

ELISA를 이용한 급성 치근단 농양 및 급성 치수염 환자에서의 혈청 항체 수준에 관한 실험적 연구

서울대학교 치과대학 치과보존학교실
변호영 · 임성삼

목 차

- I. 서 론
- II. 실험 재료 및 방법
- III. 실험 결과
- IV. 총괄 및 고안
- V. 결 론
- 참고 문헌
- 영문초록

I. 서 론

사람의 면역 체계는 크게 체성 면역(humoral immunity)과 세포성 면역(cellular immunity)으로 구성되어 있다. 이 중 체성 면역은 체내에 면역 글로블린을 형성하여 숙주를 보호하는 역할을 하게 되는데 이들 항체는 모든 포유류의 혈청과 조직액 속에 존재하는 당단백질(glycoprotein)의 집합체로 숙주의 입파계가 외부물질 즉, 항원과 접촉하게 되면 생성되기 시작한다. 항원에 의해 처음 생성되는 항체는 주로 IgM 종류이며 동일한 항원으로 2차 반응이 일어나면 주로 IgG 류의 고감도 항체들이 생성되게 된다¹⁾.

이러한 면역 반응은 치수 감염 및 치근단 병변시 많은 호기성, 혐기성 세균들이 치근관으로 부터 분리됨으로써 이들 병변에서도 일어날 수 있을 것으로 생각되어 진다.

치수 및 치근단 병소에서 나타나는 미생물은 80 여종 이상되며 과거에는 Streptococci가 주된 원인 균으로 간주되었으나 최근에는 혐기성 세균들이

원인균임이 밝혀지고 있다^{2),3)}.

치수염증의 가장 큰 원인이 되는 치아우식에 있어서는 Streptococcus mutans가 주요원인균이지만 염증 치수 또는 피사 치수의 근관 내에서는 거의 찾아볼 수 없으며 오히려 S. sanguis가 3배 이상 나타난다고 한다^{4),5)} 치아우식이 깊이 진행되면 상아질에 의해 다른 환경이 제공되기 때문에 점점 혐기성 세균들이 나타나기 시작한다. 피사치수 및 치근단 병소시에는 60% 이상에서 혐기성 세균들이 나타나며 그중 Black-pigmented bacteroides의 역할이 중요하다^{6),7)}. 오늘날에는 10여종의 Bacteroides가 발견되는데 대부분을 구강 영역에서 분리할 수 있으며 이중 B. intermedius, B. loescheii, B. endodontalis 등이 치근관 감염시 자주 나타나는 것으로 알려져 있다. Winkelhoff 등⁸⁾은 치근단 농양에서 B. intermedius가 가장 흔하게 나타난다고 보고하였고 Haapasalo 등⁹⁾도 B. intermedius, B. denticola 등의 발견을 보고하였다.

감염 치수 및 치근단에서 이들 균주의 항원은 입파구, 형질세포 등의 면역체계 구성 물질 등과 반응하여 면역 글로블린을 형성하는데 염증치수 및 치근단 조직내의 이들 면역 글로브린은 방어적인 역할 또는 병적인 과정에 관여하게 된다. Falkler 등¹⁰⁾은 치아우식 과정에 관련된 미생물 특히 S. mutans, Lactobacillus casei 등에 반응하는 면역 글로브린이 치수내에 존재함을 확인하였고 Pekovic 등¹¹⁾은 감염된 치수내에 존재하는 세균과 그 항원들이 항상 항체와 연계되어 있으며 보체와도 자주 연결되어 있음을 보고하였다.

Pulver 등^{12),13)}과 Speer 등¹⁴⁾은 정상 치수에서 보다

* 본 연구는 1990년도 서울대학교 병원 임상연구비의 일부보조로 이루어짐

염증 치수에서 면역 글로블린을 함유하는 세포가 많이 존재하며 그중 IgG 함유 세포가 대부분을 차지하고 IgA, IgE 등을 함유하는 세포도 존재함을 보임으로써 치수 염증으로 치근단 병변을 야기하는데 면역 반응이 관여함을 제시 하였다. 또한 몇몇 연구자들은 동물의 치근관내에 균주를 주입하여 혈청내에서 그 균주 즉, 항원에 대한 항체가 형성됨을 확인 하였다.^{1, 20, 43)} 이중 Rosengren⁴³⁾은 Streptococci를 고양이의 근관에 주입하여 혈청내에 anti-streptolysin 0의 수준이 증가하며 균주가 근관내에 국한되지 않고 치근단으로 넘어갈 경우 항체 형성이 월등함을 보고하였다.

Stabholz 등⁴⁷⁾도 고양이 견치에 *S. mutans*를 치근관내에 주입하여 이 균주가 치수와 치근단 조직에 손상을 주며 궁극적으로 농양 형성과 골 파괴를 야기함을 보고하였다.

