

비염증성 치은증식증의 상피 및 상피하조직내 세포변화에 관한 면역조직화학적 연구

조선대학교 치과대학 치주과학교실
최영욱 · 한경운

I. 서 론

치은조직의 외형은 치아의 형태와 악궁내 치아배열상태, 인접 접촉부의 크기와 위치, 치간공극의 넓이에 따라 다양하나 변연치은은 순설측에서 보면 옷깃모양으로 치아를 둘러 싸고 있으며 치경부를 따라서 부채꼴모양을 이루고 있는데, 치은조직의 크기는 세포와 세포간의 성분, 혈관분포의 총합체에 따라 차이가 있으나 크기의 변화는 치은질환의 흔한 특징적 소견이다.

치은증식증(gingival hyperplasia)이란 치은조직이 정상 크기보다 더 커진 상태를 의미하며 이는 주로 불량한 구강위생관리상태, 음식물잔사의 침착, 구호흡 등과 같은 국소적 요인과 약물복용, 내분비이상이나 백혈병 등의 전신적 요인에 의해 야기될 수 있는데, 그 병인에 따라 염증성 치은비대, 비염증성 치은비대, 혼합형 치은비대, 조건성 치은비대, 종양형 치은비대, 및 발육성 치은비대로 분류된다.^{11, 40)}

그 중 염증성 치은비대는 다시 불량한 구강위생과 연관되어 가장 흔히 볼 수 있는 만성염증성 치은비대와 치은농양과 치주농양이 포함되는 급성 염증성 치은비대로 세분되며^{11, 40)}, 비염증성 치은비대에는 간질환자들에 주로 투약되는 항경련제인 phenytoin(dilantin®)^{10, 17)}, 장기이식환자들에게 투여되는 면역억제제인 cyclosporine^{10, 60, 77)}, 고혈압 환자들에게 투여되는 혈압강하제인 nifedipine^{10, 37)} 등의 약물복용과 관련된 경우와 원인불명의 특발성 치은증식증⁷⁸⁾ 등이 이에 속한다.

약물복용과 연관되어 발생하는 비염증성 치은증식증의 경우 구강내 국소인자의 유무와 무관하고, 흔히 과증식된 치은조직이 구강위생관리를 방해하기 때문에 이차적인 염증을 초래하게 되며, 약물투여를 중단하면 수개월이내에 자연적으로 회복되는 특징을 갖는다.^{11, 40)}

cyclosporine 또는 nifedipine 복용으로 발생한 치은증식증의 임상적 및 조직학적 소견 모두 phenytoin 복용과 관련되어 발생한 치은증식증의 경우와 매우 유사한데,^{10, 37, 60, 77)} phenytoin 복용으로 초래된 치은증식증의 경우 치은변연부와 치간유두부에서 무통성으로 시작되고, 치은결합조직과 상피조직의 현저한 증식으로 인하여 총체적인 치은의 크기가 커지게 된다. 즉 치은결합조직은 교원섬유속들의 치밀한 배열과 함께 섬유아세포들과 신생 혈관수의 증가를 보이면서 증식되고 이와 연관되어 결합조직의 심부까지 상피돌기가 길게 늘어진 양상으로 확장되게 된다.^{10, 11, 17, 40)}

특발성 치은증식증은 다양한 명칭으로 보고되어 왔는데, 이 경우는 phenytoin 복용과 관련된 치은증식증에 비해 보다 광범위하게 치은증식을 나타내는데 즉 변연치은과 치간유두는 물론 부착치은까지 포함하는 광범위한 치은증식을 보이는 임상적 양상을 특징으로 하며, 교원섬유속의 치밀한 배열과 수많은 섬유아세포들의 증식을 보이는 전형적인 치은결합조직의 팽목할만한 증식상과 더불어 혈관분포수가 상대적으로 적으며, 상피층은 두껍고 상피돌기가 잘 발달된 조직병리학적 특징을 보인다.^{11, 40, 78)}

증식세포핵항원(Proliferating Cell Nuclear

Antigen:PCNA)이란 Miyachi등(1978)⁵¹⁾에 의하여 최초로 명명된 이래 cyclin^{49, 14, 70)} 또는 DNA polymerase- δ 의 auxiliary protein^{8, 21)} 이라고 보고되었는데, 이는 증식중인 세포내에서 다양한 농도로 발견되는 DNA 합성에 필수적인 분자량 36KD인 산성 핵단백질로서⁴⁹⁾ 특히 조직내 증식중인 세포에서만 제한적으로 나타나는 점을 응용하여 PCNA를 세포증식에 대한 평가지수로 이용하고^{36, 24, 28, 30)}, 다양한 질병의 진단에 이용되고 있다^{19, 33, 57, 63, 65, 73-76)}.

formalin에 고정된후 paraffin에 매몰되어 있는 조직에서 단클론성 anti-PCNA 항체를 이용하여 세포증식을 조사하는데에 DNA-incorporated tritiated thymidine²³⁾, 5-bromo-2'-deoxyuridine¹⁹⁾, 그리고 PCNA Labeling technique²²⁾ 등이 이용되었다.

조직의 발생과 성장에서 중요한 역할을 하는 tenascin은 세포외기질 당단백으로서 210KD-285KD의 다양한 분자량을 갖는 6 disulphide-linked subunit로 구성되어 있는데⁵⁾, cytotactin²⁶⁾, J1³⁴⁾, GMEM⁶⁾ 또는 hexabrachion protein²⁰⁾이라는 명칭으로 보고되기도 한다.

Thesleff등(1987, 1988)^{67, 68)}은 tenascin이 특히 치아의 발생과정중에 중요한 역할을 하며, fibronectin과 laminin의 세포접착능력을 국소적으로 제한시키는것을 포함하는 기전에 의하여 태생 세포이주의 전구물질로서 작용하며, 치수조직내에서는 관찰되었으나 성숙된 골, 연골 및 상아질내에는 나타나지 않고 골형성과정중 및 연골형성과정중에 나타난다고 보고하였고, Vakeva등(1990)⁶⁹⁾은 석회화조직의 발생과 관계 깊은 alkaline phosphatase의 출현과 tenascin간에 밀접한 상관관계가 있다고 보고하였으며, Ericson등(1988)²⁰⁾과 Mackie등(1988)⁶⁰⁾은 창상치유과정중에 tenascin이 육아조직내, 창상의 심부 및 증식중인 상피내에서 축적함을 제시하였다. 그러나 Howedy등(1990)²⁸⁾은 tenascin이 조직의 발생과 변형에만 국한되는 일시적인 세포외기질은 아닐지도 모른다고 보고하였다.

