

불면 변증에 따른 수면의 질, 설진, 구강 미생물 차이에 대한 비교 연구

심혜윤 · 권오진¹ · 김민지 · 송은지^{2,3} · 문선영^{1,4} · 남영도^{2,3} · 남동현⁵ · 이준환^{1,4} · 구병수⁶ · 김호준

동국대학교 한의과대학 한방재활의학교실, ¹한국한의학연구원 임상의학부, ²한국식품연구원 헬스케어연구단,
³과학기술연합대학원대학교 식품생명공학부, ⁴과학기술연합대학원대학교 한국한의학연구원 캠퍼스,
⁵상지대학교 한의과대학 진단생기능의학교실, ⁶동국대학교 한의과대학 신경정신과학교실

A Comparative Study on the Quality of Sleep, Tongue Diagnosis, and Oral Microbiome in Accordance to the Korean Medicine Pattern Differentiation of Insomnia

Hyeyoon Shim, Ojin Kwon¹, Min-Jee Kim, Eun-Ji Song^{2,3}, Sun-Young Moon^{1,4}, Young-Do Nam^{2,3}, Dong-Hyun Nam⁵, Jun-Hwan Lee^{1,4}, Byung Soo Koo⁶, Hojun Kim

Department of Rehabilitation Medicine of Korean Medicine, College of Korean Medicine, Dongguk University

¹Clinical Medicine Division, Korea Institute of Oriental Medicine

²Research Group of Healthcare, Korea Food Research Institute

³Department of Food Biotechnology, Korea University of Science and Technology

⁴Korean Medicine Life Science, University of Science & Technology, Campus of Korea Institute of Oriental Medicine

⁵Department of Biofunctional Medicine and Diagnosis, College of Korean Medicine, Sangji University

⁶Department of Neuropsychiatry of Korean Medicine, College of Korean Medicine, Dongguk University

Received: May 17, 2020

Revised: June 1, 2020

Accepted: June 3, 2020

Correspondence to: Hojun Kim

Department of Rehabilitation Medicine of Korean Medicine, Dongguk University Ilsan Oriental Hospital, 27, Dongguk-ro, Ilsandong-gu, Goyang 10326, Korea
Tel: +82-31-961-9111
Fax: +82-31-961-9009
E-mail: kimklar@dongguk.ac.kr

Copyright © 2020 by The Society of Korean Medicine for Obesity Research

Objectives: We aimed to compare the quality of sleep, tongue diagnosis, oral microbiology differences in insomnia of Liver qi stagnation (LQS) and Non-Liver qi stagnation (NLQS).

Methods: 56 patients were classified as LQS or NLSQ type insomnia through the insomnia differentiation questionnaire. The depression scores between the groups were compared through beck depression inventory (BDI), and the sleep quality was compared through Pittsburgh sleep quality index (PSQI) and Insomnia Severity Index (ISI). We analyzed the sleep efficiency, total sleep time, total awake frequency, total and average awake time through actigraph. For the tongue diagnosis, the distribution of tongue coating in six areas were measured through Winkel tongue coating index (WTCl). Linear discriminant analysis was performed to observe the differences in composition of microbial strains between the groups.

Results: The scores of BDI, ISI and PSQI were significantly higher in LQS group. The total sleep time in LQS group was significantly less than that of NLQS group. Among the areas of tongue, according to the WTCl, the amount of tongue coating in zones A and C was significantly small. In oral microbial analysis, there was no significant difference between the groups at the phylum level. At the genus level, *Prevotella*, *Veillonella*, and *Streptococcus* were predominant in LQS group, whereas *Prevotella*, *Neisseria*, and *Streptococcus* in NLQS group.

Conclusions: It was meaningful that insomnia was more likely in LQS group than in NLQS group, and the composition of oral microorganisms was significantly different, which could lead to the diseases caused by stress.

Key Words: Sleep initiation and maintenance disorders, Psychological stress, Microbiota

서론

불면증은 인구의 약 1/3가량이 호소하고 10-15%가 일상생활 중 불편감을 호소하는 질환이다¹⁾. 건강보험심사평가원의 통계에 따르면 국내에서 불면증 증상으로 치료 받은 환자는 2015년 40만 5천여 명에서 2019년 63만 3천여 명으로 증가하였고²⁾, 젊은 사람보다 중장년층 및 고령층에서 더 많이 발생하였다. 불면증은 잠들기가 어렵고, 잠들더라도 자주 깨거나 일찍 일어나게 되어 일 중 피로함을 호소하는 등의 문제점이 발생하는 것을 의미한다. 불면증으로 진단받은 환자의 46-69%는 내과적인 질환이나 정신 질환을 함께 호소한다는 결과가 있다. 실제로 불면증 환자들의 건강상태, 수면의 질, 우울 및 불안 상태에 대해 설문조사한 결과 불면증이 아닌 사람들에 비해 심장 질환, 고혈압, 신경성 질환, 호흡기 질환, 요로계 질환, 만성 통증 및 위장관계 질환이 동반된 비율이 높았다³⁾.

일반적으로 불면증은 원인없이 나타나는 경우에는 원발성 불면증, 내과적 또는 정신과적, 약물 등의 영향으로 발생한 경우에는 이차성 불면증이라 칭한다. 그러나 실제 임상에서는 불면증 환자들이 호소하는 증상이나 지속기간이 천차만별이어서 원발성 불면증과 이차성 불면증의 감별진단이 어려운 경우가 많다⁴⁾. 이에 최근의 진단 기준은 원발성 또는 이차성 불면증으로 분류하지 않고 불면장애라는 개념을 도입하여 불면증의 경과를 구체적으로 설명할 수 없는 경우에 사용하였다. 불면증은 정확한 평가 지표가 없기 때문에 환자와의 면담을 통해 호소하는 증상에 근거하며, 일반적으로 취침시각, 입면에 걸리는 시간, 전체 수면시간 및 각성 횟수 등을 기록한 수면일기의 작성이나 국내에서도 다용하는 Pittsburgh sleep quality index (PSQI), Insomnia Severity Index (ISI) 등의 설문조사 방법으로 시행한다¹⁾. 수면을 분석하기 위해서는 수면의 양 뿐만 아니라 수면의 깊이나 만족도와 같은 질적인 면도 중요하다⁵⁾. 최근 성인의 수면 실태와 수면의 질 저하요인을 분석한 연구에서 대상자들에게 설문조사를 시행하고 PSQI를 측정된 결과 식사를 거르는 습관과 스트레스 등이 수면의 질 점수에 크게 영향을 미치는 것이 관찰되어 현대인들에게 불면이 많이 발생하는 원인 중 하나로 여겨질 수 있다⁵⁾.

