

당뇨시 백서 타액선 조직내의 clusterin변화에 관한 면역학적 연구

경희대학교 치과대학 구강내과학 교실 · 구강병리학 교실¹⁾

어 규 식 · 조 한 국¹⁾ · 홍 정 표

목 차

- I. 서 론
- II. 실험재료 및 방법
- III. 실험성적
- IV. 총괄 및 고안
- V. 결 론
- 참고문헌
- 영문초록

I. 서 론

구강은 음식물을 섭취하는 첫번째 관문으로, 연하와 저작 및 발음이 이루어지는 매우 중요한 구조물이다. 이러한 기능시 타액이 존재하기 때문에 말하고, 씹고, 삼키고, 음식의 덩어리가 만들어질 수 있게 된다. 또한 타액은 치아에 유익한 이온성 환경과 중성 pH를 유지하는데 반드시 필요하며 타액의 가장 중요한 기능은 유해한 영향이 있는 미생물로부터 구강조직을 보호하는데 있다¹⁾.

구강은 종종 해로운 물질이 체내에 들어오는 주요 통로이므로 질병을 일으킬 수 있는 외부물질에 대해 항시 방어작용을 하고 있어야 한다. 즉 구강은 300여종의 미생물이 세균 복합체를 형성하고 살아가는 공간으로, 언제나 병원균에 의해 감염될 가능성이 있으나, 타액의 지속적인 분비로 인해 효과적으로 미생물이 제거되며, 또

한 여러 물질의 자체 방어작용에 의해 각종 감염성 질환으로부터 보호되고 있다. 그러나 당뇨병, 스트레스 및 정신질환, 약물복용, 류마티스성 관절염, 갱년기 장애, 방사선 조사, 비타민 결핍, 췌그렌 증후군 등의 여러 원인에 의해 타액 분비가 감소되면 타액의 주요 기능중의 하나인 병원균에 대한 항균작용이 약화되어 충치, 프라그 형성, 치은염 등이 유발되며, 치주질환, 치수질환, 심한 경우 치아소실까지 발전할 수 있다²⁾.

이러한 여러 원인중, 당뇨병은 주로 생활수준이 높은 선진국에서 발생하는 성인병의 일종으로, 우리나라에서도 날로 증가되어 치과의사가 당뇨병 환자를 접하게 되는 기회는 점차 증가되고 있는 추세이며, 이는 구강영역에 많은 합병증을 유발시켜 치주질환을 악화시키거나 치주농양, 구강궤양을 만들고, 구강건조증을 유발시키기도 한다³⁾.

당뇨병과 구강조직 변화와의 관련성에 대해서는 많은 학자들이 연구보고 하였다. Glickman과 Shklar⁴⁾는 alloxan으로 당뇨병을 유발시킨 백서에서 치수조직의 변화를 보고하였고, Bissada 등⁵⁾ Glickman 등⁶⁾, Ray와 Orban 등⁷⁾은 치주조직의 염증반응에 대한 영향과 치은손상시 치유속도에 관한 장애 등에 대하여 보고하였다. 또한 타액선의 변화에 관하여도 Hu 등⁸⁾이 타액선의 무게변화에 대하여, Palla 등⁹⁾ 및 Soling 등¹⁰⁾은 생화학적 및 전기영동에 대하여, Reuterving 등¹¹⁾이 설포세포내 지방축적에 대하여, Campbell¹²⁾과 Reuter-

ving¹¹⁾ 등이 혈관의 변화에 대하여 연구보고 한 바 있다.

이와 같이 당뇨병의 생체조직 변화를 관찰하기 위해서는 실험적으로 동물에 당뇨를 유발시켜야 하는데, Ferner¹³⁾가 제시한 바에 의하면, 항고혈압제로써 사용되는 혈관이완제인 diazoxide 나 뇌종양을 억제하기 위한 고농도의 corticosteroid가 당뇨병을 유발시킬 수 있고, 과량의 theophylline, aspirin, isoniazid, nalidixic acid 등의 약물도 일시적인 고혈당증을 유발시킬 수 있으며, streptozotocin과 alloxan, rodenticide Vacor와 같은 약제는 영구적으로 당뇨병을 유발시킨다고 하였다. 이 중 streptozotocin(STZ)은 D-글루코사민의 N-니트로소 유도체로서 1960년에 Streptomyces achromogense로부터 추출되어 광범위한 항생제^{14,15)}로 사용되고 있고 또한 항암효과¹⁶⁾와 함께 발암물질¹⁷⁾로도 작용하는 것으로 알려져 있다. 흥미롭게도 최근 streptozotocin은 당뇨와 관련된 연구¹⁸⁾에 많이 사용되고 있다. 이는 췌장의 인슐린 분비작용에 영향을 미치는 것이 아니라, 포도당에 의한 췌장의 인슐린 분비작용에 대해 영구적으로 역치를 증가시켜 주는 약물로서, 일회 고용량으로 주거나, 저용량으로 여러번 주었을 때 당뇨병을 유발할 수 있는데, Simon과 West¹⁹⁾는 백서에 1회 복강내 주사(45mg/kg of streptozotocin)로 당뇨병을 유발시킬 수 있었다고 보고한 바 있다.

보체조절, 생식, 지방수송, 신경변성, 내분비 및 발생과정중 다양한 조직의 분화와 관련있는 것으로 알려진 clusterin은 시험관에서 이 단백질에 의해 세포응집(cell aggregation)이 발생하기 때문에 붙인 이름이며^{20,21)} 동물의 종, 기관 또는 조직에 따라 단백질의 기능 및 크기에서 차이를 보이기 때문에 아직까지 여러가지 이름으로 계속 불리어지고 있다. 매우 다양한 clusterin의 생리학적 기능과 역할이 점차로 밝혀지고는 있지만 아직까지 추측에 불과할 뿐이며, 이를 구명하기 위하여 다방면으로 연구가 진행되고 있다.

Clusterin의 여러 기능이 추론되는데, Jenne등²²⁾은 초기 C5B-7 복합체에 결합후 중화되어, 적혈구세포의 보체매개성 용해를 억제한다고 하였

으며, Murpy등²³⁾은 clusterin의 α 사슬이 인간의 C7, C8과 C9의 소수성결합 분절에 결합하고, Wilson등²⁴⁾은 IgG, Fc, Fab 부위에 결합한다고 보고하였다. 면역성 사구체의 손상이 일어날 경우, clusterin이 고갈될 때 많은 손상이 일어난 것을 미루어 볼 때, 생체에서 clusterin이 보체에 의한 손상을 보호하는 작용을 할지 모른다는 견해가 있다²⁵⁾.

다양한 지방, 소수성 분자, 인지질로된 막에 clusterin이 즉시 결합된다는 사실이 관찰되었다. 사람 혈장의 high density lipoprotein(HDL)과 apolipoprotein A-1과의 관계를 근거해 볼 때, clusterin은 지방의 수송 뿐만아니라²⁶⁾ 막의 감독, 안정, 재형성과 치유를 통한 세포완전성의 유지에 중요한 역할을 할 것으로 추측된다²⁵⁾.

또한 clusterin은 수용성 및 막결합 형태로 존재하는 부신수질의 크롬친화성 과립의 한 구성성분으로 관찰되었다^{27,28)}. Urban등은 개의 신장 상피세포에서 분비된다고 하였으며²⁹⁾, Jenne등은 신경내분비계와 chromogranin에 존재하는 secretogranin이 clusterin과 밀접하게 관련있을 것이라고 추측하였다²²⁾. 유즙, 타액과 같은 외분비액에서 clusterin을 검출한 보고도 있다²⁵⁾.

Kumar등은 clusterin이 TGF β 에 의해 유도된 세포분화와 관련이 있으며, clusterin과 TGF β 는 조직 손상면에 혈소판 활성화중에 유리되어, 섬유화 병소의 손상부위에서 증가된다고 보고하였는데³⁰⁾, 결국 여러자료를 종합해 보면, 보체조절, 생식, 지방수송, 신경변성, 내분비 및 발생과정중 조직의 분화에 관여할 뿐만아니라 다양한 스트레스와 조직손상에 대해 보호하는 역할을 하는 것으로 추정된다²⁰⁾.

