

## 염증성 치은조직에서 Cell Adhesion Molecule의 발현에 관한 연구

박경근, 김은철\*, 유형근, 신형식

원광대학교 치과대학 치주과학교실

\*원광대학교 치과대학 구강병리학교실

### I. 서론

모든 조직과 기관의 일반적인 구조와 구성은 인접해 있는 세포들 사이의 세포-세포의 기질사이의 접촉이 어떻게 유지되는지에 달려있다. 이와 같이 인접해 있는 세포와 세포 사이, 그리고 세포-세포외기질의 부착은 증식이나 이주 그리고 분화와 같은 세포기능을 조절하는데 중요한 역할을 담당한다<sup>1)</sup>. Cell adhesion molecule들은 세포의 부착이나 이동 그리고 세포사이의 소통과 같은 세포기능에 직접적으로 영향을 주는 일련의 과정을 통하여 존재의 중요성이 알려졌다<sup>2)</sup>.

손상부위 또는 감염부위내로의 백혈구 침윤은 숙주방어에 필수적이다. 생체내에서 이러한 부위를 향해 T cell이나 다른 백혈구가 지속적으로 이주하는 현상은 다양한 항원공격으로부터 조직을 방어하기 위한 면역체계의 기능이 활발해지는 것을 의미하며 결과적으로 혈관 내피세포(vascular endothelial cells) 표면에 cytokine에 의해 유도된 adhesion molecules의 발현을 야기한다<sup>3, 4)</sup>. 이러한 adhesion molecule들은 immunoglobulin superfamily, cadherin superfamily, integrin superfamily 그리고 carbohydrate differentiation

antigen family, selectin, CD44로 분류 되었는데 염증반응동안 일부의 cell adhesion molecules들이 염증부위로의 백혈구 침윤에 중요한 역할을 담당하는 것으로 알려지고 있으며 특히 endothelial leukocyte adhesion molecule 1(ELAM-1 or E-Selectin), immunoglobulin superfamily와 integrin등이 주로 관여 한다<sup>5, 6)</sup>.

Immunoglobulin superfamily 중의 하나인 intercellular adhesion molecule 1(ICAM-1)은 90KDa glycoprotein 으로서 중성구에 존재하는 leukocyte-function associated antigen 1이나 Mac-1과 결합하게 되며 염증반응 동안 다양한 종류의 세포들에 의해 발현되어진다<sup>1)</sup>. 특히 내피세포에서의 발현은 interleukin 1(IL-1), tumor necrosis factor(TNF), interferon gamma(INF $\gamma$ )와 같은 cytokine에 의해 조절되는 반면에 각화세포에서는 내피세포에 비해 약한 반응을 보이지만 주로 INF $\gamma$ 와 TNF 등에 의해 반응을 보이며 IL-1에 의해서는 ICAM-1의 발현이 유도되지 않는다<sup>7)</sup>.

ICAM-1에 대한 백혈구의 수용기는 모든 순환 백혈구에 존재하는 LFA-1으로서 이러한 수용기와의 결합을 통한 ICAM-1의 발현은 조직내의 T cell 존재가 특징적으로 나타

나는 피부염증 즉, 접촉성 피부염 (allergic contact dermatitis), 편평태선, 건선 그리고 아토피성 피부염 (atopic dermatitis) 과 같은 질환에서 두드러진다<sup>9, 10)</sup>. 또한 Barton 등<sup>11)</sup>의 연구에 의하면 INF $\gamma$ 와 같은 cytokine의 주입에 의해서는 ICAM-1의 발현이 증가하지만 anti-ICAM-1 antibody의 투여에 의해서는 염증세포의 침윤이 감소된다고 보고하였다. 따라서 상기와 같이 염증<sup>12)</sup> 뿐 아니라 그 이외에도 종양<sup>13)</sup>, 이식 (transplantation) 분야<sup>14)</sup>와 관련된 염증성 질환이나 신생성 질환 (neoplastic disease)의 병인론에서 ICAM-1의 역할에 관심을 갖게 되었다.

ICAM-1 (inducible cell adhesion molecule)<sup>1)</sup>으로 알려진 vascular cell adhesion molecule 1 (VCAM-1)은 110 KDa의 glycoprotein으로 내피세포, 상피세포, 대식세포 그리고 수지세포 (dendritic cell)에 주로 발현되며 TNF- $\alpha$ , IL-1 그리고 IL-4를 포함하는 많은 cytokines에 의해 유도되고 조절될 수 있다<sup>15)</sup>. 특히 VCAM-1은 임파구나 단핵세포의 ligand인 very late activation antigen 4 (VLA 4)의  $\beta$ 1 chain과의 결합을 통하여, 내피 방어벽 (endothelial barrier)을 통과하여 염증부위를 향해 T cell과 단핵구가 이동하는데 중요한 역할을 담당한다<sup>16~18)</sup>. Osborn 등<sup>19)</sup>의 연구에 의하면 VCAM-1은 특히 monocyte, lymphocyte, eosinophil 그리고 basophil 등이 내피층에 부착하는데 관여하는 것으로 밝혀진 반면에 ICAM-1은 다형핵백혈구 (PMNs), monocyte, lymphocyte등이 내피층에 부착하는데 관여하는 것으로 알려져 있다<sup>20, 21)</sup>.

