

세균독소로 자극시킨 사람 섬유아 세포에서의 Interleukin-6와 Interleukin-8의 생성

홍시영 · 김옥규 · 김종렬 · 정인교 · 양동규 · 이성근* · 김광혁**
부산대학교 치과대학 구강외과학교실, 고신의대 치과학교실*, 미생물학교실**

Abstract

PRODUCTION OF IL-6 AND IL-8 IN HUMAN FIBROBLASTS STIMULATED WITH BACTERIAL TOXINS

Si-Young Hong, Uk-Kyu Kim, Jong-Ryoul Kim, In-Kyo Chung,
Dong-Kyu Yang, Seong-Geun Lee*, Kwang-Hyuk Kim**
*Dept. of Oral and Maxillofacial Surgery, College of Dentistry, Pusan National University,
Dept. of Dentistry*, Dept. of Microbiology**, Kosin Medical College,*

Cytokines are hormone-like proteins which mediate and regulate inflammatory and immune responses. Interleukin-6 (IL-6) is involved in the final differentiation of B cells into antibody-producing cells. Interleukin-8 (IL-8) is a neutrophil chemotactic factor that plays an important role in the recruitment of neutrophils to inflammatory loci. Inflammatory mediators produced by cells in the gingiva have been implicated in the initiation and progression of periodontitis and oral infection.

The purpose of this study was conducted to investigate the effect of lipopolysaccharide (LPS), *Staphylococcus enterotoxin B* (SEB) on production of IL-6 and IL-8 by human gingival and facial dermal fibroblasts.

Primary cultured human gingival and facial dermal fibroblasts were incubated with LPS (0.01, 0.1, 1.0 μ g/ml), SEB (0.01, 0.1, 1.0 μ g/ml) or LPS (0.1 μ g/ml) plus SEB (0.1 μ g/ml). Culture supernatants were collected at 24, 48, and 72 hrs and assessed for IL-6 and IL-8 production by enzyme-linked immunosorbent assay.

IL-6 production in gingival fibroblasts stimulated with LPS was higher than that with SEB. IL-6 production by double exposure with LPS plus SEB was amplified in comparison with single exposure of LPS or SEB. IL-6 production in facial dermal fibroblasts was increased only by stimulation with a high concentration of LPS (1.0 μ g/ml). Its production in facial dermal fibroblasts by exposure with SEB was decreased in comparison with control, nontreated cells. Therefore, gingival fibroblasts showed higher sensitivity than facial dermal fibroblasts in response to low concentration of LPS. Also, IL-6 production by double exposure with LPS plus SEB was amplified in comparison with single exposure of LPS or SEB.

IL-8 production in gingival fibroblasts was enhanced greatly only by stimulation of high concentration of LPS (1.0 μ g/ml). That by exposure with SEB was increased only in 24 hrs cultivation. IL-8 production by double exposure with LPS plus SEB was amplified in comparison with single exposure of LPS or SEB. IL-8 production in facial dermal fibroblasts was decreased by LPS and increased only in 48 hrs cultivation by SEB. IL-8 production by double exposure with LPS plus SEB was enhanced only in 48 hrs cultivation in comparison with single exposure of LPS or SEB. Therefore, IL-6 and IL-8 production were released at various quantities according to bacterial toxin applied and site of fibroblast harvested.

These results suggest that gingival fibroblasts may be concerned with IL-6 and IL-8 related inflammatory response more than facial dermal fibroblasts.

I. 서 론

감염숙주로 부터 생성된 각종 사이토카인은 감염 방어의 직접적 발현이나 감염방어면역의 유도에 불가결한 작용을 나타낸다. 그 중에서도 염증면역성 반응을 매개하고 조절하는 사이토카인에는 초기 휴지상태의 B 세포의 활성화에 관여하는 interleukin-4 (IL-4)와 활성화된 B 세포의 성장시키는 데 관여하는 interleukin-5 (IL-5) 및 B 세포를 항체 생성 세포로 분화시키는 데 관여하는 interleukin-6 (IL-6) 및 염증 부위로의 호중구의 주입에 중요한 역할을 하는 케모카인인 Interleukin-8 (IL-8)¹⁻¹⁰⁾이 있다.

이 중에서도 IL-6은 mitogen이나 항원으로 자극시킨 말초 단핵구의 배양 상층액에서 동정되었으며¹¹⁾, 전에는 B 세포 분화 인자 혹은 간세포 촉진 인자로 알려졌으나, 이들 모두가 26 KD의 같은 물질로 판명됨으로서 IL-6으로 통일되었으며¹²⁾, 대식세포, 단핵구, B 세포, T 세포, 혈관내피세포, 섬유아 세포, 및 피부 각질세포 등에서 생성되는 다기능성 사이토카인이다¹³⁻¹⁸⁾. 이것은 대부분의 세포에서 작용하지만, 특히, B 세포를 항체 생성 세포로 분화시키는 데 중요한 역할을 한다. 그것은 염증시 간세포로부터의 급성기 단백질 생성을 촉진하며, killer T 세포의 유도, IL-2의 생성과 IL-2 수용체 발현 및 증식 유도, 조혈간세포에 대하여는 Go 기의 단축, 거대핵세포에 작용하여 혈소판 생성 유도, 각질세포의 성장, 신장 사구체 간질세포의 증식 및 골수종 세포의 증식 유도 등의 작용이 있음이 생체의 실험을 통하여 밝혀졌다^{19,20)}. 생체에서 IL-6의 생성이 항진되면 고감마 글로불린혈증, 급성기 단백질 증가, 혈소판 증가 등의 특징적인 증상을 보이게 되며 IL-6의 생성이 조절되지 않는 질환으로는 심장 점액종, 류마티스관절염, Castleman's 질환, 형질세포종, 골수종, 건선 등이 있다²¹⁻³¹⁾.

한편, IL-8은 lipopolysaccharide (LPS)로 자극시킨 단핵구에서 분비되는 호중구 주화성 인자로 처음 밝혀졌지만 이후 단핵구를 비롯하여 mitogen으로 자극시킨 T 림프구, 호중구, 호산구, 섬유아세포, 활액세포, 내피세포, 상피세포, 각질세포 등에서 생성되었다^{23,32-39)}. 이것의 기능은 호중구의 주화를 자극시킬 뿐만 아니라 호중구의 탈과립을 유도하고 T림프구와 호염기구의 주화를 유도시키는 생체의 실험 결과 나타났으며, IL-8를 피부에 주사하였을 때 호중구와 림프구가 주사부위로 침윤되는 것을 볼 수 있게 되고 국소 림프절로의 림프구 유주현상, 말초혈액 내에 호중구수의 증가, 혈관의 투과성 항진, 관절 활막과 폐포의 파괴 등이 나타난다³⁸⁻⁴⁰⁾. IL-8은 호중구가 유입되는 질환인 류마티스관절염⁴¹⁾, 폐양성대상염⁴²⁻⁴⁴⁾, 폐 손상⁴⁵⁾, 기도염증반응⁴⁶⁻⁴⁸⁾ 및 호중구-매개성 심근 손상에 포함되는 저산소-재관류(hypoxia-reperfusion) 손상⁴⁹⁾, *Helicobacter pylori* 관련 위 십이지장 질환^{50,51)}, 염증성 피부질환⁵²⁻⁵⁷⁾에서 나타나고 있

다. 하지만, 풍부한 면역 기능을 가지는 부위로 알려진 구강에서 염증면역성 반응과 관련하여 IL-6와 IL-8의 생성 및 작용에 관해서 연구한 논문은 매우 드물다.

이에 본 연구에서는 정상인의 치은과 안면부로부터 분리한 섬유아세포를 초대 배양하고 여기에 그램 양성 포도상구균의 독소인 *Staphylococcus enterotoxin B* (SEB)와 그램 음성 간균의 세포벽 성분 독소인 lipopolysaccharide (LPS)를 각각 노출시키거나 이들을 혼합 자극시켰을 때 염증면역성 반응의 조절에 관여하는 대표적인 사이토카인으로 항체 생성에 관여하는 IL-6와 호중구의 주화를 유도시키는 IL-8의 생성능을 조사하여 그 의의를 살펴보고자 하였다.

II. 연구재료 및 방법

1. 섬유아세포의 배양

정상인의 치은 부위와 안면부 진피로부터 조직절편 2 - 5 mm³ 를 각각 무균적으로 생검하여 1mm³ 크기로 절편한 후 조직을 우태아혈청(fetal calf serum, FCS, Boehringer Mannheim, Mannheim, Germany)을 10% 추가하여 만든 Eagle's minimum essential medium(EMEM, Gibco, Grand Island, U.S.A.) 2ml을 적정한 60mm 조직배양용 접시(Costar, Cambridge, U.S.A.)에 정지하고 멸균된 cover slip으로 고정된 뒤 37℃, 5% CO₂ 배양기에 넣어 3 - 4일 간격으로 배지를 교환하면서 배양하였다. 약 3주 후에 배양용 접시 전체에 단층으로 형성된 섬유아세포로부터 배지를 흡입하여 버리고 phosphate buffered saline (PBS)로 1회 세척한 후 0.25% trypsin 0.3ml을 첨가한 후 배양기에서 5분 동안 방치하였다. 박리된 세포들은 10% FCS EMEM 으로 재부유시켜 사이토카인 생성세포로 사용하였다.

2. 섬유아세포 배양상층액의 준비

1) LPS 및 SEB의 준비

LPS는 *Escherichia coli* (serotype 026:B6)에서 분리정제된 표품 (Sigma Cat. L8274, St. Luis, U.S.A.)과 SEB는 *Staphylococcus aureus*에서 분리정제된 표품 (Sigma Cat. S9399)을 구입하여 사용하였다.