이외에도, clusterin은 원인불명의 구취 형성과 정중에 관여할 가능성이 있다. 구취란 구강 및 전신으로부터 생리적, 병적인 원인에 의해 발생하는 불쾌한 호흡을 의미하며, 일반적으로 볼 때 공기가 입밖으로 배출될 때, 구강에서 발생하는 cysteine, 환원된 glutathione, peptone 같은 free thiol 군을 지닌 휘발성 화합물³¹⁾에 오염되어 발생하는 것으로 알려졌으나, 복잡다양하게 생성되는 구취는 건강상태와 정신상태에 의해 구취의 강도가 달라지기 때문에 구강내에서 발생되

는 구취를 정확히 진단 및 치료하기란 어렵다³²⁾. 더구나 구취감소효과에 관한 연구들의 대부분이 세치제, 구강청정제에 국한된 경향이 있어 이는 근본적인 치료법이라기 보다는 일시적으로 냄새를 제거하는 역할을 할 뿐이며, 계속 습관적으로 사용할 경우에는 정상 구강균주를 변화시키거나 억제시켜 오히려 구취를 유발할 가능성도 있다.

우리나라는 1970년대 부터 경제가 급속히 발전하면서, 국민소득이 향상되고 생활이 안정되면서 사회생활의 국소적 장애요인이 되는 구취에 대한 관심이 점차 증가하고 있다. 더구나 우리 국민들은 마늘이나 김치같은 냄새가 강한 음식을 선호하는 경향이 강해, 식사 후 발생하는 구취를 효과적으로 제거하는 방법을 연구할 필요가 있다.

이에 저자는 소모성 질환으로 전신증상을 나타내며 구강내에서도 구강건조증이나 구취 등의 다양한 증상을 나타내는 당뇨병시, 타액선조직이 파괴될 때 관여하며 구취를 발생시킬 수 있다고 생각되는 clusterin을 추적함으로써 타액선조직의 변화기전과 과정을 관찰하며, 이로인해 구취가 발생될 수 있는 지의 여부를 병리학적 방법과 면역학적 방법으로 비교관찰한 결과 다소의 지견을 얻었기에 이를 보고하는 바이다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험동물

본 실험에서는 대한실험동물에서 계대사육하여 번식한 Sprague-Dawley계의 생후 10주된 성숙한 웅성백서(체중 250~300g)를 대조군과 실험군으로 사용하였으며, 사육실 조건은 자동온도장치에 의해 온도는 $23 \pm 2^\circ\text{C}$, 습도는 60%로 유지하였다.

2. 실험방법

Citric buffer(0.5M, pH 4.5)에 용해한 streptozotocin(Sigma[®], chemicals Co., St. Louis, Mo)을 kg당 40mg 단위로 백서의 미정맥에 주사하여 당뇨병을 유도한 18마리와 정상의 대조군 6

마리로 나누어 시행하였다. 이들은 각 군별로 즉일, 3일, 5일, 7일, 10일, 14일에 각각 3마리씩 에테르로 흡입마취후 탈골하여 희생한 후 악하선과 이하선조직을 적출하여 -70°C 냉동고에 보관하였다.

3. RNA 분석

(1) 조직에서 RNA 분리

적출된 조직에 solution D (4M Guanidium thiocyanate, 25mM Sodium citrate pH7.0, 0.5% Sarcosyl, 0.1M 2-mercaptoethanol) 500 μ l를 더하여 잘 섞어 15분 동안 세포를 완전히 용해시켰다. 이를 다시 각각 Eppendorff-tube에 옮겨 2M sodium acetate(pH4.0)/phenol(pH4.0)/CIAA를 0.1/1/0.2의 volume으로 더하여 잘 섞은 후 15분 동안 얼음에 방치하여 둔후, 12,000rpm에서 20분 원심분리하여, 상층액을 얻고 동량의 isopropanol을 더하여 -70°C 에서 overnight하였다. 이를 다시 12,000rpm에서 20분 원심분리하고, 얻어진 RNA pellet을 70% 에탄올로 세척한 후 건조시켰다.

(2) Northern Blotting

Formaldehyde를 이용한 RNA의 denaturing agarose gel electrophoresis를 실시하였다. 분리되어 정량된 RNA sample을 5 μ g취하여, 이를 denatured-formaldehyde gel(1% agarose, 1 \times MOPS, 0.6M formaldehyde)에 전기영동한후, ethidium bromide(0.5 μ g/ml)가 포함된 0.1M ammonium acetate 용액에 30분 동안 담구어 염색하고, 자외선 하에서 사진을 촬영하였다. 촬영 후 gel의 필요없는 부분을 제거하였으며, 10 \times SSC에서 나일론막으로 capillary transfer하고, 80 $^\circ\text{C}$ 에서 2시간 동안 고정하였다.

(3) 소식자 제조(Probe labelling)

clusterin sequence중 310base pair정도를 PCR을 수행하여 cloning한 뒤 이를 pBluescript KS(+)에 subcloning하여 T7 RNA polymerase와 ³²P-UTP를 이용하여 antisense cRNA를 합성하여 본 실험의 northern blot analysis의

probe로 사용하였다.

(4) 보합결합(Hybridization)

나일론막에 prehybridization solution(1.5× SSC, 50% deionized formamide, 0.5% non-fat dry milk, 1%SDS, 20mM sodium phosphate, pH6.9)을 더하여 55℃에서 2시간 prehybridization시킨 후, denaturation된 riboprobe(25ng/ml)를 더하여 같은 온도에서 12시간동안 천천히 흔들어 주며 hybridization하였다.

(5) 세척(Washing)

나일론막을 꺼낸 다음 Pyrex dish에서 2× SSC, 0.1% SDS로 74℃를 유지하며 2시간 동안 충분히 세척하여 비특이적 결합을 최소화하였다. 막을 상온에서 건조시킨 후 intensifying screen이 있는 X-ray 필름 cassette을 넣어 -80℃에서 노출하였다.

4. 조직관찰

적출되어 고정된 악하선과 이하선조직은 통법에 의해 탈수, 투명처리한 후 paraffin wax에 포매하였으며, 4~6μm로 박편을 제작한 다음, Hematoxyllin과 Eosin의 중염색(H-E stain)과 Periodic Acid Schiff 염색(PAS stain)을 시행하여 광학현미경으로 관찰하였다.

III. 실험성적

1. 타액선 조직의 조직학적 관찰

(1) 대조군

이하선 : 세포의 기저측 세포질은 청자색의 호염기성으로 염색되고 잘 고정된 세포에서는 분비관이 나타났다. 단층의 키가 작은 입방세포로 이루어진 개재관은 길고 갯수가 많아 장액성 점액선세포들 사이에서 절단된 양상이 나타났으며, 중앙에 위치해 있는 둥근 핵과 미약한 호염기성의 세포질을 가지고 있는 세포들이 작은 내강을 둘러싸고 있었다. 교원섬유가 주성분이 되는 소엽간 결합조직내에는 선조관의 도관세포가

단층의 원주형으로 나타났으며, eosin에 의해 짙은 분홍색의 호산성을 띄었다. 이외에 선포사이에 다수의 소혈관들이 관찰되었다.

악하선 : 악하선조직은 혼합선으로 장액세포가 우세한 타액선의 하나이다. 장액선은 이하선과 유사하며, 점액세포는 장액세포보다 큰 내강을 갖고 있어 쉽게 구별이 되었으며, 납작한 모양의 핵은 기저측에 편재되고 세포질은 짙게 염색되지 않았다. 개재관은 짧아서 쉽게 관찰되지 않았으며 선조관은 길어서 구별가능했다. 이외에 선포사이에 다수의 소혈관들이 관찰되었다.

(2) 실험군

즉일 : 이하선과 악하선의 장액선은 선포세포간 경계는 명확하고 세포질은 등장성으로 염색되어 있었으며, 핵의 극성 소실과 모세혈관의 확장은 아직 관찰되지 않았다(Fig.1).

3일 : 소엽내의 호염기성 선포들이 서로 이개 되었으며, 소엽간 결합조직 중격에는 단층의 저입방세포로 이루어진 개재관과 단층의 원주상피로 이루어진 선조관들이 충혈된 모세혈관이나 세동맥에 의해 둘러싸여져 있었고, 선포세포의 기능상을 관찰할 수 있는 PAS염색에서는 전반적으로 선포들이 변성하여 불규칙하게 염색되기 시작하였다(Fig.2).

5일 : 이하선과 악하선의 장액선은 선포세포의 수가 감소되었고, 선포간격이 확장되었으며, 개재관과 선조관이 다수 관찰되었다(Fig.3). 악하선의 점액선은 H-E 중염색하에서는 세포의 변화를 관찰할 수 없었으며(Fig.4), PAS염색하에서는 세포내 점액물질이 양성반응을 보였다(Fig.5).

