

Superoxide Dismutase가 백서의 실험적 치은염과 3T3 섬유모 세포의 활성화에 미치는 영향

김윤성 · 유형근 · 강현구 · 신형식

원광대학교 치과대학 치주과학교실

I. 서 론

염증성 치주 질환의 발병에 가장 중요한 원인 요소는 치태 세균이지만 세균 그 자체가 직접 질환을 일으키기 보다는 내독소와 같은 세포 독성과 항원성이 있는 세균의 대사 산물이 질병의 발병 및 그에 따른 조직 파괴에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다¹⁾.

산소는 호기성 생물에 반드시 필요한 물질로 전자 전달계의 최종 전자 수용체로서 작용하는데, 여러 대사 과정 중에서 산소가 이용되지만 불완전한 환원 상태에서는 반응성이 높고 생체에 독성을 나타내는 활성 산소를 생산해 낸다. 이러한 활성 산소 물질에는 superoxide radical ($O_2 + e^- \rightarrow O_2^-$)이 산소 독성의 중추적인 역할을 한다²⁾.

생물학적 반응으로 생성된 활성산소를 제거시켜 생물체를 보호하는 효소로는 superoxide dismutase (이하 SOD), catalase, peroxidase 등이 있으며 이들의 생물학적 방어 기전에 대한 중요성이 계속 보고되고 있으며³⁾, 이들 효소의 유도과 조절 기전도 진핵(eukaryotic)과 원핵(prokaryotic) 세포를 대상으로 여러 실험을 통해 밝혀지고 있다⁴⁾. 작은 분자로서 항과산화제 혹은 free radical scavenger 역할을 하는 것으로는 tocopherol, β -carotene, ascorbic acid 등이 있다⁵⁾.

SOD는 대부분의 진핵세포에 존재하며 cyanide에 민감한 Cu-Zn SOD와⁶⁾ cyanide에 민감하지 않으면서 몇 종의 원핵세포와 진핵세포의

미토콘드리아에서 발견되는 Mn SOD, 또한 *E. Coli*의 원형질막 외강이나 남조류에서 분리되는 Fe SOD 등 3종류가 있다⁷⁾.

최근에는 위궤양, 궤양성 위장관계질환 뿐 아니라 각종 간질환, 폐기종, 성인성 호흡곤란증후군, 심혈관계 질환 등 각종 질환과 연관되어 산소 독성 작용에 대한 연구가 진행되었으며⁸⁾, 세균 침입에 의한 조직손상뿐 아니라 비세균성의 급성 및 만성염증에 있어서도 활성 산소가 관여하고 있고 각종 활성 산소를 제거하는 SOD 등의 여러가지 화합물이 염증 억제 작용을 나타낸다고 알려져 있으며⁹⁻¹¹⁾ 염증세포 중 주로 다형핵 백혈구는 arachidonic acid 대사 산물과 superoxide radical을 생성함으로써 염증 반응에 관여됨이 밝혀졌다¹²⁾. 이와 같은 보고에 근거해 류마치성 관절염 환자에 SOD를 피하주사한 바 임상적인 증상개선을 가져왔고, 주사 부위의 염증반응이 SOD 투여로 억제되며, 항원-항체 복합체를 투여해 일으킨 생쥐의 사구체 신염에서도 SOD의 투여는 항염증 작용을 나타낸다고 하였고^{13,14)} 산소 독성의 예방이나 치료를 위해 SOD의 투여가 시도되어 질병 치료에 있어 임상적인 효과와 이론적인 합리성까지 보고되었다.

Charon 등¹⁵⁾은 치태 세균들의 산소 대사에 대한 영향을 규명하고자 건강한 사람의 말초 혈액내 다형핵 백혈구와 치은 연상 및 치은 연하 치태를 각각 배양시켜 과산화수소 생성에 관하여 조사한 결과 치은 연상 치태중 *Actinomyces viscosus*는 다형핵 백혈구의 과산화수소 생성에

영향을 미치지 않으나, 치은연하 치태증 *Porphyromonas gingivalis*와 *actinobacillus actinomycesetemcomitans*는 다형핵 백혈구의 산소 대사를 억제시킬 수 있음을 보고하였다.

치주 질환에 이화된 환자들을 대상으로 한 연구에서도 다형핵 백혈구에 의한 산소와 과산화수소의 생성에 관해 관찰을 했는데, Van Dyke 등¹⁶⁾은 다형핵 백혈구의 화학 주성에 결합이 있는 국소 유년형 치주염 환자에서 다형핵 백혈구에 의한 superoxide radical의 생성은 정상적이라고 보고하였으나, Asman¹⁷⁾은 유년형 치주염 환자들에서 다형핵 백혈구에 의한 superoxide radical의 생성이 증가되었음을 보고하였고, 최근 Kimura 등¹⁸⁾은 성인형 치주염, 국소 및 전신 유년형 치주염 환자에서 다형핵 백혈구에 의한 과산화수소 생성이 증가되지만 치석 제거술이나 치근면 활택술과 같은 초기 치료 후 정상으로 회복됨을 확인하여 치주질환에도 superoxide radical이 관련있음을 보고하였다.

한편 3T3 섬유모세포는 mouse embryo fibroblastic cell line으로써 제1형과 제3형 교원질을 생산하는 것으로 알려져 있고 원시 증배엽 세포로써 다른 세포로도 분화 유도할수 있다고 하여 세포독성 평가에 이용되고 있다¹⁹⁾.

이에 본 연구는 3T3 섬유모세포를 배양하여 세균 내독소와 SOD에 대한 세포들의 영향을 형태학적으로 관찰하고, MTT 분석법을 통한 활성도를 측정함으로써 섬유모세포 내에 세균 내독소와 SOD의 유무가 세포 활성화에 어떻게 영향을 미치는지를 추정하고 *in vivo*에서는 백서를 대상으로 lipopolysaccharide 투여에 의한 급성 치은염과 bovine serum albumin으로 만성 치은염을 유발시킨 후 SOD를 투여하여 혈액학적 및 조직학적으로 검색하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 연구재료

1) Superoxide dismutase
SOD 1 Unit는 pH 7.8, 25°C, 3.0ml 부피에서

xanthine, xanthine oxidase의 혼합계에서 cytochrome C 환원을 50% 억제하는 단위로, 실험에 사용한 SOD(Sigma, U.S.A.)는 증류수에 희석하여 10U, 50U, 150U, 300U로 사용하였다.

