

치수 및 치근단병소에서 Prostaglandin E₂, 6-keto-Prostaglandin F₁ α, Leukotriene B₄의 분포에 관한 연구

손원준 · 백승호 · 임성삼
서울대학교 치과대학 치과보존학교실

ABSTRACT

THE CONCENTRATIONS OF PROSTAGLANDIN E₂, 6-KETO-PROSTAGLANDIN F₁ α, AND LEUKOTRIENE B₄ IN PULPAL AND PERIAPICAL LESIONS

Won-Jun Shon, D.D.S., Seung-Ho Baek, D.D.S., M.S.D., Ph.D.,
Sung-Sam Lim, D.D.S., M.S.D., Ph.D.
Dept. of Conservative Dentistry, College of Dentistry, Seoul National University

Prostaglandins (PGs) and Leukotrienes (LTs) have been implicated in the genesis of pulpal and periapical inflammation. In this study, the relationships among PGE₂, 6-keto-PG F₁ α (a stable metabolite of PGI₂) and LTB₄ concentrations in inflamed pulp and periapical lesions were discussed. Pulp tissue were obtained in routine endodontic treatment and periapical lesions in periapical surgery after clinical diagnoses were made. These specimens were divided into four groups as normal pulp group (Control group), acute pulpitis group, chronic pulpitis group, and periapical lesion group. Pulp tissue and periapical lesions were stored in liquid nitrogen. The concentration of PGE₂, PGI₂ and LTB₄ were measured with ELISA. The data were analyzed by one-way ANOVA.

Group	Mean conc ± SEM (pg/mg tissue)		
	PGE ₂	PGI ₂	LTB ₄
Control (n=9)	3.86 ± 0.73	10.97 ± 0.58	2.62 ± 0.67
Acute pulpitis (n=11)	165.79 ± 18.86	105.89 ± 13.81	82.13 ± 16.62
Chronic pulpitis (n=12)	10.50 ± 1.63	20.64 ± 2.91	10.67 ± 1.51
Periapical lesion (n=14)	31.04 ± 5.56	21.74 ± 3.25	24.43 ± 4.17

Significantly higher levels of PGE₂, 6-keto-PG F₁ α and LTB₄ were found in acute pulpitis group than chronic pulpitis group and periapical lesion group ($p < 0.05$). Periapical lesion group showed significantly higher mean concentrations of PGE₂ and LTB₄ than chronic pulpitis group. In control and chronic pulpitis group, significant higher levels of PGI₂ than PGE₂ and LTB₄ were found. These results suggested that the high levels of PGE₂ and LTB₄ in periapical lesions may be due to rich endothelium, fibroblast and lymphocyte known as the main producers of PGE₂ and LTB₄. PGI₂ may be thought to one of the most abundant PGs in normal pulp tissue.

Key Words : Pulp, Periapical lesion, Prostaglandin E₂, 6-keto-prostaglandin F₁ α, Leukotriene B₄, Enzymeimmunoassay, Immunohistochemical staining

I. 서 론

세포막에 존재하는 phospholipids의 많은 대사산물들은 세포의 여러 가지 기능을 조절하는 것으로 알려져 있다. 특히 phospholipase A₂ (PLA₂)의 cyclooxygenase 작용을 받으면 arachidonic acid가 생성되며¹⁾ 이는 cyclo-oxygenase의 작용에 의해 prostaglandins (PGs)와 thromboxanes (TXs)을 포함한 prostanoids를 생성하거나 5-lipoxygenase의 작용에 의해 5-hydroxy-eicosate-traenoic acids (5-HETEs)와 leukotrienes (LTs)를 생성한다²⁾. PLA₂는 염증성 관절염, 복막염, 급성 폐손상이나 패혈증성 속 등과 같은 국소적, 전신적 염증반응에서 그 분비가 증가되며 특히 염증성 관절염과 같이 국소적으로 골과 피가 이루어지는 부위에서 PLA₂의 분비와 활성이 증가됨이 보고되었다^{2,4,5)}. 아울러 PLA₂에 의한 대사산물들은 사람과 동물의 다양한 체액, 세포, 조직에서 발견되며 상이한 조직 내에서의 특수한 생물학적, 약리학적 역할에 대한 많은 연구가 진행되어 왔다. 이들은 혈압, 혈류, 혈행의 정지와 같은 생리적 기능을 조절하는 작용을 하며 염증과정 중 혈관 확장, 혈관투과성 증가, 골흡수, 동통등에 중요한 역할을 한다⁶⁾.

Cyclooxygenase 경로에 의해 생성된 대표적인 대사산물인 PGs는 인체의 거의 모든 조직으로부터 분석이 되었고 염증의 화학적 증계물질 중 가장 면밀히 연구가 되어 왔다. PGs는 광범위한 약리 작용으로 많은 생리적, 병리적인 영향을 발휘한다. 특히 염증 과정에서는 동통과 골의 흡수에 역할을 하는 것으로 알려져있다⁷⁾. Torabinejad 등^{8,9)}에 의해 치수 및 치근단에서의 PGs의 연구가 활발히 시작된 이래로 염증성 치수 및 치근단 조직에서의 PGs의 농도에 대하여도 많은 연구가 있었다.

염증성 치수나 동통을 보이는 치수나 치근단 조직에서 PGE₂에 대한 연구는 많이 진행되어 왔는데 Cohen 등¹⁰⁾은 radio-immunoassay를 이용하여 사람에서 염증상태의 치수가 정상 치수보다 PGE₂의 평균농도가 통계적으로 유의할 만한 높은 수치를 보이며 동통이 있는 치수는 PGE₂와 PGF_{1α} 모두의 농도가 동통이 없는 경우의 치수에서 보다 월등하게 높은 농도를 나타냄을 보고하였다. S. McNicholas 등¹¹⁾은 급성과 만성 염증상태를 보이는 사람의 치근단 조직을 radioimmunoassay를 이용하여 염증이 없는 건전한 치근단 조직과 PGE₂의 농도를 비교하였는데 건전한 치근단 조직 보다는 염증성 치근단 조직에서, 만성 치근단 염증조직 보다는 급성 치근단 염증조직에서 PGE₂의 농도가 유의성 있게 높게 나타남을 보고하였다.

