

# Effects of age and smoking on the expression of citrullinated histones in patients with periodontitis and the analysis of expression levels according to sample types: pilot study

Gi-Tae Park<sup>1,2</sup>, Ju-Youn Lee<sup>1,2</sup>, Ji-Young Joo<sup>1,2</sup>, Dong Hyun Sohn<sup>3</sup>, Hyun-Joo Kim<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Periodontology, Dental and Life Science Institute, School of Dentistry, Pusan National University, Yangsan, Republic of Korea

<sup>2</sup>Department of Periodontology and Dental Research Institute, Pusan National University Dental Hospital, Yangsan, Republic of Korea

<sup>3</sup>Department of Microbiology and Immunology, School of Medicine, Pusan National University, Yangsan, Republic of Korea

**Purpose:** In chronic inflammatory diseases, neutrophils release NETs (neutrophil extracellular traps), web-like structures composed of DNA and citrullinated histones, to eliminate bacteria and regulate the inflammatory response. In periodontitis, NETosis acts as a crucial defense mechanism, characterized by the expression of citrullinated histones. This study aims to evaluate the impact of age and smoking on the expression of citrullinated histones in patients with periodontitis and the feasibility of using saliva for their detection. **Materials and Methods:** A total of 19 patients participated in the experiment. Among them, 15 were grouped according to smoking status and age, with 5 patients assigned to each group. After clinical and radiographic examinations, blood samples were collected from the subjects, and serum was separated. For 4 subjects, both blood and saliva samples were collected. The levels of citrullinated histones in the samples were quantified using an ELISA kit, and the results were compared and statistically analyzed. **Results:** The concentration of citrullinated histones was significantly higher in younger individuals ( $P < 0.05$ ). Although the expression of citrullinated histones was higher in the smoking group compared to the non-smoking group, the difference was not statistically significant. In patients with periodontitis, the levels of citrullinated histones detected in saliva were comparable to those found in serum. **Conclusion:** Age may be potential risk factors influencing the expression of citrullinated histones in patients with periodontitis. Additionally, saliva, which is easier to collect, could be used as a viable sample for detecting citrullinated histones in periodontitis patients. (*J Dent Rehabil Appl Sci* 2024;40(4):234-40)

**Key words:** periodontitis; citrullination; histones; smoking; aging; saliva

## 서론

치주염은 구강 미생물 불균형과 숙주의 상호작용에 의해 유발되는 치주 조직의 만성 염증성 질환으로, 조절되지 않으면 치조골 소실 및 치아 상실을 초래할 수 있

다.<sup>1</sup> 박테리아 군집의 불균형 변화는 질병 발병에 필수적이나, 궁극적으로 치주 조직에 손상을 가하는 것은 이러한 미생물 변화에 대한 숙주 유래의 면역 및 염증 반응이다.<sup>2</sup> 면역 및 염증 반응 과정에서, 호중구(neutrophil)는 치주염의 초기단계 혹은 급성 염증기에 주로 관련이

\*Correspondence to: Hyun-Joo Kim  
Associate Professor, Department of Periodontology, Dental and Life Science Institute, School of Dentistry, Pusan National University, Yangsan, Republic of Korea  
20 Geumo-ro, Beomeo-ri, Mulgeum-eup, Yangsan, 50612, Republic of Korea  
Tel: +82-2-55-360-5104, Fax: +82-55-360-5194, E-mail: periohjkim@pusan.ac.kr  
Received: September 3, 2024/Last Revision: September 20, 2024/Accepted: October 8, 2024

Copyright© 2024 The Korean Academy of Stomatognathic Function and Occlusion.  
© It is identical to Creative Commons Non-Commercial License.