2) 세균의 내독소

세균의 내독소는 *Fusobacterium nucleatum* 10953에서 분리한 lipopoly-saccharides(LPS)를 사용하였다. 세균의 배양은 Schaedler배지를 이용하여 냉동 보관중인 균주를 혐기성 배양기(80% N₂, 10% H₂, 10% CO₂: COY Lab Products, Ann Arbor MI, USA)를 이용하여 37°C에서 통상적으로 36시간 혐기성으로 배양하였다. 배양된 세균은 원침(10,000×g, 20min 4°C)하여 멸균된 생리 식염수로 3회 세척한 후 증류수로 1회 세척하여 냉동 건조하였다. 건조시킨 균체를 200µg이 되도록 하여 분산시킨 후 동일한 양의 90% (W/W) phenol(Merck)과 혼합하여 15분간 교반하여 반응시켰다. 그 후 얼음물에 10°C까지 냉각시킨 후 10,000×g, 30분간 원침시킨 후 상층액 부분을 채취하고 동일량의 증류수를 가하면서 2회 반복하여 수집된 수용액 부분을 72시간 동안 투석시킨후 냉동 건조하여 내독소를 분리하였다.

3) 3T3 섬유모세포 배양

3T3 섬유모세포를 계대배양하여 사용하였다. 세포배양액은 Dulbecco's modified essential medium(DMEM, Gibco Co., USA)에 10% fetal bovine serum(FBS, Gibco Co., USA)과 penicillin G(25units/ml), streptomycin(25ug/ml) 및 fungizone(0.25ug/ml)을 혼합하여 배양하였으며 배양액은 3일마다 교환하였다. 배양후 배양접시내의 배양액을 제거하고 HBSS(Hank's Balanced Salt Solution, Gibco Co. USA)로 2회 세척하여 부착되지 않은 세포를 제거하였다. 부착된 세포의 분리를 위해 HBSS를 제거한 후 0.25% Trypsin/EDTA (10%, Gibco Co., USA)를 배양접시당 2ml씩 넣고, 3분간 bench상에 방치한 후 배양접시에 부착된 부착세포를 분리시키고 5ml 원심분리용 시험관으로 옮겨서 1,200rpm으로 10분간 원침하였다. 원

침후 상층액을 제거하고 HBSS를 가하여 세척한후 Vortex mixer로 혼합하고 세포부유액을 만들어 60mm 배양접시에 분주하였다. 세포는 24-well pate에 분주하기전 trypan-blue로 염색한후 hemocytometer에 옮겨 도립 현미경 상에서 세포수를 세어서 well당 10,000개의 세포수로 부착이 되도록 분주하고 1일간 배양을 실시하였다.

4) 실험동물

일정기간 사육한 체중 200g 내외의 Sprage-Dawley계 백서 66마리를 실험적 치은염에 사용하였다.

2. 연구방법

(1) 3T3 섬유모세포에 미치는 영향

1) LPS 및 SOD가 3T3 섬유모세포의 형태에 미치는 영향

1일간 배양후 대조군은 LPS와 SOD가 들어 있지 않은 세포군으로 하였으며, 실험군은 SOD 10U, 50U, 150U, 300U를 well당 1ml 씩 단독으로 처리하거나, LPS 0.5 μ g/ml와 5.0 μ g/ml을 단독으로 처리하거나 LPS 상기농도와 SOD 상기농도를 동시에 가하여 3일간 배양한 후 도립 현미경(IMT2-21, Olympus, Japan)을 이용하여 세포의 형태를 관찰하였다.

2) LPS 및 SOD가 3T3 섬유모세포의 활성화에 미치는 영향

상기 농도의 SOD를 단독으로 가하거나, LPS 0.5 μ g/ml와 5.0 μ g/ml을 단독으로 처리하거나, LPS와 SOD를 동시 가한 후 1일과 3일간 배양하여 세포 활성을 측정하기 위해 생리식염수에 용해한 MTT(3-(4, 5-dimethylthiazol-2-yl)-2, 5-diphenyl tetrazolium bromide : No. M 2128, Sigma Co., USA) 용액 50 μ l를 각 well에 넣고 4시간 동안 배양후 MTT용액을 버리고, DMSO를 50 μ l씩 첨가하여 formazan 결정을 용해시킨 후 세포활성도의 측정을 위해 96well plate상으로 옮겼다. Plate를 잘 흔든 후 ELISA

analyser(Model ETY-96, Toyp instruments Inc., Japan)에 plate를 넣고 570nm에서 흡광도를 측정하였다. 매 실험마다 실험용액이 들어 있지 않은 배양액을 대조군으로 하여 세포활성도를 대조군에 대한 백분율로 산출하였다.

(2) 백서의 실험적 치은염에 미치는 영향

1) LPS와 BSA를 이용한 실험적 급만성치은염 유도

세균 내독소로 인한 실험적 급성 치은염을 유발하기 위해 백서의 하악 구강전정(vestibular fornix)에서 치은쪽으로 LPS 0.05cc(50 μ g/ml)를 3회 12시간 간격으로 주사하였다. 최종 주사 1일째를 대조군으로 하였으며 이때부터 회생시켜 급성치은염의 유발여부를 확인하였다.

즉시형 과민반응에 관여하는 2% BSA(Bovine Serum Albumin)을 백서의 좌우 구강전정에 0.05cc씩 투여 방향을 치은쪽으로 향하게 하여 주사하였다. 첫번째 주사로 전감작시키고 일주일 경과한 후 이를 간격으로 세번 상기와 동일한 방법으로 항원 처리를 하였다. 마지막 항원 처리 후 1일째를 대조군으로 하였으며 이때부터 회생시켜 만성치은염을 확인하였다.

2) SOD투여

백서에 실험적 치은염을 유발한 후 bovine Cu-Zn SOD(Sigma Co, U.S.A)를 Ringer 용액에 용해시켜 pH 7.4를 유지해 3000 Units씩 25 gauge 미세주사기를 이용하여 12시간 간격으로 4회 정주하였다. SOD의 효과를 비교하기 위하여 같은 용량의 생리 식염수를 대조군에 사용하였다.

3) 말초혈액 및 조직병리학적 관찰

SOD와 생리 식염수를 투여한 1, 2, 3, 7일 후 실험군의 말초혈액을 채취하여 백혈구 수를 계산하였으며, 각각 조직을 떼어 통법에 따른 파리핀 포매 후 조직학적 관찰을 하였다.

(3) 통계분석

각 농도 및 시간에 따라 대조군에 대해 백

분율로 환산된 세포활성도 및 SOD투여후의 백혈구 수 평균을 구하고 이들의 통계학적 유의성은 분산분석법(ANOVA)를 이용하여 분석하였다.

