

한국인 전반적 급진성 치주염 환자에서 IL-10 promoter 유전자 다변성에 관한 연구

류지선, 김옥수*

전남대학교 치의학전문대학원 치주과학교실, 전남대학교 치의학연구소

I. 서론

치주질환은 치태 내의 병원성 미생물과 숙주와의 면역 반응에서 분비되는 cytokine이나 금속부착 기질 단백분해효소(matrix metalloproteinase, MMP)가 결합조직과 골 대사에 영향을 미쳐 임상적인 양상이 나타나는 질환이다. 최근에는 치주질환의 발병에 있어 치태 내 세균과 흡연이나 유전적 요인을 포함하는 숙주 인자와 환경적인 요소가 복합적으로 작용한다고 받아들여진다. 유전자 다변성과 치주염과의 관련성에 대한 연구는 1997년 Kornman 등이 보고한 이래 계속 증가되고 있다. Kornman 등¹⁾은 치주질환의 정도에 따라 interleukin-1 (IL-1)의 대립 유전자(allele)의 빈도를 조사하였고 비흡연자에서 중증 치주염과 복합 유전자형 사이에 연관성이 있다고 보고하였다. 이 외에도 TNF- α , IL-6, IL-4와 IL-10과 같은 염증과 관련된 cytokine과 염증세포의 Fc γ 수용기, TLR (toll-like receptor) 등에 대한 유전자 다변성과 치주질환과의 연관성이 연구되었다²⁻⁶⁾.

IL-10은 유전자 chromosome 1의 1q31-1q32에 위치하고 있는 36 kDa의 cytokine으로 T세포, B세포와 대식세포에서 생산되며 인간에서는 단핵구와 B세포가 주요 근원이다⁷⁾. 이는 면역 반응에 다양한 효과를 나타내는 다기능적인 cytokine으로 여러 염증 촉진 cytokine과 Th1세포에 의한 cytokine의 생산을 억제하고 항원 제시 세포 표면의 major histocompatibility complex (MHC) class II와 costimulatory molecule의 발현을 차단하고 조절성 T세포의 발달을 촉진하므로 염증을 억제하고 면역반응을 변형시킨다. 다른 한편으로, 인체에서 B세포 증식에 대한 cofactor로 B세포의 분화에 영향을 준다⁸⁾. IL-10의 다변성은 지금까지 최소 49개의 다변성이 문헌상으로 보고되었으며 promoter 부위는 단일 염기 서열의 변이(single nucleotide polymorphism, SNP)가 많이 일어나는 곳이며 IL-10의 유전자 다변성 중 29개가 이 부위에서 나타난다고 보고되었다. 다변성이 보고된 promoter 부위 중 -1082, -824와 -597이 치주질환과 관련되어 보고되었다⁹⁻¹¹⁾. -1082 부위에서의 다변성은 guanine

* 교신저자 : 김옥수, 광주광역시 동구 학동 5번지 전남대학교 치의학 전문대학원 치주과학교실, 501-757, (전자우편 : periodrk@chonnam.ac.kr)

* 이 연구는 2004년 전남대학교 신진연구비 지원(2003-0950)으로 수행되었음.

(G)이 adenine (A)으로, -824는 cytosine (C)이 thymine (T)으로, -597는 cytosine (C)이 adenine (A)으로 대체된다.

현재까지 IL-10의 유전자 다변성과 치주질환과의 관련성을 보고한 연구들은 코카시안, 브라질과 일본인을 대상으로 연구되었다^{9~11,26)}. IL-10의 유전자 다변성에 대한 국내 연구로 표 등¹²⁾은 다른 인종과 비교 시 코카시안에서 빈번히 나타나는 대립유전자가 한국인에서는 드물게 나타난다고 하였으며 이는 일반적인 유전자형에 대한 분포를 보고한 것이다. 아직까지 치주질환과 IL-10 유전자 다변성과 관련된 국내 연구는 아직까지 보고되지 않았다. 그리고 Berglundh 등¹⁰⁾은 치주질환자 중 비흡연자만을 고려시 전체 환자에서의 다변성 비율과 다르다고 보고하였다. 그래서 이번 연구에서는 치주질환의 환경적 요인인 흡연이 치주질환에 미치는 영향을 배제하기 위해 비흡연자만을 대상으로 하였고 유전적 소인이 있는 전반적 급진성 치주염 환자를 대상으로 하여 한국인에서 전반적 급진성 치주염과 IL-10 promoter의 유전자 다변성이 관련성이 있는지 알아보고자 하였다.

