

# 단순 만성 치주염 환자와 제 2형 당뇨병을 동반한 만성 치주염 환자에서 Stromelysin-1와 Membrane type-MMP-1 Expressions

류상호, 박진우, 서조영, 이재목\*

경북대학교 치의학전문대학원 치주과학교실

## Stromelysin-1 and Membrane type-MMP-1 Expressions in Human Chronic Periodontitis with Type 2 Diabetes Mellitus

Sang-Ho Ryu, Jin-Woo Park, Jo-Young Suh, Jae-Mok Lee\*

Department of Periodontology, School of Dentistry, Kyungpook National University

### ABSTRACT

**Purpose:** The purposes of this study were to compare and quantify the expression of Stromelysin-1 and MT-MMP-1 in the gingival tissues of patients with type 2 diabetes mellitus(DM) and healthy adults with chronic periodontitis.

**Materials and Methods:** Gingival tissue samples were obtained during periodontal surgery or tooth extraction. According to the patient's systemic condition & clinical criteria of gingiva, each gingival sample was divided into three groups. Group 1 (n=8) is clinically healthy gingiva without bleeding and no evidence of bone resorption or periodontal pockets, obtained from systemically healthy 8 patients. Group 2 (n=8) is inflamed gingiva from patients with chronic periodontitis. Group 3 (n=8) is inflamed gingiva from patients with chronic periodontitis associated with type 2 DM. Tissue samples were prepared and analyzed by Western blotting. The quantification of Stromelysin-1 and MT-MMP-1 were performed using a densitometer and statistically analyzed by one-way ANOVA followed by Tukey test.

**Results:** In the analysis of expression levels, Stromelysin-1 and MT-MMP-1 expressions were similar in group 1 and 2. Stromelysin-1 and MT-MMP-1 expressions were more increased in group 3 than group 1, 2. The difference between group 3 and group 1, 2 was statistically significant. Also, in the interrelationship of Stromelysin-1 and MT-MMP-1 expressions, expressions of Stromelysin-1 and MT-MMP-1 showed increasing tendency in chronic periodontitis associated with type 2 DM and it seems that the MT-MMP-1 expressions were increasing in proportion to Stromelysin-1 expressions.

**Conclusion:** It is suggested that Stromelysin-1 and MT-MMP-1 may be partly involved in the progression of periodontal inflammation associated with type 2 DM, as related to a metabolism of other factors, such as AGE, plasmin and other inflammatory mediators. Therefore, the expression levels of Stromelysin-1 and MT-MMP-1 can be inflammatory markers of periodontal inflamed tissue with type 2 DM. (*J Korean Acad Periodontol* 2008;38:629-638)

**KEY WORDS:** Stromelysin-1; MT-MMP-1; DM; chronic periodontitis.

### 서론

만성 치주염은 치아 주위 조직의 부착 상실과 치조골 파괴를 특징으로 하는 감염성 질환이다. 치주조직의 세포외기

질 구성성분 특히, 교원질은 이러한 치주염의 주요한 파괴 대상이 된다. 세포외기질을 파괴하는 숙주 단백분해효소 중 matrix metalloproteinases(MMPs)는 치주질환에서 조직 파괴와 개조에 많이 관련된 것으로 보고되고 있다<sup>1)</sup>.

MMPs는 정상적으로 유전자 발현 수준에서부터 세포 외로의 분비까지 잘 조절되지만, 이러한 조절이 붕괴되면 결합 조직의 병적인 파괴를 일으킨다. 치주조직에서 MMPs의 높은 수준은 교원질의 생산과 파괴의 불균형을 초래하여 결국 치아 부착 상실을 일으키는 것으로 알려져 있다<sup>2)</sup>.

MMPs는 그것의 기질 특성과 배열 상동관계에 기초하여,

Correspondence : Jae-Mok Lee

Department of Periodontology, School of Dentistry, Kyungpook National University, 188-1 Samduk-Dong 2ga, Jung-Gu, Daegu, 700-412, Korea.

E-mail : leejm@knu.ac.kr, Tel: 82-53-600-7511,

Fax: 82-53-427-3263

Received: Oct. 13, 2008; Accepted: Nov. 28, 2008

크게 4가지로 구분된다<sup>3)</sup>: (1) collagenase 1, 2, 3, 4 (2) gelatinases (3) stromelysins-1(MMP-3), -2, matrilysin (4) MT-MMP-1, MMP-15, MMP-16, MMP-17과 같이 최근 발견된 membrane type matrix metalloproteinases (MT-MMPs), MMP-12(Metalloelastase), MMP-19와 MMP-20(enamelysin) 또한 MMPs 군에 속한다.