있다고 과거에는 인식되었으나,<sup>3</sup> 근래에는 치주염의 만성 염증의 상태에서도 중요한 역할을 하는 것으로 알려지고 있다.<sup>4</sup> 호중구는 전체 백혈구(leukocytes)의 60%를 차지하며, 세균의 microbe-associated molecular pattern (예, lipoteichoic acids, lipopolysaccharides)에 톨루사수용체를 결합함으로써 감염의 초기단계에서 세균 침입에 대해 효과적으로 방어한다.<sup>5</sup> 이뿐만 아니라 이들은 면역글로블린 G (Ig G)의 Fc 지역에 결합함으로써 항체 매개체액성 면역과정에 관여한다. 조직 내로 침입한 치주 병원균을 효과적으로 제거하기 위해 호중구는 활성산소종 (ROS: reactive oxygen species) 생산, 탐식, 세포 내외 과립분비, neutrophil extracellular traps (NETs)와 같은 다양한 방어기전을 가진다.<sup>6</sup>

이 중, NETs는 히스톤(histone)을 주요인자로 하여 형성되는 chromatin meshwork로, 거미줄과 같은 구조를 특징으로 한다. 염증 환경에서 세균성 자극, 염증성 사이토카인의 분비, 활성 산소종의 형성 등의 여러 요인에 의해 PAD4 (peptidylarginine deiminases) 효소가 활성화되고, 이후 PAD4는 히스톤 단백질의 아르기닌 잔기를 시트룰린화하여 히스톤의 구조를 변화시킨다. 이로 인해 DNA와 히스톤의 결합력이 감소하고, 염색질이 탈응축되는데, 이들이 세포 외로 방출되는 과정을 NETosis라고 한다.<sup>7</sup> 이는 중성구가 병원체를 포획하여 물리적으로 확산을 방지하거나 사멸시키는 중요한 방어 기작이다.<sup>8</sup> 이후 NETs는 여러 효소에 의해 해체되거나 포식작용에 의해 제거되는데, 과생산 되거나 혹은 장기적으로 조직에서 제거되지 않을 시, 히스톤과 DNA에 대한 항체가 형성됨으로써 자가면역이상을 초래할 수도 있다.<sup>9</sup>

치주염 환자의 치은 열구액, 염증성 삼출액, 혹은 혈청에서 NETs의 검출이 보고된 바 있다.<sup>10,11</sup> *Porphyllomonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia*와 같은 주요 치주 병원균에 의해 NETs의 생성이 유도되기도 한다.<sup>11</sup> 또한 시트룰린화된 히스톤 및 이에 대한 자가면역 항체를 이용하여 만성 염증성 전신 질환과 치주염의 연관성을 증명하려는 여러 연구가 시도되었다.<sup>10,12</sup> 치주염을 효과적으로 조절하기 위해서는 시트룰린화 히스톤의 발현에 영향을 미치는 인자를 규명하는 것이 필요하지만, 이에 대한 연구는 아직 거의 이루어지지 않았다. 따라서 본 예비 연구에서는 치주염 환자에서 시트룰린화 히스톤의 발현에 영향을 미치는 요소로 나이와 흡연 여부를 잠정적으로 설정하고 risk factor로서의 가능성을 평가하고자 한다. 또한 비교적 샘플의 수집이

쉬운 타액에서 시트룰린화 히스톤을 검출할 수 있는지 평가하고 이를 혈청에서의 발현 수준과 비교하고자 한다.

## 연구 재료 및 방법

본 예비연구의 모든 과정은 윤리위원회의 승인 (PNUDH-2021-021)을 받았으며 연구 대상자 모집의 선정 및 제외 기준은 다음과 같다.

- 선정기준; ① 치주과 전문의가 임상검사 및 panorama와 치근단 방사선 촬영 후 치주염 stage II 혹은 III로 진단한 자 ② 20개 이상의 치아가 잔존하는 자 ③ 최근 6개월 이내 치주치료를 받은 적이 없는 자 ④ 최근 1개월 이내 항생제 및 진통소염제를 복용한 적이 없는 자 ⑤ 임상시험 참여에 자발적으로 동의하고 시험계획서를 준수할 의지가 있는 자
  - 제외기준; ① 치주질환에 영향을 줄 만한 전신질환을 가진 자 혹은 전신질환과 관련된 약을 복용하고 있는 자 ② 현재 임신 혹은 수유중인 자 ③ 최근 1년 이내에 약성 종양으로 방사선 또는 항암치료를 받은 적이 있는 경우 ④ 알코올 중독 및 약물 남용의 병력이 있는 자 ⑤ 만성 구강 내 점막 질환 또는 구강병변을 지닌 자
- 다음의 임상적, 방사선적 기준에 따라 치주염 stage II 혹은 III로 진단하였다.<sup>13</sup>

