

고농도의 글루코스가 치주질환 병인균주의 세균내독소에 의한 염증성 cytokine 및 nitric oxide의 생성에 미치는 영향

김성조

부산대학교 치과대학 치주과학교실

The effect of high concentration of glucose on the production of proinflammatory cytokines and nitric oxide induced by lipopolysaccharides from periodontopathic bacteria

Sung-Jo Kim

Department of Periodontology, College of Dentistry, Pusan National University

ABSTRACT

Purpose: Diabetes mellitus is a clinically and genetically heterogeneous group of metabolic disorders manifested by abnormally high levels of glucose in the blood. Mounting evidence demonstrates that diabetes is a risk factor for gingivitis and periodontitis. The circulating mononuclear phagocytes in diabetic patients with hyperglycemia are chronically exposed to high level of serum glucose. Thus, this study attempted to determine the effect of pre-exposure of monocytes and macrophages to high concentration of glucose on lipopolysaccharide (LPS)-induced production of pro-inflammatory mediators.

Material and Methods: For this purpose, cells were cultured in medium containing normal (5 mM) or high glucose (25 mM) for 4-5 weeks before treatment for 24 h with LPS. LPS was highly purified from *Porphyromonas gingivalis* or *Prevotella intermedia* by phenol extraction.

Result: Results showed that prolonged pre-exposure of cells to high glucose markedly increased LPS-stimulated NO secretion when compared to normal glucose. In addition to NO, high glucose also augmented LPS-stimulated IL-6, IL-8, and TNF- α secretion after cells were exposed to high glucose for 4 weeks.

Conclusion: The present study demonstrates that pre-exposure of mononuclear phagocytes with high glucose augments LPS-stimulated production of pro-inflammatory mediators. These findings may explain why periodontal tissue destruction in diabetic patients is more severe than that in non-diabetic individuals. (*J Korean Acad Periodontol* 2008;38:511-520)

KEY WORDS: diabetes mellitus; hyperglycemia; pro-inflammatory mediators; mononuclear phagocytes; lipopolysaccharide.

서론

당뇨병은 혈액 내 글루코스 농도가 비정상적으로 증가되는 대사성 질환이다. 당뇨병은 치은염과 치주염의 위험인자인 것으로 알려져 있으며¹⁾, 실제로 치주질환은 동맥경화증,

신장병, 망막병, 신경병, 그리고 말초혈관 질환과 함께 당뇨병의 주요 합병증의 하나로 간주되고 있다²⁾.

당뇨병은 호중구의 부착, 화학주성, 그리고 탐식작용의 저하를 초래하여 치주낭 내의 병인균을 증가시키고 치주조직 파괴를 현저히 증가시키는 것으로 알려져 있으며^{3,4)}, 최근에는 단백질 당화의 최종 산물이 당뇨병 환자에서의 치주질환에 영향을 미칠 수 있음이 제시된 바도 있다⁵⁾. 또한, 당뇨병과 관련이 있는 병리인자인 고혈당증이 치주질환 병인균주에서 유래된 세균내독소(Lipopolysaccharide; LPS) 등의 독성인자들과 상호 작용하여 당뇨병 환자에서의 치주질환의 진전을 촉진할 가능성도 있다.

Correspondence: Sung-Jo Kim
Department of Periodontology, College of Dentistry, Pusan National University, 1-10 Ami-dong, Seo-gu, Busan 602-739, Korea.
E-mail: sungjokim@pusan.ac.kr, Tel: 82-51-240-7461,
Fax: 82-51-245-8388

* 이 논문은 2005년 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국학술진흥재단의 지원을 받아 수행된 연구임(KRF-2005-041-E00389).

Received: Jul 25, 2008; Accepted: Aug 29, 2008

고농도의 글루코스는 유전자 발현과 신호활성화 등에 있어 급성적 영향을 미칠 수 있는 것으로 알려져 있다. 이와 관련하여, Lin 등⁶⁾은 신장의 사구체 혈관 사이 세포를 고농도의 글루코스로 24시간 처리하였을 때 fibronectin mRNA와 단백질의 발현이 촉진되며, protein kinase C 신호전달 경로가 이 과정에 관여함을 보고하였다. 또한, Suzuki 등⁷⁾의 보고에 의하면 혈관 평활근 세포를 고농도의 글루코스로 4시간 처리함으로써 plasminogen activator inhibitor-1 유전자의 발현이 증대되었으며, 이 과정에 mitogen-activated protein kinase(MAPK)와 protein kinase C 활성화가 관여하였다.

한편, 몇몇 보고들은 고농도의 글루코스가 유전자 발현과 신호활성 등에 있어 만성적 영향을 미칠 수 있음을 제시하고 있다. 이와 관련하여, Tsiani 등⁸⁾은 쥐의 혈관 사이 세포를 고농도의 글루코스로 3일간 처리하였을 때 phosphorylated p38 MAPK 양이 정상 글루코스로 처리한 세포에 비해 유의하게 증진되었음을 보고한 바 있으며, Shamugam 등⁹⁾에 의하면 인체 단핵세포주인 THP-1 세포를 3일간 고농도의 글루코스에 노출시켰을 때 염증성 cytokine과 chemokine 유전자의 발현이 증가되었다. 또한, Uemura 등¹⁰⁾의 보고에 의하면 혈관 내피세포를 고농도의 글루코스로 2주간 배양하였을 때 matrix metalloproteinase(MMP)-9의 발현이 증가되며, Maldonado 등¹¹⁾은 U937 조작구를 고농도의 글루코스에 4주간 사전 노출시킨 후 *Escherichia coli* LPS로 처리함으로써 MMP-1의 발현이 현저하게 증가하며, NF- κ B와 MAPK 신호전달 기전이 이 과정에 관여함을 보고하였다.