Prostaglandin I₂ (PGI₂)로 알려진 prostacyclin은 prostaglandin endoperoxide인 PGH₂로부터 형성된 불안정한 vinyl ether로 prostacyclin synthetase에 의해 PGH₂에서 prostacyclin으로 전환된다¹²⁾. 이러한 PGI₂의 불

안정성 때문에 통상적으로 PGI₂의 정량분석은 화학적으로 안정한 형태인 6-keto-ProstaglandinF_{1α}의 분석을 통해 이루어진다. Prostacyclin은 thromboxane A₂(TXA₂)와 상반되는 생물학적 대사작용을 보이는데 prostacyclin이 혈소판 응집의 억제효과와 혈관확장을 도모하는 반면, thromboxane A₂는 혈소판 응집을 유도하고 혈관수축 작용을 나타내는 것으로 알려져 있다¹³⁻¹⁵⁾. 따라서 PGI₂와 TXA₂의 균형은 정상적인 혈관작용을 위해 필수적이라 할 수 있다.

아울러 이전에 PGs와 TXs에 기인한 것으로 보았던 많은 염증성 반응들이 LTs와 hydroxyeicosanoic acid와 연관되어 있음이 밝혀졌다¹⁶⁻¹⁹⁾. El Attar¹⁹⁾는 치주질환 환자에¹⁴C-arachidonic acid의 대사를 정량한 결과 주된 대사산물은 lipoxygenase산물임을 보고 하였다. 5-lipoxygenase의 존재하에서 arachidonic acid는 5-hydroperoxy-eicosate-traenoic acid로 전환되고 곧 LTs생합성의 불안정한 중간물질인 LTA₄로 전환되며²⁰⁾ LTA₄의 효소전환 작용으로 생물학적으로 활성을 나타내는 LTs인 LTB₄, LTC₄, LTD₄, LTE₄가 생성된다²¹⁾.

LTB₄는 호중구(neutrophil)와 대식세포(macrophage)에 의해서도 소량 생성되는데²²⁾ 시험관내²³⁾와 생체내²⁴⁾ 모두에서 다형핵 백혈구(polymorphonuclear leukocyte)의 이동을 일으킨다. 국소적으로 적용했을 때 LTB₄는 혈관내벽에 대한 다형핵 백혈구(polymorphonuclear leukocyte)의 부착증진^{25,26)}과 응집(aggregation)을 자극하고 탈과립화를 자극하며²⁷⁾ 다형핵 백혈구(polymorphonuclear leukocyte)에 의존하는 과통증 반응(hyperalgesia)을 일으킨다²⁸⁾. Torabinejad²⁹⁾는 동통과 부종을 동반하는 사람의 치근단 병소에서의 LTB₄ 수준이 증상이 없는 치근단 병소에서 보다 유의하게 높음을 보고하였다. Okiji 등³⁰⁾은 쥐의 치수에 세균의 lipopolysaccharide(LPS)를 주입하여 염증을 유발시켰을 때 LPS 적용 3시간에서 24시간까지 LTB₄의 측정이 가능했고 12시간후 최대로 증가하였음을 보고하였다.

세균적, 기계적, 열 혹은 화학적 자극에 의한 치수의 염증은 여러 경로를 통해 치근단 조직으로의 염증의 파급과 골 파괴 양상을 나타내게 되는데 이러한 치수염과 치근단 질환은 일련의 치수병변의 진행과 밀접한 관련이 있는 병소이며 이러한 치수 및 치근단 병소는 섬유아세포(fibroblast)가 주종을 이루는 소성 결체조직으로 구성되어 있기 때문에 이들 간에 있어서 PGE₂, PGI₂, 그리고 LTB₄의 분포양상을 비교할 수 있으며 각각의 조직표본은 면역조직화학 분석법을 이용하여 직접 관찰이 가능하므로 본 연구에서는 건강한 치아와 치수염이 있는 치아에서 발수된 치수와 치근단 질환이 있는 치아에서 치근단 절제술 시행 후 얻어낸 치근단 병소를 Enzymeimmunoassay 및 Immunohistochemical study를 통해 검색하여 각각의 조직에서의 PGE₂, PGI₂,

그리고 LTB₄의 분포를 측정하고 이를 비교하여 분석하고자 한다.

II. 연구재료 및 방법

통상의 근관치료를 위해 서울대학교 병원 치과 진료부 보존과에 내원한 환자를 대상으로 23개의 치아에서 통상의 근관치료 중 발수한 치수조직과 14회의 치근단 수술중 얻은 치근단병소를 이용하였으며 대조군으로 발치직후의 건전한 제3대구치의 치수를 이용하였다.

1. 표본 추출

1) 치수조직 추출

Rubber dam을 적용하여 치아를 분리시키고 통상의 근관와동 개방을 시행하였다. 치수를 얻기 쉽고 비교적 넓은 근관-상악 대구치의 구개근관, 하악대구치의 원심근관, 또는 단근치의 근관-에 barbed broach를 삽입하여 발수하였고, 발수된 치수를 liquid N₂에 보관하였다. 각 치아들은 다음과 같은 임상 검사를 거쳐 임상적 진단을 내린 후 발수하였다. (1)열음을 이용한 한냉검사; (2) 가열한 gutta-percha를 이용한 온열검사; (3) 전기치수검사기를 이용한 치수 생활력 검사; (4)동통의 지속 정도와 강도를 포함한 동통의 병력 문진; (5) 치주낭 탐침을 사용한 치주낭 깊이 검사; (6) 타진반응 검사.

한냉, 온열, 타진반응, 전기치수생활력검사등에서 정상 범위에 속하고 우식이나 동통의 병력이 없는 건전한 제3대구치를 발치한 직후 수직으로 절단하여 채취한 9개의 치수조직을 정상치수로 임상진단을 내리고 대조군(정상치수군)으로 사용하였다. 한냉검사 또는 온열검사에서 민감하게 반응하며, 심한 자발통을 호소하고 전기치수생활력검사에서 정상보다 낮은 전류에서 반응하는 11개의 치아를 급성치수염군으로 분류하였고, 한냉검사 또는 온열검사에서 반응이 없거나 미약하며 전기치수생활력검사에서 정상보다 높은 전류에서 반응하거나 반응하지 않는 12개의 치아를 만성 치수염군으로 분류하였다.

2) 치근단병소 추출

치근단 수술시 소파술을 통해 얻어낸 14개의 치근단병소를 liquid N₂에 보관하였다.