- Stage II (a) 치간부 임상부착 소실이 3 - 4 mm, (b) 방사선 골 소실이 치근 길이의 15% - 33%까지 진행, (c) 최대 치주낭 탐침 깊이 5 mm 이하, (d) 치주염에 의한 치아상실 없음
- Stage III (a) 치간부 임상부착 소실이 5 mm 이상, (b) 방사선 골 소실이 치근 길이의 2/3를 넘어서까지 진행, (c) 최대 치주낭 탐침 깊이 6 mm 이상, (d) 치주염으로 인한 치아 소실이 4개 이하

과거 치주염 분류 기준에 따르면, 40대 이후에 발병하고 숙주의 방어 기전 손상과 관련이 없는 경우 성인형 치주염으로 분류되었다.<sup>14</sup> 이에 따라 본 연구에서는 나이 분류 기준을 만 40세로 설정하였다.

총 19명이 연구에 참여하였다. 이들 중 15명은 시트룰린화 히스톤의 발현에 대한 흡연 상태 및 나이의 영향을 평가하기 위해 흡연 유무 및 나이에 따라 모집하였다. 흡연자의 선정 기준에서 하루 10개비 이하를 흡연하는 경도 흡연자는 제외하였다. 만 40세 이상의 비흡연 치주염 환자를 그룹 1, 만 40세 미만 비흡연 치주염 환자를 그룹

2, 만 40세 이상의 흡연 치주염 환자를 그룹 3에 각각 배정하였다. 또한 흡연과 관계없이 만 40세 이상의 치주염 환자를 4명을 모집하여 이들을 그룹 4에 배정하여 샘플의 종류에 따른 시트룰린화 히스톤의 발현 농도를 평가하고자 하였다.

치주 탐침자를 사용하여 부착수준, 치주낭 깊이, 탐침시 출혈을 측정하여 기록하였다. 연구 대상자로부터 정맥혈 5ml을 채취하여 멸균된 ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) tubes에 옮기고, 원심분리(1000 × g, 10분)하여 혈청을 분리하였다. 그룹 4의 연구 대상자에게서 혈청과 함께 타액을 추가 수집하였으며, 수집 전 1시간 이내 음식의 섭취, 칫솔질, 구강세정제의 사용을 금지한 다음 오전 9시에서 11시 사이에 타액을 채취하였다. Salivette® (Sarstedt, Nümbrecht, Germany)내에 동봉된 코튼롤을 흠뻑 젖을 때까지 구강저에 위치시킨 다음, 수거하여 용기에 담아 냉장 상태로 실험실에 옮기고 원심분리(1000 × g, 20분)하였다. 이후의 과정 전, 분리된 혈청 및 타액은 -80°C에 냉동 보관하였다.

Enzyme-linked immunosorbent assay (Citrullinated histone H3 ELISA kit, Cayman Chemical, Ann Arbor, USA)를 이용하여 제조사의 지시에 따라 혈청 및 타액에서 시트룰린화 히스톤은 검출하였다. ELISA 마이크로플레이트 판독기(Synergy HTX Multi-Mode Reader, BioTek Instruments Inc., Vermont, USA)를 사용하여 450 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다.

실험 결과는 SPSS 23.0 program (IBM SPSS Statistics v23.0, IBM Corp., Armonk, USA)을 사용하여 분석하였다. 그룹 1, 2, 3은 각각 독립적으로 추출되었으며, 정규분포를 만족하였으나 등분산성을 만족하지 않았기 때문에 세 그룹 간의 비교를 위해 Welch's ANOVA를 수행하

였으며, Games-Howell 분석으로 사후검증을 시행하였다. 그룹 4에서 샘플의 종류에 따른 비교는 T 검증을 시행하여 분석하였다.  $P < 0.05$ 는 통계적으로 유의한 것으로 간주하였다.

## 결과

Table 1에서 제시된 바와 같이 총 19명의 치주염 환자를 모집하였다. 그룹 1과 2, 그리고 그룹 1과 3을 비교했을 때 이들의 치주 임상지표값에 통계적인 유의성은 없었으므로( $P > 0.05$ ), 치주염 심도는 그룹 간에 유사한 수준이었다.