이 중 Stromelysin-1(MMP-3)는 치은 섬유아세포 뿐 아니라, 단핵구, 내피세포, 연골세포, 활막세포를 포함한 다양한 세포에서 합성된다<sup>4)</sup>. Stromelysin-1은 gelatin, proteoglycan, laminin, fibronectin과 type I, type IX collagen을 포함한 많은 세포외기질의 분해에 효과적이다<sup>5)</sup>. 또한 이러한 다양한 결합조직의 구성성분을 파괴하는 능력 외에도 Stromelysin-1은 잠재적인 pro-MMP-1, -8, -9의 단백질 분해 활성화에 역할을 하는 것으로 알려져 있다<sup>6)</sup>. Stromelysin-1에 의해 매개되는 교원질 분해는 치주염에서 결합조직의 파괴와 개조에 주요 경로가 될 수 있다.

1994년 Sato 등<sup>7)</sup>은 membrane type-MMP(MT-MMP-1, MMP-14)를 처음 발견하여, 이것이 pro-MMP-2를 활성화시킨다고 설명하였다. 이후, MT-MMP-1은 type I, II, III collagen, fibronectin, laminins 그리고 proteoglycans을 포함한 다양한 세포와 기질의 구성성분을 파괴함이 관찰되었다<sup>8)</sup>. MT-MMP-1은 분비되지 않고 세포막에서 역할을 하며, pro-MMP-8과 -13을 활성화시킨다. Achong 등<sup>9)</sup>은 치주 병소의 개조와 치유 단계 동안, 세포막에서 활성화된 MMP-2와 함께 MT-MMP-1가 세포 이주와 세포외기질의 재구성을 일으킬 것이라 설명하였다.

당뇨병은 전신적 영향을 받을 수 있는 치주질환과 연관되어져 왔다. 또한 당뇨병을 동반한 심한 치주염은 신장, 심혈관계 그리고 감염성 합병증을 일으킬 가능성이 높은 것으로 보고 되고 있다<sup>10)</sup>. 당뇨병 환자의 감염에 대한 감수성과 느린 상처 치유는 잘 알려져 있다<sup>11)</sup>. 당뇨병은 그 자체가 치주염을 일으키지는 않지만, 대사 조절 정도와 관련하여 치주질환의 높은 이환율에 부분적으로 관여하는 것으로 알려져 왔다<sup>12)</sup>. Bissada 등<sup>13)</sup>은 경도의 치주염을 가진 당뇨병 환자와 경도 또는 중등도의 치주염을 가진 건강한 환자와 비교하여 당뇨병을 동반한 치주염 환자에서 다형핵 백혈구의 화학 주성이 더욱 부족함을 관찰하고, 손상된 다형핵 백혈구 기능이 치주염과 당뇨병에 관련됨을 보고하였다.

염증 반응에서 Stromelysin-1과 MT-MMP-1의 역할과 상호작용은 아직 명백하지 않다. 치주염의 병인에서

Stromelysin-1과 MT-MMP-1의 상대적인 기여도 또한 아직 잘 알려져 있지 않다. 또한, 당뇨를 동반하거나 동반하지 않은 만성 치주염 환자에서 각 Stromelysin-1과 MT-MMP-1 그리고 그것들의 상호관계를 동시에 분석한 연구는 아직 미흡한 실정이다. 이번 연구의 목적은 제2형 당뇨병 환자와 전신적으로 건강한 성인의 만성 치주염 부위 치은 조직에서 Stromelysin-1과 MT-MMP-1의 발현을 정량하고 상호 비교 분석하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 환자 선정 및 조직 표본 채득

이번 연구에 참여한 환자는 만성 치주염 치료를 위해 XX 대학교 병원을 내원한 환자들 중 제2형 당뇨병을 동반한 만성 치주염 환자 8명, 전신적으로 건강한 만성 치주염 환자 8명 그리고 전신적으로 건강한 성인 8명으로 구성되었다. 치주조직 표본은 모든 환자에게 동의를 얻은 후, 치주 수술(치관연장술 포함) 또는 발치 시 내사면절개에 의해 얻어졌다.

환자의 전신적 상태(나이, 성별, 혈당 수치, 흡연 유무), 치은의 임상적 기준(치은 열구 출혈 지수, 치주낭 깊이) 그리고 골 흡수의 방사선학적 증거에 따라, 각 치은 조직 표본은 3가지 군(Group 1, 2, 3)으로 나누어졌다.

첫 번째 군(Group 1, 대조군)은 전신적으로 건강한 8명의 성인으로부터 얻어진, 출혈이 없고 골 흡수 또는 치주낭이 없는 임상적으로 건강한 치은 조직으로 하였고, 두 번째 군(Group 2)은 만성 치주염 환자로부터 얻어진 염증성 치은 조직으로 하였다. 만성 치주염은 임상적 그리고 방사선학적(골 흡수) 기준을 기초로 치주 질환과 상태에 대한 분류에 따라 진단되었다<sup>14)</sup>. 두 번째 군의 모든 환자는 전신적으로 건강하고, 치주낭 깊이가 5mm 이상인 부위를 한 부위 이상 가지며, 4mm 이상의 부착 소실을 보이는 치아를 적어도 한 개 이상 가지고 있었다. 모든 치은 조직 표본은 5mm 이상의 치주낭 깊이, 변연 치은의 부종 그리고 Mühlman & Son<sup>15)</sup>에 따른 치은 열구 출혈 지수 3을 보이는 치아로부터 채득되었다.