2. 추출물 처리

치수 및 치근단 병소를 scalpel로 잘게 다지고, 0.5ml homogenizing buffer³¹⁾ (0.1mol/L potassium chloride, 0.02mol/L TRIS; pH=7.6)에 두 시간 놓아 둔 후 glass homogenizer로 균일하게 간다. 이런 과정에 의해 조직이

완전히 분산되고 세포가 용해되어 세포내, 세포간 성분에서 prostaglandin 및 leukotriene이 유리되게 된다. 잔사는 원심분리로 제거하고 추출물을 얻은 후 1ml의 상층용액을 0.25ml 1M HCl을 섞어 5ml의 증류수로 희석한 후 10% ethanol 5ml와 hexane 5ml를 적용하여 잔유물을 제거하였다.

3. Enzymeimmunoassay(EIA)

추출물은 Amersham사 (Buckinghamshire, England)의 EIA kit를 이용해 분석하였다.

첫 번째 단계로, standard solution을 제조사의 지시에 따라 분석용 buffer(0.1M phosphate buffer containing 0.9% sodium chloride, 0.1% bovine serum albumin and preservative)를 이용하여 일정 비율로 희석하여 준비하였다. 두 번째 단계로 standard와 실험용 sample 50 μ l과 antiserum 50 μ l를 microtiter plate의 각각의 well에 담고, adhesive strip으로 덮은 후 실온에서 30분 놓아두었다. 조심스럽고 빠른 동작으로 plate를 뒤집고 흔들어 주어 각각의 well을 비우고 수세용 buffer(0.01M phosphate buffer containing 0.05% Tween 20)로 수세하는 과정을 세 번 반복하였다. 세 번째 단계로, 각각의 PGs 및 LTB₄에 대한 conjugate를 50 μ l씩 각각의 well에 담고 adhesive strip으로 덮어놓은 후 실온에 1시간 동안 놓아 둔 후 수세과정을 세 번 시행하였다. 네 번째 단계로, 각각의 well에 기질 용액을 150 μ l를 담고 실온에서 15분간 놓아두었고, 마지막으로 각각의 well에 stop solution을 50 μ l 첨가한 후 바로 450nm로 setting된 microtiter plate reader에서 optical density를 측정하였다. 여기에서 사용된 conjugate는 horseradish peroxidase를 결합시켜 놓은 각각의 PGs 및 LTB₄에 대한 다클론성 항체이며 기질용액은 hydrogen peroxide이고 color reagent는 2N 황산이다.

4. Immunohistochemical staining

앞서 채취한 치수 및 치근단조직을 OCT tissue tec(Miles, Elkhart, IN)에 매몰하고 5 μ 으로 절단하여 slide에 mounting 한다. 이 slide는 -70 $^{\circ}$ C에 보관한 후 다시 상온에서 어느정도 수분을 제거하여 건조시켜 99.9% acetone에 10분간 고정시킨다. 50mM의 TBS에 10분간 담근 후 primary Ab로 처리한다. Primary Ab 100 μ l씩을 application 하고 12시간 동안 4 $^{\circ}$ C에 보관하였다. 이후의 staining procedure는 DAKO사의 LSABIIkit (Copenhagen, Denmark)를 사용하여 제조사의 지시대로 시행하였다. 이때 사용된 방법은 alkaline phosphatase법이며 발색제는 fast red를 사용하였다. 10분간 발색 후 수세하고 Hematoxylin (DAKO)으로 counterstaining을 시행하여

수용성 mounting medium인 paramount (DAKO)로 mounting 후 광학현미경하에서 관찰하였다.

5. 통계 분석

각 실험군에서의 각각의 PGs 및 LTB₄의 농도차이는 Mann-Whitney U test를 이용하여 분석하였고 t test를 통하여 각 군간의 상관관계를 분석하였다.

Ⅲ. 연구결과

각 실험군에서 측정된 각각의 PGs 및 LTB₄의 양은

Table 1. Concentrations of each PGE₂, PGI₂ and LTB₄ in normal pulp tissues. (pg/mg)

Sample	PGE ₂	PGI ₂	LTB ₄
1	3.44	8.88	1.22
2	2.51	12.51	6.80
3	1.62	11.62	2.64
4	4.32	9.25	2.05
5	7.30	12.25	1.85
6	6.42	10.32	3.56
7	1.84	8.30	1.84
8	3.21	10.31	1.33
9	4.06	15.30	0.98

Table 3. Concentrations of each PGE₂, PGI₂ and LTB₄ in pulp tissues diagnosed as chronic pulpitis (pg/mg)

Sample	PGE ₂	PGI ₂	LTB ₄
1	19.44	18.43	9.62
2	10.36	22.34	6.82
3	8.72	13.64	8.84
4	8.48	24.82	18.80
5	3.44	36.24	14.44
6	10.86	9.37	7.94
7	12.54	21.26	12.26
8	10.78	19.76	8.42
9	13.92	18.28	7.85
10	9.76	17.20	6.58
11	10.32	24.26	18.75
12	7.38	22.30	7.72

Table 1, 2, 3, 4에서와 같았고, 각 실험군의 평균은 Table 5와 Fig. 1과 같았으며, 면역조직화학분석에 의한 관찰결과는 Fig. 2~4와 같았다.

대조군보다 급성 또는 만성 치수염군과 치근단 병소군 모두에서 각각의 PGE₂ 및 LTB₄의 평균값이 유의성 있게 높았으며(p<0.05), PGE₂의 경우 급성 치수염군이 가장 높은 수치를 나타내었고 다음으로 치근단 병소군, 만성 치수염군의 순으로 나타났으며 (P<0.05), PGI₂의 경우 급성 치수염군에서 가장 높은 값을 나타내었고, 다음으로 만성 치수염군, 치근단 병소군으로 나타났으나 만성 치수염군과 치근단 병소군간의 통계적 유의성은 없었다(p>0.05). LTB₄의 경우에는 급성 치수염군에서 가장 유의성 있게 높은 값을 나

Table 2. Concentrations of each PGE₂, PGI₂ and LTB₄ in pulp tissues diagnosed as acute pulpitis (pg/mg)

Sample	PGE ₂	PGI ₂	LTB ₄
1	153.88	61.42	53.22
2	203.52	154.0	60.74
3	89.85	68.88	192.04
4	148.25	132.44	48.80
5	243.42	88.63	58.32
6	98.58	102.23	84.38
7	142.44	72.35	68.76
8	121.26	99.84	92.34
9	204.43	142.31	108.00
10	185.17	148.32	84.32
11	232.90	94.38	52.48

Table 4. Concentrations of each PGE₂, PGI₂ and LTB₄ in periapical lesions (pg/mg)

Sample	PGE ₂	PGI ₂	LTB ₄
1	29.42	13.24	16.82
2	38.30	23.80	19.64
3	25.64	16.87	40.42
4	12.48	32.84	24.30
5	63.65	32.42	50.68
6	16.08	9.54	30.38
7	28.30	20.70	18.56
8	32.36	23.53	26.28
9	44.22	28.06	17.80
10	22.35	16.68	21.32
11	28.31	18.33	22.22
12	30.20	24.54	18.04
13	44.29	30.77	18.78
14	18.96	12.96	16.76

타내었으며 다음으로 치근단 병소군, 만성 치수염군의 순으로 나타났다($p < 0.05$).