현재 불면증의 진단은 일반적으로 Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorder (DSM)를 통해 이루어지고 있

다. 한의신경정신과학에 따르면 불면의 기본적인 병인은 양성음허(陽盛陰虛)라고 하였고, 비위불화(脾胃不和), 영위불화(營衛不和), 심담허겁(心膽虛怯), 담연울결(痰涎鬱結) 등으로 변증하였으나 간울(肝鬱)과 관련된 내용은 포함되어 있지 않다⁶⁾. 그러나 2016년 설문조사에 따르면 많은 한의사가 간울(肝鬱)로 인한 불면증을 진단하였다⁷⁾. 스트레스나 분노 상황에서 간에서 나타나는 기기(氣機)의 승발(升發)과 소설(疏泄) 작용이 손상을 받게 되면 가슴이 답답하거나 양 옆구리의 통증, 급격한 정서변화나 불면 등이 나타날 수 있다. 한국보건사회연구원에서 한국 성인의 스트레스 정도를 조사한 결과 많이 느끼는 편 34.7%, 매우 많이 느끼는 편 3.2%, 조금 느끼는 편이 56.2%로 전체 응답자의 90% 가량이 스트레스를 느낀다고 답하여 스트레스로 인한 사회적 불안 및 불면증의 발생 가능성이 높아졌다고 보고하였다⁸⁾. 불면증은 대사질환, 특히 비만에 영향을 미칠 수 있는데 1,000명 이상을 대상으로 한 코호트 연구에서 수면 시간이 짧은 경우에 렙틴 수치가 15.5% 낮고 그렐린 수치가 14.9% 높았다고 보고하였다. 또한 증가된 body mass index (BMI)를 통해 만성적으로 단축된 수면 시간이 식욕을 증가시키고, 이에 따라 음식의 과소비를 유발할 수 있음을 보여주었다⁹⁾.

설진은 혀의 색깔, 형태, 습도 및 설태의 분포와 두께 등을 관찰하여 체내 장부의 건강을 살피는 것으로 한의학적인 진단 방법이다. 전통적으로 설진은 한의사가 혀를 직접 관찰하는 방법으로 이루어져 다양한 외부적 또는 주관적 요인들이 개입되며 한계가 있다. 이에 객관적인 설진 도구를 개발하기 위해 혀 진단 시스템(tongue diagnosis system)을 도입하여 60명의 기능성 소화불량 환자의 설태 분포와 면적을 분석한 결과 혀의 무게와 유의한 상관관계가 있었으며, 직접 혀를 관찰한 방법과 비교하였을 때 거의 일치하는 결과를 나타냈다¹⁰⁾. 건강한 사람의 설태는 일반적으로 박백태(薄白苔)로 심리적인 스트레스 상황이나 영양 섭취가 부족하게 되면 설태의 증가나 감소가 나타날 수 있고, 구강건조증이나 구취가 나타나기도 한다¹¹⁾.

또한 스트레스가 구강 미생물에 영향을 미친다는 다양한 연구가 있는데 스트레스 시 분비되는 코티솔은 구강 내 면역력을 저하시켜 다양한 구내 질환을 일으킬 수 있다¹²⁾. 치주염 환자의 치태를 채취한 후 코티솔 처리 여부에 따라 구강 미생물군의 변화를 관찰한 연구에서 *Fusobacteria*가 코티솔 처리 후에 유의하게 증가하였고, 미생물 발현

프로파일을 분석한 결과에서 코티솔 처리를 한 구강 미생물군은 이전 치주염 연구에서 관찰됐던 구강 미생물군과 발현이 유사했다¹³⁾. 구강 미생물과 불면 사이의 관계를 조사한 최근의 연구에서는 만성 불면증 환자와 건강한 대조군을 비교했을 때 불면증 환자에서 구강 미생물의 다양성이 증가되어 있었고, 특히 설태 미생물의 다양성과 풍요도가 크게 변화되어 있다는 것이 밝혀졌다¹⁴⁾.

최근 스트레스로 인한 불면증 환자가 증가됨에 따라 한의학적인 불면 변증 도구를 통해 간울(肝鬱)과 간울이 아닌 불면환자군으로 나누어 우울증 정도와 수면의 질을 평가하고, 설태의 분포와 면적 및 구강 미생물의 구성에 어떠한 차이가 있는지 관찰하고자 본 연구를 시행하였다.

대상 및 방법

1. 연구대상자

본 연구는 동국대학교 일산한방병원에서 2018년 5월부터 2019년 2월까지 불면증 환자를 대상으로 우울증 및 수면의 질 평가 및 설진, 구강 미생물을 관찰한 단일 기관, 단면 연구이다. 동국대학교 일산불교병원 Institutional Review Board의 승인을 받아(승인번호: DUIOH 2018-02-001-003) 진행하였고, 연구 시작 전 모든 환자의 동의서를 받아 진행하였다.

1) 선정기준

만 19세 이상 65세 이하의 성인 남녀로 주 1회 이상의 불면 상황이 지난 3개월 이상 지속되며 원발성 수면 장애로 진단받은 자, screening시 PSQI가 6점 이상이고 ISI 설문 점수 8점 이상인 자, beck depression index (BDI)가 24점 미만인 자를 선정기준으로 하였다.

2) 제외기준

최근 2주 이내 급성으로 불면증이 발생한 자, 심질환 병력을 가진 자, 뇌졸중 등 기질적인 뇌질환, 갑상선 기능저하증, 저혈당증, 간이나 신장의 장애, 만성호흡기질환 등 불면을 유발하는 병력을 가진 자, 과거 또는 현재 조현병, 양극성 장애, 심한 우울증, 정신분열증 또는 기타 정신병적 장애의 병력이 있는 자, 통증 등 수면에 영향을 미칠 수 있는 질환을 가진 자, 최근 1개월 내 불면관련 약물을 조정한 자, 오후 2시 이후 카페인 중단 및 오후 6시 이

후 술을 한잔만 허용하는 원칙에 동의하지 않는 자, actigraph를 사용할 수 없거나 적용대상이 되지 않는 자, 최근 1개월 내 유익균 제제나 항생제를 복용한 자, 최근 1개월 이내 다른 임상시험에 참가한 자, 구강 내 보철을 삽입한 자, 기타 불면을 유발할 수 있는 조건을 가진 자, 임신 또는 수유 중인 여성, 기타 연구책임자가 부적합하다고 판단된 자를 제외기준으로 선정하였다.

2. 우울증 및 수면의 질 평가

선정된 피험자들에 대해 불면 변증 설문지를 시행하였으며, 설문의 내용은 정신·마음, 진신, 두경부·면부, 흉협부, 복부·소화상태, 비뇨생식기, 대변·소변 등 총 7가지 내용으로 나누어져 있고 각 문항별 5점(1점~5점) 척도로 구성하였다(Appendix 1). 피험자들은 각 질문에 대한 답변에 따라 심신불교(心腎不交), 심비양허(心脾兩虛), 담화요심(痰火擾心), 심담허겁(心膽虛怯), 간기울결(肝氣鬱結) 등으로 다양하게 진단되었으나 간기울결로 인한 불면의 변증이 지배적이었기 때문에 간울군과 비간울군으로 나누어 병태 생리를 관찰하였다. 우울 정도를 파악하기 위해 BDI 설문 조사를 시행하였다. BDI는 우울 증상의 유무와 증상의 심각성 정도를 평가하는 자기보고형 척도로 우울증의 정서적, 인지적, 동기적, 생리적, 신체적 증상 영역을 포함하는 21문항으로 구성되어 있으며, 각 문항당 0~3점으로 평가하여 각 점수 범위에 따라 0~9점 정상, 10~15점 가벼운 우울상태, 16~23점은 중한 우울상태, 24~63점은 심한 우울상태로 판단한다¹⁵⁾.

