

치은증식시 세포구성과 성장인자에 관한 면역조직화학적 연구

*서울대학교 치과대학 치주과학교실
**서울대학교 치과대학 구강병리학교실
이강남* · 한수부* · 이재일**

I. 서 론

치은의 증식은 다양한 원인에 의해 야기되며 그 원인인자와 발생과정에 따라서 여러종류로 분류될 수 있다. 이들은 단순한 염증성 종창에서부터 섬유성 증식에 이르기까지 다양한 형태로 나타나는데, 섬유성 증식은 약물에 기인하는 경우가 많으며 유전성 또는 원인불명의 섬유성 증식등이 있으며 이외에도 치은의 증식을 보이는 경우로서 환자의 전신적상태, 종양, 치아맹출등과 관련되어 나타날 수 있다¹⁾.

염증성 증식의 경우는 주로 염증성 자극에 의해 염증세포에서 분비되는 국소인자들이 중요한 역할을 하며 일차적으로 섬유아세포 증식과 염증소실 또는 염증약화후의 교원섬유 축적이 기본과정이다. 치주염에서 나타나는 치은의 증식과 지속적인 부종 현상은 치태나 치주낭의 세균 또는 보철물과 같은 외부적인 자극으로 인하여 정상적인 창상의 치유과정이 장애를 받기 때문이며 이 같은 장애는 육아염증조직의 잔존, 섬유성 증식등의 부작용의 형태로 나타나며, 이 과정에서는 많은 세포의 증식과 이동 그리고 여러가지의 조직내 인자들이 관여하게 된다²⁾.

특발성 치은증식의 경우는 특이한 국소인자의 작용에 대해서는 알려진 바 없으며 주로 섬유아세포의 비특이적 과증식과 교원섬유의 과축적이 나타난다³⁻⁶⁾.

약물에 의한 치은증식의 경우는 특정질환의 치료약제의 부작용의 하나로서 일어나며 대표적인 경우가 항발작증의 치료제인 phenytoin으로 인한 치은증식인데^{7,8,9,12)}, phenytoin에 의한 치은증식 유발효과에 대하여 오래동안 연구되어왔지만 아직도 불분명한 상태이다. 그리고 장기이식 환자의 조직거부반응을 방지하기 위해 사용되는 면역억제 약제인 cyclosporin-A 또한 부작용의 하나로써 치은증식이 유발되며^{8,9,10,11)}, 심혈관계약제인 nifedipine^{11,14,15)}, verapamil¹⁶⁾, diltiazem¹⁷⁾ 등도 치은증식을 일으키는것으로 알려져있다.

약물에 의한 치은증식의 발생기전에 대해서는 최근에 이르기까지 많은 연구와 이론이 제기되었으나 아직까지는 확실히 밝혀진 바 없다. 많은 연구들이 약물로 기인한 치은증식과 염증과의 직접적인 관계를 밝히려는 시도를 하였는데, 최근에 이르러서는 치아와 염증, 그리고 약물의 상호작용으로인해 치은증식이 초래되며 이때 염증이 어떠한 중요한 보조요인으로 작용할 것이라

※이 연구는 1994년도 서울대학교병원 지정 연구비 (02-94-252) 지원에 의한 결과임.

고 보고있다^{11,18)}.

치은 섬유아세포는 염증반응의 초기에 중요한 역할을 할 뿐만 아니라 연조직 합성과 재구성에 관여하므로 섬유아세포에 대한 약물의 직접적 혹은 간접적 영향에 대해서 여러가지 방법과 대상을 통해 연구가 있어왔다.¹⁹⁻²⁹⁾ 약물의 직접적인 영향으로 섬유아세포의 증식 및 교원섬유 합성의 증가가 나타난다는 보고들이 많이 있으나¹⁹⁻²²⁾ 최근들어서는 치은의 증식이 섬유아세포의 수적 증가로 인한 것이 아니라 교원섬유 합성의 증가로 생긴 결과 때문이라는 주장이 있으며^{22,23)} 비교원 섬유물질의 과다생성으로 인한 결과라는 보고도 있고²³⁻²⁶⁾ 교원섬유의 생성은 증가되지 않고 교원섬유 흡수가 억제되어 전체적으로는 교원섬유가 증가되어 보인다는 연구결과도 있다²⁷⁻²⁹⁾.

이러한 연구결과와 더불어 같은 개체내에서도 다른 능력과 반응을 보이는 섬유아세포가 있다는 증거를 바탕으로 특정한 자극에 선택적으로 반응하는 아세포군이 있을 것이라는 주장도 있다³⁰⁻³³⁾.

창상치유에 관여하는 요소들은 성장 자극물질과 성장 억제물질이 함께 관여하며 가장 중요한 요소는 폴리펩타이드 성장인자로서 이들은 세포 이동과 분화 그리고 조직재구성에 관여하며 이중 상피성장인자(EGF)는 상피세포와 섬유아세포에 대해 분열촉진 작용^{36,38)} 과 단백질합성^{36,38-41)} 을 자극하며 치은증식에서 중요한 역할을 할 것으로 생각되고 있다. 이와 관련하여 phenytoin (PTH)이나 cyclosporin-A 같은 약물이 간접적으로 폴리펩타이드 성장인자를 과다생성함으로써 치은증식이 유발된다는 주장을 하는 연구^{42,43)} 와 PHT가 간접적으로 상피성장인자 수용기의 수를 증가시킨다는 연구가 있다³⁵⁾.

또한 치은증식같은 조직의 변화는 세포의 기질의 변형에 의존되기 때문에 고유층의 체계적인 분석이 중요하며, 조직의 세포구성원들과 더불어 그들의 생성물 즉 세포외적 구성성분 특히 교원질 변화에 대한 연구가 치은의 변화에 대한 기전을 밝히는데 있어 필수적이라고 생각된다⁴⁵⁾.

이 연구의 목적은 원인이 다양한 치은증식의 원인과 진행과정의 특성을 밝히기 위하여 건강치

은, 염증치은, 염증성 섬유성치은증식, phenytoin에 의한 치은증식, 그리고 특발성 치은증식조직을 생검하여 조직병리학적 특성을 비교하고 수종의 항체를 이용한 면역조직화학적 염색방법과 조직형태학적 계측방법을 통하여 세포구성의 변화, 교원질변화 및 성장인자의 분포양상을 조사하였다.

II. 재료 및 방법

가. 대 상

1992년에서 1993년 사이에 서울대학교병원 치주과에 내원한 환자 중 치은의 비대를 보이는 37례를 대상으로 하였으며, 항발작증 치료제인 phenytoin의 복용으로 치은의 섬유성비대를 보이는 경우를 phenytoin에 의한 치은증식, 특이한 국소인자와 관련없이 섬유성비대를 보이는 경우를 특발성 치은증식, 약물과 관련없이 염증을 동반한 섬유성비대의 경우를 염증성 섬유성 치은증식으로 진단하여 분류하였고, 비교를 위하여 비대를 보이지 않는 염증치은 12례와 건강치은 3례를 포함시켰으며, 조사대상의 구성은 Table 1과 같다.

