

고혈압을 동반한 만성 치주염 환자의 치은 조직에서 C-reactive protein과 macrophage colony-stimulating factor의 발현

김철우¹, 박진우¹, 서조영¹, 조제열², 이재목^{1*}

1. 경북대학교 치의학전문대학원 치주과학교실
2. 경북대학교 치의학전문대학원 구강생화학교실

The expressions of C-reactive protein and macrophage colony-stimulating factor in gingival tissue of human chronic periodontitis with hypertension

Chul-Woo Kim¹, Jin-Woo Park¹, Jo-Young Suh¹, Je-Yoel Cho², Jae-Mok Lee^{1*}

1. Department of Periodontology, School of Dentistry, Kyungpook National University
2. Department of Biochemistry, School of Dentistry, Kyungpook National University

ABSTRACT

Purpose: The purpose of this study was to quantify and compare the expressions of CRP and M-CSF in the gingival tissues of the patients with chronic periodontitis associated to hypertension.

Methods: Gingival tissue samples were obtained during periodontal surgery or tooth extraction. Clinically healthy gingival tissue samples from systemically healthy 12 patients were categorized as group 1 (n=12). Inflammatory gingival tissue samples from patients with chronic periodontitis were categorized as group 2 (n=12). Inflammatory gingival tissue samples from patients with chronic periodontitis associated with hypertension were categorized as group 3 (n=12). Tissue samples were prepared and analyzed by Western blotting. The quantification of CRP and M-CSF were performed using a densitometer and statistically analyzed by one-way ANOVA followed by Tukey test.

Results: There were significant differences between group 1 and group 2 and between group 1 and group 3 in both CRP and M-CSF. The differences between group 2 and group 3 were not statistically significant in both proteins. However, the expression levels of CRP and M-CSF in hypertensive inflammatory gingiva showed increased tendency compared to non-hypertensive inflammatory gingiva.

Conclusions: It is suggested that CRP and M-CSF might be used as inflammatory and bone resorption markers in periodontal diseased tissue. It is assumed that hypertension may be associated with the progression of periodontal inflammation and alveolar bone resorption. (*J Korean Acad Periodontol 2009;39:391-398*)

KEY WORDS: chronic periodontitis; C-reactive protein; hypertension; macrophage colony-stimulating factor.

서론

만성치주염은 치아를 지지하는 조직의 염증, 점진적인 부착상실, 치아상실을 일으키는 염증성 질환이다.

치주 병원균은 면역반응과 염증반응에 영향을 끼친다. 세

균과 세균성 대상산물로 인한 국소적인 염증반응은 다형핵 백혈구, 대식세포, 림프구, 형질세포와 같은 염증성 세포가 치주 조직내로 침투하는 것이 특징적이다. 이때 활성화된 염증세포는 PGE₂, IL-1, TNF- α 와 같은 사이토카인들을 분비한다^{1,2)}. 이러한 사이토카인들은 M-CSF(macrophage colony-stimulating factor) 또는 RANKL(Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand)의 활성화를 통해 치조골 흡수에 관여한다³⁾.

M-CSF는 CSF-1으로도 불리우며, 치조골 흡수과정에서 파골세포 생성과정에 필수적이다^{4,5)}.

Correspondence: Dr. 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

본 연구는 보건복지부 한국 보건산업 진흥원(A090610)의 연구비 지원으로 수행되었음.

파골세포로 분화하는 과정에서 M-CSF의 필요성은 생체상과 실험상에서 잘 알려져 있다⁶⁾. M-CSF는 골 대사과정 동안 골아세포에서 생성되어지며, RANKL과 상호작용하여 파골세포 전구체를 파골세포로 분화시키는 과정을 촉진한다. 이 과정을 통해 치조골 흡수가 증가되는 것이다⁷⁻⁹⁾.

Masato 등¹⁰⁾은 치아에 교정력을 가했을 때 치아가 이동하는 동안 치주 조직내에서 M-CSF양이 증가함을 보고하였으며, M-CSF가 RANKL과 상호작용하여 골 흡수과정에 관여한다고 하였다.

만성 치주염에서 국소적인 염증 반응에 의해 분비되어진 사이토카인들은 간세포를 활성화시켜 acute phase protein들을 분비시키고¹¹⁾, 전신적인 acute phase response를 일으킨다¹²⁾.

