

원저

口眼喎斜 患者의 Matrix Metalloprotease-1 (MMP-1)의 遺傳子 多形性에 대한 研究

최성훈 · 이경민 · 이봉효 · 임성철 · 정태영 · 서정철

대구한의대학교 한의과대학 침구경혈학교실

Abstract

The Clinical Study on Matrix Metalloprotease-1 Gene Polymorphism in Korean Facial Nerve Palsy Patients

Choi Sung-hun, Lee Kyung-min, Lee Bong-hyo, Lim Seong-chul,
Jung Tae-young and Seo Jung-chul

Department of Acupuncture & Moxibustion, College of Oriental Medicine, Daegu Haany University

Objectives : This study was designed to investigate the relation between the matrix metalloprotease-1 gene polymorphism and facial nerve palsy in Korean population.

Methods : This study was carried out on 102 facial nerve palsy patients who were treated with oriental medicine therapy at the department of acupuncture & moxibustion, hospital of Oriental medical college, Daegu Hanny University and 104 healthy control subjects. Blood samples from all subjects were obtained for DNA extraction. We have investigated the genotyping of matrix metalloprotease-1 by using Pyrosequencing.

Results : The genotypes of matrix metalloprotease-1 gene were G/G homozygotes, A/G heterozygotes and A/A homozygotes. There was no significant difference between the control and facial nerve palsy groups.

Conclusion: We concluded that there was no significant association between matrix metalloprotease-1 gene polymorphism and facial nerve palsy in Korean population. However, the findings of this study need to be confirmed in more patients and further studies.

Key words : Facial Nerve Palsy, Matrix Metalloprotease-1, Polymorphism.

- 접수 : 2007년 3월 10일 · 수정 : 2007년 3월 22일 · 채택 : 2007년 3월 22일
· 교신저자 : 서정철, 대구시 수성구 상동 165번지 대구한의대학교 한의과대학 침구경혈학교실
Tel. 054-450-7707 E-mail : acumox@hanmail.net

I. 序 論

말초성 안면신경마비는 평소 건강하던 사람에게 발생하여 정신적인 스트레스, 기능적 후유증을 동반하는 질환인데 한의학에서는 口眼喎斜의 범주에 해당된다¹⁾. 이 질환은 1년에 인구 10만 명당 약 30명 정도 발생하며²⁾, 마비의 부위를 예측하는 데는 누랑 검사, 등골근 반사 검사, 타액 유량 검사, 미각 검사 등이 있으며, 안면신경 자체의 손상 정도나 변성을 측정하는 방법으로는 전기자극을 이용한 역치검사(Nerve excitability test), 신경전도검사(Electroneurography, ENoG), 근전도술(Electromyography, EMG), 안륜근 반사(Blink reflex test) 등이 있다³⁾.

口眼喎斜은 원인불명의 허부신경원 형태의 마비이며 특발성, 바이러스, 혈관허혈성, 유전 및 자가면역이상 등이 있다. 최근에는 바이러스 감염에 관한 연구가 이루어지고 있으며, 특히 Herpes simplex virus (HSV)가 안면신경을 감염시켜 특발성 안면마비를 유발시킨다는 보고가 있다⁴⁻⁶⁾.

口眼喎斜은 口僻⁷⁾, 喎僻⁸⁾, 口噤喎斜⁹⁾, 口噤眼合⁹⁾, 風牽喎僻¹⁰⁾, 口喎¹¹⁾ 등 여러 가지로 표현되어 왔으며 陳¹²⁾의 《三因方》에서 口眼喎斜를 언급한 뒤 口眼喎斜라는 용어가 대표적으로 사용되었다. 이 질환은 일반적으로 精氣가 不足하여 經絡이 空虛하고 衛氣가 不固하며 風邪가 經絡 중에 乘虛하여 발생한다고 하며, 외모가 중시되는 오늘날 口眼喎斜 질환의 중요성은 점점 커지고 있다¹³⁾.

현재까지 알려진 세포외기질의 분해 효소 중 많이 연구되고 있는 것 중의 하나가 바로 Matrix Metalloprotease(MMP)들이다. 이들은 현재까지 26종 이상이 밝혀졌으며 이들은 정상적인 상처 치유, 뼈의 성장, 배아 발생 등에서도 발현되며, 류마티스, 동맥경화, 암 전이 등에서도 비정상적으로 발현된다는 보고가 있다^{14,15)}.

