

한국인에서 치주질환과 관상동맥질환의 관련성에 대한 염증표지자와 IL-1 유전자 다변성의 영향

정하나¹ · 정현주^{1,3} · 김옥수^{1,3} · 김영준^{1,3} · 김주한² · 고정태³

¹전남대학교 치과대학 치주과학교실

²전남대학교 의과대학 순환기내과학교실

³치의학연구소

I. 서론

최근 허혈성 심장질환에 의한 사망이 증가하고 그 유병률도 증가되는 추세이며 특히 남성의 조기 사망이 관상동맥 질환(coronary heart disease, CHD)과 많이 연관된다고 알려져 있다¹⁾. 미국에서는 성인 사망의 50%가 허혈성 심장질환과 관련되어 있으며, 최근 국내에서도 뇌혈관질환(인구 10만 명당 73명) 및 심장 질환(인구 10만 명당 39명)이 주된 사망 원인으로 중요시되고 있다²⁾. 식생활과 생활습관의 변화, 비만, 스트레스, 운동부족 등에 의한 사망자도 10만 명당 21.5명으로 10년간 2배로 증가하였다.

CHD의 병리적 기초는 동맥경화판의 생성에 있다³⁾. CHD의 위험인자로는 연령증가, 남성, 흡연, 고지혈증, 고혈압, 혈장 섬유소원 증가, 백혈구 증가, 당뇨병 등이 알려져 있다^{4,5)}. 이러한 CHD의 위험인자는 대부분이 치주질환의 위험인자이기도 하다^{5,6)}. 최근에는 치주질환과 심혈관질환의 관련 가능성으로서 이미 알려진 심장질환 위험요인이 없는 환자에서 심장병 및 심근경색증의 유병률이 치주질환의 심도나 치아상실률, 또는 구강위생상태와 관련된다고 보

고되었다⁷⁻⁹⁾.

Mattila 등⁷⁾은 급성 심근경색증 환자가 그렇지 않은 환자보다 구강상태가 불량하며 치주질환이 동맥경화의 발전에 영향을 미친다고 보고하였다. DeStefano 등⁸⁾은 치주상태와 CHD와의 관련성 연구에서 치주질환자가 그렇지 않은 환자보다 CHD에 이환될 위험이 25% 증가하며, 50세 이하의 남성에서는 75% 이상이었다고 보고하였다. Beck 등⁹⁾은 20% 이상의 치조골 소실과 CHD 발생률이 서로 연관된다고 하였고, 치주질환과 동맥경화에 의한 심혈관질환이 비슷한 혈관 염증반응을 보인다는 가정 하에 치주질환과 심혈관질환 간 연관 기전으로 과다한 염증반응을 제시하였다.

치주질환과 전신적 염증 및 심장질환과의 관련성에 대해서는 3가지 기전이 가능하다¹⁰⁻¹²⁾. 첫째, 치주염 진행시에 치주낭 세균이나 그람음성 세균의 내독소가 케양화된 치주낭 상피를 통과하여 혈류로 들어갈 수 있어 만성적으로 감염원을 제공하는 경로가 될 수 있으며, 둘째, 질환에 이환된 치주조직 내 염증매개 성분이 전신적 염증매개 물질을 공급하는 경로이고, 셋째, 두 질환이 위험요인을 공유하는 것이다.

* 이 연구는 보건복지부 보건과학기술인프라개발사업(00-PJ1-PG1-CH10-0002)의 지원으로 수행되었음.

교신 저자 : 정현주, 광주광역시 동구 학동 5번지 전남대학교 치과대학 치주과학교실, 우편번호 : 501-757,

E-mail : hjchung@jnu.ac.kr

공통 위험인자로서 흡연, 당뇨병, 염증반응 조절에 관여하는 유전적 요인 등이 포함된다^{3,14}. 두 질환에 공통적인 과도한 염증반응은 후자에 속한다.

둘째 기전으로서 균혈증 상태에서 순환혈류 내로 염증매개물질(LPS, prostaglandin(PG) E₂, tumor necrosis factor(TNF)- α Interleukin(IL)-1, IL-6 등이 유리되는 현상을 전신성 염증반응 증후군(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)이라 한다. 동맥경화증 발생 과정에서 치주감염이 염증 관여 매개물질의 저장 및 공급원으로 작용할 수 있으며¹⁵ 따라서 치주질환과 같은 국소 염증이 SIRS을 통하여 심혈관계 질환에 영향을 미칠 수 있다.

최근 치주질환의 진행에 있어 원인균으로서 그람 음성균의 내독소에 대한 단핵구의 반응으로 IL-1의 생성 양상이 중요하다고 보고되고 있다^{16,17}. IL-1은 염증과 면역반응에 주된 역할을 하며, 결합조직과 골 대사를 직접적으로 조절하고 PGE₂와 matrix metalloproteinase(MMP)를 상승시킨다. IL-1 생성 양에서 보이는 개체간 다양성은 chromosome 2(2q13)에서 발견되는 IL-1 α , IL-1 β , IL-1 receptor antagonist(IL-1ra)의 유전자 염기 서열의 다변성과 관련된다고 제시되었다⁸. 1997년 Korman 등¹³은 IL-1 생성을 조절하는 유전자의 다변성이 중증의 성인형 치주염 발생률과 관련된다고 보고하였다. 또한 이러한 다변성과 관상동맥 질환과의 관련성에 대해서도 제시되었다^{13,19}.

이 연구는 한국인에서 그람음성 세균에 의한 만성 치주질환과 관상동맥질환의 위험인자로 작용할 수 있는 염증표지자와 IL-1 유전자의 다변성이 이 두 질환에 어떻게 관련되는지 알아보고자 시행되었다.

II. 대상 및 방법

1. 대상환자

전남대학교 병원 순환기내과에 입원한 협심증이나 심근경색증 환자 및 과거 이 질환의 병력을 갖고 있거나, 심장질환 진단을 목적으로 내원하여 관상동맥 조영술을 실시한 후 치주과로 의뢰된 총 83명의

환자 중 60세 이하 환자를 대상으로 하였다. 이 중 50% 이상의 관상동맥 내경 협착이 있는 환자를 관상동맥 질환군(n=37)으로 하고, 유의한 혈관협착이 없는 환자를 대조군(n=30)으로 하였다(Table 1).

2. 방법

질환군과 대조군 모두에서 구강입상검사, 구강 방사선 촬영을 관상동맥 조영술 시술 전 날 시행하여 치주질환 정도를 평가하였고 심혈관계 질환과 관련된 위험 요인을 알기 위해 설문지와 여러 심혈관계 검사를 실시하였다. 그리고 혈액표본 및 치은열구액 내 염증매개물질의 검사와 IL-1 gene cluster 분석 등을 시행하여 비교하였다.

1) 입상 구강검사와 방사선 검사

환자의 구강 검사에서는 상설치아 및 잔존치아 수, 우식치와 수복치아 수를 기록하였으며 제3대구치를 제외한 각 치아의 협설면의 근원심과 중앙부위(총 6 부위)에서 치태지수(Löe & Silness Plaque index, PI), 치은지수(Silness & Löe Gingival index, GI), 치주낭 깊이(probing depth, PD)와 부착 상실도(clinical attachment level, CAL)를 측정하고 탐침후출혈(bleeding of probing, BOP) 부위를 기록하였다. 그리고 각 환자에서 이들 측정치의 평균치를 산출하였으며, 탐침후출혈 부위, 치주낭 깊이 4 mm, 또는 6 mm 이상인 부위, 부착 상실도 3 mm, 또는 5 mm 이상인 부위의 전체 잔존치아 수에 대한 비율로 환산하였다. 또한 파노라마 구강방사선 촬영을 하여 치조골 소실 정도를 관찰하였다.