이러한 cell adhesion molecule은 칼슘 의존형<sup>22)</sup>과 칼슘 비의존형의 두가지의 부류로 나누어질 수 있는데 특히 칼슘 의존형인 cadherin은 칼슘 비의존형 adhesion molecule보다 더 강한 결합을 유도하며<sup>23)</sup>, 주로 척추동물에서 동형의 상호작용 (homophilic interaction)을 통하여 인접한 세포들을 견고하

게 연결하는 molecule로 알려져 있다<sup>24)</sup>. 더욱이 cadherin의 활성화는 그외의 부착체계를 비활성화하여 다른 adhesion molecule들이 세포간 결합에 거의 영향을 미치지 못하도록 한다<sup>25)</sup>. 즉, anti-cadherin antibody로 cadherin 활성을 차단하면 세포층들의 분열이 야기되므로서<sup>26)</sup> 세포사이의 물리적 결합에 cadherin이 깊숙이 관여하는 것을 알 수 있다. Cadherin은 보통 E-, P-, N- 등의 세부류로 나누어지는데,<sup>27)</sup> 특히 E-cadherin은 대부분의 상피세포에서 발현되기 때문에 세포간 결합에 중요한 역할을 담당하는 것으로 받아들여지고 있다<sup>28)</sup>. 특히 Hitosh<sup>29)</sup> 등은 상피세포들은 만성염증을 보이는 조직에서도 안정적인 E-cadherin의 발현을 보이므로서 E-cadherin의 발현은 국소적 환경에 의해 쉽게 영향 받지 않는다고 보고하였다.

치주조직내에서 ICAM-1, VCAM-1 그리고 E-cadherin 발현양상에 관한 연구는 아직까지 미비한 실정이다. 그러나 백혈구 부착결핍에 의해 일어나는 급격하고 심한 파괴적 치주질환의 처치를 위해서는 치주질환의 활성기 동안 정상적인 숙주 방어기전을 이해하는 것이 필요하다. 따라서 본 연구에서는 임상적으로 건강한 치은조직과 염증성 치은조직을 외과적으로 절제하여 ICAM-1, VCAM-1 그리고 E-cadherin의 발현분포 및 정도에 대해 알아 보며 임상적으로 건강한 치은과 비교하여 염증성 치은조직내의 ICAM-1, VCAM-1, 그리고 E-cadherin의 존재와 분포의 특성에 관하여 알아보려고 하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 연구대상

원광대학교 치과병원 치주과에 내원한 환자를 대상으로 건강치은군과 염증성 치은군으로 분류하였으며 건강조직은 다음의 임상적

기준을 만족하는 10명의 검체 부위에서 임상 치관 확장술을 통해 치은을 절제 하였다.

1. 감지 할 수 있는 있는 세균성 치태축적이 없는 경우.
2. 3mm 이하의 치주낭 탐침깊이.
3. 탐침시 출혈 또는 화농의 소견이 보이지 않는 경우.

또한 30명의 성인형 치주염 환자의 생검 조직은 임상적으로 심한 염증의 소견을 보였고, 방사선 사진상 명백한 골소실의 증거와 4mm 이상의 부착 소실을 보이는 부위의 조직을 modified Widman flap operation 도중에 절제 하였으며 최근 6개월 이내에 치주치료를 받은 경험이 없는 환자를 대상으로 하였다. 염증성 치은군의 연령은 39세에서 62세(평균 48.5세)로 남성이 20명, 여성이 10명 이었으며 건강한 치은군의 연령은 21세에서 33세(평균 25.8세)로 남성이 7명, 여성이 3명 이었다.

## 2. 연구방법

염증성 및 건강성 치은은 치간유두와 치주낭 직하부를 포함하여 최소 0.2×0.2cm 이상의 크기로 치근면에 수직으로 절제한 다음, 절제된 치은조직을 10% paraformaldehyde를 함유하고 있는 phosphate buffered saline(PBS)의 고정액에 담구어 24시간 실온에서 유지하였다. 이러한 고정단계를 거쳐 치은조직을 포함하고있는 표본들은 ethanol과 amyacetate의 graded solution에서 탈수시키고 통법에 따라 paraffin wax에 포매 시켰다. Paraffin wax에 포매된 조직은 4-5 $\mu$ m 두께의 절편으로 잘라져서 Probeon plus slide 위에 놓고 사용할때 까지 4 $^{\circ}$ C에서 보관하였다.

### (1) 항체

Monoclonal anti-ICAM-1 antibody와 anti-E-cadherin antibody는 Zymed Laboratories Inc.(USA)에서 구입하였고 1/50로 희석하여

사용하였다. 또한 Monoclonal anti-VCAM-1 antibody는 Serotec Co.(England)에서 구입하였으며 역시 1/50로 희석하여 사용하였다.

