

임플란트 주위 치주낭내의 *Porphyromonas gingivalis* 섬모유전형의 출현율

서동건 · 권영역 · 박준봉 · 여 익 · 정종역

경희대학교 치과대학 치주과학교실

I. 서론

골유착 임플란트는 무치악부위를 효과적으로 수복하는 치료방법으로 오랜 기간의 양호한 결과를 토대로 현재 널리 사용되고 있다¹⁻⁴. 하지만 장기간의 높은 성공률에도 불구하고 임플란트 합병증으로 인해 골유착이 적절히 유지되지 못하여 종종 임플란트 실패가 발생한다⁵. 임플란트의 실패란 임플란트가 골유착을 이루거나 유지하기에 부적절함을 의미한다⁶. 임플란트의 실패는 크게 과도한 힘 등에 의한 생역학적 원인과 미생물 감염에 의한 세균학적 원인에 의해 발생하는데, 이 중 미생물 감염이 임플란트 실패의 주원인이다^{3,7,8}. Albrektsson과 Isidor(1994)⁹는 임플란트 주위염이란 기능 중의 골유착된 임플란트 주위조직에 영향을 주는 염증성 과정으로 지지력이 소실되는 것이라 정의하였다. 이는 주로 세균감염에 의한 임플란트 주위조직의 반응으로 일어나게 된다.

구강 내에는 500여종 이상의 미생물들이 존재하는데, 이 중 그람음성의 혐기성균이 주를 이루는 극히 일부분의 미생물만이 치주질환과 관련이 있다^{10,11}. 치

주염은 나선균, fusobacterium, black-pigmented species인 *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythensis*와 *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Treponema denticola*, *Campylobacter rectus* 등의 미생물이 주원인이다^{10,12}. Quirynen 등(2002)⁸은 구강 내에 크게 협상피, 설배, 치면, 치주낭, 편도의 5대 주요 환경계가 존재하며 서로 다른 환경계로 미생물의 전이가 가능하다고 하였다. 구강 내 미생물들의 전이로 인해 자연치의 치주낭에 존재하는 미생물들이 임플란트 주위열구에서도 발견된다^{13,14}. 따라서 임플란트 주위염의 임상증상 역시 치조골소실, 깊은 치주낭, 탐침시 출혈, 화농 등 치주염과 비슷한 양상을 보인다¹⁵. 또한 건강한 임플란트 주위의 세균총은 건강한 치주조직의 치은연하 분포와 유사하고, 임플란트 주위염의 세균총은 만성 또는 재발성치주염의 치은연하 분포와 유사하다는 의견이 정설화되고 있다^{7,12,16}.

치주질환원인균 중 하나인 *P. gingivalis*는 깊은 치주낭에서 주로 검출되는 그람 음성, blackpigmented, 혐기성 간균으로 자연치의 치주질환과 밀접

*교신저자 : 권영역, 서울시 동대문구 회기동 1번지 경희대학교 치과대학 치주과학교실, 우편번호 : 130-702
E-mail : kyhyuk@khu.ac.kr

할 뿐 아니라 임플란트 주위염과도 관련이 깊다는 보고들이 많다^{12,15,17}. Becker 등(1990)¹⁸은 그람음성의 혐기성 미생물이 임플란트 실패에 큰 영향을 미치고, 실패한 임플란트 주위염구에서 높은 비율의 *P. gingivalis*가 검출됨을 보고하였다. Leonhardt 등(1999)¹³ 역시 실패한 임플란트 주위에서 *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans*가 높은 비율로 검출됨을 보고하였다. 또한 van Winkelhoff 등(2000)¹⁹은 *P. gingivalis*의 수가 증가할수록 임플란트 상질 빈도가 높아진다고 하였다.

*P. gingivalis*는 상피세포, 적혈구, fibronectin-교원질 복합체, 타액단백질, 다른 세균 등 여러 표면에 부착한다. 이는 *P. gingivalis*의 병원성 요소인 섬모, 소포, 적혈구응집소, 단백질분해효소 등의 작용에 의한 것이다. 이 중 섬모가 가장 중요한 병원성 요소로^{20,21}, 다양한 cytokine분비를 유도하여 치주조직 파괴에 관여한다^{22,23}. Amano 등(1994)²⁴의 *P. gingivalis*의 병원성에 대한 연구를 통해 섬모가 숙주세포에 부착하고 침투하는데 중요한 역할을 하는 것으로 밝혀졌다. Fimbrillin은 섬모의 하급단위 단백질로 *P. gingivalis*의 부착, 집락, 자가응집능력과 연관성이 있다^{24,25}. 그러나 모든 *P. gingivalis* 균주가 동일한 병원성을 갖지는 않으며, *P. gingivalis* 균주에 따라 치주질환의 심도가 다르게 나타난다. Lee 등(1991)²⁶은 fimbrillin의 크기와 amino-terminal 염기서열 및 그에 따른 항원이질성이 균주에 따라 달리 나타나고 이들 차이가 병원성의 차이와 연관성이 있다고 보고하였다. *FimA* 유전자는 fimbrillin을 encoding하고 있으며 Nakagawa 등(2002)²⁷은 이 유전자 염기서열에 따라 *fimA* 유전자를 5가지 형(I~V)으로 분류하였다. 최근에는 제I형과 거의 유사한 염기서열(97.1%)을 가지나 약간의 차이를 보이는 제I형의 복제변형인 제Ib형이 보고되었다²⁸. Amano 등(2000)²⁹의 연구에 의하면 치주질환이 있는 사람에게서는 주로 제II형 섬모유전형의 *P. gingivalis*가 관찰되었고, 다음으로 제IV형이 우세하였다. 반면 건강한 사람에게서는 제I형이 가장 많이 발견되었고 다음으로 V형의 순으로 나타났는데, 이