세 번째 군(Group 3)은 제2형 당뇨병을 동반한 만성 치주염 환자로부터 얻어진 염증성 치은 조직으로 하였다. 세 번째 군은 적어도 6개월 이전에 제2형 당뇨병 진단을 받고, 식 후 2시간째 혈당 수치가 200 mg/dl 이상 보이는 환자를

대상으로 하였다. 두 번째 군과 세 번째 군의 환자는 유사한 치주 상태를 보이지만, 두 번째 군은 전신적으로 건강한 환자를 대상으로 하였고, 세 번째 군은 약물치료 중인 제2형 당뇨병 환자를 대상으로 하였다.

수술 시, 채득된 조직 표본은 즉시 액화 질소에 급속 동결되었다( $-70^{\circ}\text{C}$ ).

## 2. 단백질 분리와 Western blotting

Western blotting은 이전에 Park 등<sup>16)</sup>의 연구에서 시행된 방법과 동일하게, 동결된 조직을 Cho 등<sup>17)</sup>의 방법을 따라 1:30으로 희석된 protease inhibitor cocktail(Roche, Germany)을 함유한 RIPA 용해완충액(10 mM EDTA, 0.15M NaCl)에서 균질화 시키고, 그 용해물을 10초 동안 세 번 초음파 분쇄하였으며,  $4^{\circ}\text{C}$ , 12000 rpm에서 15분 동안 원심 분리하였다. 상층액의 단백질 농도는 BSA를 표준 용액으로 이용하여 Bradford protein assay(Quick Start, BIO-RAD, USA) 통해 결정되었다.

그 용해물의 상층액을 SDS samples buffer(1M Tris-HCl(pH 6.8), 40% glycerol, 8% SDS, 2% mercapto-ethanol, 0.002% Bromophenol blue)에서 끓인 후, 15% sodium dodecyl sulfate(SDS)-polyacrylamide gels에서 분리하고, polyvinylidene difluoride(PVDF) 막으로 전이하였다.

막은 비특이적인 반응을 제거하기 위해 5% powdered milk와 1% BSA를 함유한 Tris-buffered saline(TBS)으로 1시간동안 처리하고, 실온에서 polyclonal anti-Stromelysin-1과 anti-MT-MMP-1(prepared in rabbit, 각각 TBS에서 1:1,000, 1:2,000으로 희석, Sigma-Aldrich, Inc. USA) 항체와 1.5시간 동안 반응시켰다.

이러한 막은 Tween 20으로 5분씩 5회 세척되고, anti-Stromelysin-1과 anti-MT-MMP-1에 대하여 horse-radish peroxidase(HRP)-conjugated goat anti-rabbit 이차항체를 TBS에서 1:2,000으로 희석하여, 실온에서 1시간동안 반응시켰다. 다시 막은 Tween 20으로 5분씩 5회 세척된 후 ECL Plus development kit(Amsterdam, Beckinghamshire, UK)으로 밴드를 확인하였다.

Stromelysin-1과 MT-MMP-1 발현에 대한 정량 분석은 densitometer(Scion Image  $\beta$  4.02, Scion Corporation, USA)을 이용하여 시행되었다. 각 표본에서  $\beta$ -actin (Abcam, UK)에 대한 표준화를 시행하고, Stromelysin-1과, MT-MMP

-1의 발현은 Stromelysin-1 또는 MT-MMP-1/ $\beta$ -actin의 비율로 나타내었으며, 세 군 사이의 차이가 결정되었다.

## 3. 통계

모든 수치는 평균 $\pm$ 표준편차로 나타내었고, 결과는 통계학적으로 분석되었다. 각 3군 사이의 Stromelysin-1과 MT-MMP-1 수준은 one way ANOVA를 이용하여 비교되었고, Tukey test에 의해 사후검증 되었다( $P<0.05$ ).

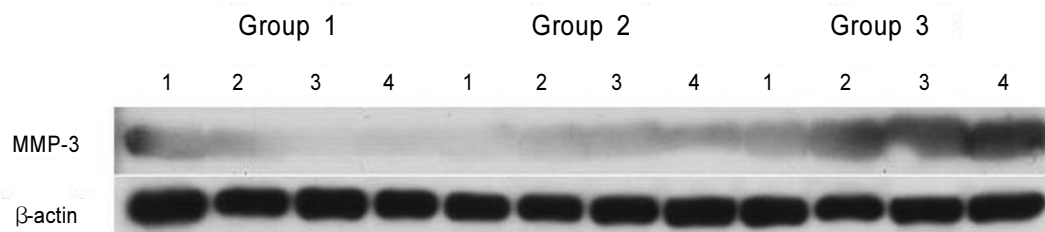
## 결과

제 2형 당뇨병을 동반한 만성 치주염 환자와 전신적으로 건강한 만성 치주염 환자의 채득된 모든 조직 표본에서 Stromelysin-1(59 kDa)과 MT-MMP-1(63 kDa)의 발현이 관찰되었다. 세 군 모두에서 Stromelysin-1가 검출되었으며 Stromelysin-1 발현 수준은  $\beta$ -actin(ratio of Stromelysin-1/ $\beta$ -actin)으로 표준화되었다(Fig. 1A). 표준화된 Stromelysin-1의 발현 수준은 Table 1에 제시하였고, Fig. 1B에 도표로 요약하였다.