### (2) 면역조직화학 염색

Paraffin으로 포매된 절편들은 xylene으로 deparaffinized 하였으며 증류수로 재수화 하였고 내인성 peroxidase에 의한 artifact를 피하기 위해 절편들을 실온에서 15분 동안 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 ice cold solution으로 반응시킨 후 tris-buffered saline(TBS)로 5분동안 세척하였다. blocking serum으로 normal rabbit serum을 30분간 적용시켰으며 또한 slides의 수분증발을 최소화 시키기위해 perforated cling film으로 덮고 citrate buffer로 채워진 plastic coplin jar 내에 넣어서 microwave oven으로 5분간 끓인 다음 1분간 실온에서 식힌 후 다시 5분간 끓였다<sup>30)</sup>. 이러한 microwave irradiation 후에 이미 1/50으로 희석되어 있는 일차항체를 3시간 동안 반응시킨 다음 TBS로 5분 동안 3회 세척한 후에 link antibody(anti-mouse IgG, Dako, USA)를 20분간 반응시켰다. 그 후 streptavidine alkaline phosphatase로 30분간 반응시킨 후 aminoethyl carbazole(AEC)로 발색시키고 Harrison hematoxylin으로 대조 염색하여 glycerin으로 도포 후 검경 하였다.

### (3) 조직학적 관찰 및 계측

광학 현미경으로 5부위 이상 사진 촬영하여 핵내에 중등도 이상의 반응을 양성으로 판정 하였으며, 3명의 관찰자가 각각의 사진에서 세포수를 계측하여 양성 세포수를 측정세포수로 나누고 백분률로 환산하여 각각의 발현 정도를 파악 하였다.

· 염색된 조직표본에서 각각의 항체에 대한 양성반응을 상대적인 발현정도에 따라 세포들의 90%이상, 30-90%, 5-30%, 그리고 5%미만이 양성으로 염색되었을 때 각각 심도(+++), 중등도(++), 경도(+), 경미(±),

음성(-)으로 구분 하였으며, 상피에서는 기저층, 상기저층, 유극층, 천층의 4층으로 분류하여 계측하였고 혈관 내피층과 결합조직의 mononuclear cell을 대상으로 하였다.

#### (4) 통계분석

군간의 차이를 보기 위하여 t-test를 시행하여 통계학적 유의성을 검증 하였다.

### III. 결 과

모든 표본들은 임상적 그리고 조직학적 상태에 따라 분류되었으며 자료들을 분석하였고 각 항체에 대한 발현정도는 다음과 같다.

#### 1. intercellular adhesion molecule-1(ICAM-1)의 발현

##### (1) Epithelium

건강한 치은에서의 ICAM-1은 기저층에서 약한 발현을 보이고 그 외의 다른 층에서는 거의 발현되지 않았다. 반면에 염증치은에서는 기저층과 상기저층 그리고 유극층에서 건강치은에 비하여 더 많은 발현을 보였다. 또한 ICAM-1의 평균 발현률은 건강한 치은에

서  $10.03 \pm 7.7$ 이고 염증성 치은에서는  $37.80 \pm 16.36$ 으로 나타나 유의성 있는 차이를 보였다 ( $p < 0.05$ , Table 1, 2, Fig 1, 2).

##### (2) Endothelium

임상적으로 건강 치은의 endothelium에서의 ICAM-1의 발현은 대체적으로 경미하게 나타났으며 염증성 치은조직에서는 ICAM-1의 더 많은 발현이 관찰되어진다. 특히 내피층과 모세혈관의 lumen에서 주로 ICAM-1의 발현이 관찰 되었다.

평균 ICAM-1의 발현비율은 건강한 치은에서  $8.76 \pm 4.61$ 이고 염증성 치은에서는  $51.22 \pm 12.60$ 으로 또한 유의성 있는 차이를 보였다 ( $p < 0.05$ , Table 1, 2, Fig 1, 2).

Table 1. Positive cells per high power fields to ICAM-1 in healthy and inflamed gingiva.

Area	State	
	Healthy gingiva	Inflamed gingiva
Epithelium	$10.03 \pm 7.77$	$37.80 \pm 16.36^*$
Endothelium	$8.76 \pm 4.61$	$51.22 \pm 12.60^*$
Mononuclear cell	$8.21 \pm 10.24$	$13.63 \pm 11.26$

\* Statistically different from healthy gingiva ( $P < 0.05$ )

Table 2 Antibody reaction to ICAM-1 in healthy and inflamed gingiva

	Epithelium				Endothelium	Mononuclear cell
	BA	SU	SP	SF		
Healthy gingiva	+	±	±	-	+	+
Inflamed gingiva	++	+	+	±	++	+++

BA : basal layer, SU : suprabasal layer, SP : spinous layer, SF : superficial layer

- : negative, ± : rare, + : mild, ++ : moderate, +++ : intense

(3) Mononuclear cells

건강치은과 염증성 치은사이의 ICAM-1의 발현에는 유의한 차이가 관찰되지 않았다. 건강 치은에서의 mononuclear cells의 평균 발현률은  $8.21 \pm 10.24$ 로 나타났으며 염증성 치은조직의 평균 발현률은  $13.63 \pm 11.26$ 을 보이므로서 건강조직과 염증성 조직사이의 통계학적 유의성은 관찰되지 않았다. 그러나 염증성 치은조직에서 약간의 양성반응이 혈관내피층에 인접하여 나타났다( $p < 0.05$ , Table 1 2, Fig 1, 2).