Table 1. Groups of patients

| | |
|-------------------------------------------|----|
| Healthy gingiva | 3 |
| Inflammatory gingiva | 12 |
| Inflammatory fibrous gingival hyperplasia | 26 |
| Phenytoin-induced gingival hyperplasia | 7 |
| Idiopathic gingival hyperplasia | 4 |

나. 방 법

대상치은을 치간유두 및 치은열구 또는 치주낭 직하부를 포함하여 최소 0.5 X 0.3 cm의 크기로 치은면에 수직으로 절제한 다음 둘로 나누어 반은 즉시 냉동하여 -70°C에 보관하고 나머지 반

은 10% 중성 완충포르말린에 고정하여 통법에 따라 파라핀에 포매를 하였다. 이 중 저온냉동보관 표본은 Tissue tek compound (Miles Inc. USA)에 매몰하여 -20°C의 냉동조직절편기(Cryocut; American Optical Co. USA)를 이용하여 4µm의 박절편을 제작하였고, 파라핀 포매된 조직으로는 Sliding microtome을 이용하여 4µm 두께의 박절편을 만들어 poly-L-lysine(Sigma Co. USA)이 피막된 유리슬라이드에 부착하였다. 각 조직은 통법에 의한 Hematoxyline-Eosin 중염색과 Masson-trichrome 특수염색, Alkaline phosphatase 조직화학적 염색을 시행하고 수종의 항체로(Table 2) 면역조직화학적 염색을 시행하였다.

1) 사용항체

실험에 사용된 항체는 염증세포의 분류를 위해서 B-임파구, T-임파구, Leukocyte common antigen(LCA), α-1-antichymotrypsin에 대한 항체등을 사용하였으며, 그 외 증식세포핵항원(proliferating cell nuclear antigen), 상피성장인자(epidermal growth factor), 교원섬유(collagen, type I), 혈액응고인자(factor VIII related antigen) 등에 대한 항체를 사용하였다(Table 2).

B-임파구

Biogenex사의 MB2 단일클론항체를 이용하여 소의 1% 혈청알부민을 포함한 0.01M의 인산완충 생리식염수에 1/40의 비율로 희석하여 사용하였다. (이하 동일 용액에 희석)

T-임파구

Biogenex사의 UCHL-1 단일클론항체를 사용하였으며 1/40의 농도로 사용하였다.

Leukocyte common antigen(LCA)

조직내 염증세포를 분리 확인키위해 Biogenex사의 단핵백혈구에 대한 표지항원인 CD45에 대한 항체를 1/50의 농도로 사용하였다.

α-1-antichymotrypsin

대식세포 및 단핵구에 대한 Dako 사의 다클론 항체를 1/100의 농도로 희석하여 사용하였다.

증식세포핵항원

(Proliferating cell nuclear antigen, PCNA)

세포의 분열지수를 확인키위해 세포분열의 S기에 나타나는 36KD의 핵단백인 PCNA에 대한 Dako 사의 PC10 단일클론항체를 1/100의 농도

Table 2. Summary of antibodies used in this study

| Antibodies | Clone | Antigenic site | Dilution | Manufacturer |
|------------------------------------|------------|------------------|----------|----------------------------|
| B-cell | MB2 | | 1/40 | Biogenex, USA |
| T-cell | UCHL1 | CD45R | 1/40 | Biogenex, USA |
| T helper cell | MT310 | CD4 | 1/50 | Dako, USA |
| leukocyte common antigen | | CD45 | 1/50 | Biogenex, USA |
| α-1-antichymotrypsin | polyclonal | macrophage | 1/100 | Dako, USA |
| proliferating cell nuclear antigen | PC10 | PCNA | 1/100 | Dako, USA |
| epidermal growth factor | | EGF | 1/50 | Oncogene Science Inc., USA |
| factor VIII related antigen | | endothelial cell | 1/100 | Biogenex, USA |
| type I collagen | | collagen type I | 1/50 | Dako, USA |

로 이용하였다.

상피성장인자

(Epidermal growth factor, EGF)

상피성장인자의 조직내 분포를 알기위해 On-cogene science사의 EGF-AB-4 토끼 다클론항체를 1/50의 농도로 이용하였다.

혈액 응고 인자(Factor VIII related antigen)

혈관분포의 확인을 위해 alkaline phosphatase 조직화학염색법과 함께 내피세포에 존재하는 혈액응고인자인 factor VIII에 대한 Biogenex사의 단일클론항체를 1/100의 농도로 사용하였다.

교원섬유(Collagen, type I)

조직내 교원섬유의 분포와 형태를 확인키위해 Dako사의 type I collagen에 대한 단일클론항체를 1/50로 희석하여 사용하였다.

2) 면역조직화학적 염색법

동결절편은 건조시켜 Acetone에 5분간 고정한 후 다시 건조시켰고 파라핀 절편은 alcohol로 함수를 시킨다음 통법에 따라 면역조직화학적 염색을 시행하였다. 항체의 검출은 Dako사의 LSAB(labelled streptavidin-biotin) kit를 이용하였다.

우선 조직내에 내재하는 peroxidase 활성을 차단하기 위해 3% H₂O₂에 30분간 처리하였다. 다음 증류수로 수세후 0.01M 인산완충생리식염수(pH 7.4)로 10분간 3회 부란하고 비특이적 결합방지를 위해 차단용 혈청으로 10분간 부란 후 일차항체에서 1시간동안 반응 시켰다. 완충액으로 수세하고 biotin이 표지된 이차항체에서 30분간 부란후 다시 수세하고 peroxidase가 표지된 streptavidin으로 30분간 부란하였다. 완충액으로 수세를 한 후 aminoethylcarbazole-H₂O₂ 반응용액에 10분간 처리한 후 수세하고 Meyer's hematoxylin으로 대조염색하여 glycerol-gelatin에 봉입, 관찰하였다(Table 3).

3) 상대적 결합조직구성비 계측

(Relative connective tissue elements count)

Masson-trichrome 특수염색을 한 표본에서

Table 3. Summary of immunohistochemical staining methods

1. Block peroxidase activity with 3% H₂O₂ 30min
2. Rinse with water
3. Rinse with 10mM phosphate buffered saline(pH 7.4) - 3 times, 10min
4. Incubate in blocking serum for 10min at room temperature
5. Primary antibody 1hr
6. Rinse with buffer
7. Biotinylated secondary antibody 30min
8. Rinse with buffer
9. Peroxidase labelled streptavidin 30min
10. Rinse with buffer
11. Aminoethylcarbazole-H₂O₂ substrate solution 10 min
12. Wash with water
13. Counter staining with Meyer's Hematoxyline
14. Mount with glycerol-gelatin

각 군당 200배의 현미경 사진을 찍어 치주낭측을 내측, 구강측을 외측, 그리고 중앙의 3부분으로 나누어 각 표본당 구획별로 3 매씩의 현미경 사진을 촬영한 후 각각 5000개의 방안으로 나누어 섬유아세포 및 교원질로 구성된 부위와 혈관 증식 및 염증세포 침윤부위의 2부분으로 나누어 계측하였다.

4) 염증 세포 구성비 계측

침윤 염증 세포 중 T/B 임파구는 각각의 면역조직화학적 염색에 양성인 세포의 수를 계측하였고, 대식세포는 α-1-antichymotrypsin 면역조직화학적 염색에 양성반응을 보이는 세포를 각각 3개의 400 배 현미경 시야에서 계측하여 그 구성비를 산정하였다.

5) 섬유아세포수 계측

섬유아세포의 수는 각각 각 구획당 3개의 400 배 현미경시야에서 섬유아세포수를 계측하였다.

6) PCNA 표지지수(labeling index) 계측

PCNA 면역조직화학적 염색을 한 표본에서 핵내에 중등도 이상의 반응을 보이는 세포를 양

성으로 판정하여 각 구획당 3개의 40배 현미경 시야에서 세포수를 계측하여 총 PCNA 양성세포 수/측정세포 수로 양성세포의 비율을 측정하였다.

다. 통계처리

단변량분산분석(one-way ANOVA)을 시행하고 Student-Newman-Keuls 다중비교검정을 시행하여 각 계측치에서의 각 군간의 비교를 수행하였다.

