

## Expression of Various Pattern Recognition Receptors in Gingival Epithelial Cells

Ji Eun Shin, Suk Ji, and Youngnim Choi\*

Program of Oromaxillofacial Infection & Immunity, School of Dentistry and Dental Research Institute, Seoul National University, Seoul, Korea

(Received May 26, 2008 ; Revised June 9, 2008 ; Accepted June 12, 2008)

Innate immune response is initiated by the recognition of unique microbial molecular patterns through pattern recognition receptors (PRRs). The purpose of this study is to dissect the expression of various PRRs in gingival epithelial cells of differentiated versus undifferentiated states. Differentiation of immortalized human gingival epithelial HOK-16B cells was induced by culture in the presence of high  $Ca^{2+}$  at increased cell density. The expression levels of various PRRs in HOK-16B cells were examined by real-time reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) and flow cytometry. In addition, the expression of human beta defensins (HBDs) was examined by real time RT-PCR and the amounts of secreted cytokines were measured by enzyme linked immunosorbent assay. In undifferentiated HOK-16B cells, NALP2-containing protein (NALP) 2 was expressed most abundantly, and toll like receptor (TLR) 2, TLR4, nucleotide-binding oligomerization domain (NOD) 1, and NOD2 were expressed in substantial levels. However, TLR3, TLR7, TLR8, TLR9, ICE protease-activating factor (IPAF), and NALP6 were hardly expressed. In differentiated cells, the levels of NOD2, NALP2, and TLR4 were different from those in undifferentiated cells at RNA but not at protein levels. Interestingly, differentiated cells expressed the increased levels of HBD-1 and -3 but secreted reduced amount of IL-8. In conclusion, the repertoire of PRRs expressed by gingival epithelial cells is limited, and undifferentiated and differentiated cells express similar levels of PRRs.

**Key words:** gingival epithelial cells, differentiation, innate immune response, pattern recognition receptor

### 서 론

치은상피는 치은 하방 조직을 덮어 보호하고 항상성을 유지하며 물리적인 손상, 세균 감염 등에 대해 물리적 장벽을 제공한다(Dale, 2002). 또한, 상피세포가 생산하는 항균펩타이드(antimicrobial peptide)나 항균단백질(antimicrobial protein)은 감염에 대한 화학적 장벽을 제공한다(Ganz, 2003). 세균과 지속적으로 접촉하고 있는 상피 세포는 호중구의 화학주성을 유도하는 interleukin-8 (IL-8)과 같은 케모카인(chemokine)과 사이토카인(cytokine)을 생성함으로써 이들에 대한 면역반응을 시작한다(Dale, 2002).

선천면역반응은 세균, 바이러스, 진균류 같은 다양한 미생물들이 공통적으로 갖고 있는 병원성분자패턴(pathogen associated molecular pattern)을 다양한 패턴인식수용체(pattern recognition receptors)들이 인지함으로써 시작되는 일련의 반응으로 숙주의 첫 번째 방어 전선을 담당한다(Medzhitov and Janeway, 1997; Janeway and Medzhitov, 2002). 가장 대표적인 패턴인식수용체로 toll like receptors (TLRs)가 먼저 밝혀졌고(Qureshi and Medzhitov, 2003) 최근 들어서 세포 내 인식 장치로서 nucleotide-binding oligomerization domain (NOD)-like receptors들의 중요성들이 많이 보고되고 있다(Werts *et al.*, 2006; Carneiro *et al.*, 2006). 현재까지 사람에게서 10개의 TLR이 보고되었는데(Uehara *et al.*, 2007), 이중 TLR1, 2, 4, 5, 6는 세포 밖 표면에 존재하는 반면 TLR3, 7, 8, 9는 소포에 존재한다(Qureshi and Medzhitov, 2003). TLR이 규명된 직후 세포 내 세균이나 바이러스를 TLR 비의존적 방법

\*Corresponding author: Youngnim Choi, D.D.S., Ph.D., Department of Oromaxillofacial Infection & Immunity, School of Dentistry and Dental Research Institute, Seoul National University, 28 Yungundong, Jongro-gu, Seoul 110-749, Korea. Tel.: 82-2-740-8643; Fax.: 82-2-743-0311; E-mail: youngnim@snu.ac.kr

으로 인지할 수 있는 NODs가 발견되었으며 현재는 NOD-1과 NOD-2를 포함한 다양한 종류의 유사 단백질들이 밝혀진바 있지만(Masumoto *et al.*, 2005) 아직까지는 그들 기전의 전부가 이해되지 못하고 있다. 정상적인 치은상피 세포에서는 TLR2뿐 아니라 TLR4도 발현 하고 있으며 NOD-1과 NOD-2의 경우 강하게 발현하는 것이 보고되어 있고(Suqawara *et al.*, 2006) 구강상피세포에서는 TLR2, TLR3, TLR4, TLR7, NOD1, NOD2가 발현된다고 보고 되었다(Suqawara *et al.*, 2006).

