

# 치근단 낭종환자의 혈청 및 낭종내의 항체수준에 관한 연구

서울대학교 치과대학 치과보존학교실

박계양 · 임성삼

## 목 차

- I. 서 론
- II. 실험재료 및 방법
- III. 연구성적
- IV. 총괄 및 고안
- V. 결 론
- 참고문헌
- 영문초록

## I. 서 론

치수조직 변성의 결과로 근관계는 많은 항원을 수용하게 되는데<sup>10)</sup> 감염된 근관으로부터 치근단 조직으로 이러한 항원들의 계속적인 유입은 치근단 병소를 유발시킨다고 보고되어왔다<sup>31,38,54)</sup>.

구강내에 존재하는 세균이 치수 및 치근단 병소의 발생에 중요한 역할을 함을 보여주는 많은 연구들이 있다. Miller<sup>30)</sup>는 염증치수조직내에서 세균의 존재를 입증하였고, Sundqvist<sup>50)</sup>은 구강내 특정세균과 치근단 질환의 임상증상의 발현간에 상관관계가 있음을 보고하였다. Kakehashi 등<sup>18)</sup>은 무균백서와 일반백서의 치수를 실험적으로 노출시켰을 때, 일반백서에서는 치근단육아종이나 농양을 수반하는 치수괴사가 유발된 것에 비해 무균백서에서는 이러한 소견은 전혀 관찰되지 않음을 보고하였다.

또, 사람의 감염근관에 대해서도 Sundqvist 등<sup>50)</sup>은 치근단 병소를 수반하는 근관의 거의 모두에서 세균을 검출하였고, 나아가서 그 90% 이상이 혐기성 세균이었다고 보고하였다. 혐기성 세균중 Black-pigmented *Bacteroides*가 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있고<sup>51,62)</sup> 이중에서 치근관 감염시에는 *B.in-*

*termedius*, *B.loeschii*, *B.endodontalis* 등이 자주 나타나는 것으로 알려져 있다. Baumgartner<sup>2)</sup> 등은 dot-ELISA 를 이용하여 *B.intermedius*, *B.gingivalis*, *B.endodontalis*가 치근단 병소의 중요한 원인균들임을 제시하였다.

한편 세균에서 유래된 물질이 아니더라도 생체에 의해 비자기로 감지되는 물질도 치근단 질환을 야기하는 것으로 알려져 있다<sup>39,53)</sup>. 이와같은 항원들이 치근단 조직내에서 어떠한 기전으로 골소실을 유발하고 계속 진행시키는 가에 대해 많은 연구가 있어왔는데, 여기에는 비특이성 염증 반응과 특이성 면역반응이 모두 관여한다고 알려져 있으며<sup>1,10,38)</sup>, 특히 면역반응의 역할을 알기 위한 연구가 진행되어 치수 및 치근단 병소에서 면역세포, 면역글로불린 함유세포, 보체, 그리고 면역글로불린의 존재가 여러 방법에 의해 확인되었다<sup>35,36,45,46,55,58)</sup>. 이러한 면역 세포들과 면역글로불린의 존재는 치수 및 치근단병소내에서 국소적으로 세포성 면역 반응 (Cellular immune reaction)과 체액성 면역반응 (Humoral immune reaction)이 일어난다는 것을 시사해준다<sup>61)</sup>.

치근단 육아종과 낭종을 조직학적으로 관찰하면 많은 수의 형질세포를 발견할 수 있는데 이는 국소적으로 항체의 합성이 일어나고 있음을 의미해 준다<sup>34,36,41,45,47,48)</sup>. Stern 등<sup>49)</sup>은 치근단 육아종과 낭종에서 면역글로불린 함유세포를 관찰하여 74%가 IgG 함유세포라고 보고하였으며, Kuntz 등<sup>26)</sup>도 만성 치근단 병소에서 면역글로불린 함유세포중 IgG 함유세포가 가장 많았다고 보고하였으며, Pulver 등<sup>41)</sup>은 면역형광기법을 이용하여 치근단 육아종에서 IgG 함유세포가 70%, 치근단 낭종에서 IgG, IgM 함유세포가 각각 45%씩 차지한다고 보고하였다.

Toller 와 Holborow<sup>52)</sup>는 형광항체염색법을 이용

※ 이 연구는 1991년도 서울대학교병원 임상연구비 지원에 의한 결과임

하여 치근단 낭종벽에서 IgA함유세포가 우세함을 관찰하였고 IgG, IgM함유세포도 관찰된다 하였으며, 치성낭종액을 면역전기영동한 결과 각 면역글로불린의 평균수준이 혈청에서의 수준보다 현저히 높았음을 보고하였다. Kuntz<sup>26)</sup>, Naidorf<sup>26)</sup>, Jones & Lally 등<sup>17)</sup>은 각각 상이한 방법으로 치근단 염증병소의 삼출액으로부터 IgG, IgA, IgM의 존재를 확인하였다.

한편 세균에 대한 전신적 면역반응에 관한 연구로 동물의 근관내에 균주를 주입하여 그 균주에 대한 혈청 항체가 형성됨을 확인한 보고가 있으며<sup>20, 39, 42)</sup>, Kettering등<sup>21)</sup>과 변<sup>64)</sup>은 급성 치근단 농양 환자의 혈청내에 혐기성 세균에 대한 IgG, IgM수준이 농양이 없는 환자들에 비해 높게 나타났음을 보고하였다. Keudell등<sup>24)</sup>과 Powell등<sup>25)</sup>은 치수 및 치근단 병소를 가진 환자들에서 이들 병소로부터 분리되는 혐기성 세균에 대한 특정 항체들이 혈청내에 형성되었으나 그 역가치는 전체 혈청 항체 수준에 미소하게 반영되었음을 보고하였다.

여러 연구가들에 의하여 만성치근단 병소내 면역글로불린의 존재에 관여하는 활발한 연구가 진행되어 입증되었으나, 근관에서 유래된 감염과 연관되어 있는 세균에 대한 면역글로불린의 반응성과 특수성, 그리고 전신적인 항체 수준과 국소적인 항체수준의 비교에 관한 연구는 많지않다. 이에 저자는 치수감염으로 유래된 치근단 낭종환자에서 혈청 항체수준의 상승 여부와 혈청내와 낭종액, 낭종벽내의 국소적인 항체 수준을 비교하고 특정세균에 대한 항체수준을 관찰하기 위하여 치근단 병소에서 자주 발견되는 *B.intermedius*, *B.gingivalis* 그리고 치아 우식시에 주로 발견되는 *S.sanguis*등을 항원으로 낭종환자의 혈청과 낭종액,

낭종벽에서의 IgM, IgG의 수준을 ELISA(Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)로 측정비교하여 다소의 지견을 얻었기에 이에 그 결과를 보고하는 바이다.