III. 연구 성적

1. LPS와 SOD가 3T3 섬유모세포의 형태에 미치는 영향

도립현미경으로 관찰한 3T3 섬유모세포의 형태는 배양액을 가한 대조군(Fig.1)과 LPS(Fig.2) 및 SOD를 가한 1일 군에서는 (Fig.3) 세포 형태에서 뚜렷한 차이를 보이지 않고 정상적인 세포돌기를 보였으며, 3일군에서는 SOD 단독투여군을 제외하곤 내독소의 존재와 SOD 투여농도에 관계없이 세포돌기의 소실과 둥근형태의 세포로 변화를 보였다(Fig.4, 5, 6).

2. SOD의 단독투여가 3T3 섬유모세포의 활성에 미치는 영향

배양 1일째에 10U에서 300U까지 모두 대조군에 비해 세포활성이 증가되었으나 유의성은 없었다. 배양 3일째는 1일군에 비해서 약간 세포 활성이 증가하여 SOD 150U 농도에서 $137.90 \pm 6.68\%$ 로 대조군에 비해서 유의한 세포 활성도의 증가를 보였다($P < 0.05$) (Table. 1).

3. LPS와 SOD의 동시투여가 3T3 섬유모 세포 활성에 미치는 영향

LPS $0.5\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 3T3 섬유모세포의 활성은 배양 1일째 105.79 ± 0.53 로, 배양 3일째 103.65 ± 8.52 로 대조군과 큰 차이가 없었고, LPS $5\mu\text{g/ml}$ 의 농도 배양 1일째에는 의 농도 104.64 ± 9.53 에서 3일 후에는 90.09 ± 12.83 로 감소되었으나 통계학적 유의성은 없었다. LPS와 SOD 농도에 상관없이 배양 1일째에 대조군에 비해 약간 높은 세포 활성을 보였으나 LPS 단독 처리군에 비해 큰 차이가 없었으며, 배양 3일째에도 150U를 제외하고는 전반적으로 감소하는 경향을 보였으나 대조군과 통계학적 유의성은 없었다.

LPS $5.0\mu\text{g/ml}$ 와 SOD를 동시에 가한 1일째에는 10U, 50U, 150U, 300U에서 각각 113.68 ± 8.28 , 114.02 ± 3.02 , 118.00 ± 1.58 , 116.22 ± 4.44 로 대조군에 비해 세포 활성도가 증가하였고 통계학적 유의성도 있었으며($P < 0.05$), 150U일때 가장 세포 활성이 높았고 LPS 단독 투여군과 비교시 150U와 300U 농도에서만 유의성 있는 세포 활성을 보였다($P < 0.05$), 배양 3일째에도 대조군과 큰 차이는 보이지 않았으나 LPS를 단독 투여한 경우 90.99 ± 12.83 에 비해 150U에서 104.53 ± 9.31 로 유의한 활성 증가를 보였다($P < 0.05$) (Table 2).

Table 1. The effect of SOD on the activity of 3T3 fibroblast(% , Mean \pm S.D.).

Group	Day	
	1 Day	3 Days
control	100.00 \pm 2.81	100.22 \pm 18.18
SOD 10U	105.71 \pm 4.94	110.5 \pm 22.06
SOD 50U	108.06 \pm 6.47	113.10 \pm 9.67
SOD 150U	109.00 \pm 4.03	137.90 \pm 6.68*
SOD 300U	107.57 \pm 6.26	113.04 \pm 5.18

* : $P < 0.05$ significantly different from control group

4. 백서의 실험적 치은염에서 말초 혈액 백혈구의 수

각 군의 말초 혈액내 백혈구의 수는 Table 3과 같다. LPS로 유도한 급성 치은염의 경우 실험 1일에는 급성 치은염 후 생리 식염수를 투여한 군이 LPS만을 투여한 대조군에 비해 감소되었으나 통계학적 유의성은 없었으며, LPS 유도 급성 치은염에 SOD를 투여한 군에서는 생리 식염수를 투여한 군에 비해서 크게 감소하며 두 군간 그리고 대조군과도 유의성이 있었다($P < 0.05$). 실험 2일 이후에는 생리 식염수 투여군의 백혈구 수가 계속 감소한 상태를 유지하였으며, SOD 투여군은 백혈구 수가 점점 증가하는 경향을 보였다. 그러나 실험 2일 이후에는 두 군간 또는 두 군과 대조군간에 통계학적 유의성은 없었다.

BSA 투여 대조군은 LPS 단독 투여군보다 백혈구의 수가 약간 적었고 BSA 유도만성 치은염에 생리 식염수를 투여한 군은 실험 2일째까지 백혈구 수의 큰 차이가 없다가 3일 이후 감소 경향을 보였고 실험 7일째에는 백혈구의

수가 크게 감소되며 유의성이 있었다($P < 0.05$). BSA 유도 만성 치은염에 SOD를 투여한 군은 대조군에 비해 백혈구의 수가 전반적으로 낮았으며 특히 실험 7일째에는 유의성 있게 감소하였고($P < 0.05$), 실험 3일째에는 생리 식염수 투여군과도 유의성 있는 차이가 있었다($P < 0.05$) (Table 3).

5. 백서의 조직 병리학적 소견

실험군간의 조직학적 변화양상 정도의 차이는 있지만 3일 이후는 거의 유사하였고 이들 결과는 Table 4와 같다. LPS 대조군에서, 점막 상피 및 열구 상피 접합부 결체 조직에는 세포부종, 모세혈관의 출혈로 다수의 다형핵 백혈구 및 임파구 등의 침윤이 관찰되었으며 골조직의 변화는 없었다(Fig.7). SOD 단독 투여군의 경우에도 정상 조직에 비해 초기에는 염증세포의 침윤을 보이다가 7일 이후에는 정상군과 비슷한 양상을 나타내었다. LPS유도 치은염에 Saline 투여군의 경우 3일째까지 중등도의 염증 반응 및 부종, 울혈성 변화가 관찰되었으며(Fig.9), 7일째에

Table 2. The effect of SOD & LPS on the cell activity of 3T3 fibroblast(% , Mean±S.D.).

