

정상치은열구액과 치주질환시 치은열구액의 단백질 조성비교에 관한 연구

전북대학교 치과대학 치주과학교실
김수아 · 이진용 · 김형섭

I. 서 론

치주질환의 현상태를 나타내고 질병의 진행을 예견하는 척도로서 치주낭의 깊이, 치은의 염증상태, 치태의 양, 탐침에 의한 치은출혈 등의 임상적 평가방법이 주로 이용되어 왔으나, 현재는 많은 학자들 간에 이런 평가 방법은 질병의 결과로서 나타난 현상을 측정할 뿐, 질병의 진행을 예견해 주기에는 부족하므로, 질병의 활동상태를 정확하게 판단할 수 있는 다른 수단이 필요하다는 데로 의견이 모아지고 있다. 따라서 경험적이기 보다는 과학적인 근거를 가진, 치주질환의 진단과 치료를 위해서 치주질환 활성의 정확하고 민감한 지표를 찾는 것이 임상치주학의 중요 관심분야로 대두되었다.

과거 치주질환의 발전형태가 만성적이고 진행성을 가진다는 이론에 맞서 Socransky¹⁾, Goodson²⁾, McHenry²⁾ 등은 치주질환의 진행과정 중 악화기와 정지기가 반복되어 나타나며, 급성 악화기에 치주조직 파괴가 급격히 유발되는 주기적이고 우발적인 양상을 보인다는 이론을 제창한 바 있고, Kryshalskyj³⁾ 등이 종적실험을 통하여 질환 진행과정에서 조직과 파괴, 잠정기, 치유기가 반복되어 나타난다고 하여 이 이론을 뒷받침하였다. 또한 불규칙한 발전과정 외에도 치주질환은 동일 구강내에서도 부위에 따라 질병의 활동성과 진행양상이 다른 위치특이적 특성을 가지고 있으므로⁴⁾, 치주조직의 생화학적 지수측정법을 치주염 진단에 도입하고자 하는 시도는 매우 의미있고 실질적인 접근방법이 된다.

치은열구액은 열구상피에 인접한 조직에서 염증의 결과로 분비되는 삼출물로서, 치주 질환 진행의 결과로 생긴 조직의 분해산물을 포함하며, 그 양은 염증의 정도와 상관관계가 높다⁵⁻⁸⁾ 따라서 치주질환 활동성에 대한 지표로서의 역할을 만족스럽게 수행할 만한 생화학적 인자를 찾아내기 위하여 치주조직 및 치은열구액에

대한 매우 광범위한 분석이 시행되었다. 혈장단백질과 분해산물의 조성 및 정량, 수주세포와 미생물로 부터 유리되는 collagenase⁹⁾, hyaluronidase 등의 기질분해효소 및 β -glucuronidase¹⁴⁻¹⁶⁾, acid phosphatase¹⁷⁾, cathepsin D 등의 용해소체 효소들, 염증매개체, 치주결체조직의 형성과 파괴시에 생성되는 되산산물들에 대한 연구가 그것이다⁹⁻¹³⁾.

염증서 삼출물의 각종성분들에 대해서는 많은 연구가 진행된 반면 상대적으로 치주조직 상태에 따른 치은열구액내 단백질 조성에 관한 연구는 드물다. 치은열구액은 그 용량이 적고 분석할 수 있는 지표들의 종류가 많은데, 이러한 지표들을 모두 분석하기는 불가능하므로 한번의 검사로 질환활성에 따른 차이점을 규명할 수만 있다면 획기적인 발전을 가져오게 될 것이다.

그런 의미에서 치은열구액내 단백질 조성의 profile을 분석하는 방법은 한번의 검사로 전체적인 질환활성을 관찰할 수 있는 유용한 진단방법이라 생각된다.

이 연구의 목적은 치은염증 단계에 따른 치은열구액내 단백질 조성을 알아보고, 단백질이 부착상실과 골소실을 인지하는 염증반응의 척도로 이용될 수 있는 가능성을 알아보고자 하는 것이다.

