

한국인 전반적 급진성 치주염 환자에서 IL-6 유전자 다변성에 관한 연구

방선정¹, 김일신^{1,2}, 김옥수¹, 김영준^{1,2}, 정현주^{1,2*}

1. 전남대학교 치의학전문대학원 치주과학교실 및 치의학연구소

2. 2단계 BK 21

IL-6 gene promoter polymorphisms in Korean generalized aggressive periodontitis

Sun-Jung Bang¹, Il-Shin Kim^{1,2}, Ok-Su Kim¹, Young-Jun Kim^{1,2}, Hyun-Ju Chung^{1,2*}

1. Department of Periodontology, School of Dentistry, and Dental Science Research Institute

2. 2nd stage of BK 21 project, School of Dentistry, Chonnam National University

ABSTRACT

Purpose: The purpose of this study was to investigate the association of generalized aggressive periodontitis with IL-6 promoter gene single nucleotide polymorphisms(SNP).

Material and Methods: The study population consisted of 52 generalized aggressive periodontitis patients(GAP) and 30 periodontally healthy control subjects, who were systemically healthy non-smokers. Genomic DNA was obtained from buccal swab. The IL-6 promoter SNP at the positions of -597, -572, and -174 were genotyped by amplifying the polymorphic region using polymerase chain reaction(PCR), restriction enzyme digestion and gel electrophoresis.

Result: The genotype distributions for G/G, G/A and A/A genotypes of IL-6 -597 were 30.8%, 40.4%, and 28.8% in the GAP group and 53.3%, 40%, and 6.7% in the control group and were statistically different between 2 groups($p < 0.05$). Allele 2 frequency of IL-6 -597 were significantly higher in the GAP group than the control group($p < 0.01$). At the position of IL-6 -572, the distribution for C/C, C/G and G/G genotypes were 23.1%, 55.8% and 21.2% in the GAP group and 20%, 33.3%, and 46.7% in the control group. In female subjects, the genotype distribution were significantly different between 2 groups ($p < 0.01$). In male subjects, allele 2 frequency of IL-6-572 was significantly lower in the GAP group than the control group($p < 0.05$). The genotype distribution of IL-6 -174 in the GAP group were 96.2%, 3.8% for G/G, G/C genotypes whereas only the G/G genotype was detected in the control group.

Conclusion: In conclusion, significant associations were found in IL-6 gene promoter(-597, -572) polymorphisms and generalized aggressive periodontitis. Further cohort study will be necessary in larger population.

(J Korean Acad Periodontol 2008;38:579-588)

KEY WORDS: aggressive periodontitis; IL-6 gene; SNP; gene polymorphism.

서론

치주질환은 치아를 지지하는 구조를 파괴하는 염증성 질환으로 30세 이상 한국인 성인의 32.3%가 치주염에 이환되어 있고 치아 상실의 주된 원인이기도 하다¹⁾. 치주염 발병

에 관여하는 원인은 세균이며 치태 내의 병원성 미생물에 대한 숙주 면역반응으로 분비되는 사이토카인이나 matrix metalloproteinase가 치주조직의 파괴를 일으킨다. 그리고 세균 이외에도 당뇨병, 흡연, 유전 등 숙주 요인도 치주염의 증상에 관여할 수 있다. 치주염은 임상 증상에 따라 크게 두 가지로 만성 치주염과 급진성 치주염으로 분류되는데²⁾ 치주 질환의 발생과 진행에 유전적 요인과 환경적 요인이 복합적으로 영향을 끼치는 것으로 알려져 있다³⁾.

다른 만성 염증성 질환과 마찬가지로 치주질환에서 염증성 사이토카인의 역할이 연구되어 왔는데, 치주염과 사이토카인 유전자 다변성(gene polymorphism)간의 관련성에 대

Correspondence: Dr. Hyun-Ju Chung

Department of Periodontology, School of Dentistry, Chonnam National University 333, Yong Bong Ro, Buk-gu, Gwangju, 500-757, Korea.

E-mail: hjchung@jnu.ac.kr, Tel: 82-62-530-5648, Fax: 82-62-530-5649

This study was financially supported in part by the 2nd stage of BK project, School of Dentistry and in part by Chonnam National University, 2007.

Received: Aug. 14, 2008; Accepted: Nov. 18, 2008

한 연구는 1997년 Kornman 등⁴⁾이 보고한 이래 많이 이루어지고 있다. Kornman 등은 치주질환 심도가 다른 환자군에서 interleukin-1(IL-1)의 대립유전자(allele)의 빈도를 조사한 결과 비흡연자에서 중증 치주염과 복합 유전자형 사이에 연관성이 있다고 보고하였다. 여러 연구에서도 치주질환 환자에서 IL-1 α , IL-1 β 유전자의 다변성에 대해 보고되었다⁴⁻⁷⁾. 사이토카인 유전자의 다변성과 사이토카인의 발현을 조절하는 여러 요소들에 의해 개개인에서 숙주반응이 달라질 수 있으므로 이것은 치주질환에 대한 감수성과 심도에 있어서 중요하다. 치주질환자의 치은열구액이나 혈장에서 IL-1, tumor necrosis factor- α (TNF- α), IL-6 수준이 높게 관찰되었으며^{7,8)} 이러한 사이토카인 유전자의 다변성과 치주질환 간 관련성에 대한 연구도 이뤄지고 있다.

IL-6는 다기능성 사이토카인으로 염증반응, 숙주 반응과 조직손상과 관련되며 IL-1, TNF- α 와 같은 염증성 자극에 반응하여 다량 분비된다⁹⁾. IL-6는 B 세포의 분화와 T 세포의 증식, 조혈과 신경 분화를 자극하는 것으로 알려져 있다¹⁰⁾. 그리고 파골세포 분화를 촉진시켜 골흡수와 골생성의 방해에 관여하며^{11,12)}, 치주질환 분야에서는 골소실과 관련하여 주목을 받고 있다^{13,14)}.