Acute phase response는 고열, 혈관 투과성의 증가, 대사과정의 전반적인 상승 등을 특징으로 한다. 최근에 주목받고 있는 acute phase protein들에는 C-reactive protein (CRP), serum amyloid P component, serum amyloid A protein, α 1-acid glycoproteins(AGP)가 있다^{11,13)}.

CRP는 acute phase reactant이며, 염증의 전신적 표시자이다. CRP는 간세포에서 생성되어지고 분비되어진다¹⁴⁾. 염증과정이 없는 개인은 1 μ g/mL 이하의 CRP 농도를 보이며, 세균 감염이나 자가면역 질환, 암 등의 질환을 가진 개인은 100 μ g/mL 이상의 CRP 농도를 보인다¹⁵⁾.

최근 여러 연구에서 치주질환을 가진 환자의 CRP혈장 농도가 증가된다는 보고가 있다.

Loss 등¹⁶⁾은 치료하지 않은 치주염을 가진 107명과 치주염을 가지지 않은 대조군 43명을 대상으로 연구한 결과, 치주염의 정도와 혈장 CRP 농도 사이에 유의한 상관성이 있음을 보고하였다. Slade 등¹⁷⁾은 치주질환의 심도와 혈장 CRP 농도 간에 상관성을 연구하였는데, 4 mm 이상의 치주낭 깊이를 보이는 부위를 10% 이상 가지고 있는 환자에서 건강한 사람과 비교하여 더 높은 CRP 농도를 보고하였다.

치주질환과 전신질환과의 상관성이 최근에 주목받고 있다. 많은 연구들이 치주질환과 심혈관계 질환 사이에 연관성이 있음을 보고하였으며, 이러한 연구들 중 대부분이 만성 치주염이 심혈관계 질환의 위험요소가 될 수 있음을 보고하는 것이었다^{18,19)}.

심혈관계 질환의 일반적인 위험요소로는 고지혈증, 흡연, 당뇨가 있다. 어떤 연구들에서는 이러한 요소들이 치주질환의 위험요소로도 작용할 수 있다는 보고가 있다²⁰⁻²³⁾. 고혈

압은 심혈관계 질환의 위험요소 중의 하나이지만, 다른 위험요소와는 달리 치주질환과의 상관성에 대해서는 잘 알려져 있지 않다.

고혈압은 가장 대표적인 심혈관계 질환이자, 다른 심혈관계 질환의 위험요소이다. 고혈압은 2가지로 분류된다. 1단계 고혈압은 수축기 혈압이 140~159 mmHg, 이완기 혈압이 90~99 mmHg로 정의되며, 2단계 고혈압은 수축기 혈압이 160 mmHg 이상, 이완기 혈압이 100 mmHg 이상으로 정의된다.

이번 연구의 목적은 고혈압과 만성치주염을 가진 환자의 치은 조직에서 CRP와 M-CSF의 발현 정도를 정량화하고, 이를 만성치주염환자와 정상인의 치은 조직과 비교하여 CRP와 M-CSF가 치주조직과 치조골 파괴에 미치는 영향을 알아보고, 나아가 고혈압과 만성 치주염과의 상관성에 대해 알아보기 위함이다.

재료 및 방법

이번 연구에 참여한 환자는 만성 치주염 치료를 위해 경북대학교 병원을 내원한 환자들 중 고혈압을 동반한 만성 치주염 환자 12명, 전신적으로 건강한 만성 치주염 환자 12명 그리고 전신적으로 건강한 성인 12명으로 구성되었다. 치주조직 표본은 모든 환자에서 동의를 얻은 후 치주 수술(치관연장술 포함) 또는 발치 시 내사면절개에 의해 얻어졌다. 본 연구는 경북대학교 병원 임상시험심사위원회의 심사 및 승인(승인번호 74005-1118)을 받아 진행되었으며, 모든 환자들에게 본 연구의 목적 및 과정에 대한 설명과 동의를 구한 후 진행하였다.