는 *P. gingivalis*의 균주에 따른 병원성의 차이를 보여주고 있다. *P. gingivalis fimA* 유전형에 따라 기능적 차이와 상피세포에 대한 부착 및 침투효과가 다르게 나타났으며, 제II형이 다른 유전형에 비해 상피세포에 훨씬 더 잘 부착하고 침투한다고 알려져 있다^{29,30}. 또한 제II형 섬모유전형의 *P. gingivalis*가 치주환자, 깊은 치주낭에서 압도적으로 많이 검출되었다는 많은 보고들이 있다²⁹⁻³¹. 이상의 사실들을 통해 제II형 섬모유전형이 *P. gingivalis*의 집락과 치주조직 파괴에 중요한 병원성을 갖고 있음이 밝혀졌다. 임플란트 열구내 *P. gingivalis* 섬모유전형의 출현율을 연구한 신 등(2003)³²은 임플란트 주변 탐침깊이가 깊어질수록 제II형 섬모유전형 출현율이 증가함을 보고하였다.

이전까지는 대부분 자연치의 치주낭에 분포하는 *P. gingivalis*의 섬모유전형과 그에 따른 항원이질성에 대한 연구가 많이 진행되었으나, 임플란트 주위염구에 분포하는 *P. gingivalis*의 섬모유전형에 대해서는 아직 연구가 미진한 상태이다. 따라서 이번 연구에서는 임플란트열구내를 관찰하여 임플란트 주위조직의 병적상태에 따른 *P. gingivalis* 섬모유전형의 분포차이를 분석하여 임플란트 주위조직의 파괴에 밀접한 관련이 있는 *P. gingivalis*의 섬모유전형을 확인하고자 하였다.

II. 실험재료 및 방법

1. 임플란트 주위염구의 치은연하치태 채취

임플란트 주위 치주낭에 존재하는 *P. gingivalis*의 유전형을 조사하기 위하여 경희대학교 치대병원 치주과에 내원하여 유지치주치료를 받고 있는 환자 중 임플란트지지 보철물을 장착하고 최근 3개월간 항생제 복용사실이 없는 사람을 대상으로 치은연하치태를 채취하였다. 치태채취를 하기 전에 임플란트용 플라스틱 탐침소자를 이용하여 치주탐침깊이, 변형열구 출혈지수를 측정하였다. 이들을 탐침깊이(PD) 5mm, 탐침시 출혈유무(BOP)에 따라서 PD<5mm/BOP-인

경우를 제1대조군으로, PD<5mm/BOP+인 경우를 제2대조군으로 하고, PD≥5mm/BOP+인 경우를 실험군으로 분류하였다. 치태 채취시 먼저 치은연상치태를 제거하였고, 면구와 압축공기로 임플란트 주위로 타액의 유입을 방지하며 시행하였다. 치주낭이 가장 깊은 두 곳에 멸균된 근관치료용 페이퍼포인트를 15초간 삽입하거나 멸균된 임플란트용 큐렛을 이용하여 치태를 채취하였다. 채취한 페이퍼포인트나 치은연하치태를 1ml의 인산완충 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°C

에서 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. 증합효소연쇄반응(PCR)

임플란트 주위열구 내의 치태에서 *P. gingivalis*의 존재를 확인하기 위해 치태에서 정제한 DNA를 이용하여 PCR을 시행하였다. 사용하는 치태시료내 DNA 존재여부를 확인하기 위한 universal primer, *P. gingivalis*에 특이한 16S rRNA 염기서열에 기초한 primer, *P. gingivalis*의 유전형분포를 확인하기 위해 현재까지 알려진 5가지 유전형 섬모염기서열에 따라 고안된 각각의 primer를 사용했다(Table 1). PCR 반응은 0.8μM, DNA template(20~60μg/ml), 2~5μl dNTP(2mM) 5μl, Taq polymerase(Takara: 5units/μl) 0.5μl, 그리고 나머지는 증류수를

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 GGC TAC CTT GTT ACG ACT T	3480
<i>P. gingivalis</i> 16S rRNA	TGT AGA TGA CTG ATG GTG AAA ACC ACG TCA TCC CCA CCT TCC TC	197
Type I fimA	CTG TGT GTT TAT GGC AAA CTT C AAC CCC GCT CCC TGT ATT CCG A	392
Type II fimA	ACA ACT ATA CTT ATG ACA ATG G AAC CCC GCT CCC TGT ATT CCG A	257
Type III fimA	ATT ACA CCT ACA CAG GTG AGG C AAC CCC GCT CCC TGT ATT CCG A	247
Type IV fimA	CTA TTC AGG TGC TAT TAC CCA A AAC CCC GCT CCC TGT ATT CCG A	251
Type V fimA	AAC AAC AGT CTC CTT GAC AGT G TAT TGG GGG TCG AAC GTT ACT GTC	462

침가하여 최종 용량을 50 μ l로 조절하였다. PCR은 최초 denaturation을 위해 95 $^{\circ}$ C에서 5분간, 이후 30번의 PCR cycle은 94 $^{\circ}$ C에서 30초, 58 $^{\circ}$ C에서 30초, 72 $^{\circ}$ C에서 30초간 시행하였고, cycle이 끝난 후 72 $^{\circ}$ C에서 최종적으로 7분간 처리하였다.