IL-6 유전자는 chromosome 7p21에 위치하며, 5개의 exon과 4개의 intron으로 구성되어 있다. 유전자 다변성은 유전자를 구성하는 핵산염기 서열의 변화를 나타내는데, 2000년 Terry 등¹⁰⁾의 연구에서 promoter 부위 중 -597 (G/A), -572(C/G), -174(G/C) 부위와 -373(AnTm) 부위의 다변성이 보고되었다¹⁰⁾. IL-6 유전자 다변성의 영향에 대한 연구로 Fishman 등¹⁵⁾은 -174 부위의 다변성이 IL-6의 발현에 영향을 끼치고 G 대립유전자가 IL-6의 발현 수준을 높이며, G/G와 G/C 유전형을 가진 환자에서 IL-6 유전자의 전사 활성 정도가 더 높고, IL-6의 반응도 높게 유도된다고 보고하였다. 치주질환과 관련된 보고로는 Trevilatto 등¹⁶⁾이 브라질인에서 IL-6 -174 G/G 유전형이 만성 치주염과 관련되어 있다고 하였고, Holla 등¹⁷⁾은 체코 치주질환자에서 -572 G/C 유전형이 G/G 유전형에 비하여 보호성 요소로 기여할 수 있다고 제안하였다.

다양한 인종과 민족들 간에 유전형의 분포가 다르게 관찰되고 있다. IL-6 유전형과 관련되어 한국인에서 건강한 인구집단이나 신장질환자, 심장질환자에 대한 연구가 이루어졌다¹⁸⁻²⁰⁾. 반면 치주질환과 관련된 IL-6 유전자 다변성에 대한 연구는 아직까지 국내에서 이뤄지지 않았다. 따라서

이 연구에서는 IL-6 유전자 다변성이 치주질환의 감수성과 심도에 관여할 수 있는지 확인하기 위해 한국인 전반적 급진성 치주염 환자에서 IL-6 promoter -597, -572, -174 부위의 단일 염기서열 변이(single nucleotide polymorphism, SNP)분석을 통하여 유전형과 대립유전자형의 분포를 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

1. 연구대상

실험군은 치주질환 치료를 위해 전남대학교병원 치주과를 내원한 환자로 초진시 전반적 급진성 치주염(generalized aggressive periodontitis, GAP)으로 진단된 환자를 대상으로 하였다. 진단은 치과 과거력을 청취하고 임상검사를 시행하고 방사선 검사를 하여 이뤄졌다. 전반적 급진성 치주염의 진단 기준은 1999년 미국 치주과학회에서 채택한 분류체계에 근거하였다²⁾. 즉 치주 원인균에 대한 숙주 반응에 기여하는 전신질환이 없으며, 연령은 보통 30세 이전에 발병되고, 제 1대구치와 전치를 제외한 최소 3개 이상의 치아에서 5 mm 이상의 치간부 부착상실과 치주낭이 있고 방사선적 골소실이 치근장 1/3 이상 관찰되는 경우이다. 반면 대조군은 전남대학교병원 치주과에 치석제거술을 목적으로 내원한 사람 중 연령이 40세 이상이며 임상검사 시에 치주질환으로 발견된 치아가 없고 치주적으로 건강하고, 치주적 원인에 의한 임상적 부착상실이 4 mm 이상인 부위가 없는 경우를 포함하였다. 실험군과 대조군 모두 전신적으로 건강하며 흡연하지 않는 경우 선정되었다.

이번 연구는 전남대학교병원 생명의학연구윤리심의위원회의 심의를 거쳐 승인을 얻었다(전남대학교병원 IRB No.1-2007-09-070). 각 대상자에게 연구에 대해 설명하고 협점막 탈락상피 채취와 유전자 분석에 대한 동의서에 서명을 받았다.

2. 임상 검사

제 3 대구치를 제외한 각 치아에서 협설면의 근원심 및 중앙부를 포함한 여섯 부위를 대상으로 치주낭 깊이와 치은 퇴축을 측정하였다. 치주낭 깊이는 유리치는 변연부에서 치주낭 기저부까지 Williams probe(23W, Hu-Friedy, USA)

를 사용하여 1 mm 단위로 측정하였다. 동일한 기구로 백악 법랑경계부에서 유리치은변연까지 치은퇴축을 측정하였고 치은퇴축은 양의 값, 치은부종은 음의 값으로 표시하였다. 임상적 부착수준은 백악법랑경계부로부터 치주낭 기저부까지의 거리로 치주낭 깊이와 치은퇴축 양의 합으로 나타내었다.

3. 표본 수집과 DNA 추출

각 대상자에서, 구강세정 후 멸균된 foam tipped applicator(Hardwood product company, USA)를 이용하여 협점막 탈락상피를 채취하여 -20°C 에 저장하였다. 채취된 협점막상피 표본에 50 mM NaOH 200 μl 을 첨가하여 5분간 95°C 로 가열하고, 20 μl Tris buffer(pH 8.0)로 중화시켜 genomic DNA를 얻었다⁵⁾.