II. 실험대상 및 방법

가. 실험대상 및 부위

임상적으로 건강한 치은을 가진 전북대학교 치과대학 학생 26명을 정상군으로 선택하였으며, 나이는 23-27세였다. 전북대학교 치과병원 치주과에 내원한 35세에서 62세의 환자로서 중등도에서 심한 치주질환을 가진 18명을 치주질환자군으로 실험에 참여시켰다. 전신질환이 있거나 단백질 대사를 변화시킬 수 있는 약물을

복용하였거나 하고있는 자는 실험에서 제외시켰다.

상악 우측 제일대구치와 하악 좌측 견치를 대상으로 하였으며 이 치아를 선택한 이유는 상악 제일대구치가 치주질환에 가장 감수성을 보이며, 하악 견치가 가장 저항성이 있는 것으로 여겨지기 때문이다.

치은열구액 채취후에 Loe & Silness의 치은염 지수 (GI : Gingival Index)와 탐침시의 출혈경향(BOP : Bleeding on probing)으로 치은염증 정도를 평가하였다. 또한 Michigan-O-probe를 사용하여 치주낭 깊이 (PD : Pocket depth)를 측정하였다.

나. 치은열구액 및 혈액 채취

타액으로 인한 오염을 방지하기 위해 해당부위를 cotton roll로 방습하고 2×8mm filter paper strip(Whatman 3MM chromatography paper)을 5초동안 미약한 저항감이 느껴질 때까지 치은열구에 삽입하였다. 이 방법은 Loe와 Holm-Pederson¹⁸⁾에 의해 처음 제안되어 조직에 최소의 자극을 위해서 받아들여졌다. 열구액 채취후 periotron(HAR-6000)에서 volume을 측정하였으며, 혈액이 묻은 strip은 채택하지 않았다. 치은열구액을 채취한 filter paper strip을 capped microcentrifuge tube에 넣고 얼음속에 보관한 채 실험실로 옮겨, 용출과 연속적 분석을 1주내에 시행하기 위해서 -70℃에서 얼려 보관하였다.

각 환자의 ante-cubital fassa에서 venefuncture하여 20ml의 혈액을 얻어, 실온에서 1시간 방치후 3000xg으로 30분간 원심분리하여 혈청만을 조심스럽게 옮겨 분석에 이용될 때까지 -20℃에서 보관하였다.

다. 치은열구액 용출(elution)

채취한 치은열구액을 paper strip으로부터 용출하기 위하여 치은열구액이 적셔진 paper strip에 1mMdl PMSF(phenylmethyl sulfonyl fluoride, Sigma)가 함유된 증류수를 50μ홀려보았다. 홀려보낸 용액을 다시 취하여 paper strip을 따라 흘려보내는 과정을 얼음속에서 5-6회 반복하였다.

그후 4℃에서 15분 동안 3000xg로 원심분리 하였다. 상청액을 취하여 다른 microcentrifuge tube에 옮겨 그중 5μ분획을 단백질 정량에 사용하였다.

라. Sodium dodecyl sulphate / Polyacrylamide gel electrophoresis

(SDS/PAGE)

각 치은열구액 시료 및 혈청은 Laemmli¹⁹⁾의 방법에 따라 reducing condition하에서 Tall mighty gel electrophoresis system(Hoefer)을 이용하여 SDS/PAGE로 단백질 조성을 분석하였다.

전체 GCF용출액의 절반은 냉동건조기(Vir Tis)에 건조시켜 5% 2-mercaptoethanol 20μl가 포함된 SDS reducing buffer에 다시 녹인다음 100℃에서 5분간 가열한 후 gel에 loading하였다.

10% acrylamide/bisacrylamide seperating gel과 4% stacking gel을 이용하였고, stacking gel에서는 20mA, seperating시에는 40mA의 일정한 전류를 걸었다.

전기영동 후에는 coomassie brilliant blue G250(Bio-Rad) 혹은 silver staining(Bio-Rad)하여 단백질 band를 관찰하였다.

high molecular weight marker(Bio-Rad)를 항상 같이 걸어 각 단백질 band의 분자량을 측정하였고, 대부분의 경우 혈청시료를 standard로 같이 걸어 전체적인 단백질 profile을 비교하였다.