4. 전기영동

PCR 산물은 2% agarose gel상에서 전기영동 하였고, gel은 ethidium bromide(0.5 μ g/ml)로 염색한 후 UV 불빛 하에서 PCR산물을 관찰하고 사진촬영하여 기록하였다.

5. 통계분석

비교군간의 *P. gingivalis* 검출빈도와 각 군내에서의 검출빈도를 비교하기 위하여 chi-square test를 시행하였다. $p < 0.05$ 일 때 유의성이 있는 것으로 판단하였다. 그리고 임플란트 주위조직의 건강도와 섬모유전형 검출빈도 사이의 유의성있는 상관관계를 확인하기 위하여 Logistic regression에 의하여 95%의 신뢰구간으로 R-square value를 계산하였다. 또 두 가지 통계분석 모두에서 *P. gingivalis*가 검출된 표본을 이용하였고, 검출된 유전형들은 제 I형에서 V형으로 분류하였다.

III. 실험성적

97명의 환자에서 189개의 임플란트 주위 치태를 수집하였다. 환자들의 평균 연령은 47.3 \pm 10.2(범위:25~75)세 이었으며, 남자가 39명, 여자가 58명이

었다. 189개의 치태표본 중 163개의 표본에서 *P. gingivalis*가 검출되어 이환율이 86.2%로 나타났다. 임플란트 주위염에 이환된 실험군(PD \geq 5mm/BOP+)에는 48개의 표본이 포함되었고, 제1대조군(PD<5mm/BOP-), 제2대조군(PD<5mm/BOP+)은 각각 34, 107개의 표본이 포함되었다. 탐침깊이가 5mm이상이면서 탐침시 출혈이 없었던 대상 임플란트가 없었으므로 이번 연구에는 포함시키지 않았다(Table 2).

치태표본에서 검출된 유전형에 따른 *P. gingivalis*의 분포를 나타내고 있다. 전체적으로 보았을 때, 제 I형은 53개(32.5%), 제 II형은 39개(23.9%), 제 III형은 5개(3.1%), 제 IV형은 4개(2.5%), 제 V형은 1개(0.6%)의 표본에서 각각 검출되었으며 분류되지 않은 표본도 83개(50.9%)가 있었다(Table 3). 여기서 알 수 있듯이 각각의 유전형이 한 표본에서 하나씩만 검출되지는 않았으며 2가지 혹은 3가지 유전형이 함께 검출된 것도 있었다. 제 I형과 제 II형이 함께 검출된 것은 17개(10.4%), 제 II형과 제 III형은 1개(0.6%), 제 I형, 제 II형, 제 III형은 1개(0.6%)개의 표본에서 검출되었다. 단독으로 가장 많이 나타난 *P. gingivalis*의 유전형은 제 I형으로 33개(20.2%)의 표본에서 검출되었고, 다음으로는 제 II형으로 20개(12.3%)의 표본에서 검출되었다. 또한 제 I형은 제 II형, 제 III형, 제 IV형의 다른 유전형과 함께 나타나 결과적으로 제 I형은 총 53개(32.5%)의 표본에서 검출되어 가장 높은 빈도를 보였다.

제1대조군(PD<5mm/BOP-)에 속한 표본 34개중 32개에서 *P. gingivalis*가 검출(출현율 94.1%)되었다. 제1대조군에서 가장 많이 검출된 *P. gingivalis*의 유전형은 제 I형이었다. 제 I형은 단독으로 검출된 경우가 10개(31.3%), 제 II형과 함께 검출된 경우가 1개

Table 2. Prevalence of *P. gingivalis*

	Control 1 (PD<5mm/BOP-)		Control 2 (PD<5mm/BOP+)		Test(perio-implantitis) (PD \geq 5mm/BOP+)	
	Detected	Not	Detected	Not	Detected	Not
n	32	2	91	16	40	8
%	94.1%	5.9%	85.0%	15.0%	83.3%	16.7%

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

fimA Type	Frequency of Occurrence (%) (number of fimA Type)			(p=0.04) Total (n=163)
	Control 1 (n=32) (PD<5mm/BOP-)	Control 2 (n=91) (PD<5mm/BOP+)	Test (n=40) (PD≥5mm/BOP+)	
I	31.3 (10)	17.6 (16)	17.5 (7)	20.2 (33)
II	3.1 (1)	9.9 (9)	25.0 (10)	12.3 (20)
III	3.1 (1)	1.1 (1)	0	1.2 (2)
IV	3.1 (1)	1.1 (1)	2.5 (1)	1.8 (3)
V	0	1.1 (1)	0	0.6 (1)
I and II	3.1 (1)	6.6 (6)	25.0 (10)	10.4 (17)
I and III	0	1.1 (1)	0	0.6 (1)
I and IV	0	1.1 (1)	0	0.6 (1)
II and III	0	1.1 (1)	0	0.6 (1)
I, II and III	0	1.1 (1)	0	0.6 (1)
Untypeable	56.3 (18)	58.2 (53)	30.0 (12)	50.9 (83)
SUM				
I	34.4 (11)	27.5 (25)	42.5 (17)	32.5 (53)
II [†]	6.3 (2)	18.7 (17)	50.0 (20)	23.9 (39)
III	3.1 (1)	4.4 (4)	0	3.1 (5)
IV	3.1 (1)	2.2 (2)	2.5 (1)	2.5 (4)
V	0	1.1 (1)	0	0.6 (1)