치은상피는 구강상피(oral epithelium), 구강열구상피(oral sulcular epithelium), 접합상피(junctional epithelium) 세 부분으로 나눌 수 있는데, 구강상피는 각화중층편평상피로 구성되어 있는 반면 구강열구상피와 접합상피는 비각화중층편평상피로 구성되어 있다(Presland and Dale, 2000; 민병무 *et al.*, 2007). 각화중층편평상피는 기저막과 인접한 기저층(stratum basale)의 각화세포(keratinocyte)가 분화함에 따라 유극세포층(stratum spinosum), 과립층(stratum granulosum) 및 각화층(stratum corneum)을 구성한다. 기저층의 표지인자(marker molecule)는 keratin 5, 14이며, 유극세포층의 표지인자는 keratin 1, 10이며 과립층의 표지인자는 involucrin, loricrin, filaggrin 및 transglutaminase이며, 각화층의 표지인자는 cornified cell envelope 이다(Masumoto *et al.*, 2005). 한편, 비각화중층편평상피는 기저층(stratum basale), 중층(stratum intermediate), 표층(stratum superficial)으로만 구성된다. 기저층의 표지인자는 keratin 5, 14, 19이며 중층과 표층의 경우 K4, K13이다(Presland and Dale, 2000). HBD-1과 HBD-2는 상부 조직에서 강하게 발현 되는데 특히 치은 하부의 치태와 계속적으로 접촉하고 있는 부분인 치은 가장자리에 강하게 발현되는 것을 관찰할 수 있었다(Dale, 2002).

우리 연구실을 포함한 많은 연구실에서 구강세균에 대한 치은상피세포의 선천면역반응이 활발히 연구되고 있다. 배양접시 내 연구에선 보통 분화되지 않은 기저층 상태의 치은상피세포가 이용되는데 반해, 구강 내 생태 환경에선 분화된 각화층 또는 표층 상피세포가 직접적으로 세균과 접하고 있다. 따라서 분화되지 않은 치은상피세포가 분화된 치은상피세포와 동일한 면역학적 특성을 보이는지 의문이 제기되었고, 본 연구에서는 분화되지 않은 상태와 분화된 치은상피세포에서 선천면역반응을 매개하는 패턴인식수용체의 발현을 비교 분석하였다.

## 실험 재료 및 방법

### 세포배양 및 세균배양

박노희(University of California Los Angeles, USA)교수로 부터 얻은 불멸화된 치은상피세포, HOK-16B는 (Park *et al.*, 1991) GA-1000 (Gentamicin과 Amphotericin B)

과 0.15 mM CaCl<sub>2</sub>, 그리고 성장 인자를 포함하는 상피세포배양액 (Keratinocyte Growth medium, Clonetics, San Diego, CA)으로 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 조건에서 세포를 유지하였다.

### 치은상피세포의 칼슘에 의한 분화유도

분화되지 않은 상태의 치은상피세포는 HOK-16B 세포를  $6 \times 10^4$  cells/well로 24-well 배양접시에 분주해 상피세포배양액(0.15 mM CaCl<sub>2</sub>포함)에서 총 45시간 배양해 사용했으며 분화된 치은상피세포는  $12 \times 10^4$  cells/well로 HOK-16B 세포를 24-well 배양접시에 분주해 1.2 mM의 CaCl<sub>2</sub>을 첨가한 상피세포배양액에서 21시간 동안 배양한 후 일반 상피세포배양액에 24시간 추가 배양해 분화를 유도했다.

