

수종의 cytokine이 사람 치주인대 섬유아세포의 prostaglandine E₂, leukotriene B₄ 및 collagenase 생산에 미치는 영향

김정호¹⁾ · 서정훈²⁾

I. 서 론

교정 치료는 치조골 내에서 치아를 이동시켜 교합을 개선시키고자 시행된다. 치아 이동을 정교하게 제어하기 위해서는 교정 장치를 역학적으로 정밀하게 조절해야 할 뿐 아니라 교정력에 대한 치아 및 주위 조직의 반응 또한 숙지하고 있어야 한다.

교정력이 어떤 경로를 통하여 궁극적으로 치아 이동이 일어나게 하는지를 알아 보는 연구는 여러 분야에 걸쳐 오랫동안 이루어져 왔다. 치아 이동 시 나타나는 조직학적 현상에 대해서는 상당 부분 밝혀져 있으며¹⁾, 골 형태를 변형시킬 때 나타나는 압전 효과²⁻⁴⁾ 와 전기적 자극 또는 전자기장이 골 조직에 주는 영향에 대한 연구도 많이 이루어졌다⁵⁻⁹⁾. 최근에는 생화학적, 면역학적 방법의 발달에 따라, 분자 수준에서 치아 이동에 관여하는 물질들에 대한 연구가 활발하게 이루어지고 있다¹⁰⁾.

치주인대는 교정력이 일차적으로 전달되는 부

위이며, 치주인대 내의 세포들은 외력에 대하여 다양한 반응을 보인다. Roberts 와 Chase 는 치주인대 세포에 교정력을 가하면 증식이 증가하면서 골아세포로 분화하며, 교정력에 의해 발생된 골아세포는 주로 인접 치주인대 내의 섬유아세포에서 분화되어 나온다고 하였다¹¹⁾. 또한 Kawase 등은 사람의 치주인대 섬유아세포는 그 alkaline phosphatase 양상이 골아세포와 아주 유사하기 때문에 골아세포성 섬유아세포라고 규정할 수 있다고 하였다¹²⁾.

교정적 치아 이동 시 관찰되는 골 흡수 활성화는 조직 손상 정도에 비례하며, 이러한 골 흡수 활성화는 여러가지 요인들의 작용에 의한 것이다¹³⁾. 교정력이 가해지면 치아의 주위 조직은 급성 염증 반응을 보이는데, 이 때 여러 가지 현상이 복합적으로 나타난다. Cytokine 은 면역계 세포들이 반응하면서 방출하는 물질이다. Cytokine 중에서도 interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-6 (IL-6), interferon- γ , tumor necrosis factor- α (TNF- α) 등이 주로 골재형성 과정에 관여하는 것으로 알려져 있다^{14,15)}. 이 중 일부는 실험적 치아 이동 시 주위 조직에 형성되는 것이 면역조직학적으로 확인되었다^{16,17)}.

유전자의 cloning 을 통한 연구에 의하면 IL-1

접수일자 : 10월 1일

¹⁾서울대학교 치과대학 치과교정학교실, 개원의

²⁾서울대학교 치과대학 치과교정학교실, 교수

에는 α 및 β 의 두 가지 형태가 있는데¹⁸⁾ 후자가 주요 형태이며, 양자 간의 아미노산 homology 는 적은 편이다(22-26%)¹⁹⁾. IL-1 β 는 골의 전환에 있어서 중요한 매개체로 생각되고 있다. IL-1 β 는 조직 배양을 시행한 백서의 골 조직에서 분비되며²⁰⁾, 파골세포에 의한 골 흡수를 강력하게 촉진한다²¹⁾. IL-1 β 가 섬유아세포에 작용할 경우 collagenase 의 생산이 증가하고²²⁾ collagen 의 합성이 억제되며²³⁾ 섬유아세포의 증식을 유도하는 것으로 알려져 있다^{24,25)}.

IL-6 는 면역 반응 중에 생산되어 T 및 B 세포의 성장과 분화에 영향을 주지만 대개의 경우에는 다른 자극 특히 IL-1 의 존재 시 분명한 효과를 나타낸다^{26,27)}. IL-6 는 국소적으로 골 형성 및 전환의 조절에 관여하는데, 파골세포는 자극하고 골아세포는 억제함으로써 골 흡수를 자극한다고 추측된다.

TNF- α 는 사람의 활액세포에 작용하여 prostaglandin E₂ (PGE₂) 및 collagenase 의 분비를 촉진하며²⁸⁾ 실험관 내에서 골 및 연골의 흡수를 야기한다^{29,30)}. 또한 치은 섬유아세포에 작용하여 collagenase 를 분비시키며³¹⁻³³⁾ 결합조직의 파괴 및 골 흡수를 야기한다²⁹⁾. TNF- α 는 IL-1 을 제외하고는 거의 유일하게 파골세포 활성화 기능을 가지고 있는 것으로 알려져 있다³⁴⁾.

Prostaglandin 은 골재형성에 관여하며^{35,36)} 사람의 치주인대 섬유아세포에 의하여 합성된 PGE 는 실험관 내에서 골 흡수를 야기한다^{17,37)}. 골 흡수를 야기하는 다른 물질들도 PGE 를 매개로 하여 작용하는 경우가 많다. 따라서 섬유아세포에 의해 생산된 PGE 는 주위의 골 세포와 작용하여 골 재형성 과정에 영향을 줄 수도 있다. 또한 PGE₂ 는 실험관 내에서 골 흡수를 야기하며³⁸⁾ 교정적으로 이동시킨 치아의 주위 조직에 존재한다³⁹⁾. Prostaglandin 은 기계적인 힘이 골 조직의 변화로 나타나게 되는 경로의 중간에 위치하는 것으로 생각되고 있다⁴⁰⁻⁴⁴⁾.

Prostaglandin 이 arachidonic acid 의 cyclooxygenase pathway 를 통하여 생산되는 반면, leukotriene (LT) 은 lipoyxygenase pathway 를 통해 만들어진다. 양 경로간에는 상호 작용이 있

어서, 한 경로가 차단되면 다른 경로를 통한 합성이 증가된다⁴⁵⁻⁴⁸⁾. 따라서 교정적 치아 이동 시 PGE₂ 와 함께 LTB₄ 의 변화도 예상된다. Offenbacher 등은 배양 골 조직에 자극을 가했을 때 LTB₄ 를 포함한 다수의 LT 가 생산되었다고 하였고⁴⁹⁾, Mohammed 등은 교정력을 가하면서 LTB₄ 의 합성을 억제시키면 치아 이동이 억제된다고 하였다⁵⁰⁾.

Collagenase 는 교정적 치아 이동에 중요한 요소로 알려져 있다⁵¹⁾. 교정력을 가한 부위에서 collagen 분해 활성이 관찰되었고⁵²⁾, collagenase 의 억제제가 골 흡수 또한 억제하는 것이 보고되었다⁵³⁾. Collagenase 는 prostaglandin 과 cAMP 를 매개로 하여 골 흡수를 자극하는 것으로 생각되고 있다⁵⁴⁾.