마. 단백질 정량

치은열구액 용출액의 5μ분획으로부터 Lowry(1951) 방법을 이용하여 단백질 정량을 시행하였다.

착색시료가 담긴 microtitre plates는 Titertek Multiscan Mcc(Flow)으로 540nm에서 판독하였고, bovine serum albumin을 standard로 사용하여 단백질 양을 계산하였다.

III. 실험성적

가. 임상지수

정상군의 치은지수 (GI)는 0.77 ± 0.19 , 치주낭 깊이 (PD)는 2.42 ± 0.18 , 탐침시 출혈경향(BOP)은 1.04 ± 0.21 이었으며, 치주질환자군의 GI는 2.78 ± 0.1 PD는 5.11 ± 0.42 , BOP는 2.72 ± 0.11 로 GI, PD, BOP 모두 정상군보다 치주질환자군에서 통계적으로 유의하게 ($P < 0.005$) 크게 나타났다(Table 1).

Table 1. Clinical index & Protein amount, concentration

	Clinical Index			protein	
	GI	PD	BOP	amount (μg)	concentration (μg/μl)
Normal (n=26)	0.77 ± 0.19	2.42 ± 0.18	1.04 ± 0.21	5.66 ± 0.12	28.3 ± 2.7
periodontitis (n=18)	2.78 ± 0.10	5.11 ± 0.42	2.72 ± 0.11	8.24 ± 0.55	20.8 ± 4.2
	p<0.005	p<0.005	p<0.005	p<0.005	NS

Mean± SE

NS : not significant

Fig. 1. Silver-stained albumin bands of GCF sampled from diseased (lane 2-4) and normal sites (lane 5-7)

lane 1: molecular weight marker

bovine serum albumin (66KDa)

lane 8 & 9: bovine serum albumin as a concentration marker, 2.5μg & 5μg

나. 총단백질 농도

총단백질량은 정상군에서 $5.66 \pm 0.12 \mu\text{g}/\mu\text{l}$, 치주질환자군에서는 $8.24 \pm 0.55 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ 로 통계적으로 유의한 차이를 보였으나, 단백질 농도는 정상군에서 $28.3 \pm 2.7 \mu\text{g}/\mu\text{l}$, 치주질환자군에서 $20.8 \pm 4.2 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ 로 오히려 반대양상을 띄었고 통계적 유의성은 없었다 (Table 1).

다. 정상 치은열구액과 치주질환시 치은열구액의 단백질 profile 비교

Fig. 1에서 보는 것처럼 66KDa의 albumin이 혈장단백질 추출의 지표로 생각되어지며, 치은열구액을 SDS

/PAGE로 분석했을때 albumin 농도는 염증환자에서 정상보다 2배 가까이 진한 강도를 나타내었다.

Fig. 2에서는 염증이 전체적인 단백질 분비량이 정상보다 크다 (lane 2의 단백질 band가 lane 3, 4보다 진하게 나타남)는 것 외에도, lane 5에서처럼 거의 비슷한 단백질 총량에도 불구하고 고분자량 단백질이 염증이 진하게 나타난 것을 볼 수 있었다. 이는 혈장단백질 중 고분자량 단백질이 혈관투과성 증가에 비례하여 치은열구액 내로 유출되는 것을 증명해준다.

Fig. 2. Silver - stained SDS/PAGE gel

Half of the total GCF eluent were loaded on each lane

lane 1: Normal serum

lane 2: GCF from diseased patient

lane 3-5: Normal GCF

lane 6: Molecular weight marker (prestained)

Myosin (205 KDa), β - galactosidase (116.5 KDa),

Bovine serum albumin (80 KDa), Ovalbumin (49.5 KDa)

IV. 총괄 및 고안

치은염증의 심도와 치은열구액 유출량 사이에는 직접적인 관련성이 있는 것으로 보이며 여러 연구자들에 의해 일치된 의견을 보인다.