안면신경은 외상, 종양등의 신생물, 감염 등에 의해 손상될 수 있으며¹⁶⁻¹⁸⁾ 감염 시 MMP-1은 활성화되어 증가하게 되는데¹⁹⁾ 말초성 안면신경마비인 구안와사의 유전적 요인 및 안면신경의 염증에 대한 MMP-1 유전자의 다형성의 관련성은 아직 알려지지 않았다. 이에 저자는 구안와사와 MMP-1 유전자의 다형성과의 연관성을 알아보기 위해 2004년 5월 1일부터 2005년 12월 31일까지 대구한의대학교 부속한방병원에 내원한 환자를 대상으로 Matrix

Metalloprotease-1(MMP-1) 유전자다형성을 관찰하여 그 결과를 보고하는 바이다.

II. 實 驗

1. 연구 대상

1) 환자군

환자군은 2004년 5월 1일부터 2005년 12월 31일까지 대구한의대학교 부속한방병원에 말초성 안면신경마비(口眼喎斜)로 내원한 104명의 환자를 대상으로 하였다. 말초성 안면신경마비의 진단은 누랑 검사, 등골근 반사 검사, 타액 유량 검사, 미각 검사 등으로 진단하였다. 이외에도 이비인후과적, 뇌 혹은 측두엽 부근의 자기공명영상(MRI)이나 측두골의 컴퓨터 단층촬영(CT)과 같은 방사선적 검사는 중추성 안면신경마비와 감별을 위해 필요에 따라 시행하였다. 환자군은 만성질환, 약물복용 혹은 안면마비 등의 기왕력이 없으며 최근 1개월간 급성 감염이 없는 환자를 대상으로 하였다.

2) 대조군

대조군은 2004년 5월 1일부터 2005년 12월 31일까지 대구한의대학교 부속한방병원에서 종합건강검진을 시행한 102명의 건강한 한국인을 대상으로 하였다. 대조군은 환자군과 동일한 인종적 배경, 연령과 성별에 맞추어 선정하였다.

2. 한방치료

환자군의 치료는 1개월간 鍼灸治療와 藥物治療를 병행하였다.

1) 鍼灸治療

鍼灸治療는 Stainless steel needles(0.25×0.4mm, 동방침구사) 毫鍼을 사용하였고 자침 깊이는 환자의 상태에 따라 5mm-25mm를 선택적으로 하였고, 유침은 15분간 하였다. 治療穴은 口眼喎斜 가운데 임상적 빈도가 높은 頰車(S₆), 地倉(S₄), 承漿(CV₂₄), 承泣(S₁), 翳風(TE₁₇), 四白(S₂), 絲竹空(TE₂₃), 迎香(LI₂₀) 등을 選穴하였다²⁰⁾. 灸治療는 間接灸(회춘구:봉래구관사)를

1일 3壯 시술하였다.

2) 藥物治療

처방은 급성기엔 理氣去風散(南星, 半夏, 天麻, 川芎, 白芷, 荊芥, 防風, 白芍藥, 甘草, 羌活, 獨活, 枳殼, 靑皮, 陳皮, 烏藥, 桔梗 2.25g)을 위주로 하였고, 만성기에는 加味補益湯(黃芪 8g, 陳皮, 當歸, 白朮, 人蔘, 熟地黃, 甘草, 白茯苓, 白芍藥, 川芎 4g, 防風, 白蘆蠶, 南星, 生薑, 羌活, 全蟲, 秦凡, 半夏 3g, 蓬朮, 柴胡, 升麻, 大棗 2g)을 환자에 따라 選用하였다²¹⁾.

3. MMP-1의 단일염기유전자다형성 Genotyping

1) DNA 샘플

혈액샘플은 마지막 식사 시간에 관계없이 前肘靜脈(antecubital vein)에서 채취하였으며 모든 대상자에게 시험에 대한 동의를 받았다. 혈액에서 QIAmp DNA Blood Midi Kit(QIAGEN, Germany)를 사용하여 DNA를 추출하였으며 추출한 DNA는 4℃에 보관하였다.

2) PCR 증폭

MMP-1 유전자는 25ng의 DNA를 이용하여 증폭되었으며 sense와 antisense는 5 pmol 농도로 제작하였다(Sense 5'-TGGCTCTGAGTAAAGGATTAAGGGAAG-3', antisense 5'-GTGGCTCTTCGGGGTTCTCT-3').

PCR 증폭은 0.5 unit Taq polymerase(IIT Biotechnology Ltd., Cambridge, United Kingdom)와 총 25ul의 PCR 반응액(10mM Tris-HCl, pH 9.0, 1.5 mM magnesium chloride, 50mM potassium chloride, 0.1% Triton-X 100, 0.01% [v/v] stabilizer, 0.25mM each deoxynucleotide triphosphate(dNTP), 0.1 M oligonucleotide primer)를 이용하였다. PCR 과정은 95℃ 5분, 30cycles(95℃ 30초, 62℃ 45초, 72℃ 30초)의 순서로 Gene-Amp PCR System 9600(Perkin-Elmer, USA)을 이용하여 수행하였다.

