

知覺過敏性 齒牙 齒髓組織의 Arachidonic Acid Metabolism 에 關한 研究

전북대학교 치과대학 치과보존학 교실

이경희 · 손호현

Abstract

ARACHIDONIC ACID METABOLISM IN HYPERSENSITIVE HUMAN DENTAL PULP

Kyung Hee Lee, D. D. S., M. S. D., Ho Hyun Son, D. D. S., Ph.D.

Department of Operative Dentistry, College of Dentistry, Chonbuk National University

Human dental pulps obtained from normal teeth, hypersensitive teeth and teeth with inflamed pulp were studied to measure and to compare the endogenous levels of arachidonic acid metabolites in order to see the relative activities of the different pathways involved in arachidonic acid metabolism. Pulp homogenates were incubated with ¹⁴C-arachidonic acid and lipid solvent extracts were separated by thin layer chromatography (TLC) to be analyzed by autoradiography and TLC analyzer.

1. The most significant metabolite was HETEs showing 96.9 ± 37.8 pmol/mg tissue protein/hr in normal pulp, 169.2 ± 76.7 in hypersensitive pulp and 385.4 ± 113.2 in inflamed pulp. In normal pulp LTB_4 , 6-keto-PGF_{1 α} +PGE₂, TXB₂ and unidentified metabolite were formed in decreasing order. While in hypersensitive and inflamed pulp 6-keto-PGF_{1 α} +PGE₂, LTB_4 , TXB₂ and unidentified metabolite were formed in decreasing order.
2. In hypersensitive pulp only HETEs were significantly increased when compared with that in normal pulp. The levels of all the converted metabolites in inflamed pulp were significantly increased compared with those in normal pulp. In inflamed pulp, the levels of TXB₂ and HETEs were significantly increased compared with those in hypersensitive pulp.
3. The ratio of each metabolites to the total converted metabolites showed an increased value of TXB₂ and 6-keto-PGF_{1 α} +PGE₂, as the degree of inflammation was increased, while that of HETEs decreased both in hypersensitive pulp and inflamed pulp more than in normal pulp.
4. The relative amounts of the total metabolites formed in lipoxygenase pathway to cyclo-oxygenase pathway were 6.8 fold in normal pulp, 4.4 fold in hypersensitive pulp and 3.8 fold in inflamed pulp.

Abbreviations :

HETEs ; 15-HETE + 12-HETE + 5-HETE

15-HETE ; 15-hydroxy-eicosatetraenoic acid

12-HETE ; 12-hydroxy-eicosatetraenoic acid

5-HETE ; 5-hydroxy-eicosatetraenoic acid

LTB_4 ; leukotriene B₄

6-keto-PGF_{1 α} ; 6-keto-prostaglandin F_{1 α}

PGE₂ ; prostaglandin E₂

TXB₂ ; thromboxane B₂

I. 서 론

치아의 치수조직은 혈행이 풍부한 결체조직¹⁾으로써 경조직으로 둘러 쌓여 있으며 물리적, 화학적 또는 세균등의 자극에 의해 치수 염증을 유발한다. 치수 염증시의 혈관계 변화는, 경조직으로 둘러 쌓여있는 환경요인에 의해 치수 내압을 상승시키며 환자는 심한 동통을 경험하게 되고 자극이 계속되면 치수조직은 쉽게 괴사에 이르게 된다²⁾. 이 과정에 많은 endogenous chemical mediators가 관여하며, 이들 가운데는 histamine, bradykinin, 5-hydroxytryptamine 그리고 arachidonic acid(AA)의 효소에 의해 전환된 여러 대사산물들이 포함된다^{3,4)}.

염증조직의 세포막 Phospholipid에서 유리된 AA는 cyclo-oxygenase pathway에서 prostaglandins(PGs)와 thromboxanes(TXs), lipoxygenase pathway에서 hydroxy-eicosatetraenoic acids(HETEs), hydroperoxy-eicosatetraenoic acids(HPETEs) 그리고 leukotrienes(LTs)를 대사산물로써 형성하며, 염증 과정중 혈관확장⁵⁾, 혈관 투과성의 증가⁶⁾, 골 흡수⁷⁾, 혈류⁸⁾, chemotaxis⁹⁾ 그리고 동통^{10,11)} 등에 관여하고 있음이 보고되었다.

Türker와 Türker¹²⁾에 의해 치아 치수조직에서 PGs 합성이 확인된 이래, Ahlberg¹³⁾는 개의 치아 치수조직에서 PGs 합성 억제물질에 의해 nerve impulses가 차단됨을 보고하였고, Hirafuji와 Ogura¹⁴⁾는 rat의 치아 치수조직에서 prostaglandin E₂ (PGE₂), prostaglandin F_{2α} (PGF_{2α}), prostaglandin I₂ (PGI₂)와 thromboxane A₂ (TXA₂)의 합성을 측정하였다. Cohen 등¹⁵⁾은 사람의 치아에서 염증상태 치수조직이 증상이 없는 치아의 치수조직보다 PGE₂, PGF_{2α}의 농도가 높음을 보고하였고 Lessard 등¹⁶⁾은 개의 치수조직이 자극되었을 때 PG, TX와 LT의 endogenous level이 상승함을 보고하였다.

한편 AA의 대사산물인 PGs는 aspirin과 nonsteroidal anti-inflammatory agents에 의하여 합성이 억제된다¹⁷⁾는 보고 이후 특히 주목의 대상이 되었으나 최근 AA의 대사산물 체계는 매우 복잡하며, 다른 종류의 PGs 반대 기능을 할 수 있다¹⁸⁾는 것이 확인되었다. 또한 PGs의 빠른 전환으로 인해 PGs에 대한 측정은 조직의 생리적 상태에 대한 최선의 지표가 될수 없고, AA의 대사산물중 안

정성 있는 대사산물의 농도 측정이 조직의 생리적 상태에 대한 좀더 의미있는 지표로써 이용될 수 있음이 보고되었으며¹⁹⁾ 이들 대사산물에 thromboxane B₂ (TXB₂)와 6-keto-prostaglandin F_{1α} (6-keto-PGF_{1α})가 포함된다. 또는 염증과정에서 PGs와 TXs의 역할 뿐아니라 LTs와 HETEs의 역할도 주목되고 있으며^{19,20)}, 따라서 치수염증에 대한 평가는 이들 대사산물의 측정도 필요하다고 사료된다.

