

# 임플란트주위염시 *Porphyromonas gingivalis* 섬모유전형의 출현을

신승일 · 권영혁 · 박준봉 · 허 익 · 정종혁

경희대학교 치과대학 치주과학교실

## I. 서론

골유착 임플란트는 무치악부위를 수복하는 치료 방법 중 하나로써 오랜 기간 동안 양호한 결과를 얻고 있으며 현재 그 사용빈도가 점차 증가하고 있는 추세이다<sup>5)</sup>. 장기간 높은 성공률에도 불구하고 실제 임상에서 유지, 관리중 합병증이 발생할 수 있으며, 임플란트의 사용이 증가함에 따라 임플란트의 실패도 증가하고 있다. 임플란트의 실패란 임플란트가 골유착을 이루거나 유지하기에 부적절함을 의미한다<sup>6)</sup>. 임플란트 실패의 원인에는 크게 두 가지가 있는데, 첫째는 세균학적 원인으로 미생물 감염에 의한 경우이고, 둘째는 생역학적 원인으로 과도한 힘이 가해진 경우라 할 수 있다<sup>7)</sup>. 또한 Mombelli 등(1998)<sup>8)</sup>은 임플란트주위염이란 염증성 과정이 기능중에 있는 골유착된 임플란트주위조직에 발생하여 지지골이 소실되는 것이라 정의하였다. 이는 주로 세균감염에 의한 임플란트주위조직의 반응으로 일어나게 된다.

구강내에는 300종이 넘는 미생물들이 존재한다. 이들은 크게 혐산피, 설배, 치면, 치주낭, 편도 5부위의 주요 환경계에 존재하며 각각 다른 환경계로 서

로 전이가 가능하다<sup>9)</sup>. 치주질환자의 치주낭에는 그람 음성 간균이 많으며 이런 미생물들이 치주질환의 심도를 증가시킨다. Paster 등(2001)<sup>9)</sup>은 깊은 치주낭에서는 *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Actinobacillus actinomycetem-comitans*, *Tannerella forsythensis*, *Treponema denticola* 등이 중요한 역할을 한다고 하였다. 이들은 치주질환에 이환된 치주낭에서 뿐만 아니라 임플란트주위조직에도 영향을 미친다. 건강한 임플란트 주위의 세균총은 건강한 치주조직의 치은연하 분포와 유사하고, 임플란트주위염이 있으면 만성 또는 재발성치주염의 치은연하 세균총과 유사하다는 보고가 많았으며<sup>10-13)</sup>, 임플란트를 식립하기 전의 구강내 세균총 분포가 임플란트 주위의 세균총을 결정한다는 의견이 일반적으로 받아들여지고 있다<sup>10)</sup>.

구강내에서는 미생물들의 전이가 가능하기 때문에 자연치의 치주낭에 존재하는 미생물들이 임플란트주위염구에서도 발견된다. 특히 *P. gingivalis*는 치주질환원인균의 하나로 깊은 치주낭에서 주로 검출되는 그람 음성, black-pigmented, 혐기성 세균인데 자연치의 치주질환 진행에 밀접할 뿐 아니라 임플란트주위의 조직파괴와도 관련이 깊다는 보고들이 많

교신 저자 : 권영혁, 서울시 동대문구 회기동 1번지 경희대학교 치과대학 치주과학교실, 우편번호 : 130-702,  
E-mail : kyhyuk@khu.ac.kr

이 있다<sup>10,11,14</sup>). Sumida 등(2002)<sup>11</sup>)은 자연치와 임플란트의 미생물 검출을 비교하였는데, 치주낭에서 치주염의 진행과 관련이 있는 미생물들인 *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *A. actinomycetemcomitans*, *T. forsythensis*, *T. denticola* 등이 모두 검출되었으며 특히 자연치에서 *P. gingivalis*가 검출된 경우 임플란트의 91.7%에서 검출되었다고 보고하였다. 또한 van Winkelhoff 등(2000)<sup>12</sup>)은 *P. gingivalis*의 수가 증가할수록 임플란트 상실 빈도가 높다고 하였다. Lee 등(1999)<sup>13</sup>)의 연구에서 무치악인 경우와 부분무치악인 경우 모두, 혀와 잔존치, 그리고 임플란트에서 유사한 구성비로 미생물이 나타났고, 완전 무치악인 경우 자연치 주위에 분포하던 *P. gingivalis*는 점차 감소하였다.

Amano 등(1994)<sup>15</sup>)의 *P. gingivalis*의 병원성에 대한 연구를 통해 섬모가 숙주세포에 부착하고 침투하는데 중요한 역할을 하는 것으로 밝혀졌다. 섬모가 *P. gingivalis*의 자가응집능력 과도 연관성이 있다는 보고가 있는데 일반적으로 자가응집은 세균의 병원성과 관련이 있다<sup>6,17</sup>). 그러나 모든 *P. gingivalis* 균주가 동일한 병원성을 갖지는 않으며, *P. gingivalis* 균주에 따라 치주질환의 심도가 다르게 나타난다. 섬모의 하급 단위 단백질인 fimbrillin의 크기와 amino-terminal 염기서열 및 그에 따른 항원이질성이 균주에 따라 달리 나타나고 이들 차이가 병원성의 차이와 연관성이 있는 것으로 보인다<sup>15,18,19</sup>). *fimA* 유전자는 fimbrillin을 encoding하고 있으며 이 유전자 염기서열에 따라 5가지 형(I~V)으로 분류된다<sup>20,21</sup>). 최근에는 제 I 형과 거의 유사한 염기서열(97.1%)을 가지나 약간의 차이를 보이는 제 I 형의 복제변형인 제 I b형이 보고되었다<sup>22</sup>). Amano 등(2000)<sup>23</sup>)의 연구에 의하면 치주질환이 있는 사람에게서는 주로 제 II형 섬모유전형 *P. gingivalis*가 관찰되었고, 다음으로 제 IV형이 우세하였다. 반면 건강한 사람에게서는 제 I 형이 가장 많이 발견되었다. 이 사실은 *P. gingivalis*의 균주간 질환관련성의 차이를 다시 한번 시사하는 것으로 생각된다. 또한 *P. gingivalis* *fimA* 유전형에 따라 기능적 차이와 상피세포에 대한 부착 및 침투효과가 다르게 나타났으며<sup>24</sup>),