교원질은 여러 종류로 구분되어지는데 그중 기저막의 주된 단백질인 collagen type IV는 미세섬유를 형성하는 간질성 결합조직에 편재되어 있는 교원질로써⁷²⁾, 분자량이 185KD인 α 1 chain과 분자량이 170KD인 α 2 chain으로 구성되어 있는데⁴⁶⁾, 혈관이나 신경 및 상피조직의 기저막에 주로 분포하고 있으며⁶⁰⁾, 표피의 부착기질⁵⁴⁾과 각질세포의 확산인자⁵⁵⁾로 작용하기도 한다.

이에 여러 선학들의 연구결과들을 토대로 하여 비염증성 치은증식증의 상피 및 상피하조직내에서 치은조직의 증식과 연관된 세포변화를 조사하기 위하여 비염증성 치은증식증으로 진단된 환자들로부터 치은조직편을 절취하여 증식된 치은조직내에서의 증식세포핵항원(PCNA), tenascin 및 collagen type IV의 분포를 면역조직화학적 방법으로 관찰하였다.

II. 연구 재료 및 방법

1. 연구 재료

조선대학교 부속 치과병원 치주과에 내원한 환자들중 비염증성 치은증식증으로 분류되는 dilantin성 치은증식증 환자(8명)와 특발성 치은증식증 환자(2명)에서 치은절제술을 통하여 절제된 치은조직으로부터 조직표본을 얻었다.

2. 연구 방법

절취된 치은조직편을 10% 중성 formalin에 6-24시간동안 고정후 일련의 탈수과정을 거쳐 paraffin에 포매하고 4-6 μ m 두께로 박 절한 다음 3-aminopropyltriethoxysilane(Sigma Chemical Co, St. Louis, MO, U.S.A.)으로 피막된 slide glass에 올려서 조직병리학적 관찰을 위한 hematoxylin-eosin염색과 Masson's trichrome 염색을 시행하였고, proliferating cell nuclear antigen(PCNA), tenascin, 및 collagen type IV에 대한 면역세포화학적 염색은 Avidin-Biotin peroxidase Complex를 이용하는 Hsu등(1981)²⁹⁾의 방법에 따라 시행하였다.

(1) 증식세포핵항원(PCNA)의 면역조직화학적 검출

증식세포핵항원의 면역조직화학적 검출을 위하여 박절된 조직표본을 phosphate buffered saline(PBS)으로 세척한 다음, blocking serum으로 normal rabbit serum을 30분간 적용시키고, PBS로 다시 수회 세척하였다.

1% Bovine Serum Albumin(BSA)을 포함하고 있는 PBS로 1차항체인 단클론성 mouse anti-human PCNA 항체(Oncogene Science, Uniondale, NY, U.S.A.)를 1:250,000으로 희석시켜 사용하였는데, 조직절편에 희석된 1차항체를 가하고 대조군에는 1차항체 대신 normal mouse serum을 가한후 4°C에서 24시간 반응시켰다.

2차항체인 Biotinylated anti-human mouse IgG(Vector Laboratories, Burlingame, CA, U.S.A.)를 1% BSA가 함유된 PBS로 희석(1:200)하여 실온에서 30분간 반응시키고, 3차항체인 Avidin-Biotinylated peroxidase Conjugated antibody (Vector Laboratories, Burlingame, CA, U.S.A.)에 실온에서 45분간 처리하였으며, PBS로 수회 세척한후 0.05M Tris-HCl이 포함된 0.01% H₂O₂와 0.05% diaminobenzidine tetrahydrochloride(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, U.S.A.)의 혼합액(pH 7.6)으로 발색시키고, hematoxylin으로 대조염색하였다.

광학현미경하에서 상피조직내 단위면적당 총 세포수에 대한 PCNA에 양성반응을 나타내고 있는 세포수의 비율로써 PCNA 지수를 구하여 결합조직유두돌기 상부 상피조직부위와 상피돌기부위간의 PCNA지수차이에 대한 통계학적인 유의성을 Student t-test로 검증하였다.

(2) tenascin의 면역조직화학적 검출

tenascin 면역조직화학적 검출을 위하여 박절된 조직표본을 PBS로 세척한 다음 trypsin을 37°C에서 30분간 적용시켰으며, blocking serum으로 normal rabbit serum을 30분간 적

용시키고, PBS로 다시 수회 세척하였다.

tenascin의 면역조직화학적 검출에는 1% BSA를 포함하고 있는 PBS로 1:5,000으로 희석된 단클론성 mouse anti-human tenascin 항체(Chemicon-International Inc., Temecula, CA, U.S.A.)를 1차항체로 이용하였으며, 대조군에는 1차항체 대신 normal mouse serum을 가한후 4°C에서 24시간 반응시켰으며, 그 이후의 과정을 증식세포핵항원의 면역조직화학적 검출과정과 동일하게 처리하였다.

(3) collagen type IV의 면역조직화학적 검출
collagen type IV 검출을 위한 조직표본들 또한 PBS로 세척한 다음 trypsin을 37°C에서 30분간 적용시켰으며, blocking serum으로 normal rabbit serum을 30분간 적용시키고, PBS로 다시 수회 세척하였다.

collagen type IV의 면역조직화학적 검출에는 1% BSA를 포함하고 있는 PBS로 1:50으로 희석된 단클론성 mouse anti-human collagen type IV(Dakopatts, Glostrup, Denmark)를 1차항체로 이용하였으며, 대조군에는 1차항체 대신 normal mouse serum을 가한후 4°C에서 24시간 반응시켰으며, 그 이후의 과정을 증식세포핵항원의 면역조직화학적 검출과정과 동일하게 처리하였다.

III. 연구 성적

1. 조직병리학적 소견

dilantin성 치은증식증과 특발성 치은증식증과 같은 비염증성 치은증식증환자로 부터 얻어진 치은조직에 대한 hematoxylin-eosin염색결과와 Masson's trichrome 염색결과는 사진 1과 사진 2에서와 같이 치주낭상피 직하부에 약간의 염증세포 침윤을 제외하고 염증소견은 무시할만 하였으며, 현저히 증식된 결합조직층과 상피층을 보이고, 잘 발달된 결합조직섬유층과 함께 결합조직 유두돌기의 증식으로 인한 길게 늘어진 상피돌기(rete peg)가 관찰되었으며, 풍

표 1. 결합조직유두돌기 직상부 상피부위와 상피돌기부위간의 PCNA 지수 비교

	평 균±표준편차	Probability
결합조직유두돌기 직상부 상피부위	0.098±0.043	P<0.01
상피돌기부위	0.637±0.265	

부한 섬유아세포들과 신생혈관들이 관찰되었다.