3) Pyrosequencing 반응을 위한 준비

Single-stranded DNA의 준비를 위해 antisense primer에 biotin을 붙였다. PCR 산물은 2%의

agarose gel로 전기영동하여 확인하였으며 PCR 산물에 streptavidin sepharose beads(Streptavidin Sepharose HP, Amersham Pharmacia Biotech, Sweden)를 표준 protocol(Pyrosequencing AB, Sweden)에 따라 부착하였다²²⁾.

Sequencing primer는 MMP-1 seq 5'-TGTTAA GCTGCCTGG-3'의 G/A 변이 위치에 가깝게 디자인하였다. 20ul의 biotinylated PCR 산물에 streptavidin-coated sepharose beads를 부착시킨 후 실온에서 10분간 방치후 이를 Millipore 96-well filter plate (Millipore, Bedford, MA)에 옮겼다. Bead는 well 안에 남기고 순수한 single stranded DNA를 얻고 여러 다른 용액과 시약을 제거하기 위해 진공펌프를 이용하였다²³⁾.

PCR strand는 50ul의 0.2M sodium hydroxide에 1분간 방치한 후 150ul의 10mM Tris-acetate(pH 7.6)에서 두 번 세척한 후 분리되었다. Bead는 0.35M sequencing primer TNF- α seq를 포함한 55ul의 4M acetic acid에서 다시 현탁되었다. 그 후 45ul의 현탁액은 PSQ 96 plate (Pyrosequencing AB, Uppsala, Sweden)에 옮겨졌다²⁴⁾.

4) Pyrosequencing 분석

샘플을 포함하고 있는 PSQ 96 plate는 sequencing primer가 annealing되게 하기 위해서 80℃에서 PSQ 96 Sample Prep Thermoplate(Pyrosequencing AB, Uppsala, Sweden)를 이용하여 2분간 데워졌다. 그 후 실온에서 5분간 방치 후 PSQ 96 Plate는 PSQ 96 instrument(Pyrosequencing AB, Uppsala, Sweden)의 chamber에 옮겨졌다. PSQ 96 Single nucleotide polymorphism (SNP) Reagent Kit(Pyrosequencing AB, Uppsala, Sweden)의 cassette로부터 enzyme, substrate, nucleotide 등이 well로 분배되었다²⁵⁾. 이 과정에서 nucleotide가 DNA strand에 합쳐질 때 나타나는 빛을 특수카메라가 인식하여 자동으로 MMP-1 유전자의 단일염기유전자 다형성을 판독하였다.

4. 통계 처리

환자군과 대조군 사이에서 유전자형 분포의 차이와 대립유전자(alleles) 분포의 차이는 χ^2 -test를 하였다. 유의성 검증은 $p < 0.05$ 로 하였으며, 통계프로그램은 SAS statistical package(release 8.1, SAS Institute Inc., USA)를 이용하였다.

III. 結 果

1. 대상자의 일반적인 특징

성별 분포는 구안와사 환자군 102명 중 남자가 57명, 여자가 45명이었고, 대조군 104명 중에서는 남자가 47명, 여자가 57명이었다. 평균 연령은 구안와사 환자군이 44.9±15.2세였고, 대조군은 45.4±6.9세였다(Table 1).

Table 1. Gender and Age distribution of Subjects

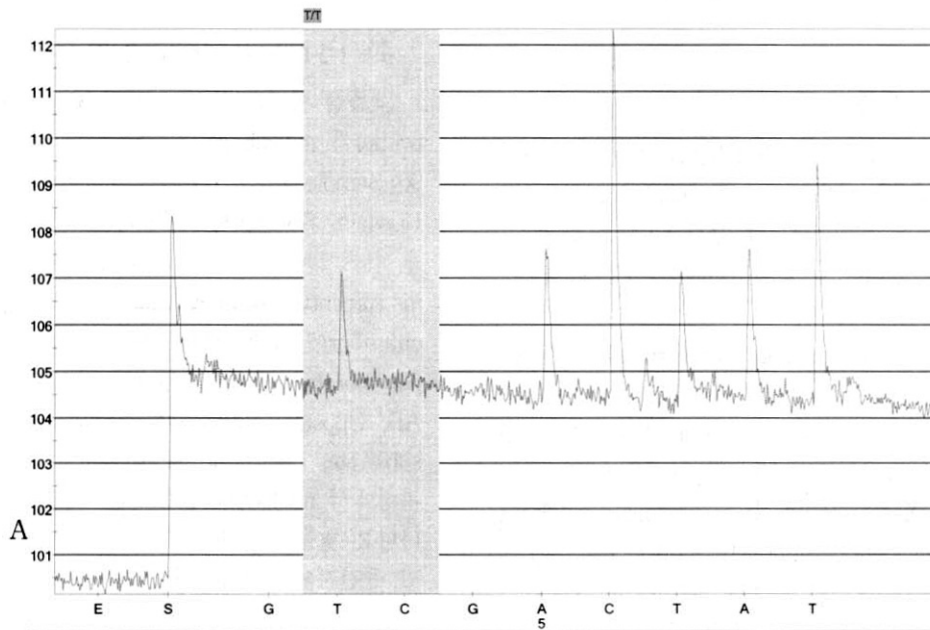
	Facial palsy patients (n=102)	Controls (n=104)	p value
Gender(Male / Female)	57 / 45	47 / 57	0.125
Age(year)	44.9 ± 15.2	45.4 ± 6.9	0.788