Group \ Day	1Day	3Days
control	100.00 ± 7.38	100.00 ± 12.45
LPS 0.5 μg/ml	105.79 ± 0.57	103.65 ± 8.52
LPS 5.0 μg/ml	104.65 ± 9.53	90.99 ± 12.83
LPS(0.5 μg/ml)+ SOD 10U	104.10 ± 4.86	90.95 ± 40.37
50U	106.42 ± 6.37	100.31 ± 12.93
150U	107.33 ± 4.00	109.40 ± 1.61
300U	105.95 ± 6.15	101.76 ± 9.26
LPS(5.0 μg/ml)+ SOD 10U	113.68 ± 8.28 *	99.41 ± 8.76
50U	114.02 ± 3.02 *	94.01 ± 2.87
150U	118.00 ± 1.58 * †	104.53 ± 9.31 †
300U	116.22 ± 4.44 * †	102.14 ± 7.45

* : $P < 0.05$ significantly different from control group

† : $P < 0.05$ significantly different from LPS 5.0 μg/ml group

Table 3. WBC count according to experimental groups

Group \ Day	1st day	2nd day	3rd day	7th day
SOD control	143.33 ± 13.58	195.67 ± 53.30	178.00 ± 13.53	128.00 ± 2.65*
LPS control	227.33 ± 135.91			
LPS+Saline	163.00 ± 19.00	143.00 ± 61.26	150.00 ± 18.33	147.67 ± 20.50
LPS+SOD	87.33 ± 23.54* †	129.00 ± 33.60	148.67 ± 31.01	161.57 ± 20.50
BSA control	190.67 ± 6.11			
BSA+Saline	186.33 ± 15.63	192.67 ± 43.78	172.00 ± 48.75	120.67 ± 8.00*
BSA+SOD	170.00 ± 13.23	193.00 ± 33.18	149.67 ± 2.52 †	115.67 ± 24.79*

normal WBC count : 79.00 ± 8.1

WBC count = ×100/cubic mm

* : P<0.05 significantly different from control group

† : P<0.05 significantly different from BSA + saline group

Table 4. Inflammatory cell infiltration degree according to experimental groups

Group \ Day	1st day	2nd day	3rd day	7th day
LPS control	+++			
SOD control	+	++	++	±
LPS+saline	++	++	++	+
LPS+SOD	+	+	+/++	+
BSA control	+++			
BSA+saline	+++	++	++	±
BSA+SOD	+	+	+	±

±: rare, +: mild, ++: moderate, +++: severe

감소되기 시작하였다(Fig.11), LPS유도 치은 염에 SOD투여군은 Saline의 투여군보다 초기 3일까지는 염증세포 침윤 및 세포 부종이 적게 관찰되었으나(Fig.8, 10), 7일이후에는 큰 차이가 없었다(Fig.12).

BSA 유도치은염은 모세 혈관의 확장 및 심한 만성 염증 세포 침윤이 관찰되었고(Fig.13) 염증유도 후 saline 투여군은 1, 2일에 대조군과

큰 차이가 없이 중등도 이상의 염증세포 침윤이 관찰되었으나(Fig.15), 7일 이후에 현저히 염증 세포 침윤이 감소되어 결합 조직이 회복되는 양상을 보였다(Fig.17). 치은염에 SOD투여군도 1, 2, 3에 식염수 투여군보다 염증세포 침윤이 현저히 감소되었으나(Fig.14, 16), 7일 군에는 군 간의 차이가 미약하였다(Fig.18) (Table 4).

IV. 총괄 및 고찰

치주질환은 구강내에서 빈발하는 만성질환 중의 하나로서 치조골의 파괴를 동반하며, 치은출혈, 치은염증 등의 임상증상을 나타낸다. 치조골의 파괴에 관여하는 인자들에 관한 많은 연구들이 진행되어 왔으나^{20, 21)} 아직까지 정확한 원인 물질이 밝혀져 있지 않고 그람음성 세균의 세포막 주성분인 lipopolysaccharide(LPS)를 비롯하여 prostaglandin E2 및 파골 세포 활성화 인자(osteoclast activating factor) 등이 작용하리라 추측된다²²⁻²⁴⁾. 이중 LPS는 polysaccharide, phospholipid 및 소량의 단백질로 구성되어 있으며²⁵⁾, 세균의 급속한 성장시기나 세균의 외막이 손상된 경우에 유리되며²⁶⁻²⁸⁾ 치주질환시 조직 파괴의 중요한 원인으로 작용하는 것으로 알려져있다.

Hagglöf 등²⁹⁾은 염증세포는 대사과정을 통하여 산소 유리기를 발생시켜 bactericidal effect와 virocidal effect를 나타낼수 있으며, 또한 이러한 대사산물들은 염증 과정에 의해 야기된 조직 손상에도 중요한 역할을 한다고 보고했다. Bartold 등³⁰⁾, Greenwald^{31, 32)}, Freeman 등³³⁾은 산소 유리기의 생성이 호기성 대사의 일부라 할지라도 이 물질들은 고도로 반응성이 있으며 조직내에 풍부하게 존재할 경우 collagen, hyaluronic acid 그리고 proteoglycan과 같은 세포외 기질 성분이 depolymerization에 영향을 끼칠 뿐만 아니라, 세포의 단백질, 핵산 그리고 막 지질의 파괴에 영향을 나타낼수 있다고 보고했다. 따라서 숙주세포 뿐만 아니라 세균들이 호기성 환경에서 생존하기 위해서는 세포및 조직에 유해한 산소 유리기를 제거하는 체계를 갖추어야 한다고 Lindhe 등³⁴⁾이 보고하였다.

다형핵백혈구에 의한 숙주 방어기전은 비산화적 보호기전과 산화적 보호 기전으로 대별될수 있는데, 치은조직내에서 비산화적 보호 기전으로서 acid pH, cationic proteins, lysozyme, neutral protease, lactoferrin 등이 항세균요소로서 작용한다. 특히 lactoferrin은 OH⁻생성의 조절 역할을 수행하며 다형핵백혈구의 살균작용에 주요한 구성 성분임이 Ambruso 등³⁵⁾에 의

해박혀졌다. 산화적 보호기전으로서 O₂⁻, H₂O₂ 그리고 OH⁻ 등의 산소 유리기가 항세균 요소로서 작용을 한다. 이러한 산소 유리기는 조직이 손상을 받아 저산소증(hypoxia) 상태에 이룬 후 산소가 다시 유입되는 시기 또는 염증시에 발생할수 있다. 치은 조직이 과잉 생산된 산소 유리기에 노출될수 있는 경로로는, 염증 반응시 식균작용을 유도하는 자극에 노출되어 산소분자에서 산소 유리기로 환원되는 경우와 호기성 세포내 사립체호흡 사슬에서 발생할수 있다.³⁶⁻⁴⁰⁾

산소 유리기는 다형핵백혈구 살균작용의 주요 매개체이며 병인균들이 이런 산물들의 치사효과를 피하기 위해서는 몇가지 기전들이 있어야 하는데 혐기성 및 호기성 세균들의 SOD와 catalase 같은 효소들을 합성하여 식균작용에 저항할수 있다. *Capnocytophaga*, *Listeria Monocytogenes*, *Nocardia asteroides* 및 *Shigella flexneris* 등은 SOD를 생성함으로써⁴¹⁻⁴⁴⁾, 그리고 *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Staphylococcus aureus* 및 *Neisseria gonorrhoeae* 등은 catalase를 생성하여 식세포에 의한 식균작용으로부터 방어되는 것으로 보고되었다⁴⁵⁻⁴⁷⁾. 그러나 *Escherichia coli* 내의 SOD나 catalase는 다형핵 백혈구의 식균작용으로부터 방어 역할을 수행하지 못함도 보고 되었다⁴⁸⁾. 또한 Amano 등⁴⁹⁾은 *P. gingivalis*가 SOD 활성화만 가지고 있을뿐 catalase 활성화는 가지고 있지 않다고 보고한 이후 최근에는 *P. gingivalis*에서 추출된 SOD가 다형핵백혈구의 식균작용에 대한 방어기전의 일부를 형성할 것이라고 보고하였다⁵⁰⁾.