Powell 등²⁰⁾은 치수 및 치근단 병소를 가진 환자들에서 이들 병소로부터 분리되는 혐기성 세균에 대한 특정 항체들이 형성되는 것을 보였으나 그 역가치는 전체 혈청 항체 수준에 미소하게 반영 되었음을 보고하였다. Kettering 등²⁰⁾은 급성 치근단 농양의 환자에서 immune complexes, IgG, IgM 등의 혈청내 수준이 농양이 없는 환자들에 비해 높게 나타남을 보였고 Kettering²⁰⁾, Torabinejad 등²⁷⁾은 만성 치근단 병소 환자들을 대상으로 항체 수준을 조사하였으며 Svetcov 등⁵⁰⁾도 치근단 병소의 급성 발작 환자의 면역 글로브린 수준을 측정하였다.

여러 연구가들에 의해 치수와 치근단 에서도 면역 반응이 일어남은 확실히 되었고 이러한 항원-항체 반응을 측정할 수 있는 방법들이 개발되고 있다. 그중 Enzyme Linked Immunosorbent Assay는 가장 널리 사용되는 방법으로 그 기본 원리는 항원과 항체 모두 활동력을 유지하면서 매개체 표면에 쉽게 부착한다는 것과 면역시약을 효소에 결합시킬 수 있다는 것에 기초를 두고 있다.^{4, 5, 7-9, 12)}

본 실험에서 저자는 급성 치근단 농양 및 급성 치수염 환자에서의 혈청 항체 수준에 관한 연구자들의 일치된 견해가 없기에 이를 확인코저 환자의 말초혈액을 채취하여 Enzyme Linked Immuno-sorbent Assay로 4가지 균주에 대한 혈청 항체 수준을 측정, 비교하여 그 결과를 보고하는 바이다.

II. 실험 재료 및 방법

세균배양

치근단 농양 존재시 근관 내에서 자주 분리되는 균주중 *Bacteroides intermedius*, *Bacteroides gingivalis*, 치아우식증에 주로 나타나는 *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis*를 혐기성 상태에서(80% N_2 + 10% CO_2 + 10% H_2) Brain Heart Infusion 및 Todd Hewitt Broth에 48시간 키운 다음 원심분리(7000 rpm)시켜 pH 7.2의 phosphate-buffered saline(0.1 M phosphate, PBS)으로 3회 세척한 후 4°C에서 보관하였다. 본 실험에서는 표준 균주인 *Bacteroides intermedius* 9336, *Bacteroides gingivalis* 381, *S. mutans* AHT, 그리고 *S. sanguis* 9811을 사용하였다.

환자의 혈청 추출

1989.8-1990. 5 사이에 서울대학병원 치과진료부 보존과에 내원한 급성 치근단 농양으로 진단된 환자, 급성 치수염으로 진단된 환자 그리고 치아 우식이나 치주염 등이 없이 임상적으로 건강한 대조군 등 각 군에서 5명씩 선택하였다. 이들의 말초혈액을 채취한 후 원심분리(2000 rpm)시켜 얻은 상층액을 채득하여 사용시 까지 -20°C 냉동실에 보관하였다. 급성치근단 농양환자는 심한 통증, 동통 그리고 체온상승등의 급성 증상이 있었고 급성 치수염 환자들은 심한 동통과 방사선 사진상에 분명한 치아우식이 있었으며 치수 전기 반응에 양성 반응을 나타내었다. 선택한 환자들은 14세에서 35세 사이로 다른 알려진 전신적 질환이 없고 이전 1개월간 항생제를 복용한 경험이 없는 환자들이었으며 이때의 병력은 환자의 기억에 의존 하였다.

Modified enzyme-linked immunosorbent assay;

본 실험을 위하여 일회용 flat bottom polystyrene microtiter plates(Dynatech 1-223, 29; Dynatech Lab., Inc., Alexandria, Va.)를 사용 하였다. 원심 분리하여 얻은 항원을 0.02% NaN_2 가 들어있는 0.1 M Na_2CO_3 buffer(pH 9.6) 용액으로 희석하여 580 nm의 분광 측정기로 최저 최적 농도인 O.D.0.3을 맞춘 뒤 이를 plate에 부착시켰다. 항원 부착을 위하여 micro-titer plate well에 항원 200 ul 씩을 넣은 다음 CO_2 incubator에서 37°C로 2시간 부화 시킨 후 항원 coa-

ting buffer 용액이 들어있는 2% (wt/vol) bovine serum albumin 100 ul를 첨가하여 4°C냉장고에 사용시까지 보관 하였다.