2. vascular cell adhesion molecule-1(VCAM-1)의 발현

VCAM-1은 건강치은과 염증성 치은 대부분에서 거의 발현되지 않았다. 따라서 VCAM-1과 양성반응을 보이는 세포의 발현률을 파악 할 수 없었다. 그러나 일부의 염증성 치은조직에서 중등도의 양성반응이 내피

세포와 mononuclear cells에서 인지되었지만 통계적으로 의미있는 수치에 도달하지는 못하였으며, 상피에서의 양성반응도 관찰 할 수 없었다(Table 3, Fig 3, 4).

3. E-cadherin의 발현

E-cadherin은 건강 치은군의 상피에서 일부 기저층을 제외하고는 상피 대부분의 부위에서 강하게 염색되었다. 그러나 대부분의 염증성 치은조직은 E-cadherin 발현의 감소를 보였으며 더욱이, 일부의 염증성 치은표본은 E-cadherin 발현의 완전 소실을 보였으며 염증성 치은상피에서 가장 강하게 염색된 부위는 천층(superficial layer)으로 나타났다.

평균 E-cadherin 발현률은 건강한 치은군에서  $76.36 \pm 15.38$ 이고 염증성 치은조직에서는  $30.40 \pm 13.94$ 로 유의성 있는 차이를 보였다. ( $p < 0.05$ , Table 3, 4, Fig 5, 6)

Table 3 Antibody reaction to VCAM-1 in healthy and inflamed gingiva

	Epithelium				Endothelium	Mononuclear cell
	BA	SU	SP	SF		
Healthy gingiva	±	±	±	±	±	±
Inflamed gingiva	±	±	±	±	++	++

BA : basal layer, SU : suprabasal layer, SP : spinous layer, SF : superficial layer  
 - : negative, ± : rare, + : mild, ++ : moderrate, +++ : intense

Table 4 Positive cells per high power fields to E-cadherin in healthy and inflamed gingiva

Area \ State	Healthy gingiva	Inflamed gingiva
Epithelium	$76.36 \pm 15.38$	$30.40 \pm 13.94^*$

\*Statistically different from healthy gingiva ( $p < 0.05$ )

Table 5 Antibody reaction to E-cadherin in healthy and inflamed gingiva

	Epithelium			
	BA	SU	SP	SF
Healthy gingiva	±	++	++	++
Inflamed gingiva	-	±	±	+

BA : basal layer, SU : suprabasal layer, SP : spinous layer, SF : superficial layer

- : negative, ± : rare, + : mild,

++ : moderate, +++ : intense

#### IV. 총괄 및 고찰

치주조직에서 치은 혈관계 (gingival vasculature)의 역할은 영양, 치은 열구액의 형성, 염증 등의 관점에서 인식되어 왔으며 염증에 관여 하는 혈관에 의하여 변화가 일어난다. 특히 열구상피와 접합상피 하방에서 확장된 혈관과 염증세포들의 밀접한 관계에 대한 연구가 보고 되었으며<sup>31)</sup> 최근에는 내피세포와 백혈구의 상호작용에 대한 연구를 통해 활성화된 내피조직에 adhesion molecule의 발현이 확인 되었고 이러한 adhesion molecule이 백혈구에 대한 특정 수용기의 역할을 담당 하여 염증부위에 백혈구의 침윤과 순환이 용이하게 하도록 하는 것으로 알려져 있다<sup>32)</sup>.

본 연구에서는 치은의 생검조직을 통하여 염증과 관련된 cytokine-inducible cell adhesion molecule의 발현에 대하여 논의 하고자 하였으며 현재 이들에 대한 많은 연구가 진행되어 오고 있고 특히 Moughal<sup>33)</sup> 등은 임상적으로 건강한 치은조직과 실험적으로 유발된 염증성 치은조직의 capillary loop에서 ICAM-1의 발현에 대해 보고하였다. 따라서 본 연구에서는 ICAM-1 뿐 아니라 VCAM-1과 E-cadherin의 발현양상 및 분포에 대한 논의를 통해 치주조직에서의 역할에 대해 논의하고자 하였다.

Takahashi<sup>34)</sup> 등은 배양된 치은섬유모세포에서 ICAM-1과 LFA-1의 상호작용에 대해 보고 하였으며 이같은 현상에 의해 치은조직내에서 염증반응이 진행되어 백혈구의 침윤이 활발하게 이루어진다고 밝혔다. 이러한 ICAM-1과 LFA-1의 상호작용은 혈관내피층을 통한 백혈구 이주와 부착에 관여하며<sup>35)</sup> 이러한 상호작용의 관계와 치은조직에 대한 그들의 역할은 백혈구의 부착 결핍에 의해 야기된 심각한 치주조직의 파괴에 의하여 설명되어 질 수 있다<sup>36)</sup>. 즉, 백혈구 부착 결핍에 의한 질환의 임상양상은  $\beta 2$  integrin의  $\beta$  chain의 결핍과 관련 있으며<sup>37, 38)</sup> 특히 병소부위에 중성구의 결핍이 특징적으로 보여지고 있다. 때문에 이런 환자들은 전반적 사춘기전 치주염 (Generalized Prepubertal Periodontitis)이라고 불리는 파괴적 치주염으로 고통받고 있으며 심하면 생명을 위협하는 감염이 될 수도 있다<sup>38, 39)</sup>.