2) IL-6과 IL-8의 생성

부유시킨 섬유아세포(2.5×10⁵/ml) 1ml씩을 24wells 배양용 plate (Corning, NY, U.S.A.)에 분주한 후 단독노출의 경우에는 ml당 LPS 0.01, 0.1, 1.0μg, SEB 0.01, 0.1, 1.0μg을 각각 작용시켰다. 중복노출의 경우에는 LPS와

SEB 각 각 0.1 μ g 씩을 작용시켰다. 이들을 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 배양기에서 24, 48, 72시간 동안 배양하여 배양 상층액을 수거하였다. 용량별 시험 well은 triplicate로 시행하였다. 수거된 배양 상층액은 300g에서 30분간 원침시킨 후 그 상층액을 수거하여 -70 $^{\circ}$ C에 보관하면서 IL-6와 IL-8 생성 효과 측정에 사용하였다.

3. IL-6의 측정

IL-6의 측정은 PREDICTA[®] Human IL-6 ELISA kit (Genzyme, Cambridge, U.S.A.)을 이용하였다. 미리 IL-6에 대한 모노클론항체가 부착된 96 wells microplate 의 각 well에 시료 100 μ l 씩을 적하하여 37 $^{\circ}$ C 배양기에서 30분 동안 방치하였다. 세척용 완충액으로 5번 세척한 후 biotinylated 항체 액 100 μ l 씩을 적하하여 다시 37 $^{\circ}$ C 배양기에서 30분 동안 방치하였다. 세척용 완충액으로 5번 세척한 후 peroxidase labeled avidin 액 100 μ l 씩을 적하하여 다시 37 $^{\circ}$ C 배양기에서 15분 동안 방치하였다. 세척용 완충액으로 5번 세척한 후 tetramethylbenzidine 기질액 100 μ l 씩을 적하하여 다시 실온에서 10분동안 방치하였다. 여기에 stop액 100 μ l 씩을 가하였다. Optical density는 microplate reader (Model 550 microplate reader, Bio-Rad, U.S.A.) 를 이용하여 450nm에서 측정하였다. 표준곡선 작성을 위한 시험도 동시에 시행하였다.

4. IL-8의 측정

IL-8의 측정은 PREDICTA[®] Human IL-8 ELISA kit (Genzyme, Cambridge, U.S.A.) 을 이용하였다. 미리 IL-8에 대한 모노클론항체가 부착된 96 wells microplate 의 각 well에 시료희석액 50 μ l 씩을 작용시킨 다음 시료 50 μ l 씩을 적하하여 실온에서 60분 동안 방치하였다. 세척용 완충액으로 5번 세척한 후 biotinylated 항체액 100 μ l 씩을 적하하여 다시 실온에서 90분 동안 방치하였다. 세척용 완충액으로 5번 세척한 후 peroxidase-labeled streptavidin 액 100 μ l 씩을 적하하여 다시 실온에서 20분 동안 방치하였다. 세척용 완충액으로 5번 세척한 후 tetramethylbenzidine 기질액 100 μ l 씩을 적하하여 다시 실온에서 30분동안 방치하였다. 여기에 stop액 100 μ l 씩을 가하였다. Optical density는 microplate reader (Model 550 microplate reader, Bio-Rad, U.S.A.)를 이용하여 450nm에서 측정하였다. 표준곡선의 작성을 위한 시험도 동시에 시행하였다.

III. 연구 결과

초대배양한 치은 및 안면부 진피 섬유아세포에 LPS, SEB를 단독 노출시키거나 LPS와 SEB를 중복 노출시켰을 때 세포로부터 유출되어 나타나는 IL-6과 IL-8을 정량 분석하였다. 이 때 세균의 독소를 작용시키지 않은 경우를 대조군으로, 세균의 독소를 작용시킨 경우를 실험군으로 하였다.

1. IL-6의 생성

1) 치은 섬유아세포의 IL-6 생성변화

치은 섬유아세포에 LPS를 단독으로 작용시켜 얻은 배양 상층 액의 IL-6의 농도는 독소를 작용시키지 않은 대조군에 비하여 유의성 있는 증가가 각 농도별 시간대에서 나타나고 있다. LPS 0.01 μ g을 노출시켰을 때 24, 48시간대에서 매우 유의한 상승을 보였다. LPS 0.1 μ g 때에는 24, 72 시간대에서 유의한 상승을, 1.0 μ g 때에는 24시간대에 매우 유의한 상승을 나타내다가 48, 72시간대에서는 유의한 상승만을 보였다(Fig. 1).

치은 섬유아세포에 SEB를 단독으로 작용시켜 얻은 배양 상층 액의 IL-6의 농도는 SEB 0.01 μ g 72시간, SEB 0.1 μ g 24시간, 1.0 μ g 24시간대에서만 매우 유의한 상승을 보임으로서 LPS 노출 때와는 다른 양상을 나타냈다(Fig. 2). LPS 0.1 μ g과 SEB 0.1 μ g에 의한 중복노출의 경우에는 48, 72시간대에서 대조군에 비하여 매우 유의한 상승을 보임으로서 중복노출에 의한 상승효과를 나타냈다(Fig. 3).

2) 진피 섬유아세포의 IL-6 생성변화

진피 섬유아세포에 LPS를 단독으로 작용시켜 얻은 배양 상층액의 IL-6의 농도는 LPS 0.01 μ g를 노출시켰을 때 24, 48시간대에 약간의 상승을 보이다가 72시간대에는 유의한 감소를 나타냈다. LPS 0.1 μ g 노출 시에는 48시간대에서만 유의한 상승을 나타냈다. LPS 1.0 μ g 노출 시에는 모든 시간대에서 대조군에 비하여 매우 유의한 상승효과를 나타냈다(Fig. 4).

진피 섬유아세포에 SEB를 단독으로 작용시켜 얻은 배양 상층 액의 IL-6의 농도는 SEB 1.0 μ g 72시간대에서만 증가를 보였지만 타 시험 군에서는 모두 대조군에 비하여 감소를 나타냈다(Fig. 5). 그러나 LPS 0.1 μ g과 SEB 0.1 μ g에 의한 중복노출의 경우에는 24, 48시간대에서 대조군에 비하여 매우 유의한 상승을 보임으로서 중복노출에 의한 상승효과를 나타냈다(Fig. 6).

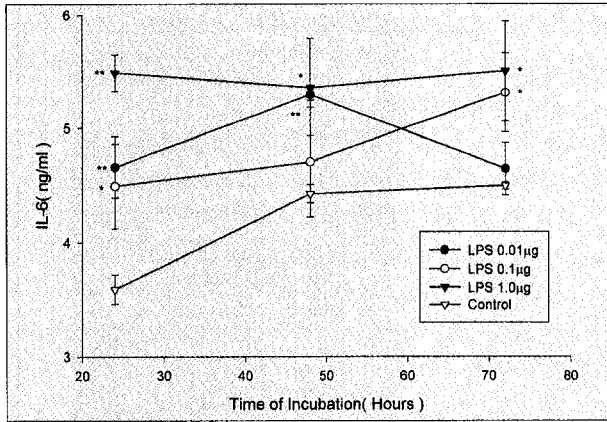


Fig. 1. Production of IL-6 by gingival fibroblast with 0.01, 0.1, 1.0µg of LPS for 24, 48, 72 hrs respectively in MEM. Culture supernatants were harvested after each incubation time and IL-6 was assayed. Date represent mean±SD. *P<0.05 and **P<0.01 compared with control.

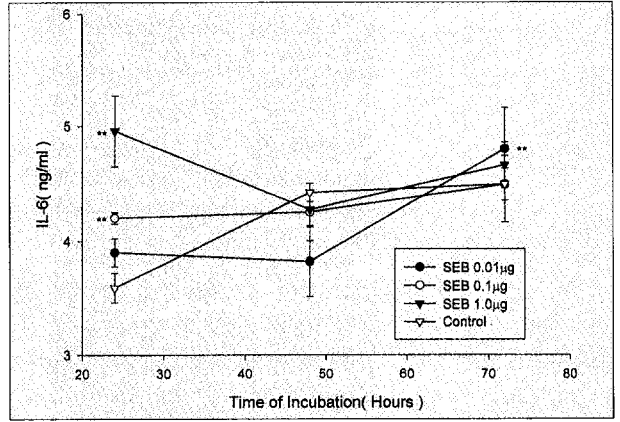


Fig. 2. Production of IL-6 by gingival fibroblast with 0.01, 0.1, 1.0µg of SEB for 24, 48, 72 hrs respectively in MEM. Culture supernatants were harvested after each incubation time and IL-6 was assayed. Date represent mean±SD. *P<0.05 and **P<0.01 compared with control.

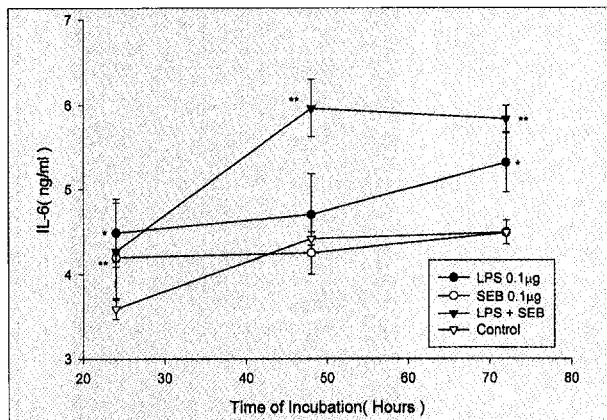


Fig. 3. Production of IL-6 by gingival fibroblast with 0.1µg of LPS plus 0.1µg of SEB for 24, 48, 72 hrs respectively in MEM. Culture supernatants were harvested after each incubation time and IL-6 was assayed. Date represent mean±SD. *P<0.05 and **P<0.01 compared with control.