치주염 환자에서 나이에 따른 시트룰린화 히스톤의 농도는 나이가 젊을수록 높게 나타났다(Fig. 1). 만 40세 이상의 비흡연자 그룹 1에서는 시트룰린화 히스톤의 농도가  $0.29 \pm 0.06$  ng/ml이었으며, 만 40세 이하 비흡연자 그룹 2에서는 시트룰린화 히스톤의 농도가  $3.12 \pm 0.76$  ng/ml으로 측정되었다. 두 그룹 간에 통계적인 유의성이 관찰되었다( $P < 0.05$ ).

흡연을 할 경우, 치주염 환자에서 시트룰린화 히스톤이 더 많이 발현되었다(Fig. 1). 만 40세 이상의 비흡연자 그룹 1에서는 시트룰린화 히스톤이  $0.29 \pm 0.06$  ng/ml의 농도로 측정되었으며, 흡연자인 그룹 3에서는  $0.79 \pm 0.24$  ng/ml로 측정되었다. 하지만 그룹 간에 통계적 유의성은 없었다( $P > 0.05$ ).

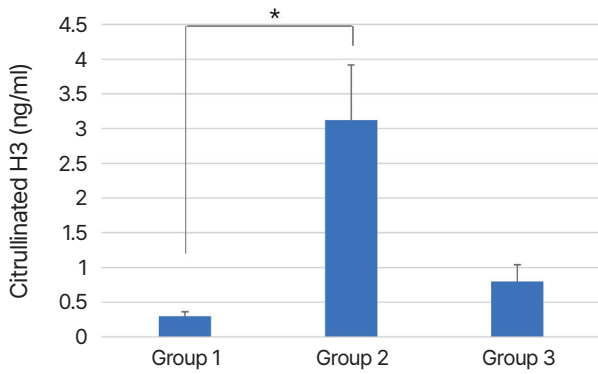
치주염 환자의 타액에서 역시 시트룰린화 히스톤을 검출할 수 있었다. 타액 내 시트룰린화 히스톤의 농도는  $0.62 \pm 0.52$  ng/ml으로 혈청 농도  $0.60 \pm 0.22$ /ml과 거의 유사한 수준으로 검출되었다( $P > 0.05$ )(Fig. 2).

**Table 1.** Characteristics of study population

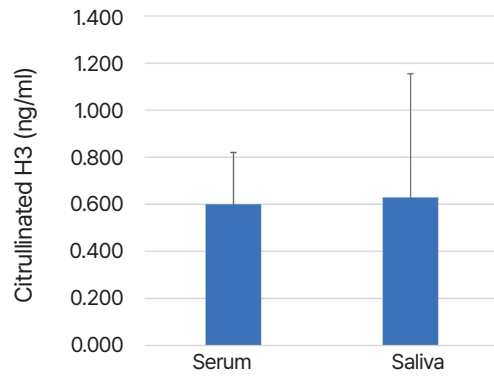
	Group 1	Group 2	Group 3	Group 4
Number of patients	5	5	5	4
Age (yrs)	59.00 ± 4.94	32.80 ± 2.58	58.20 ± 6.45	64.00 ± 4.24
Smoking	Non-smoker	Non-smoker	Smoker	-
CAL (mm)	3.94 ± 0.87	3.58 ± 0.78	4.01 ± 1.33	3.61 ± 0.24
PPD (mm)	3.04 ± 0.52	3.04 ± 0.25	3.36 ± 0.76	3.34 ± 0.24
BOP (%)	50.30 ± 22.64	42.26 ± 11.21	50.11 ± 22.75	40.97 ± 7.26

CAL: clinical attachment level, PPD: periodontal probing depth, BOP: bleeding on probing.

Data are shown as mean ± standard deviation. There was no statistically significant difference in periodontal clinical parameters when comparing Group 1, Group 2, and Group 3.



**Fig. 1.** Comparison of expression levels of citrullinated histones according to age and smoking. Results are represented as mean ± standard deviation. Analyzed using Welch’s ANOVA followed by Games-Howell test. Group 1: age ≥ 40, non-smoker; group 2: age < 40, non-smoker; group 3: age ≥ 40, smoker. \*: statistically significant difference ( $P < 0.05$ ).