사람의 치아 치수염증에서의 AA대사는 상기 보고의 거의 알려진 바 없으며, 더욱이 임상적으로 치수염의 초기상태라고 할 수 있는 과민성치아의 치수조직²⁰⁾에 대한 AA대사에 대하여 보고가 전무하므로, 본 연구에서는 사람의 정상 치수조직과 지각과민성 치아의 치수조직, 염증성 치아의 치수조직²¹⁾에서 AA대사산물을 측정 비교하고, AA대사의 두 pathway의 상대적인 활성도를 연구한 결과 다소의 지견을 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 실험재료 및 방법

실험에서 사용된 치수조직은 사람의 발치된 치아로부터 채취하였으며 치아는 각각 국소마취하에서 발치하였다. 발치전에 치아는 환자의 증상과 치수 생활력 검사방법에 따라 정상 치수조직을 가지는 치아를 1군으로, 지각과민성 치아를 2군으로, 염증성 치수조직을 가지는 치아를 3군으로 분류한 후 발치하였다. 1군에 포함시킨 치아는 지각과민성이나 치수동통의 병력이 전혀 없는 치아로 방사선 필름상 정상 소견을 보이고 치아우식, 수복물, 교모 또는 마모와 치주질환이 없으며 치수생활력검사에 정상 반응을 보이는 치아들로써 매복된 제 3대구치 또는 교정 목적으로 발치하는 소구치들을 사용하였다. 2군에 포함시킨 치아는 치수 동통의 병력은 없으나 냉자극에 과민성 반응을 수초간 나타내는 치아들로 자극원이 제거되면 지각과민을 곧 소실되며 자발통을 나타내지 않는 상태로 치아우식이나 수복물, 치근단 병소는 없으며 타진과 촉진에 반응하지 않고 전기치수생활력 검사에는 정상보다 약간 낮은 전류에서 반응하는 치아로 치주질환으로 보존 가능성이 없는 치아를 사용하였다. 이들 치아들은 임상적으로 가역성 치

수염증상태의 치아로 치수충혈 정도의 소견이 예상되는 치아들이다²¹⁾. 3군에 포함시킨 치아는 자발통의 병력을 가지며 냉, 온자극에 동통을 나타내고 자극원을 제거하여도 동통이 수분동안 지속되는 치아들로 치수에 근접한 치아우식이 있으며 치근단 병소는 없고 타진이나 촉진에 반응하지 않은 상태에서 수복이 불가능하거나 수복의 필요성이 없는 치아들을 사용하였다. 이들 치아들은 임상적으로 비가역성 치수염 상태의 치아로 치수 조직의 국소적인 피사 소견이 예상되는 치아들이다²²⁾.

발치후 치아들은 즉시 각 군이 표시된 상태에서 액화 질소에 냉동 보관하였고, 실험 전 치아를 파절시켜 치수 조직을 채취한 후 채취된 치수조직을 다시 냉동 보관하였다. 실험 직전 하나의 치아에서 채취한 치수조직의 양이 적은 경우 동일군내 치아에서 채취한 치수조직과 합하여 하나의 실험 시료로 만들어 실험하였다. 실험에 사용된 실험 시료의 수는 1군에서 17개, 2군에서 12개, 3군에서 9개 이었다.

실험에 사용된 시약으로 [1-¹⁴C]-Arachidonic acid (51.3m ci/m mol)는 New England Nuclear 제품을 사용하였고 표준 시약으로써 leukotriene B₄ (LTB₄), 12-hydroxy-eicosatetraenoic acid(12-HETE), 15-hydroxy-eicosatetraenoic acid(15-HETE), 5-hydroxy-eicosatetraenoic acid(5-HETE), PGE₂, TXB₂, 6-keto-PGF_{1α}, unlabelled arachidonic acid 등은 Sigma Chemical Co. 제품을 사용하였다. 이외의 모든 시약은 특급 시약을 사용하였다.

효소반응 및 AA 대사산물의 추출을 위하여 치수조직은 0.2M Tris-HCl buffer (pH 8.0)로 세척한 후 homogenizer (Con-Torque Eberbach)로 0.2M Tris-HCl buffer (pH 8.0)하에서 균질화 하여 1200 xg 상청액을 효소원으로 사용하였다. 이들 모든 과정은 4°C에서 5분 이내에 시행하였으며 단백질 함량은 Lowry 등²³⁾방법에 준하여 측정하였다. 상청액 2ml에 ¹⁴C-arachidonic acid (0.2 μci)를 주입하여 37°C에서 1시간 동안 반응 시켰으며 acetone 1.5ml로 반응을 종료 시킨다음 acetone 증발시키고 pH 3.0의 산성 조건하에서 diethyl ether로 추출하였다. Diethyl ether 추출 후 ether는 증발시키고 추출물은 chloroform-methanol (2:1)에 녹여

이를 thin layer chromatograph (TLC)분리에 이용하였다.

Chromatograph를 위해 ether 추출물은 thin layer chromatograph plate(Silica Gel G₆₀ 0.25mm thickness, 5×20cm precoated glass plates)에 점적하여 solvent system (chloroform-methanol-acetic acid, 90:5:2, V:V:V)으로 전개시켰다. Chromatograph 한 후의 TLC plate 내의 분리된 산물들은 TLC analyzer (Berthold LB 2820-1)로 분석하였으며 plate는 1주일 동안 deep freezer에 보관한 후 autoradiography 하여 비교 확인하였다. 치수조직의 ether 추출물을 chromatograph 하면서 대사산물의 위치를 비교 확인하기 위해 표준시약을 동시에 전개시키고 UV lamp (short wave 254 nm)로 확인하였다. TLC plate는 사용하기전 120°C에서 30분간 건조시킨 다음 식혀서 사용하였으며 TLC plate 끝쪽에서 2.5cm 되는 곳에 출발선을 표시하고 이곳에 점적하여 출발선에서 16.5cm 되게 전개시켰다. 점적된 TLC plate는 전개통 속에 수직방향으로 세워 상승식 전개 방법을 이용하였다.

각 실험 시료로부터 6-keto-PGF_{1α}와 PGE₂, TXB₂, HETEs(5-HETE+12-HETE+15-HETE), LTB₄, 등을 확인하고 전환율과 합성량을 측정하고 통계처리 후 각 군간의 차이에 대한 유의성 검증을 하였고 cyclo-oxygenase pathway의 대사산물과 lipoxygenase pathway의 대사산물의 상대적 비율의 변동 여부를 평가하였다.

III. 실험성적

Fig. 1은 ¹⁴C-arachidonic acid (¹⁴C-AA) 대사산물을 TLC analyzer로 분석한 TLC chromatogram으로 각 군에서 생성된 대사산물에 차이가 있음이 관찰되었다. 각각의 치수 상태에서 대사산물의 전환율은 Table 1에 나타나있다. 전체 사용한 ¹⁴C-AA의 80% 이상이 전환되지 않은 상태로 측정되었으며 TXB₂, 6-keto-PGF_{1α}, PGE₂, HETEs와 미확인 band가 관찰되었다. Autoradiogram 상에서 6-keto-PGF_{1α}와 PGE₂가 몇 시료에서 분리되어 나타났으나 동일 plate에 대한 chromatogram은 분리되지 않은 하나의 peak로 기록되었고, 5-HETE, 12-HETE, 15-HETE는 시료중 몇 경우에서 autora-

diogram 상에서 분리되었으나 chromatogram 에서는 분리되지 않은 하나의 peak 로 기록되었다. 관찰된 대사산물 중 HETEs 로의 전환이 가장 많았으며,

정상 치수조직에서는 $1.2 \pm 0.8\%$, 과민성 치수조직에서는 $1.4 \pm 0.7\%$, 염증성 치수조직에서는 $2.7 \pm 1.1\%$ 의 전환율을 나타내었다.