제 II형이 다른 것들에 비해 상피세포에 훨씬 더 잘 부착하고 침투한다고 알려져 있다<sup>20,24</sup>). 이를 통해 제 II형 섬모유전형이 *P. gingivalis*의 집락과 치주조직 파괴에 중요한 병원성을 갖고 있음이 밝혀졌고, 이는 특이성 있는 숙주 수용기를 통하여 효과적으로 일어날 수 있으리라 판명되었다.

이전까지의 연구에서 자연치의 치주낭에서 분포하는 *P. gingivalis*의 섬모유전형과 각각의 항원이질성이 밝혀졌다. *P. gingivalis*는 자연치에서 뿐만 아니라 임플란트에서도 그 주위조직의 파괴와 염증의 진행에 관여를 하고 있다. 그러나 아직 임플란트 주위열구에 분포하는 *P. gingivalis*의 섬모유전형에 대해서는 알려지지 않았다. 따라서 이번 연구에서는 임플란트열구내 *P. gingivalis* 섬모유전형의 분포를 관찰하여 건강한 임플란트주위열구와 임플란트주위염이 있는 열구에 분포하는 *P. gingivalis*의 섬모유전형을 비교하고 임플란트 주위조직의 파괴에 밀접한 관련이 있는 *P. gingivalis*의 섬모유전형을 확인하고자 하였다.

## II. 실험재료 및 방법

### 1. 임플란트주위열구의 치은연하치태 채취

임플란트주위염이 있는 치주낭에 존재하는 *P. gingivalis*의 유전형을 조사하기 위해 치태를 수집하였다. 경희대학교 치과대학 부속병원 치주과에 내원하여 유지치주치료를 받고 있는 환자 중 임플란트 지지 보철물을 장착한 사람을 대상으로 치태를 채취하였다. 치태채취를 하기 전에 임플란트용 플라스틱 탐침소자를 이용하여 치주탐침 깊이, 변형 치은열구 출혈지수, 변형 치태지수를 측정하였다. 치주탐침 깊이가 5mm를 기준으로 그 이상인 경우 임플란트주위염에 이환된 실험군으로 분류하고, 5mm미만인 것은 건강한 상태의 대조군으로 분류하였다. 치태 채취시 먼저 치은연상치태를 제거하였고, 면구와 압축 공기로 임플란트 주위로 타액의 유입을 방지하며 시행하였다. 치주낭이 가장 깊은 두 곳에 멸균된 근관 치료용 페이퍼포인트를 1분간 삽입하거나 멸균된 임

Table 1. *P. gingivalis* fimA-specific and 16S rRNA-specific primers used in the study

Specific Primer set	Sequences (5' to 3')	Size (bp)
Universal primers for positive control	AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG	3480
	GGC TAC CTT GTT ACG ACT T	
<i>P. gingivalis</i> 16S rRNA	TGT AGA TGA CTG ATG GTG AAA ACC	197
	ACG TCA TCC CCA CCT TCC TC	
Type I fimA	CTG TGT GTT TAT GGC AAA CTT C	392
	AAC CCC GCT CCC TGT ATT CCG A	
Type II fimA	ACA ACT ATA CTT ATG ACA ATG G	257
	AAC CCC GCT CCC TGT ATT CCG A	
Type III fimA	ATT ACA CCT ACA CAG GTG AGG C	247
	AAC CCC GCT CCC TGT ATT CCG A	
Type IV fimA	CTA TTC AGG TGC TAT TAC CCA A	251
	AAC CCC GCT CCC TGT ATT CCG A	
Type V fimA	AAC AAC AGT CTC CTT GAC AGT G	462
	TAT TGG GGG TCG AAC GTT ACT GTC	

플라판트용 큐렛을 이용하여 치태를 채취하였다. 채취한 페이퍼포인트나 치은연하치태를 1ml의 생리식염수(PBS, pH 7.4)에 수집하였다.

## 2. 치태의 DNA 정제

수집한 치태시료는 즉시 처리하여 DNA를 정제하였다. 우선 PBS에 들어있는 치태를 vortex로 진탕한 다음 4°C에서 2분간 원심분리하여 상층액은 버리고 균 pellet을 100µl lysis buffer (500mM Tris-HCl [pH 9.0], 20mM EDTA [pH 8.0], 10mM NaCl 1% SDS)에 부유시켰다. 균부유액에 10µl의 Proteinase K (20mg/ml)를 첨가하고 37°C에 1시간 배양하였다. 동량의 P:C:I 용액(Sigma)을 넣고 vortex한 다음 4°C에서 20분간 원심분리하고 나서 상층액을 수집하였다. 수집한 상층액에 100% ethanol (500µl)을 첨가한 후 4°C에서 5분간 원심분리하여 상층액은 제거하고 원침된 DNA pellet을 다시 100% ethanol에 부유시키고 원심분리를 반복하였다. 상층액은 제거하고 DNA pellet을 공기 중에 건조시킨 후 TE buffer 20µl에 용해시켰다.