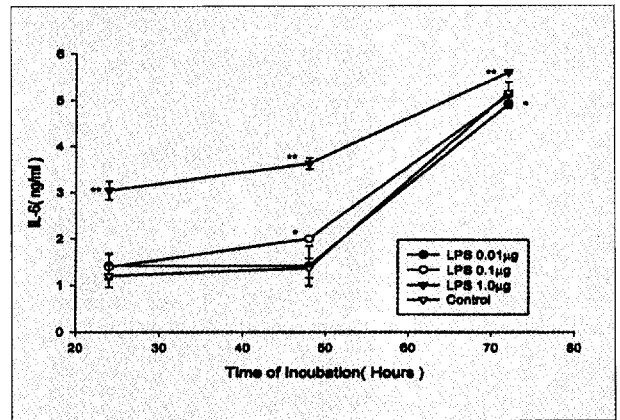


Fig. 4. Production of IL-6 by facial dermal fibroblast with 0.01, 0.1, 1.0µg of LPS for 24, 48, 72 hrs respectively in MEM. Culture supernatants were harvested after each incubation time and IL-6 was assayed. Date represent mean±SD. *P<0.05 and **P<0.01 compared with control.

2. IL-8의 생성

1) 치은 섬유아세포의 IL-8 생성변화

치은 섬유아세포에 LPS를 단독으로 작용시켜 얻은 배양 상층액의 IL-8의 농도는 대조 군에 비하여 유의성 있는 증가나 감소가 각 농도별 시간대에서 나타나고 있다. LPS 0.01µg을 노출시켰을 때 24시간대에 유의한 증가를 보였으나 48, 72시간대에서는 매우 유의한 감소를 보였다. LPS 0.1µg 때에는 48, 72시간대에서 유의한 감소를 보였으나 1.0µg 때에는 모든 시간대에서 매우 유의한 상승을 나타냈다(Fig. 7).

SEB를 단독으로 작용시켜 얻은 배양 상층액의 IL-8의 농도는 SEB 0.01µg 48시간대에서 유의한 감소가 나타나고 있고, SEB 0.1µg과 1.0µg 노출에서는 24시간대에서만 매우 유의한 상승을 보임으로서 LPS 노출 때와는 다른 양상을 나타냈다(Fig. 8). LPS 0.1µg과 SEB 0.1µg에 의한 중복노출의 경우에는 48, 72시간대에서 대조군에 비하여 매우 유의한 상승을 보임으로서 중복노출에 의한 상승효과를 나타냈다(Fig. 9).

2) 진피 섬유아세포의 IL-8 생성변화

진피 섬유아세포에 LPS를 단독으로 작용시켜 얻은 배양

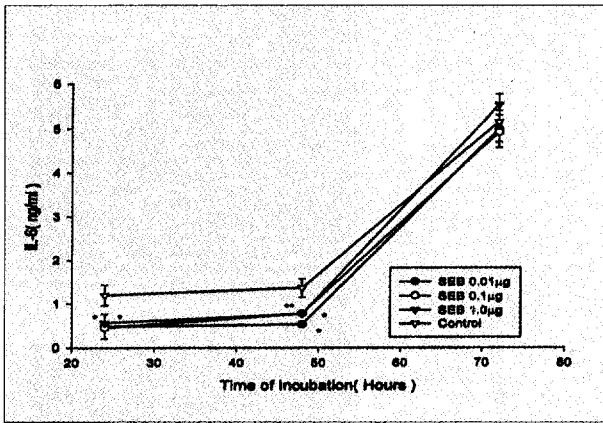


Fig. 5. Production of IL-6 by facial dermal fibroblast with 0.01, 0.1, 1.0µg of SEB for 24, 48, 72 hrs respectively in MEM. Culture supernatants were harvested after each incubation time and IL-6 was assayed. Date represent mean±SD. *P<0.05 and **P<0.01 compared with control.

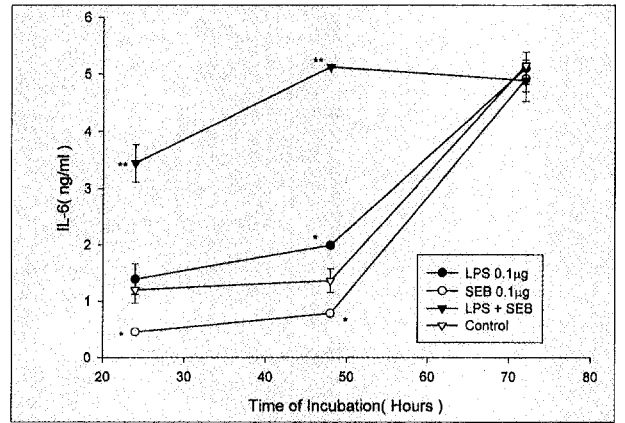


Fig. 6. Production of IL-6 by facial dermal fibroblast with 0.1µg of LPS plus 0.1µg of SEB for 24, 48, 72 hrs respectively in MEM. Culture supernatants were harvested after each incubation time and IL-6 was assayed. Date represent mean±SD. *P<0.05 and **P<0.01 compared with control.

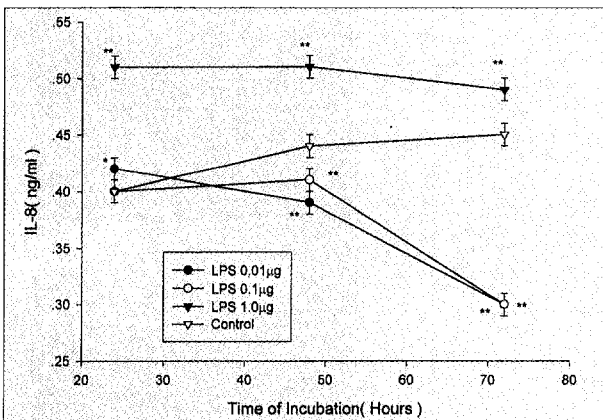


Fig. 7. Production of IL-8 by gingival fibroblast with 0.01, 0.1, 1.0µg of LPS for 24, 48, 72 hrs respectively in MEM. Culture supernatants were harvested after each incubation time and IL-6 was assayed. Date represent mean±SD. *P<0.05 and **P<0.01 compared with control.

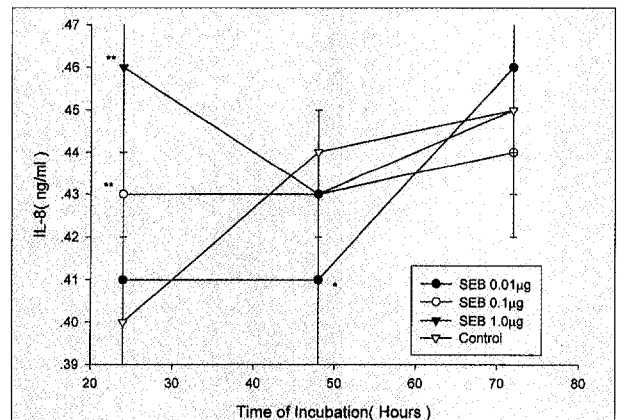


Fig. 8. Production of IL-8 by gingival fibroblast with 0.01, 0.1, 1.0µg of SEB for 24, 48, 72 hrs respectively in MEM. Culture supernatants were harvested after each incubation time and IL-6 was assayed. Date represent mean±SD. *P<0.05 and **P<0.01 compared with control.

상층액의 IL-8의 농도는 LPS 0.01µg를 노출시켰을 때 24, 48, 72시간 모두에서 매우 유의한 감소를 보였다. LPS 0.1 µg 노출 시에도 모든 시간대에서 매우 유의한 감소를 나타냈다. LPS 1.0µg 노출 시에는 24시간과 72시간대에서 대조 군에 비하여 매우 유의한 감소를 나타냈다(Fig. 10).

진피 섬유아세포에 SEB를 단독으로 작용시켜 얻은 배양 상층 액의 IL-8의 농도는 SEB 0.1µg 72시간 노출에서만 유의한 감소를 보였지만, 타 시험 군에서는 모두 대조군에 비하여 큰 차이를 나타내지 않았다(Fig. 11). 그러나 LPS 0.1µg과 SEB 0.1µg에 의한 중복노출의 경우에는 24시간대에서 유의한 감소를 나타냈으나 48시간대에서 대조군에 비

하여 매우 유의한 상승을 보였고 72시간대에는 매우 유의한 감소를 나타냈다(Fig. 12).

3. IL-6와 IL-8의 생성비교

1) 치은 섬유아세포

치은 섬유아세포에 LPS나 SEB를 단독으로 0.1µg 씩 노출시키거나 LPS와 SEB를 중복 노출시켰을 때 생성되어 나타나는 IL-6와 IL-8의 양적 변화를 비교하면 다음과 같다. LPS를 단독 노출시켰을 경우 대조군에 비하여 IL-6는 전 시간대에서 증가한 반면 IL-8은 감소하는 경향을 보였다.