## II. 실험재료 및 방법

### 실험대상환자

실험군으로는 1990년 11월부터 1991년 6월 사이에 서울대학병원 보존과에 내원한 환자중 치근단 낭종으로 진단된 환자 5명을 선택하였다. 이들 환자는 방사선 사진상에서 경계가 뚜렷한 투과상을 보이는 병소가 관찰되었고 촉진시 유동성이 감지되고 전기 치수검사시 음성을 나타냈으며 치아의 동요를 수반하고 있었다. 3예에서는 치아변색이 관찰되었으며 최종적으로는 조직병리학적 검사로 진단하였다(표 1).

대조군으로는 구강외과에 하악지치 발거를 주소로 내원한 환자중 치아우식이나 치주질환, 치근단 병소가 관찰되지 않는 환자 5명을 선택하였다.

선택한 환자들은 20세에서 49세 사이로서 다른 알려진 전신질환이 없고 이전 1개월간 항생제를 복용한 경험이 없는 환자들이었다.

### 세균배양(항원준비)

본 실험에서는 표본균주인 *Bacteroides gingivalis* 381, *Bacteroides intermedius* G8-9k-3, 그리고 *Streptococcus sanguis* MPC1을 사용하였다. 이들 균주를 혐기성 상태(80% Na<sub>2</sub>+10% CO<sub>2</sub>+10% H<sub>2</sub>)에서 Brain Heart Infusion 및 Todd-Hewitt

Table 1. Clinical features of experimental Groups

No.	Age/Sex	location	symptoms				size(radiographic)
			P	S	M	D	
1	25/M	2 1	-	+	+	+	10.0×14.0(mm)
2	34/M	3	+	+	+	+	12.0×11.0
3	49/M	1   1	-	+	++	--	8.0×12.0
4	20/M	1   1 3	+	+	++	+	22.0×12.0
5	38/F	2   1	-	+	+	--	20.0×13.0

P: Pain, S: Swelling, M: Mobility, D: Discoloration

Broth에 48시간 키운 다음 원심분리(7000 rpm)시켜 phosphate - buffered saline(pH 7.2, 0.1M phosphate, PBS)으로 3회 세척한 후 4°C에서 보관하였다가 항원으로 사용하였다.

### 실험표본(일차항체)준비

#### 1. 환자의 혈청 추출

실험군인 치근단 낭종 환자에서 낭종 적출전에, 그리고 대조군은 정상인으로 하악치치 발거환자에서 발거전에 말초혈액을 채취한 후 원심분리(2500 rpm)시켜 얻은 상층액을 분리하여 사용시까지 -70°C 냉동실에 보관하였다.

#### 2. 치근단 낭종액과 조직 상층액 추출

낭종액은 치근단 낭종 적출시에 주사기로 흡인하여 사용시까지 -70°C 냉동실에 보관하였다. 치근단 낭종벽과 대조군인 건강한 환자의 지치 발거시 지치주위 치주조직을 조직 대조군으로 사용하기 위하여 조직을 적출하여 무게를 재고 scalpel로 조각으로 나눈 후 sucrose solution 1ml를 첨가한 상태에서 Glass homogenizer로 분쇄한 후 원심분리(11,500rpm, 4°C)하여 얻은 상층액을 -70°C 냉동실에 사용시까지 보관하였다.

### Modified enzyme - linked immunosorbent assay

ELISA technique은 Engvall<sup>6)</sup>등에 의하여 처음 시도된 후에 Voller<sup>19)</sup>등에 의하여 microplate에 사용되는 방법이 고안되었으며 항원-항체 반응을 측정하는 방법 중 가장 널리 사용되고 있다<sup>4,5,7,8,66)</sup>. (그림 1)

본 실험에서는 일회용 Flat bottom polystyrene microtiter plates(Dynatech 1-23.29: Dynatech Lab., Inc., Alexandria, Va.)를 사용하였다. 원심분리하여 얻은 항원을 0.02% Na<sub>2</sub>N<sub>3</sub>가 들어있는 0.1M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> Buffer(pH 9.6) 용액으로 희석하여 580 nm의 분광측정기로 최저 최적농도인 O.D 0.3을 맞추면 이를 부착시켰다. 항원부착을 위하여 microtiter plate wells에 100μl의 항원을 넣은 후 CO<sub>2</sub> incubator에서 37°C로 두시간 부화시킨 다음 항원

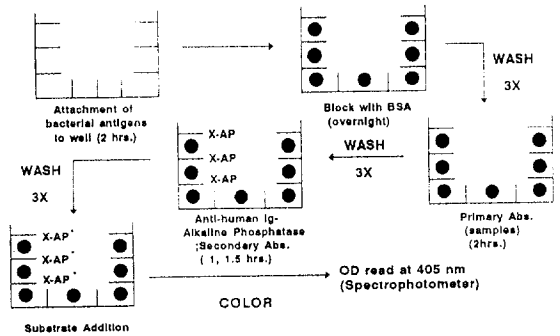


Fig. 1 Diagram of the ELISA procedure.

coating buffer용액이 들은 2%(wt/vol) bovine serum albumin 150μl를 첨가하여 4°C 냉장고에 사용시까지 보관하였다.

실험전에 plates의 각 well을 washing buffer (PBS+Tween 20)용액으로 3회 씻어낸 후 Antibody dilution buffer(PBS-0.05% Tween 20+0.5% BSA+0.02% Na<sub>2</sub>N<sub>3</sub>)용액으로 적정농도로 희석된 환자의 혈청항체와 낭종액, 원심분리후 얻은 낭종벽 상층액을 각각 50μl씩 각 well에 넣고 CO<sub>2</sub> incubator에서 2시간 동안 부화 반응시켰다. 그 후 plate의 각 well을 씻어내고 conjugate dilution buffer (PBS-0.05% Tween 20+0.5% BSA+0.02% Na<sub>2</sub>N<sub>3</sub>) 용액으로 적정량 희석된 Alkaline phosphatase - conjugated goat anti - human immunoglobulin(Sigma chemical Co.) IgG 및 IgM을 각 well속에 50μl씩 넣어서 37°C의 CO<sub>2</sub> incubator에서 1시간 및 1시간 반을 부화시킨 후 다시 washing buffer 용액으로 3회 세척하고 Substrate buffer 용액에 용해시킨 p - nitrophenylphosphate(type 104 : Sigma Chemical Co.)를 100μl씩 well속에 넣어서 37°C incubator에서 IgG는 20분, IgM은 30분을 반응시킨 후 405nm absorbance ELISA Reader Colorimeter(Titertek Multiskan<sup>R</sup> Plus MK II : Flow lab. AG, Switzerland)로 plate well의 상층부에서 하단부까지로 판독하여 optical density를 측정하였다.