당뇨병 환자의 경우 고혈당이 유전자 발현 등에 영향을 미쳐 치주질환 병인균주의 LPS에 의한 염증 매개물질의 발현이 증대될 가능성이 있다. 즉, 고농도의 글루코스와 치주질환 병인균주의 LPS의 상호 증진작용에 의해 대식세포 등에서의 염증 매개물질의 생성과 발현이 증진될 수 있다. 저자는 고농도의 글루코스가 치주질환 병인균주의 LPS에 의한 단핵구 및 대식세포에서의 염증 매개물질의 생성에 미치는 영향에 대해 연구하여 다소의 지견을 얻었기에 이를 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 균주 및 배양조건

Porphyromonas gingivalis 381과 *Prevotella intermedia* ATCC 25611을 연구대상으로 하였다. 이들 균주를 통법에 따라 1 μ g/ml menadione과 5 μ g/ml hemin을 포함하고 있는 enriched trypticase soy agar 또는 GAM broth (Nissui, Tokyo, Japan)를 이용하여 37°C의 혐기성 조건(5% H₂/5% CO₂/90% N₂)에서 배양하였으며, 세균의 성장은 660 nm 파장에서의 흡광도를 측정하여 결정하였다. 액체 배지에서 24시간 배양한 early stationary phase의 균주를 4°C에서 12,000×g로 20분 원심 분리하여 회수하고, phosphate buffered saline(PBS, pH 7.2)으로 3회 세척한 후 동결건조하였다

2. LPS의 순수분리

LPS는 hot phenol-water법¹²⁾에 의거하여 추출하였다. 간략히 소개하면, 동결건조한 세균을 발열원이 제거된 증류수에 녹이고, 동일 부피의 90% phenol을 가한 후, 68°C에서 20분간 휘저으면서 2회 추출하였다. 그 후, 혼합액을 냉각시키고, 7,000×g에서 15분간 원심분리하여 수용액층을 분리하였다. 수용액층을 모아 4°C에서 증류수를 이용하여 철저히 투석하고, 105,000×g에서 3시간 초원심분리하여 동결건조하였다. 0.1 M Tris-HCl(pH 8.0)에서 DNase(25 μ g/ml)와 RNase(25 μ g/ml)로 37°C에서 밤새 처리하여 핵산을 제거하고, 단백질 오염은 proteinase K(50 μ g/ml)를 가하여 60°C에서 1시간 처리한 후 37°C에서 밤새 배양하여 제거하였다.

3. 세포배양

마우스의 대식세포 유사 세포주인 RAW264.7(American Type Culture Collection, Rockville, MD, USA)은 37°C의 5% CO₂/95% air 배양기에서 10% [v/v] heat-inactivated fetal bovine serum(FBS), 100 U/ml penicillin, 100 μ g/ml streptomycin, 10 mM HEPES, 2 mM L-glutamine, 0.2% NaHCO₃, 그리고 1 mM sodium pyruvate이 포함된 Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM)으로 배양하

였다. 인체 단핵세포주인 THP-1과 U937(ATCC)은 Nunc 플라스크와 10% [v/v] heat inactivated FBS, 50 μ M 2-mercaptoethanol, 1 mM sodium pyruvate, 25 mM HEPES, 100 U/ml penicillin, 그리고 100 μ g/ml streptomycin을 포함하고 있는 RPMI 1640 배지를 이용하여 37°C의 5% CO₂/95% air 배양기에서 배양하였다. THP-1 세포를 대식세포로 분화시키기 위해서는 24-well 배양판에 세포(5×10^5 cells/ml/well)를 분주한 후 50 ng/ml 농도로 phorbol 12-myristate 13-acetate(PMA)를 가하였다. 세포가 분화하여 플라스틱 배양판에 부착되도록 72시간 동안 배양한 후 배지로 3회 세척하였다.

배지를 2~3일마다 교체하면서, 정상 농도(normal glucose; NG; 5 mM) 또는 고농도의 글루코스(high glucose; HG; 25 mM)를 포함하는 배지에서 지정된 기간 동안 세포를 각각 사전 배양한 후, 다양한 농도의 LPS를 가하여 지정된 시간 동안 배양하고, IL-6, IL-8, TNF- α , 그리고 NO의 정량을 위해 상층액을 수집하여 -70°C에 보관하였다.

4. NO의 정량

NO의 농도는 배양 상층액 내의 nitrite(NO₂⁻) 농도를 측정하여 결정하였다. 간략히 소개하면, 96-well flat-bottomed microtiter plate에 배양 상층액 100 μ l와 동일 부피의 Griess reagent(1% sulfanilamide, 0.1% naphthylethylene diamine dihydrochloride, and 2.5% phosphoric acid) (Sigma Co., St Louis, MO, USA)를 혼합한 후 실온에서 10분간 방치하고, Spectra Max 250 ELISA Reader (Molecular Devices, Palo Alto, CA, USA)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. Nitrite의 농도는 배양액으로 연속 희석한 NaNO₂(Sigma)로 제작한 표준 곡선을 이용하여 결정하였다.

5. IL-6, IL-8 및 TNF- α 의 정량

ELISA Set(OptEIA; BD Pharmingen, San Diego, CA)을 이용하여 배양액 상층액 내의 IL-6, IL-8 및 TNF- α 의 농도를 결정하였다. 제조사의 지시에 의거하여, 단일클론 항체로 microtiter plate를 피복하고, quantitative solid-phase sandwich enzyme immunoassay를 시행하여 배양액 ml 당의 양을 결정하였다.