2. 면역세포화학적 소견

(1) 증식세포핵항원 (proliferating cell nuclear antigen:PCNA)

비염증성으로 증식된 치은조직내에서의 단클론성 mouse anti-human PCNA 항체에 대한 면역염색반응도는 사진 3과 사진 4와같이 나타났는데, 상피세포의 핵을 중심으로 면역염색반응을 나타내면서 치은결합조직 유두돌기 (papillary projection) 직상부 상피조직부위에서는 기저세포층에서만 양성반응을 나타냄으로써 표 1에서와 같이 낮은 PCNA 지수(0.098±0.043)를 보였고, 잘 발달된 상피돌기부위에서는 양성반응을 보인 세포들이 높은 PCNA 지수(0.637±0.265)를 보이며 집중적으로 나타났다.

그러나 상피의 표층이나 결합조직내에서는 관찰되지 않았다.

(2) tenascin

비염증성으로 증식된 치은조직내에서의 단클론성 mouse anti-human tenascin 항체에 대한 면역염색반응도는 사진 5와 사진 6과 같이 나타났는데, 치은상피조직의 기저막을 따라 기저막 직하부 결합조직에 tenascin이 주로 분포하고 있음이 관찰되었으며, 특히 결합조직유두돌기의 첨단부에서 강한 양성반응을 보였다.

그러나 상피조직이나 심부 결합조직내에서는 tenascin의 양성반응이 관찰되지 않았다.

(3) collagen type IV

비염증성으로 증식된 치은조직내에서의 단클론성 mouse anti-human collagen type IV 항

체에 대한 면역염색반응도는 사진 7, 사진 8 및 사진 9에서 보는 바와 같이 잘 발달된 상피돌기를 보이는 치은상피의 기저막과 혈관의 기저막을 따라 선상으로 양성반응을 보이며 관찰되었다.

IV. 총괄 및 고안

치은조직은 치태축적이나 치석형성, 구호흡이나 악습관을 비롯하여 부적절한 수복물에 의한 지속적인 국소적 자극이나 약물투여와 호르몬분비이상과 같은 전신적 요인에 의하여 과도하게 증식될 수 있는데, 치은증식증이란 조직을 이루고 있는 세포수가 증가되어 치은조직의 크기가 증가되는 것을 일컫는다^{16, 11, 17, 37, 40, 60, 77, 78}).

치은증식증에서 결합조직 비후와 상피의 변화를 면역조직화화학적 방법으로 조사한 본 연구에서는 비염증성 치은증식증으로 분류되는 dilantin성 치은증식증과 원인불명의 특발성 치은증식증 환자들로부터 치은조직을 절취하여 증성 formalin에 6-24시간 고정후 조직표본을 제작하였으며, 면역염색과정중에서도 조직표본의 가열없이 실온에서 2차 및 3차항체를 가하였는데, 이는 증식세포핵항원의 면역염색반응도가 고정기간과 열에 크게 영향을 받는다는 점을 고려하였기 때문이다. 이와같은 조직의 고정기간이 증식세포핵항원의 면역염색반응도에 미치는 영향에 관하여 Hall등(1990)²⁷⁾은 고정기간이 48시간이면 반응도가 떨어지고 72시간이상이거나 조직표본을 가열시킨 경우에는 반응하지 않음을 지적하였으며, Greenwell등(1991)²⁵⁾도 고정기간이 길면 반응도가 떨어짐을 확인하였다.

증식세포핵항원(Proliferating Cell Nuclear

Antigen:PCNA)이란 cell cycle중에 증식중인 세포내에서만 제한적으로 발현하는데, Matthews등(1984)⁴⁹⁾과 Bravo등(1987)⁹⁾은 증식세포핵항원이 DNA 합성에 필수적인 요소라고 보고하였고, Celis등(1987)¹⁴⁾은 증식세포핵항원이 DNA복제과정과 세포분열과정에서 중심요소로 작용한다고 보고하였으며, Ogata등(1987)³⁶⁾은 정상 및 변형된 조직의 증식중인 세포에서 지배적으로 발현됨을 관찰하였고, Fairman등(1990)²¹⁾은 DNA복제과정에서 뿐만아니라 DNA손상부위에서도 발현됨을 보고하였다.

세포분열과정에서 시기별 증식세포핵항원의 발현양상에 관하여 S-phase일때 세포의 핵내에 증식세포핵항원이 축적되어 최고치를 보인다고 많은 학자들^{9, 13, 23, 41, 53)}에 의해 보고되었는데, Morris등(1989)⁵³⁾은 DNA 합성이 가장 왕성할때 증식세포핵항원도 최고치를 보인다고 보고하였으며, Kurki등(1986)³⁵⁾은 G₁ 말기에 증식세포핵항원이 발현하기 시작하여 DNA 합성 시기인 S-phase에 현저히 증가되었다가 G₂와 M-phase에 감소됨을 보고하였다.

이러한 증식세포핵항원의 발현특징을 이용하여 Robbins등(1987)⁴⁹⁾, Garcia등(1989)²⁴⁾, Jain등(1991)³²⁾ 그리고 Takahashi등(1991)⁶³⁾은 세포의 증식여부를 확인하거나 악성 종양을 진단하는데 이용할 수 있다고 하였는데, 발육중인 치배¹²⁾, 증식중인 간세포^{19, 23)}와 폐조직⁶⁷⁾, 흉반성 낭창⁵⁷⁾에서 증식세포핵항원이 관찰되었다.

본 연구에서 비염증성으로 증식된 치은조직내에서의 단클론성 mouse anti-human PCNA 항체에 대한 면역염색반응도는 사진 3과 사진 4와같이 나타났는데, 상피조직의 표층이나 결합조직내에서는 증식세포핵항원이 관찰되지 않았고, 치은결합조직 유두돌기(papillary projection) 직상부 상피조직부위에서는 기저세포층에서만 양성반응을 나타냄으로써 표 1에서와 같이 낮은 PCNA 지수(0.098±0.043)를 보였고, 잘 발달된 상피돌기부위에서는 높은 PCNA 지수(0.637±0.265)를 보이며 양성반응을 보인 세포들이 집중적으로 나타났는데, 상피세포의

핵을 중심으로 면역염색반응을 나타냈다.