실험 전에 plate의 각 well을 washing buffer(PBS + Tween 20)용액으로 3회 씻어낸 후 antibody dilution buffer(PBS-0.05% Tween 20+ 0.5% BSA + 0.02% NaN₃) 용액으로 1/100, 1/200, 1/400, 1/800, 1/1600로 희석한 환자의 혈청 항체 200 ul를 각 well에 넣고 37°C의 CO₂ incubator에서 2시간 동안 부화 반응 시켰다. 그후 plate의 각 well을 씻어내고 conjugate dilution buffer(PBS-0.05% Tween 20+ 0.5% BSA+0.02% NaN₃)로 적정량 희석된 Alkaline phosphatase-conjugated affinity purified goat anti-human immunoglobulin (Cappel, Organon Tenika Corporation) IgG 및 IgM을 각 well에 200 ul씩 넣어서 37°C의 CO₂ incubator에서 1시간 및 1시간 반응 부화 시킨 후 다시 washing buffer로 3회 세척하고 substrate buffer 용액에 용해시킨 p-nitrophenyl phosphate (type 104; Sigma chemical Co)을 200 ul씩 well 속에 넣어서 37°C incubator에서 1시간 동안 반응 시킨 후 이 효소 반응을 정지시키기 위해 50 ul의 1 N NaOH를 첨가 하였다.

이렇게 반응을 정지시킨 후 보관 하였다가 ELISA Reader Colorimeter인 Titertek Multiskan^R Plus MK II (Flow Laboratories AG, Switzerland)로 plate well의 상층부에서 하단부 까지로 판통하여 405 nm에서의 optical density를 측정하였고 그후 각

대상의 O.D.를 ELISA unit(Eu)로 환원하여 각 군의 평균치를 비교하였다.

III. 실험결과

1. 혈청 IgM의 수준

각 환자의 군주에 대한 혈청 IgM의 수준은 표 1 및 그림 1과 같다. 표 1에서 보는 바와 같이 급성 치근단 농양 및 급성 치수염 환자군 모두에서 정상 대조군 보다 높은 수치를 나타내었으며 실험 군주간의 비교에서는 (그림 3 참조) 급성 치근단 농양 및 급성 치수염 환자군 모두 *B. gingivalis*에 대해 가장 높은 혈청 항체 수준을 나타내었지만 통계학적인 유의성은 없었다.

2. 혈청 IgG의 수준

급성 치근단 농양 환자군에서 정상 대조군 보다 높은 혈청 IgG 수준을 나타내었다. 한편 급성 치수염 환자군에서는 *S. mutans* 및 *B. gingivalis*에 대한 항체수준은 대조군 보다 높았으나 *S. sanguis*, *B. intermedius*에 대해서는 낮은 경향을 나타내었다. (표 2, 그림 2 참조) 실험 군주간에는 급성 치근단 농양환자에서는 *B. gingivalis*, 급성 치수염 환자에서는 *S. mutans*에 대해 가장 높은 IgG 수치를 나타내었다. (그림 4) 혈청 IgG 수준 역시 각 군간에 통계학적인 유의성은 없었다.

Table 1. Serum IgM Titers (ELISA)*

	<i>S.mutans</i>	<i>S.sanguis</i>	<i>B. intermedius</i>	<i>B. gingivalis</i>
a.a.abscess	151.72± 54.56	245.33± 82.14	239.50± 21.99	521.10± 54.92
a.pulpitis	193.88± 20.38	301.12± 105.82	226.30± 43.01	457.02± 53.67
normal	137.50± 31.63	106.24± 19.20	214.96± 34.82	240.08± 55.65

*Mean ELISA unit ± SE

Table 2. Serum IgG Titers (ELISA)*

	<i>S.mutans</i>	<i>S.sanguis</i>	<i>B. intermedius</i>	<i>B. gingivalis</i>
a.a.abscess	233.98± 44.04	223.42± 51.59	265.50± 56.96	322.85± 91.01
a.pulpitis	223.82± 43.88	122.50± 32.12	174.52± 43.46	178.80± 35.56
normal	189.20± 36.98	136.93± 27.08	217.60± 51.15	161.10± 27.80