6. 통계분석

통계분석은 student's paired t-test에 의거하였다. 자료는 4회의 독립적인 실험의 평균과 표준편차로 표시하였다.

결과

1. 고농도의 글루코스가 RAW264.7 세포에서의 NO의 생성에 미치는 영향

마우스 대식세포인 RAW264.7 세포를 정상(NG; 5 mM) 또는 고농도(HG; 25 mM)의 글루코스를 포함하는 배지에서 5주간 사전 배양한 후, 다양한 농도의 *P. gingivalis* LPS를 가하여 24시간 배양하였다. HG 및 NG 모두에서 농도 의존적으로 NO의 생성이 증가하였으며, HG에서 5주간 사전 배양한 후 10 μ g/ml의 LPS를 가한 세포에서는, NG에서 5주간 사전 배양한 세포에 비해, 약 6.4배(21.2 vs. 3.3 μ M)의 NO를 생성하였다(Fig. 1).

NG 또는 HG 배지에서 RAW264.7 세포를 5주간 사전 배양한 후, 다양한 농도의 *P. intermedia* LPS를 가하여 24시간 배양하였다. HG 및 NG 모두에서 농도 의존적으로 NO의 생성이 증가하였으며, HG에서 5주간 사전 배양한 후 10 μ g/ml의 LPS를 가한 세포에서는, NG에서 5주간 사전 배양한 세포에 비해, 약 1.6배(45.7 vs. 28.3 μ M)의 NO를 생성하였다(Fig. 2).

2. 고농도의 글루코스가 분화시킨 THP-1 세포에서의 염증성 cytokine의 생성에 미치는 영향

인체 단핵구 세포주인 THP-1을 PMA로 처리하여 대식세포로 분화시킨 후 NG 또는 HG 배지에서 4주간 사전 배양한 후, 다양한 농도의 *P. intermedia* LPS를 가하여 24시간 배양하였다. HG 및 NG 모두에서 농도 의존적으로 IL-6의 생성이 증가하였으며, HG에서 4주간 사전 배양한 후 10 μ g/ml의 LPS를 가한 세포에서는, NG에서 4주간 사전 배양한 세포에 비해, 약 1.4배(1.4 vs. 1.0 ng/ml)의 IL-6를 생성하였다(Fig. 3). 또한, HG 및 NG 모두에서 농도 의존적으로 TNF- α 의 생성이 증가하였으며, HG에서 4주간 사전 배양한 후 10 μ g/ml의 LPS를 가한 세포에서는, NG에서 4주간 사전 배양한 세포에 비해, 약 1.5배(9.1 vs. 5.9 ng/ml)의 TNF- α 를 생성하였다(Fig. 4).

3. 고농도의 글루코스가 U937 세포에서의 염증성 cytokine의 생성에 미치는 영향

인체 단핵구 세포주인 U937 세포를 NG 또는 HG 배지에서 0~4주간 사전 배양한 후, 10 µg/ml의 *P. gingivalis* LPS를 가하여 24시간 배양하였다. 시간의 경과에 따라 HG에서의 IL-8 생성이 현저히 증가되었으며, HG에서 4주간

사전 배양한 U937 세포에서는 NG에서 4주간 사전 배양한 세포에 비해 약 2.7배(0.35 vs. 0.13 ng/ml)의 IL-8을 생성하였다(Fig. 5). 한편, HG에서 4주간 사전 배양한 후 10 µg/ml의 *P. intermedia* LPS로 처리한 U937 세포에서도 시간의 경과에 따라 HG에서의 IL-8 생성이 현저히 증가되었으며, NG에서 4주간 사전 배양한 세포에 비해 약 4.9배(0.49 vs. 0.10 ng/ml)의 IL-8을 생성하였다(Fig. 6).

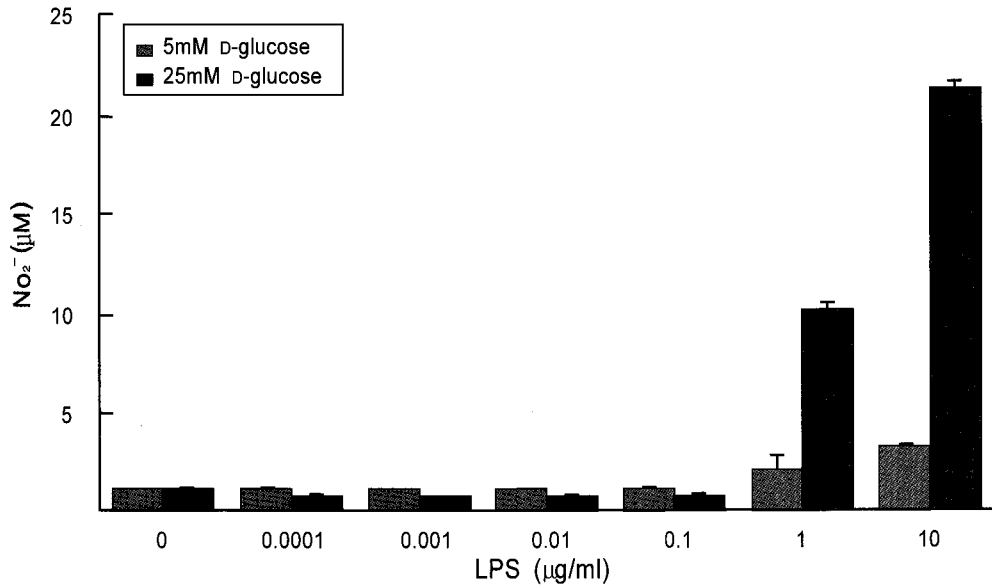


Figure 1, The effect of pre-exposure to high glucose on *Porphyromonas gingivalis* LPS-stimulated nitric oxide (NO) production, RAW264.7 cells were incubated in medium containing normal glucose (5 mM, gray bars) or high glucose (25 mM, hatched bars) for 5 weeks and then treated with increasing concentrations of *P. gingivalis* LPS for 24 h. Supernatants were removed and assayed for NO. The results are means±standard deviation of four experiments.