Stromelysin-1의 평균 발현 양(ratio of Stromelysin-1/ $\beta$ -actin)에서 1군은  $0.545\pm0.177$ , 2군은  $0.617\pm0.117$ , 3군은  $0.934\pm0.166$ 로 나타났다. 1군과 2군 사이에는 유의한 차이가 없었지만 1군과 3군, 2군과 3군 사이의 차이는 통계학적으로 유의하였다( $P<0.05$ ).

MT-MMP-1 발현도 세 군에서 MT-MMP-1가 검출되었다(Fig. 2A). MT-MMP-1 발현 수준은 역시  $\beta$ -actin(ratio of MT-MMP-1/ $\beta$ -actin) 표준화로 정량되었으며(Fig. 2B), 표준화된 MT-MMP-1의 발현 수준은 Table 2에 제시되었다. MT-MMP-1의 평균 발현 양(ratio of PGE2/ $\beta$ -actin)은 1군은  $0.582\pm0.178$ , 2군은  $0.637\pm0.123$ , 3군은  $1.060\pm0.217$ 로 나타났다. 이 경우 Stromelysin-1과 마찬가지로, 1군과 2군 사이에는 유의한 차이가 없었지만, 1군과 3군, 2군과 3군 사이의 차이는 통계학적으로 유의하였다( $P<0.05$ ).

또한, Stromelysin-1과 MT-MMP-1 발현의 상관관계에서, Stromelysin-1과 MT-MMP-1의 발현 모두 제 2형 당뇨병 환자의 염증 조직에서 증가되는 경향을 나타내었고, MT-MMP-1의 발현이 Stromelysin-1의 발현에 비례하여 증가하는 것처럼 보였다.



**Figure 1A.** Stromelysin-1(MMP-3) Western analysis showing 4 representative samples in each group. Stromelysin-1 corresponding to molecular weight 59kDa was shown to be expressed in all samples including healthy gingiva. The expression levels of Stromelysin-1 were increased in order of group 1, group 2, group 3. In order to quantify detected Stromelysin-1,  $\beta$ -actin levels were also measured.

Group 1 : healthy gingiva from systemically healthy person

Group 2 : inflamed gingiva from patient with chronic periodontitis

Group 3 : inflamed gingiva from patient with chronic periodontitis and type DM

**Table 1.** Normalized Stromelysin-1 expressions by Stromelysin-1/ $\beta$ -actin

sample	Group 1	Group 2	Group 3
1	0.632	0.441	0.612
2	0.460	0.514	0.860
3	0.371	0.532	0.910
4	0.391	0.623	1.005
5	0.873	0.712	0.942
6	0.714	0.609	1.209
7	0.455	0.787	0.977
8	0.462	0.715	0.960
Mean $\pm$ SD	0.545 $\pm$ 0.177	0.617 $\pm$ 0.117*	0.934 $\pm$ 0.166+

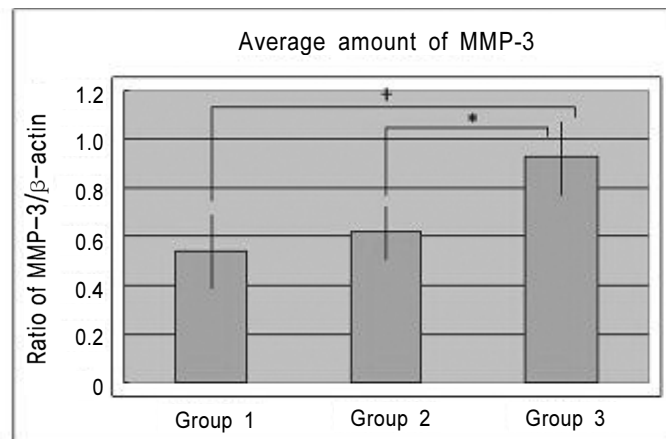
Group 1 : healthy gingiva from systemically healthy person

Group 2 : inflamed gingiva from patient with chronic periodontitis

Group 3 : inflamed gingiva from patient with chronic periodontitis and type 2 DM

+ significant difference between group 1 and group 3 ( $P < 0.05$ )

\* significant difference between group 2 and group 3 ( $P < 0.05$ )



**Figure 1B.** Graphics showing the average amounts (Ratio of Stromelysin-1(MMP-3)/β-actin) and standard deviation of Stromelysin-1 in group 1, 2 and 3. In the inflamed gingiva with diabetes (group 3), Stromelysin-1 seemed to be increased compared to group 1 and group 2.