4. IL-6 유전자 다변성 검사

유전자 다변성 검사에는 IL-6 gene promoter의 단일 염기서열 변이(SNP) 부위, 즉 -597(G/A), -572(C/G), -174(G/C)가 포함되었다. IL-6 gene 다변성을 검사하기 위하여 임상진단명을 모르는 상태로 각 피검자의 genomic DNA를 polymerase chain reaction(PCR)을 통해 증폭시킨 후 제한 효소를 사용하여 분해하였다. 각 검사부위의 primer는 Komatsu 등의 연구에 근거하여 다음과 같이 제작하여 사용되었다²¹⁾:

1) IL-6-597, -572

: sense 5' -CTC CTC TAA GTG GGC TGA AG-3'
antisense 5' -CAA GCC TGG GAT TAT GAA GA-3'

2) IL-6-174

: sense 5' -AAT ACA AAT TAA CTG GAA CG-3'
antisense 5' -GCA TGT CTT GAC AAA GAG-3'

PCR 증폭을 위해 Taq DNA polymerase 1 U, dNTP(dATP, dCTP, dGTP, dTTP) 250 μM , Tris-HCl(pH 9.0) 10 mM, KCl 40 mM, MgCl₂ 1.5 mM, stabilizer와 tracking dye가 포함되어 있는 상품화된 AccuPower[®] PCR PreMix(Bioneer, Korea)가 사용되었다. 그리고 DNA 10 μl 을 첨가한 혼합물을 thermal cycler(Geneamp PCR system 2700[®], Biosystems, USA)에서 다음의 조건하에서 증폭시켰다; 95°C 에서 10분과 95°C 에서 1분, 47°C 에서 1분, 72°C 에서 1분간 40회 반복, 72°C 에서 5분 반응²¹⁾.

검사된 유전자 promoter 부위에서 SNP 분포를 알아보기 위해 PCR 산물 10 μl 를 제한효소와 함께 37°C 에서 16시간 동안 분해하였다. 제한효소는 -597 부위에는 Fok I (Beams Biotech, Korea), -572 부위에는 BsrB I (New England Biolabs, UK), -174 부위에는 Hsp92 II (Promega Corporation, USA)가 사용되었다²¹⁾. 분해산물은 3% agarose gel에 적용하여 전기영동하였으며, ethidium bromide로 염색한 후 자외선 하에서 밴드를 확인하였다. 제한효소 분해산물은 -597 부위에서 G 대립유전자가 존재하는 경우 212 bp, A 대립유전자가 존재하는 경우에는 128와 84 bp 밴드를 나타낸다. -572 부위는 C 대립유전자가 존재하는 경우에는 212 bp, G 대립유전자가 존재하는 경우 139와 73 bp로 분해되어 나타나게 된다. -174 부위는 G 대립유전자가 존재하면 167와 31 bp, C 대립유전자가 존재하는 경우 122, 45, 31 bp 밴드가 나타나게 된다(Fig. 1).

모든 분석은 결과가 분명하지 않은 경우 재분석하였으며,

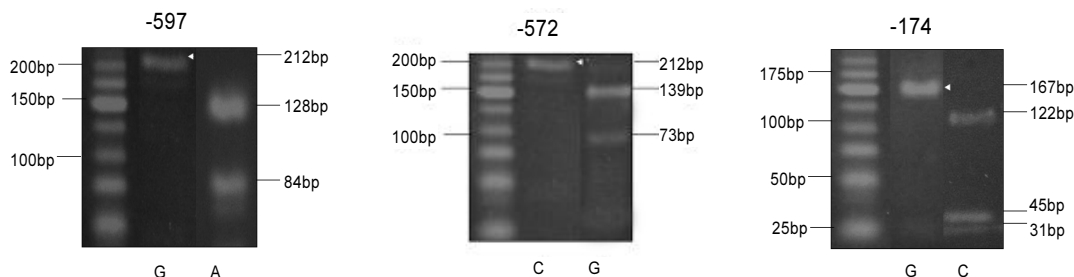


Figure 1. The results of agarose gel electrophoresis at position -597, -572 and -174 of IL-6 gene promoter region after restriction enzyme digestion.

밴드가 확인된 경우에만 그 유형을 기록하였다. IL-6 promoter -597 부위에서는 G 대립유전자를 대립유전자 1, A 대립유전자를 대립유전자 2로, -572 부위는 C 대립유전자를 대립유전자 1, G 대립유전자를 대립유전자 2로 간주하였다. 그리고 -174 부위에서는 G 대립유전자를 대립유전자 1로, C 대립유전자를 대립유전자 2로 간주하였다. 각 promoter 부위에서 대립유전자 2를 포함하는 유전자형을 가지고 있는 개체를 대립유전자 2 보인자(carrier)라고 하였다. 대립유전자 2의 빈도는 전체 대상 대립유전자수에 대한 대립유전자 2의 비율로서 계산하였다.

5. 통계처리

모든 검사결과들을 SPSS version 12.0(SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 사용하여 분석하였다. 유전형분포의 Hardy-Weinberg equilibrium 여부, 그리고 실험군과 대조군, 성별에 따른 실험군과 대조군의 유전형 분포, 대립유전자 2 빈도, 대립유전자 2 보인자 분포의 차이를 확인하기 위하여 Chi-square(χ^2) test를 사용하였고, 도수가 10 이하인 경우에는 Fisher's exact test를 사용하여 분석하였다. 이때 p값은 0.05보다 작을 때 통계적으로 유의하다고 간주하였다. 그리고 p 값이 유의한 경우 대립유전자 2가 치주질환에 기여하는 정도를 평가하기 위하여 승산비(odds ratio)와 95% 신뢰구간(confidence interval, CI)을 구하였다.

결 과

1. 임상 평가

실험군과 대조군의 임상적 특징은 Table 1과 같다. 최종

적으로 실험군에 포함된 환자는 52명(평균연령 40.5 ± 6.5 세)이었고, 대조군에는 30명이 포함되었다. 평균 탐침 깊이는 실험군에서 4.0 ± 1.1 mm, 대조군에서 2.4 ± 0.3 mm이었으며 평균 임상적 부착 상실은 실험군에서 4.2 ± 1.0 mm, 대조군에서 2.4 ± 0.3 mm이었다.