수면의 질 평가를 위해 PSQI와 ISI의 2가지 설문조사를 진행하였다. PSQI는 지난 1달 간의 수면의 질과 관련하여 주관적 수면의 질, 수면 잠재기, 실제 수면 시간, 습관적 수면 효율, 수면 방해, 수면제의 사용, 주간 기능 장애 정도가 포함된 7개의 척도로 총 21점으로 구성되어 있으며, 점수가 높을수록 수면의 질이 나쁘다는 의미이다¹⁶⁾. ISI는 환자가 주간 및 야간동안 주관적으로 인지하는 불면으로 인한 불편을 측정하는 자기보고형 도구로 잠들기 어려움, 잠을 유지하기 어려움, 쉽게 깬 등을 의미하는 불면의 심각도, 현재 수면양상의 만족도, 주간 기능의 장애, 수면 장애로 인한 피로가 타인에 의해 인지되는 등 수면에 의한 고통을 의미하는 문항으로 구성되어 있다. 7문항별 5점(0점~4점) 척도로 이루어져 8점 이상 시 불면증을 나타내며 점수가 높을수록 불면증의 심각도는 더 커진다¹⁷⁾.

수면의 질 평가에는 2가지 설문조사 외에 시험 대상자들에게 Mini Motionlogger Actigraph (Ambulatory Monitoring Inc., Ardsley, NY, USA)를 1주일동안 착용하게 하여 수면 효율, 총수면시간, 총각성빈도, 총각성시간 및 평균 각성시간을 분석하였다. Actigraph는 비침습적인 방법으로 인체의 안정기/활동기 주기를 모니터링하는 것으로 본 연구에서는 sleep actigraph를 이용하여 수면 패턴을 분석하였다. Actigraph는 수면-각성 모드, zero cross mode, epoch 길이를 1분으로 설정하였고, 증폭기 설정은 18로 한 후 시험 대상자의 보조적인 쪽 손목에 착용하도록 한 후 취침 및 기상 시 측면의 event mark를 누르도록 교육하였으며, 측정 기간 동안에는 지속적으로 착용하고 있도록 지시하였다.

3. 설진 분석

설태의 분포 및 면적을 분석하기 위해 시험 대상자들에게 기상 후 공복 및 양치하지 않은 상태로 내원하도록 하였다. 설진 분석을 위해 체외형 의료용 카메라인 CTS-1000 (Daiseungmedics, Co., Seoul, Korea)를 이용하여 혀를 촬영한 후 Winkel tongue coating index (WTCI)를 통해 설태의 분포를 앞뒤 6개의 영역으로 나누고, 이미지에서 설태 영역을 추출하여 분포 면적을 측정하여 설태의 양을 비교하였다.

4. 구강 미생물 분석

간울균과 비간울균 사이의 구강 미생물 차이를 관찰하기 위해 분석을 시행하였다. 무균의 스페큘라를 혀 표면의 뒷부분에서 앞부분으로 긁어 설태 샘플을 채취한 후 생리 식염수에 용해시키고 원심분리 후 -80°C에서 보관하였다. DNA는 DNA Miniprep kit (QIAGEN, Hilden, Germany)를 이용하여 추출하였다. 16sRNA유전자의 V1-V2 영역을 Thermal Cycler PCR system (BioRad, Hercules, CA, USA)를 이용하여 증폭하였고, 각 amplicon은 LaboPass PCR purification kit (COSMO GENETECH, Seoul, Korea)를 이용하여 정제하였다. DNA의 농도와 품질은 DNA 100 lab chip (Agilent, Santa Clara, CA, USA)를 이용하여 BioAnalyzer 2100 microfluidics device (Agilent)에서 확인하였고, 혼합된 amplicon은 emulsion PCR을 이용하여 sequencing beads에서 증폭시켰다. 염기서열 분석은 Ion Torrent Next-Generation Sequencing Platform (Ion PGM, Life Technologies, Carlsbad,

CA, USA)을 이용하여 수행하였다.

미생물 종의 분류는 quantitative insights into microbial ecology 1.9.1을 이용하여 분석하였고¹⁸⁾, 이를 시각화하기 위한 linear discriminant analysis effect size (LEfSe) 분석은 온라인 프로그램(<http://huttenhower.sph.harvard.edu/galaxy>)을 이용하였다. Linear discriminant analysis (LDA) score는 Kruskal-Wallis test의 alpha value가 0.05 미만인 경우, 차별적 특징에 대한 값이 2.0보다 큰 경우만 나타났다.

5. 통계학적 처리

통계학적 분석을 위해 SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) 21.0 for window (IBM Corp., Armonk, NY, USA)를 사용하였다. 실험값들은 평균±표준편차(mean±standard deviation)로 나타냈으며, 간울균과 비간울균 간의 특성 비교는 student's t-test, Mann whitney test, Fisher's exact test를 이용하여 분석하였다. 통계적 유의성은 P-value < 0.05인 경우에 유의한 것으로 판단하였다.

결과

1. 인구학적 특성

지원자 61명 중 선정 기준을 통과하지 못한 1명, 개인적인 사유로 인해 참가하지 못한 4명을 제외한 56명이 참가하였다. 대상자들은 불면 변증 설문을 통해 간울형 불면증 환자 16명, 비간울형 불면증 환자 40명으로 분류하였다. 불면에 영향을 미칠 수 있는 요인인 성별, 음주 및 흡연, 카페인 섭취, 연령, BMI 및 혈압과 맥박 등의 인구학적 분석에서는 두 군 사이에 유의한 차이가 관찰되지 않았다(Table 1).

2. 간울균과 비간울균의 우울 정도 및 수면의 질 비교

간울균과 비간울균에서 우울증의 경향을 보고자 BDI 설문을 시행한 결과 간울균의 BDI 점수가 비간울균에 비해 평균 6.16점 높아 통계적 유의성이 관찰되었다(P<0.01, Fig. 1A).

수면의 질 평가를 위한 설문조사로 ISI와 PSQI 설문을 시행하였다. 간울균의 ISI 점수, PSQI 점수가 각각 평균 3.94점, 2.77점 높아 통계적 유의성이 관찰되었다(P<0.01, Fig. 1B, C).