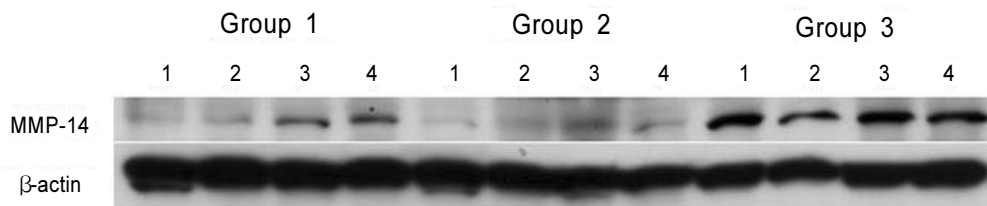
Group 1 : healthy gingiva from systemically healthy person

Group 2 : inflamed gingiva from patient with chronic periodontitis

Group 3 : inflamed gingiva from patient with chronic periodontitis and type 2 DM

+ significant difference between group 1 and group 3 ( $P < 0.05$ )

\* significant difference between group 2 and group 3 ( $P < 0.05$ )



**Figure 2A.** MT-MMP-1(MMP-14) Western analysis showing 4 representative samples in each group. MT-MMP-1 corresponding to molecular weight 63kDa was shown to be expressed in all samples including healthy gingiva and the expression levels of MT-MMP-1 were increased in order of group 1, group 2, group 3. In order to quantify detected MT-MMP-1, β-actin levels were also measured.

Group 1 : healthy gingiva from systemically healthy person

Group 2 : inflamed gingiva from patient with chronic periodontitis

Group 3 : inflamed gingiva from patient with chronic periodontitis and type DM

**Table 2.** Normalized MT-MMP-1 expressions by MT-MMP-1/ $\beta$ -actin

sample	Group 1	Group 2	Group 3
1	0.461	0.437	0.999
2	0.480	0.578	0.920
3	0.578	0.812	1.170
4	0.602	0.601	0.928
5	0.981	0.709	1.176
6	0.615	0.780	1.512
7	0.396	0.569	0.907
8	0.545	0.607	0.870
Mean $\pm$ SD	0.582 $\pm$ 0.178	0.637 $\pm$ 0.123*	1.060 $\pm$ 0.217 <sup>+</sup>

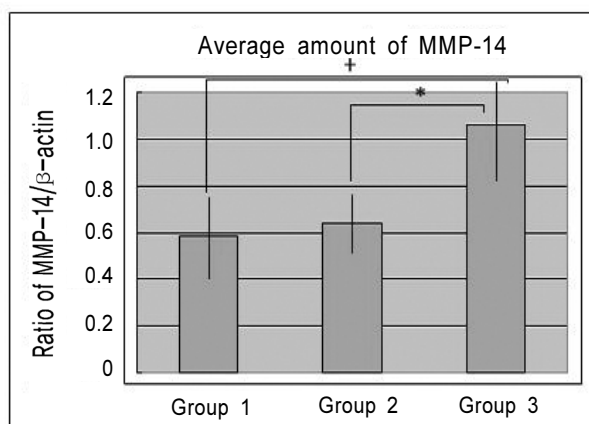
Group 1 : healthy gingiva from systemically healthy person

Group 2 : inflamed gingiva from patient with chronic periodontitis

Group 3 : inflamed gingiva from patient with chronic periodontitis and type 2 DM

+ significant difference between group 1 and group 3 ( $P<0.05$ )

\* significant difference between group 2 and group 3 ( $P<0.05$ )



**Figure 2B.** Graphics showing the average amounts (Ratio of MT-MMP-1(MMP-14)/ $\beta$ -actin) and standard deviation of MT-MMP-1 in group 1, 2 and 3. In the inflamed gingiva with diabetes (group 3), MT-MMP-1 seemed to be increased compared to group 1 and group 2.

Group 1 : healthy gingiva from systemically healthy person

Group 2 : inflamed gingiva from patient with chronic periodontitis

Group 3 : inflamed gingiva from patient with chronic periodontitis and type 2 DM

+ significant difference between group 1 and group 3 ( $P<0.05$ )

\* significant difference between group 2 and group 3 ( $P<0.05$ )

## 고찰

인간을 대상으로 한 당뇨와 치주 질환 사이의 상호관계에 대해 많은 연구가 보고되고 있다. 잘 조절되지 않는 당뇨병 환자의 경우 치주 질환이 더욱 급속히 진행되고, 더 많은 치아 상실이 일어나는 것으로 알려져 있다<sup>18)</sup>. 당뇨를 가진 경우 치주염의 증가된 이환율과 심도를 설명하는 다양한 병인적 요소들이 제안되어 오고 있다<sup>19)</sup>.