본 연구는, 사람의 치주인대 섬유아세포에 IL-1 β , IL-6 및 TNF- α 를 단독 혹은 조합하여 가했을 때의 PGE₂ 와 LTB₄ 의 생성량 및 collagenase 의 활성을 관찰하여 이들 cytokine 이 골재형성에 어떠한 영향을 줄 수 있는가를 알아 보고자 시행되었다.

II. 실험 재료 및 방법

* 사람 치주인대 섬유아세포의 채집

: 치주인대 섬유아세포의 채집은 Ragnarsson 등⁵⁵⁾ 의 방법에 준하여 시행하였다. 교정 치료를 위하여 발거한 제1소구치에서 치은 부착부는 날카로운 큐렛으로 제거하였다. 치관부는 5.25% sodium hypochlorite 용액에 2 분 간 담가서 박테리아 및 잔존 상피 세포가 제거되도록 하였다. 그런 다음 치아를 100 U/ml Penicillin 및 100 μ g/ml Streptomycin (GIBCO, USA) 이 첨가된 α -MEM (GIBCO) 생검배지에 침수시켰다. 발거한 치아를 생검배지로 5 회 세척 후 치근 중간 1/3 부위의 치주인대를 큐렛으로 채취하여 세절한 다음 60 mm 의 세포배양접시에 고르게 분산시킨 후 10% FBS (GIBCO) 와 100 U/ml Penicillin, 100 μ g/ml Streptomycin 혼합제 (GIBCO) 가 포함된 α -MEM 을 넣고 37 $^{\circ}$ C, 100%

습도, 5% CO₂ 공기흡합배양기 (Vision, 한국) 에서 3 일 간격으로 배양액을 교환해 주면서 밀생할 때까지 배양하였다. 본 실험에서, 모든 세포들은 계대 배양 5 내지 7 세대 사이의 것을 이용하였다.

* 배지 내의 PGE₂ 와 LTB₄ 양 및 collagenase 활성의 측정

: 계대 배양한 치주인대 섬유아세포를 0.25% trypsin - EDTA 용액으로 처리한 후 원심분리하여 배양액으로 세포부유액을 만들었다. 세포 배양접시에 매 접시 당 1×10^5 개의 세포를 접종하였다. 대개 10-12 시간 정도 후면 성공적으로 부착이 되었다. 매 실험 시작 시 기존의 배지는 폐기하고 신선한 α -MEM 배지로 교환하여 주었다. Human recombinant IL-1 β , IL-6, TNF- α (Genzyme, USA) 를 단독 혹은 조합으로 가하여 1 시간 동안 전배양 한 후, 배지를 BGJ_b 배지(GIBCO)로 대체하였다. 이 때 각 조합 별 배지 수는 4 개로 하였고, IL-1 β 는 1.0ng/ml, IL-6 는 10ng/ml, TNF- α 는 1.0 nM 의 농도로 가하였다. 그리고 0.5% bovine serum albumin (BSA, GIBCO)을 보강한 후 4, 8, 24 시간 동안 배양하여 PGE₂ 와 LTB₄ 양 및 collagenase 활성을 측정하였다. 이 때 PGE₂ 와 LTB₄ 양은 효소면역측정법 (enzymeimmunoassay, EIA) 을 사용하여 측정하였고, collagenase 활성은 collagen 의 분해량을 이용하여 측정하였다.

* PGE₂ 및 LTB₄ 의 효소면역측정법

: PGE₂ 및 LTB₄ 의 측정에는 Amersham International 사(Amersham,UK) 의 enzymeimmunoassay (EIA) system kit를 사용하였다. Assay buffer 는 희석하여 0.9% sodium chloride, 0.1% bovine serum albumin 및 0.01% thimerosal 이 함유된 pH 7.5 의 0.1 M phosphate buffer 를 만들었다.

희석된 buffer 중 6.0 ml 를 PGE₂ conjugate 및 항체에 가하였다. 이 때 용액에는 PGE₂-

horseradish peroxidase (HRP) 및 PGE₂ 항체가 함유되게 된다. LTB₄ 의 경우에는 buffer 6.0 ml 을 LTB₄ conjugate 및 항혈청에 가하였다. 이 때 용액에는 LTB₄-HRP 및 항 LTB₄ 혈청이 함유되게 된다.

0.05% Tween 20 이 들어있는 pH 7.5 의 0.01 M phosphate buffer 로 wash buffer 를 제작하였다. 표준용액에 PGE₂ 는 12.8ng/ml, LTB₄ 는 4ng/ml 이 함유되어 있다. Assay buffer 100 μ l 및 50 μ l 를 non-specific binding (NSB) 및 zero standard wells 에 각각 정량해 넣었다. 가장 많이 희석된 것부터 시작하여 50 μ l 의 표준 및 검사 용액을 적절한 well 에 정량해 넣었다. 50 μ l 의 항체 (LTB₄ 의 경우는 항혈청) 를 blank 및 NSB 을 제외한 모든 well 에 정량해 넣었다. PGE₂ 는 2-8 $^{\circ}$ C 에서 3 시간 동안 배양하고, LTB₄ 는 실온 (15 - 25 $^{\circ}$ C) 에서 2 시간 동안 흔들면서 배양하였다. 그런 다음 50 μ l 의 PGE₂ (혹은 LTB₄) -HRP conjugate 를 blank(B) well 을 제외한 모든 well 에 정량해 넣었다. PGE₂ 의 경우는 2-8 $^{\circ}$ C 에서 60 분 간 배양하였다. LTB₄ 의 경우는, 실온에서 (15 - 25 $^{\circ}$ C) 60 분 간 흔들면서 배양하였다. 모든 well 을 300 μ l 의 wash buffer 로 4회씩 세척하였다. 실온의 equilibrated enzyme substrate 를 150 μ l 씩 모든 well 에 즉시 가하고 실온에서, 정확히 30분 간 microtitre plate shaker 상에서 혼합하였다. 100 μ l 의 1M 황산을 각 well 에 넣어 반응을 정지시키고, 30 분 이내에 450 nm 에서 optical density (OD) 를 판독하였다. 판독된 OD는 표준그래프 상에서 중량으로 환산하였다.

* collagenase assay

: Collagenokit CLN-100 (Collagen Technological Co., Japan) 을 사용하여 측정하였다. 이 방법은 collagenase 에 의하여 분해된 분해물과 collagen 의 변성 온도가 서로 다른 점을 이용하여 collagenase 의 활성을 정량한다⁵⁶⁾.