환자의 전신적 상태(혈압, 치은의 임상적 기준(치은 열구출혈 지수, 치주낭 깊이) 그리고 골 흡수의 방사선학적 증거)에 따라, 각 치은 조직 표본은 3가지 군으로 나누어졌다. 첫 번째 군(대조군)은 전신적으로 건강한 12명의 성인으로부터 얻어진, 출혈이 없고 골 흡수 또는 치주낭이 없는 임상적으로 건강한 치은 조직으로 하였고, 두 번째 군은 만성 치주염 환자로부터 얻어진 염증성 치은 조직으로 하였다. 만성 치주염은 임상적 그리고 방사선학적(골 흡수) 기준을 기초로 치주 질환과 상태에 대한 분류에 따라 진단되었다. 두 번째 군의 모든 환자는 전신적으로 건강하고, 치주낭 깊이가 5 mm 이상인 부위를 한 부위 이상 가지며, 4 mm 이상의 부

착 소실을 보이는 치아를 적어도 한 개 이상 가지고 있었다. 모든 치은 조직 표본은 5 mm 이상의 치주낭 깊이, 변연 치은의 부종 그리고 Mühlan & Son²⁴⁾에 따른 치은 열구 출혈 지수 3을 보이는 치아로부터 얻어졌다. 세 번째 군은 고혈압을 동반한 만성 치주염 환자로부터 얻어진 염증성 치은 조직으로 하였다. 세 번째 군은 적어도 6개월 이전에 고혈압 진단을 받고, 투약하지 않았을 때 수축기 혈압이 140 mmHg 이상, 이완기 혈압이 90 mmHg 이상인 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 고혈압 환자를 대상으로 하였다. 수술 시, 채득된 조직 표본은 즉시 액화 질소에 급속 동결되었다(-70°C).

Western blotting은 이전에 Kim 등²⁵⁾의 연구에서 시행된 방법과 동일하게, 동결된 조직은 Cho 등²⁶⁾의 방법을 따라 1:30으로 희석된 protease inhibitor cocktail tablet (Roche[®], Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany)을 함유한 용해완충액(RIPA[®], ELPIS Biotech, co, Taejon, Korea)에서 균질화 되었다. 용해물은 10초 동안 세 번 초음파 분쇄가 시행되고, 4°C, 12,000 g에서 15분 동안 원심분리하였다. 상층액의 단백질 농도는 Bovine Serum Albumin (Quick Start[™], BIO-RAD, CA, USA)을 표준용액으로 하여 Bradford protein assay를 통해 결정되었다.

용해물을 SDS samples buffer(1M Tris-HCl, 40% glycerol, 8% SDS, 2% mercapto-ethanol, 0.002% Bromophenol blue)에 25 µg이 함유되도록 계산되어진 부피만큼 넣은 후, 100°C에서 3분간 끓인다. 준비된 표본은 15% sodium dodecyl sulfate(SDS)-polyacrylamide gels(15% SDS polyacrylamide gel[®], ELPISBiotechco, Taejon, Korea)에서 전기 영동하여 분리되어지고, Nitrocellulos Transfer membrane(PROTAN[®], whatmanGmbH, Dassel, Germany)으로 전이된다.

막은 5% powdered milk(Difco[™], Becton, Dickinson and Company, MD, USA)와 Tris-buffered saline-Tween20(Tween20[®], ICI AmericasInc, OHIO, USA)(TBS-T)에서 1시간 동안 비특이적인 반응을 제거하기 위한 처리를 하고, 실온에서 polyclonal anti-CRP(sc-51847[®], Santa Cruz Biotechnology Inc., CA, USA), anti-M-CSF(sc-1324[®], Santa Cruz Biotechnology Inc, CA, USA)항체를 TBS-T에 1: 1,000으로 희석하여 실온에서 1.5시간 동

안 반응시켰다. 막이 TBS-T로 10분씩 3회 세척되고, anti-CRP에 대하여 horseradish peroxidase(HRP)-conjugated goat anti-mouse 이차항체 (sc-2005[®], Santa Cruz Biotechnology Inc, CA, USA)를, anti-M-CSF에 대하여 horseradish peroxidase(HRP)-conjugated donkey anti-goat 이차 항체(sc-02020[®], Santa Cruz Biotechnology Inc, CA, USA)를 TBS-T에 1:2,000으로 희석하여 실온에서 1시간 동안 반응시켰다. 부가적으로 TBS-T로 10분씩 3회 세척 후 ECL Plus development kit(ECL+Plus[®], Amsterdam, Beckinghamshire, UK)로 밴드를 확인하였다.

CRP와 M-CSF발현에 대한 정량 분석은 densitometer (Image Gauge V 3.46[®], Koshin Graphic System, Tokyo, Japan)을 이용하여 시행하였다. 각 표본에서 β-actin(sc-130300[®], Santa Cruz Biotechnology Inc, CA, USA)에 대한 표준화를 시행하고, CRP와 M-CSF발현은 CRP or M-CSF /β-actin의 비율로 나타내었으며, 세 군사이의 차이가 결정되었다. 모든 자료는 평균±표준편차로 표현되었으며, 결과는 통계학적으로 분석되었다. CRP와 M-CSF는 one-way ANOVA로 비교되었고, Turkey test로 사후 검증되었다(P<0.05).