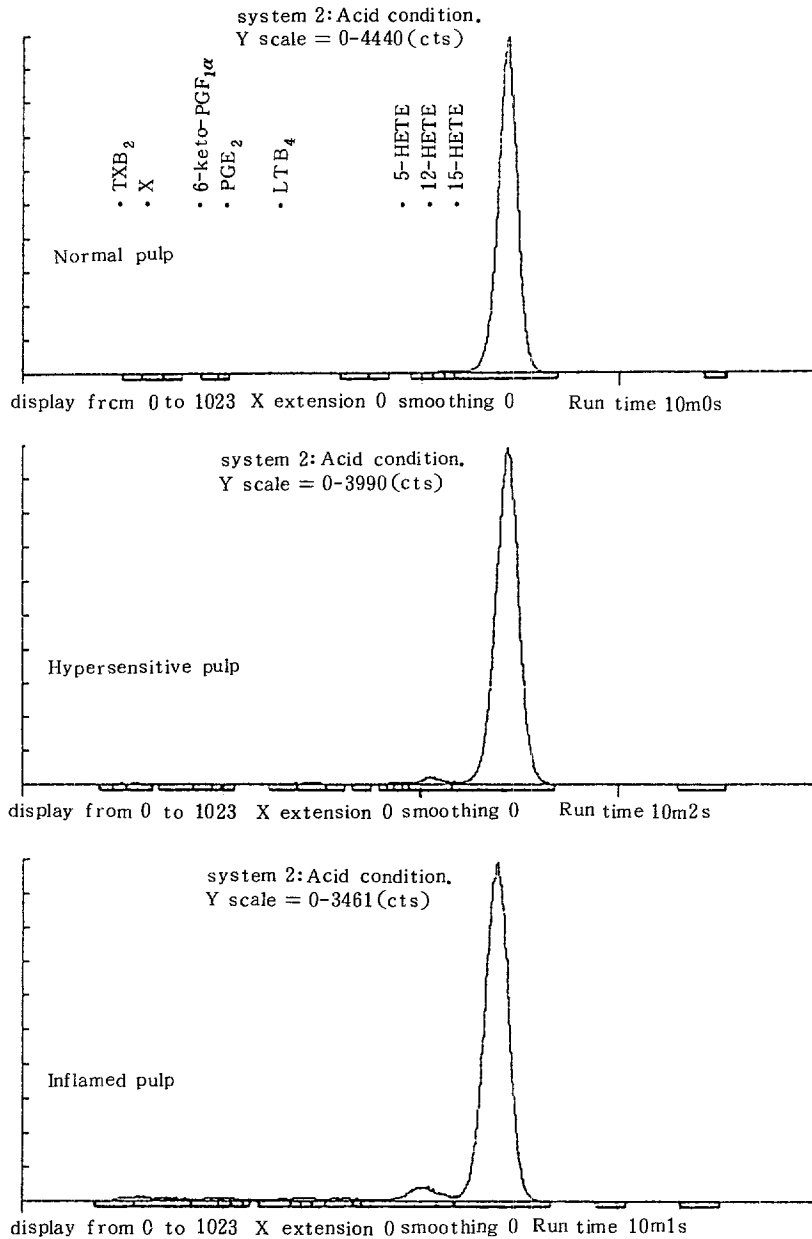


Fig. 1. The thin layer radiochromatogram of metabolites obtained after incubation of homogenates of pulp tissue with ¹⁴C-arachidonic acid. Solvent system: chloroform-methanol-acetic acid (90:5:2 v/v/v)

Table 1. Separation of conversion products of ¹⁴C-arachidonic acid in pulp tissue by thin layer chromatography

Conversion products	% Total radioactivity(Mean± S.D.)		
	Normal pulp	Hypersensitive pulp	Inflamed pulp
TXB ₂	0.1±0.1	0.2±0.0	0.4±0.1
X	0.1±0.0	0.2±0.1	0.2±0.2
6-keto-PGF _{1α} +PGE ₂	0.1±0.0	0.2±0.2	0.4±0.2
LTB ₄	0.2±0.1	0.2±0.1	0.4±0.2
HETE _s	1.2±0.8	1.4±0.7	2.7±1.1

X: Unidentified product

HETE_s: 5-HETE+12-HETE+15-HETE

Fig. 2, Fig. 3, Fig. 4는 각각의 치수상태에서 각 대사산물의 전환율을 중앙값과 4분위수로 비교한 도표로써 정상 치수조직과 과민성 치수조직에서 HETE_s를 제외하고 TXB₂, 6-keto-PGF_{1α}+PGE₂, TXB₄와 미확인 산물의 전환율은 비슷하나 염증성 치수조직내에서 미확인 산물의 전환율이 다른 대사산물의 전환율에 비하여 낮게 나타났다.

Table 2에 각 치수조직 상태에서 형성된 대사산물의 농도를 표시하였는바, 각 치수 상태 공히 농도의 절대값에서 HETE_s가 가장 높았으며, 정상 치수조직에서 LTB₄, 6-keto-PGF_{1α}+PGE₂, TXB₂, 미확인 산물의 순서로 낮아졌고 과민성 치수 조직과 염증성 치수조직에서 6-keto-PGF_{1α}+PGE₂, LTB₄

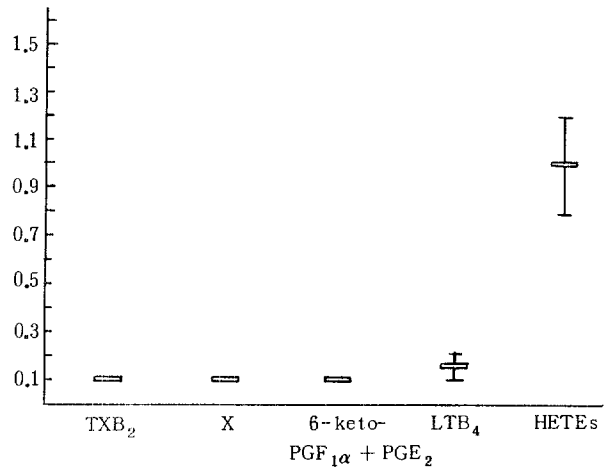


Fig. 2. Median and quartiles of % radioactivity of conversion products in normal pulp tissue. (box : median, whisker plot : quartile)