[†]:statistically significant difference between control group and test group (p<0.01)

(3.1%)로 총 11개(34.4%)의 표본에서 나타났다. 다음으로 많이 검출된 것은 제II형으로 1개의 표본(3.1%)에서 단독으로 검출되었고, 제I형과 함께 검출된 경우가 1개(3.1%)로 총 2개(6.3%)의 표본에서 검출되었다. 제III형과 제IV형은 단독으로 각각 1개의 표본(3.1%)에서만 검출되었다. 제V형은 검출되지 않았고, 유전형이 확인되지 않은 표본도 18개(56.3%) 있었다.

제2대조군(PD<5mm/BOP+)에서는 표본 107개 중에서 91개의 표본에서 *P. gingivalis*가 검출(출현율 85.0%)되었다. 제2대조군에서 가장 많이 발견된 *P. gingivalis*의 유전형은 제I형으로 단독으로 16개(17.6%)의 표본에서 검출되었으며, 다른 유전형과 함께 9개(9.9%)의 표본에서 검출되어 총 25개(27.5%)의 표본에서 검출되었다. 그다음으로는 제II형이 많이 검출되었는데, 단독으로는 9개(9.9%), 다른 유전

형과 함께 8개(8.8%)의 표본에서 총 17개(18.7%)의 표본에서 검출되었다. 제III형, 제IV형, 제V형이 그 뒤를 이어 각각 4개(4.4%), 2개(2.2%), 1개(1.1%)의 표본에서 검출되었다. 유전형이 확인되지 않은 표본은 53개(58.2%) 있었다.

임플란트 주위염에 이환된 실험군(PD≥5mm/BOP+)에서는 48개의 표본 중, 40개에서 *P. gingivalis*가 검출(출현율 83.3%)되었다. 실험군에서 가장 많이 검출된 *P. gingivalis* 섬모유전형은 대조군들과 반대로 제II형이었다. 제II형은 단독으로 검출된 경우가 10개(25.0%), 다른 유전형과 함께 검출된 경우가 10개(25.0%)로 총 20개(50.0%)에서 나타났다. 다음으로 많이 검출된 것은 제I형으로 7개의 표본(17.5%)에서 단독으로 검출되었고, 다른 유전형과 함께 나타난 것이 10개(25%)로 총 17개(42.5%)의 표본에서 검출되었다. 제IV형이 1개(2.5%) 검출되었고, 제III형과 제

Table 4. Relationship of fimA types with peri-implantitis

Factors	R-square value	Significance
P. gingivalis (all fimA types)	0.017	0.386
fimA type		
I	0.010	0.289
II [†]	1.105	0.006
III	0.009	0.752
IV	0.028	0.823
V	0.004	0.581

[†]: Strong relationship with peri-implantitis

V형은 검출되지 않았다. 유전형이 확인되지 않은 표본은 12개(30.0%)였다.

각 군간의 *P. gingivalis*의 유전형의 출현빈도를 chi-square test를 이용하여 분석한 결과, 비교군간에 제II형 섬모유전형의 유의성있는 차이가 나타났다($p < 0.01$). 임플란트 주위염과 섬모유전형 검출빈도 사이의 유의성있는 상관관계를 확인하기 위하여 Logistic regression에 의하여 95%의 신뢰구간으로 R-square value를 계산한 결과, *P. gingivalis*의 존재 자체가 임플란트 주위염과 관련은 없었지만($R^2 = 0.017$), 제II형 섬모유전형을 갖는 *P. gingivalis*는 임플란트 주위염에 유의한 관련이 있는 것으로 나타났다($R^2 = 1.105$). 반면 제I, III, IV, V형은 임플란트 주위염과 큰 관련성이 없었다(Table 4).

IV. 총괄 및 고찰

이번 연구에서는 임플란트 주위염에서 채취한 치태시료를 PCR과정을 통해 분석하여 *P. gingivalis* fimA 유전형의 출현율을 조사하였다. 총 표본의 *P. gingivalis* 이환율은 86.2%였고, 제1대조군, 제2대조군, 실험군(임플란트 주위염)의 이환율은 각각 94.1%, 85.0%, 83.3%로 서로 유의성 있는 차이는 없었다. 이러한 이환율은 이전의 자연치와 임플란트를 대상으로 한 연구결과^{31,33)}와 크게 다르지 않았다. 또 전

체적인 *P. gingivalis*의 존재 자체가 임플란트 주위염과 관련은 없었으나, 제II형의 유전형을 갖는 *P. gingivalis*는 유의한 상관성을 보였다($R^2 = 1.105$). 이는 모든 *P. gingivalis* 균주가 임플란트 주위염과 관련있는 것이 아니라 특정한 균주, 특히 제II형의 유전형을 갖는 균주가 임플란트 주위조직 파괴에 영향을 미친다는 것을 암시한다.

