

스트레스가 백서 타액선조직내의 clusterin (sulfated glycoprotein-2) 변화에 미치는 영향

경희대학교 치과대학 구강내과학 교실 · 구강병리학 교실

정운봉 · 조한국¹⁾ · 홍정표

목 차

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

I. 서 론

현대를 살아가면서 사람은 끊임없이 물리적, 심리적 자극을 받으며 살아간다. 오늘날과 같이 문명이 급속하게 변할수록 각종 자극은 늘어만 가게되어, 현대를 스트레스시대라 일컫게 되었다. 이러한 스트레스는 적절한 경우 생리적 안정과 활성을 가져주지만 지나칠 경우 생체기능에 이상을 야기시키기도 한다.

전신의 거울인 구강에는 치아, 치주조직, 혀, 악관절, 타액선등의 여러조직이 있으며, 특히 건강한 구강상태를 유지하기 위해서는 타액(saliva)이 매우 중요한 역할을 한다¹⁾. 타액은 점막을 보호하고 윤활작용을 하며 항균작용, 혈액 응고작용, 완충작용 그리고 치아의 성숙에도 관여하고 기타 소화작용과 수분대사의 조절, 배설작용, 용매작용 등을 한다²⁾.

타액 분비는 전적으로 교감, 부교감 신경활동에 의해 조절되며 타액선에 분포하는 부교감신경으로는 설인신경의 소추체신경과 안면신경의 고삭신경이 있다. 교감신경과 부교감신경 자극에 대한 타액선의 반응은 다양하며 타액의 분비율과 성분 등이 상당한 차이를 보이고, 호르몬은 타액선에 영향을 줄 수 있으나 타액 분비를 일으키지는 않는다.

타액분비의 첫 단계는 신경 흥분이 선세포에 전달되며, 전기적으로 세포가 과분극상태로 되고 선포에서 타액이 형성된 다음, 도관계의 작용으로 성분 등의 변화가 일어나서 최종적으로 타액형성이 이루어져 분비된다.

타액자체가 생성되지 않거나 타액의 분비기전에 이상이 생겼을 경우 타액선 질환이 발생하게 된다. 이에 대한 대표적인 증상으로 타액선의 가역적 또는 비가역적 기능 장애 징후인 구강건조증³⁾을 들 수 있는데 이것은 임상적으로 매우 중요한 의미를 지니고 있다.

구강건조증은 국소적 염증이나 주타액선의 감염, 섬유증, 탈수 그리고 신경안정제, 항히스타민 및 항콜린제 등의 약물복용, Mikulicz 질환과 Sjögren 증후군같은 자가면역질환, 화학요법, 방사선 조사, 심인성 요인 등에 의해서 발생된다³⁾.

이중에서도 심인성 요인의 하나인 스트레스는 여러 논문에서 언급되고 있는데^{4,5,6,7)}, Kleinhauz 등⁸⁾의 최근 연구에 의하면 45명의 이스라엘 환

자를 SCL-90R(self check list-90 revisions) 설문지와 RLC(recent life changes) 설문지로 조사한 결과 모든 항목에서 수치가 높게 나타난 환자에서 구강건조증이 나타났다고 보고된 바 있다.

외부로부터의 모든 요구에 대한 생체의 비특이적 반응으로 정의되는 스트레스는 생체에 작용하여 놀람기(alarm), 저항기(resistance) 및 탈진기(exhaustion)를 거치게 되며⁹⁾, 생리적으로 자율신경계, 홀몬 또는 내분비계 및 면역계 등에 영향을 미치게 된다¹⁰⁾. 따라서 스트레스는 면역을 약화시키기도 하고^{11,12,13)}, 구강내의 다양한 병소를 유발시키기도 한다¹⁴⁾.

Clusterin의 구조는 일반적으로 8개의 exon을 가지고 있으며, 그중 가장 큰 코드(exon V)는 α , β 사슬 양측에 있다¹⁵⁾. 인간의 clusterin 유전자는 8번 염색체에 위치한 단일 복제 유전자이며^{16,17)}, 짧은 팔(short arm)부위의 8p12-21에 위치한 것으로 보고되고 있고¹⁵⁾, 쥐에서는 clusterin 유전자가 14번 염색체에 위치하며¹⁸⁾, 모든 종에 genom당 하나의 clusterin 유전자가 존재하는 것으로 보고되었다¹⁹⁾.

Kumar등은 clusterin이 TGF- β 에 의해 유도된 세포분화와 관련이 있으며, clusterin과 TGF- β 는 조직 손상면에 혈소판 활성화증에 유리되어, 섬유화 병소의 손상부위에서 증가된다고 보고하였는데²⁰⁾, 결국 여러 자료를 종합해 보면, 보체조절, 생식, 지방수송, 신경변성, 내분비 및 발생과정중 다양한 조직의 분화 뿐 만 아니라 다양한 스트레스와 조직손상에 대해 보호하는 역할을 하는 것으로 추정된다²¹⁾.

또한, 스트레스 상황시 clusterin이 구취성분이 될 가능성이 있다. 구강내에서 발생하는 구취는 구강내의 단백질성 물질들이 그람 음성 혐기성균과 같은 구강내 미생물의 부패작용으로 인해 발생하는 화합물에 의한 것으로 cysteine, 환원된 glutathione, peptone 같은 휘발성 황화합물에 오염되어 발생하는 것으로 알려졌으나²²⁾, 복잡다양하게 생성되는 구취는 건강상태와 정신상태에 의해 구취의 강도가 달라지기 때문에 원인제거를 통한 구취제거법의 중요성이 강조되고 있다²³⁾.