II. 연구대상 및 방법

1. 연구대상

실험군은 치주질환 치료를 위해 치주과를 내원한 환자로 비흡연자이면서 이전에 급진성 진행형 치주염(rapid progressive periodontitis)으로 진단된 환자나 초진시 전반적 급진성 치주염(generalized aggressive periodontitis)로 진단된 환자를 대상으로 하였다. 진단은 치과 과거력을 청취하고 임상검사를 시행하고 방사선 검사를 통해 이뤄졌다. 전반적 급진성 치주염의 진단 기준은 치주 원인균에 대한 숙주 반응에 기여하는 전신질환이 없으며, 연령은 보통 30세 이전에 발병되지만 더 높을 수 있으며, 제 1대구치와 전치 이외에 최소 3개 이상의 치아에서 전반적인 치간부착 부착상실이 관찰되는 경우이다¹³⁾.

대조군은 30세 이상이며 임상 검사시 치주적으로 건강한 환자와 치주적인 원인에 의한 임상부착상실이 4 mm 이상인 부위가 없는 비흡연자를 대상으로 하였다.

2. 임상 검사

제 3 대구치를 제외한 각 치아에서 협설면의 근원심 및 중앙부를 포함한 여섯 부위를 대상으로 치주낭 깊이, 치은퇴축을 측정하였다. 치주낭 깊이는 유리치는 변연에서 치주낭 기저부까지 Williams probe (23W, Hu-Friedy, USA)를 사용하여 1mm 단위로 측정하였다. 동일한 기구로 치은퇴축은 백악법랑경계부에서 유리치는 변연까지 측정하였고 치은퇴축은 양의 값, 치은부종은 음의 값으로 표시하였다. 임상적 부착 수준은 백악법랑경계로부터 치주낭 기저부까지의 거리로 치주낭 깊이와 치은퇴축 양의 합(mm)으로 나타내었다.

3. 표본 수집과 DNA 추출

각 대상자에서, 구강 세정 후 멸균된 foam tipped applicator (Hardwood product company, USA)를 이용하여 협점막 탈락상피를 채취하였으며, 표본은 -20℃에 저장되었다. DNA는 채취된 협점막상피를 50 mM NaOH 200 µl에서 5분간 95℃로 가열하고, 20 µl Tris (pH 8.0)로 중화시켜 얻었다¹⁴⁾.

4. IL-10 promoter 유전자 다변성 검사

조사하고자 하는 IL-10의 promoter 부위는 -597 (C→A), -824(C→T), -1082(G→A)이며 각각의 대립유전자 A, T, A를 대립유전자 2라고 간주하고 이를 포함하는 유전자형을 대립유전자 2 보인자(carrier)라고 하였다.

IL-10의 promoter 부위의 다변성을 검사하기 위하여 얻어진 DNA를 polymerase chain reaction (PCR)을 통해 증폭시킨 후 제한 효소를 사용하여 분

해하였다. 이를 위해 사용한 forward primer는 5'-ATCCAAGACAACACTACTAA-3', reverse primer는 5'-TAAATATCTCAAGTTCC-3'이었다. Primer와 함께 1 U Taq DNA polymerase, 250 μ M dNTP (dATP, dCTP, dGTP, dTTP), 10 mM Tris-HCl (pH 9.0), 40 mM KCl, 1.5 mM $MgCl_2$, stabilizer와 tracking dye가 포함되어 있는 상품화된 AccuPower[®] PCR PreMix (Bioneer, Korea)를 사용하여 thermal cycler (GeneAmp[®] PCR system 2700, Biosystems, USA)에서 DNA를 95°C에서 15분간 변성시킨 다음 94°C에서 1분, 6°C에서 1분, 72°C에서 1분간의 cycle을 40회 반복한 후 72°C에서 10분간 반응시켜 증폭하였다. 증폭된 DNA 산물을 즉시 사용하지 않은 경우 -20°C에 보관하였다⁹⁾.

각 다변성이 존재하는 부위에서 두 대립유전자를 알아보기 위해 PCR 산물 20 μ l를 제한효소로 처리한 다음 2% agarose gel 상에서 전기영동한 후 ethidium bromide로 염색하여 자외선 하에서 밴드를 확인하였다. -597 부위는 *Rsa*I으로 37°C에서 6시간 동안 분해하였을 때 대립유전자 C가 존재하는 경우는 306, 232, 42bp 밴드가, 대립유전자 A가 존재하는 경우 240, 232, 66, 42bp 밴드가 나타나게 된다. -824 부위는 *Mae*III로 55°C에서 6시간 분해시 대립유전자 C가 존재하는 경우 292, 217과 79bp 밴드로, 대립유전자 T가 존재하는 경우는 509와 79bp 밴드로 분해되어 나타난다. -1082 부위는 *Eae*I으로 37°C에서 4시간 분해시 대립유전자 G가 존재하는 경우는 분해되지 않지만 대립유전자 A가 존재하는 경우 554bp와 33bp 밴드로 분해되어 나타나게 된다^{9,15)}.