2. 유전형 분포

검사된 IL-6 gene promotor 3부위 모두에서 유전형 분포는 Hardy-Weinberg equilibrium 상태를 보였다. -597 부위의 유전형 분석결과, 실험군에서 G/G 유전형이 30.8%, G/A 유전형이 40.4%, A/A 유전형이 28.8%의 분포를 보였고, 대조군에서는 각각 53.3%, 40.0%, 6.7%로 관찰되었다. 이러한 유전형 분포는 실험군과 대조군 사이에 통계적으로 유의한 차이를 보여 실험군에서 대조군에 비하여 A/A 유전형 비율이 유의하게 높았다($p < 0.05$). -572 부위에서는 C/C, C/G, G/G 유전형 비율이 각각 23.1%, 55.8%, 21.2%였고, 대조군에서는 각 유전형이 20.0%, 33.3%, 46.7%로 관찰되어, 실험군의 G/G 유전형 비율이 대조군에 비하여 유의하게 낮았다($p < 0.05$). -174 부위에서는 실험군에서 G/G 유전형이 96.2%, G/C 유전형이 3.8%로 나타났으나 C/C 유전형은 관찰되지 않았고, 대조군에서는 G/G 유전형만 관찰되었다(Table 2).

남성에서 -597 부위의 유전형 분포는 G/G, G/A, A/A 유전형 비율이 각각 실험군에서 37.0%, 37.0%, 25.9%였고, 대조군에서 61.5%, 38.5%, 0%였고, 여성에서는 실험군에서 G/G, G/A, A/A 유전형이 각각 24.0%, 44.0%, 32.0%였고 대조군에서 각각 47.0%, 41.2%, 11.8%로 관찰되어, A/A 유전형이 실험군에서 높았으나 유의하지 않았다. -572 부위에서는 남성에서 실험군의 C/C, C/G, G/G 유전형 비율이

Table 1. Summary of Demographic and Clinical Parameters of the Groups

	GAP	Control
No. of subjects	52	30
Mean age (yrs)	40.5 ± 6.5	41.6 ± 12.8
Gender (M/F)	27/25	13/17
Mean probing depth (mm)	4.0 ± 1.1	2.4 ± 0.3
Mean clinical attachment level (mm)	4.2 ± 1.0	2.4 ± 0.3

GAP: generalized aggressive periodontitis

Control: periodontally healthy subjects

37.0%, 40.7%, 22.3%였고, 대조군이 7.6%, 46.2%, 46.2%로서, 실험군에서 C/C 유전형이 더 높게 나타났으나 유의하지는 않았다. 반면 여성에서는 G/G 유전형은 실험군에서는 20%, 대조군에서는 47.1%로 실험군이 대조군에 비해 유의하게 낮았다($p<0.01$). -174 부위는 남성에서 두 군 모두, 그리고 여성 대조군에서 G/G 유전형만 관찰되었으나, 여성 실험군에서는 G/G 유전형이 92.0%, G/G 유전형이 8.0%로 나타났다(Table 3).

3. 대립유전자 2의 빈도

-597 부위에서 대립유전자 2(A)의 빈도는 실험군에서 49.0%, 대조군에서 26.7%로 실험군에서 유의하게 더 높아($p<0.01$), 대립유전자 A가 존재하는 경우 급진성 치주염 위험도가 약 2.6배 증가하는 것으로 나타났다(승산비=2.64, 95% 신뢰구간=1.32~5.27). -572 부위에서 대립유전자 2(G)의 빈도는 실험군에서 48.5%, 대조군에서 63.3%로 실험군이 대조군보다 낮은 빈도로 나타났지만 유의하지는 않았다. -174 부위는 실험군에서 1.9%로 매우 낮은 빈도로 관찰되었고 대조군에서는 대립유전자 2(C)가 나타나지 않았다(Table 2).

남성에서는 -597 부위에서 대립유전자 2(A)의 빈도가 실험군은 44.4%, 대조군은 19.2%로 실험군에서 유의하게 더 높았으며($p<0.05$), 대립유전자 A의 존재시 급진성 치주염 위험도가 3배 이상 증가하였다(승산비=3.36, 95% 신뢰구간=1.10~10.22). 여성에서도 실험군에서 54.0%, 대조군에서 41.2%로 실험군에서 높은 경향을 보여 급진성 치주염 위험도가 약 2.5배 증가하였다(승산비=2.45, 95% 신뢰구간=0.98~6.08). -572 부위의 대립유전자 2(G)의 빈도는, 남성 실험군에서 42.6%, 대조군에서 69.2%, 그리고 여성 실험군에서 56.0%, 대조군에서 58.8%로 관찰되었다. 특히 남성에서는 실험군의 대립유전자 G의 빈도가 대조군에 비해 통계적으로 유의하게 낮아($p<0.05$), 남성에서 대립유전자 G가 존재하는 경우 급진성 치주염 위험이 1/3로 감소하는 것으로 나타났다(승산비=0.33, 95% 신뢰구간=0.12~0.88). -174 부위에서는 실험군 여성의 4.0%에서만 대립유전자 2(C)가 관찰되었다(Table 3).

4. 대립유전자 2 보인자의 분포

대립유전자 2 보인자 비율은 -597 부위에서 실험군이 69.2%, 대조군이 46.7%였으며 대립유전자 보인자의 급진성

Table 2. Genotype and Allele 2 Frequencies of IL-6 promotor -597, -572, and -174 gene polymorphism in Each Group

	GAP(n=52)	Control(n=30)	p-value	OR (95% CI)
IL-6 -597				
G/G	16(30.8)	16(53.3)	0.028*	2.64(1.32~5.27)
G/A	21(40.4)	12(40.0)		
A/A	15(28.8)	2(6.7)		
Allele 2(A) frequency(%)	49.0	26.7	0.005*	
IL-6 -572				
C/C	12(23.1)	6(20.0)	0.046*	0.55(0.29~1.06)
C/G	29(55.8)	10(33.3)		
G/G	11(21.2)	14(46.7)		
Allele 2(G) frequency(%)	49.0	63.3	0.103	
IL-6 -174				
G/G	50(96.2)	30(100)	0.530	
G/C	2(3.8)	0		
Allele 2(C) frequency(%)	1.9	0	0.533	

Data presented in number(%). OR= Odds ratio, CI= confidence interval

Allele 2 frequency: proportion of allele 2 to the total number of alleles.