Chi-square tests was used to compare sex between controls and facial palsy patients. Age(mean ± SD) was compared by t-test.

2. Pyrosequencing 결과

Pyrosequencing은 DNA sequencing에 이용되는 Single Nucleotide Polymorphism(SNP) 분석방법으로

DNA가 합성되는 동안 방출되는 inorganic pyrophosphate (PPi)의 light 발현을 detect하는 방법으로 MMP-1 gene의 A/A, G/G 및 A/G genotype의 결과는 다음과 같다(Fig. 1).



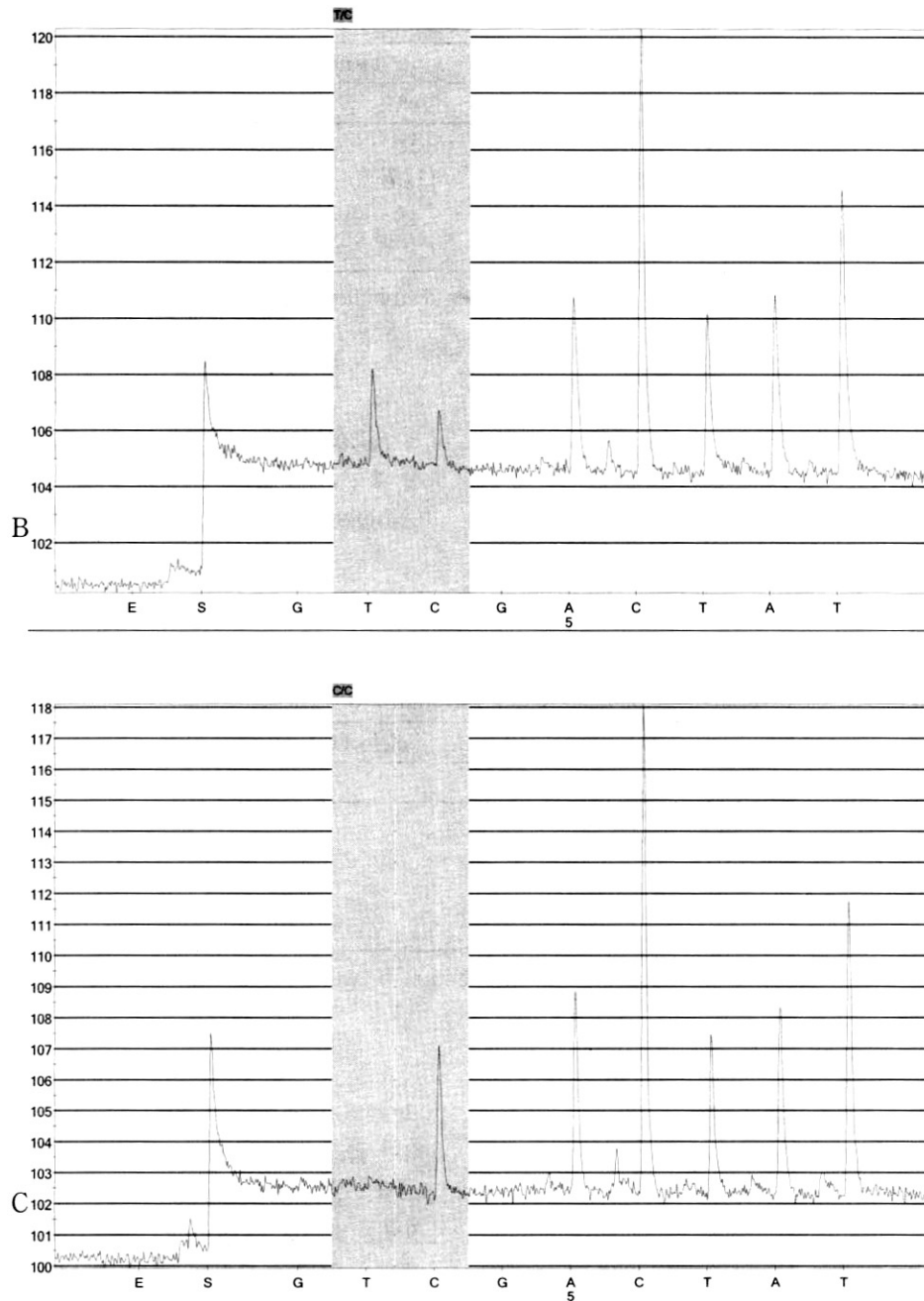


Fig. 1. Pyrosequencing results of A(A/A), B(G/G) and C(A/G) genotype of the MMP-1 gene

3. 유전자형 분포

구안와사 환자군과 대조군 사이에 MMP-1 유전자형 분포는 G/G, A/G 및 A/A형에서 구안와사 환자군은 각각 1명(1.0%), 18명(17.7%) 및 83명(81.3%)

이었고, 대조군은 각각 0명(0%), 18명(17.3%) 및 86명(82.7%)으로 구안와사 환자군과 대조군의 유전자형 분포는 두 군간에 유의한 차이가 없었다($p=0.926$, Table 2).

Table 2. MMP-1 genotype distribution facial palsy patients and controls

	Genotype (%)			p value
	G/G	A/G	A/A	
Facial palsy patients (n=102)	1 (1.0)	18 (17.7)	83 (81.3)	0.926
Controls (n=104)	0 (0)	18 (17.3)	86 (82.7)	

Chi-square tests was used to compare MMP-1 genotypes distribution between facial palsy patients and controls.

4. 대립 유전자 분포

구안와사 환자군과 대조군 사이에 대립 유전자 (allele) 분포는 MMP-1 대립 유전자인 G와 A에서 구안와사 환자군은 각각 9.8%와 90.2%였고, 대조군