*Mean ELISA unit ± SE

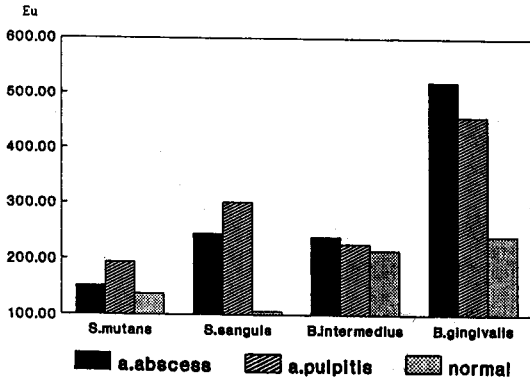


Fig. 1. Comparison of Serum IgM Titers

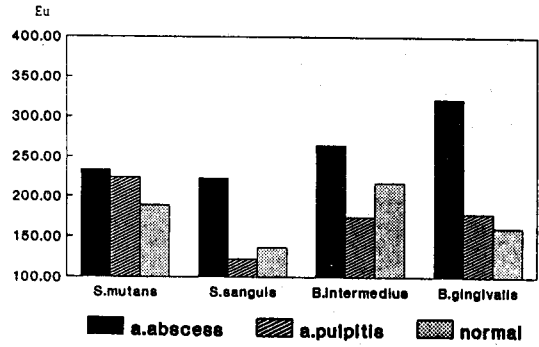


Fig. 2. Comparison of Serum IgM Titers

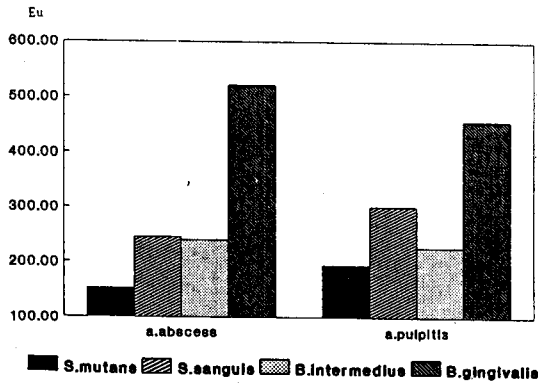


Fig. 3. Comparison of IgM titers among the microorganisms

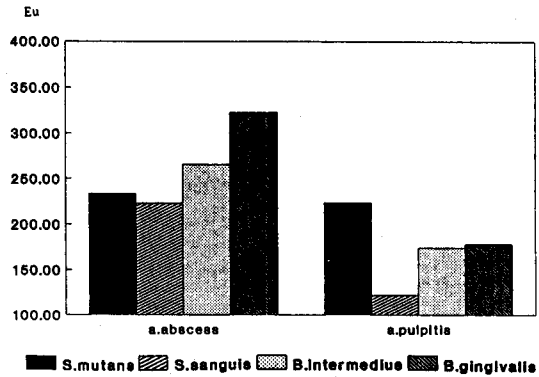


Fig. 4. Comparison of IgG titers among the microorganisms

IV. 총괄 및 고안

치수 및 치근단 질환의 원인에 세균이 가장 밀접하게 관여되어 있다는 것은 이미 알려진 바이다.¹⁰⁾ 치수 및 치근단 질환에서 나타나는 미생물은 80여 종이 넘으며 처음에는 치아우식의 원인이 되는 Streptococci 등의 호기성 세균에 의해 시작되지만 치수가 괴사되고 궁극적으로 치근단 병소가 유발되는 데에는 혐기성 세균이 주 원인으로 밝혀졌다.^{13, 38, 50)} Keudell 등²⁶⁾은 생활치수의 치수강에서는 혐기성 세균을 발견하지 못하였으나 괴사치수의 64%에서 1종류 이상의 혐기성 세균을 발견하였다고 보고하였다. 또한 Sundqvist 등⁴⁰⁾은 방사선 사진상에 치근단 파괴가 나타나는 치아에서만 균이 나타났고 그중 90% 이상이 혐기성 세균이었다고 보고하였으며 더불어 급성염증의 치아에서 더 많은 세균의

종류를 발견하였다.

이 세균들은 치수나 치근단 조직의 파괴 과정에 촉진제 역할을 할 수 있다. 이들 세균, 세균의 유래물질 혹은 괴사된 치수 자체는 생체내에 비자기극, 항원으로 작용하여 면역계를 움직이게 되는데 처음 들어온 항원은 거대세포에 의해 탐식되고 2일 정도가 지나면 임파 기관의 B 세포, T 세포 영역의 다른 보조세포들의 표면에 나타나게 된다. 혈액을 순환하던 성숙한 B 세포, T 세포가 임파 기관으로 들어가게 되어 보조세포에 부착된 동일한 항원을 만나게 되면 B, T 세포는 증식, 분화하여 활성화된 세포가 되며 그후 T 세포의 도움으로 B 세포가 형질세포로 분화하여 항원에 대한 항체를 형성한다.^{15, 42, 44)}

Honjo 등¹⁶⁾은 치수내에 형질단백질이 존재하고 염증이 심화될수록 IgG 함유세포가 증가하는 것을

확인함으로써 치수내의 국소적인 항체 생성을 제시하였다. Torabinejad 등은 25예의 치근단 병소를 동결 절단하여 23예에서 항원-항체 복합체에 대한 양성반응을 얻었으며 그의 다른 실험에서는 28예의 치근단 병소중 27예에서 면역글로브린의 light chain, IgG 및 IgE 등의 존재를 확인하였다^{3,6)}. Kuntz 등²⁰⁾도 치근단 병소에서 면역 글로브린 및 면역 글로브린 함유세포의 존재를 관찰하였다.