치은열구액 채취를 위하여 각 대상 환자에서 가장 깊은 치주낭 4 부위를 택하여 치면과 치은변연을 건조시킨 후 Periostrip[®](Harco, U.S.A.)을 열구내 2 mm 정도 삽입한 다음 30초 후 제거하였다. Periotron[®](Harco, U.S.A.)에서 양을 측정하고 1.8ml Eppendorf tube에 넣어 -70°C에서 냉동 보관하였다. 그리고 환자에서 buccal swab으로 협점막 탈락상피를 채취하여 IL-1 유전형 검사시행 시까지 냉동 보관하였다.

2) 심혈관계 검사

심혈관계 질환의 위험 요인을 관찰하기 위하여 설문지를 통해 나이, 성별, 직업, 흡연, 고혈압, 당뇨병, 기타 신체부위의 만성감염질환 여부를 문진하고, body mass index(BMI:kg/m²)를 산출하였다. 혈압, 표준흉부방사선사진, 심전도검사, 심장초음파 검사, 운동부하 검사, 핵의학 심근관류 검사(myocardial perfusion scan)를 시행하여 질환심도를 협심증 및 심근경색증으로 세분하였다. 관상동맥 조영술을 실시한 후 동맥경화에 의한 혈관협착 정도를 기록하여 최종적으로 대조군(유의한 협착이 없는 자)과 질환군(협착도 50% 이상인 자)으로 구분하였다.

3) 혈액 및 치은열구액 내 염증표지자 검사

심혈관질환 지표로서 혈액 내 백혈구 수, 적혈구 침강 속도(erythrocyte sedimentation rate, ESR), 혈청 지질[total cholesterol, low density lipoprotein(LDL)-

cholesterol, high density lipoprotein(HDL)-cholesterol, triglyceride], lactate dehydrogenase(LDH), fibrinogen, C-reactive protein(CRP) 등을 측정하였다. 그리고 혈액 cytokine 검사를 위하여 혈장을 냉동 보관하였으며, ELISA kit (R & D Quantikine®, U.S.A.)을 이용하여 IL-1 β , IL-6, TNF- α , PGE₂, IL-1ra 농도를 측정하였다.

치은열구액이 수집된 periostrip은 1 ml의 EIA buffer (10 mM PBS-NaCl, 0.01% Sod Azide, 0.1% BSA, pH7.4)로 상온에서 추출하여 원심분리한 후 상층액을 cytokine 분석에 사용하였다. IL-1 β , IL-6, TNF- α , PGE₂, IL-1ra 농도를 측정하기 위하여 ELISA kit (R & D Quantikine®, U.S.A.)을 이용하였으며 CRP도 ELISA kit (Hemagen Inc., U.S.A.)를 사용하여 측정하였다.

4) IL-1 gene cluster 유전형 검사

Table 1. The protocol for PCR and restrictim engyme digestion

Target	Primers		PCR condition		Restriction enzyme digestion	
	Forward(5')	Reverse(3')			enzyme	product
IL-1A (+4845)	5' -ATG GTT TTA	5' -AAT GAA AGG	1 X 95°C	1 min,		29+124 bp(allele 1G),
	GAA ATC ATC AAG	AGG GGA GGA TGA	34 X 94°C	1 min,	Fnu4 HI	153 bp(allele 2T)
	CCT AGG GCA-3'	CAG AAA TGT-3'	56°C	1 min,	37°C 1h	+76 bp
			72°C	2 min,		
			1 X 72°C	5 min		
IL-1B (+3954)	5' -CTC AGG TGT	5' -GCT TTT TTG	1 X 95°C	2 min		85+97 bp(allele 1C)
	CCT CGA AGA	CTG TGA GTC	38 X 95°C			182 bp(allele 2T)
	AAT CAA-3'	CCG-3'	67.5°C		Taq I	+ 12 bp
			74°C	1 min,	65 °C 1h	(restriction control site)
		56°C	1 min			
		1 X 72°C,	8 min			
IL-1B (-511)	5' -TGG CAT TGA	5' -GTT TAG GAA	95°C,	10 min,		
	TCT GGT TCA	TCT TCC CAC	35 X 95°C		Ava I	190+114 bp(allele 1C)
	T C-3'	TT-3'	53°C		37°C 2h	304 bp(allele 2T)
			74°C	1 min,		
			74°C	10 min		
IL-IRA (intron 2 VNTR)	5' -CTC AGC AAC	5' -TCC TGG TCT	1 X 96°C	1 min,		412bp(allele 1; 4repeats)
	ACT CCT AT-3'	GCA GGT AA-3'	35 X 94°C	1 min,	no	240bp(allele 2; 2repeats)
			60°C	1 min,	enzyme	326bp(allele 3; 3repeats)
			70°C	2 min,	restriction	498bp(allele 4; 5repeats)
			1 X 70°C	5 min,		584bp(allele 5; 6repeats)
			55°C	5 min		

냉동 보관한 헤파막 탈락상피 표본에서 50 mM NaOH와 1M Tris 용액을 이용하여 추출한 genomic DNA를 이용하여 IL-1A(+4845), IL-1B(+3954), IL-1B(-511) 각각의 oligonucleotide primer(Bioneer Inc.)를 함께 첨가하여 thermal cycler(Elmer Perkins, U.S.A.)에서 multiplex polymerase chain reaction (PCR)을 시행하였다. PCR 생산물은 2% agarose gel에서 전기영동하여 각각 240, 190, 304 bp의 band를 확인하였다. Periodontitis screening test kit(Hain diagnostica®, Nehren, Germany)을 이용하거나 제한 효소분해 후 다시 2% agarose gel에서 전기영동하여 IL-1A(+4845), IL-1B(+3954), IL-1B(-511)에 대한 유전형 검사를 하였다^{20,21}. IL-1RA(intron 2 VNTR)에 대해서는 PCR과 전기영동 후 86 bp의 tandom repeat의 다양한 양상(variable number of tandom repeat, VNTR)을 확인하여 밴드 크기로 5종의 대립유전자를 구분하였다²².

Table 1에 각 유전자 부위에 대한 PCR 방법과 제한 효소분해 산물을 보여주고 있다.

각각의 가능한 염기 서열을 “대립유전자(allele)”라 하고 발현 빈도에 따라 순번을 매기어 가장 흔히 나타나는 서열을 대립유전자 1이라 한다. 유전형(genotype)은 대립유전자 1 만 보유한 유전형(1,1)을 음성으로, 대립유전자 2를 하나 이상 보유한 유전형(1,2) 및 (2, 2)을 양성으로 하였다. 그리고 복합유전형(composite IL-1 genotype)은 2번 염색체에 존재하는 IL-1 gene cluster 중 IL-1A(+4845), IL-1B(+3954)에 대립유전자 2가 하나 이상 존재하는 경우 양성으로 간주하였다¹⁸.

3. 통계분석

모든 측정치는 각 군의 평균(표준오차)과 중앙값(사분구간 범위수)으로 정리하였으며 군 간 비교는 independent t-test, 정규분포하지 않는 변수에 대해서는 Mann-Whitney test를 시행하였다. 계수 간 연관성을 알아보기 위하여 상관성 분석을 시행하여 Pearson 및 Spearman correlation coefficient를 구하였다. 유전

Table 2. Population characteristics and periodontal status

	Variables	Non-CHD(n=30)	CHD(n=37)	p
Population characteristics	Age(y)	49.2±1.2	52.5±0.9	0.047
	Male/female	17/13	30/7	0.030
	Diabetes mellitus(%)	3(15.0)	9(24.3)	NS
	Smoker(%)	2(10.0)	12(67.6)	0.060
Periodontal status	Mild	6(20.0%)	10(27.0%)	0.472
	Moderate	18(60.0%)	19(51.4%)	
	Advanced	6(20.0%)	8(21.6%)	
Periodontal parameter	No. of teeth	25.8±0.6	23.4±1.1	0.072
	PI	1.35±0.15	1.68±0.15	0.296
	GI	1.24±0.12	1.25±0.09	0.979
	BOP(%)	66.0±5.7	57.0±5.0	0.357
	PD mean	3.09±0.12	2.95±0.10	0.401
	PD>4mm(%)	30.8±6.1	32.1±4.8	0.986
	PD>6mm(%)	5.4±2.1	4.8±1.2	0.570
	CAL mean	3.33±0.18	3.28±0.13	0.831
	CAL>3mm(%)	59.0±7.4	60.2±5.5	0.749
	CAL>5mm(%)	23.7±3.5	24.7±6.1	0.904

PI: plaque index, GI: gingival index, BOP: bleeding on probing, PD; probing pocket depth, CAL; Clinical attachment level, CHD: coronary heart disease. Values are expressed in mean±SE.