7일 : 이하선과 악하선의 선포세포가 심하게 위축되거나 변성되었으며, 선포간 조직도 변성된 상을 보였고, 다소 부종되었으며, 선도관 주위 뿐만 아니라 선포간에도 많은 모세혈관이 충혈되어 관찰되었다. PAS염색에서도 불규칙하게 변형된 선포세포가 농염된 상을 관찰할 수 있었으며, 선포간질에는 선도관세포 성분이 심히 증식되어 타액선조직의 유형을 관찰할 수 없었다(Fig.6). 악하선의 점액선은 PAS염색에서 세포

내 점액물질이 불규칙하게 반응한 것을 관찰할 수 있었다(Fig.7).

10일 : 선도관 주위의 혈관은 충혈되었지만, 정상이나 이전 실험군에 비하여 도관상 구조물이 매우 증식되었다(Fig.8).

14일 : 많은 수의 건전한 설포세포가 재생된 것이 관찰되었으며, PAS염색에서도 양성으로 염색되는 설포세포가 관찰되어 기능의 회복도 확인할 수 있었다.

2. RNA검사소견

(1) 대조군

이하선 및 악하선 조직은 대조군에서 clusterin이 거의 관찰되지 않았다.

(2) 실험군

당뇨에 의해 악하선조직에서는 실험 5일후 clusterin mRNA가 크게 증가되었으나, 이하선 조직에서는 실험 10일후 미약하게 관찰되었다(Fig.9,10).

IV. 총괄 및 고안

구강내 타액은 대타액선에서 분비된 타액과 구강점막, 입술, 경구개와 연구개, 혀 등에 분포된 소타액선으로부터 분비된 타액이 합쳐진 혼합타액으로서, 하루에 분비되는 총량은 약 1~1.5리터라고 알려져 있다³³⁾. 이는 구강점막을 보호하고 윤활작용, 항균작용, 혈액응고작용, 완충작용, 소화작용 및 수분대사의 조절, 배설작용과 용매작용을 한다³⁴⁾.

타액분비는 타액선에 분포되어있는 설인신경과 안면신경 등의 부교감신경과 교감신경 등의 신경활동에 의해 조절되는데, 타액선에서 타액 자체가 생성되지 않거나 타액의 분비기전에 이상이 생겼을 경우 타액선 질환이 발생하게 되며, 이로인해 타액선의 가역적 또는 비가역적 기능장애징후인 구강건조증이 나타날 수 있다³⁵⁾.

구강건조증은 당뇨병, 외과적 수술에 의한 타액선의 적출, 노화에 따른 타액선의 위축, 두경부에 대한 방사선치료, 췌그렌 증후군, 스트레스,

기타 전신적 질환 및 약물의 사용과 관련이 있는 것으로 추정된다³⁶⁾. 구강건조환자는 일반적으로 식사, 발음, 연하, 의치마모 같은 문제를 호소하며, 어떤 환자는 타액선 비대, 미각변화 같은 것을 호소하기도 한다³⁷⁾.

이중 당뇨병(diabetes mellitus)은 만성적인 고혈당증과 비정상적인 탄수화물, 지질대사가 특징인 내분비 질환이다. 이는 췌장에서 생산되는 인슐린의 절대적 또는 상대적 결핍에 의해서 초래되며, 합병증으로는 혈관, 눈, 췌장, 신경과 관계된다. 수백년 이전부터 당뇨병환자의 뇨가 달고 빈번하다는 사실을 발견한 이래, diabetes mellitus란 용어가 널리 사용되고 있는데, 1865년 Langerhans는 당뇨병이 췌장의 Langerhans 섬의 세포병변이 원인이 된다고 보고하였고, Allen 및 Banting 등은 개의 췌장에서 인슐린을 발견하여 당뇨병치료에 획기적인 발전을 가져왔다³⁸⁾.

감염은 당뇨병에 있어서 중요한 합병증의 하나이다. 감염은 포도당의 대사를 증진시켜서 인슐린의 요구량을 증가시키고 대사결과, 당신생과 케톤산증을 나타나게 된다³³⁾. 또한 치유과정이 지연되는데, 이로인해 구강내에 존재하는 병발소인, 즉 치석, 미생물, 외상 등에 의해서 치주조직이 쉽게 파괴되며, 궤양이 만성적으로 지속될 수 있다³⁹⁾.

이외에 미각변화, 캔디다 같은 국소감염 등이 나타날 수 있으며⁴⁰⁾, 편평태선이 종종 고혈압, 당뇨병 등과 연관되어 나타나는데, 이는 그린스판 증후군으로 알려져 있다³³⁾. Lundstrom⁴¹⁾은 구강편평태선이 있는 40명의 스웨덴인을 조사한 결과 43%가 당뇨병을 가지고 있었고, 어떤 형태의 점막 변화도 없는 일반인은 3%만이 당뇨병을 가지고 있다고 하였는데, 이 연구결과는 편평태선 환자에서의 당뇨병 이환율이 높음을 뒷받침해준다. 또한 정중구개설염이 당뇨병시 특히 잘 발생하는 것으로 보고되었으며⁴²⁾, 당뇨와 구강캔디다 증 및 구강점막의 작열감과의 연관성을 밝히기 위해 많은 연구가 이루어졌다⁴³⁾.

당뇨병시 타액성분의 변화에 관한 보고들도 많은 편인데, 치은열구액의 변화, 타액의 pH의 저하가 관찰되었으며⁴⁴⁾, 타액의 Na⁺, K⁺, amylase, S-IgA가 증가되는 점을 볼 때, 타액의 조

성변화를 관찰하면 질환의 심도를 결정하는데 도움이 되기도 한다⁴⁵⁾. Chavada 등은 조절되지 않은 당뇨병에 있어서 타액내 Ca 농도가 훨씬 높았으며, 이로 인해 치석 형성이 증가되고, 치주 질환으로의 진행이 심화된다고 보고하였다⁴⁶⁾.

구강건조는 주로 타액 분비량의 저하, 여러 가지 구강질환, 구강의 건조증상 등과 관련되어 나타나기도 하는데, Sleafly 등은 혈당조절 장애 때문에 발생한다고 하였고⁴⁷⁾, Shafer 등⁴⁸⁾은 당뇨병시에 체액이 상실되기 때문에 이차적으로 구강건조증이 나타난다고 보고한 반면, Gorlin과 Goldman⁴⁹⁾은 당뇨병에 의해 타액선에 지방축적과 지방변성이 일어나 타액분비가 감소되므로 발생된다고 보고한 바 있다. 또한 Hu 등⁸⁾은 당노가 진행됨에 따라 악하선의 무게가 감소되었으며, 악하선에서 분비되는 상피성장인자도 이에 의해 18~500배 가량이 감소되었다고 보고하면서 당뇨병시 타액선조직의 양과 질의 변화에 대해서도 언급한 바 있다. IgG와 IgA의 증가와 같은 변화된 면역반응때문에, 당뇨병 환자는 증가된 항체 공격을 받는다는 연구결과도 있는데⁵⁰⁾, Islas 등은 타액선에서 관찰되는 미세 파립세포가 설치류의 악하선에서 관찰되는 면역반응성 글루카곤과 관련있다고 보고하였다⁵¹⁾.

당뇨병시 타액선조직의 기질적 변화에 대해서는 Cutler 등⁵²⁾이 실험적으로 유발시킨 당뇨에서 이하선과 악하선세포가 위축되고 괴사되었으며, 그 부위는 결합조직으로 대체되었고, 자율신경계의 변성이 관찰되었다고 보고한 바 있다. 또한 Anderson과 Johnson⁵³⁾은 alloxan으로 백서에 당뇨를 유발시켰을 때 이하선에서 지방소적이 관찰되었다고 하였으며, 축적된 지방은 혈당치와 관계가 깊다고 보고하면서 당뇨로 인한 대사장애가 세포내 지방을 축적시킨다고 보고하였다. 이러한 지방의 축적이 타액선 자극에 기인하며⁵⁴⁾, Hand와 Weiss는 STZ로 당뇨를 유도한 후 4 시간내에 혈당과 triglyceride 수준이 증가하고 인슐린이 감소하였다고 하였으며, 24시간 후에 세포질의 기저부에 지방소적이 많이 나타나고, 이에 대한 원인으로 세포내 지방흡수의 증가, 세포내 지방활용도의 감소 및 세포구성요소의 감소성 증가를 들었다⁵⁵⁾. Morris 등⁵⁶⁾도 STZ로 유

발시킨 당뇨백서의 대타액선에서 선포간에 지방소적이 축적되었다고 하였으며, 이것은 STZ주사 후 점차 증가되어 2주 후에 최대에 달하였다가 점차 감소되어 소실되었다고 보고하였다. 또한 최근 김과 홍 등은 당뇨유발 즉일부터 세포질이 매우 위축되고 불규칙해졌으며, 실험 1주 후에 이르러서는 선포세포간 거리가 심하게 이개되고 심하게 위축 변성되었으며, 실험 2주 후부터는 다소 회복되었다고 보고한 바 있다⁵⁷⁾.