한편, 치근단 내의 항원으로 인한 전신적인 항체 형성도 관찰되었는데 Kennedy²⁰⁾, Barnes 등¹⁾은 원숭이의 근관 내에 항원을 주입하여 혈액내에 그에대한 항체 형성을 확인하여 항원의 혈관 유입으로 전신적인 면역 반응이 나타난다고 추론하였다.

Keudell 등²⁰⁾은 치수 및 치근단 질환의 환자에서 이들로부터 분리되는 혐기성 세균에 대한 혈청 IgG 및 IgM 이 혈액내에 나타나지만 정상 대조군과 유의성 있는 차이는 없었다고 보고하였으며 Shinoda 등⁴⁾도 정상인 및 치근단 질환자의 혈청내의 항체수준이 거의 동일한 수준이었다고 보고 하였다.

Svetcov 등²⁰⁾은 급성 발작을 나타내는 치근단 질환 환자군에서의 혈액화학검사 및 혈청내 면역 글로브린의 수준이 IgE를 제외하고는 정상수준이었다고 보고하였고 Faitlowicz 등²⁰⁾은 급성 치근단 농양 환자에서의 IgE 수준과 T 세포 등이 정상 수준이었다고 하였다. 반면 Kettering 등²⁰⁾은 급성 치근단 농양 환자에서 농양이 없는 환자 보다 면역 복합체, IgG 및 IgM 등이 유의성 있게 높은 수준을 나타냄으로써 Svetcov 등²⁰⁾과는 상이한 결과를 보고하였다.

Torabinejad²⁰⁾, Kettering 등²⁰⁾은 만성 치근단 병소를 가진 환자에서 혈청 항체 수준이 정상군과의 유의성 있는 차이가 없으며 만성 병소는 국한되어 있어서 전신적인 면역 글로브린의 수준에 영향을 미치거나 전신적인 질환을 유발할 수 있는 요소로 작용할 수 없다고 하였다.

본 실험에서는 4개 균주에 대한 혈청 IgM 및 IgG의 수준이 각 균간에 유의성 있는 차이를 보이지 않았고 급성 치수염 환자군과 급성 치근단 농양 환자군이 정상 대조군보다 약간 높은 경향만을 나타내어 앞의 Svetcov 등²⁰⁾의 연구와 유사한 결

과를 얻었다.

근관에서 나타나는 혐기성 세균중에는 Black pigmented Bacteroides가 증상과 가장 밀접하게 관련되어 있다. Winkelhoff 등²⁰⁾은 28예의 치성 농양중 26예에서 Bacteroides를 발견하였는데 이중 B. intermedius가 가장 자주 분리되었으며 B. endodontalis는 모든 치근단 농양 예에서 발견되었다고 보고하였다. 또한 B. gingivalis는 치주염의 경우에 주로 나타나고 B. melaninogenicus, B. denticola, B. loescheii 등은 일반적인 구강 상태에서 상주하는 것으로 보고하였다. Haapasalo 등¹⁴⁾은 증상이 있는 치아의 50% 이상에서 Bacteroides가 분리되며 그중 B. intermedius가 가장 자주 나타나고 B. gingivalis, B. endodontalis는 급성 염증에서 주로 분리된다고 보고하였다. 한편, 이들 Black pigmented Bacteroides 중의 성질 중 단백질 분해도가 가장 중요시되는데 그중 B. gingivalis와 B. endodontalis는 단백질 분해도와 독성이 강해서 급성 염증에서 발견되며 B. intermedius는 증상이 있는 염증이나 없는 염증에서 거의 동일하게 발견되는 것으로 알려져 있다^{14, 18, 36, 45)}.

본 실험에서는 B. intermedius 보다는 B. gingivalis에 대한 IgM, IgG 수준이 높게 나타났는데 실험 환자군의 연령이 13세에서 35세이고 임상적으로 치주질환이 없는 환자들을 선택했으므로 치주염에 의한 항체 상승으로는 볼 수 없으며 B. gingivalis가 B. intermedius 보다 병적인 과정에 더욱 관여하는 것으로 생각할 수 있고 균 간의 독성의 차이에 의한 원인이나 환자로 부터 분리된 균주를 항원으로 사용하지 않고 표준균주를 사용하여 나타난 결과로도 추론해 볼 수 있다.