5. 통계처리

모든 자료는 SPSS 12.0을 사용하여 분석하였다. Chi-square test를 사용하여 실험군과 대조군, 남녀 그룹, 실험군과 대조군 내의 남녀 그룹에서의 유전자형 분포, 대립유전자 2 보인자 분포와 대립유전자 2 빈도의 분포의 차이를 분석하였다. 대립유전자 2를 가진 유전자형을 대립유전자 2 보인자라고 간주하여 그 비율을, 전체 대립유전자 중 대립유전자 2의 비율을 산출하였다. 그리고 *p*값이 0.05보다 작을 때 통계적으로 유의하다고 간주하였다.

III. 결과

1. 임상 평가

연구대상으로는 실험군은 37명(평균 44.8세), 대조군은 27명(평균 46.6세)이었고 실험군은 남성이 20명, 여성이 17명, 대조군은 남성이 9명, 여성이 18명이었다(Table 1). 평균 탐침 깊이는 실험군에서 4.38mm, 대조군에서 2.53mm였으며 평균 임상적 부착상실수준은 실험군에서 4.71mm, 대조군에서 2.54mm였다.

2. 대립유전자와 유전자형 분석

각 대상에서 -597과 -824에서의 유전자형의 분포 비율은 동일하게 나타났다. -597의 유전자형의 분포는 실험군에서 C/C는 13.5%, C/A는 37.8%,

Table 1. Demographic and clinical data of the study population

	Test(GAP*)	Healthy Control
Number	37	27
Age (yrs, mean \pm SD)	44.8 \pm 7.56	46.6 \pm 13.95
Gender (Male/Female)	20/17	9/18
Probing depth (mm, mean \pm SD)	4.38 \pm 1.21	2.53 \pm 0.36
Clinical attachment loss (mm, mean \pm SD)	4.71 \pm 1.00	2.54 \pm 0.35

GAP*; generalized aggressive periodontitis

A/A는 48.7%였으며 대조군에서는 각각 7.4%, 40.7%, 51.9%였다. -1082는 실험군에서 G/G가 2.7%, G/A가 16.2%, A/A는 81.1%이며 대조군에서는 각각 0.0%, 11.1%, 88.9%였다(Table 2).

대립유전자 2 보인자는 -597의 경우 실험군에서 86.5%, -1082는 97.3%로 대조군의 92.6%, 100%에 비해 낮은 수치를 보였으며 대립유전자 2의 빈도는 실험군에서 -597은 67.6%, -1082는 89.2%로 대조군의 72.2%, 94.4%에 비해 낮게 나타났다(Table 3).

연구대상을 남녀로 구분하여 유전자형과 대립유전자를 비교하였을 때 -597의 C/C, C/A와 A/A의 유전자형의 분포 비율이 남성에서 각각 17.2%, 31.3%, 51.7%였고 여성에서는 5.7%, 45.7%, 48.6%였으며, -1082의 G/G, G/A, A/A의 유전자형이 남성에서 각각 0%, 20.7%, 79.3%이고 여성이 2.9%, 8.6%, 88.6%로 대립유전자 2를 포함하는 유전자형이 여성에서 남성에 비해 높게 나타났다(Table 4).

대립유전자 2 빈도는 -597과 -824 부위에서 여

Table 2. Distribution of genotypes of IL-10 polymorphisms in the periodontitis and healthy control groups

	Test (GAP*, n=37)	Healthy Control (n=27)	p-value
IL-10-597			
C/C	13.5%	7.4%	0.742
C/A	37.8%	40.7%	
A/A	48.7%	51.9%	
IL-10-824			
C/C	13.5%	7.4%	0.742
C/T	37.8%	40.7%	
T/T	48.7%	51.9%	
IL-10-1082			
G/G	2.7%	0.0%	0.568
G/A	16.2%	11.1%	
A/A	81.1%	88.9%	

GAP*: generalized aggressive periodontitis

No statistical difference in genotype distribution was found between the GAP patient and control groups.

Table 3. Distribution of IL-10 allele 2 frequency and carrier in the groups

	Test (GAP*, n=37)	Healthy Control (n=27)	p-value
IL-10-597			
Allele 2 frequency	67.6%	72.2%	0.572
Allele 2 carrier	86.5%	92.6%	0.440
IL-10-824			
Allele 2 frequency	67.6%	72.2%	0.572
Allele 2 carrier	86.5%	92.6%	0.440
IL-10-1082			
Allele 2 frequency	89.2%	94.4%	0.316
Allele 2 carrier	97.3%	100.0%	0.389

GAP*: generalized aggressive periodontitis

Allele 2 frequency; proportion of allele 2 to total alleles

Allele 2 carrier; proportion of genotype with allele 2

Table 4. Distribution of genotypes of IL-10 polymorphisms in the male and female groups