결과

고혈압 유무에 상관없이 만성 치주염 환자 조직 그룹과 정상 치주 조직의 모든 샘플에서 CRP와 M-CSF의 발현이 나타났다.

CRP가 발현된 대표적인 western Blot 자료가 Fig. 1에 제시되었다. β-actin의 발현양상 또한 아래에 제시되었다. 각 그룹의 CRP 발현 정도를 정량화 하기 위해 각 샘플의 CRP와 β-actin의 발현 정도를 densitometer로 측정 한 뒤, CRP/β-actin의 수치를 Table 2에 정리하였다.

CRP 발현 정량화의 평균 값은 그룹 1에서 0.618±0.188, 그룹 2에서 0.802±0.112, 그룹 3에서 0.935±0.061였다. 그룹 1과 2, 그룹 1과 3사이에 통계적으로 유의한 차이점을 보였으며, 그룹 2와 3사이에 유의한 차이점을 보이지 않았다.

M-CSF가 발현된 대표적인 western Blot 자료가 Fig. 3에 제시되었다. β-actin의 발현양상 또한 아래에 제시되었다. 각 그룹의 M-CSF발현 정도를 정량화 하기 위해 각 샘플의 M-CSF와 β-actin의 발현 정도를 densitometer

로 측정된 뒤, M-CSF/ β -actin의 수치를 Table 3에 정리하였다.

M-CSF발현 정량화의 평균 값은 그룹 1에서 0.360 ± 0.040 , 그룹 2에서 0.473 ± 0.079 , 그룹 3에서 0.563 ± 0.150 였다. 그룹 1과 2, 그룹 1과 3사이에 통계적으로 유의한 차이점을 보였으며, 그룹 2와 3사이에는 유의한 차이점을 보이지 않았다.

고찰

이번 연구에서는 건강한 치은 조직의 CRP 수준이 고혈압 유무와 관계없이 염증성 조직의 CRP 수준보다 통계적으로 유의성 있게 낮음을 알 수 있었다($P < 0.05$).

이러한 결과들은 만성치주염의 심화 정도와 CRP 측정치 사이에 양의 상관관계가 있음을 보여주며, 유사한 결과가 기존의 다른 연구들에서도 보고되어 졌다.

예를 들어, Frederiksson 등²⁷⁾과 Ebersole 등²⁸⁾은 대조군과 비교하여 치주질환을 가지고 있는 군에서 더 높은 혈장 CRP 농도를 보고하였다. Beck 등²⁹⁾은 12,949명 성인의 사분위 중 2분위를 무작위로 선택하여 조사한 결과, 치주질환 상태와 CRP 사이의 상관관계가 있음을 보고하였다. 4 mm 이상 치주낭 깊이를 보이는 부위가 10% 이상인 환자의 평균 CRP 농도가 4.1 mg/L로 정상인의 2.9 mg/L 보다 높게 나타났다. Noack 등³⁰⁾도 혈장 CRP와 치주질환의 심도 사이에 유의할 만한 상관성이 있음을 보고하였다.

어떤 연구들은 CRP 농도와 치주치료의 효과에 대해 보고하였다. Matilla 등³¹⁾은 만성 치주염을 가진 30명 환자의 치주치료 후 CRP 농도의 감소를 보고하였는데, 치주 치료후 평균 1.05 mg/l에서 0.7 mg/l로 감소하였다. 이러한 결과는 Ide 등³²⁾의 연구와 유사하다.

기존의 연구들은 CRP 농도를 혈장 수준에서 측정하는데 반해, 이번 연구에서는 직접적으로 치은조직의 CRP 발현 형태를 살펴보았다. 따라서, 이번 연구 결과 CRP가 만성치주염에서 생성되는 국소적 염증의 표시자로 적용될 수 있음을 알 수 있다.

이번 연구에서, M-CSF의 발현 정도는 고혈압에 관계 없이 염증성 조직에서 정상조직 보다 높은 수준을 나타내었다 ($P < 0.05$).