상피층에서 기저세포층에서만 양성반응을 나타낸 결과는 상피세포가 기저세포층으로부터 세포증식을 시작함을 보여준 결과로 사료되며, 특히 상피돌기부에서 상대적으로 높은 PCNA 지수를 보인 결과는 결합조직 유두돌기의 증식과 상피돌기의 발달간에 깊은 관련성이 있음을 시사하는 결과로 사료된다.

세포부착을 매개하고^{6, 50)} 조직의 발생과 성장 및 항상치유에 중요한 역할을 하는 세포의 기질이며 hexameric glycoprotein인 tenascin은 유선에서^{15, 45)}, 상피암에서⁴⁵⁾, 건과 근육의 형성과정에서¹⁶⁾, 인체의 비장에서³⁹⁾, 발생중인 신장과 소장에서^{1, 2)}, 설치류의 발육중인 치아 연골 및 골조직에서⁶⁰⁾, 성장중인 백서의 두개골에서⁶⁰⁾, 그리고 발육중인 치아에서⁶⁷⁾ 관찰되었는데, tenascin의 역할에 관하여 Inaguama등(1980)³¹⁾은 tenascin이 상피 유도능력을 지니고 있다고 하였으며, Chiquet-Ehrismann등(1986)¹⁵⁾은 tenascin이 fibronectin에 대한 세포부착을 억제하나 laminin에 대한 세포부착은 억제하지않음을 보고하였고, Mackie등(1988, 1988)^{46, 47)}은 tenascin이 신경세포의 이주에 중요한 역할을 하며 세포외기질로부터 세포를 탈락시킴으로써 세포분화에 영향을 미치고, 표피세포의 이주와 증식에 관여하여 항상치유에 영향을 미친다고 하였으며, Lukinmaa등(1991)⁴³⁾은 tenascin이 조직의 발생과 성장에 중요한 역할을 하고 석회화 조직과 비석회화 조직 사이에 축적되어 기계적 응력을 전달하는 두가지 중요한 기능을 한다고 보고하였고, Thesleff등(1987)⁶⁷⁾은 골, 연골 및 치아와 같은 경조직을 형성할 수 있는 미분화세포의 분화에 관여한다고 보고하였다.

조직내 tenascin의 발현에 관하여 Thesleff등(1987)⁶⁷⁾은 성숙한 골, 연골 및 상아질에서는 tenascin이 관찰되지 않는다고 하였고, Stefensen등(1992)⁶²⁾은 tenascin이 상피의 기저막, 골외막 결합조직과 골내막 결합조직, 치주인대, 백악질표면, 골면에서 강한 양성반응을 보이며 관찰되었다고 보고하였다.

본 연구에서는 tenascin의 분포가 사진 6과 사진 7에서처럼 치은조직내 심부 결합조직에서는 관찰되지 않고 기저막 직하부 결합조직에서만 양성반응을, 특히 결합조직유두돌기의 첨단부에서 강한 양성반응을 보였는데, 이는 생쥐의 구강점막중 저작점막에서는 tenascin이 결합조직유두돌기 첨단부에 국소화되어 발견되고 이장점막에서는 기저막에 균등분포하고 있음을 관찰한 Sloan등(1990)⁶¹⁾의 보고와 일치하였으며, 또한 진피가 tenascin의 생성을 유도한다는 Mackie등(1988)⁴⁶⁾의 보고, tenascin이 상피세포의 증식을 가속화시킬 수 있음을 시사한 Thesleff등(1987)⁶⁷⁾의 보고와 tenascin이 상피조직과 간엽조직과의 상호작용에 관여하고 있다고 한 Aufderheide등(1987, 1988)^{1,2)}의 보고, 그리고 tenascin이 결합조직유두돌기의 분화에 영향을 미치며 기계적 자극과 상피의 증식성 조직화 그리고 상피와 결합조직간의 상호작용에 관계하고 있다는 Sloan등(1990)⁶¹⁾의 보고등을 고려할때 본 연구결과는 증식중인 결합조직에서 tenascin이 상피돌기의 발달을 유도할 수 있음을 시사하는것으로 사료된다.

기저막의 구조를 이루는 주된 성분으로 세포-laminin복합체에 결합되는⁶⁴⁾ Collagen type IV는 type I보다는 type III와 더 밀접한 관계를 이루고 있는데³⁾, Collagen type IV의 역할에 관해서 Murray등(1979)⁵³⁾은 표피의 부착기질로 작용한다고 하였고, O'Keefe등(1985)⁵⁴⁾은 각질세포의 확산인자로 작용한다고 보고하였으며, Pelton등(1989)⁵⁷⁾은 인체 피부의 성장, 발육 및 조직화를 조절하는데 관여한다고 하였고, Vercellotti등(1985)⁷¹⁾은 fibronectin 및 laminin과 함께 *S. aureus*, *S. pyogenes*, *Viridans streptococci*와 같은 그람양성세균을 주로 응집한다고 보고하였다.

collagen type IV의 발현에 관하여 Bornstein(1980)⁴⁾은 collagen type IV가 기저막 자체에 존재하는것이 아니라 기저막과 인접 간질 사이에 개재하고 있음을 규명하였고, Liakka등(1991)³⁸⁾은 인체의 비장에서 collagen type IV

를 관찰하였으며, Romanos등(1993)⁵⁹⁾은 nifedipine으로 유발된 증식성 치은조직을 간접 면역형광법으로 관찰하여 상피, 혈관 및 신경의 기저막에서 collagen type IV를 확인하였고, Becker등(1986)³⁾은 혈관의 기저막, 상아질 및 골조직에서 관찰된다고 보고하였다.

본 연구에서는 치아와 치조골과 같은 경조직 부위를 제외시키고 치은조직만을 절취하였기때문에 이러한 경조직부위에서의 분포는 확인할 수 없었고, 사진 7, 사진 8 및 사진 9에서와 같이 치은상피와 하부 결합조직의 연결부인 기저막과 혈관의 기저막을 따라 선상으로 발견되는 collagen type IV를 관찰할 수 있었는데, 이는 여러 선학들의 보고와 일치하였으며, collagen type IV가 혈관생성을 유도할 수 있는 잠재성이 있음을 보고한 Romanos등(1993)⁵⁹⁾을 지지하는 결과로 사료된다.