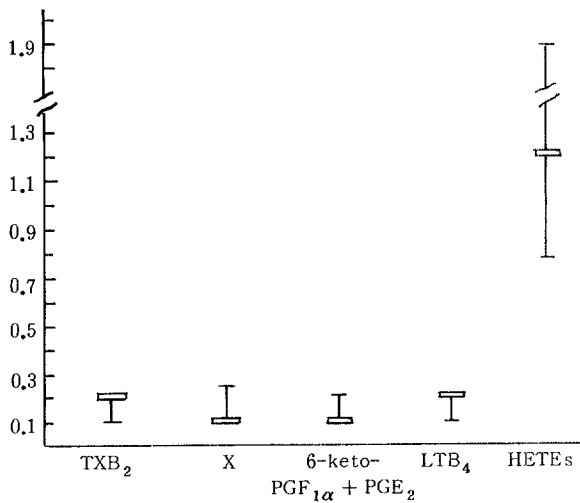


Fig. 3. Median and quartiles of % radioactivity of conversion products in hypersensitive pulp tissue. (box : median, whisker plot : quartile)

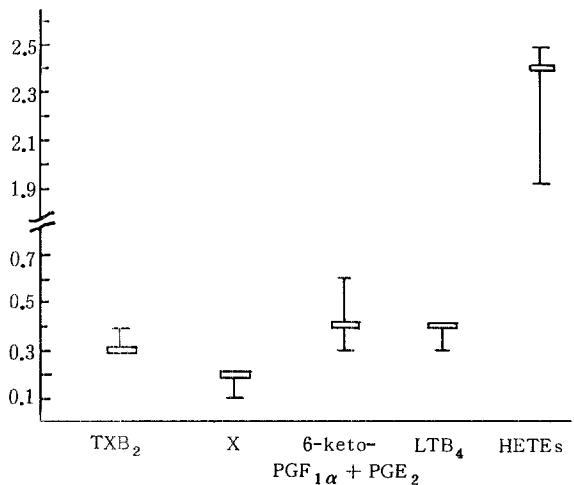


Fig. 4. Median and quartiles of % radioactivity of conversion products in inflamed pulp tissue. (box : median, whisker plot : quartile)

4. TXB₂, 미확인 산물의 순서로 낮아졌다. Table 2와 Fig.5에서 각 치수 상태에 따라 각각의 대사산물의 농도의 증가를 살펴볼 수 있는 바, 정상 치수조직에 비해 과민성 치수조직에서는 HETE_s만이 유의성 있는 증가(P<0.05)를 보였고, 염증성 치수조직에서는 미확인 대사산물을 제외하고 확인된 산물 모두에서 유의성 있는 증가(P<0.05)를 보

였다. 과민성 치수조직에 비해 염증성 치수조직에서는 TXB₂와 HETE_s가 유의성 있는 증가(P<0.05)를 나타내었다.

전환된 전체 대사산물 중에서 확인 가능한 대사산물 각각의 구성비를 보면 cyclo-oxygenase(C) 효소제 산물이 TXB₂와 6-keto-PGF_{1α}+PGE₂는 치수조직의 염증이 진행될수록 전환된 전체 대사

Table 2. Concentration of conversion products of ¹⁴C-arachidonic acid in pulp tissues.(pmol/mg tissue protein/hr)

	TXB ₂	X	6-keto-PGF _{1α} +PGE ₂	LTB ₄	HETE _s
Normal pulp	13.9± 10.0	11.7± 1.9	14.8± 6.8	17.5± 8.4	96.9± 37.8
Hypersensitive pulp	19.6± 4.9	19.1± 10.7	31.8± 27.8	30.9± 17.6	169.2± 76.7*
Inflamed pulp	42.1± 15.4**	30.3± 20.9	51.1± 23.6**	45.2± 20.6**	385.4± 113.2**

** : p<0.01, * : p<0.05

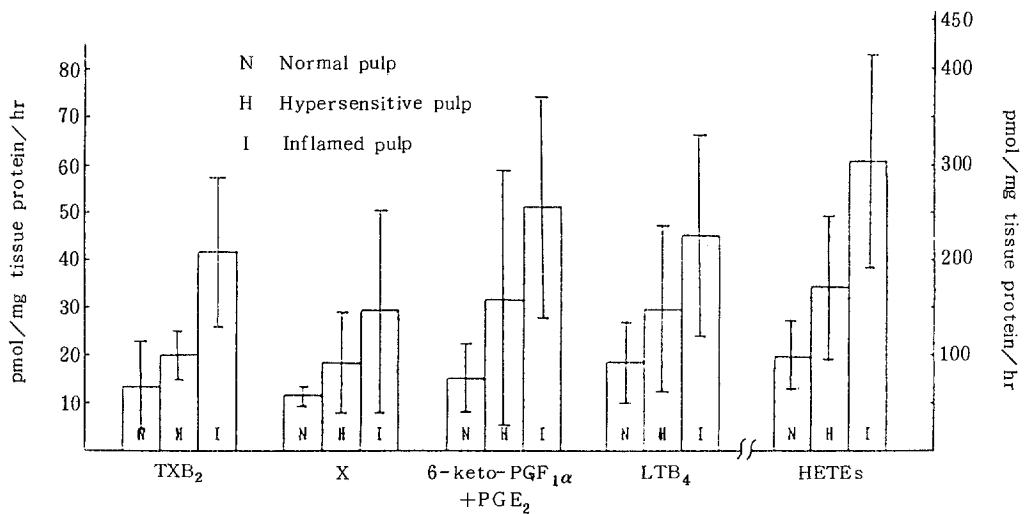


Fig. 5. Concentration of conversion products of ¹⁴C-arachidonic acid in pulp tissues.

Table 3. % of each metabolite in total converted metabolites

Conversion metabolites	Normal pulp	Hypersensitive pulp	Inflamed pulp
TXB ₂	4.4	7.7	9.0
X	2.4	7.7	5.2
6-keto-PGF _{1α} + PGE ₂	4.4	9.3	10.9
LTB ₄	8.0	9.7	9.5
HETE _s	80.8	65.6	65.4

Table 4. Comparison of the total concentration of metabolites from lipoxygenase and cyclo-oxygenase pathways.

	Cyclo-oxygenase metabolite (C)	Lipoxygenase metabolite (L)	L/C ratio
Normal pulp	16.1 ± 15.7	110.0 ± 41.6	6.8
Hypersensitive pulp	45.0 ± 30.5	197.0 ± 84.3	4.4
Inflamed pulp	93.2 ± 35.3	350.7 ± 130.6	3.8

pmol/mg tissue protein/hr

Table 5. Statistical analysis of total lipoxygenase and cyclo-oxygenase metabolites among different pulp status by ANOVA and Scheffé test.

	Cyclo-oxygenase metabolites		Lipoxygenase metabolites	
	Normal pulp	Hypersensitive pulp	Normal pulp	Hypersensitive pulp
Hypersensitive pulp	NS		NS	
Inflamed pulp	**	*	**	**

NS : Non significant, **: P<0.01, *: P<0.05

산물중 차지하는 비율이 증가하나, lipoxygenase(L) 효소계 산물인 LTB₄와 HETEs는 구성비에 있어서 상대적 감소를 보였다(Table 3). Table 4의 C 산물 총량과 L 산물 총량의 비교에 있어서도 치수조직의 염증이 진행될 수록 L 산물의 구성비가 감소되는 것으로 나타났다. Table 5에 의한 통계적 분석에 의하면 C 산물과 L 산물의 총량에 있어 정상 치수조직에 비하여 염증성 치수조직에서 유의성 있는 증가를 보였고, 과민성 치수조직에 비하여 염증성 치수조직에서 유의성 있는 증가를 보였다.