	Male (n=29)	Female (n=35)	<i>p</i> -value
IL-10-597			
C/C	17.2%	5.7%	0.243
C/A	31.3%	45.7%	
A/A	51.7%	48.6%	
IL-10-824			
C/C	17.2%	5.7%	0.243
C/T	31.3%	45.7%	
T/T	51.7%	48.6%	
IL-10-1082			
G/G	0.0%	2.9%	0.266
G/A	20.7%	8.6%	
A/A	79.3%	88.6%	

Table 5. Distribution of IL-10 allele 2 frequency and carrier in the male and female groups

	Male (n=29)	Female (n=35)	<i>p</i> -value
IL-10-597			
Allele 2 frequency	67.2%	84.2%	0.023
Allele 2 carrier	82.8%	94.3%	0.210
IL-10-824			
Allele 2 frequency	67.2%	84.2%	0.023
Allele 2 carrier	82.8%	94.3%	0.210
IL-10-1082			
Allele 2 frequency	100.0%	97.1%	0.519
Allele 2 carrier	89.7%	92.9%	0.271

Table 6. Distribution of genotypes of IL-10 polymorphisms in male and female in each group

	Test(GAP*)			Healthy Control		
	Male (n=20)	Female (n=17)	<i>p</i> -value	Male (n=9)	Female (n=18)	<i>p</i> -value
IL-10-597						
C/C	20.0%	5.8%	0.354	11.1%	5.5%	0.792
C/A	30.0%	47.0%		33.3%	44.4%	
A/A	50.0%	47.0%		55.5%	50.0%	
IL-10-824						
C/C	20.0%	5.8%	0.354	11.1%	5.5%	0.792
C/T	30.0%	47.0%		33.3%	44.4%	
T/T	50.0%	47.0%		55.5%	50.0%	
IL-10-1082						
G/G	0.0%	5.8%	0.457	0.0%	0.0%	0.194
G/A	20.0%	11.7%		22.2%	5.5%	
A/A	80.0%	82.3%		77.7%	94.4%	

GAP*; generalized aggressive periodontitis

성이 84.2%로 남성의 67.2%보다 통계적으로 유의하게 더 높게 나타났다($p < 0.05$, Table 5).

각 그룹에서 남녀 유전자형 분포를 비교했을 때 실험군에서는 -597의 C/C, C/A와 A/A의 유전자형이 남성에서 각각 20%, 30%, 50%였고 여성에서는 5.8%, 47.0%, 47.0%였으며 -1082의 G/G, G/A, A/A의 유전자형이 남성에서 각각 0%, 20%, 80%였고 여성에서 5.8%, 11.7%, 82.3%였다. 대조군에서는 -597의 C/C, C/A와 A/A의 유전자형이 남성에서 각각 11.1%, 33.3%, 55.5%였고 여성에서 5.5%, 44.4%, 50%였으며 -1082의 G/G, G/A, A/A의 유전자형이 남성에서 각각 0%, 22.2%, 77.7%였고 여성에서 0%, 5.5%, 94.4%로 그룹 내의 남녀 비교 시 큰 차이는 없었으나 두 그룹 모두 여성이 남성에 비해 대립유전자 2를 포함하는 유전자형의 비율이 더 높게 나타났으나 통계적으로 유의하지는 않았다 (Table 6).

IV. 고찰

IL-10은 Th1과 Th2 세포의 분화를 억제하는 cytokine으로 “cytokine 합성방해인자”로 불리며 단핵구와 대식세포로부터 IL-1, TNF- α , IL-6, IL-8과 IL-12의 분비를 억제하고, T세포로부터의 IFN- γ 와 IL-2의 분비도 억제한다. 이러한 cytokine 분비를 억제하는 것은 해당 세포에 직접 혹은 간접적으로 작용함으로써 일어나게 된다. 그리고 IL-10은 인간의 B세포에 대해 주로 자극적인 효과를 나타내어 MHC class II 항원 발현과 단핵구 표면의 B7 발현을 일으켜 T세포를 활성화시키는 능력을 감소시킨다. 그리고 세포 독성 T 림프구의 표적세포 표면의 MHC class I 발현을 용량 의존적으로 감소시켜 세포독성 T 림프구 매개 세포 용해를 감소시킨다^{8,16,17}.

치은 병소에는 콜라겐(주로 1형)이나 류마티오이드 인자에 대한 항체를 생산하는 세포가 다수 포함되어 있다. B-1 세포라고도 하는 자가반응 B세포는 자가 항체 생산과 관련이 있는데 이는 전형적인 B세포의 표현형 뿐 아니라 CD 5 표식자도 발현된다. 진행성

치주염 환자에서는 건강한 대조군에 비해 말초 혈액의 자가반응 B세포의 비율이 더 크고 CD 5 양성 B세포가 4~6배 더 많이 나타난다고 하였다. 이렇게 자가반응 B세포의 증가된 수준은 *in vitro*에서 *P. gingivalis* LPS에 노출에 의한 IL-10과 항-콜라겐 자가항체의 높은 생산과 관련이 있으며 치주 병인균이 과도한 IL-10의 반응을 유도하여 CD 5 양성 B세포의 분화와 자가항체 생산을 야기한다^{18,19}.