이상의 연구결과는 상피세포의 분화는 하부 결합조직과의 상호작용에 의해 영향을 받으며, 이러한 상호작용은 간엽세포나 세포외기질에 의해 매개된다고한 Mackenzie(1984)⁴⁴⁾의 보고를 고려할때 증식된 치은 결합조직에 의해서 tenascin과 collagen type IV와 같은 세포외기질을 매개로 하여 치은 상피가 증식될수 있음을 시사하는 것으로 사료되며, 본 연구에서는 비염증성 치은증식증만을 연구대상으로 하였는데 향후 염증성 치주낭조직을 포함하여 보다 다양한 조직을 대상으로 하는 연구가 계속되어야 할것으로 사료된다.

V. 결 론

증식성 치은조직내에서의 세포증식을 확인하기 위하여 dilantin성 치은증식증(8명)과 특발성 치은증식증(2명)과 같은 비염증성 치은증식증 환자들로부터 치은조직을 외과적으로 절취한후 증성 formalin에 6-24시간동안 고정하고 paraffin에 포매하여 4-6 μ m 두께로 박절한 다음 증식세포핵항원(Proliferating Cell Nuclear Antigen:PCNA)의 면역조직화학적 검출에는 1%

Bovine Serum Albumin(BSA)을 포함하고 있는 PBS로 단클론성 mouse anti-human PCNA 항체(Oncogene Science, Uniondale, NY, U.S.A.)를 1:250,000으로 희석하여 1차항체로 사용하였고, tenascin의 면역조직화학적 검출에는 1% BSA를 포함하고 있는 PBS로 1:5,000으로 희석된 단클론성 mouse anti-human tenascin 항체(Chemicon-International Inc., Temecula, CA, U.S.A.)를 1차항체로 사용하였으며, collagen type IV의 면역조직화학적 검출에는 1% BSA를 포함하고 있는 PBS로 1:50으로 희석된 단클론성 mouse anti-human collagen type IV(Dakopatts, Glostrup, Denmark)를 1차항체로 사용하여, Avidin-Biotin peroxidase Complex 법으로 면역염색한후 광학현미경하에서 증식세포핵항원(PCNA), tenascin 및 collagen type IV에 대한 치은조직내 분포를 비교 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 증식성 치은조직내에서 증식세포핵항원(PCNA)에 대한 양성반응은 치은상피의 기저세포층과 잘 발달된 상피돌기에서 집중되어 나타났다.

2. tenascin에 대한 양성반응은 치은조직의 기저막 직하부 결합조직에서 발현되었으며, 특히 결합조직유두돌기의 첨단부에서 강한 양성반응을 보였다.

3. collagen type IV에 대한 양성반응은 치은상피 및 혈관의 기저막을 따라 발현되었다.

이상의 연구결과는 결합조직의 비후가 치은상피의 증식에 영향을 미칠 수 있음을 시사하였다.

참고 문헌

1. Aufderheide, E., Chiquet-Ehrismann, and R., Ekblom, P.: "Epithelial-mesenchymal

interactions in the developing kidney lead to expression of tenascin in the mesenchyme", J. Cell Biol., 105:599, 1987.

2. Aufderheide, E. and Ekblom, P.: "Tenascin during gut development: appearance in the mesenchyme, shift in molecular forms, and dependence on epithelial-mesenchymal interactions", J. Cell Biol., 107:2341, 1988.
3. Becker, J., Schuppan, D., Hahn, E.G., Albert, G, and Reichart, P.: "Distribution of collagen type IV, V, VI and of laminin in the normal oral mucosa. An immunohistochemical study using antibodies against human antigens", Arch. Oral Biol., 3:179, 1986.
4. Bornstein, P.: "Structurally distinct collagen types", Annu. Rev. Biochem., 49:957, 1980.
5. Bourdon, M. and Lansing, L.: "Tenascin mediates cell attachment through an RGD-dependent receptor", J. Cell Biol., 108:1149, 1989.
6. Bourdon, M.A., Matthews, T.J., Pizzo, S.V., and Bigner, D.D.: "Immunochemical and biochemical characterization of a glioma-associated extracellular matrix glycoprotein", J. Cell Biochem., 28:183, 1985.
7. Bravo, R., Fey, S.J., Bellatin, J., Larsen, P. M., Arevalo, J., and Celis, J.E.: "Identification of a nuclear and of a cytoplasmic polypeptide whose relative proportions are sensitive to changes in the rate of cell proliferation", Exp. Cell Res., 136:311, 1981.
8. Bravo, R., Frank, R., Blundell, P.A., and Macdonald-Bravo, H.: "Cyclin/PCNA is the auxiliary protein of DNA polymerase", Nature, 326:515, 1987.
9. Bravo, R., and Macdonald-Bravo, H.: "Existence of two populations of cyclin/

- proliferating cell nuclear antigen during the cell cycle: associations with DNA replication sites", J. Cell Biol., 105:1549, 1987.
10. Butler, R.T., Kalkwarf, K.L., and Kaldhal, W.B.: "Drug-induced gingival hyperplasia: phenytoin, cyclosporine and nifedipine", J. Am. Dent. Assoc., 114:56, 1987.
 11. Carranza, F.A.Jr.: "Glickman's Clinical Periodontology", 7th Edi., W.B.Saunders Co., 1990.
 12. Casasco, A., Calligaro, A., Marchetti, C., Poggi, P., Brugnattelli, S., Danova, M., and Fiocca, R.: "Immunocytochemical detection of proliferating cells in the rat tooth germ by monoclonal antibodies against 5-Bromo-2'-deoxyuridine", Archs Oral Biol., 34: 65, 1989.
 13. Celis, J.E. and Celis, A.: "Cell cycle-dependent variations in the distribution of the nuclear protein cyclin proliferating cell nuclear antigen in cultured cells: subdivision of S phase", Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82:3262, 1985.
 14. Celis, J.E., Madson, P., Celis, A., Nielson, H. V., and Gesser, B.: "Cyclin(PCNA, auxiliary protein of DNA polymerase) is a central component of the pathway(s) leading to DNA replication and cell division", F.E.B.S., 220:1, 1987.
 15. Chiquet - Ehrismann, R., Mackie, E., Pearson, C., and Sakakura, T.: "Tenascin: an extracellular matrix protein involved in tissue interactions during fetal development and oncogenesis", Cell, 47:131, 1986.
 16. Chiquet, M. and Fambrough, D.M.: "Chick myotendinous antigen. I. A monoclonal antibody as a marker for tendon and muscle morphogenesis", J. Cell Biol., 98:1926, 1984.
 17. Ciancio, S.G., Yaffe, S.J., and Catz, C.C.: "Gingival hyperplasia and diphenylhydantoin", J. Periodontol., 7:411, 1972.
 18. Coltrera, M.D., and Gown, A.M.: "PCNA/cyclin expression and BrdU uptake define different subpopulations in different cell lines", J. Histochem. Cytochem., 39:2, 1991.
 19. Connolly, K.M. and Bogdanffy, M.S.: "Evaluation of proliferating cell nuclear antigen(PCNA) as an endogeneous marker of cell proliferation in rat liver: A dual-stain comparison with 5-bromo-2'-deoxyuridine", J. Histochem. Cytochem., 41: 1, 1993.
 20. Erickson, H.P., and Lightner, V.A.: "Hexabrachion protein(tenascin, cytostatin, brachionectin) in connective tissues, embryonic brain, and tumors", Adv. Cell Biol., 2:55, 1988.
 21. Fairman, M.P.: "DNA polymerase /PCNA : actions and interactions", J. Cell Sci., 95:1, 1990.
 22. Foley, J.F., Dietrich, D.R., Swenberg, J.A., and Maronpot, R.R.: "Detection and evaluation of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) in rat tissue by an improved immunohistochemical procedure", J. Histochem. Cytochem., 14:237, 1991.
 23. Galand, P. and Degraef, C.: "Cyclin/PCNA immunostaining as an alternative to tritiated thymidine pulse labeling for marking S phase cells in paraffin sections from animal and human tissues", Cell Tissue Kinet, 22:383, 1989.
 24. Garcia, R.L., Coltrera, M.D., and Gown, A. M.: "Analysis of proliferative grade using anti-PCNA/cyclin monoclonal antibodies in fixed, embedded tissues. Comparison with flow cytometric analysis", Am. J. Pathol., 134:733, 1989.
 25. Greenwell, A., Foley, J. F., and Maronpot, R.R.: "An enhancement method for immunohistochemical staining of