IV. 총괄 및 고안

치수 염증의 임상적 증상과 병리조직적 소견사에 정확한 관련을 짓기는 어려우나, 치수의 상태에 대한 임상적 분류를 하는 것은 치료방법의 선택, 예후판정, 치아의 수복 필요성등의 관점에서 볼때 치수의 보존 또는 희생을 결정하는 대단히 중요한 문제이며 이에 임상적 분류는 그 정당성이 인정되고 있다²⁴⁾. 이러한 임상적 분류는 환자의 주관적 증상과 객관적 진단 방법을 통하여 이루어지며 정상 치수조직을 가지는 치아, 지각과민성을 가지는 치아²¹⁾는 생활치수를 보존하는 형태의 치

료방법이 선택되며, 비가역성 급성 염증 치수조직을 가지는 치아²²⁾는 근관치료를 시행하게 된다. 본 실험에서 사용된 치수조직은 임상적 증상이나 객관적 진단방법에 의한 진단이 어려운 치아로부터는 채취되지 않았으며 그 선택에 최대한 신중을 기하였다. 본 실험에서 사용된 치수조직의 병리조직적 소견을 얻지 않았으나 보다 중요하게 고려되었던 것은 상기 언급한 치료적 관점에서 치수상태에 대한 임상적 분류이었고, 그와 같이 분류된 치아에서 채취한 치수조직내의 arachidonic acid (AA) 대사에 관하여 연구코자 하였다.

AA 대사산물인 prostaglandins (PGs), thromboxanes (TXs) 그리고 leukotrienes (LTs)는 여러 조직의 염증에 관여하고 있다¹⁸⁾. AA 대사에 대한 초기의 연구들에서 주된 관심은 PGs에 관한 것이었으며 체내에서 형성되는 주요한 PGS는 PGD₂, PGE₂, PGF_{2α}, PGI₂ TXA₂ 임이 알려졌다. 이중 PGI₂ TXA₂는 불안정하여 염증반응을 야기하는 능력을 측정하기 어려우며²⁵⁾ 체내에서는 각각 6-keto-PGF_{1α}와 TXB₂로 전환되어 이들 대사산물의 측정이 조직의 생리, 병리적 상태에 대한 의미있는 지표가 될 수 있음이 보고¹⁹⁾되었다. 또한 lipoxygenase(L) 대사산물인 LTs와 HETEs도 염증과 깊은 관련이 있

음이 보고¹⁹⁾된 바 본 연구에서는 TXB₂, 6-keto-PGF와 PGE₂, LTB₄, 그리고 12-HETE와 15-HETE, 5-HETE를 합한 HETEs의 전환율과 조직내 농도를 측정 비교하였고 염증의 진행에 따른 이들 각 산물의 변화와 cyclo-oxygenase(C) 대사산물의 총량과 L 대사산물의 총량을 비교 연구하였다.

본 연구에서는 AA 대사산물의 검출과 농도 측정에 thin layer chromatography (TLC)와 TLC analyzer, autoradiography를 이용하였다. TLC에 의해 검출된 대사산물은 radioactive하기 때문에 in vitro TLC system은 ¹⁴C-AA 전구체로부터 대사산물이 직접 형성되고 따라서 치수조직내 대사과정의 활성에 대한 정보를 제공할 수 있는 방법이다¹⁶⁾. Torabinejad와 Bakland^{26,27)}는 치수와 치근단 주위조직 질환에서 PGs가 중요한 chemical mediator임을 시사 하였으나 Hirafuji 등²⁸⁾은 쥐의 치수조직에서는 PGs의 합성이 매우 낮고 거의 검출할 수 없다고 하였다. 그러나 본 연구에서 정상 치수조직에서도 AA의 각종 대사산물을 검출할 수 있었는데 Cohen 등¹⁵⁾의 보고에 의하면 비 생리적인 PGs가 발치시 외상이나 조직의 취급시에 형성될 수 있다고 설명하였고 정상 치수조직에 비해 과민성 치수조직에서 HETEs만이 유의성 있는 증가를 보였는데 Okiji 등²⁹⁾은 치수염증의 발현에 L 대사산물이 관여하고 있다고 보고하였다. 또한 본 연구에서 정상 치수조직에 비해 염증성 치수조직에서 HETEs, 6-keto-PGF_{1α}+PGE₂, LTB₄, TXB₂가 유의성 있는 증가를 보였고 과민성 치수조직에 비해 염증성 치수조직에서 TXB₂, HETEs가 유의성 있는 증가를 보였음은 Lessard 등¹⁶⁾, Cohen 등¹⁵⁾, Okiji 등²⁹⁾의 연구 결과와 일치한다. 정상 치수조직에 비해 과민성 치수조직에서 HETEs를 제외하고 6-keto-PGF_{1α}와 PGE₂의 농도가 높게 증가 되었음은 과민성 치수조직에서 조직 소견상 특징적인 혈관 확장, 혈관충혈, 부종을 나타내는 것³⁰⁾과 깊은 관련이 있다고 사료되는 바, Ferreira와 Vane³¹⁾은 PGE₂가 부종형성에 대한 histamine과 bradykinin의 효과를 강화한다고 보고하였고 Davidson³²⁾은 PGI₂도 PGE들과 유사하게 다른 염증성 mediators 효과를 강화한다고 하였다. Williams³³⁾에 의하면 PGE₂와 PGI₂는 혈류의 증가에 강력한 효과를 가지며 bradysinin에