In vitro 실험에서 여러 면역학적 자극에 대한 IL-10의 생산정도는 IL-10의 대립유전자와 일배체형의 변이형과 연관이 있는 것으로 밝혀지고 있다. Turner 등⁸)은 대립유전자 -1082 A의 존재가 IL-10의 생산 감소와 연관되어 있다고 하였으며 대립유전자 -592 A는 IFN- γ 가 존재할 때 말초 혈액의 단핵구 세포에 의한 IL-10의 생산 감소와 연관되어 있다고 보고되었다²¹). Perry 등²²)은 IL-10의 분비에 대하여 high, intermediate와 low producer로 IL-10의 일배체형 변이를 분류한 결과 GCC 동형접합체 환자(예로 GCC/GCC 유전자형)를 high producer, GCC 이형접합체 환자(예로 GCC/ACC와 GCC/ATA 유전자형)를 intermediate producer로, GCC 음형 환자(예로 ATA/ATA, ACC/ATA와 ACC/ACC 유전자형)를 low producer로 간주하였다. IL-10의 유전자 다변성이 IL-10 생산과 관련이 있다는 연구들과 함께 전신성 홍반성 루푸스, 류마티오이드성 관절염, 천식과 같은 염증성 질환들과 연관성이 있다는 연구들도 보고되고 있다^{23~25}).

유전자 다변성의 빈도는 인종에 따라 분포가 다르게 나타나는 것으로 보인다. 표 등¹²)은 311명의 건강한 한국인을 대상으로 하여 -1082, -819, -592의 대립유전자와 세 부위의 일배체형의 결과를 얻어 다른 인종과 비교하여 보고하였다. 이들의 연구에서 대립유전자 빈도의 경우, 한국인은 중국인과 유사한 분포를 보였으나, 흑인, 백인, 히스패닉에 비하여 -1082A, -819T, -592A의 빈도가 더 높았고 -1082G, -819G, -592C는 낮은 빈도를 보였다. 한편, 일배체형의 빈도에 있어서 한국인은 중국인, 일본인과 유사하게 나타났다. 이 결과는 인종에 따라

유전자 다변성 빈도는 다른 분포를 보이지만 한국인은 적어도 일본인, 중국인과 유전적 유사성이 있다는 것을 시사하고 있다.

이번 연구 결과에서 IL-10-824와 -597의 유전자형이 대조군과 실험군에서 동일하게 나타났다. Gonzales 등⁹⁾도 -824의 대립유전자 C, T와 -597의 대립유전자 C, A가 각각 연관되어 있다고 보고하였다. 이는 -824의 대립유전자 C와 -597의 대립유전자 C가 같이 존재하고 -824의 대립유전자 T가 -597의 대립유전자 A와 같이 존재함을 의미한다.

또한 이번 연구 결과에서 -824, -597의 이형접합체의 비율과 대립유전자 2 보인자와 빈도가 여성에서 남성보다 더 높은 비율로 나타났다. Scarel-Caminaga 등²⁶⁾은 남성과 달리 여성에서 만성 치주염과 IL-10의 유전자 다변성이 관련이 있다고 보고하였고 이는 여성 호르몬과 IL-10 유전자 다변성이 관련이 있을 수 있음을 나타낸다고 하였다.

IL-10의 유전자 다변성과 치주질환과의 연관성에 대한 이전의 몇몇 연구들이 있다. Kinane 등²⁷⁾은 79명의 전반적 조기발생 치주염 환자에서 micro-satellite의 다변성을 조사한 결과 연관성이 없다고 하였다. Yamazaki 등¹¹⁾은 일본인에서 성인형 치주염과 전반적 유년형 치주염 환자를 건강한 대조군과 비교하여 일배체형을 조사하였다. 연구 결과 IL-10 promoter의 유전자 다변성이 이들 치주질환 발병에 대한 감수성에 영향을 주는 것 같지는 않다고 하였다. 그들은 또한 일본인에서의 일배체형의 빈도를 코카시안과 중국인과 비교해서 보고하였는데 코카시안에서 두드러지게 나타나는 GCC 일배체형이 일본인에서는 나타나지 않았고, 코카시안에서는 21%로 낮게 나타나는 ATA 일배체형이 일본인에서는 71%로 높게 나타나며 그 빈도가 중국인과의 약간 다르다고 하였다. 그리고 치주염 환자와 대조군의 유전자 다변성 비교시 통계적으로 유의한 연관성은 없었으나 ATA 일배체형이 전반적 조기발생 치주염 환자에서 over-representation하는 경향이 있다고 하였다. Gonzales 등⁹⁾은 코카시안에서 -597과 -824 부위의 다변성과 다양한 정도의 만성 치주염과 급진성