은 8.6%와 91.4%로 구안와사 환자군과 대조군의 대립 유전자 분포는 두 군간에 유의한 차이가 없었다 ($p=0.686$, Table 3).

Table 3. MMP-1 allele distribution of facial palsy patients and controls

	Allele Distribution (%)		p value
	G	A	
Facial palsy patients (n=102)	9.8 (20)	90.2 (184)	0.686
Controls (n=104)	8.6 (18)	91.4 (190)	

Chi-square tests was used to compare allele distribution between facial palsy patients and controls.

IV. 考 察

구안와사는 병소와 같은 쪽에 안면신경마비가 이완성으로 오며, 환측의 眼瞼不음이不全하고 口角이下垂하여 流涎하며 이마에 주름이 없어지고, 구음장애를 주 증상으로 하는 질환이다. 구안와사는 좌우측에 동일하게 발생하고 대부분 일측성이며 30%는 불완전마비의 형태로, 70%는 완전마비의 형태로 발생한다. 양측에 함께 구안와사가 발생하는 경우는 0.3%이며, 9%는 과거 특발성 안면신경마비(Bell's palsy)의 기왕력이 있으며, 8%는 안면신경마비 가족력이 있다^{1,26,27}.

한의학적으로는 대개 正氣가 부족하고 絡脈이 空虛하며 腠理가 緻密하지 못한 가운데 風寒의 邪氣가 그 虛한 틈을 타고 침입하여, 氣血의 運行이 不暢하

고 經氣가 저체되고 經筋이 滋養을 받지 못하여 肌肉이 弛緩不收함으로써 발생한다²⁸.

말초성 안면신경마비 증상으로 특징적인 바이러스 전구증(60%), 설인두신경 또는 삼차신경의 감각 감퇴(80%), 안면부 혹은 경부의 이상감각과 통증(60%), 미각장애(57%), 청각과민(30%), 눈물감소(17%), 流淚症, 이명 등이 있다²⁹. 예후는 절반 정도의 환자에서 48시간까지 최대에 이르고, 현실적으로 5일 정도면 거의 모든 환자의 마비가 최대에 이르며 수주에서 2개월 내에 80%의 환자가 회복된다. 10일 이후에도 신경손상의 소견이 있으면 3개월 후부터 회복이 되기 시작하여 길게 2년 이상까지 회복과정이 진행되는데, 대개는 불완전 회복을 보이며 8%의 환자는 평균 10년 후에 재발하고, 71%의 환자는 정상적인 표정근 기능회복에 도달하며, 83%는 양호한 회복을 보인다고 한다^{30,31}.