의해 야기된 plasma exudation을 증가시켜 염증부위의 대사이구 증가에 부응하고 항체나 보체의 공급에 기여한다고 하였다. Higgs와 Salmon³⁴⁾ Harada 등³⁵⁾은 PGI₂와 마찬가지로 PGE₂도 염증반응 초기에 혈관확장과 hyperalgesia의 중요한 mediator임을 보고하였는 바, 과민성 치수조직에서 치아의 지각과민성은 증가된 PGE₂와 6-keto-PGF_{1α}의 농도에 관련이 있을 수 있다고 사료된다. 지각과민성 치수조직에서 PGE₂와 6-keto-PGF_{1α}의 농도가 증가하였는데 Weidemann 등³⁶⁾과 Samuelsson 등³⁷⁾에 의하면 macrophage가 PGE₂와 6-keto-PGF_{1α}를 형성한다고 하였고 과민성 치수조직에서는 macrophage의 출현을 볼 수 있다. polymorphonuclear leukocytes (PMN)가 출현하는 염증성 치수조직에서 PGE₂의 농도 증가는 PMN이 PGE₂를 합성한다는 Zurier와 Sayadoff³⁸⁾, Haggis 등³⁹⁾의 보고와 관련될 수 있다고 사료된다. PGE₂는 말초동통신경을 감각시키거나 pain mediator인 bradykinin, histamine, 5-hydroxytryptamine에 반응하여 동통을 증가시키는 바^{10,11,25,31)} 염증성 치수조직에서의 동통은 이와 연관이 있다고 사료되며 또한 혈관 투과성을 증진시켜 치수내압의 상승을 초래함으로써 동통을 일으키는데 기여한다고 사료된다. Okiji 등²⁹⁾은 쥐의 염증성 치수조직에서 PGE₂의 높은 상승을 보고하였는데 본 연구에서도 사람의 염증성 치수조직에서 PGE₂와 6-keto-PGF_{1α}의 유의성 있는 증가를 나타내었다. 6-keto-PGF_{1α}는 PGI₂의 안정성 대사산물로 치수조직내 PGI₂의 생성세포는 알려지지 않고 있으나 혈관의 endothelial cell이나 smooth-muscle cell로 추정되며 강력한 혈관 확장, 혈소판 응집 억제, 혈전 형성 통제의 작용⁴⁰⁾을 하여 치수 혈관계에 항상성을 유지하는데 기여한다²⁹⁾. 혈소판에서 형성되는 것으로 알려진 TXA₂는 불안정하여 TXB₂로 전환되며 본 연구에서는 과민성 치수조직과 염증성 치수조직에서 PGE₂와 6-keto-PGF_{1α}에 비하여 적게 형성되었으며 Okiji 등²⁹⁾의 연구 결과와 일치하였다. TXA₂는 PGI₂와는 반대 기능인 혈관 축소와 혈소판 응집을 일으키는 것으로 알려졌다 TXB₂는 PMN에 대한 chemtactic effect가 있는 것으로 보고³⁴⁾되었다. 각 상태의 치수조직에서 HETEs는 가장 높은 농도로 검출되었다. 이중 12-HETE는 혈소판에 의해 형성된다고 보고^{41,42)}되었

으나 Okiji 등⁴⁰⁾은 치수조직에서는 치수조직의 fibroblasts 나 blood - vessel cells 에서 형성될 수도 있다고 하였고 Morita 와 Murota⁴³⁾는 혈소판 응집을 유도한다고 보고하였다. 12-HETE 는 또한 neutrophil chemotactic effect 를 가지는 것으로 보고^{9,44)}되었으나 5-HETE 의 효과가 훨씬 강력하며⁴⁵⁾ LTB₄는 이들보다 더욱 강력한 neutrophil chemotactic effect 를 가진다고 보고^{46,47)}되었다. 5-HETE 와 LTB₄는 neutrophil 과 eosinophil 의 특수한 몇가지 활성만을 선택적으로 강력하게 변화시켜 염증반응에서 특이한 역할을 함이 알려졌으며⁴⁴⁾ Stenson 과 Parker⁴⁸⁾는 5-HETE 와 12-HETE 는 human neutrophils 의 degranulation 을 일으킨다고 보고하였고 Higgs 등⁴⁹⁾은 15-HETE 가 강력한 lysosomal enzyme 의 유리작용이 있다고 보고하였다. 본 연구에서 각 상태의 치수조직에서 HETEs 가 가장 높은 농도로 검출되고 염증의 진행에 따라 유의성 있는 상승을 보였지만 치수 염증시 HETEs 의 역할이 알려지지 않고 있어 연구의 대상이 된다고 사료된다.

본 연구에서 LTB₄는 정상치수조직에 비해 지각 과민성 치수조직보다는 염증성 치수조직에서 유의한 상승을 보였는데 염증성 치수조직에서는 PMN 이 대량 출현하며 PMN 은 LTB₄를 생성하는 것으로 보고⁵⁰⁾된 것과 관련이 있다고 사료된다. LTB₄는 plasma exudation 에 대한 효과는 크지않으나 eosinophils 와 monocytes 에 대한 chemotactic effect 를 나타냄이 보고⁵¹⁾되었다. Dahlén 등⁵²⁾, Ford-Hutchinson 등⁵³⁾, Malmsten 등⁵⁴⁾, Plamblad 등⁵⁵⁾과 Palmer 등⁴⁷⁾에 의하면 LTB₄는 neutrophils 의 postcapillary venule 에 대한 adhesion 과 extravasation 에 강력한 효과를 가지며 염증 부위로의 migration 과 degranulation 에도 영향이 커서 급성염증반응에 지대한 역할을 하며 혈관확장 효과를 가지는 PGE₂, PGI₂와 더불어 synergistic effect 를 나타내어 염증성 edema 의 형성에 중요하다고 보고하였다.

본 연구에서 전환된 전체 대사산물에 대한 각 대사산물의 구성비는 cyclo-oxygenase 대사산물인 6-keto-PGF_{1α} 와 PGE₂, TXB₂의 경우 치수조직의 염증이 진행될수록 증가하나, lipoxygenase 대사산물인 LTB₄는 치수조직상태에 따라 거의 변화가 없으며, HETEs 는 정상 치수조직에 비해 지각과민성 치수조직과 염증성 치수조직에서 감소하였고

또한 cyclo-oxygenase 대사산물의 총량에 대한 lipoxygenase 대사산물의 총량도 염증의 진행에 따라 감소하였는데 각 상태의 치수조직에서 출현하는 염증세포의 차이에 의한 결과로 추정될 뿐 정확한 이유는 알 수 없으며 추후 연구의 대상이 된다고 사료된다. 그러나 절대량에 있어서는 각 치수상태에서 똑같이 lipoxygenase 대사산물이 cyclooxygenase 대사산물 보다 많으므로 치수염증에서 lipoxygenase 대사산물의 중요성을 인식할 수 있다. 이는 aspirin 등이 cyclo-oxygenase 를 차단하여 PGs 의 합성을 억제하고 동통을 감소⁵⁶⁾시키지만 그리하여 축적된 AA 는 lipoxygenase 대사를 거쳐 SRS-A 의 합성을 증가시킨다는 Settjane⁵⁷⁾의 보고로 미루어 보아 치수염증에서도 cyclooxygenase 대사산물뿐 아니라 lipoxygenase 대사산물도 관여할 수 있다고 추정되며 이에 대한 연구가 더 필요하다고 사료된다.

V. 결 론

본 연구는 정상 치수조직, 지각 과민성 치수조직, 염증성 치수조직에서 arachidonic acid 대사산물의 전환율과 농도를 측정, 비교하고, arachidonic acid 대사의 두 효소계의 상대적 활성도를 평가하기 위해 시행되었다. 정상 치아, 지각 과민성 치아, 그리고 비가역적 치수염을 가지는 사람의 치아에서 치수조직을 채취한 후 각각 액화 질소에 보관하였다. 실험 직전 치수조직을 꺼내어 균질화 과정을 거쳐 ¹⁴C-arachidonic acid 와 함께 배양한 후, 지질 용매에 녹인 추출물을 Thin-layer chromatography 로 분리하고 autoradiograph 와 TLC analyzer 로 분석하여 다음의 결과를 얻었다.