각군내에서의 부위에 따른 차이를 보기 위해서는 paired t-test를 시행하였다.

III. 결 과

건강치은

소량의 임파구와 호중구를 포함하는 염증세포 침윤이 치은열구상피 직하에서 관찰되며 T 임파구가 다수를 차지하고 있고(Table 5), 혈관의 분포는 균일하고(Fig. 1), 교원섬유가 풍부한 결합조직으로 구성되어 있으며, 교원섬유는 가늘고 치밀한 구조로 잘 발달되어 있었다(Fig. 6). 증식세포핵항원(PCNA)에 대해서는 상피층의 기저세포층 또는 하부 극세포층에서 양성반응을 보이는 세포가 관찰되었으며(31.3%)(Table 7), 상피직하에서 일부 섬유아세포(7.11%) 및 내피세포가 양성반응을 나타내었다(Table 8, Fig. 11). 섬유아세포의 PCNA 표지지수는 치주낭 내측과 외측이 차이를 보였으나 유의성은 없었으며 ($p > 0.05$), 상피성장인자(EGF)에 대한 양성반응은 관찰되지 않았다(Table 9).

염증치은(Inflammatory gingiva)

염증세포의 침윤이 뚜렷하며 주로 임파구로 구성되어 있으며 특히 B임파구의 비율이 높아져 있고(44.9%)(Table 5), 내피세포의 구성비도 높게 나타났는데, 이같은 염증세포침윤은 주로 치주낭상피하에 밀집하여 나타났으며, 결합조직 내에도 염증세포가 군집을 이루며 나타났다(Fig. 2). 결합조직은 심한 부종상을 보이며 섬유아세포의 구성비는 낮았고(Table 6), 교원섬유는 굵은 섬유는 절단 등의 파괴상을 보였으나 신생 교

원섬유들은 가는 섬유들로서 나타났으며(Fig. 7), 혈관의 분포는 주로 염증세포 침윤부의 주변부나 가운데에서 증가하여 나타났다. PCNA에 대한 양성반응은 치주낭측 상피의 기저세포층에서 뚜렷한 증가를 보였으며(37.3%)(Table 7), 혈관내피세포 및 섬유아세포에서도 증가하였는데 주로 염증세포 밀집부의 주변부에서 높은 비율로 나타났고(Fig. 12), EGF는 혈관이 풍부한 염증세포밀집부의 주변이나 결합조직내의 부종이 심한 부위에서 불규칙하게 나타났다(Table 9, Fig. 17).

염증성 섬유성 치은증식

(Inflammatory fibrous hyperplasia; FGH)

염증세포의 밀도가 염증치은에 비해 낮으며 임파구는 B세포와 T세포가 비슷한 비율이거나 T 세포가 다소 많았고(Table 5), 염증세포 침윤은 주로 치주낭측 상피하방에서 높은 밀도를 나타내었으며 중심부에서는 많은 혈관의 증식과 함께 혈관주변에서 높은 밀도로 나타났다. 내피세포는 염증치은군과 비슷하였다(Fig. 3). 결합조직의 양이 많으며 섬유아세포도 증가되었고 부위별 섬유아세포의 구성비도 높았는데(Table 6), 교원섬유는 대부분은 가늘고 다발을 이루는 양상이었다(Fig. 8). 섬유아세포에 대한 PCNA의 양성반응도 증가하였는데(Table 8), 염증세포 밀집부위 주변에서 높은 비율을 나타내었고(Fig. 13), EGF는 염증세포 밀집부의 주변부에서 불규칙하게 나타났다(Table 9, Fig. 18).

Phenytoin에 의한 치은증식

(phenytoin-induced gingival hyperplasia; PIGH)

염증세포의 구성이나 비율은 섬유성 치은증식과 유사하였으며(Fig. 4) 결합조직의 교원섬유다발은 보다 굵고 치밀한 형태로 나타났다(Fig. 8). 염증세포의 침윤은 섬유성 치은증식에 비해 감소하였으며 T와 B 임파구는 유사한 비율을 보였고(Table 5), 형질세포는 다소의 편차가 있었으나 섬유성 치은증식에서와 마찬가지로 높은 비율로 나타났다. 결합조직의 섬유아세포는 전체적으로 증가한 양상이나 부위별 섬유아세포 구성비는 섬유성증식에서 보다 낮았다(Table 6).

섬유아세포에 대한 PCNA 양성반응과 표지지수는 FGH와 유사한 소견으로(Table 8, Fig. 14) 정상에 비해 높게 나타났으며(Fig. 15), 치주낭측의 PCNA표지지수가 외측의 섬유아세포에 비해 유의하게 높았고($p < 0.05$) (Fig. 15), EGF에 대한 분포도 FGH와 유사하게 나타났으며, 일부표본에서 상피층과 염증세포 침윤부에서 뚜렷하게 나타났으나 일정치는 않았다(Fig. 19).

특발성 치은증식

(Idiopathic gingival hyperplasia; IDGH)

염증세포의 침윤이 거의 없는 치밀한 결합조직으로 구성되어 있었고(Fig. 5), 결합조직의 구성비는 건강치은과 유사하였으며(91.99%). (Table 4) 섬유아세포의 PCNA표지지수(33%)는 다른 군에 비해 유의한 증가를 나타내었는데($p < 0.05$) (Table 8), 염증세포의 침윤과 관계없이 높

Table 4. Relative proportion of connective tissue (%)

| | Region subjacent to the junctional epithelium | Middle region | Region subjacent to attached gingiva | Total |
|-----------------|-----------------------------------------------|-----------------|--------------------------------------|-----------------|
| Healthy gingiva | 93.14 ± 0.86 NS | 92.43 ± 1.13 NS | 92.97 ± 2.98 NS | 92.80 ± 1.56 NS |
| IFG | 13.64 ± 2.71 * | 18.41 ± 8.63 * | 60.52 ± 2.16 * | 30.80 ± 3.45 * |
| FGH | 62.01 ± 16.10 * | 57.07 ± 14.41 * | 72.34 ± 18.61 * | 63.76 ± 15.65 * |
| PIGH | 76.95 ± 10.31 | 77.36 ± 5.76 | 88.33 ± 5.53 | 80.84 ± 3.80 |
| IDGH | 88.65 ± 1.57 NS | 91.96 ± 1.64 NS | 95.36 ± 0.88 NS | 91.93 ± 0.43 NS |

IFG : inflammatory gingiva

FGH : inflammatory fibrous gingival hyperplasia

PIGH : phenytoin-induced gingival hyperplasia

IDGH : idiopathic gingival hyperplasia

* : significantly different with PIGH at $P < 0.05$ level

NS : nonsignificant

Table 5. Number of inflammatory cells per counting area ¹⁾

| | T-cell | B-cell | macrophage /monocyte |
|-----------------|------------------|------------------|----------------------|
| Healthy gingiva | 34.77 ± 6.32 NS | 11.96 ± 0.40 NS | 24.07 ± 4.66 NS |
| IFG | 175.98 ± 39.93 * | 310.43 ± 68.58 * | 205.59 ± 57.71 * |
| FGH | 131.66 ± 21.27 * | 115.35 ± 28.19 * | 123.22 ± 23.23 * |
| PIGH | 59.95 ± 15.31 | 59.43 ± 9.43 | 60.81 ± 11.57 |
| IDGH | 31.47 ± 5.51 NS | 28.45 ± 5.40 NS | 20.78 ± 8.97 NS |

¹⁾ Number(mean±SD) of cells in each 3 high-power fields (x 400)

IFG : inflammatory gingiva

FGH : inflammatory fibrous gingival hyperplasia

PIGH : phenytoin-induced gingival hyperplasia

IDGH : idiopathic gingival hyperplasia

* : significantly different with PIGH at $P < 0.05$ level

NS : nonsignificant

은 PCNA표지지수를 보였다(Fig. 16). 교원질은 약물성과 유사한 형태이나 다소 굵고 치밀하게 나타났고(Fig. 10), EGF는 표면상피층에서 일부 양성반응을 보였다(Table 9, Fig. 20).