본 연구에서 보여지는 결과중의 하나는 ICAM-1의 발현이 주로 건강치은의 상피 기저층에서 나타난다는 것이다. 그러나 염증성 치은에서는 건강한 치은과 비교할 때 발현정도나 분포에서 다른 발현양상을 보이는데 중등도 발현을 보이는 기저층은 물론 상기저층과 유극층에서도 강한 염색 반응이 관찰되었다. ICAM-1의 기능중의 하나는 세포사이의

상호작용을 유도하는 것으로 치은조직내에서 ICAM-1의 양성반응은 T cell이나 B cell 등에 의한 항원-항체반응이 일어나고 있음을 의미한다. 또한 혈관내피층에 대해 T cell이나 그 밖의 백혈구들의 부착을 유도 할 뿐 아니라 혈관내피를 통한 이주에도 중요한 역할을 담당 하는 것으로 알려져 있다<sup>40, 41</sup>). 이러한 관점에서 보면 상피층에서 ICAM-1이 발현 한다는 것은 접합상피를 통하여 치은열구로 백혈구가 이주함을 의미한다. 다시 말하면 ICAM-1과 그 ligand는 치은의 혈관내피를 통한 백혈구 이주뿐 아니라 치은열구내에 있는 상피를 통한 이주에도 관여하여 치주질환에 대한 국소적인 방어벽을 이루고 있으며 이와 같은 이유로 건강 치은조직과 비교할 때 염증성 치은조직에서 백혈구와 ICAM-1의 활발한 상호작용에 의해 더욱 강한 반응이 나타난다고 생각된다. 한편 mononuclear cells에서는 건강 조직과 염증성 치은조직 사이에 비록 유의성있는 차이가 발견되지는 않았다. 하지만 이러한 현상이 염증반응 동안 백혈구의 침윤이 증가하지 않는다는 것을 의미하는 것은 아니다. 특히 주로 상피와 인접한 부위에서 강한 반응을 보이므로서 단지 순간을 포착하기 어렵다는 것을 반영하는 것으로 사료된다.

Gerber 등은<sup>20), 42)</sup> VCAM-1이 integrin VLA-4와의 상호작용을 통해서 lymphocyte나 monocyte가 혈관성 내피층에 부착 한다고 보고 하였다. 또한 basophil과 eosinophil등이 활성화된 내피층에 부착하는데도 역시 관여하는 것으로 알려졌다<sup>43, 44)</sup>. 그러나 Tonetti<sup>45)</sup>는 결체조직의 외곽에 존재하는 모세혈관에 매우 낮은 수준의 발현을 보이며 VCAM-1과 양성반응을 보이는 염증세포도 거의 나타나지 않는다는 사실로 VCAM-1 염색정도는 일반적으로 약하다고 결론 지었다. 본 연구에서도 건강치은 뿐 아니라 염증성 치은조직에서도 뚜렷한 발현을 보이지는 않았으나 염증성

치은조직에서 혈관성 내피세포와 mononuclear cell의 일부에서 VCAM-1에 양성반응을 보였다.

E-cadherin은 대부분 사람의 상피조직에서 발현을 보이므로서 상피구조를 유지하는데 가장 중요한 cadherin molecule로서 생각 되어진다<sup>28, 46)</sup>. 본 연구에서도 치은조직의 상피층에서 발현되어지는 사실과 E-cadherin의 넓은 분포양상 때문에 상피조직의 형성과 유지에 중요한 역할을 담당 할 것으로 추측 되어진다. 그러나 본 연구에서 면역조직 화학법으로 E-cadherin 발현을 보이지 않는 약간의 염증성 치은조직을 발견하였다. Shimoyama<sup>47)</sup>, Hitosh 등<sup>29)</sup>은 종양에서 E-cadherin 발현이 감소되었다고 보고하였으나 일반적인 현상은 아니다. 많은 종양세포들이 정상세포와 같이 E-cadherin의 발현을 보이고 있으며 특히 1988년 Takeichi<sup>48)</sup>의 연구에 의하면 Madin-Darby canine kidney 세포에 Moloney sarcoma virus를 주입하여 E-cadherin의 발현을 조사한 결과 큰 차이가 없었음을 보고 하였다. 또한 Hitosh<sup>29)</sup>는 만성 염증조직에서도 안정적인 E-cadherin 발현을 보이는 상피조직의 발견을 통하여 E-cadherin 발현이 국소환경에 의해 쉽게 영향을 받지 않으며 감소된 E-cadherin 발현은 악성 전이동안 획득되어진 특징이라는 것을 의미 한다고 주장 하였다. 그러나 본 연구의 결과는 E-cadherin과 관련된 세포간 결합이 정상적인 상피조직과 비교할때 염증성 치은조직에서 감소되는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 이전의 연구와는<sup>29)</sup> 반대되는 것으로 염증에 의하여 E-cadherin과 관련된 세포결합이 파괴되므로서 E-cadherin 발현이 국소염증에 의해 감소되는 것으로 보여지며 이러한 결과에 대해 좀 더 추가적인 연구가 필요하리라 생각되어진다. 또한 cadherin이 간엽세포나 백혈구에서 발현되었다는 연구는 지금까지 보고되지 않았다.

그러나 Tang<sup>49)</sup> 등의 연구에 의하면 상피에

있는 Langerhan's cell에서 E-cadherin이 발현되었으며 이러한 결과는 cadherin이 고도로 분화된 골수기원세포의 생물학적 성질에 관여한다는 추측이 가능하며 다른 조직에서와 같이 치은상피에서 E-cadherin과 백혈구의 상호작용에 관한 연구가 진행되어야 할 것이다.