시험관에 기질 collagen 용액 200 μ l 및 검체 200 μ l 을 가하였다. total 용 및 blank 용 시험관

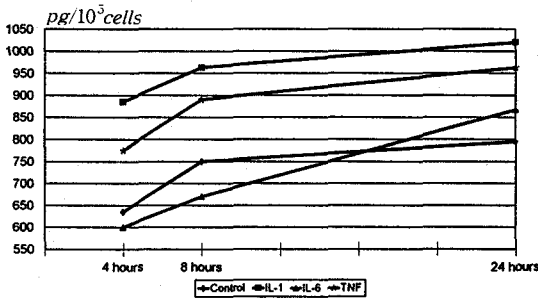


Fig. 1. Effect of various cytokines on the production of PGE₂ in human PDL fibroblast

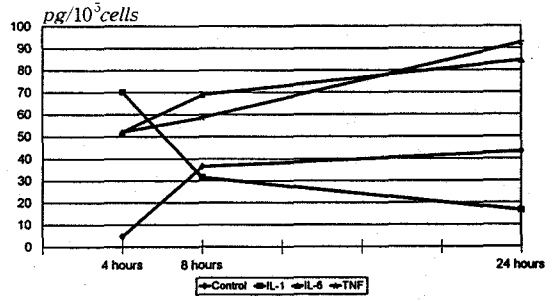


Fig. 2. Effect of various cytokines on the production of LTB₄ in human PDL fibroblast

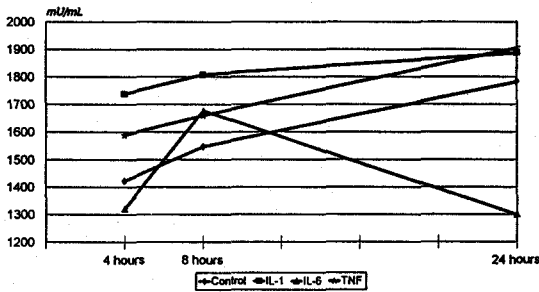


Fig. 3. Effect of various cytokines on the collagenase activity in human PDL fibroblast

에는 조정액 200 μl 을 가하였다. 이것을 35°C 에서 2 시간 정도 반응시켰다. 그런 다음 반응 정지액을 10 μl 가한 후 35°C 에서 60 분 간 배양하였다. 다음 80°C 에서 10분 간 가열하고 실온까지 냉각시켰다. 4°C 의 분해물 추출 용액을 400μl 가한 다음 3000 rpm 에서 10 분 간 원심분리시켰다. 부유물을 약 500 μl 채취하여 520 nm (Em)/495nm(Ex)에서 형광강도(fluorescence intensity)를 spectrofluorophotometer 로 측정하였다.

collagenase 활성은 다음 공식에 따라 계산하였다.

$$U = \frac{FI_{enz} - FI_{blank}}{FI_{standard} - FI_{blank}} \times 100 \times \frac{1}{120} \times \frac{1}{0.2}$$

- (1U : 1 μg collagen degradation / min
- FI_{enz} : fluorescence intensity of the sample
- FI_{blank} : fluorescence intensity of the blank
- FI_{standard} : fluorescence intensity of the standard)

* 통계 처리

: PGE₂, LTB₄, collagenase 각각의 측정치는 배양 시간과 cytokine 의 조합을 인자로 하는 이원 배치법을 사용하여 분석하였다. Cytokine 마다의 각 배양 시간대 별 PGE₂, LTB₄, collagenase 의 측정치는 Student's t test 를 사용하여 대조군과 비교 분석하였다. Cytokine 을 조합한 경우의 분석에도 Student's t test 를 사용하여 각각의 단독 투여 시의 측정치와 비교하였다.

III. 연구성적

IL-1β 의 투여 시 PGE₂ 및 collagenase 의 생산은 배양 시간에 따라 증가 양상을 보였으며, 각 배양 시간 별 생산량도 대조군보다 현저히 많았다 (P<0.01). 반면 LTB₄ 생산은 4시간 배양군에서 약간 많았을 뿐 차차 감소하여 8시간, 24시간 배양군에서는 대조군과 유의차가 없었다 (표 I, 그림 1-3).

IL-6 의 투여 시 PGE₂ 및 collagenase 의 생산은 대조군보다 적거나 유의한 차이가 없었고, LTB₄ 의 생산량은 증가하는 양상을 보였다(표I). TNF-α 의 투여 시, PGE₂ 는 유의성 있게 지속적으로 증가하였다. LTB₄ 역시 증가 양상을 보였지만 24 시간 군에서는 대조군과 통계적으로 유의한 차이가 없었다. Collagenase 도 시간이 지나면서 증가하는 양상을 보였다 (표I).

IL-1β 와 IL-6 의 동시 투여 시 PGE₂ 생산량은 대조군보다는 증가하였으나 IL-1β 의 단독 투여 시보다는 전반적으로 감소하였다. 즉 IL-6

Table I. Effects of various cytokines on the production of PGE₂, LTB₄ and collagenase in human PDL fibroblast

Groups	Products	4 hrs	8 hrs	24 hrs
Control	PGE ₂	635.0 ± 57.45	750.0 ± 57.74	795.0 ± 109.70
	LTB ₄	4.5 ± 3.79	36.5 ± 44.76	43.3 ± 38.22
	collagenase	1422.4 ± 103.57	1546.5 ± 149.21	1781.2 ± 119.84
IL-1β	PGE ₂	885.0 ± 65.57***	962.5 ± 61.32***	1020.0 ± 40.00**
	LTB ₄	70.0 ± 62.03*	31.5 ± 38.90 ^{NS}	16.5 ± 16.92 ^{NS}
	collagenase	1737.5 ± 91.47***	1807.8 ± 70.92***	1886.9 ± 30.85*
IL-6	PGE ₂	600.0 ± 125.43 ^{NS}	670.0 ± 34.64*	867.5 ± 45.00 ^{NS}
	LTB ₄	52.0 ± 12.96***	69.0 ± 25.64 ^{NS}	84.5 ± 30.35*
	collagenase	1320.6 ± 50.80*	1676.5 ± 73.68 ^{NS}	1298.5 ± 278.61**
TNF-α	PGE ₂	775.0 ± 50.00**	890.0 ± 0.00***	962.5 ± 61.31*
	LTB ₄	52.0 ± 6.93***	58.6 ± 34.52*	92.5 ± 54.64 ^{NS}
	collagenase	1588.5 ± 90.25*	1659.2 ± 16.68 ^{NS}	1905.6 ± 85.18*

☞ PGE₂, LTB₄ : pg/10⁵ cells
collagenase : mU/ml

☞ NS : Not significant
* : P<0.05
** : P<0.01
*** : P<0.001

는 PGE₂의 생산을 자극하지 않았을 뿐 아니라 IL-1β의 작용도 억제하는 양상을 보였다. LTB₄ 생산은 초기에는 증가하였다가 차츰 감소하는 경향이었으며, 24시간 후에는 대조군 수준으로 낮아졌다. 또한 IL-1β의 단독 투여 시보다는 지속적으로 증가하는 양상이었고, IL-6의 단독 투여 시와 비교하면 4시간 군에서는 많았지만 8시간, 24시간 군에서는 유의차가 없었다. collagenase의 경우 4시간 군에서는 대조군보다 활성이 컸고, 8시간 군에서는 대조군과 유의한 차이가 없었으며, 24시간 군에서는 대조군보다 작아지는 등 복잡한 양상을 보였다. 또한 IL-1β의 단독 투여 시보다는 전반적으로 collagenase의 활성이 감소하여 IL-6는 앞에 언급된 PGE₂에서와 같이 collagenase에 있어서도 IL-1β의 작용을 억제하는 양상을 보였다 (표II, 그림4-6).