전체적으로, 섬유아세포의 PCNA 표지지수는 건강치은(7.11%)이 낮고 특발성 치은증식(33%)이 높게 나타나 나머지 군과 유의성 있는 차이를 보였다(p<0.05). 그 외 다른 군간에는 유의한 차이가 없었다(p>0.05).

결체조직의 상대적 분포는 염증치은(30.8%)과 염증성 섬유성 치은증식(63.8%)이 다른 치은증식들에 비해 유의성 있게 낮은 것으로 나타났다(p<0.05).

섬유아세포의 수는 염증치은(48.04%)이 낮게 나타났으며, 염증성 섬유성 치은증식(83.83%)에 비해 약물성 치은증식(71.43%)이 유의하게 낮은 수치였다(p<0.05). 다른 군간에는 차이가 없었다(p>0.05).

Table 6. Fibroblast counts per unit areas

(mean ± SD)

| | Region subjacent to the junctional epithelium | Middle region | Region subjacent to attached gingiva | Total |
|-----------------|-----------------------------------------------|-----------------|--------------------------------------|-----------------|
| Healthy gingiva | 77.33 ± 6.11 NS | 72.67 ± 2.08 NS | 74.00 ± 5.29 NS | 74.67 ± 3.84 NS |
| IFG | 41.57 ± 14.66 * | 47.00 ± 19.71 * | 55.57 ± 19.14 * | 48.05 ± 16.32 * |
| FGH | 83.75 ± 5.08 NS | 87.33 ± 8.69 * | 80.42 ± 6.05 NS | 83.83 ± 5.06 * |
| PIGH | 72.86 ± 4.74 | 70.86 ± 4.14 | 70.57 ± 4.93 | 71.43 ± 4.19 |
| IDGH | 76.50 ± 8.06 NS | 75.75 ± 8.42 NS | 79.25 ± 2.36 NS | 77.17 ± 6.09 NS |

IFG : inflammatory gingiva

FGH : inflammatory fibrous gingival hyperplasia

PIGH : phenytoin-induced gingival hyperplasia

IDGH : idiopathic gingival hyperplasia

* : significantly different with PIGH at P<0.05 level

NS : nonsignificant

Table 7. Proliferation index of epithelial cells ²⁾

| | Region subjacent to the junctional epithelium | Region subjacent to attached gingiva | Total |
|-----------------|-----------------------------------------------|--------------------------------------|-----------------|
| Healthy gingiva | 32.00 ± 1.59 NS | 30.60 ± 0.92 NS | 31.30 ± 1.14 NS |
| IFG | 37.29 ± 1.87 NS | 31.86 ± 3.41 NS | 34.07 ± 2.15 NS |
| FGH | 30.45 ± 3.74 * | 29.29 ± 3.95 * | 29.87 ± 3.21 * |
| PIGH | 34.39 ± 2.18 | 34.37 ± 3.49 | 34.38 ± 2.20 |
| IDGH | 31.00 ± 2.71 NS | 31.05 ± 2.53 NS | 31.03 ± 1.57 NS |

²⁾ %(mean ± SD) PCNA positive cells in total cell counts

IFG : inflammatory gingiva

FGH : inflammatory fibrous gingival hyperplasia

PIGH : phenytoin-induced gingival hyperplasia

IDGH : idiopathic gingival hyperplasia

* : significantly different with PIGH at P<0.05 level

NS : nonsignificant

Table 8. Proliferation index of fibroblasts ³⁾

| | Region subjacent to the junctional epithelium | Middle region | Region subjacent to attached gingiva | Total |
|-----------------|-----------------------------------------------|-----------------|--------------------------------------|-----------------|
| Healthy gingiva | 8.40 ± 2.00 * | 7.60 ± 3.14 * | 5.33 ± 1.01 * | 7.11 ± 1.95 * |
| IFG | 23.91 ± 11.83 NS | 21.34 ± 6.76 NS | 13.0 ± 4.26 * | 19.42 ± 6.93 NS |
| FGH | 20.20 ± 4.55 NS | 22.73 ± 3.85 NS | 20.67 ± 3.77 NS | 21.20 ± 2.82 NS |
| PIGH | 23.14 ± 6.52 | 21.37 ± 2.72 | 20.22 ± 1.97 | 21.58 ± 2.01 |
| IDGH | 32.70 ± 6.13 NS | 34.75 ± 4.68 * | 23.00 ± 4.70 NS | 30.15 ± 4.63 * |

³⁾ %(mean ± SD) PCNA positive cells in total cell counts

IFG : inflammatory gingiva

FGH : inflammatory fibrous gingival hyperplasia

PIGH : phenytoin-induced gingival hyperplasia

IDGH : idiopathic gingival hyperplasia

* : significantly different with PIGH at P<0.05 level

NS : nonsignificant

Table 9. Distribution of epidermal growth factor(EGF)⁴⁾

| | epithelium | fibroblast | blood vessel | inflammatory infiltrate |
|-----------------|------------|------------|--------------|-------------------------|
| Healthy gingiva | 0 | 0 | 0 | 0 |
| IFG | 0 | 0 | 1 | 1 |
| FGH | 0 | 0 | 0 | 1 |
| PIGH | 1 | 0 | 0 | 1 |
| IDGH | 1 | 0 | 0 | 0 |

⁴⁾ degree of EGF positive reactions

(0: negative, 1: weak, 2: moderate, 3: strong, 4: intense)

IFG : inflammatory gingiva

FGH : inflammatory gingival hyperplasia

PIGH : phenytoin-induced gingival hyperplasia

IDGH : idiopathic gingival hyperplasia

IV. 총 괄 및 고 안

치은증식의 정확한 발생기전에 대해서는 지난 수십년동안 수 많은 연구결과와 이론이 제시되었지만 아직까지도 풀리지 않는 어려운 문제로

남아있으며 최근에는 약물로 기인한 치은의 증식은 주로 치아와 약물 그리고 염증의 상호작용으로 인해 초래되며 이때 염증이 중요한 보조요인으로 작용할 것이라고 보고있다.^{11,18)}

우리들의 이 연구에서 phenytoin으로 인한 약물성 치은증식의 조직은 전체적으로 비후되어 나타나고 어느정도의 염증세포 침윤 및 혈관증식 그리고 치밀하게 축적된 교원섬유를 포함하는 조직의 양상을 보였다. 이에 비해 염증성 섬유성 치은증식은 염증치는 조직 보다는 적으나 다수의 염증세포 침윤과 신생혈관 그리고 보다 성기게 구성된 교원섬유를 포함하고 있으며, 결합조직성분이 건강치은 조직에 비해 밀도가 감소하였다.