## 3. 중합효소연쇄반응 (PCR)

임플란트주위열구내의 치태에서 *P. gingivalis*의

존재를 확인하기 위해 치태에서 정제한 DNA를 이용하여 PCR을 시행하였다. 사용하는 치태시료내 DNA 존재여부를 확인하기 위해 universal primer를 사용하였다. 또한 *P. gingivalis*에 특이한 16S rRNA 염기 서열에 기초한 CR은 primer 0.8µM, DNA template (20~60µg/ml) 2~5µl, Taq polymerase (Takara; 5units/µl) 0.5µl, 그리고 나머지는 증류수를 첨가하여 최종 용량을 50µl로 조절하였다. PCR은 최초 denaturation을 위해 95°C에서 5분간, 이후 30번의 PCR cycle은 94°C에서 30초, 58°C에서 30초, 72°C에서 30초간 시행하였고, cycle이 끝난 후 72°C에서 최종적으로 7분간 처리하였다. PCR 산물은 2% agarose gel상에서 전기영동 하였고 gel은 ethidium bromide (0.5µg/ml)로 염색한 후 UV 불빛 하에서 PCR산물을 관찰하고 사진촬영하여 기록하였다.

## 4. 통계분석

두 군간의 섬모유전형에 따른 *P. gingivalis*의 검출빈도와 각 군에서의 검출빈도를 비교하기 위하여 chi-square test를 시행하였다.  $p < 0.05$ 일 때 유의성이 있는 것으로 판단하였다. 또, 임플란트주위조직의 건강도와 섬모유전형의 검출빈도 사이의 유의성 있는 상관관계를 확인하기 위하여 logistic regression에

Table 2. Prevalence of *P. gingivalis* and clinical parameters

Group	Control (PD < 5mm)		Test (PD 5mm)	
	Detected	Not	Detected	Not
	41 74.5%	14 25.5%	23 92.0%	2 8.0%
mPI	1.2±0.6	1.2±0.9	1.6±0.9	2.0±0.0
mSBI	1.1±0.7	1.2±0.6	2.4±1.0	2.5±0.7
PD	3.0±0.8	2.7±1.0	6.2±1.3	5.0±0.0

의하여 95% 신뢰구간으로 odds ratio를 계산하였다. 두 가지 통계분석 모두에서 *P. gingivalis*가 검출된 표본을 이용하였고, 검출된 유전형들은 제 I 형에서 V 형으로 분류하였다.

### III. 실험성적

50명의 환자에게서 80개의 임플란트 주위에서 치태를 수집하였다. 환자들의 평균 연령은 52.5±11.7(범위:27~75)세 이었으며, 남자가 18명, 여자가 32명 이었다. 80개의 치태표본 중 64개의 표본에서 *P. gingivalis*가 검출되었다(출현율 80.0%). 치주탐침 깊이가 5mm 미만의 대조군에는 55개의 표본이 포함되었고, 5mm 이상의 임플란트주위염에 이환된 실험군에는 25개의 표본이 포함되어 있었다(Table 2).

Table 3은 치태표본에서 검출된 유전형에 따른 *P. gingivalis*의 분포를 나타내고 있다. 전체적으로 보았을 때, 제 I 형은 22(34.4%), 제 II 형은 24(37.5%), 제 III 형은 3(4.7%), 제 IV 형은 3(4.7%), 제 V 형은 1개(1.6%)의 표본에서 각각 검출되었으며 분류되지 않은 표본도 27개(42.2%)가 있었다. Table 3에서 알 수 있듯이 각각의 유전형이 한 표본에서 하나씩 검출되는 않았으며 2가지의 유전형이 검출된 것과 3가지 유전형이 함께 검출된 것도 있었다. 여기에는 제 I 형과 제 II 형이 함께 검출된 것이 13개(20.3%), 제 II 형과 제 III 형은 1개(1.6%), 제 I 형, 제 II 형, 제 III 형은 1개(1.6%) 있었다. 단독으로 가장 많이 나타난 *P. gingivalis*의 유전형은 제 II 형으로 9개(14.1%)의 표본에서 검출되었고, 다음으로는 제 I 형으로 8개(12.5%)의 표본에서 검출되었다. 또한 제 II 형은 제

I 형과 제 III 형 등 다른 유전형과도 함께 나타나 결과적으로 제 II 형은 총 24개(37.5%)의 표본에서 검출되어 가장 높은 빈도를 보였다.

치주탐침 깊이가 5mm미만인 건강한 군에 속한 표본 55개중 41개에서 *P. gingivalis*가 검출(출현율 74.5%)되었다. 대조군에서 가장 많이 검출된 *P. gingivalis*의 유전형은 제 I 형이었다. 제 I 형은 단독으로 검출된 경우가 6개(14.6%), 제 II 형과 함께 검출된 경우가 5개(12.2%), 제 II 형, 제 III 형과 함께 검출된 경우가 1개(2.4%)로 총 12개(29.3%)에서 나타났다. 다음으로 많이 검출된 것은 제 II 형으로 4개의 표본(9.8%)에서 단독으로 검출되었고, 다른 유전형과 함께 나타난 것이 7개로 총 11개의 표본(26.8%)에서 검출되었다. 유전형이 확인되지 않은 표본도 21개(51.2%) 있었다. 제 III 형은 단독으로는 1개의 표본(1.6%)에서 검출되었고, 제 II 형과 함께 검출된 경우가 1개(1.6%), 제 I 형, 제 II 형과 함께 검출된 경우가 1개(1.6%) 있었다. 제 IV 형과 제 V 형은 각각 1개씩 검출되었다.