수면의 질 평가를 위해 설문지뿐만 아니라 actigraph를

Table 1. Demographic Characteristics

Characteristics	LQS (n=16)	NLQS (n=40)	P-value*
Gender (male/female)	2/14	7/33	1.000 [†]
Drinking (yes/no)	5/11	15/25	0.763 [†]
Smoking (yes/no)	2/14	2/38	0.570 [†]
Caffeine (yes/no)	9/ 7	23/17	1.000 [†]
Age (yrs)	49.25±10.29	50.50± 9.80	0.672
Height (cm)	161.44± 5.40	162.41± 6.99	0.621
Body weight (kg)	60.50± 9.87	59.58± 8.76	0.734
BMI (kg/m ²)	23.10± 2.65	22.54± 2.58	0.471
Systolic BP (mmHg)	122.75±18.47	117.85±11.73	0.337
Diastolic BP (mmHg)	75.19±13.16	70.95± 8.48	0.16
Pulse rate (/min)	76.13± 7.18	73.00± 9.60	0.247

Data presented as number or mean±standard deviation.

LQS: liver qi stagnation, NLQS: non-liver qi stagnation, BMI: body mass index, BP: blood pressure.

*P-value: obtained from independent two sample t-test, [†]P-value: obtained from Fisher exact test.

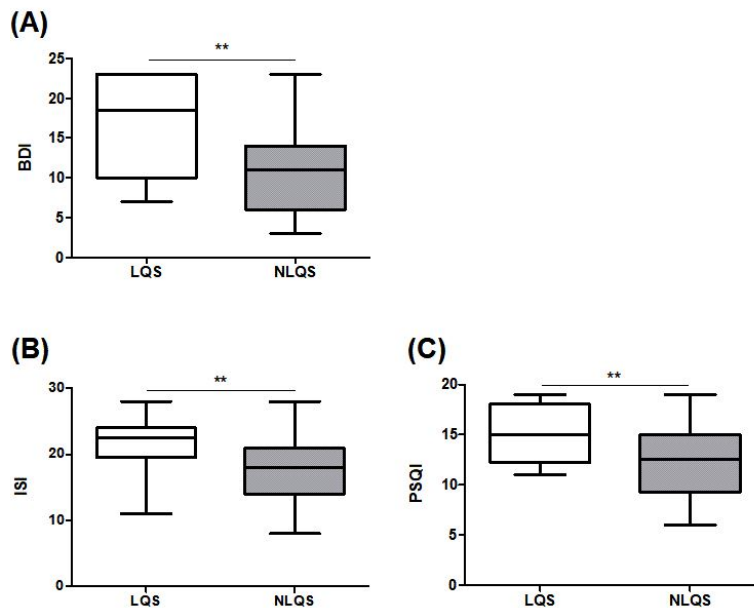


Fig. 1. Comparison of BDI (A), ISI (B) and PSQI (C) scores between the groups. LQS: liver qi stagnation, NLQS: non-liver qi stagnation, BDI: Beck depression index, ISI: insomnia severity index, PSQI: pittsburgh sleep quality index. Data presented as mean±standard deviation (*P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001).

이용하여 수면의 패턴을 분석하였다. 그 결과 간울군의 총수면시간(분)이 비간울군에 비해 유의하게 감소되어 있었고(P<0.05, Fig. 2B), 수면 효율과 총각성빈도, 총각성시간(분) 및 평균 각성시간(분)은 유의한 차이가 관찰되지 않았다(Fig. 2).

3. 간울군과 비간울군의 설진 비교

설태의 분포와 면적에 대한 분석을 위해 혀를 앞뒤 6개 영역으로 나누어 측정하는 WTCI를 이용하였다. 그 결과 간울군에서 A와 C 구역의 설태 분포 비율이 비간울군에 비해 유의하게 감소되어 있었으며(P<0.05, Fig. 3B, D), 나머지 구역에서도 감소되어 있었으나 통계적 유의성은 관찰되지 않았다(Fig. 3).

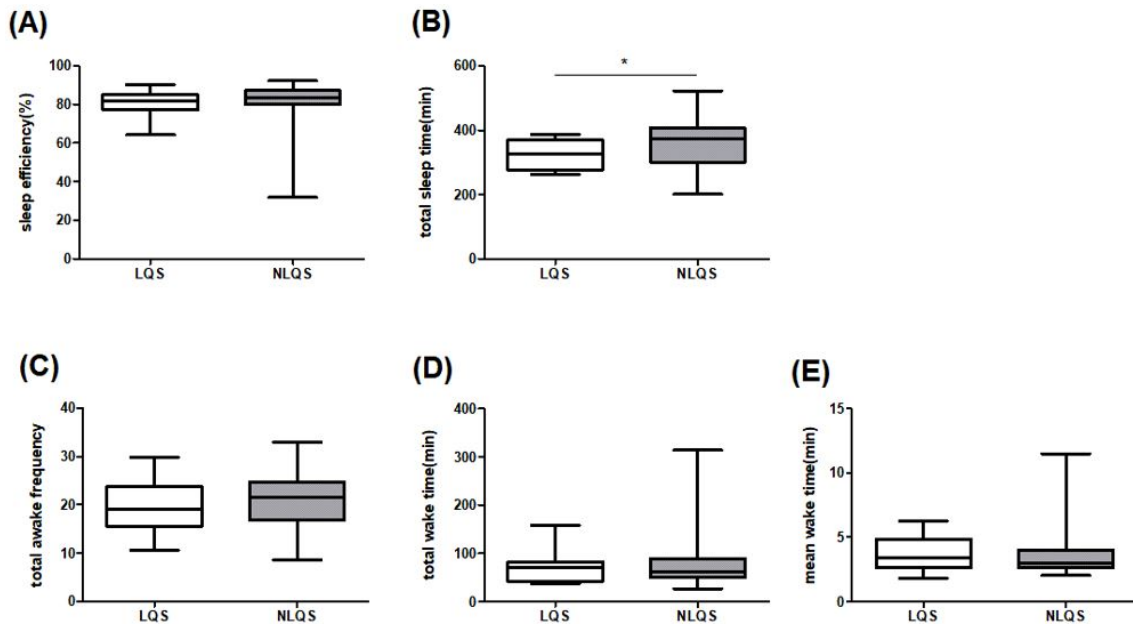


Fig. 2. Comparison of sleep pattern between the groups. (A) sleep efficiency (%), (B) total sleep time (min), (C) total awake frequency, (D) total wake time (min), (E) mean wake time (min). LQS: liver qi stagnation, NLQS: non-liver qi stagnation. Data presented as mean±standard deviation (*P<0.05).