염증성 섬유성 치은증식에서의 이러한 양상은 일차적으로 염증세포 침윤 및 혈관의 증식 정도와 관련되어 나타나는 현상으로 볼수 있지만 약물성 치은증식에서는 염증반응과 연관된 증식과정의 한 단계인지 아니면 증식과정과 관계없는 이차적 염증반응의 결과인지는 확실치 않지만, 많은 연구들에서 약물성 치은증식과 조직의 염증상태의 상호관련성에 대해서 염증의 역할을 강조하고 있다.⁴⁶⁻⁵⁰⁾

Hassell등⁴⁶⁾은 phenytoin에 의한 치은증식과 염증사이의 긍정적인 상관관계를 강력하게 주장

했으며 동물을 대상으로한 연구에서도 유사한 결과를 제시했다. Nuki & Cooper⁴⁷⁾는 실험적 염증치은에서 치은의 증식이 발생되었고, 염증이 없는 치은에서는 증식이 유발되지 않음을 보고했고 쥐를 이용한 다른 연구에서도 염증이 없는 상태에서는 phenytoin이 치은의 증식을 유발시키지 않았다고 보고했으며⁴⁸⁾ Yamada 등⁴⁹⁾, Nascimento 등⁵⁰⁾도 이미 염증을 유발시킨 치은에서 증식이 발생했다고 보고한 바 있다. 또한 약물성 증식에 대한 치태의 역할에 관련된 연구가 많이 있지만 서로 상반된 결론에 도달한 경우가 많았다. Seymour & Smith⁵¹⁾은 치태와 약물성 치은증식 사이에 뚜렷한 상관관계가 보이지는 않았지만 치태지수가 치태의 병인성을 전적으로 나타내는 것이 아니기 때문에 치태의 작용을 완전히 배제할 수는 없을 것이라고 주장했으며 King 등¹⁰⁾은 치은증식이 발생한 경우와 발생하지 않은 경우 사이에 치태지수의 상관관계가 있었다고 보고하고 이러한 결과는 증식된 치은의 상태가 적절한 치태조절이 어려운 환경을 부여한 것과 관련이 있을지 모르며 치태가 치은증식 유발기전을 전적으로 설명할 수는 없을지라도 어느 정도의 보조역할은 할 것이라고 주장하고 있다. Nishikawa⁵²⁾는 증례보고에서 약물로 기인한 치은증식조직을 외과적으로 절제한후 엄격한 치태조절을 한 결과 재발되지 않았다고 보고하고 약물성 치은증식이 일차적으로 치은염/치주염에 의해 촉발되며 약물이 보조적인 또는 상승작용을 할 것이라는 의견을 제시한 바 있다.

우리들의 연구에서는, phenytoin으로 인한 치은증식이나 염증성 섬유성 치은증식의 조직에서 건강치은에 비해 많은 염증세포 침윤이 있으며 특히 임파구와 대식세포의 수가 증가되어 나타났고, 이 염증세포 주변의 섬유아세포들은 증식세포핵항원(proliferating cell nuclear antigen: PCNA)에 높은 양성반응을 보였는데, 이는 일련의 염증세포들 특히 임파구와 대식세포가 결체조직 재생에 상당한 역할을 한다는 보고와 연관이 있을 것으로 추측된다. Whal 등^{53, 54)}은 대식세포가 섬유아세포에 대해서 화학주성인자와 분열유발인자로 작용하는 요인들을 분비한다고 보고한 바 있으며 Dahllof 등⁵⁵⁾은 약물성 치은증식과

관련하여 조직내 임파구, 대식세포등의 단핵세포가 증가되어 나타남을 보고했으며 Hassell²⁰⁾ 등은 병소의 초기단계에서, Dill 등⁵⁶⁾은 쥐에서 실험적으로 유발된 약물성 치은증식의 조직에서 대식세포가 증가함을 보고하였다. 이러한 연구들과 관련하여 일련의 연구⁵⁶⁻⁵⁸⁾에서는 phenytoin이 대식세포를 활성화시켜 섬유아세포에 대한 성장요인을 합성케 함으로써 약물의 섬유아세포에 대한 직접적인 효과이외에 다양한 세포를 통해 성장 증진 효과를 유발시킬 가능성에 대해 언급했다. 그리고 Dill 등⁵⁹⁾은 염증세포가 약물성 치은증식과 관련성이 있다는 관점에서, phenytoin이 창상치유나 조직의 재구성에 있어서 내인성 신호(endogenous signals)를 흉내내는 것으로 보이며 평상치료약물 수준에서는 약물의 효과가 아역치 상태이지만 높은 재구성비율이 나타나는 염증조직에서는 약물이 내인성 신호와 상승작용을 함으로써 결과적으로 과도한 회복이나 성장이 초래될 수 있다는 가설을 제시하고 있다. 저자들의 연구에서 염증세포 구성을 보면, 정상조직에서는 소량의 임파구가 존재하고 주로 T-세포로 이루어져 있지만 염증치은 조직에서는 임파구의 침윤이 급증했으며 B세포가 우세하게 나타났다. 염증성 섬유성 치은증식의 조직에서는 염증치은 조직보다는 적으나 역시 많은 임파구가 나타나며 T/B 세포비율은 비슷하거나 T세포가 다소 많이 보이는 소견이었으며 phenytoin으로 인한 치은증식의 조직에서도 임파구는 수는 적지만 구성은 유사하게 나타났다. Kwast³⁴⁾는 phenytoin으로 인한 치은증식의 조직내에 많은 수의 단핵세포가 존재했지만 대부분 형질세포였다고 보고한 바 있으나 Dahllof 등⁵⁵⁾은 T세포가 주종을 이루며 상당한 양의 대식세포가 보이지만 B세포는 드물게 보였다고 보고했는데, 이는 Kwast의 보고와 상반된 결과로서 phenytoin으로 인하여 증식된 치은조직에서는 T-cell mediated immune response가 증식유발에 어떤 역할을 할지도 모른다는 가설을 내세우기도 했다. 그러나 우리들의 연구에서는 T/B 세포의 구성이 비슷하게 나타난 바 이런 현상이 증식과 관련된 염증의 변화인지 또는 이차적인 염증의 진행으로 인한 것인지는 불분명하다고 본다.

섬유아세포는 간질체계의 한 구성원으로서 연조직합성과 재구성에 중요한 역할을 담당한다는 것은 잘 알려진 사실이다. 현재의 실험결과를 볼 때 염증치는 조직에서는 PCNA 양성반응이 건강치은에 비해 높게 나타났으며 주로 염증세포가 밀집된 부위에서 많이 나타났는데, 이는 치은 섬유아세포의 세대교체가 염증에 의해 영향을 받는다는 사실과 실험치주염에서 섬유아세포의 성장과 분할이 조직의 생체항상성 기전의 반영으로 증가된다는 주장⁶⁰과 관련이 있는듯하다. 염증성 섬유성 치은증식의 조직에서는 전체적인 조직의 비후로 인해 섬유아세포수가 증가되고 부위에 따른 구성비도 높게 나타났으며 PCNA에 대한 양성반응도 높게 나타났다. 이러한 결과로 미루어 볼때, 염증성 섬유성 치은증식은 지연된 창상치유의 한 특징으로 나타나며 초기염증반응시 혈관의 증식과 성장인자의 증가등으로 인한 이차적인 섬유아세포의 과증식이 원인으로 생각되며 이 실험의 염증성 섬유성 치은증식 조직에서 섬유아세포의 PCNA 양성 반응이 높게 나타나고 교원 섬유축적이 증가하는 것으로 보아, 이는 다른 증식성 치은과는 달리 결합조직내 국소인자의 자극에 의한 세포분열의 증가 및 세포외기질의 증가가 주 원인으로 생각된다. phenytoin으로 인한 치은증식의 조직에서는 조직의 비후로 인해 전체적인 섬유아세포의 수는 증가되어 보이나 부위에 따른 섬유아세포 밀도는 정상에 비해 뚜렷한 차이를 보이지 않았다. 이는 염증성 섬유성 치은증식에서와는 달리 섬유아세포의 수적증가 보다는 섬유성 결체조직이 뚜렷하게 증가한 결과라고 볼수 있다.