복잡한 현대생활속에서 대부분의 사람들이 겪

고 있는 스트레스는 정신적인 불안정을 야기시킬 뿐만아니라 육체적으로도 많은 장애를 일으키고 있다. 더욱이 긴장상태에서는 구강건조증도 발생할 수 있는데, 이로인해 구강내의 위생상태 및 건강을 유지할 수 있는 면역환경이 저해되어, 다양한 구강점막질환이나 심한 구취등이 발생되기도 한다. 스트레스는 인체에 물리적인 변화를 야기시키기도 하지만 생리적 및 생화학적 변화도 야기시켜 조직의 많은 변화를 유발시키며, 실제로 스트레스 부여시에 백서 이하선에서 미약하게나마 조직의 변화가 관찰되었던 바도 있다.²⁴⁾

이에 저자는 스트레스시에 나타나는 구강건조증이 신경성 장애 뿐만 아니라 타액선 조직내의 생화학적 변화도 야기시킬 수 있을것이라는 점에 착안하여, 타액선조직이 파괴될 때 관여하며, 구취를 발생시킬 수 있다고 생각되는 clusterin을 추적함으로써 타액선 조직의 변화기전과 과정을 관찰하여, 이로인해 구취가 발생할 수 있는지의 여부를 연구하였다. 병리학적 방법과 면역학적 방법으로 비교관찰한 결과 다소 의의있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험재료

본 실험에서는 대한실험동물에서 계대사육하여 번식한 Sprague-Dawley계의 생후 10주된 성숙한 체중 250~300g인 웅성백서를 사용하였으며, 사육실 조건은 자동온도장치에 의해 온도는 $23 \pm 2^\circ\text{C}$, 습도는 60%를 유지하였다. 24마리를 대조군에 6마리와, 실험군에 18마리씩을 배정하고 실험군은 $0 \sim 3^\circ\text{C}$ 냉수에 일일 2회 30초간 잠수시켜 한냉스트레스를 부여하였으며, 이들은 각 군별로 즉일, 3일, 5일, 7일, 10일, 14일에 각각 3마리씩 희생한 후 이하선과 이하선조직을 절취하여 -70°C 에서 보관하였으며, 조직소견을 관찰하기 위하여 10% normal formalin 용액에 고정하였다.

2. 실험방법

A. 병리조직학적 관찰법

절취되어 고정된 악하선과 이하선조직은 통법에 의해 탈수, 투명처리한 후 paraffin wax에 포매하였으며, 4~6 μ m로 박편을 제작한 다음, Hematoxyllin-Eosin의 중염색 (H-E stain)을 시행하여 광학현미경으로 관찰하였다.

B. 면역전기영동검사법

(1) Total RNA Isolation

절취된 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 냉동상태를 유지하며 세포를 완전히 용해시켰다. 이를 다시 각각 Eppendorf tube에 옮겨 2M sodium acetate(pH4.0) / phenol(pH4.0) / CIAA를 0.1/1/0.2의 volume으로 더하여 잘 섞은 후 15분 동안 냉동상태에 방치하여 둔 후, 12,000rpm에서 20분 원심분리하여, 상층을 얻고 동량의 isopropanol을 더하여 -70 $^{\circ}$ C에서 overnight하였다. 이를 다시 12,000 rpm에서 20분 원심분리하고, 얻어진 pellet을 70% 에탄올로 세척한 후 건조시켰다.

(2) Formaldehyde agarose gel electrophoresis 및 transfer

분리되어 정량된 RNA sample을 5 μ g취하여 이를 denatured - formaldehyde gel(1% agarose, 1 \times MOPS, 0.6M formaldehyde)에 전기영동한후, EtBr(0.5 μ g/ml)로 염색하고, 수시간 탈색하여 겔내에 잔존하는 EtBr을 최대한 제거했다. 탈색 겔을 10 \times SSC에서 나일론막으로 capillary transfer하고, 80 $^{\circ}$ C에서 2시간 동안 고정하였다.

(3) Probe labelling

probe는 clusterin sequence중 310base pair 정도를 PCR을 수행하여 cloning한 뒤 이를 pBluescript KS(+)에 subcloning하여 T7 RNA

polymerase와 32 P-UTP를 이용하여 antisense cRNA를 합성하여 본 실험의 northern blot analysis의 probe로 사용하였다.

(4) Hybridization

미리 준비된 막에 hybridization solution(1.5 \times SSC, 50% deionized formamide, 0.5% non-fat dry milk, 1%SDS, 20mM sodium phosphate, pH6.9)을 더하여 55 $^{\circ}$ C에서 2시간 prehybridization시킨 후, denaturation된 riboprobe(25ng/ml)를 더하여 같은 온도에서 12시간 hybridization 하였다. 2 \times SSC, 0.1% SDS로 74 $^{\circ}$ C를 유지하며 2시간 동안 충분히 세척하여 비특이적 결합을 최소화하였다. 세척이 끝난 뒤 막에 X-ray 필름을 얹어 -80 $^{\circ}$ C에서 노출하였다.

III. 실험성적

1. 대조군

(1) 병리조직학적 소견

백서의 악하선은 장액선과 점액선이 공존하는 혼합타액으로써 악하선의 장액선은 호염기성의 많은 과립과 기저부층에 위치한 둥근 모양의 세포를 만들며, 여러개의 세포들이 소엽을 이루고 이들이 결합조직 충격에 의하여 결합되어 이루어진 집합체로서, 세포사이에는 단층의 키가 작은 입방세포로 이루어진 개재관, 모세혈관들이 산재되어 있으며, 교원섬유가 주성분이 되는 소엽간 결합조직내에는 단층의 원주상피로 이루어진 선조관과 풍부한 소혈관이 관찰되었다.