당뇨병에 의한 선포의 조직의 변화로써 현저한 것은 혈관의 변화인데, Campbell¹²⁾은 당뇨초기에 대부분의 혈관, 특히 모세혈관의 기저막이 비후되었다고 보고하였고, Murrah 등⁵⁸⁾도 사망한 당뇨환자의 모세혈관을 관찰한 결과 기저막에 IgG, albumin, polyvalent immunoglobulin 등이 결합된 비정상적인 소견을 보고한 바 있는데, 이에 대해 Reuterving¹¹⁾은 비후된 모세혈관의 기저막이 투과성과 여과성에 영향을 미쳐, 타액생성에 지장을 초래하여 당뇨의 정도와 기간이 타액선의 조직변화에 중요한 영향을 미친다고 하였다. 또한 이것은 당뇨의 대사성 장애가 어떠한 세포내에 지방축적을 야기한다는 개념을 뒷받침하며, Anderson은 지방의 축적이 인슐린의 투여로 반전된다 하였다⁵³⁾. Russel⁵⁹⁾은 당뇨병시 혈관강이 폐쇄되고 이로 인해 인접한 세포의 물질대사가 장애를 받게 된다고 하였고, Anderson 등은 이로 인하여 병적으로 증가된 치밀한 모세혈관을 보고한 바 있으며, Tarsio 등⁶⁰⁾은 fibronectin을 비롯 collagen, laminin, heparan sulfate proteoglycan 등의 비효소성 glycosylation을 기저막비후와 세소혈관병변의 주요한 원인으로 간주한 바 있어, 당뇨병시의 혈관의 변화는 매우 중요한 변화라 하겠다.

당뇨병 환자중 약 10%에서 구강내에서 설명할 수 없는 증후군을 나타내기 쉬운데, 이에 대한 원인은 정확히 모르며⁶¹⁾, 당뇨병이 혈관성 장애 뿐만 아니라, 생리학적으로 교감과 부교감신경을 포함하는 신경병증에 영향을 받기 때문으로 추측된다⁶²⁾. 본 논문에서도 악하선의 장액선이나 이하선은 당뇨가 진행됨에 따라 위축, 변성 과정을 거치며 파괴되었으며, 악하선의 점액선도 점차 선포세포내 소포가 소실되었고 PAS 염

색반응의 변화를 보였던 것은 당뇨에 의해 조직이 변성되거나 기능이 정지된 것을 의미하므로, 이러한 조직의 변화기전을 혈관병성이나 신경병성 등의 측면에서 구명하는 것 또한 중요하다 하겠다.

clusterin(SGP-2)은 in vitro 흰쥐의 Sertoli cell에서 합성, 분비되는 단백질로 47KDa과 34 KDa의 subunit로 이루어졌으며, disulfide linked heterodimer인 형태로 변형되어 발현되는 것으로 보고되었다⁶³⁾. 또한 흰쥐의 Sertoli cell에서 뿐만 아니라 포유류의 여러 부위에서 다양한 양상으로 발견되어, 이름도 매우 다양하게 불리어지고 있다^{64,65)}.

1992년 clusterin workshop에서 clusterin, SGP-2, testosterone repressed prostate message2(TRPM-2), ADHC-9, apolipoproteinJ(ApoJ), complement lysis inhibitor(CLI), glycoproteinIII(Gp III), glycoprotein80 (Gp80), serum protein 40,40(SP-40,40), TB16 등으로 불리우는 이 단백질들을 clusterin으로 통칭하게 되었다²⁶⁾. Grisword는 in vitro의 rat Sertoli cell에서 합성, 분비되는 clusterin을 포함하는 모든 단백질을 이차원 겔전기영동에 의해 검출했다. Reverse-phase high performance liquid chromatography를 사용하여 정제한 clusterin은 아미노산 분석 방법으로 Asx(11.1%), Glx(15.1%) 및 Leu(11.5%) 등이 높은 수준으로 존재하고 있음을 알아냈으며, 23.7% carbohydrate (1% fucose, 3.5% mannose, 4.1% galactose, 7.1% N-acetylglucosamine 및 8.0% N-acetylneuroaminic acid)을 함유하고 있는 것으로 보고되었다⁶⁶⁾.

Clusterin이란 이름은 세포를 응집시키는 능력이 있기 때문에 붙여진 이름이다^{26,67)}. 세포응집능은 단백질 구조에 의한 것으로 생각되며, ApoJ의 경우 4개의 heparin 결합부위에 세포밖 물질인 heparan sulfate proteoglycan이 결합되는 것 같다. 또한 구조상에서 볼 수 있는 clusterin의 세포간 상관작용은 glycosylation에 의한 것일 가능성도 있다. 실제로 정액의 clusterin과는 다른, 혈장의 clusterin은 세포응집능을 나타내지 않으며 정액의 clusterin에서 glycosy-

lation부분을 제거하면 전기영동시 혈장의 clusterin과 같은 양상을 보이며 세포응집능을 잃어버린다²⁸⁾. Clusterin의 다양한 생물학적 기능은 N-linked carbohydrate 일부분에 형성되는 sialation과 sulfation에 의한 것으로 생각된다

구조를 살펴보면, 일반적으로 clusterin은 8개의 exon을 가지고 있으며, 그중 가장 큰 코드(exon V)는 α , β 사슬 양측에 있다²⁶⁾. 인간의 clusterin 유전자는 8번 염색체에 위치한 단일 복제 유전자이며^{68,69)}, 짧은 팔(short arm)부위의 8p12-21에 위치한 것으로 보고되고 있고²⁶⁾, 쥐에서는 clusterin 유전자가 14번 염색체에 위치하며²⁵⁾, 모든 종에 있어서 계놈당 오직 하나의 clusterin 유전자가 있는 것으로 보고되었다^{25,20)}.

Terminal complement reaction에서의 clusterin의 경우 in vivo와 in vitro의 양면에서 많은 것이 규명되었는데. 이는 C5b-7단계의 terminal complement 복합체에 결합하거나 뒤에 연이어 형성되는 수용성 혈장 단백질인 C5b, C6, C7, C8과 C9에 특이하게 결합하며, 이때 SP-40, 40이라 명하고 있다⁶⁹⁾. 이 SP-40,40의 아미노산 배열은 Sertoli cell에서 합성되는 clusterin과 약 77%의 상동성을 가지고 있으며, 특히 흥미로운 점은 SP-40,40의 β -chain내에 23개의 아미노산 배열과 중요한 상동성을 가지고 있는 것으로 보아 면역계와 생식계간에 중요한 작용이 있음을 보여주고 있다. Terminal complement복합체에 결합된 SGP-2는 일반적인 신장질환과 Heymann신장염 환자의 신장조직에서도 면역조직화학법으로 검출되었다⁷⁰⁾.

면역형광법으로 성숙한 정자의 머리 부분과 꼬리 부분에 clusterin이 다수 존재하고 있음이 보고되어 짐으로써, 비록 clusterin의 정확한 역할을 정의할 수는 없으나, Sertoli cell과 부고환에서 합성, 분비되어 정자에 이들 단백질이 결합하는 것으로 보아 clusterin이 spermatogenesis에 중요한 역할을 하고 있음을 보여주고 있다. 실제로 clusterin은 정자세포표면과 형질막에 많이 존재하며, 남성 생식 통로에서 보체공격으로 인한 용혈을 저해, 정자를 보호하는 작용이 추측되며 여성 생식기 통로에서 내인성 보체활성을 조절하는 것으로 나타나는데, 이것은 여성 노생

식기 통로에서 정자를 보호하는 것으로 생각된다⁷¹⁾.

Clusterin의 또다른 역할은 지방질 수송에 관여하는 것이다. 사람의 혈장의 HDL의 일부분으로 알려진 ApoJ는 그 단백질 일차구조상에 amphiphilic helices 가 있어 lipoprotein S와 heparin 결합부위에 의하여 지방질 수송 기능이 가능한 것으로 여겨지며, Collard와 Grisword는 apolipoprotein A I과 clusterin이 상동성이 있기 때문에 지방질 수송이 가능하다고 추측하였는데⁶³⁾, 특히 cholesterol을 다른 lipoprotein으로 옮기는 역할을 한다고 보고하였다⁷²⁾.

