. & Oh, K. O. : Tissue destroying factors in periodontal disease and inhibiting drugs, *Korean J. Oral Bio.*, 12 : 71, 1988.
 37. Klien, D. G. & Raisz, L. G. : Prostaglandins : Stimulation of bone resorption in tissue culture, *Endocrinology*, 86 : 1436, 1970.
 38. Elion, G. & Raisz, L. G. : Comparison of the effects of stimulators and inhibitors of resorption on the release of the lysosomal enzymes and radioactive calcium from fetal bone in organ culture, *Endocrinology*, 103 : 1969, 1978.
 39. Lerner, U. : The effect of dibutyryl cyclic AMP and PGE₂ on lysosomal enzyme release and lactate production in relation to bone resorption in vitro, *Acta Physiol. Scand.*, 110 : 123, 1980.
 40. Lerner, U. & Gustafson, G. T. : Inhibitory effect of dibutyryl cyclic AMP on the release of calcium, inorganic phosphate and lysosomal enzymes from calvarial bones cultured for 24 hours, *Acta Endocrinol.*, 91 : 739, 1979.
 41. Kim, H. S., Oh, K. O. & Jang, K. W. : Studies on the bone resorption of the arachidonic acid metabolites in vitro. *Korean J. Oral Biol.*, 15 : 71, 1991.
 42. Feldman, R. S., Szeto, B., Chauncy, H. H. & Goldhaber, P. : Nonsteroidal anti-inflammation drugs in the reduction of human alveolar bone loss, *J. Clin. Periodontol.*, 10 : 131–136, 1983.
 43. Feldman, R., Szeto, B. & Chauncey, H. : Nonsteroidal anti-inflammatory drugs in the reduction of human alveolar bone loss, *J. Perio. Res.*, 21 : 131, 1986.
 44. Waite, I., Saxton, C. & Young, A. : The periodontal status of subjects receiving nonsteroidal anti-inflammatory drugs, *J. Perio. Res.*, 19 : 100, 1981.
 45. Vogel, R. I., Schneider, L. & Goteiner, D. : The effects of a typical action nonsteroidal anti-inflammatory drug on ligature-induced periodontal disease in the squirrel monkey, *J. Periodontol.*, 21 : 139, 1986.
 46. Paajanen, H., Mannisto, J. & Uotila, P. : Aspirin inhibits arachidonic acid metabolism via lipoxygenase and cyclooxygenase in hamster isolated lungs, *Prostaglandins*, 23 : 731–741, 1982.
 47. Weeks-dybvig, M., Sanavi, F., Zander, H. & Barry, R. R. : The effect of indomethacin on alveolar bone loss in experimental periodontitis, *J. Perio. Res.*, 117 : 90–100, 1982.
 48. Weeks-Dybvig, M., Sanavi, F. & Zander, H. :