치아를 대상으로 한 많은 연구²⁸⁻³⁰⁾와 임플란트를 대상으로 한 신 등(2003)³²⁾의 연구를 통해 치주질환이나 임플란트 주위염에 이환되어 치주낭이 깊어진 경우, 제II형의 섬모유전형을 갖는 *P. gingivalis*가 나타나는 경향이 증가하고 건강한 치주상태는 제I형과 관계가 있음을 알 수 있었다. Amano 등(2000)²⁹⁾ 등의 연구에서는 치주염에 이환된 치주낭에서 제II형 섬모유전형이 가장 많이 검출되었고 다음으로는 제IV형이 우세하였으며, 건강한 치주상태의 치은열구에서는 제I형이 가장 많이 발견되었고 다음으로 V형의 순으로 나타났다. 본 연구에서는 임플란트 주위염에 이환된 실험군에서 제II형(50.0%)이 가장 많이 검출되었고, 그 다음으로는 제I형(42.5%)이 그 뒤를 이었고, 두 대조군에서는 제I형이 많이 검출되었고, 제II형이 그 다음으로 우세하였다. 이전의 연구들에 비해 이번 연구에서는 제IV, V형의 섬모유전형이 발현율이 낮게 나타났다. 각 군간의 섬모유전형의 출현율을 비교해 보면, 제II형의 섬모유전형의 차이가 두드

러지게 나타났다. 치주탐침깊이가 5mm미만인 두 대조군을 비교해보면, 그 중 탐침 시 출혈이 없었던 제1대조군에서 6.3%이던 제II형의 점모유전형의 발현율이 탐침시 출혈이 존재하는 제2대조군에서는 18.7%로 증가하였다. 그리고 탐침깊이가 5mm이상이고, 탐침시 출혈도 있었던 실험군에서는 제II형의 점모유전형의 발현율이 50.0%에 이르렀다. 이러한 증가양상은 통계적으로 유의성이 있었다($p < 0.01$). 이 결과는 임플란트 주변의 병적상태가 심화될수록 제II형의 점모유전형이 많이 검출되었다는 것이고, 이는 제II형 점모를 가지는 *P. gingivalis* 군주가 임플란트 주변조직의 파괴에 관련이 깊다는 것을 의미한다.

일반적으로 자연치에서는 치주탐침깊이가 3mm이하인 경우 건강한 상태, 그보다 깊을 때는 치주염에 이환된 것으로 분류한다. 그러나 임플란트에서는 임플란트 주위염에 대한 명확한 기준이 없는 상태로, 대개 탐침깊이가 5mm 이상인 경우를 임플란트 주위염에 이환된 것으로 간주하는 경우가 많다. 이는 Bragger 등(2001)³⁴, Mombelli와 Lang(1994)³⁵ 등의 많은 연구에서 탐침깊이 5mm 이상을 임플란트 실패의 기준으로 설정함에 따른 것이다. 하지만 이 탐침깊이만으로는 현재 질환의 상태가 진행, 활성상태인지 아니면 이미 진행이 완료되어 안정된 상태에 있는 지를 알 수 없어, 탐침깊이 단독으로는 임플란트 주위염의 판단 기준으로 미흡하다. 따라서 현재의 염증 진행상태를 평가하기 위해서는 추가로 탐침시 출혈 측정이 필요하다. Gouvoussis 등(1997)³³, Karoussis 등(2003)¹ 등은 탐침깊이가 5mm 이상이고 탐침 시 출혈이 있는 경우를 임플란트 주위염의 기준으로 설정하였다. 이러한 기준에 맞추어 본 연구에서도 PD5mm 이상/BOP+군을 임플란트 주위염에 이환된 군으로 분류하였다. 그런데 이번 연구에서는 탐침깊이가 5mm 이상일 때 모든 경우에서 탐침시 출혈이 관찰되었다. 결국 임플란트 주변 탐침깊이가 5mm 이상이 되면 임플란트 주위 질환의 상태가 진행, 활성상태에 있다고 생각할 수 있었다.

본 연구에서는 단독적으로 검출된 점모유전형 이외에 두 가지 이상의 유전형이 함께 검출된 경우가 있었

는데, 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 미지의 유전형이 존재할 수도 있다는 가능성을 시사한다²⁷. 본 연구에서는 분류되지 못한 유전형의 점모를 가진 *P. gingivalis*의 분포가 Amano 등(1999, 2000)^{29,30}과 Nakagawa 등(2000, 2002)^{27,31}의 연구들에 비하여 높게 나타났다. 이 결과 역시 우리가 알지 못하는 또 다른 유전형의 존재 가능성을 암시해주고 있다. 생각해 볼 수 있는 다른 원인은 PCR assay의 감수성이다. 임플란트 주위연구에서 치태를 채취하는 것은 자연치에 비하여 어려워져 큐렛 등을 이용하여 임플란트 표면에서 직접적으로 얻는 경우보다 페이퍼포인트로 흡수하여 얻는 경우가 대부분이었으므로 채취된 시료 내에 *P. gingivalis*의 수가 매우 적을 수밖에 없다. 시료 내의 검출될 수 있는 세균의 수가 매우 적기 때문에 PCR assay의 감수성이 떨어질 수 있고, 이로 인하여 미분류된 *P. gingivalis*의 분포가 높게 나타났을 수 있다는 예측을 할 수 있다.