치주탐침 깊이가 5mm이상인 표본 25개 중에서 23개의 표본에서 *P. gingivalis*가 검출(출현율 92.0%)되었다. 실험군에서 가장 많이 발견된 *P. gingivalis*의 유전형은 제 II 형으로 단독으로 5개의 표본(21.7%)에서 검출되었으며 제 I 형과 함께 8개의 표본(34.8%)에서 검출되어 총 13개의 표본(56.5%)에서 검출되었다. 제 I 형은 총 10개의 표본(43.5%)에서 검출되었으며, 단독으로는 2개의 표본(8.7%)에서 관찰되었으며 제 II 형과 함께 8개의 표본(34.8%)에서 검출되었다. 제 IV 형은 2개의 표본(8.7%)에서 검출되었다. 제 III 형과 제 V 형이 검출된 표본은 없었다. 유

Table 3, Prevalence of 5 fimA types in *P. gingivalis*-positive samples

fimA Type	Frequency of Occurrence (%) (number of fimA Type)		
	Control (PD <5mm) (n=41)	Test (PD 5mm) (n=23)	Total (n=64)
I	14,6 (6)	8,7 (2)	12,5 (8)
II	9,8 (4)	21,7 (5)	14,1 (9)
III	2,4 (1)	0	1,6 (1)
IV	2,4 (1)	8,7 (2)	4,7 (3)
V	2,4 (1)	0	1,6 (1)
Subtotal	31,7 (13)	39,1 (9)	34,4 (22)
I and II	12,2 (5)	34,8 (8)	20,3 (13)
II and III	2,4 (1)	0	1,6 (1)
Subtotal	14,6 (6)	34,8 (8)	21,9 (14)
I, II and III	2,4 (1)	0	1,6 (1)
Untypeable	51,2 (21)	26,1 (6)	42,2 (27)
I	29,3 (12)	43,5 (10)	34,4 (22)
II <sup>†</sup>	26,8 (11)	56,5 (13)	37,5 (24)
III	7,3 (3)	0	4,7 (3)
IV	2,4 (1)	8,7 (2)	4,7 (3)
V	2,4 (1)	0	1,6 (1)

<sup>†</sup>:statistically significant difference between control group and test group (p<0,05)

전형이 확인되지 않은 표본은 6개(26.1%) 있었다.

Table 4에서 알 수 있듯이 95%의 신뢰구간으로 odds ratio를 구하였을 때, *P. gingivalis*가 임플란트 주위염과 미약한 관련이 있었고(OR 3.926), 제II형 섬모유전형을 갖는 *P. gingivalis*가 임플란트주위염에 유의한 관련이 있는 것으로 나타났다(OR 3.545). 반면, 제I형은 임플란트주위염과 큰 관련이 없었으며(OR 1.859), 제III형과 V형은 상관관계를 구할 수 없었다. 또, 제IV형도 유의성은 없지만 임플란트주위염과 관련이 있었다(OR 3.807).

#### IV. 총괄 및 고찰

이번 연구에서 임플란트 주위염구에서 채취한 치

대시료에 있는 *P. gingivalis* fimA 유전형의 출현율을 조사하였다. 건강한 군에서는 *P. gingivalis* 이환율이 74.5% 이었고, 임플란트주위염에 이환된 군은 92.0% 이었으나 유의한 차이는 없었다. 또 *P. gingivalis*는 임플란트주위염과 관련이 있었으며, 특히 제II형의 유전형을 갖는 균주가 유의한 상관성을 보였다.

Amano 등(1999)<sup>20</sup>과 Nakagawa 등(2002)<sup>22</sup>의 보고에 따르면 일본의 치주질환자는 치주낭이 깊을수록 제II형의 섬모유전형을 갖는 *P. gingivalis*가 나타나는 경향이 높아져 제II형의 섬모유전형 단독 혹은 다른 유전형과 같이 나타나는 경우까지 합쳐 이환율이 70%이상이라 하였다. 또한 건강한 치주상태의 치은열구에서는 검출된 *P. gingivalis*의 76.1%가 제I형이었으며 다음으로는 V형이 많이 검출되었다고

Table 4. Relationship of fimA types with peri-implantitis

Factors	Odds Ratio	95% Confidence Interval
<i>P. gingivalis</i> <sup>†</sup> (all fimA types)	3.926	0.819-18.813
fimA type		
I	1.859	0.641-5.388
II <sup>†</sup>	3.545	1.209-10.394
III	NA	
IV <sup>†</sup>	3.807	0.326-44.451
V	NA	

NA: non-arithmetic

<sup>†</sup>: weak relationship with peri-implantitis

<sup>‡</sup>: relative strong or significant relationship with peri-implantitis

보고하였다<sup>20,22</sup>. Amano 등(2000)<sup>23</sup>의 또 다른 연구에서는 치주염에 이환된 치주낭에서 제II형의 점모 유전형을 갖는 *P. gingivalis*가 가장 많이 검출되었고 다음으로는 제IV형이 검출되었다. 이번 연구에서 대상으로 한 치태표본에서 제II형의 점모유전형을 갖는 *P. gingivalis*는 임플란트주위염구의 탐침깊이가 5mm 이상인 임플란트주위염에 이환된 군의 경우 *P. gingivalis*가 검출된 23개의 표본 중에 13개(56.5%)에서 검출되었고, 5mm 이하인 건강한 군의 경우 *P. gingivalis*가 검출된 41개 표본 중 11개(26.8%)에서 검출되어 상대적으로 적게 나타났다. 이 차이는 통계적으로 유의성이 있었다( $p < 0.05$ ). 이번 연구에서 건강한 임플란트주위염구에서는 제I형이 단독으로 또는 다른 유전형과 함께 가장 높은 빈도(29.3%)로 검출되었으며, 다음으로는 제II형(26.8%)이 높게 검출되었다. 임플란트주위염이 진행되어 탐침깊이가 깊어진 치주낭에서는 제II형이 13개(56.5%)로 가장 많이 검출되었고, 다음으로는 제I형이 6개(43.5%) 검출되었다. 임플란트주위염이 있을 때, 제IV형의 검출빈도(4.7%)는 매우 낮았다. 그러나 통계적으로 유의하게 각 군내에서 뚜렷이 가장 많이 검출된 유전형은 없었고, 제I형과 제II형이 유사한 빈도로 검출되었음을 알 수 있다.