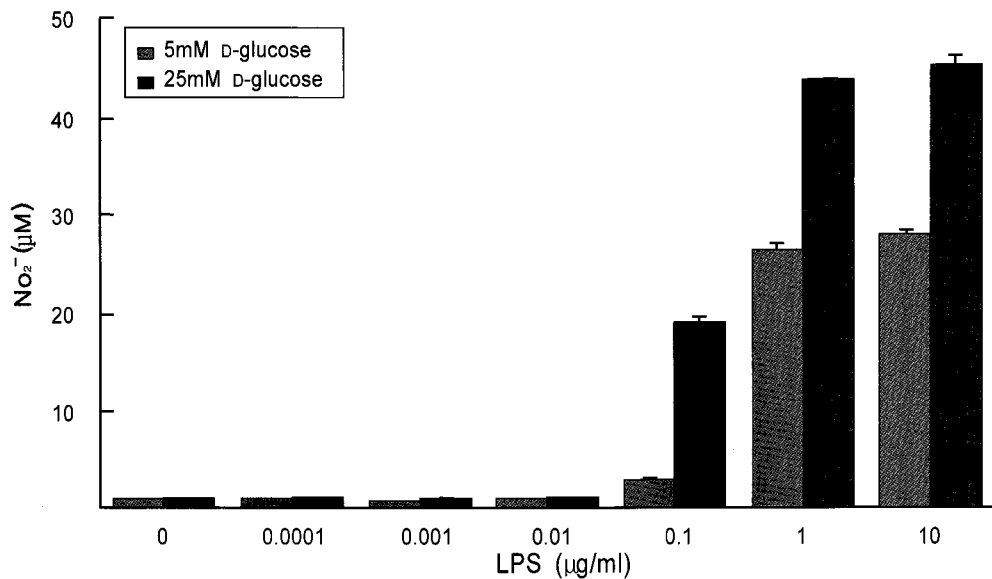


Figure 2, The effect of pre-exposure to high glucose on *Prevotella intermedia* LPS-stimulated nitric oxide (NO) production, RAW264.7 cells were incubated in medium containing normal glucose (5 mM, gray bars) or high glucose (25 mM, hatched bars) for 5 weeks and then treated with increasing concentrations of *P. intermedia* LPS for 24 h. Supernatants were removed and assayed for NO. The results are means±standard deviation of four experiments.

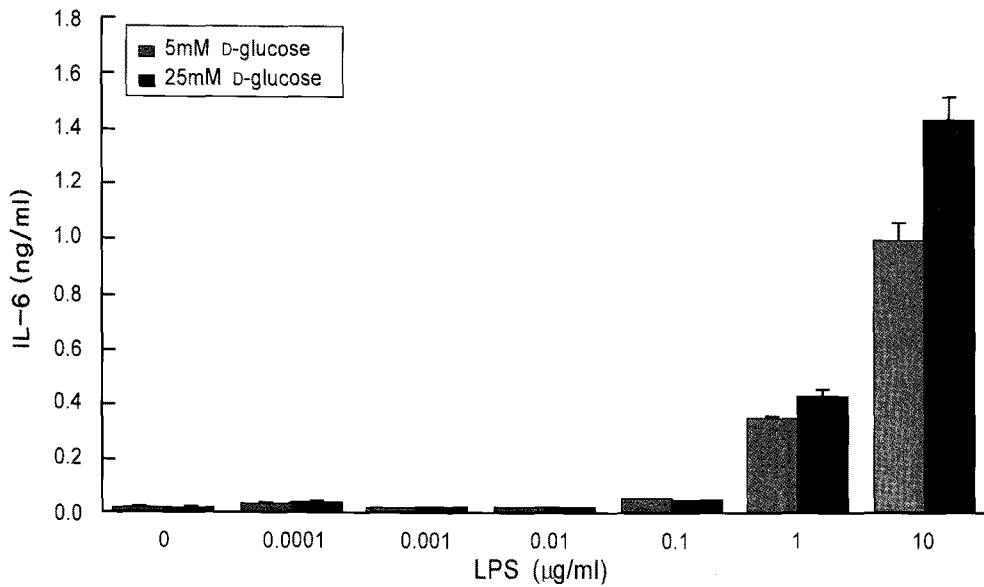


Figure 3. The effect of pre-exposure to high glucose on *Prevotella intermedia* LPS-stimulated IL-6 production. Differentiated THP-1 cells were incubated in medium containing normal glucose (5 mM, gray bars) or high glucose (25 mM, hatched bars) for 4 weeks and then treated with increasing concentrations of *P. intermedia* LPS for 24 h. Supernatants were removed and assayed for IL-6. The results are means±standard deviation of four experiments.