IL-1β와 TNF-α의 동시 투여 시 생산되는 PGE₂의 양은 대조군보다 현저히 많았다. 또한 TNF-α의 단독 투여 시보다 많은 PGE₂가 생산되었으나 24시간 군에서는 대조군과 차이가 없었고, IL-1β의 단독 투여 시와는 전반적으로 통계적인 유의차가 없었다. LTB₄의 생산은 초기에 약간 증가하는 듯하지만 8시간, 24시간 군에서는 대조군과 유의한 차이가 없었다. 또한 각각의 단독 투여 시와 비교하여도 LTB₄의 생산은 별 차이가 없었다. 다만 24시간 군에서 IL-1β의 단독 투여 시보다는 많지만, TNF-α의 단독 투여 시보다는 적은 수치를 보였다. Collagenase는 지속적으로 활성이 증가하였지만 IL-1β의 단독 투여 시와는 별다른 차이가 없었고, TNF-α의 단독 투여 시보다는 많았다(표II).

IL-6와 TNF-α의 복합 투여 시 PGE₂ 생산량

Table II. Interactions of various cytokines on the production of PGE₂, LTB₄ and collagenase in human PDL fibroblast

Groups	Products	4 hrs	8 hrs	24 hrs
Control	PGE ₂	635.0 ± 57.45	750.0 ± 57.74	795.0 ± 109.70
	LTB ₄	4.5 ± 3.79	36.5 ± 44.76	43.3 ± 38.22
	collagenase	1422.4 ± 103.57	1546.5 ± 149.21	1781.2 ± 119.84
IL-1β/IL-6	PGE ₂	795.5 ± 77.62**	827.5 ± 125.00 ^{NS}	890.0 ± 0.00*
	LTB ₄	88.0 ± 4.62***	83.5 ± 21.99*	61.0 ± 27.93 ^{NS}
	collagenase	1577.4 ± 104.61*	1457.1 ± 106.36 ^{NS}	1636.7 ± 27.31*
IL-1β/TNF-α	PGE ₂	925.0 ± 40.41***	1000.0 ± 46.19***	1000.0 ± 46.19**
	LTB ₄	55.0 ± 39.21*	40.0 ± 20.78 ^{NS}	39.0 ± 9.59 ^{NS}
	collagenase	1698.9 ± 22.04***	1894.8 ± 15.55***	1863.1 ± 52.46 ^{NS}
IL-6/TNF-α	PGE ₂	902.5 ± 75.88***	942.5 ± 35.00***	1020.0 ± 40.00**
	LTB ₄	11.5 ± 19.00 ^{NS}	32.5 ± 23.40 ^{NS}	37.5 ± 7.00 ^{NS}
	collagenase	1659.9 ± 29.33**	1776.0 ± 87.65*	1893.3 ± 4.51*

PGE₂, LTB₄ : pg/10⁵ cells
 collagenase : mU/ml
 NS : Not significant
 * : P<0.05
 ** : P<0.01
 *** : P<0.001

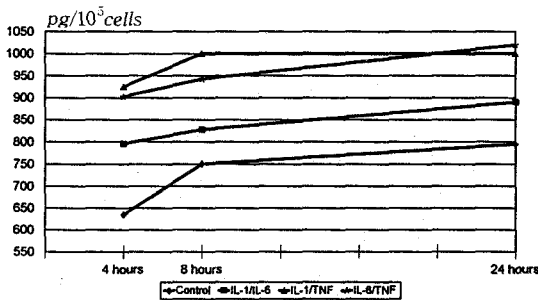


Fig. 4. Interactions of various cytokines on the production of PGE₂ in human PDL fibroblast

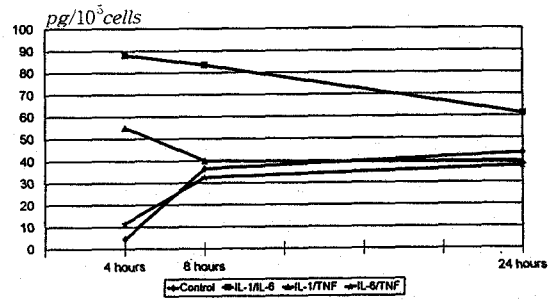


Fig. 5. Interactions of various cytokines on the production of LTB₄ in human PDL fibroblast

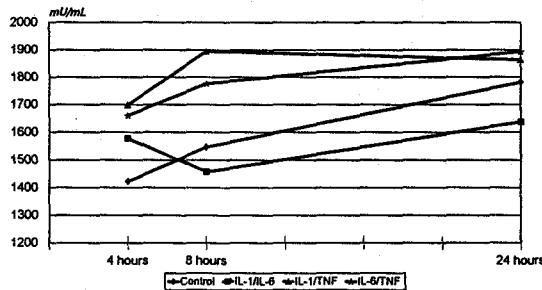


Fig. 6. Interactions of various cytokines on the collagenase activity in human PDL fibroblast

은 각 배양 시간 별로 상당히 증가하였으며, 각각을 단독으로 투여했을 때보다도 증가하였다. LTB₄의 생산량은 모든 실험군에서 대조군과 유의차가 없었다. Collagenase의 활성은 전반적으로 유의성 있게 증가하였으며 TNF- α 의 단독 투여 시와 유사하였다(표II).

전반적으로 cytokine의 조합에 따라 PGE₂, LTB₄ 및 collagenase의 생산량에 차이가 있었으며, 배양 시간에 따라 PGE₂의 생산량과 collagenase의 활성에는 차이가 있었으나 LTB₄의 생산량에는 차이가 없었다.

IV. 총괄 및 고안

교정력이 어떤 물질을 매개로 골의 흡수 및 형성을 유도하고 치아 이동을 일으키게 되는지를 규명하기 위하여 많은 연구가 이루어져 왔다. 치주인대나 골 조직에 외력이 가해지면 면역계 세포들은 여러 종류의 cytokine을 방출하는데, 그 중에서도 IL-1 β , TNF- α , IL-6 등이 골재형성 과정에 관여한다는 연구 결과들이 다수 보고되고 있다.

본 연구에서, IL-1 β 및 TNF- α 는 사람의 치주인대 섬유아세포에 의한 PGE₂의 생산을 촉진하였다. 이러한 결과는 Davidovitch 등¹⁴⁾, Ngan 등⁵⁷⁾, Saito 등^{17,58,59)}의 연구에서도 보고되었다. Saito 등은 IL-1 β 나 TNF- α 의 투여 시 용량 및 배양 시간에 따라 PGE의 생산이 증가하는 것으로 보아 사람의 치주인대 섬유아세포에는 이들 cytokine의 수용체가 있다고 주장하였는데^{17,58)}, 고양이의 치주인대 세포¹⁷⁾나 다른 종류의 섬유아세포에도 이들에 대한 수용체가 있다고 보고된 바 있다^{60,61)}. 이 cytokine들은 일단 수용체와 결합⁶²⁾한 후 세포 내로 유입되어 작용하는 것으로 생각된다⁶³⁾. 한편 이 두 cytokine은 collagenase의 활성도 증가시켰다. Collagenase에 대한 촉진 효과는 사람의 활액세포와 진피 섬유아세포에서 관찰된 바 있다^{28,64,65)}.