**Fig. 2.** Comparison of expression levels of citrullinated histones according to sample type. Results are represented as mean ± standard deviation. Analyzed using t-test. There was no statistically significant difference.

## 고찰

치주염의 개시 및 진행 과정에서 NETs 형성으로 인해 시트룰린화 단백질이 치주염 환자에서 정상인보다 더 많이 발현된다는 사실이 밝혀진 바 있다.<sup>15,16</sup> 이에 본 임상연구는 치주염의 진행 과정에서 관찰되는 호중구의 병태생리학적 특징인 NETs의 형성에 영향을 미칠 수 있는 여러 인자들 중에 나이와 흡연의 영향을 시트룰린화 히스톤의 검출을 통해 알아보려 하였다. 연구 결과, 치주염 환자에서 나이가 호중구에서 시트룰린화 히스톤 생산을 증가시킬 가능성이 있음을 확인하였다.

현재 사용되고 있는 치주염의 진단 및 분류의 기준에서 환자의 나이에 따른 구분은 제외되었지만, 과거에는 치주염을 35세를 임의 기준으로 설정하여 40대 이후의 성인형 치주염과 35세 이하의 조기발생형 치주염으로 분류하였다.<sup>17</sup> 이 분류의 개념은 이후 1999년 분류체계에도 반영되어 급진성 치주염의 영역으로 존재하였다.<sup>18</sup> 급진성 치주염은 만성 치주염과는 달리 사춘기 시절의 젊은 층에서 발병 가능하며, 20 - 30대에 걸쳐 관찰될 수 있다. 이는 치태 및 치석의 축적이 많지 않고, 빠른 진행 속도를 보인다. 2017년에 개정된 치주염의 새 분류 체계에서는 더 이상 치주염을 만성 치주염과 급진성 치주염으로 나누고 있지는 않지만, grade의 개념을 도입하여 질병의 진행속도를 치주염의 진단과정에 반영하고 있다.<sup>13</sup> 따라서

치주염의 병태생리학적 과정을 이해하는데 있어 나이는 질병의 진행속도와 밀접한 연관이 있기 때문에, 치주염의 진행에서 나이가 호중구의 행동에 미치는 영향을 알아보는 것은 중요한 의미를 가진다.

여러 연구들은 젊은 시절에 발병하는 치주염 환자에서 호중구의 결함을 관찰할 수 있다고 보고한 바 있다.<sup>19,20</sup> 이는 대부분 호중구의 기능적 결핍 혹은 저활성과 관련된 것이 아니라 과활성과 관련되어 있다고 알려져 있다.<sup>21</sup> 이와 유사하게 본 연구결과에서도 젊은 수록 시트룰린화 히스톤의 발현이 증가한다는 것을 확인할 수 있었으며, 이를 통해 호중구의 NETs 형성과 NETosis 과정이 젊은 치주염 환자에서 더 활발히 진행된다고 추론해볼 수 있다. 그룹 1과 그룹 2는 집단간에 유사한 치주염의 심도를 보였지만, 젊은수록 호중구의 활성이 높게 관찰되었으며, 이는 임상적으로 젊은 층에서 발생한 치주염일 경우 질병의 조절을 위해 좀 더 적극적인 처치가 필요함을 의미한다.

2017년 치주염의 새 분류체계 마련을 위한 세계 워크샵에서 흡연은 당뇨와 함께 치주염의 주요한 위험인자로 지목되었다.<sup>13</sup> 흡연이 치주질환의 유병률, 심도와 범위 모두에 영향을 줄 수 있다는 많은 증거들이 있다.<sup>22</sup> 흡연은 또한 치주병원균의 자극에 대한 면역반응을 저하시키는 것으로 알려져 있다. 치주적으로 건강한 사람에서 흡연은 호중구의 탐식 기능을 억제하는 것으로 보고된 바 있



다.<sup>23</sup> 오늘날 시트룰린화 반응은 류마티스 관절염 영역에서 가장 활발히 연구되고 있는데, 흡연은 염증을 유발하고 단백질-아르기닌 탈아미나제(peptidylarginine deiminase) 효소를 활성화시켜 단백질의 시트룰린화를 촉진하며, 이로 인해 자가면역 반응을 유발하여 류마티스 관절염의 발병과 진행을 영향을 주는 것으로 알려져 있다.<sup>24</sup> 본 예비 연구에서는 흡연이 치주염 환자에서 시트룰린화 히스톤의 농도를 증가시키는 경향을 보였다. 그러나 이 결과는 통계적으로 유의하지 않았으며, 이는 적은 수의 샘플과 관련이 있을 가능성이 높다. 따라서 향후 실험에서는 샘플 수를 증가시켜 이 결과를 재 검증할 필요가 있다.