Clusterin은 신경내분비세포와 일부 뉴런의 과립에서 발견되었는데, 분비과립의 clusterin은 저장되어 있던 과립이 분비되어진 후에 생물학적 활성을 가진 펩티드의 전구체를 생성하는데 관여하거나, 수용성이 아닌 분비과립에 결합하여 이를 운반하는 기능을 갖는다고 생각된다⁷³⁾. 알츠하이머질환 환자의 뇌에서 발견된 ADHC-9는 clusterin과 아미노산 서열면에서 77%의 상동성을 가지고 있으며 사람 해마(hippocampus)의 cDNA library에서 얻어진 probe에 대하여 정상 사람의 뇌에서보다 알츠하이머질환 환자의 뇌에서 2.0Kb의 RNA가 2배이상 증가된다고 보고되었다^{74,75)}. 사람의 악성 신경교종(glioma)에서 발견되어 명명된 TB16은 사람 신경교종의 cDNA library로부터 cloning되었다⁷⁶⁾. 이는 메추라기의 시신경망막세포와 정상인 사람의 망막에서도 발견되어 T64로 불리기도 한다⁷⁷⁾.

소의 chromatin granule의 glycoprotein-III(gp- III)⁷⁸⁾는 clusterin과 유사한 단백질이며, 인간의 신경내분비계에서 유사한 과립관련 항원이 clusterin의 유사체로 판명되었다²⁸⁾. Glycoprotein80(Gp80)은 개(canine)의 신장에서 발견되었으며, 노 생식기 통로 상피세포의 내강쪽에 존재하는 것으로 보고되었다. 개의 신장에서 cloning된 Gp80의 cDNA는 445개의 아미노산을 암호화하고 있으며, 이 단백질은 clusterin과 72%의 상동성을 가지는 heterodimer이다. 또한 Southern blotting, Northern blotting분석과 면역학적인 연구에서 이 Gp80이 clusterin과 동일한 물질임이 확인되었다. 이 단백질은 embryonic

kidney의 organogenesis 초기 과정에서 크게 발현되는 것으로 생각된다⁷⁸⁾.

또한 clusterin의 역할은 programmed cell death에 관계가 있다는 것이다. 성숙한 수컷의 쥐를 거세(castration)하면 전립선 상피가 apoptosis에 의하여 퇴축되는데 이때 사멸하는 전립선 상피로부터 정상의 것에 비하여 20배가량 증가되는 TRPM-2의 mRNA를 cloning하였으며, 이는 clusterin과 동일한 것으로 확인되었으나⁷⁹⁾, subunit의 분자량은 α - subunit이 42KDa, β -subunit이 32KDa으로 clusterin subunit 분자량과는 차이가 있다⁷⁷⁾. 이러한 예에는 testosterone 차단에 의한 prostate regression, 신장내의 유체압력의 증가에 의한 손상, 손가락 발생시 세포 성장에 의한 근접 조직의 퇴화 및 세포내 독성 화학 성분에 의한 조직손상 등이 포함된다⁸⁰⁾. 이는 apoptosis에 있어서 clusterin가 어떤 역할을 할지 모른다는 것을 암시한다⁸¹⁾.

Sabina 등은 clusterin mRNA의 발현이 배양 세포에 high-glucose를 노출시, 단기간(24시간)에서만 영향을 받으며, 장기간에는 유의성있게 감소되었다고 보고하였는데⁸²⁾, 이러한 소견은 본 실험의 5일군 당뇨백서에서 clusterin이 높게 검출된 것과 어느정도 부합되는 의미있는 소견이라 하겠다. 이외에 특이한 생리학적 작용에 반응하여 나타나는 "cellular suicide"의 일반적인 형태로서 growth, embryogenesis, intersegmental muscle tissue degeneration, insert metamorphosis 및 oncogenesis와 종양 조직의 chemotherapeutic regress하에서 발현되는 기전에 대해서도 상당한 관심을 갖고 연구중인 것으로 알려져 있다.

구취는 구강내에서 일어나는 부패작용이나 구강의 신체요인에 의하여 발생된다. 일반적으로 전신질환, 구강질환, 생리적 구취로 나뉘며, 전신질환에는 비인두장애, 호흡기장애, 소화기장애, 탈수, 당뇨병, 간질환, 신질환 등이 있으며, 구강질환에는 치주염, 치아우식증, 치관주위염, 의치, 악성종양, 설태 등이 원인이 되며, 생리적 구취에는 폐로 배출되는 약물, 음식물, 아침 구취, 공복시 구취, 월경 등이 있다. 이러한 구취가 심할 경우 커다란 사회적 징후를 나타내는데, 환자는 구

취문제에 대해 매우 민감해지거나 심하면 사회적으로 고립하게 된다⁸³⁾.

구취에 대한 역학조사는 매우 다양한데, Cröhn등⁸⁴⁾은 구강이 미약하게 작용한다고 하였으며, Prinz⁸⁵⁾는 90%이상, Sulser등⁸⁶⁾은 47%, Brening⁸⁷⁾은 구취의 85%가 구강에서 기인한다고 보고하였다. 잇솔질, 구강예방기구, 설태제거, 소독제가 함유된 구강청정제에 의한 양치 같은 구강위생습식들이 구취를 감소시키나 치아우식, 치은염, 치주염은 구취의 발생과 강도를 증가시킨다는 보고도 있으나, 구취를 지닌 사람의 대다수가 치주조직이 건강했으며, 설배면후방이 구취생성의 주된 장소라고 주장하는 학자도 있다⁸⁸⁾.

최근에는 구강내의 효소가 타액중에 존재하는 상피, 결합조직, 음식물잔사, 구강내 세균 등을 단백질원으로 하여 분해할 때 생성되는 methyl mercaptan (CH₃SH), hydrogen sulphide(H₂S), dimethyl sulphide([CH₃)₂S)같은 휘발성 황화물이 구취의 주성분이라고 보고되었다⁸⁹⁾. 내인성, 외인성 단백질성 물질, 즉, 구강탈락상피, 타액소체, 음식물잔사, 타액, 혈액에 대한 미생물의 부패성 작용을 통해 휘발성 화합물이 발생하여 구취가 발생하는 것이다⁹⁰⁾. 이 과정은 모든 사람에게 일어나나, 치은염, 치주염, 급성 괴사성 치은염 같은 조직이 변성하는 질환에서 두드러지게 나타나는데⁹¹⁾, cysteine, 환원된 glutathione, peptide 같은 free thiol 군을 지닌 물질은 구취를 가장 즉각적으로 발생시키는 원인으로 생각된다³²⁾.

앞서 언급된 구강관리법을 통하여 구취억제효과가 나타날 수 있지만, 이러한 방법이 임상적으로 항상 효과적인 것만은 아니었다. 분자량 47KDa과 34KDa의 disulfide linked heterodimer가 타액선에서 관찰되어 당뇨병 같은 특정한 조건에서 파괴가 일어난다면, 지금까지 원인불명의 구취에 대한 좀더 진보적인 접근이 가능하다고 사료된다.

V. 결 론

저자는 당뇨병이 타액선 조직변화에 관여하는

기전과 과정을 추구하기 위하여, 조직이 파괴될 때 관여하며, 구취를 발생시킬 수 있다고 생각되는 clusterin(SGP-2)을 지표로 이용하여 생후 10주된 웅성 백서 24마리를 대조군 6마리와, 실험군 18마리로 배정하여 실험하였다.

당뇨군은 streptozotocin(STZ 40mg/kg)을 꼬리정맥내 주사하여 당뇨를 유도하였으며, 이들은 각 군별로 즉일, 3일, 5일, 7일, 10일, 14일에 각각 3마리씩 탈골하여 희생시켜 악하선과 이하선조직을 적출하여 -70℃에서 보관 후 Northern blot으로 clusterin을 검색하였고, Hematoxyllin과 Eosin의 중염색(H-E 염색)과 Periodic Acid Schiff 염색(PAS 염색)을 시행하여 광학현미경으로 관찰한 바, 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 실험군에서 이하선과 악하선의 선포세포는 실험 3일 후에 변성하기 시작하여, 실험 7일 후에 심한 조직변화를 보였고, 시일이 경과됨에 따라 점차 회복되었다.
2. 실험군에서 이하선의 결체적 중격조직은 실험 7일 후에 위약하고 불규칙해지기 시작하여 시일이 경과됨에 따라 점차 심화되었다.
3. Northern blot에서 실험군의 악하선조직에서는 실험 5일 후 clusterin의 mRNA가 매우 증가되었으나, 이하선조직에서는 미약하게 관찰되었다.

위의 결과로 미루어 보아 악하선 조직에서 clusterin mRNA가 더욱 뚜렷이 관찰되었던 것은 clusterin이 장액선 보다는 점액선과 더욱 깊은 연관성을 가지고 있는것으로 사료된다.