일반적으로 자연치에서 치주탐침 깊이가 3mm 이하인 경우 건강한 상태이고, 그보다 깊을 때를 치주염에 이환된 것으로 분류한다. 그러나 본 연구에서는 5

mm 보다 같거나 깊은 경우를 임플란트주위염에 이환된 것으로 간주하였다. 이는 Karoussis 등(2003)<sup>25</sup>의 연구에서 기술되어 있는 임플란트 성공의 범주에 따른 것이다. 임상검사는 Mombelli 등(1987)<sup>26</sup>에 의해 발표된 변형치태지수와 변형 출혈지수 측정을 시행하였고, mm단위로 탐침깊이를 측정하였다. Mombelli와 Lang(1994)<sup>27</sup>, Brägger 등(2001)<sup>28</sup>에 의한 보고에 따르면 탐침깊이가 5mm를 넘으면 임플란트는 성공하지 못하였다고 하였으며, 또한 탐침깊이가 5mm인 경우 탐침시 출혈이 있으면 실패한 것이라 하였다. 이러한 기준에 맞추어 본 연구에서는 탐침깊이가 5mm 이상인 경우를 임플란트주위염에 이환된 것으로 분류하였다. 하지만 이 기준만으로는 현재 질환이 진행중이거나 활성상태인지 아니면 이미 질환의 진행이 완료되어 안정된 상태에 있는 것인지 알 수는 없다. 질환의 활성도는 출혈지수나 탐침시 출혈에 의해 알 수 있을 것이다. 임플란트주위염이 있다고 하여도 이것이 임플란트의 실패를 의미하는 것은 아니다. 임플란트주위염에 이환되어 지지골이 감소되었어도 적절한 처치와 관리로 더 이상 진행되는 소견이 보이지 않는 경우도 있다. 따라서 임플란트에 있어서는 그 성공의 범주를 탐침깊이가 5mm일 때를 기준으로 하는 것이 타당하다고 여겨진다.

두 가지 이상의 유전형이 함께 검출된 경우가 있었는데, 제I형과 II형이 함께 검출된 경우는 전체적으로 13개(20.3%)로 Amano 등(1999, 2000)<sup>20,23</sup>의 연구

에 비해 세 배 정도 높았다. 이번 연구에서는 제 I 형과 II 형뿐 아니라 제 II 형과 III 형(1.7%), 그리고 제 I 형, II 형, III 형(1.7%)이 함께 검출된 경우도 있었다. 두 가지 또는 세 가지 형태가 함께 검출되었다는 것은 두 가지 또는 세 가지의 유전형이 실제로 동시에 존재하고 있을 수 있고 우리가 알지 못하는 또 다른 유전형(예를 들어 우리가 알고 있는 어떠한 유전형을 세분할 수 있는 것, 즉 subdivision)이 존재할 수도 있다는 가능성을 시사한다<sup>22)</sup>. 또한 분류되지 못한 유전형을 가진 *P. gingivalis*의 분포가 Amaono 등(1999, 2000)<sup>20,23)</sup>과 Nakagawa 등(2000, 2002)<sup>21,22)</sup>의 연구들에 비하여 많이 나타났다. 이것 역시 우리가 알지 못하는 또 다른 유전형이 존재할 것이라는 예상을 할 수 있게 한다. 그러나 우리가 시행한 PCR assay의 감수성이 예민하지 않았을 수도 있다는 가능성 또한 배제할 수 없다. 임플란트주위연구에서 치태를 채취하는 것은 자연치에 비하여 어려운데, 큐렛 등을 이용하여 임플란트 표면에서 직접적으로 얻는 경우보다 페이퍼포인트로 흡수하여 얻는 경우가 대부분이었으므로 채취된 시료내에 *P. gingivalis*의 수가 매우 적을 수 있었을 것이다. 시료내의 검출될 수 있는 세균의 수가 매우 적었기 때문에 PCR assay의 감수성이 낮아졌을 수 있고, 이로 인하여 미분류된 *P. gingivalis*의 분포가 높게 나타났을 수 있다.

이번 연구를 통하여 제 II 형 *fimA*를 갖는 *P. gingivalis* 균주가 건강한 임플란트주위연구에서 보다 임플란트주위염이 진행된 치주낭에서 많이 발견되었고 이 차이는 통계적으로 유의성이 있었다는 것을 알 수 있었다( $p < 0.05$ ). 또한 odds ratio를 구하였을 때, 3.545로 95%의 신뢰구간 내에서 임플란트주위염과 유의한 관련이 있는 것으로 나타났다.