Table 3. Laboratory findings in non-CHD and CHD groups

	Non-CHD (n=29)			CHD (n=37)			P
	Mean	Median	Range*	Mean	Median	Range*	
WBC($\times 10^3/mm^3$)	6.8	6.2	5.3~7.3	7.1	6.6	5.7~7.6	0.367
Total-cholesterol(mg/dl)	179	172	155~204	182	186	145~219	0.856
Triglyceride(mg/dl)	106	78	42~157	96	75	57~125	0.839
HDL-C (mg/dl)	51.1	51.2	44.7~57	54.7	43.5	38.3~53.8	0.066
LDL-C (mg/dl)	114	107	91~146	127	127	89~160	0.326
HDL/LDL ratio	0.46	0.42	0.35~0.59	0.47	0.40	0.26~0.48	0.181
Fibrinogen (mg/dl)	234	233	216~285	296	288	237~334	0.032
ESR (mm/H)	6.3	4.0	3~10	18.23	12	3~23	0.024
CRP (mg/dl)	0.37	0.16	0.05~0.33	0.78	0.17	0.04~0.70	0.648
LDH (U/L)	396	353	309~402	598	428	318~552	0.051

WBC: white blood cell, HDL-C; high density lipoprotein-cholesterol, LDL-C; low density lipoprotein-cholesterol, ESR; erythrocyte sedimentation rate, CRP; C-reactive protein, LDH; lactate dehydrogenase, CHD: coronary heart disease
 *The range is the interquartile range between the 25th and the 75th quartiles.

자의 대립유전자와 유전형의 빈도는 Chi-square test를 통하여 분석하였으며, logistic regression analysis 후 odds ratio를 산출하였다. 통계분석 프로그램은 SPSS version 11.0(SPSS Inc. USA)을 사용하였으며 $\alpha = 0.05$ 수준에서 검정하였다.

III. 결과

1. 임상적 특성 및 치주상태 비교

전체적으로 질환군에서 연령과 남성비율이 높았으며, 당뇨병이나 흡연율도 질환군에서 높게 나타났다

으나 유의하지는 않았다($p=0.06$). 모든 대상 환자가 치주질환에 이환되어 있었으며, 치주질환의 심도는 두 군간에 차이를 보이지 않았다.

잔존치아 수는 질환군에서 적었으나 유의하지 않았으며, 그 외 치태지수, 치은지수, 치주질환의 심도를 나타내는 치주낭 깊이나 부착상실 정도 모두 두 군간에 유사하게 나타났다(Table 2).

2. 혈중 심혈관질환 지표의 비교

혈중 심혈관질환 지표 중 백혈구 수, 총 콜레스테롤, LDL-C, CRP 수치는 차이가 없었으나, 질환군에

Table 4. Gingival crevicular fluid cytokine in non-CHD and CHD groups

	Non-CHD (n=29)			CHD (n=37)			P
	Mean	Median	Range*	Mean	Median	Range*	
IL-1 β (ng/ μ l)	0.53	0.30	0.13~0.66	0.44	0.29	0.15~0.61	0.893
PGE2 (ng/ μ l)	3.09	1.61	0.88~3.37	6.36	2.65	1.84~5.59	0.042
TNF- α (pg/ μ l)	7.38	2.46	1.13~5.83	7.29	4.91	1.63~10.5	0.101
IL-6 (pg/ μ l)	5.95	1.18	0.09~8.33	8.07	0.24	0.09~2.98	0.458
IL-1ra (ng/ μ l)	256	195	42~363	318	208	30~506	0.911
IL-1ra/IL-1 ratio	7465	748	130~1539	13292	818	90~1887	0.913
CRP (μ g/ μ l)	0.47	0.02	0~0.10	0.12	0.01	0~0.10	0.730

IL: interleukin, PG: prostaglandin, TNF: tumor necrosis factor, ra: receptor antagonist, CRP: C-reactive protein
 *The range is the interquartile range between the 25th and the 75th quartiles.

Table 5. Plasma cytokine levels in non-CHD and CHD groups

	Non-CHD (n=29)			CHD (n=37)			P
	Mean	Median	Range*	Mean	Median	Range*	
IL-1 β (pg/ml)	9.94	12.6	0.5~14.35	10.53	12.6	0.5~14.9	0.968
PGE2 (pg/ml)	906	254	68~1468	1081	430	94~1758	0.774
TNF- α (pg/ml)	6.43	7.4	2.7~9.75	6.04	5.9	3.6~7.4	0.614
IL-6 (pg/ml)	2.88	1.8	0.4~4.75	4.85	2.8	0.4~7.9	0.441
IL-1ra (pg/ml)	567	571	325~775	836	571	183~1012	0.893
IL-1ra/ IL-1	383	56	27~763	1138	44	12~2024	0.766

IL: interleukin, PG: prostaglandin, TNF: tumor necrosis factor, ra: receptor antagonist, CRP: C-reactive protein

*The range is the interquartile range between the 25th and the 75th quartiles.

서 ESR, fibrinogen 등의 수치가 대조군에 비하여 유의하게 높았다(p<0.05). 반면 HDL-C는 질환군에서 대조군에 비하여 농도가 낮았고 LDH는 높았으나 유의하지는 않았다(Table 3).

3. 염증 표지자 농도 비교

치은열구액 내 cytokine 중 PGE₂는 질환군에서 대조군에 비하여 유의하게 높았으며(P<0.05), IL-1 β IL-6, TNF- α IL-1ra는 두 군간에 차이가 없었다(Table 4). 그러나 혈중 cytokine 농도는 TNF- α 를 제외하고는 질환군에서 높았으나 통계적으로 유의하지 않았다(Table 5).

4. 치주계수, 심혈관질환 지표, 혈액 염증표지자 간 상관관계

치태지수, 치주낭 깊이, 치주 부착상실도, 상실치아 수는 관상동맥협착도와 유의한 상관관계를 나타내었다(p<0.05). 혈중 cytokine 중 PGE₂는 치은염증도, 치주낭 깊이와 치주 부착상실도와 양의 상관관계를 보였으며(p<0.05) 치태지수, 탐침후출혈부 비율과의 상관성은 유의하지 않았다(Table 6). PGE₂와는 달리 혈액 내 IL-1 β TNF- α IL-6은 치주질환 계수와 유의한 상관성을 보이지 않았다.

치주질환 계수와 혈중 심혈관질환 지표들과의 상관분석에서 치태지수는 백혈구 수, 총 콜레스테롤, LDL-C와 약한 양의 상관관계를 보였고(p<0.05), ESR, CRP, 그리고 LDH와는 중등도 상관관계(p<0.01)를 보였다. 치은지수는 백혈구 수와 LDH와 유의한 상관성을 보였고, 탐침후 출혈부위 비율은 CRP와는 약한 양의 상관성(p<0.05)을, 백혈구 수와 LDH와는 중등도의 상관관계를 나타내었다(p<0.01). 평균 치주낭 깊이는 백혈구 수와 LDH 간

Table 6. Correlation between periodontal parameters and blood cytokines

Variables	PI	GI	BOP (%)	mean PD	PD >6mm(%)	mean CAL	CAL >3mm(%)	No. missing teeth
Stenosis (%)	0.239*	0.200	0.095	0.254*	0.055	0.254*	0.266*	0.230
Blood PGE ₂ (pg/ml)	0.314	0.359*	0.283	0.348*	0.255	0.363*	0.245	-0.088

Stenosis; degree of coronary artery stenosis.