이상과 같은 연구결과를 바탕으로 본 연구에서는 세균 내독소와 SOD가 배양세포에도 영향을 미치는지를 알고자 하였는데 SOD 1 Unit의 정의는 pH 7.8, 25°C, 3.0ml 부피에서 xanthine, xanthine oxidase의 혼합계에서 cytochrome C 환원을 50% 억제하는 단위로, 3T3 섬유모세포를 이용한 배양 1일째에 SOD 단독 투여군은 대조군에 비해 세포활성의 차이는 없었고 배양 3일째에는 1일군에 비해서 약간 세포 활성이 증가하여 SOD 150U 농도에서 137.90±6.68로 대조군에 비해서 유의한 세포활성의

증가를 보여($P < 0.05$), SOD 자체가 세포 독성은 없는 것으로 사료되었다.

LPS와 SOD 동시 투여시는 LPS 농도 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 경우 배양 1일에는 큰 차이가 없다가 배양 3일째 150U를 제외하고는 전반적으로 감소하는 경향을 보였으나 통계학적 유의성은 없었다. LPS 5.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 와 SOD를 동시에 가한 1일째에는 10U, 50U, 150U, 300U에서 각각 113.68 ± 8.28 , 114.02 ± 3.02 , 118.00 ± 1.58 , 116.22 ± 4.44 로 대조군에 비해 유의한 수준의 세포활성을 보였으며 150U일때 가장 세포 활성이 높았고, 150U와 300U일때 LPS 단독 투여군과 비교시에도 유의성있는 세포활성의 증가를 보였다($P < 0.05$). 실험 3일째에 LPS와 SOD 투여군은 대조군과 큰 차이는 보이지 않았으나 LPS 5.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 단독 투여의 경우 90.99 ± 12.83 에 비해 150U에서 104.53 ± 9.39 로 유의성 있는 활성 증가를 보였다($P < 0.05$). 이런 소견은 SOD 농도 차이에 따른 다른 연구가 없어 비교할 수는 없지만, SOD 농도에 따라 세포활성이 증가하는 성장곡선을 이루었으며 이러한 활성은 대개 150U에서 정점을 이루었는데, 이는 LPS에 의한 세포독성물질에 대한 방어기전으로 또는 superoxide radical 존재에 따른 방어기전으로 염증 매개물에 의해 활성이 증가된 것으로 사료되며 활성변화에 대해 보다 보완된 기전 연구가 있어야 하겠다.

Ohmori 등⁵⁴⁾은 xanthine oxidase를 주사하여 쥐의 발에 부종을 일으키고 이 부종은 SOD와 catalase에 의하여 억제됨을 보고하였다. 또한 과산화물과 xanthine oxidase는 다형핵 백혈구의 침윤을 일으키며 superoxide radical의 생성을 야기시킴으로서 염증 반응을 일으킨다⁵¹⁻⁵⁵⁾고 하였다.

본 연구에서는 백서에 실험적 급만성 치은염을 유발하였는데, 급성 염증을 일으키기 위해 LPS를 투여한 실험적 치은염에서 접합 상피 및 열구 상피 하방의 결체조직에는 세포부종과 모세 혈관의 출혈로 다수의 다형핵백혈구 및 소수의 임파구등의 침윤이 관찰되었으며, BSA를 투여한 만성치은염에서는 모세 혈관의 확장 및 심한 만성 염증세포 침윤이 관찰되었다.

이에 따라 본 연구에서는 염증반응으로부터 발생되어 주위 조직을 파괴할수 있는 산소 유리기를 제거하기 위하여 SOD를 투여하였다.

말초혈액내 백혈구 수에 있어서 실험 1일째에는 SOD 단독 투여군과 LPS 치은염유발 후 생리식염수 투여군 간에 큰 차이는 없었고, LPS유도 치은염에 SOD를 투여한군에서는 대조군인 생리 식염수 투여군에 비해서 유의성 있게 감소되었다($P < 0.05$). 2일 후에는 생리식염수 투여군과 SOD투여군이 감소 경향을 보였으나 군 간의 유의한 차이는 없었고, 7일 후에는 백혈구 수가 LPS 대조군에 비해 크게 감소하였으나 통계학적 유의성은 없었는데 급성 치은염에서 출현하는 다형핵백혈구등에 의한 숙주 방어기전중 산화적 보호 기전으로 SOD 투여 후 백혈구수가 감소하였고 이후 SOD 투여 중지 후 증가되었다고 사료된다.

BSA 만을 투여한 대조군과 BSA로 치은염을 유도한 후 SOD 또는 생리 식염수를 투여한 군은 실험 2일째까지 백혈구 수의 큰 차이가 없다가 3일 이후 부터 감소 경향을 보였는데 1, 2, 3일군에는 SOD투여군에서 약간 백혈구 수가 감소하였으나 대조군과 유의성은 없었고 실험 7일째에 각군의 백혈구수는 크게 감소되어 SOD 투여군과 Saline투여군 모두 대조군 보다 유의성 있게 감소되었으나($P < 0.05$) 군간의 차이는 없었다. 이런 감소는 SOD가 주로 다형핵백혈구에 작용하기 때문이면 7일째에 유의한 감소를 보이는 것은 BSA 투여 후 염증의 자연 감소로써 SOD자체가 초기 급성 염증반응에 관련된다고 여겨진다.

염증세포의 침윤정도를 관찰한 결과 치은염 유도없이 SOD 단독 투여군의 경우에도 7일 이후에는 아무 처치를 하지 않은 정상 대조군과 큰 차이가 없었으며, LPS 유도치은염에 SOD 투여군은 Saline 투여군보다 3일까지는 염증세포 침윤 및 세포 부종이 적게 관찰되어 이때 항염작용이 있는 것으로 사료되었으며 7일 이후에는 전체적인 백혈구 수의 감소 및 염증반응의 소실로 인해 큰 차이를 보이지 않았는데 이는 SOD 및 생리 식염수 주사시 치은염에 가해지는 외과적 외상반응과 염증반응을 감별하

고자 SOD의 투여를 2일로 제한했기 때문으로 사료된다.