상처 치유에 있어 중심적 구성 성분인 교원질은 우리 몸의 가장 많은 양을 차지하는 단백질이고 치은의 가장 중요한 구성성분이라 할 수 있다. MMPs는 조직의 개조 그리고 치주질환과 같은 병적인 과정을 포함한 많은 생리적인 과정에 역할을 하는데, 치주조직이 파괴되는데 있어 교원질 파괴에 주요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다.

이 연구의 목적은 제 2형 당뇨병 환자에서 치주 파괴 특히, MMP에 의한 숙주 반응에 대한 Stromelysin-1과 MT-MMP-1의 기여도를 이해하기 위해서 제 2형 당뇨병을 동반한 만성 치주염을 가진 환자의 치은 조직에서 Stromelysin-1과 MT-MMP-1의 발현을 정량화하여 비교하는 것이다.

이번 연구에서, 전신적으로 건강한 환자의 정상 치은 조직과 염증성 치은 조직에서 Stromelysin-1과 MT-MMP-1의 발현은 유사한 양상을 나타내었다. 이것은 조직 표본의 다양한 염증 정도에 기인한 것으로 여겨진다.

지금까지 제 2형 당뇨병을 동반한 만성 치주염 환자에서 Stromelysin-1의 발현 양상에 관한 연구는 미미한 실정이다. 이번 연구에서 Stromelysin-1 발현의 정량적 분석은 제 2형 당뇨병 환자의 염증성 치은 조직에서 전신적으로 건강한 환자의 정상 치은 조직과 염증성 치은 조직과 비교하여 Stromelysin-1의 발현이 다소 증가된 양상을 보여 주었고, 그 차이가 통계학적으로 유의하였다. 이러한 결과는 Stromelysin-1이 제 2형 당뇨병 환자에 있어 질환의 진행 과정에 다른 반응 경향을 나타냄을 보여 주고, 이러한 전신적 질환을 가진 환자의 증가된 염증 반응에 있어 부분적인 역할을 하는 것을 나타낸다.

당뇨병은 고혈당을 특징으로 하고, 고혈당에 지속된 노출은 다양한 당뇨 합병증이 발생하는데 일차적인 요인이 된다<sup>20)</sup>. 당뇨병에 있어 일반적인 생화학적 기전은 고혈당에 의해 매개되는 비효소적 advanced glycation end products

(AGEs)의 형성이다. 당에 의해 매개되는 AGE의 축적은 단핵구와 탐식세포의 이주와 탐식 능력에 영향을 미쳐서 결과적으로 더욱 병적인 치은연하 미생물총을 형성하게 한다.

이것은 cytokine upregulation의 infection-mediated pathway를 자극하고, 특히 tumor necrosis factor(TNF)- $\alpha$ 와 interleukine(IL)-1의 분비를 자극한다<sup>21)</sup>. Wassenaar 등과 Tewari 등은 각각 TNF- $\alpha$ 와 IL-1에 의해 치은 섬유모세포에서 Stromelysin-1의 발현이 자극된다고 설명하였다<sup>22)</sup>.

치주염 환자의 치은 열구액에는 호중구에 의해 유도된 cathepsin G와 elastase가 증가되어 있는 것으로 보고되고 있으며<sup>23)</sup>, 이러한 효소들은 pro-Stromelysin-1을 활성화시킬 수 있는 것으로 알려져 있다<sup>24)</sup>. 그러므로, 이것은 치은 열구액 내에서 치은 섬유모세포에서 유래된 pro-Stromelysin-1을 활성화시킬 수 있는 것으로 생각된다. 또한, pro-MMP-8과 pro-MMP-9가 활성화되고 탈과립된 호중구로부터 분비되면, 활성화된 Stromelysin-1은 pro-MMP-8과 pro-MMP-9의 활성화 부위를 막고 있는 10 kDa의 peptide를 잘라낸다<sup>25)</sup>. 활성화된 pro-collagenase-8(MMP-8)과 pro-gelatinase B(MMP-9)는 연속적으로 각각 type I collagen과 gelatin을 파괴하게 된다<sup>26)</sup>.

또한 MT-MMP-1의 발현에서도 전신적으로 건강한 환자의 정상 치은 조직과 염증성 치은 조직과 비교하여 제 2형 당뇨병을 동반한 만성 치주염 환자의 치은 조직에서 더욱 높게 나타났고, 그 차이가 통계학적으로 유의하였다.

섬유모세포는 만성적인 병소에서 관찰되는 MMPs의 증가된 수준에 주요 기여 인자가 될 수 있다. 염증성 치은 조직에서 상피하 섬유모세포(subepithelial fibroblasts)는 MT-MMP-1를 생산하는 주요 세포로 알려져 있다<sup>27)</sup>. 당뇨 상태에서 관찰되는 고혈당은 다양한 염증매개체를 유도하고 이것은 치은 섬유모세포를 자극할 수도 있다고 생각할 수 있으나 정확한 신호전달 기전을 밝히기는 이번 실험으로는 어려우며, 치은 조직 내에서 다른 매개체의 염증성 반응에 대한 좀 더 많은 연구가 필요할 것으로 생각된다.