염증매개물이 국소적으로 작용을 시작하면 crevicular plexus의 혈관투과성이 증가되어 기저막에 누출이 생기게 되고 더이상의 삼투압 구배를 유지할 수 없게 됨으로서 혈장액과 단백질이 유리되어 열구상피의 세포간 공간을 통해 치은열구로 나오게 된다.

crevicular plexus의 혈관투과성과 치은열구액 증가에 관한 Brill²⁰⁾의 실험에서 Evan's blue dye를 개에 주입했을 때 염증이 없는 치은에서는 소량의 dye가 albumin과 결합되어 모세혈관에서 조직으로 빠져나가지만 투과성이 증가된 상태에서는 더 많은 양이 유출되었으며, 건강한 치은변연에 filter paper strip을 3분동안 삽입하였을 때는 착색을 볼 수 없었지만, histamin을 주사한 경우 혈관투과성의 증가로 인하여 strip에 deep blue stain이

나타났다.

Alfano²¹⁾는 치은연하 치태에 존재하는 세균의 거대 분자 산물이 세포간 유체압력을 높여서 치은열구액의 유출을 일으키며, 이러한 기전은 정상 치은에서도 나타날 수 있고, 치태가 제거되지 않으며 염증반응이 진행되고 염증성 삼출물을 동반한다고 하였다.

Egelberg²²⁾는 건강한 치은에서 filter paper strip의 삽입은 혈관투과성을 증가시키기에 충분한 기계적 자극이 되며, 치은을 압축공기로 건조시킨 것 역시 치은열구액의 양을 증가시킨다고 하였다. 또한 그는 협설면보다 인접유두 부위에서 치은열구액을 더 많이 얻을 수 있으며 삼출액과 임상적 혹은 조직학적 염증 정도와 상관관계를 가지므로 치은열구액 유출이 치은에서 일어나는 염증성 변화를 평가하는 방법으로 여겨진다고 하였다²³⁾.

Løe와 Holm-Pedersen¹⁸⁾은 치은열구액 유출속도는 염증의 심도와 직접적인 관계가 있으며 임상적으로 구조적인 변화가 나타나기 전에 유출이 나타난다고

보고하였다.

Table 1에서 나타나 있는 것처럼 정상군에서의 평균 총단백질 농도는 $28.3 \pm 2.7 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ 였다. 이것은 Curtis와 Griffiths²³의 연구에서의 $22.0 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ 와 거의 비슷한 수치이다.

Biswas²⁴ 등은 GI가 0인 곳에서 3분동안 채취한 치은열구액의 총단백질 농도는 $130 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ 였다고 하였으며, Hattingh와 Ho²⁵는 20초간 채취했을 때 $93.1 \mu\text{g}/\mu\text{l}$, Novaes²⁶ 등은 3분 채취했을 때 $64.1 \mu\text{g}/\mu\text{l}$, Shapiro²⁷ 등은 2분 채취했을 때 $53.3 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ 로 보고하였다. 이들 실험치간에 큰 차이를 나타내었으며 그 이유는 치은열구액 용적 측정을 위한 채취기구에서의 evaporative loss와 채취시간 차이 때문인 것으로 여겨진다.

Curtis와 Griffiths의 연구결과인 $22.0 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ 는 extracellular tissue fluid와 lymph의 단백질 농도에 근접하며, Bickel²⁸ 등이 보고한 염증이 없는 부위의 치은열구액에서의 albumin 농도인 16.8g/l 와 거의 일치한다.

Brill과 Bronnestam²⁹은 자극했을 때와 자극하지 않은 치주낭에서의 치은열구액 유출량을 분석하였는데 자극받지 않은 치주낭의 총단백질 농도가 혈액의 1/10이며, 자극받은 치주낭에서는 그보다 더 높았다고 보고하였다.

Sueda³⁰ 등은 치은열구액과 혈액에서 비슷한 양의 단백질을 함유하고 있다고 하였으며, Bang과 Cimasori³¹도 역시 차이가 없다고 보고하였는데, 이들은 치은열구액에서의 단백질 농도와 치주염과 치은염의 심도를 평가하는 PMA index, 치주낭 깊이, 골소실 등의 임상지표 사이에는 큰 상관관계가 없었고, 이는 치은열구액이 염증성 삼출물로 고분자 화합물인 단백질을 통과시킬 수 있기때문으로 여겨진다고 하였다.