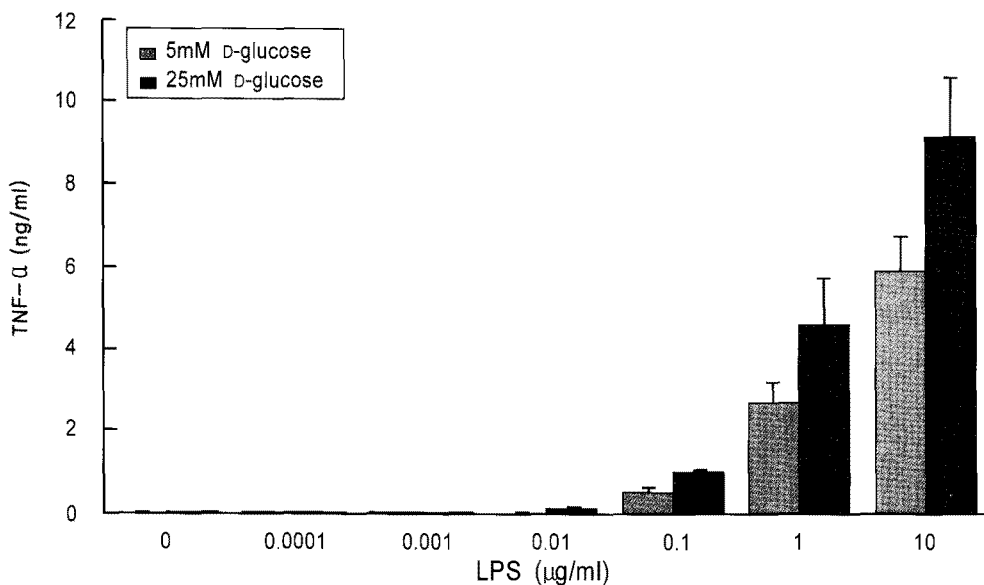


Figure 4. The effect of pre-exposure to high glucose on *Prevotella intermedia* LPS-stimulated TNF-α production. Differentiated THP-1 cells were incubated in medium containing normal glucose (5 mM, gray bars) or high glucose (25 mM, hatched bars) for 4 weeks and then treated with increasing concentrations of *P. intermedia* LPS for 24 h. Supernatants were removed and assayed for TNF-α. The results are means±standard deviation of four experiments.

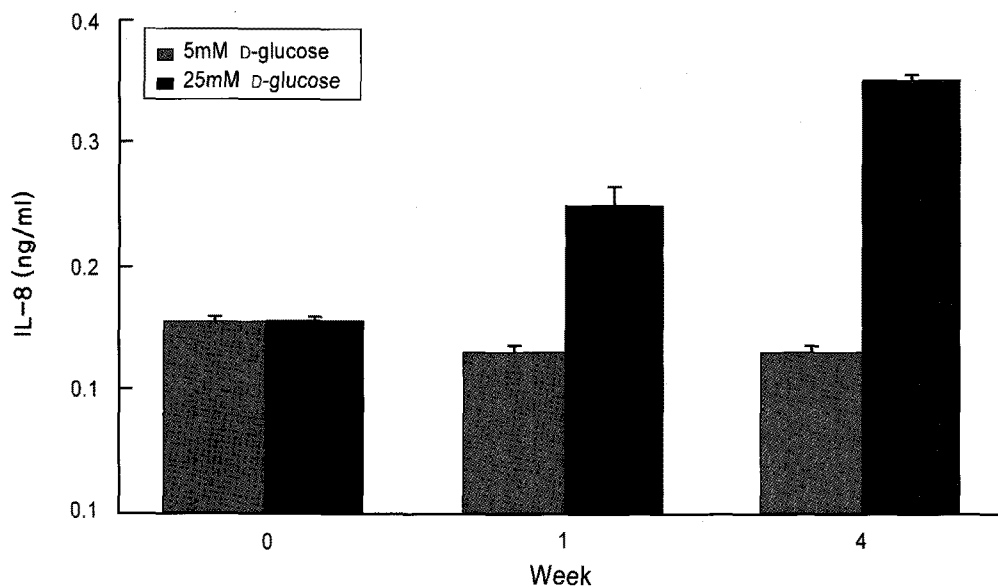


Figure 5. The effect of pre-exposure to high glucose on *Porphyromonas gingivalis* LPS-stimulated IL-8 production, U937 cells were incubated in medium containing normal glucose (5 mM, gray bars) or high glucose (25 mM, hatched bars) for 0, 1, or 4 weeks and then treated with 10 µg/ml of *P. gingivalis* LPS for 24 h. Supernatants were removed and assayed for IL-8. The results are means±standard deviation of four experiments.

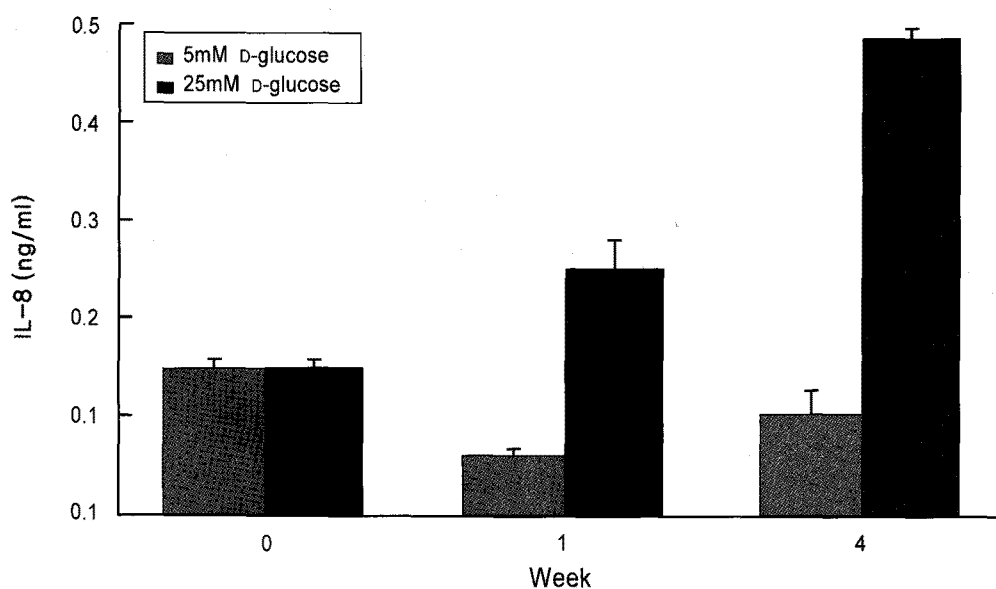


Figure 6. The effect of pre-exposure to high glucose on *Prevotella intermedia* LPS-stimulated IL-8 production, U937 cells were incubated in medium containing normal glucose (5 mM, gray bars) or high glucose (25 mM, hatched bars) for 0, 1, or 4 weeks and then treated with 10 µg/ml of *P. intermedia* LPS for 24 h. Supernatants were removed and assayed for IL-8. The results are means±standard deviation of four experiments.