Hamada 등(1994)^{21,36}과 Sugano 등(2004)²³의 점모의 부착기능과 면역학적 활성도에 대한 연구를 통해 *P. gingivalis*의 점모 자체가 숙주면역계와 염증세포를 자극하여 세포전달물질분비(IL-1, 6, 8, TNF- α 등)에 관여하고, 여러 단백질에 부착하는 등 높은 병원성을 갖고 있음을 알 수 있었다. 따라서 점모를 표적으로 하는 백신개발, 병원성을 저하시키기 위한 점모형 변이 등의 연구들이 이뤄지고 있다^{30,31}. 그러나 *P. gingivalis*는 군주에 따라 병원성이 틀린데, *P. gingivalis* 군주는 크게 피막화 유무에 따라 분류가 된다. 주로 제II형 점모유전형(HG184, ATCC49417, A7A1 -28 등)과 제IV형 점모유전형(W83, W50, 9-14K-1, HG1691 등)을 가지는 *P. gingivalis* 군주가 주로 피막화되어 있고, 제I형 점모의 *P. gingivalis* 군주(381, ATCC33277, HG565 등)은 피막화되어 있지 않다²⁸⁻³⁰. 일반적으로 피막화된 군주는 침투성이 강하여 병원성이 높고, 반대로 피막화되지 않은 군주는 침투성이 약한 것으로 알려져 있고, 친수성인 피막화 군주들이 소수성인 비피막화 군주들에 비해 다형핵백

혈구의 탐식작용에 영향을 덜 받는다는 보고도 있다^{29,30,37)}. Neiders 등(1989)³⁸⁾은 백서에 균주를 피하 주사한 실험결과, 제II형 섬모유전형을 갖는 침투성의 A7A1-28 균주는 전신적인 독성을 유발하여 백서를 죽일 수 있다고 하였다. 게다가 최근 Nakagawa 등(2002)³⁹⁾의 연구에 의하면 제II형의 섬모유전형을 갖는 *P. gingivalis* 균주가 다른 균주들에 비해 상피 세포에 훨씬 더 잘 부착하고 침투한다고 하였다. 종합해보면 제II형의 섬모유전형이 *P. gingivalis*의 병원성에 중요한 역할을 하고 치주조직파괴를 야기하는 병원성을 가지며 임플란트 주위조직에서도 높은 병원성을 가지리라 예상된다. 추후 임플란트 주위조직의 파괴에 대한 제II형 섬모유전형의 효과를 확인하기 위한 추가적인 연구들이 필요한 상황이다.

제II형 이외에 제IV형, 제Ib형 섬모유전형의 *P. gingivalis*도 병원성이 있다는 많은 연구가 있다. Amano 등(2000)²⁹⁾와 Nakagawa 등(2002)²⁷⁾의 연구에서 치주염에 이환된 경우, 제II형 다음으로 제IV형의 섬모유전형이 많이 검출되어 제IV형 섬모유전형의 *P. gingivalis*가 치주질환과 밀접한 관련이 있음을 보고하였다. 제IV형에 속하는 W50, W83 균주가 백서에 피하주사 하였을 때 전신적 독성을 나타내어 백서를 죽일 수 있다는 보고^{38,40)}와 제IV형인 HG 1691 균주가 치주염과 강한 관련이 있다는 보고²⁷⁾도 있다. 그러나 이번 연구에서는 임플란트 주위염을 있을 때 제IV형은 매우 낮은 빈도(2.5%)로 검출되었고, 임플란트 주위의 건강도와 상관관계가 없었다. 제IV형 섬모유전형과 임플란트 주위조직의 건강도의 관계에 대한 추가적인 연구가 필요하다.

결론적으로 임플란트 주위조직의 병적상태가 심화할수록 치주염에 이환된 자연치에서와 유사하게 임플란트 주위조직에서도 제II형의 섬모유전형을 갖는 *P. gingivalis*의 분포가 높아졌음을 알 수 있었고 이 차이는 통계적으로 유의성이 있었다. 또한 *P. gingivalis*의 존재 자체가 임플란트 주위조직의 건강도와 밀접한 관련이 있다고 할 수는 없었으나 제II형 섬모유전형을 갖는 *P. gingivalis*가 통계적으로 유의성 있는 관련성을 보여주었다. 다음의 결과들을 정설화

하기 위해서는 임플란트 주변의 *P. gingivalis* 섬모유전형에 대한 연구가 더 많은 표본을 대상으로 이루어져야 하고, PCR assay의 감수성을 높여 분류되지 않는 *P. gingivalis* 섬모유전형의 비율을 낮춰 유의성있는 결과를 얻어야 할 것이다. 그리고 *P. gingivalis* 이외에 병원성이 높은 red complex인 *Tannerella forsythensis*, *Treponema denticola*, 임플란트 주위염의 주범으로 추정되는 *A. actinomycetemcomitans*에 대한 연구도 필요할 것이라 생각된다.