### III. 실험결과

ELISA Reader Colorimeter에 의하여 측정된 optical density를 ELISA unit(Eu)로 환원한 후(표 2,

Table 2. Serum and Cyst fluid Immunoglobulin levels(Eu\*)

Microorganisms		<i>S.sanguis</i>		<i>B.intermedius</i>		<i>B.gingivalis</i>	
Groups	Ig.**	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM
Serum							
Control Group							
Patient No.	1	592	215	620	138	1604	219
	2	306	383	293	286	719	340
	3	428	302	185	239	335	454
	4	426	155	95	179	844	218
	5	241	397	815	615	1468	354
Experimental Group Pt.No.							
	1	1160	289	319	433	1101	355
	2	827	219	358	217	1058	164
	3	637	242	301	298	1464	551
	4	737	350	1137	556	564	605
	5	244	431	721	167	3741	180
Cyst fluid							
	1	1203	246	1515	461	3381	579
	2	483	138	1139	504	5980	2473
	3	459	338	2475	1243	5836	3497
	4	634	262	2199	561	3637	817
	5	772	501	3431	1697	6574	2639

\* ELISA Unit

\* \* Immunoglobulin

Table 3. Tissue Immunoglobulin levels(Eu\*)

Microorganisms		<i>S.sanguis</i>		<i>B.intermedius</i>		<i>B.gingivalis</i>	
Groups	Ig.**	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM
Control Group							
Patient No.	1	104	172	776	84	197	212
	2	355	136	256	196	461	537
	3	186	144	562	257	701	94
	4	84	265	385	106	609	188
	5	279	341	625	407	573	168
Experimental Group Pt.No.							
	1	282	316	784	1338	1449	586
	2	391	566	1692	353	4148	558
	3	275	73	880	574	1964	365
	4	449	85	1531	433	1479	1022
	5	1510	401	2739	2093	2405	566

\* ELISA Unit

\* \* Immunoglobulin

3) 낭종 환자의 혈청과 정상 대조군의 비교와 낭종 환자의 조직과 정상 대조군의 조직내 항체역가 비교는 Mann - Whitney의 U test를, 낭종 환자의 혈청과 낭종액내 항체 역가 비교는 Wilcoxon의 matched pairs ranks test를 이용하여 통계적 유의성을 평가하였으며, 각 군주간의 비교는 ANOVA로 평가하였다.

#### 1. 혈청 IgG의 수준

각 군주에 대한 혈청 IgG의 수준은 치근단 낭종 환자군과 정상대조군간에 유의할만한 차이가 없었다( $p>0.05$ ) (표 2, 그림 2). 실험군주간의 비교에서는 *B.gingivalis*에 대해 가장 높은 항체수준을 나타내었지만 통계학적인 유의성은 없었다( $p>0.05$ ) (표 2, 그림 6).

#### 2. 혈청 IgM의 수준

각 군주에 대한 혈청 IgM의 수준은 치근단 낭종 환자군과 정상대조군간에 유의할 만한 차이가 없었다( $p>0.05$ ) (표 2, 그림 3). 실험군주간의 비교에서는 3가지 군주 모두 거의 유사한 수준을 나타내었다(표 2, 그림 7).

#### 3. 조직내 IgG의 수준

치근단 낭종 환자군에서 낭종의 결체조직내 IgG의 수준은 *B.gingivalis*와 *B.intermedius*에 대해 정상대조군의 치주조직에서보다 높았으나( $p<0.05$ ), *S.sanguis*에 대하여는 약간 높은 경향만을 나타내었다(표 3, 그림 4). 실험군주간의 비교에서는 *B.gingivalis*에 대해 유의하게 높은 항체수준을 나타내었다( $p<0.05$ ) (표 3, 그림 8).

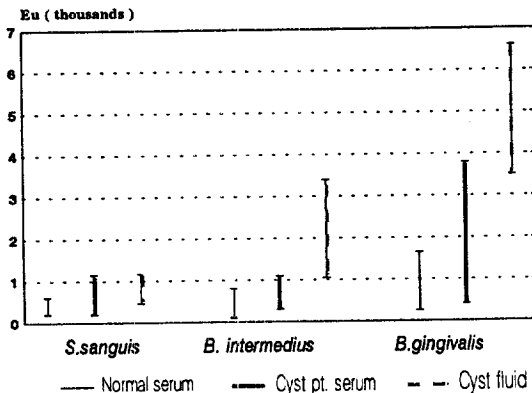


Fig. 2 Comparison of serum and cyst fluid IgG titers

#### 4. 조직내 IgM의 수준

치근단 낭종 환자군에서 낭종의 결체조직내 IgM의 수준은 *B.gingivalis*와 *B.intermedius*에 대해 정상대조군의 치주조직에서보다 높았으나( $p<0.05$ ), *S.sanguis*에 대하여는 차이를 나타내지 않았다( $p>0.05$ ) (표 3, 그림 5). 실험군주간의 비교에서는 *B.intermedius*에 대해 가장 높은 항체 수준을 나타냈지만 통계학적인 유의성은 없었다( $p>0.05$ ) (표 3, 그림 9).

#### 5. 낭종액내 IgG의 수준

치근단 낭종 환자군에서 낭종액내 IgG의 수준은 *B.gingivalis*와 *B.intermedius*에 대해 혈청내 수준보다 높았으나( $p<0.05$ ), *S.sanguis*에 대하여는 유의할 만한 차이를 나타내지 않았다( $p>0.05$ ) (표 2, 그림 2). 각 군주간의 비교에서는 *B.gingivalis*에 대해 가장 높은 항체수준을 나타내었고 통계학적으로 유의한 수준을 나타내었다( $p<0.01$ ) (표 2, 그림 6).