* Statistically significant at $p<0.05$ by χ^2 test compared to the control group.

Table 3. Distribution of Genotypes and Allele 2 Frequencies of IL-6 promotor -597, -572, and -174 According to Genders

	Male (n=40)				Female (n=42)			
	Test (n=27)	Control (n=13)	p -value	OR (95% CI)	Test (n=25)	Control (n=17)	p -value	OR (95% CI)
IL-6 -597								
G/G	10(37.0)	8(61.5)			6(24.0)	8(47.1)		
G/A	10(37.0)	5(38.5)	0.108		11(44.0)	7(41.2)	0.190	
A/A	7(25.9)	0			8(32.0)	2(11.8)		
Allele 2(A) frequency(%)	44.4	19.2	0.046*	3.36 (1.10~10.22)	54.0	32.4	0.074	2.45 (0.98~6.08)
IL-6 -572								
C/C	10(37.0)	1(7.6)			2(8.0)	5(29.4)		
C/G	11(40.7)	6(46.2)	0.112		18(72.0)	4(23.5)	0.007*	
G/G	6(22.3)	6(46.2)			5(20.0)	8(47.1)		
Allele 2(G) frequency(%)	42.6	69.2	0.033*	0.33 (0.12~0.88)	56.0	58.8	0.826	0.89 (0.36~2.15)
IL-6 -174								
G/G	27(100)	13(100)			23(92.0)	17(100)	0.506	
G/C	0	0			2(8.0)	0		
Allele 2(C) frequency(%)	0	0			4.0	0	0.512	

Data presented in number(%). OR= Odds ratio, CI= confidence interval

Allele 2 frequency(%): proportion of allele 2 to the total number of alleles.

* Statistically significant at $p < 0.05$ by χ^2 test compared to the control group.

치주염 위험도가 2.5배 증가하는 경향을 보였다(승산비 2.57, 95% 신뢰구간 1.0~6.5). 반면 -572 부위에서 보인자의 분포는 실험군에서 75.0%, 대조군에서 80.0%로 두 군이 유사하였고 -174 부위에서 보인자 분포는 실험군에서 3.8%로 매우 낮게 나타났다(Table 4).

남성에서 대립유전자 2 보인자의 분포는 -597 부위에서 실험군이 63.0%, 대조군이 38.5%, 여성에서는 실험군에서

76.0%, 대조군에서 52.9%로 두 성별 모두 실험군에서 높게 나타났지만 유의하지 않았다. -572 부위에서 보인자 분포는 남성에서 실험군이 63.0%, 대조군이 92.3%로, 실험군에서 낮은 경향을 보였으며, 여성에서는 실험군이 88.0%, 대조군이 70.6%로 유의한 차이를 보이지 않았다. -174 부위에서는 여성 실험군의 8.0%에서만 대립유전자 2 보인자가 관찰되었다(Table 5).

Table 4. Distribution of Allele 2 Carriers of IL-6 -597, -572, and -174 in Each Group

Promotor region	GAP (n=52)	Control (n=30)	p-value	OR (95% CI)
-597	36(69.2)	14(46.7)	0.060	2.57(1.00~6.50)
-572	40(75.0)	24(80.0)	0.790	0.83(0.27~2.51)
-174	3.8	0	0.530	

Data presented in number(%). OR= Odds ratio, CI= confidence interval

Allele 2 carrier: proportion of genotypes with allele 2

* Statistically significant at $p < 0.05$ by χ^2 test compared to the control group.

Table 5. Distribution of Allele 2 Carriers of IL-6 -597, -572, and -174 According to Genders

Promoter region	Male (n=40)				Female (n=42)			
	Test (n=27)	Control (n=13)	p-value	OR (95% CI)	Test (n=25)	Control (n=17)	p-value	OR (95% CI)
-597	17 (63.0)	5 (38.5)	0.185	2.72 (0.69~10.68)	19 (76.0)	9 (52.9)	0.184	2.81 (0.75~10.56)
-572	17 (63.0)	12 (92.3)	0.068	0.142 (0.01~ 1.25)	22 (88.0)	12 (70.6)	0.235	3.05 (0.62~15.00)
-174	0	0			2(8.0)	0	0.506	

Data presented in number(%). OR= Odds ratio, CI= confidence interval

고 찰

사이토카인은 관절염이나 치주염과 같은 만성 염증성 질환의 개시와 진행에 관련이 있는 조절성 단백질로 최근에는 치주질환의 개시와 진행, 그리고 치료결과의 예측에서 사이토카인 유전자의 역할과 관련한 연구가 주목받고 있다^{22,23}. 유전자 다변성은 여러 가지 중요한 세포 기능에서 심각한 결과를 야기할 잠재성을 가지고 있고, 이러한 다변성이 어떠한 조건하에서 질병을 야기할 수 있다.