V. 결론

이 연구는 치주질환 주요 원인균의 하나인 *P. gingivalis*의 섬모유전형이 임플란트 주위염에 미치는 영향을 알아보기 위하여 시행하였다. *P. gingivalis*는 표면에 다양한 병원성 인자가 존재하는데, 그 중 섬모는 부착, 침투, 집락과 관련이 깊다. 하지만 모든 *P. gingivalis* 균주가 동일한 병원성을 가지는 것은 아니며, 이러한 병원성의 차이는 *P. gingivalis* 섬모유전형에 따라 다르게 나타난다. *P. gingivalis*는 임플란트 주위조직의 건강도에도 밀접한 관련이 있는데 아직 임플란트 주위염구에서 주로 분포하는 *P. gingivalis*의 섬모유전형에 대해서는 알려져 있는 것이 많지 않다. 이번 연구에서는 189개의 임플란트를 치주상태에 따라 제1대조군(PD<5mm/BOP-), 제2대조군(PD<5mm/BOP+), 실험군(PD≥5mm/BOP+)으로 분류한 후, 임플란트 주위염구에서 채취한 치태에서 DNA를 정제하고 PCR을 시행하여 임플란트 주위조직의 *P. gingivalis* 유전형의 출현율을 조사하여 다음의 결과를 얻었다.

1. 표본의 *P. gingivalis* 발현율을 조사한 결과 실험군(83.3%), 제1대조군(94.1%), 제2대조군(85.0%)간에 차이는 통계적으로 유의성이 없었다.
2. 제1대조군(PD<5mm/BOP-)과 제2대조군(PD<5mm/BOP+)에서 가장 많이 검출된 *P. gingivalis*

섬모유전형은 제 I 형이었고(34.4%, 27.5%), 다음으로는 제 II 형(6.3%, 18.7%)이 많이 검출되었다. 임플란트 주위염에 이환된 실험군(PD \geq 5 mm/BOP+)에서 가장 많이 검출된 유전형은 제 II 형(50.0%) 이었고, 다음으로 많이 검출된 유전형은 제 I 형(42.5%) 이었다.

3. 가장 병원성이 높은 것으로 알려진 제 II 형의 섬모유전형이 제 I 대조군(6.3%)에 비해 제 2 대조군(18.7%)에서 더 높게 나타나고, 실험군에서는(50.0%) 가장 높은 검출빈도를 보였다. 임플란트 주위조직의 병적상태가 심화될수록, 제 II 형 섬모유전형 출현률의 증가양상이 통계적으로 유의성있게 관찰되었다($p < 0.01$).
4. 전체적인 *P. gingivalis*의 존재 자체가 임플란트 주위조직의 건강도와는 관련이 없는 것으로 나타났으나($R^2 = 0.017$), 다른 섬모유전형에 비하여 제 II 형 섬모유전형을 갖는 *P. gingivalis*가 임플란트 주위염과 유의성있는 상관관계가 있었고($R^2 = 1.105$), 나머지 섬모유전형을 갖는 *P. gingivalis*는 임플란트 주위염과 상관관계가 없는 것으로 나타났다.

VI. 참고문헌

1. Karoussis IK, Salvi GE, Heitz-Mayfield LJA, Bragger U, Hammerle CHF, Lang PL. 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.
2. Jemt T, Lekholm 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. Rutar A, Lang N, Buser D, Burgin W, Mombelii A. Retrospective assessment of clinical and microbiological factors affecting periimplant tissue conditions. *Clin Oral Impl Res* 2001;12:189-195.
4. Salcetti JM, Moriarty JD, Cooper LF, Smith FW, Collins JG. The clinical, microbial, and host response characteristics of the failing implant. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1997;12:32-42.
5. Karoussis IK, Bragger U, Salvi GE, Burgin W, Lang PL. Effect of implant design on survival and success rates of titanium oral implants: a 10-year prospective cohort study of the ITI[®] Dental Implant system. *Clin Oral Impl Res* 2004;15:8-17.
6. Esposito M, Hirsch JM, Lekholm U, Thomsen P. Biological factors contributing to failures of osseointegrated oral implants. (II) Etiopathogenesis. *European Journal of Oral Sciences* 1998; 106:721-764.
7. Lee KH, Tanner ACR, Maiden MFJ, Weber HP. Pre- and post-implantation microbiota of the tongue, teeth, and newly-placed implant. *J Clin Periodontol* 1999;26:822-832.
8. 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.
9. Albrektsson T & Isidor F. Consensus report of session IV. In: Lang NP & Karring T, eds. *Processing of the 1st European Workshop on Periodontology*, 365-369. London: Quintessence Publishing Co., Ltd