PI: plaque index, GI: gingival index, BOP: bleeding on probing, PD: pocket depth, CAL: clinical attachment level.

*P<0.1, *P<0.05

Spearman correlation coefficient was used.

Table 7. Correlation between periodontal parameters and blood CHD markers

Variables	WBC	Total-C	TG	LDL-C	ESR	CRP	LDH
PI	0,282*	0,270*	0,200#	0,283*	0,350**	0,423**	0,485**
GI	0,227*	0,215	0,015	0,227	0,071	0,205	0,483**
BOP(%)	0,323**	0,267*	0,032	0,123	-0,048	0,279*	0,397**
PD mean	0,227*	0,091	-0,015	0,047	-0,053	0,114	0,284*
PD) 4mm(%)	0,178	0,123	0,073	0,089	0,074	0,235*	0,205#

Spearman correlation coefficient for WBC, CRP, LDH. *P<0,05, **P<0,01

Table 8. Correlation between cytokines and blood CHD markers

Variables	WBC ^a	Total Cholesterol	TG	LDL-C	FIB	ESR	CRP
Stenosis	0,048	0,045	-0,116	0,189	0,321**	0,260*	0,081
Plasma PGE2	0,014	0,212	0,187	0,172	-0,007	0,119	0,322*
Plasma IL-1ra	-0,105	0,303	-0,013	0,333*	-0,173	0,074	0,028
GCF IL-1ra	-0,256*	-0,139	0,193	-0,046	-0,093	0,123	-0,065
GCF IL-1ra/IL-1	-0,172	-0,056	0,279*	-0,179	0,066	0,069	0,272*

Spearman correlation coefficient for WBC. *P<0,05, **P<0,01

Table 9. Allele frequency in the non-CHD and CHD groups

Gene	Allele	Non-CHD (n=60)	CHD (n=60)	Total (n=130)	Odds ratio	95% CI	p
IL-1A(+4845)	1	0,613	0,767	0,689	0,482	0,219-1,058	0,069
	2	0,387	0,233	0,311			
IL-1B(+3594)	1	0,967	0,850	0,908	5,118	1,057-24,789	0,043
	2	0,033	0,150	0,092			
IL-1B(-511)	1	0,483	0,362	0,424	1,648	0,789-3,444	0,184
	2	0,517	0,638	0,576			
IL-1RA (Intron 2 VNTR)	1	0,793	0,733	0,763	1,697	0,526-5,472	0,376
	2	0,172	0,200	0,186			
	3	0,017	0,017	0,017			
	4	0,017	0,017	0,017			
	5		0,033	0,017			

Odds ratio was calculated by comparison between the carrier and non carriers of allele 2 for each IL-1 gene

에, 치주낭 4mm 이상 부위의 비율은 혈중 CRP와 약한 양의 상관관계를 나타내었다(p<0,05)(Table 7). 따라서 대부분의 치주계수는 혈중 백혈구 수, CRP와 LDH와 유의한 상관성을 보였다.

혈액 내 cytokine과 치은열구액 내 cytokine 간의 상관분석에서 Spearman 상관계수는 치은열구액 IL-1β와 혈중 PGE₂ 간에, 치은열구액 PGE₂와 혈중 IL-

ra/IL-1 ratio 간에 유의한 양의 상관관계를 보였다(p<0,05). Cytokine과 심혈관질환 지표 간 상관분석에서는 동맥협착도가 혈중 섬유소원(p<0,01)과 ESR(p<0,05) 간에, 혈중 PGE₂와 CRP 간, 혈중 IL-1ra와 총 cholesterol 및 LDL-C 간 양의 상관성을 나타내었다(p<0,05). 반면 치은열구액 내 IL-1ra는 혈액 백혈구 수와 음의 상관관계를 보였고, IL-1ra/IL-1 ratio

는 혈중 LDL-C과는 음의 상관관계를, CRP와는 양의 상관관계를 나타내었다($p < 0.05$).

5. IL-1 gene cluster 의 유전자 다변성 분석

IL-1A(+4845) 대립유전자 2의 분포율은 전체적으로 31%로 관찰되었으며, 질환군(23.2%)에서 대조군(38.7%)에 비하여 낮은 경향을 보였다(OR=0.482, 95% CI 0.219-1.058, $p=0.069$). 반면 IL-1B(+3954) 대립유전자 2의 분포율은 전체적으로 9%로서 매우 낮았으나, 질환군은 15%, 대조군은 3.3%의 발현빈도를 보여 질환군에서 5배정도 유의하게 높은 빈도를 나타내었다(OR=5.118 95% CI 1.057~24.789, $p < 0.05$). IL-1B(-511) 대립유전자 2는 전체적으로 57.6%의 분포율을 보였으며 대조군에서 51.7%, 질환군에서 63.8%로 유사한 빈도를 나타내었다. IL-1RA에서는 대립유전자 1의 빈도가 76.3%, 대립유전자 2는 18.6%, 다른 유형이 5.1%로서 이들 모두 질환군과 대조군에서 유사하게 나타났다(Table 9).

유전형 분석에서 음성 유전형(1,1)과 양성 유전형(1,2 및 2,2)의 분포율을 비교한 결과, IL-1A(+4845), IL-1B(-511), IL-1RA(intron 2) 모두 두 군간에 유의한 차이를 보이지 않았다. 그러나 IL-1B(+3954) 대립유전자 2의 보인자인 양성 유전형의 비율은 질환군에서 대조군에 비하여 약 4배정도 빈번하였으나 통계적으로 유의하진 않았다(OR=4.109, 95% CI 0.776~21.760, $p=0.079$) (Table 10).

IV. 고찰

최근들어 일부의 역학 연구들이 대부분 치주질환과 관상동맥질환을 포함한 심혈관질환 간에 밀접하게 연관되어 있다는 것을 보여주었지만 이들 사이의 연관성에 대해서는 여전히 논쟁의 여지가 남아 있다. 그리고 한국인에서 이러한 두 질환간 관련성에 대한 연구는 Han 등의 보고²³⁾ 외에 거의 없는 실정이다. 치주질환의 발생과 진행에 세균요인과 숙주요인이 관여하는데 최근에는 숙주요인의 역할이 강조

Table 10. Genotype distribution in the non-CHD and CHD groups

Gene	Genotype	Non-CHD (n=30)	CHD (n=30)	Total (n=60)	Odds ratio	95% CI	p
IL-1A(+4845)	1,1	0.387	0.567	0.475	0.510	0.183-1.424	0.160
	1,2	0.452	0.400	0.426			
	2,2	0.161	0.033	0.098			
IL-1B(+3954)	1,1	0.933	0.767	0.850	4.109	0.776-21.760	0.079
	1,2	0.067	0.167	0.117			
	2,2		0.116	0.033			
Composite genotype	1,1/1,2	0.933	0.833	0.883	2.800	0.498-15.734	0.228
	2,2	0.067	0.167	0.117			
IL-1B(-511)	1,1	0.333	0.207	0.271	1.322	0.468-3.732	0.511
	1,2	0.300	0.310	0.305			
	2,2	0.367	0.483	0.424			
IL-1RA (Intron 2 VNTR)	1,1	0.586	0.533	0.559	1.255	0.492-3.197	0.635
	2,2/1,2/2,4	0.345	0.333	0.339			
	1,3	0.034	0.033	0.034			
	1,4/4,4	0.034	0.033	0.034			
	1,5		0.067	0.034			

Odds ratio was calculated by comparison between the carrier and non carriers of allele 2 for each IL-1 gene.