참고문헌

1. Tenovuo, J.: Human saliva; Clinical chemistry & microbiology, Vol. II, 1989, CRC Press, pp61-71.
2. Rhodus, N.L.: Xerostomia and the geriatric patient, 1988, Dentistry88, pp12-16.
3. 정성창, 이승우, 김영구: 구강내과학, 3판, 1990, 고문사, pp135.
4. Glickman, I. and Shklar, G.: The effect of systemic disturbances on the pulp of experimental animals, J. Oral Surg., 7:550, 1954.

5. Bissada, N.F., Schaffer, E.M. and Lazarow, A.: Effect of alloxan diabetes and local irritation factors on the periodontal structures of the rat. *Periodontics*, 4:233, 1966.
6. Glickman, I., Smulow, J.B. and Moreau, I.: Post-surgical periodontal healing in alloxan diabetes. *J. Periodont.*, 38:93, 1967.
7. Ray, H.G. and Orban, B.: The gingival structures in diabetes mellitus. *J. Periodontol.*, 21:98, 1950.
8. Hu, Y., Nakagawa, Y., Purushotham, K.R. and Humphreys-Beher, M.G.: Functional changes in salivary glands of autoimmune disease-prone NOD mice. *Am. J. Physiol.*, 263:E607, 1992.
9. Palla, J.C., Ben Abdeljlil, A. and Desnulle, P.: Action de l'insulin sur la biosynthese de l'amylase et de quelque autre enzymes du pancreas de rat. *Biochim. Biophys. Acta*, 186:25, 1968.
10. Söling, H.D. and Unger, K.O.: The role of insulin in the regulation of α -amylase synthesis in the rat pancreas: *Europ. J. Clin. Invest.*, 2:199, 1972.
11. Reuterving, C.O., Hagg, E., Henriksson, R. and Holm, J.: Salivary glands in longterm alloxan-diabetic rats: A quantitative light and electron-microscopic study. *Acta Pathol. Microbiol. Immunol. Scand. Sect. A.*, 95:131, 1987.
12. Campbell, M.J.A. : Periodontal disease in the diabetic patient and its treatment. *Austral. Dent. J.*, 12:117, 1967.
13. Ferner, R.E.: Drug-induced diabetes. *Baillieres Clin. Endocrinol. Metab.*, 6:849, 1992.
14. Lewis, C. and Barbiers, A.R.: Streptozotocin, a New Antibiotic: In vitro and in vivo evaluation. *Proceedings of the seventh annual symposium on antibiotics*, New York, 1960, Antibiotica, Inc., pp.236-240.
15. Vavra, J.J., DeBoer, C., Dietz, A. and Hanka, L.J.: Streptozotocin, a New Antibiotics. *Proceedings of the seventh annual symposium on antibiotics*, New York, 1960, Antibiotica, Inc., pp.230-235.
16. Evans, J.S., Gerritsen, G.C. and Mann, K.M.: Antitumor and hyperglycemic activity of streptozotocin and its cofactor, U-15,774, *Cancer Chemother. Rep.* 48:1-6, 1965.
17. Arison, R.N. and Feudale, E.L.: Induction of renal tumor by streptozotocin in Rats, *Nature* 214:1254-1255, 1967.
18. Junod, A., Lambert, A.E., Orci, L., Pictet, R. and Gonet, A.E.: Studies of the diabetogenic action of streptozotocin, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 12:201-205, 1967.
19. Simon, O.R. and West, M.E.: Unstable diabetic state produced by a small dose of streptozotocin in rats. *West Indian Med. J.*, 41:146, 1992.
20. Sally A.L. and Philip E.M.: Clusterin expression during programmed and teratogen-induced cell death in the postimplantation rat embryo. *Teratology*, 52:41-54 1995.
21. Fritz, I.B., Burdzy, K., Setchell, B. and Blaschuk, O.: Ram rete testis fluid contains a protein (clusterin) which influences cell-cell interactions in vitro. *Biol. Reprod.*, 28:1173-1188, 1983.
22. Jenne, D.E. and Tschopp, J.: Clusterin, the intriguing guises of a widely expressed glyco protein. *Trends. Biochem. Sci.*, 17:154-159, 1992.
23. Murphy, B.F., Kirszbaum, L., Walker, J.D. and d'Apice, A.J.: Sp-40,40, a newly identified normal human serum protein found in the SC 5b-9 complex of complement and in the immune deposits in glomerulonephritis. *J. Clin. Invest.*, 81:1858-1864, 1988.
24. Willson, M.R. and Easterbrook-Smith, S.B.: Clusterin binds by a multivalent mechanism to the Fc and Fab regions of IgG. *Biochem. Biophys. Acta.*, 1159:319-326. 1992.
25. Jordan-Starck, T.C., Witte, D.P., Aronow, B.J. and Harmony, J.A.: Apolipoprotein J: a membrane policeman. *Curr. Opin. Lipidol.*, 3:75-85, 1992.
26. Fritz, I.B. and Murphy, B.: Insight into a Multifunctional Protein. *TEM*, 4(2):41-45, 1993.
27. Fischer-Colbrie, R., Zangerle, R. and Frischen-schlagen, I.: Isolation and immunological characterization of a glycoprotein from adrenal chromaffin granules. *J. Neurochem.*, 42:1008-1016, 1984.
28. Palmer, D.J. and Christie, D.L.: The primary structure of glycoprotein-III from bovine adrenal medullary chromaffin granules: sequence similarity with human serum protein-40,40 and rat Sertoli cell glycoprotein-2. *J. Biol. Chem.*, 265:6617-6623, 1990.
29. Urban, J., Parczyk, K. and Leutz, A.: Apical secretion of an 80 kD sulfated glycoprotein complex in the polarized epithelial Madin-Darby canine kidney cell line. *J. Cell Biol.*, 105:2735-2743, 1987.
30. Kumar, B., Reddy, G. J. and Mary, C.: Trans-