Streptococcus mutans와 S. sanguis는 치아의 맹출 후 구강내에 집락을 형성하며 이 균주들은 치태와 밀접하게 관련되어 치아우식 과정에 주요 원인으로 작용한다³⁰⁾. 하지만 이들은 괴사 치수나 치근단 병소에서는 거의 분리되지 않고 있다. Mejáre 등은 치아우식의 원인균인 S. mutans가 실험치수의 4.2%에서만 발견되고 오히려 S. sanguis가 3배정도 자주 발견된다고 보고하였으며 Hoshino 등¹⁷⁾도 괴사 치수에서 S. mutans가 거의 나타나지 않는다고 보고하였다. 물론 이들 균주에 대한 항체가 치수나 혈청내에 형성되는 것이 여러 연구가들에 의해

확인된 바 있다^{2,21,30} Falkler 등¹¹은 치수내에 *S. mutans*에 대한 면역 글로브린 이 존재함을 확인하였고 Lehner 등³⁰은 치아 우식증에 이환된 아동들을 대상으로 *S. mutans*에 대한 혈청내의 IgG, IgA 및 IgM의 유무를 조사하여 IgM의 수준이 DMFS와 통계학적으로 유의성 있는 상관 관계가 있다고 보고하였으며 그들의 다른 실험에서는 높은 치아 우식률을 보이는 환자에서 7종의 streptococcus에 대한 혈청 항체가 상승함을 보고하였다^{30,31,32} Prabhhu 등³⁰은 *S. sanguis*에 대한 혈청 IgA의 수준이 급성 병소와 만성 병소사이에 유의성 있는 차이를 보인다고 하였다. 또한 Krasse 등²⁰은 이 항체들이 치은 열구를 통해 치은에 인접한 치아표면의 균주를 조절할 수 있다는 가능성을 제시하기도 하였다.

본 실험에서는 급성 치수염 환자군에서의 각 균주에 대한 항체 수준이 정상 대조군보다 높은 경향을 나타내었고 실험 균주중에서는 *S. mutans*에 대해 가장 높은 혈청 IgG 수준을 보였는데 이는 근관을 통한 면역반응과 함께 치은열구를 통해 혈관으로 유입된 항원에 의한 항체 형성의 결과로 볼 수 있으며 치아우식증이 높은 환자에서 streptococcus에 대한 혈청 항체 수준이 더 상승 한다는 Lehner 등³⁰의 연구와 생활 치수에서는 혐기성 세균이 존재하지 않았다는 Keudell 등²⁰의 연구에 상응하였다.

이상에서 볼때 치수 및 치근단 질환에서 여러 세균들은 면역 반응을 일으켜 항체를 형성하고 전신적으로도 어느정도 영향을 미치는 것으로 보인다. 하지만 치수 및 치근단 질환 환자에서 직접 분리한 균주를 항원으로 사용하거나 환자의 근관내의 주요 균주를 확인한 뒤 선택한 항원을 사용하여 전신적인 항체 수준과 함께 국소적인 항체 수준도 조사, 비교 한다면 더욱 의미있는 결과를 얻을 수 있을 것으로 생각된다.

V. 결 론

급성 치근단 농양 환자 및 급성 치수염 환자에서 *S. mutans*, *S. sanguis*, *B. intermedius* 그리고 *B. gingivalis*에 대한 혈청 항체역가를 측정하기 위하여 Enzyme-linked immunosorbent assay로 관찰 하였든 바 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 급성 치근단 농양 및 급성 치수염 환자군에서의 각 균주에 대한 혈청 IgM 수준은 정상대조군보다 높은 경향을 나타내었다.
2. 급성 치근단 농양 환자군에서의 각 균주에 대한 혈청 IgG의 수준은 정상대조군보다 높았으나 급성 치수염 환자군에서는 *S. mutans* 및 *B. gingivalis*에 대한 수준만 높은 경향을 나타내었다.
3. 급성 치근단 농양 환자군의 혈청 IgM, IgG 수준과 급성 치수염 환자군의 IgM 수준은 실험 균주중 *B. gingivalis*에 대해 가장 높았으며 급성 치수염환자군의 IgG 수준은 *S. mutans*에 대해 가장 높았다.

