

● Epidermal Growth Factor가 림프구 기능조절 작용에 미치는 영향에 관한 실험적 연구

우건희 · 신형식

원광대학교 치과대학 치주과학교실

림프계 세포에 대한 EGF의 작용 및 그 기전을 규명하고, EGF가 림프구기능에 미치는 영향을 시험관내에서 직접 밝히고자 시도한 연구로서 사람말초혈액 림프구를 대상으로 EGF가 이들 세포의 증식활성, cytokine과 Ig 생산능 등에 미치는 영향과 그 작용기전을 알아보기 위하여 실험하였던 바 다음과 같은 성적을 얻었다.

1. EGF는 PWM자극 단핵세포의 증식을 EGF를 세포-mitogen자극과 동시에 처리하면 현저히 억제시켰으나, EGF를 mitogen자극 24시간에 가하면 오히려 항진시켰다.
2. 세포에의 EGF 전처리는 세포의 mitogen자극 증식반응에 영향을 미치지 않았다.
3. 순수분리한 CD 4⁺세포 및 B림프구를 PWM으로 자극배양시 EGF를 배양초에 가하면 그 증식능이 다소 억제되었으나 배양 24시간에 가하면 오히려 상승되었다.
4. CD 8⁺세포에 의한 세포증식억제활성은 CD 8⁺세포를 CD 4⁺세포와 단핵구를 혼합배양시에만 발현되었으며, EGF는 CD 8⁺+CD 4⁺+단핵구혼합배양에 의한 CD 8⁺의 억제활성을 현저히 항진시켰다.
5. CD 8⁺억제활성은 IL1, IL2, IFN- γ 가 공존시는 더욱 항진되었다.
6. EGF에 의한 CD 8⁺세포의 억제활성항진은 FGE₂ 및 IFN- γ 분비촉진과 밀접한 관계를 보였다.
7. EGF는 단핵구의 IL1분비 및 CD 4⁺세포의 IL2와 IFN- γ 분비를 촉진시켰으나 B림프구의 IL6분비는 억제시켰다.
8. SAC자극 B세포를 IL2존재하에 배양시 EGF를 SAC자극과 동시에 처리하면 증식능 및 IgG생산능이 모두 반감되었으나 EGF를 SAC자극 24시간에 처리하면 증식능 및 IgG생산능 모두 영향을 받지 않았다. 그러나 SAC자극 B세포를 IL6 존재하에 배양시 IgG생산능은 EGF처리에 의하여 현저히 항진되었으며 그 항진의 정도는 EGF를 SAC자극 후에 처리시 더욱 뚜렷하였다.
9. EGF는 고밀도 B세포의 IgG생산능에는 영향을 미치지 않았으나, 저밀도세포의 IgG생산능은 IL6 존재하에서 현저히 항진되었다.
10. EGF는 IL2에 대한 표적세포의 감응도에는 영향을 미치지 못하였으나, IL6에 대한 표적세포의 반응은 현저히 항진시켰다.

이상의 결과로 EGF의 림프구기능 조절작용은 세포주기 및 시간의존성이며, EGF가 이들 세포에 직, 간접으로 작용하여 복잡한 기전으로 발현됨을 알 수 있었다.

● 치은 섬유아세포 배양시 합성되는 단백질에 관한 연구

이관훈 · 정진형

단국대학교 치과대학 치주과학교실

세포의 성장과 분화는 혈청 및 여러 성장인자들에 의해 영향을 받으며 이에 대해 최근 많은 연구가 되고 있다. 본 실험은 치은 섬유아세포 성장인자와 혈청의 영향을 알아보기로 정상 치은조직으로부터