- forming growth factor β (TGF β)-induced nuclear localization of apolipoprotein J/clusterin in epithelial cells. *Biochem.*, 35:6157-6163, 1996.
31. Tonzetich, J.: Production and origin of oral malodor: A Review of Mechanisms and Methods of Analysis. *J. Periodontol.*, Jan, 13-20, 1977.
 32. 角田正健: 日齒周誌, 17(1), 233, 1975.
 33. 이승우, 김종렬, 정성창 외: 구강진단학(4판), 서울, 1990, 고문사, pp17.
 34. 이종훈, 김중수: 구강생리학, 3판, 서울, 1989, 군자출판사, pp204-206.
 35. 김기석: 구강질환의 감별진단, 4판, 서울, 1991, 지성출판사, pp117.
 36. 이승우외: 한국타액연구회 학회지, 서울, 1995, pp56.
 37. Greenspan, D.: Xerostomia: diagnosis and management. *Oncology*, 10(3), 7-11, 1996.
 38. Lynch, M.A., Brightman, V.J. and Greenberg, M.S.: *Burkit's Oral Medicine diagnosis & treatment* 9th ed., Washington, J.B. Lippincott company, pp607.
 39. 조한국: 구강병리학, 서울, 1982, 고문사, pp 427-428
 40. Lamey, P.J., Darwazeh, A.M. and Frier, B.M.: Oral disorders associated with diabetes mellitus. *Diabet. Med.*, 9(5), 410-416, 1992.
 41. Lundstom, I.M.: Incidence of diabetes mellitus in patient with oral lichen planus. *Int. J. Oral Surg.*, 13:16-24, 1984.
 42. Carter, L.C.: M.R.G.: A puzzling entity. *Compend. Contin. Educ. Dent.*, 11:446, 1990.
 43. Samaranayake, L.P.: Host factors and candidosis: *Oral Candidosis*. London, 1990, Wright, pp66
 44. Gensini, G.F., Modesti, P.A. and Lopponi, A.: Diabetic disease and Periodontal Disease: Diabetes and periodontopathy. *Minerva Stomatol.*, 41(9), 391-399, 1992.
 45. Yavuzylmaz, E., Yumak, O. and Akdoganli, T.: The alteration of whole saliva constitution in patients with diabetes mellitus. *Aust. Dent. J.*, 41(3), 193-197, 1996.
 46. Chavada, M.G., Shah, H.M. and Jethal, B.S.: Influence of diabetes mellitus on periodontal disease. *Indian J. Dent. Res.*, 4(2), 55-58, 1993.
 47. Sreebny, L.M., Yu, A., Green, A. and Valadini, A.: Xerostomia in diabetes mellitus. *Diabetes Care*, Jul., 15(7), 900-904, 1992.
 48. Shafer, W.G., Hine, M.K. and Levy, B.M.: *A textbook of oral pathology*, 4th ed., Philadelphia, 1983, W.B. Saunders Co., pp34.
 49. Gorlin, R.J. and Goldman, H.M.: *Diseases of salivary gland*. Oral Pathology, Vol.2, 6th ed., St. Louis, 1970, The C.V. Mosby Co., pp
 50. Anil, S. Remani, P. and Beena, V.T.: Immunoglobulin in the saliva of diabetic patients with periodontitis. *Ann. Dent.*, 54(1-2), 30-33, 1995.
 51. Islas-Andrad, S.A., Frati-Munari, A.C. and Gonzalez-Angulo, J.: Increase in neuroendocrine secretion granules in submaxillary and parotid glands in patients with non-insulin dependent diabetes mellitus. *Gac. Med. Mex.*, 128(4), 411-414, 1992.
 52. Culter, L.S., Pinney, H.E., Christian, C. and Rusotto, S.P.: Ultrastructural studies of the rat submandibular gland in streptozotocin induced diabetes mellitus. *Virchow Arch. A. Pathol. Anat. and Histol.*, 382:301, 1979.
 53. Anderson, L.C. and Johnson, D.A.: Effects of alloxan diabetes on rat parotid gland and saliva. *Comp. Biochem. Physiol.*, 70B:725, 1981.
 54. Wilborn, W.H. and Schreyer, C.A.: Ultrastructural changes of rat parotid glands induced by a diet of liquid Metracal. *Z. Zellforsch.*, 103.1, 1970.
 55. Hand, A.R. and Weiss, R.E.: Effects of streptozotocin-induced diabetes on the rat parotid gland. *Lab. Invest.*, 51:429, 1984.
 56. Morris, P.A., Prout, R.E. and Protor, G.B.: Lipid analysis of the major salivary glands in streptozotocin-diabetic rats and the effects of insulin treatment. *Oral Biol.*, 37:489, 1992.
 57. 김홍모, 전양현, 홍정표: 스트레스가 streptozotocin 유도 당뇨백서의 타액선에 미치는 영향, 대한구강내과 학회지, 22(1), 65-78, 1997.
 58. Murrah, V.A., Crosson, J.T. and Sauk, J.J.: Parotid gland basement membrane variation in diabetes mellitus. *J. Oral Pathol.*, 14:236, 1985.
 59. Russel, B.G.: Gingival changes in diabetes mellitus: I. vascular changes. *Acta. Pathol. Microbiol. Scand.*, 86:161, 1966.
 60. Tarsio, J.F., Wigness, B., Rhode, T.D., Rupp, W.M. and Buchwald, H.: Norenzymatic glycation of fibronectin and alteration in the molecular association of cell matrix and basement membrane components in diabetes mellitus, *Diabetes*, 34:477-484, 1985.
 61. Melton, L.J. and Dyck, P.J.: Clinical features of diabetic neuropathies. *Diabetic Neuropathy*, Phill-

- adephia, 1987, W.B.Saunders, chap 3.
62. Anderson, L.C. and Garrett, J.R.: The effect of streptozotocin-induced diabetes on norepinephrine and cholinergic enzyme activities in rat parotid and submandibular glands. *Arch. Oral Biol.*, 39(2), 91-97, 1994.
 63. Collard, M.W. and Grisword, M.D.: Biosynthesis and molecular cloning of sulfated glycoprotein-2 secreted by rat sertoli cells. *Biochemistry*, 26(12): 3297-3303, 1987.
 64. Aronow, B.J., Lumd, S.D. and Brown, T.L.: Apolipoprotein J expression at role in barrier cytoprotein. *Pror. Natl. Acad. Sci.*, 90:725-729, 1993.
 65. Michel, D., Chabot, J.G. and Moyses, E.: Possible functions of a new genetic marker in central nervous system: the sulfated glycoprotein-2. *Synapse*, II, 105-111, 1992.
 66. Grisword, M.D., Roberts, K. and Bishop, P.: Purification and Characterization of a Sulfated Glycoprotein Secreted by Sertoli Cells. *Biochemistry*, 25:7265-7270, 1986.
 67. Cheng, C.Y., Ching-Ling C.C. and Feng, G.M.: Rat clusterin isolated from primary Sertoli cell-enriched culture medium is sulfated glycoprotein-2 (SGP-2). *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 155(30):398-404, 1988.
 68. Purello, M., Betuzzi, S. and DiPietro, C.: The gene for SP-40,40, human homolog of rat sulfated glycoprotein 2, rat clusterin, and rat testosterone-repressed prostatic messenger 2, maps to chromosome 8. *Genomics*, 10:151-156, 1991.
 69. Jenne, D.E. and Tschopp, J.: Molecular structure and functional characterization of a human complement cytotoxic inhibitor found in blood and seminal plasma: identity to sulfated glycoprotein 2, a constituent of rat testis fluid. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 86:7123-7127, 1989.
 70. Eddy, A.A. and Fritz, I.B.: Localization of clusterin in the epimembranous deposits of passive Heymann nephritis. *Kidney Internat.*, 39:247-252, 1991.
 71. Sylvester, S.R., Morales, C., Okor, R. and Grisword, M.D.: Localization of sulfated glycoprotein-2 (clusterin) on spermatozoa and in the reproductive tract of the male rat. *Biol. Reprod.*, 45:195-207, 1991.
 72. de Silva, H.V., Stuart, W.D. and Duvic, C.R.: A 70KDa Apolipoprotein designated apo J is a marker for subclasses of human plasma high density Lipoproteins. *J. Biol. Chem.*, 265, 13240-13247, 1990.
 73. Krisch, K., Horvat, G. and Krisch, I.: Immunohistochemical characterization of a novel secretory protein C defined by monoclonal antibody HISL-19 of peptide hormone producing cells which is distinct from chromogranin A, B, and C. *Lab. Invest.*, 68(4):411-420, 1988.
 74. May, P.C., Johnson, S.A. and Poirier, J.: Altered gene expression in Alzheimer's disease brain tissue. *Can. J. Neurol. Sci.*, 16:473-476, 1989.
 75. May, P.C., Lampert-Etchells, M. and Johnson, S.A.: Dynamics of gene expression for hippocampal glycoprotein elevated in Alzheimer's disease and in response to experimental lesions in rat. *Neuron*, 8:831-839, 1990.
 76. Danik, M., Chabot, J.G. and Mercier, C.: Human gliomas and epileptic foci express high levels of a mRNA related to rat testicular sulfated glycoprotein-2: a purported marker of cell death. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 88:8577-8581, 1991.
 77. Buttyan, R., Olsson, C.A. and Chang, C.: Induction of the TRPM-2 Gene in cells undergoing programmed death. *Mol. Cell. Biol.*, Aug, 3473-3481, 1989.
 78. Hartmann, K., Urban, J. and Parczyk, K.: Molecular cloning of gp80, a glycoprotein complex secreted by kidney cells in vitro and in vivo. *Biol. Chem.*, 266(15): 9924-9931, 1991.
 79. Leger, J.G., Montnetit, M.L. and Tenniswood, M.P.: Characterization and cloning of androgen-repressed mRNAs from rat ventral prostate. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 147, 196-203, 1987.
 80. Bandyk, M.G., Sawczuk, I.S. and Olsson, C.A.: Characterization of the products of a gene expressed during androgen-programmed cell death and their potential use as a marker of urogenital injury. *J. Urol.*, Vol. 143, 407-413, 1990.
 81. French, L., Tschopp, J., and Schifferli, J.: Clusterin in renal tissue: Preferential localization within the terminal complement complex and immunoglobulin deposits within glomeruli. *Clin. Exp. Immunol.*, 88: 389-393, 1992.
 82. Sabina, M., Parzer, B., Wagner, L. and Patterman, M.: High-glucose-triggered apoptosis in cultured endothelial cells. *Diabetes*, Vol.44, 1323-1327, 1995.
 83. Gayford, J.J. and Haskell, R.: Clinical oral medicine

-
- (2nd edi.), 1979, Bristol John Wright & Sons LTD, 168-175.
84. Crohn, B.B., and Drosd, R.: Origin of mouth odours -Halitosis. N.Y. J. Dent., 12:192, 1942.
85. Prinz, H.: Offensive breath, its cause and prevention. Dent. Cosmos, 72:700, 1930.
86. Sulser, G.F., Brening, K.H., and Fosdick, L.S.: Some conditions that affect the odor concentration of the breath. J. Dent. Res., 18:355, 1939.
87. Brening, R.H., Sulser, G.F., and Fosdick, L.S.: The determination of halitosis by use of the osmoscope and the cryoscopic method. J. Dent. Res., 18:127, 1939.
88. Bosy, A., Kulkani, G.V., Rosenberg, M. and McCulloch, C.A.G.: Relationship of oral malodor to periodontitis: Evidence of independence in discrete subpopulation. J. of Periodontol., Jan., 37-46, 1994.
89. Tonzetich, J.: Direct gas chromatographic analysis of sulphur compounds in mouth air in man. Archs. Oral Biol., 16, 587, 1971.
90. Massler, M., Emslie, R.D. and Bolden, T.E.: Fetor ex ore. Oral Surg., 4:110, 1951.
91. Spouge, J.D.: Halitosis. A review of its causes and treatment. Dent. Pract., 14:307, 1964.