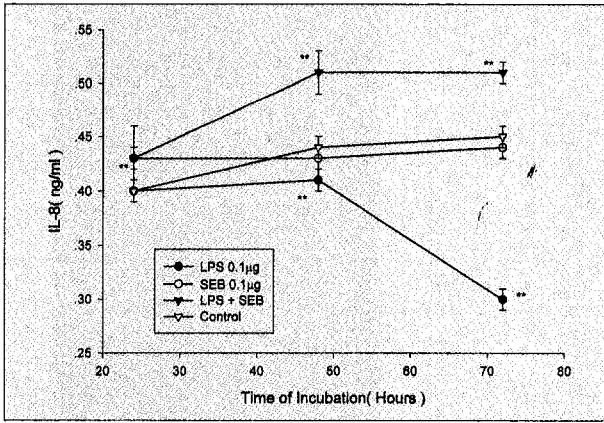


Fig. 9. Production of IL-8 by gingival fibroblast with 0.1µg of LPS plus 0.1µg of SEB for 24, 48, 72 hrs respectively in MEM. Culture supernatants were harvested after each incubation time and IL-6 was assayed. Data represent mean±SD. *P<0.05 and **P<0.01 compared with control.

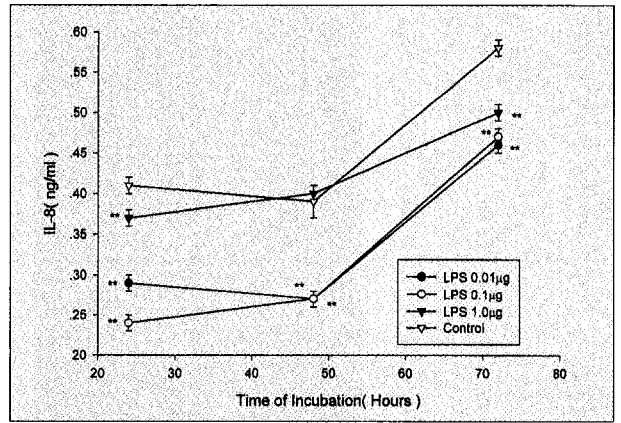


Fig. 10. Production of IL-8 by facial dermal fibroblast with 0.01, 0.1, 1.0µg of LPS for 24, 48, 72 hrs respectively in MEM. Culture supernatants were harvested after each incubation time and IL-6 was assayed. Data represent mean±SD. *P<0.05 and **P<0.01 compared with control.

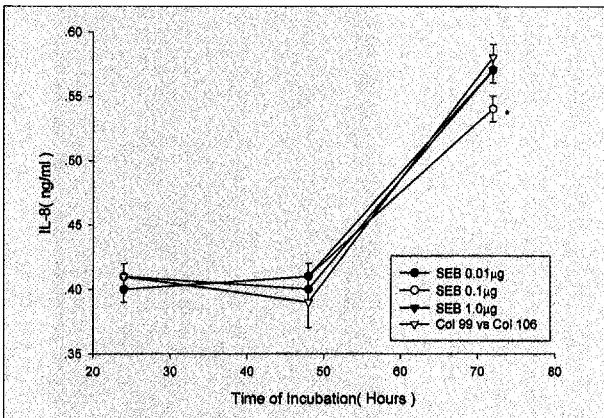


Fig. 11. Production of IL-8 by facial dermal fibroblast with 0.01, 0.1, 1.0µg of SEB for 24, 48, 72 hrs respectively in MEM. Culture supernatants were harvested after each incubation time and IL-6 was assayed. Data represent mean±SD. *P<0.05 and **P<0.01 compared with control.

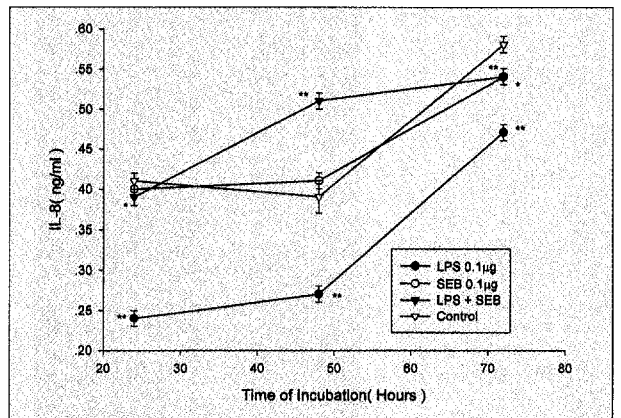


Fig. 12. Production of IL-8 by facial dermal fibroblast with 0.1µg of LPS plus 0.1µg of SEB for 24, 48, 72 hrs respectively in MEM. Culture supernatants were harvested after each incubation time and IL-6 was assayed. Data represent mean±SD. *P<0.05 and **P<0.01 compared with control.

SEB의 경우는 IL-6와 IL-8 모두 24시간대에서만 증가하는 양상을 보였다. 그러나 중복노출의 경우에는 IL-6와 IL-8 모두 전 시간대에서 뚜렷한 상승현상을 보였다(Table 1).

2) 진피 섬유아세포

진피 섬유아세포에 LPS나 SEB를 단독으로 0.1µg 씩 노출시키거나 LPS와 SEB를 중복 노출시켰을 때 생성되어 나타나는 IL-6와 IL-8의 양적 변화를 비교하면 다음과 같다. LPS를 단독 노출시켰을 경우 대조군에 비하여 IL-6는 24, 48시간대에서 증가하다가 72시간 쯤에 감소하였으나 IL-8은 전 시간대에서 감소를 나타냈다. SEB의 경우 IL-6는 전

시간대에서 감소를 나타냈고 IL-8은 48시간대에서만 증가하는 양상을 보였다. 그러나 중복노출의 경우 IL-6는 24, 48시간대에 증가하다가 72시간대에 감소를 나타냈고 IL-8은 48시간대에서만 증가를 보였다(Table 2).

4. IL-6 생성에 있어서 치은 및 진피 섬유아세포의 비교

LPS 0.1µg을 단독 처리했을 경우 치은과 진피 섬유아세포 모두 각 시간대에서 증가하는 양상을 보인 반면, SEB 0.1µg을 단독 처리했을 경우 치은 섬유아세포에서는 배양초기인 24시간대에만 증가를 보였으며 진피 섬유아세포에서

Table 1. Production of IL-6 and IL-8 in gingival fibroblast by stimulation with LPS, SEB, or LPS+SEB

Stimulants		Hours		
		24	48	72
LPS(0.1 μ g)	IL-6	4.491 \pm 0.369*	4.699 \pm 0.479	5.305 \pm 0.352*
	IL-8	0.398 \pm 0.011	0.405 \pm 0.001	0.297 \pm 0.006**
SEB(0.1 μ g)	IL-6	4.202 \pm 0.050**	4.245 \pm 0.252	4.491 \pm 0.139
	IL-8	0.427 \pm 0.003**	0.430 \pm 0.012	0.441 \pm 0.007
LPS+SEB	IL-6	4.273 \pm 0.569**	5.956 \pm 0.335**	5.825 \pm 0.155**
	IL-8	0.431 \pm 0.028	0.513 \pm 0.016**	0.507 \pm 0.008**
Control	IL-6	3.588 \pm 0.128	4.418 \pm 0.079	4.486 \pm 0.026
	IL-8	0.398 \pm 0.006	0.440 \pm 0.002	0.446 \pm 0.009

Gingival fibroblasts were cultivated with toxins (LPS ; SEB) for 24, 48, 72 hrs. IL-6 and IL-8 were measured in the culture supernatant. Data are mean \pm SD.

* : P<0.05 compared with control. ** : P<0.01 compared with control.

Table 2. Production of IL-6 and IL-8 in facial dermal fibroblast by stimulation with LPS, SEB, or LPS+SEB

Stimulants		Hours		
		24	48	72
LPS(0.1 μ g)	IL-6	1.391 \pm 0.265	1.993 \pm 0.026*	5.099 \pm 0.275
	IL-8	0.241 \pm 0.013**	0.270 \pm 0.001**	0.471 \pm 0.013**
SEB(0.1 μ g)	IL-6	0.454 \pm 0.034*	0.780 \pm 0.050*	4.908 \pm 0.220
	IL-8	0.404 \pm 0.008	0.413 \pm 0.004	0.542 \pm 0.013
LPS+SEB	IL-6	3.444 \pm 0.333**	5.118 \pm 0.008**	4.884 \pm 0.364
	IL-8	0.388 \pm 0.009*	0.510 \pm 0.004**	0.536 \pm 0.006**
Control	IL-6	1.195 \pm 0.233	1.355 \pm 0.207	5.152 \pm 0.016
	IL-8	0.412 \pm 0.001	0.389 \pm 0.015	0.578 \pm 0.004

Facial dermal fibroblasts were cultivated with toxins (LPS ; SEB) for 24, 48, 72 hrs. IL-6 and IL-8 were measured in the culture supernatant. Data are mean \pm SD.

* : P<0.05 compared with control. ** : P<0.01 compared with control.

Table 3. Production of IL-6 in gingival and facial dermal fibroblast(F) by stimulation with LPS, SEB, or LPS+SEB

Stimulants		Hours		
		24	48	72
LPS(0.1 μ g)	gingival F	4.491 \pm 0.369*	4.699 \pm 0.479	5.305 \pm 0.352*
	dermal F	1.391 \pm 0.265	1.993 \pm 0.026*	5.099 \pm 0.275
SEB(0.1 μ g)	gingival F	4.202 \pm 0.050**	4.245 \pm 0.252	4.491 \pm 0.139
	dermal F	0.454 \pm 0.034*	0.780 \pm 0.050**	4.908 \pm 0.220
LPS+SEB	gingival F	4.273 \pm 0.569	5.956 \pm 0.335**	5.825 \pm 0.155**
	dermal F	3.444 \pm 0.333**	0.518 \pm 0.008**	4.884 \pm 0.364
Control	gingival F	3.588 \pm 0.128	4.418 \pm 0.079	4.486 \pm 0.026
	dermal F	1.195 \pm 0.233	1.355 \pm 0.207	5.152 \pm 0.016

Gingival and facial dermal fibroblasts were cultivated with toxins (LPS ; SEB) for 24, 48, 72 hrs. IL-6 was measured in the culture supernatant. Data are mean \pm SD.