염증반응은 cell adhesion molecule의 발현정도나 분포에 많은 영향을 끼친다. 따라서 adhesion molecule과 관련된 숙주 방어기전은 백혈구 부착결핍이 나타나는 치주질환에서 특히 중요하며 adhesion molecule의 발현양상에 관한 본 연구의 결과를 통하여 치주질환에 대한 감수성을 결정할 수 있을 뿐 아니라 조직손상의 방지와 치은조직의 재생을 위한 연구에 기초가 될 것이다. 그러나 치은조직내에서 다양한 세포들에 대한 adhesion molecule 발현양상을 통해 백혈구 부착결핍과 관련된 치주질환의 진단 및 처치를 위해서는 백혈구의 이주, 부착 등의 기전에 대한 좀더 세심한 연구가 필요할 것으로 생각된다.

## V. 결 론

건강한 치은조직과 염증성 치은조직에 monoclonal anti-ICAM-1 antibody와 anti-VCAM-1 antibody 그리고 anti-E-cadherin antibody를 적용시켜 치은조직에서 나타나는 부착단백의 발현분포 및 정도에 대해 알아보고자 하였으며 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. ICAM-1은 건강한 치은에서는 상피의 기저층, 내피 그리고 mononuclear cells에 주로 분포되었으나 염증성 치은에서 더 강한 양성 반응을 보였다.
2. VCAM-1은 거의 발현되지 않았으나 일부의 염증성 치은조직의 내피층과 mononuclear cells에서 중등도의 발현을 보였다.
3. E-cadherin은 상피에서만 발현되었고 염증성 치은조직에서는 발현이 감소되었다.

이러한 결과는 치은조직내에서 cell adhesion molecule의 서로 다른 발현 양상을 보여주며 이같은 양상은 백혈구의 이주, 부착등과 관련 있으며 염증반응 동안 조직손상에 관여한다.

## 참고문헌

1. Ville RG. Cancer metastasis : From mechanism to therapies. Imperial Cancer Research Fund, London, UK pp 71-98, 1994.
2. Bjorn S., Anh HD., Steven B., Cheryl LP., William BW., Victoria L., Magnuson DC. Immunological localization of cell adhesion protein and integrins in the periodontium. J Periodontol 63 : 584-592, 1992.
3. Cavender DE., Haskard DO., Joseph B., Ziff M. Interleukin 1 increase the binding of human B and T lymphocyte to endothelial cell monolayers. J Immunol 136 : 203-207, 1986.
4. Cavender DE., Haskard DO., Maliakkal D., Ziff M. Separation and characterization of human T lymphocyte with varying adhesiveness for endothelial cells. Cell Immunol 117 : 111-126, 1988.
5. Abelda SM., Buck CA. Integrin and other cell adhesion molecule. FASEB J 4 : 2868-2880, 1990.
6. Dransfield I., Buckle AM., Hogg N. Early events of the immune response mediated by leukocyte integrin. Immunol Rev 114 : 29-44, 1990.
7. Dustin ML., Springer TA. Lymphocyte function-associated antigen 1(LFA 1) interaction with intercellular adhesion molecule 1 is one of at least three mechanism for lymphocyte adhesion to



- cultured endothelial cells. *J Cell Biol* 107 : 321-331, 1988.
8. Marlin SD., Springer TA. Purified intercellular adhesion molecule 1 is a ligand for lymphocyte function associated antigen 1(LFA 1) *Cells* 51 : 813-819, 1987.
  9. Vejlsgaard GL., Ralfkiaer E., Avnstrom C., Czajowski M., Marlin SD., Rothlein R. Kinetics and characterization of intercellular adhesion molecule-1(ICAM-1) expression on keratinocyte in various inflammatory skin lesion and malignant cutaneous lymphoma. *J Am Acad Dermatol* 20 :782-790, 1989.
  10. Griffiths CE., Voorhees JJ., Nickoloff BJ. Characterization of intercellular adhesion molecule-1 and HLA-DR expression in normal and inflamed skin : modulation by recombinant gamma interferon and tumor necrosis factor. *J Am Acad Dermatol* 20 : 617-629, 1989.
  11. Barton RW., Rothlein R., Ksiazek K., Kennedy C. The effect of anti-intercellular adhesion molecule-1 on phorbol ester induced rabbit lung inflammation. *J Immunol* 143 : 1278-1282, 1989.
  12. Haynes BF., Hale LP., Denning SM., Le PT., Singer KH. The role of leukocyte adhesion molecule in cellular intreraction : implication for the pathogenesis of inflammatory synovitis. *Springer Semin Immunopathol* 11 : 163-185, 1989.
  13. Graf LH Jr. Molecular cloning of genes that specificity melanoma associated antigen. In : Ferron S, ed. *Human melanoa, Immunology, Diagnostics and therapy*. Berlin springer-verlag 95-105, 1990.
  14. Cosimi AB., Conti D., Delmonico FL. In vitro effect of monoclonal antibody to ICAM-1(CD54) in non human primates with renal allograft. *J Immunol* 144 : 4604-4612, 1990.
  15. Bochner BS., Luscinskas FW., Gimbrone MA. Adhesion of human basophil, eosinophil and neutrophils to IL-1 activated human vascular endothelial cells : contribution of endothelial cell adhesion molecule. *J Exp Med* 173 : 1553-1556, 1991.
  16. Diamond MS., Stanuton DE., DeFougerolles AR. ICAM-1(CD54) : a counterreceptor for Mac1(CD11b/CD18). *J Cell Biol* 111 : 3129-3139, 1990.
  17. Rice GE., Bevilacqua MP., An inducible endothelial cell surface glycoprotein mediated melanoma adhesion. *Science* 246 : 1303-1306, 1989.
  18. Elices MJ., Osborn L., Takada Y. VCAM-1 on activated endothelium interact with the leukocyte integrin VLA4 at a site distinct from the VLA4/fibronectin binding site. *Cell* 60 : 577-584, 1990.
  19. Osborn L., Hession C., Tizard R. Direct expression cloning of vascular cell adhesion molecule 1(VCAM-1), cytokine-induced endothelial protein that binds to lymphocytes. *Cell* 59 : 1203-1211, 1989.
  20. Rice GE., Munro JM., Bevilacqua MP. Inducible cell adhesion molecule 110(INCAM-110) is an endothelial receptor for lymphocyte. *J Exp Med* 171 : 1369-1374, 1990.