진단 방법으로는 국소적인 누랑검사, 등골근 반사 검사, 타액 유량 검사, 미각 검사 등이 있는데 이는 마비의 부위를 예측하는데 사용되나 빠르게 기능장애가 진행된 경우에만 효력이 있으며, Bell's palsy의 경우 병변 부위가 내이도 기저부의 안면신경관이 시작하는 부위에서 주로 발생한다고 알려져 있으므로 큰 의미가 없다³²⁾. 안면신경 자체의 손상 정도나 변성 등에 대해서는 전기자극을 이용한 역치검사(Nerve excitability test), 신경전도검사(Electroneurography; ENoG), 근전도술(Electromyography, EMG), 안륜근 반사(Blink reflex test) 등의 검사 방법이 있다. 특히 Engstrom 등³³⁾은 이환 초기 환자의 경우 안면마비 정도와 ENoG 수치가 연관이 있다고 보고하여 ENoG가 안면마비의 진단에 유효한 수단이 됨을 시사하였다³⁾.

이러한 말초성 안면신경마비는 평소 건강하던 사람에게 발병하므로 매우 충격적인 정신적 스트레스를 가져오며 기능적 장애와 더불어 사회생활에 많은 제약을 유발하게 되므로 구안와사 질환의 중요성은 점점 더해가고 있다²⁶⁾.

최근에는 말초성 안면신경 마비의 원인과 바이러스 감염과의 관련성에 관한 연구가 이루어지고 있는데, 특히 Herpes simplex virus(HSV)가 안면신경을 감염시켜 특발성 안면마비를 유발시킨다는 연구가⁴⁵⁾ 보고되고 있다. 말초성 안면신경마비인 구안와사의 유전적 요인 및 안면신경의 염증에 대한 MMP-1 유전자의 다형성의 관련성은 아직 알려지지 않았다.

본 연구에서는 구안와사 환자군과 대조군 사이에서 MMP-1 유전자 다형성을 통하여 구안와사와 유전적 요인에 관한 상관관계를 밝히고자 하였다.

MMP는 1989년에 발견된 후 생화학적 및 임상적 역할에 대한 여러 가지 연구들이 진행되면서 18개의 subtype이 각기 다른 기질에 작용하며 각 장마다 다른 질환의 발병과 연관성이 있음이 발견되고 있다^{34,35)}. MMP는 세포 외 조직 내나 세포 표면에 비활성형으로 합성되어 있다가 염증성 자극 및 기계적 하중이나 허혈성 자극에 의해 생성된 cytokine이나 growth factor에 의해 활성화된다. 이들은 정상적인 상처 치유, 뼈의 성장, 배아 발생 등에서도 발현되지만, 류마티드, 동맥경화, 암 전이 등에서 비정상적인 발현이 이루어지기도 한다. 정상적인 환경에서는 MMP의 tissue inhibitor에 의해 활성이 엄격히 억제된다^{14,15,36)}.

MMP군 중 MMP-1은 type I, II, III collagen

fiber의 변성에 관여하며 세포사이의 결합조직에서 재생의 조절 역할을 한다. 정상 세포에서 MMP-1의 농도는 낮으나 병리적 단계 즉, 감염과 같은 상태에서는 불안정해질 수 있는데 이는 cytokine이나 growth factor에 의해 활성화 될 수 있기 때문이다. MMP-1의 유전자는 11q22에 위치하며 fibroblast, macrophage, endothelial cell, epithelial cell과 같은 세포로 전사되고 -519에 유전자형 A/G가 존재하여 insertion 혹은 deletion에 의해 3가지 유형 즉, A/A, A/G 및 G/G의 다형성이 존재한다. 이러한 다형성은 염증, 퇴행성 척추 질환, 종양, 관절염 등 다양한 병증과 관련이 있을 것으로 보고되고 있다^{19,37-39)}.

그 동안 한의학계에서도 중풍 등 심혈관 질환에 연관된 유전자 다형성의 연구가 활발히 이루어졌으나 말초성 안면신경마비에 대한 유전자 다형성 연구는 부족한 실정이다⁴⁰⁾.