### 실시간 역전사 중합효소연쇄사슬반응(real-time reverse-transcription polymerase chain reaction)

세포에서 Trizol® Reagent (Invitrogen Ltd., Paisely, UK)를 사용하여 RNA를 추출 하였다. 역전사 반응에 의한 cDNA를 합성하기 위하여 총 1 µg의 RNA를 oligo dT primer (Bioneer, Seoul, Korea) 1 µg과 역전사효소를 첨가하여 최종 25 µl의 반응액에서 42°C에서 1시간 조건으로 반응시켰다. 실시간 중합효소연쇄사슬반응은 20 µl 반응액에서 수행 하였으며, 반응액은 1 µl의 cDNA와 SYBR premix EX Taq, ROX reference Dye (Takara Bio, Otsu, Japan)와 각 primer (0.2 µM)를 포함하였다. Oligonucleotide primers는 오염된 gDNA의 증폭을 방지하기 위하여 적어도 두 개의 엑손(exon)에 걸쳐 증폭하도록 디자인되었다. 사용된 primer sequence는 Table 1과 같다. 증폭은 94°C에서 1분 동안 초기 변성(denaturation)을 시켜준 다음 95°C에서 15초 동안의 변성, 60°C에서 15초 동안의 부착(hybridization), 72°C에서 33초 동안의 중합반응(polymerization)을 40번 반복하는 조건으로 형광 열순환 반응기(Applied Biosystems 7500 Real-time PCR, Foster city, U.S.A.)를 사용하여 시행하였다. 실시간 역전사 중합효소연쇄사슬반응 산물의 특이성은 해리 곡선 분석과 3% 아가로스 겔(agarose gel)에서의 분석으로 확인 하였다. Housekeeping gene, glyceraldehydes-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH)를 측정하고자 하는 유전자와 함께 나란히 증폭해 GAPDH와 비교한 특정 유전자의 상대적인 발현량을 2-<sup>ΔCt</sup>으로 계산하였다. 실시간 역전사 중합효소연쇄사슬반응은 2-3회 반복실험으로 얻은 RNA의 각 시료마다 3회 수행하여 얻은 실험값을 통계분석 하였다.

### 말초혈액 단핵세포 분리

공여자로부터 얻은 혈액 10 ml을 Dulbecco's Phosphate-Buffer saline (DPBS) 10 ml에 1 : 1로 희석한 것을 10 ml의 Ficoll-Hypaque (Amersham Bioscience, Uppsala

**Table 1.** 실시간 역전사 중합효소연쇄사슬반응에 사용된 primer 의 염기서열

		Primer sequence(5' → 3')
GAPDH	Forward	CAGCCTCAAGATCATCAGCA
K13	Forward	CGAGAGCCTGAATGAAGAGC
	Reverse	CGACCACCTGGTTGCTAAAT
Involucrin	Forward	GGCAGCTGAAGCACCTAGAG
	Reverse	CAGTTGCTTCTCCTCCTGCT
NOD1	Forward	TGGTGGCCAAGTGATTGAA
	Reverse	CAATCTCCACCTCTTGCCAT
NOD2	Forward	GGTGTCTGCAAGGCTCTGTA
	Reverse	TCAATGCCAAGAAGTTCTGC
NALP2	Forward	GAAATGTCATCTGCCTGGGT
	Reverse	ATCTCCCGGAACCTCGTCTT
NALP3	Forward	TGAAGAGGAGTGGATGGGTT
	Reverse	TTCAATGCACTGGAATCTGC
NALP6	Forward	GCGCAGGAGAAGAAGAAGAA
	Reverse	CACAGTGGGTCAGTCATTGC
IPAF	Forward	CAGAACCCTGCTGACTGAGA
	Reverse	CCAAATGGAAAGGTCAAAGG
TLR2	Forward	ATTGTGCCATTGCTCTTTTC
	Reverse	ACCCACACCATCCACAAAAGT
TLR3	Forward	CGACGAAATGCTGGATTG
	Reverse	GATGCACACAGCATCCCA
TLR4	Forward	AACCAAGAACCTGGACCTGA
	Reverse	GAGAGGTGGCTTAGGCTCTG
TLR7	Forward	TGCTCTGCTCTCTTCAACCA
	Reverse	CCAAGGAGTTTGGAAATTAGGA
TLR8	Forward	TGCTGCAAGTTACGGAATGA
	Reverse	CGCATAACTCACAGGAACCA
TLR9	Forward	TCCTTCCCTGTAGCTGCTGT
	Reverse	GTAGGAAGGCAGGCAAGGTA
HBD-1	Forward	GTCGCCATGAGAACTTCTTA
	Reverse	GTTTCATTTCACTTCTGCGTCATTTCTTCT
HBD-2	Forward	ATCAGCCATGAGGGTCTTGT
	Reverse	GGATCGCCTATACCACCAAA
HBD-3	Forward	TGTTTGCTTTGCTCTTCTCTG
	Reverse	CTTCTTCGGCAGCATTTTC

Sweden) 층 위에 얹은 후 400 g에서 30분간 원심분리했다. 이로부터 단핵세포를 분리해 10% 소 태아혈청 (fetal bovine serum)과 100 U/ml penicillin, 100 µg/ml streptomycin (Gibco-BRL, Paisely, UK)이 들어가 있는 RPMI 1640 (Gibco, U.S.A.)로 두 번 세척한 후 사용하였다.