이 실험의 phenytoin으로 인한 치은증식의 조직에서는 염증성 섬유성 치은증식에 비해 섬유아세포의 밀도가 낮으며 PCNA 양성표지지수는 뚜렷한 차이를 보이지 않는 반면 교원섬유의 양이 증가되어있고 보다 굵고 치밀한 양상을 띄고 있다. 이러한 결과로 미루어 볼때, 약물성 치은증식의 조직내에는 교원섬유 합성능력이 항진된 섬유아세포의 아세포군 또는 비활성 교원섬유분해효소를 분비하는 아세포군이 있을 가능성이 있으며 phenytoin 같은 약물이 선택적으로 이러한 세포들을 자극하여 증식효과를 나타내는 것

이 아닌가 추측된다. 최근에 Pender등³⁰은 치은조직내에 2개의 독립된 성격의 섬유아 전구세포가 있음을 보고하고 있고 McCulloch³¹는 자체재생능력이 상당히 다른 독립된 섬유아세포군을 보고하였으며 phenytoin이외의 치은증식을 유발하는 것으로 알려진 Cyclosporin-A^{32,33}, Nifedipine⁶¹, Verapamil¹⁶등의 연구에서도 이러한 아세포군에 대한 가설을 제시하고 있다.

상피성장인자의 조직내 분포를 볼때, 정상치은에서의 양성반응은 관찰되지 않으며 주로 염증세포 침윤 및 혈관이 풍부한 조직에서 국소적으로 양성반응을 나타냈으며 약물성 치은증식의 경우 염증성 섬유성 치은증식과 유사한 소견을 보였다. 상피성장인자는 성장인자의 일종으로서 주된 표적세포들은 상피세포와 간엽성 기원의 세포들이며 DNA합성, 단백질합성, 세포운동을 자극하는등 다양한 효과가 있다. Irwin⁶²은 정상조직에서는 관찰이 안되고 염증조직에서 관찰되는 것으로 보아 염증반응과 관련되어 상피성장인자의 수용기 수가 상향 조절되는것 같다고 보고하고 있으며 Modeer등³⁵은 phenytoin이 대식세포를 활성화시켜 혈소판유래 성장인자를 과다생성 시킴으로써 간접적으로 상피성장인자의 수용기수에 영향을 미칠 수 있다고 주장한 바 있으나 이 실험에서는 약물성 치은증식이 염증성 섬유성 치은증식과 뚜렷한 차이를 보이지 않는것으로 보아 phenytoin의 상피성장인자에 대한 작용이 특이적으로 다르게 나타났다고 볼 수는 없을 것 같다.

결론적으로 이 논문의 한계내에서 특발성 치은증식을 제외하고는 염증이 치은증식을 유발하는데 있어서 주요한 역할을 하는것으로 보였으며, 약물성 치은증식의 경우에는 다른 종류의 치은증식과는 달리 교원질이 보다 굵고 치밀한것으로 보아 염증과 더불어 약물의 직접 혹은 간접적인 영향을 추측케하며, 성장인자의 관여 여부는 밝혀내지 못했지만 치은의 과도한 성장은, 대식세포와 그들의 전구세포 그리고 단핵세포등이 어떠한 자극을 받게되면 혈소판유래 성장인자와 더불어 다른 성장인자를 합성분비한다는 현상과 관련될지도 모른다는 주장^{63,64}과 혈소판유래 성장인자등이 결체조직 특히 치은의 성장

과 회복을 촉진시킨다는 주장^{65,66)}이 제시되었는 바 적절한 실험대상 및 방법으로 이러한 성장인자의 작용에 대하여 염증 매개체와 표적세포 사이의 정확한 관련성여부를 결정할 수 있는 연구가 계속 필요할 것으로 생각된다.

V. 결 론

원인이 다양한 치은증식을 조직병리학적 특성에 따라 비교하고 치은증식의 인과관계를 밝히기 위해 염증성 섬유성 치은증식, phenytoin으로 인한 치은증식, 그리고 특발성 치은증식, 염증치은, 건강치은조직을 생검하여 수종의 항체를 이용한 면역조직화학적 염색방법과 조직형태학적 계측방법을 통해 조사하였던바 아래와 같은 결과를 얻었다.

1. 염증성 섬유성 치은증식의 경우 염증치은 조직에 비해 염증세포 침윤은 감소하였다. phenytoin에 의한 치은증식의 경우 염증세포의 구성은 염증성 섬유성 치은증식과 유사하나 그 수는 감소한 상을 보였다. 특발성 치은증식은 염증세포 침윤이 거의 없이 정상과 유사한 소견을 보였다.
2. 염증성 섬유성 치은증식의 경우 섬유아세포의 수적 증가와 가늘고 긴 신생교원 섬유가 증가되어 나타난 반면 phenytoin에 의한 치은증식에서는 섬유아세포의 뚜렷한 수적 증가 없이 굵고 치밀한 교원섬유로 구성되어 있었고 특발성 치은증식의 경우에는 섬유아세포의 수적 증가와 굵고 치밀한 교원섬유를 보였다.
3. 증식세포핵항원에 대한 양성반응은 주로 염증세포와 혈관이 밀집된 부위에서 높은 비율로 나타났으며 증식성조직에서 뚜렷한 증가를 보였고 특히 특발성 치은증식에서는 전층에서 균일한 분포를 나타냈다.
4. 상피성장인자에 대한 양성반응은 건강치은에서는 관찰되지 않으며 혈관이 풍부한 부위에서 국소적으로 나타났다.

REFERENCES

1. Carranza FA. Glickman's Clinical periodontology. Philadelphia: WB Saunders Co; 1990; 126-147.
2. Davidson JM. Inflammation: basic principles and clinical correlation. New York: Raven Press; 1992; 809-819.
3. Vontobel F. Idiopathic gingival hyperplasia and hypertrichosis associated with acromegaloid features. *Helv Paedia Acta* 1973; 28: 401-411.
4. Winter GB, Simpkins JJ. Hypertrichosis with hereditary gingival hyperplasia. *Arch Dis Child* 1974; 49: 394-399.
5. Witkop CJ, Jr. 1971. Heterogeneity in inherited dental traits, gingival fibromatosis, and amelogenesis imperfecta. *South Med J* 1971; 64: 16-25.
6. Yurosko JJ, Wall TM, Vopani JJ, Gossman, J.R. Idiopathic gingival fibromatosis. *J Oral Surg* 1977; 35:907-908.
7. M. Penarrocha - Diago, J.V. Bagan - Sebastian Diphenylhydantoin - Induced Gingival Overgrowth in Man: A clinico - pathological study *J Periodontol* 1990; 61: 571-574.
8. Butler RT, Kalkwarf KL, Kaldahl WB. Drug induced gingival hyperplasia: Phenytoin, cyclosporin, and nifedipine. *J Am Dent Assoc* 1987; 118:58-60.
9. Angelopoulos AP, Diphenylhydantoin gingival hyperplasia, A clinicopathological review I Incidence clinical, features and histopathology. *J Can Dent Assoc* 1975; 40:103-106.
10. King GN, Fullinwax R, Higgins TJ, Walker RG: Gingival hyperplasia in renal allograft recipients receiving cyclosporin-A and calcium antagonists: *J Clin Periodontol* 1993; 20:286-293.
11. Thomason JM, Seymour RA and Rice N: The prevalence and severity of cyclosporin and nifedipine - induced gingival overgrowth: *J Clin Periodontol* 1993; 20:37-40.
12. Rateitschak-Pluss EM, Hehti A, Lortscher R, Thiel G. Initial observation that cyclosporin-A induces gingival enlargement in man. *J Clin Periodontol* 1983; 10: 237-246.
13. Salo T, Oikarinen KS, Oikarinen AI. Effect of phenytoin and nifedipine on collagen gene expression in human gingival fibroblasts. *J Oral Pathol Med* 1990; 19: 404-407.
14. Lederman D, Lumerman H, Reuben S, Freedman PD. Gingival hyperplasia associated with nifedipine therapy. Report of a case. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1984; 57:620-622.