IL-6는 세균성 LPS나 IL-1 β , TNF- α 와 같은 사이토카인에 의해 자극받은 세포에서 분비되고, B 세포의 분화와 T 세포의 증식에 중요한 역할을 하며²⁴ 류마티스성 관절염, 건선과 같은 여러 가지 염증성 질환들의 병인론과 관련되어 외상이나 감염에 대한 숙주반응의 주요한 매개자로 지목되고 있다¹⁶. IL-6가 파골세포의 형성과 분화, 골흡수를 촉진할 뿐 아니라 초기 골모세포의 분화를 방해한다고 알려졌다¹² IL-6와 치주질환 병인론의 관계는 치주병인균의 존재 시에 IL-6 SNP가 염증반응을 증가시킬 수 있다²⁵. Nibali 등²⁶은 *A. actinomycetemcomitans*와 IL-6 -174 SNP와의 상관관계가 존재한다고 하였는데, 이러한 특정 세균이 치주 조직에 존재시 만성적인 염증성병소의 확립을 촉진시킬 수 있다. IL-6 -174 부위의 다변성은 혈청 IL-6 수준을 높이고 치주치료에 대한 반응을 조절한다고 보고되어^{15,27}, IL-6 유전자 다변성이 치주질환의 발병과 진행에 관련될 수 있음을 시사한다. 치주조직에서는 다양한 세포가 IL-6 유전자를 발현하는 것으로 알려져 있는데, 치주질환자의 염증성 조직, 치은열구액, 혈장 등에서 IL-6 수준이 높게 관찰되며 치주 치료 후에는 유의하게 감소된다^{13,14}. 또한 IL-6는 치주질환과 관련된 사이토카인 중 염증반응과 골흡수 과정의 조절에

주된 역할을 하기 때문에 유전자 다변성이 질환의 병인에 영향을 줄 수 있는 후보 사이토카인이 될 수 있다. IL-6 사이토카인의 전사활성과 관련된 IL-6 promoter 다변성 연구로 Brull 등²⁸은 심장 질환자에서 IL-6 promoter -572 부위에 C 대립유전자가 존재하는 경우 G/G 유전형을 가진 환자보다 혈중 IL-6의 수치가 더 높다고 보고하였다.

IL-6이 치주질환을 비롯한 염증반응에서 중요한 인자이나 한국인에서 IL-6 promoter 다변성은 -174 부위의 SNP에 대해서만 보고되어 있으며^{20,29}, 유럽에서 치주질환과 관련되어 증가한 IL-6 -174 G/C 유전형이 국내의 정상 인구 집단 연구에서 매우 드물다고 보고되었다²⁰. 따라서 이번 연구에서는 IL-6 유전자의 promoter 부위 중 다변성이 보고되고 있는 -597(G/A), -572(C/G), -174(G/C) 부위와 -373(AnTm) 부위^{10,21} 중 -597, -572, -174에서 단일 염기 서열의 변이(SNP)에 의한 다변성에 대하여 전반적 급진성 치주염 환자를 대상으로 연구하였다.

급진성 치주염 환자 연구로는 백인에서 IL-6 -174 G 대립유전자(promotor 활성증가)가 건강인에 비하여 유의하게 증가한다는 Nibali 등²⁵의 보고와 IL-6 -174 G/C 유전형이 급진성 치주염 환자(26.5%)보다 만성 치주염 환자(42%)에서 유의하게 더 높았다고 보고한 Brett 등³⁰의 연구가 있다. 후자의 보고에서 Brett 등³⁰은 만성 치주염과 급진성 치주염 간에 유전적 관련성이 다를 수 있다고 제안하였다.

한편 이번 연구에서 검사한 부위 중 -597(G/A), -572(C/G) 유전자 다변성에 관련된 정보는 급진성 치주염에서 아직 연구, 보고된 바가 없어 만성 치주염에서 보고된 자료만이 활용될 수 있었다. 체코의 만성 치주염 환자를 대상으로 연구한 Holla 등¹⁷은 IL-6 -597 부위에서 G/G 유전형이 21.6%, G/A 유전형은 48.0%, A/A 유전형은 30.4%

였고, IL-6 -572 부위에서는 G/G 유전형이 93.9%, C/G 유전형은 6.1% 분포한다고 보고하였다. 그리고 IL-6 -597 부위 다변성은 유의한 차이를 보이지 않았으나, -572 C/G 유전형이 치주적으로 건강한 환자에서는 19.6%로 치주질환자에 비하여 유의하게 높게 나타나 IL-6 -572 C/G 유전형이 만성 치주염의 발생에 대한 보호작용을 할 것이라고 제안하였다. 이번 연구에서는 IL-6 -597의 유전형 분포가 이들 연구에서와 달리, 질환군과 대조군에서 유전형의 분포간에 유의한 차이를 보였고 특히 A/A 유전형 비율이 질환군에서 대조군(6.7%)에 비해 유의하게 높고 대립유전자 2(A) 존재시 질환위험도가 2.5배 이상 증가하는 것으로 나타났다. 그리고 -572 부위에서 G/G 유전형은 Holla 등의 연구¹⁷⁾에 비해 매우 낮았고, 대신 C/C 유전형이 상당수 나타났다. 즉 실험군(21.2%)에서 G/G 유전형이 대조군(46.7%)에 비해 그 빈도가 유의하게 낮아 Holla 등이 언급한 것과는 달리, Komatsu 등²¹⁾, Brull 등²⁸⁾이 제시하였듯이 C 대립유전자가 IL-6 활성증가에 기여하여 질환위험성에 증가시킬 수 있음을 시사하였다. 이렇게 상반된 소견은 대상 인구집단이 상이하다는 것 외에 Holla 등이 언급하였듯이 단일 부위의 SNP보다는 여러 부위의 일체배형이 중요한 인자가 될 수 있을 것으로 보인다. 일본인 만성 치주염 환자를 대상으로 조사한 Komatsu 등²¹⁾은 IL-6 -597 부위에서는 G/G 유전형만 보고하여 -597 부위의 유전자 다변성을 보인 이번 연구 결과와 달랐다. 그들 연구에서는 -572 부위에서 C 대립유전자의 빈도가 79.5%로 나타난 반면, 이번 연구에서는 실험군(51.0%)과 대조군(36.7%)에서 모두 그 연구에 비해 낮았지만, C 대립유전자 빈도가 질환군에서 높게 나타났다. 이렇게 상이한 연구 결과는 대상 피험자의 인종적 차이로 인한 유전적 배경이 다르고, 또한 연구대상들의 치주질환의 범주가 다름에서 기인하는 것으로 보인다.