* : P<0.05 compared with control. ** : P<0.01 compared with control.

Table 4. Production of IL-8 in gingival and facial dermal fibroblast(F) by stimulation with LPS, SEB, or LPS+SEB

Stimulants		Hours		
		24	48	72
LPS(0.1 μg)	gingival F	0.398±0.011	0.405±0.001**	0.297±0.006**
	dermal F	0.241±0.013**	0.270±0.001**	0.471±0.013**
SEB(0.1 μg)	gingival F	0.427±0.003**	0.430±0.012	0.441±0.007
	dermal F	0.404±0.008	0.413±0.004	0.542±0.013*
LPS+SEB	gingival F	0.431±0.028	0.513±0.016**	0.507±0.008**
	dermal F	0.388±0.009*	0.510±0.004**	0.536±0.006**
Control	gingival F	0.398±0.006	0.440±0.002	0.446±0.009
	dermal F	0.412±0.001	0.389±0.015	0.578±0.004

Gingival and facial dermal fibroblasts were cultivated with toxins (LPS : SEB) for 24, 48, 72 hrs. IL-8 was measured in the culture supernatant. Data are mean±SD.

* : P<0.05 compared with control. ** : P<0.01 compared with control.

는 뚜렷한 감소를 나타냈다. 그러나 LPS와 SEB를 중복 처리했을 경우는 치은 섬유아세포에서의 증가는 물론 진피 섬유아세포 초기배양에서 유의한 증가를 나타냈다(Table 3).

5. IL-8 생성에 있어서 치은 및 진피 섬유아세포의 비교

LPS 0.1μg을 단독 처리했을 경우 치은과 진피 섬유아세포 모두 각 시간대에서 감소하는 양상을 보였으며 SEB 0.1 μg을 단독 처리했을 경우에는 치은 및 진피 섬유아세포 모두 대조군에 비하여 큰 변화를 보이지 않았다. 그러나 LPS와 SEB를 중복 처리했을 경우는 치은 섬유아세포에서의 증가는 물론 진피 섬유아세포 48시간대 배양에서 유의한 증가를 나타냈다(Table 4).

IV. 총괄 및 고찰

감염숙주로부터 생성된 각종 사이토카인은 감염방어의 직접적 발현이나 감염방어면역의 유도에 불가결한 작용을 나타내는 한편, 발열이나 쇼크, 염증성 육아종 등 생체에 이롭지 못한 면역 병리학적 증상의 발현에도 관계하는 등 양면적인 역할을 한다^{19,20)}. IL-6는 분자량 26KD의 당단백질로서 212개의 아미노산으로 구성되어 있으며 B세포에 작용하여 그의 분화와 항체생성을 촉진하고 간세포에도 작용하여 단백질의 생성을 자극함으로써 여러 염증반응에 관여한다²⁴⁻²⁸⁾. IL-8은 케모카인의 일종으로서 72 - 79개의 아미노산으로 이루어진 분자량 6-8KD의 폴리펩타이드로 호중구, T림프구, 호염기구를 염증조직에 유주시키는 백혈구주화성활성인자로서 작용하고 있다³³⁻³⁶⁾. 감염부위에서는 IL-8과 같은 주화인자에 의해서 모여든 호중구나 대식세포 등이 세균과

접촉하여 IL-6 등의 염증성 사이토카인을 생성한다³⁸⁻⁴⁰⁾.

Kamagata 등⁵⁸⁾은 조직병리학적 연구를 통하여 치주염에서 많은 수의 형질세포가 치주 연결조직 침투세포들의 선단 부위에서 나타나고 있음을 보고하였다. 이들은 IL-6 가 치주염의 생성 발달에 결정적 역할을 할 것이라 제의하고 있다. 이것을 증명하기 위하여 치은조직에서의 IL-6 생성을 시험하였는데 치주염과 치은염을 나타낸 환자 치은조직의 배양 상층액에서 대조군인 정상조직보다 월등한 IL-6 활성을 관찰할 수 있었다. Takada 등⁵⁹⁾은 구강내 Bacteroides의 LPS로 자극시킨 섬유아세포 배양 상층액에서 IL-6 생성을 확인하였으며 Bartold와 Haynes⁶⁰⁾도 LPS로 자극시킨 사람 치은 섬유아세포 배양 상층액에서 IL-6 생성을 발견하고 염증조직에서 IL-6가 더 많이 나타남을 면역조직화학적 방법으로 증명함으로써 염증성 치주질환에서 IL-6가 깊게 관련되어 있음을 강력히 피력한 바 있다. Takada 등⁶¹⁾은 구강세균인 S. mitis 균주의 배양 상층액에서 추출한 성분으로 자극시킨 치은 섬유아세포에서 IL-6가 유도됨을 보고하였으며 Takahashi 등⁶²⁾은 치주 질환 환자 및 정상인으로부터 치은 조직을 분리하여 IL-6 생성을 관찰한 결과, 염증성 치은 조직 군에서는 17명 모두에서 IL-6 mRNA가 발견됨에 비하여 건강한 치은 조직을 가진 조직 군에서는 4명중 2명에서만 발견되었음을 보고하였고 염증성 치은 조직의 비림프성 세포가 IL-6를 생성함으로써 치주질환의 병원성에 관여할 것이라고 제의한 바 있다. Reddi 등⁶³⁾은 치주 질환 관련 세균인 Porphyromonas gingivalis와 Prevotella intermedia에서 추출한 lipid A 단백질과 LPS를 사람 치은 섬유아세포에 작용시켰다. 그 결과 Porphyromonas gingivalis에서 추출한 성분만이 IL-6 생성을 촉진시켰다. Ogura 등⁶⁴⁾은 성인 치주염과 관련을 갖는 세균인 Campy-

lobacter rectus의 LPS를 사람 치은 섬유아세포에 작용시키면 IL-6 생성이 증가함을 발견하였다.

Tamura 등⁶⁵⁾은 Bacteroides intermedius와 Bacteroides gingivalis의 LPS를 사람 치은 섬유아세포에 작용시켰을 때 IL-8 mRNA 증가를 Northern blot analysis로 증명하였다. Takashiba 등⁶⁶⁾은 tumor necrosis factor- α 와 IL-1으로 자극시킨 사람의 치은 섬유아세포에서 IL-8 mRNA 발현을 관찰하였다. 또한 중화시험을 통하여 IL-8이 강력한 호중구 화학주성인자임을 밝힘으로서 치주 질환의 병리적 원인에 있어서 이러한 인자가 호중구-매개성 과정에 관여할 것이라는 제의와 함께 치은 세포들에 의해서 생성된 염증성 매개자들은 치주 질환의 기원과 진행에 영향을 끼치게 될 것으로 결론지었다. Odake 등⁶⁷⁾도 IL-1으로 자극시킨 사람 섬유아세포 배양에서 호중구 화학주성인자인 IL-8을 순수 분리하였으며 사람 치은 섬유아세포는 IL-8과 같은 호중구 화학주성인자를 생성함으로써 치은 염증에 중요한 역할을 담당하게 될 것이라 하였다. Nagaoka 등⁶⁸⁾은 Prevotella intermedia의 LPS로 자극시킨 치수 섬유아세포배양에서 IL-8 mRNA 발현을 관찰하였다. 이들은 IL-8 mRNA 발현에 필요한 P. intermedia의 LPS 농도는 0.1 μ g/ml로서 충분함을 알았으며 치수 섬유아세포가 면역반응 세포임을 제외하였다. Shibata 등⁶⁹⁾은 Mycoplasma salivarium의 분획들을 사람 치은 섬유아세포주인 Gin-1 세포주에 작용시켜 IL-6와 IL-8의 mRNA 발현여부를 RT-PCR(reverse transcription-polymerase chain reaction)방법으로 확인하였다. 그 결과 M. salivarium 뿐만 아니라 다른 Mycoplasma 종들(M. hominis, M. arthritis, M. arginini, M. fermentans, M. penetrans, M. pirum, M. pneumoniae)도 IL-6와 IL-8의 유도능을 가지고 있음을 발견하였다.

본 실험에서는 초대배양한 사람의 치은 및 피부 섬유아세포에 자극물로서 이용되는 세균독소인 lipopolysaccharide (LPS), Staphylococcus enterotoxin B (SEB)를 단독으로 작용시키거나 LPS와 SEB를 중복으로 작용시켰을 때 세포에서의 IL-6과 IL-8 생성 여부와 양적 변화를 결정하기 위하여 배양시간에 따른 세포 배양 상층액을 수거하여 정량하였다.