#### 6. 낭종액내 IgM의 수준

치근단 낭종 환자군에서 낭종액내 IgM의 수준은 *B.gingivalis*와 *B.intermedius*에 대해 혈청내 수준보다 높았으나 ( $p<0.05$ ), *S.sanguis*에 대하여는 유의할 만한 차이를 나타내지 않았다( $p>0.05$ ) (표 2, 그림 3). 각 군주간의 비교에서는 *B.gingivalis*에 대해 가장 높은 항체수준을 나타내었으나 통계학적인 유의성을 보이지는 않았다( $p>0.05$ ) (표 2, 그림 7).

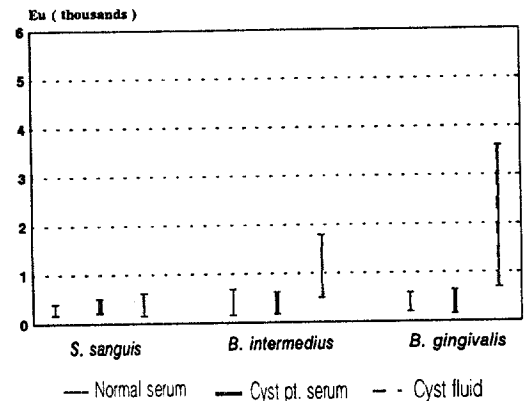


Fig. 3 Comparison of serum and cyst fluid IgM titers

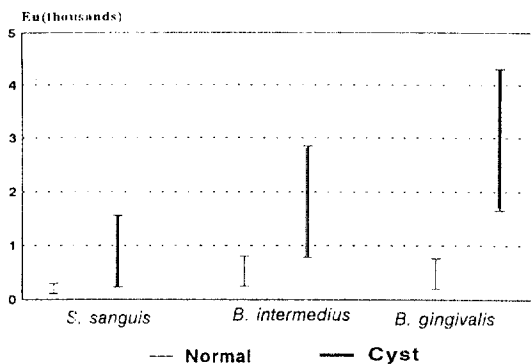


Fig. 4 Comparison of Tissue IgG titers

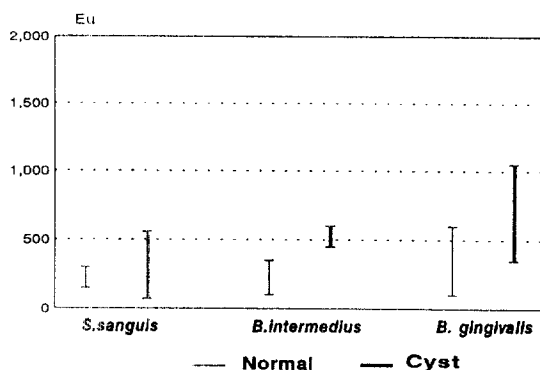


Fig. 5 Comparison of Tissue IgM titers

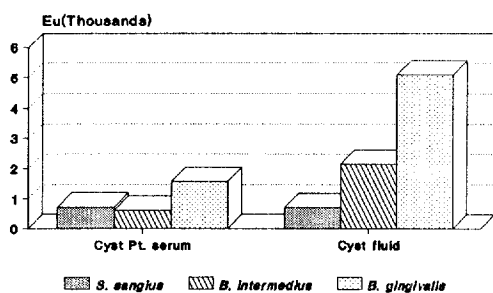


Fig. 6 Comparison of Serum and Cyst fluid IgG titers among the microorganisms

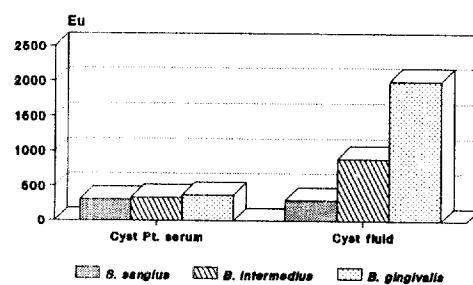


Fig. 7 Comparison of Serum and Cyst fluid IgM titers among the microorganisms

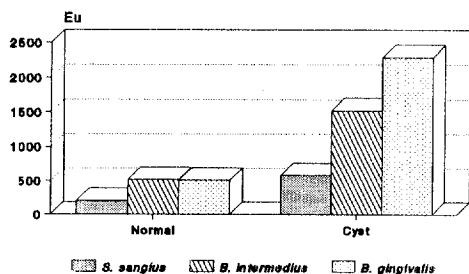


Fig. 8 Comparison of Tissue IgG titers among the microorganisms

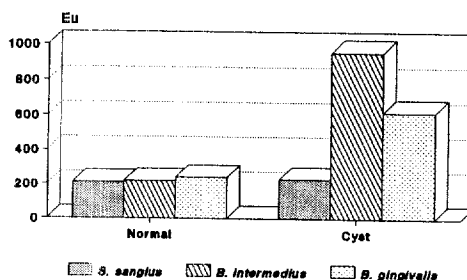


Fig. 9 Comparison of Tissue IgM titers among the microorganisms

#### IV. 총괄 및 고안

치근단 육아종과 치근낭종등의 만성 치근단 병소는 감염근관내에 존재하는 항원이 근첨공을 통해 치근단 조직에 유입됨으로써 발생하는 것으로 알려져 있다<sup>31, 38, 54</sup>. 항원으로는 세균, 세균의 독소나 부산물, 혹은 변성된 치수조직등<sup>55</sup>으로 지적되고 있으나 아직은 그 전용(全容)이 명확히 밝혀지지는 않고 있으며, 이 항원이 면역반응을 일으켜 치근단 조직을 파괴하는 것으로 알려져 있다<sup>1, 10, 56</sup>.

면역반응은 두가지 형태로 구분되는데 T임파구와 lymphokine이 관여하는 세포성 면역반응(Cellular immunity)과 특수한 면역글로블린 형성에 관계되는 체액성 면역반응(Humoral immunity)이다<sup>28</sup>. 면역글로블린은 감염성 미생물을 중화시켜 조직을 보호하는 역할을 수행하지만, 이로 인한 인접조직의 피해는 불가피하다<sup>14</sup>. 치근단 병소의 발생, 지속 및 확대에는 두가지 형태의 면역반응이 모두 관여하는 것으로 보고되었다<sup>43</sup>.