본 연구에서는 염증반응의 심도에 따라 치은열구액의 유출량이 증가하였으며, 치은열구액의 단백질은 임상적으로 건강한 치주조직에서 더 높은 농도를 보였으나 이것은 통계적으로 유의성을 갖지 못하였다. 이러한 차이는 임상적으로 심한 염증상태를 보이는 곳에서 열구유출액이 상대적으로 많고 이에따라 치은열구액이 더 희석되었을 것으로 생각된다. 이것은 Schenkein과 Genco⁸, 그리고 Arthur와 Novaes²⁶의 연구결과와 일치된다.

치은열구액에서 채취한 단백질은 부분적으로 혈장단백질에서 유래되고, 부분적으로는 결합조직과 연관된 여러가지 단백질의 이화작용의 결과로 생긴다. 치은열구액에서 쉽게 찾을 수 있는 albumin과 같은 혈장단

백질은 혈장단백질 유출의 지표로 사용할 수 있다.

1985년 Bickel²⁸ 등은 임상적으로 염증이 있는 부위에서 채취한 치은열구액의 albumin 농도만이 혈장에 근접했다고 하였으며, Brill²⁹은 임상적으로 건강한 치은의 모세혈관에서 적은양의 albumin이 유출되는 것을 관찰하였다.

또한 전기영동을 이용한 치은열구액의 분석이 보고되어 왔는데 혈청내의 albumin, transferin, Ig이 유사한 소견을 보였다.

정상 치은열구액과 치주질환시 치은열구액의 단백질 profile을 비교했을 때 치주질환자 군에서 66 KDa인 albumin band가 정상군보다 진하게 나타났으며, 고분자량 단백질 쪽이 역시 진하게 나타난 것을 볼 수 있었다.

Alfano³²는 치은열구액의 생성은 passive diffusion에 의해 조절되는데, 염증이 없고 치은연하 치태가 없는 부위에서는 이러한 barrier의 투과성이 낮기 때문에 치은열구로 고분자 단백질이 빠져나올 수 없으며, 염증에 의해 혈관투과성이 증가하여 혈장단백질 중 고분자량의 단백질이 치은열구액으로 유출된다고 하였다. 그러므로 정상 치은열구액에도 나타나지만 염증시에 크게 증가하는 albumin이 정상과 염증시 치은열구액의 단백질 profile을 구분짓는 지표가 되는 크기의 단백질로 여겨지며, 그 크기 이상의 혈장단백질은 거의 절대적으로 염증으로 인한 투과성의 증가시에만 치은열구액에서 발견된다는 것은 고분자량의 혈장단백질의 염증을 나타내는 지표로 이용될 수 있다는 것을 의미한다.

이상으로 치주조직의 염증정도를 평가하고 치주질환의 심도를 측정하는 통상적인 진단방법들, 즉 조직학적 검사, 방사선학적 검사, 치주낭 깊이 측정 및 임상지수들과 함께 치주조직의 파괴양태를 추적하고 치주질환의 실제적 활동상태를 파악하기 위하여 치은열구액내 단백질 조성을 분석하는 것은 장차 치주질환을 올바르게 진단, 치료하는데 일익을 담당할 것이며, 염증시 나타나는, 혈장에서 유래되지 않는 단백질의 기원을 밝히고 동시에 여러종류의 기원이 다른, 원인이 될수도 결과가 될 수도 있는 단백질을 치주질환 활성의 지표로 삼을 수 있는 가능성을 규명하기 위하여 이들 단백질에 대한 연구가 계속 되어져야 할 것으로 사료된다.

V. 결 론

임상적으로 건강한 치은을 가진 23세에서 27세의 26

명파, 치주질환으로 전북대학교 치과병원 치주과에 내원한 35세에서 62세의 18명을 대상으로 치은열구액을 채취하여 Lowry 방법을 이용한 단백질 정량과 SDS/PAGE 분석으로 단백질 조성을 비교하여 다음의 결론을 얻었다.