15. Lucas RM, Howell LP, Wall BA. Nifedipin-induced gingival hyperplasia. A histochemical and ultrastructural study. *J Periodontol* 1985; 63:453-456.
16. Pernu HE, Oikarinen K, Hietanen J, Knuutila M. Verapamil-induced gingival overgrowth: a clinical, histologic, and biochemical approach. *J Oral Pathol Med* 1989; 18:422-425.
17. Bowman J, Levy B, Grubb R. Gingival overgrowth induced by diltiazem. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1988; 65:183-185.
18. Brown RS, Berver WT, Bottomley WK. On the mechanism of drug-induced gingival hyperplasia. *J Oral Pathol Med* 1991; 20:201-209.
19. Angelopoulos AP. Clinicopathological review. Diphenylhydantoin gingival hyperplasia: 2. Aetiology, pathogenesis, differential diagnosis and treatment. *J Can Dent Assoc* 1975; 4:275-277.
20. Hassell TM, Page RC, Lindhe J. Histologic evidence for impaired growth control in diphenylhydantoin gingival overgrowth in man. *Arch Oral Biol* 1978; 23:381-384.
21. Gardner AF, Gross SG, Wynne LE. An investigation of gingival hyperplasia resulting from diphenylhydantoin sodium therapy in 77 mentally retarded patients. *Exp Med Surg* 1962; 20:133-158.
22. Addy V, McElnay JC, Eyre DG, Campbell N, D'Arcy PF. Risk factors in phenytoin-induced gingival hyperplasia. *J Periodontol* 1983; 54:373-377.
23. Kantor ML, Hassell TM. Increased accumulation of sulfated glycosaminoglycans in cultures of human fibroblasts from phenytoin-induced gingival overgrowth. *J Dent Res* 62:383-387
24. Dahllof T, Modeer F.: Proteoglycans and glycosaminoglycans in phenytoin-induced gingival overgrowth: *J Periodontol* 1986; 21:13-21.
25. Dahllof G, Reinholt FP, Hjerpe A, Modeer T. A quantitative analysis of connective tissue components in phenytoin-induced gingival overgrowth in children. A stereological study. *J Periodont Res* 1984; 19:401-407.
26. Ballard JB, Butler WT. Proteins of the periodontium. Biochemical studies on the collagen and noncollagenous proteins of human gingivae. *J Oral Pathol* 1974; 3(4): 176-184.
27. Hassell TM. Evidence for production of an inactive collagenase by fibroblasts from phenytoin-enlarged human gingivae. *J Oral Pathol* 1982; 11:310-317.
28. Narayanan AS, Page RC. Connective Tissues of the Periodontium: A Summary of Current Work. *Collagen Res* 1983; 3:33.
29. Goultshin J. Shoshan J. Inhibition of collagen breakdown by diphenylhydantoin. *Biochim Biophys Acta* 1980; 631:188.
30. Pender N, Heaney TG, Pycocock D, West CR. Progenitor connective tissue cell populations in the gingival papilla of the rat. *J Periodont Res* 1988; 23:175-181.
31. McCulloch CAG, Knowles G. Discrimination of two fibroblast progenitor populations in early explant cultures of hamster gingiva. *Cell Tissue Res* 1991; 264:87-94.
32. Hassell TM, Stanek III EJ. Evidence that healthy human gingiva contains functionally heterogenous fibroblast subpopulations. *Arch Oral Biol* 1983; 28:617-625.
33. Hassell T, Buchanan J, Cuchens M, Douglas R. Fluorescence activated vital cell sorting of human fibroblast subpopulations that bind cyclosporin-A. *J Dent Res* 1988; 67:273(abst. 1285).
34. Van Der Kwast Wam. Speculations regarding the nature of gingival hyperplasia due to diphenylhydantoin-sodium. *Acta Med Scand* 1956;153:399-405.
35. Modeer T, Andersson G. Regulation of epidermal growth factor receptor metabolism in gingival fibroblasts by phenytoin in vitro. *J Oral Path Med* 1990; 19:188-191.
36. Huey J, Narayanan AS, Jones K, Page RC. Effect of epidermal growth factor on the synthetic activity of human fibroblasts. *Biochim Biophys Acta* 1980; 632: 227-233.
37. Hiramatsu M, Kumegawa M, Hatakeyema K, Yajima T, Minami N, Kodama H. Effect of epidermal growth factor on collagen synthesis in osteoblastic cells derived from newborn mouse calvaria. *Endocrinology* 1982; 111:1810-1816.
38. Hata R, Sunada H, Arai K, et al. Regulation of collagen metabolism and cell growth by epidermal growth factor and ascorbate in cultured skin fibroblasts. *Eur J Biochem* 1988; 173: 261-267.
39. Steinmann B, Abe S, Martin G. Modulation of type 1 and type 3 collagen production in normal and mutant human skin fibroblasts by cell density, prostaglandin E2 and epidermal growth factor. *Coll Rel Res* 1982; 2:185-195.
40. Nishiyama K, Aoki F, Kawase T, Saito S. Effect of epidermal growth factor on protein synthesis in human periodontal ligament fibroblasts. *Ketsugo Soshiki* 1987; 19:208-209.
41. Colige A, Nusgens B, Lapiere CM. Effect of EGF on human skin fibroblasts is modulated by the extrac-