치는 섬유아세포를 분리 배양하면서 배양액 내에 혈청과 여러 농도의 섬유아세포 성장인자를 첨가하여 섬유아세포의 성장변화를 [³H]-thymidine incorporation 방법으로 측정하였고, 섬유아세포가 합성하는 단백질의 변화를 5% polyacrylamide gel electrophoresis로 측정하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 배양액 내에 섬유아세포 성장인자를 10ng/ml 농도로 첨가하여 배양한 경우 대조군에 비하여 세포성장이 증가하는 경향을 보였으나 통계적인 유의성은 없었다.
2. 배양액 내에 30ng/ml의 섬유아세포 성장인자를 단독으로 첨가하여 배양한 경우 대조군에 비하여 세포성장의 성장이 큰 차이가 없었으며 FBS단독 첨가시 및 FBS와 30ng/ml의 섬유아세포 성장인자를 동시에 첨가 배양한 경우 대조군에 비하여 세포성장이 현저히 증가하였으나 섬유아세포 성장인자에 의한 부가적인 세포성장촉진효과는 관찰되지 않았다.
3. 배양액 내에 50ng/ml의 섬유아세포 성장인자를 단독으로 첨가 배양한 경우 대조군에 비하여 세포성장이 약 3배 정도 증가하였으며, bovine serum(FBS) 단독 첨가시 및 FBS와 50ng/ml의 섬유아세포 성장인자를 동시에 첨가할 경우 뚜렷한 세포성장 촉진효과가 있었고, FBS와 섬유아세포 성장인자 복합 첨가시 그 효과는 크게 관찰되었다.
4. 배양액 내에 50ng/ml의 섬유아세포 성장인자와 2% FBS를 단독 혹은 복합 첨가하여 배양한 경우 단백질의 총량은 대조군에 비해서 증가하는 양상을 보였으나 통계적인 유의성은 없었다.
5. Conditioned media와 세포추출물을 전기영동후 Coomassie blue stain 및 Silver stain에 의해 섬유아세포에서 합성되는 몇몇의 단백질 band를 확인할 수 있었으며, 섬유아세포 성장인자를 50ng/ml의 농도로 첨가하여 배양한 경우 fibronectin 및 procollagen으로 추정되는 단백질 합성이 약간 증가하는 양상을 나타내었다.

● 치술의 재질에 따른 치태제거 효과 및 강모의 마모에 관한 연구
 - 강모직경의 차이에 관한 연구

이근혁 · 권영혁 · 이만섭

경희대학교 치과대학 치주과학교실

치술 강모의 직경에 따른 치태제거 효과 및 사용기간에 따른 강모의 마모도를 관찰하여 치과의사가 필요로 하는 치술의 규격을 정하는 기초를 만들기 위하여 건강한 한국인 19세부터 27세까지의 남성 13명, 여성 14명 등 27명을 대상으로 시판되는 직경이 서로 다른 치술 4종류의 규격을 조사하고 스크러빙 법으로 치술질을 사용하여 Ramfjord방법에 의한 6개의 피검치를 대상으로 12주간 치태제거 효과 및 강모의 마모도를 비교, 분석한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 스크러빙 법으로 치술질시 평균 치태 제거율은 78.8%였다.
2. 강모의 직경이 가장 굵은 치술이 전체 치태제거율에서 81.8%로 가장 높고 치간 부위의 치태 제거율은 직경이 가장 가늘고 모의 수가 제일 많은 치술이 79.0%로 다른 치술보다 높은 치태제거 효과를 나타냈다.
3. 부위별로는 모든 치술에서 협면의 치태제거율이 설면보다 유의성 있게 높았다.
4. 치술의 강모는 사용기간이 길어짐에 따라 강모의 직경이 가늘게 되었다.

cell, prostaglandin E_2 (PGE_2) $IFN-\gamma$ and some interleukin(IL) on the proliferation and differentiation of mononucleus cell was measured by using sensitive cell such as CTLL 2, mouse thymocytes, B9 cell, Wish cell.