고찰

고농도의 글루코스가 치주질환 주요 병인균주인 *P. gingivalis*와 *P. intermedia*의 LPS에 의한 단핵구 및 대식세포에서의 NO와 각종 염증성 cytokine 등의 염증 매개물질의 생성과 발현에 미치는 영향을 규명하기 위해 본 연구가 수행되었다. *P. gingivalis*와 *P. intermedia*는 성인성 치주염 환자의 치주낭 내에 우세하게 존재하는 치주질환 주요 병인균주 중의 하나이며¹³, *P. intermedia*는 급성괴사성괴양성 치은염과 임신성 치은염 환자의 치은연하치태에도 빈번히 존재한다^{14,15}. 한편, 인간의 치은열구액은 약 87 mg% (4.8 mM)의 글루코스를 함유하고 있으며¹⁶, 당뇨병 환자의 경우에는 열구액 내의 글루코스 농도가 170 mg% (9.4 mM)까지 증가하는 것으로 알려져 있다¹⁷.

본 연구의 결과를 종합하여 보면, 고농도의 글루코스에 의해 RAW264.7 세포와 U937 세포에서의 *P. gingivalis* LPS에 의한 NO 및 IL-8의 생성이 각각 현저히 증가되었으며, 이 중 RAW264.7 세포에서의 NO 생성이 가장 뚜렷이 증가하였다. 또한, 고농도의 글루코스에 의해 RAW264.7 세포, 분화시킨 THP-1 세포, 그리고 U937 세포에서의 *P. intermedia* LPS에 의한 NO, IL-6 및 TNF- α , 그리고 IL-8의 생성도 각각 현저히 증가되었으며, 이 중 U937 세포에서의 IL-8 생성이 가장 뚜렷이 증가하였다.

LPS는 *P. gingivalis*와 *P. intermedia*와 같은 그람음성 세균의 세포벽 외막에 존재하는 주요성분 중의 하나로 대식세포를 포함한 다양한 숙주세포를 자극하여 NO, IL-6, IL-8, 그리고 TNF- α 와 같은 염증 매개물질의 생성과 분비를 유도할 수 있다. NO는 대식세포와 같은 면역세포에 의해 생성되어 각종 생리 및 병리적 과정에 있어 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. NO는 각종의 조직에 존재하는 nitric oxide synthase(NOS)에 의해 L-arginine으로부터 생성된다. Neuronal NOS, endothelial NOS, 그리고 inducible NOS(iNOS) 등 3종의 NOS가 존재하며, 이 중 NOS-2라고도 불리는 iNOS는 세균 감염 시 LPS와 각종 염증성 cytokine 등의 염증성 자극에 의해 대식세포를 포함한 다양한 세포에서 발현된다¹⁸. iNOS가 일단 발현되면 장기간 다량의 NO가 생성되어 염증 시의 세포독성에 관여하는 것으로 여겨진다. NO는 새로운 유형의 염증 매개물질로 주목 받고 있다. NOS 활성화와 NO 생성을 억제함으로써 골관절염

과 사구체 신염 등 염증성 질환의 진행과 심도를 억제할 수 있음이 밝혀진 바도 있다¹⁹. NO는 다른 염증성 질환에서와 마찬가지로 염증성 치주질환에 있어서도 중요한 역할을 하는 것으로 여겨진다. 치주질환 시 NO의 생성이 증가하며²⁰, 만성치주염에 이환된 치은조직 내에는 iNOS 단백질과 mRNA가 건강한 치주조직에 비해 고농도로 존재하고^{21,22}, 치주조직 내에서의 iNOS의 주 공급원으로는 대식세포, 다형핵 백혈구, 섬유아세포, 그리고 혈관 내피세포 등을 들 수 있다^{21,22}. 또한, 치주질환 병인균주인 *P. intermedia*의 LPS는 대식세포에서 NO 생성과 iNOS의 발현을 유발하였다²³.

IL-6는 조직손상과 감염에 대한 숙주의 반응에 있어 중요한 역할을 한다. IL-6는 골흡수의 촉진 등 다양한 생물학적 활성을 가지고 있으며²⁴, 치주염을 포함한 다양한 염증성 질환의 발병에 있어 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 실제로, 치주질환 시 IL-6의 생성이 증가되며²⁵, 치주질환 병인균주에 의한 자극에 의해 치은섬유아세포에서 IL-6의 생성이 유발된다²⁶.

IL-8은 염증 시 다형핵 백혈구의 보충과 활성화에 있어 중요한 역할을 하는 강력한 염증성 cytokine이다. IL-8은 주로 단핵구에 의해 생성되며, 치주질환 이환부위에서 분리한 치은섬유아세포는 건강한 부위에서 분리한 세포에 비해 *in vitro*에서 IL-8을 더 현저히 생성하였으며²⁷, 치주질환자의 치은열구액 내에는 건강한 자에 비해 IL-8이 더 고농도로 존재한다²⁸.