본 연구에서 구안와사 환자군 102명과 대조군 104명에서 MMP-1 유전자의 다형성을 Pyrosequencing 통해 살펴보았다. G/G, A/G 및 A/A 유전자의 분포는 구안와사 환자군에서 각각 1명(1.0%), 18명(17.7%) 및 83명(81.3%)이었고, 대조군은 각각 0명(0%), 18명(17.3%), 86명(82.7%) 등으로 구안와사 환자군과 대조군의 유전자형 분포는 두 군간에 유의한 차이는 없었다($p=0.926$). 또한 대립유전자 G, A의 분포는 구안와사 환자군에서 각각 9.8%와 90.2%였고, 대조군은 8.6%와 91.4%로 구안와사 환자군과 대조군의 대립유전자 분포는 두 군간에 유의한 차이는 없는 것으로($p=0.686$) 나타나 이¹⁹⁾의 보고와 유사했다.

본 연구에서는 MMP-1 유전자다형성 분포나 대립유전자 분포는 구안와사 환자군과 대조군 사이에 유의한 차이가 없어 MMP-1이 구안와사의 원인 유전자가 아닐 가능성을 시사한다. 이는 MMP-1 단일염기유전자다형성이 구안와사에 미치는 영향이 다른 유전자와의 연계에 의한 복합적인 영향 속에서 나타나기 때문이거나 이번 연구에 포함된 환자군과 대조군의 수가 충분치 않아 모집단을 적절하게 반영하지 못했기 때문이라고 사료된다.

V. 結 論

Matrix Metalloprotease-1(MMP-1) 유전자형 다형

성이 구안와사의 발병과 관련이 있는지 알아보기 위해 대구한의대학교 부속한방병원에서 치료받은 구안와사 환자군 102명과 종합건강검진을 시행한 건강한 대조군 104명을 대상으로 유전자형을 분석한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 구안와사 환자군과 대조군의 유전자형 분포는 두 군간에 유의한 차이는 없었다.
2. 구안와사 환자군과 대조군의 대립 유전자 분포는 두 군간에 유의한 차이는 없었다.

이상의 결과는 MMP-1 유전자형 다형성이 구안와사의 발병과 관련성이 없을 것을 시사하고 있으나 향후 더 많은 수의 피험자를 대상으로 MMP-1뿐만 아니라 다른 유전자의 단일염기다형성에 대한 지속적인 연구가 필요하리라 사료된다.

VI. 參考文獻

1. 손인석, 서정철, 조태성, 권혜연, 윤현민, 장경전 외 2명. 환자대조군 연구를 통한 입원치료가 구안와사에 미치는 영향. 대한침구학회지. 2002 ; 19(2) : 202-9.
2. 김창환, 김용석. 마비질환클리닉. 서울 : 정담출판사. 1996 : 229-35.
3. 구길희. 안면신경 마비와 그 치료. 대한통증학회지. 1996 ; 9(1) : 14-25.
4. Steiner I, Mattan Y. Bell's palsy and herpes virus : to acyclovir or not to acyclovir. J. Neurol. Sci. 1999 ; 170(1) : 19-23.
5. Yilmaz M, Tarakcioglu M, Bayazit N, Bayazit YA, Namidura M, Kanlikama M. Serum cytokine levels in Bell's palsy. J Neurol Sci. 2002 ; 197(1-2) : 69-72.
6. 강세윤, 고의경, 김낙인, 김명재, 김민자, 김성민 외 58명. 오늘의 진단 및 치료. 서울 : 한우리. 2000 : 1096.
7. 洪元植. 精校黃帝內經靈樞. 서울 : 東洋醫學研究院. 1995 : 102.
8. 張機. 金匱要略. 臺南 : 세일서국. 1972 : 68.
9. 樣繼洲. 鍼灸大成. 서울 : 행림서원. 1975 : 75, 159, 190.
10. 蔡炳允. 韓方眼耳鼻咽喉科學. 서울 : 일조각. 1990 : 122-3.
11. 究武良. 中國鍼灸治療學. 중국 강소 : 강소과학기술출판사. 1988 : 330.
12. 陳士澤. 三因方. 臺北 : 대련국풍출판사. 1987 : 8.
13. 송범용. 적외선 체열진단법을 이용한 bell's palsy의 임상적 예후 진단 연구. 대한침구학회지. 2001 ; 18(1) : 1-13.
14. Irina Massova, Lakshmi P. Kotra, Rafael Fridman, and Shahriar Mobashery. Matrix metalloproteinases : structures, evolution and diversification. FASEB J. 1998 : 1075-95.
15. William G. stetler-stevenson, Lance A. Liotta and David E. Kleiner, Jr. Extracellular matrix 6 : Role of matrix metalloproteinases in tumor invasion and metastasis. FASEB J. 1993 : 1434-41.
16. Salinas RA, Alvarez G, Ferreira J. Corticosteroids for Bell's palsy (idiopathic facial paralysis). Cochrane Database Syst Rev. 2004 ; (4) : CD001942.
17. Jonsson L, Tien R, Engstrom M, Thuomas KA. Gd-DPTA enhanced MRI in Bell's palsy and herpes zoster oticus : an overview and implications for future studies. Acta Otolaryngol. 1995 ; 115(5) : 577-84.
18. Choi D, Dunn LT. Facial nerve repair and regeneration : an overview of basic principles for neurosurgeons. Acta Neurochir. 2001 ; 143(2) : 107-14.
19. 이재목. 단순만성치주염환자와 2형 당뇨병 환자의 만성치주염에서 Matrix metalloproteinase-1의 발현양상. 대한치주과학회지. 2005 ; 35(3) : 659.
20. 全國韓醫科大學 鍼灸經穴學教室. 鍼灸學(上). 서울 : 집문당. 1988 : 317, 343, 609, 685, 715.
21. 李杲. 東垣十種醫書. 上海 : 上海鴻文書局版. 1978 : 113.
22. [http : //www.pyrosequencing.com](http://www.pyrosequencing.com).
23. Gruber JD, Colligan PB, Wolford JK. Estimation of single nucleotide polymorphism allele frequency in DNA pools by using Pyrosequencing. Hum Genet. 2002 ; 110 :