#### 항체염색과 유세포 분석(flow cytometry analysis)

실시간 역전사 중합효소연쇄사슬반응에서와 같이 동일한 방법으로 배양한 세포를 DPBS로 세척하여 준 후 1 mM EDTA를 포함한 세포 분리용액(Sigma, U.S.A.)을 사용해 세포를 떼어내었다. TLR4의 세포 표면 염색의

경우 phycoerythrin (PE)이 표지된 항-TLR4 단일클론항체(eBioscience)로 4°C에서 30분간 염색해 준 다음 DPBS로 두 번 세척하였다. TLR4와 NOD2의 세포 내 단백질 염색하기 위해선, CytoFix/Cytoperm™ (BD biosciences, San Diego, CA, U.S.A.)을 사용하여 37°C에서 20분간 세포를 고정, 투과 시킨 후 DPBS로 두 번 세척 후 항체로 4°C에서 30분간 염색했다. NOD2 염색에는 항-NOD2 다클론항체 (Santacruz, CA, U.S.A.)와 FITC가 표지된 항-토끼 이차항체를 사용했다. 음성대조군으로 항-TLR4 단일클론항체와 동일한 아이소타입(isotype)의 비특이 항체나 이차항체만으로 염색을 시행하였다. 염색된 세포는 유세포 분석기(FACSCalibur, BD Bioscience)로 분석하였다.

#### 효소면역측정법(enzyme-linked immunosorbent assay)

효소면역측정 키트 (R&D systems, Minneapolis, U.S.A.) 및 포함된 제품 설명서에 의거하여 배양액에 분비된 IL-8의 농도를 측정하였다.