- proliferating cell nuclear antigen in archival rodent tissues", Cancer Lett., 59:259, 1991.
26. Grumet, M., Hoffman, S., Crossin, K., and Edelman, G.M.: "Cytotactin, an extracellular matrix protein of neural and non-neural tissues that mediates glia-neuron interaction", Proc. Natn. Acad. Sci. U.S.A., 82: 8075, 1985.
 27. Hall, P.A., Barnes, D.M., Camplejohn, R., Gillett, C.E., Kellock, D.B., Lane, D.P., Levison, D.A., Waseem, N.H., Watkins, J. A., Woods, A.L., and Yu, C.C.W.: "Proliferating cell nuclear antigen(PCNA) immunolocalization in paraffin sections: an index of cell proliferation with evidence of deregulated expression in some neoplasms", J. Pathol., 162:258, 1990.
 28. Howedy, A., Virtanen, I., Gould, N., Koukoulis, G., and Gould, V.: "Differential distribution of tenascin in the normal, hyperplastic and neoplastic breast", Lab. Invest., 63:798, 1990.
 29. Hsu, S.M. and Fanger, H.: "Use of Avidin-Biotin-Peroxidase Complex(ABC) in immunoperoxidase techniques: A comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures", J. Histochem. Cytochem., 29:577, 1981.
 30. Hyatt, G.A. and Beebe, D.C.: "Use of a double-label method to detect rapid changes in the rate of cell proliferation", J. Histochem. Cytochem., 40:619, 1992.
 31. Inaguma, Y., Kusakabe, M., Mackie, E., Pearson, C., Chiquet-Ehrismann, R. and Sakakura, T.: "Epithelial induction of stromal tenascin in the mouse mammary gland: from embryogenesis to carcinogenesis", Dev. Biol., 76:100, 1980.
 32. Jain, S., Filipe, M., Hall, P., Waseem, N., Lane, D., and Levison, D.: "Prognostic value of proliferating cell nuclear antigen in gastric carcinoma", J. Clin. Pathol., 44:655, 1991.
 33. Jones, H.B., Clarke, A.B., and Barrass, N. C.: "Phenobarbital-induced hepatocellular proliferation: anti-bromodeoxyuridine and anti-proliferating cell nuclear antigen immunocytochemistry", J. Histochem. Cytochem., 41:21, 1993.
 34. Kruse, J., Keilhauer, G., Faissner, A., Timpl, R., and Schachner, M.: "The J1 glycoprotein—a novel nervous system cell adhesion molecule of the L2/HNK-1 family", Nature, 277:146, 1985.
 35. Kurki, P., Vanderlaan, M., Dolbeare, F., Gray, J., and Tan, E.M.: "Expression of proliferating cell nuclear antigen(PCNA)/cyclin during the cell cycle", Exp. Cell Res., 166:209, 1986.
 36. Kurki, P., Ogata, K., and Tan, E.M.: "Monoclonal antibodies to proliferating cell nuclear antigen(PCNA)/cyclin as probes for proliferating cells by immunofluorescence microscopy", and flow cytometry", J. Immunol. Methods, 109:49, 1988.
 37. Lederman, D., Lummerman, H., Reuben, S., and Freedman, P.D.: "Gingival hyperplasia associated with nifedipine therapy", Oral Surg., 57:620, 1984.
 38. Liakka, A., and Autio-Harmainen, H.I.: "Distribution of laminin and type IV and III collagen in fetal, infant, and adult human spleens", Cell Tissue Res., 263:245, 1991.
 39. Liakka, A. and Autio-Harmainen, H.I.: "Distribution of the extracellular matrix proteins tenascin, fibronectin, and vitronectin in fetal, infant, and adult human spleens", J. Histochem. Cytochem., 40:1203, 1992.
 40. Lindhe, J.: "Textbook of Clinical Period-