대조군 내에서는 PGI₂가 가장 많이 발견되었고, 다음으로 PGE₂, LTB₄순이었으나 PGE₂, LTB₄간에는 통계적 유의성은 없었고($p > 0.05$), 급성 치수염군 내에서는 PGE₂가 가장 많이 발견되었고, 다음으로 PGI₂, LTB₄순이었으나 PGI₂, LTB₄간에는 통계적 유의성은 없었고($p > 0.05$), 만성

Table 5. Mean concentrations of each PGE₂, PGI₂, and LTB₄

Group	Mean conc ± SEM (pg/mg tissue)		
	PGE ₂	PGI ₂	LTB ₄
Control(n=9)	3.86±0.73	10.97±0.58	2.62±0.67
Acute pulpitis(n=11)	165.79±18.86	105.89±13.81	82.13±16.62
Chronic pulpitis(n=12)	10.50±1.63	20.64±2.91	10.67±1.51
Periapical lesion(n=14)	31.04±5.56	21.74±3.25	24.43±4.17

치수염군 내에서는 PGI₂가 가장 많이 발견되었고, 다음으로 LTB₄, PGE₂순이었으나 LTB₄와 PGE₂간에서도 통계적 유의성은 없었다($p > 0.05$). 치근단 병소군 내에서는 PGE₂, LTB₄, PGI₂순으로 농도차를 나타내었다. 각 군간의 통계적 유의성은 없었다($p > 0.05$).

면역조직화학분석을 통하여 관찰하였을 때 PGE₂, PGI₂, 그리고 LTB₄의 종류에 관계없이 급성 치수염군의 표본에서는 주로 다형핵백혈구(polymorphonuclear leukocyte) 주변으로 발색제의 침윤양상을 보였으며 림프구(lymphocyte)나 형질세포(plasma cell), 그리고 대식세포(macrophage) 주변의 침윤양상 정도가 관찰이 가능한 중등도에서 심한 정도의 급성염증 치수조직의 형태를 보이고 있었고(Fig. 2), 만성 치수염군의 표본에서는 만성염증세포인 림프구(lymphocyte), 형질세포(plasma cell), 그리고 대식세포(macrophage) 주변에 미약한 발색제의 침윤양상을 보이는 중등도로부터 정도가 심한 만성염증 치수조직의 형태를 보이고 있었으며(Fig. 3), 치근단 병소군에서는 주로 혈관내피세포(endothelial cell)와 림프구(lymphocyte),

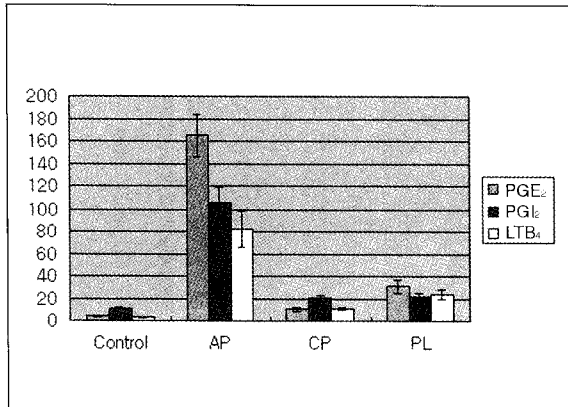


Fig. 1. Mean concentrations of each PGE₂, PGI₂, and LTB₄



Fig. 2. Immunohistochemical Reactivity of Acute pulpitis to PGE₂

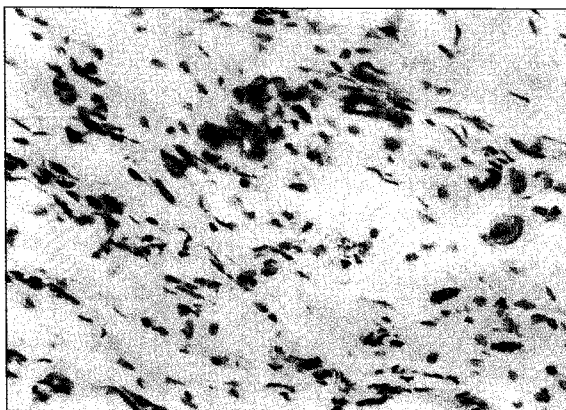


Fig. 3. Immunohistochemical Reactivity of Chronic pulpitis to PGI₂

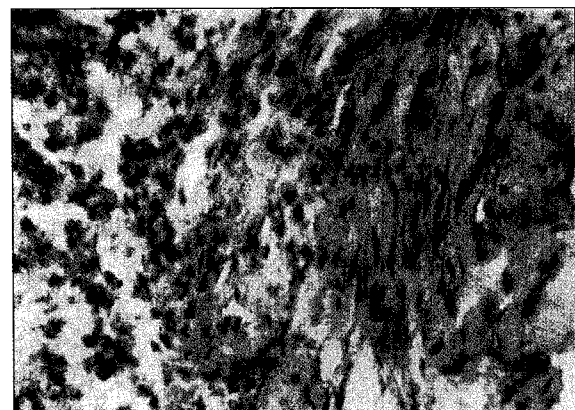


Fig. 4. Immunohistochemical Reactivity of Periapical lesion to LTB₄

그리고 형질세포(plasma cell)주변에 미약한 발색제의 침윤양상을 관찰 할 수 있었으며, 고유판의 다형핵백혈구(polymorphonuclear leukocyte)에서 제한적으로 발색제의 침윤양상 정도가 관찰이 가능한 치근단 육아종의 형태를 보이고 있었다(Fig. 4).