21. Allavena P., Paganin C., Martin-Padura I., Perri G., Gaboli M., Dejana E., Marchisio PC. Molecules and structures involved in the adhesion of natural killer cells to vascular endothelium. *J Exp Med* 173 : 439-448, 1991.
22. Yoshida-Noro, C., Suzuki N., Takeichi M. Molecular nature of the calcium dependent cell-cell adhesion system in mouse tetramelanoma and embryonic cells studied with a monoclonal antibodies. *Dev Biol* 101 : 19-27, 1991.
23. Takeichi M. Functional correlation between cell adhesive properties and some cell surface protein. *J Cell Biol* 75 : 464-474, 1977.
24. Takeichi M. Cadherin cell adhesion receptor as a morphogenetic regulator. *Science* 251 : 1451-1455, 1991.
25. Duband J-L., Dufour S., Hatta K., Takeichi M, Edelman GM., Theiry JP. Adhesion nmolecule during somatogenesis in the Avian embryo. *J Cell Biol* 104 : 1361-1374, 1987.
26. Takeichi M. A molecular family important in selective cell-cell adhesion. *Ann Rev Biochem* 59 : 237-252, 1990.
27. Takeichi M. The cadherin : cell-cell adhesion molecule animal morphogenesis. *Development* 102 : 639-665, 1988.
28. Shimoyama Y., Hirohashi S., Hirano S., Noghuchi M., Abe O. Cadherin cell adhesion molecule in human epithelial tissue and carcinoma. *Cancer Res* 49 : 2128-2133, 1989.
29. Hitosh S., Hideaki T., Hiroshi O., Mikiyo M Shigeuki T., Keisuke I., Yuchiro D., Shinji H., masatoshi T., Takesada M. Expression of immunoreactive E-cadherin adhesion molecule in muman cancer *Am J Pathol* 139 : 17-23, 1991.
30. Cuevas EC., Bateman AC., Wilkins BS., Jhonson PA., Wiliams JH., Lee AHS, Jones DB., Wright DH. Microwave antigen retrieval in immunocytochemistry : a study of 80 antibodies *J Clin Pathol* 47 : 448-452, 1994.
31. Egelberg J. The blood vessel of the dentogingival junction. *J Periodont Res* 1 : 163-179, 1966.
32. Picker L., Bucher E. Physiologic and molecular mechanism of lymphocyte homing. *Annu Rev Immunol* 10 : 561-569, 1992.
33. Moughal NA., Adonogianaki E., Thronhill MH., Kinane DF. Endothelial leukocyte adhesion molecule 1(ELAM-1) and intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) expression in gingival tissue during health and experimental ly induced gingivitis. *J Periodont Res* 27 : 623-630, 1992.
34. Takahahashi K., Takigawa M., Takashiba S., Nagai A., Miyamoto M., Kurihara H., Murayama Y. Role of cytokine in the induction of adhesion molecule on cultured human gingival fibroblast *J Periodontol* 62 : 230-235, 1994.
35. Warwyk SO., Novotny JR., Wicks IP. The role of the LFA1/ICAM-1 interaction in human leukocyte homing and adhesion. *Immunol Rev* 108 : 135-161 : 108, 1989.
36. Page RC., Bowen T., Altman L. Prepubertal periodontitis. I. Definition of a clinical disease entity. *J Periodontol* 54 : 257-271, 1983.