되고 있으며 인종과 유전적 배경이 여기에 포함된다. 따라서 이 연구는 한국인에서 만성 감염질환인 치주질환과 관상동맥질환의 위험인자로 작용할 수 있는 염증표지자와 IL-1 유전자의 다변성이 이 두 질환에 어떻게 관련되는지 알아보고자 시행되었다.

치주질환과 심장병은 통계적 근거에서도 우연히 같이 발생하는 경우보다는 빈번하게 동반되어 발생하는 것으로 보인다. Mattila 등²⁴⁾, Paunio 등²⁵⁾, Joshipura 등²⁶⁾, Loesche 등²⁷⁾은 치주질환자들에서 치주적으로 건강한 사람들보다 심혈관질환이 일어난 확률이 더 크다고 하였다. 그러나 치주질환과 심장병 간의 관계는 여러 가능한 공통변수, 즉 흡연, 생활 습관, 여러 다른 위험 요소들이 있을 수 있으며 이러한 공통변수를 다루는 것은 간단하지 않다. 최근의 역학 연구들은 예전의 연구들보다 훨씬 효과적으로 공통변수들의 문제들을 다룰 수 있게 되었고, 연구계획이 엄격해질수록, 구강건강이 관상동맥질환에 미치는 영향의 중요성이나 정도가 감소되었다. 1993년 DeStefano 등²⁸⁾과 2000년 Hujuel 등²⁸⁾은 미국 성인 건강보험자들을 대상으로 연구한 결과, DeStefano 등은 치주질환 상태와 관상동맥 질환 사이에는 작지만 중요한 관계가 있다는 것을 보여주었고, Hujuel 등은 이 두 질환 간에 중요하지 않지만 작은 연관성이 있다고 보고하였다. 이런 차이는 그들이 같은 기본 자료를 사용했음에도 불구하고 Hujuel 등의 연구에서 DeStefano 등이 공통변수를 다루는 방법보다 엄격한 접근방식을 취했기 때문이다.

국내에서는 전신건강자료와 연계된 기본적인 구강검진자료가 미비하여 건강보험 자료를 이용한 역학연구가 곤란하다. 따라서 이 연구에서는 순환기내과 입원 환자들을 대상으로 치주 상태에 대한 정보를 얻기 위하여 직접 구강검사를 시행하였다. 종합병원의 특성상 중환자가 많이 포함되어 치주 검진이 어려웠으며 전신질환을 완전히 배제하기가 매우 어려웠다. 그 결과 2년간 환자를 검진하였으나 대상 환자의 수가 충분하지 않아 최종적으로 60세 이하의 환자로 구성된 질환군 37인, 대조군 30인을 포함하게 되었다. 질환군은 동맥경화증으로 직경 50% 이상의 관상동맥 협착을 보인 환자를, 대조군은 관상동맥

조영술에서 유의한 혈관 협착이 없는 환자를 포함하였다.

이 연구에서 각 군에 포함된 대상 환자들의 특성으로서 질환군의 환자 연령이 증가하였고 잔존치아 수가 질환군에서 유의하게 적었으나, 그 외 현재의 염증상태를 나타내는 치은지수는 두 군간에 유의한 차이를 보이지 않았다. 또한 치주질환의 심도를 나타내는 치주낭 깊이나 부착상실정도, 현재의 구강청결도를 보여주는 치태지수 역시 두 군간에 유의한 차이를 보이지 않았다. 두 군 중 질환군에서 상실치아 수가 증가하는 경향을 보였는데 이는 동맥경화 병소가 누적적 병소로서 현재의 치주질환 심도 자체보다는 과거 진행 정도의 총화를 반영하리라는 예상에 부합되었다. Han 등²³⁾의 연구에서는 치은지수가 관상동맥질환군에서 유의하게 증가하였다. 그 연구에서는 치주질환 계수로 치은지수, 치태지수, 치주낭 깊이, 부착상실도를 6개의 Ramfjord 치아²⁹⁾에서만 측정하여 평균값을 산출하였는데, 이는 구강 내 전체의 치주상태를 반영한다고 볼 수 없다. Offenbacher⁶⁾은 조산과 치주질환의 관련도에 대한 연구에서 치주질환의 심도보다는 치주질환의 범위가 조산아와 관련이 있다고 하였다. Page 등¹¹⁾, Offenbacher⁶⁾와 Hujuel 등³⁰⁾은 중등도 이상 진행된 치주염 환자에서 깊은 치주낭이 존재하는 경우 피부에 20~50cm²의 궤양 창상이 있는 것과 같다고 주장하였다. 치주질환 병소로서 치주낭에서는 상피 간격이 넓어져 투과성이 증가하고 궤양으로 인하여 물리적 방어막 역할이 저하되며, 치주질환 관련 세균과 세균 산물의 전신적 유입이 가능해진다. 따라서 치주질환의 전신적 영향을 평가하는 경우에 구강 전체의 상태를 기록하는 것이 의미가 있을 수 있다. 따라서 이번 연구에서는 제3대구치를 제외한 모든 치아의 6부위에서 치태, 염증, 출혈도, 치주낭 깊이 등을 측정하였으며 cytokine 분석을 위한 치은열구액은 가장 깊은 치주낭 4개 부위에서 채취되었다.

혈중 심혈관질환 지표를 비교한 경우 질환군에서 유의하지 않지만 대체적으로 높게 나타났으며, fibrinogen과 ESR 수치는 유의하게 증가하였다. LDL-C와 HDL-C도 질환군에서 증가하는 경향을 보였으나

백혈구 수나 CRP는 유의한 차이를 보이지 않았다. Thompson 등³¹⁾은 fibrinogen의 증가가 심혈관질환과 관련된다고 하였다. 혈중 LDL-C은 CHD의 원인인자로 잘 알려져 있다^{4,32)}. Wu 등³³⁾은 치주질환이 총 콜레스테롤의 증가와 관련된다고 하였으나 HDL-C과는 관련이 없다고 보고하였다. 반면 Noack 등³⁴⁾은 치주질환 심도와 관련되어 CRP 수준이 증가함을 보고하였으며 치주질환이 심장병을 일으킬 수 있는 혈액응고나 동맥염증을 발생시키는 CRP을 증가시켜 전신적 염증반응을 증가시킨다고 주장하였다. 이번 연구에서는 CRP가 유의한 차이를 보이지 않았는데 실험군에 주로 만성 관상동맥질환자가 많이 포함되었고 급성 환자들은 포함하기 어려웠던 때문으로 추정된다. 그러나 동물 감염모델에서 치주감염군으로 중요한 *Porphyromonas gingivalis*을 피하에 반복 접종 후 혈중 CRP와 동맥경화병소가 유의하게 증가하여^{35,36)} 치주병원균 감염이 심혈관질환에 기여하였다. 그러나 동물모델과 달리 여러 변인이 복합적으로 관여하는 임상상황에서는 질환군과 대조군 간에 혈액 내 염증표지자 수준에서 유의한 차이를 보이지 않았다.

이번 연구에서 혈중 cytokine 농도는 두 군간에 차이가 없었는데 이는 건강인과 치주질환자들 간에 순환 혈액 내 cytokine 수치에 차이가 없었다고 보고한 Prabhu 등³⁷⁾의 연구와 일치하였다. 치은열구액 cytokine 중 PGE₂ 농도는 대조군에 비해 질환군에서 유의하게 높았으나, 그 외 IL-1 β , IL-6, TNF- α CRP 농도는 두 군간 차이가 없었다. PGE₂는 염증반응과 결합조직의 파괴에 관여한다. 이는 LPS-elicited monocyte activation pathway를 통해 전신성 염증반응경로로 작용한다는 개념을 지지한다. 한편 IL-1 β 은 치은열구액내 총합량은 질환군에서 증가하였으나 농도는 감소하는 경향을 보였는데, 이는 염증 및 치주낭 깊이 증가에 따른 치은열구액 양의 증가로 희석된 결과라고 추정된다. 그리고 다른 cytokine들은 수치는 증가하였으나 대상 환자 수가 많지 않고 개체반응이 다양하여 통계적으로 유의한 수준에는 미치지 못하였던 것으로 보인다. Loos 등³⁸⁾의 연구에서는 치주질환의 심도에 따라 혈중 IL-6가 더 높아졌는데, 이러한 IL-6 증가는 증가된 혈중 CRP, neutrophils

과 함께 동맥경화 병소에서 염증 활성을 높여 심장이나 뇌혈관질환의 위험성을 증가시킬 수 있다고 하였다. 그러나 이번 연구에서는 혈액 중 IL-6, CRP 모두 두 군간에 차이가 보이지 않았다.