악하선의 점액선은 세포질이 탄수화물을 주로 함유하고 있어 hematoxylin이나 eosin에 잘 염색되지 않고 기저부층에 매우 납작하게 위치하는 핵을 가진 피라미드 모양의 세포세포가 모여 형성된 커다란 세포로 이루어져 있고, 이들 역시 소엽을 형성하고 있었다. 소엽내에는 중앙에 핵을 가진 키가 작은 호산성의 입방형세포로 둥글게 형성된 개재관과 원주형의 선조관이 관찰되었고, 그 사이에는 다수의 혈관들이 관찰되었다.

(2) 면역전기영동검사소견

이하선 및 악하선 조직에서는 clusterin이 거의 관찰되지 않았다(Fig.1,2).

2. 실험군

(1) 면역전기영동검사소견

악하선조직에서는 스트레스에 의해 실험 5일 후에 clusterin mRNA가 뚜렷하게 발현되었다. 이하선조직에서는 스트레스에 의해 실험 3일 후에 clusterin mRNA가 매우 뚜렷이 발현되었고, 실험 7일 후에 미약하게 재발현되었다(Fig.1,2).

(2) 병리조직학적 소견

악하선의 장액선과 이하선의 설포세포는 스트레스에 의해 실험 3일 후에 다소 설포간격이 이 개되기 시작하여 점차 심화되는 양상을 보였으나 뚜렷한 조직의 변화는 관찰되지 않았고(Fig. 3,4), 악하선의 점액선은 전기간을 통하여 조직의 변화가 관찰되지 않았다(Fig.5,6).

IV. 총괄 및 고안

구강내 타액은 3대 타액선에서 분비된 타액과 구강점막, 입술, 경구개와 연구개, 혀 등에 분포된 소타액선에서 분비된 타액과 잇몸에서 나온 수분등이 합쳐서 이룩된 혼합타액으로서, 하루에 분비되는 총량은 약 1~1.5리터라고 하나, 이러한 분비량의 계산 근거는 명확치 않다.

깨어있는 상태에서 특별한 자극이 없어도 타액분비가 일어나는데, 이때 분비되는 타액을 안정타액(resting saliva)이라 하고 악하선 타액이 약 70%, 이하선 타액이 20%, 소타액선에서 분비되는 양이 6%정도 되고 설하선의 분비량이 최소로 악하선의 분비량이 이하선보다 3배정도 많다.

구강내에 가해지는 화학적, 기계적 자극과 저작활동에 의해 분비가 현저하게 증가한다. 타액 분비를 일으키는 자극이 직접 구강내에 작용하지 않더라도 타액 분비를 촉진시키는 자극물을 보거나 생각하면 타액 분비가 증가하는데, 이러한 조건반사로는 냄새, 음식에 대한 생각, 음식 만드는 소리 등이 있으며 이때의 타액 분비를

psychic flow라고 한다.

타액선 분비기전에 이상이 생기거나 타액선 질환이 발생할 경우 부적절하게 분비되어 구강 상태를 불안정하게 한다. 타액 분비는 전적으로 신경활동에 의해 조절되며 호르몬은 영향을 줄 수 있으나 타액 분비를 일으키지는 않는다. 타액선의 분비활동은 주로 부교감신경과 교감신경에 의해 조절되는데, 타액선에 분포하는 부교감신경으로는 설인신경과 안면신경이 있다.

설인신경은 이신경절에서 시냅스를 형성한 후 절후신경섬유가 이개 측두신경을 통해 이하선에 분포하고, 안면신경은 고삭신경을 통해 설신경에 도달한 후 악하선과 설하선 근처에 있는 신경절에서 시냅스를 형성한 다음 짧은 절후신경섬유가 타액선을 지배한다.

부교감신경의 신경절과 말단에서의 흥분전달 물질은 acetylcholine이며 절후신경섬유의 흥분파는 atrophine에 의해 차단된다. 교감신경은 상경추 교감신경절에서 시냅스를 이룬 후 절후섬유가 타액선에 분포되며, 신경절에서의 흥분 전달물질은 acetylcholine이나 교감신경의 말단에서는 norepinephrine이 흥분 전달물질로 작용한다.

일반적으로 분비세포는 부교감신경과 교감신경의 지배를 받고 있으나 부교감신경과 교감신경 자극에 대한 타액선의 반응은 다양하며 타액의 분비율과 성분등이 상당한 차이를 보인다. 타액분비의 첫 단계는 신경 흥분이 선세포에 전달되며, 전기적으로 세포가 과분극상태로 되고 세포에서 타액이 형성된 다음, 도관계의 작용으로 성분 등의 변화가 일어나서 최종적으로 타액형성이 이루어져 분비된다.

부교감신경은 타액선의 혈관을 확장시키며 교감신경은 혈관축소를 일으키는데, 고삭신경을 자극하면 악하선의 현저한 혈관확장이 일어나며, 이것은 atrophine에 의해 소실되지 않는다. 타액선 도관에 대한 자율신경의 작용은 확실한 증거는 없지만 도관세포의 안쪽이나 부근에 cholinesterase활성이 있는 사실로 보아 최소한 부교감신경의 영향을 받는 것으로 생각되며, 신경자극으로 근상피세포가 수축하여 설포내에 형성되어 있는 타액을 배출시키며, bradykinin과

kallikrein도 근상피세포를 수축시키는 효과를 가진다.

타액의 분비는 망상체 속에 있으며, 안면신경핵(facial nucleus)과 의핵(nucleus ambiguus) 사이에 있는 타액핵(nucleus salivatorius)에서 기시되는 부교감신경 절전신경에서 시작된다²⁵⁾. 타액분비 신경들은 다른 뇌조직으로부터 억제되거나 흥분되는데, 타액분비가 수면중이나, 분노, 흥분상태, 또는 연령증가에 따라 감소되는 것으로 보아 타액분비의 억제는 고위 중추로부터 일어나는 것임을 알 수 있다²⁾.