IV. 총괄 및 고안

Arachidonic acid 의 대사산물인 PGs, TXs, LTs가 염증에 관여하는 사실은 널리 입증이 되었고 치수염의 진행과정에 관여한다고 알려져 왔으나 아직 그 역할이 완전하게 이해되고 있지는 않다. 특히 PGs는 이들 중 가장 먼저 다양하게 그 역할에 대해 연구가 이루어져 왔는데 PGs는 생물학적 반감기가 상당히 빠른 관계로(약 1분) 조직에 있어서 생리학적으로 존재하는 PGs의 농도를 직접 산출하기가 불가능하기 때문에 생리학적으로 존재하는 불안정한 상태의 PGs의 농도를 안정상태로 존재하는 PGs의 부산물 농도로 간접적으로 산출하는 방법을 사용하게 된다³²⁾. 본 연구에서도 PGI₂의 정량분석을 위해 화학적으로 안정한 PGI₂의 형태인 6-keto-PGF_{1α}의 농도를 간접적으로 산출하는 방법을 이용 하였다.

근래에 cyclooxygenase경로에 의한 대사산물이 치수염증에 관여함에 대하여는 많은 연구와 보고가 있었으나 lipoxygenase산물의 역할에 관한 보고는 많지 않은 실정이다. 본 연구에서 LTB₄는 치수염 및 치근단질환에 있어서 동통 및 염증의 진행과정과 밀접한 연관이 있는 것으로 나타났다 때문에 이제까지 동통과 밀접한 연관이 있는 것으로 알려진 PGs생성과 관련된 cyclooxygenase 경로를 차단하는 비염증성 스테로이드 제제 뿐 만 아니라 LTs 생성과 관련된 lipoxygenase 경로를 차단할 수 있는 제제의 개발이 필요할 것으로 생각된다.

많은 염증매개물 중에 PGE₂는 다양한 전구염증반응 및 면역조절효과를 나타내는데 주로 그람음성의 세균감염에 의해 활성화된 단핵세포(monocyte)나 대식세포(macrophage)에 의해 직접 분비되거나³³⁻³⁵⁾, 세균 및 lipopolysaccharide의 자극 등에 의해 활성화된 단핵세포(monocyte)와 대식세포(macrophage)가 분비하는IL-1와 TNF-α등이 섬유아세포(fibroblast) 등에 의한 PGE₂분비를 자극하고 PGE₂의 생물학적 작용을 상승시키는 역할을 하게 된다^{36,37)}. Harvey et al.은 치성낭벽으로부터 배양한 섬유아세포(fibroblast) 에서 PGE₂및 PGI₂의 합성을 관찰하여 이러한 섬유아세포(fibroblast)가 PGs의 주된 분비세포임을 보고하였다³⁸⁾. 표적세포(target cell)에 대한 PGE₂의 작용은 수용체에 의해 조절되며, 수용체와 결합된 PGE₂는 세포 내 adenylyl cyclic AMP의 농도를 증가시키는 것으로 보고되고 있다.

LTB₄는 HETE에 비해 백혈구(leukocyte)에 100~

1000배의 화학주성을 나타내며³⁹⁾ 백혈구의 내피세포에 대한 부착력을 증진시킨다⁴⁰⁾. 이제까지 치수에서는 5-lipoxygenase product의 생산이 미약한 것으로 보고되었으나 본 연구에 의하면 LTB₄의 경우 면역화학분석법을 통하여 다형핵백혈구(polymorphonuclear leukocyte)등에서 LTB₄의 침윤현상을 관찰할 수 있었다.

일반적으로 PGE₂ 및 PGI₂는 혈관투과성을 증가시키는 것으로 알려져 왔는데⁴¹⁾ 실제로 PGE₂와 PGI₂는 단독으로 작용하였을 때 혈관투과성에는 거의 영향을 미치지 않으며 이들은 혈관확장을 유발하여 충혈현상을 야기하고 bradykinin과 같은 다른 혈관투과성 증가물질과 함께 세포질 삼출물을 증가시킨다⁴²⁻⁴⁴⁾.

LPS 또한 체액성 면역체계인 보체계를 활성화시켜 혈관 수축작용을 증가시키는 역할을 하므로⁴⁵⁾ PGs는 LPS의 작용으로부터 기인한 다른 혈관투과성 증가물질과 함께 상승작용을 통해 치수염증에 있어서 혈관투과성을 증가시키는 역할을 담당하게 된다. 아울러 LTB₄도 PGE₂와 서로 상승작용을 통하여 혈관투과성을 증가시키는 것으로 보고되고 있다⁴⁶⁾.

PLA₂의 작용에 의해 생성된 arachidonic acid 대사산물이 골흡수에 중요한 역할을 하는 것으로 여겨진다. 성숙한 파골세포(osteoclast)의 배양에 PGE₂를 첨가하면 파골세포(osteoclast)의 세포질 수축과 파골세포활성의 일시적 억제를 보이며^{47,48)} PGE₂를 매일 투여하면 해면골의 양이 증가된다는 보고가 있었으나⁴⁹⁾ Klein과 Raisz⁵⁰⁾와 Tashjian 등⁵¹⁾은 골조직 배양시 배양액에 PGE₂를 첨가하면 골흡수가 촉진됨을 보고하였고 Boyce 등⁵²⁾, Bertolini 등⁵³⁾과 Tashjian⁵⁴⁾ 등은 interleukine-1, tumor necrosis factor (TNF)나 transforming growth factor와 같은 국소조절인자들에 의한 골조직 파괴과정에서 이차적으로 생성이 촉진된 PGE₂가 부분적으로 이들의 작용을 매개할 것으로 보고하여 PGE₂의 작용은 대체적으로 골흡수를 촉진하는 것으로 알려져 있다.

한편 최근에는 arachidonic acid 대사산물 중 5-LOX 대사산물인 5-HETEs와 LTs이 골조직 대사에 미치는 영향에 대한 연구도 진행되어 왔다. 알레르기 및 염증반응에서 중요한 역할을 하는 것으로 여겨지는데 Meghji 등⁵⁵⁾은 조골세포에서 5-LOX대사산물이 생성되며 이들에 의해 골흡수가 촉진됨을 보고하였다. 또한 LTB₄도 시험관내와 생체내 모두에서 파골세포(osteoclast) 생성을 통하여 골흡수를 일으킨다고 하였다⁵⁶⁾. 그러나 LTs와 5-HETEs가 배양골조직의 골흡수에 영향을 미치지 않는다는 상반된 보고도 있어 왔다⁵⁷⁾.