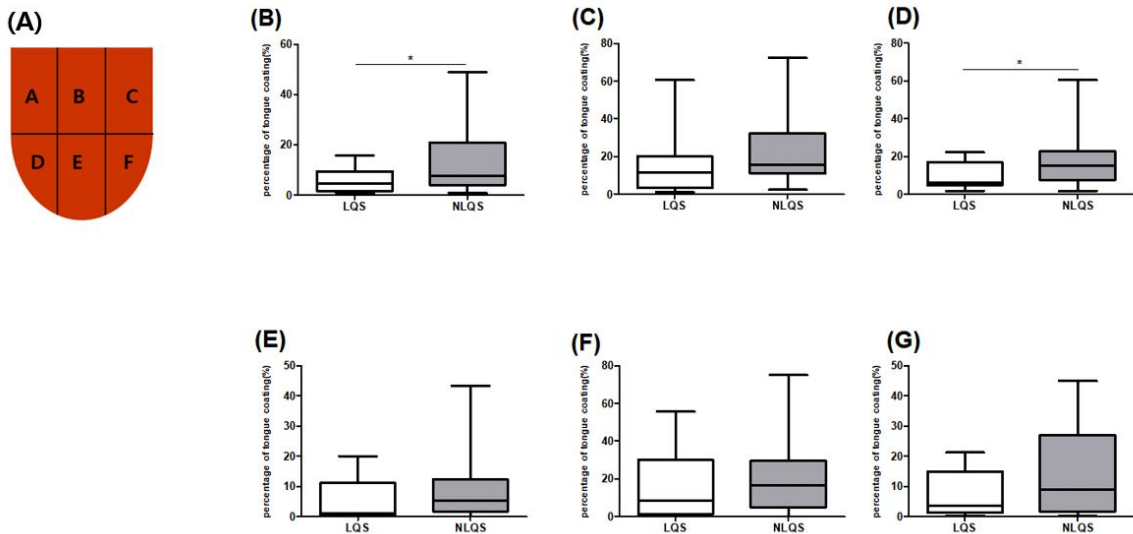


Fig. 3. Tongue coating distribution in 6 areas of tongue in LQS group and NLQS group. (A) WTCL is shown as picture. Each graph represents percentage (%) of tongue coating of (B) A area, (C) B area, (D) C area, (E) D area, (F) E area, (G) F area divided by WTCL. LQS: liver qi stagnation, NLQS: non-liver qi stagnation, WTCL: Winkel tongue coating index. Data presented as mean±standard deviation (*P<0.05).

4. 간울균과 비간울균의 구강 미생물 분석

간울균과 비간울균에서의 구강 미생물 차이를 분석한 결과 문(Phylum) 수준에서는 간울균 및 비간울균 모두에서 *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Fusobacteria*, *Actinobacteria* 순으로 많은 양을 차지하고 있었다(Fig. 4A).

속(genus) 수준에서 간울균은 *Prevotella* (36%), *Veillonella* (15%), *Streptococcus* (13%), *Neisseria* (9%) 순으로 우세하였고, 비간울균은 *Prevotella* (32%), *Neisseria* (17%), *Streptococcus* (9.7%), *Veillonella* (9%), *Fusobacterium* (5%) 순으로 우세하였다(Fig. 4B). 또한 두 군 사이에서 유의한 차이를 보

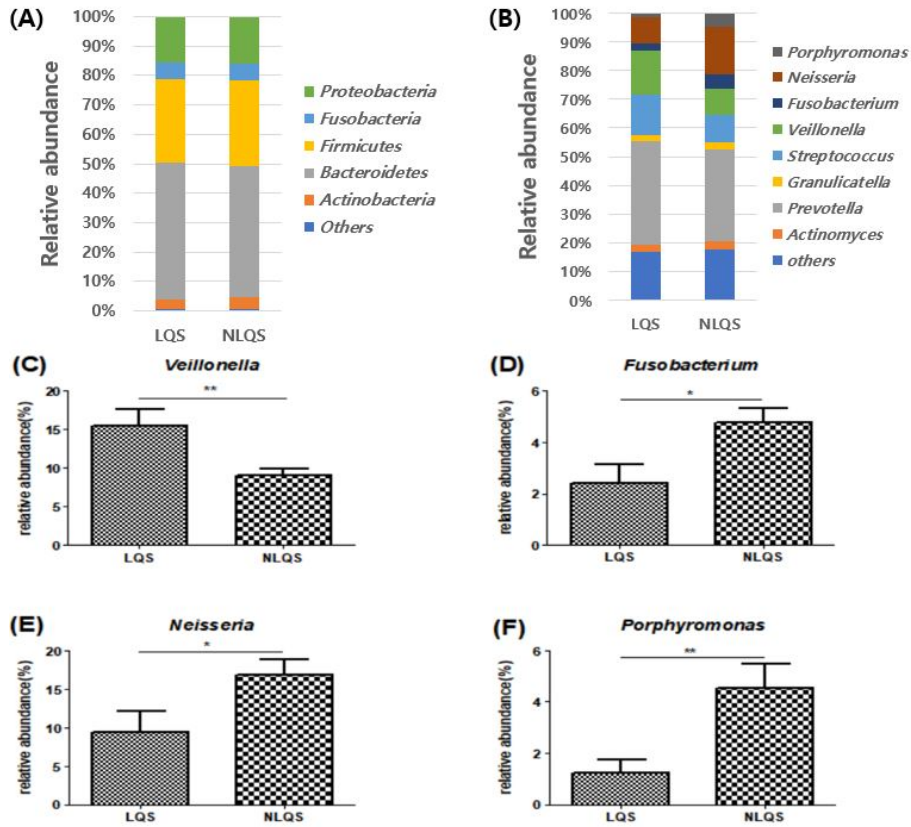


Fig. 4. Differences in oral microbial distribution between the groups. (A) Relative abundance shown at phylum level, (B) relative abundance shown at genus level, (C) relative abundance of *Veillonella*, (D) relative abundance of *Fusobacterium*, (E) relative abundance of *Neisseria*, (F) relative abundance of *Porphyromonas*. LQS: liver qi stagnation, NLQS: non-liver qi stagnation. Data presented as mean±standard deviation (*P<0.05, **P<0.01).

이는 미생물이 관찰되었는데 *Veillonella*는 비간울군에 비해 간울군에서 유의하게 증가되어 있었으며(P<0.01, Fig. 4C), *Fusobacterium* (P<0.05, Fig. 4D) 및 *Neisseria* (P<0.05, Fig. 4E), *Porphyromonas* (P<0.01, Fig. 4F)는 간울군에서 유의하게 감소되어 있었다.

간울군과 비간울군에서 구강 미생물 군주의 구성과 상대적인 양의 차이를 관찰하기 위해 LEfSe를 이용하였다. Cladogram과 LDA score를 분석한 결과 간울군에서는 *Veillonella*, *Clostridia*, *Sneathia* 등이 우세하였고, 비간울군에서는 *Betaproteobacteria*, *Neisseria*, *Proteobacteria*, *Porphyromonas*, *Fusobacteria* 등이 우세하였다(Fig. 5).