섬모의 부착기능과 면역학적 활성도에 대한 광범위한 연구<sup>29)</sup>가 있었는데 이를 통해 *P. gingivalis*의 섬모가 중요한 병원성을 갖고 있으며, 따라서 백신에의 이용가능성이 시사 되었다. 지금까지 알려진 제 II 형 *fimA*를 갖는 *P. gingivalis* 균주에는 HW24D1, OMZ314, OMZ409, A7A2-10, AJW4, THUR28BM2, AJW3, JKG7, A7A1-28(ATCC53977) 등이 있다<sup>18,24)</sup>. 특히 제 II 형 섬모유전형을 갖는 침투성의 A7A1-28

균주는 백서실험에서 피하주사 하였을 때 전신적인 독성으로 백서를 죽일 수 있다는 보고가 있었다<sup>30,31)</sup>. 병원성과 침투성이 있는 균주들은 모두 피막화되어 있으며, 피막화되어 있는 종들은 제 I 형이나 제 IV 형 교원질과 같은 숙주 단백질에는 잘 부착하지 않는다는 것이 보고 되었다<sup>32-34)</sup>. 그러나 최근 Nakagawa 등(2002)<sup>35)</sup>의 연구에 의하면 제 II 형의 섬모유전형을 갖는 *P. gingivalis* 균주가 다른 것들에 비해 상피세포에 훨씬 더 잘 부착하고 침투한다고 하였으며, 섬모모세포에 대해서는 부착과 침투의 정도 차이가 뚜렷하지 않다고 하였다. 이것으로 미루어보면 이 연구 결과는 제 II 형의 섬모유전형이 *P. gingivalis*의 집락에 중요한 역할을 하고 치주조직파괴를 야기하는 병원성을 가지며 임플란트 주위조직에 대해서도 비슷한 역할을 함을 보여준다. 임플란트주위염과 제 II 형 섬모유전형 간에 유의성 있는 상관관계를 보였지만, 임플란트주위염에 이환된 치주낭에서 제 II 형이 제 I 형에 비해 통계적으로 유의성 있게 높은 빈도로 나타나지 않았다. 또한 두 가지 유전형이 함께 나타난 경우가 많았다. 따라서 임플란트주위조직의 파괴에 대한 제 II 형 유전형의 효과를 좀더 분명히 확인하기 위해서는 추가적인 연구를 하여야 할 필요가 있다.

Amano 등(2000)<sup>23)</sup>의 연구에 의하면 제 II 형뿐 아니라 제 IV 형의 섬모유전형을 가진 *P. gingivalis* 균주도 치주질환과 밀접한 관련이 있을 것 같다고 하였다. 이번 연구에서 임플란트주위염이 있을 때 제 IV 형은 낮은 빈도(8.7%)로 검출되었고, 통계적으로 유의성은 없었으나 임플란트주위의 건강도에 약간의 상관관계가 있었다. Amano 등(1999, 2000)<sup>20,23)</sup>과 Nakagawa 등(2000, 2002)<sup>21,22)</sup>의 치주염과 *P. gingivalis* 유전형 분포 사이의 관련성에 대한 연구와 비교하였을 때, 제 II 형의 섬모유전형을 갖는 *P. gingivalis*가 임플란트주위염과 밀접한 관련이 있다는 점에서는 유사하였지만, 제 IV 형의 섬모유전형을 갖는 *P. gingivalis*에 대하여 밀접한 관련이 있다고 할 수는 없을 것으로 판단된다. 그러나 제 II 형 섬모유전형을 갖는 균주인 A7A1-28뿐 아니라 제 IV 형에 속하는 W50균주도 백서에 피하주사 하였을 때, 국소적으로

만 증식하지 않고 북부쪽으로 이동하여 농양을 형성하고 백서를 죽일 수 있다는 보고<sup>31,36)</sup>가 있었으므로 제IV형과 임플란트주위조직의 건강도에 대한 관련성을 간과할 수 없으며 이에 대한 추가적인 연구가 필요하다.

이상의 결과로 임플란트주위염이 진행되어 치주탐침깊이가 증가된 임플란트주위열구에 자연치에서와 유사하게 제II형의 섬모유전형을 갖는 *P. gingivalis*의 분포가 높아졌음을 알 수 있었고 이 차이는 통계적으로 유의성이 있었다. 또한 임플란트주위조직의 건강도에 *P. gingivalis*가 밀접한 관련이 있다고 할 수는 없었으나 제II형 섬모유전형을 갖는 *P. gingivalis*가 통계적으로 유의성 있는 상관관계를 보였다. 임플란트 주위조직의 건강도에 제II형의 섬모유전형을 갖는 *P. gingivalis* 균주가 밀접한 관련이 있는 것으로 나타났지만, 이를 정설화 하기 위해서는 앞으로 본 연구에서 시행한 표본보다 더 많은 표본을 대상으로 하여, 치주탐침깊이 뿐만 아니라 탐침시 출혈과 골소실의 양까지 고려한 임플란트주위염의 판단기준으로 연구를 진행하여 좀 더 유의성 있는 결과를 얻어야만 할 것이다. 그리고, 병원성이 높은 red complex 인 *Tan-nerella forsythensis*, *Treponema denticola* 등에 대한 연구도 필요할 것이라 생각된다.

## V. 결론

*P. gingivalis*는 치주질환원인균의 하나로 그 병원성은 주로 섬모의 부착과 침투에 의한다. 이는 치주질환원인균일뿐 아니라 임플란트 주위의 건강도에 밀접한 관련이 있다. 모든 *P. gingivalis* 균주가 질환과 연관성이 있지는 않다. 병원성의 차이는 *P. gingivalis* 섬모유전형에 따라 다르고 주로 제II형 유전형의 섬모가 다른 것에 비하여 더욱 잘 세포에 부착하고 침투하며 치주질환자에서 높은 빈도로 검출되었다. 그러나 아직 임플란트주위열구에서 주로 분포하는 *P. gingivalis*의 섬모유전형에 대해서는 알려지지 않았었다. 이번 연구에서는 임플란트주위열구에서 채취한 치태에서 DNA를 정제하여 임플란트주위염이 있을 때 *P. gingivalis* 유전형의 출현율을 16S

rRNA fimbriae gene-directed PCR로 조사하였고 다음의 결론을 얻었다.