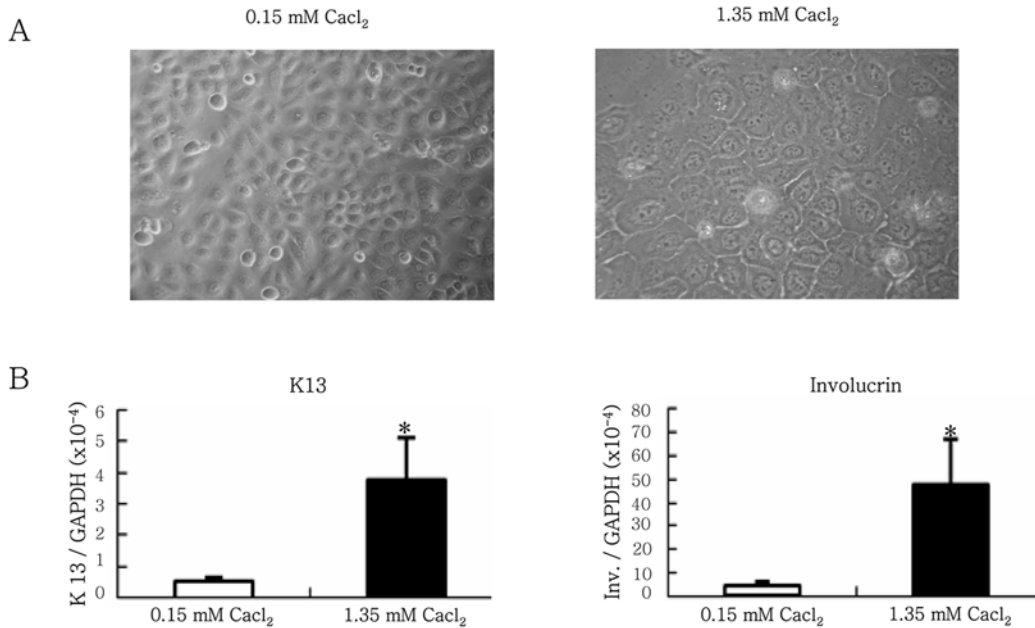
#### 실험 결과

##### 분화되지 않은 치은상피세포의 칼슘에 의한 분화 유도

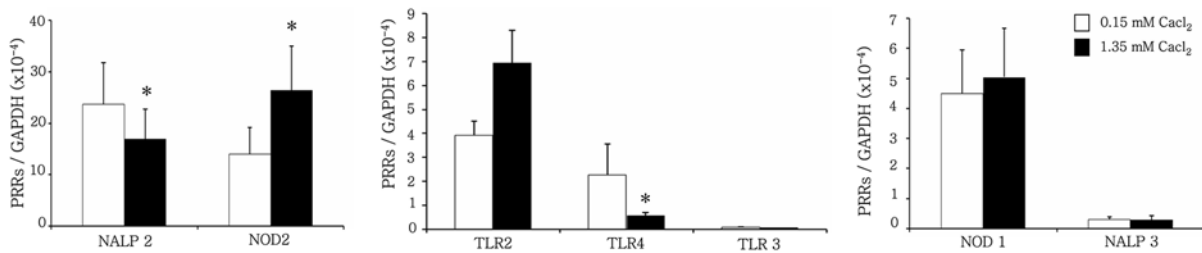
$6 \times 10^4$  cells/well의 세포를 저농도 칼슘에서만 배양해 분화되지 않은 상태를 유지시킨 HOK-16B 세포는 광학 현미경 하에서 윤기 있고 울퉁불퉁한 형태를 관찰할 수 있었다. 반면  $12 \times 10^4$  cells/well의 세포를 고농도 칼슘에 21시간 노출시킨 HOK-16B 세포는 평편한 모양으로 넓게 퍼져 분화된 세포 형태를 보이는 것을 광학현미경으로 관찰할 수 있었다(Fig. 1A). 한편 고농도 칼슘으로 분화시킨 세포에서 치은상피세포의 분화 지표인 K13과 involucrin의 발현율이 유의성 있게 ( $p < 0.05$ ) 증가되는 것을 실시간 역전사 중합효소연쇄사슬반응으로 관찰하였다(Fig. 1B).

##### 분화되지 않은 상태와 분화된 상태의 치은상피세포에서 다양한 패턴인식수용체의 mRNA 발현 비교

실시간 역전사 중합효소연쇄사슬반응으로 다양한 패턴인식수용체의 RNA 발현양을 분석한 결과, 치은상피세포는 NALP2, NOD1, NOD2, TLR2, TLR4를 상당량 발현하였고 NALP3, TLR3을 소량 발현하였다(Fig. 2). IPAF, NALP6, TLR7, TLR8, TLR9의 발현은 관찰되지 않았는데 말초혈액 단핵세포에서는 이들의 발현이 잘 관찰되었으므로 잘못된 primer제작에 의한 것이 아님을 확인하였다(Ji *et al.*, 투고 중). 분화되지 않은 치은상피세포에 비해 분화된 치은상피세포에서 NOD2 발현의 증가와 NALP2 및 TLR4 발현의 감소가 관찰되었다(Fig. 2).



**Fig. 1.** Differentiation of immortalized human gingival epithelial (HOK-16B) cells was induced by calcium. HOK-16B cells, plated at either  $6 \times 10^4$  or  $12 \times 10^4$  cells/well into 24-well plates, were cultured for 2 days in KGM containing 0.15 mM or 1.35 mM CaCl<sub>2</sub>, respectively. A. Morphology of cells was examined by an inverted-phase-contrast microscope ( $\times 400$ ). B. Expression levels of K13 and involucrin, the differentiation markers of oral keratinocytes, were examined by real time RT-PCR. \*,  $p < 0.05$



**Fig. 2.** The expression levels of various PRR transcripts in undifferentiated versus differentiated HOK-16B cells presented difference only in NOD2, NALP2 and TLR4. The expression of various PRRs was examined by real-time RT-PCR. The expression levels of PRR transcripts were presented as relative ratios to that of GAPDH. \*,  $p < 0.05$  by paired t-test.