- ontology", 2nd Edi., Munksgaard, 1989.
41. Louis, D., Edgerton, S., Thor, A.D., and Hedley-Whyte, E.T.: "Proliferating cell nuclear antigen and Ki - 67 immunohistochemistry in brain tumors: a comparative study", Acta. Neuropathol., 81:675, 1991.
 42. Lucas, R.M., Howell, L.P., and Wall, R.A.: "Nifedipine-induced gingival hyperplasia. A histochemical and ultrastructural study", J. Periodontol., 56:211, 1985.
 43. Lukinmaa, P.L., Mackie, E.J., and Theseff, I.: "Immunohistochemical localization of the matrix glycoproteins—tenascin and the ED—sequence containing form of cellular fibronectin in human permanent teeth and periodontal ligament", J. Dent. Res., 70:19, 1991.
 44. Mackenzie, I.C.: "Epithelial—connective tissue relationships and the development and maintenance of structure :The structure and function of oral mucosa", 2nd Edi., 1984.
 45. Mackie, E., Chiquet—Ehrismann, R., Pearson, C., Inaguma, Y., Taya, K., Kawarada, Y., and Sakakura, T.: "Tenascin is a stromal marker for epithelial malignancy in the mammary gland", Pro. Natl. Acad. Sci. USA, 84:4621, 1987.
 46. Mackie, E., Halfter, W., and Liverani, D.: "Induction of tenascin in healing wounds", J. Cell Biol., 107:2757, 1988.
 47. Mackie, E., Tucker, R.P., Halfter, W., Chiquet—Ehrismann, R., and Epperlein, H. H.: "The distribution of tenascin coincides with pathways of neural crest cell", Development, 102:237, 1988.
 48. Martinez—Hernandez, A. and Amenta, P. S.: "The basement membrane in pathology", Lab. Invest., 48:656, 1983.
 49. Matthews, M.B., Bernstein, R.M., Franza, B. R., and Garrels, J.I.: "Identity of the proliferating cell nuclear antigen and cyclin", Nature, 309:374, 1984.
 50. Milam, S.B., Steffensen, B., and Haskin, C.: "Cell adhesion proteins in oral biology", CRC Critical Rev. Oral Biol., 2:451, 1991.
 51. Miyachi, K., Fritzler, M.K., and Tan, E.M.: "Autoantibodies to a nuclear antigen in proliferating cells", J. Immunol., 121:2228, 1978.
 52. Morris, G.F., and Matthews, M.B.: "Regulation of proliferating cell nuclear antigen during the cell cycle", J. Biol. Chem., 264: 13856, 1989.
 53. Murray, J.C., Stingl, G., Kleiman, H.K., Martin, G.R., and Katz, S.I.: "Epidermal cells adhere preferentially to type IV (basement membrane) collagen", J. Cell Biol., 80:197, 1979.
 54. O'Keefe, E.J., Payne, R.E., Russell, N., and Woodley, D.T.: "Spreading and enhanced motility of human keratinocytes on fibronectin", J. Invest. Dermatol., 85:125, 1985.
 55. Ogata, K., Kurki, P., Celis, J.E., Nakamura, R.M., and Tan, E.M.: "Monoclonal antibodies to a nuclear protein(PCNA/cyclin) associated with DNA replication", Exp. Cell Res., 168:475, 1987.
 56. Ogata, K., Ogata, Y., Takasaki, Y, and Tan, E.M.: "Epitopes on proliferating cell nuclear antigen recognized by human lupus autoantibody and murine monoclonal antibody", J. Immunol., 139:2942, 1987.
 57. Peltonen, J., Larjava, H., Jaakkola, S., Gralnick, H., Akiyama, S.K., Yamada, S.S., Yamada, K.M., and Uitto, J.: "Localization of integrin receptors for fibronectin, collagen, and laminin in human skin :

- Variable expression in basal and squamous cell carcinomas", J. Clin. Invest., 84:1916, 1989.
58. Robbins, B.A., de la Vega, D., Ogata, K., Tan, E.M., and Nakamura, R.M.: "Immunohistochemical detection of proliferating cell nuclear antigen in solid human malignancies", Arch. Pathol. Lab. Med., 111:841, 1987.
 59. Romanos, G.E., Schröter-Kermani, C., Hinz, N., Herrman, D., Strub, J.R., and Bernimoulin, J.P.: "Extracellular matrix analysis of nifedipine-induced gingival overgrowth: immunohistochemical distribution of different collagen types as well as the glycoprotein fibronectin", J. Periodont. Res., 28:10, 1993.
 60. Rostock, M.H., Fry, H.R., and Turner, J.E.: "Severe gingival overgrowth associated with cyclosporine therapy", J. Periodontol., 57:294, 1986.
 61. Sloan, P., Schor, S.L., Lopes, V., and Chiquet-Ehrismann, R.: "Immunohistochemical study of the heterogeneity of tenascin distribution within the oral mucosa of the mouse", Arch. Oral Biol., 35:67, 1990.
 62. Steffensen, B., Duong, A.H., Milam, S.B., Potempa, C.L., Winborn, W.B., Magnuson, V.L., Chen, D., Zardeneta, G., and Klebe, R.J.: "Immunohistochemical localization of cell adhesion proteins and integrins in the periodontium", J. Periodontol., 63:584, 1992.
 63. Takahashi, H., Strutton, G., and Parson, P.: "Determination of proliferating fractions in malignant melanomas by anti-PCNA/cyclin monoclonal antibody", Histopathology, 18:221, 1991.
 64. Terranova, V.P., Rohrbach, D.H., and Martin, G.R.: "Role of laminin in the attachment of PAM 212 (epithelial) cells to basement membrane collagen", Cell, 22:719, 1980.
 65. Thaete, L.G., Ahnen, D.J., and Malkinson, A.M.: "Proliferating cell nuclear antigen (PCNA/cyclin) immunohistochemistry as a labeling index in mouse lung tissues", Cell Tissue Res., 256:167, 1989.
 66. Thesleff, I., Kantomaa, T., Mackie, E., and Chiquet-Ehrismann, R.: "Immunohistochemical localization of the matrix glycoprotein tenascin in the skull of the growing rat", Arch. Oral Biol., 33:383, 1988.
 67. Thesleff, I., Mackie, E., Vainio, S., and Chiquet-Ehrismann, R.: "Changes in the distribution of tenascin during tooth development", Development, 101:289, 1987.
 68. Toschi, L. and Bravo, R.: "Changes in cyclin/proliferating cell nuclear antigen distribution during DNA repair synthesis", J. Cell Biol., 107:1623, 1988.
 69. Vakeva, L., Mackie, E., Kantomaa, T., and Thesleff, I.: "Comparison of the distribution patterns of tenascin and alkaline phosphatase in developing teeth, cartilage, and bone of rats and mice", Anat. Record, 228:69, 1990.
 70. van Dierendonck, J.H., Cornelisse, C.J., Keijzer, R., van de Velde, C.J.H., and Wijsman, J.H.: "Cell-cycle-related staining patterns of anti-proliferating cell nuclear antigen antibodies. Comparison with BrdUrd labelling and Ki-67 staining", Am. J. Pathol., 138:1165, 1991.
 71. Vercellotti, G.M., McCarthy, J.B., Linholm, P., Peterson, P.K., Jacob, H.S., and Furcht, L.T.: "Extracellular matrix proteins (fibronectin, laminin, and type IV collagen) bind