TNF- α 는 염증반응에 있어 주요한 면역학적 매개물질로서 다양한 감염성질환의 발병과 진행에 있어 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. TNF- α 는 LPS 등의 다양한 자극에 의해 활성화된 대식세포 및 단핵구에 의해 주로 생성되며^{29,30}, 이들 세포에서의 LPS에 의한 TNF- α 의 생성은 전사 및 해독수준에서 조절되는 것으로 알려져 있다. Stashenko 등³¹과 Ebersole 등³²은 건강한 부위보다는 치주질환에 이환된 부위의 치은열구액과 치은조직에 TNF- α 가 고농도로 존재함을 보고한 바 있다. 또한, TNF- α 에 의해 결체조직과 치조골의 파괴가 유발될 수 있음이 Thomson 등³³, Abu-Amer 등³⁴, 그리고 Kobayashi 등³⁵에 의해 제시되었고, Assuma 등³⁶은 TNF- α 의 활성을 차단함으로써 실험적 치주염에서의 염증 반응과 치조골 소실이 억제될 수 있음을 보고한 바도 있다. 이상의 보고들은 TNF- α 가 치주질환의 발병과 진행에 있어 중요한 역할을 할 수 있음을 제시하고 있다.

고농도의 글루코스가 *in vitro*에서의 유전자 발현과 신호 활성 등에 있어 급성 또는 만성적 영향을 미칠 수 있음이 제시된 바 있으며, *in vivo*에서의 유전자 발현에 있어서도 고혈당증이 영향을 미칠 가능성이 높는데, 이는 당뇨병이 만성적인 질환이며, 세포, 조직, 그리고 기관들이 고농도의 글루코스에 장기간 노출되어 있기 때문이다. 한편, 당뇨병과 연관이 있는 치주질환 환자의 경우 고농도의 글루코스 뿐만 아니라 치주질환 병인균주의 LPS에도 장기간 노출되어 있다. 따라서, 당뇨병 환자의 경우 치주질환 병인균주의 LPS에 의한 염증 매개물질의 발현이 고혈당에 의해 증대될 가능성이 있다. 당뇨병 환자의 호중구의 기능은 흔히 저하되지만, 단핵구 및 대식세포의 기능은 증진되어 염증성 cytokine과 매개물질의 생성이 현저히 증가되어^{37,38)}, 치은열구 액 내의 염증성 cytokine의 농도가 증가될 수 있으며, 치주조직 내의 염증성 cytokine의 증가는 당뇨병 환자에서의 치주조직 파괴의 증가를 초래할 수 있다. 고농도의 글루코스가 치주질환 병인균주의 LPS에 의한 단핵구와 대식세포에서의 염증 매개물질의 생성과 발현에 미치는 영향 및 그 기전에 대한 본 연구는 비당뇨병 환자에 비해 당뇨병 환자에서 치주질환에 의한 치주조직 파괴가 왜 더 현저한지에 대한 해답을 제공해 줄 수 있을 것이다. 고농도의 글루코스가 염증 매개물질 유전자의 발현 등에 미치는 영향 및 그 기전에 관한 연구가 현재 진행 중이다.

참고문헌

1. Mealey BL. 1996 World Workshop in Clinical Periodontics. Periodontal implications: medically compromised patients. *Ann Periodontol* 1996;1:256-321.
2. Position paper. Diabetes and periodontal diseases. *J Periodontol* 1999;70:935-949.
3. Manoucher-Pour M, Spagnuolo PJ, Rodman HM, Bissada NF. Comparison of neutrophil chemotactic response in diabetic patients with mild and severe periodontal disease. *J Periodontol* 1981;52:410-415.
4. McMullen JA, Van Dyke TE, Horoszewicz HU, Genco RJ. Neutrophil chemotaxis in individuals with advanced periodontal disease and a genetic predisposition to diabetes mellitus. *J Periodontol* 1981;52:167-173.
5. Lalla E, Lamster IB, Schmidt AM. Enhanced interaction of advanced glycation end products with their cellular receptor RAGE. Implications for the pathogenesis of accelerated periodontal disease in diabetes. *Ann Periodontol* 1998;3:13-19.
6. Lin S, Sahai A, Chugh SS et al. High glucose stimulates synthesis of fibronectin via a novel protein kinase C, rap1b, and B-raf signaling pathway. *J Biol Chem* 2002;277:41725-41735.
7. Suzuki M, Akimoto K, Hattori Y. Glucose upregulates plasminogen activator inhibitor-1 gene expression in vascular smooth muscle cells. *Life Sci* 2002;72:59-66.
8. Tsiani E, Lekas P, Fantus IG, Dlugosz J, Whiteside C. High glucose-enhanced activation of mesangial cell p38 MAPK by ET-1, ANG II and platelet-derived growth factor. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002;282:E161-E169.
9. Shanmugam N, Reddy MA, Guha M, Natarajan R. High glucose-induced expression of proinflammatory cytokine and chemokine genes in monocytic cells. *Diabetes* 2003;52:1256-1264.
10. Uemura S, Matsushita H, Li W et al. Diabetes mellitus enhances vascular matrix metalloproteinase activity. Role of oxidative stress. *Circ Res* 2001;88:1291-1298.
11. Maldonado A, He L, Game BA et al. Pre-exposure to high glucose augments lipopolysaccharide-stimulated matrix metalloproteinase-1 expression by human U937 histiocytes. *J Periodont Res* 2004;39:415-423.
12. Westphal O, Jann K. Bacterial lipopolysaccharides: extraction with phenol-water and further applications of the procedure. In: RL Whistler eds. *Methods in carbohydrate chemistry*. New York: Academic Press, 1965:83-91.
13. Slots J, Bragd L, Wikstrom M, Dahlen G. The occurrence of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Bacteroides gingivalis* and *Bacteroides intermedius* in destructive periodontal disease in adults. *J Clin Periodontol* 1986;13:570-577.
14. Chung CP, Nisengard RJ, Slots J, Genco RJ. Bacterial IgG and IgM antibody titers in acute necrotizing ulcerative gingivitis. *J Periodontol* 1983;54:557-562.
15. Kornman KS, Loesche WJ. The subgingival microbial flora during pregnancy. *J Periodont Res* 1980;15:111-122.
16. Hara K, Loe H. Carbohydrate components of the gingival exudate. *J Periodontal Res* 1969;4: 202-207.
17. Ficara A, Levin M, Grower M, Kramer G. A comparison of the glucose and protein content of gingival fluid from diabetics and nondiabetics. *J Periodontal Res* 1975;10:171-175.
18. Geller DA, Nussler AK, Di Silvio M et al. Cytokines, en-