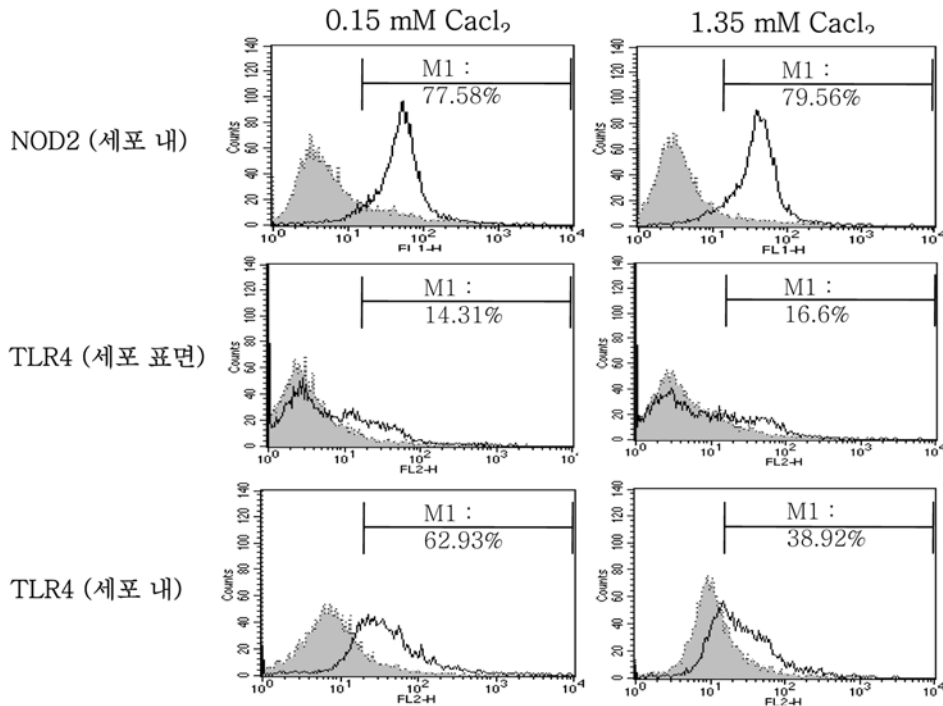
**분화되지 않은 상태와 분화된 상태의 치은상피세포에서 NOD2와 TLR4의 단백질 발현 비교**

관찰된 RNA 발현양의 차이가 단백질 발현에 영향을 주었는지 확인하기 위해, 유세포 분석을 이용하여 NOD2와 TLR4 발현을 관찰하였다. 세포내 단백질인 NOD2를 세포내 염색 후 관찰한 결과 분화되지 않은 상태와 분화된 상태간의 발현 차이를 관찰할 수 없었다(Fig. 3). 세포막 단백질인 TLR4는 세포면 염색과 세포내 염색을 모두 시행해 관찰한 결과, 비록 분화된 세포에서 분화되지 않은 세포에 비해 세포내에 TLR4를 발현하는 비율이 감소한 것으로 보였으나 이는 분화된 세포에서 비특이 항체를 이용한 음성대조군의 염색이 증가되어 나타난 현상으로 신뢰하기 어려웠다. 더욱이, 세포막에 TLR4를 발현하는 비율은 큰 차이가 없었기 때문에 치은상피세포의

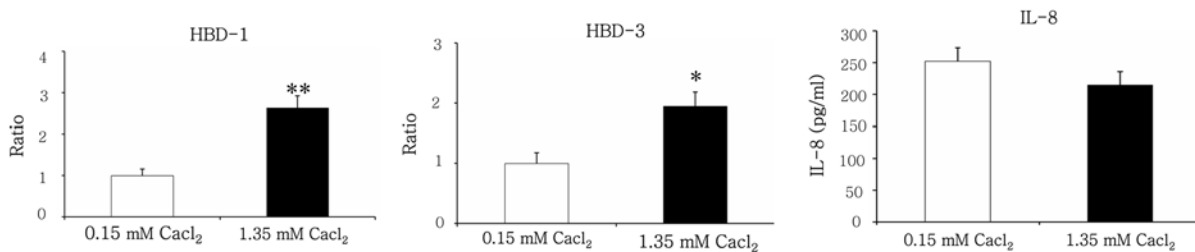
분화가 TLR4 단백질 발현양에 영향을 주지 않는다고 판단하였다(Fig. 3). 이는 분화된 치은상피세포가 감염체에 대해 분화되지 않은 세포와 유사한 면역 반응을 보이리라는 것을 암시한다.