특히 스트레스에 대해서는 여러 논문에서 언급되고 있는데^{4,5,6,7)} Kleinhaus 등⁸⁾이 인성검사의 검사치가 불안정하게 표현된 환자에게서 구강건조증이 많이 나타났다고 보고하였을 뿐 아니라 Fox 등²⁶⁾은 구강건조증을 유발하는 Sjögren 증후군과 같은 자가면역질환도 사회생활에서 오는 스트레스가 원인이 된다고 보고하면서 이것으로 인하여 구강동통이 발생할 수 있다고 하였다.

스트레스는 생리적으로 자율신경계, 내분비계 또는 면역계등에 영향을 미치게 되는데¹⁰⁾, 갑자기 닥친 심한 스트레스가 정신기능에 장애를 일으키면 해리장애(dissociative disorders)가 일어나고, 운동신경기능에 장애를 일으키면 전환장애(conversion disorders)가 일어나며, 자율신경이나 말초신경에 장애를 일으키면 심신장애(psycosomatic disorders)를 초래하게 된다²⁷⁾. 본 실험에서 연구대상으로 삼은 타액선 기능장애에 의한 구강건조증도 이와 같은 자율신경계에 나타나는 심신장애의 하나이다.

스트레스의 인지과정은 신경내분비계(neuroendocrine system)의 조절로 생리적 및 정서적 반응을 나타낸다. 즉, 인체의 비 특이적 반응인 교감신경성 부신수질계(sympathetic adrenal-medullary system: SAM system)와 뇌하수체성 부신피질계(pituitary adrenal-cortical system: PAC system)를 중계하여 나타나는 것이다.

교감신경성 스트레스반응은 부신수질 추출물을 생체에 주사하였을 경우에도 동일하게 나타나며, 그 증상으로는 관상동맥 확장, 근육수축, 수의근의 혈관확장, 위장계의 혈관수축 등이 있다.

일반적으로 심리적 스트레스에서는 혈장 nor-epinephrine 보다는 epinephrine 분비량이 증가되고, 물리적 스트레스에서는 혈장 norepinephrine이 더 증가된다고 보고되어 있으나, 이와 같지 않은 경우도 관찰된다.

교감신경성 부신수질계는 육체적 또는 정신적 노력과 정서적 자극에 의해서 epinephrine, nor-epinephrine 및 여러 catecholamine을 유리시키며^{28,29,30,31)}, 뇌하수체성 부신피질계는 고뇌, 분노, 우울 및 무절제 등에 의해서 corticosteroid와 cortisol^{32,33,34,35,36)}을 분비시키게 되는데, 실험적으로도 한냉 스트레스를 부여했을 때 흰쥐에서는 혈장 norepinephrine 수치가 증가되었고³⁷⁾ 뇨중 catecholamine의 분비량도 변화되었으며³⁸⁾ 개의 경우에는 혈장 17-hydroxycorticoid와 norepinephrine의 양이 증가되었다³⁹⁾는 많은 연구논문들이 있다.

또한 Calabrese 등¹¹⁾은 스트레스, 별거 및 우울은 면역학적 기능을 취약하게 한다는 명백한 증거가 있다고 보고하였고, Kiecolt-Glaser등도 고독이나 스트레스와 뇨중 cortisol치 등의 면역기능과의 상호관계에 대해서도 언급하였으며¹²⁾, 일상적으로 일어나는 스트레스에 의해서도 면역기능의 저하가 초래된다는 보고도 있어¹³⁾, 스트레스시 나타나는 신체적 변화에 대해 많은 관심을 가지고 연구가 이루어지고 있다.

스트레스와 구강 질환과의 관계는 최근에 발표된 홍과 전¹⁴⁾의 연구에서 잘 나타나 있는데, 스트레스는 이제 더 이상 형이상학적 차원이 아니라 구체적인 가시적인 증상과 징후를 동반하는데 특히 정동 스트레스(emotional stress)시에는 구강내에서도 다양하게 나타나는 것으로 알려져 있다.

구체적으로 스트레스가 주원인인 병소로는 편평태선(lichen planus)과 아프타성 구내염(apthous stomatitis)이 있고^{40,41)}, 스트레스가 관여된 병소로는 다형홍반(erythema multiforme), 양성 점막유천포창(benign mucous membrane pemphigoid) 및 지도상설(geographic tongue)이 있으며^{42,43,44)}, 스트레스가 소인인 병소로는 재발성 단순포진 구내염(recurrent herpes simplex stomatitis)과 급성 괴사성 궤양성 치은염(acute

necrotizing ulcerative gingivitis)등이 있다^{45,46,47}. 또한 스트레스성 습관때문에 나타나는 병소로는 못물기 등에 의한 외상(physical trauma with foreign objects), 흡연에 의한 백반증(leukoplakia due to smoking), 구강조직 깨물기(biting of oral tissue), 이갈이(bruxism)나 이악물기(clenching)가 있고^{48,49,50}, 스트레스성 구강징후로는 설통(glossodynia)이나 설열감(glossopyrosis), 미각변화(altered taste perception), 미각소실(loss of taste) 또는 미각이상(foul taste) 그리고 조직의 변화없이 발생하는 동통이나 불편감(pain or discomfort with no tissue change) 등이 있다^{48,51}. 더우기 이와같은 스트레스와 관련되어 나타나는 병소와 증상, 징후들은 많은 경우에 있어 구강건조증을 동반하게 되는데, 이것이 동반될 경우 그 증상의 정도는 더욱 심화되어 구강건조증은 임상적으로 매우 중요한 의미를 가지게 되는 것이다.

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^{21,52}, 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 규명하기 위하여 다방면으로 연구가 진행되고 있다.