37. Anderson DC., Springer TA. Leukocyte adhesion deficiency : an inherited defect in the Man-1, LFA1 and p150,95 glycoproteins. *Ann Rev Immunol* 38 : 175-194, 1987.
38. Kishimoto TK., Larson RS., Corbi AL., Dustin ML., Staunton DE., Springer TA. The leukocyte integrin. *Adv Immunol* 46 : 149-182, 1989.
39. Watanabe K. prepubertal periodontitis : a review of diagnostic criteria, pathogenesis, and differential diagnosis. *J Periodont Res* 25 : 31-48, 1990.
40. Rothlein R., Dustin ML., Marlin SD., Springer TA. A human intercellular adhesion molecule distinct from LFA-1 *J Immunol* 137 : 1893-1896, 1986.
41. Smith CW., Martin SD., Rothlein R., Toman C., Anderson C. Cooperative interaction of LFA1 and Mac1 with intracellular adhesion molecule 1 in facilitating adherence and transendothelial migration of human neutrophil in vitro. *J Clin Invest* 83 : 2008-2017, 1989.
42. Schwartz BR., Wayner EA., Carlos TM., Ochs HD., Harlan JM. Identification of surface protein mediating adherence of CD11/CD18-deficient lymphoblast cells to cultured human endothelium. *J Clin Invest* 85 : 2019-2022, 1990.
43. Dobrina A., Menegazzi R., Carlos T., Nardon E., Cramer R., Zacchi T., Harlan JM., Patriarca P. Mechanism of eosinophil adherence to cultured vascular endothelial cells *J Clin Invest* 88 :20-26, 1991.
44. Kyan-Aung U., Haskard DO., Lee TH. Vascular cell adhesion molecule 1 and eosinophil adhesion to cultured human umbilical vein endothelial cells in vitro. *Am J Respir Cell Mol Biol* 5 : 445-450, 1991.
45. Tonetti M., Gerber L., Lang NP. Vascular adhesion molecule and initial development of inflammation in clinically healthy human keratinized mucosa around teeth and osseointegrated implants. *J Periodont Res* 29 : 386-392, 1994.
46. Eidelman S., Damsky CH., Wheelock MJ., Damjanov A. Expression of the cell-cell adhesion glycoprotein cell-CAM 120/80 in normal human tissues and tumor. *Am J Pathol* 135 : 101-110, 1989.
47. Shinoyama Y., Hirohashi S. Expression of E-and P-cadherin in gastric carcinoma *Cancer research* 15 : 2185-2192, 1991.
48. Takeichi M. The cadherin : Cell-cell adhesion molecule controlling animal morphogenesis. *Development* 102 : 639-655, 1988.
49. Tang A., Amagai M., Granger LG., Stanely JR., Udey MC. Adhesion of epidermal Langerhans cells to keratinocytes mediated by E-cadherin. *J Clin Invest* 361 : 82-85, 1993.

## 사진부도 설명

- Fig 1 Mild expression is observed on basal layer of epithelium in healthy gingiva (Immunostain for ICAM-1,  $\times 100$ )
- Fig 2 Moderate expression is observed on mononuclear cells adjscent to epithelium, endothelium and basal layer of epithelium in inflammatory gingiva(Immunostain for ICAM-1,  $\times 100$ ).
- Fig 3 Rare expression is observed in healthy gingiva(Immunostain for VCAM-1,  $\times 100$ ).
- Fig 4 Positive VCAM-1 cells are observed in inflammatory gingiva(Immunostain for VCAM-1,  $\times 100$ ).
- Fig 5 Normal epithelial cells are strongly expressed E-cadherin molecule in healthy gingiva(Immunostain for E-cadherin,  $\times 200$ ).
- Fig 6 Weak staining is observed in superficial layer of inflammatory gingival epithelium(Immunostain for E-cadherin,  $\times 100$ ).

## 박경근 논문 사진 부도

## Expression of Adhesion Molecule in Inflammatory Gingival Tissue

Kyung-Geun Park, Eun-Chul Kim\*, Hyung-Keun You, Hyung-Shik Shin  
Dept. of Periodontology, College of Dentistry, Wonkwang University  
\* Dept. of Oral pathology, College of Dentistry, Wonkwang University

The change in vascular adhesion molecule expression and number of infiltrating leukocytes were investigated immunohistochemically in clinically healthy and inflamed gingiva.

Monoclonal antibodies to ICAM-1, VCAM-1 and E-cadherin were used to identify positive vessels and leukocyte within gingival biopsies. 10 healthy gingiva and 30 inflamed gingiva was resected by clinical crown lengthening and modified Widman flap operation, respectively.

Leukocyte entry into tissues at sites of inflammation is controlled by the interaction between adhesion molecule and endothelium. Because of rapid and severe destructive periodontal disease that is remarkable leukocyte adhesion deficiency, it is very important to understand the mechanism of host defence against periodontal disease. The purpose of this investigation was the characterization of the presence and distribution of the adhesion molecule(ICAM-1, VCAM-1 and E-cadherin) in inflammatory gingival tissues compared to clinically healthy gingiva.

The results were as followed:

1. ICAM-1 was distributed on basal layer, endothelium and mononuclear cells in healthy gingiva but inflamed gingiva was observed stronger stain than healthy gingiva.
2. Rare expression was observed in both group but few positive VCAM-1 cells were investigated in inflammatory gingival tissues
3. E-cadherin was expressed in only epithelium and reduced expression was observed in inflammatory gingival tissues.

ICAM-1, VCAM-1 showed more expression in inflammatory tissues compared to healthy gingiva. Conversely, E-cadherin revealed a opposite result. These finding demonstrate a characteristic distribution and degree of adhesion molecule in healthy and inflammatory gingival tissues. But it is suggested that more detail study be progressive associated with leukocyte adhesion molecule to determine characterization of periodontal disease.