BSA로 치은염을 유도한 대조군은 모세혈관의 확장 및 심한 만성 염증세포 침윤이 관찰되었고 saline 투여군에서는 1일 후에도 큰 차이가 없다가 7일 후에 현저히 염증 세포 침윤이 감소되어 결합 조직이 정상적인 양상으로 회복되는 것을 관찰할 수 있었다. BSA 유도 치은염에 SOD를 투여한 군은 식염수 투여군보다 1, 2, 3일 후에 염증세포 침윤이 현저히 감소되어 BSA 유도 치은염에도 SOD의 투여가 효과가 있었던 것으로 보인다. 그러나 7일 후에는 두 군간의 차이가 거의 없었다.

관절염, 위장관 질환 및 허혈성 조직 손상 등에 항염작용을 하는 것으로 보고된 SOD를 LPS로 유도한 치은염에 투여한 결과 말초혈액의 백혈구 수가 생리 식염수 투여군에 비해서 유의성 있게 감소되었고 조직학적인 소견을 통해서 SOD 투여군은 생리 식염수 투여군보다 초기 3일까지는 염증세포 침윤 및 세포 부종이 적게 관찰되었다. 3T3 섬유모세포를 배양한 후 SOD의 투여시에도 LPS 5.0 μ g/ml와 동시에 가한 1일째에 SOD 농도에 따라 세포활성이 증가하는 것으로 나타났는데, 이상과 같은 연구 결과로 보아 SOD는 치주과 영역에서도 치은염증을 억제시킬 수 있는 물질로 사용할 수 있음을 시사해 주지만 활성 변화에 대한 보다 보완된 기전 연구 및 치태 축적에 의한 *in vivo*에서의 적절한 연구가 실시되어야 할 것이며 염증 매개물에 대한 보다 심도있는 연구가 필요할 것으로 생각된다.

V. 결 론

염증성 치주질환의 발병 및 조직 파괴에 중요한 원인 요소인 세균 내독소(LPS)로 인한 급성 치은염과 즉시형 과민반응에 관여하는 BSA로 인한 만성 치은염을 백서에 유발시킨 후 SOD를 투여해 1, 2, 3, 7일후 말초혈액의 백혈구 검사 및 조직학적인 검사를 실시하였으며, 3T3 섬유모세포에 대한 영향을 알아보 고자 LPS와 SOD를 투여하여 형태학적인 변

화와 MTT 분석법으로 활성도를 측정하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 3T3 섬유모세포에 LPS와 SOD를 투여한 경우 세포의 형태를 대조군에 비해 큰 차이가 없었다.
2. 3T3 섬유모세포에 SOD를 단독으로 투여한 경우 실험 3일째 SOD 150U를 제외하고는 대조군에 비해 큰 활성의 차이가 없었다.
3. 3T3 섬유모세포에 LPS 0.5 μ g/ml 와 SOD를 동시에 투여한 경우 실험 1일째에는 큰 차이가 없다가 실험 3일째 150U를 제외하고는 전반적으로 감소하는 경향을 보였으나 통계학적 유의성은 없었다.
4. 3T3 섬유모세포에 LPS 0.5 μ g/ml 와 SOD를 동시에 투여한 경우 실험 1일째에 대조군에 비해 유의한 세포활성증가가 있었으며($P < 0.05$), LPS 단독투여군과 비교시에는 150U만 유의성이 있었다($P < 0.05$). 실험 3일째에는 SOD 150U 투여군만 LPS 단독 투여군에 비해 활성이 증가되었다($P < 0.05$).
5. LPS에 의한 백서의 급성 치은염은 SOD를 투여한 군이 실험 1일째에 식염수 투여군에 비해 백혈구 수가 감소하였으며 통계학적 유의성이 있었다($P < 0.05$).
6. 조직학적 소견에서 백서의 급만성 치은염은 SOD를 투여한 군이 생리 식염수 투여군보다 초기 3일째까지 염증세포 침윤이 적었다.

참고문헌

1. Socransky S : Relationship of bacteria to the etiology of periodontal disease. J Dent Res 49 : 203-222, 1970.
2. Fridovich I : Superoxide dismutase. Ann Rev Biochem. 44 : 147-159, 1975.
3. Baek KJ, Lee HS : The development of gastric mucosal injury in prednisone treatment rats and protective effect of liposomal superoxide dismutase. Korean Biochem J. 2 : 170-177, 1989.
4. DiGuseppi J, Fridovich : Oxygen toxicity in Streptococcus sanguis. J Biol Chem.

- 257 : 4046–4051, 1982.
5. Borrello S, Seccia a, Galleotti T, Bartoli GM, Farallo E, Serri F : Productive enzymes in human epidermal carcinoma and psoriasis. *Arch Dermatol Res.* 276 : 338–340, 1984.
 6. Geller BL, Winge DR : Rat liver Cu, Zn-superoxide dismutase : subcellular localization in lysozyme. *J Biol Chem.* 257 : 8945–8952, 1982.
 7. Dryer SE, Dryer RL, Autor Ap : Enhancement of mitochondrial cyanideresistant superoxide dismutase in the livers of rats treated with 2, 4-dinitrophenol. *J Biol Chem* 255 : 1054–1057, 1980.
 8. Flohe' L : Superoxide dismutase : Rational of therapeutic use, established clinical effects, and perspectives. International symposium, Munchi, West Germany, 325–334, 1986.
 9. McCord JM, Wong K, Stokes SH, Petrone WF, English D : Superoxide and inflammation : A mechanism for the antiinflammatory activity of superoxide dismutase. *Acta Physiol Scand(Suppl).* 492 : 25–30, 1980.
 10. Babior B : Oxidants from phagocytes : Agents of defense and destruction. *Blood.* 64 : 959–966, 1984.
 11. Yoshioka A, Miyachi Y, Imamura S : Mechanism of reactive oxygen species-induced skin erythema and Superoxide Dismutase activities in gunia pigs. *J Dermatol.* 14 : 569–575, 1987.
 12. Weiss SJ, Young J, Lobuglio AF, Slivaka A, Nimeh NF : Role of hydrogen peroxide in neutrophil-mediated destruction of cultures endothelial cells. *J Clin Invest.* 68 : 714–721, 1981.
 13. Greenwald. R. A., Moy, W.W. and Lazarus, D : Degradation of cartilage proteoglycans and collagen by superoxide radical. *Arthritis and Rheumatism.* 19 : 799–806, 1976.
 14. Proctor PH : Free radicals and human diasease. *CRC handbook of free radicals and antioxisdants.* Vo I. 209–221, 1992.
 15. Charon J., Suzuki B., Collison B., Capron A : Influence of bacterial preparation on PMN oxygen metabolism measured by chemiluminescence *J. Dent Res Abst (1810),* 1985.
 16. Van Dyke TE, Zinner W, Winkel K, Taufiq A, Offenbacher S., Amold RR : Neutrophil function in localized juvenile periodontitis, phagocytosis, Superoxide production and specific granule release *J. Periodontol.* 57 : 703–707, 1985.
 17. Asman B : Peripheral PMN cells on juvenile periodontitis *J. Clin. Periodontol.* 15 : 360–364, 1986.
 18. Kimura S., Yonemur T., Kaya H : Increased oxidative product formation by peripheral blood polymorphonuclear leukocytes in human periodontal diseases *J. Periodontal Res.* 28 : 197–203, 1993.
 19. Freshney RI : Culture of animal cells. 3rd ed. Wiley-Kiss Co, New York, 327–333, 1994.
 20. Scherp. H.W : Discussion of bascterial factors in periodontal disease. *J Dent Res.* 41 : 327–330, 1962.
 21. Horon, J. E., Rasz, LG., Simmons, H. A., Oppenheim, J.J. and Mergenhagen, S.E. : Bone resorbing activity in supernatant fluid from human peripheral blood leukocytes. *Science* 177 : 793–794, 1972.
 22. Rizzo, A.A. and mergenhagen, S.E. : Histopathologic effects of endotoxin injected into rabbit oral mucosa. *Arch Oral Biol.* 9 : 659–670, 1964.
 23. Hausmann, E., Raisz, L.G. and Miller, W. A : Endotoxin Stimulation of bone resor-