치주염 연구에서 사용할 수 있는 샘플의 종류는 치태, 혈액, 치은열구액, 치은조직 등 다양하다. 하지만 이러한 샘플은 수집의 과정에서 환자에게 불편감을 줄 뿐만 아니라, 샘플의 채취 과정이 어려우며, 많은 양을 채취하기 어렵다는 한계를 가진다. 하지만 타액은 샘플 채취의 과정이 비교적 쉽고 간단하기 때문에 환자에게 불편감을 주지 않을 뿐만 아니라, 구강내의 병리학적 활성 상태를 잘 반영할 수 있어서 질병의 진단 및 모니터링에 유용하다는 장점을 가진다.<sup>25</sup> 본 연구에서는 타액에서 시트룰린화 히스톤을 검출할 수 있었으며, 그 농도는 혈청과 유사한 수준이었다. 따라서 향후 시트룰린화 히스톤 검출을 통해 치주염을 모니터링할 때, 간편하게 사용가능한 샘플로서 타액의 가능성을 평가할 수 있었다. 이는 연구자와 연구 대상자 모두에게 편의성을 제공할 것으로 기대된다.

본 연구는 예비 연구로서, 포함된 환자의 수가 적어 결과의 일반화에 제한이 있을 수 있다. 또한, 본 연구에서는 건강균을 대조군으로 설정하지 못하여, 건강한 대조군과의 비교 데이터가 부족하다. 이는 치주염 환자에서 시트룰린화 히스톤의 발현에 대한 명확한 해석을 어렵게 할 수 있다. 따라서 후속 연구에서는 더 많은 환자를 포함하고, 건강균을 대조군을 설정하여 보다 포괄적인 분석이 필요하다.

## 결론

본 연구는 치주염 환자에서 시트룰린화 히스톤 형성에 영향을 미치는 위험 인자를 밝히기 위한 후속 연구에 앞서, 나이와 흡연의 위험 인자로서의 가능성을 평가하기 위한 예비 연구였다. 연구 결과, 나이는 시트룰린화 히스톤 형성에 영향을 미칠 수 있는 위험 인자가 될 수 있는

가능성을 확인하였으며, 흡연 또한 잠재적 위험 인자로서의 가능성을 완전히 배제할 수는 없었다. 따라서 향후 연구에서 이를 대규모로 체계적으로 입증하고자 한다. 이는 치주염 환자에서 나이와 흡연이 시트룰린화 히스톤의 발현에 미치는 영향을 체계적으로 평가하여, 치주염의 조절과 관리에 중요한 단서를 제공할 것이다. 또한 타액에서 혈청과 유사한 수준의 시트룰린화 히스톤을 검출한 결과는 향후 연구에서 타액이 비침습적 샘플 수집의 가능성 및 비용 효율성을 높여줄 수 있음을 의미한다.

## Acknowledgements

부산대학교 기본연구지원사업(2년)에 의하여 연구되었음.