1. When EGF was added to culture during the programming stage of activation, EGF inhibited the proliferative responses of peripheral blood mononuclear cells significantly.
2. The responses were somewhat augmented if EGF was added to culture after mitogen activation, and were not influenced if EGF was added before activation.
3. The poke weed mitogen(PWM)-induced proliferative responses of purified $CD\ 4^+$ and B lymphocytes were slightly decreased when EGF was added at 24hr after mitogen-activation.
4. The modulating effect of EGF on lymphocyte proliferation was time and dose dependent, and the potent suppression was manifested only when $CD\ 4^+$ cells and B lymphocytes were cocultured with monocytes and $CD\ 8^+$ cells.
5. The differentiation of $CD\ 8^+$ suppressor cells in PWM-stimulated cultures required soluble factors elaborated by $CD\ 4^+$ cells and monocytes.
6. EGF did not influence the differentiation of $CD\ 8^+$ cells directly, and EGF-induced augmentation of $CD\ 8^+$ cell-differentiation was developed through enhanced cytokine production of monocytes and $CD\ 4^+$ cells.
7. The monocyte-signal for such differentiation could be replaced not by IL1 but by PGE_2 and the $CD\ 4^+$ cell-signal, not by IL2 but by interferon gamma.
8. By exposure of monocytes, IL2 and $IFN-\gamma$ production of $CD\ 4^+$ cells were significantly enhanced, but IL6 production of Staphylococcus aureus Cowan 1(SAC)-activated B cells was markedly down-regulated. IgG secretion of SAC-activated B cells was remarkably decreased by adding EGF to culture at initiation.
9. In exogenous IL6 was added to cultures, Ig-secretion of EGF-B cells was significantly increased than that of EGF-free control. When fractionated B cells were cultured in the presence of exogenous IL6, IgG secretion of high-density small B cells was not influenced by EGF, but Ig secretion of low density large cells in EGF-group was significantly enhance than that of control.
10. EGF did not alter the IL2-dependent CTLL2 cell-responsiveness to IL2, but it did greatly increase the responsiveness of target(B9) cells to IL6 with about two-fold increment.

These results suggested that EGF has multiple effects on event controlling lymphocyte-functions in a time-dependent manner via modulation of releasing soluble factors.

The study on the protein synthesized by cultured human gingival fibroblast

Kwan Hoon Lee, Chin Hyung Chung

Dept, of Periodontology, school of Dentistry, Dankook University

This experiment was performed to study the effects of fibroblast growth factor(FGF) and fetal bovine serum(FBS) on the protein synthesis and proliferation of human gingival fibroblasts.

Gingival tissues obtained from healthy human were diced into $1mm^3$ and cultured in α -MEM contain-

ning 50% FBS for 7~10 days. After treatment with trypsin-DETA, the collected gingival fibroblasts were cultured in α -MEM with 10% FBS until confluency was reached.

After 24 hour incubation in serum-free media, control groups were cultured in fresh serum-free media, while experimental groups were cultured in serum-free media containing various concentrations of FGF, 2% FBS or both.

Cell proliferation was determined by [3 H]-thymidine incorporation rate into DNA, and proteinis produced by cultured gingival fibroblasts were determined by SDS-PAGE of conditioned media and cell lysate.

The obtained results were as follows.

1. In case of incubation of the cultured gingival fibroblast in the suerm-free media containing FGF(10 ng/ml), it was shown the tendency of cell proliferation as comparison with the control group, but statistically not significant(Table 1).
2. In the event of incubation of the cultrued gingival fibroblast in the serum free media containing FGF(30ng/ml) and FGF(30ng/ml) plus Fetal bovine serum. The 1st case was statistically not significant, the 2nd case was significantly higher than the control group(talbe 2).
3. In case that the cultured gingival fibroblast was cultivated in the serum free media containing FGF 50ng/ml, the cell growth rate was three times as much as the control group. A case of the combined incorporation of FGF 50ng/ml and 2% FBS, the cell proliferation effect was significantly higer than the control group(table 3).
4. The total protein amount about the effects of serm free media containing FGF(50ng/ml) and FBS was slightly increased but statistically not significant(table 4).
5. After the conditioned media and cell extracts was carried out ellectrophoresis, several protein bands were identified by silver stain. The molecular weight of procollagen and fibronectin was showed positive band for the serum free media containing FGF 50ng/ml(Fig. 2).

A study of the plaque removing effect and wearness of bristle on different types of toothbrushes

Keun Hyuk Lee, Young Hyuk Kwon, Man Sup Lee

Deptment of Periodontology, College of Dentistry, Kyung Hee University

The purpose of this study was to determine the plaque removing effect and wearness of bristle on different types of toothbrushes.

Available four toothbrushes, according to bristle diameter, were examined their sizes and diameter of bristles were observed by stereomicroscope. Twenty-seven volunteers (13 male, 14 female : 19yrs. to 27 yrs) participated in this study. The subjects were randomly assigned into four groups by a third person who did not participate in the experiment, each group was subjected to one of the tooth brushes.

The subjects were performed using scrubbing technique. The amount of plaque was assessed by the same investicato for a period of 12 week.