- ption in tissue culture. *Science*. 158 : 862, 1970.
24. Klein, D.C., and Raisz, L.C : Prostaglandine Stimulation of bone resorption in tissue culture. *Endocrinology*. 86 : 1436 - 1439, 1970.
 25. Morrison, D.C. Cuncan Jr., J.L. and Goodman, S.A : In vitro biological activities of endotoxin. In *Bacterial Endotoxin*, pp.81 - 98, Alan R. Kiss, Inc. 1985.
 26. Crutchley, M.J., March, D.G., and Cameron, J : Free endotoxin. *Nature*. 204 : 1502, 1967.
 27. Morrison, D.C., and Ulevitch, R.J : A Review : The interaction of bacterial endotoxins with cellular and humoral mediation system. *Am J Path.* 93 : 527-618, 1978.
 28. Socrnasky, S : Relationship of bacteria to the etiology of periodontal disease. *J Dent Res*. 49 : 203-222, 1970.
 29. Hägglöf.B., Marklund. S. L. and Holmgren : CuZn superoxide dismutase. Mn superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in lymphocytes and erythrocytes in insulin-dependent diabetic children. *Acta Endocrinologica*. 102 : 234 - 239, 1983.
 30. Bartold, P.M., Wiebkin, O.W., and Thobard, J.C : The effect of oxygen-derived free radicals on gingival proteoglycans and hyaluronic acid. *J. Periodontal Res*. 19 : 390-400, 1984.
 31. Greenwald. R. A., Moy, W.W. : Inhibition of collagen generation by action of the superoxide radical. *Athritis and Rheumatism*. 22 : 251-259, 1979.
 32. Greenwald. R. A., Moy, W.W. : Effect of oxygen-derived free radicals on hyaluronic acid. *Arthritis and Rheumatism*. 23 : 455-463, 1980.
 33. Freeman, B.A. and Crapo, J.C : Biology and tissue injury. *Lan invest*. 47 : 412-426, 1982.
 34. Jan Lindhe : *Textbook of Clinical Periodontology*, 2nd ed. Munksgaard, 129-192, 1989.
 35. Ambruso DR, Johnston RB : Lactoferrin enhances hydroxyl radical production by human neutrophils, neutrophil particulate fractions and an enzymatic generating system. *J. Clin. invest*. 67 : 352-360, 1981.
 36. McCord JM : Oxygen-derived free radicals in post ischemic tissue injury. *New Eng J. Med* 312 : 159-163, 1985.
 37. Jesen PK : Antimycin-insensitive oxidation of succinate and reduced nicotinamide adenine dinucleotide in electron transport particle. *Biochem. Biophys Acta*. 122 : 157, 1966.
 38. Hinkel PC, Bultow RA, Racker E, Chance B : Partial resolution of the enzyme catalyzing oxidative phosphorylation. *J. Biochem*. 242 : 5169, 1979.
 39. Loschen G, Flohe L, Chance B : Respiratory chain linked H₂O₂ production in pig heart mitochondria. *FEBS Lett*. 18 : 261, 1971.
 40. 박동기 : *Lehninger 생화학*. 유한 문화사, 505-548, 1986.
 41. 치주과학교수 협의회 : *치주과학, 지역문화사*, 개정판 96 : 11, 370-380, 1992.
 42. Welch DF, Sword CP, Brehm S, Dusanic D : Relationship between Superoxide Dismutase and pathogenic mechanism of *Listeria Monocytogenes*. *Infect & Immun*. 23 : 863-872, 1979.
 43. Filice GA : Resistance of *Nocardia asteroides* oxygen dependent killing by neutrophils. *J. Infect Dis*. 148 : 861-867, 1983.
 44. Frozon VL, Arondel J, Sansonetti PJ : Contribution of Superoxide Dismutase and