Ohuchi 등<sup>28)</sup>은 MT-MMP-1를 간질성 collagen 분해 효소(interstitial collagenases)와 그 기질 특성을 공유하고, 세포외기질의 분해 효소로 설명하였다. 그리고, 세포외기질 분해에서 직접 작용하거나 병적인 상태 하에 pro-MMP-2의 활성화를 통해 그 역할을 할 것이라고 보고하였다. 또한, 열구 상피의 기저 세포 또는 치은 결합 조직 내에서 발현되는 MT-MMP-1는 procollagenase(MMP-13)의 활성 인자

로서 역할을 하는 것으로 보고되고 있다<sup>29)</sup>.

Stromelysin-1과 MT-MMP-1 사이의 관계에서, pro-Stromelysin-1과 Stromelysin-1은 각각 tissue-type과 urokinase-type의 plasminogen activator에 의해 plasminogen을 활성화시키는 것으로 알려져 있는데<sup>30)</sup>, 이러한 plasminogen activator들은 Arg561-Val562 peptide bond를 끊으면서 plasminogen을 활성화된 plasmin으로 전환시키고 활성화된 plasmin은 MT-MMP-1의 전구체를 활성화시키며<sup>31)</sup>, MT-MMP-1-dependent mechanism에 따라 pro-MMP-2를 활성화 시키는 것으로 보고되고 있다<sup>32)</sup>.

고혈당은 당을 매개로 한 AGE 축적을 증가시키고<sup>20)</sup>, AGE는 cytokine upregulation에 의해 치은 섬유모세포에서 Stromelysin-1의 발현을 유도할 수 있다<sup>21-22)</sup>. 그러므로, 당뇨병을 동반한 환자에서 Stromelysin-1이 plasmin에 의해 MT-MMP-1의 활성화를 자극할 수 있다고 생각할 수 있으나 좀 더 많은 연구가 필요하리라 생각된다.

이번 연구에서, Stromelysin-1과 MT-MMP-1의 발현이 제 2형 당뇨병을 동반한 만성 치주염 환자의 치은 조직에서 다소 증가되는 양상을 관찰하였고, MT-MMP-1의 발현이 Stromelysin-1의 발현에 비례하여 증가되는 것처럼 보였다. 이것은 Stromelysin-1이 제 2형 당뇨병을 동반한 만성 치주염 환자의 염증성 조직에서 MT-MMP-1의 활성화에 관여할 것으로 생각되나 다른 염증성 인자나 tissue degradation enzymes이 MT-MMP-1의 발현에 복잡하게 관여됨을 배제할 수 없다.

결론적으로, 제 2형 당뇨병 환자의 염증성 조직에서 Stromelysin-1과 MT-MMP-1이 전신적으로 건강한 환자의 염증성 조직과 정상 조직보다 유의하게 증가하는 양상을 보여 Stromelysin-1과 MT-MMP-1가 AGE, plasmin 그리고 다른 염증인자와 연관하여 부분적인 기여 인자로서 역할을 한 것으로 생각되며, 제 2형 당뇨병 환자의 만성 치주염 부위에서 향후 염증상태에 대한 지표개발에 응용될 수 있으리라 사료된다.

마지막으로, 치주 질환의 진행과정에 영향을 미치는 MMPs와 다른 염증매개체 사이의 영향과 관계에 대해 높은 수준에서의 더 많은 연구가 필요하고, 이러한 연구들은 질환의 진단과 치료방법의 발달에 기여할 수 있을 것으로 생각된다.

## 참고문헌

1. Reynolds, J. J. Collagenases and tissue inhibitors of metalloproteinases : a functional balance in tissue degradation. *Oral Diseases* 1995;2:70-76.
2. M. S. Kumar, G. Vamsi, R. Sripriya, and P. K. Sehgal. Expression of matrix metalloproteinases(MMP-8 and -9) in chronic periodontitis patients with and without diabetes mellitus. *J Periodontol* 2006;77:1803-1808.
3. Werb, Z. ECM and cell surface proteolysis : regulating cellular ecology. *Cell* 1997;91:439-442.
4. Domeij, H., Yucel-Lindberg, T. & Modeer, T. Signal pathways involved in the production of MMP-1 and Stromelysin-1 in human gingival fibroblasts. *European Journal of Oral Science* 2002;110:302-306.
5. Nakaya H., Oates, T. W., Hoang, A. M., Kamoi, K. & Cochran, D. L. Effects of IL-1 beta on matrix metalloproteinase 3 levels in human periodontal ligament cells. *J Periodontol* 1997;68:517-523.
6. Sorsa, T., Suomalainen, K. & Uitto, V. J. The role of gingival crevicular fluid and salivary interstitial collagenases in human periodontal diseases. *Archives of Oral Biology* 1990;35:193-196.
7. H. Sato, T. Takino, Y. Okada et al. A matrix metalloproteinase expressed on the surface of invasive tumour cells. *Nature* 1994;370:61-65.
8. M. Seiki. The cell surface: the stage for matrix metalloproteinase regulation of migration. *Curr. Opin. Cell Biol.* 2002;14:624-632.
9. R. Achong, I Nishimura, H. Ramachandran et al. Membrane Type(MT)1-matrix metalloproteinase(MMP) and MMP-2 expression in ligature-induced periodontitis in the rat. *J Periodontol* 2003;74:494-500.
10. Thorstensson H, Kuylensstiern J, Hugoson A. Medical status and complications in relation to periodontal disease experience in insulin-dependent diabetics. *J Clin Periodontol* 1996;23:194-202.
11. Terranova A. The effects of diabetes mellitus on wound healing. *Plast Surg Nurs* 1991;11:20-25.
12. Grossi SG, Genco RJ. Periodontal disease and diabetes mellitus: A two-way relationship. *Ann periodontol* 1998;3: 51-61.
13. Bissada NF, Manouchehr-Pour M, Haddow M, Spagnuolo