IL-6-174 부위에 대해서는 Trevilatto 등¹⁶⁾은 브라질 백인의 만성 치주염 환자를 대상으로 조사한 결과, G/G 유전형이 치주적으로 건강한 환자는 33.3%, 중등도 만성 치주염 환자 50%, 중증 만성 치주염 환자 70.8%로 치주질환 심도가 깊어질수록 더 높은 빈도로 나타나 G/G 유전형이 만성 치주염과 관련된다고 하였다. 그러나 Holla 등¹⁷⁾은 IL-6 -174 G/G 유전형 분포가 만성 치주염 환자에서 29.0%, 대조군에서 34.6%라고 하였다. 동양인을 대상으로 한 Komatsu 등²¹⁾의 연구에서는 만성 치주염 환자에서 모두 G/G 유전형만 관찰되었다. 일반 인구집단에서 IL-6 -174

부위에서 대립유전자 2(C)의 빈도를 분석한 보고들을 살펴보면, 백인에서는 33~55%, 아프리카계 미국인에서는 9%로 높게 발견되나 동아시아에서는 1%보다 적다고 보고되었다¹⁹⁾. 또한 한국인을 대상으로 한 연구에서도^{19,20,29)} C/C 유전형은 전혀 나타나지 않았다. 이번 연구에서도 C 대립유전자의 빈도가 1.9%로 매우 낮게 나타나 아시아인에서 C 대립유전자의 빈도가 희귀하다는 보고와 일치하였고, 또한 실험군에서 G/G 유전형이 96.2%였고 G/C 유전형이 3.8%로 드물게 나타나 Komatsu 등²¹⁾의 연구와 유사하였으며 IL-6-174 부위 유전자 다변성이 치주염과 관련되는지 확인할 수는 없었다.

이번 연구에서 IL-6 유전자 promoter 부위의 다변성이 일반적인 만성 치주염에 비하여 진행속도와 범위 등이 심한 급진성 치주염의 위험요인으로 관련되는지 조사하였다. 전체적으로 -597 부위의 유전형 분포와 대립유전자 2보인자 비율이 실험군이 유의하게 높았고, 그리고 -572 부위의 유전형 분포에서는 여성에서 실험군과 대조군 간 유의한 차이가 관찰되었다. 남성에서 대립유전자 2(G)의 빈도가 -597 부위에서 실험군이 대조군보다 유의하게 높고 -572 부위에서는 실험군이 대조군보다 유의하게 낮게 나타났다. -174 부위 대립유전자 2(G)의 빈도는 아시아인을 대상으로 한 연구 결과와 유사하게 낮게 관찰되었다. 위의 결과로 보아 IL-6 promoter -597, -572 부위의 유전자 다변성이 한국인 전반적 급진성 치주염과 관련될 수 있음을 알 수 있다. 성별에 의한 차이가 어떠한 의미를 가지는지 알아내기 위해서는 좀 더 연구가 필요하다.

이 연구의 제한점으로는 IL-6 유전자의 일체배형(haplotype)과 혈중 IL-6 농도를 평가하지 않았다는 것이다. 각 유전자에는 다수의 SNP 변이가 존재하고 유전자의 발현은 서로 협조하여 일어난다. 이러한 다수의 SNP가 서로 상승 또는 억제효과를 나타내고 또한 다른 유전자들, 인종적, 환경적 요인과 같은 여러 요소 등에 의해 복잡한 영향을 받는다¹⁷⁾. IL-6 유전자의 전사 조절은 단순한 기전에 영향을 받는 것이 아니라 유전자의 일체배형에 의해 결정되는 복잡한 상호작용에 영향을 받는다. Terry 등¹⁰⁾의 연구에서 IL-6의 전사 조절이 일체배형에 영향을 받고 이것이 세포의 기능적인 차이를 야기한다고 하였다. Holla 등¹⁷⁾은 -597, -572, -174 부위의 GCG 일체배형 비율이 치주질환자와 치주적으로 건강한 환자 간에 차이가 있었고 AGC 일체배형이 치주질환자에서 더 높다고 보고하였다. 한편 Nibali 등²⁵⁾은

5개 IL-6 promotor 부위(-174, -572, -1363, -1480, -6106) SNP 분포를 관찰한 결과 모든 인종의 급진성 치주염에서 -1363 다변성이 관련되고, 백인에서는 -1363 및 -1480 다변성과 일체배형이 질환유형과 감수성을 조절할 수 있다고 제시하였다. 이처럼 유전자 다변성 뿐만 아니라 일체배형, 혈중의 농도와 같은 여러 가지 요인들이 IL-6 의 발현에 영향을 끼치므로 향후 이에 대한 연구가 더 필요할 것이다.

지금까지 유전형이 다른 환자에서 치주질환의 진행에 어떠한 영향을 미치는지에 대한 연구가 이루어지지 않았으므로 앞으로 이 환자들을 대상으로 한 지속적인 코호트 추적 조사와 치주 치료에 대한 반응과 예후를 관찰하면서 IL-6 유전자 promoter 부위의 다변성 평가가 이루어져야 할 것이다. 그리고 이번 연구에서는 IL-6 promoter 부위의 단일 염기서열의 변이를 비교하였지만 앞으로 다른 종류의 사이토카인들, 그리고 여러 치주질환과 관련한 기능적 유전자들의 다변성, 일체배형과 치주질환의 다양한 임상적 양상과의 관련성에 대한 연구가 더 큰 포본에서 시행되어야 할 것이다.