REFERENCES

1. Barnes, G.W., Langeland, K.: Antibody formation in primates following introduction of antigens into the root canal. *J. Dent. Res.* 45: 1111-1116, 1966.
2. Berkenbilt, D.A., Bahn, A.N.: Development of antibodies to cariogenic Streptococci in children. *JADA* 83: 332-337, 1971.
3. Torabinejad, M. et al.: Detection of immune complexes in human dental periapical lesion by anticomplement immunofluorescence technique. *Oral Surg.* 48: 256-261, 1979.
4. Chung, C.P. Bacterial IgG and IgM antibody titers in acute ulcerative gingivitis. *J. perio.* 54: 557-562, 1983.
5. Chung, C.P.: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for the detection of serum IgG and IgM antibodies to *Actinobacillus Actinomycetemcomitans* Y4 in Localized Juvenile Periodontitis. *JKDA.* 22: 57-66, 1984.
6. Torabinejad, M. et al.: Localization of IgE in human periapical lesions by the the peroxidase-antiperoxidase method. *Archs oral Biol.* 26: 677-681. 1981.
7. Dzink, J.L. et al.: ELISA and conventional techniques for identification of Black-pigmented Bacteroides isolated from periodontal pockets. *J. Perio. Research* 18: 369-374, 1980.

8. Ebersole, J.L., Frey, D.E. : An ELISA for measuring serum antibodies to *Actino-bacillus actinomycetemcomitans*. *J. Perio. Research* 15 : 621 - 632, 1980.
9. Engvall, E. et al. : Enzyme Linked Immunosorbent Assay. *J. Immunology* 109 : 129 - 135, 1972.
10. Faitlowicz, Y., Nevins, A. : Blood serum immunology study of patients with acute alveolar abscesses. *AAE* 12 : 1986.
11. Falkler, W.A., Martin, S.A. : Reaction of pulpal immunoglobulins to oral microorganisms by an ELISA. *J. Endo.* 13 : 260 - 266, 1987.
12. Falker, W. : The ELISA system for measuring antibody reactive to *Fusobacterium nucleatum* in the sera of patients with chronic periodontitis. *J. Perio.* 53 : 762 - 766, 1982.
13. Griffee, M.B. et al. : The reaction of *B.melaninogenicus* to symptoms associated with pulpal necrosis. *Oral Surg.* 50 : 457 - 467, 1980.
14. Haapasalo, M. : Black pigmented *Bacteroides* spp. in human apical periodontitis. *Infection & Immunity* 1986, p.149 - 153
15. Hood, et al. : *Immunology*, 2nd edition, The Benjamin/Cummings publishing Company, 1984.
16. Honjo, H. : Localization of plasma proteins in the human dental pulp. *J. Dent. Res.* 49 : 888, 1970.
17. Hoshino, E. : Predominant obligate anaerobes in carious dentin. *J. Dent. Res.* 64 : 1195, 1985.
18. Jin, K.C., Barua, P.K. : Proteolytic activity in Black - Pigmented *Bacteroides* species. *J. Endo.* 15 : 463 - 467, 1989.
19. Kakehashi, G.H. et al. : The effects of surgical exposure of dental pulps in germ - free and conventional laboratory rats. *O.Surg.* 20 : 340, 1965.
20. Kennedy, D.R., Hamilton, T.R. : Effects on monkeys of introduction of hemolytic streptococci into root canals. *J.D.Res.* 36 : 496 - 506, 1957.
21. Kennedy, A.E., Shklair, I.L. : Antibodies to cariogenic streptococci in humans. *Archs. Oral Biol.* 13 : 1275 - 1278, 1968.
22. Kettering, J.D., Torabinejad, M. : Concentrations of immune complexes, IgG, IgM, IgE and C₃ in patients with acute apical abscesses. *J. Endo.* 10 : 417 - 421, 1984.
23. Kettering, J.D., Torabinejad, M. : Concentrations of IgE in patients with chronic periapical lesions. *J. Endo.* 12 : 306 - 308, 1986.
24. Keudell, K., Powell, G. : A review of microbial and immunologic aspects of endodontics. *J. Oral Medicine* 36 : 39 - 43, 1981.
25. Keudell, K., Powell, G. : Humoral antibodies to anaerobic bacterial isolated from patients with pulpal periapical disease. *Oral Surg.* 53 : 194 - 197, 1982.
26. Keudell, K., Conte, M. : Microorganisms isolated from pulp chambers. *J. Endo.* 2 : 146 - 148, 1976.
27. Torabinejad, M. et al. : Quantitation of circulating immune complexes, IgG, IgM, and C₃ Complement component in patients with large periapical lesions. *Oral Surg.* 55 : 186 - 190, 1983.
28. Krasse, B. : Effect of antibodies on colonization of gingival tooth surfaces by *S. mutans*. 1986.
29. Kuntz, D.D. : Localization of immunoglobulins and the third component in the dental periapical lesions. *J.O.Endo.* 3 : 68, 1977.
30. Lehner, T., Wilton, M.A. : Serum antibodies in dental caries in man. *Archs oral Biol.* 15 : 481 - 490, 1970.
31. Lehner, T. : Immunological aspects of dental caries and periodontal disease. *Brit. Med. Bull.* 31 : 125 - 130, 1975.
32. Lehner, T., Murray, G. : Antibodies to *Streptococcus mutans* and immunoglobulin levels in children with dental caries. *Archs oral Biol.* 23 : 1061 - 1067 1978.
33. Loesche, W.J. et al. : The predominant cultivable flora of carious plaque and carious dentin. *Caries Res.* 7 : 201 - 216, 1973.
34. Luo, Z., Smith, D.J. : Cross-sectional analysis of serum antibody to oral Streptococcal antigens in children. *J. Dent. Res.* 67 : 554 - 560, 1988.
35. Mejare, B. : The incidence and significance of *S. sanguis*, *S. mutans* and *S. salivarius* in root canal cultures from human teeth. *Odontol. Revy*