치주염과의 연관성을 조사하였다. 치주적으로 건강한 대상자의 경우, -597의 C/C, C/A, A/A의 유전자형 비율이 각각 약 75%, 15%, 10%이며 -824의 C/C, C/T, T/T 유전자형 비율이 각각 약 45%, 40%, 10%로 이번 연구 결과와 차이를 보였다. Gonzales 등⁹⁾은 전반적과 국소형 급진성 치주염 환자 모두를 급진성 치주염 환자 그룹에 포함하였는데 이 그룹에서는 -597의 C/C, C/A, A/A의 유전자형 비율이 각각 약 90%, 5%, 5%이고 -824의 C/C, C/T, T/T 유전자형 비율이 각각 약 40%, 55%, 5%로 나타났다. 이번 연구에서는 -597(-824)의 C/C(C/C), C/A(C/T), A/A(T/T)의 유전자형 비율이 각각 13.5%, 37.8%, 48.7%로 유전자형의 분포가 상반되게 나타났다. 코카시안을 대상으로 한 Berglundh 등¹⁰⁾은 IL-10-1087에서의 다변성이 odds ratio가 6.1로 비흡연자에서 연관성이 있다고 보고하였다. Scarel-Caminaga 등²⁶⁾은 110명의 브라질 인구(77.2%는 코카시안, 22.8%는 아프리카계 미국인)에서 -592, -819, -1087의 다변성을 조사하였다. 조사 대상자는 비흡연자이며 대부분은 여성(72.6%)과 코카시안(77.2%)이었다. 단일 염기서열의 다변성에 있어서는 -592와 -819가 유전자형에서 만성치주염 환자가 치주적으로 건강한 대조군에 비해 C/C 유전자형이 세 배 정도 높은 비율을 보였다(Odds ratio가 각각 2.41, 3.04). 또한 ATA 일배체형이 만성 치주염과 연관이 있다고 보고하였다. 터키인을 대상으로 한 Sumer 등²⁸⁾의 연구는 -597에서의 다변성이 중증의 전반적인 만성 치주염과 연관이 있는 것으로 보고하였다. 이러한 연구들에서 조사 대상자들의 특성(성, 인종 등)에 따라 연구 결과가 다르게 나타남을 알 수 있었다.

이번 연구에서는 대상 선택 시 흡연자를 제외하였는데 이는 흡연이 치주질환의 위험 요소로 T와 B세포의 기능과 항체 수준을 억제하여 면역 반응에 영향을 주어 치주질환 발병에 영향을 미치게 되기 때문이다. Berglundh 등¹⁰⁾은 IL-10-1087의 유전자 다변성을 조사한 연구에서 흡연자, 비흡연자 모두를 포함한 만성 치주염 환자의 경우에는 -1087의 G/G

유전자형이 40%에서 나타난 반면 비흡연자의 만성 치주염 환자에서는 61.3%였으며, 대립유전자 A의 보인자율은 전체 만성 치주염 환자에서 60%, 비흡연자 만성 치주염 환자에서는 38.7%로 흡연과 관련하여 유전자형의 분포에 차이가 나타났음을 보고하였다. 이는 흡연이 치주질환과 IL-10 다변성과의 연관성을 희석시킬 수 있음을 시사한다.

결론적으로 비흡연자 환자를 대상으로 하였을 경우, 한국인 전반적 급진성 치주염과 IL-10 promoter의 -597, -824, -1082 부위의 유전자 다변성이 관련성이 없는 것을 알 수 있었다. 이번 연구 결과 통계적으로 유의하지는 않았지만 대립유전자 2 빈도가 대조군에 비해 낮은 경향이 있었고 남녀 사이에서 다른 유전자형 분포를 나타냈지만 적은 수의 표본에서 시행하였기 때문에 이를 일반화할 수는 없으리라 생각된다. 그리고 이번 연구에서는 단일 염기서열의 변이를 각각 비교하였지만 앞으로 한국인에서 세 부위를 같이 고려한 일배체형과 치주질환의 임상적 양상과의 관련성에 대한 연구와 더 큰 표본에서의 연구가 시행되어야 할 것이다.

V. 결론

이번 연구는 비흡연자 환자를 대상으로 전반적 급진성 치주염 환자에서의 IL-10 유전자 다변성의 연관성을 본 것으로 IL-10 promoter 3개 부위에서 유전자 다변성의 연관성을 조사하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 유전자형 분포에 있어 실험군에서 -597의 C/C는 13.5%, C/A는 37.8%, A/A는 48.7%였으며 -824의 C/C, C/T, T/T의 유전자형의 분포는 -597에서의 분포와 같았다. -1082는 실험군에서 G/G가 2.7%, G/A가 16.2%, A/A는 81.1%로 대조군과 비교 시 큰 차이가 없었다.
2. 대립유전자 2 보인자의 빈도는 세 부위에서 대조군이 실험군보다, 여성이 남성보다 더 높은 비율로 나타났다.