반면 IL-1 β 에 의한 LTB₄의 생산 증진 현상은 나타나지 않았다. IL-1 β 의 투여 시 시간이 경과함에 따라 PGE₂의 생산은 촉진한 반면

LTB₄의 생산은 억제하였다. 이러한 실험 결과는 IL-1 β 가 주로 cyclooxygenase pathway를 통한 arachidonic acid의 대사를 촉진함을 시사한다. Raz 등⁶⁶⁾은 IL-1이 섬유아세포에 의한 cyclooxygenase의 생산을 촉진한다고 하였고, Korn 등⁶⁷⁾은 IL-1이 주로 신생 cyclooxygenase의 생산을 증가시킨다고 하였다. 이와 같은 실험 결과들은 본 실험에서 주로 PGE₂의 생산이 증가된 양상을 보이는 이유를 설명해 준다.

TNF- α 와 IL-1은 phospholipid 대사 조절, prostacyclin 합성 유도, 섬유아세포 성장 촉진 효과 등의 기능을 공유한다^{33,68,69)}. 본 실험에서는 PGE₂ 및 collagenase 생산을 공히 촉진하였다. PGE₂ 생산 효과는 IL-1 β 가 TNF- α 보다 대체로 컸으며, 이는 기존의 연구 결과들과 견해를 같이 한다^{58,66,70)}.

한편 LTB₄에 대해서는 TNF- α 만이 증가 효과를 보여 IL-1 β 와는 다른 양상을 나타내었다. Le와 Vilcek⁶⁹⁾은 IL-1과 TNF- α 가 각각 특정한 세포 수용체에 결합하므로, 양자 간의 유사성은 수용체와의 결합 후에 나타나는 것이라고 하였다. 양자의 기능이 중복되는 면이 많으므로 수용체 이후의 작용 경로를 공유하는지의 여부와 공유 정도에 대해서는 앞으로 더 연구되어야 할 것으로 생각된다.

한편 PGE₂, LTB₄, collagenase 모두에서 IL-1 β 와 TNF- α 간의 뚜렷한 상승 작용은 관찰되지 않았다. 반면 Elias 등⁷⁰⁾이나 Last-Barney 등³³⁾은 각각 폐의 섬유아세포와 수종의 종양 세포에서 양자 간의 상승 작용을 보고하였다.

IL-6는 PGE₂의 생산량이나 collagenase 활성에 큰 영향을 주지 않았다. 이 결과는 백서 두 개관 배양 실험에서 골 흡수를 증가시키지 않았다는 Feyen 등⁷¹⁾, Al-Humidan 등⁷²⁾의 보고와 일치한다. 그러나 IL-6가 파골세포의 형성 및 골 흡수에 중요한 역할을 한다고 주장하는 연구도 많다. Hughes와 Howells⁷³⁾의 연구에 의하면 IL-6는 골 형성을 억제하며, 골아세포의 분화를 억제한다고 한다. 골의 전환은 대개 흡수와 형성의 "coupling"에 의해 조절되므로, 골아세포 기능을 억제시키면 골 형성이 감소될 뿐 아니라,

과골세포 활성이 증가하지 않더라도 골 흡수의 순증가가 일어날 수 있다. 본 실험에서 IL-6 가 LTB₄ 의 생산에는 촉진 효과를 나타내었으므로 골 재형성에 어느 형태로든 관여할 것으로 생각된다.

IL-6 를 TNF- α 와 함께 투여하면 PGE₂ 의 생산량이 증가하였다. Black 등^{74,75)} 은 IL-6 가 TNF- α 의 골 흡수 효과를 촉진한다고 하였다. 한편 IL-6 는 IL-1 β 와 상승 작용이 있는 것으로 일반적으로 인식되고 있으나⁷⁶⁾ 본 연구 결과에 따르면 PGE₂ 및 collagenase 의 생산에는 감소 효과를 나타내었다. LTB₄ 의 생산에는 IL-1 β 의 단독 투여 시보다 증가 효과를 보였으나 IL-6 의 단독 투여 시와는 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않아 전반적으로 상승 효과가 인정되지 않았다.

Leukotriene 은 염증 반응 물질로서 교정적 치아 이동 시의 골 재형성에 관여하는 것으로 생각되고 있다. 5'-lipoxygenase 의 억제제인 piroprost 를 가하면 신장측에는 골아세포의 형성이 촉진되고, 압박측에는 골아양세포의 형성이 촉진되는 것이 관찰되었고⁷⁷⁾, 압박 및 신장측 모두에서 골 형성이 촉진 혹은 유도되는 것이 관찰되었다⁷⁸⁾. 또한 Mohammed 등⁵⁰⁾ 은 leukotriene 합성 억제제인 AA861 을 투여할 경우 치아 이동이 현저히 감소하며, LTB₄ 의 합성은 억제되는 동시에 PGE₂ 의 생산은 증가된다는 결과를 토대로, leukotriene 이 교정적 치아 이동의 조절에 관여한다고 주장하였다. 본 실험 결과에 의하면 IL-1 β 는 LTB₄ 의 생산을 억제하는 경향을, IL-6 와 TNF- α 는 촉진하는 경향을 보였다.

본 실험과 같이 단일 종류의 세포를 배양하여 연구하는 실험관적 연구는 주위 조직과의 상호작용이 배제된 상태에서 이루어지므로 실험 결과가 생체 내에서 일어나는 현상이라고 단정하기는 어렵다. 또한 관찰한 생산물이 사람 치주인대 섬유아세포가 분비하는 물질의 전부가 아니므로, 이들 양의 다소로써 골의 재형성 현상을 모두 설명할 수는 없을 것이다. 그러므로 이러한 점들을 보완하는 연구가 계속 필요할 것으로 생각된다.

V. 결 론

본 연구는 사람의 치주인대 섬유아세포에 IL-1 β , IL-6 및 TNF- α 를 단독 혹은 조합하여 가하고 이 때 생산되는 PGE₂, LTB₄, collagenase 를 관찰하여 이들 cytokine 이 골재형성 과정에 어떠한 영향을 줄 수 있는가를 알아보고자 시행되었다.

교정 치료를 위하여 발거한 제1소구치로부터 치주인대 섬유아세포를 채집하고 이것을 5 내지 7 세대에 걸쳐 계대 배양하였다. 계대 배양한 섬유아세포를 0.25% trypsin-EDTA 용액으로 처리한 후 원심분리하여 배양액으로 세포부유액을 만들었다. 세포배양접시에 매 접시 당 1×10^5 개의 세포를 접종한 후 부착이 이루어지면 human recombinant IL-1 β , IL-6 및 TNF- α 를 단독 혹은 조합하여 투여하였다. 이를 4, 8, 24 시간 배양하여 생산되는 PGE₂, LTB₄ 의 양 및 collagenase 의 활성을 각각 효소면역측정법과 collagenase 활성 측정법을 사용하여 측정, 분석한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. IL-1 β 및 TNF- α 는 PGE₂ 및 collagenase 의 생산을 촉진시켰으나, IL-6 는 이들에 대한 촉진 효과는 없었고 반면 LTB₄ 의 생산을 촉진하였다.
2. IL-1 β 는 주로 PGE₂ 의 생산을 촉진하였으며, LTB₄ 의 생산에는 많은 영향을 미치지 않았다. 따라서 IL-1 β 는 arachidonic acid 의 대사 경로 중에서 주로 cyclooxygenase pathway 를 통하여 그 작용을 나타내는 것으로 생각되었다.
3. IL-6 는 IL-1 β 에 의한 PGE₂ 의 생산과 collagenase 활성을 억제하는 양상을 보였으며, IL-6 와 TNF- α 는 PGE₂ 의 생산에 있어서 상승작용을 나타내었다.