실험군간 PGs 및 LTB₄농도의 분포양상은 채취된 조직의 생물학적 다양성, 병소의 크기, 자극의 형태, 그리고 숙주의 반응정도 등에 따라 다양한 변화를 나타낼 수 있으며 조직 표본의 추출과정 및 EIA분석과정 중에 있어서 일어날 수

있는 조직의 손상이 정상 치수조직에서의 PGs 및 LTB₄의 분비를 유발시켰을 가능성을 고려해야 할 것이다. 또한, 조직의 보관방법, 보관온도 등에 의해서도 PGs 및 LTB₄의 다양한 농도변이를 나타낼 수 있을 것이다.

PGE₂가 동통과 밀접한 관련이 있는 이유로 2가지 정도의 가설을 들 수 있는데 첫째로, PGE₂ 자체의 동통유발 능력으로 인해 동통을 유발하는 말초신경섬유를 자극하게 되거나 둘째로, PGE₂가 동통유발물질인 bradykinin, histamine, 5-hydroxy triptamine, 그리고 endotoxin 등의 분비를 증가시켜 동통을 유발하게 된다^{58,59}. 또한 PGE : PGF의 비율이 증가하게 되면 혈관투과성과 삼출현상이 증가하게 되어 상아질내의 이러한 현상이 치수내압을 증가시켜 동통을 유발하게 되는데⁶⁰, 본 연구에서도 급성치수염군에서의 PGE : PGF의 비율이 만성치수염군의 비율보다 약 3배 정도의 높은 값을 나타내었다.

대조군에서 PGI₂의 농도가 다른 실험군보다 높았던 결과로 미루어 보아 PGI₂는 정상 치수조직에서 다른 PGs 비해 특히 높은 농도로 존재함을 의미하는데 이는 PGI₂가 정상 치수조직에서 혈행의 유지와 밀접한 관련이 있음을 보고한 Hirafuji et al.⁶¹의 주장을 뒷받침한다고 말할 수 있다.

만성치수염과 치근단병소에서 LTB₄의 농도는 비록 분포 영역이 다르더라도 통계적으로 유사한 수준을 나타내었고, 치근단병소군의 PGs 및 LTB₄ 농도가 대조군 보다 높게 나타났는데, 이는 세균의 부산물 및 세균 자체가 치근단조직으로 침습하여 발생한 치근단조직의 파괴현상과 밀접한 관련이 있을 것으로 해석할 수 있다.

치근단병소에서 PGs의 주된 분비세포는 대식세포(macrophages)인 것으로 알려져 있는데⁶², 본 연구에서의 면역화학분석을 통해 보았을 때 대식세포(macrophages) 보다는 혈관내피세포(endothelial cell)에 의해 PGs가 주로 분비되는 것을 관찰할 수 있었다.

아울러 LTB₄는 혈관내피세포(endothelial cell) 주변에서 분비되는 것을 관찰할 수 있었고 고유판의 다형핵세포에서 제한적으로나마 관찰이 가능하였다. 이는 표피상피세포, 혈관내피세포가 치근단 육아종에 있어서 LTB₄의 주된 분비세포임을 보여주고 있는 것이다.

이상의 연구결과로 볼 때 arachidonic acid metabolite 인 PGE₂, PGI₂, 그리고 LTB₄는 치수 및 치근단병소의 pathogenesis에 중요한 역할을 하는 것으로 결론지을 수 있을 것이다.

V. 결 론

본 연구의 목적은 치수 및 치근단 병소내의 PGE₂, 6-keto-PGF_{1α}, 그리고 LTB₄의 분포를 관찰하고 이들의 치수 및 치근단 질환의 염증상태에 따른 분포의 차이를 규명하는 것으로, 임상적 진단에 따라 정상 치수군(대조군), 급

성 치수염군, 만성 치수염군, 치근단 병소군 등으로 분류된 병소들로부터 얻은 조직을 실험대상으로 하였다. 얻어진 조직은 liquid N₂에 보관하였다가, homogenizing buffer에 넣어둔 후 grinding하고 원심분리를 거쳐 얻은 상층액을 추출하여 Enzymeimmunoassay kit(Amersham Co. Buckinghamshire, England)로 분석하고, Immunohistochemical study를 통하여 조직표본을 관찰하였을 때 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. PGE₂는 모든 실험군의 농도가 대조군보다 유의성 있게 높았으며(P<0.05), 급성 치수염군, 치근단병소군, 그리고 만성 치수염군순으로 통계적으로 유의성 있게 높은 농도를 나타내었다(P<0.05).
2. PGI₂는 모든 실험군의 농도가 대조군보다 유의성 있게 높았으며(P<0.05), 급성 치수염군의 농도가 만성 치수염군이나 치근단병소군보다 유의성 있게 높은 농도를 나타내었으며(P<0.05), 만성 치수염군과 치근단병소군간에는 통계적 유의성은 없었다(P>0.05).
3. LTB₄는 모든 실험군의 농도가 대조군보다 유의성 있게 높았으며(P<0.05), 급성 치수염군, 치근단병소군, 그리고 만성 치수염군순으로 통계적으로 유의성 있게 높은 농도를 나타내었다(P<0.05).
4. 상관관계에 있어서는 대조군과 만성 치수염군의 PGI₂가 같은 실험군의 PGE₂와 LTB₄보다 통계적으로 유의성 있게 높은 농도를 나타내었으며(P<0.05), 급성 치수염에서는 PGE₂가 PGI₂나 LTB₄보다 통계적으로 유의성 있게 높은 농도를 나타내었다(P<0.05).
5. 면역조직화학분석을 통하여 관찰하였을 때 PGE₂, PGI₂, 그리고 LTB₄의 종류에 관계없이 급성 치수염군의 표본에서는 주로 다형핵백혈구(polymorphonuclear leukocyte)주변으로 발색체의 침윤양상을 보였으며 림프구(lymphocyte)나 형질세포(plasma cell), 그리고 대식세포(macrophage)주변의 침윤양상 정도가 관찰이 가능하였다.
6. 만성 치수염군의 표본에서는 만성염증세포인 림프구(lymphocyte), 형질세포(plasma cell), 그리고 대식세포(macrophage)주변에 미약한 발색체의 침윤양상을 관찰할 수 있었다.
7. 치근단 병소군에서는 주로 혈관내피세포(endothelial cell)와 림프구(lymphocyte), 그리고형질세포(plasma cell)주변에 미약한 발색체의 침윤양상을 관찰 할 수 있었으며 고유판의 다형핵백혈구(polymorphonuclear leukocyte)에서 제한적으로 발색체의 침윤양상 정도가 관찰이 가능한 치근단 육아종의 형태를 보이고 있었다.