## ORCID

**Gi-Tae Park** <https://orcid.org/0009-0005-7325-7653>

**Ju-Youn Lee** <https://orcid.org/0000-0002-0772-033X>

**Ji-Young Joo** <https://orcid.org/0000-0002-4050-5797>

**Dong Hyun Sohn** <https://orcid.org/0000-0002-9572-0611>

**Hyun-Joo Kim** <https://orcid.org/0000-0001-7553-6289>

## References

1. Kinane DF, Stathopoulou PG, Papapanou PN. Periodontal diseases. *Nat Rev Dis Primers* 2017;3:17038.
2. Hajishengallis G, Chavakis T, Lambris JD. Current understanding of periodontal disease pathogenesis and targets for host-modulation therapy. *Periodontol* 2000 2020;84:14-34.
3. Movat HZ, Cybulsky MI, Colditz IG, Chan MK, Dinarello CA. Acute inflammation in gram-negative infection: endotoxin, interleukin 1, tumor necrosis factor, and neutrophils. *Fed Proc* 1987;46:97-104.
4. Hajishengallis G, Moutsopoulos NM, Hajishengallis E, Chavakis T. Immune and regulatory functions of neutrophils in inflammatory bone loss. *Semin Immunol* 2016;28:146-58.
5. Cooper PR, Palmer LJ, Chapple IL. Neutrophil extracellular traps as a new paradigm in innate immunity: friend or foe? *Periodontol* 2000 2013;63:165-97.
6. Jaillon S, Galdiero MR, Del Prete D, Cassatella MA,

- Garlanda C, Mantovani A. Neutrophils in innate and adaptive immunity. *Semin Immunopathol* 2013; 35:377-94.
7. Podolska MJ, Mahajan A, Knopf J, Hahn J, Boeltz S, Munoz L, Bilyy R, Herrmann M. Autoimmune, rheumatic, chronic inflammatory diseases: Neutrophil extracellular traps on parade. *Autoimmunity* 2018;51:281-7.
  8. Manfredi AA, Ramirez GA, Rovere-Querini P, Maugeri N. The Neutrophil's Choice: Phagocytose vs Make Neutrophil Extracellular Traps. *Front Immunol* 2018;9:288.
  9. Knight JS, Carmona-Rivera C, Kaplan MJ. Proteins derived from neutrophil extracellular traps may serve as self-antigens and mediate organ damage in autoimmune diseases. *Front Immunol* 2012;3:380.
  10. Janssen KMJ, de Smit MJ, Withaar C, Brouwer E, van Winkelhoff AJ, Vissink A, Westra J. Autoantibodies against citrullinated histone H3 in rheumatoid arthritis and periodontitis patients. *J Clin Periodontol* 2017;44:577-84.
  11. Vitkov L, Klappacher M, Hannig M, Krautgartner WD. Extracellular neutrophil traps in periodontitis. *J Periodontal Res* 2009;44:664-72.
  12. Oliveira SR, de Arruda JAA, Schneider AH, Bemquerer LM, de Souza RMS, Barbim P, de Mattos-Pereira GH, Calderaro DC, Machado CC, Alves SF, Moreira PR, de Oliveira RDR, Louzada-Júnior P, Abreu LG, Cunha FQ, Silva TA. Neutrophil extracellular traps in rheumatoid arthritis and periodontitis: Contribution of PADI4 gene polymorphisms. *J Clin Periodontol* 2024;51:452-63.
  13. Papananou PN, Sanz M, Buduneli N, Dietrich T, Feres M, Fine DH, Flemmig TF, Garcia R, Gianobile WV, Graziani F, Greenwell H, Herrera D, Kao RT, Kebschull M, Kinane DF, Kirkwood KL, Kocher T, Kornman KS, Kumar PS, Loos BG, Machtei E, Meng H, Mombelli A, Needleman I, Offenbacher S, Seymour GJ, Teles R, Tonetti MS. Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J Periodontol* 2018;89 Suppl 1:S173-82.
  14. Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol* 1999;4:1-6.
  15. Magán-Fernández A, O'Valle F, Abadía-Molina F, Muñoz R, Puga-Guil P, Mesa F. Characterization and comparison of neutrophil extracellular traps in gingival samples of periodontitis and gingivitis: A pilot study. *J Periodontal Res* 2019;54:218-24.
  16. Harvey GP, Fitzsimmons TR, Dhamarpatni AA, Marchant C, Haynes DR, Bartold PM. Expression of peptidylarginine deiminase-2 and -4, citrullinated proteins and anti-citrullinated protein antibodies in human gingiva. *J Periodontal Res* 2013;48:252-61.
  17. Suzuki JB, Charon JA. Current classification of periodontal diseases. *J Parodontol* 1989;8:31-51.
  18. Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol* 1999;4:1-6.
  19. Hurttia H, Saarinen K, Leino L. Increased adhesion of peripheral blood neutrophils from patients with localized juvenile periodontitis. *J Periodontal Res* 1998;33:292-7.
  20. Van Dyke TE, Schweinebraten M, Cianciola LJ, Offenbacher S, Genco RJ. Neutrophil chemotaxis in families with localized juvenile periodontitis. *J Periodontal Res* 1985;20:503-14.
  21. Kantarci A, Oyaizu K, Van Dyke TE. Neutrophil-mediated tissue injury in periodontal disease pathogenesis: findings from localized aggressive periodontitis. *J Periodontol* 2003;74:66-75.
  22. Leite FRM, Nascimento GG, Scheutz F, López R. Effect of smoking on periodontitis: A systematic review and meta-regression. *Am J Prev Med* 2018; 54:831-41.
  23. Güntsch A, Erler M, Preshaw PM, Sigusch BW, Klinger G, Glockmann E. Effect of smoking on crevicular polymorphonuclear neutrophil function in periodontally healthy subjects. *J Periodontal Res* 2006;41:184-8.
  24. Serra-Bonett N, Rodríguez MA. The swollen joint, the thickened artery, and the smoking gun: tobacco exposure, citrullination and rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int* 2011;31:567-72.
  25. Ramenzoni LL, Lehner MP, Kaufmann ME, Wiedemeier D, Attin T, Schmidlin PR. Oral Diagnostic Methods for the Detection of Periodontal Disease. *Diagnostics* 2021;11:571.