- and aggregate bacteria", Am. J. Path., 120: 13, 1985.
72. Von der Mark, H., Aumailley, M., Wick, G., Fleischmajer, R., and Timpl, R.: "Immunocytochemistry, genuine size and tissue localization of collagen type IV", Eur. J. Biochem., 142:493, 1984.
73. Wolf, H.K. and Dittrich, K.L.: "Detection of proliferating cell nuclear antigen in diagnostic histopathology", J. Histochem. Cytochem., 40:1269, 1992.
74. Wolf, H.K., and Michalopoulos, G.K.: "Proliferating cell nuclear antigen in human placenta and trophoblastic disease", Pediat. Pathol., 12:147, 1992.
75. Wolf, H.K. and Michalopoulos, G.K.: "Hepatocyte regeneration in acute fulminant and non-fulminant hepatitis. A study of proliferating cell nuclear antigen expression", Hepatology, 15:707, 1992.
76. Woods, A.L., Hall, P.A., Shepherd, N.A., Hanby, A.M., Waseem, N.H., Lane, D.P., and Levison, D.A.: "The assessment of proliferating cell nuclear antigen(PCNA) immunostaining in primary gastrointestinal lymphomas and its relationship to histological grade, S+G₂+M phase fraction (flow cytometric analysis) and prognosis", Histopathology, 19:21, 1991.
77. Wysocki, G., Gretsinger, H.A., Laupacis, A., Ulan, R.A., and Stiller, C.R.: "Fibrous hyperplasia of the gingiva: a side effect of cyclosporin A therapy", Oral Surg., 55:274, 1983.
78. Zackin, S. J., and Weisberger, D.: "Hereditary gingival fibromatosis", Oral Surg., 14:828, 1961.

사진부도설명

Microphotograph 1. Hematoxylin-eosin stain of non-inflammatory hyperplastic gingival tissue
(magnification: X40)

치주낭상피 직하부에 약간의 염증세포 침윤을 제외하고 염증소견은 무시할만하며, 현저히 증식된 결합조직층과 상피층을 보이고 있다

Microphotograph 2. Masson's trichrome stain of non-inflammatory hyperplastic gingival tissue
(magnification: X40)

잘 발달된 결합조직섬유층과 함께 결합조직 유두돌기(papillary projection)의 증식으로 인하여 상피돌기(rete peg)가 길게 늘어져 있으며, 풍부한 섬유아세포들과 신생혈관들이 관찰된다.

Microphotograph 3. Immunoreactivity of PCNA in non-inflammatory hyperplastic gingival tissue
(magnification: X200)

치은결합조직 유두돌기 직상부 상피조직부위에서는 기저세포층에서만 PCNA에 대한 양성반응을 보이고 있으며, 잘 발달된 상피돌기(rete peg)부위에서는 양성반응을 보인 세포들이 집중되어 있음을 관찰할 수 있으나, 상피의 표층이나 결합조직내에서는 관찰되지 않는다.

Microphotograph 4. High power view of the area in rectangle of microphotograph 3.
(magnification: X1,000)

상피돌기부에서 상피세포의 핵을 중심으로 면역염색반응을 나타내고 있다.

Microphotograph 5. Immunostain of tenascin in non-inflammatory hyperplastic gingival tissue
(magnification: X100)

상피조직이나 심부 결합조직내에서는 tenascin의 양성반응이 관찰되지 않고 치은상피조직의 기저막을 따라 기저막 직하부 결합조직에 tenascin이 주로 분포하고 있음을 보이고 있다.

Microphotograph 6. High power view of the area in rectangle of microphotograph 5.
(magnification: X400)

결합조직유두돌기의 첨단부에서 강한 양성반응을 보이고 있다.

Microphotograph 7. Immunostain of collagen type IV in non-inflammatory hyperplastic gingival tissue(magnification: X200)

잘 발달된 상피돌기를 보이는 치은상피의 기저막과 혈관의 기저막을 따라 선상으로 양성반응을 보이고 있다.

Microphotograph 8. High power view of collagen type IV along the basement membrane of gingival epithelium(EP) (CT:Connective Tissue, magnification: X1,000)

치은상피의 기저막을 따라 양성반응을 나타내고 있는 collagen type IV를 보이고 있다.

Microphotograph 9. High power view of collagen type IV along the basement membrane of blood vessels(BV) (magnification: X1,000)

혈관들의 기저막을 따라 양성반응을 나타내고 있는 collagen type IV를 보이고 있다.

사진부도(I)

사진부도(Ⅱ)

AN IMMUNOHISTOCHEMICAL STUDY ON THE CELLULAR CHANGE IN EPITHELIUM AND SUBEPITHELIAL TISSUE OF NON-INFLAMMATORY GINGIVAL HYPERPLASIA

Yeoung-Wook Choi, Kyung-Yoon Han

Dept. of Periodontology, College of Dentistry, Chosun University

The gingival hyperplasia refers to an increase in the size of the gingival tissue produced by an increase in the number of its component cells.

In order to investigate the cellular change in epithelium and subepithelial tissue of non-inflammatory gingival hyperplasia, the gingival tissues were surgically obtained from the patients with dilantin gingival hyperplasia and idiopathic gingival hyperplasia.

The excised tissue samples were fixed in neutral formalin for 6–24 hours, embedded with paraffin, sectioned at 4–6 μ m in thickness, mounted on glass slides coated with 3-aminopropyltriethoxysilane(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, U.S.A.) and immunocytochemically processed by Avidin–Biotin peroxidase complex method for detecting proliferating cell nuclear antigen, tenascin and collagen type IV.

Monoclonal mouse anti–human PCNA antibody(Oncogene Science, Uniondale, NY, U.S.A., 1:250,000), monoclonal mouse anti–human tenascin antibody(Chemicon–International Inc., Temecula, CA, U.S.A., 1:5,000), and monoclonal mouse anti–human collagen type IV(Dakopatts, Glostrup, Denmark, 1:50) were used as primary antibodies.

The results were as follows:

1. In non-inflammatory gingival hyperplasia, the positive reaction to proliferating cell nuclear antigen was localized in the basal cell layer of gingival epithelium and well-developed rete pegs.
2. The positive reaction to tenascin was shown in the connective tissue subjacent to basement membrane of gingival tissue, and especially strong positive reaction was noted in the tip portion of connective tissue projections.
3. The positive reaction to collagen type IV was localized along the basement membranes of gingival epithelium and blood vessels.

The results suggest that connective tissue enlargement may affect the proliferation of gingival epithelium.