IL-6의 생성은 자극물 없이 세포만의 배양에서 상당량 생성됨으로써 섬유아세포가 아닌 다른 종류의 세포들에서도 IL-6의 생성이 확인된 타 연구자의 성적과 일치하였다⁷⁰⁾. 그러나 LPS 및 SEB를 노출시켰을 때 세포만의 배양 때보다 각각의 시간대에서 변화를 보임으로써 타 연구자들에 의해서 밝혀진^{3,7,10,25)}, 다른 세포배양에서 보여지는 증가와 유사성을 보였다. 치은 섬유아세포에서의 LPS 단독처리에 의한 IL-6 생성효과는 SEB 단독처리에 비하여 월등한 효과를 나타냄으로써 치은 염증발현에 LPS의 깊은 관련성을 유

추하게 한다. 또한 LPS와 SEB의 중복노출의 경우에는 자극물들의 단독노출에 비하여 IL-6 생성이 촉진됨으로서 증폭되는 양상을 보이고 있다. 따라서 중복감염에 의해서 염증의 진행은 더욱 커질 것으로 예상된다. 진피 섬유아세포에서의 LPS 단독처리에 의한 IL-6 생성효과는 LPS 1.0 μ g의 미만의 농도에서는 미미한 증가현상을 보였지만 1.0 μ g의 농도에서는 역시 큰 증가를 보였다. 따라서 치은 섬유아세포는 진피 섬유아세포에 비하여 낮은 농도의 LPS에 대하여도 반응을 보이고 있다. SEB 단독처리에 의해서는 전반적으로 IL-6 생성이 대조군에 비하여 억제되는 현상을 나타냄으로써 치은 섬유아세포와는 또 다른 특성을 보였다. 이는 염증발현에 치은 섬유아세포가 염증 관련성 자극물에 훨씬 민감함을 보임으로써 감염을 통한 미생물 유래 물질들에 의한 IL-6 생성 반응도는 상대적으로 높을 것으로 사료된다. 또한 LPS와 SEB의 중복노출의 경우에는 치은 섬유아세포와 마찬가지로 자극물들의 단독노출에 비하여 IL-6 생성이 촉진되어 증폭됨으로써 중복감염에 의해서 염증의 진행이 더욱 커질 것으로 예상된다.

치은 섬유아세포에서의 IL-8의 생성은 LPS 1.0 μ g 미만의 농도에 의한 자극에 의해서는 IL-8 생성의 변화가 미미한 반면 1.0 μ g의 자극에 의해서는 크게 증가하였다. 이는 LPS의 양이 일정 수준이 되었을 때 비로소 치은 섬유아세포로부터 IL-8 생성이 활발하게 되어 모여드는 호중구의 수도 많이 증가될 것으로 보인다. 그러나 SEB에 의한 자극에 있어서는 낮은 농도와 높은 농도 모두에서 배양 초기에서만 증가를 보였다. 이는 SEB의 경우 낮은 농도라 할 지라도 초기에 호중구의 화학주성 효과의 증가를 보일 것으로 생각된다. LPS와 SEB의 중복 노출은 IL-6 생성 때와 마찬가지로 IL-8 생성이 크게 증가됨으로서 중복 감염에 의한 염증 반응시 호중구의 유주현상이 크게 높아질 것으로 생각된다. 진피 섬유아세포에서의 IL-8 생성은 LPS 자극에 의해서 전반적으로 감소현상을 나타냄으로써 섬유아세포의 종류에 따른 차이를 보여주고 있다. 진피 섬유아세포에 SEB를 작용시켰을 때는 배양 중기에서만 IL-8의 생성이 대조군에 비하여 증가하는 양상을 보임으로써 자극물의 종류에 따라 생성 양식의 차이를 나타냄을 알 수 있다.

LPS와 SEB의 중복 노출시에도 배양 중기에서만 큰 증가를 보임으로써 SEB만의 자극 때와 유사한 양식을 보였다.

치은 섬유아세포에서의 IL-6와 IL-8 생성을 비교하면 LPS(0.1 μ g) 자극에 의해서 IL-6는 증가함에 비하여 IL-8은 감소를 보인다. SEB(0.1 μ g) 자극의 경우에는 배양 초기에서만 IL-6, IL-8 모두 증가를 보이고 있다. 그러나 LPS와 SEB를 함께 노출시킨 경우에는 IL-6, IL-8 모두 전 시간대에서 상승작용을 보이고 있다. 따라서 이는 자극물의 종류 및 자극물의 복합작용에 따라 생성되는 사이토카인의 양적 변화를 나타낸 결과라 하겠다. 진피 섬유아세포에서의

IL-6와 IL-8의 생성 양상은 또 다른 특징을 보인다. 즉 LPS(0.1 μ g) 자극에 의하여 24, 48시간대에 IL-6의 증가를 보인 반면 IL-8은 전 시간대에서 감소를 나타냈으며 SEB(0.1 μ g) 자극에 의해서는 IL-6, IL-8 모두 전 시간대에서 감소를 보였다. LPS와 SEB의 중복 노출에서는 IL-6 생성은 24, 48시간대에서, IL-8은 48시간대에서 만 증가를 보이고 있다. 이도 또한 자극물의 차이가 사이토카인 생성의 양적 변화를 가져온 결과로 볼 수 있다.

IL-6 생성에 있어서 섬유아세포의 종류에 따른 차이를 비교하면 LPS(0.1 μ g) 자극에 의하여 치은, 진피 섬유아세포 모두 증가를 보인 반면 SEB(0.1 μ g) 자극에 의해서는 치은 섬유아세포에서 초기 배양에서만 증가를 보이고 있을 뿐만 아니라 진피 섬유아세포에서는 전 시간대에서 감소를 나타냈다. 그러나 LPS와 SEB의 중복 노출에서 치은 섬유아세포는 전 시간대에서 증가를 보였으나 진피 섬유아세포에서는 초기 배양에서 증가를 보이나 그 나머지 시간대에서는 감소를 나타냈다. 이는 같은 자극물이라 할지라도 섬유아세포의 종류에 따른 IL-6 생성량의 차이를 나타낸 것으로서 치은 섬유아세포가 진피 섬유아세포보다 이들 자극물의 복합작용에 의한 IL-6 생성을 활발하게 나타낸 결과로 해석된다. 따라서 중복 감염에서의 치은 섬유아세포는 IL-6 관련 염증반응에 더 깊게 관여하게 될 것이라고 사료된다.

IL-8 생성에 있어서 섬유아세포의 종류에 따른 차이를 비교하면 LPS(0.1 μ g)나 SEB(0.1 μ g) 자극에 의하여 진피, 치은 섬유아세포 모두 감소를 보였다. 그러나 LPS와 SEB의 중복 노출에서 치은 섬유아세포는 전 시간대에서 증가를 보였으나 진피 섬유아세포에서는 48시간대 배양에서 증가를 보였다. 이도 또한 같은 자극물이라 할지라도 섬유아세포의 종류에 따른 IL-8 생성량의 차이를 나타낸 것으로 보이며 치은 섬유아세포가 진피 섬유아세포보다 이들 자극물의 복합작용에 의한 IL-8 생성을 활발하게 나타낸 결과로 해석된다. 따라서 중복 감염에서의 치은 섬유아세포는 IL-8 관련 염증반응 또한 더 깊게 관여하게 될 것이라고 사료된다.

V. 결 론

초대 배양한 사람의 치은 및 안면부 진피 섬유아세포에 lipopolysaccharide (LPS), *Staphylococcus enterotoxin B*(SEB)를 단독으로 작용시키거나 이 두가지 독소를 중복으로 작용시켰을 때 세포에서 생성되어 유출되는 염증관련 사이토카인인 IL-6과 IL-8의 양의 차이를 밝히기 위하여 배양시간에 따라 세포배양 상층 액을 정량한 바 다음과 같았다.

1. 치은 섬유아세포에서의 LPS 단독처리에 의한 IL-6 생성 효과는 SEB 단독처리에 비하여 그 효과가 크게 나타남

으로써 치은 염증발현에 LPS가 더 효과적임을 알 수 있었다. 또한 LPS와 SEB의 중복노출의 경우에는 자극물들의 단독노출에 비하여 IL-6 생성이 촉진됨으로서 증폭되었다.

2. 진피 섬유아세포에서의 LPS 단독처리에 의한 IL-6 생성 효과는 치은 섬유아세포가 낮은 농도의 LPS에 대하여도 반응을 보여 상당한 증가를 보인데 비하여 고농도의 LPS(1.0 μ g/ml)에서만 증가를 보였다. SEB 단독처리에 의해서는 IL-6 생성이 대조군에 비하여 억제되는 현상을 나타냄으로써 치은 섬유아세포와는 다른 특색을 보였다. 이는 치은 섬유아세포가 LPS에 대하여 높은 민감도를 보임으로서 그램 음성균 감염을 통한 IL-6 생성 반응도는 상대적으로 높을 것이다. 그러나 LPS와 SEB의 중복 노출의 경우에는 치은 섬유아세포와 마찬가지로 자극물들의 단독노출에 비하여 IL-6 생성이 증폭되었다.

3. 치은 섬유아세포에서의 IL-8의 생성은 고농도의 LPS(1.0 μ g) 자극에 의해서만 크게 증가하였다. 그러나 SEB에 의한 자극에 있어서는 배양 초기에서만 증가를 보였다. LPS와 SEB의 중복 노출은 IL-6 생성 때와 마찬가지로 IL-8 생성이 크게 증가되었다. 그러나 진피 섬유아세포에서의 IL-8 생성은 LPS 자극에 의해서 감소현상을 나타냈고 SEB를 작용시켰을 때는 배양 중기에서만 IL-8의 생성이 대조군에 비하여 증가함으로써 자극물의 종류에 따라 생성 양식의 차이를 나타냈다. LPS와 SEB의 중복 노출시에도 배양 중기에서만 큰 증가를 보임으로써 SEB만의 자극 때와 유사한 양식을 보였다.

따라서, 치은 및 진피 섬유아세포에서의 IL-6와 IL-8 생성은 자극물의 종류 및 자극물의 복합작용에 따라 양적 변화를 나타내고 있으며, 같은 자극물에 노출된다 할지라도 섬유아세포의 종류에 따라 생성량의 차이를 나타냈다. 전반적으로 치은 섬유아세포는 진피 섬유아세포보다 이들 자극물의 작용에 의한 IL-6, IL-8 생성을 더욱 활발하게 진행시킴으로써 IL-6, IL-8 관련 염증반응에 더 깊게 관여할 것으로 보인다.