참고문헌

1. Korean Dental Association. 1995's report, cited from Moon HS. Suggestions for professionalization and improvement of oral health ministration in Korea. J Korean Dent Assoc 1997;6:351.
2. Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. Ann Periodontol 1999;4:1-6.
3. Meisel P, Siegemund A, Dombrowa S et al. Smoking and polymorphism of the IL-1 gene cluster(IL-1 α , IL-1 β , and IL-1RN) in patients with periodontal disease. J Periodontol 2002;73:27-32.
4. Kornman KS, Crane A, Wang H-Y, et al. The interleukin-1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease. J Clin Periodontol 1997;24:72-77.
5. Nam SJ, Chung HJ, Kim OS, Kim YJ, Koh JT. IL-1 gene polymorphisms in Korean periodontitis patients. J Kor Acad Periodontol 2004;34:623-638.
6. Shin SY, Kim KH, Park OJ, et al. Genetic polymorphisms of the periodontally healthy Korean population. J Kor Acad Periodontol 2003;33:739-745.
7. Yavuzylmaz E, Yamalik N, Bulut S, et al. The gingival crevicular fluid interleukin-1 β and tumor necrosis factor- α levels in patients with rapidly progressive periodontitis. Aust Dent J 1995;40:46-49.
8. Loos BG, Craandijk J, Hoek FJ, Wertheim-van Dillen PME, van der Velden U. Elevation of systemic markers related to cardiovascular diseases in the peripheral blood of periodontitis patients. J Periodontol 2000;71:1528-1534.
9. Kishimoto T. The biology of IL-6. Blood 1989;74:1-10.
10. Terry CF, Loukaci V, Green FR. Cooperative influence of genetic polymorphisms on interleukin 6 transcriptional regulation. J Biol Chem 2000;275:18138-18144.
11. Gemmell E, Marshall RI, Seymour GJ. Cytokines and prostaglandins in immune homeostasis and tissue destruction in periodontal disease. Periodontol 2000 1997;14:112-143.
12. Hughes FJ, Howells GL. Interleukin-6 inhibits bone formation in vitro. Bone Miner 1993;21:21-28.
13. Irwin CR, Myrillas TT. The role of IL-6 in the pathogenesis of periodontal disease. Oral Dis 1998;4:43-47.
14. Takasaki K, Takashiba S, Nagai A. Assessment of IL-6 in the pathogenesis of periodontal disease. J Periodontol 1994;65:147-153.
15. Fishman D, Faulds G, Jeffery R. The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis. J Clin Invest 1998;102:1369-1376.
16. Trevilatto PC, Scarel-Caminaga RM, de Brito RB, de Souza AP, Line SRP. Polymorphism at position -174 of IL-6 gene is associated with susceptibility to chronic periodontitis in chronic periodontitis in a Caucasian Brazilian population. J Clin Periodontol 2003;30:438-442.
17. Holla LI, Fassmann A, Stejskalova A, et al. Analysis of the interleukin-6 gene promoter polymorphisms in Czech patients with chronic periodontitis. J Periodontol 2004;75:30-36.
18. Shin KK, Jang Y, Koh SJ, et al. Influence of the IL-6 -572C>G polymorphism on inflammatory markers according to cigarette smoking in Korean healthy men. Cytokine 2007;39:116-122.
19. Lim SC, Zheng S, Kim YS, et al. The -174 G to C polymorphism of interleukin-6 gene is very rare in Koreans. Cytokine 2002;19:52-54.
20. Pyo CW, Hur SS, Kim YK, et al. 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.
21. Komatsu Y, Tai H, Galicia J.C, et al. Interleukin-6(IL-6) -373 A9T11 allele is associated with reduced susceptibility to chronic periodontitis in Japanese subjects and decreased serum level IL-6 level. *Tissue Antigen* 2005;65:110-114.
 22. Masada M. P, Persson R, Kenney JS, et al. Measurement of interleukin-1 α and -1 β in gingival crevicular fluid: implications for the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodont Res* 1990;25:156-163.
 23. Takashiba S, Naruishi K. Gene polymorphisms in periodontal health and disease. *Periodontol* 2000 2006;40: 94-106.
 24. Lotz M, Jirik F, Kabouridis P, et al. B cell stimulating factor 2/ IL-6 is a costimulant for human thymocytes and T lymphocytes. *J Exp Med* 1988;167:1253-1258.
 25. Nibali L, Griffiths GS, Donos N, et al. Association between interleukin-6 promoter haplotypes and aggressive periodontitis. *J Clin Periodontol* 2008;35:193-198.
 26. Nibali L, Ready DR, Parker M, et al. Gene polymorphisms and the prevalence of key periodontal pathogens. *J Dent Res* 2007;86:416-420.
 27. D'Auito F, Ready D, Parker M, Tonetti MS. Relative contribution of patient-, tooth-, and site-associated variability on the clinical outcomes of subgingival debridement. 1.Probing depth. *J Periodontol*;76:398-405.
 28. Brull DJ, Montgomery HE, Sanders J, et al. Interleukin-6 gene -174G>C and -572G>C promoter polymorphisms are strong predictors of plasma interleukin-6 levels after coronary artery bypass surgery. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;21:1458-1463.
 29. Chang HK, Jang WC, Park SB, et al. Association between interleukin 6 gene polymorphisms and Behc,et's disease in Korean people. *Ann Rheum Dis* 2005;64:339-40.
 30. Brett PM, Zygogianni P, Griffiths GS, et al. Functional gene polymorphisms in aggressive and chronic periodontitis. *J Dent Res* 2005;84:1149-1153.