치주질환과 심장질환의 공통 위험인자인 흡연과 당뇨병은 병력이 알려진 대조군 20인 중 당뇨병 1인, 흡연 및 당뇨병 2인이 포함되었고, 질환군 37인 중 흡연 9인, 당뇨병 6인, 흡연 및 당뇨병 3인이 포함되었다. 심혈관질환과의 연관성을 검정한 결과 당뇨병이 없는 환자에서는 흡연자의 심질환 발생률이 유의하게 증가하였으나, 당뇨병 환자에서는 흡연에 의한 심질환 발생률 증가에 대한 부가적 효과가 나타나지 않았다. 흡연과 당뇨병의 두 요인을 배제한 경우 대조군에 비하여 질환군에서 진단된 치주염 환자 빈도가 증가하는 경향을 보였고 질환군에서 연령이 유의하게 높았고, 상실치아 수가 3배정도 증가하였다. 이는 심혈관질환에 치주질환의 누적효과가 반영됨을 추정할 수 있게 한다. 그리고 이런 경우 질환군에서 대조군과 비교시 혈액 및 치은열구액 cytokine 농도에 유의한 차이가 없었으며, 알려진 혈중 위험요인들이 질환군에서 대부분 증가되어 있었으나 통계적으로 유의하지는 않았다. 흡연의 영향을 독립적으로 비교한 결과 흡연자 중에서 군간에 연령의 영향과 치주계수의 차이는 없었으나 비흡연자 중에는 군간 연령과 잔존치아 수에 유의한 차이를 보였다. 이번 연구에서 질환군에 흡연자가 많이 포함되어 연구 집단에서 흡연자를 배제하기 곤란하였는데, 그 결과 순수한 치주질환의 영향을 평가하기에는 표본수가 부족하였다. 이 부분에 대해서는 계속적으로 많은 표본 수를 보완한 장기적 대단위 연구가 요구된다.

치주질환 계수와 혈중 심혈관질환 지표와 cytokine과의 상관관계 분석에서 관상동맥 협착도는 치태지수, 치주낭 깊이, 치주부착상실도, 상실치아 수와 약하지만 유의한 양의 상관관계를 나타내었으며 협착도의 5%가 치주상태로 설명될 수 있음을 의미하였다($R^2=0.05$). 혈중 cytokine 중 PGE₂는 탐침후 출혈 부위 비율, 치주낭 깊이, 3mm 이상 치주부착상실부위 비율과 양의 상관관계를 보여 치주상태가 9-13% 정도 기여하는 것으로 보였다($R^2=0.09-0.13$).

혈중 심혈관질환 지표들과의 상관분석에서 백혈구 수, CRP와 LDH는 대부분의 치주계수와 유의한 양의 상관관계를 보여 치주질환 계수에 의한 예측도가 지표에 따라 5~23% 정도로 나타났다($R^2=0.05\sim0.23$). 치태지수는 그 외에도 총 콜레스테롤, LDL-C, ESR과도 상관성을 보여 치주질환 세균이 혈액지질농도 증가에 기여할 수 있음을 간접적으로 추정할 수 있었다. 혈액 cytokine 간에는 IL-1 β 가 PGE₂, TNF- α , IL-6과 유의한 양의 상관관계를, IL-1ra와는 음의 상관관계를 보였다. 치은열구액 IL-1 β 와 혈중 PGE₂, 치은열구액 PGE₂와 혈중 IL-1ra 간에, 그리고 치은열구액 내 IL-1ra/IL-1 β 비율과 혈중 CRP 간에도 유의한 양의 상관관계가 존재하였다. 치은열구액 내 cytokine은 총 함량과 농도 중 함량이 혈액 cytokine과 상관관계가 높았는데, 이는 cytokine이 혈액 내 유입된다면 총 함량이 혈액내 cytokine 수준에 기여하기 때문이라 추정된다. 이번 연구 결과로부터 cytokine과 혈액 심혈관질환 지표와의 관계를 정리한다면 치주염 병소에 의하여 치은열구액 내 IL-1 β 와 PGE₂가 혈중 PGE₂에 기여하며 이는 혈액 내 CRP 등 심혈관질환의 위험요인 증가에 기여하는 것으로 보인다.

유전적 소인이 염증반응에서 치주질환과 심혈관질환의 연관성을 설명한다는 직접적인 연구보고는 아직 없다. 염증은 치주질환과 심혈관질환을 매개할 수 있으며 임상적 진행과정의 중요한 결정요인이다. IL-1 유전자 다변성은 염증반응 정도와 관련되며, 따라서 두 질환이 관련될 수 있다고 Komman 등³⁾이 1999년에 제시한 바 있다. 이번 연구에서는 IL-1B(+3954) 대립유전자 2의 발현빈도가 전체적으로 매우 낮았으나, 두 군간에 빈도 차이가 나타나 대립유전자 2가 질환군에서 대조군에 비하여 5배 정도 높았다. 또한 유전형은 IL-1B(+3954)의 대립유전자 2보인자가 질환군에서 대조군에 비하여 4배 빈번하였다. IL-1B(+3954)에서 대립유전자 2는 말초혈액 중 단핵구에서 IL-1 β 생성 증가와 관련된다²¹⁾고 보고되었다²¹⁾. 또한 IL-1A(+4845)와 IL-1B(+3954)에서 각각 대립유전자 2를 하나 이상 보유하는 유전형(소위 positive composite genotype)의 환자는 치은열구액 내 IL-1 α 와 IL-1 β 가 증가하고^{39,40)}, 심한 치주질환을

보인다고 보고되었다⁴¹⁾. 또한 최근의 연구⁴²⁾에서 IL-1A(+4845)와 IL-1B(+3954) 대립유전자 2는 혈액 CRP 수준의 증가와 과도한 염증반응상태와 관련되고, IL-1B(+3954) (2,2)유전형을 보이는 환자는 (1,1) 유전형에 비하여 CRP 수치가 3배정도 높다고 보고되었다. 그러므로 IL-1A(+4845)와 IL-1B(+3954) 대립유전자 2는 전신염증의 증가와 관계있는 것으로 보인다.

또한 IL-1B(-511), IL-1RA(intron 2)도 대립유전자 2가 질환군에서 증가하는 경향을 보였다. IL-1RA의 대립유전자 2는 혈장 수치에서 항염증성 단백질인 IL-1ra의 감소 또는 증가와 관련된다^{43,44)}. IL-1ra는 IL-1활성을 조절하기 위하여 negative feedback으로 국소 생성되며, 급성단계반응에서 항염증 성분으로 다량 분비된다. 그러나 IL-1RA 유전자 다변성이 변화된 염증 반응과 관련되는지는 아직 분명하지가 않다. 그러나 IL-1B(-511)의 유전자 다변성은 IL-1RA(intron 2)과 거의 일치하며, 치주질환과는 관련되지 않으나 IL-1B(-511)과 IL-1RA(intron 2)의 대립유전자 2가 관상동맥 협착 위험을 증가시킨다고 보고되었는데^{13,19)}, 이번 연구에서는 이들이 관상동맥질환의 위험도에 기여하는지 확인할 수 없었다.