1. HETEs 가 치수 상태에서 가장 많이 형성되었으며 정상 치수조직에서 96.9 ± 37.8 pmol/mg tissue protein/hr, 과민성 치수조직에서 169.2 ± 76.7 그리고 염증성 치수조직에서 385.4 ± 113.2 를 나타내었다. 정상치수조직에서 LTB₄, 6-keto-PGF_{1α} + PGE₂, LTB₄, TXB₂, 미확인 산물의 순으로 적게 형성하였고, 과민성 치수조직과 염증성 치수조직에서 6-keto-PGF_{1α} + PGE₂, TXB₂, 미확인 산물의 순으로 적게 형성되었다.

2. 형성된 대사산물의 농도는 정상 치수조직에

비해 과민성 치수조직에서 HETEs 만이 유의성있는 상승($P<0.05$)을 보였으나, 염증성 치수조직에서는 미확인 산물을 제외하고 확인된 산물 모두에서 유의성 있는 상승($P<0.05$)을 보였다. 과민성 치수 조직에 비해 염증성 치수조직에서는 TXB_2 와 HE-TEs 가 유의성 있는 상승($P<0.01$)을 나타내었다.

3. 전환된 전체 대사산물에 대한 각 대사산물의 구성비는 TXB_2 와 6-keto-PGF_{1 α} + PGE₂의 경우 치수조직의 염증이 진행될수록 증가하나, LTB₄는 치수조직 상태에 따라 변화를 보이지 않았으며 HE-TEs 는 정상치수조직에 비해 지각 과민성 치수조직과 염증성 치수조직에서 감소하였다.

4. Lipoxygenase 계 대사산물인 cyclo-oxygenase 계 대사산물에 비해 정상치수조직에서 6.8배 과민성 치수조직에서 4.4 배 그리고 염증성 치수조직에서 3.8 배의 활성도를 보였다.

참 고 문 헌

- Seltzer, S. and Bender, I.B.: The Dental Pulp, 3rd ed., 105-124, J.B. Lipincott Co., 1984.
- Seltzer, S. and Bender, I.B.: The Dental Pulp, 3rd ed., 252-258, J.B. Lipincott Co., 1984.
- Seltzer, S. and Bender, I.B.: The Dental Pulp, 3rd ed., 152-161, J.B. Lipincott Co., 1984.
- Torabinejad, M., Eby, W.C. and Naidorf, I.J.: Inflammatory and immunological aspects of the pathogenesis of human periapical lesions. J. Endod. 11: 479-488, 1985.
- Crunkhorn, P. and Willis, A.L.: Actions and interactions of prostaglandins administered intradermally in rat in man. Br. J. Pharmacol. 36: 216-217, 1969.
- Willoughby, D.: Effects of prostaglandins PGF_{2 α} and PGE on vascular permeability. J. Pathol. 96: 381-387, 1968.
- Goodson, J., McClatchy, K., Revell, C.: Prostaglandin-induced resorption of the adult rat calvarium. J. Dent. Res. 53: 670-677, 1974.
- Johnston, M.G., Hay, J.B. and Movat H.Z.: The modulation of enhanced vascular permeability by prostaglandins though alteration in blood flow (hyperemia). Agents & Actions 6: 705-711, 1976.
- Turner, S.R., Tainer, J.A. and Lynn, W.S.: Biogenesis of chemotactic molecules by the arachidonate lipoxygenase system of platelets. Nature 257: 680-681, 1975.
- Houck, J. (ed.): Chemical messengers of the inflammatory process. 130-139, Amsterdam: Elsevier/North Holland Biomedical press, 1979.
- Herman, A.G. and Moncada, S.: Release of prostaglandins and incapacitation after injection of endotoxin in the knee joint of the dog Br. J. Pharmacol. 53: 465, 1975.
- Türker, M.N. and Türker, R.K.: A study on the peripheral mediators of dental pain. Experientia. 30: 932-933, 1974.
- Ahlberg, K.F.: Dose-dependent inhibition of sensory nerve activity in the feline dental pulp by anti-inflammatory drugs. Acta Physiol. Scand. 102: 434-440, 1978.
- Hirafuji, M. and Ogura, Y.: Endogenous biosynthesis of prostaglandin I₂ and thromboxane A₂ by isolated rat dental pulp. Biochem. Pharmacol. 32: 2983-2985, 1983.
- Cohen, J.S., Reader, A., Fertel, R., Beck, F.M. and Meyers, W.J.: A radiimmunoassay determination of the concentrations of prostaglandin E₂ and F_{2 α} in painful and asymptomatic human dental pulps. J. Endod. 11: 330-335, 1985.
- Lessard, G.M., Torabinejad, M. and Swope, D.: Arachidonic acid metabolism in canine tooth pulps and the effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. J. Endod. 12: 146-149, 1986.
- Vane, J.R.: Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. Nature New Biol. 231: 232-235, 1971.
- Ogburn, P.L. and Brenner, W.E.: The physiologic actions and effects of prostaglandins. 29, Kalamazoo, M.I. Upjohn Co., 1982.
- Goodwin, J.S.: Mechanism of action of nonsteroidal anti-inflammatory agents. Am. J. Med. 77: 57-64, 1984.
- Naccache, P.H. and Shaafi, R.I.: Arachidonic acid,