이들 cytokine 은 PGE₂, LTB₄, collagenase 중 적어도 한가지 이상에서 증가 효과를 나타내

었다. 이들은 치주인대 섬유아세포를 자극하여 골재형성, 특히 골의 흡수 과정에 관여하는 물질의 생산을 촉진하는 것으로 판단되며, 골재형성 전반에 걸친 이들의 역할에 관하여는 앞으로도 더 많은 연구가 필요할 것으로 사료된다.

REFERENCES

1. Reitan, K.: Biomechanical principles and reactions. In: Orthodontics: Current Principles and Techniques. Graber, T.M. and Swain, B.F., eds., pp.101-192. The C.V. Mosby Company, St. Louis, 1985.
2. Zengo, A.N., Pauluk, R.J., Bassett C.A.L.: Stress-induced bioelectric potentials in the dentoalveolar complex. *Am. J. Orthod.*, 64:17-27, 1973.
3. Zengo, A.N., Bassett, C.A.L., Pauluk, R.J., Prountozos, G.: In vivo bioelectric potentials in the dentoalveolar complex. *Am. J. Orthod.*, 66:130-139, 1974.
4. Baumrind, S.: A reconsideration of the propriety of the "pressure-tension" hypothesis. *Am. J. Orthod.*, 63:292-324, 1969.
5. Davidovitch, Z., Inkelson, M.D., Steigman, S., Shanfeld, J.L., Montgomery, P.C., Korostoff, E.: Electric currents, bone remodeling, and orthodontic tooth movement. I. The effect of electric currents on periodontal cyclic nucleotides. *Am. J. Orthod.*, 77:14-32, 1980.
6. 양상덕, 서정훈: 맥동 전자기장과 하악골 전방이동이 백서의 하악과두 성장에 미치는 영향에 관한 실험적 연구. *대치교정지*, 20:463-498, 1990.
7. 최병택, 양원식: 맥동 전자기장이 백서의 배양 두개관세포에 미치는 영향. *대치교정지*, 20:499-517, 1990.
8. 김영복, 양원식, 이종훈: 외인성 전류가 고양이 치조골의 cyclic nucleotides 에 미치는 영향에 대한 연구. *대치교정지*, 14:187-202, 1984.
9. 김종태, 양원식, 김종수: 교정력 및 외인성 전류가 고양이 치조골의 prostaglandin E₂ 에 미치는 영향에 관한 연구. *대치교정지*, 14:203-215, 1984.
10. Davidovitch, Z.: Tooth movement. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.*, 2:411-450, 1991.
11. Roberts, W.E., Chase, D.: Kinetics of cell proliferation and migration associated with orthodontically-induced osteogenesis. *J. Dent. Res.*, 60:174-181, 1981.
12. Kawase, T., Nakajima, M., Matsumoto, T., Kishi, H., Nagase, T., Tamada, Y., Akagi, K., Ukiya, M., Saito, S.: Characterization of alkaline phosphatase of human periodontal ligament fibroblast-like cells in vitro. *Bull. of Kanagawa Dent. Col.*, 15:65-69, 1987.
13. King, G.J., Fischlschweiger, W.: The effect of force magnitude on extractable bone resorptive activity and cemental cratering in orthodontic tooth movement. *J. Dent. Res.*, 61:775-779, 1982.
14. Davidovitch, Z., Nicolay, O.F., Ngan, P.W., Shanfeld, J.L.: Neurotransmitters, cytokines, and the control of alveolar bone remodeling in orthodontics. *Dent. Clin. North Am.*, 32:411-435, 1988.
15. Rodan, G.A.: Introduction to bone biology. *Bone*, 13:s3-s6, 1992.
16. Davidovitch, Z., Lynch, P., Shanfeld, J.L.: Immunohistochemical localization of interleukins in dental and paradental cells during tooth eruption and root resorption in kittens. *The Biological Mechanisms of Tooth Eruption and Root Resorption*. Davidovitch, Z., ed., pp.355-364. EBSCO Media, Birmingham, 1988.
17. Saito, M., Saito, S., Ngan, P.W., Shanfeld, J., Davidovitch, Z.: Interleukin 1 beta and prostaglandin E are involved in the response of periodontal cells to mechanical stress in vivo and in vitro. *Am. J. Orthod. Dentofac. Orthop.*, 99:226-240, 1991.
18. Mochan, E., Uhl, J., Newton, R.: Evidence that interleukin-1 induction of synovial cell plasminogen activator is mediated via prostaglandin E and cAMP. *Arthritis Rheum.*, 29:1078-1083, 1986.
19. Aarden, L.A., et al. (34 authors): Revised nomenclature for antigen-nonspecific T cell proliferation and helper factors (letter). *J. Immunol.*, 123:2928-2929, 1979.
20. Dinarello, C.A.: Biology of interleukin 1. *FASEB J.*, 2:108-115, 1988.
21. Garrett, I.R., Mundy, G.R.: Relationship between interleukin-1 and prostaglandins in resorbing neonatal calvaria. *J. Bone Miner. Res.*, 4:789-794, 1989.
22. Postlewaite, A.E., Lachman, L.B., Mainardi, C.L., Kang, A.H.: Interleukin 1 stimulation of collagenase production by cultured fibroblasts. *J. Exp. Med.*, 157:801-806, 1983.
23. Kahari, V., Heino, J., Vuorio, E.: Interleukin-1 increases collagen productions and mRNA levels in cultured skin fibroblasts. *Biochim. Biophys. Acta*, 929:142-147, 1987.
24. Schmidt, J.A., Mizel, S.B., Cohen, D., Gowen, I.: Interleukin 1, a potential regulator of fibroblast proliferation. *J. Immunol.*, 128:2177-2182, 1982.
25. Postlewaite, A.E., Lachman, L.B., Kang, A.H.: Induction of fibroblast proliferation by human interleukin 1,