이 연구에서 표본수가 적고 흡연과 당뇨병, 전신요인들을 배제하지 못하였다는 제한점이 있어 질환군과 대조군 간에 치주질환 심도가 차이를 보이지는 않았으나 혈중 CHD 지표와의 관계에 있어 치주질환계수와 치은열구액 내 cytokine 간 상관관계가 있음을 확인할 수 있었다. 또한 국소 및 전신염증과정에 기여할 수 있는 IL-1B(+3954) 대립유전자 2의 발현빈도가 증가함을 관찰하여 치주질환의 유전적 위험요인이 심장질환에도 관여할 수 있음을 제시하였다. 이러한 과정에 대하여 인과관계가 성립하는지, 서로 위험요인을 공유하는지는 장기간 연구와 추적조사과정 중 치주질환의 처치를 포함한 중재적 연구 등 추가적 연구를 통해서 확인될 수 있으므로 향후 이러한 추적 및 개입연구가 요구된다.

V. 결론

이 연구는 한국인에서 만성 감염질환인 치주질환

과 관상동맥질환의 위험인자로 작용할 수 있는 염증 표지자와 IL-1 유전자 다변성이 이 두 질환에 어떻게 관련되는지 알아보고자 시행되었다. 이를 위하여 관상동맥 조영술을 실시한 60세 이하의 환자들 중 50% 이상의 협착 병변으로 동맥경화증 진단받은 환자(질환군, n=37)와 유의한 혈관 협착 병변이 발견되지 않은 환자(대조군 n=30)를 대상으로 하여, 임상 치주검사를 시행하고, 치은열구액 내 cytokine (IL-1 β , IL-6, IL-1ra, TNF- α , PGE₂), 혈액중 심혈관질환 지표와 cytokine 농도를 측정하였다. 협점막 상피에서 추출한 DNA를 이용하여 IL-1A(+4845), IL-1B(+3954), IL-1B(-511), IL-1RA(intron 2) 유전자형을 분석하였고 질환군과 대조군에서의 대립유전자 2의 분포율을 비교하여 다음 결과를 얻었다.

1. 치주질환의 심도 면에서 구간 차이는 관찰되지 않았다.
2. 치은열구액 내 cytokine 농도는 질환군에서 높았으며, PGE₂는 대조군에 비하여 유의하게 높았다(P<0.05).
3. 치주낭 깊이 및 부착상실도와 동맥협착도 및 혈중 PGE₂ 농도 간에 양의 상관관계를 보였다. 치태지수와 치주낭 깊이, 부착도와 백혈구 수, CRP, LDH 등 혈중 심혈관질환 지표 간에도 유의한 양성 상관관계를 나타내었다.
4. IL-1 유전형 분석에서 IL-1A(+3954) 대립유전자 2의 분포율은 대조군에 비하여 질환군에서 유의하게 높았다(p<0.05).

이상의 결과로부터 치주질환 병소내 국소 염증산물이 혈류내 cytokine과 심혈관질환 지표에 상관되어 있어 치주 감염이 전신염증반응을 통하여 심혈관질환의 발생에 관여할 수 있음을 알 수 있었고, 이 과정에 IL-1 유전형이 함께 관여하여 관상동맥 질환에 영향을 미칠 수 있음을 보여주었다.

VI. 참고문헌

1. Ross R. Atherosclerosis-an inflammatory disease. N Engl J Med 1999;340:115-26.
2. World Health Organization Statistics, 1997-1999 World Health Statistics Annual.
3. Woolf N. The distribution of fibrin within the aortic intima. An immunohistochemical study. Am J Pathol 1961;39:521-32.
4. Psaty BM, Koepsell TD, Manolio TA, Longstreth WT Jr, Wagner EH, Wahl PW, Kronmal RA. Risk ratios and risk differences in estimating the effect of risk factors for cardiovascular disease in the elderly. J Clin Epidemiol 1990;43:961-70.
5. Kweider M, Lowe GD, Murray GD, Kinane DF, McGowan DA. Dental disease, fibrinogen and white cell count; links with myocardial infarction. Scott Med J 1993;38:73-4.
6. Beck JD, Offenbacher S, Williams R, Gibbs P, Garcia R. Periodontitis: a risk factor for coronary heart disease? Ann Periodontol 1998;3:127-41.
7. Mattila KJ, Nieminen MS, Valtonen VV, Rasi VP, Kesaniemi YA, Syrjala SL, Jungell PS, Isoluoma M, Hietaniemi K, Jokinen MJ. Association between dental health and acute myocardial infarction. BMJ 1989;298:779-81.
8. DeStefano F, Anda RF, Kahn HS, Williamson DF, Russell CM. Dental disease and risk of coronary heart disease and mortality. BMJ 1993;306:688-91.
9. Beck J, Garcia R, Heiss G, Vokonas PS, Offenbacher S. Periodontal disease and cardiovascular disease. J Periodontol 1996;67:1123-37.
10. Thoden van Velzen SK, Abraham-Inpijn SKL, Moorer WR. Plaque and systemic disease: a reappraisal of the focal infection concept. J Clin Periodontol 1984;11:209-20.
11. Page RC. The pathobiology of periodontal diseases may affect systemic diseases: inversion of a paradigm. Ann Periodontol 1998;3:108-20.
12. Li X, Kolltveit KM, Tronstad L, Olsen I. Systemic diseases caused by oral infection. Clin Microbiol
1. Ross R. Atherosclerosis-an inflammatory disease.

Rev 2000;13:547-558

13. Kornman KS, Pankow J, Offenbacher S, Beck J, di Giovine F, Duff GW. Interleukin-1 genotypes and the association between periodontitis and cardiovascular disease. *J Periodont Res* 1999;34:353-7.
14. Kornman KS, Duff GW. Candidate genes as potential links between periodontal and cardiovascular diseases. *Ann Periodontol* 2001;6:48-57.
15. Kinane DF. Periodontal diseases contributions to cardiovascular disease: an overview of potential mechanisms. *Ann Periodontol* 1998;3:142-50.
16. Offenbacher S. Periodontal diseases: pathogenesis. *Ann Periodontol*. 1996;1:821-78.
17. Preiss DS, Meyle J. Interleukin-1 β concentration of gingival crevicular fluid. *J Periodontol* 1994;65:423-8.
18. Duff GW. Cytokines and anti-cytokines. *Br J Rheumatol* 1997;32(Suppl.):15-20.
19. Francis SE, Camp NJ, Dewberry RM, Gunn J, Syrris P, Carter ND, Jeffery S, Kaski JC, Cumberland DC, Duff GW, Crossman DC. Interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism and coronary artery disease. *Circulation* 1999;99:861-6.
20. Kornman KS, Crane A, Wang HY, di Giovine FS, Newman MG, Pirk FW, Wilson Jr. TG, Higginbottom FL, Duff GW. The interleukin-1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1997;24:72-7.
21. Pociot F, Molvig J, Wogensen L, Worsaae H, Nerup J. A TaqI polymorphism in the human interleukin-1(IL-1) beta gene correlates with IL-1 beta secretion in vitro. *Eur J Clin Invest* 1992;22:396-402.
22. Tarlow JL, Blakemore AIF, Lennard A, Solari R, Hughes HN, Steinkasserer A, Duff GW. Polymorphism in human IL-1 receptor antagonists gene intron 2 is caused by variable numbers of an 86-bp tandem repeat. *Hum Genet* 1993;91:403-404.
23. Han SH, Kim KH, Yang SM, Chung HJ, Choi YS, Han SB, Chung CP, Rhyu IC. Mechanism by which periodontitis may contribute to atherosclerosis. *J Kor Acad Periodontol* 2002;32:837-46.
24. Mattila KJ, Valle MS, Nieminen MS, Valtonen VV, Hietaniemi KL. Dental infections and coronary atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1993;103:205-11.
25. Paunio K, Impivaara O, Tiekso J, Maki J. Missing teeth and ischaemic heart disease in men aged 45-64 years. *Eur Heart J* 1993;14:54-6.
26. Josphipura KJ, Rimm EB, Douglass CW, Trichopoulos D, Ascherio A, Willett WC. Poor oral health and coronary heart disease. *J Dent Res* 1996;75:1631-6.
27. Loesche WJ, Schork A, Terpenning MS, Chen YM, Dominguez BL, Grossman N. Assessing the relationship between dental disease and coronary heart disease in elderly U.S. veterans. *JADA* 1998;129:301-11.
28. Hujoel PP, Drangsholt M, Spiekerman C, DeRouen TA. Periodontal disease and coronary heart disease risk. *JAMA* 2000;284:1406-10.
29. Ramfjord SP. Indices for prevalence and incidence of periodontal disease. *J Periodontol*. 1959;30:51. (Cited from) Newman M, Takei HH, Carranza FA Jr. Carranza's Clinical Periodontology, 9th ed, Saunders, 2002;84-85.
30. Hujoel PP, White BA, Garcia RI, Listgarten MA. The dentogingival epithelial surface area revisited. *J Periodont Res* 2001;36:48-55.
31. Thompson SG, Kienast J, Pyke SD, Haverkate F, van de Loo JCW. Hemostatic factors and the risk of myocardial infarction or sudden death in patients with angina pectoris. European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities Angina Pectoris Study Group. *N Engl*