- 395-401.
24. Pettersson M, Bylund M, Alderborn A. Molecular haplotype determination using allele-specific PCR and pyrosequencing technology. *Genomics*. 2003 ; 82 : 390-6.
 25. Pacey-Miller T, Henry R. Single-nucleotide polymorphism detection in plants using a single-stranded pyrosequencing protocol with a universal biotinylated primer. *Anal Biochem*. 2003 ; 317 : 166-70.
 26. 강미정, 김기현. 구안와사에 대한 한의 및 한서의 협진치료의 임상관찰. *대한침구학회지*. 2000 ; 17(1) : 57-66.
 27. 대한이비인후과학회 編. 이비인후과학. 서울 : 일조각. 2002 : 833-56.
 28. 李道生 主編. 新編針灸治療學. 北京 : 人民衛生出版社. 1998 : 155-6.
 29. 이광우 편저. 임상신경학 3판. 서울 : 고려의학. 2002 : 280-1.
 30. Victor M. Reppoer AH. Adams and Victor's principles of neurology. 7th ed. New York : McGraw-Hill. 2001 : 1452-3.
 31. Peitersen E. Bell's palsy the spontaneous course of 2500 peripheral facial nerve palsies of different etiologies. *Acta Otolaryngol*. 2002 : 4-30.
 32. 박철원, 안경성, 최석주, 문동숙. 안면신경마비의 임상적 고찰. *Korean J Otolaryngol*. 1998 ; 41(4) : 430-5.
 33. Engstrom M, Jonsson L, Grindlund M, Stalberg E. House-Brackmann and Yanagihara grading scores in relation to electroneurographic results in the time course of Bell's palsy. *Acta Otolaryngol*. 1998 ; 118(6) : 783-9.
 34. Docherry AJP, Murphy G. The tissue metalloproteinase family and the inhibitor TIMP : A study using cDNAs and recombinant proteins. *Ann Rheum Dis*. 1990 : 469-79.
 35. Hembry RM, Murphy G, Reynolds JJ. Immunolocalization of tissue inhibitor of metalloproteinase(TIMP) in human cells. *J Cell Sci* 73. 1985 : 105-19.
 36. Dean DD, pelletier MJ, Pelletier JP, Howwell DS. Evidence for metalloprotenase and metalloproteinase inhibitor imbalance in human osteoarthritic cartilage. *J Clin Invest* 84. 1989 : 678-85.
 37. Holla LI, Jurajda M, Fassmann A, Dvorakova N, Zonjil V, Vacha J. Genetic variations in the matrix metalloproteinase-1 promoter and risk of susceptibility and/or severity of chronic periodontitis in the Czech population. *J Clin periodontol* 2004 ; 31 : 685-90.
 38. Pendas A M, Santamaria I, Alvarez M V, Pritchard M & Lopez-Otin C. Fine physical mapping of the human matrix metalloproteinase genes clustered on chromosome 11q22. *Genomics* 37. 1996 : 266-8.
 39. 김기용, 조기홍, 김진영, 박승우, 안영환, 안영민 외 3명. 퇴행성 척추 질환에서 Metalloproteinase-1, 2의 역할. *J Korean Neurosurg Soc* 29. 2000 : 180-7.
 40. 한상원, 임성철, 정태영, 신동훈, 김민정, 서정철. Pyrosequencing을 이용한 한국인 중풍환자의 Interleukin 4 Receptor(IL-4R) 유전자 다형성. *대한침구학회지*. 2004 ; 21(2) : 21-9.