1. *P. gingivalis* 이환율을 조사한 결과 탐침깊이가 5mm 미만인 건강한 군(74.4%)보다 5mm 이상인 임플란트주위염에 이환된 군(92.0%)에서 더 높게 나타났으나 통계적 유의성은 없었다.
2. 건강한 군에서 가장 많이 검출된 *P. gingivalis* 섬모유전형은 제 I 형 이었고(29.3%), 다음으로는 제II형(26.8%)이 많이 검출되었다. 임플란트주위염에 이환된 군에서 가장 많이 검출된 유전형은 제II형(56.5%) 이었고, 다음으로 많이 검출된 유전형은 제 I 형(43.5%) 이었다.
3. 가장 병원성이 높은 것으로 알려진 제II형의 섬모유전형을 갖는 건강한 군(26.8%)보다 임플란트주위염에 이환된 군(56.5%)에서 검출빈도가 더 높았고 통계적으로 유의성이 있었다 ( $p < 0.05$ ).
4. *P. gingivalis*가 임플란트주위조직의 건강도에 대하여 미약하지만 관련이 있는 것으로 나타났으며(OR 3.926), 다른 섬모유전형에 비하여 제II형의 섬모유전형을 갖는 *P. gingivalis*가 임플란트주위염과 유의성 있는 상관관계가 있었고(OR 3.545), 제IV형의 섬모유전형을 갖는 *P. gingivalis*는 임플란트주위염과 약간의 상관관계가 있는 것(OR 3.807)으로 나타났다.

## VI. 참고문헌

1. Adell R, Leckholm U, Rockler B, Br emark PI. A 15-year study of osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. Int J Oral Surg 1981;10:387-416.
2. Jemt T, Leckholm U, Adell R. Osseointegrated implants in the treatment of partially edentulous patients: a preliminary study on 876 consecutively placed fixtures. Int J Oral Maxillofac Implants 1989;4: 211-217.
3. Jemt T, Leckholm U. Oral implant treatment in

- posterior partially edentulous jaws: a 5-year follow-up report. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1993;8:635-640.
4. Leckholm U, Gunne J, Henry P, Higuchi K, Linden U, Bergstrom C, van Steenberghe D. Survival of the Brånemark implant in partially edentulous jaws: a 10-year prospective multicenter study. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1999;14:639-45.
  5. Noack N, Willer J, Hoffmann J. Long-term results after placement of dental implants: longitudinal study of 1964 implants over 16 years. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1999;14:748-755.
  6. Esposito M, Hirsch JM, Leckholm U, Thomsen P. Biological factors contributing to failures of osseointegrated oral implants. ( I ) Successful criteria and epidemiology. *Eur J Oral Sci* 1998;106:527-551.
  7. Quirynen M, de Soete M, van Steenberghe D. Infectious risks for oral implants: a review of the literature. *Clin Oral Impl Res* 2002;13:1-19.
  8. Mombelli A, Lang NP. The diagnosis and treatment of periimplantitis. *Periodontol* 2000 1998;17:63-76.
  9. Paster BJ, Boches SK, Galvin JL, Ericson RE, Lau CN, Levanos VA, Sahasrabudhe A, Dewhirst FE. Bacterial diversity in human subgingival plaque. *J Bacteriol* 2001;183:3770-3783.
  10. Heydenrijk K, Meijer HJ, van der Reijden WA, Raghoobar GM, Vissink A, Stegenga B. Microbiota around root-form endosseous implants: a review of the literature. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2002;17:829-838.
  11. Sumida S, Ishihara K, Kishi M, Okuda K. Transmission of periodontal disease-associated bacteria from teeth to osseointegrated implant region. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2002;17:696-702.
  12. van Winkelhoff AJ, Goene R, Benschop C, Folmer T. Early colonization of dental implants by putative periodontal pathogens in partially edentulous patients. *Clin Oral Impl Res* 2000;11:511-520.
  13. Lee KH, Tanner AC, Maiden MF, Weber HP. Pre- and post-implantation microbiota of the tongue, teeth, and newly placed implants. *J Clin Periodontol* 1999;26:822-832.
  14. Listgarten MA, Lai CH. Comparative microbiological characteristics of failing implants and periodontally diseased teeth. *J Periodontol* 1999;70:431-437.
  15. Amano A, Sojar HT, Lee JY, Sharma A, Levin MJ, Genco RJ. Salivary receptors for recombinant fimbriin of *Porphyromonas gingivalis*. *Infect Immun* 1994;62:3372-3380.
  16. Golden, N.J., Acheson, D.W. Identification of mobility and autoagglutination *Campylobacter jejuni* mutants by random transposon mutagenesis. *Infect Immun* 2002;70:1761-1771.
  17. Chiang SL, Taylor RK, Koomey M, Mekalanos JJ. Single amino acid substitutions in the N-terminus of *Vibrio cholerae* TcpA affect colonization, autoagglutination, and serum resistance. *Mol Microbiol* 1995;17:1133-1142.
  18. Lee JY, Sojar HT, Bedi GS, Genco RJ. *Porphyromonas*(*Bacteroides*) *gingivalis* fimbriin: size, amino-terminal sequence, and antigenic heterogeneity. *Infect Immun* 1991;59:383-389.
  19. Lee JY, Sojar HT, Amano A, Genco RJ. Purification of major fimbrial proteins of *Porphyromonas gingivalis*. *Protein Expr Purif* 1995;6:496-500.
  20. Amano A, Nakagawa I, Kataoka K, Morisaki I, Hamada S. Distribution of *Porphyromonas gingivalis* strains with *fimA* genotypes in periodontitis patients. *J Clin Microbiol* 1999;37:1426-1430.
  21. Nakagawa I, Amano A, Kimura RK, Nakamura