3. 대립유전자 2의 빈도에 있어서 대조군이 실험군보다, 여성이 남성보다 높은 비율로 나타났으며 이는 IL-10-597과 IL-10-824에서는 통계적으로 유의하게 높게 나타났다($p < 0.05$).

이상의 결과로 보아 비흡연자 환자를 대상으로 하였을 경우, IL-10 promoter 유전자 다변성이 한국인 전반적 급진성 치주염과 관련성이 없음을 알 수 있었다. 이번 연구에서는 적은 표본에서 시행되었기 때문에 이번 결과를 일반화할 수 없고 앞으로 이 세 부위를 같이 고려한 일배체형과의 연관성과 더 큰 표본에서 시행되어 유전자 다변성과 치주질환의 발현과의 연관성에 대한 연구가 시행되어야 할 것이다.

VI. 참고문헌

1. Kornman KS, Crane A, Wang H-Y, 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;24:72-77.
2. Holla L, Fassmann A, Stejskalova A, Znojil V, Vanek J, Vacha J. Analysis of the interleukin-6 gene promoter polymorphisms in Czech patients with chronic periodontitis. J Periodontol 2004;75:30-36.
3. Kobayashi T, Yamamoto K, Sugita N, van der Pol WL, Yasuda K, Kaneko S, van de Winkel JG, Yoshie H. The Fc gamma receptor genotype as a severity factor for chronic periodontitis in Japanese patients. J Periodontol 2001;72:1324-1331.
4. Michel J, Gonzales JR, Wunderlich D, Diete A, Herrmann JM, Meyle J. Interleukin-4 polymorphisms in early onset periodontitis. J Clin Periodontol 2001;28:483-488.
5. Brett PM, Zygogianni P, Griffiths GS, Tomaz M, Parkar M, D'Aiuto F, Tonetti M.

- Functional gene polymorphisms in aggressive and chronic periodontitis. *J Dent Res* 2005;84:1149–1153.
6. Shapira L, Stabholz A, Rieckmann P, Kruse N. Genetic polymorphism of the tumor necrosis factor (TNF)- α promoter region in families with localized early-onset periodontitis. *J Periodontal Res* 2001;36:183–186.
 7. Kim JM, Brannan CI, Copeland NG, Jenfins NA, Khan TA, Moore KW. Structure of the mouse IL-10 gene and chromosomal location of the mouse and human genes. *J Immunol* 1992;148:3618–3623.
 8. Turner DM, Williams DM, Sankaran D, Lazarus M, Sinnott PJ, Hutchinson IV. An investigation of polymorphism in the interleukin-10 gene promoter. *Eur J Immunogenet* 1997;24:1–8.
 9. Gonzales JR, Michel J, Diete A, Herrmann JM, Bödeker RH, Meyle J. Analysis of genetic polymorphisms at the interleukin-10 loci in aggressive and chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 2002;29:816–822.
 10. Berglundh T, Donati M, Hahn-Zoric M, Hanson L-A, Padyukov L. Association of the -1087 IL-10 gene polymorphism with severe chronic periodontitis in Swedish Caucasians. *J Clin Periodontol* 2003;30:249–254.
 11. Yamazaki K, Tabeta K, Nakajima T, Ohsawa Y, Ueki K, Itoh H, Yoshie H. Interleukin-10 gene promoter polymorphism in Japanese patients with adult and early-onset periodontitis. *J Clin Periodontol* 2001;28:828–832.
 12. Pyo CW, Hur SS, Kim YK, Choi HB, Hong YS, Kim DW, Kim CC, Kim HK, Kim TG. Polymorphisms of IL-1B, IL-1RN, IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, and IFN- γ Genes in the Korean Population. *Human Immunol* 2003;64:979–989.
 13. Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol* 1999;4:1–6.
 14. Seung-Ji Nam, Hyun-Ju Chung, Ok-Su Kim, Young-Joon Kim, Jung-Tae Koh. IL-1 gene polymorphisms in Korean periodontitis patients. *JOKAP* 2004;34:623–638.
 15. Bazrafshani MR, Hajeer AH, Ollier WER, Thornhill MH. Polymorphisms in the IL-10 and IL-12 gene cluster and risk of developing recurrent aphthous stomatitis. *Oral Disease* 2003;9:287–291.
 16. Mosmann TR. Properties and functions of Interleukin-10. *Adv Immunol* 1994;56:1–26.
 17. Lalani I, Bhol K, Ahmed AR. Interleukin-10: biology, role in inflammation and autoimmunity. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1997;79:469–483.
 18. Berglundh T, Lijenberg B, Tarkowski A, Lindhe J. Local and systemic TCR V gene expression in advanced periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1998;25:125–134.
 19. Berglundh T, Donati M. Aspects of adaptive host response in periodontitis. *J Clin Periodontol* 2005;32(Suppl. 6):87–107.
 20. Eskdale J, McNicholl J, Wordsworth P, Jonas B, Huizinga T, Field M, Gallagher G. Interleukin-10 microsatellite polymorphisms and IL-10 locus alleles in rheumatoid arthritis susceptibility. *Lancet* 1998;352:1282–1283.
 21. Rosenwasser LJ, Borish L. Genetics of atopy and asthma: The rationale behind promoter-based candidate gene studies (IL-4 and IL-10). *Am J Respir Crit Care Med* 1997;156:152–155.