고찰

불면증은 대한민국 성인에게서 빈번하게 나타나는 증상으로 2,695명을 대상으로 수면 장애의 양상과 성별에

따른 차이를 분석한 연구에서 대략 1/10의 한국인이 불면을 경험하고 있다고 하였고, 그중 잠들기 어려워하는 경우가 6.8%, 수면을 유지하는 데에 어려움을 겪거나 아침 일찍 기상하는 경우가 역시 각각 6.5%에서 관찰되었다¹⁹. 불면증은 남성보다 여성에서 발생할 가능성이 높는데, 그 이유는 여성이 우울감이나 스트레스에 더 취약한 경우가 많기 때문이라고 하였다²⁰. 또한 이전 연구에 따르면 비만 등 대사질환이 있는 경우 불면증 또는 수면 장애가 나타날 가능성이 훨씬 높았다²¹. 한의학적으로 스트레스와 가장 관련이 깊은 장기는 간으로, 간의 가장 중요한 기능인 소설(疏泄)은 인체의 기와 혈을 전신으로 골고루 갈 수 있도록 하는 작용이다. 스트레스에 의해 이러한 기능이 영향을 받아 억제된 경우를 간기울결(肝氣鬱結) 또는 간울(肝鬱)이라고 하고 이로 인해 우울증이나 심인성 불면증이 나타날 수 있다. 이에 본 연구에서는 원발성 불면증으로 진단받은 환자들을 간울형 불면증군, 비간울형 불면

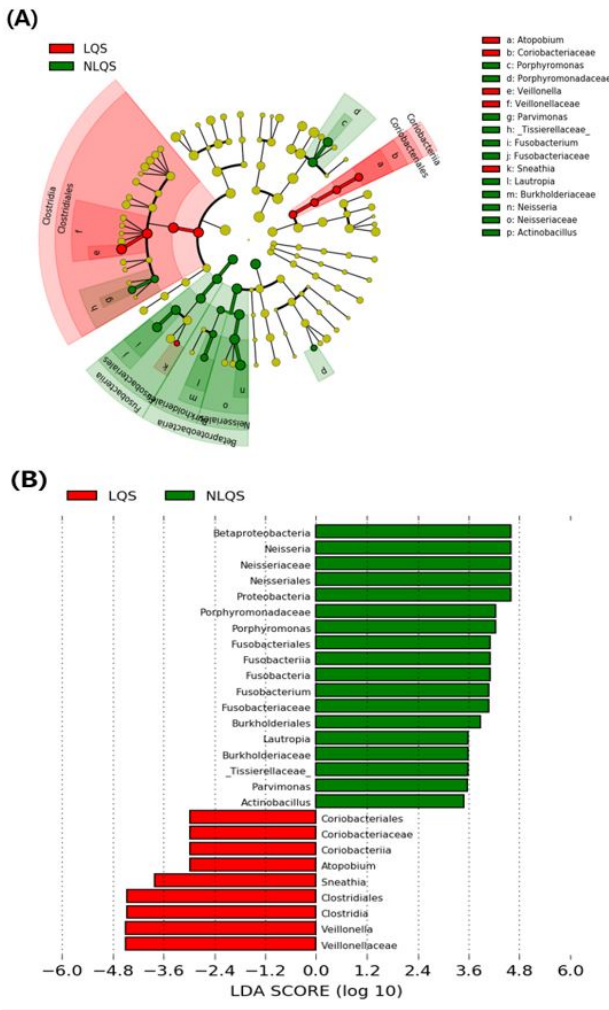


Fig. 5. The differences in composition and relative abundance of oral microbial strains between the groups. (A) Taxonomic representation of statistically and biologically consistent differences between LQS and NLQS. Differences are represented by the color of the most abundant class (red indicating LQS, green representing NLQS and yellow meaning non-significant). Each circle's diameter is proportional to the taxon's abundance. (B) Histogram of the LDA scores for differential abundance. Negative (red bars) LDA scores and positive (green bars) LDA scores stand for bacterial groups in LQS group and NLQS group, respectively. LQS: liver qi stagnation, NLQS: non-liver qi stagnation, LDA: linear discriminant analysis.

증군으로 나누고, 우울증과 수면의 질에 대한 평가를 시행한 결과 간울군에서 우울증 진단도구인 BDI와 수면의 질 평가도구인 ISI와 PSQI 조사에서 유의하게 높은 점수를 나타내었다(Fig. 1). 이를 통해 실제로 간울의 병리가 우울증과 불면을 유발할 수 있다는 사실을 알 수 있었다. 또한 actigraph를 이용하여 수면 패턴을 분석한 결과에서 간울군과 비간울군에서 수면 효율과 각성 빈도 및 시간은

유의한 차이가 없었으나, 실제 수면 시간은 간울군에서 유의하게 저하된 것으로 나타나 간울의 병리를 가진 경우 수면의 질이 떨어질 수 있다는 것을 알 수 있다(Fig. 2).

한의학에서는 혀의 모양이나 설태의 색, 또는 분포를 통해 장부의 건강을 진단하는데, 본 연구에서는 혀를 6개의 영역으로 나누어 설태를 관찰하는 WTCI를 이용하여 설태의 분포를 분석하였다. 건강한 사람의 설태는 박백태(薄白苔)로 혀의 중간과 혀의 뿌리 부분이 약간 희고 얇다. 스트레스로 인한 기력저하증이나 영양 섭취가 부족한 경우에 체액과 수분이 부족하게 되어 설태의 감소가 나타날 수 있다¹¹⁾. 본 연구에서도 일부 영역에서 설태 감소가 유의하게 관찰되었으며($P < 0.05$, Fig. 3), 이는 간울의 병리가 설태의 양상에 어느 정도 영향을 미쳤을 것이라 생각된다.

또한 불면증은 인체의 구강 미생물에도 영향을 미칠 수 있는데 만성 불면증 환자의 다양한 구강 미생물 군집 차이에 대한 연구에서 불면증 환자군과 건강한 대조군 사이 구강 미생물의 구성과 다양성에 유의한 차이가 관찰되었다. 문(phylum) 단계에서는 *Firmicutes*가 불면군에서 유의하게 증가되었고, *Fusobacteria*이 유의하게 감소되었으며, 속(genus) 단계에서는 *Streptococcus*가 증가, *Neisseria*와 *Fusobacterium*, *Porphyromonas*가 감소되어 통계적 유의성이 있다고 보고하였다¹²⁾. 본 연구에서는 간울군과 비간울군에서 문(phylum)과 속(genus) 수준에서의 구강 미생물을 분석하였고, phylum 수준에서는 두 군의 미생물에 유의한 차이가 없었으나 genus 수준에서는 간울군에서 *Veillonella*가 유의하게 많이 관찰되었고($P < 0.01$), *Neisseria* ($P < 0.05$), *Fusobacterium* ($P < 0.05$), *Porphyromonas* ($P < 0.01$)는 유의하게 감소되어 있어 이전의 연구와 유사한 결과를 나타냈다. 그 중 *Veillonella*는 구강 내에서 잘 관찰되는 미생물로 치주 주머니에서의 분포와 병원성은 명확하지 않았으나, 2015년도에 발표된 치주염과 구강 미생물 관련 연구에서 18명의 만성 치주염 환자의 치은판을 분석한 결과 *Veillonella*가 우세하게 관찰된 바 있었다²²⁾. 즉 스트레스 상황에서 구강내 면역력이 저하되어 치주염이나 구내염이 발생할 수 있는데 실제로 111명의 치주와 설문을 통한 스트레스와의 상관성 연구 결과 만성 치주염은 고코티솔혈증, 일에 대한 중압감, 경제적 문제 등의 스트레스와 유의한 관계가 있다는 결과가 있었다²³⁾. 이에 따라 간울군에서 증가된 *Veillonella*는 스트레스 상황에서 증가되