Clusterin의 여러 기능이 추론되는데, Jenne등¹⁹은 초기 C5B-7 복합체에 결합후 중화되어, 적혈구세포의 보체매개성 용해를 억제한다고 하였으며, Murpy등⁵³은 clusterin의 α 사슬이 인간-C7, C8과 C9의 소수성결합 분질에 결합하고, Wilson등⁵⁴은 합성된(polimerased) 인간 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 있다¹⁸.

생식과의 관계를 보면, 인체내 정액에 매우 높

은 양이 존재한다는 사실이 밝혀진 이래¹⁷, 고환과 부고환(epididymis)에 있는 spermatid와 spermatozoa의 형질막에서 관찰되었으며, 쥐의 배측 전립선의 clusterin mRNA수준은 거세후 급격히 증가하며 testosterone 투여후 억제되는 것을 볼 때, apoptosis와의 관계가 의심되었다⁵⁵. 현재까지는, 여성생식관에서 보체매개성 면역용해로부터 정자를 보호하거나, 정자의 수정능력을 개선시키거나, spermatozoa의 발생과 성숙에 clusterin이 관련되는 것으로 추측된다¹⁶.

Clusterin이 다양한 지방, 소수성 분자, 인지질로된 막에 즉시 결합한다는 사실이 관찰되었다. 사람 혈장의 high density lipoprotein(HDL)과 apolipoprotein A-1과의 관계를 근거해 볼 때, clusterin은 지방의 수송 뿐만아니라, 막의 감독, 안정, 재형성과 치유를 통한 세포완전성의 유지에 중요한 역할을 할 것으로 추측된다¹⁸.

scrapie에 감염된 양의 뇌, 알츠하이머 질환, 악성 신경교종(glioma) 같은 다양한 질환시 뇌조직에서 높은 농도의 clusterin이 높은 농도로 관찰되었으며^{56,57}, 수초탈락(demyelination)같은 급성 중추신경장애 환자의 뇌척수액에서 clusterin의 농도가 증가되었다는 보고들이 다수 있다¹⁶. Jones등은 색소성 망막염(retinitis pigmentosa)에 이환된 환자의 망막에서⁵⁸, May등은 외과적, 화학적, 허혈성 손상을 입은 쥐의 뇌, 특히 반응성 성상세포(reactive astrocyte)에서 clusterin mRNA를 높게 검출하였다⁵⁶.

Clusterin은 수용성 및 막결합 형태로 존재하는 부신수질의 크롬친화성 과립의 한 구성성분으로 관찰되었다^{59,60}. Urban등은 개의 신장상피세포에서 분비된다고 하였으며⁶¹, Jenne등은 신경내분비계와 chromogranin에 존재하는 secretogranin이 clusterin과 밀접하게 관련있을 것이라고 추측하였다¹⁷. 유즙, 타액과 같은 외분비액에서 clusterin을 검출한 보고도 있다¹⁸.

사회가 발달되고 문명이 발전할수록 복잡한 현대사회생활속에서 많은사람들이 대인관계를 가지게되는데 이러한 대인관계시에 구치는 매우 빈번하게 발생하는 치과문제로, 심할 경우, 사회생활에 장애요인이 되기도 할 뿐만 아니라, 신경성 질환을 일으키는 요인이 되기도 한다⁶². 구취

의 원인은 치아우식증, 치주질환, 음식물의 섭취 등 구강내적인 원인과 상하기도 질환, 소화계 질환 당뇨병, 간질환, 신질환 등의 구강외적인 원인으로 구별할 수가 있으나, 원인제거를 통한 구취 제거는 임상적으로 힘든 편이다⁶³⁾.

구취에 대한 역학조사는 매우 다양한데, Crohn등은 구강이 원인인 경우는 드물다고 한 반면⁶⁴⁾, Prinz는 90%이상⁶⁵⁾, Brening⁶⁶⁾은 구취의 85%, Sulser등은 47%가 구강에서 기원한다고 보고하였다. 잇솔질, 구강예방기구, 설태제거, 소독제가 함유된 구강청정제에 의한 양치 같은 구강 위생술식들이 구취를 감소시키나 치아우식, 치은염, 치주염은 구취의 발생과 강도를 증가시킨다⁶⁷⁾는 보고도 있으나, 구취를 지닌 사람의 대다수가 치주조직이 건강했으며, 설배면후방이 구취생성의 주된 장소라고 주장하는 학자도 있다⁶⁸⁾. 이와같이 선학들의 연구에서 구취의 원인에 대하여는 확실하게 밝혀진 정설은 없으며 여러 가지 주장만이 존재할 뿐이다.

일반적으로 구취의 성분은 주로 휘발성 황화물로서 이 휘발성 황화물의 약 90% 이상이 methyl mercaptan(CH₃SH), Hydrogen sulphide(H₂S)가 포함되어 있으며, 소량의 dimethyl sulphide((CH₃)₂S)가 포함되어 있다. methyl mercaptan(CH₃SH)은 Hydrogen sulphide(H₂S)보다 더 불쾌한 냄새가 나고 역치가 낮기 때문에 구취의 정도를 측정하는데 methyl mercaptan의 농도가 더 효과적인 것으로 보고되고 있다⁶⁹⁾. 구강내 내인성, 외인성 단백질성 물질, 즉, 구강탈락상피, 타액소체, 음식물잔사, 타액, 혈액에 대한 미생물의 부패성 작용을 통해 휘발성 화합물이 발생하여 구취가 발생하는 것이다⁷⁰⁾. 이 과정은 모든 사람에서 일어나나, 치은염, 치주염, 급성 괴사성 치은염 같은 조직이 변성하는 질환에서 두드러지게 나타난다⁷¹⁾. cysteine, 환원된 glutathione, peptone 같은 유리 thiol 군을 지닌 물질은 구취를 가장 즉각적으로 발생시키는 원인으로 생각된다²²⁾.