- T, Kawabata S, Hamada S. Distribution and molecular characterization of *Porphyromonas gingivalis* carrying a new type of *fimA* gene. *J Clin Microbiol* 2000;38:1909-1914.
22. Nakagawa I, Amano A, Ohara-Nemoto Y, Endoh N, Morisaki I, Kimura S, Kawabata S, Hamada S. Identification of a new variant of *fimA* gene of *Porphyromonas gingivalis* and its distribution in adults and disabled population with periodontitis. *J Periodontol* 2002;37:425-432.
  23. Amano A, Kuboniwa M, Nakagawa I, Akiyama S, Morisaki I, Hamada S. Prevalence of specific genotypes of *Porphyromonas gingivalis* *fimA* and periodontal health status. *J Dent Res* 2000;79:1664-1668.
  24. Karoussis IK, Salvi GE, Heitz-Mayfield LJ, Brägger U, Hammerle CH, Lang NP. Long-term implant prognosis in patients with and without a history of chronic periodontitis: a 10-year prospective cohort study of the ITI Dental Implant System. *Clin Oral Impl Res* 2003;14:329-339.
  25. Mombelli A, van Oosten MAC, Schurch E, Lang NP. The microbiota associated with successful or failing osseointegrated titanium implants. *Oral Microbiol Immunol* 1987;2:145-151.
  26. Mombelli A, Lang NP. Clinical parameters for the evaluation of dental implants. *Periodontol* 2000 1994;4:81-86.
  27. Brägger U, Aeschlimann S, Burgin W, Hammerle HFC, Lang NP. Biological and technical complications and failures with fixed partial denture (FPD) on implants and teeth after four to five years of function. *Clin Oral Impl Res* 2001;12:26-34.
  28. Hamada S, Amano A, Kimura RK, Nakagawa I, Kawabata S, Morisaki I. The importance of the fimbriae in the virulence and etiology of some oral bacteria. *Oral Microbiol Immunol* 1998; 13:129-138.
  29. Hamada S, Fujiwara T, Morishima T, Takahashi I, Nakagawa I, Kimura S, Ogawa T. Molecular and immunological characterization of the fimbriae of *Porphyromonas gingivalis*. *Microbiol Immunol* 1994;38:921-930.
  30. Chen PB, Neiders ME, Millas SJ, Reynolds HS, Zambon JJ. Effect of immunization on experimental *Bacteroides gingivalis* infection in a murine model. *Infect Immun* 1987;55:2534-2537.
  31. Neiders NE, Chen PB, Suido H, Reynolds HS, Zambon JJ, Shlossman M, Genco RJ. Heterogeneity of virulence among strains of *Bacteroides gingivalis*. *J Periodontol Res* 1989;24:192-198.
  32. Amano A, Shizukuishi S. Plaque formation: involvement of salivary protein molecules. *Dent Outlook* 1996;87:217-227.
  33. Naito Y, Tohda H, Okuda K, Takazoe I. Adherence and hydrophobicity of invasive and noninvasive strains of *Porphyromonas gingivalis*. *Oral Microbiol Immunol* 1993;8:195-202.
  34. Naito Y, Gibbons RJ. Attachment of *Bacteroides gingivalis* to collagenous substrata. *J Dent Res* 1988;67:1075-1080.
  35. Nakagawa I, Amano A, Kuboniwa M, Nakamura T, Kawabata S, Hamada S. Functional differences among *fimA* variants of *Porphyromonas gingivalis* and their effects on adhesion to and invasion of human epithelial cells. *Infect Immun* 2002;70:277-285.
  36. van Steenberghe TJM, Kastelein P, Touw JJ, de Graaff J. Virulence of black-pigmented *Bacteroides* strains from periodontal pockets and other sites in experimentally induced skin lesions in mice. *J Periodontol Res* 1982;17:41-49.

## Prevalence of *fimA* Genotypes of *Porphyromonas gingivalis* Strains in peri-implantitis patients

Seung-Il Shin, Young-Hyuk Kwon, Joon-Bong Park, Yeek Herr, Jong-Hyuk Chung

Department of Periodontology, Kyung Hee University, Seoul, Korea

Fimbriae (*fimA*) of *Porphyromonas gingivalis* are filamentous components on the cell surface and are thought to play an important role in the colonization and invasion of periodontal tissue. *P. gingivalis* *fimA* gene encoding fimbrillin, a subunit of fimbriae, has been classified into 5 genotypes (types I to V) based on the nucleotide sequences. In the present study, we examined the prevalence of these *fimA* genotypes in patients with dental implant and the relationship between prevalence of these genotypes and peri-implantitis. Dental plaque specimens obtained from 80 peri-implant sulci of 50 patients with dental implants were analyzed by 16S rRNA *fimA* gene-directed PCR assay.

*P. gingivalis* were detected in 74.4% of the samples of the control group (healthy peri-implant sulci; probing depth < 5mm) and in 92.0% of the samples of the test group (peri-implant sulci with peri-implantitis; probing depth ≥ 5mm). Among the *P. gingivalis*-positive samples of the control group, the most prevalent *fimA* type was type I (29.3%), followed by type II (26.8%). In contrast, a majority among the *P. gingivalis*-positive samples of the test group was type II (56.5%), followed by type I (43.5%). Type II *fimA* genotype organisms were detected more frequently in the test group and a significant difference in the occurrence of type II was observed between test and the control groups. A correlation between specific *fimA* types and peri-implant health status was found in type II (OR 3.545) and only a weak relationship was revealed in type IV (OR 3.807).

These findings indicate that *P. gingivalis* strains that possess type II *fimA* are predominant in peri-implant sulci with peri-implantitis and are closely associated with peri-implant health status. *P. gingivalis* with type II *fimA* may be involved in peri-implantitis.