1. 총단백질량은 정상군에서 $5.66 \pm 0.12 \mu\text{g}/\mu\text{l}$, 치주질환자군에서 $8.24 \pm 0.55 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ 로 통계적으로 유의한 차이를 보였으나 ($P < 0.005$), 단백질 농도는 정상군에서 $28.3 \pm 2.7 \mu\text{g}/\mu\text{l}$, 치주질환자군에서 $20.8 \pm 4.2 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ 로 오히려 반대양상을 띄었고 통계적 유의성은 없었다.
2. 치은열구액을 SDS/PAGE 로 분석했을때 정상군보다 치주질환자군에서 albumin band가 2배의 진한 강도를 보임으로써 albumin이 염증시 혈장단백질 유출의 지표로 사용될 수 있음을 확인하였다.
3. 치주질환자군에서 전체적인 단백질 band가 진하게 나타났으며, 고분자량의 단백질이 또한 진하게 나타났다. 이는 염증으로 인하여 혈관투과성이 증가하고 혈장단백질중 고분자량의 단백질이 치은열구액 내로 유출되었음을 증명해 준다.

참 고 문 헌

1. Haffajee A.D., Socransky S.S. & Goodson J.M.: Clinical parameters as predictors of destructive periodontal disease activity. *J Clin Periodontol* 10: 257, 1983.
2. Goodson J.M., Tanner A.C.R., Haffajee A.D., et al.: Evidence for episodic periodontal activity. *J Dent Res* 60A: 387, 1981.
3. Kryshchalskyj E., Sodek J. & Ferrier J.M.: Correlation of collagenolytic enzymes and inhibitors in GCF with clinical and microbic changes in experimental periodontitis in the dog. *Archs Oral Biol* 31: 21, 1986.
4. Socransky S.S., Haffajee A.D., Goodson J.M., et al.: New concepts of destructive periodontal disease. *J Clin Periodontol* 11: 21, 1984.
5. Egelberg J.: Gingival exudate measurements for evaluation of inflammatory changes of the gingivae.

Odontology Revy 15: 381, 1964.

6. Oliver R.C., Holm-Pederson P. & Loe H.: Correlation between clinical scoring, exudate measurements and microscopic evaluation of inflammation in the gingiva. *J Periodontol* 40: 201, 1969.
7. Homborg K. & Killander J.: Quantitative determination of Igs and identification of Ig-A type in the gingival fluid. *J Periodont Res* 6: 1, 1971.
8. Schenkein H.A. & Genco R.J.: Gingival fluid and serum in periodontal disease. *J periodontol* 48: 772, 1977.
9. Lamster L.B., Fiorello L., Oshrain R., et al.: Markers for catabolic activity in GCF as indicators of attachment loss in patient with periodontitis. *J Dent Res* 66: 256, 1987.
10. Lamster L.B., Harper D.S., Fiorello L.A., et al.: Lysosomal and cytoplasmic enzyme activity, crevicular volume, and clinical parameters characterizing gingival sites with shallow to intermediate probing depth. *J Periodontol* 58: 614, 1987.
11. Lamster L.B., Vogel R.I., Hartley L.J., et al.: Lactate dehydrogenase, β -glucuronidase and arylsulfatase activity in gingival fluid associated with experimental gingivitis in man. *J Periodontol* 56: 139, 1985.
12. Cimasoni G.: The crevicular fluid. In monographs in oral science, Vol. 3, 1983.
13. Hasegawa K., Cimasoni G. & Vuagnat P.: Inflamed gingiva contain more free lysosomal enzymes. *Experientia* 31: 765, 1975.
14. Bang J., Cimasoni G. & Held A.J.: β -glucuronidase correlated with inflammation in the exudate from human gingiva. *Archs Oral Biol* 15: 455, 1970.
15. Goggins J.F. & Billups L.C.: Cytochemical measurements of β -glucuronidase activity in normal and inflamed gingiva. *J Histochem Cytochem* 19: 461, 1971.
16. Moon J.K., Kim H.S.: A study of periodontal disease severity and β -glucuronidase in gingival crevicular fluid. *J CNU Vol* 8, 1990.
17. Han S.H., Kim H.S.: Lysosomal acid hydrolase and periodontal disease. A study on acid phosphatase in human gingiva. *J CNU*, 1988.
18. Loe H. & Holm-Pederson P.: Absence and presence