이러한 구강내에서 발생한 구취의 제거를 위해 여러 구취제거법이 사용되고 있으며, 이들의 구취 제거 효과에 관한 연구가 다각적으로 시행되고 있다. 잇솔질⁷²⁾이나 치면세마⁷³⁾같은 구강환

경관리법의 구취억제효과를 측정보고한 학자도 있으나, 이런 방법이 항상 효과적인 것만은 아니었다. 앞서 언급했던 clusterin의 분자량 47KDa과 34KDa의 disulfide linked heterodimer가 스트레스 상황시 타액선에서 관찰되어 파괴가 일어난다면, 향후 더욱 다양한 구취성분 및 구취감소에 대한 연구가 앞으로 치과의사들의 중요한 과제 중의 하나라고 생각된다.

V. 결 론

저자는 원인불명의 구취에 대한 좀더 진보적인 접근을 하기 위하여 disulfide linked heterodimer이며 구강내에서 세균을 응집시켜 치주질환 등을 야기시키는데 관여하는 clusterin이 스트레스시에 타액선에서 발현되는지의 여부를 관찰하기 위하여 Sprague-Dawley계 백서 24마리를 대조군에 6마리, 실험군에 18마리를 배정하고 실험군은 0~3°C 냉수에 일일 2회 30초간 잠수시켜 한냉스트레스를 부여하였다. 이들은 즉일, 3일, 5일, 7일, 10일, 14일에 3마리씩 희생한 후 약하선과 이하선을 절취하여 mRNA검색(Northern blotting)을 하였고, H-E 중염색을 이용하여 조직소견을 관찰한 바 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 한냉스트레스에 의해 약하선에서는 실험 5일 후에 clusterin mRNA가 뚜렷이 발현되었으며, 이하선에서는 실험 3일 후에 매우 뚜렷하게 발현되었고 실험 7일 후에 미약하게 재발현되었다.
2. 한냉스트레스에 의해 타액선 조직은 전반적으로 선포간격이 다소 이개 되었을 뿐 조직 변화는 관찰할 수 없었다.

참 고 문 헌

1. 이승우: 구강진단학, 4판, 고문사, 서울, 1990, pp17.
2. 이종훈, 김종수: 구강생리학, 3판, 군자출판사, 서울, 1989, pp204-206, pp187.
3. 김기석: 구강질환의 감별진단, 4판, 지성출판사, 서울, 1991, pp117, pp62.

4. Browning, S., Hislop, S., Scully, C. and Shirlaw, P.: The association between burning mouth syndrome and psychosocial disorders. *Oral Surg.* 64:171-174, 1987.
5. Hampf, G., Vikkula, J., Ylipaavalniemi, P. and Aalberg, V.: Psychiatric disorders in orofacial dysaesthesia. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* 16:402-407, 1987.
6. Lamb, A.B., Lamey, P.-J. and Reeve, P.E.: Burning mouth syndrome: Psychological aspects. *Br. Dent. J.* 165:256-260, 1988.
7. van der Ploeg, H.M., van der Wal, N., Eijkman, M.A. J. and van der Waal, L.: Psychological aspects of patients with burning mouth syndrome. *Oral Surg.* 63:664-668, 1987.
8. Kleinhaus, I.E.M., Baht, R. and Littner, M.: Antecedents of Burning Mouth Syndrome—recent life event vs. psychopathologic aspects. *J. Dent. Res.*, 73:567-572, 1994.
9. Selye, H.: The general adaptation syndrome and the disease of adaptation. *J. Clin. Endocrinol.*, 6:117, 1946.
10. Milsum, J.H.: A model of the eustress system for health/illness. *Behavioral Science*, 30:179-186, 1985.
11. Calabrese, J.R., Kling, M.A. and Gold, P.W.: Alteration in immunocompetence during stress, bereavement and depression: Focus on neuroendocrine regulation. *Am. J. Psychiatry*, 149(9):1123-1134, 1987.
12. Kiecolt-Glaser, J.K., Garner, W. and Speicher, C.: Urinary cortisol levels cellular immunocompetency and Loneliness in Psychiatric Inpatients. *Psychosomatic Medicine*, 46(1):15-30, 1984a.
13. Kiecolt-Glaser, J.K., Garner, W. and Speicher, C.: Psychosocial modifiers of immunocompetence in medical students. *Psychosomatic Medicine*, 46(1): 7-14, 1984b.
14. 전양현, 홍정표: 스트레스와 구강질환. *대한심신스트레스학회지*, 3(1), 57-72, 1995.
15. Fritz, I.B. and Murphy, B.: Insight into a Multifunctional Protein. *T.E.M.*, 4(2):41-45, 1993.
16. 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.
17. Jenne, D.E. and Tschopp, J.: Molecular structure and functional characterization of a human complement cytotoxicity 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.
18. 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.
19. Jenne, D.E. and Tschopp, J.: Clusterin, the intriguing guises of a widely expressed glycoprotein. *Trends. Biochem. Sci.*, 17:154-159, 1992.
20. Kumar, B., Reddy, G. J. and Mary, C.: Transforming growth factor β (TGF β)-induced nuclear localization of apolipoprotein J/clusterin in epithelial cells. *Biochem.*, 35:6157-6163, 1996.
21. 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.
22. Tonzetich, J.: Production and origin of oral malodor: A Review of Mechanisms and Methods of Analysis. *J. Periodontol.*, 48, 13-20, 1977.
23. 角田正健: *日齒周誌*. 17(1): 233, 1975.
24. 김홍모, 전양현, 홍정표: 스트레스가 streptozotocin 유도 당뇨백서의 타액선에 미치는 영향. *대한구강내과학회지*, 22(1): 65-80, 1997.
25. 성호경: *생리학(4판) 의학문화사*, 서울, 1989, pp537
26. Fox, R. and Howell, F.: Oral problems in patients with Sjogren's syndrome. *Scand. J. Rheumatol. Suppl.*, 61:194-200, 1986.
27. 김영준: 스트레스와 정신의학. *대한심신스트레스학회지*, 1(1):97-102, 1993.
28. Frankenhaeuser, M.: Psychoneuroendocrine approaches to the study of the emotions related to stress and coping. In H.E. Howe & R.A. Dienstbier(eds.), *Nebraska symposium on motivation 1978*. Lincoln: University of Nebraska Press; 98:123-161.
29. Levi, L.: Stress and distress in response to psychosocial stimuli. *Acta. Med. Scand.(Suppl)*, 528, 1972.
30. Lundberg, U.: Human psychology in Scandinavia: II Psychoneuroendocrinology human stress and coping processes. *Scand. J. Psych.*, 25:214-226, 1984.
31. Usdin, E., Kvetmanský, R. and Irwin, J.K.: Catecholamines and stress : Recent advances. *Proceedings of the second international symposium on catecholamines and stress*, Smolenice castle, Czechoslovakia, New York: Elsevier North