- dotoxin, and glucocorticoids regulate the expression of inducible nitric oxide synthase in hepatocytes. Proc Natl Acad Sci USA 1993;90:522-526.
19. Weinberg JB, Granger DL, Pisetsky DS et al. The role of nitric oxide in the pathogenesis of spontaneous murine autoimmune disease: increased nitric oxide production and nitric oxide synthase expression in MRL-lpr/lpr mice, and reduction of spontaneous glomerulonephritis and arthritis by orally administered NG-monomethyl-L-arginine. J Exp Med 1994;179:651-660.
 20. Matejka M, Partyka L, Ulm C, Solar P, Sinzinger H. Nitric oxide synthesis is increased in periodontal disease. J Periodont Res 1998;33:517-518.
 21. Hirose M, Ishihara K, Saito A et al. Expression of cytokines and inducible nitric oxide synthase in inflamed gingival tissue. J Periodontol 2001;72:590-597.
 22. Lappin DF, Kjeldsen M, Sander L, Kinane DF. Inducible nitric oxide synthase expression in periodontitis. J Periodont Res 2000;35:369-373.
 23. Kim SJ, Ha MS, Choi EY, Choi JI, Choi IS. *Prevotella intermedia* lipopolysaccharide stimulates release of nitric oxide by inducing expression of inducible nitric oxide synthase. J Periodont Res 2004;39:424-431.
 24. Ishimi Y, Miyaura C, Jin CH et al. IL-6 is produced by osteoblasts and induce bone resorption. J Immunol 1990;145:3897-3903.
 25. Guillot JL, Pollock SM, Johnson RB. Gingival interleukin-6 concentration following phase I therapy. J Periodontol 1990;66:667-672.
 26. Takada H, Mihara J, Morisaki I, Hamada S. Production of cytokines by human gingival fibroblast, 1991:265-276. In S Hamada, SC Holt, and JR McGhee (ed.), Periodontal disease: pathogenesis and host immune response. Quintessence, Tokyo.
 27. Dongari-Bagtzoglou AI, Ebersole JL. Increased presence of interleukin-6 (IL-6) and IL-8 secreting fibroblast subpopulations in adult periodontitis. J Periodontol 1998;69:899-910.
 28. Gamonal J, Acevedo A, Bascones A, Jorge O, Silva A. Characterization of cellular infiltrate, detection of chemokine receptor CCR5 and interleukin-8 and RANTES chemokines in adult periodontitis. J Periodont Res 2001;36:194-203.
 29. Shapira L, Soskolne WA, Sela MN, Offenbacher S, Barak V. The secretion of PGE2, IL-1 beta, IL-6, and TNF alpha by adherent mononuclear cells from early onset periodontitis patients. J Periodontol 1994;65:139-146.
 30. Shapira L, Champagne C, van Dyke TE, Amar S. Strain-dependent activation of monocytes and inflammatory macrophages by lipopolysaccharide of *Porphyromonas gingivalis*. Infect Immun 1998;66:2736-2742.
 31. Stashenko P, Jandinski JJ, Fujiyoshi P, Rynar J, Socransky SS. Tissue levels of bone resorptive cytokines in periodontal disease. J Periodontol 1991;62:504-509.
 32. Ebersole JL, Singer RE, Steffensen B, Filloon T, Kornman KS. Inflammatory mediators and immunoglobulins in GCF from healthy, gingivitis and periodontitis sites. J Periodont Res 1993;28:543-546.
 33. Thomson BM, Mundy GR, Chambers TJ. Tumor necrosis factors alpha and beta induce osteoblastic cells to stimulate osteoclastic bone resorption. J Immunol 1987;138:775-779.
 34. Abu-Amer Y, Ross FP, Edwards J, Teitelbaum SL. Lipopolysaccharide-stimulated osteoclastogenesis is mediated by TNF via its p55 receptor. J Clin Invest 1997;100:1557-1565.
 35. Kobayashi K, Takahashi N, Jimi E et al. Tumor necrosis factor alpha stimulates osteoclast differentiation by a mechanism independent of the ODF/RANKL-RANK interaction. J Exp Med 2000;191:275-286.
 36. Assuma R, Oates T, Cochran D, Amar S, Graves DT. IL-1 and TNF antagonists inhibit the inflammatory response and bone loss in experimental periodontitis. J Immunol 1998;160:403-409.
 37. Salvi GE, Yalda B, Collins JG et al. Inflammatory mediator response as a potential risk marker for periodontal diseases in insulin-dependent diabetes mellitus patients. J Periodontol 1997;68:127-135.
 38. Salvi GE, Collins JG, Yalda B et al. Monocytic TNF-a secretion patterns in IDDM patients with periodontal diseases. J Clin Periodontol 1997;24:8-16.