어 만성 치주염을 일으킬 가능성이 있다고 생각된다. 추가로, 본 연구에서 이용한 설태는 일반적으로 구강 미생물, 구강의 점막 세포, 백혈구 및 혈액 대사산물 등으로 이루어져 있다. 설태의 정도는 건강한 대조군에 비해 치주염 환자에게서 더 많고, 표면 설태의 균열이 구강 미생물의 양에 영향을 미쳤다는 연구 결과에 따라 설태가 구강 미생물의 구성과 특정 질환에 대해 중요한 변수가 될 수 있다는 것을 알 수 있다²⁴⁾. 본 연구에서도 설태의 양을 측정하고 미생물을 분석하여 간울균과 비간울균에서의 차이를 관찰하였기에 한의학적인 설태의 진단과 더불어 미생물의 분석이 함께 이루어진다면 좀 더 증상 및 질환 특이적인 진단학적 방법으로 발전할 수 있을 것으로 생각한다.

본 연구를 종합하면 원발성 불면증으로 진단된 환자들을 불면 변증 설문지를 통해 간울형 불면증과 비간울형 불면증으로 분류하여 우울증 및 수면의 질, 설태, 구강 미생물의 분포와의 관련성에 대해 비교 분석한 결과 간울균에서 우울증과 수면의 질 저하가 유의하게 나타났고, 일부 혀 부위에서 설태의 감소가 관찰되었다. 또한 비간울균과 구강 미생물의 분포를 비교한 결과 속(genus) 수준에서 유의한 차이가 나타났으며, 그 중 *Veillonella*는 실제로 스트레스 상황에서 만성 치주염을 일으킬 가능성이 높은 미생물로 알려져 의미가 있었다. 이 외 *Neisseria*와 *Fusobacterium*, *Porphyromonas* 속의 감소는 이전의 불면과 구강미생물의 관련성 연구와 유사하게 통계적 유의성이 관찰되어, 불면에 있어 구강 미생물의 특징으로 자리잡을 수 있는 가능성을 보여주었다. 그러나 상기 결과들을 단순히 간울의 병리와 연관짓기 위해서는 추후 좀 더 많은 환자를 모집하고, 변증 설문지와 함께 스트레스 설문지(stress questionnaire)와 같이 본 변증에 특화된 분석을 하는 등 더 구체적인 방법으로 연구를 진행해야 할 것이다.

결론

본 연구는 간울형과 비간울형 불면증에서 우울증 정도와 수면의 질 평가, 설태의 분포와 면적 및 구강 미생물의 차이를 비교 분석하였다. 간울균에서 우울증 점수가 높고 수면의 질이 저하되었고, 일부 혀 영역에서 설태의 감소가 관찰되었다. 또한 구강 미생물의 구성이 비간울균과 유의하게 달랐으며, 그 중 *Veillonella*가 더 많이 관찰된 결

과는 스트레스 상황에서 만성 치주염을 일으킬 가능성이 더 크다는 것을 시사하여 의의가 있었다. 하지만 상기 결과를 간울의 병리에 따른 것으로 보기엔 참가한 환자의 수가 적다는 점, 불면 변증 결과 환자들이 간울형 뿐만 아니라 심신불고, 심비양허, 담화요심, 심담허겁 등의 변증에도 포함되어 역시 결과물을 간울의 병리로 보기는 어렵다는 점에서 한계가 존재하였다.

감사의 글

본 연구는 한국한의학연구원 기관주요사업인 ‘천왕보심단의 심허형 불면 개선 효과와 설태 및 구강 미생물과의 관련성 탐색 연구(K17870, K18870)’의 지원을 받아 수행되었음.

References

1. Ahn DH. Insomnia: causes and diagnosis. *Hanyang Med Rev.* 2013 ; 33 : 203-9.
2. Ministry of Health and Welfare. Statistics for Insomnia [Internet]. Sejong: Ministry of Health and Welfare; 2020 [cited 2020 Feb 18]. Available from: <http://opendata.hira.or.kr/op/opc/olapMfrnIntrsIInsInfo.do>.
3. Taylor DJ, Mallory LJ, Lichstein KL, Durrence HH, Riedel BW, Bush AJ. Comorbidity of chronic insomnia with medical problems. *Sleep.* 2007 ; 30(2) : 213-8.
4. Kim SJ. Recent advances in diagnosis and treatment of insomnia disorder. *Journal of Korean Neuropsychiatric Association.* 2020 ; 59(1) : 2-12.
5. Kim MJ, Shin JH, Song KI, Kim CS, Lee MS, Jeong UH. Related-factors of sleep quality among some adults. *KJFP.* 2015 ; 5 : 895-900.
6. The Text Compilation Committee of National Oriental Medicine University of Oriental Neuropsychology. *Oriental neuropsychology.* 3rd ed. Seoul : Jipmoondang. 2016 : 236-7.
7. Lim JH, Jeong JH, Kim SH, Kim KO, Lee SY, Lee SH, et al. The pilot survey of the perception on the practice pattern, diagnosis, and treatment on Korean medicine insomnia : focusing on the difference between Korean medical neuropsychiatry specialists and Korean medical