참 고 문 헌

1. Chapman D. Lipid dynamics in cell membranes. *In cell*

- membranes*, edited by Weissman G, Clairborne R, HP Publishing company. 1975: 13.
2. Murphy RC, Hammarstrom S, Samuelsson B. Leukotriene C: A slow-reacting substance from murine mastocytoma cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1979; 76: 4275-4279.
 3. Pruzanki W, Vadas P. Secretory synovial fluid phospholipase A2 and its role in the pathogenesis of inflammation in arthritis. *J. Rheumatol.* 1988;15: 1601-1603.
 4. Vadas P, Pruzanki W, Stefanki E et al. Receptor and phospholipase control of inositol phosphate, PAF and eicosanoid production, edited by Dennis E, Hunter T, Berridge M, Alan R Liss. 1989: 311-316.
 5. Bomalaski JS, Fallon M, Turner RA et al. Identification and isolation of phospholipase A2 activating protein in human rheumatoid arthritis synovial fluid : induction of eicosanoid synthesis and an inflammatory response in joints injected *in vivo*. *J Lab Cil Med* 1990: 116: 814-825.
 6. Goodson J, McClatchy K, Revell C. Prostaglandin-induced resorption of the adult rat calvarium. *J Dent Res.* 1974; 53: 670-677.
 7. Stanley L, Robbins et al. Pathogenic basis of disease. W.B. Saunder Co.1984: 3rd edition: 54-56.
 8. Torabinejad M, Bakland L. Prostaglandins: their possible role in the pathogenesis of pulpal and periapical disease, part 1. *J Endod.* 1980; 6(9): 733-739.
 9. Torabinejad M, Bakland L. Prostaglandins: their possible role in the pathogenesis of pulpal and periapical disease, part 2. *J Endod.* 1980; 6(10): 769-776.
 10. Cohen J, Reader A, Fertel R, Beck F, Meyers W. radioimmunoassay determination of the concentrations of prostaglandins E2 and F2 alpha in painful and symptomatic human dental pulps. *J Endod.* 1985 Aug; 11(8): 330-335.
 11. McNicholas S, Torabinejad M, Blankenship J, Bakland L. The concentration of prostaglandin E2 in human periradicular lesions. *J Endod.* 1991 Mar; 17(3): 97-100.
 12. Samuelsson B. Structures, biosynthesis, and metabolism of prostaglandins. In: Wakil SJ (ed.): *Lipid Metabolism*. Academic Press, New York. 1970: 107-153.
 13. Moncada S, Vane J. *Pharmac. Rev.* Prostacyclin, platelet aggregation, and thrombosis.1979; 30: 292-331.
 14. Hamberg M et al. Thromboxanes : a new group of biologically active compounds derived from PG endoperoxides. *Proc Natl Acad Sci. USA.*1975; 72: 2994-2998.
 15. Svensson J et al. PG endoperoxides IX. Characterization of rabbit aorta substance from guinea pig lung and human platelets. *Acta physiol Scand.* 1975; 94: 222-228.
 16. Goodwin J. Mechanism of action of nonsteroidal anti-inflammatory agents. *Am J Med.* 1984; 77: 57-64.
 17. Offenbacher S, Vanadyke B, Odle C, Wilson-Burrow. Role of LTB4 in localized juvenile periodontitis. *J Dent Res.*1985; 63(Special issue):1812.
 18. Scott S, Odle B, Liffenbacher S. Inflamed periodontal tissue contain high level of leukotriene B4. *J Dent Res.*1985; 64(Special issue):1812.
 19. El Attar T, Lin H. Relative conversion of arachidonic acid through lipoxygenase and cyclooxygenase pathways by homogenates of diseased periodontal tissue. *J Oral Pathol.* 1983; 12: 7-10.
 20. Fridrick A, Robert W. Prostaglandins, arachidonic acid, and inflammation. *Science.*1980; 210: 978-984.
 21. Ford-Hutchinson A, Bray M et al. Leukotriene B4, a potent chemokinetic and aggregating substance released from PMNL. *Nature.* 1980; 286: 264-265.
 22. Owen W, Soberman R, Yohimoto T. Synthesis and release of leukotriene C4 by human eosinophils. *J immunol.* 1987; 138: 532-538.
 23. Palmer R, Strpney R et al. Chemokinetic activity of arachidonic acid lipoxygenase products on leukocytes of different species. *Prostaglandins.*1980; 21: 411-418.
 24. Bray M, Ford-Hutchinson A, Smith M. Leukotriene B4 : Anti-inflammatory mediators *in vivo*. *Prostaglandins.* 1981; 22: 213-222.
 25. Dahlen S, Hedqvist P et al. Leukotrienes promotes plasma leakage and leukocyte adhesion in postcapillary venules. *Proc Natl Acad Sci. USA.* 1981; 78: 3887-3891.
 26. Camp R, Coutts A, Greaves M, Kay A, Walport M. Responses of human skin to intradermal injection of leukotriene C4, D4, and B4. *Br J Pharmacol.* 1983; 80: 497-502.
 27. Bokoch G, Reed P. Effects of various lipoxygenase metabolites of arachidonic acid an degranulation of PMNL. *J Biol Chem.* 1981; 256: 5317-5320.
 28. Levine J, Lau.W et al. Leukotriene B4 produces hyperalgesia that is dependent on PMNL. *Science.* 1984; 225: 743-744.
 29. Torabinejad M, Cotti E, Jung T. Concentrations of leukotriene B4 in symptomatic and asymptomatic periapical lesions. *J Endodon.* 1992; 18: 205-208.
 30. Okiji T, Morita I et al. The role of leukotriene B4 in neutrophil infiltration in experimentally-induced inflammation of rat tooth pulp. *J Dent Res.* 1991; 70: 34-37.
 31. Stashenko P, Jandiski J, Fujijoshi P, Rynar J, Socrancy S. Tissue levels of bone resorptive cytokines in periodontal disease. *J Periodontol.* 1991; 62: 504-509.
 32. Lessard G, Torabinejad M, Swope D. Arachidonic acid metabolism in canine tooth pulps and the effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *J Endod.* 1986; 12: 146-149.
 33. Garrison S, Holt S, Nicholas F. Lipopolysaccharide-stimulated PGE2 release from monocyte. *J Periodontol* 1988; 59: 684-687.
 34. Garrison S, Nicholas F. Gamma interferon modulation of PGE2 release from human monocytes stimulated with lipopolysaccharides from *Bacteroides intermedius*, *Bacteroides gingivalis* and *Salmonella typhirium*. *Oral Microbiol Immunol* 1988; 3: 138-143.
 35. Hamada S, Okahashi N, Fujiwara T, Koga T. Selective induction of PGE2 in C3H/HeJ mouse macrophages by lipopolysaccharides from *Bacteroides gingivalis*. *Oral Microbiol Immunol.* 1988; 3: 196-198.
 36. Richard D, Rutherford R. The effects of interleukin-1 on collagenolytic activity and PGE2 secretion by human periodontal ligament and gingival fibroblasts. *Arch Oral Biol* 1988; 33: 237-243.
 37. Newton R, Covigton M. The activation of human fibroblast PGE production by interleukin 1. *Cell Immunol* 1987; 110: 338-349.
 38. Harvey W, Guat-Chen F, Gordon D et al. Evidence for fibroblasts as the major source of prostacyclin and prostaglandin synthesis in dental cyst in man. *Arch Oral Biol.* 1994; 29: 223-229.
 39. Palmer R, Stepney R, Higgs G, Eakin K. Chemokinetic activity of arachidonic acid lipoxygenase products on leukocytes of different species. *Prostaglandin;* 20: 411-418.
 40. Bjork J, Dahlen S, Hedquist P, Arfors K. Leukotrienes B4 and C4 have distinct microcirculatory actions *in vivo*. *PG, TX, LT Res.*1983; 12: 1-6.
 41. Okiji T, Morita I, Kobayashi C et al. Arachidonic acid metabolism in normal and experimentally-inflamed rat dental pulp. *Biochem Pharmacol.* 1983; 32: 1983-2985.