10. 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.
11. Zambon JJ. Periodontal diseases: microbial factors. *Ann Periodontol* 1996;1:879-925.
12. Sumida S, Ishihara K, Kishi M, Okuda K. Transmission of periodontal disease-associated bacteria from teeth to osseointegrated implant regions. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2002;17:696-702.
13. Leonhardt A, Adolfsson B, Lekholm U, Wickstrom M, Dahlen G. A longitudinal microbiological study on osseointegrated titanium implants in partially edentulous patients. *Clin Oral Impl Res* 1993;4:113-120.
14. Mombelli A, Van Oosten MAC, Schurch E, Lang NP. The microbiota associated with successful or failing osseointegrated titanium implants. *Oral Microbiol and Immunology* 1987;2:145-151.
15. Mombelli A, Marxer M, Gaberthuel T, Grunder U, Lang NP. The microbiota of osseointegrated implants in patients with a history of periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1995;22:124-130.
16. 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.
17. Listgarten MA, Lai CH. Comparative microbiological characteristics of failing implants and periodontally diseased teeth. *J Periodontol* 1999;70:431-437.
20. Becker W, Becker BE, Newman MG, Nyman S. Clinical and microbiologic findings that may contribute to dental implant failure. *Int J Oral maxillofac Surg* 1990;5:31-38.
22. Van Winkelhoff AJ, Wolf JWA. Actinobacillus actinomycetemcomitans-associated periimplantitis in an edentulous patients: A case report. *J Clin periodontol* 2000;27:531-535.
23. Beikler T, Peters U, Prajanef S, Prior K, Ehmke B, Flemming TF. Prevalence of Porphyromonas gingivalis fimA genotypes in Caucasians. *Eur J Oral Sci* 2003;111:390-394.
24. 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.
25. Hamada N, Watanabe K, Arai M, Hiramine H, Umemoto T. Cytokine production induced by a 67-kDa fimbrial protein from *Porphyromonas gingivalis*. *Oral Microbiol Immunol* 2002;17:197-200.
26. Sugano N, Ikeda K, Oshikawa M, Sawamoto Y, Tanaka H, Ito K. Differential cytokine induction by two types of *Porphyromonas gingivalis*. *Oral Microbiol Immunol* 2004;19:121-123.
27. 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.
28. Amano A, Sharma A, Lee JY, Sojar HT, Raj PA, Genco RJ. Structural domains

- of *Porphyromonas gingivalis* recombinant fimbriin that mediate binding to salivary proline-rich protein and statherin. *Infect Immun* 1996;64:1631-1637.
29. 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.
 30. 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 Res* 2002;37:425-432.
 31. Amano A, Nakagawa I, Okahashi N, Hamada N. Variations of *Porphyromonas gingivalis* fimbriae in relation to microbial pathogenesis. *J Periodontol Res* 2004;39: 136-142.
 32. 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.
 33. 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.
 34. 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.
 35. 신승일, 권영혁, 박준봉, 허익. 임플란트주위염 시 *Porphyromonas gingivalis* 섬모유전형의 출현율. 2003(unpublished).
 36. Gouvoussis J, Sindhusake D, Yeung S. Cross-infection from periodontitis sites to failing implant sites in the same mouth. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1997;12:666-673
 37. 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.
 38. Mombelli A, Lang NP. Clinical parameters for the evaluation of dental implants. *Periodontol 2000* 1994;4:81-86.
 39. Hamada S, Fujiwara T, Morishima S, Takahashi I, Nakagawa I, Kimura S, Ogawa T. Molecular and immunological characterization of the fimbriae of *Porphyromonas gingivalis*. *Microbiol Immunol* 1994;38:921-930.
 40. Hamada S, Fujiwara T, Morishima S, Takahashi I, Nakagawa I, Kimura S, Ogawa T. Molecular and immunological characterization of the fimbriae of *Porphyromonas gingivalis*. *Microbiol Immunol* 1994;38:921-930.
 41. Neiders NE, Chen PB, Suido H, Reynolds HS, Zambon JJ, Shlossman M, Genco RJ. Heterogeneity of virulence among strains of *Bacteroides gingivalis*. *J Periodont Res* 1989;24: 192-198.
 42. 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.

43. 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 Periodont Res* 1982;17:41-49.

Prevalence of *fimA* Genotypes of *Porphyromonas gingivalis* Strains in peri-implant sulcus

Dong-Keon Seo · Young-Hyuk Kwon · Joon-Bong Park
Yeek Herr · Jong-Hyuk Chung

Department of Periodontology, Kyung Hee University, Seoul, Korea

Porphyromonas gingivalis is a gram negative, black-pigmented anaerobe, associated with periodontitis & peri-implantitis. Fimbriae(*fimA*) of *P. gingivalis* are filamentous components on the cell surface and important in the colonization and invasion of periodontal tissue. But all *P. gnigivalis* strains don't have equal pathogenicity, inequality among strains originates from different *fimA* genotype. *P. gnigivalis fimA* gene encoding fimbrillin(structural 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 a condition of peri-implant tissue. Dental plaque specimens obtained from 189 peri-implant sulci of 97 patients with dental implants were analyzed by 16S rRNA *fimA* gene-directed PCR assay.

P. gingivalis were detected in 86.2% of the alll samples. Among the *P. gingivalis*-positive samples, a significant difference in the occurrence of typeII was observed between test and the two control groups. In two control groups, typeII *fimA* were detected in 6.3%(PD<5mm/BOP-), 18.7%(PD<5mm/BOP+). In the test group(PD≥5mm/BOP+), typeII *fimA* genotype were detected most frequently in 50.0% . And a correlation between specific *fimA* types and peri-implantitis was found in typeII($R^2=1.105$).

These results suggest that *P. gingivalis* strains that possess typeII *fimA* are gradually increased, as a condition of peri-implant tissue is getting complicated and are closely associated with peri-implant health status. We speculate that these organisms be involved in peri-implantitis