- general practitioners. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2018 ; 2018 : 9152705.
8. Lee SY. Causes and countermeasures of social-psychological anxiety in Korean society. *Health and Social Welfare Issue & Focus.* 2016 ; 304 : 1-8.
 9. Taheri S, Lin L, Austin D, Young T, Mignot E. Short sleep duration is associated with reduced leptin, elevated ghrelin, and increased body mass index. *PLoS Medicine.* 2004 ; 1(3) : 210-7.
 10. Kim J, Han G, Ko S-J, Nam D-H, Park J-W, Ryu B, et al. Tongue diagnosis system for quantitative assessment of tongue coating in patients with functional dyspepsia: a clinical trial. *Journal of Ethnopharmacology.* 2014 ; 155(1) : 709-13.
 11. Son JH, Kim JS, Park JW, Ryu BH. A proposal for standardization of tongue diagnosis based on diagnostic criteria of tongue coating thickness. *Korean J Orient Int Med.* 2012 ; 33(1) : 1-13.
 12. Genco RJ, Ho AW, Kopman J, Grossi SG, Dunford RG, Tedesco LA. Models to evaluate the role of stress in periodontal disease. *Annals of Periodontology.* 1998 ; 3(1) : 288-302.
 13. Duran-Pinedo AE, Solbiati J, Frias-Lopez J. The effect of the stress hormone cortisol on the metatranscriptome of the oral microbiome. *NPJ Biofilms and Microbiomes.* 2018 ; 4(1) : 1-4.
 14. Liu M, Wang X, Wu F, Dai N, Chen M, Yu J, et al. Variations of oral microbiome in chronic insomnia patients with different tongue features. *The American Journal of Chinese Medicine.* 2020 ; 48(4) : 1-22.
 15. Jackson-Koku G. Beck depression inventory. *Occupational Medicine.* 2016 ; 66(2) : 174-5.
 16. Shin SJ, Hwang EH. A study on the subjective and objective sleep of the insomniac adults. *Korean J Health Promot Dis Prev.* 2008 ; 8(3) : 141-9.
 17. Morin CM, Belleville G, Bélanger L, Ivers H. The insomnia severity index: psychometric indicators to detect insomnia cases and evaluate treatment response. *Sleep.* 2011 ; 34(5) : 601-8.
 18. Caporaso JG, Kuczynski J, Stombaugh J, Bittinger K, Bushman FD, Costello EK, et al. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nature Methods.* 2010 ; 7(5) : 335.
 19. La YK, Choi YH, Chu MK, Nam JM, Choi Y-C, Kim W-J. Gender differences influence over insomnia in Korean population: A cross-sectional study. *PloS One.* 2020 ; 15(1) : e0227190.
 20. Cho YW, Shin WC, Yun CH, Hong SB, Kim J, Earley CJ. Epidemiology of insomnia in Korean adults: prevalence and associated factors. *J Clin Neurol.* 2009 ; 5(1) : 20-3.
 21. Pearson NJ, Johnson LL, Nahin RL. Insomnia, trouble sleeping, and complementary and alternative medicine: analysis of the 2002 national health interview survey data. *Archives of Internal Medicine.* 2006 ; 166(16) : 1775-82.
 22. Mashima I, Fujita M, Nakatsuka Y, Kado T, Furuichi Y, Herastuti S, et al. The distribution and frequency of oral *Veillonella* spp. associated with chronic periodontitis. *Int J Curr Microbiol App Sci.* 2015 ; 4(3) : 150-60.
 23. Mannem S, Chava VK. The effect of stress on periodontitis: A clinicobiochemical study. *Journal of Indian Society of Periodontology.* 2012 ; 16(3) : 365.
 24. Danser M, Gómez SM, Van der Weijden G. Tongue coating and tongue brushing: a literature review. *International Journal of Dental Hygiene.* 2003 ; 1(3) : 151-8.

Appendix 1. Insomnia Differentiation Questionnaire

	전혀 그렇지 않다	약간 그렇다	그렇다	심하다	매우 심하다
A. 정신, 마음					
잠을 잘 못 잔다.	①	②	③	④	⑤
꿈을 많이 꾀다.	①	②	③	④	⑤
잘 잊어버린다.	①	②	③	④	⑤
불안하다.	①	②	③	④	⑤
잘 놀란다.	①	②	③	④	⑤
성격이 조금하거나 쉽게 화를 낸다.	①	②	③	④	⑤
B. 전신					
정신적으로 피곤하거나 몸에 기운이 없다.	①	②	③	④	⑤
말하기가 귀찮다.	①	②	③	④	⑤
하루 중 일정한 시간에 열감이 있거나 밤에 자다가 식은땀이 난다.	①	②	③	④	⑤
허리나 무릎이 시큰거리거나 힘이 없다.	①	②	③	④	⑤
몸이 나른하다.	①	②	③	④	⑤
손바닥이나 발바닥 혹은 가슴에 열감을 느낀다.	①	②	③	④	⑤
C. 두경부, 면부					
어지럽다.	①	②	③	④	⑤
머리가 무겁다.	①	②	③	④	⑤
입이 마르다.	①	②	③	④	⑤
입이 쓰다.	①	②	③	④	⑤
입 안이나 혀가 헐거나 헛바늘이 돋는다.	①	②	③	④	⑤
얼굴색이 붉다.	①	②	③	④	⑤
눈이 잘 충혈 된다.	①	②	③	④	⑤
눈앞이 아찔하거나 캄캄해질 때가 있다.	①	②	③	④	⑤
귀에서 소리가 난다(삐-, 웅- 등등).	①	②	③	④	⑤
얼굴에 생기(윤기)가 없다.	①	②	③	④	⑤
D. 흉협부					
작은 일(자극)에도 쉽게 가슴이 두근거린다.	①	②	③	④	⑤
특별한 일(자극) 없이도 자주 가슴이 두근거린다.	①	②	③	④	⑤
마음이 답답하거나 짜증이 난다.	①	②	③	④	⑤
가슴 부위가 답답하다.	①	②	③	④	⑤
가슴에 통증을 느낀다.	①	②	③	④	⑤
가슴에 열이 나고 답답해서 몹시 괴롭다.	①	②	③	④	⑤
호흡이 짧거나 잘 이어지지 않는다.	①	②	③	④	⑤
한숨을 자주 쉰다.	①	②	③	④	⑤
옆구리가 아프다.	①	②	③	④	⑤
가래가 많다.	①	②	③	④	⑤
E. 복부, 소화상태					
입맛이 없다.	①	②	③	④	⑤
식사량이 적다(다이어트 등 의도적인 것은 제외).	①	②	③	④	⑤
속이 울렁거리거나 (메스껍거나) 토하기도 한다.	①	②	③	④	⑤
트림을 자주 한다.	①	②	③	④	⑤
신물이 넘어온다.	①	②	③	④	⑤
음식을 조금만 먹어도 쉽게 포만감이 느껴진다.	①	②	③	④	⑤
복부 팽만감이 있거나 배에서 꾸룩거리는 소리가 난다.	①	②	③	④	⑤

Appendix 1. Continued

	전혀 그렇지 않다	약간 그렇다	그렇다	심하다	매우 심하다
F. 비뇨생식기					
성적인 자극 없이 정액이 저절로 나온다(새어나온다, 소변에 섞여 나온다, 꿈꾸다 나온다).	①	②	③	④	⑤
생리의 주기, 양, 색 등이 일정하지 않다.	①	②	③	④	⑤
G. 대변, 소변					
소변을 볼 때 통증이 있다.	①	②	③	④	⑤
소변 양이 적고 색이 진하다.	①	②	③	④	⑤
소변 양이 많고 색이 맑다.	①	②	③	④	⑤
대변이 굳어 보기 힘들다.	①	②	③	④	⑤
대변이 묽다.	①	②	③	④	⑤
대변이 시원하게 나오지 않는다(잔변감이 있다, 배변 후 시원하지가 않다).	①	②	③	④	⑤