- Holland, 1979.
32. Frankenhaeuser, M., Lundberg, U. and Chesney, M. (eds): Women, work, and health. Stress and opportunities. New York: Plenum Press, 1991.
 33. Frankenhaeuser, M. and Lundberg, U.: Sympathetic-adrenal and pituitary-adrenal response to challenge. In P. Pichot, P. Berner, R. Wolf & K. Thau(Eds.), Psychiatry, Vol. 2, London: Plenum, pp.699-704, 1985.
 34. Gunnar, M.R.: The psychobiology of stress in early development: Reactivity and regulation. Paper presented at meetings of the international society for the study of behavioral development. Minneapolis, Minnesota, 1991.
 35. Henry, J.P. and Stephens, P.M.: Stress, Health and the social environment. A socio biologic approach to Medicine. New York, Heidelberg & Berlin: Springer-Verlag, 1977.
 36. Levine, S., Coe, C. and Wiener, S.G.: Psychoneuroendocrinology of stress: A psychobiological perspective. In Psychoendocrinology. Academic Press, pp.341-377, 1989.
 37. Hata, T.: Catecholamine levels in the brain of specific alternation of rhythm in temperature(repeated cold)-stressed rats. J. Auton. Pharmacol., 7:257, 1987.
 38. 김형석, 안재성: 한냉스트레스하에서의 흰쥐 뇌중 Catecholamine의 분비량 변화에 관한연구. 대한신심스트레스학회, 1:17-26, 1993.
 39. Sadowski, J., Kurkus, J. and Chwalbinska, J.: Plasma hormone and renal function change in unrestrained dogs exposed to cold. Am. J. Physiol., 228: 376, 1975.
 40. Macleod, R.I.: Psychologic factors in oral lichen planus. Br. Dent. J., 173(3):88, 1992.
 41. Lowenthal, U. and Pisanti, S.: Oral lichen planus according to the modern medical model. J. Oral Med., 39:224-226, 1984.
 42. Redman, R.S., Vance, F.L., Gorlin, R.J., Peagler, F.D. and Meskin, L.H.: Psychological component in the etiology of geographic tongue. J. Dent. Res., 45:1403-1408, 1966.
 43. Waldron, C.A.: Psoriasiform lesions of the oral mucosa. Oral Surg., 37:872-888, 1974.
 44. Wysocki, G.P. and Daley, T.D.: Benign migratory glossitis in patients with juvenile diabetes. Oral Surg., 63:68-70, 1987.
 45. Bierman, S.M.: A retrospective study of 375 patients with genital herpes simplex infections seen between 1973 and 1976. Cutis., 31:548-565, 1983.
 46. Cogen, R.B., Stevens, A.W. Jr. and Cohen-Cole, S.A.: Stressed whites especially prone to "trench mouth" study finds. Med. News JAMA., 249:157-158, 1983.
 47. Longo, D. and Koehn, K.: Psychosocial factors and recurrent genital herpes: A review of prediction and psychiatric treatment studies. Int's Psychi. Med., 23:99-117, 1993.
 48. Shapiro, S. and Shanon, J.: Bruxism as an emotional reactive disturbance. Ariz. Dent. J., 12:13-18, 1966.
 49. Vernallis, F.F.: Teeth-grinding: some relationships to anxiety, hostility and hyperactivity. J. Clin. Psychol., 11:389-391, 1955.
 50. Pingitore, G., Chrobak, V. and Petrie, J.: The social and psychologic factors of bruxism. J. Prosthet. Dent., 65:443-6, 1991.
 51. Lamb, A.B., Lamey, P.J. and Reeve, P.E.: Burning mouth syndrome: Psychological aspects. Oral Surg., 56:521-536, 1983.
 52. 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.
 53. 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.
 54. 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.
 55. 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.
 56. May, P.C. and Finch, C.E.: Sulfated glycoprotein-2: new relationships of this multifunctional protein to neurodegeneration. Trends. Neurol. Sci., 15:391-396, 1992.
 57. Michel, D., Gillet, G. and Volovitch, M.: Expression