치근단 질환의 발생과 세균과의 밀접한 관계는 Kakehashi등<sup>18</sup>에 의해 보고되었고, Sundqvist<sup>50</sup>와 Dahlen등<sup>3</sup>의 연구에 의해 입증되었다. 근관을 통한 감염에는 여러 세균들이 복합적으로 관여하지만 이중 구강내 혐기성 세균이 우세하며<sup>12, 50, 59, 63</sup> 특히 Black-pigmented *Bacteroides*의 역할이 중요한 것으로 알려져 있다<sup>51, 62</sup>. Haapasalo등<sup>13</sup>은 증상이 있는 치아의 50%이상에서 *Bacteroides*가 발견되고 그 중 *B.intermedius*가 가장 자주 나타나며 *B.gingivalis*, *B.endodontalis*가 가장 흔하게 발견된다고 하였다. 또, Winkelhoff등<sup>59, 60</sup>은 치근단 병소가 있는 근관으로부터 *B.intermedius*를 발견하였으며 특히 치근단 낭종의 경우에는 *B.endodontalis*가 자주 분리된다 하였고 *B.gingivalis*는 치주염이나 급성염증이 있는 경우에 주로 나타난다고 보고하였다.

본 실험에서는 *B.intermedius*와 *B.gingivalis*에 대한 낭종액내 IgG, IgM 수준이 혈청내의 역가보다 높게 나타났으며, 낭종의 결체조직내에서도 건강한 사람의 치주조직에 비해 높게 나타났다. 이로써 Black-pigmented *Bacteroides*가 치근단 병소와 밀접하게 관련되어 있음을 알 수 있다.

두 균주간에는 *B.intermedius*보다는 *B.gingivalis*에 대한 낭종액내 IgG, IgM수준, 낭종결체조직내의

IgG수준이 높게 나타났는데, 실험환자군의 연령이 20세에서 49세이고 임상적으로는 치주질환이 없는 환자들을 대상으로 하였으므로 Black-pigmented *Bacteroides*가 병적인 과정에 더욱 관여하는 것으로 생각할 수 있다. 실제로 *B.gingivalis*는 다른 Black-pigmented *Bacteroides* 보다 많은 종류의 기질을 분해하며 보체(Complement)와 면역글로블린을 파괴하는 능력이 있는 것으로 보고되었다<sup>27</sup>. 치아우식시에 주로 발견되는 *S.sanguis*<sup>11, 16</sup>에 대하여는 유의할 만한 차이가 없는 것으로 보아 *S.sanguis*가 파괴된 치수나 치근단 병소에서 거의 분리되지 않는다는 Loesche<sup>30</sup>의 보고에 상응하였다.

치수 및 치근단 병소내의 임파구와 형질구의 존재는 여러 연구에서 이미 확인되었는데<sup>34, 40, 47, 48</sup>, 이들의 존재는 치수 및 치근단 병소내에서 국소적인 면역반응이 일어난다는 사실을 의미하며, 여러 종류의 항체 및 보체의 존재<sup>26, 36, 55, 56</sup> 역시 밝혀져왔다.

Honjo등<sup>15</sup>은 직접형광면역법을 이용하여 치수내 면역성분의 존재를 밝혀내었고 또 다른 연구에서 염증치수내에 IgG와 약간의 IgG, IgM함유세포를 관찰하였고, Kuntz등<sup>26</sup>, Jones등<sup>17</sup>, 그의 많은 연구자들<sup>11, 26, 56</sup>이 치근단 병소에 존재하는 면역글로블린중 IgG가 가장 많음을 보고하였다.

또 Pulver등<sup>41</sup>은 치근단 낭종에서 각 면역글로블린중 IgG, IgA가 각 45%이고 IgM, IgE가 각 5%의 분포를 보인다고 하였는데, 치근단 육아종에서는 IgG가 70%를 차지하고 있어 낭종과는 면역글로블린의 분포에 있어서 차이가 있다고 하였다. Toller등<sup>52</sup>도 치성낭종에서 IgA함유세포가 가장 많다고 하였으나, Matthew등<sup>47</sup>은 치성낭종에서 IgG가 IgA보다 5배 정도 많이 관찰됨을 보고하였으며 부<sup>66</sup>도 실험적 백서 치근단 병소의 연구에서 육아종, 낭종 모두에서 IgG함유세포가 가장 많았다고 보고하였다. 백<sup>64</sup>은 치근단 육아종에서 치근단 낭종보다 면역글로블린 G아강 함유세포가 많으며 육아종에서는 IgG2b가, 낭종에서는 IgG2a가 많아 그 분포에 있어서도 차이를 보인다고 하였다.

Baumgartner등<sup>2</sup>은 최근의 연구에서 dot-ELISA를 이용해 치근단 병소 적출후 배양한 상층액에서 근관 감염시 주로 분리되는 세균에 대한 IgG의 반응성이 존재함을 확인하였고, 균주중에는 특히 *B.intermedius*, *B.endodontalis*, *B.gingivalis*에

대해 아주 높은 반응성(*B.int.*>*B.endo.*>*B.gin.*)을 나타냈음을 보고하여 이들 세균의 항원요소가 국소적인 항체형성을 유발시킴을 확인하였다.

또 Kettering, Torabinejad<sup>23)</sup>은 modified-ELISA를 이용하여 치근단 병소내에 근관감염시의 세균에 대해 3가지의 면역글로불린, 즉 IgG, IgM, IgA가 모두 존재하였고 IgG, IgA, IgM순으로 역가가 높음을 보고하였다.

본 실험에서는 치근단 낭종을 적출한후 배양하는 방법을 이용하지 않고 분쇄, 원심 분리하여 그 상층액내에서 3가지 균주에 대해 IgG, IgM의 수준을 측정된 결과 *B.gingivalis*와 *B.intermedius*에 대하여는 정상대조군 치주조직내의 수준과 유의성 있는 차이를 나타내었고, *S.sanguis*에 대하여는 유의할 만한 차이를 보이지 않아 각 병소에서 자주 분리되는 균에 대한 항체수준만 상승한다는 Falkler<sup>24)</sup>의 ELISA연구와 유사한 결과를 보였다. 즉, 현재의 질병상태와 일반적으로 연관되어 있는 미생물에 대해 반응하는 항체가 국소적으로 합성된다고 추론할 수 있다. 각 균주의 IgG에 대한 수준은 Baumgartner<sup>25)</sup>의 dot-ELISA연구와 차이를 보여 *B.gingivalis*에 대해 더욱 높게 나타났는데, 이는 Baumgartner의 연구에서는 각 환자의 병소에서 (+)dot-ELISA를 보이는 경우의 백분율을 조사한 것이고 본 실험에서는 그 수준을 정량해서 비교하였기 때문으로 사료된다. 낭종결체조직내의 항체의 양은 각 환자마다 높은 차이를 나타내었는데, 이는 치근단 병소로 유입된 세균의 수와 숙주의 저항력이 환자마다 상이하며 또한 다양한 낭종의 크기를 단위 무게로 나누어 환산한 원인도 작용했을 것으로 사료된다.