참 고 문 헌

1. Dutton RW, Falkoff R, Hirst JA, Hoffman M, Kappler JW, Kettman JR, Lesley JF, Vann D: Is there evidence for a nonantigen specific diffusible chemical mediator from the thymus cell in the initiation of the immune response? *Prog Immunol* 1:355, 1971.
2. Kishimoto T, Ishizaka K: Regulation of antibody responses in vitro. VII. Enhancing soluble factors for IgG and IgE antibody response. *J Immunol* 111:1194, 1973.
3. Schimpl A, Wecker E: Replacement of T-cell function by a T-cell product. *Nature* 237:15, 1972.
4. Yoshizaki K, Nakagawa T, Kaieda T, Muraguchi A, Yamamura Y, Kishimoto T: Induction of proliferation and Ig production in human B leukemic cells by anti-

- immunoglobulins and T-cell factors. *J Immunol* 128:1296, 1982.
5. Howard M, Farrar J, Hilfiker M, Johnson B, Takatsu K, Hamaoka T, Paul WE: Identification of a T cell-derived B cell growth factor distinct from interleukin 2. *J Exp Med* 155:914, 1982.
 6. Okada M, Sakaguchi T, Yoshimura N, Hara H, Shimizu K, Yoshida N, Yoshizaki K, Kishimoto S, Yamamura Y, Kishimoto T: B-cell growth factor (BCGF) and B-cell differentiation factor from human T hybridomas: Two distinct kinds of BCGFs and their synergism in B cell proliferation. *J Exp Med* 157:583, 1983.
 7. Noma Y, Sideras T, Naito T, Bergstedt-Lindqvist A, Azuma C, Severinson E, Tanabe T, Matsuda F, Yaoita Y, Honjo T: Cloning of cDNA encoding the murine IgG1 induction factor by a novel strategy using SP6 promoter. *Nature* 319:640, 1986.
 8. Lee F, Yokota T, Otsuka T, Meyerson P, Villaret D, Coffman R, Mosmann T, Rennick D, Roeham N, Smith C, Zlotnick A, Arai K: Isolation and characterization of a mouse interleukin cDNA clone that expresses B-cell stimulatory factor 1 activities and T-cell and mast-cell-stimulating activities. *Proc Natl Acad Sci USA* 83:2061, 1986.
 9. Kinashi T, Harada N, Severinson E, Tanabe R, Sideras P, Konishi M, Azuma C, Tominaga A, Bergstedt-Lindqvist S, Takahashi M, Matsuda F, Yaoita Y, Takatsu K, Honjo T: Cloning of complementary DNA encoding T-cell replacing factor and identity with B-cell growth factor II. *Nature* 324:70, 1986.
 10. Hirano T, Yasukawa K, Harada H, Taga T, Watanabe Y, Matsuda T, Kashiwamura S, Nakajima K, Koyama K, Iwamatsu A, Tsunasawa S, Sakiyama F, Matsui H, Takahara Y, Taniguchi T, Kishimoto T: Complementary DNA for a novel human interleukin (BSF-2) that induces B lymphocytes to produce immunoglobulin. *Nature* 324:73, 1986.
 11. Muraguchi A, Kishimoto T, Miki Y, Kuritani T, Kaieda T, Yoshizaki K, Yamamura Y: T cell-replacing factor (TRF)-induced IgG secretion in human B blastoid cell line and demonstration of acceptors for TRF. *J Immunol* 127:412, 1981.
 12. Kishimoto T: The Biology of Interleukin-6. *Blood* 74:1, 1988.
 13. Lacasse C, Turcotte S, Gingras D, Stankova J, Rola-Pleszczynski M: Platelet-activating factor stimulates interleukin-6 production by human endothelial cells and synergizes with tumor necrosis factor for enhanced production of granulocyte-macrophage colony stimulating factor. *Inflammation* 21:145, 1997.
 14. Jotwani R, Tanaka Y, Watanabe K, Tanaka-Bandoh K, Kato N: Comparison of cytokine induction by lipopolysaccharide of *Bacteroides fragilis* with *Salmonella typhimurium* in mice. *Microbiol Immunol* 38:763, 1994.
 15. Ghanekar S, Zheng L, Logar A, Navratil J, Borowski L, Gupta P, Rinaldo C: Cytokine expression by human peripheral blood dendritic cells stimulated in vitro with HIV-1 and Herpes simplex virus. *J Immunol* 157:4028, 1996.
 16. Salas MA, Brown OA, Perone MJ, Castro MG, Goya RG: Effect of the corticotrophin releasing hormone precursor on interleukin-6 release by human mononuclear cells. *Clin Immunol Immunopathol* 85:35, 1997.
 17. von Hunolstein C, Totolian A, Alfaroni G, Mancuso G, Cusumano V, Teti G, Orefici G: Soluble antigens from Group B Streptococci induce cytokine production in human blood cultures. *Infect Immun*. 65:4017, 1997.
 18. Gollnick SO, Liu X, Owczarczak B, Musser DA, Henderson BW: Altered expression of interleukin 6 and interleukin 10 as a result of photodynamic therapy in vivo. *Cancer Res* 57:3904, 1997.
 19. Muhlradt P, Schade U: MDHM, a macrophage-stimulatory product of *Mycoplasma fermentans*, leads to in vitro interleukin-1(IL-1), IL-6, tumor necrosis factor, and prostaglandin production and is pyrogenic in rabbits. *Infect Immun* 59:3969, 1991.
 20. Powell JL, Wright AC, Wasserman SS, Hone DM, Morris JG: Release of tumor necrosis factor alpha in response to *Vibrio vulnificus* capsular polysaccharide in in vivo and in vitro models. *Infect Immun* 65:3713, 1997.
 21. Fuseler JW, Conner EM, Davis JM, Wolf RE, Grisham MB: Cytokine and nitric oxide production in the acute phase of bacterial cell wall-induced arthritis. *Inflammation* 21:113, 1997.
 22. Erroi A, Fantuzzi G, Mengozzi M, Sironi M, Orencole SF, Clark BD, Dinarello CA, Isetta A, Gnocchi P, Giovarelli M, Ghezzi P: Differential regulation of cytokine production in lipopolysaccharide tolerance in mice. *Infect Immun* 61:4356, 1993.
 23. Mattei S, Colombo MP, Melani C, Silvani A, Parmiani G, Herlyn M: Expression of cytokine/growth factors and their receptors in human melanoma and melanocytes. *Int J Cancer* 56:853, 1994.
 24. Mori N, Shirakawa F, Murakami S, Oda S, Eto S: Inhibitory effect of interleukin-4 on production of interleukin-6 by adult T-cell leukemia cells. *Cancer Res* 53:4643, 1993.
 25. Ogle CK, Guo X, Szczur K, Hartmann S, Ogle JD: Production of tumor necrosis factor, interleukin-6 and prostaglandin E2 by LPS-stimulated rat bone marrow macrophages after thermal injury: effect of indomethacin. *Inflammation* 18:175, 1994.
 26. Scambia G, Testa U, Panici PB, Martucci R, Foti E, Petrini M, Amoroso M, Masciullo V, Peschle C, Mancuso S: Interleukin-6 serum levels in patients with gynecological tumors. *Int J Cancer* 57:318, 1994.
 27. Strassman G, Fong M, Kenny JS, Jacob CO: Evidence for the involvement of interleukin-6 in experimental cancer cachexia. *J Clin Invest* 89:1681, 1992.
 28. Zhang XG, Klein B, Bataille R: Interleukin-6 is a potent myeloma-cell growth factor in patients with aggressive multiple myeloma. *Blood* 74:11, 1989.
 29. Ito R, Yasui W, Kuniyasu H, Yokoyaki H, Tahara E: Expression of interleukin-6 and its effect on the cell growth of Gastric carcinoma cell lines. *Jpn J Cancer Res* 88:953, 1997.
 30. Edmiston KH, Gangopadhyay A, Shoji Y, Nachman AP, Thomas P, Jessup JM: In vivo induction of murine cytokine production by carcinoembryonic antigen. *Cancer Res* 57:4432, 1997.
 31. Black K, Garrett IR, Mundy GR: Chinese hamster ovarian cells transfected with the murine interleukin-6 gene cause hypercalcemia as well as cachexia, leukocytosis and thrombocytosis in tumor-bearing nude mice. *Endocrinology* 128:2657, 1991.
 32. Foreback JL, Remick DG, Crockett-Torabi E, Ward PA: Cytokine responses of human blood monocytes stimulated with Igs. *Inflammation* 21:501, 1997.
 33. Basolo F, Conaldi PG, Fiore L, Calvo S, Toniolo A: Normal breast epithelial cells produce interleukin 6 and 8 together with tumor necrosis factor : Defective IL6 expression in