- J Med 1995;332:635-41.
32. Wilson WF, D'Agostino RB, Levy D, Belanger AM, Silbershatz H, Kannel WB. Prediction of coronary heart disease using risk factor categories. *Circulation* 1998;97:1837-47.
 33. Wu T, Trevisan M, Genco RJ, Falkner KL, Dorn JP, Sempos CT. Examination of the relation between periodontal health status and cardiovascular risk factors: serum total and high density lipoprotein cholesterol, C-reactive protein, and plasma fibrinogen. *Am J Epidemiol* 2000;151:273-82.
 34. Noack B, Genco RJ, Trevisan M, Grossi S, Zambon JJ, De Nardin E. Periodontal infections contribute to elevated systemic C-reactive protein level. *J Periodontol* 2001;72:1221-7.
 35. Chung HJ, Rhyu IC, Han SB,, Sutherland JH, Champayne CME, Offenbacher S. Establishment of a mouse model of infection-induced atheroma formation. *J Kor Acad Periodontol* 2003;33:113-25
 36. Li L, Messas E, Batista EL, Levine RA, Amar S. *Porphyromonas gingivalis* infection accelerates the progression of atherosclerosis in a heterogeneous apolipoprotein E-deficient murine model. *Circulation* 2002;105:861-7
 37. Prabhu A, Michalowicz BS, Mathur A. Detection of local and systemic cytokines in adult periodontitis. *J Periodontol* 1996;67:515-522.
 38. Loos BG, Craandijk J, Hoek FJ, Wertheim-van Dillen PM, van der Velden U. Elevation of systemic markers related to cardiovascular diseases in the peripheral blood of periodontitis patients. *J Periodontol* 2000;71:1528-34.
 39. Shirodaria S, Smith J, McKay IJ, Kennett CN, Hughes FJ. Polymorphisms in the IL-1A gene are correlated with levels of interleukin-1 alpha protein in gingival crevicular fluid of teeth with severe periodontal disease. *J Dent Res* 2000;79:1864-9.
 40. Engebretson SP, Lamster IB, Herrera-Abreu M, Celenti RS, Timms JM, Chaudhary AG, di Giovine FS, Komman KS. The influence of interleukin gene polymorphism on expression of interleukin-1 β and tumor necrosis factor- α in periodontal tissue and gingival crevicular fluid. *J Periodontol* 1999;70:567-73.
 41. McDevitt MJ, Wang HY, Knobelman C, Newman MG, di Giovine FS, Timms J, Duff GW, Komman KS. Interleukin-1 genetic association with periodontitis in clinical practice. *J Periodontol* 2000;71:156-63.
 42. Berger P, McConnell JP, Nunn M, Komman KS, Sorrell J, Stephenson K, Duff GW. C-reactive protein levels are influenced by common IL-1 gene variations. *Cytokine* 2002;17:171-4.
 43. Hurme M, Santtila S. IL-1 receptor antagonist (IL-1Ra) plasma level are coordinately regulated by both IL-1Ra and IL-1 β genes. *Eur J Immunol* 1998; 28: 2598-2602.
 44. Rawlinson A, Dalati MHN, Rahman S, Walsh TF, Fairclough AL. Interleukin-1 and IL-1 receptor antagonist in gingival crevicular fluid. *J Clin Periodontol* 2000;27:738-743.

Association between Periodontitis and Coronary heart disease in Korea : Inflammatory markers and IL-1 gene polymorphism

Ha-Na Jeong¹, Hyun-Ju Chung^{1,3}, Ok-Su Kim^{1,3}, Young-Joon Kim^{1,3}, Ju-Han Kim², Jung-Tae Koh³

¹Department of Periodontology

²Department of cardiovascular Medicine

³Dental Science Research Institute, Chonnam National University

Recently epidemiologic studies have indicated that the patients with periodontitis may have increased risk of ischemic cardiovascular events, and have suggested the important roles of blood cytokines and acute reactant proteins in the systemic infection and inflammatory response. Periodontitis and coronary heart disease (CHD) may share the common risk factors and the genetic mechanism associated with interleukin(IL)-1A, B and RA genotype may be involved in the production of IL-1.

This study was aimed to investigate the relationship between angiographically defined CHD and periodontitis as chronic Gram-negative bacterial infection and to determine whether the IL-1 gene polymorphism is associated in both diseases.

Patients under the age of 60 who had undergone diagnostic coronary angiography were enrolled in this study. Subjects were classified as positive CHD (+CHD, n=37) with coronary artery stenosis more than 50% in at least one of major epicardial arteries, and negative CHD (-CHD, n=30) without significant stenosis. After recording the number of missing teeth, periodontal disease severity was measured by means of plaque index (PI), gingival index (GI), bleeding on probing (BOP), probing depth (PD), clinical attachment level (CAL), and radiographic bone loss around all remaining teeth. Gingival crevicular fluid (GCF) was collected from the 4 deepest periodontal pockets and assessed for cytokine (IL-1 β , IL-6, IL-1ra, tumor necrosis factor- α and prostaglandin E₂). Additionally, blood CHD markers, lipid profile, and blood cytokines were analyzed. IL-1 gene cluster genotyping was performed by polymerase chain reaction and enzyme restriction using genomic DNA from buccal swab, and allele 2 frequencies of IL-1A(+4845), IL-1B(+3954), IL-B(-511), and IL-1RA(intron 2) were compared between groups.

Even though there was no significant difference in the periodontal parameters between 2 groups, GCF level of PGE₂ was significantly higher in the +CHD group(p<0.05). Correlation analysis showed the positive relationship among PD, CAL and coronary artery stenosis(%) and blood PGE₂. There was also significant positive relationship between the periodontal parameters (PI, PD, CAL) and the blood CHD markers (leukocyte count, C-reactive protein, and lactic dehydrogenase). IL-1 gene genotyping showed that IL-1A(+3954) allele 2 frequency was

significantly higher in the +CHD group compared with the -CHD group (15 % vs. 3.3 %, OR 5.118, $p=0.043$).

These results suggested that periodontal inflammation is related to systemic blood cytokine and CHD markers, and contributes to cardiovascular disease via systemic inflammatory reaction. IL-1 gene polymorphism might have an influence on periodontal and coronary heart diseases in Korean patients.

Key words; Coronary heart disease, periodontitis, GCF cytokine, Inflammatory markers, IL-1 gene polymorphism