치근단 낭종의 낭종액내 면역글로불린 수준에 관한 연구도 있었는데 Toller와 Holborow<sup>17)</sup>는 치성낭종액을 면역 전기영동하여 면역글로불린의 수준이 혈청내 수준보다 훨씬 높았고 특히 IgA에 있어서 더욱 그러하였음을 보고하였다.

또 낭종벽은 비교적 불투과성인 까닭에 분자량이 큰 면역글로불린(특히 IgM : M.W.>900,000)이 쉽게 낭종의 내부로 확산하기는 어려우므로 면역글로불린 자체가 확산한다기 보다는 면역글로불린을 형성하는 형질세포가 직접 낭종의 상피층을 통과하여 낭종의 와동으로 이동하는 것이라 보고하였

다. Pulver<sup>41)</sup>은 낭종벽내에 IgG, IgM의 면역글로불린 함유세포가 많이 존재함을 보더라도 낭종액내 면역글로불린이 국소적으로 유래된 것이라고 하였다.

본 실험에서는 IgA의 수준은 연구하지 않았으나, 낭종액내의 IgG와 IgM의 평균수준은 동일한 환자들의 혈청내 평균수준에 비해 현저히 높았으므로 낭종액내의 면역글로불린은 혈청과 큰 상관이 없고, 국소적으로 유래한 것이라는 Pulver<sup>41)</sup>과 Toller<sup>26)</sup>의 보고에 상응하였다. 치근단 낭종 환자의 혈청, 낭종액 그리고 낭종 조직내의 항체수준을 본 실험에서 직접적으로 비교할 수는 없었는데, 혈청과 낭종액은 부피로 정량하여 측정하였으므로 상호비교가 가능하였으나 조직은 분쇄과정에서 용액을 첨가한 이유로 조직 양의 표준화를 위하여 단위 무게로 환산하여야 했으므로 정상대조군 조직과의 비교만 가능하였다.

한편 Powell과 Keudell<sup>25)</sup>은 치수 및 치근단 질환이 있는 환자에서 이들의 근관으로부터 분리되는 혐기성 세균에 대한 IgG 및 IgM이 혈청내에 나타났으나, 정상 대조군과 유의성있는 차이는 없었다고 보고하였으며, Torabinejad<sup>27)</sup>과 Kettering<sup>22)</sup>은 만성 치근단 병소의 환자에서 혈청항체 수준이 정상대조군과 유의한 차이는 없으며 만성병소는 보통 국한되어 있어서 혈청 면역글로불린의 수준에 영향을 미치거나 전신적인 병소를 유발하는 요소로 작용할 수 없다고 하였다. Barnes와 Langeland<sup>11)</sup>도 역시 근관내의 항원에 대한 혈청항체수준이 크게 높지 않음을 관찰하여 혐기성 세균에 대한 항체가 일차적으로는 국소적으로 남아있을 것이라고 하였다.

반면에 Kettering<sup>21)</sup>은 또 다른 연구에서 급성 치근단 농양의 환자에서 immune complexes, IgG, IgM등의 혈청내 수준이 농양이 없는 환자들에 비해 크게 높음을 보였으며, 변<sup>65)</sup>도 급성 농양 환자에서 IgG, IgM의 혈청내 수준이 정상 대조군보다 높음을 보고하였다.

본 실험에서는 3개 균주에 대한 혈청 IgG및 IgM의 수준이 정상대조군에 비해 약간 높은 경향만을 나타내었을 뿐 각 균간에 유의성 있는 차이를 보이지 않아 Torabinejad와 Kettering<sup>22)</sup>의 연구와 유사한 결과를 얻었다.



이상의 연구에 의하여 치근단 낭종에서 국소적으로 세균에 대한 면역반응이 일어나 항체가 형성되며 전신적으로도 항체가 나타나나 전체 혈청 역가에 크게 반영되지 않음을 알 수 있었다. 앞으로 치근단 육아종과 낭종내의 항체수준을 비교하거나 환자의 근관내에서 직접 분리한 균주중 주요한 몇 가지를 선택해 항원으로 사용하여 비교하는 것도 의미있는 결과를 얻을 수 있을 것으로 사료된다.

## V. 결 론

만성 치근단 낭종환자에서 *B.gingivalis*, *B.intermedius*, 그리고 *S.sanguis*에 대한 혈청 및 낭종내의 항체역가를 ELISA로 비교 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 치근단 낭종 환자군에서 각 실험균주에 대한 혈청 IgG, IgM 수준은 정상 대조군과 유의성 있는 차이를 나타내지 않았다.
2. 치근단 낭종 환자군에서 *B.gingivalis*와 *B.intermedius*에 대한 IgG, IgM의 수준은 혈청에서보다 낭종내에서 높은 것으로 나타났으며( $p < 0.05$ ), *S.sanguis*에 대하여는 유의할 만한 차이가 없었다.
3. 치근단 낭종 환자군에서 낭종조직내의 IgG, IgM의 *B.gingivalis*와 *B.intermedius*에 대한 수준은 정상 대조군보다 높았으며( $p < 0.05$ ), *S.sanguis*에 대하여는 IgG의 수준만 약간 높은 경향을 나타내었다.
4. 치근단낭종 환자군의 낭종액 내의 IgG, IgM의 수준은 실험 균주중 *B.gingivalis*에 대하여 가장 높게 나타났으며, 낭종조직내의 IgG수준은 *B.gingivalis*에 대해, IgM수준은 *B.intermedius*에 대해 가장 높았다.

(본 논문이 완성되기까지 지도편달하여 주신 임상삼 지도교수님과 보춘학교실 의국원 여러분께 깊은 감사를 드립니다. 실험에 많은 도움을 주신 미생물학 김각균 교수님과 교실원 여러분께도 진심으로 감사드립니다.)