이러한 결과들은 만성치주염으로 인한 치조골 흡수와

M-CSF 수준 사이에 양의 상관관계가 존재함을 제시한다. Tussanee 등³³⁾은 TNF- α 가 실험상 치주인대 세포로부터 M-CSF의 발현을 촉진시킬 수 있다고 보고하였는데, TNF- α 는 만성치주염에서 골 흡수 매개체로 기존에 잘 알려져 있는 인자이므로^{34,35)} 만성치주염에서 TNF- α 가 증가함으로 인해 M-CSF가 증가함을 예상할 수 있을 것이다. 따라서, M-CSF 역시 만성치주염에서 국소적인 골 흡수의 표시자로 적용될 수 있을 것이다.

이번 연구에서 2그룹과 3그룹 사이의 CRP와 M-CSF의 발현 차이는 통계적으로 유의하지 않았지만, 고혈압을 동반한 염증성 치은 조직에서 고혈압을 동반하지 않은 염증성 치은 조직보다 더 높은 발현 경향을 보임을 알 수 있었다. 따라서, 고혈압이 만성치주염에서 염증과 치조골 파괴를 증가시키는 요인으로 작용할 수도 있음을 생각해 볼 수 있다. 하지만, 그 병리학적 기전에 대해서는 알려진 바가 현재까지는 없다.

Castelli 등³⁶⁾은 동물실험을 통해 높은 수축기 혈압이 혈관의 내막과 탄성층의 두께를 증가시켜 혈관벽의 유리 질화를 진행시키며 이로 인해 치주인대와 치주조직으로 가는 혈관이 좁아진다고 하였다.

Perlstein 등³⁷⁾은 동물 실험을 통해 비만과 고혈압이 치주조직 혈관의 비대와 과형성의 원인이 되어 치주염을 악화시킨다고 보고하였다.

Fabio 등³⁸⁾은 고혈압이 치주조직 미세혈관 희박화의 원인이 될 수도 있으며, 이로 인해 치주조직의 허혈화가 일어날 수도 있음을 제시하였다.

다른 연구들^{39,40)}에서는 정상인보다 고혈압 환자에서 혈장 CRP 농도가 높음은 보고하였고, 고혈압이 혈관 염증의 강력한 자극인자가 되어 CRP 수치를 증가시킨다는 병리생리학적 기전을 제시하였다.

따라서, 고혈압으로 인한 치주조직 내에서 이러한 혈관의 변화가 치주조직 수준에서 염증과 치조골 흡수의 증가에 기여한다고 예상해 볼 수 있을 것이다.

각 군의 환자들의 특징은 Table 1에 정리되어 있다. 대부분의 대상이 비흡연자였고, 흡연자의 수는 그룹 1에서 2명, 그룹 2에서 2명이었다. 비록, 흡연이 치주질환의 주요한 위험인자로 여겨지지만 이번 연구에서는 각 그룹의 흡연자들이 비흡연자들보다 더 높은 CRP와 M-CSF의 발현을 보이지는 않았다. 성별과 나이는 각 그룹에서 CRP와 M-CSF의 발현 정도와 연관성이 없었다.

Table 1. Patient Characteristics

	Group 1 (n=12)	Group 2 (n=12)	Group 3 (n=12)
Gender	4 males, 8 females	5 males, 7 females	3 males, 9 females
Age	mean 41.3 yrs (from 20 yrs to 58 yrs)	mean 48.4 yrs (from 42 yrs to 62 yrs)	mean 49.2 yrs (from 40 yrs to 59 yrs)
Pocket depth	mean 2.0 mm	mean 8.6 mm	mean 8.4 mm
Smokers	n=2	n=2	n=0
Systolic blood pressure	mean 111 mmHg	mean 109 mmHg	mean 171 mmHg
Diastolic blood pressure	mean 81 mmHg	mean 82 mmHg	mean 106 mmHg

Table 2. Normalized CRP expressions by CRP/ β -actin

Sample	Group 1	Group 2	Group 3
1	0.761	0.861	0.971
2	0.752	0.779	1.028
3	0.702	0.753	0.938
4	0.738	0.812	0.991
5	0.771	0.792	0.885
6	0.764	0.781	0.879
7	0.751	0.910	0.942
8	0.689	0.902	0.951
9	0.481	0.493	0.893
10	0.404	0.865	0.802
11	0.302	0.779	0.971
12	0.304	0.902	0.974
Mean \pm SD	0.612 \pm 0.188	0.802 \pm 0.112 ⁺	0.935 \pm 0.061 ⁺

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 hypertension

⁺ significant difference between group 1 and group 2 ($P < 0.05$), ^{*} significant difference between group 1 and group 3 ($P < 0.05$)