**분화되지 않은 상태와 분화된 상태의 치은상피세포에서 HBDs와 IL-8의 발현 비교**

실시간 역전사 중합효소연쇄시슬반응으로 HBD-1과 -3 발현을 비교한 결과 분화되지 않은 치은상피세포에 비해서 분화된 치은상피세포에서 이들의 발현양이 유의적으로 증가됨을 관찰할 수 있었다. 그러나 배양액으로 분비된 IL-8량은 분화된 세포에서 다소 감소하는 경향을 보였는데, 이는 처음에 분주한 세포 수의 차이를 고려할 때 분화에 따라 IL-8 생성이 감소함을 의미한다.



**Fig. 3.** The expression levels of NOD2 and TLR4 protein in differentiated HOK-16B cells were similar to those in undifferentiated cells. Cells were stained with Ab with or without permeabilization and analyzed by flow cytometry. Cells stained with isotype control or secondary Ab alone served negative controls. The percentages of stained cells compared with negative controls are indicated.



**Fig. 4.** Differentiated HOK-16B cells expressed higher levels of human beta defensin (HBD) -1 and -3 but secrete lower level of IL-8, compared with undifferentiated cells. The expression of HBDs was examined by real time RT-PCR and the amount of secreted IL-8 were measured by ELISA. \*,  $p < 0.01$  \*\*;  $p < 0.0002$

### 고 찰

본 연구에서는 치은상피세포의 분화상태에 따라 면역학적 특성이 변화하는지 알아보기 위해 분화되지 않은 상태와 분화된 치은상피세포의 패턴인식수용체 발현을 비교 분석하였다. 그 결과 패턴인식수용체 발현에 큰 차이가 없어 분화된 치은상피세포는 분화되지 않은 세포와 유사한 면역반응을 할 것으로 사료된다.

HOK-16B 세포는 일차 배양한 정상치은상피세포에 재 조합된 인간의 papillomavirus type 16 DNA를 transfection 하여 불멸화 시킨 형질변형세포로 약 25 copies의 HPV-16DNA를 함유하고 있다. 세포골격의 변형으로 인해 정상 치은상피모양을 상실하였고 세포 내 myc proto-oncogene

을 과발현 하고 있으나 nude mice에서 암을 형성하지는 않는 부분적인 형질 변형 세포이다(Park *et al.*, 1991). 다양한 구강세균에 대한 HOK-16B 세포의 선천면역반응은 정상치은세포와 유사한 반응을 보였다(Ji *et al.*, 2007).

치은상피세포는 말초혈액 단핵세포에 비해 매우 제한된 종류의 패턴인식수용체를 발현하였다. 특히 홍미롭게도, 소포체에 존재하는 TLR 중 TLR7, TLR8, TLR9의 발현은 전혀 관찰되지 않았고, TLR3은 매우 소량만 발현하는 것으로 관찰되었다(Fig. 2). 이러한 결과는 정상치은상피세포를 이용한 실험에서도 확인하였다(결과 생략). 우리의 연구 결과와 달리 Uehara 등 (Uehara *et al.*, 2007)은 치은상피세포에서 TLR3, TLR7이 상당량 발현됨을 보고 하였으나, 그들의 결과는 한 개의 엑손만을 증

폭하는 primer를 이용하였으므로 오염된 genomic DNA의 증폭을 배제할 수 없는 결과이다. 소포체에 분포하는 패턴인지수용체의 낮은 발현이 치은상피세포와 감염체의 상호작용에 어떤 영향을 줄지 앞으로 추가 연구가 필요하다.

분화되지 않은 치은상피세포에 비해 분화된 치은상피세포에서 NOD2 유전자 발현의 증가와 NALP2 및 TLR4 유전자 발현의 감소가 관찰되었으나(Fig. 2A), 단백질 발현량의 차이는 관찰 할 수가 없었다(Fig. 3). 이것은 아마도 유전자 발현량의 차이가 현저하지 않았기 때문인 것으로 생각되며, 전반적으로 치은상피세포가 발현하는 패턴인지수용체의 종류와 양이 분화에 의해 큰 영향을 받지 않는 것으로 보인다.