## 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. Baumgartner, J. Craig : Reactivity of IgG from explants cultures of periapical lesions with implicated microorganisms. J.Endo. 17 : 207 - 212, 1991.
3. Dahlen G., et. al. : Apical periodontitis induced by selected bacterial strains in root canals of immunized and nonimmunized monkeys. Scand. J. Den. Res. 90 : 207 - 216, 1982.
4. Dzink, J.L., et. al. : ELISA and conventional techniques for identification of Black - pigmented Bacteroides isolated from periodontal pockets. J. Perio. Res. 18 : 369 - 374, 1987.
5. Ebersole, J.L., Fre3y, D.E. : An ELISA for measuring serum antibodies to *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. J.Perio. Res. 15 : 621 - 632, 1980.
6. Engvall, E., et. al. : Enzyme - Linked Immunosorbent Assay. J. Immunology. 109 : 129 - 135, 1972.
7. Falkler, W.A. : The ELISA system for measuring Antibody reactive to *Fusobacterium nucleatum* in the sera of patients with chronic periodontitis. J. Perio. 53 : 762 - 766, 1982.
8. Falkelr, W.A. : Reaction of pulpal immunoglobulins to oral microorganisms by ELISA. J. Endo. 13 : 260 - 266, 1987.
9. Fishman M.J., et. al. : A quantitative examination of immunoglobulins in Bovine Gingiva and Dental pulp. J. Endo. 5 : 176 - 180, 1979.
10. Genco, R.J., Slot, J. : Host responses in periodontal disease. J. Dent. Res. 63 : 441 - 451, 1984.
11. Greening, A.B., et. al. : Apical lesions contain elevated immunoglobulin levels. J. Endo. 6 : 867 - 869, 1980.
12. Griffee, M.B., et. al. : The reaction of *B.melani-*

- nogenicus* to symptoms associated with pulpal necrosis. J. Oral. Surg. 50 : 457 - 467, 1980.
13. Haapasalo, M., et. al. : Black - pigmented *Bacteroides* spp. in human apical periodontitis. Infection & Immunity. 149 - 153, 1986.
  14. Hood., et. al. : Immunology, 2nd Ed., The Benjamin/Cummings publishing Company, 1984.
  15. Honjo, H. : Localization of plasma proteins in the human dental pulp. J. Dent. Res. 49 : 888, 1970.
  16. Hoshino, E. : Predominant obligate anaerobes in carious dentin. J. Dent. Res. 64 : 1195, 1985.
  17. Jones, O.J., Lally, E.T. : Biosynthesis of immunoglobulin isotypes in human periapical lesions. J. Endo. 6 : 672 - 677, 1980.
  18. Kakehashi, G.H., et. al. : The effect of surgical exposure of dental pulps in germ - free & conventional laboratory rats. Oral Surgery. 20 : 340 - 349, 1965.
  19. Kemeny, D.M., et. al. : ELISA & other solid phase immunoassays. John Wiley & Sons Ltd, 1988.
  20. Kennedy, D.R., Hamilton, T.R. : Effect of monkeys of introduction of hemolytic Streptococci into root canals. J. Dent. Res. 36 : 496 - 506, 1957.
  21. Kettering, J.D., Torabinejad, M. : Concentrations of immune complexes, IgG, IgM, IgE and C<sub>3</sub> in patients with acute apical abscesses. J. Endo. 10 : 417 - 421, 1984.
  22. Kettering, J.D., Torabinejad, M. : Concentrations of IgE in patients with chronic periapical lesions. J. Endo. 12 : 306 - 308, 1986.
  23. Kettering, J.D., et. al. : Specificity of antibodies present in human periapical lesions. J. Endo. 17 : 213 - 216, 1991.
  24. Keudell, K., Powell, G. : A review of microbial and immunologic aspects in endodontics. J. Oral Medicine. 36 : 39 - 43, 1981.
  25. Keudell, K., Powell, G. : Humoral antibodies to anaerobic bacteria isolated with patients with pulpal - periapical disease. Oral Surg. 53 : 194 - 197, 1982.
  26. Kuntz, D.D. : Localization of immunoglobulins and the third component in the dental periapical lesions. J. Endo. 3 : 68 - 73, 1977.
  27. Kwan - Chul Jin., et. al. : Proteolytic activity in Black - Pigmented *Bacteroides* species. J. Endo. 15 : 463 - 467, 1989.
  28. Landsteiner, K. : The specificity of serological reactions. Harvard. Univ. Press. Cambridge, Mass., 1945.
  29. Langeland, K.B., Grossman, L.I. : A histologic and histobacteriologic study of 35 periapical endodontic surgical specimens. J. Endo. 3 : 8 - 23, 1977.
  30. Loesche, W, J., et. al. : The predominant cultivable flora of carious plaque and carious dentin. Caries Res. 7 : 201 - 216, 1973.
  31. Longwill, D.G., et. al. : Reactivity of human lymphocytes to pulp antigens. J. Endo. 8 : 27 - 32, 1982.
  32. Mejare, B. : The incidence and significance of *S.sanguis*, *S.mutans* and *S.salivarius* in root canal cultures from human teeth. Odont. Revy. 25 : 359, 1974.
  33. Miller, W.D. : An introduction in the study of the bacterio - pathology of the dental pulp. Dent. Cosmos. 36 : 505 - 528, 1984.
  34. Morse, et. al. : Presence of immunoglobulin - producing cells in periapical lesions. J. Endo. 1 : 338 - 343, 1975.
  35. Morse, D.R. : Immunologic aspects of pulpal - periapical diseases. Oral Surg. 43 : 436 - 451, 1977.
  36. Naidorf, I.J. : Immunoglobulin in the periapical granuloma : A preliminary report. J. Endo. 1 : 15 - 18, 1975.
  37. Nevins, A.J., et. al. : Sensitization via IgE - mediated mechanism in patients with chronic periapical lesions. J. Endo. 11 : 228 - 230, 1985.
  38. Nishida, O., et. al. : Investigation of homologous antibodies to an extract of rabbit dental pulp canal. Arch Oral Biol. 12 : 1017 - 1034, 1967.