22. Perry C, Pravica V, Sinnott PJ, Hutchison IV. Genotyping for polymorphisms in interferon- γ , interleukin-10, transforming growth factor- β 1 and tumor necrosis factor- α genes: a technical report. *Transpl Immunol* 1998;6:193-197.
23. Tagore A, Gonsalkorale WM, Pravica V, Hajeer AH, McMahon R, Whorwell PJ, Sinnott PJ, Hutchinson IV. Interleukin-10 (IL-10) genotypes in inflammatory bowel disease. *Tissue Antigens* 1999;54:386-390.
24. Mok CC, Lanchbury JS, Chan DW, Lau CS. Interleukin-10 promoter polymorphisms in southern Chinese patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1998;41:1090-1095.
25. Crawley E, Kay R, Sillibourne J, Patel P, Hutchinson I, Woo P. Polymorphic haplotypes of the interleukin-10 5' flanking region determine variable interleukin-10 transcription and are associated with parieticular phenotypes of juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1999;42:1101-1108.
26. Scarel-Caminaga RM, Trevilatto PC, Souza AP, Brito RB, Camargo LEA, Line SRP. Interleukin 10 gene promoter polymorphisms are associated with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 2004;31:443-448.
27. Kinane DF, Hodge P, Eskdale J, Ellis R, Gallagher G. Analysis of genetic polymorphisms at the interleukin-10 and tumor necrosis factor loci in early-onset periodontitis. *J Periodontal Res* 1999;34:379-386.
28. Sumer AP, Kara N, Keles GC, Gunes S, Koprulu, Bagci H. Association of Interleukin-10 gene polymorphisms with severe generalized chronic periodontitis. *J periodontol* 2007;78:493-497.

IL-10 gene promoter polymorphisms in Korean generalized aggressive periodontitis patients

Ji-Sun Ryn, Ok-Su Kim*

Department of Periodontology, School of Dentistry, Dental Science Research Institute,
Chonnam National University

Genetic polymorphisms associated with aggressive periodontitis have previously been reported. Interleukin-10 is an immunoregulatory cytokine that plays a role in the pathogenesis of periodontitis. Individual capacity for IL-10 production appears to be under genetic influence. The aim of present investigation was to explore possible genetic association of IL-10 gene promoter polymorphisms with generalized aggressive periodontitis.

The study population consisted of 37 generalized aggressive periodontitis patients from the Department of Periodontology, Chonnam National University Hospital and 27 control subjects, all the subjects were non-smokers. Genomic DNA was obtained from buccal swab. The IL-10 promoter -597, -824, -1082 positions were genotyped by amplifying the polymorphic regions using polymerase chain reaction (PCR), followed by restriction enzyme digestion and gel electrophoresis. IL-10-597 C (allele 1) to A (allele 2) and IL-10-824 C (allele 1) to T (allele 2) and IL-10-1082 G (allele 1) to A (allele 2) polymorphisms were examined. The results were as follows.

1. In patients, the distribution of genotypes C/C, C/A and A/A at IL-10-597 was determined to be 13.5%, 37.8% and 48.7%, respectively and the distribution of genotypes at IL-10-824 was the same as that of IL-10-597. The distribution of genotypes G/G, G/A and A/A at IL-10-1082 was found to be 2.7%, 16.2% and 81.4%, respectively. No statistical difference in genotype distribution was found between the patient and control groups.
2. Allele 2 carriage rate at the three position of the IL-10 promoter region was higher in the control group than the patient group.
3. Allele 2 frequencies at IL-10-597 and -824 positions were higher in female group than male group and its difference was statistically significant ($p < 0.05$).

No significant difference in genotype distribution between the control and patient groups. Allele frequency between control and patient groups was not significantly different although allele 2 frequency at the three positions in the IL-10 promoter region appeared to be higher in control group. In conclusion, no clear association between IL-10 gene promoter polymorphisms and generalized aggressive periodontitis in Korean was observed.

Key words : IL-10, SNP, Generalized aggressive periodontitis