- Leukotriene B₄ and neutrophil activation. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 414 : 125 - 139, 1983.
21. Grossman, L.I., Oliet, S. and Del Rio, C.E. : *Endodontic practice*, 11th ed., 65 - 67, Lea & Febiger, 1988.
 22. Grossman, L.I., Oliet, S. and Del Rio, C.E. : *Endodontic practice*, 11th ed., 67 : 70, Lea & Febiger, 1988.
 23. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J. : Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193 : 265 - 275, 1951.
 24. Seltzer, S. and Bender, I.B. : *The Dental Pulp*, 3rd ed., 383, J.B. Lipincott Co., 1984.
 25. Kuehl, F.A. Jr. and Egan, R.W. : Prostaglandins, Arachidonic acid and Inflammation. *Science* 20 : 978 - 984, 1980.
 26. Torabinejad, M. and Bakland, L. : Prostaglandins : their possible role in the pathogenesis of pulpal and periapical diseases. Part I. *J. Endod.* 6 : 733 - 739, 1980.
 27. Torabinejad, M. and Bakland, L. : Prostaglandins : their possible role in the pathogenesis of pulpal and periapical diseases. Part I. *J. Endod.* 6 : 769 - 771, 1980.
 28. Hirafuji M., Satoh, S. and Ogura, Y. : Prostaglandins in rat pulp tissue. *J. Dent. Res.* 59 : 1535 - 1540, 1980.
 29. Okiji, T., Morita, I., Kobayashi, C., Sunada, I. and Murota, S. : Arachidonic acid metabolism in normal experimentally-inflamed rat dental pulp. *Arch. Oral Biol.* 32 : 723 - 727, 1987.
 30. Grossman, L.I., Oliet, S. and Del Rio, C.E. : *Endodontic practice*, 11th ed., 66, Lea & Febiger, 1988.
 31. Ferreira, S.H. and Vane, J.R. : New aspects of the mode of action of nonsteroid anti-inflammatory drugs. *Ann. Rev. Pharmacol.* 14 : 57 - 73, 1974.
 32. Davidson, E.M., Ford-Hutchinson, A.W., Smith, M.J.H. and Walker, J.R. : Prostacyclin (PGI₂) : a potential mediator of inflammation. *Br. J. Pharmacol.* 64 : 437, 1978.
 33. Williams, T.J. : Prostaglandin E₂, prostaglandin I₂ and the vascular changes of inflammation. *Br. J. Pharmacol.* 65 : 517 - 524, 1979.
 34. Higgs, G.A. and Salmion, J.A. : Cyclo-oxygenase products in carrageenin-induced inflammation. *Prostaglandins* 17 : 737 - 746, 1979.
 35. Harada, Y., Tanaka, K., Uchida, Y., Ueno, A., Oh-ishi, S., Yamashita, K., Ishibashi, M., Miyazaki, H. and Katori, M. : Changes in the levels of prostaglandins and thromboxane and their roles in the accumulation of exudate in rat carrageenin-induced pleurisy-a profile analysis using gas chromatography-mass spectrometry. *Prostaglandins* 23 : 881 - 895, 1982.
 36. Weidemann, M., Peskar, B., Rietschel, E., Standinger, H. and Fischer, H. : Prostaglandin and thromboxane synthesis in a pure macrophage population and the inhibition, by E-type prostaglandins, of chemiluminescence. *FEBS Lett* 89 : 136 - 140, 1978.
 37. Samuelsson, B., Ramwell, P. and Paoletti, R. (eds) : *Advances in prostaglandin and thromboxane research*. 1709 - 1711, New York : Raven Press, 1980.
 38. Zurier, R. and Sayadoff, D. : Release of prostaglandins from human polymorphonuclear leukocytes. *Inflammation* 1 : 93 - 101, 1975.
 39. Higgs, G.A., McCall, M.E. and Youlten, L.J.F. : A chemotatic role for prostaglandins released from polymorphonuclear leukocytes during phagocytosis. *Br. J. Pharmacol.* 53 : 539, 1975.
 40. Moncada, S. and Vane, J.R. : Pharmacology and endogenous roles of prostaglandin endoperoxides, thromboxane A₂ and prostacyclin. *Pharmac. Rev.* 30 : 293 - 311, 1979.
 41. Hamberg, M. and Samuelsson, B. : Prostaglandin endoperoxides. Novel transformations of arachidonic acid in human platelets. *Proc. natn. Acad. Sci. U.S.A.* 71 : 3400 - 3404, 1974.
 42. Nugteren, D.H. : Arachidonate lipoxygenase in blood platelets. *Biochim. Biophys. Acta* 380 : 299 - 307, 1975.

43. Morita, I. and Murota, S. : The role of 12 lipoxygenase products of arachidonic acid on platelet aggregation. *Adv. PG, TX LT Res.* 17 : 219 - 223, 1987.
44. Goetzl, E.J., Hill, H.R. and Gorman, R.R. : Unique aspects of the modulation of human neutrophil function by 12-hydroperoxy-5, 8, 10, 14-eicosatetraenoic acid. *Prostaglandins.* 19 : 71 - 85, 1980.
45. Goetzl, E.J. and Sun, F.F. : Generation of unique mono-hydroxyeicosatetraenoic acids from arachidonic acid by human neutrophils. *J. Exp. Med.* 150 : 406 - 411, 1979.
46. Gpetzl, E.J. and Pickett, W.C. : Novel structural determinants of the human neutrophil chemotactic activity of leukotriene B. *J. Exp. Med.* 153 : 482 - 487, 1981.
47. Palmer, R.M.J., Stepney, R.J., Higgs, G.A. and Eakins, K.E. : Chemokinetic activity of arachidonic acid lipoxygenase products leukocytes different species. *Prostaglandins* 20 : 411 - 418, 1980.
48. Stenson, W.F. and Parker, C.W. : Monohydroxy-eicosatetraenoic acids (HETEs) induce degranulation of human neutrophils. *J. Immunol.* 124 : 2100 - 2104, 1980.
49. Higgs, G.A., Palmer, R.M.J., Eakins, K.E. and Mocada, A. : Arachidonic acid metabolism as a source of inflammatory mediators and its inhibition as a mechanism of action for anti-inflammatory drugs. *Mol. Asp. Med.* 4 : 275 - 301, 1981.
50. Borgeat, P. and Samuelsson, B. : Metabolism of arachidonic acid in polymorphonuclear leukocytes : structure analysis of novel hydroxylated compounds. *J. Biol. Chem.* 254 : 7865 - 7869, 1979.
51. Smith, M.J.H., Ford-Hutchinson. A. W. and Bray, M.A. : Leukotrien B : a potential mediator of inflammation. *J. Pharm. Pharmacol.* 32 : 517 - 518, 1980.
52. Dahlén, S.E., Björk, J., Hedqvist, P., Arfors, K., Hammarström, S., Lindgren, J. and Samuelsson, B. : *Leulotriens promote plasma leakage and leukocyte adhesion in postcapillary venules : In vivo effects with relevance to the acute inflammatory response.* *Medical Sciences, Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78 : 3887 - 3891, 1981.
53. Ford-Hutchinson, A.W., Bray, M.A., Doig, M.V., Shipley, M.E. and Smith, M.J.H. : Leukotriene B, a potent chemokinetic and aggregating substance released from polymorphonuclear leukocytes. *Nature* 286 : 264 - 265, 1980.
54. Malmsten, C.L. Palmblad, J., Udén, A.M., Rådmark, O., Engstedt, L. and Samuelsson, B. : Leukotriene B₄ : A highly potent and stereospecific factor stimulating migration of polymorphonuclear leukocytes. *Acta Physiol. Scand.* 110 : 449 - 451, 1980.
55. Palmblad, J., Malmsten, C.L., Udén, A.M., Rådmark, O., Engstedt, L. and Samuelsson, B. : Leukotriene B₄ is a potent and stereospecific stimulator of neutrophil chemotaxis and adherence. *Blood* 58 : 658 - 661, 1981.
56. Ferreira, S.H. : Peripheral analgesic mechanism of the analgesic action of aspirin-like drugs and sopiate-antagonists. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 10 : 2375 - 2383, 1980.
57. Settipane, G.A. : Adverse reactions to aspirin and related drugs. *Arch. Intern. Med.* 141 : 328 - 332, 1982.