- mammary carcinoma. *Int J Cancer* 55:926, 1993.
34. Standiford TJ, Arenberg DA, Danforth JM, Kunkel SL, VanOtteren GM, Strieter RM: Lipoteichoic acid induces secretion of interleukin-8 from human blood monocytes : a cellular and molecular analysis. *Infect Immun* 62:119, 1994.
 35. Kammouni W, Figarella C, Marchand S, Merten M: Altered cytokine production by cystic fibrosis tracheal gland serous cells. *Infect Immun* 65:5176, 1997.
 36. Kusner DJ, Luebbers EL, Nowinski RJ, Konieczkowski M, King CH, Sedor JR: Cytokine- and LPS-induced synthesis of interleukin-8 from human mesangial cells. *Kidney Intl* 39:1240, 1991.
 37. Stanciu LA, Shute J, Holgate ST, Djukanovic R: Production of IL-8 and IL-4 by positively and negatively selected CD4+ and CD8+ human T cells following a four-step cell separation method including magnetic cell sorting(MACS). *J Immunol Methods* 189:107, 1996.
 38. Noah TL, Henderson FW, Wortman IA, Devlin RB, Handy J, Koren HS, Becker S: Nasal cytokine production in viral acute upper respiratory infection of childhood. *J Infect Dis* 171:584, 1995.
 39. Aihara M, Tsuchimoto D, Takizawa H, Azuma A, Wakebe H, Ohmoto Y, Imagawa K, Kikuchi M, Mukaida N, Matsushima K: Mechanisms involved in Helicobacter pylori-induced interleukin-8 production by a gastric cancer cell line, MKN45. *Infect Immun* 65:3218, 1997.
 40. Bansal AS, Hogan PG, Prichard P, Powell EE: Serum soluble CD23 but not IL8, IL10, GM-CSF, or IFN- γ is elevated in patients with hepatitis C infection. *Clin Immunol Immunopathol* 84:139, 1997.
 41. Seitz M, Dewald B, Gerber N, Baggolini M: Enhanced production of neutrophil-activating peptide-1/interleukin 8 in rheumatoid arthritis. *J Clin Invest* 87:463, 1991.
 42. Peichl P, Ceska M, Broell H, Effenberger F, Lindley IJD: NAP-1/IL-8 acts as an autoantigen in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 51:19, 1992.
 43. Mahida Y, Ceska M, Effenberger F, Kurlak L, Lindley I, Hawkey CJ: Enhanced synthesis of neutrophil activating peptide 1/IL-8 in active ulcerative colitis. *Clin Sci* 82:273, 1992.
 44. Raab Y, Gerdin B, Ahlstedt S, Hallgren R: Neutrophil mucosal involvement is accompanied by enhanced local production of interleukin-8 in ulcerative colitis. *Gut* 34:1203, 1993.
 45. Rot A: Some aspects of NAP-1 pathophysiology : lung damage caused by a blood-borne cytokine. *Adv Exp Med Biol* 305:127, 1991.
 46. Shute JK, Vrugt B, Lindley IJD, Holgate ST, Bron A, Aalbers R, Djukanovic R: Free and complexed interleukin-8 in blood and bronchial mucosa in asthma. *Am J Resp Crit Care Med* 155:1877, 1997.
 47. Jorens PG, Van Damme J, De Backer W, Bossaert L, De Jongh RF, Herman AG, Rampart M: Interleukin-8 in the bronchoalveolar lavage fluid from patients with the adult respiratory distress syndrome(ARDS) and patients at risk for ARDS. *Cytokine* 4:592, 1992.
 48. Little S, Dean T, Bevin S, Hall M, Ashton M, Church M, Warner J, Shute J: Role of elevated plasma soluble ICAM-1 and bronchial lavage fluid IL-8 levels as markers of chronic lung disease in premature infants. *Thorax* 50:1073, 1995.
 49. Sekido N, Mukaida N, Harada A, Nakanishi I, Yatanabe Y, Matsushima K: Prevention of lung reperfusion injury in rabbits by a monoclonal antibody against IL-8. *Nature* 365:654, 1993.
 50. Crabtree JE, Wyatt JI, Trejdosiewicz LK, Peichl P, Nichols PH, Ramsay N, Primrose JN, Lindley IJD: Interleukin-8 expression in Helicobacter pylori infected, normal and neoplastic gastroduodenal mucosa. *J Clin Pathol* 47:61, 1994.
 51. Crabtree JE, Lindley IJD: Mucosal interleukin-8 and Helicobacter pylori-associated gastroduodenal disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 6:533, 1994.
 52. Gillitzer R, Berger R, Mielke V, Muller C, Wolff K, Stingl G: Upper Keratinocytes of psoriatic skin lesions express high levels of NAP-1/IL-8 mRNA in situ. *J Invest Dermatol* 97:73, 1991.
 53. Nickoloff BJ, Karabin GD, Barker JN, Griffiths CE, Sarma V, Mitra RS, Elder JT, Kunkel SL, Dixit VM: Cellular localization of interleukin-8 and its inducer, tumor necrosis factor- α in psoriasis. *Am J Pathol* 138:129, 1991.
 54. Bruch-Gerharz D, Fehsel K, Suschek C, Michel G, Ruzicka T, Kolb-Bachofen V: A proinflammatory activity of interleukin-8 in human skin: Expression of the inducible nitric oxide synthase in psoriatic lesions and cultured keratinocytes. *J Exp Med* 184:2007, 1996.
 55. Kulke R, Todt-Pingel I, Rademacher D, Rowert J, Schroder JM, Christophers E: Colocalized expression of gro- α and IL-8 mRNA is restricted to the suprapapillary layers of psoriatic lesions. *J Invest Dermatol* 106:526, 1996.
 56. Antilla HSI, Reitano S, Erkkö P, Ceska M, Moser B, Baggolini M: Interleukin-8 immunoreactivity in the skin of healthy subjects and patients with palmoplantar pustulosis and psoriasis. *J Invest Dermatol* 98:96, 1992.
 57. Griffiths CEM, Barker JNWN, Kunkel S, Nickoloff BJ: Modulation of leukocyte adhesion molecules, a T-cell chemotoxin(IL-8) and a regulatory cytokine(TNF- α) in allergic contact dermatitis(rhus dermatitis). *Br J Dermatol* 124:519, 1991.
 58. Kamagata Y, Miyasaka N, Inoue H, Hashimoto J, Iida M: Cytokine production in inflamed human gingival tissues—interleukin-6. *Nippon Shishubyo Gakkai Kaishi* 31:1081, 1989.
 59. Takada H, Mihara J, Morisaki I, Hamada S: Induction of interleukin-1 and -6 in human gingival fibroblast cultures stimulated with Bacteroides lipopolysacchrides. *Infect Immun* 59:295, 1991.
 60. Bartold PM, Haynes DR: Interleukin-6 production by human gingival fibroblasts. *J Periodontal Res* 26:339, 1991.
 61. Takada H, Kawabata Y, Tamura M, Matsushita K, Igarashi H, Ohkuni H, Todome Y, Uchiyama T, Kotani S: Cytokine induction by extracellular products of oral viridans group streptococci. *Infect Immun* 61:5252, 1993.
 62. Takahashi K, Takashiba S, Nagai A, Takigawa M, Myoukai F, Kurihara H, Murayama Y: Assessment of interleukin-6 in the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodontol* 65:147, 1994.
 63. Reddi K, Poole S, Nair S, Meghji S, Henderson B, Wilson M: Lipid A-associated proteins from periodontopathogenic bacteria induce interleukin-6 production by human gingival fibroblasts and monocytes. *FEMS Immunol Med Microbiol* 11:137, 1995.
 64. Ogura N, Matsuda U, Tanaka F, Shibata Y, Takiguchi H, Abiko Y: In vitro senescences IL-6 production in human gingival fibroblasts induced by lipopolysaccharide from Campylobacter rectus. *Mech Ageing Dev* 87:47, 1996.
 65. Tamura M, Tokuda M, Nagaoka S, Takada H:

- Lipopolysaccharides of *Bacteroides intermedius* (*Prevotella intermedia*) and *Bacteroides* (*Porphyromonas*) *gingivalis* induce interleukin-8 gene expression in human gingival fibroblast cultures. *Infect Immun* 60:4932, 1992.
66. Takashiba S, Takigawa M, Takahashi K, Myokai F, Nishimura F, Chihara T, Kurihara H, Nomura Y, Murayama Y: Interleukin-8 is a major neutrophil chemotactic factor derived from cultured human gingival fibroblasts stimulated with interleukin-1 beta or tumor necrosis factor alpha. *Infect Immun* 60:5253, 1992.
67. Otake H, Koizumi F, Hatakeyama S, Furuta I, Nakagawa H: Production of cytokines belonging to the interleukin-8 family by human gingival fibroblasts stimulated with interleukin-1 beta in culture. *Exp Mol Pathol* 58:14, 1993.
68. Nagaoka S, Tokuda M, Sakuta T, Taketoshi Y, Tamura M, Takada H, Kawagoe M: Interleukin-8 gene expression by human dental pulp fibroblast in cultures stimulated with *Prevotella intermedia* lipopolysaccharide. *J Endod* 22:9, 1996.
69. Shibata K, Hasebe A, Sasaki T, Watanabe T: *Mycoplasma salivarium* induces interleukin-6 and interleukin-8 in human gingival fibroblasts. *FEMS Immunol Med Microbiol* 19:275, 1997.
70. Starnes HF, Pearce MK, Tewari A, Yim JH, Zou J, Abrams JS: Anti-IL-6 monoclonal antibodies protect against lethal *Escherichia coli* infection and lethal tumor necrosis factor- α challenge in mice. *J Immunol* 145:4185, 1990.

저자연락처

우편번호 602-739
부산광역시 서구 아미동 1가 10
부산대학교 치과대학 구강안면외과
홍시영

원고 접수일 1999년 9월 16일
게재 확정일 1999년 10월 16일

Reprint requests

Si-Young Hong
Dept. of OMFS, College of Dentistry, Pusan National Univ.
#10, 1-Ga, Ami-Dong, Sö-Gu, Pusan, 602-739, Korea
Tel. (051) 240-7429 Fax. (051) 245-8334

Paper received 16 September 1999
Paper accepted 16 October 1999