Table 3. Normalized M-CSF expressions by M-CSF/ β -actin

Sample	Group 1	Group 2	Group 3
1	0.310	0.457	0.473
2	0.349	0.332	0.395
3	0.306	0.461	0.379
4	0.359	0.448	0.383
5	0.381	0.420	0.602
6	0.359	0.453	0.775
7	0.306	0.436	0.821
8	0.344	0.457	0.608
9	0.427	0.608	0.434
10	0.401	0.602	0.640
11	0.383	0.567	0.616
12	0.404	0.444	0.636
Mean \pm SD	0.360 \pm 0.040	0.473 \pm 0.079 ⁺	0.563 \pm 0.150 [*]

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 hypertension

⁺ significant difference between group 1 and group 2 ($P < 0.05$), ^{*} significant difference between group 1 and group 3 ($P < 0.05$)

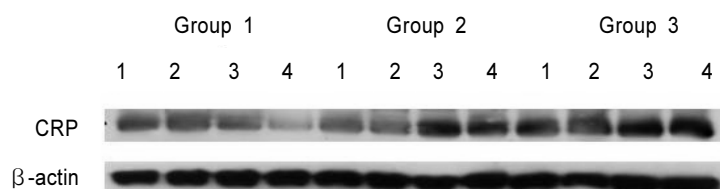


Figure 1. CRP Western analysis showing 4 representative samples in each group. CRP levels were quantified on the basis of β -actin levels. CRP corresponding to molecular weight 27 kDa was shown to be expressed in all samples including healthy gingiva, and the expression levels of CRP were increased in order of group 1, group 2 and group 3. 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 hypertension.

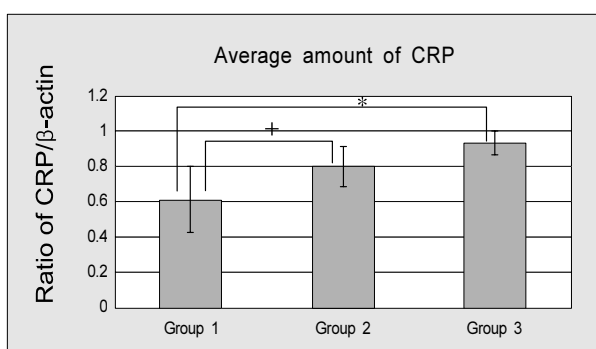


Figure 2. Graphics showing the average amounts (ratio of CRP/ β -actin) and standard deviation of CRP level in groups 1, 2 and 3. In the inflamed gingiva (group 2 and 3), the levels of CRP were significantly increased as compared to group 1 ($P < 0.05$). Group 1 : healthy gingiva from systemically healthy person, Group 2 : inflamed gingiva from patient with chronic periodontitis, Group 3 : inflamed gingiva from patient with chronic periodontitis and hypertension. + significant difference between group 1 and group 2 ($P < 0.05$). * significant difference between group 1 and group 3 ($P < 0.05$).

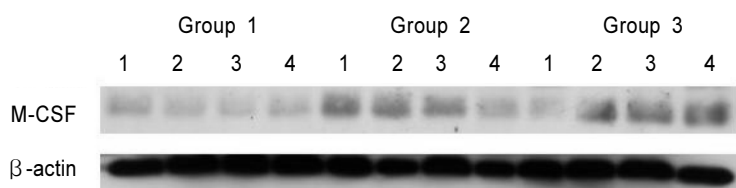


Figure 3. M-CSF Western analysis showing 4 representative samples in each group. M-CSF levels were quantified on the basis of β -actin levels. M-CSF corresponding to molecular weight 18,5 kDa was shown to be expressed in all samples including healthy gingiva, and the expression levels of M-CSF were increased in order of group 1, group 2 and group 3. 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 hypertension.

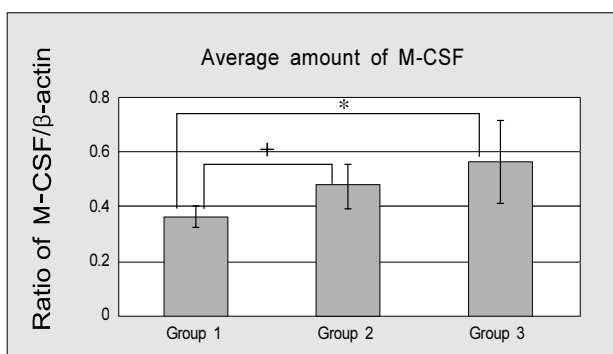


Figure 4. Graphics showing the average amounts (ratio of M-CSF/ β -actin) and standard deviation of M-CSF level in groups 1, 2 and 3. In the inflamed gingiva (group 2 and 3), the levels of M-CSF were significantly increased as compared to group 1 ($P < 0.05$). Group 1 : healthy gingiva from systemically healthy person, Group 2 : inflamed gingiva from patient with chronic periodontitis, Group 3 : inflamed gingiva from patient with chronic periodontitis and hypertension. + significant difference between group 1 and group 2 ($P < 0.05$). * significant difference between group 1 and group 3 ($P < 0.05$).