- PJ. Neutrophil functional activity in juvenile and adult onset diabetic patients with mild and severe periodontitis. *J Periodont Res* 1982;17:500-502.
14. Amitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol* 1999;4:1-6.
  15. Muhlemann HR and Son S. Gingival sulcus bleeding a leading symptom in initial gingivitis. *Helv Odontol Acta* 1971;15:107.
  16. Park HK and Lee JM. Interrelationship of matrix metalloproteinase-13 and elastase expression in human gingiva with chronic periodontitis associated to type 2 diabetes mellitus. *Journal of Korean Academy of Periodontology*. 2006;36:397-408.
  17. Cho JY, Xing S, Liu X et al. Expression and activity of human Na<sup>+</sup>/I-symporter in human glioma cells by adenovirus-mediated gene delivery. *Gene Therapy* 2000;7:740-749.
  18. Portik-Dobos V, Anstadt MP, Hutchinson J, Bannan M and Ergul A. Evidence for a matrix metalloproteinase induction/activation system in arterial vasculature and decreased synthesis and activity in diabetes. *Diabetes* 2002;51:3063-3068.
  19. Taylor GW, Burt BA, Becker MP et al. Non-insulin dependent diabetes mellitus and alveolar bone loss progression over 2 years. *J Periodontol* 1998;69:76-83.
  20. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complication in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1993;329:977-986.
  21. Sara G., Grossi, Robert J. Genco, Periodontal disease and diabetes mellitus: A two-way relationship. *Ann Periodontol* 1998;3:51-61.
  22. Wassenaar A., Verschoor T., Kievits F. et al. CD40 engagement modulates the production of matrix metalloproteinases by gingival fibroblasts. *Clin Exp Immunol* 1999;115:161-167.
  23. Tervahartiala T, Konttinen YT, Ingman T. et al. Cathepsin G in gingival tissue and crevicular fluid in adult periodontitis. *J Clin Periodontol* 1996;23:68-75.
  24. Jenne DE. Structure of the azurocidin, proteinase 3, and neutrophil elastase genes. Implications for inflammation and vasculitis. *Am J Respir Crit Care Med* 1994;150(6 Pt 2):s147-s154.
  25. Weiss SJ. Tissue destruction by neutrophils. *N Engl J Med* 1989;320:365-376.
  26. A. Beklen, G. Tuter, T. Sorsa et al. Gingival tissue and crevicular fluid co-operation in adult periodontitis. *J Dent Res* 2006;85(1):59-63.
  27. Trengove NJ, Stacey MC, MacAuley S et al. Analysis of the acute and chronic wound environments: the role of proteases and the inhibitors. *Wound Repair Regeneration* 1999;7:442-52.
  28. Ohuchi E, Imai K, Fujii Y. et al. Membrane type-1 matrix metalloproteinase digests interstitial collagens and other extracellular matrix macromolecules. *J Biol Chem* 1997;272:2446-2451.
  29. von Bredow DC, Cress AE, Howard EW, Bowden GT, Nagle RB. Activation of gelatinase-tissue-inhibitors-of-metalloproteinase complexes by matrilysin. *Biochem J* 1998;331(Pt 3):965-972.
  30. B. Arza, M.F. Hoylaerts, J. Felez, D. Collen, H. R. Lijnen. Prostromelysin-1 (proStromelysin-1) stimulates plasminogen activation by tissue-type plasminogen activator. *Eur J Biochem* 2000;267:6378-6384.
  31. Y. Okumura, H. Sato, M. Seiki, H. Kido. Proteolytic activation of the precursor of membrane type 1 matrix metalloproteinase by human plasmin: A possible cell surface activator. *FEBS Letters* 1997;402:181-184.
  32. S. Monea, K. Lehti, J. Keski-oja, P. Mignatti. Plasmin activates pro-matrix metalloproteinase-2 with a membrane-type 1 matrix metalloproteinase-dependent mechanism. *J cell physiol* 2002;192:160-170.