39. Okada, H., Aono, M., et. al. : Experimental study on focal infection in rabbits by prolonged sensitization through dental pulp canal. Arch Oral Biol. 12 : 1017 - 1034, 1967.
40. Pulver, W.H., Traubman, M.A. : Immune components in normal and inflamed human dental pulp. Archs Oral Biol. 23 : 103 - 111, 1977.
41. Pulver, W.H., Traubman, M.A. : Immune components in human dental periapical lesions. Arch. Oral Biol. 23 : 435 - 443, 1978.
42. Rosengren, L. : The antibody response to experimental Streptococcal infection of the dental pulp of a cat. Odontol. Tidskr. 70 : 261 - 360, 1962.
43. Shinoda, S., et. al. : Pathogenesis of chronic periapical lesions. The Quintessence J. 4 : 1591 - 1601, 1985.
44. Shinda, S., Hiroshi Okada. : Pathogenesis of chronic periapical lesions. The Quintessence J. 4 : 43 - 53, 1985.
45. Skaug, N., Nilsen, R., et. al. : In situ characterization of cell infiltrates in human dental periapical granulomas. J. Oral Pathol. 11 : 47 - 57, 1982.
46. Skaug, N., Johannessen, A.C. and Nilsen, R. : In situ characterization of cell infiltrates in human dental periapical granulomas 2. Demonstration of receptors for the complement component C3b and C3d. J. Oral. Pathol. 13 : 111 - 119, 1984.
47. Smith, G., Matthews, J.B. and Browne, R.M. : Immunoglobulin producing cells in human odontogenic cysts. J. Oral Pathol. 16 : 45 - 48, 1987.
48. Stern, M.H., et. al. : Quantitative analysis of cellular composition of human periapical granuloma. J. Endo. 7 : 117 - 122, 1981.
49. Stern, M.H., et. al. : Antibody - producing cells in human periapical granulomas and cysts. J. Endo. 447 - 452, 1981.
50. Sundqvist, G. : Bacterial study of necrotic pulps. Umea. Univ. Odontological Dissertation No. 7, Umea, Sweden, 1976.
51. Sundqvist, G. : Prevalence of Black - pigmented *Bacteroides* species in root canal infections. J. Endo. 15 : 13 - 19, 1989.
52. Toller, P.A., Holborow, E. : Immunoglobulins and immunoglobulin - containing cells in the cysts of the jaws. The Lancet. 26 : 178 - 181, 1969.
53. Torabinejad, M., et. al. : Experimentally induced alterations in periapical tissues of the cat. J. Dent. Res. 59 : 87 - 86, 1980.
54. Torabinejad, M., et. al. : Immunopathogenesis of chronic periapical lesions. Oral. Surg. 46 : 686 - 695, 1978.
55. Torabinejad, M., et. al. : Detection of immune complexes in human dental periapical lesion by anticomplement - immunofluorescence technique. J. Oral Surg. 48 : 256 - 261, 1979.
56. Torabinejad, M., et. al. : Localization of IgE in human periapical lesions by peroxidase - antiperoxidase method. Arch Oral Biol. 26 : 677 - 681, 1981.
57. Torabinejad, M., et. al. : Quantitation of circulating immune complexes, IgG, IgM and C<sub>3</sub> complement component in patients with large periapical lesions. J. Oral. Surg. 55 : 186 - 190, 1983.
58. Torabinejad, M., Eby, W.C., Naidorf, I.J. : Inflammatory and immunological aspects of the pathogenesis of human periapical lesions. J. Endo. 11 : 477 - 487, 1985.
59. Winkelhoff, A.J., Carlee, A.W. : *Bacteroides endodontalis* and other Blackpigmented *Bacteroides* species in odontogenic abscesses. Infection and Immunity. 49 : 494 - 497, 1985.
60. Winkelhoff, A.J., et. al. : The role of Black - pigmented *Bacteroides* in human oral infections. J. Clin. Period. 15 : 145 - 155, 1988.
61. Yanagisawa, S. : Pathologic study of periapical lesions 1, Periapical granulomas : Clinical, histopathologic and immunopathologic studies. J. Oral Pathol. 9 : 228 - 300, 1980.

62. Yoshida, M., Fukushima, H. : Correlation between clinical symptoms and microorganisms isolated from root canals of teeth with periapical pathosis. J. Endo. 13 : 24 - 28, 1988.
63. Zavistoski, J. : Quantitative bacteriology of endodontic infections. Oral. Surg. 49 : 171 - 174, 1980.
64. 백승호 : 실험적 백서 치수 및 치근단 병소에서의 면역글로불린 G아강 분포에 관한 면역조직화학적 연구. 대한치과보존학회지. 16 : 41 - 59, 1991.
65. 변호영 : ELISA를 이용한 급성 치근단농양 및 급성 치수염 환자에서의 혈청 항체 수준에 관한 실험적 연구. 대한치과보존학회지. 16 : 236 - 244, 1991.
66. 부정선 : 실험적 백서 치근단 병소에서의 면역글로불린 분포에 관한 면역조직화학적 연구. 대한치과보존학회지 15 : 58 - 76, 1990.
67. 정종평 : ELISA를 이용한 국소적, 유년성 치주염 환자의 혈청내 *Actinobacillus actinomycescomitans* Y<sub>9</sub> 균주 항체역가에 관한 연구. 대한치과 의사협회지. 22 : 57 - 66, 1984.

Abstract

A STUDY ON SYSTEMIC AND LOCAL PRODUCTION OF IMMUNOGLOBULINS  
IN HUMAN PERIAPICAL CYSTS

Kye - Yang Park, D. D. S., Sung - Sam Lim, D. D. S., M. S. D., Ph. D.

*Department of Conservative Dentistry, College of Dentistry, Seoul National University*

The purpose of this study was to evaluate the systemic and local production of immunoglobulins and their levels in patients with periapical cysts using Enzyme - Linked Immunosorbent Assay. *Streptococcus sanguis*, *Bacteroides gingivalis*, and *Bacteroides intermedius* were grown for use as antigen and they were harvested by centrifugation. The patients were divided into two groups : patients of periapical cysts and normal control. 5 patients of each group were selected and their blood were obtained via intravenous puncture prior to surgical operation. Sera were prepared by centrifugation of each blood samples. Cyst fluid were aspirated from cystic cavity and cyst wall were excised at operation. Control tissue were also excised at extraction site of impacted wisdom teeth from normal control. Each tissue was prepared by homogenization and centrifugation. Then antibodies of each sample were measured by modified ELISA.

The following results were obtained :

1. Serum IgG and IgM levels were not significantly different between patients with periapical cyst and normal control.
2. IgG and IgM levels of cyst fluid to *Bacteroides gingivalis* and *Bacteroides intermedius* were significantly higher than those of serum of patients with periapical cyst, but there was no significant difference to *Streptococcus sanguis*.
3. IgG and IgM levels of cyst wall to *Bacteroides gingivalis* and *Bacteroides intermedius* were significantly higher than those of control tissue, but there was no significant difference to *Streptococcus sanguis*.
4. IgG and IgM levels in cyst fluid and IgG levels in cyst wall were highest to *Bacteroides gingivalis*, and IgM levels in cyst wall were highest to *Bacteroides intermedius*.

---

Key Words : ELISA, IgG, IgM, cyst fluid, cyst wall