- The effect of indomethacin on alveolar bone loss in experimental periodontitis, *J. Perio. Res.*, 17 : 90, 1982.
49. Nyman, S., Schroeder, H. E., & Lindhe, J. : Suppression of inflammation and bone resorption by indomethacin during experimental periodontitis in dogs, *J. Periodontol.*, 50 : 450, 1979.
 50. Williams, R. C., Jeffcoat M. K., & Howell, T. H. : Naproxen treatment of periodontitis in beagles, *J. Dent. Res.*, 68(Special Issue) : 243(Abstr. 491), 1989.
 51. Jeffcoat, M. K., Page, R. C. & Reddy, M. S. : Naproxen as an adjunct in the treatment of rapidly progressive periodontitis, *J. Dent. Res.*, 68 : (Special Issue) : (Abstr. 1055), 1989.
 52. Johnson, R. H., Armitage, G. C., Francisco, C. & Page, R. C. : Assessment of efficacy of a nonsteroidal anti-inflammatory drug, Naprosyn® , in the treatment of gingivitis, *J. Perio. Res.*, 25 : 230–235, 1990.
 53. Howell, T. H., Jeffcoat, M. K., Golhaber, P. & Reddy, M. S. : Inhibition of Alveolar bone loss in beagles with the NSAID Naproxen, *J. Perio. Res.*, 26 : 498–501, 1991.
 54. Jeffcoat, M. K., Williams, R. C. & Reddy, M. S. : Flurbiprofen treatment of human periodontitis : effect on alveolar bone height and metabolism, *J. Perio. Res.*, 23 : 381, 1988.
 55. Jeffcoat, M. K., Williams, R. C. & Wechter, J. G. : Flurbiprofen treatment of periodontal disease in beagles, *J. Perio. Res.*, 21 : 624, 1986.
 56. Offenbacher, S., Braswell, L. D., & Loos, A. S. : Effects of flurbiprofen on the progression of periodontitis in *Macaca mulatta*, *J. perio. Res.*, 22 : 473, 1987.
 57. Williams, R. C., Jeffcoat, M. K. & Howell, T. H. : Topical flurbiprofen treatment of periodontitis in beagles, *J. perio. Res.*, 23 : 166, 1988.
 58. Williams, R. C., Jeffcoat, M. K. & Howell, T. H. : Ibuprofen : an inhibitor of alveolar bone loss in beagles, *J. Perio. Res.*, 23 : 225, 1988.
 59. Williams, R. C., Jeffcoat, M. K. & Kaplan, M. L. : Flurbiprofen : a potent inhibitor of alveolar bone resorption in beagles, *Science*, 227 : 640, 1985.
 60. Vogel, R. I., Copper, S. A. & Schneider, L. G. : The effect of topical steroidal and systemic nonsteroidal anti-inflammatory drugs on experimental gingivitis in man, *J. Periodontol.*, 55 : 247, 1984.
 61. Tamai, K., Dohi, T., Ogawa, T., Okamoto, H. & Tsujimoto, A. : Some properties of gingival 12-lipoxygenase activity in human and dog, *Archs. Oral Biol.*, 35 : 575–581, 1990.
 62. Tamai, K., Dohi, T., Yoghino, H., Shirakawa, M., Okamoto, H. & Tsujimoto, A. : Stimulation by carrageenan of arachidonate 12-lipoxygenase activity in dog gingival tissue, *Archs. Oral Biol.*, 36 : 913–917, 1991.
 63. Higgs, G. A., Palmer, R. M. J., Eakins, K. E. & Monocada, A. : Arachidonic acid metabolism as a source of inflammatory mediators and its inhibition as a mechanism of action for anti-inflammatory drugs, *Molecular aspects of Medicine*, 4 : 275–301, 1981.
 64. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., and Randall, R. J. : Protein measurement with the Folin Phenol reagent, *J. Biol. Chem.* 193 : 265–275, 1951.

EFFECTS OF INHIBITORY DRUGS ON THE ARACHIDONIC ACID METABOLISM OF PERIODONTAL TISSUE

Se-Hee Han, Kwi-Ok Oh*, Hyung-Seop Kim

Dept. of Periodontology, College of Dentistry, Chonbuk National University

**Dept. of Pharmacology, Chonbuk National University*

The bone resorbing activity of PGE₂ and elevated level of prostaglandins(PGs) and thromboxanes (TXs) in inflamed gingiva which are cyclooxygenase(C) metabolites have been well documented. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs(NSAIDs) have been known to suppress gingival inflammation and bone resorption through the specific inhibitory action on the C pathway thereby decrease of various C metabolites. Recent studies provide unequivocal results that gingival tissue metabolizes arachidonic acid(AA) mainly through lipoxygenase(L) pathway. And the results of our previous experiments suggest that indomethacin may have inhibitory action on L as well as C. Thus we started this study to show the influences of several C inhibitors on the L activity at therapeutic and toxic dosage.

Periodontal tissue samples were obtained from patients with advanced periodontitis and incubated with ¹⁴C-AA(0.2μCi) and various enzyme inhibitors. The tissue lipid extracts were separated by means of thin layer chromatography(TLC) and analyzed by means of autoradiography and TLC analyzer.

Our results showed that aspirin inhibited C more selectively than L, however at higher concentration it also decreased HETEs production significantly. Indomethacin showed dose-dependent inhibition of L as well as C and all of the L metabolites were decreased to the same degree by high concentration of indomethacin. AA-861, which is an experimental tool of selective L inhibitor, showed inhibition of HETEs production but no effect on the production of TXB₂, PGs and LTB₄. Various propionic acid derivatives NSAIDs(ibuprofen, flurbiprofen, naproxen) showed the same patterns of effect on AA metabolism each other that was profound inhibition of PGs production, to the less degree HETEs and TXB₂ production, and of no effect on the LTB₄ production.