# 치주염 환자에서 나이와 흡연이 시트룰린화 히스톤 발현에 미치는 영향 및 샘플 종류에 따른 발현량 분석: 예비 연구

박기태<sup>1,2</sup> 전공의, 이주연<sup>1,2</sup> 교수, 주지영<sup>1,2</sup> 부교수, 손동현<sup>3</sup> 교수, 김현주<sup>1,2\*</sup> 부교수

<sup>1</sup>부산대학교 치의학전문대학원 치주과학교실

<sup>2</sup>부산대학교 치과병원 치주과

<sup>3</sup>부산대학교 의과대학 미생물학교실

**목적:** 만성 염증성 질환에서 호중구는 세균의 제거와 염증 반응 조절을 위해 DNA와 시트룰린화 히스톤으로 이루어진 그물망인 NETs를 방출한다. 치주염에서 호중구의 NETosis는 중요한 방어 기전으로 작용하며, 이 과정에서 시트룰린화 히스톤이 발현된다. 본 연구는 치주염 환자에서 시트룰린화 히스톤의 발현에 나이와 흡연이 미치는 영향 및 타액을 이용한 검출의 용이성을 평가하고자 한다.

**연구 재료 및 방법:** 총 19명의 환자가 실험에 참가하였으며, 이중 15명은 흡연 상태 및 나이에 따라 각 그룹 당 5명씩 배정되었다. 임상 및 방사선 검사 이후 연구대상자에게서 혈액을 채취한 다음 혈청을 분리하였다. 나머지 4명의 대상자에게서 는 혈액 및 타액을 함께 채취하였다. ELISA kit를 사용하여 샘플 내 시트룰린화 히스톤을 정량화 하여 각 군의 결과를 비교하고 통계 분석하였다.

**결과:** 나이가 젊을수록 시트룰린화 히스톤의 농도가 더 높았으며( $P < 0.05$ ), 비흡연자 그룹보다 흡연자 그룹에서는 시트룰린화 히스톤이 높게 발현되었으나, 통계적으로 유의한 차이는 없었다. 치주염 환자의 타액에서 혈청과 유사한 수준의 시트룰린화 히스톤이 검출되었다.

**결론:** 치주염 환자에서 나이는 시트룰린화 히스톤의 발현에 잠재적 위험인자가 될 수 있다. 또한 치주염 환자에서 시트룰린화 히스톤의 검출을 위해 샘플 채취가 더 용이한 타액을 사용할 수 있다.

(구강회복응용과학지 2024;40(4):234-40)

**주요어:** 치주염; 시트룰린화; 히스톤; 흡연; 나이; 타액

\*교신저자: 김현주

(50612)경상남도 양산시 물금읍 범어리 금오로 20 부산대학교 치의학전문대학원 치주과

Tel: 055-360-5104 | Fax: 055-360-5194 | E-mail: periohjkim@pusan.ac.kr

접수일: 2024년 9월 3일 | 수정일: 2024년 9월 20일 | 채택일: 2024년 10월 8일