- 25 : 359, 1974.
36. Mouton, C. et al. : Serum antibodies to oral *Bacteroides asaccharolyticus*. *Infection & Immunity* 31 : 182 - 192, 1981.
 37. Pekovic, D.D. et al. : Identification of bacteria in immunopathologic mechanisms of human dental pulp. *Oral Surg.* 57 : 652 - 661, 1984.
 38. Winkelhoff, A.J., Carlee, A.W. : *Bacteroides endodontalis* and other Black-pigmented *Bacteroides* species in odontogenic abscesses. *Infection & Immunity* 49 : 494 - 497, 1985.
 39. Prabhu, S.V. : Immunologic mechanisms involved with human endodontic lesion. Loma Linda Univ., 1988.
 40. Pulver, W.H., Taubman, M.A. : Immune components in normal and inflamed human dental pulp. *Archs oral Biol.* 23 : 103 - 111, 1977.
 41. Pulver, W.H., Taubman, M.A. : Immune components in human dental periapical lesions. *Archs oral Biol.* 23 : 435 - 443, 1978.
 42. Roitt, I. et al. : *Immunology*, The C.V.Moby company, 1985.
 43. Rosengrent, L. : The antibody response to experimental streptococcal infection of the dental pulp of a cat. *Odontol. Tidskr.* 70 : 261, 1962.
 44. Shinoda, S. et al. : Pathogenesis of chronic periapical lesions. *The Quintessence* 4 : 1591 - 1601, 1985.
 45. Winkelhoff, A.J. et al. : The role of Black-pigmented *Bacteroides* in human oral infections. *J. Clin. Periodontol.* 15 : 145 - 155, 1988.
 46. Speer, M.L. et al. : Quantitative evaluation of the immunocompetence of the dental pulp. *J. O. Endo.* 3 : 418, 1977.
 47. Stabholz, A. et al. : The role of oral microorganisms in the pathogenesis of periapical pathosis. *J.O. Endo.* 9 : 171 - 175, 1983.
 48. Yoshida, M., Fukushima, H. : Correlation between clinical symptoms and micro-organisms isolated from root canals of teeth with periapical pathosis. *J. Endo.* 13 : 24 - 28, 1987.
 49. Sundqvist, G. : Bacterial study of necrotic pulps. Umea Univ. *Odontological Dissertation No.7*, Umea, Sweden, 1976.
 50. Svetcov, S.D. et al. : Serum immunoglobulin levels and bacterial flora in subjects with acute oro-facial swellings. *J. Endo.* 9 : 233 - 235, 1983.
 51. Zavistoski, J. : Quantitative bacteriology of endodontic infections. *O. Surg.* 49 : 171 - 174, 1980.

ELISA FOR MEASURING SERUM IgG AND IgM LEVELS IN PATIENTS OF ACUTE PULPITIS AND ACUTE APICAL ABSCESS

Ho Young Byun, D.D.S., Sung Sam Lim, D.D.S., M.S.D., Ph.D
Department of Conservative Dentistry, College of Dentistry, Seoul National University

Numerous studies have been focused on the immunologic aspects of inflamed pulp and periapical tissues. The purpose of this study was to evaluate levels of serum IgG and IgM in patients of acute pulpitis and acute apical abscess using Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis*, *Bacteroides intermedius* and *Bacteroides gingivalis* were grown for use as antigen and they were harvested by centrifugation. The patients were divided into 3 groups; patients of acute apical abscess, acute pulpitis and normal control. 5 patients of each group were selected and their blood was obtained via intravenous puncture. Sera were prepared by centrifugation of each blood samples. Then serum antibodies were measured by modified ELISA.

The following results were obtained;

1. Serum IgM levels of patients with acute pulpitis and acute apical abscess seemed to be slightly higher than those of normal control.
2. Serum IgG levels of patients with acute apical abscess were slightly higher than those of normal control.
3. Serum IgG and IgM levels of acute apical abscess patients and serum IgM levels of acute pulpitis were highest to *Bacteroides gingivalis*.

Key words : ELISA, IgG, IgM, acute pulpitis, acute apical abscess