결론적으로, 이번 실험을 통해 건강한 치은조직에 비해 고혈압 유무와 상관 없이 염증성 치은조직에서 CRP와 M-CSF의 발현 정도가 통계적으로 유의하게 증가함을 알 수 있었으며, 고혈압을 동반한 염증조직의 CRP와 M-CSF의 발현 정도가 고혈압을 동반하지 않은 염증조직의 것보다 증가하는 경향을 보이는 것을 알 수 있었다. 이러한 결과로 미루어 CRP와 M-CSF가 치주 염증 조직에서 염증과 골 흡수의 표시자가 될 수 있으며, 고혈압이 치주조직 염증과 치조골 흡수와 연관될 수 있음을 생각해 볼 수 있다.

참고문헌

1. Shapira L, Soskolne WA, Sela MN, Offenacher S, Barak V. The secretion of PGE₂, IL-1 β , IL-6 and TNF- α by adherent mononuclear cells from early onset periodontitis patients. *J Periodontol* 1994;65:139-146.
2. Hernichel-Gorbach E, Kornman KS, Holt SC et al. Host responses in patients with generalized refractory periodontitis. *J Periodontol* 1994;65:8-16.
3. Page RC. The role of inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodont Res* 1991;26:230-242.
4. Liu D, Xu JK, Figliomeni L et al. Expression of RANKL and OPG mRNA in periodontal disease: Possible involvement in bone destruction. *Int J Mol Med* 2003;11:17-21.
5. Crotti T, Smith MD, Hirsch R et al. Receptor activator NF kappaB ligand (RANKL) and osteoprotegerin (OPG) protein expression in periodontitis. *J Periodont Res* 2003;38:380-387.
6. Suda T, Takahashi N, Martin TJ. Modulation of osteoclast differentiation. *Endocr Rev* 1992;13:6-80.
7. Lacey DL, Timms E, Tan HL et al. Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. *Cell* 1998;93:165-167.
8. Katagiri T, Takahashi N. Regulatory mechanism of osteoblast and osteoclast differentiation. *Oral Diseases* 2000;8:147-159.
9. Cochran DL. Inflammation and bone loss in periodontal disease. *J Periodontol* 2008;suppl:1569-1576.
10. Masato K, Masahide M, Motokawa et al. VEGF and M-CSF levels in periodontal tissue during tooth movement. *Biomed Res* 2008;29:181-187.
11. Steel D, Whitehead AS. The major acute phase reactants: C-reactive protein, serum amyloid P component and serum amyloid A protein. *Immunol Today* 1994;15:81-88.
12. Baumann H, Gaudie J. The acute phase response. *Immunol Today* 1994;15:74-80.
13. Buhin K, Gustafsson A, Pockley AG, Frostegard J, Klinge B. Risk factors for cardiovascular disease in patients with periodontitis. *Eur Heart J* 2003;24:2099-2107.
14. Vigushin DM, Pepsy MB, Hawkins PN. Metabolic and scintigraphic studies of radioiodinated human C-reactive protein in health and diseases. *J Clin Invest* 1993;91:1351-1357.
15. Yeh ETH, Willerson JT. Coming of Age of C-reactive protein using Inflammation markers in cardiology. *Circulation* 2003;107:370-371.
16. Loos BG, Craandijk J, Hoek FJ, Wertheim-van Dillen P, van der Velden. Elevation of systemic markers related to cardiovascular diseases in the peripheral blood of periodontitis patients. *J Periodontol* 2000;71:1528-1534.
17. Slade GD, Offenbacher S, Beck JD, Heiss G, Pankow JS. Acute phase inflammatory response to periodontal disease in the US population. *J Dent Res* 2000;79:49-57.
18. Scannapieco FA, Bush RB, Paju S. Associations between periodontal diseases and risk for atherosclerosis, cardiovascular disease, and stroke. *Ann Periodontol* 2003;8:38-53.
19. Destefano F, Anda RF, Kahn HS, Williamson DF, Russell CR. Dental disease and risk of coronary heart disease and mortality. *BMJ* 1993;306:688-691.
20. Albandar JM, Strekfus CF, Adesanya MR, Winn DM. Cigar, pipe, and cigarette smoking as risk factors for periodontal diseases and tooth loss. *J Periodontol* 2000;71:1874-1881.
21. Susin C, Oppermann RV, Haugejorden O, Albandar JM. Periodontal attachment loss attributable to cigarette smoking in an urban Brazilian population. *J Clin Periodontol* 2004;31:951-958.
22. Emrich LJ, Shlossman M, Genco RJ. Periodontal disease in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Periodontol* 1991;62:123-131.
23. Bridges RB, Anderso JW, Saxe SR, Greogrory K, Bridge SR. Periodontal status of diabetic and non-diabetic men:

- effects of smoking, glycemic control, and socioeconomic factors. *J Periodontol* 1996;67:1185-1192.
24. Mühlemann HR, Son SH. Gingival sulcus bleeding-a leading symptom in initial gingivitis. *Helv Odontol Acta*. 1971;15:107-113.
 25. Kim DH, Park JW, Lee JM et al. The comparison of MMP-2, MMP-9 and tumor necrosis factor- α expressions in human gingiva with chronic periodontitis with or without associated to type 2 diabetes mellitus. *J Korean Aca Periodontol* 2006;36:409-426.
 26. Cho JY, Xing S, Liu X, Buckwalter TLF et al. Expression and activity of human Na⁺/I⁻ symporter in human glioma cells by adenovirus-mediated gene delivery. *Gene Therapy* 2000;7:740-749.
 27. Frederiksson MI, Figueredo CMS, Gustafsson A, Bergstrom KG, Asman BE. Effect of periodontitis and smoking on blood leukocytes and acute-phase proteins. *J Periodontol* 1999;70:1355-1360.
 28. Ebersole JL, Machen RL, Steffen MJ, Willmann DE. systemic acute phase reactants, C-reactive protein and haptoglobin in adult periodontitis. *Clin Exp Immunol* 1997;107:347-352.
 29. Beck JD, Slade G, Offenbacher S. Oral disease, cardiovascular disease and systemic inflammation. *J Periodontol* 2000;23:110-120.
 30. Noack B, Genco R.J, Trevisan M et al. Periodontal infections contribute to elevate systemic C-reactive protein level. *J Periodontol* 2001;72:1221-1227.
 31. Matilla K, Vesanen M, Valtonen V et al. Effect of treating periodontitis on C-reactive protein levels: A pilot study. *BMC Infect Dis* 2002;2:30-32.
 32. Ide M, Mcpartin D, Coward PY et al. Effect of treatment of chronic periodontitis on levels of serum markers of acute-phase inflammatory and vascular responses. *J Clin Periodontol* 2003;30:334-340.
 33. Tussanee Y, Kanokporn L, Prasit P. Human periodontal ligament cells secrete macrophage colony-stimulating factor in response to tumor necrosis factor-alpha in vitro. *J periodontol* 2006;77:955-962.
 34. Roberts FA, McCaffery KA, Michalek SM. Profile of cytokine mRNA expression in chronic adult periodontitis. *J Dent Res* 1997;76:1833-1839.
 35. Sudha A, Charu SC, Nicholas PP et al. Regulation of periodontal ligament cell functions by interleukin-1 beta. *Infect Immun* 1998;66:932-937.
 36. Castelli WA, Diaz-Perez R, Nasjleti CE, Caffesse RG. Effect of renovascular hypertension on the morphology of oral blood vessels. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1978;46:576-582.
 37. Perlstein MI, Bissada NF. Influence of obesity and hypertension on the severity of periodontitis in rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1977;4:707-719.
 38. Angeli F, Verdecchia P, Pelligrino C et al. Association between periodontal diseases and left ventricle mass in essential hypertension. *Hypertension* 2003;41:488-492.
 39. Ridker PM, Buring JE, Cook NR, Rifai N. C-reactive protein, the metabolic syndrome, and risk of incident cardiovascular events: an 8-year follow up of 1419 initially healthy American women. *Circulation* 2003;107:391-397.
 40. Lakoski SG, Cushman M, Palmas W et al. The relationship between blood pressure and C-reactive protein in the Multi-Ethnic study of Atherosclerosis (MESA). *J Am Coll Cardiol* 2005;46:1869-1874.