- of fluid from normal and inflamed gingiva. *Periodontics* 3:171, 1965.
19. Laemmli U.K. : Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T₄. *Nature* 227: 680, 1970.
 20. Brill N. : Influence of capillary permeability on flow of tissue fluid into gingival pocket. *Acta Odontol Scand* 17: 23, 1959.
 21. Alfano M.G. : The origin of gingival fluid. *J Theor Biol* 47: 127, 1974.
 22. Egelberg J. : Permeability of the dento-gingival blood vessel. II. Clinical healthy gingivae. *J Periodont Res* 1: 276, 1966.
 23. Curtis M.A., Griffiths G.S., Price S.J., Johnson N.W. : the total protein concentration of gingival crevicular fluid. Variation with sampling time and gingival inflammation. *J Clin Periodontol* 15: 628, 1988.
 24. Biswas S., Duperon D.F., Chebib F.S. : Study of periodontal disease in children and young adolescent. *J Periodont Res* 12: 265, 1977.
 25. Hattingh J., Ho E. : The concentration of proteins in human gingival crevicular fluid. *J Periodont Res* 15: 90, 1980.
 26. Arthur B., Novaes A.B.Jr., Shapiro L., Fillos L.C., Wood N. : Gingival fluid fucose to protein ratios as indicators of the severity of periodontal disease. *J Periodontol* 51: 88, 1980.
 27. Shapiro L., Novaes A.B.Jr., Fillos L., Goldman H.M. : Sulcular exudate protein levels as indicator of the clinical inflammatory response. *J Periodontol* 51: 86, 1980.
 28. Bickel M., Cimasoni G., Anderson E. : Flow and albumin content of early (pre-inflammatory) gingival crevicular fluid from human subjects. *Arch of Oral Biol* 30: 599, 1985.
 29. Brill N., Bronnestam R. : Immuno-electrophoresis study of tissue fluid from gingival pockets. *Acta Odontol Scand* 18: 95, 1960.
 30. Seuda T., Cimasoni G., Held A.J. : Histochemical study of human gingival fluid. *Periodontologie* 20: 141, 1966.
 31. Bang J., Cimasoni G. : Total protein in human crevicular fluid. *J Dent Res* 50: 1683, 1971.
 32. Bowers M.R., Fisher L.W., Termine J.D., Somerman M.J. : Connective tissue associated proteins in crevicular fluid : Potential markers for periodontal diseases. *J Periodontol* 60: 448, 1989.

THE PROTEIN COMPOSITION OF GINGIVAL CREVICULAR FLUID SAMPLED FROM NORMAL SUBJECTS AND PATIENTS WITH PERIODONTAL DISEASE

Soo-Ah Kim, Jin-Young Lee, Hyong-Seop Kim

Dept. of Periodontology, College of Dentistry, Chonbuk National University

Gingival crevicular fluid (GCF) is a promising source for markers of destructive periodontal disease activity. This study was undertaken to evaluate the protein composition of GCF in varying stages of the gingival inflammatory response. GCF sampled from 26 people with clinically healthy gingiva and 18 people with periodontitis were examined via sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS/PAGE).

The result were as follows.

1. Total amount of GCF protein of diseased group significantly different from that of normal group. But difference in protein concentration was not that significant.
2. In analyzing GCF with SDS/PAGE, it was suggested that albumin is used as indicator plasma protein leakage because of heavily staining band of albumin in patients with periodontal disease.
3. In diseased group, overall bands of protein and bands of high molecular weight protein were heavily stained. It was proved useful information on high molecular plasma protein leakage with increasing vascular permeability due to inflammation.