- of a novel gene encoding a 51.5 kD precursor protein is induced by different retroviral oncogenes in quail neuroretinal cells. *Oncogene Res.*, 4:127-136, 1989.
58. Jones, S.E., Meerabux, J.M., Yeats, D.A. and Neal, M.J.: Analysis of differentially expressed genes in retinitis-pigmentosa retinas: altered expression of clusterin messenger RNA. *F.E.B.S. Lett.*, 300:279-282, 1992.
 59. 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.
 60. 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.
 61. 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.
 62. 김종배, 백대일, 문혁수, 마득상: 플라보노이드와 동엽록소 및 페퍼민트를 배합한 츠잉검의 구취억제에 관한 연구, *대한구강보건학회지*, 14(1), 1990.
 63. Gayford, J.J. and Haskell, R.: *Clinical oral medicine* (2nd edi.), 1979, Bristol John Wright & Sons LTD.
 64. Crohn, B. B., and Drosd, R.: Origin of mouth odours -Halitosis. *N.Y. J. Dent.*, 12:192, 1942.
 65. Prinz, H.: Offensive breath, its cause and prevention. *Dent. Cosmos*, 72:700, 1930.
 66. 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.
 67. 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.
 68. 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.
 69. Tonzetich, J.: Direct gas chromatographic analysis of sulphur compounds in mouth air in man. *Archs. Oral Biol.*, 16, 587, 1971.
 70. Massler, M., Emslie, R.D. and Bolden, T.E.: Fetor ex ore. *Oral Surg.*, 4:110, 1951.
 71. Spouge, J.D.: Halitosis. A review of its causes and treatment. *Dent. Pract.*, 14:307, 1964.
 72. Sulser, G.E., Lesney, T.E. and Fosdick, L.S.: The reduction of breath and mouth odors by means of brushing the teeth. *J. Dent. Res.*, 19:173-177, 1940.
 73. Morris, P.P. and Read, R.: Halitosis: Variation in mouth and total breath odor intensity resulting from prophylaxis and antisepsis. *J. Dent. Res.*, 28: 324-333, 1949.

-ABSTRACT-

THE EFFECT OF CLUSTERIN(SGP-2) TO THE STRESS ON THE SALIVARY GALNDS OF RATS

Woon-Bong, Chung, D.M.D., **Han-Guk, Cho ***, 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*

Generally, the major causative factor of halitosis is thought to be a sulfated compounds. Clusterin, a sulfated glycoprotein-2(SGP-2), composed of two disulfide linked subunits. It is conceivable that clusterin might be one of candidates causing halitosis. We assume that clusterin found in the salivary glands under stress conditions might also be attributed to unidentifiable halitosis. Therefore, this study was performed to examine clusterin in the salivary glands under stress conditions.

For this study, 24 rats were divided into 2 groups ; 1)18 rats of group I were bathed in cold water for 30 seconds twice a day 2) 6 rats of group II were selected as a control. The animals were sacrificed at day 0, 3, 5, 7, 10, and 14 of the experiment and the submandibular glands and parotid glands were removed. RNAs were purified from the salivary glands and the transcription of clusterin in the glands was measured by Northern blot analysis. The specimens of the salivary glands were subjected to Hematoxillin-Eosin and PAS stainings and examined under the light microscope.

The findings were as follows:

1. In group I, clusterin was expressed remarkably in the submandibular glands at day 5 but in the parotid glands remarkably at day 3 and slightly at day 7.
2. No significant histologic change was found in the salivary glands except that acini were slightly apart from each other under the cold stress condition.

EXPLANATION OF FIGURES

- Fig. 1:** Northern immunoblotting analysis of rat submandibular gland under cold stress.
- Fig. 2:** Northern immunoblotting analysis of rat parotid gland under cold stress.
- Fig. 3:** Photomicrograph shows slight detachment of interacini and interlobular spaces.
(Hematoxylin-Eosin stain; serous gland; $\times 100$; 3 days after cold stress)
- Fig. 4:** Photomicrograph shows slight detachment of interacini and interlobular spaces.
(Hematoxylin-Eosin stain; serous gland; $\times 100$; 3 days after cold stress)
- Fig. 5:** Photomicrograph shows that no other significant changes of gland tissues.
(Hematoxylin-Eosin stain; mucous gland; $\times 40$; 14 days after cold stress)
- Fig. 6:** Photomicrograph shows that no other significant changes of gland tissues.
(Hematoxylin-Eosin stain; mucous gland; $\times 100$; 14 days after cold stress)

논문사진부도 ①

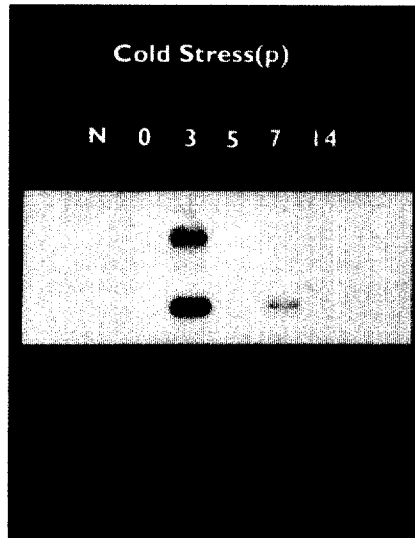


Fig. 1

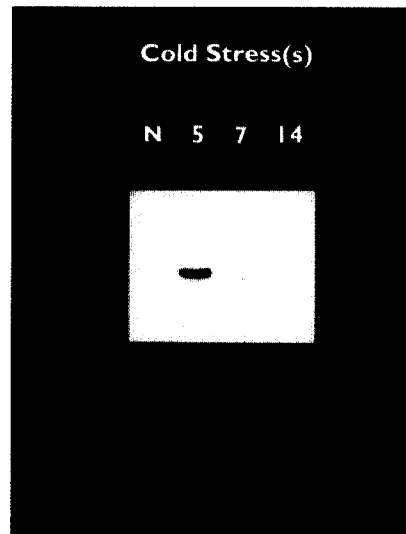


Fig. 2

S : Submandibular gland
P : Parotid gland
N : Normal group

논문사진부도 ②