42. Johnston M, Hay J, Movat H. The modulation of enhanced vascular permeability by prostaglandins through alterations in blood flow. *Agents and Actions*. 1970; 6: 705-711.
43. Komoria K, Ohmori H, Azuma A, Kurozumi S, Hashimoto Y. Prostaglandin I₂ as a potentiator of acute inflammation in rats. *Prostaglandins*. 1978; 15: 557-564.
44. Williams T. Prostaglandin E₂, Prostaglandin I₂, and the vascular change of inflammation. *Br J Pharmacol*. 1979; 6: 517-524.
45. Morrison D, Ulevitch R. The effect of bacterial endotoxins on host mediation system. *Am J Pathol*. 1978; 93: 527-617.
46. Robert K, White, Montgomery S. Leukotrienes: Inflammatory mediators. *Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol*. 1986; 61: 514-518.
47. Fuller K, Chamber T. Effect of arachidonic acid metabolites on bone resorption by isolated rat osteoclasts. *J Bone Miner Res*. 1989; 4: 209-215.
48. Chambers T, McSherry P, Thomason B, Fuller K. The effect of calcium-regulating hormones and prostaglandins on bone resorption by osteoclasts disaggregated from neonatal rabbit bones. *Endocrinology* 1985; 116: 234-239.
49. Ito H, Ke H, Jee W, Sakou T. Anabolic responses of adult cancellous bone site to prostaglandin E₂ in the rat. *Bone Miner* 1993; 21:219-236.
50. Klein D, Raiz L. Prostaglandins: Stimulation of bone resorption in tissue culture. *Endocrinology*. 1970; 86: 1436-1440.
51. Tashjian A, Voelkel E, Levine L, Goldhaber P. Evidence that the bone resorption-stimulating factor produced by mouse fibrosarcoma cell is prostaglandin E₂: a new model for the hypercalcemia of cancer. *J Exp Med*. 1972; 136: 1329-1343.
52. Boyce B, Aufdemorte T, Garrett I et al. Effects of interleukin-1 on bone turnover in normal mice. *Endocrinology* 1989;125: 1142-1150.
53. Bertolini D, Nedwin G, Bringman T et al. Stimulation of bone resorption and inhibition of bone formation in vitro by human tumor necrosis factors. *Nature* 1986; 319: 516-518.
54. Tashjian A, Voelkel E, Lazzaro M et al. Tumor necrosis factor-α stimulates bone resorption in mouse calvaria via a prostaglandin-mediated mechanism. *Endocrinology* 1987; 120: 2029-2036.
55. Meghji S, Scutt A, Harvey W. Lipoxygenase metabolites of arachidonate: osteoblast mediators of osteoclastic bone resorption. *Calcif Tiss Int* 1988; 36: 139-149.
56. Garcia C, Boyce B, Gilles J et al. Leukotriene B₄ stimulates osteoclastic bone resorption *in vitro* and *in vivo*. *J Bone Miner Res* 1996; 11: 1619-1627.
57. 오귀옥, 김세원. Arachidonic acid 대사산물이 배양골 조직의 골 흡수에 미치는 영향에 관한 연구. *대한구강생물학회지*. 1989;13: 87-94.
58. Houk J. *Chemical messengers of the inflammatory process*. Amsterdam: Elsevier/North Holland Biomedical Press. 1979: 130-139.
59. Herman A, Moncada S. Release of prostaglandins and incapacitation after injection of endotoxin in the knee joint of the dog. *Br J Pharmacol*. 1975; 53: 465.
60. Velo G, Dunn C, Giround J, Tinsit J, Willoughby D. Distribution of prostaglandins in inflammatory exudate. *J Pathol* 1973; 111: 149-158.
61. Hirafuji M, Ogura Y. Endogenous biosynthesis of prostaglandin I₂ and thromboxane A₂ by isolated rat dental pulp. *Biochem Pharmacol*. 1983; 32: 2983-2985.
62. Mutsumi M, Takashi T, Hirishi I et al. Immunohistochemical detection of prostaglandins E₂, F₂α, and 6-keto-prostaglandin F₁α in experimentally induced periapical