- Catalase activities of *Shingella flexneris* pathogenesis. *Infect & Immun*, 58 : 529–535, 1990.
45. Page RC, Schroeder HE : Periodontitis in man and other animals : Comparative review *Karger* 45–47, 1982.
 46. Mandel GL : Catalase, Superoxide Dismutase and virulence of *Staphylococcus aureus* In vitro and in vivo studies with emphasis on staphylococcal leukocyte interaction *J. Clin Invest* 55 : 561–566, 1975.
 47. Archibald FS, Duong MN : Superoxide Dismutase and oxygen toxicity defense in the genus *Neisseria gonorrhoeae*. *Infect & Immun*. 51 : 631–641, 1986.
 48. Scahwartx CE, Krall J, Norton L, Mckay K, Lynch RE : Catalase and Superoxide Dismutase in *Escherichia coli* roles in resistance to killing by neutrophils *J. Biol Chem*. 258 : 6277–6281, 1983.
 49. Amano A., Tamagawa H., Takagaki Y., Murakami S., Shizukuishi S., Tsunemitsu A : Relationship between enzymen activities involved in oxygen metabolism and oxygen tolerance in black pigmented *Bacteroid*. *J. Dent. Res.* 67 : 11967–1199, 1988.
 50. Amano A, Ishimoto T, Tamagawa H, Shizukuishi S : Role of Superoxide Dismutase in resistance of *Porphyromonase Gingivalis* to killing by polymorphonuclear leukocyte. *Infect & Immun*. 60 : 712–714, 1992.
 51. Ohmori, H., Komruta, K., Azuma, a., Hashimoto, Y. and Kurozumi, S : Xanthine oxidase induced foot edema in rats : Involvement of oxygen radicals. *Biochem. Pharmacol.* 27, 1397–1400, 1978.
 52. Yoshioka A., Miyachi Y., Imamura S : Mechanisms of reactive oxygen specice-induced skin erythema and superoxide dismutase activity in gunia pigs. *J Dermatol.* 14 : 569–575, 1987.
 53. Salin ML, McCord JM : Free radicals and inflammation. *J. Clin. Invest.* 56 : 1319–1323, 1975.
 54. Shingu, M., Todoroki, T., Oribe, M., to-mooka, K., Nobunaga, M. and Nakagami, K : Study on the mechanism of oxygen radical- induced inflammation. *Jpn J inflammation.* 2, 367–368, 1982.
 55. Del Maestro, R. F : Role of superoxide anion radicals in microvascular permeability and leukocyte behavior. *J. Physio. Pharmacol.* 60, 1406–1414, 1982.

Explantaion of figures

- Photo 1. Control group at 1 day after cultivation. The fibroblasts cells had their normal streched cytoplasmic process.($\times 200$)
- Photo 2. LPS group($5\mu\text{g}/\text{ml}$) at 1 day after cultivation.($\times 200$)
- Photo 3. SOD (15U) group at 1 day after cultivation.($\times 200$)
- Photo 4. LPS ($5\mu\text{g}/\text{ml}$) and SOD 150U group at 1 day after cultivation.($\times 100$)
- Photo 5. LPS ($5\mu\text{g}/\text{ml}$) and SOD 10U at 3 day after cultivation.($\times 100$)
- Photo 6. LPS ($5\mu\text{g}/\text{ml}$) and SOD 150U group at 3 day after cultivation. The fibroblasts became globular. ($\times 100$)
- Photo 7. Microphotography of LPS induced experimental gingivitis, 1 day, shows severe generalized infiltrate mainly consisting of PMNs and lymphocytes. (H & E $\times 100$)
- Photo 8. Microphotography of LPS induced experimental gingivitis, SOD injected, 1 day, reveal mild edema and moderate exudate. (H & E $\times 100$)
- Photo 9. Microphotography of LPS induced experimental gingivitis, Saline treated group, 3 days, reveal conestion and moderate inflmmatory cell infiltrations (H & E $\times 200$)
- Photo 10. Microphotography of LPS induced experimental gingivitis, SOD treated group, 3 days, reveal focal inflmmatory cell infiltrations. (H & E $\times 100$)
- Photo 11. Microphotography of LPS induced experimental gingivitis, Saline treated group, 7 days, moderated inflmmatory cell infiltrations (H & E $\times 100$)
- Photo 12. Microphotography of LPS induced experimental gingivitis, SOD treated group, 7 days, rare exudate and normal arrangement of gingival fibroblasts. (H & E $\times 100$)
- Photo 13. Microphotography of BSA induced experimental gingivitis, 1 day shows vascular congestion and moderately infiltrate. (H & E $\times 100$)
- Photo 14. Microphotography of BSA induced experimental gingivitis, SOD treated group, 1 days, reveal focal moderate inflmmatory cell infiltrations (H & E $\times 200$)
- Photo 15. Microphotography of BSA induced experimental gingivitis, Saline treated, 3 days, shows severe vasclar congestion. (H & E $\times 100$)
- Photo 16. Microphotography of BSA induced experimental gingivitis, SOD treated, 2 days, shows vasclar congestion and inflamamtory cell infiltrate. (H & E $\times 100$)
- Photo 17. Microphotography of BSA induced experimental gingivitis, Saline treated, 2 days, shows still inflammation. (H & E $\times 100$)
- Photo 18. Microphotography of BSA induced experimental gingivitis, SOD treated group, 7 days shows diminished inflammation. (H & E $\times 100$)

논문사진부도 ①

사진 1

사진 2

사진 3

사진 4

사진 5

사진 6

논문사진부도 ②

사진 7

사진 8

사진 9

사진 10

사진 11

사진 12

사진 14

사진 15

사진 16

사진 18

THE EFFECT OF SUPEROXIDE DISMUTASE ON EXPERIMENTAL GINGIVITIS AND ACTIVITY OF 3T3 FIBROBLAST

Yoon-Seong Kim, Hyung-Keun Yoo, Hyun-Ku Kang, Hyung-Shik Shin
Dept. of Periodontology, School of Dentistry, Wonkwang University

Inflammatory cells may produce active species of oxygen in antimicrobial defense. While such species can directly damage surrounding tissue, their major secondary role may be to mediate important components of the inflammatory response. Superoxide dismutase, antioxidant, have significant anti-inflammatory properties in rheumatoid arthritis, ischemic tissue injury and gastrointestinal disease. Increased oxidative product formation diseases. And superoxide dismutase produced by *Porphyromonas Gingivalis* is resistant to killing by polymorphonuclear leukocyte.

The purpose of this study was to investigate on the effects of superoxide dismutase in 3T3 fibroblast and in experimental gingivitis in the rats. The effect of superoxide dismutase(SOD) to cell morphology and cell activity was measured in cultured mouse 3T3 fibroblast. After experimental gingivitis were induced by lipopolysaccharide(LPS) and bovine serum albumin(BSA), injection of SOD were done. WBC count and histologic findings were observed at 1, 2, 3, and 7 days.

The results were as follows :

1. There was a little difference between LPS treated groups and SOD treated groups in 3T3 fibroblast morphology.
2. There was no difference between only SOD treated groups (except SOD 150U at 3 days) and control in 3T3 fibroblast activity.
3. LPS 0.5 μ g/ml and SOD treated groups (except 150U) had decreased 3T3 fibroblast activity and no significant difference at 3 days.
4. LPS 5.0 μ g/ml and SOD treated groups were significantly increased cell activity of 3T3 fibroblast than control group at 1 day($P < 0.05$).
5. In LPS induced gingivitis, the number of leukocytes in SOD treated was significantly decreased than in saline treated at 1 day($P < 0.05$).
6. In histopathologic findings of LPS or BSA induced gingivitis, inflammatory cell infiltration in SOD treated groups were less than in saline treated group at 1, 2 and 3 days.