-ABSTRACT-

THE IMMUNOLOGICAL STUDY ON EXPRESSION OF THE CLUSTERIN IN STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETIC RATS

Q-Schick, Auh, D.M.D. Cho Han-Guk*, D.M.D., M.S.D., Ph.D. **Jung-Pyo, Hong**, D.M.D., M.S.D., Ph.D.

Dept. of Oral Diagnosis & Oral Medicine, Division of Dentistry, Graduate School, Kyung Hee University

**Dept. of Oral Pathology, College of Dentistry, Kyung Hee University*

Clusterin is a highly glycosylated protein composed of two disulfide linked subunits. Although its biological action is not clearly defined, clusterin seems to be involved not only in remodelling of damaged tissue, but also in production of halitosis. the present study was designated to elucidate the expression of clusterin in the salivary gland of diabetic rats.

For this study, 24 Sprague-Dawley rats were used for the experiment and divided into 2 groups: control and experimental. The experimental group was composed of 18 rats and the control group was 6 rats. After induction of diabetes by STZ injection, the animals were sacrificed at 1,3,5,7,10,14 days. The parotid and submandibular glands were observed histologically and the transcriptional expression of clusterin in the glands by Northern blot.

The finding were as follows:

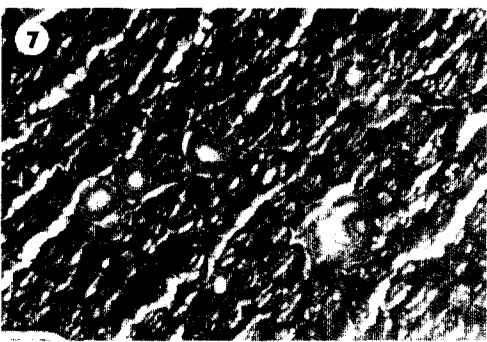
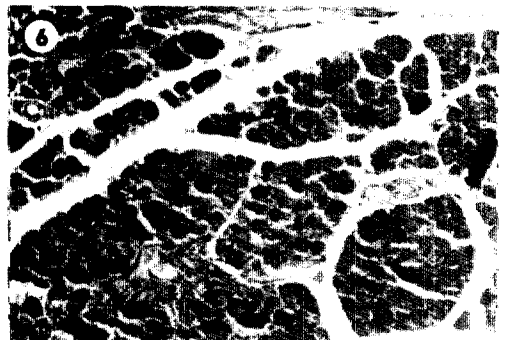
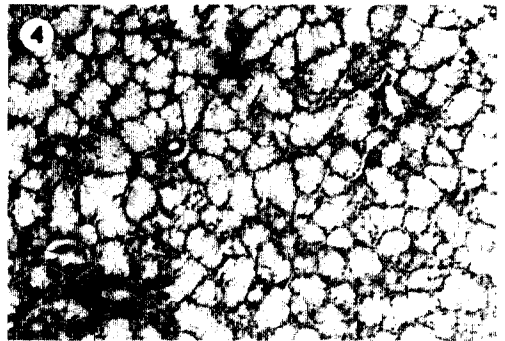
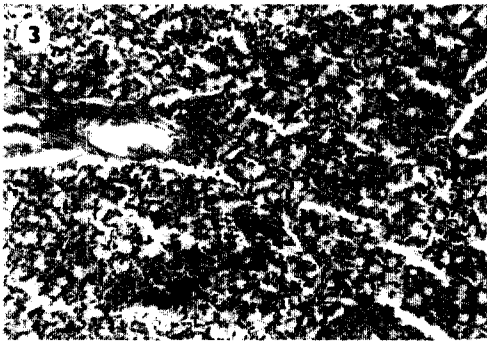
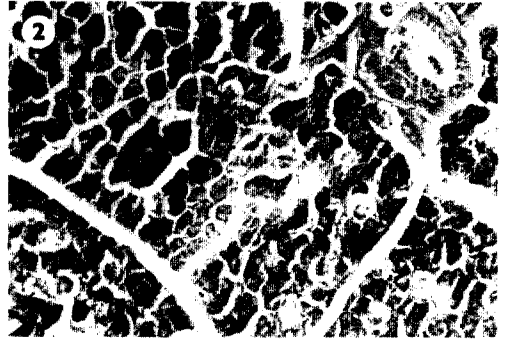
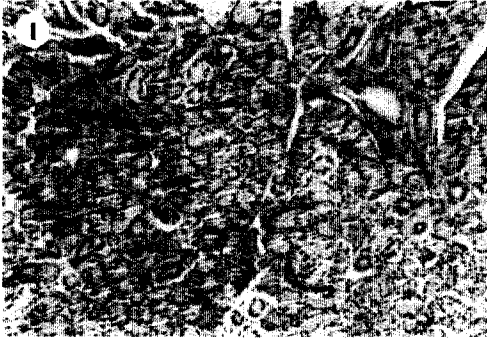
1. In experimental group, the salivary glands were observed at day 3 and then a severe destructive pattern was found in the glands at day 5. However, regeneration of gland tissue occurred at day 14.
2. In experimental group, destructive change was examined in the septal connective tissue after 7 days, and gradually more serious.
3. In experimental group, clusterin was expressed in the submandibular glands after 5 days, but in parotid glands to a lesser extent after 10 days.

These results suggest that clusterin seems to be closely associated with histologic changes in the mucous glands rather than serous glands.

EXPLANATION OF FIGURES

- Fig. 1.** Serous gl.: X100, H-E staining, 1 day after diabetes mellitus
Fig. 2. Serous gl.: X100, PAS staining, 3 days after diabetes mellitus
Fig. 3. Serous gl.: X100, H-E staining, 5 days after diabetes mellitus
Fig. 4. Mucous gl.: X100, H-E staining, 5 days after diabetes mellitus
Fig. 5. Mucous gl.: X100, PAS staining, 5 days after diabetes mellitus
Fig. 6. Serous gl.: X100, PAS staining, 7 days after diabetes mellitus
Fig. 7. Mucous gl.: X100, PAS staining, 7 days after diabetes mellitus
Fig. 8. Serous gl.: X100, PAS staining, 10 days after diabetes mellitus
Fig. 9. Northern immunoblotting analysis of submandibular gland in diabetic rat
Fig. 10. Northern immunoblotting analysis of parotid gland in diabetic rat

논문사진부도 ①



논문사진부도 ②

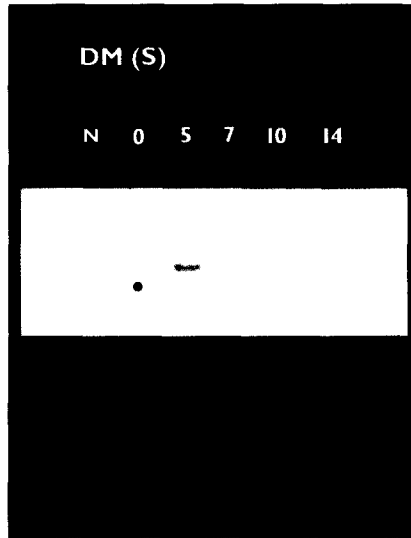


Fig. 9

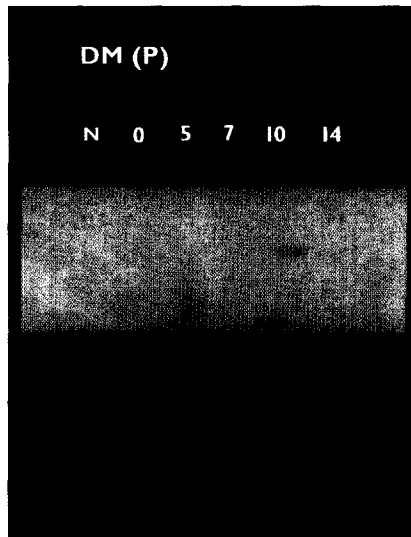


Fig. 10

S : Submandibular gland

P : Parotid gland

N : Normal group