- llular matrix. *Arch Derm Res* 1988; 280:542-546.
42. Modeer T, Dahllof G, Karsten J, Otteskog P. Potentiation of fibroblast DNA synthesis by a phenytoin-induced mononuclear cell derived factor in vitro. *Scand J Dent Res* 1989; 97:186-187.
 43. Modeer T, Karsten J, Weintraub A, Gidlund M, Sundqvist K-G. Phenytoin induces interleukin-1 production in vitro. *Life Sci* 1989; 44:35-40.
 44. Page RC, Schroeder HE. Pathogenesis of chronic inflammatory periodontal disease: A summary of current work. *Lab Invest* 1976; 33:235-249.
 45. Romanos GE, Schroter-Kermani C; Hinzn; Extracellular matrix analysis of nifedipine-induced gingival overgrowth; immunohistochemical distribution of different collagen types as well as the glycoprotein fibronectin; *J Periodont Res* 1993; 28:10-16.
 46. Hassell T, O'Donnell J, Pearlman J. et al.: Phenytoin induced gingival overgrowth in institutionalized epileptics. *J Clin Periodont* 1984; 11:242.
 47. Nuki K, Cooper SH.: The role of inflammation in the pathogenesis of gingival enlargement during the administration of diphenylhydantoin sodium in cats. *J Periodont Res* 1972; 7:102.
 48. Conard GJ, Haavik CO, Finger KF.: The relationship of 5-5-diphenylhydantoin metabolism to the species-specific induction of gingival hyperplasia in the rat. *Arch Oral Biol* 1972; 17: 311.
 49. Yamada S, Sato T, Miake K.: Experimental pathological studies on dilantin gingival hyperplasia in rat. *Bull Tokyo Dent Coll* 1977; 18: 181.
 50. do Nascimento A, de Castro Barreto R, Bozzo L, and de Almeida OP.: Interaction of phenytoin and inflammation induces gingival overgrowth in rats. *J Periodont Res* 1985; 20: 386.
 51. Seymour RA, Smith DG. The effect of a plaque control programme on the incidence and severity of cyclosporin-induced gingival changes. *J Clin Periodontol* 1991; 18:107-110.
 52. Nishikawa S, Tada H, Hamasaki A, Kasahara S, Kido J, Nahata T, Ishida H, Wakano Y. Nifedipine-induced gingival hyperplasia: A clinical and in vitro study. *J Periodontol* 1991; 62:30-35.
 53. Wahl S.: Mononuclear cell-mediated alterations in connective tissue. R. J. Genco and S. E. Mergenhagen (eds), *Host-Parasite Interactions in Periodontal Disease*, pp 225-234. Washington, DC, American Society for Microbiology, 1982.
 54. Wahl SM.: The role of lymphokines and monokines in fibrosis. *Ann NY Acad Sci* 1985; 460:224.
 55. Dahllof G, Modeer T, Otteskog P, Sundqvist KG.: Subpopulations of lymphocytes in connective tissue from phenytoin-induced gingival overgrowth. *Scand J Dent Res* 1985; 93: 506.
 56. Dill RE, Davis W, Zimmermann ER, Cotmore JM.: Macrophages in phenytoin-induced connective tissue proliferation. *J Dent Res* 1986; 63: 762.
 57. Benveniste K, Bitar M.: Effects of phenytoin on cultured human gingival fibroblasts. T.M. Hassell M.C. Jonson and K.H. Dudley (eds), *Phenytoin-Induced Teratology and Gingival Pathology*, pp 199-213. New York, Raven Press, 1980.
 58. Hassell TM, Gibert GM.: Phenytoin sensitivity of fibroblasts as the basis of susceptibility to gingival enlargement. *Am J Pathol* 1983; 112: 218.
 59. Dill RE, Davis WL, Zimmerman ER. Quantitation of phagocytic cells in phenytoin-induced connective tissue proliferation in the rat. *J Periodontol* 1988; 59: 190-197.
 60. McCulloch CAG. Effect of experimental periodontitis on fibroblast progenitor populations in hamster gingiva. *J Periodont Res* 1986; 21:685-691.
 61. Hassell TM, Hefti AF. Drug-induced gingival overgrowth: old problem, new problem. *Crit Rev Oral Biol Med* 1991; 2:103-137.
 62. Irwin CR, Schor SL, Ferguson MWJ: Expression of EGF-receptors on epithelial and stromal cells of normal and inflamed gingiva. *J Periodont Res* 1991; 26:388-394.
 63. Rappolee DA, Mark K, Banda MJ, Werb Z. Wound macrophages express TGF- α and other growth factors in vivo: analysis by mRNA phenotyping. *Science* 1988; 241:708-712.
 64. Madtes DK, Raines EW, Sakariassen KS, et al. Induction of transforming growth factor inactivated human alveolar macrophages. *Cell* 1988; 53:285-293.
 65. Cross M, Dexter TM. Growth factors in development, transformation and tumorigenesis. *Cell* 1991; 64:271-280.
 66. Antoniadis HN, Galanopoulos T, Neville-Golden J, Kiritsy CP, Lynch SE. Injury induces in vivo expression of platelet-derived growth factor(PDGF) and PDGF receptor mRNAs in skin epithelial cells and PDGF mRNA in connective tissue fibroblasts. *Proc Natl Acad Sci (USA)* 1991; 88:565-569.

**IMMUNOHISTOCHEMICAL STUDIES ON CELL POPULATION AND
GROWTH FACTORS IN GINGIVAL HYPERPLASIA**

Kang-Nam Lee · Soo-Boo Han · Jae-Il Lee

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

The purpose of this study was to investigate the differences of histochemical characteristics in inflammatory fibrous gingival hyperplasia (FGH), phenytoin-induced gingival hyperplasia (PIGH), idiopathic gingival hyperplasia (IDGH) and control groups (healthy and inflammatory gingiva) by immunohistochemical method with various antibodies and histomorphological analysis.

In immunohistochemical finding, antibodies to inflammatory cells (T/B lymphocytes, macrophages, other monocytes), proliferating cell nuclear antigen (PCNA), epidermal growth factor (EGF), factor VIII, and type I collagen were used.

1. The inflammatory infiltrates in FGH were less than those in inflammatory gingiva. The composition of inflammatory cells of PIGH was similar with that of FGH. IDGH showed a similar histologic findings with healthy gingival tissue.
2. In FGH, the number of fibroblasts and newly-formed collagen fibers was increased. No significant increase of fibroblasts and the dense accumulation of thick collagen fibers were seen in PIGH. The increase of fibroblasts and the dense accumulation of thick collagen were seen in IDGH.
3. PCNA-positive cells were localized mainly in the area accumulated with inflammatory cells and blood vessels, significantly increased in all hyperplastic tissue groups, and distributed evenly in IDGH.
4. The distribution of EGF were not observed in healthy gingiva but detected locally in area with confluent blood vessels, without significant difference between the other tissue groups.

This results suggest that inflammation plays a significant role in inducing hyperplastic change of gingival tissue. While in IDGH, drug itself as well as inflammation seems to attribute to hyperplastic change.

Key word: gingival hyperplasia, immunohistochemical staining, inflammatory cells, fibroblast, collagen fiber, PCNA, EGF.

EXPLANATION OF FIGURES

- Fig 1.** Healthy gingiva, fine fibrous connective tissue stroma with scattered inflammatory cells. H&E 40X
- Fig 2.** Inflammatory gingiva, extensive infiltration of inflammatory cells, especially plasma cells. H&E 40X
- Fig 3.** Inflammatory fibrous gingival hyperplasia(FGH), Infiltrations are localized in subepithelial connective tissue and perivascular spaces. H&E 40X
- Fig 4.** Phenytoin-induced gingival hyperplasia(PIGH), characteristic long rete peg and reduced, focal infiltration of inflammatory cells. H&E 40X
- Fig 5.** Idiopathic gingival hyperplasia(IDGH), relatively less inflammatory infiltrates, similar to that of healthy gingiva. H&E 40X
- Fig 6.** Healthy gingiva, fine interlacing collagen bundles. anti-type I collagen 100X
- Fig 7.** Inflammatory gingiva, short, fragmented collagen fibers. anti-type I collagen 100X
- Fig 8.** FGH, thin, regenerating collagen fibers. anti-type I collagen 100X
- Fig 9.** PIGH, thick and coalesced collagen bundles. anti-type I collagen 100X
- Fig10.** IDGH, similar to fig. 9. anti-type I collagen 100X
- Fig11.** Normal gingival fibroblast, scattered positive cells. PCNA 400X
- Fig12.** Inflammatory gingiva, numerous fibroblastic cells are positive to PCNA in the periphery of inflammatory infiltrations. PCNA 400X
- Fig13.** FGH, much increased positive cell in fibroblastic area, blood vessels and inflammatory infiltrates. PCNA 400X
- Fig14.** PIGH, increased positive cells, similar to that of FGH. PCNA 400X
- Fig15.** PIGH, much increased positive cells around inflammatory infiltrate near pocket area
- Fig16.** IDGH, much increased positive cells without inflammatory infiltrates. PCNA 400X
- Fig17.** Inflammatory gingiva, focal positive reactions around blood vessels in inflammatory infiltrates. EGF 100X
- Fig18.** FGH, increased positive reactions around blood vessels. EGF 100X
- Fig19.** PIGH, subepithelial and perivascular positive reactions over dense inflammatory infiltration areas. EGF 100X
- Fig20.** IDGH, positive reactions in intercellular areas of upper epithelium. EGF 100X

논문사진부도 ①

논문사진부도 ②

논문사진부도 ③

논문사진부도 ④