- Arthritis Rheum., 27:995-1001, 1986.
26. Billiau, A., Van Damme, J., Ceuppens, J., Baroja, M.: Interleukin 6, a ubiquitous cytokine with paracrine as well as endocrine functions, In Lymphokine Receptor Interactions, Fradelizi, D., and Bertoglio, J., eds., pp. 133-142, John Libby Eurotest Ltd., London, 1989.
 27. Kishimoto, T., Hirano, T.: Molecular regulation of B lymphocyte response, Annu. Rev. Immunol., 6:485-512, 1988.
 28. Dayer, J.-M., Beutler, B., Cerami, A.: Cachectin/tumor necrosis factor stimulates collagenase and prostaglandin E₂ production by human synovial cells and dermal fibroblasts, J. Exp. Med., 162:2163-2168, 1985.
 29. Bertolini, D.R., Nedwin, G.E., Bringman, T.S., Smith, D.D., Mundy, G.R.: Stimulation of bone resorption and inhibition of bone formation in vitro by human tumor necrosis factors, Nature, 319:516-518, 1986.
 30. Saklatvala, J.: Tumor necrosis factor stimulates resorption and inhibits synthesis of proteoglycans in cartilage, Nature, 322:547, 1986.
 31. Rossomando, E.F., Gronowicz, T.G., Hadjimichael, J., Rutherford, R.B.: TNF-induced shape changes in dental fibroblasts, J. Leuk. Biol., 42:558-559, 1987.
 32. Meikle, M.C., Heath, J.K., Reynolds, J.J.: Advances in understanding cell interactions in tissue resorption. Relevance to the pathogenesis of periodontal diseases and a new hypothesis, J. Oral Path., 15:239-250, 1988.
 33. Last-Barney, K., Homon, C.A., Faanes, R.B., Merluzzi, V.J.: Synergistic and overlapping activities of tumor necrosis factor- α and IL-1, J. Immunol., 141:527-530, 1988.
 34. Beutler, B., Cerami, A.: Cachectin and tumor necrosis factor as two sides of the same biological coin, Nature, 320:584-588, 1986.
 35. Raisz, L.G., Martin, T.J.: Prostaglandins in bone and mineral metabolism. In: Bone and Mineral Research, Annual 2, Pecks, W.A., ed., pp. 286-310, Elsevier Science Publishers BV, Amsterdam, 1984.
 36. Somjen, D., Binderman, I., Berger, E., Harell, A.: Bone remodeling induced by physical stress is prostaglandin mediated, Biochim. Biophys. Acta, 627:91-100, 1980.
 37. Saito, S., Ngan, P., Rosol, T., McCauley, L., Shanfeld, J., Davidovitch, Z.: Bone resorption by conditioned medium after IL-1 β administration to fibroblasts, J. Dent. Res., 68:257, (Abstract 607).
 38. Klein D.C., Raiz, L.G.: Stimulation of bone resorption in tissue culture, Endocrinology, 86:1436-1440, 1971.
 39. Shanfeld, J.L., Davidovitch, Z.: Extraction and simultaneous measurement of cyclic AMP and prostaglandin E₂ from bone, J. Dent. Res., 59(Abtract): Special Issue A, 1980.
 40. Mostafa, Y.A., Weaks-Dybvig, M., Osdoby, P.: Orthodontic tooth movement, Am. J. Orthod., 83:245-250, 1983.
 41. Yamasaki, K., Miura, F., Suda, T.: Prostaglandin as a mediator of bone resorption induced by experimental tooth movement in rats, J. Dent. Res., 59:1635-1642, 1980.
 42. Sandy, J.R., Harris, M.: Prostaglandins and orthodontic tooth movement, J. Dent. Res., 61:548, 1982.
 43. Yamasaki, K., Shibata, Y., Fukuhara, T.: The effect of prostaglandins on experimental tooth movement in monkeys (*Macaca fuscata*), J. Dent. Res., 61:1444-1446, 1982.
 44. Yamasaki, K.: The role of cyclic AMP, calcium and prostaglandins in the induction of osteoclastic bone resorption associated with experimental tooth movement, J. Dent. Res., 62:877-881, 1983.
 45. Bach, M.K., Brashler, J.R., Smith, H.W., Fitzpatrick, F.A., Sun, F.F., McGuire, J.C.: 6,9 - Deoxy - 6,9 - (phenylimino) - 6,8 - prostaglandin II (U-60-257). A new inhibition of leukotriene C and D synthesis in *in vitro* studies, Prostaglandin, 23:759-770, 1982.
 46. Engineer, D.M., Piper, P.G., Strais, P.: Interaction between the release of SRS-A and of prostaglandins, Br. J. Pharmacol., 57:460-461, 1971.
 47. Ham, E.A., Egan, R.W., Soderman, D.D., Gale, P.H., Kueh, F.A.: Peroxidase-dependent deactivation of prostacyclin synthetase, J. Biol. Chem., 254:2191-2194, 1979.
 48. Walker, J.L.: The regulatory function of prostaglandins in the release of histamine and SRS-A from passively sensitized human lung tissues, Adv. Biosci., 9:235-240, 1972.
 49. Offenbacher, S., Dole, B.M., Van Dyke, T.E.: Endotoxin mediated leukotriene release from bone culture, J. Dent. Res., 65:351, 1986. (Abstract 1643)
 50. Mohammed, A.H., Tatakis, D.N., Dziak, R.: Leukotrienes in orthodontic tooth movement, Am. J. Orthod. Dentofac. Orthop., 95:231-237, 1989.
 51. King, G.J., Collier, J.: A bone resorptive agent extracted from orthodontically treated tissues of the rat, Angle Orthod., 56:299-308, 1986.
 52. Osaki, T., Miura, F., Shimizu, M., Sasaki, S.: Collagenolytic activity during tooth movement in the rabbit,