패턴인지수용체와 달리 HBD와 IL-8의 발현은 분화상태에 따라 큰 차이를 보였다. HBD-1과 HBD-3는 분화된 치은상피세포에서 발현량이 2배 이상 증가하였는데, 이는 치은조직 상피층의 분화된 부위에서 HBD-1과 HBD-2가 강하게 염색됨을 보고한 Dale (2002)의 연구결과와 일치한다. 분화된 IL-8의 양은 분화된 치은상피에서 약간 감소하는 경향을 보였는데, 분화된 치은상피는 2배 수의 세포를 배양하였으므로 이는 분화에 의해 IL-8의 분비가 2배 이상 감소한 것을 의미한다. Dale (2002)은 칼슘에 의한 세포분화가 IL-8 발현도 증가시킨다고 보고한 바 있으나, 그들의 결과는 역전사 중합효소연쇄사슬반응만 시행한 결과이다. 우리는 치은상피세포를 배양접시에 분주하여 배양시간이 경과할수록 IL-8 유전자 발현량이 감소함을 실시간 역전사 중합효소연쇄사슬반응으로 관찰한 바 있다(결과생략). 우리의 실험결과는 아마도 치은상피가 세균과 접하는 가장 분화된 표층에서 HBDs 발현을 증가시키고, IL-8 발현은 분화 정도가 떨어지는 접합상피에서 많이 발현되도록 조절한다고 해석될 수 있다.

결론적으로 본 연구는 치은상피세포는 제한된 종류의 패턴인지수용체를 발현하며 치은상피세포의 분화에 의해 패턴인지수용체의 발현양에는 변화가 없었으나 항생물질의 발현이 현저하게 증가함을 보여준다.

## 참고문헌

- Carneiro L, Maqalhaes J, Tattoli I, Philpott D, Travassors L. NOD-like proteins in immunity, inflammation and disease. *Nat Immunol.* 2006;7:1250-1257.
- Dale BA. Periodontal epithelium : A newly recognized role in health and disease. *Periodontol* 2000. 2002;30:70-78.
- Ganz T. Defensins: Antimicrobial peptides of innate immunity. *Nat Rev Immunol.* 2003;3:710-720.
- Janeway CA, Medzhitov R. Innate immune recognition. *Annu Rev Immunol.* 2002;20:197-216.
- Ji S, Kim Y, Min BM, Han SH, Choi Y. Innate immune response of gingival epithelial cells to nonperiodontopathic and periodontopathic bacteria. *J Periodontol Res.* 2007;42:503-510.
- Ji S, Shin JE, Kim YS, Oh J-E, Min B-M, Choi Y. TLR2 and NALP2 mediate induction of human beta-defensins by *Fusobacterium nucleatum* in gingival epithelial cells. *Infect Immunol.* 투고 중 .
- Krisanaprakornkit S, Kimball JR, Dale BA. Regulation of human beta-defensin-2 in gingival epithelial cells. the involvement of mitogen-activated protein kinase pathways, but not the NF-kappaB transcription factor family. *J Immunol.* 2002;168:316-324.
- Lehrer RI, Ganz T. Defensins of vertebrate animals. *Curr Opin Immunol.* 2002;14:96-102.
- Masumoto J, Hasegawa M, Inohara N. The molecular functions of NOD proteins and their associated disease. *Current Medicinal chemistry.* 2005;4:43-51.
- Medzhitov R, Janeway CA Jr. Innate immunity: the virtues of a nonclonal system of recognition. *Cell* 1997;91:295-298.
- 민병무, 조제열, 강정숙. 구강점막 및 치은, *Oral biochemistry*, Ch 6. 대한나래출판사, 2007.
- Park NH, Min BM, Li SL, Min ZH, Henry MC, Doniger J. Immortalization of normal human keratinocytes with type 16 human papillomavirus. *Carcinogenesis* 1991;12:1627-1631.
- Presland RB, Dale BA. Epithelial structural proteins of the skin and oral cavity : Function in health and disease. *Crit Rev Oral Med.* 2000;11:383-408.
- Qureshi ST, Medzhitov R. Toll-like receptors and their role in experimental models of microbial infection. *Genes Immune.* 2003;4:43-51.
- Suqawara Y, Uehara A, Fujimoto Y, Kusumoto S, Fukase K, Shibata K, Suqawara S, Sasano T, Takada H. Toll-like receptors, NOD1, and NOD2 in oral epithelial cells. *J Dent Res.* 2006;85:524-529.
- Uehara A, Fujimoto Y, Fukase K, Takada H. Various human epithelial cells express functional Toll-like receptors, NOD1 and NOD2 to produce anti-microbial peptides, but not proinflammatory cytokines. *Mol Immunol.* 2007;44:3100-3111.
- Werts C, Girardin SE, Philpott DJ. TIR, CARD and PYRIN : three domains for an antimicrobial triad. *Cell death and differentiation* 2006;13:798-815.