- Archs. Oral Biol., 16:1123-1126, 1971.
53. Horton, J.E., Wezemann, F.H., Kuettner, K.E.: Inhibition of bone resorption in vitro by a cartilage derived anti-collagenase factor, *Science*, 199: 1342-1345, 1978.
 54. Sandberg, A.L., Raisz, L.G., Goodson, J.N., Simmons, H.A., Mergenhagen, S.E.: Initiation of bone resorption by the classical and alternative pathways and its mediation by prostaglandins, *J. Immunol.*, 119:1378-1381, 1977.
 55. Ragnarsson, B., Carr, G., Daniel, J.C.: Isolation and growth of human periodontal ligament cells in vitro, *J. Dent. Res.*, 64:1026-1030, 1985.
 56. Nagai, N., Hori, H., Hattori, H., Sunada, Y., Terado, K.: A micro-assay method of collagenase activity and its application in the study of collagen metabolism in pathologic tissues, *Inflammation*, 4:123-130, 1984. (In Japanese)
 57. Ngan, P., Zadeh, Y., Shanfeld, J., Davidovitch, Z.: The effect of interleukin 1 β and parathyroid hormone on cyclic nucleotide and prostaglandin levels in vitro, *The Biological Mechanisms of Tooth Eruption and Root Resorption*, Davidovitch, Z., ed., pp.261-267, EBSCO Media, Birmingham, 1988.
 58. Saito, S., Ngan, P., Saito, M., Lanese, R., Shanfeld, J., Davidovitch, Z.: Interactive effects between cytokines on prostaglandin E production by human periodontal ligament fibroblasts in vitro, *J. Dent. Res.*, 69:1456-1462, 1990.
 59. Saito, S., Saito, M., Ngan, P., Lanese, R., Shanfeld, J., Davidovitch, Z.: Effects of parathyroid hormone and cytokines on prostaglandin E synthesis and bone resorption by human periodontal ligament fibroblasts, *Archs. Oral Biol.*, 35:845-855, 1990.
 60. Vilcek, J., Tsujimoto, M., Palombella, V.L., Kohase, M., Le, J.: Tumor necrosis factor: Receptor binding and mitogenic action in fibroblasts, *J. Cell. Physiol. Suppl.*, 5:57-61, 1987.
 61. Dinarello, C.A., Savage, N.: Interleukin 1 and its receptor, *CRC Crit. Rev. Immunol.*, 9:120, 1989.
 62. Stauber, G.B., Aiyer, R.A., Aggarwal, B.B.: Human tumor necrosis factor- α receptor, *J. Biol. Chem.*, 263:19098-19104, 1988.
 63. Beutler, B., Cerami, A.: The history, properties, and biological effects of cachectin, *Biochem.*, 27:7575-7582, 1988.
 64. Dayer, J.-M., Breard, J., Chess, L., Krane, S.M.: Participation of monocyte-macrophages and lymphocytes in the production of a factor that stimulates collagenase and prostaglandin release by rheumatoid synovial cells, *J. Clin. Invest.*, 64:1386, 1979.
 65. Dayer, J.-M., Zavadil-Grob, C., Ucla, C., Mach, B.: Induction of human interleukin 1 mRNA measured by collagenase and prostaglandin E₂-stimulating activity in rheumatoid synovial cells, *Eur. J. Immunol.*, 14:898, 1984.
 66. Raz, A., Wyche, A., Siegel, N., Needleman, P.: Regulation of fibroblast cyclooxygenase synthesis by interleukin-1, *J. Biol. Chem.*, 263:3022-3028, 1988.
 67. Korn, J.H., Downie, E., Roth, G.J., Ho Shih-Yieh: Synergy of interleukin 1 (IL-1) with arachidonic acid and A23187 in stimulating PGE synthesis in human fibroblast cyclooxygenase, *Clin. Immunol. Immunopath.*, 50:196-204, 1989.
 68. Ruggiero, V., Baglioni, C.: Synergistic anti-proliferative activity of interleukin 1 and tumor necrosis factor, *J. Immunol.*, 138:661, 1987.
 69. Le, J., Vilcek, J.: Tumor necrosis factor and interleukin 1: cytokines with multiple overlapping activities, *Lab. Invest.*, 56:234, 1987.
 70. Elias, J.A., Gustilo, K., Baeder, W., Freundlich, B.: Synergistic stimulation of fibroblast prostaglandin production by recombinant interleukin 1 and tumor necrosis factor, *J. Immunol.*, 138:3812-3816, 1987.
 71. Feyen, J.H.M., Elford, P., Di Padova, F.E., Trechsel, U.: Interleukin-6 is produced by bone and modulated by parathyroid hormone, *J. Bone Miner. Res.*, 4: 633-638, 1989.
 72. Al-Humidan, A., Ralston, S.H., Hughes, D.E., Chapman, K., Aarden, L., Russel, R.G., Gowen, M.: Interleukin-6 does not stimulate bone resorption in neonatal mouse calvariae, *J. Bone Miner. Res.*, 6:3-8, 1991.
 73. Hughes, F.J., Howells, G.L.: Interleukin-6 inhibits bone formation in vitro, *Bone and Mineral*, 21:21-28, 1993.
 74. Black, K.S., Garrett, I.R., Mundy, G.R.: Chinese hamster ovarian cells transfected with murine interleukin-6 gene cause hypercalcemia as well as cachexia, leukocytosis and thrombocytosis in tumor-bearing mice, *Endocrinology*, 128:2657-2659, 1991.
 75. Black, K.S., Mundy, G.R., Garrett, I.R.: Interleukin-6 causes hypercalcemia in vivo and enhances the bone resorbing potency of interleukin-1 and tumor necrosis factor by two orders of magnitude in vitro (abstract 787), *J. Bone Miner. Res.*, 5:S271, 1990.
 76. Linkhart, T.A., Linkhart, S.G., MacCharles, D.C.

- Long, D.L., Strong, D.D.: Interleukin-6 messenger RNA expression and interleukin-6 protein secretion in cells isolated from normal human bone: regulation by interleukin-1. *J. Bone Miner. Res.*, 6:1258-1294, 1991.
77. Collins, J.L., Daniel, J.W., Cederquist, R., Simmelink, J.W., Enlow, D.H.: Stimulation of bone development by mechanical stress and inhibition of leukotriene biosynthesis. *J. Dent. Res.*, 66:328, 1987. (Abstract 1771)
78. Collins, J.L., Daniel, J.W., Cederquist, R., Enlow, D.H.: The role of leukotrienes in force induced bone development. *J. Dent. Res.*, 66:328, 1987. (Abstract 1772)

-ABSTRACT-

EFFECT OF VARIOUS CYTOKINES ON THE PRODUCTION OF PROSTAGLANDIN E₂, LEUKOTRIENE B₄ AND COLLAGENASE IN HUMAN PERIODONTAL LIGAMENT FIBROBLASTS IN VITRO

Jung-Ho Kim · Cheong-Hoon Suhr

Department of Orthodontics, College of Dentistry, Seoul National University

This experiment was designed to study possible roles of interleukin-1 β , interleukin-6 and tumor necrosis factor- α in bone remodeling by measuring their effects on PGE₂, LTB₄ and collagenase production when they were administered to human periodontal ligament fibroblasts.

Human periodontal ligament fibroblasts were collected from first premolars extracted for orthodontic treatment. They were incubated in the environment of 37°C, 5% CO₂, and 100% humidity. They were treated with 0.25% trypsin-EDTA solution and centrifuged. PDL cells in the fifth to seventh passage were used for the experiment. Cells were seeded onto the culture dishes and when they were successfully attached, human recombinant interleukin-1 β , interleukin-6, and tumor necrosis factor- α were administered, alone or in combination. They were incubated for 4, 8 and 24 hours and the levels of PGE₂, LTB₄ and collagenase released into the culture media were assessed by enzymeimmunoassay and collagenase activity assay.

The conclusions are as follows:

1. IL-1 β and TNF- α were very active in stimulating the production of PGE₂ and collagenase by human periodontal ligament fibroblasts, while IL-6 increased LTB₄ production.
2. IL-1 β significantly increased PGE₂, but LTB₄ production was not increased. IL-1 β is thought to act mainly via the cyclooxygenase pathway of arachidonic acid metabolism.
3. IL-6 tended to inhibit IL-1 β in the production of PGE₂ and collagenase whereas IL-6 and TNF- α showed additive effect in the level of PGE₂.

The above cytokines increased the release of at least one of PGE₂, LTB₄ and collagenase. It suggests that cytokines are involved in bone remodeling process by stimulating PDL fibroblasts to produce various bone-resorptive agents. The roles of cytokines in bone remodeling as a whole would need further study.

KOREA J. ORTHOD. 1994 ; 24(4) : 871-883

Key words : IL-1 β , IL-6, TNF- α , Human periodontal fibroblast, Bone remodeling